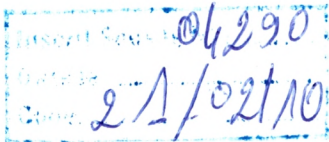


RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
UNIVERSITÉ ABOUBEKR BELKAID TLEMCEM  
FACULTÉ DES SCIENCES  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE



Laboratoire :  
TOXICOMED

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de

DOCTORAT

En biologie cellulaire et moléculaire

par

M<sup>me</sup> HADDAM Nahida



Thème

Etude des marqueurs de toxicité respiratoire et rénale chez  
des ouvriers d'une usine d'électrolyse de zinc

Soutenu le :

Devant le jury suivant :

Présidente : M<sup>me</sup> Merzouk Haféda

Professeur, Université Tlemcen

Directeur de thèse : M<sup>r</sup> Taleb Abdesselem

Professeur, Université Tlemcen

Examineurs :

M<sup>r</sup> Chaabane Sari Daoudi

Professeur, Université Tlemcen

M<sup>r</sup> Mohammed Brahim Brahim

Professeur, ASTI (Toulouse)

M<sup>r</sup> Alfred Bernard

Professeur, Université Catholique  
de Louvain (Bruxelles)

M<sup>r</sup> Haddar Mustapha

Professeur, Université Alger

Année Universitaire : 2009- 2010

*« Et le chemin est long du projet à La chose »*

*Molière*

## REMERCIEMENTS

*A tous ceux qui m'ont accompagné par leur soutien affectif, moral, par leurs encouragements tout au long de ce travail.*

*A toute l'équipe du centre de toxicologie industrielle de l'UCL, pour tous les sentiments très précieux qu'ils m'ont porté pendant mes différents séjours, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude et mon attachement respectueux.*

*A ma chère petite famille.*

# S O M M A I R E

## PREMIERE PARTIE : INTRODUCTION

<b>I- MOTIFS DE L'ÉTUDE</b>	<b>1</b>
-----------------------------	----------

## DEUXIEME PARTIE : REVUE DE LA LITTERATURE

<b>I- LES BIOMARQUEURS</b>	<b>10</b>
I-1 APERÇU SUR LES BIOMARQUEURS	10
I-1-1 Définition d'un Biomarqueur	10
I-2-2 Classification Des Biomarqueurs	10
I-2-3 Intérêt	12
I-2 LES BIOMARQUEURS RENAUUX	12
I-2-1 protéinurie tubulaire et glomérulaire	14
A - Protéinurie de HPM	14
B - Protéinurie de FPM	14
I-2-2 L'approche empreinte	16
I-3 BIOMARQUEURS PULMONAIRES	17
I-3-1 Concept des pneumoprotéines	17
I-3-2 La protéine de la cellule de Clara (CC 16)	17
I-3-3 La SP-D	20
<b>II- TOXICITE DU CADMIUM, PLOMB ET DIOXYDE DE SOUFRE.</b>	<b>24</b>
II-1 TOXICITE DU CADMIUM	24
II-1-1 Exposition et métabolisme	24
II-1-2 Toxicité	26
a- Toxicité aigue	26
b- Toxicité chronique	26
II-1-3 Bio monitoring biologique	30
a- Le Cd Urinaire	31
b- Le Cd sanguin	31
c- Valeurs limites des protéines indicatrices d'effets rénaux	32

## Sommaire

---

II-2 TOXICITE DU PLOMB	33
II-2-1 Métabolisme du plomb	35
II-2-2 Toxicité	36
a- Toxicité aiguë	36
b- Toxicité chronique	36
II-2-3 Bio monitoring biologique	38
a- Le plomb sanguin	39
b- La delta- ala urinaire	39
II-3 TOXICITE DU DIOXYDE DE SOUFRE	41
II-3-1 Caractéristiques, métabolisme et toxicité du dioxyde de soufre :	41
II-3-2 Mécanismes de base de la toxicité au dioxyde de soufre	43
II-3-3 Biomarqueurs d'exposition et d'effet	44
<b>TROISIEME PARTIE : ETUDE DES BIOMARQUEURS PULMONAIRES</b>	
<b>I. BUT</b>	<b>46</b>
<b>II. OBJECTIFS</b>	<b>46</b>
<b>III. POPULATION</b>	<b>46</b>
3-1 Critères d'inclusion	46
3-2 Critères d'exclusion	46
<b>IV – METHODOLOGIE</b>	<b>46</b>
4-1 Enquête initiale	47
4-2 Le questionnaire	47
4-3 Examen clinique	47
4-4 Investigations toxicologiques	48
<b>V- ETUDE STATISTIQUE</b>	<b>52</b>
<b>RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
<b>I-RESULTATS</b>	<b>53</b>
I-1 DESCRIPTION DE L'USINE ALZINC	53
a- Procédé de travail et composition de la blende	53

