

Toxicologie

LES BIOMARQUEURS EN TOXICOLOGIE. LE MODÈLE HUMAIN

par

Jean-Marie HAGUENOER

Les extrapolations des études toxicologiques expérimentales aux effets rencontrés chez l'homme sont extrêmement délicates et parfois sujettes à erreur, ce qui démontre l'importance des études en population. Pour réaliser de telles études, il faut développer la connaissance des relations doses-effets. Ces relations sont basées sur l'évaluation des doses externes dans l'environnement, sur la surveillance biologique de l'exposition, ainsi que sur la surveillance sanitaire ou surveillance biologique des effets. Ces effets peuvent aussi bien être des réponses précoces biochimiques des organes cibles que des réponses fonctionnelles (respiratoires, cardiaques) ou l'apparition de maladies ou des causes de décès.

Quel que soit le marqueur biologique étudié, celui-ci doit faire l'objet d'une validation dans le cadre d'études épidémiologiques concernant soit des études « exposés - non exposés », soit des études « cas-témoins ». Ces études doivent de plus en plus tenir compte des facteurs de susceptibilité individuelle et des interactions. Ces derniers paramètres sont obligatoires chez l'homme, c'est pourquoi il est impossible de parler de modèle humain, à l'inverse du modèle animal pour lequel ces paramètres de susceptibilité individuelle et d'interactions sont contrôlés.

Biomarkers in toxicology – the human model

The extrapolation of the results of experimental studies in toxicology to humans is very difficult and sometimes may be quite wrong. It is the reason for which studies in human populations are so important. To realise such studies, it is necessary to develop the knowledge of the « dose-effect » relationships. They are based on the assessment of the external doses in the environment, on the biological survey of the exposure and on the sanitary survey or biological survey of the effects. These effects may be as well early biochemical responses of the target organs as functional responses (such as respiratory or cardiac function impairment) or the appearance of diseases or death causes. Whatever is the biomarker used, it must be validated by epidemiological studies concerning either exposed - non exposed studies or case-control studies. Such studies have to take in account the numerous factors of individual susceptibility such as sex, age, smoking habits, alcohol and drug

Bulletin de la Société zoologique de France 124 (4)

consumption, genetics and the interactions between the toxicants. These parameters are always present among humans and it is the reason for which it is impossible to consider a « human model » as we consider the animal model for which these parameters of susceptibility and interaction may be controlled.

Introduction

Face au risque chimique, il importe de développer des méthodes de surveillance individuelle et collective des effets sur la santé afin de prévenir la survenue de maladies. Si ce principe est simple à énoncer, il est beaucoup plus difficile à appliquer.

Difficultés des études chez l'homme

Les connaissances dans le domaine de la toxicologie se sont développées grâce aux études expérimentales qui ont permis de mieux comprendre certains mécanismes d'action ou encore de prédire certains effets chez l'homme, tels que des effets cancérogènes ou des atteintes de certains organes. L'extrapolation directe des effets observés sur l'animal à l'homme ne peut être faite sans prendre le risque de faux effets positifs ou, pire, de faux effets négatifs. Ainsi le trichloréthylène, cancérogène chez la souris ne l'est pas chez le rat ni chez l'homme ; les dérivés de l'arsenic ne provoquent pas de cancers cutanés chez l'animal, à l'inverse des observations humaines. Le mono chlorure de vinyle qui provoque des hépatomes chez l'animal est à l'origine d'hémangiosarcomes du foie chez l'homme, c'est-à-dire une lésion anatomique très différente. Il est donc indispensable de suivre les effets des xénobiotiques de manière spécifique chez l'homme.

À la différence des études expérimentales qui sont réalisées sur des groupes d'animaux de même race, de même souche, de même sexe et dans les conditions standardisées, les études chez l'homme se heurtent à des difficultés méthodologiques en raison de la diversité des facteurs d'interférence face à la réponse biologique. Il s'agit de facteurs individuels (race, sexe, âge, génétique, état physiologique...), de facteurs liés au comportement (alimentation, alcoolisme, tabagisme, médicaments), de facteurs professionnels (nuisances physiques, complexité des mélanges chimiques, rythmes de travail...) et de facteurs environnementaux tels que la pollution atmosphérique urbaine et domestique, la pollution de l'eau ou des aliments.

Une autre difficulté des études chez l'homme est due à la limitation des milieux biologiques disponibles *in vivo*. Les milieux généralement utilisés sont l'urine et le sang, mais les analyses dans l'air expiré, les cheveux, les dents de lait, les os, voire en milieu hospitalier les liquides de lavage broncho-alvéolaire peuvent s'avérer très utiles pour y rechercher et doser certains marqueurs biologiques. Néanmoins, pour éviter une dérive dans l'utilisation d'examen invasifs, des demandes préalables d'autorisation aux comités d'éthique doivent être obtenues et dans tous les cas, il faut le consentement de l'individu. Ces règles d'éthique, absolument nécessaires, limitent le champ d'investigation dans l'utilisation des biomarqueurs par rapport aux études expérimentales.

Biomarqueurs en toxicologie

Les relations doses-effets

La surveillance des individus doit tenir compte des relations qui existent entre les niveaux d'exposition ambiante, les doses internes des toxiques ou de leurs métabolites et des effets observés qu'ils soient infra-cliniques ou cliniques. On développera donc plusieurs types de surveillance. La surveillance de l'ambiance concernera aussi bien la mesure des toxiques au poste de travail que les réseaux de mesure des polluants urbains. La biosurveillance de l'exposition veillera à évaluer la dose interne du toxique et, de préférence, la dose à l'organe cible, ce qui est souvent impossible chez l'homme. La surveillance des effets doit s'intéresser en priorité aux effets précoces observés au stade infraclinique, alors qu'ils sont encore réversibles. Enfin, lorsque ces différents types de surveillance ont été insuffisants, il faut développer les outils de diagnostic des maladies. La figure 1 résume ces données.

