

Université de Montréal

**Caractérisation de la pharmacocinétique
suite à l'exposition multivoie au toluène,
au n-hexane et au cyclohexane chez le rat**

par

Michelle Gagné

Département de santé environnementale et santé au travail
Faculté de médecine

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

Décembre 2008

©Michelle Gagné, 2008

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

**Caractérisation de la pharmacocinétique
suite à l'exposition multivoie au toluène,
au n-hexane et au cyclohexane chez le rat**

présenté par :
Michelle Gagné

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Docteure Ginette Truchon, présidente-rapportrice
Docteur Robert Tardif, directeur de recherche
Docteur Kannan Krishnan, codirecteur de recherche
Docteure Michèle Bouchard, membre du jury

Mémoire accepté le :

RÉSUMÉ

La contribution de l'inhalation et de la voie percutanée à l'exposition totale à des composés organiques volatils (COV) présents dans l'eau potable est une problématique qui suscite un intérêt grandissant en santé publique et au niveau réglementaire. Jusqu'à tout récemment, seule l'ingestion était considérée dans l'évaluation du risque des contaminants de l'eau. L'objectif de ce projet était de caractériser l'impact de l'exposition multivoie sur la pharmacocinétique et la dose interne de trois COV : le toluène (TOL), le n-hexane (HEX) et le cyclohexane (CYCLO). À cette fin, un modèle expérimental animal a été utilisé et un modèle toxicocinétique à base physiologique (TCBP) a été adapté pour le TOL. Des rats Sprague-Dawley ont été exposés par voies uniques (inhalation, orale et percutanée) ou simultanées (multivoie) aux solvants. Pour le TOL, les trois voies ont été expérimentées, alors que la voie percutanée n'a pas été retenue pour le HEX et le CYCLO. Des prélèvements sanguins ont permis de caractériser les cinétiques sanguines. Les niveaux sanguins, obtenus lors des expositions multivoies, étaient généralement plus élevés que la somme des niveaux associés aux expositions par voies uniques, fait illustré par le rapport des surfaces sous la courbe expérimentale versus les prédictions (TOL : 1,30 et 2,19 ; HEX : 1,55 ; CYCLO : 0,98 et 0,99). Le modèle TCBP prédit bien la cinétique du TOL lors d'expositions par voies uniques et par multivoies. Les données expérimentales obtenues suggèrent que la dose interne résultant d'une exposition multivoie ne peut pas toujours être prédite par la somme des doses internes obtenues lors d'expositions par voies uniques. Ce phénomène serait explicable par la saturation du métabolisme. La modélisation TCBP est un outil efficace pour l'estimation du risque relatif à l'exposition multivoie aux COV présents dans l'eau potable.

Mots-clés : exposition multivoie, composés organiques volatils, toluène, n-hexane, cyclohexane, modèle expérimental animal, modèle toxicocinétique.

ABSTRACT

The contribution of dermal and inhalation routes of exposure to volatile organic chemicals (VOCs) in drinking water is increasingly drawing attention. Until recently, ingestion was the only route considered in risk assessment of drinking water contaminants. The general objective of this study was to characterize multi-route exposures on the pharmacokinetics and internal dose of three VOCs: toluene (TOL), n-hexane (HEX) and cyclohexane (CYCLO). Towards this goal, an experimental animal model was developed and a physiologically-based toxicokinetic (PBTK) model was adapted in order to take account route-specific absorption parameters of TOL. Sprague-Dawley rats were given a single dose of VOCs by oral ingestion, inhalation or dermal route. Additional groups of rat were exposed by the three routes simultaneously. In the case of HEX and CYCLO, dermal route was not considered. Blood samples were collected in order to compare kinetics following simple and multiroute exposures. Blood levels obtained following multiroute exposures were generally higher than predictions (i.e., the sum of the blood levels obtained for single route exposures) (as revealed by area under curve ratio: TOL :1,30 et 2,19; HEX : 1,55; CYCLO : 0,98 et 0,99). The PBTK model described adequately the kinetics of TOL in rats following single and multiroute exposures. The results suggest that internal dose arising from multiple routes is not necessarily comparable to the sum of the blood levels obtained for single route exposures. This phenomenon would be attributable to degree of saturation during aggregate exposures. Furthermore, the present study demonstrated that PBTK model can be used to predict/interpret blood levels associated with multiroute exposures to VOCs in drinking water, using toluene as a model substance.

Key words: multiroute exposure, volatile organic compounds, toluene, n-hexane, cyclohexane, experimental animal model, toxicokinetic modeling.

TABLE DES MATIÈRES

PAGE TITRE	i
IDENTIFICATION DU JURY	ii
RÉSUMÉ	iii
ABSTRACT.....	iv
TABLE DES MATIÈRES.....	v
LISTE DES TABLEAUX.....	x
LISTE DES ABRÉVIATIONS	xii
REMERCIEMENTS	xiii
1. CHAPITRE PREMIER : INTRODUCTION	1
1.1. Considérations générales	2
1.1.1. Contaminants de l'eau potable	2
1.1.2. Les composés organiques volatils et la contamination de l'eau potable.....	2
1.1.3. Les normes régissant l'eau potable.....	3
1.1.4. Exposition multivoie.....	4
1.1.5. La voie d'inhalation.....	10
1.1.6. La voie orale	11
1.1.7. La voie percutanée.....	12
1.2. Les modèles toxicocinétiques à base physiologique	14
2. CHAPITRE DEUXIÈME : LES COV À L'ÉTUDE	16
2.1. Le toluène	17
2.1.1. Caractéristiques physico-chimiques	17
2.1.2. Source d'exposition	17
2.1.3. Le toluène dans l'eau	18
2.1.4. Voies d'exposition.....	19
2.1.5. Toxicocinétique.....	19
2.1.5.1. Absorption	19
2.1.5.2. Distribution.....	20
2.1.5.3. Biotransformation	20
2.1.5.4. Élimination	21
2.1.6. Toxicité	21
2.1.6.1. Effets toxiques aigus	21

2.1.6.2.	Effets toxiques chroniques	21
2.1.6.3.	Mécanisme de toxicité	22
2.1.7.	Interaction avec d'autres substances	22
2.1.8.	Extrapolation : de l'animal à l'humain	22
2.2.	Le n-hexane	22
2.2.1.	Caractéristiques physico-chimiques	22
2.2.2.	Source d'exposition	23
2.2.3.	Le n-hexane dans l'eau	24
2.2.4.	Voies d'exposition.....	24
2.2.5.	Toxicocinétique.....	24
2.2.5.1.	Absorption	24
2.2.5.2.	Distribution.....	24
2.2.5.3.	Biotransformation	25
2.2.5.4.	Élimination	25
2.2.6.	Toxicité	26
2.2.6.1.	Effets toxiques aigus	26
2.2.6.2.	Effets toxiques chroniques	26
2.2.6.3.	Mécanisme de toxicité	27
2.2.7.	Interaction avec d'autres substances	27
2.2.8.	Extrapolation : de l'animal à l'humain	27
2.3.	Le cyclohexane	27
2.3.1.	Caractéristiques physico-chimiques	27
2.3.2.	Source d'exposition	28
2.3.3.	Le cyclohexane dans l'eau	29
2.3.4.	Voies d'exposition.....	29
2.3.5.	Toxicocinétique.....	29
2.3.5.1.	Absorption	29
2.3.5.2.	Distribution.....	29
2.3.5.3.	Biotransformation	29
2.3.5.4.	Élimination	30
2.3.6.	Toxicité	30
2.3.6.1.	Effets toxiques aigus	30
2.3.6.2.	Effets toxiques chroniques	30
2.3.6.3.	Mécanisme de toxicité	30

2.3.7. Interaction avec d'autres substances	31
2.3.8. Extrapolation : de l'animal à l'humain	31
3. CHAPITRE TROISIÈME: OBJECTIFS ET DÉMARCHE EXPÉRIMENTALE	32
3.1. Problématique	33
3.2. Objectifs	33
3.2.1. Objectif général	33
3.2.2. Objectifs spécifiques.....	33
3.3. Démarche expérimentale	34
3.3.1. Protocole d'exposition : le toluène.....	36
3.3.2. Modélisation toxicocinétique à base physiologique : le toluène	37
3.3.3. Protocole d'exposition : le n-hexane.....	37
3.3.4. Protocole d'exposition : le cyclohexane.....	38
4. CHAPITRE QUATRIÈME : EXPOSITION MULTIVOIE AU TOLUÈNE (présentation de l'article).....	40
5. CHAPITRE CINQUIÈME : EXPOSITION MULTIVOIE AU N-HEXANE ET AU CYCLOHEXANE	76
5.1. Résultats expérimentaux : le n-hexane	77
5.1.1. Exposition voie unique : voie d'inhalation	77
5.1.2. Exposition voie unique : voie orale	78
5.1.3. Exposition multivoie: inhalation et orale	81
5.1.4. Discussion des résultats pour le n-hexane	82
5.2. Résultats expérimentaux : le cyclohexane	84
5.2.1. Exposition voie unique: par inhalation	84
5.2.2. Exposition voie unique : la voie orale	86
5.2.3. Exposition multivoie: par inhalation et par voie orale	87
5.2.4. Discussion des résultats pour le cyclohexane	90
6. CHAPITRE SIXIÈME : DISCUSSION ET CONCLUSION	93
7. CHAPITRE SEPTIÈME : BIBLIOGRAPHIE	97
8. ANNEXES	xiv
ANNEXE I : Modèle TCBP	xv

LISTE DES FIGURES

CHAPITRE PREMIER : INTRODUCTION

- Figure 1 : Utilisation domestique de l'eau au Canada 4
- Figure 2 : Cinétique sanguine typique pour les trois voies d'exposition, soit la voie orale, la voie d'inhalation et la voie percutanée. 10

CHAPITRE DEUXIÈME: LES COV À L'ÉTUDE

- Figure 3 : Voie métabolique du toluène 20
- Figure 4 : Voie métabolique du n-hexane 25

CHAPITRE CINQUIÈME : EXPOSITION MULTIVOIE AU N-HEXANE ET AU CYCLOHEXANE

- Figure 5 : Profil temporel du n-hexane dans le sang, suite à une exposition par inhalation de 2 h à 200 ou 50 ppm. Les données expérimentales sont représentées par les symboles (■; ▲; moyenne ± écart-type; n=5 rats par dose)..... 78
- Figure 6 : Profil temporel du n-hexane dans le sang, suite à une exposition par gavage à 5,53 ou 22,33 mg/kg. Les données expérimentales sont représentées par les symboles (■; ●; △; moyenne ± écart-type; n=5 rats par dose)..... 80
- Figure 7 : Profil temporel du n-hexane dans le sang, suite à une exposition multivoie par inhalation de 2 h (200 ppm) et par gavage (22,3 mg/kg). Les données expérimentales (■; moyenne ± écart-type; n=5 rats par dose) et les valeurs prédites (Addition) à partir des valeurs mesurées par voie unique (△) sont représentées. 82
- Figure 8 : Profil temporel du cyclohexane dans le sang, suite à une exposition par inhalation de 2 h à 1200, 300 ou 100 ppm (concentrations réelles : $102,5 \pm 2,68$; $289,4 \pm 29,4$; $1167,9 \pm 38,0$ ppm). Les données expérimentales sont représentées par les symboles (■; ◆; ●; moyenne ± écart-type; n=5 rats). 85

- Figure 9 : Profil temporel du CYCLO dans le sang, suite à une exposition par gavage à 108,9 ou 27,9 mg/kg. Les données expérimentales sont représentées par les symboles (■; ◆; moyenne ± écart-type; n=5 rats par dose)..... 87
- Figure 10 : Profil temporel du cyclohexane dans le sang suite à une exposition multivoie par inhalation de 2 h à 300 ppm et par gavage 27,9 mg/kg. Les données expérimentales (■; moyenne ± écart-type; n=5 rats par dose) et la somme (addition) des niveaux sanguins obtenus lors des expérimentations par voie unique (△) sont représentées. 89
- Figure 11 : Profil temporel du cyclohexane dans le sang, suite à une exposition multivoie par inhalation de 2 h à 1200 et par gavage 108,9 mg/kg. Les données expérimentales (■; moyenne ± écart-type; n = 5 rats par dose) et la somme (addition) des niveaux sanguins obtenus lors des expérimentations par voie unique (△) sont représentées. 90

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE PREMIER : INTRODUCTION

Tableau I :	Contributions estimées de l'exposition par la peau vs ingestion	6
-------------	---	---

CHAPITRE DEUXIÈME: LES COV À L'ÉTUDE

Tableau II :	Principales caractéristiques physico-chimiques du toluène.....	18
--------------	--	----

Tableau III :	Principales caractéristiques physico-chimiques du n-hexane	23
---------------	--	----

Tableau IV :	Principales caractéristiques physico-chimiques du cyclohexane.....	28
--------------	--	----

CHAPITRE TROISIÈME: OBJECTIFS ET DÉMARCHE EXPÉRIMENTALE

Tableau V :	Doses équivalentes à une exposition de 2h à différentes concentrations de TOL, de HEX ou de CYCLO	34
-------------	---	----

CHAPITRE CINQUIÈME : EXPOSITION MULTIVOIE AU N-HEXANE ET AU CYCLOHEXANE

Tableau VI :	Concentrations sanguines de n-hexane (mg/L; moyenne \pm écart-type; n=5) après 2 h d'inhalation à 200 et 50 ppm (concentrations réelles dans la chambre d'inhalation : 50,0 \pm 0,6; 201,1 \pm 2,2 ppm).	77
--------------	--	----

Tableau VII :	Concentrations sanguines de n-hexane (mg/L; moyenne \pm écart-type; n=5), obtenues chez deux groupes de rats distincts, après expositions orales à 22,33 mg/kg.	79
---------------	--	----

Tableau VIII :	Concentrations sanguines de n-hexane (mg/L; moyenne \pm écart-type; n=5) après exposition multivoie (orale : 22,3 mg/kg ; inhalation : 200 ppm [concentration réelle d'exposition dans la chambre d'inhalation : 202,1 \pm 5,3 ppm]).....	81
----------------	---	----

Tableau IX : Concentrations sanguines de cyclohexane (mg/L; moyenne \pm écart-type; n=5) après 2 h d'inhalation (concentrations réelles dans la chambre d'inhalation : $102,5 \pm 2,68$; $289,4 \pm 29,4$; $1167,9 \pm 38,0$ ppm).	85
Tableau X : Concentrations sanguines de cyclohexane (mg/L; moyenne \pm écart-type; n=5) après administration orale	86
Tableau XI : Concentrations sanguines de cyclohexane (mg/L; moyenne \pm écart-type; n=5) après exposition multivoie aux fortes doses (orale : 108,9 mg/kg; inhalation : 1200 ppm (concentration réelle chambre : $300,7 \pm 14,1$ ppm) et faibles doses (orale : 27,9 mg/kg; inhalation : 300 ppm) (concentrations réelles de la chambre : $1196,0 \pm 38,0$ ppm).....	88

LISTE DES ABRÉVIATIONS

2,5-HD : 2,5-hexanedione
ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry (États-Unis)
CAS : Chemical Abstracts Service
C_{max} : Concentration maximale
COV: Composé organique volatil
CYCLO : Cyclohexane
EPA : Environmental Protection Agency (États-Unis)
EPI : Estimation Program Interface Suite (États-Unis)
F_{abs}: Fraction d'absorption
F_{air-eau} : Ratio des concentrations air/eau, spécifique aux conditions d'exposition
FID : Flame Ionization Detector
HEX: n-hexane
HPLC: high-pressure liquid chromatography
K_{aw} : Coefficient de partage air:eau
K_{ow} : Coefficient de partage octanol:eau
K_{él} : Constante d'élimination
K_m : Constante d'affinité Michaëlis-Menten
K_p : Constante de perméabilité
Leq : Litre équivalent
LOD : Limit of detection
MTBE : Méthyl-tert-butyl éther
PBPK/ PBTk : physiologically based pharmacokinetic/ toxicokinetic
PM : Poids moléculaire
SNC : Système nerveux central
SNP : Système nerveux périphérique
SSC : Surface (ou aire) sous la courbe
TCBP: Toxicocinétique à base physiologique
TCE : Trichloréthylène
THM : Trihalométhanes
TOL: Toluène
VEMP : Valeur d'exposition moyenne pondérée
V_{max} : Vitesse maximale de biotransformation
VOCs : Volatile Organic Chemicals

REMERCIEMENTS

Je désire exprimer ma reconnaissance à certaines personnes m'ayant particulièrement entourée tout au long de ma maîtrise.

Ma gratitude profonde s'adresse en tout premier lieu au docteur Robert Tardif qui, avec une disponibilité sans pareille, m'a offert généreusement sa grande expérience et guidé judicieusement pendant deux ans. Mon respect et mon estime lui sont acquis. Je remercie aussi docteur Kannan Krishnan, mon codirecteur, pour le soutien complémentaire et son sens de l'humour.

Mes remerciements vont également à madame Michèle Bouchard, professeure du département, qui m'a orientée lors de mon Séminaire : son bon jugement et son sens critique ont largement contribué à la qualité de mon travail.

La présence fidèle, le travail constant et la grande rigueur de madame Ginette Charest-Tardif m'ont aussi permis de mener à bonne fin cette recherche. Sans contredit, ses talents de formatrice, son dynamisme et sa bonne humeur constante m'ont inspirée! Merci pour toutes ces heures passées en laboratoire et ces dîners pris sur le pouce!

Ma gratitude s'adresse aussi aux étudiants du Département de santé environnementale et santé au travail, Cyril et compagnie, à Milad, notre petit génie, à la souriante Imane et à mes chers voisins de Pharmacologie, Linda et Frédéric, qui ont enrichi et égayé mon quotidien.

Je remercie tout particulièrement Geneviève Hamelin, ma voisine de bureau préférée! La complicité et l'amitié que nous avons développées au fil des mois me sont maintenant précieuses. Pour toutes les réponses à mes questions, merci!

Les encouragements que m'ont offerts les membres de ma famille : mon père, mes frères ainsi que Daniel, mon conjoint, valent d'être également soulignés. Pour votre amour inconditionnel et votre soutien de tous les instants, un merci affectueux! J'offre finalement de tendres remerciements à ma mère : d'un soutien infaillible tout au long de mes études, elle a toujours su me redonner la confiance dont j'avais besoin lors de mes nombreuses remises en question.

CHAPITRE PREMIER : INTRODUCTION

1.1. Considérations générales

1.1.1. Contaminants de l'eau potable

L'eau de consommation peut contenir de nombreuses substances néfastes à la santé humaine. En effet, les diverses sources d'eau (les lacs, les cours d'eau, les eaux souterraines) peuvent être contaminées via la pluie ou encore par certains effluents industriels et égouts municipaux se déversant dans les rivières sans avoir été décontaminés. Les contaminants peuvent ainsi être d'origine anthropique (les pesticides, les solvants et autres), mais aussi d'origine naturelle (les protozoaires, les bactéries et les virus, ou encore certains éléments comme le fer, le manganèse et le cadmium). Le traitement et l'acheminement de l'eau aux consommateurs engendrent aussi de la contamination. Lorsque le chlore, utilisé pour la désinfection de l'eau, réagit avec les matières organiques, il forme des sous-produits de désinfection (ex. : le chloroforme) nocifs à la santé. Finalement, les tuyaux et les réservoirs formant le réseau de distribution, composés de plomb et de cuivre, constituent d'autres sources de contamination de l'eau potable (Festy et coll., 2003).

1.1.2. Les composés organiques volatils et la contamination de l'eau potable

Parmi les contaminants potentiels de l'eau, on retrouve les composés organiques volatils (COV). Ils possèdent la caractéristique commune de s'évaporer facilement dans des conditions normales de température et de pression. Leurs utilisations et leurs productions massives augmentent le potentiel d'exposition pour les humains. Ils sont largement employés comme solvants industriels ou comme dégraissants et sont aussi des composants de l'essence et de nombreux produits commerciaux. L'eau potable est notamment mise en contact avec ces composés via des sites d'enfouissement ou lors de fuites accidentelles de réservoirs d'essence (Morgan et coll., 1991). Il n'est d'ailleurs pas rare d'assister à des contaminations concomitantes, c'est-à-dire de trouver plus d'un COV à la fois dans l'eau (Squillace et coll., 1999). Une fois dans l'environnement, les COV peuvent se disperser, se diluer, se volatiliser, être absorbés ou dégradés.

Aux États-Unis, la moitié de la population utilise des sources souterraines et il semble que 65% des puits domestiques révèlent la présence d'au moins un COV. Le chloroforme, un sous-produit de chloration, est fréquemment retrouvé, tout

comme le toluène et le méthyl-tert-butyl éther (MTBE) qui sont tous deux présents dans l'essence. Sauf exception, les concentrations retrouvées dans les échantillons prélevés dans ces puits étaient basses et même sous le niveau des normes sanitaires actuelles. Par contre, ces dernières pourraient bien être révisées.

Aucune étude ne présente un portrait des eaux potables canadiennes et la plupart des données décrivent la situation américaine. Par contre, une enquête a déterminé la présence de quelques COV (notamment le toluène, le cyclohexane, le chloroforme et le dichlorométhane) dans les eaux embouteillées, et ce, dans des concentrations faibles qui ne devraient pas avoir d'impact sur la santé (Page et coll., 1993).

1.1.3. Les normes régissant l'eau potable

Afin d'assurer un accès à une eau potable de qualité pour l'ensemble de la population, des normes basées sur des critères de santé encadrent l'exploitation et la distribution de cette ressource.

L'ingestion a longtemps été la seule, ou du moins la principale, voie d'exposition considérée lors de la fixation des normes (Andelman, 1985). Actuellement, l'évaluation de l'exposition aux contaminants de l'eau est basée sur la consommation quotidienne en eau : au Canada, on considère qu'un adulte moyen ingère 1,5 L d'eau par jour, alors que c'est 2 L aux États-Unis (Krishnan et Carrier, 2008).

Les normes de l'eau potable sont fondées sur les données toxicologiques les plus récentes et sont couramment révisées en fonction des informations émergentes. Depuis quelques années, ces normes sont revues dans l'optique de l'exposition multivoie (par inhalation, par ingestion et par la voie percutanée).

Exposition aux composés organiques volatils

1.1.4. Exposition multivoie

L'exposition aux contaminants de l'eau potable peut effectivement avoir lieu par la consommation d'eau (voie orale), mais aussi par la voie percutanée lors d'activités comme la baignade ou encore par l'inhalation de vapeur dans la douche (Brown et coll., 1984). Comme mentionné précédemment, la réglementation de l'eau potable ignorait jusqu'à maintenant l'absorption par ces autres voies (Beavers et coll., 1996). Encore aujourd'hui, lors d'épisodes d'eau contaminée, les guides d'interventions en santé publique conseillent à la population d'éviter de boire l'eau sans toutefois recommander une diminution des activités reliées à son usage (Weisel et Jo, 1996). Cela démontre à quel point ces deux voies étaient, et sont toujours, négligées.

En ne prenant pas en compte l'apport de ces voies lors du calcul des normes sanitaires, l'exposition de la population aux contaminants de l'eau potable pourraient être sous-estimée (Brown et coll., 1984). De plus, comme l'illustre la Figure 1, la majorité de l'eau potable n'est pas bue mais plutôt employée pour le bain et la douche, ce qui favorise d'autant plus les voies d'inhalation et percutanée.

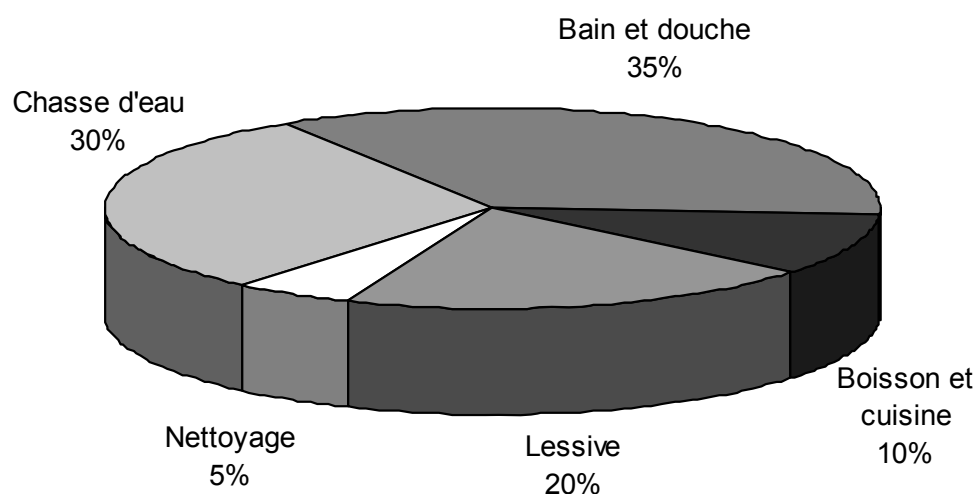


Figure 1 : Utilisation domestique de l'eau au Canada
(Modifiée d'Environnement Canada, 1999)

Parmi tous les contaminants potentiels de l'eau potable, l'exposition multivoie aux COV est particulièrement plausible lorsqu'on considère leur volatilité et leur liposolubilité. Ces deux caractéristiques leur confèrent effectivement un grand potentiel de pénétration par les poumons et la peau (Weisel et Jo, 1996). La possibilité d'une exposition multivoie aux COV a fait l'objet de plusieurs recherches depuis les années 1980. Elles ont étudié l'impact de l'exposition multivoie aux COV sur la dose absorbée, mais aucune d'entre elles ne s'est penchée sur les effets possibles sur la cinétique. En fait, les premières études se sont intéressées surtout à la comparaison entre la voie orale et l'une ou l'autre des deux voies soupçonnées, l'inhalation et la voie percutanée.

C'est Andelman (1985) qui a mis en lumière l'importance du phénomène de volatilisation des COV dans la douche, plus particulièrement dans le cas du trichloréthylène (TCE). Il a modélisé la volatilisation du TCE lors de la prise d'une douche à une eau contaminée, selon un taux à l'équilibre. Ce dernier est influencé, notamment, par la température, par la ventilation de la pièce et la solubilité du composé dans l'eau. De plus, la concentration ambiante dans la salle de bain est notamment influencée par la trajectoire de chute. Les résultats de cette étude indiquaient que l'inhalation peut être substantielle et même comparable à la dose ingérée hebdomadairement. D'ailleurs, Andelman a été le premier à suggérer la considération de la voie d'inhalation pour une meilleure définition des normes.