## Sommaire

---

b- Description des ateliers et postes où réside un risque d'exposition au SO <sub>2</sub>	55
I-2 DESCRIPTION DE L'USINE DE TEXTILE (POPULATION TEMOIN)	59
a- Procédé de travail	59
I-3 CARACTERISTIQUES GENERALES DE LA POPULATION D'ETUDE	62
1-4 STATUT TABAGIQUE DE LA POPULATION D'ETUDE	63
I-5 PARAMETRES D'EXPOSITION INTERNE AU Cd U et Zn U	64
I-6 EXPLORATION DE LA FONCTION PULMONAIRE ET NIVEAUX DES PNEUMOPROTEINES SERIQUES	65
I-7 EVALUATION DE LA RELATION ENTRE PNEUMPROTEINES SERIQUES (ANALYSE BI VARIEE)	67
I-8 EFFETS SO <sub>2</sub> , TABAC SUR LES NIVEAUX DE CC <sub>16</sub> ET INTERACTION ENTRE CES DEUX FACTEURS	67
1-9- INFLUENCE DE L'AGE, ANCIENNETE AU TRAVAIL ET TABAC SUR LES PNEUMOPROTEINES SERIQUES	69
<b>II- DISCUSSION</b>	<b>73</b>

### *CONCLUSION ET PERSPECTIVE*

## **QUATRIEME PARTIE : ETUDE DES BIOMARQUEURS RENAU**

<b>I- BUT</b>	<b>82</b>
<b>II- OBJECTIFS</b>	<b>82</b>
<b>III- METHODOLOGIE</b>	<b>82</b>
3-1 CRITERES D'INCLUSION	82
3-2 CRITERES D'EXCLUSION	82
<b>IV – METHODOLOGIE</b>	<b>83</b>
4-1 ENQUETE INITIALE	83
4-2 QUESTIONNAIRE	83
4-3 EXPLORATION MEDICALE	83
4-4 INVESTIGATION TOXICOLOGIQUE	83
a- Marqueurs d'exposition au plomb, cadmium et zinc	83
a-1 Dosage du cadmium et zinc urinaire par ICP-MS	83
a-2 Dosage du plomb sanguin et cadmium sanguin par absorption atomique	84
a-3 Dosage du delta ala urinaire	86

## Sommaire

---

b- Biomarqueurs d'effets rénaux par LIA	87
b-1 Dosage de la RBP Urinaire	87
b-2 Dosage de la $\alpha$ 1microglobulinurie	87
b-3 Dosage de l'albuminurie	87
c- Dosage de la créatinine urinaire	87
<b>V- ETUDE STATISTIQUE</b>	<b>88</b>
<b><i>RESULTAS ET DISCUSSION</i></b>	
<b>I- RESULTATS</b>	<b>90</b>
I-1 COMPOSITION DE LA BLENDE ET POSTES OU RESIDE UN RISQUE D'EXPOSITION AUX METAUX LOURDS (Pb, Cd)	90
I-2 DESCRIPTION DE LA POPULATION D'ETUDE, ETUDE DE L'EXPOSITION ET DES PARAMETRES D'EFFET	90
a- Description de la population d'étude	93
b- Evaluation de l'exposition professionnelle aux Pb, Cd et de la fonction rénale des ouvriers	93
c- Effet tabac ?	95
I-3 RELATION ENTRE LES MARQUEURS RENAUX ET LES PARAMETRES D'EXPOSITION AUX Cd ET Pb EN FONCTION DU TABAC	96
a- Analyse bi variée	96
b- Régression multiple	102
I-4 ANALYSE DES ASSOCIATIONS ENTRE Cd U ET MARQUEURS D'EFFETS TUBULAIRES	105
<b>II- DISCUSSION</b>	<b>109</b>
<b><i>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</i></b>	
<b>CONCLUSION GENERALE</b>	<b>118</b>
<b>ANNEXE</b>	<b>121</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>134</b>
<b>GLOSSAIRE</b>	<b>151</b>