Il importe alors d'évaluer les relations entre les doses externes ou les doses

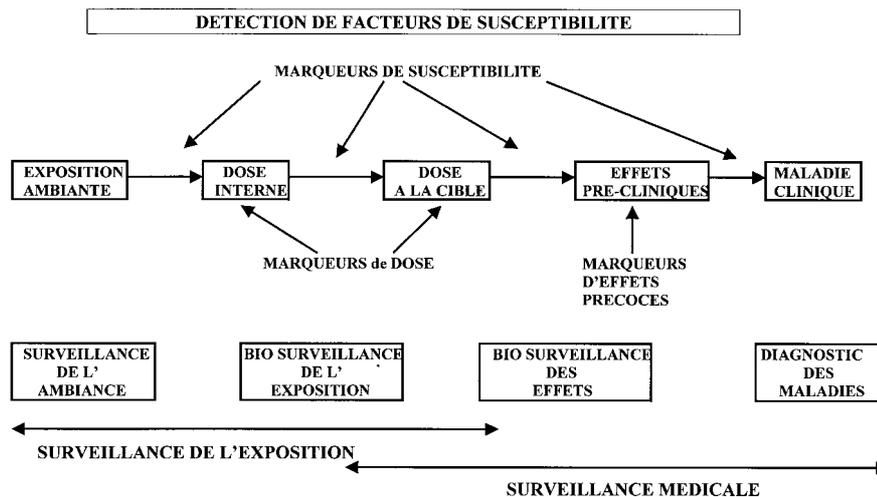


Figure 1

Schéma du principe de la surveillance biologique des expositions aux agents toxiques.

internes avec les marqueurs biologiques d'effets précoces pour définir l'existence de seuils et les principes d'une surveillance systématique des populations exposées, basées sur l'établissement de valeurs limites d'exposition et des valeurs limites biologiques ou indices biologiques d'exposition (fig. 2).

Nous développerons ici les aspects spécifiques de la biosurveillance de l'exposition et celle des effets précoces adverses qui utilisent des biomarqueurs.

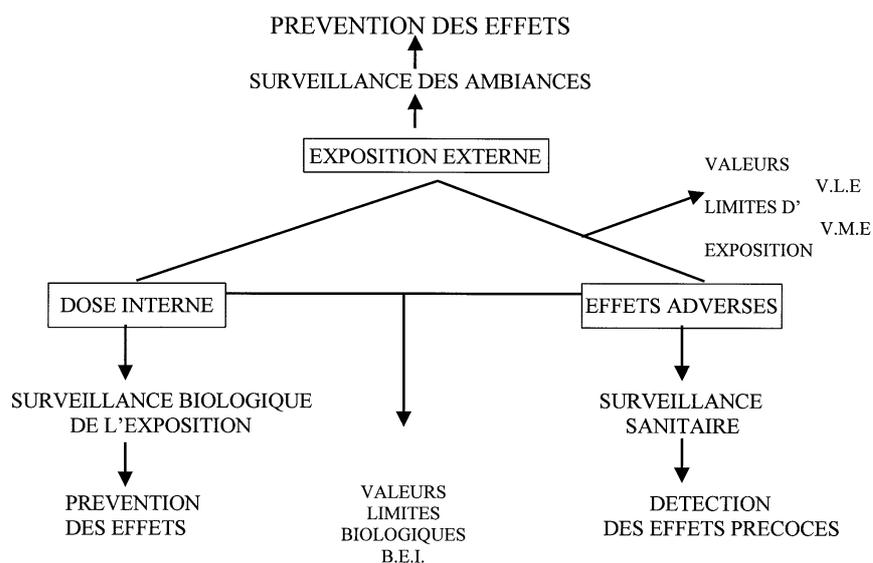


Figure 2

Schéma des relations doses-effets.

La surveillance biologique de l'exposition

La dose interne est une valeur très importante car elle permet d'une part l'identification du toxique et d'autre part elle donne accès à une quantification, qu'il faut néanmoins relativiser en fonction de la demi-vie dans le milieu prélevé. Cette dose interne n'est pas toujours accessible, en particulier pour certains toxiques tels que l'ozone, les oxydes d'azote, le chlore, qui agissent directement au contact de la muqueuse respiratoire et qui sont éventuellement transformés en composés tels que les chlorures pour le Cl_2 qui n'ont plus aucune spécificité. Dans ces conditions, seules les relations doses externes-effets adverses peuvent être étudiées, sans passer par la dose interne.

La dose interne est la quantité de produit chimique récemment absorbée, mais peut-être aussi la quantité de produit stocké dans un ou plusieurs compartiments de l'organisme ou lié à la cible moléculaire. Dans ce dernier cas, on a la dose biologique effective.

Les tests utilisés dans la surveillance biologique des expositions font appel de préférence à des tests sélectifs qui permettent de doser un produit chimique ou un métabolite spécifique comme c'est le cas pour les métaux et les solvants. Les tests non sélectifs tels que les thioéthers urinaires qui mesurent tous les métabolites soufrés aussi bien d'origine environnementale, médicamenteuse ou alimentaire sont à éviter. Dans la réglementation française, le dépistage de l'exposition aux amines aromatiques cancérigènes est effectué avec la réaction de Bratton-Marshall mise au point en 1937... pour les sulfamides !

Biomarqueurs en toxicologie

L'utilisation de dosages de mercure dans les fragments de 1 cm de cheveux a permis d'obtenir des renseignements précieux sur l'exposition passée de mères exposées au cours de la grossesse lors des accidents collectifs survenus en Irak (fig. 3) en 1972 et de la mettre en relation avec la survenue de malformations congénitales (AMIN-ZAKI *et al.*, 1976).

