

Sous la direction de Xavier Coumoul

Toxicologie

DUNOD

Illustration de couverture : © Cinematographe – Fotolia.com

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



© Dunod, 2017

11, rue Paul Bert, 92240 Malakoff
www.dunod.com

ISBN 978-2-10-076173-9

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

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

Les auteurs

Pascal Andujar

Maître de conférences et praticien hospitalier à l'université Paris-Est Créteil (Paris XII)

Armelle Baeza-Squiban

Professeur des universités en toxicologie environnementale à l'université Paris Diderot (Paris VII)

Robert Barouki

Professeur des universités et praticien hospitalier en toxicologie moléculaire à l'université Paris Descartes (Paris V)

Laurent Bodin

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

Lucie Chevillard

Docteur en toxicologie, maître de conférences en pharmacocinétique à l'université Paris Descartes (Paris V)

Xavier Coumoul

Professeur des universités en toxicologie moléculaire à l'université Paris Descartes (Paris V)

Xavier Declèves

Professeur des universités et praticien hospitalier en pharmaco-toxicologie à l'université Paris Descartes (Paris V)

Robert Garnier

Maître de conférences et praticien hospitalier à l'université Paris Diderot (Paris VII)

Francelyne Marano

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

France Massicot

Maître de conférences émérite à la faculté de pharmacie Paris Descartes (Paris V)

Les auteurs

Jean-Claude Pairon

Professeur des universités et praticien hospitalier à l'université Paris-Est Créteil
(Paris XII)

Avec la collaboration de

Marie-Claude Jaurand, Didier Jean, Jérôme Langrand, Marie-Thérèse Lecam
et Antoine Villa

Table des matières

1	Introduction : sur le chemin d'une nouvelle toxicologie	1
	1. Un peu d'histoire	1
	2. Les scandales sanitaires et l'évolution de la toxicologie	4
	3. Vers une nouvelle toxicologie	5
	3.1 Une toxicologie systémique	6
	3.2 La toxicologie des faibles doses	6
	3.3 La toxicologie des cocktails	6
	3.4 La toxicologie des temps longs	7
	3.5 La toxicologie des cibles vulnérables	8
	4. Conclusion	8
	L'essentiel	9
2	Principales voies d'entrée des toxiques et mécanismes de contamination ou d'absorption	11
	1. Les mécanismes d'échange membranaire	14
	1.1 Les principales phases du devenir d'un xénobiotique au niveau cellulaire	14
	1.2 Les principaux mécanismes de passage des composés à travers des barrières de l'organisme	16
	1.3 Descripteurs physicochimiques du passage membranaire passif des xénobiotiques	17
	1.4 Les mécanismes de transport de composés à travers les membranes biologiques	18
	2. Superfamille des transporteurs SLC : nomenclature, classification, localisation cellulaire et tissulaire, fonctions	19
	3. Superfamille des transporteurs ABC : nomenclature, classification, localisation cellulaire et tissulaire, fonctions	20
	4. Les voies d'exposition	21
	4.1 La voie digestive	21
	4.2 La voie respiratoire : inhalation	23
	4.3 La voie cutanée ou percutanée	27
	L'essentiel	33

3	Distribution des xénobiotiques dans l'organisme	35
1.	Les espaces corporels et physiologiques	36
2.	La partition sang-tissus des xénobiotiques	36
3.	Le volume de distribution d'un xénobiotique	37
4.	Conséquence du volume de distribution sur les paramètres pharmacocinétiques observés	39
5.	Facteurs de variabilité du volume de distribution	40
5.1	Perfusion des organes	40
5.2	Perméabilité membranaire	41
5.3	La liaison aux protéines sanguines et tissulaires	42
6.	Notion de clairance de distribution	43
7.	Les barrières internes de l'organisme	44
	L'essentiel	47
4	Le métabolisme et l'élimination des xénobiotiques	49
1.	Les enzymes de phase I	50
1.1	Les cytochromes P450	50
1.2	Les époxyde hydrolases	53
2.	Les enzymes de phase II	53
2.1	Les glutathion-S-transférases	53
2.2	Les UDP-glucuronosyltransférases	54
2.3	Les sulfotransférases	54
2.4	Les N-acétyltransférases	54
3.	Les transporteurs de phase III	54
4.	Production de métabolites toxiques par le métabolisme des xénobiotiques	55
4.1	L'activité des CYP1 : génératrice de stress oxydant	57
4.2	L'activité des CYP1 : génératrice de métabolites toxiques	58
4.3	L'activité des CYP1 : rôle biologique des molécules « toxiques »	59
5.	Un métabolisme plus ou moins protecteur : l'apport des modèles KO	59
6.	Différences inter-espèces et intra-espèces	61
6.1	Différences intra-espèces	61
6.2	Différences inter-espèces	62
6.3	Les souris « humanisées »	62