## ABRÉVIATIONS

$\alpha_1$	: $\alpha_1$ microglobuline ou protéine HC
<b>Ac</b>	: Anticorps
<b>ADN</b>	: Adénine di nucléotide
<b>Ag</b>	: Antigène
<b>Al</b>	: Aluminium
<b>Ala D</b>	: Ala déshydratase
<b>Alb</b>	: Albumine
<b>As</b>	: Arsenic
$\beta_2$ M	: Bêta <sub>2</sub> micro albuminurie
<b>BAL</b>	: liquide broncho alvéolaire
<b>BaO</b>	: Oxyde de baryum
<b>Ca</b>	: Calcium
<b>CAMP</b>	: AM cyclique
<b>CC<sub>16</sub>, CC<sub>10</sub></b>	: Protéine de la cellule de Clara
<b>Cd S</b>	: Cadmium sanguin, Cd B : Blood Cadmium
<b>Cd U</b>	: Cadmium urinaire
<b>Cd</b>	: Cadmium
<b>Cd-Mt</b>	: Cadmium – metallothioneine
<b>CGMP ou C-GMP</b>	
<b>Cl</b>	: Chlore
<b>CNF = CVF</b>	: Capacité vitale forcée
<b>CO</b>	: Monoxyde de carbone
<b>Créat</b>	: Créatinine
<b>Cu</b>	: cuivre
<b>Cu</b>	: Cuivre
<b>CV</b>	: capacité vitale
<b>Delta ala</b>	: delta ala aminolevulinique acide
<b>DL 50</b>	: Dose létale 50
<b>EFR</b>	: Exploration fonctionnelle respiratoire
<b>F</b>	: Fluor



**Fe** : Fer

**FPM** : Faible poids moléculaire

**GBM** : Membrane basale glomérulaire

**Ge** : Géranium

**GFR** : Taux de filtration glomérulaire

**GSH** : Glutathion

**H<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique

**Hg** : Mercure

**HNO<sub>3</sub>** : Acide nitrique

**HPM** : Haut poids moléculaire

**Ig G** : Immunoglobuline G

**LIA** : Latex immuno Assay

**Mg** : Magnésium

**MgO** : Oxyde de magnésium

**Mt** : Metallothioneine

**NAD PH** : Nicotinamide adénine di nucléotide mono phosphate

**NAG** : N acétyle glucosaminidase

**NO** : Monoxyde d'azote

**NS** : Nom significatif

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**PaO<sub>2</sub>** : Pression artérielle de l'oxygène

**P. chaud** : Purification à chaud

**P. froids** : Purification à froid

**Pb** : Plomb

**Pb S** : Plomb sanguin

**RBP** : Protéine transporteuse du rétinol

**S** : Significatif

**SH** : Thiol

**SO<sub>2</sub>** : Dioxyde de Soufre.

**Sp-A** : Protéine A du surfactant

**Sp-B** : Protéine B du surfactant

**Sp.D** : Protéine D du surfactant

**Tg A** : Immunoglobuline A

**TLV** : Concentrations moyennes admissibles

**VEMS** : Volume expiratoire moyen par seconde

**Zn S** : Sulfure Zinc

**Zn** : Zinc

**ZnO** : Oxyde zinc.

**Zn S** : Sulfure de zinc

**Zpp** : protoporphirine de zinc

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1:</b> Biomarqueurs d'effets rénaux applicables aux populations exposées aux substances néphrotoxiques. ....	16
<b>Tableau 2 :</b> Aspects biochimiques de la CC16 .....	18
<b>Tableau 3 :</b> Concentration de la CC16 sérique des sujets en bonne santé, présentant des désordres pulmonaires et exposés à des pneumo-toxiques. ....	19
<b>Tableau 4 :</b> Concentrations de la SP-D dans le BAL des sujets en bonne santé et patients présentant des désordres pulmonaires .....	22
<b>Tableau 5 :</b> Concentrations de la SP-D dans le sérum des sujets en bonne santé et patients présentant des désordres pulmonaires. ....	23
<b>Tableau 6 :</b> Indices de bio monitoring d'exposition et d'effets au cadmium .....	30
<b>Tableau 7 :</b> Interprétation de l'élévation des valeurs de RBP urinaire. ....	33
<b>Tableau 8 :</b> Caractéristiques et métabolisme du plomb .....	35
<b>Tableau 9:</b> Résumé des plus bas niveaux de plomb associés à des effets induits par ce métal chez les adultes .....	37
<b>Tableau 10 :</b> Caractéristiques, métabolisme et toxicité du dioxyde de soufre. ....	41
<b>Tableau 11 :</b> Les effets de santé causés par le dioxyde de soufre, ainsi que les mesures à prendre. ....	42
<b>Tableau 12 :</b> Composition Chimique de la Blende .....	54
<b>Tableau 13:</b> Description des postes de travail de l'atelier grillage et de l'exposition au dioxyde de soufre. ....	55
<b>Tableau 14 :</b> Description des postes de travail de l'atelier lixiviation Purification et de l'exposition au dioxyde de soufre .....	56
<b>Tableau 15 :</b> Description des postes de travail de l'atelier électrolyse et de l'exposition au dioxyde de soufre. ....	57
<b>Tableau 16 :</b> Description des postes de travail de l'atelier refonte de plomb et de l'exposition au dioxyde de soufre. ....	58
<b>Tableau 17 :</b> Caractéristiques de la population d'étude.....	62
<b>Tableau 18 :</b> Statut tabagique de la population d'étude .....	63
<b>Tableau 19 :</b> Description des paramètres d'exposition interne au cadmium et zinc .....	64