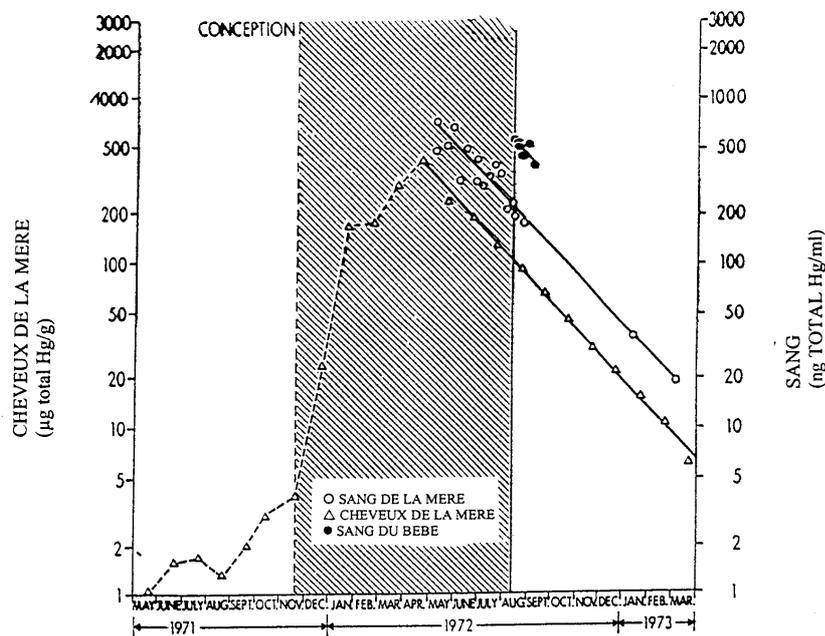


Figure 3

Concentration de mercure total dans des fragments de cheveux maternels et du sang maternel et de nouveau-né (d'après AMIN-ZAKI *et al.*, 1976).

Il importe dans les expositions humaines de bien différencier les formes toxiques des autres sans effet. Ainsi le dosage de l'arsenic total dans les urines est inutilisable pour évaluer le risque d'exposition car il est surtout influencé par l'arsenic d'origine alimentaire qui est éliminé sans qu'il puisse agir. Il importe alors de doser les formes toxiques minérales As^{3+} , As^{5+} ainsi que les métabolites méthylés que sont les acides mono et di-méthyl arséniques. Un autre exemple concerne les amines aromatiques urinaires : dans leur métabolisme (fig. 4), elles peuvent être transformées en dérivés acétylés, sulfo-conjugués ou glucurono-conjugués. Sous cette forme, elles ne sont pas cancérogènes. Pour exercer leur action, il faut une hydrolyse de la conjugaison qui conduit à la libération de l'amine libre qui sera ensuite transformée en ion nitrénium qui se fixera sur les constituants de l'ADN des cellules vésicales : il faut donc doser les amines libres pour évaluer le risque cancérogène, les amines aromatiques totales permettant néanmoins de faire la relation avec la dose externe.

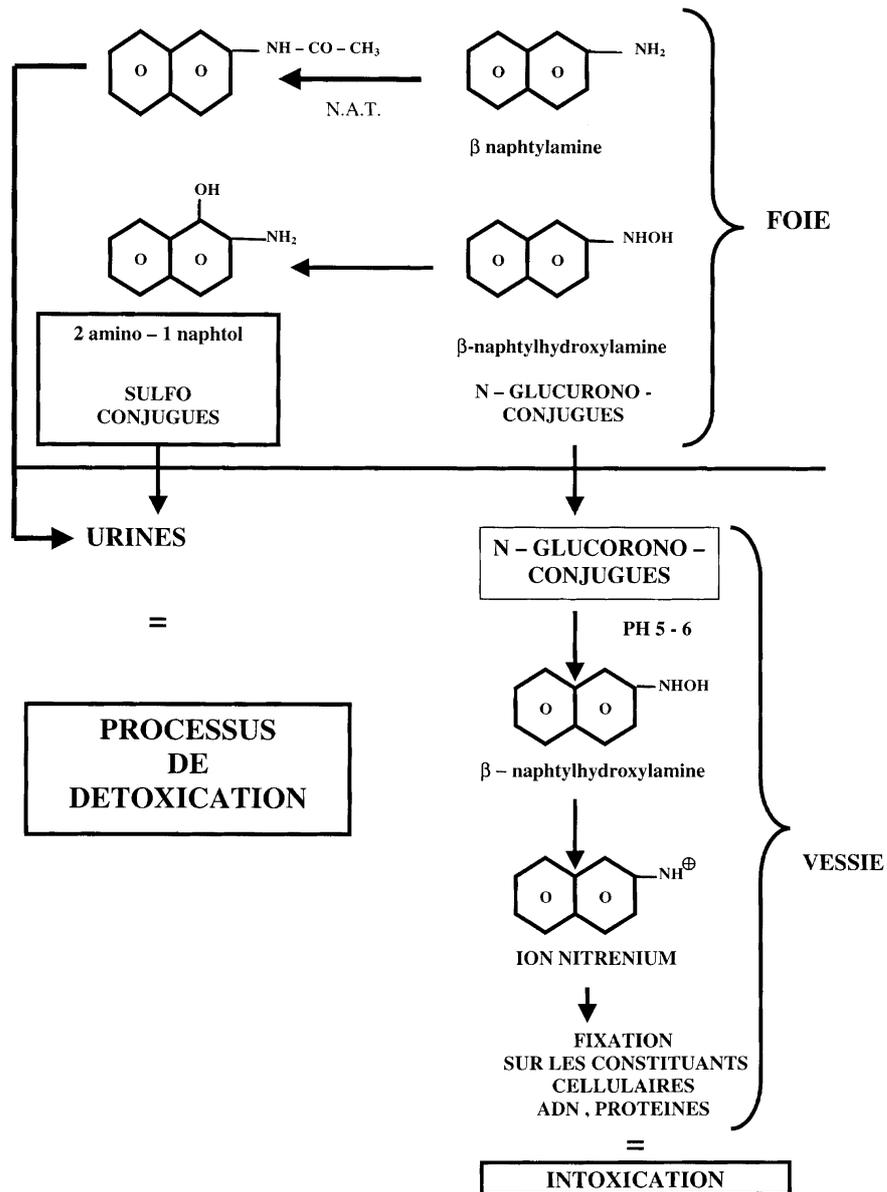


Figure 4

Schéma du métabolisme de la bêta-naphtylamine.