D'un autre côté, l'importance de la voie percutanée a été mise en lumière par Brown et coll. (1984) dans un article portant sur le toluène, l'éthylbenzène et le styrène. Dans leurs travaux, ils ont estimé la dose provenant de la voie percutanée et l'ont comparée à celle résultant de l'exposition orale. Leurs résultats, exprimés en termes de pourcentage de contribution, considéraient que 100% de la dose provenait de ces deux voies (orale et percutanée). Pour un adulte de 70 kg, prenant un bain de 15 minutes et dont la peau est immergée à 80%, les résultats sont très éloquentes (Tableau I) et la peau semble une voie d'entrée plus importante que l'ingestion. En effet, la voie percutanée contribue, selon les composés, de 50 à 75% de la dose totale absorbée, et ce, peu importe la concentration des COV dans l'eau.

Tableau I : Contributions estimées de l'exposition par la peau vs ingestion

Composés	Concentration eau (mg/L)	Contribution relative des voies (%)	
		Percutanée	Orale
Toluène	0,005	67	22
	0,100	63	27
	0,500	59	41
Éthylbenzène	0,005	75	25
	0,100	63	37
	0,500	68	32
Styrène	0,005	67	33
	0,100	50	50
	0,500	59	41

(Brown et coll., 1984)

Des auteurs ont ensuite examiné l'exposition multivoie proprement dite, en considérant les trois voies d'exposition, soit l'inhalation, l'ingestion et la voie percutanée. Qu'il s'agisse de modèles d'estimation, d'exposition, de données expérimentales ou de modèles toxicocinétiques, ces études ont enrichi la démonstration : l'inhalation et le contact cutané, associés à un usage d'eau contaminée, contribuent de façon significative à l'exposition totale aux COV. Certains de ces travaux sont décrits ci-dessous.

Pour commencer, certaines études se sont fondées sur les bases théoriques des différentes voies d'absorption afin d'estimer la portée de l'exposition multivoie. Une des premières études a porté sur le cas de puits contaminés par des produits de l'essence aux États-Unis (Shehata, 1985). La contribution de chacune des voies pour trois composés de l'essence (le benzène, le toluène et le xylène), a été estimée pour un enfant. Les doses orales et percutanées ont été calculées à partir de la concentration de l'eau (voir les calculs théoriques présentés dans les sections suivantes de ce mémoire) et la dose inhalée a été calculée selon la concentration de l'air (estimée grâce à un modèle mathématique). Ces modélisations et ces calculs ont été effectués sous plusieurs conditions, la concentration de l'eau passant de 0,005 à 50,0 mg/L selon les divers scénarios. La charge corporelle totale était calculée en additionnant les doses absorbées par les trois voies et un pourcentage était attribué à chacune d'entre elles. Pour le toluène et le xylène, les pourcentages

de la contribution totale demeurent constants, peu importe la concentration de l'eau : pour le toluène, l'ingestion, l'inhalation et la voie percutanée représentent respectivement 22, 45 et 32% de la contribution totale; alors qu'elle est de 62, 21 et 18% pour le xylène. Pour le benzène, plus sa concentration dans l'eau augmente, plus l'apport de la voie orale diminue (passant de 99 à 78%) au profit de l'inhalation (qui passe de 1 à 20%), alors que l'absorption percutanée est négligeable. Cette étude a été la première à chiffrer la contribution des voies lors de l'exposition multivoie.

Une autre façon de s'attarder à la problématique de l'exposition multivoie : les études expérimentales. Une étude effectuée sur des sujets humains (Jo et coll., 1990) a fourni beaucoup d'arguments en faveur d'une prise en compte de l'exposition multivoie dans l'élaboration des normes des COV et plus précisément dans le cas du chloroforme. Ils ont pu discriminer expérimentalement l'absorption du chloroforme par la peau et par les poumons, lors d'une douche, grâce à l'utilisation d'appareils respiratoires, de bonbonnes d'air exemptes de COV ainsi que par l'emploi de vêtements imperméables. Leurs résultats expérimentaux ont mis en évidence que le chloroforme peut être absorbé autant par les poumons que par la peau. Plus précisément, l'inhalation de chloroforme lors d'une douche de 10 minutes est comparable à l'ingestion de 0,7 L et le contact cutané à la consommation de 0,66 L d'eau contaminée. Ici, il est possible d'introduire le concept de « litre équivalent » (Leq) utilisé pour des fins de comparaison, en termes d'équivalence de doses, entre la voie percutanée, l'inhalation et la voie orale.

Une étude réalisée par Haddad et coll. (2006) portait sur les trihalométhanes (THM : des sous-produits de chloration dont le chloroforme fait partie) et aussi sur un solvant souvent retrouvé en concentration considérable dans l'eau de consommation : le TCE. Grâce à l'utilisation et au développement d'un modèle toxicocinétique à base physiologique (TCBP) et à un modèle permettant d'estimer la concentration ambiante dans une salle de bain, ces chercheurs ont évalué la contribution des différentes voies d'exposition à la dose totale absorbée. Ils ont modélisé deux scénarios d'exposition : un scénario typique où l'individu consommait 1,5 L d'eau et prenait une douche de 10 minutes et un autre, extrême celui-là, où l'individu consommait 1,5 L d'eau et prenait deux douches de 15 minutes chacune. Leurs résultats, exprimés en Leq, démontre l'importance de l'inhalation et de la voie percutanée. Pour un adulte, les scénarios typique et extrême équivalent

respectivement à 3 L et 5 L ingérés. Tout comme dans le cas de l'étude menée par Shehata (1985), la contribution des voies était indépendante de la concentration modélisée. L'étude a, à son tour, mis en évidence l'impact de l'exposition multivoie et l'influence qu'elle pourrait avoir sur l'établissement de normes.

À la lumière de ces études, et de quelques autres non rapportées ici, il est évident que l'ingestion, l'inhalation et la voie percutanée contribuent toutes trois de façon significative à l'exposition totale des contaminants de l'eau potable (Weisel et Jo, 1996). Il est donc primordial d'évaluer l'importance relative des voies d'absorption et les conséquences sur la cinétique lors d'expositions multivoies (Krishnan et Johanson, 2005). Pour ce faire, une approche à deux niveaux (« two-tier approach ») a été développée pour Santé Canada. Elle permet d'évaluer l'importance des voies d'inhalation et percutanée par rapport à l'exposition totale aux contaminants de l'eau potable (Krishnan et Carrier, 2008). Les deux étapes sont effectuées de façon indépendante pour chacune des voies : l'inhalation et la voie percutanée.

Dans un premier temps (Étape 1), on détermine si la voie a le potentiel de contribuer à au moins 10% de la consommation quotidienne par l'ingestion d'eau potable, donc, soit 0,15 L (10% de 1,5 L). Il a été déterminé que pour toute substance ayant un coefficient de perméabilité (K_p) inférieur à 0,024 cm/h, la voie percutanée ne risque pas de contribuer significativement. Les substances plus sujettes à être absorbées par la peau ($K_p \geq 0,024$ cm/h) seront considérées pour l'étape 2 où la valeur du Leq attribuable à cette voie est déterminée. Lorsque la valeur du K_p d'une substance est inconnue, il est possible de la déterminer à partir du coefficient octanol-eau (K_{ow}) et du poids moléculaire de la substance (Équation 1). Pour ce qui est de l'estimation de l'importance de la voie d'inhalation, c'est la fraction de la substance dans l'air par rapport à la fraction dans l'eau (le $F_{air-eau}$) qui est considérée. Selon les caractéristiques de l'utilisation de l'eau (conditions d'exposition,...), un ratio s'établit entre la concentration du contaminant dans l'air et dans l'eau (ex. : une douche ou un bain auront des $F_{air-eau}$ différents). Cette fraction peut être déterminée dans des conditions expérimentales ou estimée à partir du coefficient de partage air:eau (K_{aw}) de la substance (Équation 2) (Krishnan et Carrier 2008), elle-même estimée par modélisation grâce au programme Henry Win (EPI, 2008). Lorsque la valeur du ratio $F_{air-eau}$ est supérieure ou égale à 0,00063, la voie d'inhalation est considérée comme possiblement significative.

Si l'étape 1 est concluante pour une voie (voie percutanée et/ou inhalation), la deuxième est réalisée pour déterminer la valeur du Leq lui étant attribuable. Pour une explication plus exhaustive de la démarche et des calculs, les travaux de Krishnan et Carrier (2008) sont très complets.

Équation 1

$$Kp = e^{(-0,812 - 0,0104 \times PM + 0,616 \times \log Kow)}$$

Équation 2

$$F_{\text{air-eau}} = \frac{(0,26 \times Kaw)}{1 + (80,25 \times Kaw)}$$

Il existe peu de documentation sur les possibles implications d'une exposition multivoie sur la cinétique d'une substance. Comme la cinétique propre à chacune des voies d'absorption (Figure 2) peut avoir une influence sur la toxicité d'une substance, l'exposition multivoie pourrait avoir un effet sur le potentiel toxique d'un composé si elle conduisait à une augmentation de la concentration maximale (Cmax) atteinte aux tissus cibles ou de la durée de sa présence dans l'organisme. Par exemple, l'ingestion se distingue par l'effet de premier passage qui entraîne directement la substance vers le foie, l'organe principal de la biotransformation. Une exposition à plus d'une voie est susceptible d'entraîner une saturation des enzymes du foie. Cette saturation provoquerait une incapacité temporaire à métaboliser efficacement les COV.

Pour bien comprendre l'exposition multivoie, il est important de déterminer comment, et en quoi, l'inhalation, l'ingestion et la voie percutanée représentent des voies significatives en ce qui a trait à l'exposition aux COV. Les prochaines sections porteront donc sur les caractéristiques générales de chacune de ces voies.

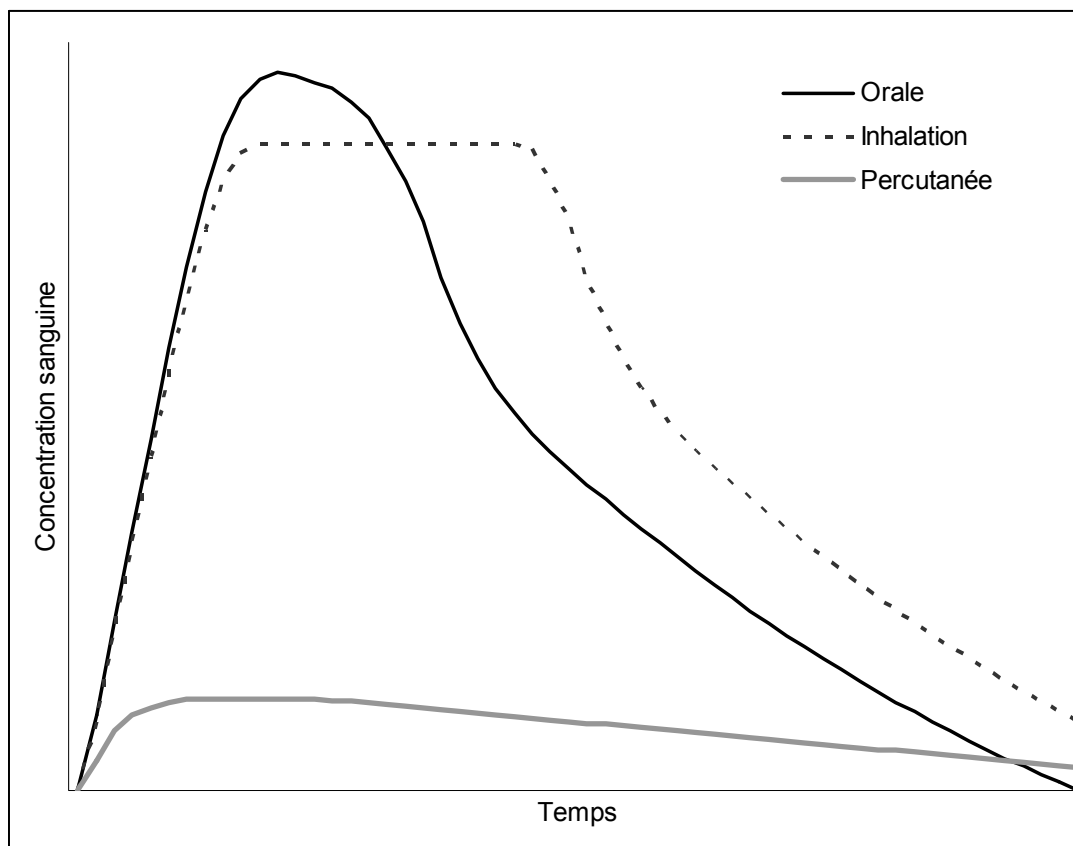


Figure 2 : Cinétique sanguine typique pour les trois voies d'exposition, soit la voie orale, la voie d'inhalation et la voie percutanée.

1.1.5. La voie d'inhalation

Les COV ont tendance à se volatiliser dans des conditions de température et de pressions normales. Ils sont donc très fréquemment retrouvés dans l'air et, par le fait même, potentiellement absorbables par les poumons. Comme la surface des poumons est très grande ($\sim 100 \text{ m}^2$) et la muqueuse pulmonaire très mince ($\sim 1 \mu\text{m}$), le passage des vapeurs par diffusion passive vers la circulation sanguine est favorisé (Niesink et coll., 1996).

L'absorption par la voie d'inhalation est tout d'abord déterminée par la ventilation pulmonaire, le rythme cardiaque, le taux de clairance métabolique ainsi que par le coefficient de partage sang:air. Un coefficient de partage élevé impliquera surtout une absorption limitée par le taux de ventilation, alors que s'il est faible, l'absorption sera dépendante du débit cardiaque (Rozman et Klassen, 2001).

Quand le gaz atteint les alvéoles, une fraction plus ou moins grande des composés diffuse vers le sang, alors que l'autre portion est éliminée dans l'air expiré (Renwick, 2001). La dose qui est absorbée par cette voie dépend de la concentration dans l'air, de la durée de l'exposition, du taux de ventilation, de la fraction d'absorption spécifique (dépend en bonne partie du coefficient de partage sang:air de la substance) ainsi que du poids corporel de l'individu (Équation 3) (Krishnan et Carrier, 2008). Dans le cas des solvants, le pourcentage absorbé au début de l'exposition est grand, mais il diminue progressivement (Figure 2) au fur et à mesure que la substance s'accumule dans les tissus et que la concentration dans le sang retournant aux poumons augmente, jusqu'à l'atteinte de l'équilibre (C_{max}) (Rozman et Klassen, 2001).

Équation 3

$$\text{Dose (mg/kg/jour)} = \frac{C_{\text{air}} \times Q_{\text{alv}} \times t \times F_{\text{inh}}}{PC}$$

Où :

- C_{air} = Concentration de l'air (mg/L)
- Q_{alv} = Débit alvéolaire (L/h)
- t = durée de l'exposition (h)
- F_{inh} = Fraction d'absorption
- PC = Poids corporel (kg)

1.1.6. La voie orale

La voie orale est souvent la voie principale par laquelle les humains sont exposés aux contaminants de l'eau potable. Généralement, c'est la voie d'absorption qui produit une valeur de C_{max} la plus haute et ce maximum est rapidement atteint. Cependant, cette voie peut donner lieu à un effet de premier passage qui, selon son intensité, peut affecter grandement la valeur du C_{max}. Finalement, la phase d'élimination devrait s'effectuer à la même vitesse que celle observée suite à l'inhalation (Figure 2). L'absorption s'y fait tout au long du tube gastro-intestinal et le pH y joue un rôle important : alors que le pH de l'estomac est acide, celui de l'intestin est neutre/alcalin, ce qui modifie le rapport des formes ionisées/non-ionisées des substances en solution. Dans le cas des solvants, ils sont rapidement

absorbés dans l'estomac puisqu'ils s'y trouvent non-ionisés et donc davantage liposolubles.

En général, on considère que l'absorption orale des COV est de 100%. La dose est donc fonction de la concentration et de la quantité d'eau consommée, ainsi que du poids corporel (Équation 4) (Krishnan et Carrier, 2008).

Équation 4

$$\text{Dose (mg/kg/jour)} = \frac{C_{\text{eau}} \times V_{\text{eau}}}{PC}$$

Où : C_{eau} = Concentration de l'eau (mg/L)
 V_{eau} = Volume d'eau consommé par jour (L)
 PC = Poids corporel (kg)

1.1.7. La voie percutanée

La contribution de la voie percutanée dans l'exposition aux contaminants de l'eau potable n'a été que récemment prise en compte et les études sur le sujet sont peu nombreuses. Pourtant, la peau constitue environ 10% du poids humain total et est, de surcroît, la principale interface entre le milieu extérieur et le milieu interne du corps humain. L'absorption par cette voie pourrait être significative lorsqu'on considère sa surface (18 000 cm² pour un adulte moyen) (Bender et Bender, 1995) et son contact quotidien avec l'eau (douche, bain, vaisselle) (Mattie et coll., 1994b).

À cette étape, il est important de bien définir la terminologie. En anglais, « dermal absorption » est habituellement utilisée, mais sa traduction française est confuse puisque les auteurs utilisent souvent absorption cutanée et percutanée sans distinction. En fait, le terme le plus approprié est *absorption percutanée* puisqu'il décrit le passage de la substance à travers l'épiderme jusqu'à la circulation sanguine, alors que l'absorption cutanée ne concerne que l'entrée au travers du *stratum corneum*, la couche externe de la peau (Agache, 2000). Alors que les contaminants ne pouvant pas pénétrer plus loin que le derme déclenchent des effets locaux (ex.: irritation), ceux ayant la faculté d'atteindre la circulation

systémique, comme les COV, provoquent des effets systémiques (Mattie et coll., 1994b).

L'absorption par la peau se caractérise par une diffusion passive régit par la première loi de Fick : le flux de diffusion est proportionnel au gradient de concentration (Moody et Chu, 1995). La dose qui est absorbée par cette voie dépend de la concentration, de la constante de perméabilité ($\text{cm}\cdot\text{h}^{-1}$), de la surface exposée, de la durée de l'exposition, de la fraction d'absorption ainsi que du poids corporel de l'individu (Équation 5) (Krishnan et Carrier, 2008). La cinétique sanguine observée lors de l'exposition percutanée est très différente de celle des autres voies : elle est caractérisée par une absorption lente influençant la vitesse apparente d'élimination (Figure 2).

Équation 5

$$\text{Dose (mg/kg/jour)} = \frac{C_{\text{eau}} \times K_p \times A \times F_{\text{perc}} \times t \times 0,001}{PC}$$

Où :

- C_{eau} = Concentration de l'eau (mg/L)
- K_p = Constante de perméabilité (cm/h)
- A = Aire exposée (cm^2)
- t = durée de l'exposition (h)
- F_{perc} = Fraction d'absorption
- PC = Poids corporel (kg)

De fait, plusieurs autres facteurs influencent l'absorption percutanée. En plus de la durée de l'exposition et de la surface exposée, un accroissement de température, une peau bien hydratée ou une peau dont l'intégrité est rompue (par une brûlure, une coupure,...) auront tendance à faciliter l'absorption. Aussi, l'épiderme sera une barrière plus ou moins efficace selon la zone (ex : les mains vs l'abdomen) (Brown et coll., 1984). Bien sûr, le taux et la quantité qui pénètrent le derme dépendent aussi de la substance elle-même (sa lipophilicité, son poids moléculaire,...) et du véhicule (l'eau, le sol, ...) (McDougal et coll., 1990). En ce qui a trait aux COV, c'est

principalement leur caractère lipophile qui leur donne un grand potentiel d'absorption par la peau.

Afin de caractériser l'absorption percutanée, la plupart des études utilisent des modèles animaux, souvent il s'agit du rat. Ce dernier est choisi malgré que la peau humaine soit invariablement moins perméable aux substances que la peau de ce rongeur. En effet, les coefficients de perméabilité des rats sont plus élevés, d'un facteur allant de 2 à 4, par rapport à ceux des humains (McDougal et coll., 1990). Malgré le peu de travaux ayant porté sur l'importance de l'absorption percutanée de COV en solution, il a déjà été établi, grâce à un modèle animal, que l'exposition de seulement 1% de la surface totale de la peau produit des niveaux sanguins détectables (Morgan et coll., 1991). De plus, il semble que l'absorption percutanée soit plus importante lors d'expositions à des concentrations faibles. Selon Scheuplein et Blank (1973), ce phénomène est possiblement dû à la nécrose que provoque le solvant pur à la surface de la peau, ce qui réduirait l'absorption. Il serait donc possible que les COV présents dans l'eau à de faibles concentrations soient plus facilement absorbés, ce qui contribuerait davantage à l'exposition.

Finalement, il faut noter que l'absorption des COV est aussi possible sous la forme vapeur (Mattie et coll., 1994a), mais dans des proportions peu significatives. Pour le toluène et le xylène sous forme vapeur, par exemple, il semble que la voie percutanée contribue à environ 1 à 2% de l'absorption totale, le reste étant évidemment absorbé par les poumons (Brooke et coll., 1998).

1.2. Les modèles toxicocinétiques à base physiologique

Parmi les méthodes identifiées précédemment pour l'évaluation des doses absorbées, l'utilisation des modèles TCBP est très fréquente. Dans les modèles TCBP, l'organisme est un système de compartiments, chacun représentant un organe ou un groupe de tissus ayant des caractéristiques semblables. Le modèle décrit la cinétique (l'absorption, la distribution, la métabolisation et l'excrétion) des substances par des équations différentielles et considère de nombreux facteurs spécifiques aux composés, comme les coefficients de partage sang:air et tissus:sang (Krishnan et Andersen, 2001).

Dans les modèles TCBP, l'exposition multivoie peut être modélisée grâce à différentes équations caractérisant chacune des voies d'expositions (Krishnan et Andersen, 2001). Dans cette optique, quelques modèles TCBP ont été élaborés afin d'étudier l'exposition multivoie humaine, dont celui MTBE (Kim et coll., 2007), un additif de l'essence. Les sites d'absorption (les poumons, la peau et le tractus gastro-intestinal) sont inclus dans le modèle à neuf compartiments. Ce dernier permet une bonne description de la cinétique du MTBE lors de l'exposition multivoie, ce qui en fait un outil précieux lors d'analyses de risque pour la santé humaine (Kim et coll., 2007).

Un avantage majeur des modèles TCBP est, entre autre, qu'une fois validés, ils peuvent servir à prédire la cinétique d'un solvant dans les tissus cibles, et ce, pour une multitude de scénarios d'exposition (différentes doses, différentes voies, ...) (van Asperen et coll., 2003). Ils peuvent aussi incorporer des relations non linéaires et donc reproduire des processus saturables, comme le métabolisme (Roy et coll., 1996).

CHAPITRE DEUXIÈME : LES COV À L'ÉTUDE

Le toluène, le n-hexane et le cyclohexane sont des COV fortement utilisés comme solvants qui sont présents dans les produits du pétrole (ex. : l'essence, le kérosène,...) et qui ont le potentiel de contaminer l'eau potable. Ils font partis de classes chimiques différentes (Garnier et Auria, 2000), ce qui pourrait éventuellement être utile dans le cas d'extrapolation à d'autres substances constitutives de l'essence. Voilà pourquoi ces substances ont été choisies dans le cadre de ce projet de maîtrise et elles seront présentées en détail dans les sections suivantes.

2.1. Le toluène

2.1.1. Caractéristiques physico-chimiques

Le toluène (C_7H_8) est un hydrocarbure aromatique et un COV qui a l'aspect d'un liquide transparent à des températures ambiantes normales. Moyennement soluble dans l'eau (590 mg/L), son odeur est sucrée et piquante, semblable à celle du benzène (EPA, 2005b). Ses principales caractéristiques physico-chimiques sont présentées dans le Tableau II.

2.1.2. Source d'exposition

Le toluène provient de la déshydrogénation catalytique du pétrole, plus particulièrement des fractions contenant du méthylcyclohexane. Au Canada, le toluène présent dans l'essence provient du procédé normal de raffinage, alors que dans certains pays, comme les États-Unis, il est ajouté afin d'augmenter l'indice d'octane. Sinon, il est utilisé comme solvant (dans la peinture et les vernis) ainsi que dans les encres d'impression et les adhésifs (Environnement Canada, 1992).

Le toluène entre dans l'environnement via les peintures, les adhésifs et l'essence, soit par évaporation lors de leur utilisation ou lors de déversements ou de fuites qui entraînent une contamination des sols et des eaux de surface ou souterraines (ATSDR, 2000).

Tableau II : Principales caractéristiques physico-chimiques du toluène
(EPA, 2005b)

Caractéristiques	Toluène
CAS	108-88-3
Formule chimique	C ₇ H ₈
Synonymes	Toluöl, méthylbenzène ou phénylméthane
Apparence	Liquide transparent, incolore. Il dégage une odeur sucrée et piquante.
Poids moléculaire	92,14 g
Densité	0,867 g/ml
Tension de vapeur	28,4 mm Hg à 25°C
Solubilité dans l'eau	590 mg/L à 25 °C
Log K _{ow}	2,72
K _p	0,91 ^a ; 0,025 ^b
K _{aw}	0,24 ^c
F _{air:eau}	0,00723 ^d

a Estimé par l'application de l'Équation 1

b Valeur expérimentale (Thrall et Woodstock, 2002)

c Estimé par le programme HenryWin (EPI, 2008)

d Estimé par l'application de l'Équation 2

Le toluène ne persiste normalement pas longtemps dans l'environnement, où il est dégradé par les microorganismes du sol ou par photoréaction dans l'air. Par contre, lorsqu'il se trouve dans les eaux souterraines, il est faiblement décomposé. Or, il peut s'évaporer rapidement dès l'atteinte de la surface (ATSDR, 2000), dans une douche, par exemple.

2.1.3. Le toluène dans l'eau

La norme canadienne qui régit actuellement le toluène dans l'eau potable est de 0,024mg/L et est basée sur des critères organoleptiques afin qu'il ne soit pas détectable par les sens du goût et de l'odorat (Santé Canada, 1986).

Au Canada, comme il est mentionné à la section 1.1.2., certains échantillons (11%) d'eau embouteillée présentaient du toluène (0,0069 mg/L en moyenne, allant de 0,0005 à 0,063 mg/L) (Page et coll., 1993). Aux États-Unis, bien que seulement 1% des puits soit faiblement contaminés par le toluène (sous les 2 ppb), les sources d'eau potable, situées à proximité des sites d'enfouissements, sont très sujettes à la contamination (ATSDR, 2000).

2.1.4. Voies d'exposition

Outre les expositions professionnelles, il est possible d'être exposé au toluène via la nourriture, l'air, les produits de consommation et l'eau potable. Il y a donc trois voies principales par lesquelles le toluène peut être absorbé par le corps : l'inhalation, la voie orale et la voie percutanée (ATSDR, 2000).