<b>Tableau 20 :</b> Tests de la fonction pulmonaire et pneumoprotéines sériques chez les ouvriers de l'usine d'électrolyse de zinc et leurs témoins. ....	65
<b>Tableau 21 :</b> Analyse multivariée par catégorie d'exposition ajustée en fonction du tabac, BMI, Age, Ancienneté, Log ZnU chez les témoins. ....	69
<b>Tableau 22 :</b> Analyse multivariée par catégorie d'exposition ajustée en fonction du tabac, BMI, Age, Ancienneté, Log ZnU chez les exposés à de bas niveaux de SO <sub>2</sub> . ....	70
<b>Tableau 23 :</b> Analyse multivariée par catégorie d'exposition ajustée en fonction du tabac, BMI, Age, Ancienneté, Log ZnU chez les exposés à des niveaux relativement élevé de SO <sub>2</sub> . ....	71
<b>Tableau 24 :</b> Caractéristiques des ouvriers et leurs paramètres biologiques. ....	92
<b>Tableau 25 :</b> Prévalence des valeurs élevées des marqueurs rénaux en fonction de l'usine ....	95
<b>Tableau 26 :</b> Corrélation (coefficient de Pearson) entre les protéines urinaires et leur potentiel prédictif. ....	97
<b>Tableau 27:</b> Protéines prédictives d'effets rénaux (RBP, protéine HC et albumine urinaires) en fonction des différents modèles d'ajustement (ajustement en fonction de la créatinine urinaire et du cadmium) ....	103

## A N N E X E

<b>Tableau 28 :</b> Caractéristiques de la $\alpha 1$ .....	122
<b>Tableau 29 :</b> Caractéristiques de la RBP.....	123
<b>Tableau 30 :</b> Caractéristiques de l'albumine .....	124



## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Biomarqueurs de susceptibilité, d'exposition, d'effets et de maladie .....	11
<b>Figure 2</b> : Cascade d'évènements suivant l'exposition aux substances toxiques environnementales. ....	13
<b>Figure 3</b> : Métabolisme de la CC16. ....	18
<b>Figure 4</b> : Représentation schématique du passage de la CC16 du pompon vers le sang, suivie de son élimination rénale et mécanismes de changements des niveaux sériques de CC16 .....	20
<b>Figure 5</b> : Transport et distribution de cadmium dans le corps. ....	25
<b>Figure 6</b> : Étapes de la technique.....	51
<b>Figure 7</b> : Procédé de travail (Alzinc).....	53
<b>Figure 8</b> : Procédé de travail de l'usine de textile (Mantal ) .....	60
<b>Figure 9</b> : Evaluation de l'effet SO <sub>2</sub> sur les niveaux de CC16 en testant l'effet tabac et une possible interaction. ....	68
<b>Figure 10</b> : Corrélations entre CC16 et ancienneté au travail en fonction de la catégorie tabac.....	72
<b>Figure 11</b> : Corrélations entre les paramètres d'exposition au plomb.....	94
<b>Figure 12</b> : Corrélations entre les paramètres d'exposition .....	99
<b>Figure 13</b> : Corrélations entre Protéine HC, cadmium urinaire et créatinurie.....	101
<b>Figure 14</b> : Illustration des corrélations entre RBP U et Alb U avec Cd U ajusté par la créat urinaire en distinguant les sujets avec Alb U élevée et normale et les sujets avec RBPU élevée et normale .....	106
<b>Figure 15</b> : Comparaison des corrélations entre albuminurie et RBP U et entre cadmiurie et RBP U. ....	108
<b>Figure A</b> : Organisation structurelle du rein .....	125
<b>Figure B</b> : Microscopie électronique d'un glomérule.....	126
<b>Figure C</b> : Structure des tubules. ....	126
<b>Figure D</b> : Le système respiratoire.....	127
<b>Figure E</b> : L'arbre aérien. ....	129