Biomarqueurs en toxicologie

La connaissance du métabolisme des toxiques permet de définir les métabolites utilisables dans la surveillance biologique, mais cette utilisation est liée à la spécificité du métabolite ou encore à la méthode analytique choisie. Ainsi dans le cas du benzène, le métabolite majeur urinaire est le phénol. Si les expositions sont particulièrement élevées comme ce fut le cas il y a vingt ou trente ans, son dosage pouvait être justifié car les taux observés dans les populations exposées étaient significativement supérieurs à ceux de populations témoins, à condition d'utiliser une méthode en CPG ou HPLC car les méthodes colorimétriques dosant la fonction phénol, dosaient en même temps tous les métabolites médicamenteux ou les additifs alimentaires. Aujourd'hui les expositions sont plus faibles et les différences entre les taux de phénol des exposés et des témoins ne sont plus significatives. On utilise donc un métabolite urinaire plus spécifique, l'acide trans-trans muconique, mais il ne représente que 1% environ des métabolites, il y a donc une perte de sensibilité.

L'interprétation des résultats doit aussi tenir compte des interférences dans le métabolisme des toxiques, au premier rang desquelles, on trouve l'imprégnation éthylique. Ainsi, dans le cas d'une exposition au toluène, le métabolisme conduit à la formation d'alcool benzylique puis de l'aldéhyde et de l'acide correspondant (fig. 5). En cas d'imprégnation éthylique, la métabolisation de l'éthanol se fait par l'intermédiaire de l'alcool déshydrogénase, enzyme non inductible qui métabolise également l'alcool benzylique provenant du toluène. Il y a donc compétition pour l'enzyme qui se fait au bénéfice de l'éthanol qui a une affinité plus forte que l'alcool benzylique. Ceci se traduit par un ralentissement de la métabolisation du toluène et par une diminution importante des taux urinaires d'acide benzoïque et d'acide hippurique, ce qui se traduit par une sous-évaluation de la dose interne de toluène.

Ces interactions sont parfois surprenantes. Dans le cas du bromo-benzène, l'exposition concomitante au 3 méthylcholanthrène conduit à la formation du dérivé 2,3-époxy qui n'est pas hépatotoxique. Par contre, la prise de barbituriques conduit au 3,4-époxy qui est hépatotoxique. Il faut donc tenir compte de ces particularités pour choisir les métabolites représentatifs des doses internes et qui sont en relation avec les effets toxiques.

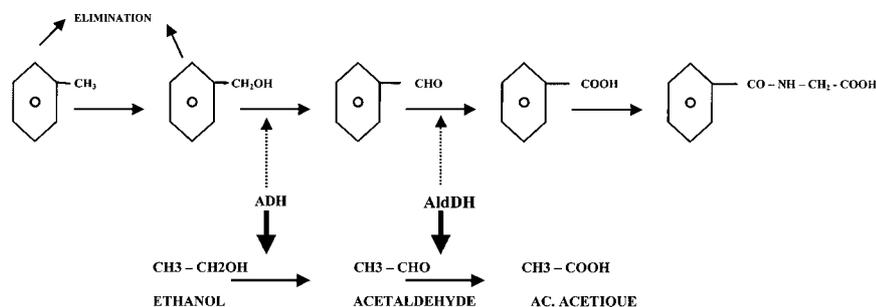


Figure 5

Interactions entre les métabolismes du toluène et de l'éthanol.

La plus grande affinité de l'Alcool Déshydrogénase ADH pour l'Éthanol diminue la métabolisation de l'alcool benzylique. Il en est de même pour l'Aldéhyde Déshydrogénase AldDH.

Le cas des expositions à des mélanges complexes pose toujours des problèmes de choix. Dans le cas des hydrocarbures aromatiques polycycliques (fig. 6), il faut distinguer ceux qui sont cancérogènes, par exemple, le benzo (a) pyrène, et ceux qui ne le sont pas, par exemple le pyrène ou le naphthalène. Au niveau atmosphérique, le dosage ne porte pas sur l'ensemble des HAP, au plus sur une vingtaine ou sur les 16 préconisés par l'EPA, plus généralement sur le seul benzo (a) pyrène. Si nous prenons ce dernier comme référence de dose d'exposition, il serait à priori intéressant d'évaluer sa dose interne. Malheureusement son métabolisme conduit à la formation d'adduits sur les protéines et sur les acides nucléiques et les métabolites urinaires sont en quantité négligeable. Le choix du marqueur de dose interne va donc se porter soit sur le dosage des adduits soit sur celui de métabolites urinaires plus abondants provenant d'HAP non cancérogènes. Le dosage des adduits sur l'ADN des globules blancs ou sur l'hémoglobine est une méthode onéreuse, difficile et qui souffre d'une difficulté d'interprétation car le dosage n'est pas réalisé au niveau de l'organe cible qui est essentiellement le poumon. L'alternative est donc le dosage des métabolites d'HAP non cancérogènes, en particulier le 1-hydroxypyrene. Il existe pour les différentes situations d'expositions professionnelles, diverses corrélations entre les taux urinaires de 1-hydroxypyrene (tableau n°1) et les taux atmosphériques et cutanés de pyrène et même de benzo (a) pyrène. Les relations avec les effets ne sont par contre pas encore valides (HAGUENOER *et al.*, soumis).

