

Direction des bibliothèques

AVIS

Ce document a été numérisé par la Division de la gestion des documents et des archives de l'Université de Montréal.

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

This document was digitized by the Records Management & Archives Division of Université de Montréal.

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal

Modélisation des interactions métaboliques entre
contaminants de l'environnement chez l'enfant

par

Thérèse Yéro Adamou

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 Maîtrise (M.Sc.)
en santé environnementale et santé au travail

Août 2007

© Thérèse Yéro Adamou, 2007



Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :
Modélisation des interactions métaboliques entre contaminants
de l'environnement chez l'enfant

Présenté par :
Thérèse Yéro Adamou

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Docteur Ada Vyskocil, président rapporteur

Docteur Kannan Krishnan, directeur de recherche

Docteur Sami Haddad, co-directeur

Docteur Robert Tardif, membre du jury

RÉSUMÉ

L'exposition aux mélanges de contaminants environnementaux est une réalité. Les modèles pharmacocinétiques à base physiologique (PCBP) représentent des outils adaptés pour l'étude des interactions toxicologiques qui peuvent se produire sous de telles conditions. Or, bien que les enfants soient également confrontés à ce genre de situation, les PCBP ont été développés jusqu'à présent uniquement pour l'adulte. Les changements biologiques qui s'opèrent chez l'enfant durant le développement peuvent entre autres moduler la pharmacocinétique et l'exposition de l'enfant aux substances, comparativement à l'adulte. Dans cette étude des modèles PCBP tenant compte de certaines caractéristiques de l'enfant en termes d'exposition et de physiologie, ont été développés pour simuler l'exposition à un mélange d'alkyl benzènes. L'analyse révèle que le nouveau-né constitue la population la plus sensible en terme de dose absorbée; d'une part parce qu'il est immature au niveau physiologique et biochimique; et d'autre part parce que l'ingestion de lait maternel constitue une source majeure de contamination au mélange de composés organiques volatils (COV). Cependant, le stade développement de l'enfant apparaît comme secondaire dans le cadre de l'étude des interactions métaboliques. En effet, la toxicocinétique lors d'exposition au mélange de COV semble principalement dépendante des caractéristiques physiologiques et biochimiques individuelles. La variabilité au niveau de la population adulte est telle que certains adultes peuvent présenter des doses internes équivalentes voire supérieures à celle des plus jeunes enfants. Néanmoins, les résultats de cette étude supportent l'utilisation d'un facteur d'incertitude additionnel en analyse de risque pour protéger les enfants et plus particulièrement le nouveau-né.

Mots clés : PCBP, COV, enfant, variabilité interindividuelle, interactions métaboliques

ABSTRACT

Exposure to environmental chemical mixture is a reality. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) models can predict adequately the consequences associated with mixture exposure and toxicological interactions. Interaction PBPK models for volatile organic chemicals (VOCs) have been developed only for adult even though children are also concerned by mixture exposures. Biological changes that occur during postnatal period can affect pharmacokinetics and exposures in children. PBPK models based on their physiological and exposure characteristics have been developed to simulate exposure to an alkyl benzene mixture. Modeling analyses reveal that neonates present greater internal doses than older children and adults during mixture exposure; first due to the degree of immaturity of metabolizing systems and also because of the contribution of milk ingestion as a route of exposure to VOCs. Role of maturity of metabolizing systems appears to be secondary compared to the influence of interindividual variation characteristics on metabolic interactions. In fact, toxicokinetics during mixed exposure to VOCs seems to be regulated by individual physiological and biochemical characteristics. Adult population variability is so important that adult internal doses may be greater than some neonates or older children during mixture exposure. However, this study supports the idea that an additional uncertainty factor of 10 in risk analysis is sufficient and necessary to protect children including neonates.

Keywords: PBPK, child, interindividual variability, metabolic interactions

TABLE DES MATIÈRES

PAGE TITRE	i
IDENTIFICATION DU JURY	ii
RÉSUMÉ.....	iii
ABSTRACT	iv
TABLE DES MATIÈRES	v
LISTE DES TABLEAUX.....	vi
LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS.....	xi
REMERCIEMENTS	xv
1. INTRODUCTION.....	1
1.1. Mise en contexte.....	1
1.2. Analyse de risque	2
1.3. L'analyse de risque chez l'enfant.....	5
1.4. Les caractéristiques biologiques uniques de l'enfant	6
1.5. L'exposition aux mélanges de contaminants, une réalité.....	19
1.6. La modélisation pharmacocinétique à base physiologique (PCBP).....	23
1.7. Problématique.....	27
1.8. Objectif de l'étude	29
1.9. Organisation du mémoire.....	29
2. ARTICLE I.....	31
2.1. Résumé	33
2.2. Introduction	35
2.3. Matériel et Méthode	38
2.4. Résultats	43
2.5. Discussion	46
2.6. Références	52
3. ARTICLE II	72
3.1. Résumé.....	74
3.2. Introduction	76
3.3. Matériel et Méthode	78
3.4. Résultats	82
3.5. Discussion	83
3.6. Références	86
4. DISCUSSION GÉNÉRALE	96
5. BIBLIOGRAPHIE	102

LISTE DES TABLEAUX

1 –INTRODUCTION GÉNÉRALE

Tableau I. Systèmes affectés par les contaminants environnementaux selon le stade de développement de l'organisme.....	18
--	----

2. ARTICLE I

Tableau I. Coefficients de partage du toluène, m-xylène et éthylbenzène, utilisés pour la construction des modèles PCBP adulte et enfant	56
--	----

Tableau II. Constantes d'inhibition du toluène, m-xylène et éthylbenzène, utilisées pour la construction des modèles PCBP (adulte et enfant).....	57
---	----

Tableau III. Paramètres physiologiques utilisés dans la construction de modèles PCBP.....	58
---	----

Tableau IV. Paramètres biochimiques utilisés dans la construction des modèles PCBP.....	59
---	----

Tableau V. Activités spécifiques du CYP2E1 humain pour le toluène, m-xylène et l'éthylbenzène.....	60
--	----

Tableau VI. Récapitulatif des provenances des distributions des paramètres entrants des modèles (volume de foie, poids corporel, concentration enzymatique et Rcp)	61
--	----

Tableau VII. Percentiles (50^{ème} et 95^{ème}) des concentrations veineuses maximales en toluène d'une population d'adulte exposée à 1 ppm de T et pour une population de nouveau-nés exposés à 0,44 ppm de T, 0,023 ppm de X et 0,023 ppm de E simultanément durant 24 heures.....62

3. ARTICLE II

Tableau I. Paramètres utilisés pour la construction des modèles de la mère allaitante et du nouveau-né.....88

Tableau II. Activités spécifiques du CYP2E1 humain pour le toluène, m-xylène et l'éthylbenzène.....89

Tableau III. Coefficient de partage du toluène, m-xylène et de l'éthylbenzène, utilisés pour la construction des modèles PCBP (mère et enfant).....90

Tableau IV. Constantes d'inhibition du toluène, m-xylène et éthylbenzène, utilisées pour la construction des modèles PCBP (adulte et enfants).....91

Tableau V. Concentrations veineuses maximales en toluène et surface sous la courbe à 24 heures relevées chez le nouveau-né exposé à du T, X et E sous forme de mélange (Mix) ou pas (Ind) via 1 (inhalation) ou 2 voies d'exposition (inhalation + ingestion).....92

LISTE DES FIGURES

1. INTRODUCTION GÉNÉRALE

- Figure 1. Démarche de l'évaluation du risque.....2
- Figure 2. Fraction de l'activité enzymatique de quelques isoformes de cytochrome P450 retrouvées dans les microsomes hépatiques d'enfants de différentes tranches d'âge.....14

2. ARTICLE I

- Figure 1. Représentation conceptuelle de l'interaction métabolique entre le toluène, m-xylène et éthylbenzène chez l'humain exposé au mélange par la voie pulmonaire.....65
- Figure 2. Concentrations veineuses en toluène (T), m-xylène (X) et éthylbenzène (E) chez le nouveau-né, le nourrisson, l'enfant en âge préscolaire, le préadolescent et l'adulte inhalant 17 ppm de toluène, 33 ppm de m-xylène et 33 ppm d'éthylbenzène simultanément (respectivement T', X', E') ou individuellement (respectivement T, X, E) (durant 7 heures).....66
- Figure 3. Concentrations veineuses maximales (mg/L) calculées pour le toluène, m-xylène et éthylbenzène chez le nouveau-né, le nourrisson, l'enfant en âge préscolaire, le préadolescent et l'adulte inhalant 17 ppm de toluène, 33 ppm de m-xylène et 33 ppm d'éthylbenzène individuellement (A) ou simultanément (B) durant 7heures.....67
- Figure 4. Amplitude des concentrations veineuses maximales obtenues lors de l'exposition mixte et simple) calculées pour le toluène, chez le nouveau-né et l'adulte en fonction des

concentrations hépatiques en CYP2E1 individuelles lorsque ceux-ci sont exposés à 17 ppm de toluène, 33 ppm de m-xylène et 33 ppm d'éthylbenzène simultanément ou individuellement durant 24 heures.....68

Figure 5. Analyse de sensibilité de la concentration veineuse maximale en éthylbenzène (E) face à une variation de 10% des paramètres entrants (poids corporel , des débits alvéolaires du ratio débit alvéolaire/débit cardiaque (RCP), du volume de foie et de la concentration microsomale en CYP2E1) des modèles PCBP permettant de simulé l'inhalation d'éthylbenzène (33 ppm) accompagné de toluène (17 ppm) et de m-xylène (33 ppm) durant 24 heures chez des individus d'âge variable (nouveau-né, nourrisson, enfant en âge préscolaire, préadolescent et adulte).....69

Figure 6. Distributions cumulatives des probabilités de fréquences établies en fonction des concentrations veineuses maximales en toluène retrouvées au sein de populations de chaque groupe d'âge (nouveau-né, nourrisson, enfant en âge préscolaire, préadolescent et adulte) lorsque exposées à un mélange de toluène (17 ppm) m-xylène (33 ppm) et éthylbenzène (33 ppm) durant 24 heures.....70

Figure 7. Courbe de fréquences cumulées des concentrations veineuses maximales en toluène relevées dans une population de nouveau-nés (rouge) exposée à un mélange TEX (0,44 ppm de T, 0,023 ppm de X et 0,023 ppm de E) et d'adultes (noir) exposée à 1 ppm de T durant 24 heures.71

3. ARTICLE II

Figure 1. Représentation conceptuelle du transfert de mélange de COV de la mère vers le nouveau-né via le lait maternel.....94

Figure 2. Concentrations veineuses en toluène (T) m-xylène (X) et éthylbenzène (E) chez le nouveau-né et la mère lorsque celle-ci inhale le mélange TEX sur son lieu de travail (T : 17 ppm X : 33 ppm et E : 33 ppm) pendant 8 heures. Les concentrations en T, X et E en dehors du milieu de travail sont supposées nulles. Le nouveau-né est allaité durant 20 minutes toutes les 3,5 heures.95

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

[2E1] _{adulte}	Concentration microsomale en cytochrome P4502E1 chez l'adulte
[2E1] _{microsomale}	Concentration microsomale en cytochrome P4502E1 (pmol CYP2E1/mg MSP)
[MSP]	Concentration hépatique en protéine microsomale (mg de protéine/g de foie)
μmol 2E1	Concentration en cytochrome P4502E1 en micromole
A.S	Activité spécifique de l'enzyme
A.S _{2E1}	Activité spécifique P450 2E1 (mg de métabolite/h/pmol de CYP2E1)
ACGIH	American Conference of Governmental Industrial Hygienists
BPC	Biphényle polychloré
Cl _H	Clairance hépatique
Cl _{int}	Clairance intrinsèque
COV	Composé organique volatil
Cv _{f_e}	Concentration veineuse hépatique en éthylbenzène
Cv _{f_t}	Concentration veineuse hépatique en toluène
Cv _{f_x}	Concentration veineuse hépatique en m-xylène
Cv _{max}	Concentration veineuse maximale (mg/L)
Cv _{max24h ind}	Concentration veineuse maximale relevée lors de l'inhalation de toluène, m-xylène ou éthylbenzène individuellement durant 24 heures
Cv _{max24h mix}	Concentration veineuse maximale relevée lors de l'inhalation de toluène, m-xylène et éthylbenzène simultanément durant 24 heures
Cv _{maxInd}	Concentration veineuse maximale lors d'exposition à une seule substance
Cv _{maxMix}	Concentration veineuse maximale lors d'exposition à plus d'une substance
CYP	Cytochrome P450

CYP1A2	Cytochrome P450 1A2
CYP2C	Cytochrome P450 2C
CYP2D6	Cytochrome P450 2D6
CYP2E1	Cytochrome P450 2E1
CYP3A4	Cytochrome P450 3A4
CYP3A7	Cytochrome P450 3A7
DDT	Dichlorodiphenyltrichloroethane
Dexp	Dose d'exposition
DI	Dose interne
E	Éthylbenzène
FI	Facteur d'incertitude/ de sécurité
FQPA	Food Quality Protection Act
Fu	Fraction libre dans le sang
g	Gramme
h	Heure
HI	Indice de danger
Ind	Exposition Individuelle (1 substance)
kg	Kilogramme
$K_{i_{et}}$	Constante d'inhibition du l'éthylbenzène sur le toluène
$K_{i_{xt}}$	Constante d'inhibition du m-xylène sur le toluène
K_m	Constante de Michaelis-Menten (mg/L)
K_{mt}	Constante Michaelis-Menten pour le toluène
L	Litre
MC	Monte-Carlo

mg MSP/g de foie	Milligramme de protéine microsomale par gramme de foie
mg	Milligramme
mg/h	Milligramme par heure
mg/h/pmolCYP2E1	Milligramme par heure par picomole de cytochrome P4502E1
mg/m ³	Milligramme par mètre cube
MGi	Amplitude d'interaction
min	Minute
Mix	Exposition à un mélange de substances
ml	Millilitre
ml/kg/jour	Millilitre par kilogramme par jour
ml/min	Millilitre par minute
MSP	Protéine microsomale
n	Taille de l'échantillon
NOAEL	Dose sans effet nocif observé
NRC	National Research Council
PBPK	Physiologically based pharmacokinetic model
PCBP	Modèle pharmacocinétique à base physiologique
pmol 2E1/mg MSP	Picomole de cytochrome P4502E1 par milligramme de protéine microsomale
pmol	Picomole
pmol/mg MSP	Picomole par milligramme de MSP
ppm	Partie par million
Q	Débit sanguin au tissu (L/h)
Q _{f 4ans}	Débit hépatique d'un enfant de 4 ans (L/h)

Q_f	Débit du foie (L/h)
Q_p	Débit pulmonaire (L/h)
RAM_t	Taux métabolique pour le toluène
R_{cp}	Ratio débit alvéolaire/débit cardiaque
RfC	Concentration de référence
RfD	Dose de référence
SSC	Surface sous la courbe
T	Toluène
TD	Toxicodynamique
TEX	Mélange de toluène, éthylbenzène et m-xylène
TK	Toxicocinétique
$US\ EPA$	United States Environmental Protection Agency
$V_{f\ 4ans}$	Volume hépatique d'un enfant de 4 ans (L)
$V_{f\ adulte}$	Volume de foie de l'adulte (L)
V_f	Volume de foie (L)
V_{fn}	Volume de foie du nouveau-né (L)
VLE	Valeur limite d'exposition
$V_{max\ adulte}$	Vélocité maximale adulte (mg/h)
V_{max}	Vélocité maximale (mg/h)
$V_{max_{2E1}}$	Vélocité maximale du CYP2E1 (mg/h)
V_{max_t}	Vélocité maximale pour le toluène
X	m-xylène

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier en tout premier lieu le Dr. Kannan Krishnan et le Dr Sami Haddad qui m'ont tous deux donné la chance de travailler sur ce projet. Un merci tout particulier au Dr Kannan Krishnan aux cotés duquel j'ai beaucoup appris durant ces deux années.

Merci également à Ervane, Katia et Thomas, mes compagnons de laboratoire, avec qui j'ai eu beaucoup de plaisir à travailler, qui ont su me soutenir et me faire rire tout au long du projet.

Merci également aux étudiants, aux professeurs et au personnel administratif qui font qu'il est si agréable d'évoluer au sein du département de santé environnementale et santé au travail.

Enfin, merci à mes parents, mes frères et sœurs ainsi qu'à Emmanuel qui sont toujours restés à mes cotés.

1. INTRODUCTION

1.1. Mise en contexte

Au cours du siècle passé, l'utilisation de substances chimiques tels les insecticides, les herbicides ou les médicaments a permis de faire des progrès considérables en matière de santé humaine; alors que les taux de mortalité et de morbidité infantiles ont été remarquablement réduits, l'espérance et la qualité de vie des individus ont significativement augmenté (Landrigan et al. 2004; IPCS 2006). Cependant, l'urbanisation, l'industrialisation et l'intensification de l'agriculture stimulent la production et la dispersion dans l'environnement de toujours plus d'agents chimiques (Paustenbach 2002a). Vue auparavant comme bénéfique, la présence de ces agents dans certains milieux est aujourd'hui problématique. En effet, les conséquences éventuelles de ces substances sur la santé des populations sont au cœur des préoccupations actuelles. L'opinion publique et la communauté scientifique se demandent d'ailleurs, si l'incidence de toute une série de maladies infantiles (asthme, cancer, dysfonctionnements psychiatriques, perturbations des fonctions endocriniennes, reproductrices et nerveuses) jusqu'à présent d'origines inconnues ne serait pas reliée à la présence de ces xénobiotiques dans l'environnement (Landrigan et al. 2004). Schaefer conclue en 1994 que la protection des enfants contre les agents chimiques de l'environnement compte parmi les plus grands défis de notre société moderne (Schaefer 1994; Landrigan et al. 2004).

1.2. Analyse de risque

1.2.1. Méthodologie

L'analyse de risque est une approche méthodologique qualitative et quantitative permettant de déterminer la probabilité qu'une substance chimique utilisée sous des conditions données, ait des effets dommageables sur la santé humaine (Lu 1992). Conjuguée à la gestion du risque, elle facilite la prise de décision en ce qui a trait à la protection de la santé de la population contre les contaminants environnementaux, y compris celle des individus plus sensibles. (Casarett et al. 1996; Paustenbach 2002a; Landrigan et al. 2004). La démarche comprend quatre étapes; à savoir (1) l'identification du danger, (2) l'évaluation de l'exposition, (3) l'étude de la relation dose-réponse et (4) la caractérisation du risque (IPCS 2006) (Figure 1).

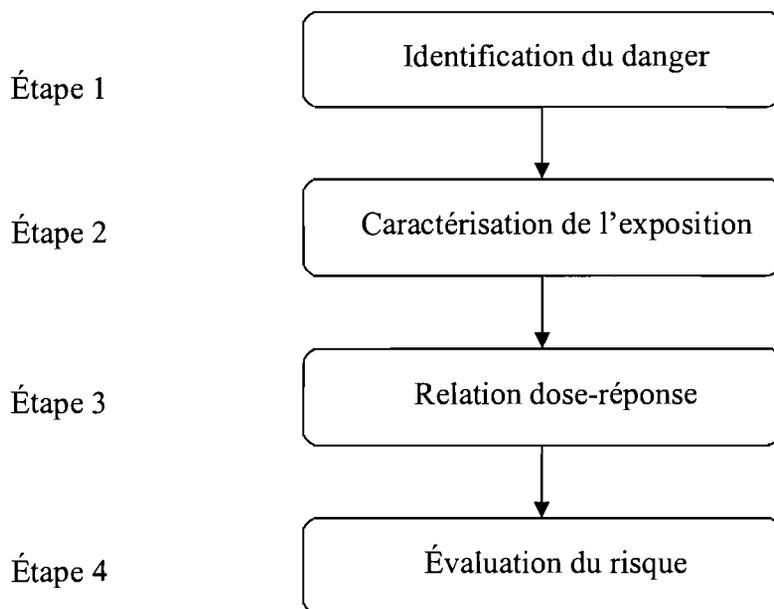


Figure 1. Démarche de l'évaluation du risque

L'identification du danger consiste à rassembler les informations toxicologiques pertinentes permettant d'identifier les propriétés toxiques de l'agent. Par la suite, les niveaux d'exposition de la population sont étudiés et une relation dose-réponse est établie. La relation dose-réponse permet entre autres de déterminer une dose seuil à laquelle aucun effet nocif n'est observé (NOAEL) (Dome et al. 2005). Idéalement il serait souhaitable que les données utilisées pour définir cette dose limite proviennent d'études approfondies menées directement chez l'humain. Malheureusement, pour des questions d'éthique, c'est rarement le cas. Pour compenser le problème de fiabilité relié à cette utilisation d'informations plus ou moins précises, des facteurs de sécurité de 10 (FI), peuvent être appliqués. La United State Environmental Protection Agency (US EPA) les utilise pour déterminer une dose de référence (RfD) correspondant à la dose journalière acceptable à laquelle les individus peuvent être exposés tout au long de leur vie (Goldman et Koduru 2000). Elle est calculée comme suit :

$$RfD = \frac{NOAEL}{FI} \quad \text{Équation (1)}$$

Finalement, la caractérisation du risque (étape 4) consiste à comparer la Dose d'exposition (étape 2) à la dose de référence (RfD) (déterminée à l'étape 3) (Goldman et Koduru 2000). Selon l'approche conventionnelle, le risque est présent à partir du moment où le ratio Dose d'exposition (Dexp)/RfD, ou indice de danger (HI) est supérieur à 1. Une alternative possible consiste à calculer ce dernier en utilisant non pas la dose d'exposition, mais plutôt la dose interne (DI) (Haddad et al. 2001). L'utilisation de la dose interne, qui correspond en fait à la concentration en polluant retrouvée dans le sang ou au niveau de l'organe cible, est préférable. En effet, contrairement à la méthode conventionnelle, cette approche permet d'estimer l'impact du scénario d'exposition

appliqué (fréquence, durée, voies, etc.) ainsi que celui des processus d'absorption, de distribution et d'élimination (métabolisme et excrétion).

1.2.2. Facteur d'incertitude

L'utilisation en analyse de risque des facteurs de sécurité permet de tenir compte de l'incertitude reliée à l'utilisation de données toxicologiques ne décrivant pas tout à fait la réalité de la situation. L'éthique limite les études expérimentales chez l'humain et les connaissances relatives à la toxicité des substances proviennent généralement d'observations effectuées chez l'animal, dans des conditions d'exposition plus ou moins comparables (concentrations et durée d'exposition), conduites sur un nombre d'individus plus ou moins important etc. L'utilisation d'un facteur de sécurité relatif à la variabilité interindividuelle est également recommandée. Effectivement, chaque individu est unique et présente de nombreuses particularités en termes d'hérédité, de physiologie, d'hygiène de vie, de comportement, etc. Les caractéristiques individuelles modulent le devenir des substances dans l'organisme (toxicocinétique (TK)) et les effets de ces substances sur l'organisme (toxicodynamique (TD)). En réalité, les conséquences de l'exposition à une substance varient d'un individu à l'autre. L'utilisation du facteur de variabilité interindividuelle permet ainsi de tenir compte de l'hétérogénéité de la réponse toxicologique existant au sein de chaque population (Dorne et al. 2005). Les contributions des variabilités interindividuelles toxicocinétique et toxicodynamique à l'incertitude sont toute deux estimées à 3,2 (soit $FI=10=3,2 \times 3,2$). L'adoption de cette mesure vise à s'assurer que l'ensemble des individus y compris les plus sensibles soient protégés. Cependant, il semble que l'utilisation de ce facteur de 10 en évaluation de risque ne soit pas suffisante pour contrebalancer l'ampleur de la variabilité.

interindividuelle retrouvée au sein de la population. En effet, la diversité due au polymorphisme génétique, à l'état physiopathologique (maladie, en santé) ou à l'âge entre autres, est telle que certains sous-groupes de la population ne semblent pas réellement protégés par les normes actuellement en vigueur (Dorne et al. 2005).