# **PREMIERE PARTIE**

## **INTRODUCTION**

### I- MOTIFS DE L'ÉTUDE

Plus de 60000 produits chimiques sont actuellement utilisés de manière courante à travers le monde. Chaque année, environ 500 nouveaux produits chimiques sont mis sur le marché international. La pollution a accompagné l'avancement technologique. L'industrialisation et la création de larges centres urbains ont conduits à la contamination de l'air, de l'eau et du sol. Les propriétés de ces polluants environnementaux sont très différentes et leurs cibles multiples. Un classement approximatif des polluants peut être fait en allant des plus simples aux plus complexes : métaux dont les métaux lourds (plomb, cadmium), les semi-conducteurs, les radios - éléments... ; les nitrates ; les gaz comme le CO<sub>2</sub> (Effet de serre), le SO<sub>2</sub> ; les solvants ; les hydrocarbures aromatiques polycycliques dont les produits issus de la combustion (industrie, véhicules, foyers domestiques...) ; les organo-halogènes tels que les dioxines ou encore le fréon.

L'évaluation du risque est une prévision, une représentation d'un état futur à partir des informations actuellement disponibles. Le schéma de base d'un modèle prédictif est la chaîne reliant la substance toxique aux effets qu'elle déclenche. Cette opération caractérise d'une part la toxicité du produit (danger qu'on peut substituer, interdire), d'autre part les possibilités de contact avec ce produit (exposition qu'on peut réduire), pour en déduire les impacts potentiels (risque) sur la santé de l'homme et de l'environnement. L'exposition peut être estimée par deux approches complémentaires: d'une part le monitoring atmosphérique et biologique et d'autre part la toxicité qui peut s'exprimer soit sous forme d'une maladie clinique, de troubles fonctionnels asymptomatiques ou de modifications biologiques critiques, c'est-à-dire prédictives d'une altération de la santé si elles persistent. Le dépistage d'effets toxiques correspond à des situations d'exposition insalubres actuelles ou qui ont eu lieu dans le passé, et peut représenter un programme de surveillance médicale pour détecter les altérations précoces de la santé.

Le rein est l'organe le plus sensible aux substances toxiques. Cette grande vulnérabilité est due d'une part à sa fonction de régulation et d'autre part aux volumes et compositions des fluides corporels qui le traversent. En effet, le rein est l'organe qui reçoit la plus grande fraction de fluide sanguin par gramme de poids d'organe : 420 ml/min/100 g, 8 fois plus que le cerveau, 20 fois plus que le foie et 20 à 25 % du débit cardiaque [1]. La région médullaire externe est la partie du rein la plus susceptible aux substances toxiques, du fait d'une activité métabolique intense des tubules proximaux (réabsorption d'environ 70 % des 180 litres

## Introduction

---

d'ultra- filtrat qui passent tous les jours à travers le glomérule). Cette région consomme deux fois plus d'oxygène que le cerveau.

Actuellement, une grande proportion de la population humaine se trouve potentiellement exposée aux produits chimiques néphrotoxiques (usage des drogues, contamination des zones d'habitation, ambiance de travail fortement polluée, empoisonnement accidentel ou intentionnel). Bien souvent, ces sources d'exposition s'entremêlent dans des processus néphrotoxiques aigus ou chroniques. Pour ce qui est du milieu professionnel, il est estimé aux États-Unis que 4 millions de travailleurs sont exposés à des produits chimiques néphrotoxiques [2]. L'incidence annuelle de dysfonctionnement rénal aigu est de 2 pour 100.000 et 20 % sont attribués aux substances toxiques, principalement les drogues [3-4]. En Europe, les données disponibles incriminent l'abus d'analgésiques dans l'origine des processus de dysfonctionnements rénaux. En effet, dans certains pays (Suisse, Belgique), jusqu'à 20 % des patients sous dialyse ont abusé des analgésiques. Seulement, il est important de souligner que 50 % des cas de dysfonctionnement rénal ont une étiologie incertaine [5]. Il est possible que des polluants environnementaux tels que les métaux lourds soient impliqués dans ces processus.