PRINCIPE DU DOSAGE DU 1-HYDROXYPYRENE URINAIRE (1-HP)

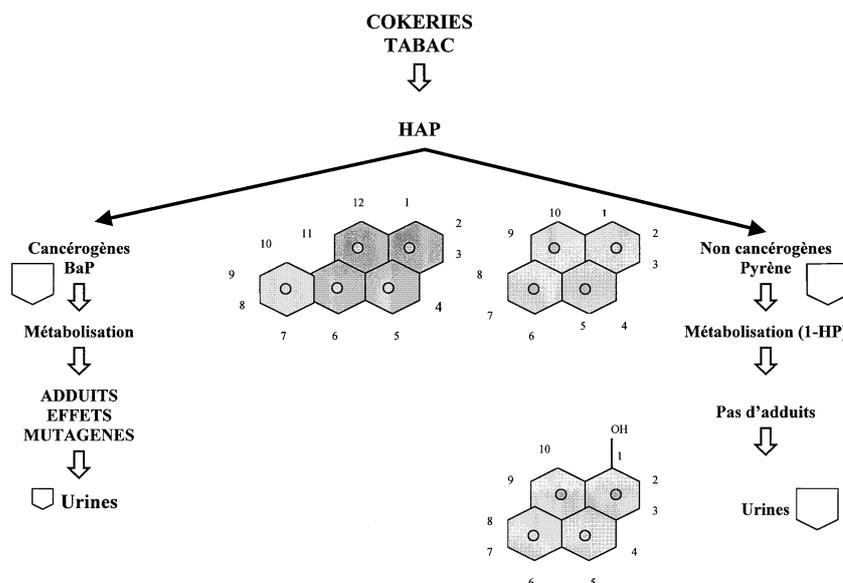


Figure 6

Principe du dosage du 1-hydroxy-pyrène urinaire (1 - HP).

Biomarqueurs en toxicologie

Tableau 1

Concentration du 1 hydroxypyrrène urinaire ($\mu\text{g/g}$ créatinine) chez les cokiers en fonction des groupes d'exposition au benzo(a) pyrène atmosphérique et du tabagisme.

	Groupe BaP	FUMEURS					NON FUMEURS					P
		n	Moyenne	Ecart Type	Mini	Maxi	n	Moyenne	Ecart Type	Mini	Maxi	
DP	1	15	3,08	2,07	0,85	8,30	21	2,78	2,28	0,42	9,07	0,248
	2	16	1,79	2,19	0,15	8,89	19	1,85	1,53	0,11	5,88	
	3	17	2,17	3,21	0,30	12,46	26	1,19	1,00	0,14	3,83	
	4	18	0,82	0,90	0,01	2,54	12	0,57	0,42	0,10	1,49	
				$p < 0,0001$				$p < 0,0001$				
FP	1	15	10,81	11,04	1,19	41,19	21	8,01	7,55	0,84	29,83	0,071
	2	16	4,51	3,29	0,01	10,43	19	2,38	1,55	0,24	6,87	
	3	13	3,44	5,06	0,10	19,11	26	2,09	2,93	0,12	14,07	
				$p < 0,0001$				$p = 0,0003$				

Exposition : 1 - forte, 2 - moyenne, 3 - faible, 4 - témoin

DP : début de poste ; FP : fin de poste

Depuis quelques années se sont développées des études dans lesquelles la surveillance biologique fait appel au dosage des quantités stockées dans l'organisme, en particulier dans le cas des expositions au plomb. En effet environ 95% du plomb de l'organisme est stocké dans les os avec une demi-vie de l'ordre de deux à vingt ans selon les compartiments osseux, le reste étant réparti dans les tissus mous et dans le sang au niveau des hématies avec une demi-vie de vingt à trente jours. La surveillance biologique de l'exposition et le dépistage des individus à risque se fait habituellement à l'aide du dosage sanguin du plomb à partir duquel ont été établies des corrélations avec les effets sur l'organisme. Or il s'est avéré que des individus qui avaient été écartés du risque, ce qui est l'objectif des dépistages, continuaient à souffrir des effets du plomb alors que leur plombémie avait baissé de façon significative. Ces observations sont en fait liées au relargage progressif du plomb osseux dans le sang et les études épidémiologiques ont montré que le plomb dans les os était un meilleur marqueur que le plomb sanguin. Néanmoins, même si le dosage par fluorescence X effectué au niveau des doigts, du tibia, de la rotule ou du calcaneum n'est ni dangereux, ni invasif, l'appareillage est difficilement transportable et ne se prête pas à des investigations de masse. Le dosage du plomb sanguin garde donc toute son utilité.

Les exemples de dosage de marqueurs biologiques qui permettent de doser le toxique sur la molécule cible sont très rares. Outre le dosage des adduits des cancérogènes et mutagènes sur l'ADN sanguin dont nous avons dit qu'ils n'étaient généralement pas au niveau de l'organe cible (BENASSI *et al.*, 1995) nous avons celui de la carboxyhémoglobine qui est le marqueur idéal d'une exposition au monoxyde de carbone. En effet, son mécanisme d'action est le blocage de la captation d'oxygène par l'hème de l'hémoglobine. De tels exemples ne sont pas très fréquents.

Bulletin de la Société zoologique de France 124 (4)

En fait les tests actuellement disponibles pour la surveillance biologique des expositions et qui ont fait l'objet d'une validation concernent un nombre limité de substances, environ 17 métaux et 62 substances organiques, ce qui est vraiment très peu par rapport au nombre des toxiques auxquels l'homme peut être exposé !

La surveillance sanitaire ou surveillance biologique des effets

Cette surveillance sanitaire consiste en la détection d'effets précoces adverses, c'est-à-dire qui incriminent ou qui sont prédictifs soit d'une diminution de capacité de compenser un stress additionnel soit d'une augmentation de la sensibilité à d'autres influences environnementales (HOWE, 1998 ; SCHULTE, 1993 ; STEENLAND *et al.*, 1993).

Cette détection doit être effectuée, de façon idéale, à un stade préclinique, alors qu'une intervention est encore bénéfique et que les effets sont réversibles.