Les travaux de Browns et coll. (1984) ont déterminé que le toluène peut être davantage absorbé par la peau que par la voie orale lors d'une exposition à une eau contaminée (Tableau I), et Shehata (1985) a estimé que la voie orale contribue à 45% de la charge totale de toluène, alors que la voie d'inhalation et la voie percutanée contribuent respectivement à 22 et 32% lors d'une exposition multivoie. Par contre, aucune étude n'a permis de documenter la cinétique du toluène lors d'exposition multivoie.

2.1.5. Toxicocinétique

2.1.5.1. Absorption

Plusieurs études ont été conduites afin de caractériser l'absorption par inhalation, autant chez l'humain que chez l'animal. Tout d'abord, il semble que le pourcentage de toluène absorbé soit plus élevé chez le rat (95%) que chez l'humain (~50%) (EPA, 2005b). Ensuite, les quelques études mesurant l'absorption du toluène par la voie orale ont démontré que près de 100% du toluène ingéré atteint la circulation sanguine tant chez l'humain que chez l'animal (EPA, 2005b). Finalement, le toluène est absorbé par la peau chez l'humain (Sato et Nakajima, 1978) et chez les animaux (Morgan et coll., 1991), mais cette voie d'absorption est moins importante que la voie d'inhalation (EPA, 2005b).

2.1.5.2. Distribution

Le toluène absorbé est distribué dans tout le corps. Les deux organes où l'on retrouve le toluène en plus grande concentration suite à une exposition sont le foie et le cerveau, malgré qu'il soit aussi présent dans le pancréas, le cœur, le gras et le sang (EPA, 2005b).

2.1.5.3. Biotransformation

Le foie est le principal lieu de la biotransformation du toluène. La première étape du métabolisme est accomplie par des cytochromes P450 du foie. La transformation (Figure 3) par ces enzymes est essentiellement une hydroxylation du groupement méthyle, qui conduit à l'alcool benzylique. Ce dernier est oxydé en benzaldéhyde, puis en acide benzoïque lui-même conjugué à la glycine pour former l'acide hippurique. Une voie secondaire de biotransformation implique une époxydation du noyau aromatique et entraîne la formation de crésols (*ortho*-, *para*- ou *mé*ta-) qui peuvent ensuite être conjugués pour former des sulfates ou des glucuronides (EPA, 2005b).

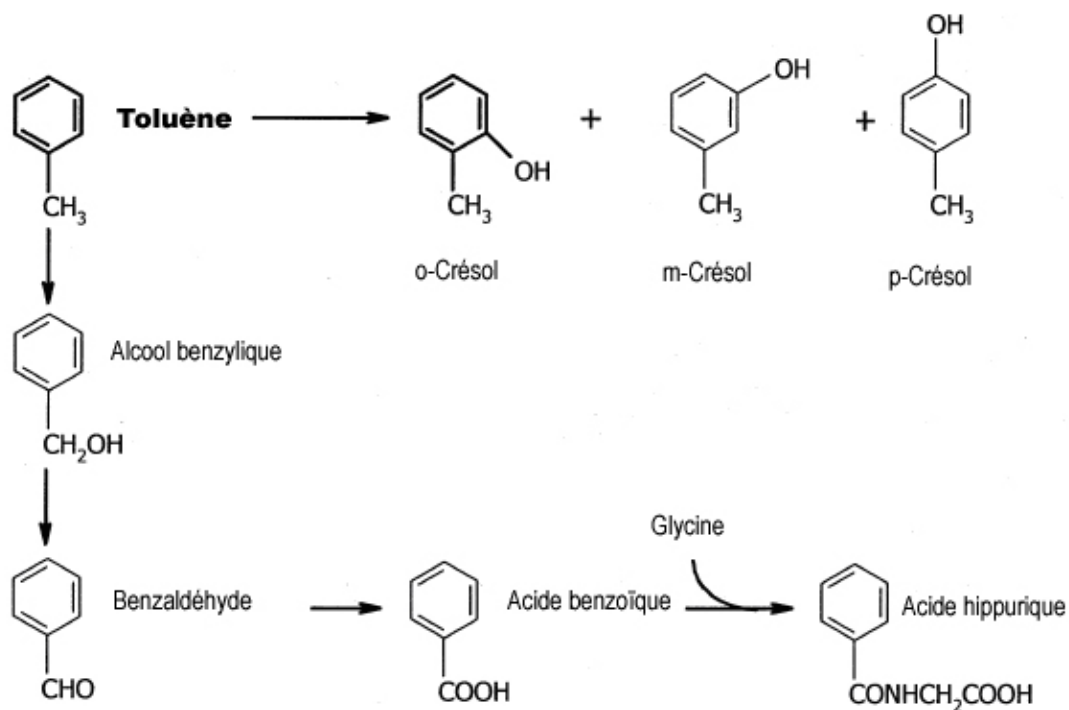


Figure 3 : Voie métabolique du toluène

(D'après Pierce et coll., 2002)

2.1.5.4. Élimination

Tant les études faites chez les humains que celles effectuées chez les animaux démontrent que le toluène est majoritairement éliminé par le corps via l'urine, et ce, principalement sous la forme des métabolites nommés ci-haut (Lof et coll., 1993).

2.1.6. Toxicité

2.1.6.1. Effets toxiques aigus

Les effets de l'inhalation de vapeurs de toluène sont principalement au niveau du système nerveux central (SNC). Les effets augmentent en fonction de la concentration d'exposition : la somnolence, les maux de tête, l'irritation du nez, de la gorge et des voies respiratoires, les étourdissements, la fatigue et la nausée. À de fortes concentrations apparaissent la confusion mentale, la perte de coordination, la perte de conscience, puis la mort (ATSDR, 2000). Les effets d'une exposition aiguë par voie orale apparaissent aussi au niveau du SNC (les mêmes que pour l'inhalation), alors qu'un contact cutané produit une irritation ou dermatite et, dans le cas d'une absorption suffisante, il est possible de s'attendre aux mêmes effets neurologiques (ATSDR, 2000).

2.1.6.2. Effets toxiques chroniques

Les expositions prolongées au toluène provoquent principalement des atteintes au SNC, mais aussi au niveau des reins, du foie et des systèmes sensoriels (ATSDR, 2000). Bien qu'il n'y ait aucun consensus à cet effet, les lésions chroniques au niveau du SNC se traduiraient par des pertes de mémoire, des troubles du sommeil et des difficultés de concentration. Des altérations des sens ont été documentées en ce qui a trait à la vue et à l'ouïe : le rôle du toluène n'est pas clairement déterminé pour les effets sur la perception des couleurs alors que la coexposition avec le bruit accentuerait l'effet délétère du toluène sur l'ouïe.

Le toluène n'est pas classé comme substance cancérigène par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC). En fait, « l'agent ne peut être classé pour sa cancérogénicité pour l'homme », par manque d'évidences. De plus, aucune reprotoxicité ni tératogénicité n'ont été prouvées (ATSDR, 2000).

2.1.6.3. Mécanisme de toxicité

Les effets neurotoxiques reliés à une exposition aiguë au toluène, comme la dépression du système nerveux et la narcose, seraient causés par une interaction réversible entre le toluène et les lipides et les protéines composant les membranes plasmiques du SNC (ATSDR, 2000).

2.1.7. Interaction avec d'autres substances

Puisque le métabolisme du toluène est un processus de détoxification, l'interaction avec une autre substance à ce niveau est susceptible de modifier sa toxicité aiguë. Les inhibiteurs de son métabolisme accroîtraient donc ses effets, alors que des substances inductrices diminueraient sa toxicité. Par ailleurs, plusieurs interactions métaboliques entre le toluène et d'autres substances ont été étudiées. Les interactions les plus fréquentes impliquent des substances métabolisées par le même cytochrome (CYP 2E1), comme le benzène et le xylène. Il existe aussi une interaction avec le n-hexane : le toluène aurait un effet inhibiteur sur le métabolisme du n-hexane et augmenterait sa neurotoxicité (ATSDR, 2000).

2.1.8. Extrapolation : de l'animal à l'humain

De toutes les espèces ayant servi à étudier la toxicité du toluène, c'est le rat qui a été la plus souvent utilisée et la plupart des données toxicocinétiques recueillies chez cet animal sont en accord avec celles relevées dans les études humaines (ATSDR, 2000).

2.2. Le n-hexane

2.2.1. Caractéristiques physico-chimiques

Le n-hexane (C₆H₁₄) est un hydrocarbure saturé de la famille des alcanes qui possède une chaîne carbonée de 6 carbones alignés. Peu soluble dans l'eau (9,5 mg/L), il a l'aspect d'un liquide transparent à des températures ambiantes. Ses principales caractéristiques physico-chimiques sont présentées dans le Tableau III.

Tableau III : Principales caractéristiques physico-chimiques du n-hexane (EPA 2005a)

Caractéristiques	Hexane
CAS	110-54-3
Formule chimique	C ₆ H ₁₄
Synonymes	Hexane normal, gettysolve-B, n-Hexane, normal-hexane
Apparence	Liquide incolore
Poids moléculaire	86,18 g
Densité	0,66 g/ml (à 20°C)
Tension de vapeur	150 mm Hg (à 25°C)
Solubilité dans l'eau	9,5 mg/L (à 25°C)
Log du K _{ow}	3,29
K _p	1,37 ^a
K _{aw}	6,98 ^b
F _{air:eau}	0,00759 ^c

a Estimé par l'application de l'Équation 1

b Estimé par le programme HenryWin (EPI, 2008)

c Estimé par l'application de l'Équation 2

2.2.2. Source d'exposition

Le n-hexane est un composé du gaz naturel et du pétrole brut et, de ce fait même, il se retrouve dans l'essence. Le n-hexane pur est utilisé en laboratoire, alors que celui utilisé comme solvant se retrouve souvent sous la forme d'un mélange d'isomères (ATSDR, 1999).

Le n-hexane peut contaminer l'air, l'eau et le sol principalement lors de sa production et de son utilisation. Il est aussi possible qu'il soit introduit dans l'environnement lors de fuites de réservoirs ou dans les décharges de déchets.

Il persiste très peu dans l'environnement : il s'évapore très facilement d'un sol ou d'une eau contaminée et est ensuite dégradé par réaction avec l'oxygène de l'air. Par contre, comme avec le toluène, il est concevable qu'il puisse rester en solution

dans l'eau souterraine et qu'il puisse s'évaporer qu'au moment de sa remise en surface (ATSDR, 1999).

2.2.3. Le n-hexane dans l'eau

À ce jour, il n'existe aucune norme régissant la présence du n-hexane dans l'eau de consommation.

2.2.4. Voies d'exposition

Il est possible d'inhaler du n-hexane (par exemple, dans des stations services, lors de l'utilisation de solvants ou en milieux de travail), mais il est aussi possible d'y être exposé par la peau. Malgré qu'il soit peu probable que le n-hexane se retrouve dans la nourriture ou dans l'eau, une eau contaminée impliquerait trois voies d'absorption: l'inhalation, la voie orale et la voie percutanée (ATSDR, 1999). Aucune étude n'a traité d'une possible exposition multivoie au n-hexane.

2.2.5. Toxicocinétique

2.2.5.1. Absorption

L'absorption via l'inhalation a été peu étudiée chez l'humain. Malgré qu'elle n'ait pas été quantifiée ni chez l'humain ni chez l'animal, il y a une absorption via le tractus digestif puisque le n-hexane et ses métabolites ont été identifiés dans l'air expiré de sujets exposés oralement au solvant. L'absorption percutanée n'a d'ailleurs pas été étudiée ni chez l'humain ni chez le rat (EPA, 2005a).

2.2.5.2. Distribution

Après une exposition par inhalation, le n-hexane se retrouve dans la circulation sanguine, laquelle le transporte jusqu'aux différents organes, entre autres le foie, les reins et le cerveau. Les études chez l'humain (Perbellini et coll., 1986) et chez le rat (Gargas et coll., 1989) semblent démontrer que les coefficients de partage tissu:sang sont très semblables entre les deux espèces. Par contre, aucune recherche n'a mis en lumière la distribution du n-hexane à la suite d'une exposition orale ou percutanée (EPA, 2005a).

2.2.5.3. Biotransformation

Le site principal de la métabolisation du n-hexane est le foie et ses étapes sont illustrées dans la Figure 4. Le n-hexane peut être soit détoxifié en formant le 1- ou le 3-hexanol ou être bioactivé et former le 2-hexanol. Ce dernier est converti en 2,5-hexanediol et en 2-hexanone, eux-mêmes métabolisés en 4,5-dihydroxy-2-hexanone et en 2,5-hexanedione (2,5-HD). C'est ce dernier qui est considéré comme le principal métabolite toxique du n-hexane (EPA, 2005a).

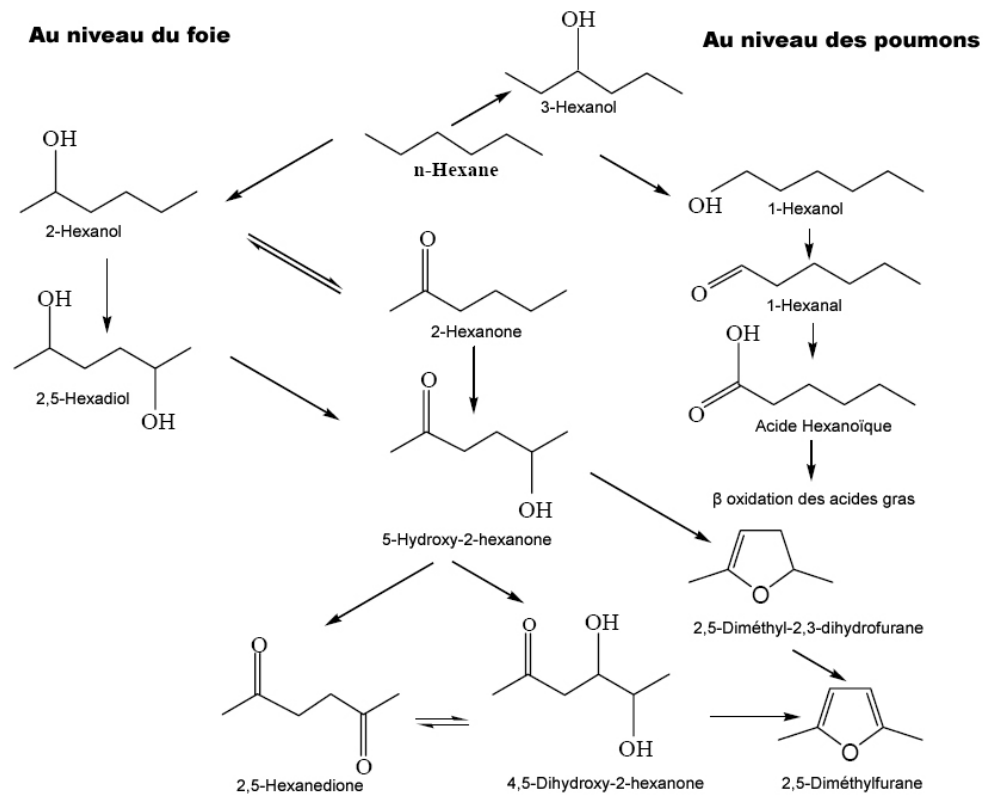


Figure 4 : Voie métabolique du n-hexane
(D'après EPA, 2005a)

2.2.5.4. Élimination

Les données des études chez l'humain et chez les animaux suggèrent que l'excrétion des métabolites du n-hexane se fait principalement via l'urine. La moyenne de la demi-vie calculée à l'aide des données des niveaux sanguins recueillies par Vermeulen et coll. (2006) était de 1,5 à 2 h.

2.2.6. Toxicité

2.2.6.1. Effets toxiques aigus

Les effets d'une exposition au n-hexane sont essentiellement au niveau du SNC. En effet, l'inhalation de concentrations élevées entraîne des manifestations semblables à celles observées après une exposition au toluène : des maux de tête, une irritation des voies respiratoires supérieures, des étourdissements, puis des nausées. À de fortes concentrations, il peut même y avoir une perte de conscience. Bien qu'aucun cas n'ait été répertorié, il est aussi estimé que la mort surviendrait à des concentrations supérieures à 10 000 ppm. Les effets d'une exposition aiguë par voie orale n'ont pas encore été documentés chez l'humain et le seul effet connu au niveau de la peau actuellement est une irritation (ATSDR, 1999).

2.2.6.2. Effets toxiques chroniques

Malgré que la spécificité de l'association ne soit pas établie, les données épidémiologiques tendent vers une association entre les expositions professionnelles par inhalation et les symptômes neurologiques (EPA, 2005a). Une exposition prolongée à des concentrations faibles (comme il pourrait en être le cas lors d'une exposition à des contaminants de l'eau potable) peuvent provoquer des lésions chroniques au niveau du système nerveux périphérique (SNP) résultant en une polyneuropathie (une atrophie musculaire, une perte de locomotion au niveau des doigts et des orteils, une paralysie). Des troubles de la vision et de l'anorexie ont aussi été observés (ATSDR, 1999; Vermeulen et coll., 2006).

Le n-hexane n'est d'ailleurs pas classé comme cancérigène et aucune reprotoxicité ni tératogénicité n'ont été démontrées (ATSDR, 1999). De plus, aucune donnée expérimentale sur la toxicité suivant une exposition orale ou percutanée n'est disponible (EPA, 2005a).

2.2.6.3. Mécanisme de toxicité

L'effet toxique du n-hexane sur le SNP s'opère par un métabolite toxique, le 2,5-HD. Ce dernier se lie à des protéines des axones des nerfs et provoque une dégénération de la myéline. Lorsque l'axone est finalement séparée du corps cellulaire, le transport axonal est interrompu (ATSDR, 1999).

2.2.7. Interaction avec d'autres substances

Plusieurs substances ont le potentiel d'affecter les enzymes responsables du métabolisme du n-hexane. L'interaction du n-hexane avec la méthyle éthyle cétone, la méthyle isobutyl cétone, l'acétone et le xylène semblent avoir le même effet : ces substances induiraient les enzymes responsables du métabolisme provoquant une augmentation du taux de 2,5-HD et donc du potentiel toxique (ATSDR, 1999). Comme expliqué ci-haut, il est aussi possible d'observer une compétition (une inhibition métabolique) entre le n-hexane et le toluène.

2.2.8. Extrapolation : de l'animal à l'humain

Malgré quelques différences au niveau métabolique, le rat est un excellent modèle pour le n-hexane. Il a été fréquemment utilisé et les données toxicocinétiques (les effets cliniques et histopathologiques) recueillies lors d'expositions par inhalation sont semblables à celles observées chez les travailleurs exposés (ATSDR, 1999).

2.3. Le cyclohexane

2.3.1. Caractéristiques physico-chimiques

Le cyclohexane (C₆H₁₂) est un hydrocarbure cyclique saturé de la famille des cycloalcanes. C'est un liquide incolore avec une odeur âcre et peu soluble dans l'eau (55 mg/L). Ses principales caractéristiques physico-chimiques sont présentées dans le Tableau IV.

Tableau IV : Principales caractéristiques physico-chimiques du cyclohexane
(EPA, 2003)

Caractéristiques	Cyclohexane
CAS	110-82-7
Formule chimique	C ₆ H ₁₂
Synonymes	hexahydrobenzène, hexaméthylène, et hexanaphthène
Apparence	Liquide incolore
Poids moléculaire	84,2 g
Densité	0,778 g/ml (à 20°C)
Tension de vapeur	97 mm Hg (à 25°C)
Solubilité dans l'eau	55 mg/L (à 25°C)
Log du K _{ow}	3,44
K _p	1,54 ^a
K _{aw}	1,04 ^b
F _{air :eau}	0,00751 ^c

a Estimé par l'application de l'Équation 1

b Estimé par le programme HenryWin (EPI, 2008)

c Estimé par l'application de l'Équation 2

2.3.2. Source d'exposition

L'utilisation première du cyclohexane est la production du nylon, mais il est aussi présent dans le pétrole brut et l'essence (EPA, 2003).

Comme le toluène et le n-hexane, il a le potentiel de contaminer l'environnement lors de fuites de réservoirs et ainsi contaminer l'air, le sol ou l'eau. Le cyclohexane aurait une mobilité plutôt réduite au niveau du sol alors qu'il se volatilise facilement à la surface de l'eau. Le cyclohexane ainsi introduit dans l'atmosphère est dégradé rapidement par réaction photochimique (EPA, 2003).

Il est probable que la présence du cyclohexane dans des eaux souterraines contribue à l'exposition aux COV dans les maisons.

2.3.3. Le cyclohexane dans l'eau

À ce jour, il n'existe aucune norme régissant la présence du cyclohexane dans l'eau de consommation.

2.3.4. Voies d'exposition

Le cyclohexane est absorbé via les poumons, le tube digestif et la peau (EPA, 2003). Comme les autres COV présentés dans ce mémoire, il est possible d'inhaler du cyclohexane ou d'y être exposé via la peau (lors de son utilisation en milieu de travail). Sa contamination impliquerait trois voies d'absorption: l'inhalation, la voie orale et la voie percutanée. Aucune étude, n'a traité, à ce jour, de la cinétique lors d'exposition multivoie au cyclohexane.

2.3.5. Toxicocinétique

2.3.5.1. Absorption

De nombreuses études en milieu de travail ont démontré, par la mesure de métabolites urinaires, que le cyclohexane est rapidement absorbé par les poumons. Quelques études expérimentales animales ont aussi noté de l'absorption lors d'exposition par inhalation, par voie orale ou par voie percutanée (EPA, 2003).

2.3.5.2. Distribution

Le cyclohexane, par ses qualités de COV, est rapidement absorbé par le sang et distribué aux tissus riches en lipides, soit le gras, le foie et le cerveau (EPA, 2003).

2.3.5.3. Biotransformation

Le site principal de la biotransformation du cyclohexane est le foie. Le cyclohexanol est le métabolite principal alors que le cyclohexanone et le 1,2-cyclohexane-diol sont secondaires. Les données existantes sur le métabolisme du cyclohexane sont encore insuffisantes chez l'animal et incomplètes chez les humains (EPA, 2003).

2.3.5.4. Élimination

Le cyclohexane inhalé est principalement exhalé via les poumons. Sinon, les métabolites sont excrétés dans l'urine, sous la forme de conjugués à l'acide glucuronique et possiblement aux sulfates (EPA, 2003).

2.3.6. Toxicité

Les effets toxiques du cyclohexane sont modérés et sont observés, expérimentalement, à des concentrations assez élevées. Ce sont principalement des effets neurocomportementaux. Le cyclohexane est aussi un irritant pour les yeux et la peau (EPA, 2003).

2.3.6.1. Effets toxiques aigus

Chez l'humain comme chez l'animal, le cyclohexane est principalement un dépresseur du SNC et les effets d'une forte exposition au cyclohexane sont des vertiges, des pertes de conscience et des nausées (EPA, 2003).

2.3.6.2. Effets toxiques chroniques

Chez l'humain, aucun effet toxique chronique n'a été attribué spécifiquement au cyclohexane. Chez l'animal, les effets chroniques ne sont pas facilement observables : il n'y a pas de consensus par rapport à une possible hépatotoxicité ou neurotoxicité. D'après les études actuelles, le cyclohexane n'est ni génotoxique, ni reprotoxique, ni cancérigène (EPA, 2003).

2.3.6.3. Mécanisme de toxicité

À ce jour, aucun mécanisme d'action n'a été découvert pour expliquer les effets toxiques du cyclohexane, malgré que quelques données suggèrent qu'il pourrait modifier la structure des protéines membranaires des neurones (EPA, 2003).

2.3.7. Interaction avec d'autres substances

Aucune donnée n'a été repérée dans la littérature afin de déterminer les possibles interactions de ce composé avec d'autres substances.

2.3.8. Extrapolation : de l'animal à l'humain

Des rongeurs (rats, souris) ainsi que des lapins ont été utilisés comme modèles lors de recherches sur la cinétique et sur les effets du cyclohexane (EPA 2003), mais il n'existe aucune donnée permettant de caractériser la qualité de ces modèles.

CHAPITRE TROISIÈME: OBJECTIFS ET DÉMARCHE EXPÉRIMENTALE

3.1. Problématique

Aucune donnée ne permet, jusqu'à présent, de caractériser les effets de l'exposition multivoie à des composés organiques volatils sur la cinétique; la plupart des études s'étant attardées seulement à l'évaluation de la contribution individuelle des voies. L'utilisation d'un modèle animal et d'un modèle TCBP favoriserait une meilleure compréhension de la contribution des différentes voies lors d'exposition simultanée. De plus, le toluène, le n-hexane et le cyclohexane étant des COV de familles chimiques différentes, les données recueillies pour ces trois composés permettraient une extrapolation à de nombreux COV.

3.2. Objectifs

3.2.1. Objectif général

L'objectif principal de ce projet était de caractériser l'impact de l'exposition multivoie au toluène, au n-hexane et au cyclohexane sur la cinétique sanguine de ces trois solvants et d'évaluer la contribution de chacune des voies (la voie d'inhalation et les voies orale et percutanée) à la dose interne de COV.

3.2.2. Objectifs spécifiques

De façon spécifique, ce projet a impliqué :

- 1) L'utilisation d'un modèle expérimental chez l'animal afin de caractériser la cinétique sanguine de ces solvants lors d'exposition par voies uniques (voie d'inhalation, voie orale ou voie percutanée) et lors d'expositions multivoies chez le rat.
- 2) L'adaptation d'un modèle TCBP, déjà existant chez le rat, permettant de décrire la cinétique du toluène après administration multivoie.
- 3) La validation de ce modèle TCBP.

3.3. Démarche expérimentale

La démarche expérimentale utilisée pour le toluène lors de ce projet est présentée sous la forme d'un article et celle-ci sera résumée dans la présente section. Pour ce qui est des protocoles utilisés avec le n-hexane et le cyclohexane, ils sont similaires à celui employé pour le toluène, à l'exception des doses administrées et des horaires de prises de sang.

Doses administrées

La production et l'utilisation répandues des COV impliquent une exposition professionnelle et c'est essentiellement dans le but de protéger les travailleurs que des normes ont été établies. Les valeurs d'exposition moyenne pondérée (VEMP) régissent l'exposition aux substances dans l'air en fonction d'une période de travail de 8 heures par jour, 5 jours par semaine. Les valeurs de VEMP sont propres à chaque substance (TOL : 50 ppm, HEX : 50 ppm, CYCLO : 300 ppm) et sont à la base du choix des doses administrées aux animaux dans ce projet.