1.3. L'analyse de risque chez l'enfant

Suite à la publication du rapport « Pesticides in the diets of infants and children » en 1993, il a été établi qu'en l'absence de toute évidence scientifique prouvant le contraire, les enfants devaient être systématiquement considérés comme plus vulnérables que l'adulte aux xénobiotiques (Landrigan et al. 2004). Ils comptent depuis ce jour parmi les individus les plus sensibles de la population (Ginsberg et al. 2004b). Jusqu'à récemment, les évaluations de risque étaient basées sur des observations d'exposition et de toxicité effectuées chez l'adulte, animal ou humain (Landrigan et al. 2004). Or, plusieurs études démontrent que l'exposition et la susceptibilité aux xénobiotiques diffèrent de l'enfant à l'adulte (Goldman et Koduru 2000); pour un même scénario d'exposition, les risques à la santé encourus peuvent être plus importants dans le cas de l'enfant. Cependant cette différence avec l'adulte peut être plus ou moins marquée selon le degré de maturité de l'enfant (IPCS 2006). Ainsi, depuis 1993, le National Research Council (NRC) conseille d'utiliser une approche encore plus conservatrice en évaluation de risque dès lors qu'il s'agit d'enfants. The Food Quality Protection Act (FQPA) préconise l'utilisation d'un facteur additionnel (de 10), en plus du facteur de sécurité relié à la variabilité interindividuelle (Pelekis et al. 2001). Ce facteur supplémentaire vise à compenser le manque d'informations en termes (1) d'exposition infantile, (2) de susceptibilité infantile et (3) d'hétérogénéité biologique infantile (physiologie, biochimique, morphologique)

(Goldman et Koduru 2000). Cette mesure est adoptée par la US EPA depuis 1996, mais il est aujourd'hui essentiel que l'évaluation du risque chez l'enfant soit raffinée (Goldman et Koduru 2000).

1.4. Les caractéristiques biologiques uniques de l'enfant

Chez l'homme, l'enfance constitue une période critique durant laquelle l'organisme achève sa maturation. En effet, malgré les neuf mois de gestation, l'enfant qui naît est encore immature; il doit nécessairement subir toute une série de transformations pour atteindre le stade adulte et être en mesure alors d'assurer sa propre survie. La période postnatale est donc reconnue pour les nombreux changements anatomiques, physiologiques, biochimiques, physicochimiques et comportementaux qui s'y produisent (Alcorn et McNamara 2003; IPCS 2006). Loin de ressembler à un adulte miniature, l'enfant présente certaines particularités comparativement à l'adulte à un degré plus ou moins marqués selon le stade de maturité. Ces transformations postnatales s'accompagnent d'une modulation des scénarios d'exposition, de la toxicocinétique et de toxicodynamique (vulnérabilité) des substances qui justifient l'utilisation d'un facteur de sécurité additionnel (Carlson et Sokoloff; 1995 Alcorn et McNamara 2003).

1.4.1. Particularités de l'enfant en termes d'exposition

L'adulte comme l'enfant est exposé aux contaminants environnementaux via l'eau, l'air, le sol et la nourriture (Mukerjee 1998). Cependant, les modifications physiologiques et comportementales qui se produisent durant l'enfance peuvent occasionner une modulation des scénarios d'exposition (Cohen Hubal et al. 2000). En effet, ceux-ci sont intimement liés à la manière dont l'enfant interagit avec son environnement. Or, le

schéma d'activité varie selon l'âge de l'individu. Le nouveau-né présente quelques particularités qui illustrent parfaitement la situation (Moya et al. 2004). Contrairement aux sujets plus âgés, l'enfant de moins de 1 mois passe la majorité de son temps à dormir. Par ailleurs, ses capacités motrices restreintes le contraignent à passer le plus clair de son temps à l'intérieur; contrairement aux autres enfants ou l'adulte, il ne peut explorer son environnement (immédiat) que partiellement. Son manque de dextérité l'empêche également de saisir et d'apporter à sa bouche tous les objets qui l'entourent. En réalité la contamination du nouveau-né résulte principalement de l'inhalation d'air intérieur et/ou extérieur, et de l'ingestion de lait maternel (Moya et al. 2004). En effet, certaines substances exogènes (métaux lourds (plomb), pesticides (Dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) et ses métabolites) biphenyles polychlorés (BPC), composés organiques, médicaments), de par leurs caractéristiques physicochimiques, peuvent facilement se retrouver dans le lait maternel (Shelley et al. 1988; Landrigan et al. 2002; Ito et Lee 2003). La contribution du lait maternel à la contamination de l'enfant est importante; d'une part, parce que le régime alimentaire du nouveau-né est (en général) exclusivement composé de lait maternel, et d'autre part parce que les quantités de lait absorbées par le nourrisson sont considérables (Landrigan et al. 2002). Certes, il est possible que le nombre de voies de contamination chez le nouveau-né soit limité, mais il est possible que les fréquences, durées et concentrations d'exposition soient vraisemblablement plus importantes que pour toutes autres catégories d'âge. Le cas du nouveau-né montre combien le degré de maturité peut affecter les conditions d'exposition. L'enfant, dépendamment de son âge, présente donc de nombreuses particularités au niveau des voies, sources, milieux, fréquences, durées et

intensités d'exposition qui le différencie de l'adulte (Mukerjee 1998; Armstrong et al. 2002).

1.4.2. Particularités de l'enfant en termes de toxicocinétique

Bien que la plupart des structures anatomiques soient généralement présentes dès la naissance (système cardiaque, pulmonaire, immunitaire, reproducteur, circulatoire, endocrinien, etc.), celles-ci ne sont pas toujours fonctionnelles. Les organes se développent (augmentation de la taille, de la proportion par rapport au poids corporel et de la vascularisation) et de nouveaux processus physiologiques se mettent en place (IPCS 2006). Outre les répercussions du développement de l'enfant sur les conditions d'exposition, les transformations liées à la croissance modulent également le devenir des substances dans l'organisme. En effet, les changements qui s'opèrent durant la période postnatale peuvent affecter la toxicocinétique en modulant les processus d'absorption, de distribution, de biotransformation et d'excrétion.

1.4.2.1. Absorption

Les enfants, dépendamment de leur degré de maturité, présentent certaines caractéristiques qui modulent leurs capacités d'absorption. Le système gastro-intestinal compte parmi les structures les plus immatures à la naissance (IPCS 2006). En réalité, l'efficacité d'absorption gastro-intestinale dépend de plusieurs facteurs dont l'étendue et la vascularisation de la surface, l'acidité gastrique, la motilité intestinale, l'activité enzymatique, la perméabilité et la maturité de la membrane mucoale, l'efficacité des fonctions biliaires, la flore bactérienne et le régime alimentaire (Crom 1994). Or, la mise en place de ces éléments et la mise en route de ces processus s'effectuent

progressivement durant les deux premières années de vie. Ainsi, le développement graduel du système gastro-intestinal infantile résulte en une modulation des capacités d'absorption orale de l'enfant comparativement adulte (IPCS 2006).

Outre le système gastro-intestinal, les capacités d'absorption sont également modulées par les changements qui se produisent au niveau du système pulmonaire. L'évolution rapide de l'arbre respiratoire et de sa vascularisation, la mise en place des mécanismes d'épuration pulmonaire (appareil muco-ciliaire, macrophage, drainage lymphatique) pendant les premiers mois peuvent jouer eux aussi sur l'efficacité d'absorption par voie aérienne de certains gaz (réactifs) ou particules (Ginsberg et al. 2002) .

L'absorption cutanée quant à elle, ne varie ordinairement pas au cours de la période postnatale; le stratum corneum du nouveau-né étant aussi bien développé que celui de l'adulte (excepté pour les prématurés). Quel que soit l'âge considéré, la perméabilité dermale de l'enfant est généralement comparable à celle de l'adulte (Ginsberg et al. 2004c). Au regard des ces informations, l'enfant semble donc présenter quelques spécificités en termes d'efficacité d'absorption pouvant éventuellement moduler la toxicocinétique des substances comparativement à l'adulte.

Au-delà de l'efficacité, les quantités de substances absorbées semblent elles aussi varier selon l'âge de l'individu (Ginsberg et al. 2004c). Du fait qu'ils sont en pleine croissance et que leurs besoins énergétiques sont importants, les enfants inhalent, boivent et ingèrent de plus grandes quantités d'air, d'eau et de nourriture par unité de poids corporel que l'adulte (Paustenbach 2002b; Moya et al. 2004). Par exemple, la consommation d'eau de

boisson d'un enfant âgé de moins de 6 mois est estimée à 88ml/kg/jour alors que celle de l'adulte est voisine 17 ml/kg/jour (Moya et al. 2004).

Ces exemples démontrent combien l'enfant peut être différent de l'adulte en termes d'absorption puisque les changements qui s'opèrent tant au niveau de la voie orale que pulmonaire modulent à la fois l'efficacité d'absorption, et la quantité de substance absorbée (par unité de poids corporel) (Cohen Hubal et al. 2000; Ginsberg et al 2004d).

1.4.2.2.Distribution

La distribution des substances dans l'organisme dépend d'une part de la liaison aux protéines, et d'autre part de la composition corporelle (Crom 1994). Cependant, les transformations qui se produisent durant la période postnatale s'accompagnent habituellement de variations pour chacun de ces facteurs.

Variation de la capacité de liaison aux protéines

Un nombre considérable d'agents chimiques a tendance à se lier aux protéines plasmatiques. En règle générale, les composés se lient préférentiellement à l'albumine et à la α -glycoprotéine acide. Cependant, les concentrations de ces protéines dans le plasma sont ordinairement moins élevées chez l'enfant; la concentration en albumine à la naissance équivaut à 70%, voire 80% de la concentration adulte (Crom 1994; Alcorn et McNamara 2002). En réalité, la liaison aux protéines a tendance à (1) ralentir les processus d'élimination des substances, à (2) limiter la quantité de substances pouvant exercer des effets dommageables sur l'organisme, et à (3) augmenter la possibilité d'interactions chimiques au niveau des protéines de liaison. De ce fait, la fraction libre de substances est donc généralement plus importante chez les enfants; particulièrement chez

ceux en bas âge. Par ailleurs, la différence entre adulte et nouveau-né en termes de distribution peut être particulièrement marquée puisque la majorité des sites de liaison protéiniques sont occupés par des substances endogènes chez le nouveau-né (bilirubine, acides gras) (Alcorn et McNamara 2003).

Composition corporelle et perfusion tissulaire

La proportion en eau corporelle chez l'enfant (74 % à la naissance) est normalement plus élevée que chez adulte (50 à 60%). Ainsi, la rétention des lipides solubles a tendance à être beaucoup plus importante chez ce dernier; par contre, ces caractéristiques font que le volume de distribution pour les composés hydrosolubles est plus important chez l'enfant (Alcorn et McNamara 2003). Au cours du développement, les fractions en eau, lipide et protéine de certains tissus comme le cerveau, le foie, les reins ou les tissus adipeux évoluent (Alcorn et McNamara 2003); les variations des proportions lipidiques tissulaires particulièrement, peuvent occasionner certaines modifications au niveau des coefficients de partage, de la demi-vie et du volume de distribution des substances lipophiles (Ginsberg et al. 2004b). La distribution peut également être affectée par les changements qui s'opèrent au niveau du débit cardiaque, de la perfusion tissulaire et de la perméabilité membranaire. Ainsi, à la lumière de ces éléments, force est de constater que les l'évolution physiologique, anatomique et biochimique de l'enfant peut altérer considérablement la distribution des xénobiotiques comparativement à l'adulte et donc affecter la toxicocinétique infantile.

1.4.2.3. Biotransformation

L'enfant présente également certaines particularités faisant qu'il se distingue de l'adulte mais cette fois, au niveau métabolique. L'efficacité du processus de biotransformation pour les substances métabolisées par le foie, peut être appréciée à partir du calcul de la clairance hépatique (Cl_H) selon l'équation suivante :

$$Cl_H = \frac{Q_f Fu Cl_{int}}{Q_f + Fu Cl_{int}} \quad \text{Équation (2)}$$

Q_f représente le débit hépatique, Fu , la fraction de substance libre dans le sang et Cl_{int} , la clairance intrinsèque.

Les changements qui s'opèrent durant la période postnatale peuvent affecter chacun de des facteurs de l'équation (Q_f , Fu et Cl_{int}) et moduler au final l'efficacité d'élimination par biotransformation de l'enfant (Johnson 2003).

1.4.2.3.1. Modulation de la fraction libre

Comme vu dans la section précédente (section 1.4.2.2), les concentrations sanguines en albumine et en α -glycoprotéine acide varient durant l'enfance. Ainsi, le développement, en jouant sur la disponibilité des protéines plasmatiques peut affecter la fraction de substance libre dans le sang (Fu). Or, d'après l'équation 2, le moindre changement à ce niveau peut potentiellement occasionner une différenciation de la clairance hépatique infantile comparativement à l'adulte.

1.4.2.3.2. Modulation de la perfusion hépatique

Tout changement au niveau du débit hépatique peut également moduler l'efficacité de biotransformation. Relativement peu d'information concernant l'évolution de la perfusion hépatique au cours du développement est disponible. Par ailleurs, il s'avère que l'apport sanguin n'est pas toujours proportionnel au volume de l'organe (IPCS 2006). Toutefois les quelques données expérimentales recueillies confirment l'idée suivante; à savoir que le Q_f varie également avec l'âge. Selon Szantay et collaborateurs (1974), les débits hépatiques pour les enfants âgés de 4-8 ans, de 9-12 ans et de 13-15 ans avoisinent respectivement 325 ml/min, 665 ml/min et 915 ml/min. Quant à la valeur retrouvée chez l'adulte elle correspond approximativement à 1612 ml/min (IPCS 2006). Ainsi, les fluctuations du débit hépatique chez l'enfant peuvent elles aussi affecter la clairance hépatique et moduler la toxicocinétique. Cependant, le facteur Q_f ne jouera un rôle majeur dans l'élimination des substances, que lorsque le troisième facteur régulateur de la Cl_H , soit la clairance intrinsèque, sera relativement élevé. En effet, dans ces conditions seulement, le débit hépatique devient le facteur limitant; et toute modulation de ce dernier aura des répercussions considérables sur l'efficacité d'élimination.

1.4.2.3.3. Modulation de la clairance intrinsèque

La clairance intrinsèque fluctue elle aussi en fonction de l'âge et ceci pour deux raisons. D'une part, parce que les isozymes retrouvées chez l'enfant ne sont pas forcément les mêmes que chez de l'adulte, et d'autre part parce qu'il existe également des différences plus ou moins marquées au niveau des concentrations enzymatiques hépatiques. Les données concernant l'ontogenèse des enzymes de phase II sont quelque peu limitées. Cependant, les nombreuses études menées au niveau des enzymes de phase I ont permis de mettre en évidence quelques unes des caractéristiques infantiles (Vieira et al.1996).

Par exemple, différents schémas de développement ont été observés au niveau de la maturation des cytochromes P450 (CYP) (Figure 2).

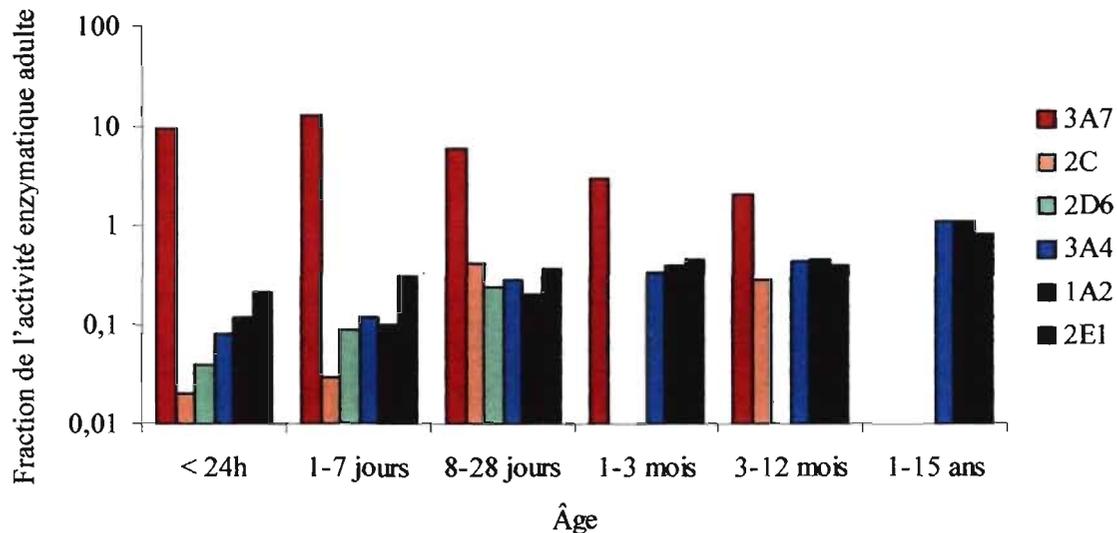


Figure 2. Fraction de l'activité enzymatique de quelques isoformes de CYP retrouvés dans les microsomes hépatiques d'enfants de différentes tranches d'âge (IPCS 2006).

Certains isozymes comme le CYP 3A7 ou le CYP4A1 sont présents en grandes quantités chez le fœtus, mais disparaissent progressivement dès la naissance (Figure 2). D'autres, comme les CYP2E1 et CYP2D6 sont présents (en petites quantités) dès le dernier trimestre de gestation (plus de 27 semaines); leur expression augmente ensuite brusquement quelques heures après la naissance (Alcorn et McNamara 2003). Enfin des isozymes comme les CYP3A4, CYP2C et CYP1A2 n'apparaissent qu'après l'accouchement et augmentent ensuite leurs concentrations progressivement (Tanaka et al. 2000). D'une manière générale la maturité enzymatique est atteinte à la fin de la première année postnatale du fait que la plupart des systèmes se développent entre le 6^{ème}

mois de gestation et le 6^{ème} mois suivant la naissance (Figure 2) (Vieira et al. 1996; Johnsrud et al. 2003;).

Certains auteurs suggèrent que la naissance joue un rôle essentiel dans le déclenchement de la maturation enzymatique (Alcorn et McNamara 2002). Cependant, ce n'est pas le cas de tous, et certains considèrent que la délivrance n'en est pas réellement à l'origine (Johnsrud et al. 2003). Toutefois, et ce qu'il faut retenir, les études s'accordent à dire qu'il y a une progression tant au niveau qualitatif que quantitatif des systèmes enzymatiques infantiles. Or, cette maturation enzymatique ayant un effet significatif sur la clairance intrinsèque aura incontestablement impact considérable sur la clairance hépatique et donc sur la toxicocinétique des substances. (Alcorn et McNamara 2003; IPCS 2006).

1.4.2.3.4. Le cytochrome P450 2E1

De nombreuses études se sont plus particulièrement attardées sur l'expression du CYP2E1 durant le développement. En effet, cet isoforme intervient dans le métabolisme d'une multitude de xénobiotiques, tels les composés organiques volatils ou certains agents thérapeutiques comme le chlorzoxazone ou l'acétaminophène. De récentes recherches ont permis de mettre en évidence que l'expression de cet isoforme durant le développement était régulée par des processus d'hyperméthylation et de déméthylation (Vieira et al. 1996; Johnsrud et al. 2003). Ainsi en jouant sur le degré d'expression de CYP2E1, ces mécanismes sont à l'origine de la distinction existant au niveau de la clairance intrinsèque observées entre l'enfant et l'adulte, particulièrement pour le nouveau-né (Alcorn et McNamara 2002).

L'efficacité de la clairance métabolique est modulée par les changements qui s'opèrent durant tout le développement au niveau du volume et de la perfusion hépatique, du type et de la concentration enzymatique et la disponibilité des protéines sanguines de transport. Ainsi, les éléments présentés mettent en lumière le fait que l'immaturation physiologique, anatomique et biochimique de l'enfant peuvent affecter le métabolisme des substances et qu'elle est à l'origine des différences toxicocinétiques observées par rapport à l'adulte.

1.4.2.3.5. Modulation des capacités d'excrétion

La clairance rénale comprend les processus de filtration glomérulaire, de sécrétion tubulaire et de réabsorption tubulaire. Généralement, ces mécanismes régisseurs ne sont pas complètement développés à la naissance et les capacités d'excrétion du nouveau-né en particulier sont assez limitées. Les changements qui se produisent de 0 à 1 an augmentent considérablement l'efficacité de l'élimination par voie rénale; l'apport sanguin aux reins augmente, la filtration glomérulaire s'améliore et le nombre de tubules rénaux s'élève (Alcorn et McNamara 2003). Généralement, le développement rapide du système rénal permet que les capacités d'excrétion adulte soient atteintes avant l'âge d'1 an. Malgré tout, l'efficacité de cette voie d'élimination est souvent limitée chez le nouveau né et les capacités des enfants de moins de 1 an sont très différentes des valeurs obtenues pour l'adulte.

L'immaturation du nouveau-né et le développement postnatal impliquent toute une série de changements physiologiques, anatomiques, biochimiques et comportementaux qui modulent la pharmacocinétique des substances. Les enfants se distinguent de l'adulte, de

façon plus ou moins importante en termes d'absorption, de distribution, de biotransformation et d'excrétion. Outre une différence adulte-enfant, le développement induit des variations toxicocinétiques au sein même de la population infantile. En agissant sur l'exposition et la pharmacocinétique, le développement de l'enfant modulent la dosimétrie et la susceptibilité aux substances (Nong et al. 2006). À vrai dire toutes ces particularités infantiles compliquent et rendent difficile la prédiction des conséquences toxicologiques de l'exposition aux substances chez l'enfant (IPCS 2006).

1.4.3. Particularités de l'enfant en termes de vulnérabilité

L'ensemble des changements (anatomiques, physiologiques, biochimiques, physicochimiques et comportementaux) s'opérant tout au long du développement assurent la morphogenèse, la croissance et le maintien de l'homéostasie dès la naissance (Saliba 2001). Un développement harmonieux suppose une coordination parfaite des processus cellulaires (division, différenciation, migration et élimination cellulaires) impliqués dans les changements structurels et fonctionnels (Saliba 2001). Toute perturbation pourrait être dommageable au développement et à la survie de l'individu. Il est aujourd'hui reconnu que l'exposition précoce (prénatale) à certains agents tératogènes a le potentiel d'engendrer des malformations structurales, des troubles fonctionnels ou la mort de l'organisme (IPCS 2006). Les études toxicologiques menées principalement chez le rat suggèrent que l'exposition postnatale à des contaminants environnementaux peut également induire des perturbations au niveau des systèmes neurologique, reproducteur, rénal, endocrinien, immunitaire et respiratoire selon le stade de développement de l'individu (IPCS 2006). Quelques contaminants sont reconnus pour leur toxicité à l'égard

de certains groupes d'enfants (nouveau-né - adolescent); c'est notamment le cas du plomb, des BPC, d'agents antinéoplasiques, de l'alcool (IPCS 2006) (Tableau I.).

Tableau I. Systèmes affectés par les contaminants environnementaux selon le stade de développement de l'organisme ^a

Système affecté	Période de susceptibilité			
	Nouveau-né (0-28 jours)	1 mois-1 an	1-12 ans	12-18 ans
Neurologique		X	X	
Reproducteur				X
Rénal	X			
Endocrinien		X	X	
Immunitaire			X	
Respiratoire	X	X	X	

^a (IPCS 2006).

Chaque système se développe de façon asynchrone et indépendante; chacun d'eux présente une ou plusieurs périodes critiques de vulnérabilité durant lesquelles toute atteinte aura des répercussions sur la survie de l'organisme, dans l'immédiat et/ou dans le futur (cancer, maladie dégénératives) (IPCS 2006). Les contaminants environnementaux, en interférant avec les processus responsables du développement, peuvent aisément

compromettre la survie des enfants contrairement à l'adulte, pour qui les structures sont déjà en place. Les enfants présentent donc une vulnérabilité supplémentaire aux substances comparativement à l'adulte.