Dans la mesure où les effets concernent les organes cibles, il faut tenir compte du fait que les marqueurs utilisés sont généralement plus spécifiques de l'organe que du toxique, ce qui signifie qu'il existe une grande possibilité d'interférences liées au mode de vie ou aux expositions environnementales qu'il faut toujours envisager pour l'interprétation des résultats.

Ainsi, en milieu professionnel, l'évaluation de l'intensité des effets hépatiques se fait à l'aide des marqueurs biochimiques tels que la Gamma Glutamyl Transpeptidase (GGT), la phosphatase alcaline ou les transaminases pour la surveillance des solvants hépatotoxiques, mais la principale cause de variation du taux de ces enzymes est l'alcoolisme chronique, si bien que le médecin du travail dépiste plus souvent des sujets alcooliques que des sujets exposés à des doses excessives de solvant. Ceci peut être gênant car il faut connaître la part relative des divers types d'exposition dans l'apparition des pathologies hépatiques. Par contre ces mêmes marqueurs hépatiques ne sont pas indiqués pour la surveillance des expositions au mono chlorure de vinyle car ces enzymes sont libérés après lésions de l'hépatocyte et non pas par le tissu vasculaire hépatique qui est la cible des hémangiosarcomes observés après exposition à long terme à ce monomère.

Cette absence de spécificité des marqueurs biochimiques se retrouve également dans la surveillance des effets sur le rein. L'efficacité de la fonction a déjà tendance à diminuer avec l'âge, mais elle peut aussi avoir été altérée au cours de certaines maladies comme le diabète pour ne citer que l'une des plus fréquentes. Les marqueurs généralement utilisés pour suivre les effets glomérulaires sont des protéines urinaires de haut poids moléculaire comme l'albumine ou la transferrine tandis que les effets tubulaires sont évalués par la présence de protéines de faible poids moléculaire comme la beta 2-microglobuline, la Rétinol Binding-protein, la N-Acétyle Glucosaminidase totale ou son isoenzyme B. Des marqueurs de localisation plus spécifique sont en cours de validation tels que la Glutathion-S-transférase alpha dont la libération dans les urines est relatée à des effets tubulaires proximaux alors que la Glutathion-S-Transférase pi est corrélée à une altération des tubules distaux.

L'étude des effets mutagènes va dans le même sens comme le montre l'exemple de la surveillance biologique des ouvriers des cokeries. Exposés à des teneurs généralement élevées d'hydrocarbures aromatiques polycycliques, il pouvait être intéressant

Biomarqueurs en toxicologie

d'évaluer la mutagénicité des urines et son évolution au cours du poste de travail. Dans le tableau n°2, figurent les résultats du test d'Ames effectué avec la souche TA98 sur les urines de début et fin de poste de travail d'ouvriers répartis en fonction des groupes d'exposition et du tabagisme. Ils indiquent une influence prépondérante du tabac sur l'exposition professionnelle qui interdit l'utilisation de ce test dans la surveillance des effets (Haguenoer *et al.*, soumis)

Tableau 2

Nombre de revertants/mg de créatinine dans les urines sur la souche TA 98 en fonction des groupes d'exposition des cokiers au BaP et du tabagisme en début de poste (DP) et fin de poste (FP).

	Groupe BaP	FUMEURS					NON FUMEURS					F/NF
		n	Moyenne	Ecart Type	Mini	Maxi	n	Moyenne	Ecart Type	Mini	Maxi	P
DP	1	60	79,4	84,7	0	421,7	67	8,75		0	108,6	<0,0001
	2	60	123,0	142,8	0	856,4	62	5,69	19,3	0	62,5	
	3	46	88,29	67,2	0	285,4	73	8,87	15,1	0	142,6	
	4	43	131,82	159,4	0	820,1	48	2,02	25,3 8,7	0	52,5	
FP	1	60	131,45	129,5	0	588,3	67	8,86	25,6	0	129,7	<0,0001
	2	60	124,32	127,8	0	733,5	62	15,43	44,7	0	280,7	
	3	46	121,84	109,6	0	355,6	73	14,22	43,5	0	210,2	

Exposition : 1 - forte, 2 - moyenne, 3 - faible, 4 - témoin

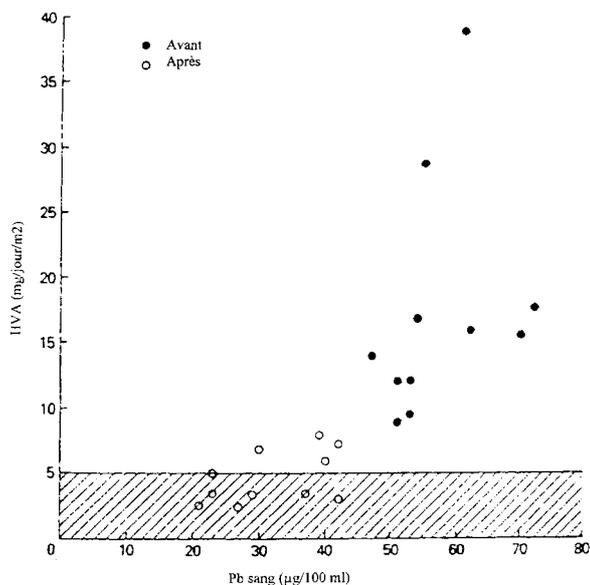


Figure 7

Taux sanguins de plomb et acide homovanillique urinaire (HVA) chez onze enfants, mesurés avant (cercles noirs) et après (cercles blancs) thérapie par chélation. La zone ombrée indique la gamme des valeurs témoins d'HVA urinaire des enfants (d'après SILBERGERD, 1990).