7. Quelques exemples d'utilisation	64
7.1 Le métabolisme des amines hétérocycliques	64
7.2 Le métabolisme de la débrisoquine	66

8. Conclusion	67
----------------------	----

L'essentiel	68
--------------------	----

5 Mécanismes d'action et voies de signalisation activées par les toxiques 69

1. Mécanismes généraux modulés par les xénobiotiques	70
---	----

2. Voies de signalisation modulées par la réactivité des xénobiotiques	72
---	----

2.1 Les différentes formes de réactivité	72
--	----

2.2 Le stress oxydant	72
-----------------------	----

2.3 Une voie de signalisation en lien avec le stress oxydant : Nrf2	74
---	----

2.4 L'adductome	75
-----------------	----

3. Voies de signalisation modulées par la liaison à des récepteurs	76
---	----

3.1 Mécanismes généraux activés par les xénobiotiques à la suite de la liaison à une protéine cible	76
---	----

3.2 Mécanismes généraux d'activation des récepteurs de xénobiotiques	77
--	----

3.3 Les différents récepteurs de xénobiotiques	78
--	----

3.4 Perturbation endocrinienne et récepteurs nucléaires	82
---	----

3.5 Des voies de signalisation alternatives	83
---	----

4. Conclusion	84
----------------------	----

L'essentiel	86
--------------------	----

6 Approches méthodologiques 87

1. Modèles <i>in vivo</i> : utilisation des animaux de laboratoire	89
---	----

1.1 Les différents modèles animaux	89
------------------------------------	----

1.2 Les modalités d'exposition : voies et durée/fréquence	89
---	----

1.3 Paramètres toxicologiques étudiés	90
---------------------------------------	----

1.4 Intérêts et limites des études de toxicité chez l'animal	91
--	----

2. Modèles <i>in vitro</i> : utilisation de cultures de cellules	93
---	----

2.1 Types de cellules : cellules primaires – lignées cellulaires	93
--	----

2.2 Méthodes de culture : 2D – 3D – co-cultures	95
---	----

2.3 Paramètres toxicologiques étudiés	96
---------------------------------------	----

2.4 Intérêts et limites des cultures cellulaires	97
--	----

3. Modèles <i>in silico</i> : approche non expérimentale	98
3.1 SAR et QSAR	99
3.2 Les modèles toxicocinétiques classiques et PBPK (<i>Physiology-Based Pharmacokinetics</i>)	99
4. La toxicologie prédictive	104
4.1 Concept d'AOP	104
4.2 Stratégie d'analyses intégrées	105
5. Conclusion	105
L'essentiel	107
7 Pathologies toxiques tumorales	109
1. Introduction	109
2. Cancers liés aux xénobiotiques	117
3. Processus impliqués dans le mécanisme de carcinogénèse	117
3.1 Mécanisme d'action des carcinogènes	117
3.2 Mécanisme de cancérisation des cellules	118
3.3 Association mode d'action et cancer	129
4. Conclusions générales et perspectives	134
L'essentiel	136
8 Pathologies toxiques non tumorales	137
1. Neurotoxicité	138
1.1 Organisation du système nerveux	138
1.2 Méthodes d'étude des effets neurotoxiques	144
1.3 Mécanismes des effets neurotoxiques	147
1.4 Conclusion	155
2. Pneumotoxicité	155
2.1 Rappels anatomiques et histologiques de l'appareil respiratoire chez l'Homme	155
2.2 Physiopathologie des atteintes respiratoires aiguës et subaiguës d'origine toxique	156
2.3 Pathologies respiratoires aiguës d'origine toxique	158
2.4 Pathologies respiratoires chroniques d'origine toxique	169
3. Dermatoxicité	175
3.1 Description anatomique et histologique de la peau	175
3.2 Éléments de toxicocinétique	177