Les informations contenues dans les sections précédentes permettent de mettre clairement en lumière les nombreuses particularités anatomiques, physiologiques, biochimiques, comportementales de l'enfant. Ces spécificités, résultant du développement progressif de l'organisme durant la période postnatale se traduisent par une différence toxicologiques adulte-enfant marquée qui se manifeste tant au niveau de l'exposition, que de la vulnérabilité ou de la toxicocinétique. Par ailleurs, il est capital de souligner qu'au delà d'une différence adulte-enfant, les changements occasionnés par le développement induisent également une certaine variabilité au sein même de la population des enfants.

1.5. L'exposition aux mélanges de contaminants, une réalité

Les études toxicologiques menées au cours du siècle dernier portaient essentiellement sur l'analyse des effets résultant de l'exposition à un seul contaminant à la fois (Krishnan et Brodeur 1991; Yang 1994; Monosson 2005). Toutefois, l'idée qu'un individu puisse être exclusivement exposé, tout au long de sa vie, à une seule et même substance semble plutôt improbable voire impossible (Krishnan et Brodeur 1991). En effet l'homme entre en contact avec une multitude de contaminants au cours de ses activités quotidiennes (travail, loisirs, alimentation, traitement médical, douche); la contamination peut provenir de l'ingestion d'eau ou d'aliments, de l'absorption de médicaments, de l'inhalation d'air ou par contacts cutanés avec divers agents toxiques. Les scénarios d'exposition (voies, sources, durée et fréquence) sont infinis et la diversité de xénobiotiques et de sources

(industrielles, urbaines, agricoles) est telle, qu'il est plus raisonnable de considérer l'exposition aux mélanges comme une réalité (Casarett et al. 1996). Incontestablement, les organismes courent le risque élevé d'être confrontés au cours de leur vie à des combinaisons de xénobiotiques (Krishnan et Brodeur 1991).

1.5.1. La réponse à l'exposition au mélange

Le danger réside dans le fait qu'une fois dans l'organisme ces substances ont la possibilité d'interagir entre elles. Lorsque les composants du mélange agissent sur des organes cibles différents, par le biais de mécanismes distincts et qu'ils expriment leur toxicité individuellement sans altérer la toxicité des autres, la réponse est définie comme indépendante. Dans le cas contraire, il y a interaction toxicologique. Celle-ci apparaît dès lors que l'addition d'une substance induit une modification de la toxicité des autres (Krishnan et Brodeur 1991). Lorsque l'effet induit par deux xénobiotiques est équivalent à l'addition de leurs toxicités respectives, la réponse au mélange est qualifiée « d'additive ». À l'inverse, lorsque l'effet des deux substances combinées est moins important que celui observé lorsque chacune d'elle est administrée individuellement, la réponse est définie comme « infra-additive » ou antagoniste ». Dans le cas où l'effet des deux agents toxiques est supérieur à celui prédit par la simple addition de leurs effets toxiques respectifs, l'interaction est dite « supra-additive ». Au sein de cette même catégorie sont distinguées deux situations; à savoir la synergie et la potentialisation. La première est observée dans les cas où l'un des composés du mélange augmente significativement les effets toxiques de l'autre. La potentialisation se produit lorsqu'un agent agit comme un catalyseur en présence d'un autre et qu'il augmente la toxicité de ce dernier (Krishnan et Brodeur 1991; Casarett et al. 1996; Hayes 2001).

1.5.1.1. Les interactions toxicologiques

Du moment où un organisme est exposé à deux agents toxiques ou plus, que ce soit de façon simultanée ou séquentielle, il est fréquent que des interactions toxicologiques se produisent (Yang 1994). Les interactions toxicologiques sont la conséquence d'altérations de processus toxicocinétiques ou toxicodynamiques d'une substance par une autre (Krishnan et Brodeur 1991; Yang 1994). L'interaction est qualifiée de TK lorsque la présence d'un autre xénobiotique altère l'absorption, la distribution, la biotransformation ou l'excrétion de l'autre (Casarett et al. 1996). Les études portant sur les interactions TK sont nombreuses (Haddad et al. 2001). Lorsque la présence d'un xénobiotique augmente ou diminue le métabolisme des autres, l'interaction est dite métabolique. La biotransformation est un processus essentiel dont le but ultime est de faciliter l'élimination des substances potentiellement toxiques. L'exposition simultanée à deux substances métabolisées par la même enzyme fait en sorte que chacune inhibe la biotransformation de l'autre (Krishnan et Brodeur 1991). La situation peut devenir problématique à partir du moment où l'augmentation des doses internes est telle que l'interaction métabolique induit indirectement des lésions importantes à l'organisme. Étant donnée la gravité des dommages pouvant être causés par les interactions de type métabolique et la fréquence d'occurrence de ce type d'interaction, il apparaît essentiel de développer des outils permettant d'évaluer le risque relatif à ce genre de scénarios (l'exposition au mélange).

1.5.1.2. Évaluation du risque associé aux interactions métaboliques

L'approche conventionnelle utilisée en analyse de risque lors de l'exposition à un mélange de contaminants environnementaux consiste à calculer l'indice de danger (HI) comme suit :

$$HI = \sum_{i=1}^n \frac{D_{Exp_i}}{RfDI_i} \quad \text{Équation (3)}$$

où HI, représente l'indice de danger (compris entre 0 et 1); D_{Exp} , la dose d'exposition, RfDI la dose de référence, i les composants du mélange et n le nombre de substances présentes dans le mélange (Haddad et al. 2001). Cependant l'utilisation de cette approche ne permet réellement pas de considérer les interactions toxicocinétiques, notamment au niveau du métabolisme. Idéalement, il convient de déterminer la dose interne retrouvée dans le sang ou au niveau de l'organe cible pour une analyse de risque plus raffinée. Haddad et collaborateurs (2001) ont proposé de modifier l'équation originale pour la suivante :

$$HI = \sum_{i=1}^n \frac{DI_i}{RfDI_i} \quad \text{Équation (4)}$$

où HI, représente l'indice de danger (compris entre 0 et 1); DI, la dose interne, RfDI la dose interne correspondant à la dose de référence, i les composants du mélange et n le nombre de composant du mélange (Haddad et al. 1999). Ainsi, grâce à l'adoption de cette approche, il devient possible de mesurer l'impact de l'addition d'une substance à partir des variations de doses internes. En contrepartie, cette équation implique l'utilisation

d'outils permettant de décrire l'absorption, la distribution, la biotransformation et l'élimination des substances présentes sous forme de mélange (Tardif et al. 1997; Haddad et al. 2001).

1.6. La modélisation pharmacocinétique à base physiologique (PCBP)

Les processus d'absorption, de distribution, de biotransformation et d'excrétion peuvent être décrits mathématiquement à l'aide de la modélisation pharmacocinétique à base physiologique (Yang 1994). En considérant l'organisme comme un ensemble de compartiments interconnectés par la circulation sanguine, il devient possible de caractériser les relations mécanistiques existant entre l'exposition, la physiologie et le devenir des xénobiotiques dans l'organisme (Yang 1994). Pour établir ce lien de causalité, les modèles PCBP se basent sur une description rigoureuse des structures anatomiques et des processus physiologiques qui régulent la toxicocinétique des substances (Hayes 2001).

1.6.1.1. Modélisation des interactions toxicologiques : l'approche binaire

Les modèles PCBP se sont montrés particulièrement adéquats pour prédire les conséquences TK de l'exposition d'un individu à un mélange de substances (Tardif et al. 1997; Haddad et al. 2001). Les études d'interactions toxicologiques menées jusqu'à présent reposent sur le principe suivant; il est présumé que chaque mélange est en réalité un assemblage de couple de polluants et que l'interaction naît de la modulation de la toxicocinétique d'un agent chimique par un autre (Yang 1994). Ainsi, l'approche utilisée pour étudier les interactions toxicologiques consiste à décomposer le mélange sous forme

de paires de contaminants et d'étudier l'interaction à l'échelle binaire (Tardif et al. 1997; Krishnan et al. 2002).

1.6.1.2. Modélisation des interactions toxicologiques de type métabolique

L'adoption de cette méthode a d'ailleurs permis de créer et de valider chez le rat et l'humain un modèle PCBP simulant l'interaction métabolique se produisant lors de l'exposition à un mélange de toluène, m-xylène et éthylbenzène (TEX) (Tardif et al. 1997). Ces substances induisent généralement une dépression du système nerveux central suite à leur pénétration dans les membranes des neurones (Dennison et al. 2005). Ces composés organiques volatils sont tous trois métabolisés par une seule et même enzyme, le CYP2E1. Dans le cas d'exposition au mélange TEX, chaque constituant du mélange compétitionne pour la liaison à l'enzyme et l'interaction métabolique survient à partir du moment où l'addition d'une des trois substances limite le métabolisme des autres (Tardif et al. 1997; DE Rosa et al. 2004). Dans cette situation d'inhibition compétitive, l'interaction métabolique est décrite à l'aide de l'équation de Michaelis-Menten quelque peu ajustée

$$RAM_t = \frac{V_{max_t} \times Cvf_t}{Km_t \left(1 + \frac{Cvf_x}{Ki_{xt}} + \frac{Cvf_e}{Ki_{et}} \right)} \quad \text{Équation (5)}$$

Où RAM_t , V_{max_t} et Km_t représentent respectivement le taux métabolique, la vitesse maximale, la constante Michaelis-Menten. Cvf_t , Cvf_x et Cvf_e représentent les concentrations veineuses hépatiques en toluène, m-xylène et éthylbenzène, Ki_{xt} et Ki_{et} les constantes d'inhibition du m-xylène et de l'éthylbenzène sur le toluène. Pour simuler l'interaction métabolique résultant de l'exposition à un mélange TEX, il convient de

développer cette équation pour le m-xylène et l'éthylbenzène et de les intégrer dans un modèle PCBP conventionnel.

L'adoption de cette méthode a notamment permis d'étendre l'étude d'interactions métaboliques à d'autres composés organiques volatils et à des mélanges plus complexes (Haddad et Krishnan 1998; Haddad et al. 1999; Haddad et al. 2000). Ces études ont notamment démontré qu'il était effectivement possible de prédire la cinétique des composantes d'un mélange complexe en tenant seulement compte des constantes d'inhibition de niveau binaire. Ils permettent d'évaluer l'impact de l'addition d'une substance sur la dose interne de la substance initialement présente. De ce fait, les modèles PCBP constituent aujourd'hui des outils de choix pour estimer les conséquences toxicocinétiques de l'exposition à certains mélanges de contaminants environnementaux. Par ailleurs, ceux ci facilitent considérablement l'analyse de risque relative à l'exposition aux mélanges de substances (Haddad et al. 2001; Nong et al. 2006).

1.6.1.3. Modélisation PCBP chez l'enfant

Outre les simulations d'exposition à des mélanges de COV, les modèles PCBP semblent également appropriés pour voir dans quelle mesure la physiologie de l'organisme (grossesse, allaitement, vieillissement, pathologie, fœtus) influencent les doses internes. La base descriptive du modèle PCBP fait qu'il correspond aux genres d'outils nécessaires pour approfondir les connaissances en toxicologie infantile. Comme vu précédemment (Section II), le développement de l'enfant (gain de poids, modification des proportions tissulaires, maturation enzymatique, etc.) implique une modulation de la pharmacocinétique (absorption, distribution et élimination) des substances. Étant basés sur une description rigoureuse de la physiologie, les modèles PCBP sont capables de

prédire les conséquences toxicocinétiques résultant de l'exposition d'un enfant à un xénobiotique. L'efficacité des modèles PCBP à décrire l'impact des changements physiologiques et biochimiques de l'enfant sur la toxicocinétique des substances dans l'organisme a déjà été démontrée (Price et al. 2003; Ginsberg et al. 2004a; Nong et al. 2006).

La grande souplesse des modèles PCBP permet non seulement de moduler les caractéristiques physiologiques de l'individu, mais également d'adapter les scénarios d'exposition. Il est possible d'ajuster le modèle de manière à ce que le scénario d'exposition se rapproche le plus possible de la réalité. Comme vu précédemment, dépendamment du stade de développement les enfants présentent également quelques particularités qui modulent leur exposition (ingestion de lait maternel, réflexe d'apporter tout à la bouche). La flexibilité des modèles PCBP offre la possibilité d'adapter les concentrations, fréquences, durées et voie d'exposition afin que les conditions d'exposition soient reproduites le plus fidèlement possible (Hayes 2001). Ainsi, la base descriptive des modèles PCBP et leur grande malléabilité font qu'ils constituent le genre d'outils qui se prête bien à l'évaluation de l'impact de l'exposition infantile à certains contaminants environnementaux.

1.6.1.4. Modélisation PCBP et variabilité interindividuelle

Les modèles PCBP standards sont généralement construits à partir de paramètres biologiques de référence permettant de décrire la physiologie et la biochimie de l'individu moyen (Hayes 2001). Un modèle PCBP classique ne tient pas compte de la variabilité interindividuelle qui existe au sein de la population. Cependant, étant donnée l'implication des paramètres physiologiques dans la vulnérabilité aux substances, de plus

en plus de chercheurs tente de développer des méthodes fiables permettant de considérer l'incertitude reliée à la variabilité interindividuelle dans les modèles PCBP (Bois 1999). Une des approches utilisées pour estimer l'impact de cette variabilité sur la dose interne, consiste à coupler modélisation pharmacocinétique à base physiologique (PCBP) et simulation Monte Carlo (MC) (Thomas et al. 1996a; Thomas et al. 1996b; Tardif et al. 2002). Cette méthode permet d'évaluer la propagation de l'incertitude à travers le modèle PCBP, suite à l'incorporation de la description des distributions des paramètres entrants. Une alternative possible consiste à concevoir des modèles PCBP individuels basés sur les caractéristiques physiologiques et biochimiques propres à chaque individu (déterminées expérimentalement). Cette approche a d'ailleurs permis de caractériser et de mettre en évidence l'ampleur de la variabilité de la dose interne existant au sein d'une population d'enfant. Ainsi, les modèles permettent également d'intégrer le concept de variabilité interindividuelle et d'estimer quel pourrait être l'impact toxicocinétique de la variabilité interindividuelle. Ainsi, l'atout des modèles PCBP réside non seulement dans leur capacité à décrire le devenir des substances dans l'organisme mais également dans leur grande malléabilité. En effet, il est possible de faire varier les conditions d'exposition, la physiologie et la biochimie des individus, et il est également possible de considérer dans une certaine mesure la variabilité interindividuelle existant au sein de la population.

1.7. Problématique

L'exposition aux mélanges de contaminants environnementaux est une réalité à laquelle chaque individu fait face, quel que soit son âge. Sous de telles conditions, les contaminants peuvent interagir entre eux et moduler les effets toxicologiques auxquels

chacun d'eux est normalement associé. En effet, la situation devient problématique à partir du moment où ces interactions occasionnent une élévation des doses internes. Les modèles PCBP se sont révélés particulièrement adaptés pour prédire les conséquences toxicologiques des interactions métaboliques se produisant notamment dans le cadre d'exposition aux mélanges de COV. Bien que les enfants soient également confrontés à ce type de mélanges, les modèles d'interaction proposés jusqu'à présent n'ont été développés que pour l'adulte. L'enfant présente certaines particularités comparativement à l'adulte qui compliquent considérablement l'estimation de doses internes et le développement de modèles PCBP chez l'enfant. En effet, le développement postnatal implique de nombreux changements (physiologiques, anatomiques, biochimiques, et comportementaux) qui modulent entre autres l'exposition et la toxicocinétique des substances chez l'enfant. La grande souplesse des modèles PCBP fait qu'ils sont potentiellement capables de prédire les conséquences toxicologiques résultant de l'exposition infantile à un mélange de COV. L'élaboration de modèles PCBP simulant l'exposition infantile aux mélanges serait particulièrement intéressante étant donné que (i) l'éthique prohibe toutes études expérimentales portant sur les interactions toxicologiques chez l'enfant, et (ii) les organismes réglementaires discutent actuellement de la possibilité de rajouter un facteur d'incertitude additionnel de 10 dans le but de protéger les enfants contre les interactions toxicologiques en cas d'expositions mixtes.

1.8. Objectif de l'étude

L'objectif de ce travail est donc de développer des modèles PCBP simulant l'interaction métabolique entre COV chez l'enfant en tenant compte des particularités existant au sein de la population en termes de physiologie et de scénario d'exposition.

1.9. Organisation du mémoire

La première étude vise à simuler l'inhalation par l'enfant d'un mélange d'alkyl-benzènes composé de toluène, m-xylène et éthylbenzène. Afin d'estimer quel est l'impact de la variabilité inter-âge sous de telles conditions, des modèles PCBP ont été développés pour l'enfant à différents stades de croissance (nouveau-né, nourrisson, enfant en âge préscolaire, et le préadolescent). Dans un deuxième temps, après avoir identifié les paramètres clés impliqués dans la régulation de la dosimétrie chez l'enfant, des simulations Monte Carlo ont été effectuées avec chacun des modèles générés pour mesurer les conséquences toxicocinétiques de la variabilité interindividuelle infantile en présence du mélange TEX. Les exercices effectués permettent d'évaluer l'incertitude liée à l'hétérogénéité physiologique et biochimique retrouvée au sein de la population des enfants dans le cadre d'exposition à un mélange de COV.

La deuxième étude permet d'étudier le transfert mère-nouveau-né via le lait maternel d'un mélange de COV, en l'occurrence un mélange TEX. Ce dernier travail permet de voir l'impact toxicocinétique de certaines particularités du nouveau-né en termes

d'exposition. Ce travail permet notamment de voir l'éventuelle contribution de l'exposition professionnelle maternelle à un mélange de COV sur la TK du nouveau-né.

Le développement de modèles PCBP d'interaction métabolique chez l'enfant a pour objectif de raffiner les connaissances en termes d'exposition et de pharmacocinétique des mélanges chez l'enfant et de vérifier s'il y a une base scientifique à l'utilisation d'un facteur d'incertitude supplémentaire relié aux interactions toxicologiques chez les jeunes enfants.

ARTICLE I

Adamou Thérèse, Haddad Sami, Krishnan Kannan. 2007. Modélisation de la pharmacocinétique d'un mélange d'alkyl benzènes chez l'enfant à différents stade de croissance. Revue canadienne de physiologie et pharmacologie.xxxxxxxx

Modélisation de la pharmacocinétique d'un mélange d'alkyl benzènes chez l'enfant à différents stades de croissance

Adamou T.¹, Haddad S.² and Krishnan K.¹

¹Université de Montréal, Montréal, Qc, Canada

²Université du Québec à Montréal, Montréal, Qc, Canada

Adresse de correspondance :

Kannan Krishnan, Département de Santé Environnementale et Santé au Travail

Université de Montréal, Montréal, H3T 1A8, Qc, Canada

2.1. Résumé

L'objectif de l'étude était de modéliser les interactions métaboliques chez l'enfant exposé à un mélange d'alkyl benzènes. Un modèle pharmacocinétique à base physiologique (PCBP) simulant les interactions métaboliques entre le toluène (T), le m-xylène (X) et l'éthylbenzène (E) a précédemment été développé et validé chez l'homme adulte. L'approche consistait donc à adapter ce modèle adulte, à l'enfant, en réajustant (1) les paramètres physiologiques (débit cardiaque et pulmonaire, perfusions et volumes tissulaires) et (2) le contenu hépatique en CYP2E1. Des modèles simulant l'inhalation du mélange TEX (T 17 ppm + X 33 ppm + E 33 ppm) ont donc été générés pour l'enfant à différents stades de développement. Les distributions des paramètres influençant les doses internes en présence du mélange TEX (le débit pulmonaire, contenu hépatique en CYP2E1 et ratio débit cardiaque/pulmonaire) ont également été intégrées dans chaque modèle. Les simulations Monte Carlo effectuées ont permis de démontrer que seule la population de nouveau-nés présentait une dosimétrie particulière en présence du mélange, comparativement à l'adulte. L'exposition de la population de nouveau-nés au mélange TEX (0,44 ppm de T, 0,023 ppm de X et 0,023 ppm de E durant 24 heures) a les mêmes répercussions en termes de dose interne de T qu'une augmentation de 10% de la dose interne moyenne en T de la population adulte exposée à 1 ppm de T (24 heures). Ainsi, cette étude démontre qu'il est possible de modéliser les interactions métaboliques chez l'enfant à condition de tenir compte de la variabilité interindividuelle physiologique biochimique. Une nouvelle approche permettant d'estimer le risque encouru par les nouveau-nés exposés aux mélanges de COV selon une approche probabiliste a également été proposée.

Mot clé : PCBP, interaction métabolique, COV, CYP2E1, variabilité interindividuelle,
enfant

2.2. Introduction

L'exposition aux mélanges de contaminants est une réalité (Krishnan et Brodeur 1994). Le danger, dans ce genre de situation, réside dans le fait que les composés peuvent, sous de telles conditions, interagir entre eux et moduler les doses internes (DI) et le risque auxquels ils sont normalement associés (Krishnan et Brodeur 1994). Tardif et collaborateurs (1997) ont pu simuler à l'aide d'un modèle pharmacocinétique à base physiologique (PCBP), l'interaction métabolique se produisant chez l'homme adulte exposé à d'un mélange de toluène (T), m-xylène (X) et éthylbenzène (E) (TEX). L'interaction entre ces trois composés organiques volatils (COV) naît de la compétition pour la liaison à l'enzyme métabolisante, le cytochrome P450 2E1 (CYP2E1). Sous ces conditions, chaque constituant du mélange (TEX) peut inhiber le métabolisme des autres et induire une élévation des DI (Tardif et al. 1997). La modélisation PCBP se révèle particulièrement efficace et adaptée pour prédire les conséquences toxicocinétiques (TK) de ce genre de scénario (Tardif et al. 1997; Haddad et al. 2000; Krishnan et al. 2002).

Les enfants constituent un sous-groupe de la population également concerné par l'exposition aux mélanges. Leur situation est d'autant plus préoccupante qu'il a été démontré (cas d'exposition individuelle) que les concentrations sanguines infantiles en polluant pouvaient être plus élevées que celles de l'adulte, sous des conditions d'exposition identiques (Pelekis et al. 2003; Price et al. 2003a; Nong et al. 2006). Les enfants présentent effectivement certaines particularités biologiques qui peuvent moduler la TK des substances dans l'organisme (comparativement à l'adulte). Durant toute la période postnatale, la physiologie et la biochimie de l'enfant évoluent; les volumes, débits et compositions tissulaires varient, les systèmes enzymatiques régissant le

métabolisme également (Crom 1994; Ginsberg et al. 2002; Ginsberg et al. 2004b; Edginton et al. 2006). De récentes études portant sur l'ontogenèse du CYP2E1, ont d'ailleurs mise en évidence les brusques changements des concentrations microsomales en CYP2E1 qui se produisent chez l'enfant (Vieira et al. 1996; Alcorn et McNamara 2002; Johnsrud et al. 2003). En effet, généralement retrouvé en très faible quantité chez le fœtus, la concentration microsomale en CYP2E1 augmente brutalement à la naissance, pour atteindre la teneur adulte moyenne vers l'âge de 3 mois (Vieira et al. 1996; Johnsrud et al. 2003). Ces changements peuvent considérablement affecter la clairance des substances métabolisées par cette enzyme, telles le T, X ou E. Noter également qu'au delà du métabolisme, les changements relatifs au développement peuvent aussi moduler l'excrétion, l'absorption ou la distribution. Ainsi, l'enfant se distingue de l'adulte à plus d'un niveau. Toutefois, il est capital de savoir que des différences sont également observées au sein même de la population des enfants (Alcorn et McNamara 2003; Johnsrud et al. 2003; Price et al. 2003a; Ginsberg et al. 2004a; Nong et al. 2006). Bien que souvent considérée comme uniforme, cette dernière présente une hétérogénéité considérable. En effet les changements qui accompagnent le développement font que les spécificités métaboliques et physiologiques infantiles varient selon le degré de maturité (Price et al. 2003a). Outre cette variabilité inter-âge, la variabilité interindividuelle inhérente à chaque population est également retrouvée chez l'enfant (Johnsrud et al. 2003; Dorne 2004; Ginsberg et al. 2004a). Nong et collaborateurs (2006) ont d'ailleurs récemment démontré combien cette « variabilité interindividuelle infantile » pouvait influencer la TK des substances (dans le cas d'exposition à une seule substance).