Les VEMPs sont établies pour une durée d'exposition de 8 h, mais l'exposition des animaux dans le cadre expérimental présent était de 2 h. Les concentrations d'exposition ont donc été calculées afin de résulter en une dose d'exposition équivalente (TOL : 200 ppm, HEX : 200 ppm, CYCLO : 1200 ppm). Une concentration plus faible, d'un facteur 4, a aussi été choisie pour chacun des composés (TOL : 50 ppm, HEX : 50 ppm, CYCLO : 300 ppm). Les doses résultant de ces expositions ont été déterminées grâce aux équations 6 et 7 (Tableau V). Les doses ainsi calculées devaient ensuite être appliquées via les autres voies d'absorption dans le but d'obtenir des niveaux sanguins comparables (cela peu importe la voie d'administration).

Tableau V : Doses équivalentes à une exposition de 2h à différentes concentrations de TOL, de HEX ou de CYCLO

	TOL		HEX		CYCLO	
Concentrations (ppm)	50	200	50	200	300	1200
Doses équivalentes (mg/kg)	8.3	32.8	5.5	22.3	27.9	108.9

Après une expérience préliminaire, il est apparu que les doses étaient insuffisantes pour l'application cutanée : à ces concentrations d'exposition, il était impossible de détecter les produits dans le sang, vraisemblablement à cause de la faible fraction d'absorption et d'une volatilisation considérable des produits. Comme l'objectif n'était pas d'administrer des doses semblables, mais plutôt d'avoir des niveaux sanguins équivalents, les doses percutanées ont donc été augmentées d'un facteur 10.

Équation 6

$$\text{Concentration} = \frac{C_{air} (ppm) \times PM}{24,45 \times 1000}$$

Équation 7

$$\text{Dose} = \frac{C_{air} \times Q_{alv} \times t \times 60 \times F_{abs}}{PC}$$

Où,

C_{air} : Concentration d'exposition (mg/L)

PM : Poids moléculaire (g/mol)

Q_{alv} : Débit alvéolaire (L/min) [0,95 chez le rat]

t : temps (h)

F_{abs} : Fraction d'absorption [TOL (0,95), HEX (0,70) et CYCLO (0,58)]

PC : Poids corporel (Kg)

3.3.1. Protocole d'exposition : le toluène

Le toluène utilisé provenait de chez Aldrich (99,8%).

Des rats adultes Sprague-Dawley (250-260g) ont été choisis pour cette étude. Des groupes de rats (n=5) ont été exposés au toluène par voie unique : soit par inhalation, par gavage ou par voie percutanée. Ensuite, des groupes ont été exposés à ces trois voies simultanément, constituant ainsi les groupes « multivoie ».

Pour ce qui est de l'exposition par inhalation, les rats étaient exposés pendant 2 h au toluène à des concentrations constantes de 50 ou 200 ppm dans une chambre d'inhalation de 500 L. Lors de l'exposition par voie orale, 10ml/kg d'une solution à base d'alkamuls (10%) était administrée au rat (doses : 8,1 ou 32,5 mg de TOL/kg poids corporel). Pour ce qui est de l'exposition percutanée, un timbre cutané, constitué d'un rectangle de papier d'aluminium (12cm²) et d'une gaze de même dimension, était maintenu en place grâce à du ruban adhésif au dos de l'animal, préalablement rasé la veille de l'expérience. Afin de permettre une bonne adhérence tout au long de l'expérience, le timbre était apposé 30 minutes avant l'exposition. Une fois en place, il était impossible de l'enlever sans blesser l'animal. Une solution à base d'huile (1ml/kg) était appliquée entre la peau et le timbre (doses : 325,5 ou 81,7 mg de TOL/kg poids corporel).

Finalement, pour l'exposition multivoie, tout comme dans l'exposition percutanée, le timbre était placé sur le dos de l'animal environ 30 minutes avant l'exposition. Au temps zéro, chaque rat était gavé, la dose percutanée était rapidement appliquée puis le rat était placé à l'intérieur de la chambre d'inhalation. Les doses faibles utilisées dans les expositions uniques (inhalation : 50 ppm; orale : 8,1 mg/kg; percutanée : 81,7 mg/kg) ont été données au premier groupe multivoie et les doses hautes (Inhalation : 200 ppm; Orale : 32,5 mg/kg; Percutanée : 325,5 mg/kg) au deuxième groupe multivoie.

Afin d'observer la cinétique sanguine du toluène, des prises de sang étaient faites après l'administration, dans un intervalle de temps allant jusqu'à 6 h. Pour prélever le sang, une petite incision était faite à l'extrémité de la queue du rat. Des échantillons de sang (de 25 à 200 µl) étaient ensuite transférés dans un vial rapidement fermé hermétiquement. Les échantillons étaient ensuite analysés par la

technique de séparation par chromatographie gazeuse avec détection par ionisation à la flamme (FID), couplée à une technique d'injection automatique par « head space ». La quantité de toluène retrouvée dans les échantillons était calculée grâce à des étalons préparés avec du sang témoin la journée même.

Les résultats de ces dosages ont servi à comparer les niveaux internes de toluène lors d'exposition unique (à une seule voie) et les niveaux atteints lors d'exposition multivoie. De plus, ces résultats ont été utilisés pour la validation du modèle TCBP.

3.3.2. Modélisation toxicocinétique à base physiologique : le toluène

Les modèles TCBP utilisent des paramètres spécifiques aux espèces (le débit alvéolaire, le débit cardiaque) et aux substances (les coefficients de partage,...). Un modèle cinétique à base physiologique déjà existant pour le toluène chez le rat (Haddad et coll., 2000) a été modifié afin de considérer l'absorption orale et percutanée. Le modèle a été validé à l'aide des données expérimentales mesurées chez le rat dans le cadre de ce projet et a servi à décrire et à prédire la concentration sanguine en toluène inchangé.

Les équations du modèle multivoie ont été écrites et l'intégration des algorithmes résolue par un logiciel de modélisation : Advanced Continuous Simulation Language (ACSL, The AEGIS Technologies Group, AL) (Annexe 2).

Les résultats expérimentaux de même que le modèle TCBP du toluène sont présentés sous forme d'article dans le quatrième chapitre : exposition multivoie au toluène.

3.3.3. Protocole d'exposition : le n-hexane

Le n-hexane utilisé provenait de chez Aldrich (99% et +).

Des groupes de rats adultes Sprague-Dawley (n=5; 250-270g) ont été exposés au n-hexane par voies uniques (inhalation, par gavage ou par voie percutanée) ou par voie multiple (multivoie).

Pour ce qui est de l'exposition par inhalation, les rats étaient exposés pendant 2 h au n-hexane à des concentrations constantes de 50 ou 200 ppm dans une chambre d'inhalation de 500 L. Lors de l'exposition par voie orale, 10ml/kg d'une solution à base d'alkamuls (10%) était administrée aux rats (doses : 5,6 ou 22,3 mg de HEX/kg poids corporel). Pour ce qui est de l'exposition percutanée, après une expérience préliminaire, il a été possible de déterminer que le n-hexane est très peu absorbé par la peau. Cette voie d'exposition a donc été retirée du protocole. L'exposition multivoie ne comportait donc que deux voies simultanées, soit la voie d'inhalation et celle par gavage.

La cinétique du n-hexane au niveau sanguin a été suivie selon la même méthode que le toluène, par des prises de sang effectuées dans un intervalle de temps allant jusqu'à 5h suivant l'administration par gavage ou le début de l'inhalation. Ces prélèvements étaient faits au niveau de la queue de l'animal et analysés par chromatographie en phase gazeuse (voir l'explication susmentionnée).

Les résultats de ces dosages ont servi à comparer les niveaux internes de n-hexane lors d'exposition à une seule voie et les niveaux atteints lors des expositions multivoies.

Les résultats expérimentaux du n-hexane sont présentés dans le chapitre cinquième : exposition multivoie au n-hexane et au cyclohexane.

3.3.4. Protocole d'exposition : le cyclohexane

Le cyclohexane utilisé provenait de chez Aldrich (99,5%).

Des groupes de rats adultes Sprague-Dawley (n=5; 250-270g) ont été exposés au cyclohexane par voies uniques (par inhalation, par gavage ou par voie percutanée) ou par voie multiple.

Pour ce qui est de l'exposition par inhalation, les rats étaient exposés pendant 2 h au cyclohexane à des concentrations constantes de 300 ou 1200 ppm dans une chambre d'inhalation de 500 L. Afin de vérifier une possible saturation du métabolisme, un groupe supplémentaire de rats (n=5) a été exposé à une concentration de 100 ppm. Lors de l'exposition par voie orale, 10ml/kg d'une

solution à base d'alkamuls (10%) était administrée à chacun des rats (doses : 27,91 ou 109,24 mg de CYCLO/kg poids corporel). Pour ce qui est de l'exposition percutanée, une expérience préliminaire a permis de déterminer la faiblesse de l'absorption percutanée du cyclohexane dans le cadre de ce protocole expérimental. L'inhalation et la voie orale ont donc constitué l'exposition multivoie pour ce composé.

La cinétique sanguine du cyclohexane a été suivie selon la même méthode utilisée pour le toluène et le n-hexane : des prises de sang étaient effectuées dans un intervalle de temps allant jusqu'à 5h suivant l'administration par gavage ou le début de l'inhalation. Les prélèvements étaient faits au niveau de la queue de l'animal et analysés par chromatographie en phase gazeuse (voir l'explication susmentionnée). Les résultats de ces dosages ont servi à comparer les niveaux internes de cyclohexane lors d'une exposition unique (à une seule voie) et les niveaux atteints lors d'exposition multivoie.

Les résultats expérimentaux du cyclohexane sont présentés dans le chapitre cinquième : exposition multivoie au n-hexane et au cyclohexane.

CHAPITRE QUATRIÈME : EXPOSITION MULTIVOIE AU TOLUÈNE
(présentation de l'article)

Experimental evaluation and toxicokinetic modeling of the contribution of multi-route exposures to the internal dose of toluene in rats

Gagné, Michelle*, Charest-Tardif, Ginette*, Krishnan, Kannan* and Tardif, Robert*¹

* Groupe de recherche interdisciplinaire en santé (GRIS) et Département de santé environnementale et santé au travail, Université de Montréal, CP 6128 Succursale Centre-Ville, Montréal, Québec, Canada H3C 3J7

¹ To whom correspondence should be addressed

Abstract

In order to evaluate the contribution of multi-route exposure to the total internal dose of toluene, an experimental evaluation and toxicokinetic modeling studies were conducted in the rats. The kinetics of toluene (TOL) following various exposure routes was initially characterized. Groups of 5 male Sprague-Dawley rats were administered a single low or high dose of TOL by gavage (8.3 and 32.5 mg/kg), inhalation (50 and 200 ppm over 2 hr) or dermal route (82 and 326 mg/kg). Two other groups were exposed to either the low or high dose of TOL by all three routes concurrently. Blood samples were collected up to 6 hr after treatment and TOL concentrations were measured using a gas chromatograph equipped with FID. Blood concentrations measured after multi-route exposure to TOL were higher than the sum of blood levels obtained after administration of TOL by single routes (by about 1.5 and 3 times for low and high doses respectively). The blood concentrations (mean \pm standard deviation) measured after multiroute exposure to the high dose of TOL were 8.3 ± 0.3 mg/L and 2.0 ± 0.7 mg/L, at 2 hr and 4.5 hr post-exposure. These levels were higher (by about 150 and 300 %) than the sum of the blood levels obtained after administration of TOL by each route: 5.5 and 0.7 mg/L after 2 hr and 4.5 hr. Subsequently, a PBTK model was adapted from an existing model in order to accommodate route-specific absorption parameters. The resulting model described adequately the blood kinetics in rats following simultaneous exposure to TOL via the three routes investigated in the present study. These results suggest that the internal dose of TOL following multi-route exposures cannot always be predicted by assuming additivity of internal dose associated with individual routes, possibly due to a certain extent of saturation of metabolism, and that a PBTK model can be used to predict/interpret toluene blood levels associated with multi-route exposures.

Keywords: toluene, multi-route exposure, PBTK, PBPK, pharmacokinetics, VOCs

Introduction

The contribution of dermal and inhalation routes of exposure to volatile organic chemicals (VOCs) in drinking water is increasingly drawing attention. Massive production and diverse uses of these chemicals makes it likely for human to be exposed, including via leakage from chemical waste sites and underground storage tanks (Morgan *et al.*, 1991). Toluene (C₇H₈) is a VOC, component of gasoline and widely used solvent in paints, thinners and adhesives, among other things. Toluene may be found in surface water and groundwater, making exposure likely to occur through drinking or breathing water vapors while showering (ATSDR, 2000). Health effects observed following toluene exposure include central nervous system depression and adverse effects on the liver, kidney and lungs (ATSDR, 2000).

To this day, most studies focusing on occupational exposures to TOL aimed at characterizing the toxicokinetics following inhalation (Pierce *et al.*, 1998 ; ATSDR, 2000; Pierce *et al.*, 2002) and, in some cases, skin contact with pure VOCs (Morgan *et al.*, 1991; Thrall and Woodstock, 2002; Klede *et al.*, 2005). Not much work has been done on multi-route exposure and about possible interaction between different paths of exposure. As mentioned by Weisel and Jo (1996), the total rate of metabolism can be modified by the paths, which could alter the compound toxicity. In their study, they found that equivalent amounts of VOCs can enter the body through inhalation, ingestion and dermal absorption, following an exposure to contaminated water. Furthermore, solubility and concentrations of VOCs found in water may be low, but since most of VOCs are lipophilic and that skin surface is important, absorption via the dermal route may be more significant than expected (Brown *et al.*, 1984; Morgan *et al.*, 1991).

Until recently, ingestion was considered as the principal route of exposure to substance present in water (Brown *et al.*, 1984), leading to a possible underestimation of the actual exposure (Weisel and Jo, 1996). It is now accepted that a multi-route exposure to drinking water contaminants (oral, inhalation and dermal) produces higher internal doses compared to single route (Krishnan and Johanson, 2005). Consequently, there is a need to understand and characterize the possible interaction exposure routes, since such interactions may modify the internal dose of a given contaminant. For that purpose, physiologically based toxicokinetic (PBTK) models are powerful tools to predict and describe time courses of chemical

concentrations in tissues and blood (Renwick, 2003). In PBTK models, absorption, distribution, metabolism and excretion are mathematically described, allowing the modeling of multi-route exposure for an estimation of the absorbed dose and tissue dose (Haddad *et al.*, 2006).

Indeed, since total exposure to VOCs from water use may be influenced by each route of exposure, it is important to understand how they each contribute to total internal dose. The present research was conducted to develop an experimental animal model to evaluate the contribution of multi-route exposures to the total body burden of toluene and to validate a multi-route PBTK model for this chemical in the rat.

Materials and Methods

Chemicals

Toluene (TOL; 99.8% purity, HPLC Grade) and N,N-dimethylformamide (99.8%, ACS grade) were obtained from Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI). Heparin (Fisher cat # H-19) was obtained from Fisher (Whitby, Ontario).

Animals

Adult male Sprague-Dawley rats (240-260 g) were obtained from Charles-River Canada (St-Constant, Québec). Animals were acclimated for one week prior to treatment, housed two or three per cage with hardwood bedding, in a humidity- and temperature-controlled room with a 12-h light/dark cycle. The animals were provided with food and tap water until treatment. Following treatment, animals were placed in individual cages and were fasted for the duration of the experiment.

Treatment of animals

Oral exposure

Groups of five rats (n=5) were administered a single oral dose of 8.12 or 32.47 mg of TOL/kg body weight (bw) diluted in Alkamuls[®] (10%). Ten ml of solution was administered per kg bw.

Inhalation exposure

Groups of five rats (n=5) were exposed to 50 or 200 ppm of TOL during 2 h. Inhalation exposures were conducted in a 500L (Unifab, Kalamazoo, MI), as described earlier (Tardif *et al.*, 1992). Air-flow rate was set at 325 L/min. TOL was delivered with a high-pressure liquid chromatography (HPLC) pump into the inlet ducting of the chamber where it was mixed with clean compressed air before aspiration in the chamber. Toluene concentration was monitored by injecting 250 µl of air into a gas chromatograph (HP 5890) equipped with a flame ionization detector (FID) and a HP-1 column (30m x 0.53mm, 2.65µm film thick, 50 phase ratio). Helium, used as a carrier gas, was supplied at a rate of 5.4 ml/min. The

temperatures of the injection port and detector were set to 130°C and 250°C, respectively. The oven temperature was maintained at 80°C for 2 min, increased at a rate of 10°C/min, to 110°C.

Dermal exposure

Animals (n=5 per group) were exposed to either 325.45 or 81.65 mg of TOL/kg bw on a shaved area of the animal's back. An aliquot of one ml solution containing TOL per kg bw was applied on the skin, which was sealed immediately with a semi-occlusive patch (12 cm²) made of foil, doubled with gauze and fixed with tape (Strappal®). The patch remained on the back of the rat for the whole duration of the experiment.

For the oral and respiratory routes, the high and low doses corresponded to the current exposure limit for TOL (Quebec, Canada) and ¼ of this exposure limit, respectively. In the case of dermal application, the high and low doses were 10 times higher than the ones used for the oral and inhalation routes. The choice of doses used in these experiments was to facilitate, for each exposure level, similar blood levels for all administration routes – based on current knowledge. In the case of dermal route, the lower internal dose was expected due to low fraction absorbed, small skin area exposed, as well as the volatility of TOL.

Multiroute exposure

Groups of five rats (n=5) were exposed simultaneously by inhalation, gavage and dermal application (per procedures detailed in the preceding paragraphs). After they were given the oral gavage and the dermal solution, they were placed in individual cages in the inhalation chamber. The first group was exposed to the low doses, and the second was exposed to the high doses used in the single exposure experiments.

Measurement of unchanged toluene in blood

Blood samples (between 25 and 200µl) were collected from a small incision on the rat tail, and transferred to hermetically closed vials. After equilibrium at 50°C for 30 min, 800 µL of headspace air was removed and injected in the chromatograph. The

determination of the concentration was made using a head-space method as described by Tardif *et al.* (1992). The gas chromatograph (CP-3800) was equipped with a FID and a RTX-BAC1 column (30m x 0.53 mm, 3 µm film thickness, linked to an autosampler (Varian Combipal®, CTC Anatytics). Helium carrier gas was supplied at a rate of 6.5ml/min. The injection port and detector were heated to 120°C and 250°C, respectively. The oven temperature was maintained at 50°C for 2 min, increased at a rate of 20°C/min, to 150°C and held for 0.5 min. The standards, used for the preparation of the calibration curves, were prepared on the day of the experiment, using blood from control rats. In these conditions, the analytical limit of detection (LOD) was 0.0041 mg TOL/L blood, with an intra-day coefficient of variation from replicate analysis of the same blood sample of 8%.

PBTK Modeling

Model representation

To investigate the capacity of PBTK models to simulate internal dose after multi-route exposure to VOCs, a previous PBTK model for TOL in rats (Haddad *et al.*, 2000) was adapted to include oral and dermal routes of exposure. The resulting model describes the rat as a network of 5 tissue compartments: richly perfused tissues, slowly perfused tissues, adipose tissues, liver (metabolizing tissue) and skin, interrelated by systemic circulation and a gas exchanged lung (Figure 1).

The skin compartment comprises two sub-compartments, which corresponded to the skin surface in contact with the 12 cm² patch. This compartment was characterized with a fraction of the skin blood flow rate, corresponding to the fraction of the exposed area (12 cm²) relative to the total skin surface area (906 cm²) (McDougal *et al.*, 1986).

Model parameterization

Rat physiological parameters for the PBTK model were obtained from the literature (Arms and Travis, 1988) and are shown in Table 1. Metabolism was limited to the liver and described by maximal velocity form metabolism (V_{max} ; 3.44 mg/h/kg) and Michaelis-Menten affinity constant (K_m ; 0.13 mg/L), (Haddad *et al.*, 2000).

Physiological parameters and blood:air and tissue:blood coefficients for TOL were obtained from the literature (Tables 1 and 2).

The ability of this PBTK model to simulate the kinetics of TOL was verified in the present study for single route exposures (oral, inhalation or dermal) as well as multi-route exposures. The single route exposures were simulated using the multi-route model, by setting the exposure concentration for the other two routes to zero. Example, during the simulation of oral route of exposure, the concentration of TOL in the inhaled air (chamber) and dermal solution was set to 0 ppm and 0 mg/L, respectively.

The following equations were used to describe the rate of change in the amount of TOL across the skin (Eqn. 1) and the rate of loss from the patch (Eqn. 2):

Equation 1

$$\frac{dA_{skp}}{dt} = Q_{skp} \times (C_a - C_{v_{skp}}) + \frac{Kp \times SA}{1000} \times (F_{abs} \times C_p) - \frac{C_{sk}}{P_{sk:h}}$$

Equation 2

$$\frac{DA_{l_{skp}}}{dt} = k_{loss}(C_{pt} \times V_p) + \frac{Kp \times SA}{1000} \times (F_{abs} \times C_p) - \frac{C_{sk}}{P_{sko}}$$

where:

- Askp: amount in skin-patch compartment
- Alskp: amount lost from skin-patch compartment
- Ca: arterial blood concentration
- Cvskp: Venous blood concentration
- Qskp : blood flow to the skin-patch
- SA: skin area exposed to TOL
- Fabs: fraction of absorption
- Cp: Patch concentration
- Csk: skin-patch compartment concentration
- Kloss: rate of evaporation loss from the patch
- Vp: volume of solution in patch
- Psko: skin: oil partition coefficient

Therefore, the actual dose absorbed through skin can be determined by integrating Eq.1 over the time interval of choice.

Model simulation and validation

The multi-route PBTK model was written as a program using Advanced Continuous Simulation Language (ACSL, The AEGIS Technologies Group, AL), and run on a Hewlett Packard PC

Results

Inhalation exposure

Figure 2 shows experimental data as well as the PBTK model simulations of the elimination time course of TOL in blood following 2-hr inhalation exposure to 50 and 200 ppm of TOL. A mono-exponential decrease was observed during 2 to 6-hr period post-exposure. For the low and high exposure concentrations, elimination rate of TOL from blood, calculated from the 2 to 6-h time points, was estimated to be 0.83 h^{-1} and 0.80 h^{-1} , respectively. Area under curve (AUC) calculated from 2 h to infinity was $4.69 \text{ h}\cdot\text{mg/L}$ for 200 ppm exposure and $0.49 \text{ h}\cdot\text{mg/l}$ for 50 ppm exposure. The ratio of AUCs between the high and the low dose exposures was 9.6. The maximum blood concentrations associated with TOL inhalation are 3.84 ± 0.39 and 0.42 ± 0.07 (mg/L) after 2 h exposure to 50 and 200 ppm, respectively.

The PBTK model provided an adequate description (Figure 2) of the kinetic data obtained in Sprague-Dawley rats exposed to 50 or 200 ppm of TOL, for 2h, using the same parameter values of the inhalation model developed by Haddad *et al.* (2000).

Oral exposure

Figure 3 shows the experimental data as well as the PBTK model simulations of blood concentration versus time course of TOL following oral gavage. At the 8.12 mg/kg dose, maximum concentration of TOL was observed 30 min post-dosing, the first sampling point, and was followed by a mono-exponential decrease. At the higher dose (32.47 mg/kg), a non-linear elimination was observed, reflective of a saturation process. For the low dose, elimination rate was calculated to be 0.89 h^{-1} using the detectable 0.5 to 3-h time points (values below LOD thereafter); for the high dose, a value of 0.85 h^{-1} was found for the linear portion (2 to 6-h time points) of the time-course curve. AUC calculated from 2 h to infinity was $1.73 \text{ h}\cdot\text{mg/L}$ for the high dose and $0.07 \text{ h}\cdot\text{mg/L}$ for the low dose. Ratio of AUCs between the high dose and the low dose was calculated to be 24.7.

The PBTK model simulations shown on Figure 3 were obtained by setting the K_a value to 0.395 h^{-1} . With the rest of the parameters unchanged, the PBTK model

provided an adequate fit to the oral kinetic data obtained following the low or high dose.

Dermal exposure

Figure 4 depicts the blood concentration versus time course of TOL following dermal application. For both doses, absorption persisted until 1 h post-dosing and was followed by a monoexponential decrease with an elimination rate (K_{el}) calculated from the 1-h to 6-h time points of 0.64 h^{-1} and 0.61 h^{-1} , for the high and low dose, respectively. AUC calculated from 2 h to infinity was $0.32 \text{ h}\cdot\text{mg/l}$ for the high dose and $0.05 \text{ h}\cdot\text{mg/l}$ for the low dose. Ratio of AUCs between the high dose and the low dose was 6.4.

The PBTK model, with the optimized values of K_p and K_{loss} (Table 3), allows a reasonable fit to the experimental data on venous blood concentrations of TOL, during a single dermal exposure, as seen in Figure 4.

Multiroute exposure

Figure 5 presents the blood concentration versus time course of TOL following the simultaneous administration of TOL by gavage, inhalation and dermal application using the low doses given in previous single-route exposures. A K_{el} of 0.76 h^{-1} was calculated from the blood concentration versus time course of TOL. This figure also depicts the concentration versus -time course obtained from the summation, at sampling times of 2, 3 and 6 h, of mean blood concentrations obtained following the 3 single-route experiments. Ratio of AUCs between the multiple-route and the combined single route (summation) was calculated to be 1.3.

The blood kinetics of TOL following the simultaneous multi-route exposure to the high doses given in the single-route experiments is depicted in Figure 6. A K_{el} of 0.59 h^{-1} was derived from blood concentration-time profile. Similar to Figure 5, the calculated time-course obtained from the summation of the time-dependent blood concentration values found in each of the three single-route experiments leads to an AUC ratio of 2.2 between the observed and calculated values for multi-route exposures.

Figure 7 also presents a comparison of the predictions of the multi-route PBTK model with the experimental data on blood levels of TOL during a simultaneous exposure (inhalation, oral and dermal), for the two sets of doses used in the animal experimentation (Table 7). With no adjustments to the parameter values optimized during the single route studies, the multi-route PBTK model was able to predict adequately blood concentrations obtained experimentally.

Discussion

This study is the first report on the kinetics of toluene following three routes of exposure (oral, inhalation and dermal) within a same experimental framework and on the use of a rat model to estimate interaction between those routes of exposure. Our results clearly indicate that multiroute exposure has an important impact on total burden of toluene.

Single route exposure

Following inhalation or dermal exposure, the time-courses of toluene in blood (and calculated elimination rate constants) were similar at the two doses tested. This indicates linear kinetics at these dose levels (Medinsky and Valentine, 2001). On the other hand, following oral exposure, a non-linear kinetics of toluene in blood was observed with increasing dose, compatible with saturation of metabolic processes. Indeed, the highest oral exposure dose likely exceeded the absorption capacity of the gastric tract or the metabolic capacity of the liver which is the main site of toluene metabolism due to its high concentration of CYP isoenzymes compared to other tissues (Nakajima and Wang, 1994).