3.3 Méthodes d'études de la toxicité cutanée	177
3.4 Pathologies toxicologiques cutanées non tumorales	179
3.5 Acné	185
3.6 Troubles de la pigmentation	186
3.7 Granulome	186
4. Hématotoxicité	186
4.1 Hématopoïèse	186
4.2 Cellules sanguines circulantes	188
4.3 Hématotoxicité	190
5. Néphrotoxicité	194
5.1 Anatomie et fonctions physiologiques du rein	194
5.2 Évaluation de la fonction rénale	197
5.3 Pathologies rénales d'origine toxique	198
5.4 Conclusion	200
6. Hépatotoxicité	200
6.1 Rappels sur le foie	201
6.2 Principaux types d'atteintes hépatiques	202
6.3 Exemples de substances chimiques hépatotoxiques	205
6.4 Conclusion	207
7. Reprotoxicité et toxicité du développement	207
7.1 Physiologie de la reproduction chez l'Homme	207
7.2 Principaux systèmes hormonaux	208
7.3 Effets toxiques pour la reproduction et le développement	209
7.4 Altération de la fertilité	210
7.5 Effet sur le développement lors d'une exposition à un toxique durant la grossesse	210
7.6 Effets sur le développement consécutifs à une exposition à un toxique durant l'allaitement	212
L'essentiel	213
9 Évaluation du risque et réglementations	215
1. Valeurs de référence hors cadre réglementaire	215
1.1 Identification des dangers	218
1.2 Prise en compte de la sensibilité et de la vulnérabilité	219
1.3 Utilisation des approches QSAR, <i>in silico</i>	219
2. Définition des relations dose-réponse	220
2.1 NOAEL-LOAEL	220
2.2 Benchmark dose	220

3. Réglementations REACH et des produits phytosanitaires et biocides	223
3.1 Valeurs de référence dans le cadre du règlement REACH	224
3.2 Valeurs de référence dans le cadre des réglementations biocides et phytosanitaires	225
4. Conclusion et perspectives	226
4.1 Effet néfaste – gravité de l’effet	226
4.2 Courbes non monotones	226
4.3 VTR interne	227
4.4 Comparaison des différentes valeurs réglementaires <i>versus</i> non réglementaires	227
L’essentiel	228
Sujets de synthèse	229
Bibliographie	241
Index	251

Introduction : sur le chemin d'une nouvelle toxicologie

Introduction

On connaît les poisons depuis la préhistoire, mais il a fallu les scandales sanitaires du 20^{me} siècle et les recherches qu'ils ont suscitées pour que des réglementations de plus en plus contraignantes se mettent en place. Cependant, la prise de conscience des expositions à faible dose à des cocktails de polluants tout au long de la vie, les questionnements sur l'augmentation des maladies chroniques remettent en cause ces réglementations et demandent le développement d'une nouvelle toxicologie, celle de « l'exposome ».

Objectifs

Comprendre l'histoire de la toxicologie.

Analyser l'origine des réglementations au 20^{me} siècle.

Tirer les conséquences de l'évolution des connaissances biologiques.

Développer de nouvelles approches pour la toxicologie prédictive.

Plan

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

1 Un peu d'histoire

La connaissance des poisons et de leurs effets sur l'Homme et les animaux remonte à la plus haute antiquité. Les papyrus égyptiens montrent une grande expertise dans la **science des poisons d'origine animale et végétale**. Le papyrus d'Ebers (Bardinet, 1995), qui date d'environ 3 500 ans, fait état de la toxicité de nombreuses substances naturelles. Il compile plus de sept cents drogues et poisons dont il décrit les effets délétères. Déjà, certains de ces extraits de plantes sont utilisés à des fins thérapeutiques ou contraceptives. Le mot « toxique » est sans doute d'origine grecque, « *toxicon* » désignant les flèches empoisonnées utilisées dans la chasse. Cette pratique existait sans doute dès la préhistoire avec la connaissance de baies toxiques dont les extraits servaient à imprégner

l'extrémité des armes, flèches ou lances. Ces pratiques ancestrales se retrouvent encore chez certaines tribus d'Amérique centrale et de l'Océan indien.