Sachant cela, la TK des substances chez l'enfant exposé à un mélange de COV ne devrait-elle pas différer de celle de l'adulte? Les doses internes dans le cadre d'exposition à un mélange sont-elles affectées par le degré de développement de l'enfant? Aucune étude n'a tenté à ce jour d'étudier les interactions métaboliques entre COV chez l'enfant. Cette étude a donc pour objectif de développer des modèles PCBP d'interaction simulant l'inhalation du mélange TEX chez l'enfant à différent stade de croissance.

2.3. Matériel et Méthode

Modèle PCBP d'interaction chez l'enfant

L'approche consistait à ajuster le modèle PCBP créé et validé par Tardif et collaborateurs (1997) simulant l'exposition de l'adulte au mélange (TEX), à la physiologie et biochimie infantile (Figure 1). Afin d'étudier l'influence de la variabilité inter-âge, des modèles PCBP ont été construits pour l'enfant à différents stades de développement. Les catégories d'âge ont été déterminées comme suit; soit, 4 groupes respectivement formés par des enfants âgés de 0 à 1 mois né à terme (nouveau-né), des enfants âgés de 1 à 3 mois (nourrisson), des enfants en âge préscolaire, soit de 1 à 2 ans (préscolaire) et d'autres en âge scolaire âgés de 8 à 13 ans (préadolescent). En raison du manque de données, les paramètres physicochimiques adultes (coefficients de partage (tissu : sang et sang : air)) ainsi que les constantes d'inhibition caractérisant chaque substance, ont été conservés chez l'enfant (Tableau I et II).

Paramétrisation physiologique

Dans le cas présent, les paramètres physiologiques requis pour la construction de chacun des modèles infantiles proviennent, de données expérimentales pour le poids corporel et les volumes hépatiques (Haddad et al. 2001), ou d'équations décrivant le poids corporel et les volumes de chaque organe en fonction de l'âge, pour les volumes de tissus adipeux et de tissus faiblement perfusés (Price et al. 2003a). Le volume du dernier compartiment, soit « reste du corps » a été obtenu en soustrayant au poids corporel la somme des volumes des trois premiers compartiments (foie, tissus adipeux, tissus faiblement perfusés) (Tableau III).

Les débits alvéolaire et cardiaque ont été déterminés à partir d'équations reliant l'âge aux débits pulmonaire et cardiaque (Price et al. 2003a) (Tableau III). Pour les enfants de plus de quatre ans, les données pour le débit hépatique ont une origine expérimentale (Tableau III) (Szantay et al. 1974). Par contre, le manque de données expérimentales concernant la perfusion hépatique chez l'enfant de moins de 4 ans, a contraint à déduire celle-ci, de l'équation suivante :

$$Q_{f\ 4ans} / V_{f\ 4ans} = Q_f / V_f \quad \text{Équation (1)}$$

L'approche est basée sur l'idée que le rapport entre le débit (L/h) et volume hépatique (L) est constant chez l'enfant de moins de 4 ans. Le volume et le débit hépatique de l'enfant de 4 ans correspondent respectivement à 0,57 L (Johnsrud et al. 2003) et 19,5 L/h (Szantay et al. 1974)). Ainsi, il est possible de déduire, pour un nouveau-né par exemple, la valeur pour perfusion hépatique (Q_f) si le volume hépatique pour ce groupe d'âge est connu (V_f) (Tableau III).

Paramétrisation biochimique

Les vitesses maximales (V_{max}) pour chacune des substances et pour chacune des tranches d'âge ici considérées, ont été calculées à partir de l'équation suivante :

$$V_{max} = A.S_{2E1} \times [2E1] \times [MSP] \times V_f \quad \text{Équation (2)}$$

V_f et $[2E1]$ représentent respectivement, le volume hépatique (L) et la concentration microsomale moyenne de CYP2E1 (pmol CYP2E1/mg MSP) correspondant à chaque groupe d'âge (Lipscomb et al. 2003). $[MSP]$ correspond au contenu microsomal hépatique (mg de MSP/g de foie); il est considéré comme égal à 52,9 mg MSP/ g de foie et invariable quel que soit l'âge (Tardif et al. 1997). $A.S_{2E1}$ (mg de métabolite/h/pmol

CYP2E1) représente l'activité spécifique du CYP2E1 propre à chaque contaminant (Tableau IV). L'activité enzymatique est considérée comme une constante et a été calculée pour chacune des substances à partir de l'équation suivante :

$$A.S_{2E1} = \frac{V \max_{adulte}}{[2E1]_{adulte} \times [MSP]_{adulte} \times V_{f \text{ adulte}}} \quad \text{Équation (3)}$$

où $V \max_{adulte}$ correspond à la vitesse maximale adulte déterminée par Tardif et ses collaborateurs en 1997, $V_{f \text{ adulte}}$ et $[2E1]_{adulte}$ représentent respectivement, le volume hépatique (L) et la concentration microsomale moyenne de CYP2E1 (pmol CYP2E1/mg MSP) adulte, soit respectivement 1,82 L et 48,9 pmol2E1/mg MSP et $[MSP]$ le contenu microsomal hépatique (mg de MSP/g de foie), qui est considéré comme égal à 52,9 mg MSP/ g de foie. Les vitesses maximales pour chaque groupe d'âge correspondant aux trois substances ont ainsi pu être calculées et rassemblées dans le tableau IV. La constante de Michaelis-Menten (K_m) pour chacune des substances est quant à elle considérée comme une constante.

Simulation PCBP

L'exposition à mélange toluène (17ppm) m-xylène (33ppm), éthylbenzène (33ppm) des enfants et de l'adulte a été simulée durant 7 heures à l'aide du logiciel ACSLXtreme v2.0.1.7 (Advanced Continuous Simulation Language d'Aegis Technologies Group Inc, Huntsville, AL). Les profils pharmacocinétiques de chaque contaminant ont été établis dans l'optique de comparaisons futures. Le système nerveux central étant l'organe cible du T, X et E, et les dommages étant provoqués par la forme inchangée (produit mère) de chacune de ces substances, la concentration veineuse maximale (C_{vmax}) a été choisie

comme dose interne, conformément à l'étude de Dennison et collaborateurs (2005) (Price et al. 2003a; Ginsberg et al. 2004c; Dennison et al. 2005).

Amplitude d'interaction

Sachant que l'interaction TEX est de type métabolique, les effets de l'interaction devraient être ressentis au niveau des concentrations veineuses maximales (C_{vmax}) (Tardif et al. 1997; Loizou et Sams 2004). L'amplitude d'interaction (M_{Gi}), indice de l'impact de l'exposition au mélange sur la TK, a donc été calculée selon l'équation suivante :

$$M_{Gi} = (C_{vmax\ 24h\ mix} / C_{vmax\ 24h\ ind}) \quad \text{Équation (4)}$$

$C_{vmax\ 24h\ mix}$ et représente la concentration veineuse maximale relevée lorsque l'inhalation du mélange TEX (17 ppm de T, 33 ppm de X et 33 ppm de E) durant 24 heures est simulée ; M_{Gi} représente l'amplitude d'interaction. M_{Gi} a été calculée pour chaque substance et pour les cinq groupes d'âge (enfants et adulte).

Analyse de sensibilité

Une analyse de sensibilité visant à déterminer quels sont les paramètres influençant le plus les concentrations veineuses dans chacune des situations (exposition individuel ou mixte) a par la suite été conduite pour chaque groupe d'âge. Le pourcentage de variation appliqué à chacun des paramètres (poids corporel; débits alvéolaire et pulmonaire; perfusions et volumes des tissus adipeux et pauvrement perfusés, du foie; concentration microsomale en cytochrome P450 2E1) pour mesurer la variation des concentrations veineuses maximales était de 10 %.

Variabilité interindividuelle des paramètres physiologiques et biochimiques

Les modèles PCBP couplés à l'approche Monte Carlo facilitent la prédiction des conséquences TK de la variabilité interindividuelle des paramètres entrants (Dennison et al. 2004). Ainsi, après avoir retranscrit les modèles PCBP d'interaction dans un tableur Excel ®, selon la méthode proposée par Haddad et ses collaborateurs (1996), les descriptions de distribution des paramètres influençant le plus la TK des substances (selon les résultats de l'analyse de sensibilité précédente) ont été intégrés dans le tableur à l'aide du logiciel Crystal ball® (version 7.3, Decisioneering, Inc. Denver, CO). Les provenances bibliographiques des informations traitant de la distribution du poids corporel, des volumes de foie et concentrations enzymatiques infantiles et adultes sont répertoriées dans le Tableau VI. Une fois l'intégration de ces informations achevée, les distributions des doses internes retrouvées au sein des cinq populations inhalant le mélange TEX durant 24 heures ont pu être obtenues (1000 itérations) et les percentiles (50^{ème} et 95^{ème}) des doses internes ont pu être déterminés.

2.4. Résultats

Simulation PCBP

Les simulations (effectuées à l'aide des modèles PCBP) de l'inhalation d'un mélange de toluène (33 ppm), m-xylène (17 ppm), éthylbenzène (17 ppm) (exposition mixte) pendant 7 heures par des enfants de différentes classes d'âge ainsi que par l'adulte sont présentées dans la figure 2. D'après celle-ci, les concentrations veineuses les plus élevées sont retrouvées chez les enfants les plus jeunes (nouveau-né et nourrisson); et ceci sans égard au type de contaminant considéré (T, X ou E). Les concentrations relevées chez les enfants plus âgés (âge préscolaire et préadolescent) sont comparables à celles de l'adulte (Figure 2).

Les mêmes observations ont été faites dans les cas, où les individus étaient exposés à une seule substance à la fois (exposition individuelle); à savoir que les concentrations veineuses maximales (C_{vmax}) les plus élevées ont été obtenues chez le nouveau-né et le nourrisson sans égard à l'agent chimique considéré (Figure 2T, 2X et 2E). Par ailleurs, les concentrations relevées lors de l'exposition simultanée aux trois substances étaient toujours supérieures à celles relevées dans d'exposition individuelle, quels que soient l'âge ou la substance considérée (Figure 2).

Amplitude d'interaction

À partir des valeurs de C_{vmax} répertoriées dans la figure 3, il est possible de calculer les amplitudes d'interaction (M_{gi}); celles-ci oscillent entre 1 et 1,5 dépendamment de la substance et de l'âge considérés. Les amplitudes les plus élevées pour le toluène ont été obtenues chez l'adulte (1,39), suivi du nouveau né (1,27), du nourrisson (1,27), de

l'enfant en âge préscolaire (1,17) et du préadolescent (1,14). Les valeurs relevées dans le cas du m-xylène sont 1,50 pour l'adulte, 1,32 pour le nouveau-né, 1,33 pour le nourrisson, 1,2 pour l'enfant en âge préscolaire et 1,19 pour le préadolescent. Enfin pour l'éthylbenzène, les valeurs pour ces mêmes groupes sont respectivement égales à 1,44; 1,4; 1,11; 1,31 et 1,30. D'un point de vue global, il apparaît que quelle que soit la substance, les valeurs d'amplitudes d'interaction obtenues pour les individus standards (i.e., représentant chaque groupe d'âge) sont comparables.

La figure 4 montre l'amplitude des C_{vmax} de T retrouvées pour une population de nouveau-nés ($n = 20$), et d'adultes ($n = 75$), en fonction de la quantité hépatique en CYP2E1 de chaque individu (dans le cadre d'exposition individuelle et mixte). Les amplitudes d'interaction varient au sein de la population de nouveau-nés selon le contenu hépatique en CYP2E1 et oscillent entre 1,15 et 1,36. L'amplitude maximale obtenue dans le groupe de nouveaux-nés correspond à une quantité en CYP2E1 de $0,17 \mu\text{mol CYP2E1}$. Les amplitudes d'interaction varient également au sein de la population adulte; les valeurs maximale et minimale étant égales à 1,69 et 1,1 chez des adultes présentant des quantités de CYP2E1 hépatique respectivement égales à $29 \mu\text{mol 2E1}$ et $8,8 \mu\text{mol 2E1}$ (Figure 4).

Analyse de sensibilité

La sensibilité des concentrations veineuses maximales en éthylbenzène face à une variation de 10 % des paramètres entrants de chaque modèle, est représentée dans la figure 5. Selon celle-ci, quel que soit le scénario d'exposition (E seulement ou TEX) quatre, des dix paramètres testés se distinguent; à savoir la ventilation pulmonaire (Q_p), la

concentration microsomale en CYP2E1 (CYP2E1), le volume du foie (V_f) et le ratio débit cardiaque/débit pulmonaire (Rcp) (Figure 5). Le degré de sensibilité semble varier d'un groupe d'âge à l'autre; les variations les plus importantes étant obtenues chez l'adulte (Figure 5). Les mêmes tendances ont été observées lorsque l'analyse de sensibilité était effectuée à partir des doses internes en T et X (Données non présentées).

Impact de la variabilité des paramètres biochimiques et physiologiques infantiles sur la cinétique des composantes du mélange TEX

La figure 6 illustre les distributions de C_{vmax} de T obtenues lors de la simulation de l'inhalation de 17 ppm de T, 33 ppm de X et 33 ppm E simultanément, par les 5 groupes d'individus durant 24 heures. La distribution des C_{vmax} de T pour la population de nouveau-nés se distingue des autres. La figure 7 représente la distribution des C_{vmax} en T obtenue pour la population adulte exposée à 1 ppm de T pendant 24 heures. La figure 7 présente également la distribution des C_{vmax} de T obtenue lorsque la population de nouveau-nés est exposée au mélange TEX composé de 0,44 ppm de T, 0,023 ppm de X et 0,023 ppm de E. Ces concentrations d'exposition en T, X et E (respectivement 0,44 ppm, 0,023 ppm et 0,023 ppm) ont été choisies de manière à ce que le 95^{ème} percentile de la C_{vmax} en T pour la population de nouveau-nés (exposée au mélange TEX) corresponde à la C_{vmax} en T du 50^{ème} percentile de la population adulte exposée à 1 ppm de T (0,0121 mg/L), plus 10 %; soit 0,0133 mg/L de T (Tableau VII).

2.5. Discussion

L'adaptation à l'enfant du modèle PCBP d'interaction métabolique adulte créé et validé par Tardif et collaborateurs (1997), consistait (1) à remplacer les débits et volumes tissulaires adultes par ceux des enfants, et (2) à intégrer leurs concentrations microsomales en CYP2E1 respectives, de manière à ce que les capacités métaboliques soient réajustées. Les changements effectués ont permis de simuler l'inhalation d'un mélange (TEX) de toluène (T : 17 ppm), m-xylène (X : 33 ppm) et éthylbenzène (E : 33 ppm) chez l'enfant à différents stades de croissance (nouveau-né; nourrisson, enfant en âge préscolaire et préadolescent). D'après la figure 2, seuls les profils cinétiques des enfants âgés de 0 à 3 mois se distinguent de l'adulte. En effet, alors que les concentrations obtenues pour les enfants en âge préscolaire et les préadolescents correspondent approximativement aux concentrations adultes, celles du nouveau-né et du nourrisson sont légèrement supérieures, et ceci quel que soit le scénario d'exposition (individuelle ou mixte). Conformément à de précédentes études, ces résultats démontrent que la TK chez l'enfant est intimement reliée aux changements physiologiques et biochimiques qui s'opèrent durant la période postnatale (Price et al. 2003a).

Les amplitudes d'interaction, révélatrices des répercussions TK de l'exposition au mélange TEX ont été calculées pour chaque groupe d'âge. Tardif et collaborateurs concluaient en 1997, que l'inhalation du mélange TEX (T : 17 ppm, E : 33 ppm et X : 33 ppm) durant 7 heures n'affectait pas significativement la cinétique des substances chez l'adulte (Tardif et al. 1997; De Rosa et al. 2004). Les amplitudes d'interaction calculées chez l'adulte sous ces conditions sont égales à 1,39 pour le T, 1,49 pour le X et 1,44 pour le E. La même opération a été effectuée pour chaque groupe d'enfant; il s'avère que les

ratios de C_{vmax} obtenus sont comparables à ceux de l'adulte, quels que soient la substance (T, X ou E) ou le groupe d'âge considérés. Les valeurs obtenues pour le groupe se distinguant le plus de l'adulte, soit le préadolescent, avoisinent respectivement 1,14 pour le T, 1,19 pour le X et 1,3 pour le E. Ces résultats suggèrent que l'amplitude d'interaction n'est pas influencée par l'âge de l'individu. L'exposition à un mélange de COV (TEX, BTEX, etc.) n'a de conséquences TK chez l'homme adulte, qu'à la condition suivante; soit que les concentrations de chacun des composés du mélange soient supérieures ou égales à 20 ppm (Johnsrud et al. 2003). Autrement dit, les concentrations d'exposition appliquées (T (17 ppm) + E (33 ppm) + X (33 ppm)) ne semblent pas suffisantes pour induire une variation significative de DI chez l'adulte, comme chez l'enfant (quel que soit son degré de maturité). Cependant l'intégration des concentrations enzymatiques hépatiques individuelles dans les modèles développés pour l'adulte et le nouveau-né, révèle que la M_{Gi} varie considérablement au sein même de chacune de ces populations (Figure 4). L'utilisation de paramètres physiologiques et biochimiques standards, sensés représenter un individu typique pour chaque population, ne permet pas, semble-t-il, d'étudier l'interaction métabolique chez l'enfant (Figure 4). Les conclusions peuvent devenir toutes autres à partir du moment où la variabilité interindividuelle (en CYP2E1) est considérée; les M_{Gi} d'interactions minimales et maximales retrouvées dans les groupes vont de 1,1 à 1,36 pour le nouveau-né et de 1,1 à 1,69 pour l'adulte. Ainsi, ces résultats démontrent qu'il est important de tenir compte de l'hétérogénéité physiologique et biochimique existant au sein de la population enfant, et d'adulte d'ailleurs, pour évaluer correctement les conséquences TK de l'exposition au mélange TEX. Cependant, relativement peu de d'études offrent des informations en relation avec

la distribution des paramètres physiologiques et biochimiques chez l'enfant à différents stades de croissance. L'étude de Price et collaborateurs (2003b) fournit de nombreuses données, cependant celles-ci se limitent aux enfants de 1 an et plus. Pour tenter de pallier à ce problème, une analyse de sensibilité a donc été effectuée, de manière à ce que seules les distributions des paramètres les plus sensibles soient recherchées et intégrées aux modèles. Apparemment, la concentration microsomale en CYP2E1, le débit alvéolaire (Q_p), le volume de foie (V_f) et le ratio débit cardiaque/débit alvéolaire (R_{cp}) sont les principaux paramètres régulateurs de la cinétique des trois COV dans le cadre d'exposition mixte (chez l'adulte comme chez l'enfant) (Figure 5). Les simulations Monte-Carlo effectuées avec ces données, ont révélées que la variabilité interindividuelle au niveau de ces paramètres avait d'importantes répercussions en termes de TK, dans chaque des populations à l'étude (Figure 6). Cependant, la variabilité au sein de la population adulte est telle, que seule la population de nouveau-nés se démarque (Figure 6). Des simulations Monte-Carlo complémentaires ont alors été effectuées pour déterminer les concentrations d'exposition en T, X et E à appliquer à la population de nouveau-nés, pour que la C_{vmax} de T du 95^{ème} percentile de cette population (exposée au mélange TEX) dépasse de 10 % la C_{vmax} de T du 50^{ème} percentile de la population adulte exposée à 1 ppm de T (exposition individuelle) (Figure 7). Apparemment, exposer les nouveau-nés à 0,44 ppm de T, 0,023 ppm de X et 0,023 ppm de E simultanément, permet de remplir ces conditions (Tableau VII). Autrement dit, confronter la population de nouveau-nés au mélange TEX composé de 0,44 ppm de T, 0,023 ppm de X et 0,023 ppm de E, a les mêmes répercussions en termes de dose interne qu'une augmentation de 10% de la dose interne moyenne retrouvée pour la population adulte exposée à 1 ppm de

T (Tableau VII). Il s'agit là d'une nouvelle approche qui permet de mesurer l'impact TK de l'exposition infantile au mélange et qui pourrait éventuellement être utilisée en analyse de risque.

Toutefois, les modèles d'interaction infantiles proposés et la véracité des conclusions qui en découlent peuvent être remis en question. Tout d'abord, parce que d'une manière générale, très peu d'études expérimentales fournissent les données physiologiques nécessaires à l'élaboration de PCBP chez l'enfant. Exceptionnellement, les concentrations hépatiques en CYP2E1 et les poids corporels d'enfant à différents stades de développement ont pu être obtenus pour une centaine d'enfants âgés entre 0 et 17 ans (Haddad et al. 2001; Johnsurd et al. 2003; Price et al. 2003a; Nong et al. 2006). Cependant il est très rare que de telles informations soient disponibles. Généralement, les paramètres utilisés pour la construction de modèles PCBP infantiles sont calculés à partir d'équations établissant une relation entre l'âge, le poids corporel, les volumes et les débits tissulaires; ces équations ont d'ailleurs été utilisées pour déterminer les volumes et débits pour les tissus adipeux, tissus faiblement perfusés, et pour les débits cardiaque et pulmonaire (Haddad et al. 2001; Price et al 2003a; Nong et al. 2006). L'utilisation de ces équations constitue une alternative permettant d'obtenir une description approximative de la physiologie infantile (à chaque stade de développement) en l'absence de données expérimentales précises. Cependant, l'utilisation de ces équations, elles mêmes basées sur de très anciennes données, reste toujours discutable (Szantay et al. 1974; Haddad et al 2001). De plus, l'une des plus grandes faiblesses des modèles proposés réside dans le choix des valeurs de débits hépatiques. Très peu de données sont disponibles chez l'enfant, particulièrement chez les moins de 4 ans, pour lesquels aucune donnée n'a été

retrouvée (IPCS 2006). Il a été supposé que le rapport entre le débit (L/h) et le volume hépatique (L) était constant chez l'enfant de 0 à 4 ans. Or, il est reconnu que la perfusion tissulaire n'est pas toujours proportionnelle à la taille de l'organe (Alcorn et McNamara 2002; IPCS 2006). De brusques changements s'effectuent notamment immédiatement après la naissance, avec l'entrée en fonction soudaine de la veine porte-hépatique et la fermeture du canal d'Arantius (Ginsberg et al. 2004c; Lehenaf 2004).

Par ailleurs, l'absence d'informations concernant la variabilité inter-âge et interindividuelle des coefficients de partage sang : air pour le T, le X et le E a contraint à considérer ces paramètres constants. La répartition des substances entre le sang et l'air dépend de la présence de transporteurs (telle l'hémoglobine, les protéines et les lipoprotéines) et de lipides dans le sang. Or, leurs concentrations respectives varient aussi bien au cours du développement, que d'un individu à l'autre (Alcorn et McNamara 2002; Lipscomb et al. 2003; Loizou et Sams 2004). Par ailleurs, il est capital de souligner que le coefficient de partage sang : air joue un rôle majeur dans la modulation de DI dans le cadre d'inhalation de gaz non réactifs (comme T, X ou E). L'influence du coefficient de partage sang.air sur la DI de l'enfant exposé au mélange n'a pas été étudié, et les variabilités interindividuelles et inter-âge au niveau de ce paramètre n'ont pas été considérées. Néanmoins, il est fort probable que ce facteur module considérablement la TK dans le cadre d'exposition infantile au mélange TEX. Compte tenu du manque flagrant d'informations à ce sujet, il est nécessaire que les recherches futures soient dirigées en ce sens.