Bulletin de la Société zoologique de France 124 (4)

Parmi les effets du plomb, l'un des plus précoces est l'inhibition du développement du système nerveux central. Les mécanismes d'action passent par l'interaction de ce métal avec les systèmes glutamatergiques et dopaminergiques. Le dosage urinaire du métabolite de la dopamine, l'acide homo-vanillique, a montré qu'il y avait une association entre le taux de cet acide et la plombémie, mais ce qui est particulièrement intéressant c'est qu'une thérapie chélatrice du plomb avec l'EDTA calcique conduit simultanément à une diminution des taux sanguins de plomb et d'acide homo-vanillique urinaire. Dans ces conditions la relation causale entre le marqueur biologique et le toxique est confortée (fig. 7).

Validation des marqueurs biologiques

Tous ces exemples montrent que l'utilisation de marqueurs biologiques qu'ils soient d'exposition ou d'effet est difficile à manipuler et que l'interprétation des résultats individuels nécessite beaucoup de précautions en raison de sources multiples d'exposition et d'effets souvent non spécifiques (SCHULTE & ROTHMAN, 1998). Il est donc indispensable de valider ces marqueurs dans le cadre d'études épidémiologiques. Le schéma de la fig. 8 précise que deux types d'études peuvent être entrepris selon les circonstances. Dans les études « exposés – non exposés », la nature de l'exposition est connue et l'objectif est d'évaluer la réponse d'un marqueur d'effet qu'il soit biologique ou physiologique.

Ce type d'étude permet des relations doses-effets et l'établissement de valeurs biologiques recommandables pour éviter des effets délétères à la population. Ainsi la valeur recommandée pour l'exposition au plomb est de 100 µg Pb par litre de sang, dose

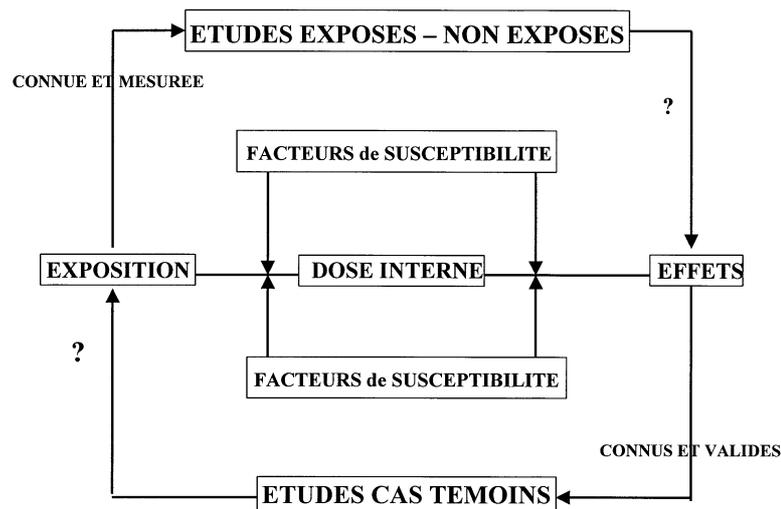


Figure 8

Validation épidémiologique des marqueurs.

Biomarqueurs en toxicologie

à partir de laquelle ont été observés les effets négatifs sur le développement du cerveau des enfants jusqu'à l'âge de 6 ans, qui sont les effets les plus précoces.

Dans les études « cas-témoins », c'est le principe inverse qui est utilisé, à savoir que ce sont les effets qui sont connus et les expositions qui font l'objet de la recherche. Elles peuvent aussi valider la présence de plus fortes prévalences de marqueurs de susceptibilité parmi les cas. Dans les études sur les cancers broncho-pulmonaires, le gène p53 est plus souvent exprimé que chez les contrôles et certains pensent utiliser ce marqueur pour la surveillance des individus exposés à des substances connues pour provoquer ces cancers.

La détection des facteurs de susceptibilité

Il s'agit des indicateurs qui mettent en évidence des différences individuelles ou des populations, ces différences étant génétiques ou acquises. Ces différences conduisent à une augmentation soit de la dose interne, soit de la dose biologique effective, soit encore de la réponse tissulaire aux agents environnementaux.

L'augmentation de la dose interne peut se produire par l'augmentation de l'absorption pulmonaire ou cutanée. Par exemple l'élévation de la fréquence cardio-respiratoire provoquée par une charge physique ou une ambiance thermique peut conduire à doubler la dose absorbée par les poumons ; une expérience a été faite chez les marathoniens ayant couru dans la ville de Tortona, peu polluée par le plomb, et dans la ville de Gênes qui est polluée par rapport à des témoins non coureurs. Les plombémies à la fin des marathons, qui nécessitent un effort cardio-respiratoire prolongé sont passées en moyenne de 80 µg/l à 224 µg/l des témoins aux plus exposés soit 2.8 fois plus. De même des lésions cutanées peuvent augmenter très fortement la pénétration des toxiques.

L'âge est un facteur très important pour un toxique comme le plomb. Les enfants sont beaucoup plus sensibles que les adultes puisque, à dose ingérée identique, le taux d'absorption digestive est cinq fois supérieur. Comme l'élimination est plus faible, le facteur d'accumulation est considérable, de l'ordre de trente fois supérieur à celui des adultes. D'autres facteurs peuvent aussi influencer la dose interne telles que les carences alimentaires, notamment en calcium et en fer. Les plombémies pouvant donc être rapidement élevées chez ces enfants, il est très important de faire en priorité le dépistage des intoxications par le plomb dans ce groupe à risque.

Les états de grossesse présentent des risques particuliers. Toujours dans le cas du plomb, lorsque des jeunes femmes ont été exposées au cours de leur jeunesse, elles ont accumulé des quantités importantes de plomb dans les os. Au cours de la grossesse, au fur et à mesure de l'évolution du système osseux du fœtus, la mère puise le Ca⁺⁺ sur ses réserves osseuses et comme le plomb suit les mouvements du Ca⁺⁺, la plombémie de la mère augmente, le plomb traverse le placenta et s'accumule dans le cerveau et les os du fœtus. Les dosages de plomb sanguin au cordon ombilical sont alors révélateurs des niveaux d'exposition in utero.