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

Par exemple, **le cuivre** était connu pour certains effets néfastes malgré ses nombreuses vertus. Il fut l'un des premiers métaux utilisés dès la préhistoire et, en alliage avec l'étain, a donné naissance au bronze, lui-même à l'origine d'une révolution technologique caractérisant l'âge de bronze. Les objets de cette période ont été remarquablement conservés : armes, médailles, statues mais également plats et marmites qui étaient utilisés essentiellement pour réchauffer les aliments car les anciens avaient constaté que ceux-ci devenaient toxiques s'ils étaient conservés trop longtemps dans des récipients en cuivre pur. La pratique de l'étamage, c'est-à-dire le traitement de l'intérieur des récipients en cuivre par de l'étain, s'est alors développée jusqu'à maintenant. Mais il a fallu attendre le xx^e siècle pour comprendre que la toxicité du cuivre était associée à ses formes oxydées : vert de gris, oxyde cuivreux, oxyde cuivrique et que l'étamage permettait de les éviter. C'est l'étude scientifique de ses propriétés qui a montré que le cuivre, outre ses remarquables capacités à conduire la chaleur, quand il est dissous dans l'eau devient un puissant antibactérien et antifongique, propriétés utilisées dans la bouillie bordelaise pour le traitement de la vigne et la lutte contre le mildiou. On l'autorise en agriculture biologique à la différence de pesticides « modernes » de synthèse mais, comme tout produit efficace, ici la dose fait le poison et il est nécessaire de ne pas « surtraiter » les vignes sous peine d'accumulation de cuivre dans les sols et de risques pour les espèces animales les plus sensibles. Il a été constaté des intoxications chez les moutons dont les pâturages étaient à proximité de vignobles trop traités. Cet exemple illustre bien le cheminement millénaire qui conduit d'une connaissance empirique, accumulée à travers de très nombreuses observations au cours des temps, à la culture scientifique du xxi^e siècle.

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

Il y a donc eu très tôt dans l'histoire de l'humanité une conscience des effets néfastes de certaines substances naturelles que l'on a appelées poisons et de certains métaux utilisés dès l'âge de bronze mais cette connaissance est restée très longtemps empirique et fragmentaire. Cependant des philosophes, mathématiciens et médecins de l'antiquité

comme Pythagore et Hippocrate ont introduit les **premiers concepts de la toxicologie** en se basant sur l'observation de la relation exposition/effets. Elle est à la base de l'approche scientifique qui se développera deux millénaires plus tard. C'est dans les écrits d'Hippocrate (Maréchaux, 1996) que l'on trouve les premières constatations sur la relation dose-effet, une substance médicinale pouvant devenir un poison en fonction du mode d'administration et de la dose.

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

La compréhension de la relation dose-effet a été déterminante pour le développement de la pharmacologie et de la toxicologie. Ce concept est resté central en toxicologie jusqu'à maintenant et a été largement à la base de la toxicologie réglementaire. C'est son application qui a conduit à définir des doses sans effet et des marges de sécurité pour les médicaments comme pour les produits chimiques environnementaux à partir d'une démarche expérimentale qui s'est développée essentiellement au siècle dernier. Les réglementations élaborées dans la seconde moitié du xx^e siècle reposent sur ce concept. Cependant, à la différence des observations ponctuelles sur des effets bénéfiques ou adverses après administration volontaire ou intoxication chez l'Homme, telles qu'elles apparaissaient dans les textes anciens, c'est dans le cadre de **protocoles établis scientifiquement** dans les laboratoires de recherche que la toxicologie moderne s'est développée (Marano *et al.*, 2011), en bénéficiant des avancées de la physiologie puis de la biologie cellulaire et du développement des outils expérimentaux de la recherche fondamentale, en particulier ces dernières années avec le développement de l'approche « omique ». Des règlements et des directives nationaux et internationaux se sont succédé au cours des cinquante dernières années, obligeant les industriels du médicament, des produits chimiques dont les pesticides et les biocides, à tester la toxicité de leurs produits avant de les mettre sur le marché. Les essais préconisés sont encore largement fondés sur la relation dose-effet, qui a été récemment remise en cause à partir des publications sur certains contaminants chimiques environnementaux comme nous le verrons plus loin.