Following single route exposures, the elimination rate constants calculated for the inhalation and oral routes were in the same range whereas the dermal route was associated with a slightly lower elimination rate. It is to be reminded that the patch used on the back of animals remained in contact with the skin the whole time of blood sampling. The slower elimination of toluene in blood following dermal exposure may be explained by a sustained absorption of toluene during the hours post-application, which could have influenced the elimination rate. This continued absorption may be explained by the patch system itself and, possibly, the skin may have retained a certain amount of the substance, which has shown to act as a reservoir for lipophilic compounds (Kemppainen *et al.*, 1992 ; Payan *et al.*, 2008).

Results observed in the present study corroborate the published blood concentration-time course data available for toluene. For the inhalation exposures, results obtained in the present study after a 2-h inhalation exposure to 50 and 200 ppm were consistent with the toluene time course observed in the previous work from Haddad *et al.* (2000) in rats exposed 4 h to 50 ppm of toluene.

Some experimental data on the time course of toluene following oral exposure were also previously published (Gospe and Al-Bayati, 1994). However, the rats were fasted and the vehicle used for the oral administration was corn oil, which makes it difficult to compare with our results. Moreover, the concentrations used in their work were 3 to 10 times higher than the ones used in the present study and the elimination rates obtained were not published. However, they observed saturation in the absorption process, since the time necessary to reach C_{max} rose with increasing doses. The authors attributed the slower absorption of toluene to a delay in the gastric emptying provoked by the high concentration of toluene, which overall could have slowed the enteral absorption of the solvent.

Although this is a first report of the time-course of toluene in blood following dermal application with this type of dermal patch, it supports the previous work on dermal uptake of toluene. This VOC is absorbed through the skin of rats when applied in aqueous solution or neat. Three solution concentrations (0.162, 0.333, and 0.448 mg/L) were tested by Morgan et al. (1991). They obtained a half-life of about 3.5 h, a value relatively close to what was found in the present study (1.11 ± 0.03 h).

Multiroute exposure

The body burden of chemicals in animals and humans resulting from a multi-route exposure is generally not documented experimentally and is thus inferred by summing the absorbed doses for single routes of exposure (Shehata, 1985). However, concurrent exposure by different routes may have an impact on the kinetics in animals and humans, such as metabolism rate depending on the cumulative exposure concentrations or doses.

In the present study, it was shown that, following concomitant exposure to the low inhalation, oral and dermal doses, blood levels of toluene could be estimated by simple summation of the single exposure results, since the summed values from single route experiments were within one standard deviation of the mean of the experimental blood concentrations obtained after multiroute exposures. As for the calculated elimination rate following combined exposure routes, it is slightly lower than the ones obtained for the oral and inhalation routes independently, albeit slightly higher than the one calculated with the dermal results. The dermal pathway

is probably responsible for this outcome. As discussed before, the toluene remaining in the patch, even at low concentrations, can slow down elimination process, since absorption continues to occur during the whole time the patch was being left on the rat skin.

Conversely, following multi-route exposure to the high doses administered in the single route experiments, the internal dose, estimated by the AUC, was higher than expected from the addition of the observed single route blood levels. The terminal slope value was also found to be the smallest observed among the various exposure scenarios tested, though very similar to the one obtained in the single dermal dose experiments. The results observed at low doses indicate that the distribution and elimination of toluene followed first-order processes, while at higher doses, the time course curves suggest a saturation, possibly of the biotransformation of toluene (hepatic CYP enzymes) (Medinsky and Valentine, 2001).

Multi-route PBTK model

The dermal permeability constant (K_p) for absorption of TOL in the rat, calculated from the venous blood concentration using the multi-route PBTK model and the dermal single exposure data, was found to be 0.025 cm/h. A comparative rodent value for dermal absorption of TOL of 0.074 cm/h was obtained by Thrall and Woodstock (2002). Once the PBTK model takes account of the loss of the compound due to the volatilization inherent to the dermal exposure system, the K_p value estimated by the model would be appropriate (Thrall *et al.*, 2000). A K_{loss} of 0.8 h^{-1} and a fraction of absorption of 0.02, along with a K_p of 0.025 cm/h, allowed to simulate adequately the dermal absorption of toluene.

Based on the experimental data, summing kinetic data obtained for individual routes is unable to estimate internal burden following simultaneous exposure for the high doses; however the PBTK model was able to simulate the kinetic data associated with aggregate exposure by multiple routes. The PBTK model adapted from Haddad *et al.* (2000) permitted to predict toluene blood level in rats after inhalation, oral and dermal exposure, regardless of the doses. Interestingly, parameters were optimized solely based on the single route exposure data (Tables 4 - 6). No

additional adjustments were necessary to predict the kinetics of TOL in blood after multi-route exposures.

Conclusion

In conclusion, results of this study indicate that, when estimating multi-route exposures above a certain threshold, internal dose cannot be predicted by simply summing individual route contributions. It applies to toluene, and likely to other VOCs. A physiologically-based toxicokinetic model that accounts for metabolic saturation and route-specific absorption parameters is a valuable tool to predict the kinetics of toluene in rats following exposure by the three routes investigated in the present study, either considered separately or combined. With the multi-route PBTK model, it is possible to predict internal doses subsequent to a concurrent exposure to VOCs from inhalation, oral and dermal route, according to various scenarios and dose levels.

Funding

This research was supported by Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada and ExxonMobil Corp.

References

- Arms, A. D., and Travis, C. C. (1988). Reference Physiological Parameters in Pharmacokinetic Modeling. Office of Health and Environmental Assessment, U.S. Environmental Protection Agency (EPA), Washington, D.C. NTIS PB 88-196019.
- ATSDR (2000). Toxicological profile for toluene. In US Department of health and human services. Agency for Toxic Substances and Disease Registry
- Brown, H. S., Bishop, D. R., and Rowan, C. A. (1984). The role of skin absorption as a route of exposure for volatile organic compounds (VOCs) in drinking water. *Am J Public Health* **74**, 479-84.
- Gargas, M. L., Burgess, R. J., Voisard, D. E., Cason, G. H., and Andersen, M. E. (1989). Partition coefficients of low-molecular-weight volatile chemicals in various liquids and tissues. *Toxicol Appl Pharmacol* **98**, 87-99.
- Gospe, S. M., and Al-Bayati, M. A. S. (1994). Comparison of oral and inhalation exposures to toluene. *Journal of the American College of Toxicology* **13**, 21-32.
- Haddad, S., Charest-Tardif, G., Tardif, R., and Krishnan, K. (2000). Validation of a physiological modeling framework for simulating the toxicokinetics of chemicals in mixtures. *Toxicol Appl Pharmacol* **167**, 199-209.
- Haddad, S., Tardif, G. C., and Tardif, R. (2006). Development of physiologically based toxicokinetic models for improving the human indoor exposure assessment to water contaminants: trichloroethylene and trihalomethanes. *J Toxicol Environ Health A* **69**, 2095-136.
- Kemppainen, B. W., Mehta, M., Stafford, R., and Riley, R. T. (1992). Effect of vehicle on skin penetration and retention of a lipophilic red tide toxin (PbTx-3). *Toxicon* **30**, 931-5.
- Klede, M., Schmitz, H., Goen, T., Fartasch, M., Drexler, H., and Schmelz, M. (2005). Transcutaneous penetration of toluene in rat skin a microdialysis study. *Exp Dermatol* **14**, 103-8.
- Krishnan, K., and Johanson, G. (2005). Physiologically-based pharmacokinetic and toxicokinetic models in cancer risk assessment. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* **23**, 31-53.
- Mattie, D. R., Bates, G. D., Jr., Jepson, G. W., Fisher, J. W., and McDougal, J. N. (1994). Determination of skin:air partition coefficients for volatile chemicals: experimental method and applications. *Fundam Appl Toxicol* **22**, 51-7.
- McDougal, J. N., Jepson, G. W., Clewell, H. J., 3rd, MacNaughton, M. G., and Andersen, M. E. (1986). A physiological pharmacokinetic model for dermal absorption of vapors in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* **85**, 286-94.
- Medinsky, M. A., and Valentine, J. L. (2001). Toxicokinetics. In Casarett and Doull's toxicology: The basic science (C. D. Klaassen, ed., pp. 225–237, New York.

Morgan, D. L., Cooper, S. W., Carlock, D. L., Sykora, J. J., Sutton, B., Mattie, D. R., and McDougal, J. N. (1991). Dermal absorption of neat and aqueous volatile organic chemicals in the Fischer 344 rat. *Environ Res* **55**, 51-63.

Nakajima, T., and Wang, R. S. (1994). Induction of cytochrome P450 by toluene. *Int J Biochem* **26**, 1333-40.

Payan, J. P., Lafontaine, M., Simon, P., Marquet, F., Champmartin-Gendre, C., Beydon, D., and Ferrari, E. (2008). In vivo and in vitro percutaneous absorption of [(14)C]pyrene in Sprague Dawley male rats: skin reservoir effect and consequence on urinary 1-OH pyrene excretion. *Arch Toxicol*.

Pierce, C. H., Chen, Y., Dills, R. L., Kalman, D. A., and Morgan, M. S. (2002). Toluene metabolites as biological indicators of exposure. *Toxicol Lett* **129**, 65-76.

Pierce, C. H., Dills, R. L., Morgan, M. S., Vicini, P., and Kalman, D. A. (1998). Biological monitoring of controlled toluene exposure. *Int Arch Occup Environ Health* **71**, 433-44.

Renwick, A. (2003). Toxicokinetics-pharmacokinetics in toxicology. In Principles and Methods of Toxicology, pp. 101-147. Raven Press, New York.

Shehata, A. T. (1985). A multi-route exposure assessment of chemically contaminated drinking water. *Toxicol Ind Health* **1**, 277-98.

Tardif, R., Plaa, G. L., and Brodeur, J. (1992). Influence of various mixtures of inhaled toluene and xylene on the biological monitoring of exposure to these solvents in rats. *Can J Physiol Pharmacol* **70**, 385-93.

Thrall, K. D., Poet, T. S., Corley, R. A., Tanojo, H., Edwards, J. A., Weitz, K. K., Hui, X., Maibach, H. I., and Wester, R. C. (2000). A real-time in-vivo method for studying the percutaneous absorption of volatile chemicals. *Int J Occup Environ Health* **6**, 96-103.

Thrall, K. D., and Woodstock, A. D. (2002). Evaluation of the dermal absorption of aqueous toluene in F344 rats using real-time breath analysis and physiologically based pharmacokinetic modeling. *J Toxicol Environ Health A* **65**, 2087-100.

Weisel, C. P., and Jo, W. K. (1996). Ingestion, inhalation, and dermal exposures to chloroform and trichloroethene from tap water. *Environ Health Perspect* **104**, 48-51.

Table 1. Rat Physiological Parameters Used in the Multi-route PBTK Model

Parameters	Values
Alveolar ventilation rate (L/h/kg)	15
Cardiac output (L/h/kg)	15
Blood Flow rate (fraction of cardiac output)	
Fat	0.09
Slowly perfused tissues	0.10
Richely perfused tissues	0.51
Liver	0.25
Skin	0.05 ^a
Volume (fraction of body weight)	
Fat	0.07
Slowly perfused tissues	0.65 ^b
Richely perfused tissues	0.05
Liver	0.04
Skin	0.10 ^a

Note: All parameters except those of the skin compartments were obtained from Arms and Travis (1988).

^a The blood flow rate and volume of skin were obtained from McDougal *et al.* (1986).

^b The slowly perfused tissues' blood flow rate and volume were determined by subtraction the skin blood flow rate and volume from the values of Arms and Travis (1988), i.e., 0.15-0.05 and 0.75-0.10 respectively.

Table 2. Rat Partition Coefficients and Metabolic Constants for Toluene Used in the Multi-route PBTK Model

Parameters	Value
Partition coefficient	
Blood:air	18.0
Fat:air	1021.0
SPT:air	27.7
RPT:air	83.6
Liver:air	83.6
Skin:air	43.0 ^a
Oil:air	1056.0 ^b
Metabolic constant	
Vmax (mg/h/kg)	3.44
Km (mg/L)	0.13

Note: All parameters except those of the skin compartments were obtained from Haddad *et al.* (2000).

^a Mattie *et al.* (1994)

^b Gargas *et al.* (1989)

Table 3. Route-specific Parameters optimized with the Multi-route PBTK Model

Parameters	Value
Dermal exposure	
Kloss (h ⁻¹)	0.8
Kp (cm/h)	0.025
Fraction of absorption	0.02
Oral Exposure	
Ka (h ⁻¹)	0.395

Table 4. Venous Blood Concentrations of Toluene in Rats following a 2h Inhalation Exposure

Time (h)	200 ppm	50 ppm
2.0 ¹	3.84 ± 0.39	0.42 ± 0.07
2.5	2.56 ± 0.38	0.27 ± 0.03
3.0	1.63 ± 0.31	0.17 ± 0.04
3.8	0.89 ± 0.34	0.09 ± 0.02
4.5	0.49 ± 0.14	0.06 ± 0.02
6.0	0.14 ± 0.05	0.017 ± 0.004

Note: Venous concentrations (mg/L): mean ± SD (n=5)

¹Corresponds to the end of inhalation exposure

Table 5. Venous Blood Concentrations of Toluene in Rats following Oral Exposure (Gavage)

Time (h)	32.75 mg/kg	8.29 mg/kg
0.5	2.03 ± 0.41	0.19 ± 0.12
1.0	2.04 ± 0.30	0.14 ± 0.08
2.0	1.42 ± 0.37	0.06 ± 0.03
3.0	0.58 ± 0.27	0.02 ± 0.01
4.5	0.13 ± 0.07	0.01 ± 0.01
6.0	0.05 ± 0.02	0.004 ± 0.002

Note: Venous concentrations (mg/L): mean ± SD (n=5)

Table 6. Venous Blood Concentrations of Toluene in Rats following Dermal Exposure

Time (h)	325.45 mg/kg	81.65 mg/kg
0.5	0.33 ± 0.10	0.05 ± 0.01
1.0	0.34 ± 0.12	0.06 ± 0.02
2.0	0.20 ± 0.09	0.03 ± 0.01
3.0	0.10 ± 0.05	0.02 ± 0.01
4.5	0.04 ± 0.01	0.007 ± 0.004
6.0	0.01 ± 0.01	-

Note: Venous concentrations (mg/L): mean ± SD (n=5)

Table 7. Venous Blood Concentrations of Toluene in Rats following Multi-Route Exposure

Time (h)	Inhalation : 200 ppm	Inhalation : 50 ppm
	Oral : 32.75 mg/kg Dermal : 325.45 mg/kg	Oral : 8.29 mg/kg Dermal : 81.65 mg/kg
2.0 ¹	0.70 ± 0.20	8.34 ± 0.29
2.5	0.43 ± 0.11	6.27 ± 0.67
3.0	0.27 ± 0.05	4.84 ± 0.92
3.8	0.14 ± 0.02	3.28 ± 0.51
4.5	0.08 ± 0.02	1.98 ± 0.67
6.0	0.03 ± 0.01	0.79 ± 0.27

Note : Venous concentrations (mg/L): mean ± SD (n=5)

¹Corresponds to the end of inhalation exposure

Figure legends

1. Conceptual representation of the PBTK model used to describe the TOL disposition in a rat, during a multi-route exposure. The PBTK model of Haddad et al. (2000) was modified to describe dermal absorption as explained in Materials and Methods.
2. Blood concentration versus time course (mg/l) of TOL following a 2-h inhalation of 50 and 200 ppm of TOL. Experimental data are shown as symbols (mean \pm SD; n = 5 rats per dose) and model simulations are represented as solid lines.
3. Blood concentration versus time course (mg/l) of TOL following an oral administration of 8.12 and 32.47 mg of TOL/kg body weight. Experimental data are shown as symbols (mean \pm SD; n = 5 rats per dose) and model simulations are represented as solid lines.
4. Blood concentration versus time course of TOL (mg/l) after a dermal application of 81.65 or 325.45 mg of TOL/kg of body. Experimental data are shown as symbols (mean \pm SD; n = 5 rats per dose) and model simulations are represented as solid lines.
5. Blood concentration versus time course of TOL (mg/l) following a simultaneous multi-route exposure to the low doses used in the single exposure experiments ("multi"). Symbols and error bars represent mean \pm SD (n =5 rats). Results are compared to the calculated time-course obtained from the summation of the time-dependent blood concentration values found in each of the three single route experiments groups ("addition").
6. Blood concentration versus time course of TOL (mg/l) following a simultaneous multi-route exposure to the high doses used in the single exposure experiments ("multi"). Symbols and error bars represent mean \pm SD (n = 5 rats). Results are compared to the calculated time-course obtained from the summation of the time-dependent blood concentration values found in each of the three single route experiments groups ("addition").

7. Comparison of experimental data (symbols) with the simulations (solid lines) of a multi-route PBTK model of venous blood concentration of toluene in rats following a multi-route exposure to low (□) and high (■) doses.