En dehors de ces cas de susceptibilité acquise, il existe de nombreux cas de susceptibilité génétique (D'ERRICO *et al.*, 1996). Les cas les plus connus concernent les sujets porteurs de certains gènes intervenant dans la métabolisation des toxiques organiques ; par exemple chez les sujets porteurs du gène CYP 1A1 ou CYP 1A3, il peut se

Bulletin de la Société zoologique de France 124 (4)

produire une plus forte production de métabolite ultime cancérigène, l'époxy-diol-benzo (a) pyrène en cas d'exposition au BaP. En fait, les données épidémiologiques sont contradictoires, certaines études concluent à la plus grande prévalence de cancers pulmonaires chez les porteurs CYP 1A1, d'autres pas. Ces contradictions peuvent s'expliquer par le fait que d'autres enzymes et donc d'autres gènes interviennent dans le métabolisme des HAP, tels que des époxy-hydrolases et les glutathion-S-tranférases et c'est l'ensemble de ces facteurs génétiques qui intervient dans le métabolisme de ces toxiques et dans la fixation du cancérigène ultime sur les bases de l'ADN. Il en est de même pour la plus grande susceptibilité au risque de cancer de la vessie selon les génotypes concernant la N-acétylation des arylamines (HEIN, 1998). Il faudrait donc faire pratiquement l'analyse génétique complète pour évaluer avec plus de certitude le risque individuel, ce qui n'est pas envisageable essentiellement pour des raisons d'éthique médicale. Le développement des marqueurs biologiques ne doit pas avoir des conséquences néfastes pour l'homme et ne pas conduire à des utilisations destinées à une sélection à l'embauche, contraire aux droits de l'homme et du citoyen (SCHULTE & SWEENEY, 1995).

En cas de susceptibilité génétique, il faut agir sur la prévention primaire et faire en sorte de limiter les doses externes.

Conclusion

A l'inverse des études expérimentales qui permettent de produire des connaissances dans des conditions standardisées, dans le domaine de l'évaluation des marqueurs de dose interne ou des marqueurs d'effets, les études chez l'homme sont toujours difficiles en raison de la complexité des situations d'expositions et de la diversité des caractéristiques biologiques et des interférences liées aux comportements. Malgré ces difficultés, le développement des marqueurs biologiques est une réalité. Des progrès considérables liés aux nouvelles technologies font naître chaque année de nouveaux marqueurs en particulier des marqueurs d'effets qui sont en cours de validation comme la protéine CC16 élaborée par les cellules de Clara est émise lors d'agressions chimiques dans la lumière bronchique et dans le sérum. De tels marqueurs pourraient être utilisés dans la surveillance précoce des individus à risque.

Même si la validation des marqueurs au cours des études épidémiologiques a permis d'établir des indices biologiques actuellement utilisés sur le plan réglementaire par les médecins du travail, l'interprétation individuelle des résultats est encore loin d'être validée. Il n'y a pas de modèle humain comme il existe un modèle animal... Heureusement pour l'homme !

Faculté de Pharmacie de Lille, GIP-CERESTE, Université de Lille 2,
1, place de Verdun, 59045 Lille CEDEX.

Biomarqueurs en toxicologie

RÉFÉRENCES

- AMIN-ZAKI, L., BAKIR, F., DAMLUJI, S.-F. & KHALIDI, A. (1976).- An outbreak of organomercury poisoning among Iraqi farmers, *Bull W.H.O.*, **53**, suppl., 23-36.
- BENASSI, S., ABLASSANDOLO, A., CAMURRI, L., DAL PRA, L., DE FERRARI, L., DEGRASSI, F., FORNI, A., LAMBERTI, L., LANDO, C., PADOUANI, P., SBRANA, I., VECCHIO, D. & PUTONI, R. (1995).- Are chromosome aberrations in circulating lymphocytes predictive of future cancer onset in humans ? Preliminary results of an italian cohort study. *Cancer Genetics Cytogenetics*, **79**, 133-135.
- D'ERRICO, A.-E., TAIOLI, E., CHEN, X. & VINEIS, P. (1996).- Genetic metabolic polymorphisms and the risk of cancer : a review of the litterature. *Biomarkers*, **1**, 149-173.
- HAGUENOER J.M., MARZIN D., BOTTA A., MAREZ T., HANNOTIAUX M.H., CARLIER M.C., SHIRALI P., Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons among coke oven workers. Assessment of the mutagenic effects (soumis).
- HEIN D.W. (1998).- Acetylglutathione S-transferase genotype and arylamine – induced carcinogenesis. *Biochim. Biophys. Acta*, **948**, 37-66.
- HOWE G. (1998).- Practical Uses of Biomarkers in population studies, in *Biomarkers : Medical and Workplace Applications*, pp 41-49, Joseph Henry Press, Washington DC.
- SCHULTE P.A. (1993).- A conceptual and historical framework for molecular epidemiology. In *Molecular Epidemiology : principles and practices*. Schulte P. et Perera F.P. ed, Academic Press, New York, pp. 3-44.
- SCHULTE, P.A & ROTHMAN, N. (1998).- Epidemiological validation of biomarkers of early biological effects and susceptibility. In *Biomarkers : Medical and Workplace Applications*, Joseph Henry Press, Washington D.C., 23-32.
- SCHULTE, P.A & SWEENEY, M.H. (1995).- Ethical considerations, confidentiality issues, rights of human subjects and uses of monitoring data in research and regulation. *Environ Health Perspect*, suppl. 3, 69-74.
- STEENLAND, K., TUCKER, J. & SALVAN, A. (1993).- Problems in assessing the relative predictive value of internal markers versus external exposure in chronic disease epidemiology. *Cancer Epidemiol., Biomarkers Prev.*, **2**, 487-491.

(reçu le 11/06/99 ; accepté le 10/08/99)