2 Les scandales sanitaires et l'évolution de la toxicologie

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

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

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

associée aux dérives de l'industrialisation ? A-t-on actuellement les données objectives qui permettent de répondre à cette question qui fait l'objet de vives controverses entre experts ? La toxicologie, associée à l'épidémiologie et à l'expologie, est ici en première ligne pour une évaluation des risques protectrice des populations et tout particulièrement des plus vulnérables.

3 Vers une nouvelle toxicologie

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

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

La toxicologie s'oriente actuellement vers la **connaissance la plus fine possible des perturbations induites par les xénobiotiques**. Cette approche implique qu'il ne faut pas se contenter d'une étude classique de toxicité aiguë, sub-chronique et chronique sur des modèles animaux, encore largement préconisée par les règlements européens et internationaux même si des restrictions à leur utilisation s'expriment dans le règlement REACH et s'ils sont interdits par la directive cosmétique. On y intègre actuellement les données obtenues au niveau moléculaire, cellulaire, tissulaire, systémique voire sur une population afin de déterminer les étapes clés d'une AOP. On y décrit, lorsque c'est possible, les interactions moléculaires sur le site d'action, la cascade des réactions produites au niveau des cellules cibles qui peut différer en fonction de leur différenciation, et les perturbations induites au niveau de l'organe et de l'organisme en identifiant à chaque fois les étapes critiques menant à l'effet toxique final (Troise, 2016). Ainsi, le développement des AOP en toxicologie vise à augmenter la prédictivité d'effets adverses, à déterminer des « familles » de xénobiotiques ayant des mécanismes d'action proches voire similaires et à déterminer à partir d'une base scientifique les tests nécessaires chez l'animal. Il doit également conduire à des stratégies de tests intégrés et d'évaluation IATA. Celles-ci, à terme, devraient remplacer les batteries de tests prédéfinies de la

réglementation actuelle par une approche « à la carte » reposant sur les connaissances développées sur des familles de molécules ayant des mécanismes d'action équivalents. Cette nouvelle toxicologie qui se développe sous nos yeux se caractérise par un certain nombre de notions fondamentales.

3.1 Une toxicologie systémique

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

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

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

3.2 La toxicologie des faibles doses

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

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

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

3.3 La toxicologie des cocktails

Nous sommes exposés chaque jour à travers notre alimentation, l'air que nous respirons, nos produits cosmétiques, à une multitude de produits chimiques auxquels il faut ajouter

les expositions physiques de notre environnement. Cette **exposition chronique à une multitude de substances présentes chacune à faible dose** est connue sous le nom d'effet « cocktail ».

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

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

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

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

3.4 La toxicologie des temps longs

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

La **compréhension des mécanismes de toxicité à long terme**, qui reste très parcellaire aujourd'hui, est sans doute nécessaire. Il est clair que l'épigénétique avec les modifications héréditaires des modes d'expression génique qu'elle implique, peut apporter une réponse partielle. Une autre notion soulevée par l'analyse des effets à long terme est que les mécanismes adaptatifs ou systèmes de détoxication qui sont essentiels à la survie des organismes vivants sont en partie responsables des phénomènes toxiques (Barouki, 2010). Il est donc difficile de séparer des réponses dites « adaptatives » de réponses « toxiques ». En effet, une réponse biologique qui nous permet de survivre à une exposition aiguë peut, si elle est répétée sur le long terme, être à l'origine de toxicité chronique.

3.5 La toxicologie des cibles vulnérables

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

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

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

4 Conclusion

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

Les points clefs du chapitre

- 1 L'histoire de la toxicologie débute avec la découverte des poisons animaux et végétaux mais ce sont les scandales sanitaires du 20^{me} siècle, thalidomide, amiante, méthylmercure entre autres et les changements sociétaux qui ont été à l'origine des réglementations actuelles.
- 2 Les réglementations actuelles ont apporté un grand nombre de données basées sur le dogme de la relation dose-effet.
- 3 Les avancées des connaissances fondamentales en biologie et la découverte des effets des faibles doses et des « fenêtres d'exposition » avec la perturbation endocrinienne ont modifié considérablement les approches modernes de la toxicologie.
- 4 Elle doit maintenant s'orienter vers une toxicologie systémique qui inclue l'ensemble des perturbations d'un organisme en réponse à son environnement.