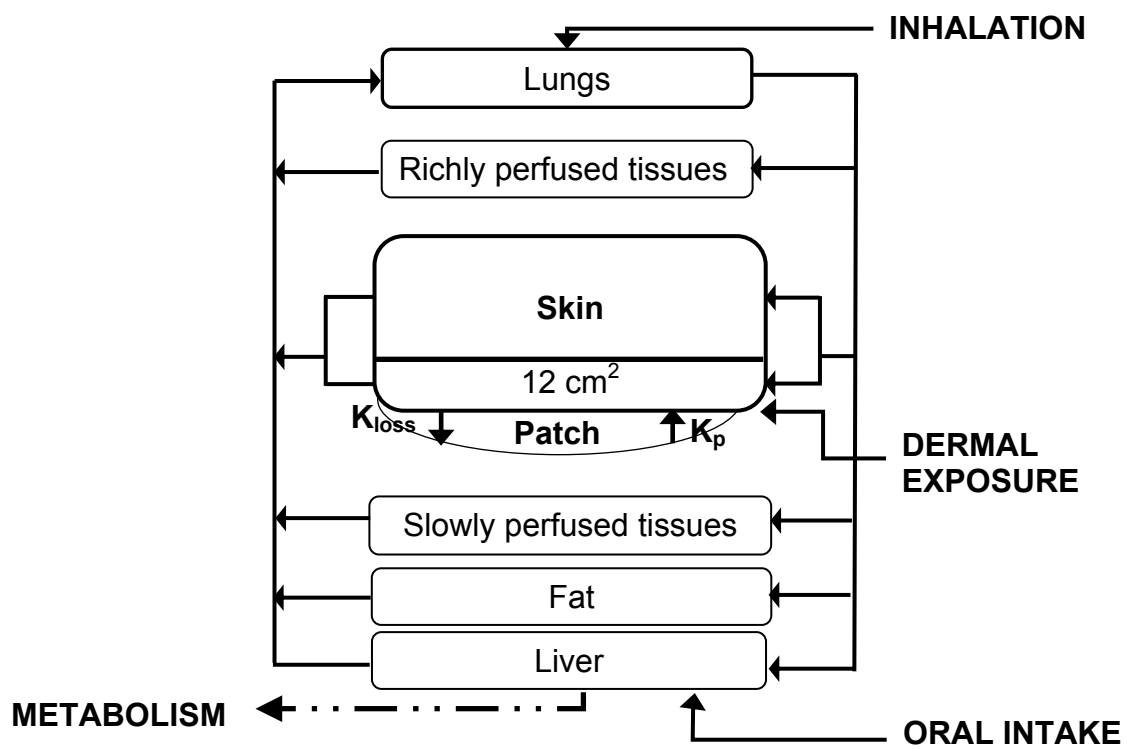


Figure 1

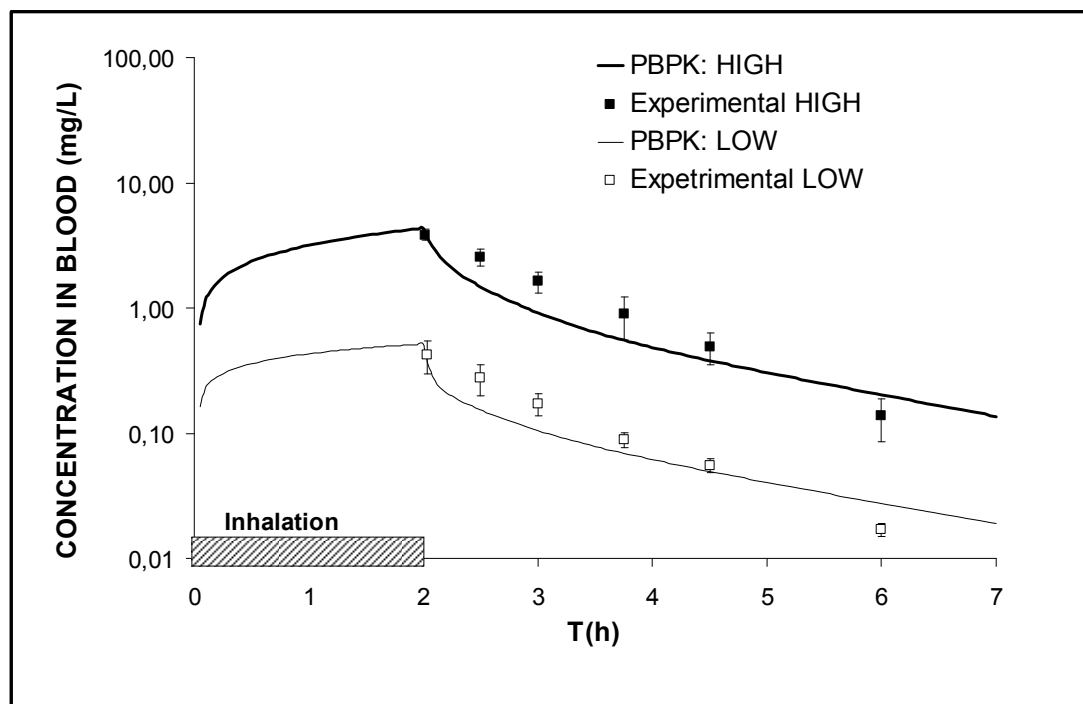


Figure 2

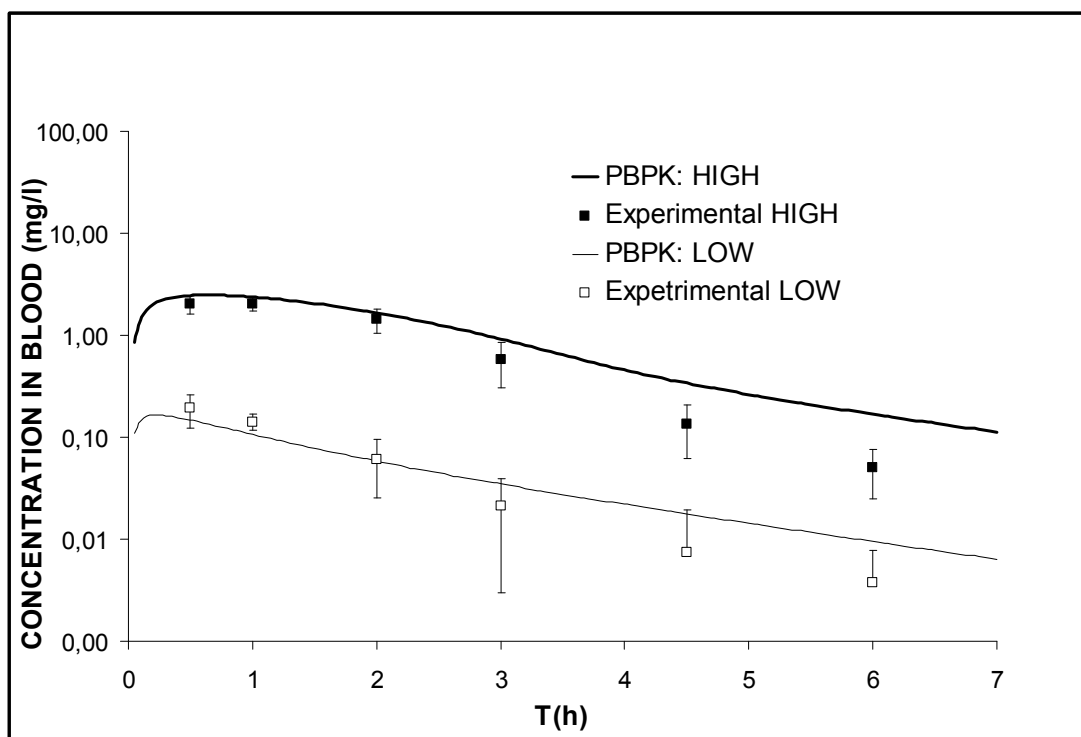


Figure 3

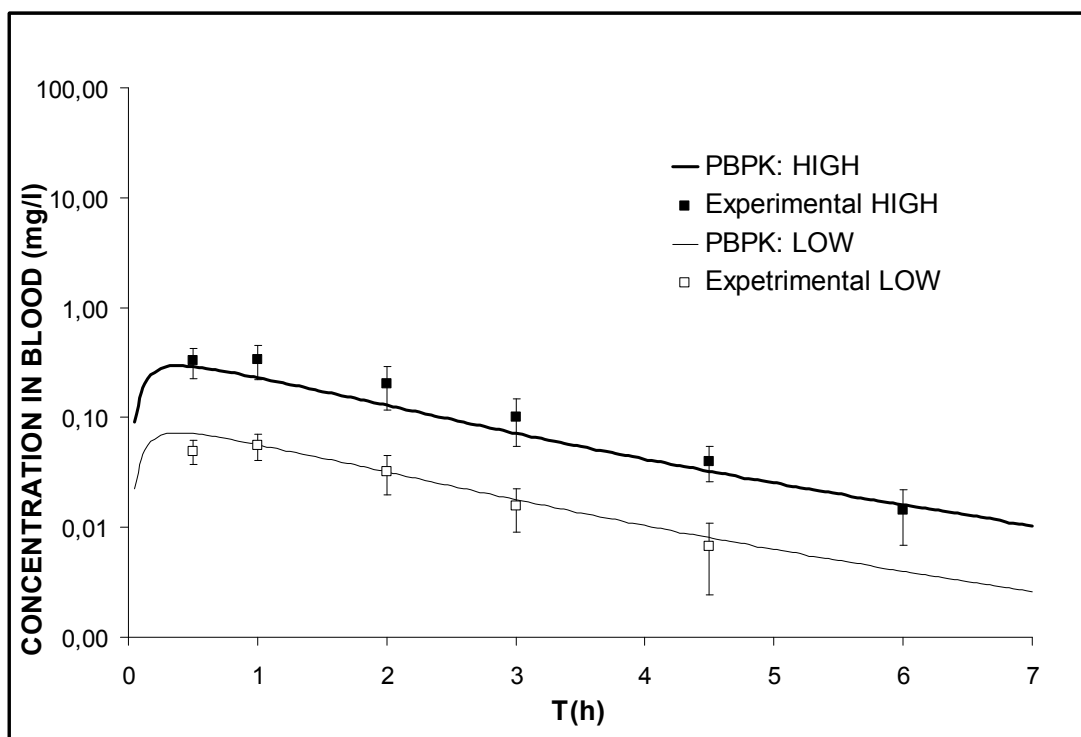


Figure 4

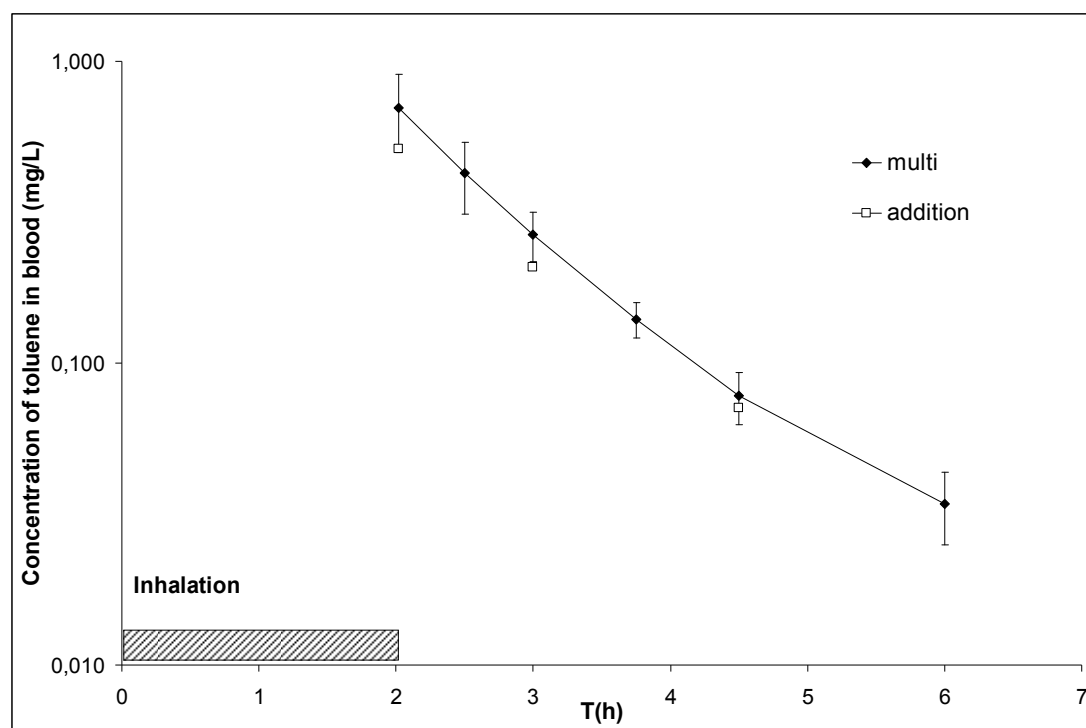


Figure 5

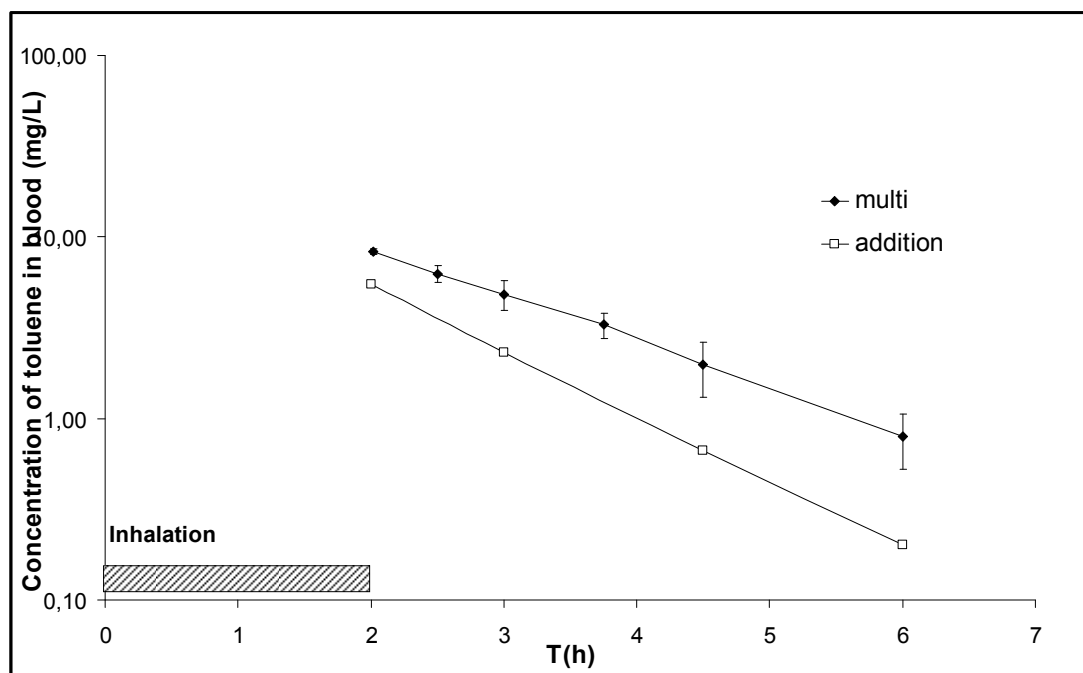


Figure 6

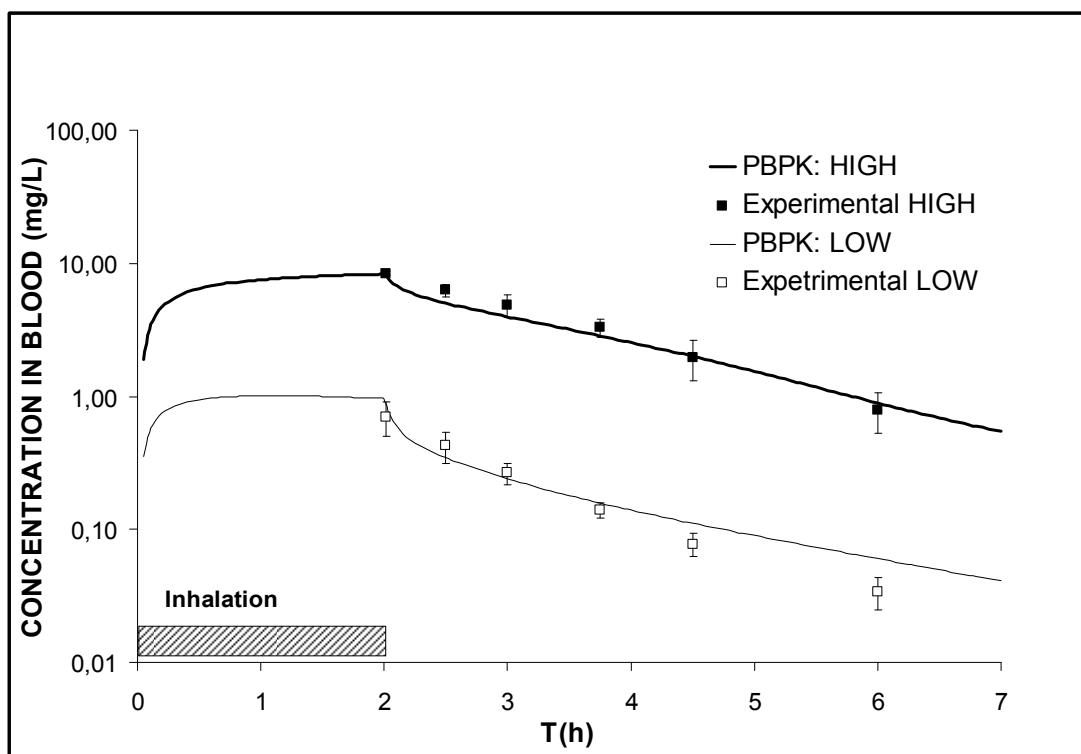


Figure 7

CHAPITRE CINQUIÈME : EXPOSITION MULTIVOIE AU N-HEXANE
ET AU CYCLOHEXANE

5.1. Résultats expérimentaux : le n-hexane

Dans cette section seront présentés les résultats expérimentaux des expositions au n-hexane par voie unique (par inhalation ou par voie orale) et multivoie, puis ceux-ci seront suivis d'une brève analyse des résultats, sous forme de discussion.

5.1.1. Exposition voie unique : voie d'inhalation

Deux expositions au n-hexane ont été réalisées par inhalation et les cinétiques sanguines sont présentées dans le tableau VI et la figure 5.

Tableau VI : Concentrations sanguines de n-hexane (mg/L; moyenne \pm écart-type; n=5) après 2 h d'inhalation à 200 et 50 ppm (concentrations réelles dans la chambre d'inhalation : $50,0 \pm 0,6$; $201,1 \pm 2,2$ ppm).

Temps (h)	Concentration sanguine HEX (mg/L)	
	(moyenne \pm écart-type)	
	200 ppm	50 ppm
2,02 ¹	0,45 \pm 0,02	0,09 \pm 0,01
2,5	0,21 \pm 0,03	0,03 \pm 0,01
3,0	0,14 \pm 0,02	0,02 \pm 0,01
3,5	0,10 \pm 0,01	0,012 \pm 0,003
4,0	0,06 \pm 0,01	0,007 \pm 0,002
5,0	0,032 \pm 0,004	-

¹ Correspond à la fin de l'inhalation

Les premiers échantillons sanguins ont été pris à la fin de la période d'inhalation de 2 h. La figure 5 présente l'élimination du n-hexane, suivant une exposition à 50 et une exposition à 200 ppm. Pour les deux concentrations d'exposition, les constantes d'élimination (K_{él}) (la pente du log naturel (ln) de la concentration en fonction du temps) sont légèrement dissemblables (K_{él} = 1,02 et 0,75 hr⁻¹). Les surfaces sous la courbes (SSC) (de 2 h à l'infini) étaient de 0,89 h•mg/L et de 0,15 h•mg/L, respectivement pour la haute et la faible concentration d'exposition.

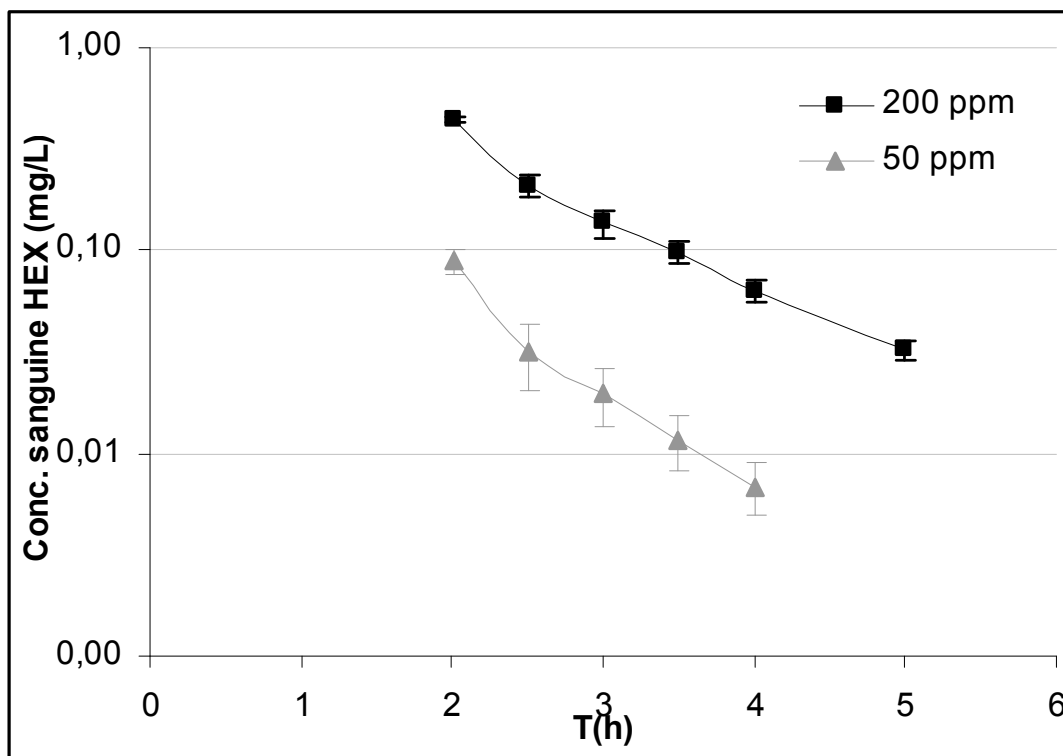


Figure 5 : Profil temporel du n-hexane dans le sang, suite à une exposition par inhalation de 2 h à 200 ou 50 ppm. Les données expérimentales sont représentées par les symboles (■;▲; moyenne ± écart-type; n=5 rats par dose).

5.1.2. Exposition voie unique : voie orale

L'administration de deux concentrations de n-hexane par voie orale est présentée dans le tableau VII et la figure 6 ci-dessous. Deux groupes distincts d'animaux ont été nécessaires à la caractérisation de la cinétique du n-hexane après expositions orales à 22,33 mg/kg. Les prises de sang ont été effectuées à des intervalles de temps différents pour les deux groupes (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 et 3,0h ainsi que 0,08; 0,17; 0,25, 0,5 et 1,0 h).

Tableau VII : Concentrations sanguines de n-hexane (mg/L; moyenne \pm écart-type; n=5), obtenues chez deux groupes de rats distincts, après expositions orales à 22,33 mg/kg.

Temps (h)	Concentrations sanguines (mg/L) (moyenne \pm écart-type)
0,5	0,23 \pm 0,07
1,0	0,17 \pm 0,03
1,5	0,17 \pm 0,06
2,0	0,11 \pm 0,03
2,5	0,07 \pm 0,03
3,5	0,032 \pm 0,007
0,08	0,14 \pm 0,04
0,17	0,30 \pm 0,06
0,25	0,27 \pm 0,06
0,50	0,26 \pm 0,10
1,00	0,16 \pm 0,06

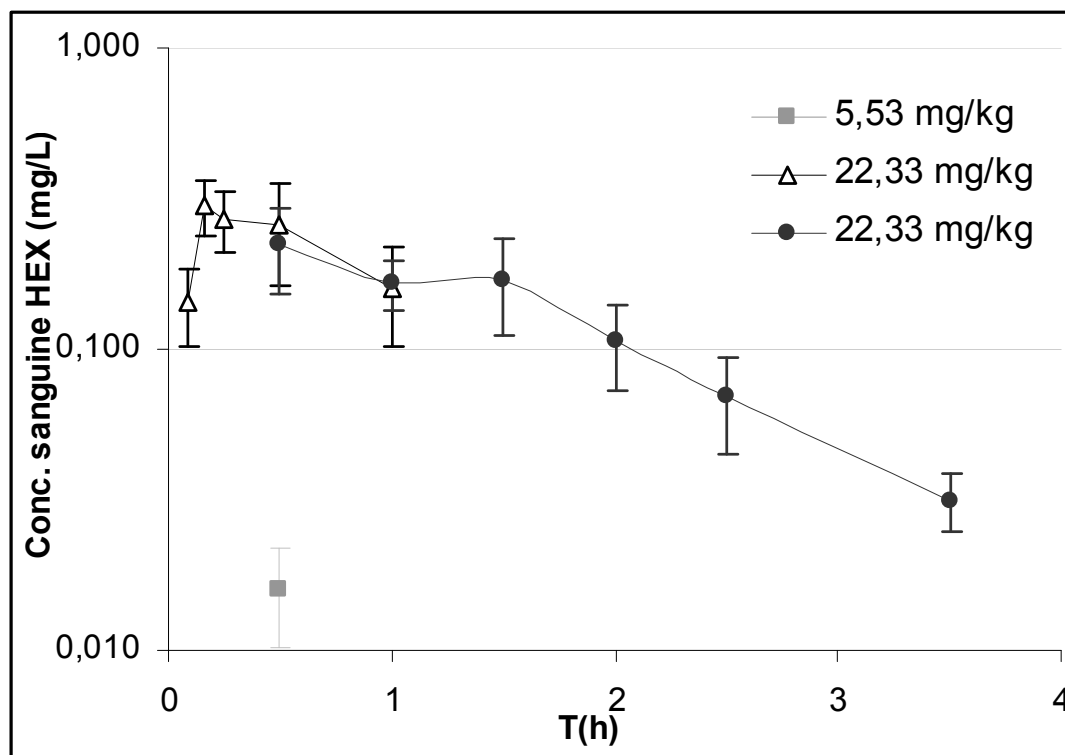


Figure 6 : Profil temporel du n-hexane dans le sang, suite à une exposition par gavage à 5,53 ou 22,33 mg/kg. Les données expérimentales sont représentées par les symboles (■; ●; △; moyenne \pm écart-type; n=5 rats par dose).

La figure 6 illustre les niveaux sanguins en n-hexane inchangé suivant un gavage à 5,53 et 22,33 mg/kg. Dans le cas de la dose la plus faible (5,53 mg/kg), seul le HEX des premiers échantillons (à 30 minutes, moyenne \pm écart-type: 0.016 \pm 0.006 mg/L, n=4) était détectable par la méthode d'analyse. La première expérimentation de gavage faite avec la dose forte 22,33 mg/kg comportait les temps d'échantillon suivant : 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 et 3,5h. La deuxième série de données est très compatible avec les niveaux sanguins obtenus à 0,5 et 1h, de la première expérimentation. Le maximum observé est donc de 0,300 mg/L et survient 10 minutes post-gavage. La constante d'élimination calculée dans la phase linéaire d'élimination, entre 1h30 et 3h30, est de $-0,84\text{h}^{-1}$.

5.1.3. Exposition multivoie: inhalation et orale

L'exposition multivoie au n-hexane se résume à l'administration simultanée du solvant par la voie d'inhalation et la voie orale. Les résultats (les cinétiques sanguines) sont présentés dans cette section (Tableau VIII et Figure 7).

Tableau VIII : Concentrations sanguines de n-hexane (mg/L; moyenne \pm écart-type; n=5) après exposition multivoie (orale : 22,3 mg/kg ; inhalation : 200 ppm [concentration réelle d'exposition dans la chambre d'inhalation : 202,1 \pm 5,3 ppm]).

Temps (h)	Concentrations sanguines (mg/L) (moyenne \pm écart-type)
2,02 ¹	0,80 \pm 0,08
2,5	0,37 \pm 0,10
3,0	0,27 \pm 0,05
3,5	0,22 \pm 0,05
4,0	0,16 \pm 0,04
5,0	0,09 \pm 0,02

¹ Correspond à la fin de l'inhalation

La figure 7 et le Tableau VIII présentent les niveaux sanguins de n-hexane inchangé en fonction du temps, suite à l'administration simultanée de n-hexane par la voie orale et la voie d'inhalation. Les concentrations utilisées dans le cadre de cette exposition étaient les deux doses les plus hautes des expositions par voie unique, soit 22,3 mg/kg pour le gavage et 200 ppm comme concentration d'inhalation. La constante d'élimination du n-hexane calculée à partir des données expérimentales est de 0,57h⁻¹. La figure 7 présente le profil des concentrations sanguines obtenues en additionnant les concentrations moyennes mesurées pour les expositions par voies uniques (par inhalation et par gavage) aux temps 2, 2,5 et 3,5 h. Or, les niveaux sanguins correspondant à l'exposition multivoie sont supérieurs de 133 à 171% par rapport aux prédictions basées sur la somme des concentrations moyennes obtenues lors des expositions par voie unique.

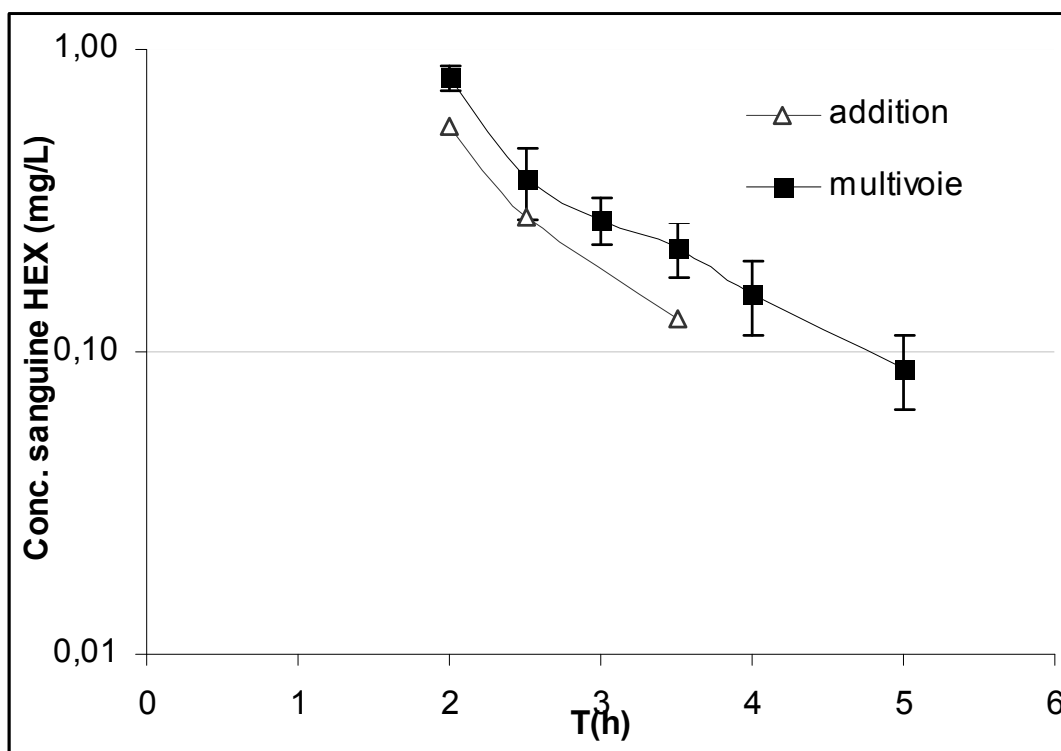


Figure 7 : Profil temporel du n-hexane dans le sang, suite à une exposition multivoie par inhalation de 2 h (200 ppm) et par gavage (22,3 mg/kg). Les données expérimentales (■; moyenne \pm écart-type; n=5 rats par dose) et les valeurs prédites (Addition) à partir des valeurs mesurées par voie unique (Δ) sont représentées.

5.1.4. Discussion des résultats pour le n-hexane

Voie d'inhalation

Les niveaux sanguins obtenus pour l'inhalation de n-hexane sont en accord avec ceux retrouvés dans la littérature pour des expositions semblables (Ali et Tardif, 1999).

Les profils sanguins obtenus après l'exposition aux deux concentrations (Figure 5) sont assez semblables bien qu'une légère différence entre les constantes d'élimination ($1,02$ vs $0,75 \text{ hr}^{-1}$) suggère une légère saturation pour la concentration la plus élevée. Cette saturation du métabolisme se manifeste également dans le rapport des SSC (résultats de la haute dose sur la faible) qui est de 5,9 alors que la valeur du rapport des concentrations d'exposition est de 4 (200 ppm/50 ppm). La SSC des concentrations sanguines est un paramètre toxicocinétique intéressant

puisqu'il reflète la quantité de n-hexane qui, sous sa forme inchangée, atteint la circulation sanguine. C'est un bon indicateur de la dose interne d'exposition de l'organisme qui prend en compte à la fois la concentration du n-hexane et la durée de sa présence dans le sang (Tardif et Brodeur, 2005).

Voie orale

L'administration orale a permis de caractériser la cinétique pour une seule des deux doses administrées puisque les niveaux sanguins mesurés après le gavage de la plus faible des deux doses (5,53 mg/kg) étaient sous la limite de détection dès la deuxième prise de sang (1 h post administration). Aucune donnée n'a été trouvée dans la littérature à des fins de comparaison suite à une administration par gavage chez le rat.

Voie percutanée

Une expérience préliminaire impliquant une exposition percutanée au n-hexane s'est traduite par l'absence de quantités détectables dans le sang, et ce, malgré une valeur de K_p estimée à 1,37cm/h. Ce dernier est supérieur au 0,024 cm/h proposé par Krishnan et Carrier (2008) afin de considérer la voie percutanée significative pour la contribution totale. Cette difficulté à mesurer le n-hexane sanguin est probablement attribuable à des limites expérimentales : la faiblesse de la surface exposée (~1,3%) et le timbre cutané permettant une certaine perte du solvant par volatilisation.

Par ailleurs, certains auteurs rapportent que l'absorption peut-être plus importante lors d'expositions à de faibles concentrations. Les bas niveaux mesurés pourraient également s'expliquer par l'utilisation d'une solution concentrée, ce qui a pu provoquer la mort cellulaire des couches supérieures de la peau et ainsi diminuer l'absorption (Scheuplein et Blank, 1973).

Multivoie

La présente étude est la première qui porte sur la cinétique sanguine du n-hexane suivant une exposition simultanée par inhalation et par gavage. Les résultats montrent que la somme des niveaux mesurés lors des expositions par voie unique

(par inhalation et par voie orale) ne permet pas d'estimer ou de prédire de façon adéquate les niveaux sanguins pour des expositions simultanées. Cela pourrait s'expliquer par la saturation du métabolisme dans laquelle le gavage pourrait jouer un rôle important.

Il est possible d'estimer la contribution relative à la dose totale de chacune des voies (par inhalation et par voie orale) en comparant les SSC obtenues expérimentalement. Cette comparaison est possible puisque les doses administrées sont les mêmes pour les deux voies, comme il a été expliqué dans la démarche expérimentale (Équations 6 et 7). La contribution de l'inhalation est plus importante que celle de la voie orale (71% vs 29%). Cette différence est probablement le résultat de l'effet de premier passage : une portion du n-hexane ayant été métabolisée avant même d'atteindre la circulation systémique, les niveaux sanguins résultant de cette exposition sont plus faibles que ceux produits par une exposition par inhalation seule.

5.2. Résultats expérimentaux : le cyclohexane

Dans la présente section, les résultats expérimentaux des expositions au cyclohexane par voies uniques (inhalation, oral) et multivoies sont présentés puis suivis d'une discussion.

5.2.1. Exposition voie unique: par inhalation

Les expositions au cyclohexane par la voie d'inhalation ont été réalisées pour trois doses différentes. Les résultats des analyses sanguines sont présentés dans le tableau IX et la figure 8.