Pour finir, il est important de noter que l'approche utilisée pour modéliser la variabilité populationnelle existant au niveau de la capacité d'élimination du mélange, consistait à

intégrer les distributions du contenu microsomale en CYP2E1 et du Vf retrouvées au sein des populations. Malheureusement, les contradictions retrouvées dans la littérature ont conduit à considérer la concentration hépatique en microsome (mg MSP/g foie) comme une constante. Toutefois, étant donnée l'influence de la clairance intrinsèque sur les doses internes des COV, il est fort probable que la plus petite variation au niveau de la concentration hépatique en microsome aura des répercussions considérables sur la cinétique des composés du mélange TEX.

La présente étude démontre en premier lieu qu'il est effectivement possible de modéliser les interactions métaboliques entre COV chez l'enfant. Elle révèle également combien il est important de considérer, dans ce genre de situation (exposition mixte), les caractéristiques physiologiques et biochimiques individuelles, avant même de considérer les caractéristiques du groupe d'âge auquel l'individu appartient. Enfin, cette étude propose également une nouvelle méthode permettant d'analyser le risque résultant l'exposition infantile à un mélange de COV selon une approche probabiliste.

2.6. Références

- Alcorn, J. et McNamara, P. J. 2002. Ontogeny of hepatic and renal systemic clearance pathways in infants: part I. *Clin Pharmacokinet.* **41** (12): 959-998.
- Alcorn, J. et McNamara, P. J. 2003. Pharmacokinetics in the newborn. *Adv Drug Deliv Rev.* **55** (5): 667-686.
- Crom, W. R. 1994. Pharmacokinetics in the child. *Environ Health Perspect.* **102 Suppl 11**: 111-117.
- De Rosa, C. T., El-Masri, H. A., Pohl, H., Cibulas, W. et Mumtaz, M. M. 2004. Implications of chemical mixtures in public health practice. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* **7** (5): 339-350.
- Dennison, J. E., Bigelow, P. L. et Andersen, M. E. 2004. Occupational exposure limits in the context of solvent mixtures, consumption of ethanol, and target tissue dose. *Toxicol Ind Health.* **20** (6-10): 165-175.
- Dennison, J. E., Bigelow, P. L., Mumtaz, M. M., Andersen, M. E., Dobrev, I. D. et Yang, R. S. 2005. Evaluation of potential toxicity from co-exposure to three CNS depressants (toluene, ethylbenzene, and xylene) under resting and working conditions using PBPK modeling. *J Occup Environ Hyg.* **2** (3): 127-135.
- Dorne, J. L. 2004. Impact of inter-individual differences in drug metabolism and pharmacokinetics on safety evaluation. *Fundam Clin Pharmacol.* **18** (6): 609-620.
- Edginton, A. N., Schmitt, W. et Willmann, S. 2006. Development and evaluation of a generic physiologically based pharmacokinetic model for children. *Clin Pharmacokinet.* **45** (10): 1013-1034.

Ginsberg, G., Hattis, D., Sonawane, B., Russ, A., Banati, P., Kozlak, M., Smolenski, S. et Goble, R. 2002. Evaluation of child/adult pharmacokinetic differences from a database derived from the therapeutic drug literature. *Toxicol Sci.* **66** (2): 185-200.

Ginsberg, G., Hattis, D., Miller, R. et Sonawane, B. 2004a. Pediatric pharmacokinetic data: implications for environmental risk assessment for children. *Pediatrics.* **113** (4 Suppl): 973-983.

Ginsberg, G., Hattis, D., Russ, A. et Sonawane, B. 2004b. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling of caffeine and theophylline in neonates and adults: implications for assessing children's risks from environmental agents. *J Toxicol Environ Health A.* **67** (4): 297-329.

Ginsberg, G., Hattis, D. et Sonawane, B. 2004c. Incorporating pharmacokinetic differences between children and adults in assessing children's risks to environmental toxicants. *Toxicol Appl Pharmacol.* **198** (2): 164-183.

Haddad, S., Charest-Tardif, G., Tardif, R. et Krishnan, K. 2000. Validation of a physiological modeling framework for simulating the toxicokinetics of chemicals in mixtures. *Toxicol Appl Pharmacol.* **167** (3): 199-209.

Haddad, S., Restieri, C. et Krishnan, K. 2001. Characterization of age-related changes in body weight and organ weights from birth to adolescence in humans. *J Toxicol Environ Health A.* **64** (6): 453-464.

IPCS. 2006. International Program on Chemical Safety. Principles for evaluating health risks in children associated with exposure to chemicals. (*World Health Organization*).

Stuttgart, Ger

Johnsrud, E. K., Koukouritaki, S. B., Divakaran, K., Brunengraber, L. L., Hines, R. N. et McCarver, D. G. 2003. Human hepatic CYP2E1 expression during development. *J Pharmacol Exp Ther.* **307** (1): 402-407.

Krishnan, K. et Brodeur, J. 1994. Toxic interactions among environmental pollutants: corroborating laboratory observations with human experience. *Environ Health Perspect.* **102 Suppl 9**: 11-17.

Krishnan, K., Haddad, S., Beliveau, M. et Tardif, R. 2002. Physiological modeling and extrapolation of pharmacokinetic interactions from binary to more complex chemical mixtures. *Environ Health Perspect.* **110 Suppl 6**: 989-994.

Lehenaf, L. (2004). Les veineuses hépatiques droites. Laboratoire d'anatomie de la faculté de médecine de Nantes. Nantes, Université de Nantes.

Lipscomb, J. C., Teuschler, L. K., Swartout, J., Popken, D., Cox, T. et Kedderis, G. L. 2003. The impact of cytochrome P450 2E1-dependent metabolic variance on a risk-relevant pharmacokinetic outcome in humans. *Risk Anal.* **23** (6): 1221-1238.

Loizou, G. et Sams, G. (2004). Inter-individual variability in the interpretation of biological monitoring guidance values. H. Books, Health and Safety Laboratory: 1-48.

Nong, A., McCarver, D. G., Hines, R. N. et Krishnan, K. 2006. Modeling interchild differences in pharmacokinetics on the basis of subject-specific data on physiology and hepatic CYP2E1 levels: a case study with toluene. *Toxicol Appl Pharmacol.* **214** (1): 78-87.

Pelekis, M., Nicolich, M. J. et Gauthier, J. S. 2003. Probabilistic framework for the estimation of the adult and child toxicokinetic intraspecies uncertainty factors. *Risk Anal.* **23** (6): 1239-1255.

Price, K., Haddad, S. et Krishnan, K. 2003a. Physiological modeling of age-specific changes in the pharmacokinetics of organic chemicals in children. *J Toxicol Environ Health A*. **66** (5): 417-433.

Price, P. S., Conolly, R. B., Chaisson, C. F., Gross, E. A., Young, J. S., Mathis, E. T. et Tedder, D. R. 2003b. Modeling interindividual variation in physiological factors used in PBPK models of humans. *Crit Rev Toxicol*. **33** (5): 469-503.

Szantay, V., Tamas, S., Marian, L. et Bochis, G. 1974. [Changes of hepatic blood flow in children as a function of age]. *Rev Roum Med Intern*. **11** (1): 91-93.

Tardif, R., Charest-Tardif, G., Brodeur, J. et Krishnan, K. 1997. Physiologically based pharmacokinetic modeling of a ternary mixture of alkyl benzenes in rats and humans. *Toxicol Appl Pharmacol*. **144** (1): 120-134.

Vieira, I., Sonnier, M. et Cresteil, T. 1996. Developmental expression of CYP2E1 in the human liver. Hypermethylation control of gene expression during the neonatal period. *Eur J Biochem*. **238** (2): 476-483.

Tableau I. Coefficients de partage pour le toluène, m-xylène et éthylbenzène utilisés pour la construction des modèles PCBP (adulte et enfants) ^a.

Paramètres physico-chimiques	Toluène	m-xylène	Éthylbenzène
Sang : air	15,6	26,4	28
Gras : air	1021	1859	1556
Foie : air	83,6	90,9	83,8
Muscle et peau : air	27,7	41,1	26
Reste du corps : air	83,6	90,9	60,3

^a Tardif et al. 1997.

Tableau II. Constantes d'inhibition pour toluène, m-xylène et éthylbenzène utilisées pour la construction des modèles PCBP (adulte et enfants) ^a.

Inhibiteur	Substrat		
	Toluène	m-xylène	Éthylbenzène
Toluène		0,33	0,17
m-xylène	0,36		0,51
Éthylbenzène	0,95	1,67	

^a Haddad et al. 2001.

Tableau III. Paramètres physiologiques utilisés dans la construction de modèles PCBP.

Paramètres	Nouveau-né ^b (<1mois)	Nourrisson ^b (3mois)	Âge préscolaire ^b (1-2ans)	Préadolescent ^b (8-13ans)	Adulte ^c (+18ans)
Poids corporel (Kg)	3,2 ^a	5,249 ^a	9,938 ^a	40,628 ^a	70
Volume tissulaire (L)					
Foie	0,13 ^a	0,21 ^a	0,398 ^a	1,02 ^a	1,82
Tissus adipeux	1,16	1,99	3,49	7,72	13,30
Tissus faiblement perfusés	1,10	1,58	2,14	12,79	43,40
Reste du corps	0,81	1,47	3,91	19,10	11,48
Débit cardiaque (L/h)	47,71	54,30	102,21	338,21	435,60
Ventilation alvéolaire (L/h)	41,25	44,20	66,60	218,53	435,60
Perfusion tissulaire (L/h)					
Foie	4,5	7,06	13,68	39,9	113,26
Tissus adipeux	2,39	2,72	5,11	16,91	21,78
Tissus faiblement perfusés	3,39	3,39	4,31	15,09	108,90
Reste du corps	37,43	41,13	78,08	266,31	191,67

^a Pour les enfants, les poids corporels et volumes hépatiques proviennent de l'étude de Johnsrud et al. 2003.

^b Les paramètres physiologiques des enfants, exceptés les débits hépatiques des enfants de moins de 4 ans, ont été calculés à partir d'équations établies par Haddad et al. 2001 et Price et al. 2003. Les débits hépatiques pour les enfants âgés de moins de 4 ans ont été obtenus à partir de leur volume hépatique et du ratio volume/perfusion hépatique relevé chez un enfant de 4 ans.

^c Pour l'adulte, les volumes et débits tissulaires proviennent de l'étude de Tardif et al. 1997.

Tableau IV. Paramètres biochimiques utilisés dans la construction des modèles PCBP.

Paramètres	Nouveau-né (<1mois)	Nourrisson (3mois)	Âge préscolaire (1-2ans)	Préadolescent (8-13ans)	Adulte ^b (+18ans)
Taille échantillonnale (n)	20	16	19	17	75
Concentration microsomale en CYP2E1 (pmol/mg MSP)	16,51±2 ^a [5,2-55,9]	31,42±1,72 [18,2-86,1]	35,63±1,53 [17,9-72,6]	45,03±1,66 [22,8-94,7]	48,9±1,6 [11-130]
Vmax (mg/h)					
Toluène	2,83	8,42	18,53	59,72	116,29
m-xylène	3,24	9,64	21,23	68,42	133,24
Éthylbenzène	4,29	12,78	28,13	90,67	176,55
Km (mg/L)					
Toluène			0,55		
m-xylène			0,22		
Éthylbenzène			1,39		

^a Pour les enfants, la concentration microsomale en CYP2E1 provient de l'étude de Johnsrud et al. 2003. Notez que les valeurs représentent les moyennes et écarts-types géométriques.

^b La concentration microsomale en CYP2E1 adulte provient de l'étude menée par Lipscomb et al. 2003.

Tableau V. Activités spécifiques du CYP2E1 humain pour le toluène, m-xylène et l'éthylbenzène ^a.

Substrat	Activité spécifique (mg/h/ pmol CYP 2E1)
Toluène	2,47E-05
m-xylène	2,83E-05
Éthylbenzène	3,75E-05

^a Les activités spécifiques ont été calculées à partir des vitesses maximales pour chacune des substances déterminées par Tardif et collaborateurs (1997) et du contenu hépatique en CYP2E1 adulte moyen (48,9 pmol/mg MSP x 52,9 mg MSP/g foie x 1820 g de foie).

Tableau VI. Récapitulatif des provenances des distributions des paramètres entrants des modèles (volume de foie, poids corporel, concentration enzymatique et RCP).

	Paramètres	Valeur moyenne	Écart type	Distribution	Références
Adulte	PC	70	9,1*	LN	Thomas et al. 1996
	QP	18	3,6	N	Thomas et al. 1996
	RCP	1	0,65	N	Pelekis et al. 2003
	Vf	1,82	0,364	N	Thomas et al. 1996
	[CYP2E1]	48,9	1,6*	LN	Lispcomb et al. 2003
Nouveau-né	PC	3,2	0,71*	N	Johnsurd et al. 2003
	QP	17,24	6,896	N	Pelekis et al. 2003
	Rcp	1,156	0,728	N	Pelekis et al. 2003
	Vf	0,131	0,042	N	Johnsurd et al. 2003
	[CYP2E1]	16,51		**	Johnsurd et al. 2003
Nourrisson	PC	5,24	1,33	N	Johnsurd et al. 2003
	QP	12,74	5,1	N	Pelekis et al. 2003
	Rcp	1,23	0,79	N	Pelekis et al. 2003
	Vf	0,21	0,045	N	Johnsurd et al. 2003
	[CYP2E1]	31,42		**	Johnsurd et al. 2003
Préscolaire	PC	9,94	2,27	N	Johnsurd et al. 2003
	QP	11,9	1,67	N	Pelekis et al. 2003
	Rcp	1,53	1,53	N	Pelekis et al. 2003
	Vf	0,3988	0,0792	N	Johnsurd et al. 2003
	[CYP2E1]	35,63		**	Johnsurd et al. 2003
Préadolescent	PC	40,628	17,98	N	Johnsurd et al. 2003
	QP	13,56	2,71	N	Johnsurd et al. 2003
	Rcp	1,01	1,01	N	Pelekis et al. 2003
	Vf	1,02	0,3	N	Johnsurd et al. 2003
	[CYP2E1]	45,03		**	Johnsurd et al. 2003

* Écart type géométrique; ** Pas de distribution « type » appliquée

Tableau VII. Percentiles (50^{ème} et 95^{ème}) des concentrations veineuses maximales en toluène d'une population d'adulte exposée à 1 ppm de T et pour une population de nouveau-nés exposés à 0,44 ppm de T, 0,023 ppm de X et 0,023ppm de E simultanément durant 24 heures.

Population	Adulte	Nouveau-né
Percentiles (Cvmax T mg/L)	50 %	95%
Ind	0,121	-
Mix	-	0,133
Facteur global de variabilité* interindividuelle	1.1	

* Le facteur global de variation interindividuelle (pour la population en général sans distinction d'âge) a été calculé à partir du ratio de la Cvmax de T obtenue pour le 95^{ème} percentile de la population de nouveau-nés exposée au mélange TEX (Mix) sur la Cvmax de T du 50^{ème} percentile obtenu pour la population adulte exposé à 1 ppm de T (Ind).

Légende des figures

Figure 1. Représentation conceptuelle de l'interaction métabolique entre le toluène, m-xylène et éthylbenzène chez l'humain exposé au mélange par la voie pulmonaire.

Figure 2. Concentrations veineuses en toluène (T), m-xylène (X) et éthylbenzène (E) chez le nouveau-né, le nourrisson, l'enfant en âge préscolaire, le préadolescent et l'adulte inhalant 17 ppm de toluène, 33 ppm de m-xylène et 33 ppm d'éthylbenzène simultanément (respectivement T', X', E') ou individuellement (respectivement T, X, E) (durant 7 heures).

Figure 3. Concentrations veineuses maximales (mg/L) calculées pour le toluène, m-xylène et éthylbenzène chez le nouveau-né, le nourrisson, l'enfant en âge préscolaire, le préadolescent et l'adulte inhalant 17 ppm de toluène, 33 ppm de m-xylène et 33 ppm d'éthylbenzène individuellement (A) ou simultanément (B) durant 7 heures.

Figure 4. Amplitude des concentrations veineuses maximales en toluène (mg/L) obtenues lors de l'exposition mixte et individuelle à 17 ppm de toluène, 33 ppm de m-xylène et 33 ppm d'éthylbenzène en fonction des concentrations hépatiques en CYP2E1 individuelles retrouvées chez le nouveau-né et l'adulte.

Figure 5. Analyse de sensibilité de la concentration veineuse maximale en éthylbenzène (E) face à une variation de 10% des paramètres entrants (poids corporel, des débits alvéolaires du ratio débit alvéolaire/débit cardiaque (Rcp), du volumes de foie et de la concentration microsomale en CYP2E1) des modèles PCBP permettant de simuler l'inhalation d'éthylbenzène (33 ppm) accompagné du toluène (17 ppm) et du m-xylène (33 ppm) durant 24 heures chez des individus d'âge variable (nouveau-né, nourrisson, enfant en âge préscolaire, préadolescent et adulte).

Figure.6. Distributions cumulatives des probabilités de fréquences établies en fonction des concentrations veineuses maximales en toluène retrouvées au sein de population de chaque groupe d'âge (Nouveau-né, nourrisson, enfant en âge préscolaire, préadolescent et adulte) lorsque ceux-ci sont exposés à un mélange de toluène (17 ppm) m-xylène (33 ppm) et éthylbenzène (33 ppm) durant 24 heures.

Figure 7. Courbe de fréquences cumulées des concentrations veineuses maximales en toluène relevées dans une population de nouveau-nés (rouge) exposée à un mélange TEX (0,44 ppm de T, 0,023 ppm de X et 0,023 ppm de E) et d'adultes (noir) exposée à 1 ppm de T durant 24 heures.

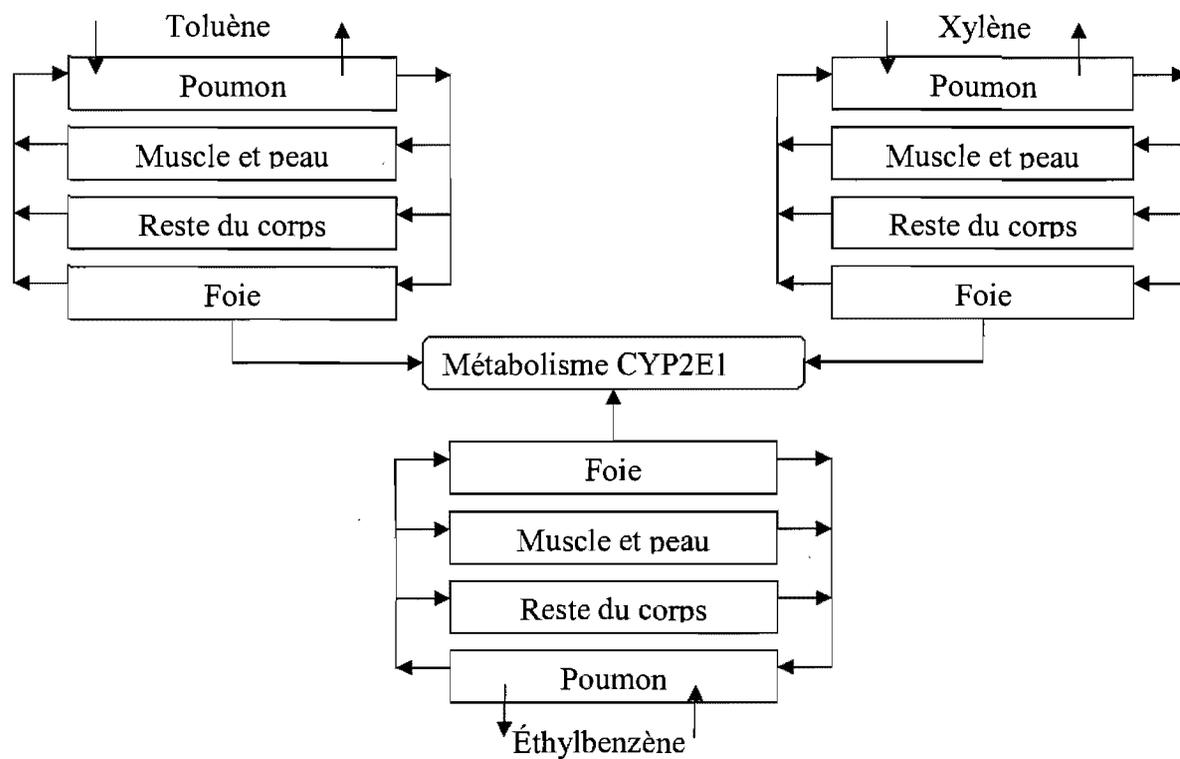


Figure 1. Représentation conceptuelle de l'interaction métabolique entre le toluène, m-xylène et éthylbenzène chez l'humain exposé au mélange par la voie pulmonaire.

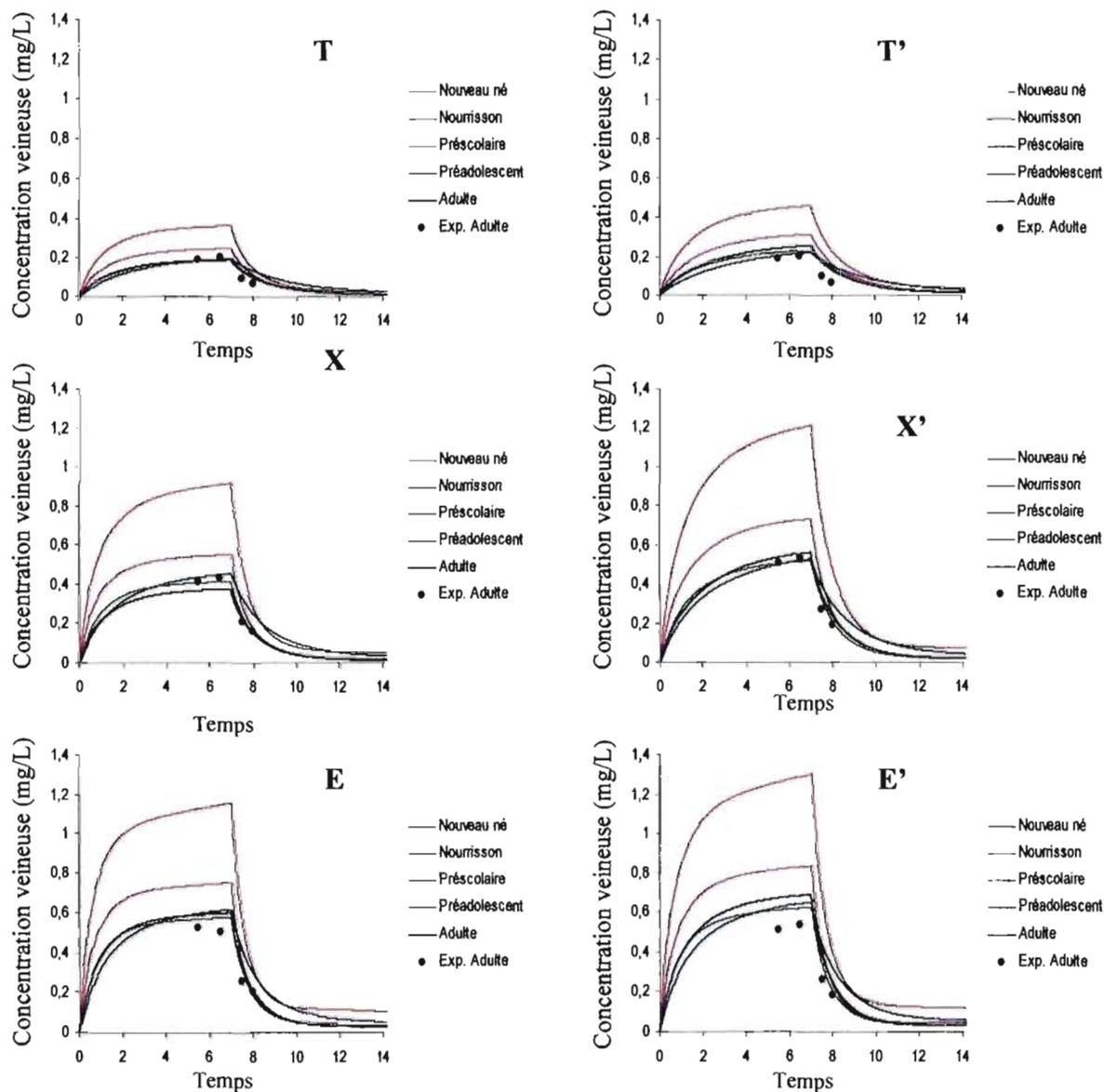


Figure 2. Concentrations veineuses en toluène (T), m-xylène (X) et éthylbenzène (E) chez le nouveau-né, le nourrisson, l'enfant en âge préscolaire, le préadolescent et l'adulte inhalant 17 ppm de T, 33 ppm de X et 33 ppm de E simultanément (respectivement T', X', E') ou individuellement (respectivement T, X, E) (durant 7 heures). Les points représentent les concentrations obtenus expérimentalement chez l'adulte pour chacun des scénarios (exposition individuelle ou mixte à 17 ppm de T, 33 ppm de X et 33 ppm de X) par Tardif et collaborateurs (1997).