En dépit de leur toxicité qui est reconnue et régulièrement revue par l'OMS, les métaux lourds sont toujours utilisés dans les domaines industriel et agricole. Ainsi, l'exposition aux métaux lourds continue jusqu'à ce jour et peut même augmenter dans quelques régions du monde [6]. La production des métaux lourds a augmenté de façon exponentielle depuis la deuxième moitié du 19<sup>ème</sup> siècle, contaminant l'environnement et donc la chaîne alimentaire. Grâce à une réglementation sévère (qui a concerné surtout le plomb), la production a commencé à décroître dans les pays développés vers la fin du 20<sup>ème</sup> siècle [7]. Les principales voies d'entrée des métaux lourds sont l'inhalation et l'ingestion. En industrie, l'inhalation est la principale voie d'absorption des poussières et fumées de métaux. L'ingestion peut aussi survenir lorsqu'on a de mauvaises habitudes hygiéniques (tabac, manger sur le lieu de travail avec des mains souillées). Des études récentes ont démontré d'ailleurs qu'une cigarette contenait plus de 4000 composés dont 1-2 µg de cadmium et 1 µg de plomb [8]. Ces quantités peuvent encore augmenter dans certaines variétés « light » de cigarettes [9]. Dans la population générale, en plus du tabac, les métaux lourds sont habituellement absorbés par le biais de produits alimentaires ou boissons contaminées. A l'exception du cadmium qu'on ne retrouve que rarement dans la nature et qui a été isolé du minerai de zinc en 1817 (par le chimiste allemand Friedrich Strohmeyer), les métaux comme le plomb ou encore le mercure



## Introduction

---

ont été largement utilisés depuis la préhistoire dans différents domaines principalement dans la synthèse des pigments, peintures, cosmétiques... Leurs différents méfaits incluant une néphrotoxicité commune sont bien connus et d'ailleurs ont été notablement utilisés à des fins criminelles. En plus de leur toxicité commune sur le rein, le plomb et le cadmium ont d'autres propriétés mixtes. Ils ont en effet une grande affinité pour des groupements sulfhydriques (protéines riches en cystéine) et donc pour les aquaporines [10] et pour deux transporteurs de métaux, la métallothionéine (affinité  $Cd > Pb$  [11]) et la glutathion. Ces deux molécules protègent les cellules par séquestration des ions métalliques libres toxiques. Cependant, dès que la capacité de liaison devient saturée, les métaux pourront exercer leurs effets toxiques. Ces effets peuvent avoir un large spectre qui peut aller d'une enzymurie ou protéinurie sub-cliniques à une nécrose tubulaire aigue ou encore un dommage rénal chronique dont le degré d'atteinte dépendra des individus et des conditions d'exposition (dose et durée).

Classiquement, la néphropathie cadmique lors d'une exposition chronique modérée consiste en une tubulopathie proximale engendrant une protéinurie tubulaire caractérisée par une excrétion accrue de protéines de faible poids moléculaires (ex la protéine transporteuse du rétinol, la  $\alpha_1$ -microglobulinurie). D'autres signes peuvent être associés à cette protéinurie : une enzymurie, une aminoacidurie, une glucosurie, une hyper calciurie ou une hyper phosphaturie. A un stade avancé, on peut avoir des troubles de l'acidification ou de concentration des urines, et une insuffisance rénale progressive peut s'installer. Des études effectuées sur des ouvriers exposés au Cd ont montré l'existence d'une autre protéinurie, cette fois-ci de haut poids moléculaire (ex Albuminurie) qui survient isolément ou se superposerait à la protéinurie de faible poids moléculaire. D'autres études effectuées aussi bien sur la population générale que chez les travailleurs ont révélé une certaine réversibilité de la protéinurie tubulaire après arrêt ou réduction de l'exposition au Cd dépendante de l'intensité de cette exposition et du degré d'atteinte tubulaire ( $\beta_2M < 1000 -1500 \mu g/g$  créatinine [12-13]). Des seuils critiques d'imprégnation par le Cd, associés à l'apparition des premières manifestations de néphropathie cadmique ont été proposés mais ne cessent d'être remis en question en fonction des nouvelles données disponibles. Les données recueillies auprès des travailleurs démontrent que les premières manifestations infra cliniques de toxicité tubulaire peuvent survenir avec une probabilité de 10 % lorsque la concentration de cadmium dans le cortex rénal dépasse 140 ppm ou lorsque l'excrétion urinaire du métal excède  $4 \mu g/g$  créat [14]. Une charge corporelle de  $10 \mu g /g$  créat est nécessaire pour une protéinurie tubulaire franche dans une population masculine active. Les revues de la littérature [15-16] et