Tableau IX : Concentrations sanguines de cyclohexane (mg/L; moyenne \pm écart-type; n=5) après 2 h d'inhalation (concentrations réelles dans la chambre d'inhalation : $102,5 \pm 2,68$; $289,4 \pm 29,4$; $1167,9 \pm 38,0$ ppm).

Temps (h)	Concentrations sanguines (mg/L)		
	(moyenne \pm écart-type)		
	1200 ppm	300 ppm	100 ppm
2,02 ¹	3,74 \pm 0,32	0,93 \pm 0,08	0,25 \pm 0,04
2,5	2,39 \pm 0,92	0,60 \pm 0,21	0,19 \pm 0,02
3,0	2,17 \pm 0,05	0,57 \pm 0,10	0,16 \pm 0,01
3,5	1,79 \pm 0,17	0,41 \pm 0,05	0,12 \pm 0,02
4,0	1,33 \pm 0,22	0,35 \pm 0,04	0,10 \pm 0,02
5,0	0,93 \pm 0,16	0,22 \pm 0,03	0,08 \pm 0,02

¹ Correspond à la fin de l'inhalation

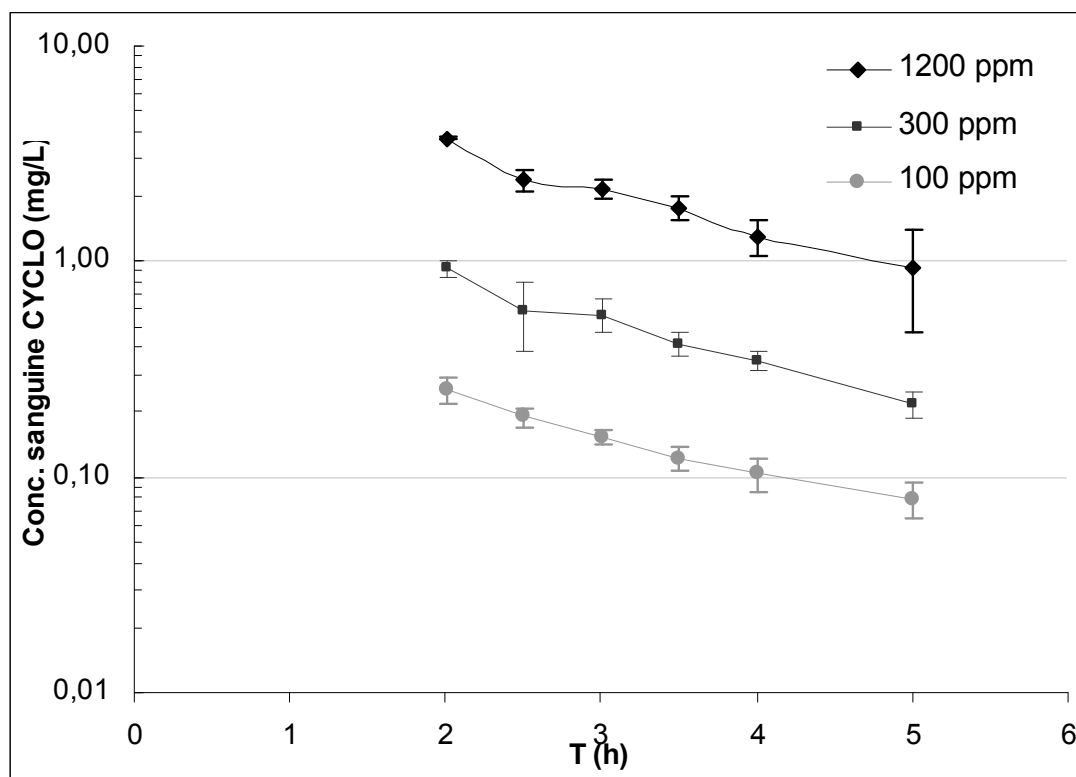


Figure 8 : Profil temporel du cyclohexane dans le sang, suite à une exposition par inhalation de 2 h à 1200, 300 ou 100 ppm (concentrations réelles : $102,5 \pm 2,68$; $289,4 \pm 29,4$; $1167,9 \pm 38,0$ ppm). Les données expérimentales sont représentées par les symboles (■; ◆; ●; moyenne \pm écart-type; n=5 rats).

Les premiers échantillons sanguins ont été pris à la fin de la période d'inhalation. La figure 8 présente l'élimination du cyclohexane suivant une exposition à 100, 300 et 1200 ppm. Pour les trois différentes concentrations d'exposition, les taux d'élimination du cyclohexane sanguins sont très semblables ($K_{el} = 0,43 ; 0,47, 0,39 \text{ h}^{-1}$, respectivement pour les expositions à 100, 300 et 1200 ppm. Les SSC (de 2 h à l'infini) étaient respectivement de 102,5; 289,4 et 1167,9 $\text{h}\cdot\text{mg/l}$ pour ces mêmes concentrations.

5.2.2. Exposition voie unique : la voie orale

Les expositions au cyclohexane par voie orale ont été réalisées pour deux doses. Les cinétiques sanguines sont présentées dans le tableau X et la figure 9.

Tableau X : Concentrations sanguines de cyclohexane (mg/L; moyenne \pm écart-type; n=5) après administration orale

Temps(h)	Concentrations sanguines (mg/L)	
	(moyenne \pm écart-type)	
	108,9 mg/kg	27,9 mg/kg
0,33	0,30 \pm 0,26	0,23 \pm 0,07
0,67	0,36 \pm 0,12	0,15 \pm 0,03
1,00	0,40 \pm 0,14	0,15 \pm 0,02
2,00	0,48 \pm 0,10	0,10 \pm 0,03
3,50	0,40 \pm 0,04	0,05 \pm 0,02
5,00	0,31 \pm 0,01	0,03 \pm 0,02

La figure 9 présente les niveaux sanguins de cyclohexane inchangés après un gavage à 27,9 et 108,9 mg/kg. L'écart-type du premier échantillon ($t = 0,33 \text{ h}$) est très grand. La moyenne des concentrations sanguines des 4 autres rats est de 0,187mg/L, alors que ce rat a eu un niveau de cyclohexane sanguin de 0,736 mg/L. La K_{el} calculée pour la plus faible des doses est égale à $0,41 \text{ h}^{-1}$, valeur très semblable aux taux d'élimination observés lors des expositions par inhalation. Dans le cas de la forte dose, la K_{el} ($0,14 \text{ h}^{-1}$) est plus faible. Le rapport des SSC est de 8,2 ($4,1 \text{ h}\cdot\text{mg/l} / 0,5 \text{ h}\cdot\text{mg/l}$).

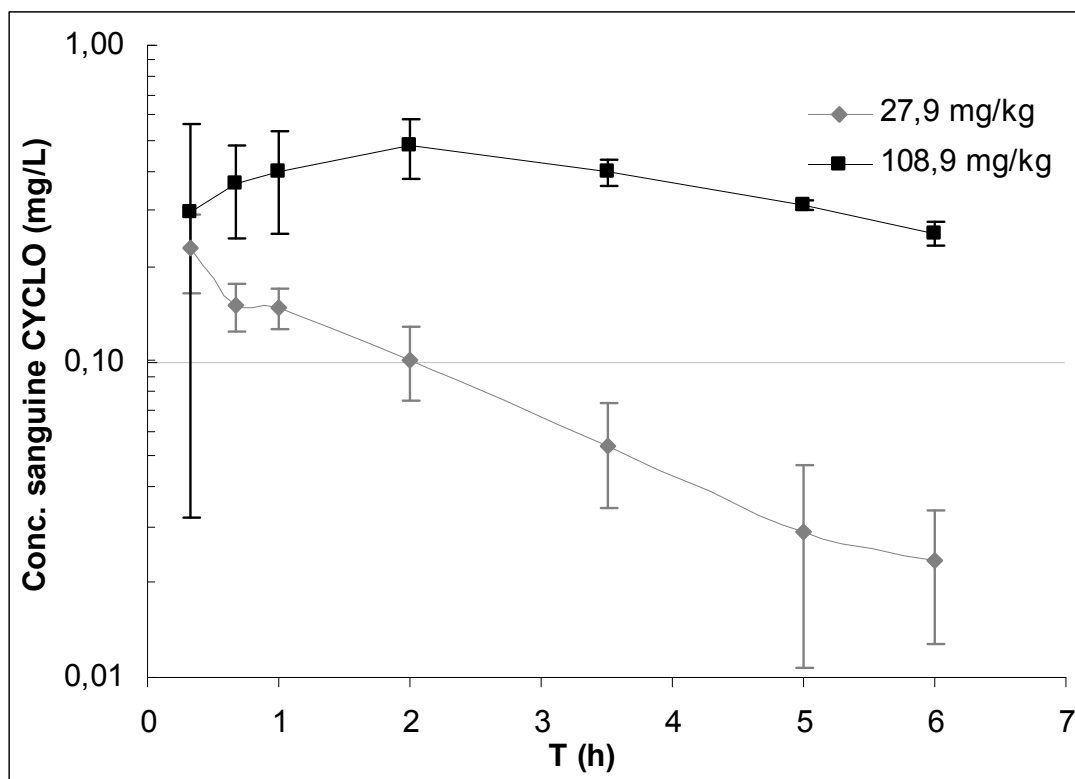


Figure 9 : Profil temporel du CYCLO dans le sang, suite à une exposition par gavage à 108,9 ou 27,9 mg/kg. Les données expérimentales sont représentées par les symboles (■; ◆; moyenne \pm écart-type; n=5 rats par dose).

5.2.3. Exposition multivoie: par inhalation et par voie orale

L'exposition multivoie du cyclohexane consiste en une administration simultanée du produit par inhalation et par voie orale. Les niveaux sanguins résultant des deux expositions multivoies sont rapportés dans le tableau XI et les figures 10 et 11.

Tableau XI : Concentrations sanguines de cyclohexane (mg/L; moyenne \pm écart-type; n=5) après exposition multivoie aux fortes doses (orale : 108,9 mg/kg; inhalation : 1200 ppm (concentration réelle chambre : $300,7 \pm 14,1$ ppm) et faibles doses (orale : 27,9 mg/kg; inhalation : 300 ppm) (concentrations réelles de la chambre : $1196,0 \pm 38,0$ ppm).

Temps (h)	Concentrations sanguines (mg/L)	
	(moyenne \pm écart-type)	
	Fortes doses	Faibles doses
2,02 ¹	4,93 \pm 0,38	1,23 \pm 0,09
2,5	3,28 \pm 0,50	0,84 \pm 0,16
3,0	2,91 \pm 0,29	0,67 \pm 0,12
3,5	2,37 \pm 0,28	0,48 \pm 0,11
4,0	1,96 \pm 0,23	0,38 \pm 0,09
5,0	1,28 \pm 0,20	0,23 \pm 0,12

¹ Correspond à la fin de l'inhalation

La figure 10 présente les niveaux sanguins en cyclohexane inchangé en fonction du temps, suite à l'administration simultanée de CYCLO par la voie orale et la voie d'inhalation. La concentration d'exposition dans la chambre d'inhalation était de 300 ppm et la dose administrée par gavage de 27,9 mg/kg. La constante d'élimination du n-hexane calculée grâce aux données de l'exposition multivoie est de $0,55\text{h}^{-1}$. La figure 10 permet aussi d'observer le profil temporel sanguin de CYCLO évalué par la somme des moyennes des concentrations sanguines de l'exposition orale et de l'exposition par inhalation. Les niveaux sanguins obtenus lors de l'expérimentation sont très semblables (119, 100 et 92%) aux prédictions basées sur la somme (addition) des concentrations moyennes et la SSC des prédictions est comparable à celle des résultats expérimentaux (99%).

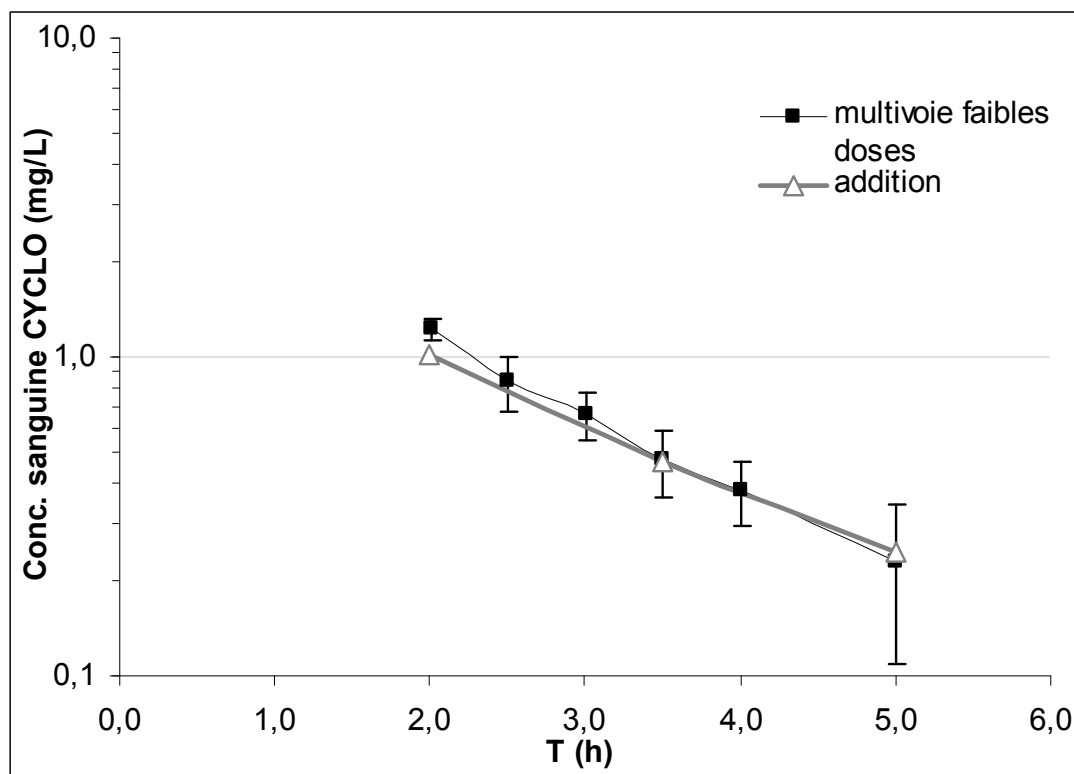


Figure 10 : Profil temporel du cyclohexane dans le sang suite à une exposition multivoie par inhalation de 2 h à 300 ppm et par gavage 27,9 mg/kg. Les données expérimentales (■; moyenne \pm écart-type; n=5 rats par dose) et la somme (addition) des niveaux sanguins obtenus lors des expérimentations par voie unique (Δ) sont représentées.

La figure 11 présente les niveaux sanguins en cyclohexane inchangé en fonction du temps, suite à son administration simultanée par la voie orale et par la voie d'inhalation. La concentration d'exposition dans la chambre d'inhalation était la plus haute utilisée dans les expositions par voie unique (1200 ppm) tout comme la dose administrée par gavage (108,9 mg/kg). La constante d'élimination du n-hexane calculée grâce aux données de l'exposition multivoie est de $0,38h^{-1}$. La figure 11 permet aussi d'observer que les prédictions sont plutôt semblables aux niveaux sanguins obtenus expérimentalement lors de l'exposition multivoie aux hautes doses. En fait, les niveaux sanguins expérimentaux sont équivalents à 117, 109 et 103 % des prédictions (addition). Comme lors de l'exposition multivoie aux concentrations les plus faibles, la SSC estimée est semblable à celle des résultats expérimentaux obtenus (99%).

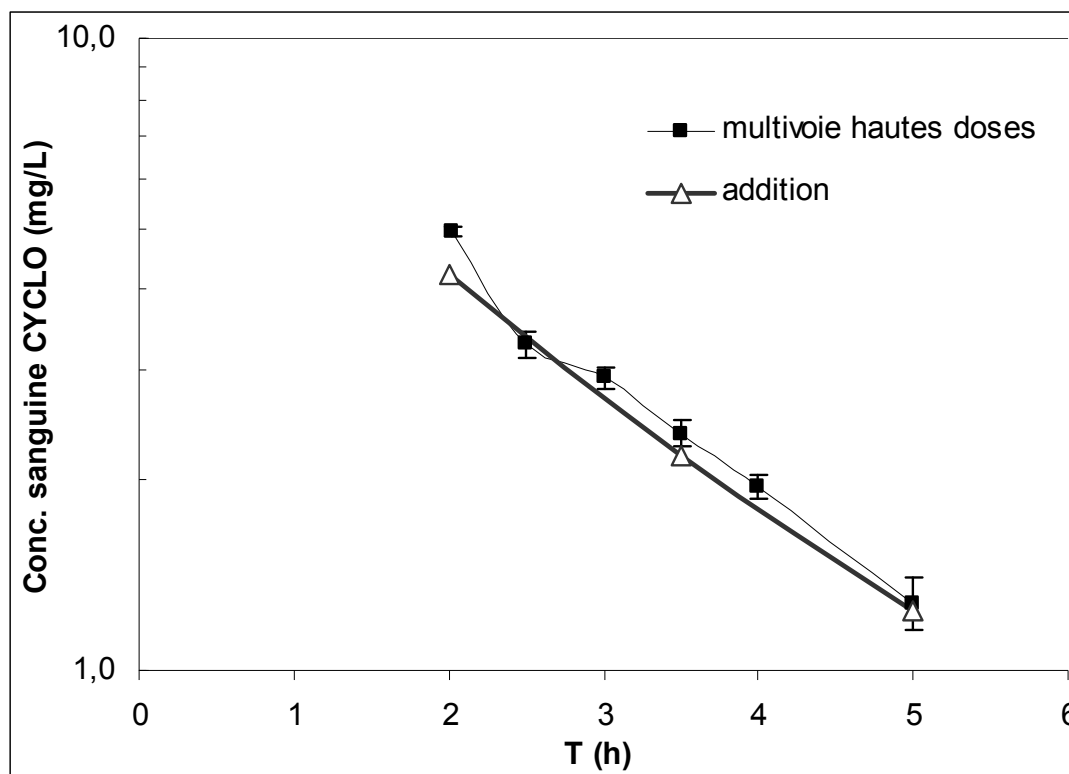


Figure 11 : Profil temporel du cyclohexane dans le sang, suite à une exposition multivoie par inhalation de 2 h à 1200 et par gavage 108,9 mg/kg. Les données expérimentales (■; moyenne \pm écart-type; n = 5 rats par dose) et la somme (addition) des niveaux sanguins obtenus lors des expérimentations par voie unique (Δ) sont représentées.

5.2.4. Discussion des résultats pour le cyclohexane

Tout comme pour le n-hexane, il s'agit des premières données sur la cinétique sanguine du cyclohexane suivant une exposition simultanée par inhalation et par gavage. Ces résultats fournissent aussi des données sur la cinétique suivant des expositions par voie unique, données absentes ou incomplètes dans la littérature.

Voie d'inhalation

En ce qui a trait à l'inhalation, il est intéressant de noter la proportionnalité de la cinétique. Les trois constantes d'élimination calculées pour les trois différentes concentrations d'exposition (100, 300 et 1200 ppm) sont très semblables (0,43; 0,47, 0,39 h^{-1}), alors que le rapport entre les concentrations d'exposition (12 et 4) sont semblables aux rapports des SSC (13,1 et 4,1). C'est un indice que le

métabolisme n'est pas saturé à ces concentrations. Malheureusement, aucune donnée n'a été repérée dans la littérature afin de comparer les niveaux sanguins observés après une exposition par inhalation chez le rat.

Voie orale

Au niveau de l'exposition orale, le constat est différent. Selon la concentration d'exposition, l'élimination se fait à des vitesses différentes, ce qui suggère une cinétique d'ordre zéro attribuable à une saturation du métabolisme du cyclohexane ou de l'absorption (EPA, 2003). L'absorption des solvants s'effectue généralement très rapidement, mais la présence de nourriture dans le tractus digestif peut influencer la vitesse d'absorption, voire la ralentir (Rozman et Klassen, 2001). Le jeûne ne fait pas partie du protocole puisqu'il entraîne un biais important dans les études de cinétique. En effet, un arrêt de l'alimentation, même de quelques heures, peut induire les enzymes du foie en charge de la métabolisation des solvants (Hu et coll. 1995). Comme les animaux n'étaient pas à jeun lors des expérimentations, il est possible que le contenu de leur estomac ait été différent (d'une expérience à l'autre), ce qui pourrait aussi expliquer la différence de vitesse d'absorption. La saturation du métabolisme semble, par contre, une hypothèse plus plausible.

Voie percutanée

L'expérience préliminaire de l'exposition percutanée au cyclohexane a résulté en une incapacité à détecter le cyclohexane : les niveaux étaient sous, ou près de la limite de détection. Malgré un K_p estimé de 1,54, l'importance de la voie percutanée n'a donc pu être démontrée expérimentalement. Tout comme pour le n-hexane, le faible pourcentage de surface exposé ainsi que la volatilisation du composé explique probablement la difficulté à mesurer le COV dans le sang.

Multivoie

Les résultats de l'exposition concomitante au cyclohexane par deux voies d'exposition sont très intéressants puisque, contrairement à ceux obtenus dans ce même projet pour le toluène et le n-hexane, les prédictions par addition sont des bons estimateurs des niveaux sanguins observés expérimentalement, et ce, pour les deux groupes de concentrations. Il y aurait donc un lien entre l'absence de

saturation dans les expérimentations par voie unique et la possibilité d'estimer les niveaux sanguins des expositions multivoies par addition.

Comme pour le n-hexane, les SSC ont été utilisées pour comparer les deux voies d'absorption, et leur contribution à la dose totale a été évaluée. Elles ne sont pas les mêmes pour les deux différentes doses administrées. Pour ce qui est de la plus faible dose, la contribution de l'inhalation est de 88%, alors que la voie orale représente seulement 12%. La dose la plus haute implique une diminution du pourcentage de contribution de l'inhalation (70%) au profit du gavage (30%). Ce changement de pourcentage en fonction de la dose est explicable par le phénomène de premier passage (qui, ici aussi, implique une plus grande contribution de la voie d'inhalation) et d'une possible saturation du métabolisme (la saturation des enzymes hépatiques est plus probable à forte concentration et plus de cyclohexane atteint la circulation sanguine sans avoir été préalablement biotransformé).

CHAPITRE SIXIÈME : DISCUSSION ET CONCLUSION

Ce projet apporte de nouvelles données sur l'impact de l'exposition multivoie sur la cinétique de COV. Alors qu'un certain nombre d'études ont permis d'estimer des pourcentages de contribution à la charge totale, aucune n'avait tenté de comprendre les interactions possibles entre les voies lors d'une exposition aux contaminants de l'eau potable. Cette étude est donc la première portant sur une caractérisation de la cinétique d'exposition au toluène, au n-hexane ou au cyclohexane par trois voies d'exposition simultanée (par inhalation, par voie orale et par voie percutanée), grâce à un modèle expérimental animal conjugué à la modélisation TCBP.

Le projet a permis de démontrer qu'une exposition multivoie peut avoir un effet considérable sur la charge corporelle totale. Les résultats semblent concorder avec l'hypothèse relative au phénomène de saturation du métabolisme et de la « compétition » des voies. Pour les deux substances où une saturation était observée lors des expositions par voie unique (le toluène et le n-hexane), les prédictions par addition des niveaux sanguins des expositions par voies uniques sous-estiment les concentrations mesurées lors des expérimentations multivoies. Le cyclohexane est le seul dont l'estimation par sommation est juste. Il semble avoir un niveau de saturation supérieur aux concentrations qui ont été utilisées dans ce cadre expérimental. Cette absence de saturation pourrait être dû à la faible solubilité du composé. Le fait qu'il soit peu soluble aura tendance à rendre difficile son absorption et la probabilité de saturation du métabolisme s'en trouvera diminuée.

Comme la voie d'absorption joue un rôle dans la toxicité d'une substance, l'exposition par plus d'une voie à la fois peut influencer les effets sur la santé. Si le métabolite est non-toxique ou a une courte demi-vie et que l'organe cible de la substance n'est pas le foie, l'ingestion entraînera moins d'effets toxiques que les autres voies. Dans le cas du toluène, comme c'est la substance mère qui semble être responsable des effets toxiques sur le SNC, ce sont la voie d'inhalation et la voie percutanée qui ont le potentiel d'entraîner une dose effective plus importante. Pour le cyclohexane, c'est le même scénario : l'inhalation fournit jusqu'à 80% de la substance mère qui atteint la circulation sanguine. Au contraire, comme c'est un métabolite du n-hexane qui est responsable de sa toxicité, la voie orale est plus préoccupante puisqu'elle apporte une dose effective plus grande. Il est important dans l'analyse des expositions multivoies d'évaluer ces caractéristiques.

Le modèle TCBP adapté pour considérer l'exposition multivoie permet une estimation juste de la cinétique du toluène chez le rat lors d'exposition par voie unique ou par voie multiple. Comme ce modèle prend en compte les différents paramètres d'absorption et de saturation, il permet de simuler correctement l'ensemble des phénomènes physiologiques et biochimiques, même lorsque ceux-ci passent d'une cinétique d'ordre 1 à une cinétique d'ordre 0. La bonne détermination des niveaux sanguins de toluène du modèle présenté dans ce mémoire suggère que cet outil pourrait être utilisé afin de définir les seuils à partir desquels l'estimation par addition, telle que présentée dans ce mémoire, est inadéquate. Le développement des modèles TCBP pour le n-hexane et le cyclohexane serait important pour d'éventuelles évaluations de l'impact d'expositions multivoies à plus d'un COV.

D'après la méthode « two-tier », pour être considérées comme significatives, les voies d'inhalation et percutanée doivent contribuer à au moins 10% de la dose qui est absorbée quotidiennement par ingestion. Toujours d'après cette méthode, les substances ayant un K_p supérieur ou égal à 0,024 cm/h et une $F_{\text{air-eau}}$ supérieure à 0,00063 seraient susceptibles de contribuer significativement à l'exposition aux COV. Selon ces critères, le toluène, le n-hexane et le cyclohexane sont de bons candidats afin d'étudier l'exposition multivoie. Pourtant, cette étude n'a pas permis de caractériser l'absorption percutanée du n-hexane et du cyclohexane. Cela s'explique en partie par certaines limites liées au protocole expérimental. En effet, la surface exposée du corps des animaux était limitée, comparativement à la situation où une personne est exposée à environ 90% lors d'une douche. De plus, la grande volatilité des composés entraînait une certaine perte lors de l'application sous le timbre, ce qui diminuait la quantité disponible pour l'absorption.