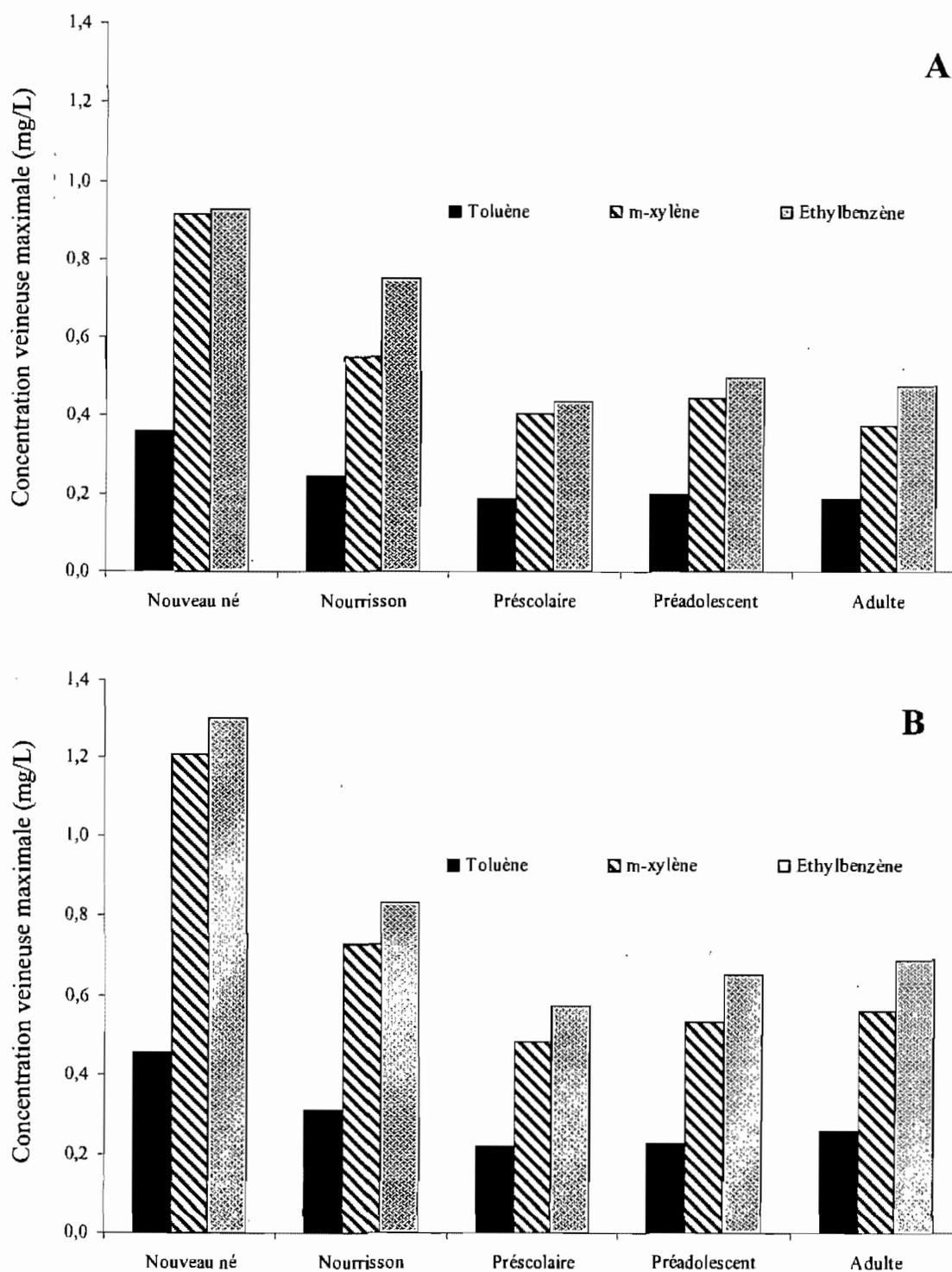


Figure 3. Concentrations veineuses maximales (mg/L) calculées pour le toluène, m-xylène et éthylbenzène chez le nouveau-né, le nourrisson, l'enfant en âge préscolaire, le préadolescent et l'adulte inhalant 17 ppm de toluène, 33 ppm de m-xylène et 33 ppm d'éthylbenzène individuellement (A) ou simultanément (B) durant 7 heures.

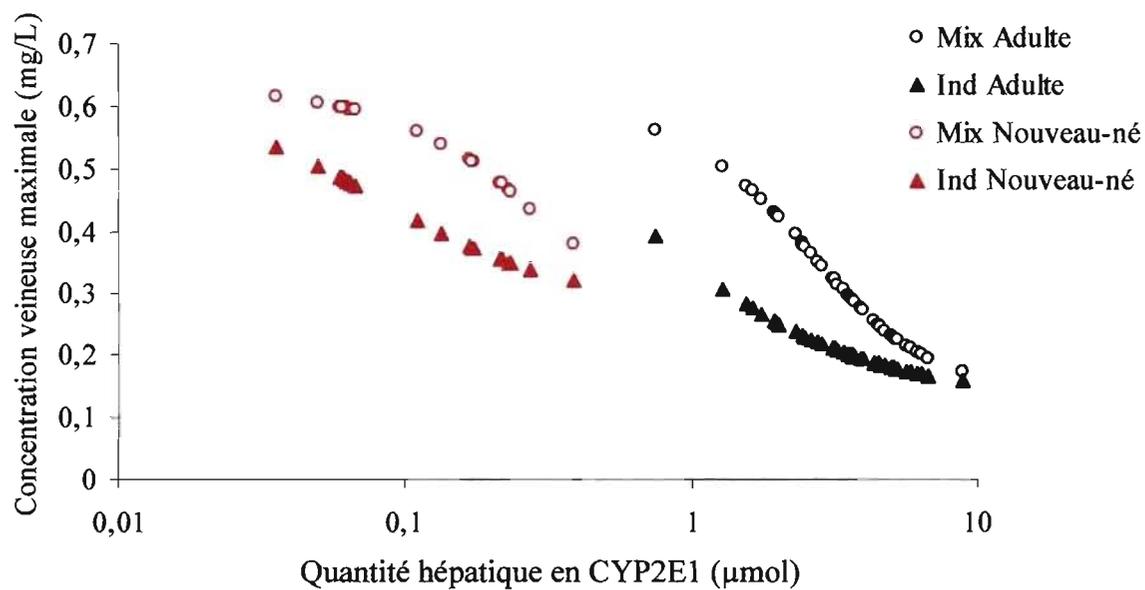


Figure 4. Amplitude des concentrations veineuses maximales en toluène (mg/L) obtenues lors de l'exposition mixte et individuelle à 17 ppm de toluène, 33 ppm de m-xylène et 33 ppm d'éthylbenzène en fonction des quantités hépatiques en CYP2E1 individuelles retrouvées chez le nouveau-né et l'adulte.

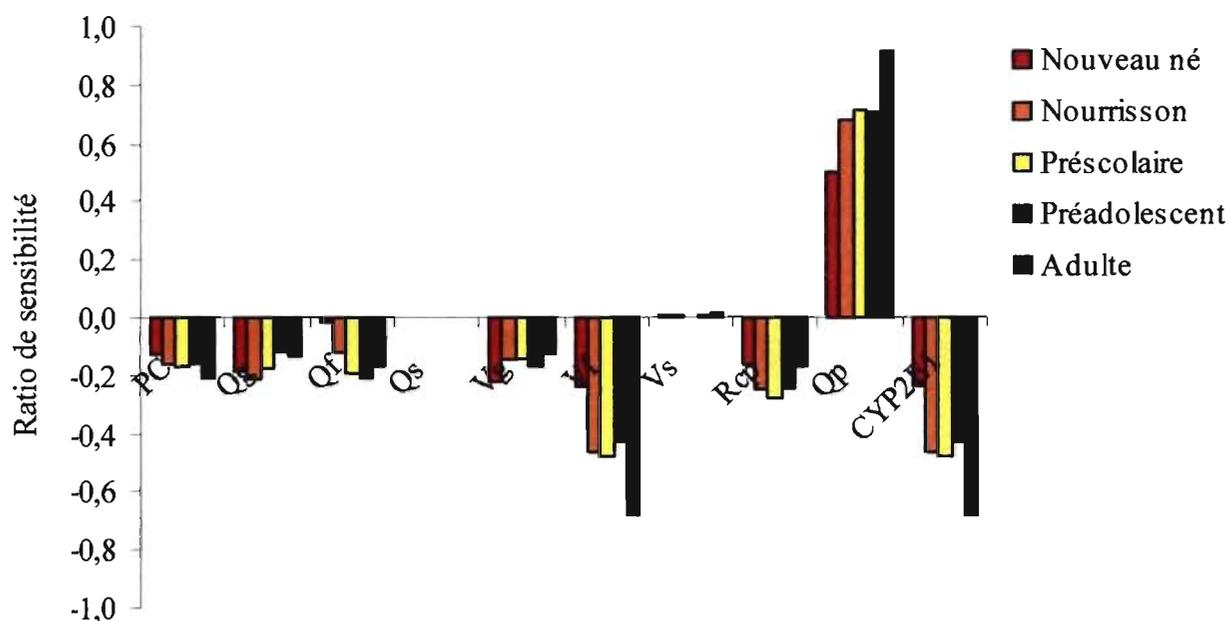


Figure 5. Analyse de sensibilité de la concentration veineuse maximale en éthylbenzène (E) face à une variation de 10% des paramètres entrants des modèles PCBp permettant de simuler l'inhalation d'éthylbenzène (33 ppm) accompagné du toluène (17 ppm) et du m-xylène (33 ppm) durant 24 heures chez des individus d'âge variable (nouveau-né, nourrisson, enfant en âge préscolaire, préadolescent et adulte). Les paramètres entrants étant le poids corporel (PC), le ratio débit alvéolaire/débit cardiaque (Rcp), le volume de foie (Vf), le volume de tissu adipeux (Vg), le volume de tissu faiblement perfusé (Vs), le débit pulmonaire (Qp), la perfusion des tissus adipeux (Qg), la perfusion des tissus faiblement perfusés (Qs) et hépatique (Qf) et la concentration microsomale en CYP2E1(CYP2E1).

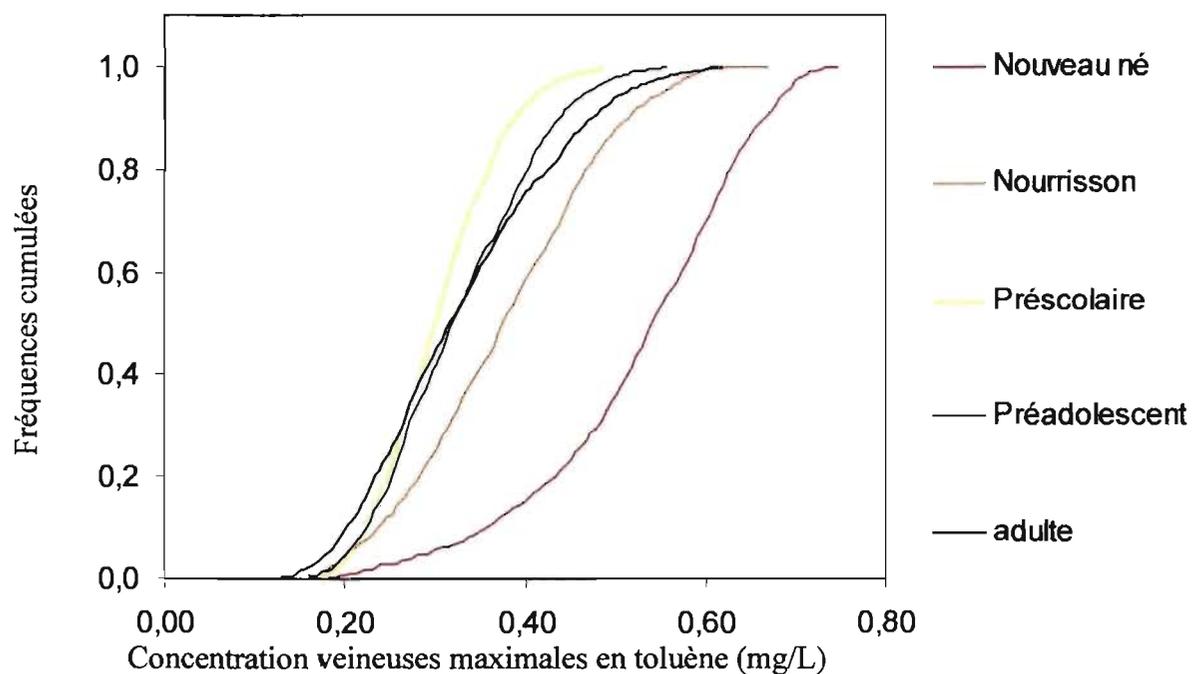


Figure.6. Courbe de probabilités cumulées établie à partir des concentrations veineuses maximales en toluène retrouvées au sein de population de chaque groupe d'âge (nouveau-né, nourrisson, enfant en âge préscolaire, préadolescent et adulte) lorsque ceux-ci sont exposés à un mélange de toluène (17 ppm) m-xylène (33 ppm) et éthylbenzène (33 ppm) durant 24 heures.

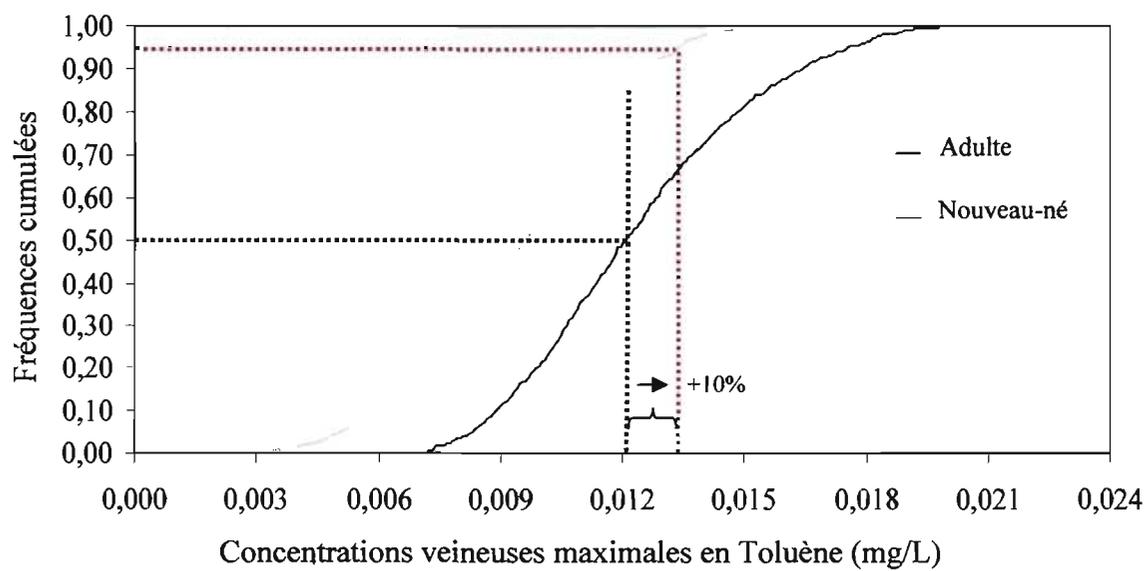


Figure 7. Courbe de fréquences cumulées des concentrations veineuses maximales en toluène relevées dans une population de nouveau-nés (rouge) exposée à un mélange TEX (0,44 ppm de T, 0,023 ppm de X et 0,023 ppm de E) et d'adultes (noir) exposée à 1 ppm de T durant 24 heures.

ARTICLE II



Adamou Thérèse, Haddad Sami, Krishnan Kannan. 2007. Modélisation d'un transfert mère-nouveau-né d'un mélange d'alkyl benzènes via le lait maternel. Revue canadienne de physiologie et pharmacologie.xxxxxxxx

**Modélisation d'un transfert mère nouveau-né d'un mélange d'alkyl benzènes via le
lait maternel**

Adamou T.¹, Haddad S.² and Krishnan K.¹

¹Université de Montréal, Montréal, Qc, Canada

²Université du Québec à Montréal, Montréal, Qc, Canada

Adresse de correspondance :

Kannan Krishnan, Département de Santé Environnementale et Santé au Travail

Université de Montréal, Montréal, H3T 1A8, Qc, Canada

3.1. Résumé

Certains xénobiotiques dont les composés organiques volatils (COV) peuvent se retrouver dans le lait maternel. L'objectif de l'étude était de simuler le transfert mère-nouveau-né d'un mélange de COV suite à l'ingestion de lait maternel contaminé ; la contamination résultant de l'exposition professionnelle de la mère à un mélange de toluène (T), m-xylène (X) et éthylbenzène (E) (TEX). L'approche utilisée consistait à adapter un modèle pharmacocinétique à base physiologique (PCBP) d'interaction métabolique précédemment développé pour l'homme adulte, (1) à la physiologie de la femme allaitante et (2) à la physiologie et la biochimie du nouveau-né. Le transfert mère-nouveau-né a été simulé en reliant le modèle maternel et néonatal conformément à une méthode précédemment proposée pour modéliser le transfert mère-nouveau-né d'un COV. Les concentrations veineuses maximales en T relevées, lorsque la contamination par voie orale est considérée (inhalation des substances aux concentrations de références (RfC) et ingestion de lait maternel provenant d'une mère exposée professionnellement à ces substances aux valeurs limites d'exposition), sont 16,5 fois plus élevées que celles obtenues lorsque seule l'exposition infantile pulmonaire est considérée (exposition aux concentrations de référence en T X et E durant 24 h). Cependant le facteur est seulement de 2,9 quand l'analyse est basée sur la surface sous la courbe à 24 h. Les mêmes tendances ont été observées dans le cadre d'exposition individuelle. Ainsi, cette étude suggère qu'il est possible de simuler le transfert d'un mélange de COV mère-nouveau-né via le lait maternel d'une part, et que l'exposition professionnelle maternelle à un mélange de COV peut significativement moduler la toxicocinétique des substances chez le nouveau-né.

Mots clés : PCBP, nouveau-né, lait maternel, interaction métabolique, COV, exposition maternelle professionnelle

3.2. Introduction

Les bienfaits de l'allaitement sont aujourd'hui reconnus (lutte contre les infections, bénéfices psychosocial et nutritionnel); cette méthode est d'ailleurs considérée comme le moyen le plus efficace pour répondre aux besoins du nouveau-né (Mukerjee 1998; Clewell et Gearhart 2002; IPCS 2006). Cependant, de nombreuses substances exogènes potentiellement dangereuses pour l'enfant en développement sont couramment retrouvées dans le lait maternel (Fisher et al. 1997). Selon leurs propriétés physicochimiques, celles-ci diffusent ou sont transportées activement du plasma vers le lait (à travers les cellules alvéolaires de la glande mammaire) avec plus ou moins de facilité. Outre les agents thérapeutiques, les métaux lourds (plomb), les pesticides (DDT et ses métabolites) biphényl polychlorés (BPC) ou les composés organiques comptent parmi les substances les plus fréquemment retrouvées (Fisher et al. 1997; Landrigan et al. 2002; LaKind et al. 2004). Résultant exclusivement des activités maternelles (i.e., inhalation d'air, ingestion d'eau, de nourriture et de médicaments, contact cutané) la contamination du lait peut aussi bien survenir à la maison que sur les lieux de travail ou de loisir. Ainsi, le risque et l'exposition du nouveau-né dépendent à la fois des habitudes de vie de la mère et de la nature des composés retrouvés dans les milieux qu'elle fréquente. Comme recommandé par les pédiatres, beaucoup d'enfants de moins de 6 mois sont majoritairement, voire exclusivement, nourris au sein; de ce fait, l'ingestion de lait maternel constitue une des voies de contamination majeure du nouveau-né (Fisher et al. 1997).

La modélisation PCBP constitue un outil efficace permettant de décrire mathématiquement la cinétique des substances dans l'organisme. Des modèles PCBP ont précédemment été développés pour estimer quelles pouvaient être les doses internes en

polluants du nouveau-né suite à l'ingestion de lait maternel contaminé (cas d'exposition à une seule substance) (Fisher et al. 1997). Parmi les études menées, deux portaient sur le transfert de composés organiques volatils (COV) inhalés par la mère sur son lieu de travail (Fisher et al. 1997). Ces études ont confirmé qu'un transfert de COV se produisait effectivement entre la mère et son enfant pour les scénarios d'exposition appliqués (Fisher et al. 1997). Cependant, aucune étude à ce jour n'a tenté d'analyser quel pourrait être l'impact de l'exposition maternelle à un mélange de COV; bien que de tels scénarios d'exposition soient communément retrouvés en milieu de travail (Armstrong et al. 2002). Le danger réside dans le fait que les interactions métaboliques pouvant éventuellement se produire dans ces conditions, peuvent moduler les doses internes et le risque toxicologique normalement associé à chacune des substances (Haddad et al. 2001a). Bien que ces conclusions proviennent d'études ayant été jusqu'à présent exclusivement menées chez l'homme, celles-ci sont probablement également applicables à la femme. Cependant, dans le cas d'une jeune mère, les conséquences de l'exposition au mélange pourrait éventuellement aller au-delà du simple risque maternel. En effet, il est possible que l'ingestion de lait maternel fasse en sorte que l'exposition de la mère au mélange ait également des répercussions sur le nouveau-né. L'objectif de cette étude est donc d'évaluer à l'aide de modèle PCBP les conséquences toxicocinétiques (en termes de dose interne) de l'ingestion par le nouveau-né de lait contaminé par une mère exposée professionnellement à un mélange TEX.

3.3. Matériel et Méthode

Paramétrisation physiologique

Un modèle PCBP d'interaction métabolique simulant l'exposition au mélange TEX a déjà été créé et validé chez l'homme adulte (Tardif et al. 1997). L'approche utilisée dans la présente étude consiste à adapter ce modèle à la physiologie de la mère d'une part, et à celle du nouveau-né d'autre part.

Modèle maternel :

La physiologie de la mère allaitante a déjà été décrite dans un modèle PCBP (Fisher et al. 1997). Les volumes et perfusions tissulaires de ce modèle «féminin» ont donc été utilisés pour remplacer les paramètres retrouvés dans le modèle PCBP d'interaction développé pour l'homme adulte par Tardif et collaborateurs (1997). Par ailleurs, l'adaptation du modèle d'interaction à la femme nécessite également l'addition d'un 6^{ème} compartiment, à savoir celui de la glande mammaire (Fisher et al. 1997).