## Introduction

---

les études épidémiologiques récentes suggèrent que dans la population générale, une concentration urinaire en Cd de 2-2,5  $\mu\text{g/g}$  créat serait déjà associée à des modifications cliniquement significatives de la fonction rénale (protéinurie de faible poids moléculaire et calciurie). D'autres études effectuées en Belgique et en Suède [14-17] ont révélé que des effets portant sur les tubules pourraient avoir lieu à des niveaux de Cd bien plus bas que ceux cités plus haut. En effet, après ajustement par l'âge, une augmentation de la prévalence de la protéinurie tubulaire de 10 % fut enregistrée à la concentration de Cd de 1  $\mu\text{g/g}$  créat [17]. En conclusion, il a été bien établi qu'une exposition importante au Cd induisait des dommages rénaux. L'OMS (1992) a précisé qu'une excrétion de 10  $\mu\text{g/g}$  créat constituait une dose critique limite au dessous de laquelle des dommages rénaux ne pourraient apparaître. Des relations dose-réponse ont aussi été établies pour les basses concentrations (Background environnemental). Les études belges et suédoises ont démontré qu'au sein des populations générales, des concentrations de Cd de 1-2-3  $\mu\text{g/g}$  créat étaient déjà associées à des effets sur la fonction rénale. Ces mêmes travaux ont révélé que dans le background environnemental, les effets tubulaires étaient aussi associés à des effets sur l'os.

Dans le passé, plusieurs cas d'intoxication chronique et/ou aigue au plomb endommageant le rein ont été décrits. En effet, des nécroses tubulaires aiguës ont été enregistrées après absorption d'une importante dose de ce métal [18]. Des cas de dysfonctionnements rénaux chroniques ont aussi été reportés chez des travailleurs professionnellement exposés au Pb. Chez les adultes, suite à une exposition chronique, le plomb entraîne une néphrite tubulo-interstitielle progressive. Les effets rénaux du plomb ont porté sur les cellules du tubule proximal, ce qui explique l'excrétion urinaire de certaines protéines utilisées d'ailleurs comme marqueurs d'effet. En plus, un syndrome de Franconie (protéinurie, amino-acidurie et phosphaturie) a été décrit comme conséquence de l'accumulation du plomb. Ce cumul dans les reins et principalement dans les tubules proximaux peut être associé à la présence d'inclusion intranucléaire formée par la chélation du plomb aux protéines. Ces inclusions disparaissent avec la progression de l'atteinte rénale [19]. La néphropathie induite par le plomb est en général associée à une perturbation de la synthèse de l'hème [18]. Les effets néphrotoxiques sont décrits chez des adultes à partir d'un niveau de 400  $\mu\text{g/l}$  (augmentation de la NAG, [20] avec principalement des effets tubulaires puis une augmentation de la filtration glomérulaire [21-22] (néphropathie saturnine).

En Algérie, un processus rapide d'industrialisation a été lancé durant les décennies 70 et 80. Les priorités gouvernementales étaient la création d'emplois et le développement de tissu