Le caractère lipophile et volatil d'une substance ne sont pas les seuls critères à prendre en compte lors d'expositions aux contaminants de l'eau potable : la solubilité est une caractéristique capitale afin d'expliquer la présence d'un produit dans l'eau. En d'autres mots, pour que l'exposition multivoie soit possible, il doit donc exister un certain équilibre entre ces trois caractéristiques : la solubilité dans l'eau, la liposolubilité et la volatilité. Parmi les trois composés étudiés dans le cadre de ce projet, le toluène est celui dont la solubilité dans l'eau est la plus grande (590 mg/L comparativement à 9 et 55 mg/L respectivement pour le n-hexane et le cyclohexane). Le toluène est, par le fait même, le seul de ces composés à avoir été

détecté dans des échantillons d'eau potable, ce qui justifie d'autant plus son choix dans cette étude et confirme l'importance de s'y attarder.

En conclusion, les résultats de cette étude ont apporté de nouvelles connaissances pertinentes quant à la cinétique lors d'exposition multivoie aux COV. Elle a ensuite permis de démontrer que, lors de telles expositions, les niveaux sanguins peuvent surpasser les prévisions faites par l'addition des résultats des expositions par voies uniques ce qui résulte en une sous-estimation du risque réel. Finalement, la modélisation TCBP est un outil plus approprié à l'évaluation de la dose interne d'un COV résultant d'une exposition multivoie.

CHAPITRE SEPTIÈME : BIBLIOGRAPHIE

Références

Agache, P. (2000). *Physiologie de la peau et explorations fonctionnelles cutanées*, Cachan.

Ali, N., and Tardif, R. (1999). Toxicokinetic modeling of the combined exposure to toluene and n-hexane in rats and humans. *J Occup Health* 41, 95-103.

Andelman, J. B. (1985). Inhalation exposure in the home to volatile organic contaminants of drinking water. *Sci Total Environ* 47, 443-460.

ATSDR (1999). Toxicological profile for n-hexane. *US Department of health and human services*. Agency for Toxic Substances and Disease Registry

ATSDR (2000). Toxicological profile for toluene. In US Department of health and human services. Agency for Toxic Substances and Disease Registry

Beavers, J., Himmelstein, J., Hammond, S., Smith, T., Kenyon, E., et Sweet, C. (1996). Exposure in a household using gasoline-contaminated water. *J Occup Environ Med* 1, 35-38.

Bender, Arnold E. et David A. Bender. (1995). Body Surface Area. *A Dictionary of Food and Nutrition*. New York: Oxford University Press.

Brooke, I., Cocker, J., Delic, J. I., Payne, M., Jones, K., Gregg, N. C., et Dyne, D. (1998). Dermal uptake of solvents from the vapour phase : an experimental study in humans. *Ann Occup Hyg* 42, 531-540.

Brown, H. S., Bishop, D. R., et Rowan, C. A. (1984). The role of skin absorption as a route of exposure for volatile organic compounds (VOCs) in drinking water. *Am J Public Health* 74, 479-484.

Environnement Canada (1992). Toluène. Liste des substances d'intérêt prioritaire, rapport d'évaluation n°4, Ottawa.

Environnement Canada. L'eau en milieu urbain : Consommation d'eau et traitement des eaux usées par les municipalités. (1999) [En ligne] <http://atlas.nrcan.gc.ca/site/english/maps/freshwater/consumption/domestic/1> (Consulté le 16 septembre 2008).

EPA (2003). Toxicological review of cyclohexane. U.S. Environmental Protection Agency.

EPA (2005a). Toxicological review of n-hexane U.S. Environmental Protection Agency.

EPA (2005b). Toxicological review of toluene. U.S. Environmental Protection Agency.

EPI (2008). Estimation Program Interface Suite. [En ligne] <http://www.epa.gov/oppt/exposure/pubs/episuite.htm> (Consulté le 24 novembre 2008).

Festy, B., Hartmann, P., Ledrans, M., Levallois, P., Payment, P., et Tricard, D. (2003). Qualité de l'eau. In Environnement et santé publique : fondements et pratiques (Edisem, Montréal, Canada).

Gargas, M. L., Burgess, R. J., Voisard, D. E., Cason, G. H., et Andersen, M. E. (1989). Partition coefficients of low-molecular-weight volatile chemicals in various liquids and tissues. *Toxicol Appl Pharmacol* 98, 87-99.

Garnier, P. M., et Auria, R. (2000). Cometabolic biodegradation of methyl tert-butyl ether by a soil consortium : Effect of components present in gasoline. *J Gen Appl Microbiol* 46, 79-84.

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, 199-209.

Haddad, S., Tardif, G. C., et Tardif, R. (2006). Development of physiologically based toxicokinetic models for improving the human indoor exposure assessment to water contaminants : trichloroethylene and trihalomethanes. *J Toxicol Environ Health A* 69, 2095-2136.

Hu, Y., Ingelman-Sundberg, M., et Lindros, K. O. (1995). Induction mechanisms of cytochrome P450 2E1 in liver: interplay between ethanol treatment and starvation. *Biochem Pharmacol* 50, 155-161.

Jo, W. K., Weisel, C. P., et Liroy, P. J. (1990). Routes of chloroform exposure and body burden from showering with chlorinated tap water. *Risk Anal* 10, 575-580.

Kim, D., Andersen, M. E., Pleil, J. D., Nylander-French, L. A., et Prah, J. D. (2007). Refined PBPK model of aggregate exposure to methyl tertiary-butyl ether. *Toxicol Lett* 169, 222-235.

Krishnan, K., et Carrier, R. (2008). Exposure source and multiroute exposure considerations for risk assessment of drinking water contaminants. In *Risk Assessment for Chemicals in Drinking Water* (o. Robert A. and D. Anna M., eds.), 67-89. John Wiley & Sons, Inc.

Krishnan, K., et Johanson, G. (2005). Physiologically-based pharmacokinetic and toxicokinetic models in cancer risk assessment. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 23, 31-53.

Krishnan, K. A., Andersen M. E. (2001). Physiologically based pharmacokinetic modelling in toxicology. In *Principles and methods of toxicology* (A. W. Hayes., ed., pp. 193-241. PA : Taylor & Francis, Philadelphia.

Lof, A., Wigaeus Hjelm, E., Colmsjo, A., Lundmark, B. O., Norstrom, A., et Sato, A. (1993). Toxicokinetics of toluene and urinary excretion of hippuric acid after human exposure to 2H8-toluene. *Br J Ind Med* 50, 55-59.

Mattie, D. R., Bates, G. D., Jr., Jepson, G. W., Fisher, J. W., et McDougal, J. N. (1994a). Determination of skin:air partition coefficients for volatile chemicals : experimental method and applications. *Fundam Appl Toxicol* 22, 51-57.

Mattie, D. R., Grabau, J. H., et McDougal, J. N. (1994b). Significance of the dermal route of exposure to risk assessment. *Risk Anal* 14, 277-284.

McDougal, J. N., Jepson, G. W., Clewell, H. J., 3rd, Gargas, M. L., et Andersen, M. E. (1990). Dermal absorption of organic chemical vapors in rats and humans. *Fundam Appl Toxicol* 14, 299-308.

Moody, R. P., et Chu, I. (1995). Dermal exposure to environmental contaminants in the Great Lakes. *Environ Health Perspect* 103 Suppl 9, 103-114.

Morgan, D. L., Cooper, S. W., Carlock, D. L., Sykora, J. J., Sutton, B., Mattie, D. R., et McDougal, J. N. (1991). Dermal absorption of neat and aqueous volatile organic chemicals in the Fischer 344 rat. *Environ Res* 55, 51-63.

Niesink, R. J. M., de Vries, J., et Hollingers, M. A. (1996). In Principles and applications (P. a. Niesink R. J. M. de Vries J and Hollingers M.A. toxicology and C. P. applications, eds.). CRC Press.

Page, B. D., Conacher, H. B., Salminen, J., Nixon, G. R., Riedel, G., Mori, B., Gagnon, J., et Brousseau, Y. (1993). Survey of bottled drinking water sold in Canada. Part 2. Selected volatile organic compounds. *J AOAC Int* 76, 26-31.

Perbellini, L., Mozzo, P., Brugnone, F., et Zedde, A. (1986). Physiologicomathematical model for studying human exposure to organic solvents : kinetics of blood/tissue n-hexane concentrations and of 2,5-hexanedione in urine. *Br J Ind Med* 43, 760-768.

Pierce, C. H., Chen, Y., Dills, R. L., Kalman, D. A., et Morgan, M. S. (2002). Toluene metabolites as biological indicators of exposure. *Toxicol Lett* 129, 65-76.

Renwick, A. (2001). Toxicokinetics-pharmacokinetics in toxicology. In Principles and Methods of Toxicology. Raven Press.

Roy, A., Weisel, C. P., Gallo, M. A., et Georgopoulos, P. G. (1996). Studies of multiroute exposure/dose reconstruction using physiologically based pharmacokinetic models. *Toxicol Ind Health* 12, 153-163.

Rozman, K. K., et Klassen, C. D. (2001). Absorption, distribution and excretion of toxicants. In Casarett and Doull's Toxicology (C. D. Klassen, McGraw-Hill)

Santé Canada (1986). Toluene, Ethylbenzene and the Xylenes. In Guidelines for Canadian Drinking Water Quality.

Sato, A., et Nakajima, T. (1978). Differences following skin or inhalation exposure in the absorption and excretion kinetics of trichloroethylene and toluene. *Br J Ind Med* 35, 43-49.

Scheuplein, R. J., et Blank, I. H. (1973). Mechanism of percutaneous absorption. IV. Penetration of nonelectrolytes (alcohols) from aqueous solutions and from pure liquids. *J Invest Dermatol* 60, 286-296.

Shehata, A. T. (1985). A multi-route exposure assessment of chemically contaminated drinking water. *Toxicol Ind Health* 1, 277-298.

Squillace, P. J., Moran, M. J., Lapham, W. W., Price, C. V., Clawges, R. M., et Zogorski, J. S. (1999). Volatile organic compounds in untreated ambient groundwater of the United States, 1985-1995. *Environmental Science & Technology* 33, 4176-4187.

Tardif, R., et Brodeur, J. (2005). Pharmacokinetics/Toxicokinetics. In Encyclopedia of Toxicology (2nd éd. Philip Wexler et coll., E. Oxford).

Thrall, K. D., et Woodstock, A. D. (2002). Evaluation of the dermal absorption of aqueous toluene in F344 rats using real-time breath analysis and physiologically based pharmacokinetic modeling. *J Toxicol Environ Health A* 65, 2087-100.

van Asperen, J., Rijcken, W. R., et Lammers, J. H. (2003). Application of physiologically based toxicokinetic modelling to study the impact of the exposure scenario on the toxicokinetics and the behavioural effects of toluene in rats. *Toxicol Lett* 138, 51-62.

Vermeulen, R., Lan, Q., Li, G., Rappaport, S. M., Kim, S., van Wendel de Joode, B., Shen, M., Bohong, X., Smith, M. T., Zhang, L., Yin, S., et Rothman, N. (2006). Assessment of dermal exposure to benzene and toluene in shoe manufacturing by activated carbon cloth patches. *J Environ Monit* 8, 1143-1148.

Weisel, C. P., et Jo, W. K. (1996). Ingestion, inhalation, and dermal exposures to chloroform and trichloroethene from tap water. *Environ Health Perspect* 104, 48-51.

ANNEXES

ANNEXE I

Modèle TCBP

Fichier CSL

PROGRAM

!Modèle PBPK / TOL chez rat :[mg Litre h]
 !Trois voies d'absorption : Inhalation Percutanée Orale
 !Nom de MULTI-TOL.CSL
 !Les compartiments: Foie Riches Gras Pauvres Peau Timbre-percutanée
 !Le métabolisme est limite au foie.
 !DOSE Dermale (mg/rat), Inhalation (ppm), Orale (mg/rat)
 !Conception: Ginette Charest-Tardif, octobre 2007 pour Xtreme

INITIAL ! Initialisation des constantes pour l'homme adulte

!Paramètres physiologiques Haddad et al TAP 167 (2000)
 CONSTANT BW=0.25 ! Poids corporel du rat
 CONSTANT KQCR=15.0 ! Cst débit cardiaque (L/h/kg) extrapolation=BW**0.7
 CONSTANT KQALVR=15.0 ! Cst débit alvéolaire (L/h/kgm) extrapolation=BW**0.7

! VOLUMES des compartiments, Haddad et al TAP 167 (2000)
 CONSTANT KVG = 0.07 ! Fraction gras
 CONSTANT KVF = 0.04 ! Fraction foie
 CONSTANT KVR = 0.05 ! Fraction tissu riche
 CONSTANT KVMP = 0.65 ! Fraction tissu pauvre (0.75-peau 0.1=0.65)
 CONSTANT KVSK = 0.10 ! Fraction peau McDougal 1986

! DEBIT Haddad et al TAP 167 (2000)
 CONSTANT KQGR = 0.09 !Fract débit sanguin au gras((L/hr)*QC
 CONSTANT KQFR = 0.25 !Fract débit sanguin au foie ((L/hr)*QC)
 CONSTANT KQMP =0.100 !Fract débit sanguin faible ((L/hr)*QC) (0.15-0.034 peau)
 CONSTANT KQSK =0.05 !Fract débit sanguin peau (L/hr)*Qc 5% Mc Dougal 1986
 KQR =1- KQGR-KQFR-KQMP-KQSK !Fract débit sang riche(L/hr)*QC), différence 0.51

! PARAMÈTRE PHYSICO CHIMIQUE TOLUÈNE Haddad et al TAP 167 (2000)
 CONSTANT PRBt = 18.0! Sang/air
 CONSTANT KPRFt =83.6 ! Foie/air partition coefficient
 CONSTANT KPRGt = 1021.0 ! Gras/air partition coefficient
 CONSTANT KPRRt = 83.6 ! Rich.perf./air
 CONSTANT KPRMPt= 27.7 ! Tissu Pauvrement Perfuse

 CONSTANT KPRSKt= 43.0 ! Peau/air Mattie et coll. 1994
 CONSTANT KPoilt = 1056.0 ! Huile:Air Gargas et coll 1989
 CONSTANT SURF = 12.0 ! Surface Patch (cm2) 4cm X 3cm MAI 2007 Labo
 CONSTANT SURFsk = 906.0 ! Surface totale de la peau (cm2/kg de rat) Mc Dougal 1986

! Les constantes d absorption et la fraction percutanée sont l'objet de cette étude

CONSTANT KKORT=0.395 !Cst absorption orale(h-1 kg-1) OPTIMISEE cette étude
 CONSTANT Kpt = 0.025 !Cst absorption percutanée (cm/h) OPT cette étude "THRALL et coll"=0.075-0.005
 CONSTANT FABdt = 0.02 !Fraction de la conc percutanée TOL absorbée
 CONSTANT Klosst = 0.8 !Cst perte TOL timbre percutané (h-1)"Poet et Thrall Tox Sci 2000"=1.6
 CONSTANT PMt = 92.14 !Poids moléculaire (mg/mmol)
 !Deux series de valeurs disponibles
 !KVMAXT 4.8mg/hr/kg Tardif et al (1993) ; 3.44mg/h/kg Haddad et coll 2000
 !KMT 0.55mg/l Tardif et col 1997 ;0.13(mg/l) Haddad et coll 2000

 CONSTANT KVMAXt = 3.44 !Max metabolism (mg/h/kg) "Haddad et coll 2000"

```

CONSTANT KMt = 0.13 !Mich-Menten cst (mg/l) "Haddad et coll 2000"

!Définir les doses Inhalation (ppm), orale et percutanée (mg); t=TOL
CONSTANT PPMt=0.0 !Concentration inhalée TOL (ppm)
CONSTANT DOSEt = 0.0 !DOSE ORALE TOL (mg), ajustée en fonction du poids de rat
CONSTANT DERMt = 0.0 !DOSE PERCUTANÉE TOL (mg), ajustée en fct du poids de rat
CONSTANT VOL = 1.0 !Volume huile dose percutanée (ml/kg)
VOLp= VOL*BW/1000 !Volume huile dose percutanée (L)

!PARAMETRES SCHEDULE D EXPOSITION PAR INHALATION PERCUTANÉE
CONSTANT DUREE = 4.0 ! Durée de l inhalation (hr)
CONSTANT TSTOP=24.0 ! nombre de heure de simulation
CONSTANT CINT= 0.01 ! Interv. sauvegarde des result (hr)

!Parametres calculés Debit et Const Metabolique et absorption
QC = KQCR*BW**0.70 ! Débit cardiaque L/hr
QALV = KQALVR*BW**0.70 ! débit alvéolaire L/hr
VMAXt = KVMAXt*BW**0.75 ! Const métab TOL au foie (mg/hr)
KORt= KKORt*BW**(-0.25) ! Constante d absorption au foie TOL (hr-1)

!VOLUMES DES COMPARTMENTS
VG = KVG*BW ! Volume gras (l)
VF = KVF*BW ! Volume foie (l)
VR = KVR*BW ! Volume rich. perf. tissus (l)
VMP = KVM*BW ! Volume tissus pauvres (l)
Vsk = KVsk*BW ! Volume comp peau (l)
!VB = KVB*BW ! Volume total du sang (L)

!DEBIT
QG = KQGR*QC ! Débit sanguin gras (L/hr)
QF = KQFR*QC ! Débit sanguin foie (L/hr)
QR = KQR*QC ! Débit sanguin rich. perf. tissus (L/hr)
QMP= KQMP*QC ! Débit sanguin tissus pauvre + muscle repos(L/hr)
Qsk= KQsk*Qc ! Débit sanguin peau(L/hr)

!COEFFICIENT DE PARTAGE TOLUÈNE
PRGt = KPRGt/PRBt ! Gras/sang partition coefficient
PRFt = KPRFt/PRBt ! Foie/sang partition coefficient
PRRt = KPRRt/PRBt ! Rich.perf./sang
PRMPt= KPRMPt/PRBt ! Muscle et peau./sang (MP MA )
PRskt= KPRskt/PRBt ! Comp. peau (SK)/sang
PRHt = KPRSKt/KPoilt ! Peau/huile TOL

ALGORITHM IALG=2 !Méthode de calcul
SCHEDULE INH0 .AT. 00 !executer INH0 au depart, T=0

END ! Fin de la section INITIAL

DYNAMIC ! Debut: section dynamique de la simulation

!-----
!Les sections DISCRETE contrôlent INHALATION des VOCs
DISCRETE INH0 ! Periode d'inhalation dans la chambre
INTERVAL INH=24.0 ! Effectuer la section INH0 à toutes les 24 hres
CONCt=PPMt ! Concentration inhalation TOL (ppm)
CIt=(CONCt*PMt)/(24.45*1000) !Conc. d exposition TOL en (mg/l)

SCHEDULE INH1 .AT. T+ DUREE !Exécuter INH1 lorsque T=debut + DUREE
END ! FIN de la séquence INH0 ( 0 a t+ duree)

DISCRETE INH1 ! Période sans inhalation
CONCt=0 ! Conc inhalation TOL (ppm)
CIt=(CONCt*PMt)/(24.45*1000) !Conc. d exposition TOL en (mg/l)

END ! FIN de la séquence INH1 retour INH0 au moment de l'Intervalle

```

! Estimation du debit sanguin au timbre percutané"

Fptch=SURF/(SURFsk*BW) ! Fraction patch/peau (Environ 5% de la surface totale)
 Qskt=QSK*(1-Fptch) ! Fraction du débit Comp peau (L/hr) approx. 95% Qsk
 Qskp=QSK*Fptch ! Fraction du débit PATCH percutanée (L/hr) approx 5% Qsk
 Vskt=VSK*(1-Fptch) ! Fraction du volume Comp peau (L)
 Vskp=VSK*Fptch ! Fraction du volume PATCH percutanée (L)

DERIVATIVE ! Résolution des équations différentielle

!Compartiment Sang TOTAL

!TOLUENE

!TCVbt=Qc*(CVt-CVbt) ! Taux acc TOL comp sang veineux (mg/hr)
 !AVbt=INTEG(TCVbt,0) ! Qtée TOL dans comp sang veineux (mg)
 !CVbt=AVbt/VB ! conc TOL sang veineux sortie comp (mg/L)

!Solvants dans le poumon

!TOLUENE

CAt=((QC*CVt)+(QALV*Cit))/(QC+(QALV/prbt)) ! Conc. sang artériel (mg/L)
 CEXPt=CAt/prbt ! Conc. air expiré (mg/L)

! Solvants dans le sang veineux (mg/L)

!TOLUÈNE

CVt=((QF*CVFt)+(QG*CVGt)+(QR*CVRt)+(QMP*CVMPt)+(QSKt*CVSKt)+(QSKp*CVSKpt))/QC
 SSCVt = INTEG (CVt,0.0) ! Surface sous la courbe de la conc veineuse [(mg/l)*hr]
 CVugt = CVt*1000 ! Conc sang veineux TOL (ug/L)

!-----

!Métabolisme du TOLUÈNE

TMETt = VMAXt*CVFt/(KMt+CVFt)

METt = INTEG(TMETt,0.)

!-----

! Solvants dans le foie

!TOLUÈNE

TAFt=(QF*CAt)-(QF*CVFt)-TMETt -RSTOMt !Taux d acc.: foie (mg/hr)
 AFt=INTEG(TAFt,0) ! Quantité acc.: foie (mg)
 CFt=AFt/VF ! Conc.:tissu hepaticue (mg/L)
 CVFt=CFt/prft ! Conc.:sang vein. hep. (mg/L)

!Absorption par voie orale

!TOLUENE

RSTOMt=-KORt*STOMt !Taux d absorption orale (mg/hr)
 STOMt = INTEG(RSTOMt,0) + DOSEt !Quantite VOC ds estomac(mg); a T=0=DOSET

!Solvants dans les tissus riches

!TOLUENE

TARt=QR*(CAt-CVRt) ! Taux d acc.: tissus riches (mg/hr)
 ARt=INTEG(TARt,0) ! Quantité acc.: tissus riches (mg)
 CRt=ARt/VR ! Conc.: tissus riches (mg/L)
 CVRt=CRt/prrt ! Conc.: sang veineux riche (mg/L)

!Solvants dans les tissus adipeux

!TOLUENE

TAGt=QG*(CAt-CVGt) ! Taux d'acc.: tissus gras (mg/hr)
 AGt=INTEG(TAGt,0) ! Quantité acc.: tissus gras (mg)
 CGt=AGt/VG ! Conc. dans les tissus gras (mg/L)
 CVGt=CGt/prgt ! Conc. dans le sang vein. gras(mg/L)

!Solvants dans le comp de tissus pauvrement perfuses

!TOLUÈNE

TAMPt=QMP*(CAT-CVMPt) ! Taux d'acc. dans tissus MP (mg/hr)
 AMPt=INTEG(TAMPt,0) ! Quantité acc. dans tissus MP (mg)
 CMPt=AMPt/VMP ! Conc. dans tissus MP (mg/L)
 CVMPt=CMPT/prmpt ! Conc. dans sang veineux MP (mg/L)

!Solvants dans le comp peau

!TOLUENE
 TASKt=QSKt*(CAT-CVSKt) ! Taux d acc ds tissus peau(mg/hr)
 ASKt=INTEG(TASKt,0) ! Quantité acc. dans tissus Peau (mg)
 CSkt=ASKt/VSkp ! Conc. dans tissus peau (mg/L)
 CVSkp=CSkt/prskt ! Conc. dans sang veineux peau (mg/L)

!Solvant dans le comp patch PERCUTANÉE Équation

!TOLUÈNE
 TASKpt=QSKp*(CAT-CVSkpt)+RDASt ! Taux d.acc ds patch peau(mg/hr)
 ASKpt=INTEG(TASKpt,0) ! Quantité acc. dans patch Peau (mg)
 CSkpt=ASKpt/VSkp ! Conc. dans patch peau (mg/L)
 CVSkpt=CSkpt/prskt ! Conc. dans sang veineux patch Peau (mg/L)

! Estimation de l'absorption percutanée TOL

RDASt=((Kpt*SURF)/1000)*((FABDT*Cpt)-(CSkpt/PRHt)) ! Taux absorption dermal (mg/hr)

! Estimation de la conc a la surface de la peau après la perte par évaporation

Tlosst= Klost*Sdert ! Taux d évaporation (perte) niveau patch (mg/hr)
 Alosst= INTEG(Tlosst,0) ! Qté TOL du a la perte par évaporation (mg)
 Tdert=(-Tlosst)+(-RDASt) ! Taux d'évaporation (perte)+ Absorption (peau) (mg/h)
 Sdert = INTEG(Tdert,0)+ DERMT ! Quantité restante ds solution(mg); a T=0=DERMT
 Cpt=Sdert/VOLp !Conc percutanée TOL dans la patch (mg/l)

!Estimation de INPUT-OUPUT par voie INH, Dose absorbée par ORALE et PERCUTANÉE pour BILAN

! TOLUÈNE
 RAIt=QALV*(CIt-CEXPt) ! Taux absorption/excrétion alvéolaire BILAN (mg/hr)
 SOMt=INTEG(RAIt,0) ! Calcul du BILAN (mg) Dose net par INH
 ORdost= INTEG(Rstomt,0) ! Calcul de la DOSE absorbé (mg) Voie ORALE
 DAST = INTEG (RDASt,0) ! Calcul de la DOSE absorbé (mg) Voie percutanée

! Estimation de la dose par INHALATION Haddad et coll 2002

!TOLUENE
 CA1t= (QC*CVt)/(QC+(QALV/prbt)) ! Conc artérielle due à la circulation sanguine (mg/L)
 CA2t=(QALV*CIt)/(QC+(QALV/prbt)) ! Conc artérielle provenant de l air inspire (mg/L)
 CEXPnat= CA2t/prbt ! Air expiré provenant de l air inspire (mg/L)
 RAI2t= Qalv *(CIt-CEXPnat) ! Taux d'absorption du VOC provenant INH seulement (mg/hr)
 SOM2t= INTEG(RAI2t,0) ! Dose absorbée provenant de INH seulement (mg)

!BILAN de masse sur l organisme entier

!TOLUENE
 ABSORt=SOMt+DERMT+DOSET ! Qté abs et excrété par INH DER et ORA (mg)
 TISSt=ART+AGt+AMPt+ASKt+ASKpt+AFt ! Qté dans tissu et non absorbe a Tstop (mg)
 NABSt=STOMt+SDERT+ALOSST ! Qté non absorbée ou perte (mg)
 BILANt=ABSORt-TISSt-METt-NABSt ! Bilan sur l'organisme doit etre zero

!Estimation de la DOSE totale absorbee

DOSETt = SOM2t+ (-DAST)+(-ORdost) ! Dose T=0 jusqu'à TSTOP(mg de TOL)

!Conditions nécessaires a l'arrêt

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

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