Modèle du nouveau-né :

Les paramètres physiologiques requis pour la construction du modèle d'interaction chez le nouveau-né proviennent soit de données expérimentales (i.e., pour le poids corporel et volume hépatique) (Johnsrud et al. 2003) ou d'équations (i.e., pour les volumes des tissus adipeux et des tissus faiblement perfusés) définissant la relation existante entre l'âge, le poids corporel et les volumes de chaque organe (Haddad et al. 2001b). Le volume du dernier compartiment, soit «reste du corps» a été obtenu en soustrayant au poids corporel la somme des volumes des trois premiers compartiments (foie, tissus adipeux, tissus faiblement perfusés) (Tableau I). Les débits alvéolaire et cardiaque ont été déterminés à partir des équations reliant l'âge aux débits pulmonaire et cardiaque (Price

et al. 2003) (Tableau I). La perfusion hépatique (Q_f) du nouveau-né dérive quant à elle de l'équation suivante :

$$Q_{f\ 4ans} / V_{f\ 4ans} = Q_f / V_f \quad \text{Équation (1)}$$

L'idée consiste à supposer que le rapport entre le débit ($Q_{f\ 4ans} = 19.5$ L/h (Price et al. 2003), et le volume hépatique ($V_{f\ 4ans} = 0.57$ L (Szantay et al. 1974)) est constant chez les enfants de moins de 4 ans et équivalent à 2,92. La perfusion hépatique du nouveau-né (Q_f) est alors obtenue en multipliant le volume du foie connu (V_f), par la constante 2,92 (Tableau I).

Paramétrisation biochimique

Les vitesses maximales (V_{max}) pour le nouveau-né ont été calculées à partir de l'activité spécifique du CYP2E1 ($A.S_{2E1}$), de la concentration microsomale en cytochrome P450 2E1 ($[2E1]_{\text{microsomale}}$), de la concentration microsomale hépatique $[MSP]$ et de leur volume de foie respectif (V_f) selon l'équation suivante (Tableau I):

$$V_{max} = A.S_{2E1} \times [2E1]_{\text{microsomale}} \times [MSP] \times V_f \quad \text{Équation (2)}$$

L'absence de données précises a contraint à considérer la concentration microsomale hépatique $[MSP]$ comme constante quel que soit l'âge, et équivalente à 52,9 mg MSP/ g de foie (Lipscomb et al. 2003). L'activité spécifique de l'enzyme pour chacun des substrats, également constante, a aussi été calculée en rapportant les V_{max} déterminées par Tardif et collaborateurs (1997) pour l'homme au contenu en CYP2E1 total de l'homme adulte (soit 48.9 pmol2E1/mg MSP x 52.9 mg MSP/g de foie x 1820 g de foie) (Tableau II). En l'absence de données relatives à la concentration microsomale en

CYP2E1 de la femme allaitante, les V_{max} pour le toluène (T), éthylbenzène (E) et m-xylène (X) ont été considérées comme identiques à celles définies pour l'homme adulte.

Paramétrisation physicochimique

Le modèle développé par Tardif et collaborateurs (1997) fournit également les coefficients de partages (sang : air et tissu : sang) pour le T, X et E. Les valeurs de ces coefficients de partage considérées comme constantes, ont été intégrées dans les modèles infantile et maternel. Cependant, le modèle de la mère nécessite la détermination des coefficients de partage lait : sang, pour le compartiment de la glande mammaire. Les coefficients lait : sang pour le toluène et le m-xylène proviennent de l'étude de Fisher et collaborateurs (1997), et de la US EPA (2007) pour l'éthylbenzène (Tableau III). Les constantes d'inhibition métaboliques (Tableau IV) et constantes de Michaelis-Menten (Tableau I) déterminées par Tardif et collaborateurs (1997) ont également été conservées. Les deux modèles d'interaction maternel et infantile générés, ont par la suite été reliés par le biais du transfert (mère-nouveau-né) de lait maternel (Figure 1). L'arrivée directe du lait maternel au niveau du compartiment « foie » du nouveau-né permet de tenir compte de l'effet de premier passage. Par ailleurs, il a été supposé dans le présent modèle que 100% de la dose de contaminant retrouvée dans le lait maternel est absorbée par l'enfant. Une fois ces ajustements achevés, les simulations ont été effectuées à l'aide du logiciel AcslXtreme v2.0.1.7 (Advanced Continuous Simulation Language d'Aegis Technologies Group Inc, Huntsville AL).

Conditions d'exposition

Dans la présente étude les allaitements (de 20 minutes) surviennent toutes les 3,5 heures durant la journée de travail. En effet, il est supposé que la mère tire son lait sur son lieu de travail (toutes les 3,5 heures) et qu'elle le conserve dans des biberons qui seront administrés le lendemain au bébé toutes les 3,5 heures (il a été supposé qu'il n'y avait pas de perte de substances par volatilisation durant la conservation dans les biberons). L'exposition de la mère au mélange (TEX) se produit uniquement sur le lieu de travail (9 heures), et les concentrations d'exposition pour le T, X et E correspondent au tiers des valeurs limites d'exposition (VLE) recommandées par l'American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH); soit respectivement 17 ppm, 33 ppm et 33 ppm. Hors travail, les concentrations en sont les concentrations de référence (Rfc) de la USEPA : 1 ppm de T, 0,023 ppm de X et 0,23 ppm de E.

Évaluation de l'impact de l'exposition maternelle professionnelle sur le nouveau né

Soit le scénario d'exposition (Inhalation (1voie)) pour lequel le nouveau-né inhale en continu et directement le mélange TEX aux concentrations de référence recommandées par la US EPA; soit 1 ppm de T, 0,023 ppm de X et 0,23 ppm de E. Soit le scénario (Inhalation + ingestion (2voies)), dans lequel une voie de contamination additionnelle est considérée; à savoir l'ingestion de lait maternel provenant d'une mère exposée professionnellement (9 h) à ce même mélange mais tiers des VLE de l'ACGIH. La comparaison des doses internes obtenues pour chacun de ces scénarios a été utilisée pour étudier les effets TK en termes de dose interne (Concentration veineuses maximale (Cvmax) et surface sous la courbe (SSC)) sur le nouveau-né, de l'exposition maternelle au mélange TEX en milieu professionnel.

3.4. Résultats

Les concentrations veineuses maximales de T, X et E chez la mère sont atteintes à la fin de sa journée de travail. Les concentrations veineuses les plus élevées pour le nouveau-né, ont par contre été obtenues juste avant la fin de la journée de travail de la mère (Figure 2T, 2X, 2E).

La C_{vmax} de T relevée chez le nouveau-né inhalant en continu le mélange TEX aux concentrations de référence (1 ppm de T, 0,023 ppm de X et 0,23 ppm de X) avoisine 0,02 mg/L (1 voie). Par contre la C_{vmax} de T obtenue lorsque ce dernier ingère, en plus, du lait maternel contaminé issu d'une mère exposée durant 9 heures au mélange TEX au 1/3 des VLE est plus élevée (0,33 mg/L). La concentration veineuse maximale en T obtenue lorsque la contamination se fait par les deux voies (inhalation + ingestion) est 16,5 fois plus élevée que lorsque le nouveau-né est exposé via la voie pulmonaire uniquement (Rfc). La même tendance a également été observée à partir du ratio de SSC pour 24 heures. Toutefois, le facteur d'élévation de la dose interne dans ce cas est plus faible (2,29) (Tableau V).

Concernant les simulations menées dans le cadre d'exposition à une seule substance, les tendances observées sont les mêmes; là encore les doses internes obtenues dans le cadre d'exposition par deux voies sont les plus élevées. Cependant les facteurs d'augmentation quel que soit le paramètre considéré (C_{vmax} ou SSC) sont moins importants que dans le cadre d'exposition mixte (respectivement 9,5 et 2) (Tableau V).

3.5. Discussion

Dans la présente étude, il a été supposé que les concentrations de référence de T (1 ppm), X (0,023 ppm) et E (0,23 ppm) de la USEPA étaient les concentrations d'exposition environnementale maximales acceptables, auxquelles le nouveau-né pouvait être continuellement exposé. L'idée était de comparer la dose interne chez le nouveau-né confronté à ce scénario (i.e, exposé à du T, X ou E aux concentrations de référence durant 24 heures) versus celle relevée chez le nouveau-né qui ingère, en plus, du lait maternel contaminé; la contamination résultant de l'exposition maternelle à ces mêmes substances durant 9 heures, aux concentrations recommandées par l'ACGIH en milieu professionnel, soit 17 ppm de T, 33 ppm de X et 33 ppm d'E. Les résultats de la présente étude révèlent que l'exposition maternelle professionnelle sous ces conditions peut induire une élévation significative des doses internes (Cvmax et SSC) chez le nouveau-né suite à l'ingestion de lait maternel (Tableau V). Les résultats montrent que la considération de cette voie d'exposition supplémentaire conduit à une élévation de la Cvmax en T d'un facteur de 16,5, par rapport à la Cvmax en T retrouvé chez l'enfant exposé au mélange via la pulmonaire aux concentrations de référence. La même tendance est observée lorsque l'analyse est basée sur les SSC en T à 24 heures; toutefois le facteur d'augmentation n'est seulement que de 2,9. Ces analyses ont également été faites dans le cadre d'exposition individuelle à chacun de ces trois COV. Là encore, les résultats révèlent que l'ingestion de lait maternel contaminé module significativement à la hausse, les doses internes en T du nouveau-né lorsque la mère est exposé à l'une ou l'autre des substances au travail. Cependant, notez que les facteurs d'augmentation de dose interne (Cvmax ou SSC) sont moins élevés que dans le cadre d'exposition mixte; facteurs respectivement égaux à 9,5 et

de 2 (Tableau V). Ainsi, cette étude démontre que l'exposition professionnelle maternelle à du T, X ou E aux valeurs limites d'exposition, module significativement la TK des substances chez le nouveau-né nourri au sein; et ceci particulièrement dans le cadre d'exposition mixte. Apparemment les concentrations d'exposition, actuellement permises en milieu professionnel, ne tiennent pas compte des répercussions, sur le nouveau-né, de l'exposition maternelle aux substances. Pour mieux protéger ces enfants, il conviendrait à la lumière de ces résultats, que les valeurs limites d'exposition en milieu professionnel soient révisées, dès lors que des mères allaitantes sont présentes et particulièrement dans le cadre d'exposition au mélange.

Toutefois, le modèle de transfert de COV ici proposé, présente quelques faiblesses. Tout d'abord il est essentiel de souligner que la composition du lait maternel a été considérée comme constante dans la présente étude; or, il s'avère que celle-ci peut varier quotidiennement (notamment en fonction de la durée de la tétée et de l'âge du nourrisson), et affecter considérablement la teneur en xénobiotiques en modulant les coefficients partage sang : lait (Neuville et al, 1991). D'autre part, l'état des connaissances actuelles niveau des concentrations enzymatiques maternelles en CYP2E1, limite également la précision des prédictions du modèle. Effectivement, il est supposé ici que la concentration microsomale en CYP2E1 d'une mère allaitante est comparable à celle d'un homme adulte standard, soit 48,9 pmol 2E1 /mg MSP. Or, il est probable que ce ne soit pas tout à fait le cas. En effet, la régulation de l'expression de cette enzyme est complexe. Effectivement, le degré d'expression du CYP2E1 étant contrôlé entre autres, par des éléments d'origine endogène (les hormones de croissances, insuline, glucagon, leptine, facteurs de croissances pour l'épiderme et les hépatocytes), il est possible que les

nombreux changements qui s'opèrent durant la grossesse et la lactation modulent les concentrations maternelles en CYP2E1. En contre partie, cette enzyme étant impliquée dans l'homéostasie de l'organisme il n'est pas impossible que les changements physiologiques liés à la maternité et à la lactation soient indépendants d'une modulation de l'expression de cette enzyme (Tanaka et al. 2000).

Ainsi, l'étude démontre dans un premier temps, qu'il est possible de simuler le transfert d'un mélange d'alkyl benzènes mère-nouveau-né via le lait maternel. De plus, le modèle présenté suggère que l'exposition maternelle au mélange TEX, aux tiers des valeurs limites d'exposition (17ppm de T, 33 ppm de X et 33 ppm de E) peut significativement moduler à la hausse la toxicocinétique des substances chez le nouveau-né. Si tel est le cas, alors cette étude soutient l'idée qu'il est essentiel de tenir compte de l'exposition professionnelle maternelle, voire parentale, dans le cadre d'analyse de risque menée chez le nouveau-né. Cependant, il est impératif que des méthodes alternatives (tels le biomarqueage, permettant de déterminer plus précisément les concentrations hépatiques en CYP2E1 par exemple) soient développées pour valider le modèle d'une part et les résultats d'autre part. De plus, il serait probablement intéressant de poursuivre les simulations afin de voir notamment, quels seraient les effets toxicocinétiques chez le nouveau-né, d'une exposition maternelle à des concentrations beaucoup plus élevées.

3.6. Références

- Armstrong, T. W., Zaleski, R. T., Konkel, W. J. et Parkerton, T. J. 2002. A tiered approach to assessing children's exposure: a review of methods and data. *Toxicol Lett.* **127** (1-3): 111-119.
- Clewell, R. A. et Gearhart, J. M. 2002. Pharmacokinetics of toxic chemicals in breast milk: use of PBPK models to predict infant exposure. *Environ Health Perspect.* **110** (6): A333-337.
- Fisher, J., Mahle, D., Bankston, L., Greene, R. et Gearhart, J. 1997. Lactational transfer of volatile chemicals in breast milk. *Am Ind Hyg Assoc J.* **58** (6): 425-431.
- Haddad, S., Beliveau, M., Tardif, R. et Krishnan, K. 2001a. A PBPK modeling-based approach to account for interactions in the health risk assessment of chemical mixtures. *Toxicol Sci.* **63** (1): 125-131.
- Haddad, S., Restieri, C. et Krishnan, K. 2001b. Characterization of age-related changes in body weight and organ weights from birth to adolescence in humans. *J Toxicol Environ Health A.* **64** (6): 453-464.
- IPCS. 2006. International Program on Chemical Safety: Principles for evaluating health risks in children associated with exposure to chemicals. (*World Health Organization*). Stuttgart, Ger.
- Johnsrud, E. K., Koukouritaki, S. B., Divakaran, K., Brunengraber, L. L., Hines, R. N. et McCarver, D. G. 2003. Human hepatic CYP2E1 expression during development. *J Pharmacol Exp Ther.* **307** (1): 402-407.

LaKind, J. S., Amina Wilkins, A. et Berlin, C. M., Jr. 2004. Environmental chemicals in human milk: a review of levels, infant exposures and health, and guidance for future research. *Toxicol Appl Pharmacol.* **198** (2): 184-208.

Landrigan, P. J., Sonawane, B., Mattison, D., McCally, M. et Garg, A. 2002. Chemical contaminants in breast milk and their impacts on children's health: an overview. *Environ Health Perspect.* **110** (6): A313-315.

Lipscomb, J. C., Teuschler, L. K., Swartout, J., Popken, D., Cox, T. et Kedderis, G. L. 2003. The impact of cytochrome P450 2E1-dependent metabolic variance on a risk-relevant pharmacokinetic outcome in humans. *Risk Anal.* **23** (6): 1221-1238.

Mukerjee, D. 1998. Assessment of risk from multimedia exposures of children to environmental chemicals. *J Air Waste Manag Assoc.* **48** (6): 483-501.

Price, K., Haddad, S. et Krishnan, K. 2003. Physiological modeling of age-specific changes in the pharmacokinetics of organic chemicals in children. *J Toxicol Environ Health A.* **66** (5): 417-433.

Szantay, V., Tamas, S., Marian, L. et Bochis, G. 1974. [Changes of hepatic blood flow in children as a function of age]. *Rev Roum Med Intern.* **11** (1): 91-93.

Tanaka, E., Terada, M. et Misawa, S. 2000. Cytochrome P450 2E1: its clinical and toxicological role. *J Clin Pharm Ther.* **25** (3): 165-175.

Tardif, R., Charest-Tardif, G., Brodeur, J. et Krishnan, K. 1997. Physiologically based pharmacokinetic modeling of a ternary mixture of alkyl benzenes in rats and humans. *Toxicol Appl Pharmacol.* **144** (1): 120-134.

Tableau I : Paramètres utilisés pour la construction des modèles de la mère allaitante et du nouveau-né.

Paramètres	Nouveau-né ^b (<1 mois)	Mère ^c
Poids corporel (Kg)	3,2 ^a	60
Volume tissulaire (L)		
Foie	0,13	0,90
Tissus adipeux	1,16	15
Tissus faiblement perfusés	1,10	32,4
Reste du corps	0,81	6
Débit cardiaque (L/h)	47,71	496,64
Ventilation alvéolaire (L/h)	41,25	310,40
Perfusion tissulaire (L/h)		
Foie	4,5	90,2
Tissus adipeux	2,39	31,04
Tissus faiblement perfusés	3,39	58,98
Reste du corps	37,43	108,64
Glande mammaire	-	21,73
Métabolisme		
CYP2E1 microsomal (pmol/mg MSP) ^d	16,51	48,9
[microsome] _{hépatique} (mg MSP/g foie)	52,9	52,9
Vmax (mg/h) ^d		
TOL	2,83	0,96
XYL	3,24	1,10
EBZ	4,29	1,46
Km (mg/L) ^d		
TOL		0,55
XYL		0,22
EBZ		1,39

^a Jonhsrud et al. 2003.

^b Les paramètres physiologiques, exceptés le débit hépatique, ont été calculés à partir d'équations établies par Haddad et al. 2001 et Price et al. 2003. Le débit hépatique a été obtenu à partir du volume hépatique et du ratio volume/perfusion hépatique relevé chez un enfant de 4 ans.

^c Fisher et al. 1997.

^d Tardif et al. 1997.

Tableau II Activités spécifiques du CYP2E1 humain pour le toluène, m-xylène et l'éthylbenzène.

Substrat	Activité spécifique (mg/h/pmolCYP 2E1)
Toluène	2,47E-05
Xylène	2,83E-05
Benzène	3,75E-05

^a Les activités spécifiques ont été calculées à partir des vitesses maximales pour chacune des substances déterminées par Tardif et al. 1997 et du contenu hépatique en CYP2E1 adulte moyen (48,9 pmol/mg MSP x 52,9 mg MSP/g foie x 1820 g de foie) (Lipscomb et al. 2001).

Tableau III. Coefficients de partage du toluène, m-xylène et de l'éthylbenzène, utilisés pour la construction des modèles PCBP (mère et enfant)^a.

Paramètres physico-chimiques	Toluène	Xylène	Éthylbenzène
Sang : air	15,6	26,4	28
Gras : air	1021	1859	1556
Foie : air	83,6	90,9	83,8
Muscle et peau : air	27,7	41,1	26
Reste du corps : air	83,6	90,9	60,3
Lait:sang	2,68 ^b	2,98 ^b	3 ^c

^a Tardif et collaborateurs (1997)

^b Fisher et collaborateurs (1997)

^c US EPA (2007)

Tableau IV. Constantes d'inhibition du toluène (T), m-xylène (X) et éthylbenzène (E), utilisées pour la construction des modèles PCBP (adulte et enfants).^a

Inhibiteur	Substrat		
	T	X	E
T		0,33	0,17
X	0,36		0,51
E	0,95	1,67	

^a Haddad et al. 2001.

Tableau V. Concentrations veineuses maximales en toluène et surface sous la courbe à 24 heures relevées chez le nouveau-né exposé à du T, X et E sous forme de mélange (Mix) ou pas (Ind) via 1 (inhalation) ou 2 voies d'exposition (inhalation + ingestion).

Exposition	Individuelle (T seulement)		Mixte (T+X+E)	
	Cvmax (mg/L)	SSC 24h (mg.h/L)	Cvmax (mg/L)	SSC 24h (mg.h/L)
Inhalation * (1 voie)	0,02	0,29	0,02	0,38
Inhalation + ingestion** (2 voies)	0,19	0,58	0,33	0,87
Ratio de DI	9,5	2	16,5	2,29

* Le nouveau-né est exposé continuellement (24h) via la voie pulmonaire aux substances aux concentrations de référence (1 ppm de T, 0,023 ppm de X et 0,23 ppm de E).

** Le nouveau-né est exposé continuellement aux substances via la voie pulmonaire aux concentrations de référence, mais est exposé également aux substances via la voie orale suite à l'ingestion de lait maternel provenant d'une mère exposée durant 9 heures à 17 ppm de T, 33 ppm de X et 33 ppm de E (milieu professionnel).

Légende des figures

Figure 1. Représentation conceptuelle du transfert de mélange de COV de la mère vers le nouveau-né via le lait maternel.

Figure.2. Concentrations veineuses en toluène (T) m-xylène (X) et éthylbenzène (E) chez le nouveau-né et la mère lorsque celle-ci inhale le mélange TEX sur son lieu de travail (T : 17 ppm X : 33 ppm et E : 33 ppm) pendant 8 heures. Les concentrations en T, X et E en dehors du milieu de travail sont supposées nulles. Le nouveau-né est allaité durant 20 minutes toutes les 3,5 heures.

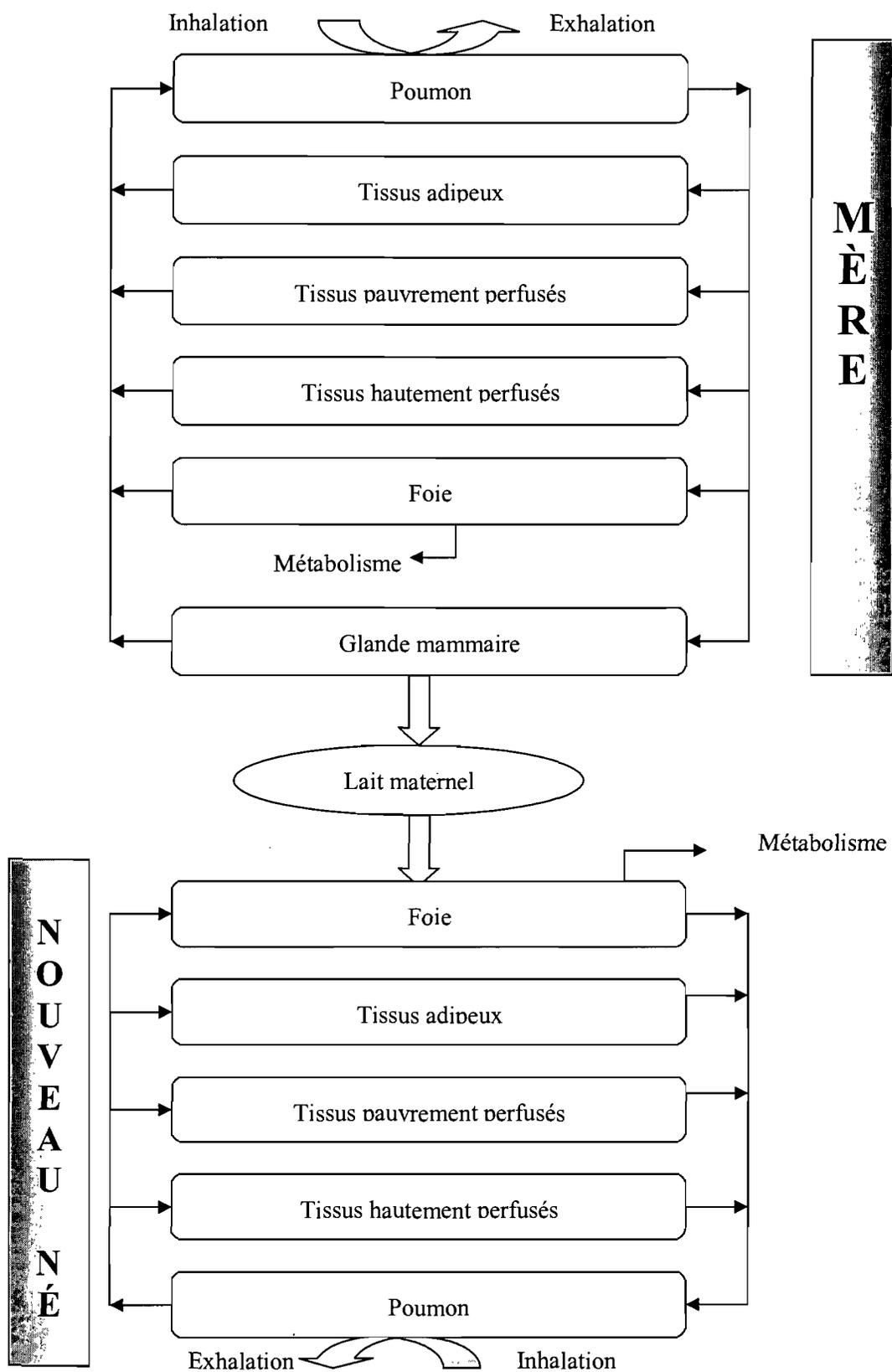
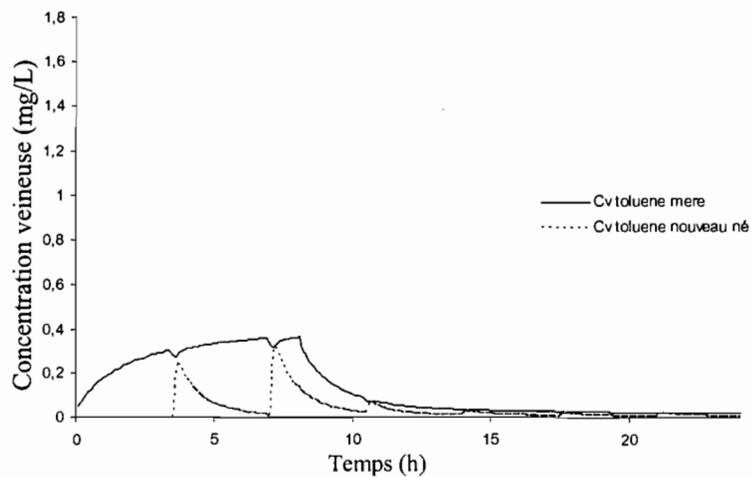
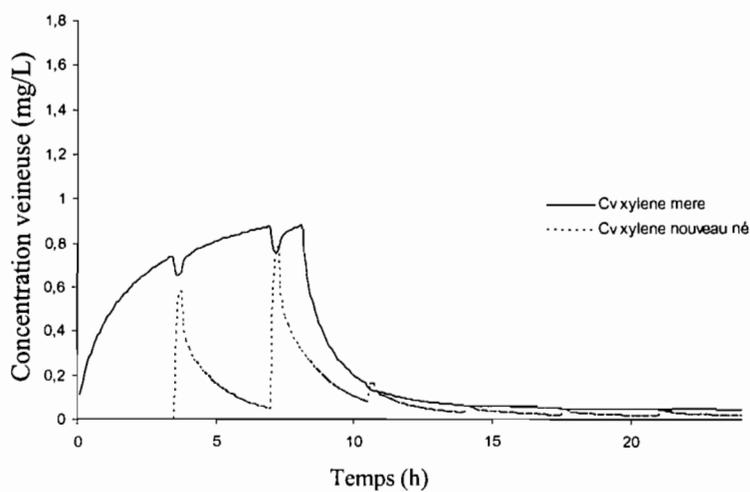


Figure 1. Représentation conceptuelle du transfert de mélange de COV de la mère vers le nouveau-né via le lait maternel.

T



X



E

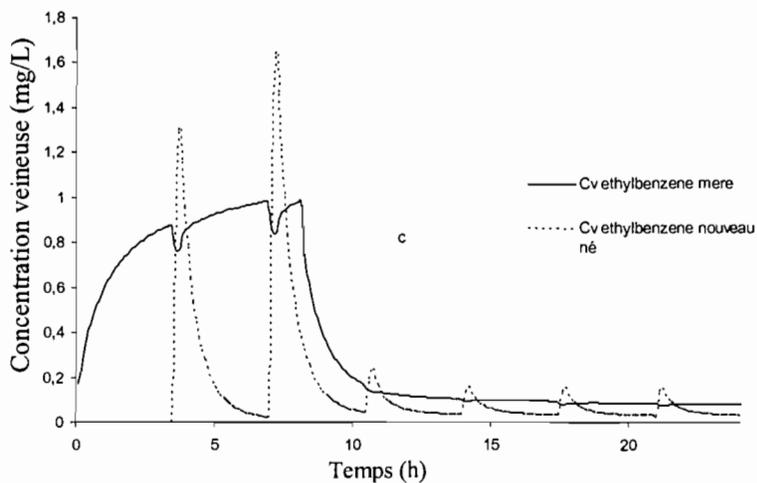


Figure.2. Concentrations veineuses en toluène (T) m-xylène (X) et éthylbenzène (E) chez le nouveau-né et la mère lorsque celle-ci inhale le TEX sur son lieu de travail (T : 17 ppm X : 33 ppm et E : 33 ppm) pendant 8 heures. Les concentrations en T, X et E en dehors du milieu de travail sont supposées nulles. Le nouveau-né est allaité durant 20 minutes toutes les 3,5 heures.

4. DISCUSSION GÉNÉRALE

Les enfants sont confrontés, comme l'adulte, à des mélanges de contaminants environnementaux. Le développement de modèles PCBP simulant l'exposition à divers mélanges de COV a permis d'étudier les interactions métaboliques et les conséquences toxicologiques de ce genre de scénario chez l'homme adulte. Par contre aucune des études menées jusqu'à présent, n'a tenté de faire de même pour l'enfant. L'objectif général de ce travail était donc de modéliser à l'aide de modèle PCBP les interactions métaboliques entre COV chez l'enfant, et leur impact en termes de doses absorbées, comparativement aux observations faites en cas d'exposition à une seule substance.

La principale difficulté provient du fait que l'enfant présente certaines particularités, notamment au niveau physiologique et métabolique, qui peuvent moduler la TK des substances comparativement à l'adulte. Outre cette différence adulte-enfant, il existe également des différences au sein même de la population d'enfants, dues à la fois à la variabilité inter-âge (relative au degré de développement) et à la variabilité interindividuelle (relative à l'hérédité, l'état physiopathologique, l'hygiène de vie etc. de chaque individu). L'étude de Nong et collaborateurs (2006) a démontré l'ampleur des répercussions TK de cette variabilité (inter-âge et interindividuelle) en simulant l'exposition à 1 ppm de toluène. Les résultats de la présente étude quant à eux, tendent à démontrer qu'il est également impératif de tenir compte de cette hétérogénéité dans le cadre d'exposition mixte. Effectivement, des différences marquées ont en effet été observées entre, et au sein des populations d'enfants et d'adultes exposés au mélange TEX. Cependant, seule la population de nouveau-né semble présenter, comparativement à l'adulte, une distribution particulière des doses internes lors d'exposition au mélange. En réalité, il semble, d'après les résultats avancés dans la première étude que les doses internes soient, dès

lors qu'il s'agit d'un individu âgé de plus de 1 mois, plus influencées par les caractéristiques physiologiques et métaboliques individuelles, que par les caractéristiques physiologiques et métaboliques relatives à l'âge.

Compte tenu de ces résultats, l'attention a été par la suite plus portée sur le groupe de nouveau-nés. Finalement, une nouvelle méthode permettant d'évaluer les effets toxicocinétiques de l'exposition de cette population à un mélange de COV a été proposée. Effectivement, l'intégration de la variabilité interindividuelle dans les modèles d'interaction (adulte et nouveau-né) a permis d'effectuer différentes simulations Monte Carlo. Celle-ci avait pour objectif de déterminer quelles pourraient être les concentrations en T, X et E nécessaires pour induire les mêmes effets TK qu'une augmentation de 10 % de la C_{vmax} moyenne (50ème percentile) en T retrouvée pour la population adulte exposée à 1 ppm de T. Finalement, il semble que l'exposition de la population de nouveau-nés à un mélange TEX (0,44 ppm de T, 0,023 ppm de X et 0,023 ppm de E durant 24 h) soit une des combinaisons possibles. Ainsi, il s'agit d'une nouvelle approche permettant d'analyser et d'interpréter les répercussions TK de l'exposition infantile au mélange de COV. Cette approche pourrait éventuellement, si elle est acceptée, être utilisée en analyse de risque pour redéfinir les concentrations acceptables dans l'environnement dans le cadre d'exposition de la population générale à des mélanges de COV.

Cependant, il est important de souligner que les variabilités interindividuelles et inter-âges au niveau du coefficient de partage sang : air n'ont pas été prises en considération dans la présente étude. Ceci constitue une lacune importante puisqu'il est reconnu que celui-ci influence considérablement les doses internes dès lors qu'il s'agit de gaz non réactifs. D'ailleurs il semble que, le coefficient de partage sang : air joue un rôle majeur dans la toxicocinétique du toluène, particulièrement pour les enfants âgés de 1 à 11 ans. Peu d'études portent sur les variations de

coefficients de partage au cours de la période postnatale au niveau des COV. Pelekis et collaborateurs (2001) ont tenté d'intégrer la variabilité inter-âge au niveau des coefficients de partage pour certains COV en se basant sur les variations de contenu tissulaire en lipides neutres. Cependant l'absence d'information a contraint cette équipe à supposer que les coefficients de partage sang : air de l'enfant correspondaient systématiquement soit au double, ou à la moitié de celui déterminé pour l'adulte. Vue l'importance de ce facteur dans la régulation de la cinétique des substances et les probables variabilités interindividuelle et inter-âge au niveau cet élément, il est essentiel que des recherches soient menées en ce sens, afin de pouvoir utiliser la nouvelle méthode d'analyse de risque ici proposée.

L'hétérogénéité retrouvée au niveau de la population des enfants ne se limite pas à la toxicocinétique; les bouleversements morphologiques et comportementaux qui se produisent durant la période postnatale ont également des répercussions sur le scénario d'exposition. La deuxième étude s'est donc concentrée sur le nouveau-né qui présente en plus d'une sensibilité en termes de TK au mélange, une grande particularité en termes de scénario d'exposition, soit l'ingestion de lait maternel. Les résultats de l'étude suggèrent que cette voie peut significativement contribuer à la contamination du nouveau-né par les COV. En effet, l'exposition maternelle à un mélange de COV semble pouvoir induire une augmentation des DI (Cvmax ou SSC) chez le nouveau-né. La Cvmax en toluène est 16,5 fois plus élevée chez un nouveau-né allaité par une mère exposée professionnellement à mélange TEX au tiers des valeurs limites d'exposition, que celle d'un nouveau-né simplement exposé via la voie pulmonaire aux concentrations de références. Ainsi, la deuxième étude révèle que la dose reçue en COV par le nouveau-né, peut augmenter significativement lorsque sa mère est exposée professionnellement à un mélange de COV, même s'il s'agit des VLE.

En temps normal, les instances responsables de la protection de la santé des populations comme la US EPA, s'assurent que les concentrations environnementales auxquelles les individus sont exposés n'excèdent pas les concentrations de références recommandées. Tout dépassement de ces concentrations peut potentiellement induire une élévation des doses internes qui pourrait être dommageable à l'individu. Par exemple, la concentration de référence (RfC) préconisée par la US EPA pour le T est de $0,4 \text{ mg/m}^3$. Le facteur additionnel FQPA de 10 visant à ajouter un facteur de sécurité de plus pour les enfants, est compris dans le calcul de la RfC; la NOAEL déterminée pour les individus « supposés normaux » étant équivalente à 4 mg/m^3 . Ainsi, l'ingestion de lait maternel provenant d'une mère exposée professionnellement au mélange TEX (17 ppm T, 33 ppm de X et 33 ppm d'E) provoque une élévation la DI en T d'au plus 16,5; en effet sous ces conditions, la C_{vmax} du nouveau-né suite à l'ingestion lait maternel avoisine $0,33 \text{ mg/L}$ alors qu'elle avoisine $0,02 \text{ mg/L}$ lors de l'inhalation de ce même mélange aux concentrations de références (bruit de fond). Lorsque l'analyse se base sur les surfaces sous courbe retrouvées pour le nouveau-né sous ces conditions, le facteur d'élévation avoisine 3. Ainsi, dépendamment de la dose interne choisie, l'application du facteur FQPA peut être jugée comme une approche plus ou moins conservatrice. Cependant, ce facteur vise également à tenir compte des différences adulte-enfant en termes de toxicocinétique et de toxicodynamique, et compte tenu que le système nerveux central est l'organe cible, l'utilisation du facteur FQPA semble justifiée. Cette étude donne donc une idée des répercussions que peut avoir l'exposition professionnelle maternelle à un mélange de COV sur le nouveau-né. Les concentrations d'exposition professionnelle sont normalement choisies de manière à ce que les travailleurs puissent être exposés à ces contaminants sans que ceux-ci aient des effets néfastes sur leur santé. Cependant, ces normes ne tiennent pas compte des éventuelles répercussions de l'exposition parentale en milieu de travail sur la santé des enfants, Outre le lait maternel, les travailleurs peuvent contaminer leurs propres

enfants et leurs habitations en véhiculant, par le biais de leurs vêtements et de leur peau, certains des contaminants présents sur leur lieu de travail. Il apparaît donc essentiel que la contamination parentale soit prise en compte dans le cadre d'analyse de risque menée chez l'enfant.

D'un point de vue purement scientifique, l'utilisation des modèles infantiles d'interaction, ainsi que les conclusions qui en découlent, pourraient être remises en question. En effet, les sources d'incertitude relatives à la paramétrisation des modèles sont nombreuses, et aucun de ces modèles n'a été validé en contrepartie. Cependant, l'éthique limite considérablement les possibilités en termes de validation. Il serait en effet inacceptable, moralement parlant, d'exposer délibérément des enfants à un mélange de COV à des fins de validation. De la même manière, il serait inconcevable de demander à une mère exposée professionnellement, d'allaiter son enfant pour confirmer qu'il existe un risque réel pour l'enfant, ou que le modèle est acceptable. Par ailleurs, noter que la modélisation constitue, par définition, une alternative à l'approche expérimentale. En réalité, les modèles PCBP ont été élaborés de manière à éviter l'expérimentation et à contourner les problèmes éthiques que cette dernière occasionne. Autrement dit, bien qu'ils n'aient pas été validés, les modèles d'interactions infantiles ici proposés sont actuellement, les seuls outils éthiquement acceptables et suffisamment fiables, permettant d'évaluer les impacts TK de l'exposition infantile aux COV. Néanmoins, noter que le développement de méthodes alternatives non invasives et conformes à la morale, permettant de raffiner les paramètres (physiologique, biochimique), contribuerait significativement à leur optimisation.

Certes, l'élaboration de modèles PCBP est difficile et contraignante. Cependant, ils s'avèrent être des outils particulièrement appropriés à l'étude des interactions métaboliques chez l'enfant exposé à un mélange de COV; notamment, grâce à leur grande malléabilité (application de différents scénarios), de leur base mécanistique, leur dimension prédictive et au fait qu'ils permettent de tenir compte de la variabilité populationnelle. Ainsi, au regard de ces éléments et

compte tenu de la réalité environnementale des enfants (exposition à des mélanges de COV), il semble justifié que les recherches soient poursuivies en ce sens.

Le travail ici effectué s'inscrit dans une perspective d'amélioration des connaissances en termes d'évaluation du risque chez l'enfant. La présente étude révèle le potentiel de la modélisation pharmacocinétique à base physiologique dans le cadre d'expositions infantiles à un mélange de contaminants environnementaux. Les instances responsables de la mise en place des normes et mesures environnementales visant à la protection des enfants, ont besoin que les connaissances en termes d'évaluation du risque soient approfondies. L'amélioration de la compréhension des différences adultes-enfants au niveau de l'exposition, de la toxicocinétique et de la toxicodynamique compte parmi les requêtes formulées (IPCS 2006). Jusqu'à présent, la solution proposée vise à utiliser un facteur d'incertitude additionnel de 10 pour protéger les enfants. Le présent travail a permis de démontrer combien le développement de l'outil PCBP pourrait permettre d'avancer en ce sens.

5. BIBLIOGRAPHIE

Alcorn, J. et McNamara, P. J. 2002a. Ontogeny of hepatic and renal systemic clearance pathways in infants: part II. *Clin Pharmacokinet.* **41** (13): 1077-1094.

Alcorn, J. et McNamara, P. J. 2002b. Ontogeny of hepatic and renal systemic clearance pathways in infants: part I. *Clin Pharmacokinet.* **41** (12): 959-998.

Alcorn, J. et McNamara, P. J. 2003. Pharmacokinetics in the newborn. *Adv Drug Deliv Rev.* **55** (5): 667-686.

Armstrong, T. W., Zaleski, R. T., Konkel, W. J. et Parkerton, T. J. 2002. A tiered approach to assessing children's exposure: a review of methods and data. *Toxicol Lett.* **127** (1-3): 111-119.

Bois, F. Y. 1999. Analysis of PBPK models for risk characterization. *Ann N Y Acad Sci.* **895**: 317-337.

Carlson, J. E. et Sokoloff, K. 1995. Preventing child exposures to environmental hazards: research and policy issues. *Environ Health Perspect.* **103 Suppl 6**: 3-5.

Casarett, L. J., Klaassen, C. D., Amdur, M. O. et Doull, J. 1996. *Casarett and Doull's toxicology : the basic science of poisons. (McGraw-Hill Health Professions Division).* 5th, New York ; Montreal

Crom, W. R. 1994. Pharmacokinetics in the child. *Environ Health Perspect.* **102 Suppl 11**: 111-117.

De Rosa, C. T., El-Masri, H. A., Pohl, H., Cibulas, W. et Mumtaz, M. M. 2004. Implications of chemical mixtures in public health practice. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* **7** (5): 339-350.

Dennison, J. E., Bigelow, P. L., Mumtaz, M. M., Andersen, M. E., Dobrev, I. D. et Yang, R. S. 2005. Evaluation of potential toxicity from co-exposure to three CNS depressants (toluene,

ethylbenzene, and xylene) under resting and working conditions using PBPK modeling. *J Occup Environ Hyg.* **2** (3): 127-135.

Dorne, J. L., Walton, K. et Renwick, A. G. 2005. Human variability in xenobiotic metabolism and pathway-related uncertainty factors for chemical risk assessment: a review. *Food Chem Toxicol.* **43** (2): 203-216.

Ginsberg, G., Hattis, D., Sonawane, B., Russ, A., Banati, P., Kozlak, M., Smolenski, S. et Goble, R. 2002. Evaluation of child/adult pharmacokinetic differences from a database derived from the therapeutic drug literature. *Toxicol Sci.* **66** (2): 185-200.

Ginsberg, G., Hattis, D., Russ, A. et Sonawane, B. 2004a. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling of caffeine and theophylline in neonates and adults: implications for assessing children's risks from environmental agents. *J Toxicol Environ Health A.* **67** (4): 297-329.

Ginsberg, G., Hattis, D. et Sonawane, B. 2004b. Incorporating pharmacokinetic differences between children and adults in assessing children's risks to environmental toxicants. *Toxicol Appl Pharmacol.* **198** (2): 164-183.

Goldman, L. R. et Koduru, S. 2000. Chemicals in the environment and developmental toxicity to children: a public health and policy perspective. *Environ Health Perspect.* **108 Suppl 3**: 443-448.

Haddad, S., Beliveau, M., Tardif, R. et Krishnan, K. 2001. A PBPK modeling-based approach to account for interactions in the health risk assessment of chemical mixtures. *Toxicol Sci.* **63** (1): 125-131.

Hayes, A. W. 2001. Principles and methods of toxicology. (*Taylor & Francis*). 4th, Philadelphia, PA

IPCS. 2006. International Program on Chemical Safety. Principles for evaluating health risks in children associated with exposure to chemicals. (*World Health Organization*). Stuttgart, Ger

- Ito, S. et Lee, A. 2003. Drug excretion into breast milk--overview. *Adv Drug Deliv Rev.* **55** (5): 617-627.
- Johnson, T. N. 2003. The development of drug metabolising enzymes and their influence on the susceptibility to adverse drug reactions in children. *Toxicology.* **192** (1): 37-48.
- Johnsrud, E. K., Koukouritaki, S. B., Divakaran, K., Brunengraber, L. L., Hines, R. N. et McCarver, D. G. 2003. Human hepatic CYP2E1 expression during development. *J Pharmacol Exp Ther.* **307** (1): 402-407.
- Krishnan, K. et Brodeur, J. 1991. Toxicological consequences of combined exposure to environmental pollutants. *Archives of complex environmental studies.* **3** (3): 1-106.
- Krishnan, K., Haddad, S., Beliveau, M. et Tardif, R. 2002. Physiological modeling and extrapolation of pharmacokinetic interactions from binary to more complex chemical mixtures. *Environ Health Perspect.* **110 Suppl 6**: 989-994.
- Landrigan, P. J., Sonawane, B., Mattison, D., McCally, M. et Garg, A. 2002. Chemical contaminants in breast milk and their impacts on children's health: an overview. *Environ Health Perspect.* **110** (6): A313-315.
- Landrigan, P. J., Kimmel, C. A., Correa, A. et Eskenazi, B. 2004. Children's health and the environment: public health issues and challenges for risk assessment. *Environ Health Perspect.* **112** (2): 257-265.
- Loizou, G. et Sams, G. (2004). Inter-individual variability in the interpretation of biological monitoring guidance values. H. Books, Health and Safety Laboratory: 1-48.
- Lu, F. C. 1992. Toxicologie : données générales, procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. (*Masson*). Paris
- Moya, J., Bearer, C. F, et Etzel, R. A. 2004. Children's behavior and physiology and how it affects exposure to environmental contaminants. *Pediatrics.* **113** (4 Suppl): 996-1006.

- Mukerjee, D. 1998. Assessment of risk from multimedia exposures of children to environmental chemicals. *J Air Waste Manag Assoc.* **48** (6): 483-501.
- Nong, A., McCarver, D. G., Hines, R. N. et Krishnan, K. 2006. Modeling interchild differences in pharmacokinetics on the basis of subject-specific data on physiology and hepatic CYP2E1 levels: a case study with toluene. *Toxicol Appl Pharmacol.* **214** (1): 78-87.
- Paustenbach, D. J. 2002. Human and ecological risk assessment : theory and practice. (*John Wiley & Sons*). New York, NY
- Pelekis, M., Gephart, L. A. et Lerman, S. E. 2001. Physiological-model-based derivation of the adult and child pharmacokinetic intraspecies uncertainty factors for volatile organic compounds. *Regul Toxicol Pharmacol.* **33** (1): 12-20.
- Price, K., Haddad, S. et Krishnan, K. 2003. Physiological modeling of age-specific changes in the pharmacokinetics of organic chemicals in children. *J Toxicol Environ Health A.* **66** (5): 417-433.
- Saliba, E. 2001. Médecine et biologie du développement : du gène au nouveau-né. (*Masson*). Paris
- Schaefer, M. 1994. Children and toxic substances: confronting a major public health challenge. *Environ Health Perspect.* **102 Suppl 2**: 155-156.
- Shelley, M. L., Andersen, M. E. et Fisher, J. W. 1988. An inhalation distribution model for the lactating mother and nursing child. *Toxicol Lett.* **43** (1-3): 23-29.
- Tanaka, E., Terada, M. et Misawa, S. 2000. Cytochrome P450 2E1: its clinical and toxicological role. *J Clin Pharm Ther.* **25** (3): 165-175.
- Tardif, R., Charest-Tardif, G., Brodeur, J. et Krishnan, K. 1997. Physiologically based pharmacokinetic modeling of a ternary mixture of alkyl benzenes in rats and humans. *Toxicol Appl Pharmacol.* **144** (1): 120-134.

Tardif, R., Droz, P. O., Charest-Tardif, G., Pierrehumbert, G. et Truchon, G. 2002. Impact of human variability on the biological monitoring of exposure to toluene: I. Physiologically based toxicokinetic modelling. *Toxicol Lett.* **134** (1-3): 155-163.

Thomas, R. S., Lytle, W. E., Keefe, T. J., Constan, A. A. et Yang, R. S. 1996. Incorporating Monte Carlo simulation into physiologically based pharmacokinetic models using advanced continuous simulation language (ACSL): a computational method. *Fundam Appl Toxicol.* **31** (1): 19-28.

Vieira, I., Sonnier, M. et Cresteil, T. 1996. Developmental expression of CYP2E1 in the human liver. Hypermethylation control of gene expression during the neonatal period. *Eur J Biochem.* **238** (2): 476-483.

Yang, R. S.-h. 1994. Toxicology of chemical mixtures : case studies, mechanisms, and novel approaches. (*Academic Press*). San Diego ;Toronto