industriel. C'est ainsi que des unités ont été implantées sur des sites faciles à aménager, à proximité des voies de communication, privilégiant souvent la zone littorale [23]. La plupart de ces unités n'ont pas été dotées d'équipements anti-pollution, pour diverses raisons, notamment celles relatives au manque de ressources financières. C'est dans de pareilles circonstances que l'usine d'électrolyse de zinc de Ghazaouet a ouvert ses portes en 1974. Cette entreprise se situe au cœur de la ville, tout près du port. Les rejets atmosphériques générés par l'usine se résument à des gaz contenant du  $N_2$  et du  $SO_2$ . Le débit de ces rejets gazeux est estimé à  $3,3 \times 10^{13} \text{ m}^3/\text{h}$  à une température de  $70^\circ\text{C}$  avec une vitesse d'injection de  $3,3 \text{ m}^3/\text{s}$  [23]. En plus de cette pollution atmosphérique, cette usine est aussi à l'origine d'une pollution marine générée par les déchets solides riches en métaux lourds, provenant des différents ateliers (en particulier celui de la lixiviation). Aussi, la blende ou  $(ZnS)$ , matière première utilisée, est riche en ces éléments qui sont par ordre de prédominance (tableau 12 p47) : le zinc, le fer, le plomb, le cadmium, le cuivre... Rappelons que parmi tous ces éléments métalliques, seuls le plomb et le cadmium sont néphrotoxiques. Le zinc cependant est très peu nocif. Aucune intoxication grave due à cet élément n'a été signalée, mis à part la fièvre des fondeurs qui résulte de l'exposition aux fumées d'oxyde de zinc. Les particules ultrafines de  $ZnO$  sont formées lors du chauffage du zinc au-delà de son point d'ébullition. Les opérations effectuées à Alzinc ne portent le zinc qu'à la température de fusion et ne présentent donc aucun danger à l'égard de cet élément. Après la forte prise de conscience des riverains du risque réel portant sur leur santé, les autorités concernées ont réaménagé le site et ont procédé à la fermeture de l'atelier cadmium (depuis 1999). Les mesures ont calmé la population locale, mais cela est – il suffisant pour amoindrir réellement ce risque sanitaire ? Ce travail tentera d'apporter des éléments de réponses à cette question.

La prévention des atteintes rénales causée par une exposition professionnelle ou environnementale aux substances néphrotoxiques nécessite l'utilisation de tests sensibles capables de détecter les dysfonctionnements rénaux à un stade réversible ou au moins suffisamment non avancés pour entraîner des troubles rénaux progressifs. Le potentiel des biomarqueurs d'effets en épidémiologie réside non seulement dans leur sensibilité mais aussi dans leur spécificité en comparaison à d'autres marqueurs biologiques rénaux classiques. En plus, ils doivent être non invasifs et objectifs (afin de minimiser par ex les biais de participation). Si ces biomarqueurs ne sont pas spécifiques pour un métal donné, ils sont utilisés en association avec d'autres biomarqueurs d'effets ou encore avec des biomarqueurs

## Introduction

---

d'exposition. Les relations Dose/Réponse/Effet doivent être analysées prudemment de façon à éviter les facteurs de confusion, ex : la diurèse, le tabac ou encore les changements dans les niveaux d'exposition. Il est aussi important d'exclure la possibilité d'associations secondaires afin d'être certain que l'exposition au métal est bien la cause de l'effet et pas l'opposé (causalité inversée ou reverse causality) [24]. Un des mécanismes qui sont à l'origine de ce phénomène de « reverse causality » est la co-excrétion du métal comme le cadmium avec les protéines urinaires. En effet, certains métaux dont le cadmium circulent dans le plasma sous forme chélatée à certaines protéines (albumine, métallothionéine). Ces derniers seront donc filtrés par le glomérule et réabsorbés au niveau du tubule tout comme leurs protéines de transport. L'augmentation de l'excrétion urinaire de ces protéines à la suite d'un dysfonctionnement glomérulaire ou tubulaire (diabète...) induira forcément l'augmentation de l'excrétion urinaire du métal [25]. Ce mécanisme de co-excrétion qui a été démontré chez les animaux [26] peut être à l'origine d'une association non causale entre le métal (cadmium) et les protéines dans l'urine. Le moyen pour échapper à ce phénomène de « reverse causality » n'est pas aisé à entreprendre. Une des voies est de vérifier si les associations avec les indicateurs d'exposition mesurés persistent dans les différentes matrices. Dans le cas du cadmium, si les effets de ce dernier sur le rein avec CdU apparaissent même avec le CdS, ceci sera en faveur d'un effet causal. Si au contraire, l'association disparaît et le modèle avec CdS sera différent, cet argument sera plutôt en faveur d'un effet non causal. Dans cette étude, nous avons étudié les associations entre protéines et cadmium en prenant en considération certains facteurs confondants tels que la diurèse, le tabac ou encore la co-excrétion avec l'albumine.

La deuxième partie de notre travail porte sur la toxicité pulmonaire du dioxyde de soufre. Le SO<sub>2</sub> est un gaz incolore avec une odeur piquante. Il est libéré principalement par les fossiles ou encore des fonderies de cuivre ou des usines de production d'acide sulfurique. Cet acide est d'ailleurs connu pour être un irritant de la fonction pulmonaire. Les effets à courts termes du SO<sub>2</sub> sont documentés spécialement par des expériences dans des chambres de contrôle chez des volontaires tout comme dans des études animales. Les effets respiratoires apparaissent rapidement. Ils consistent en des symptômes d'irritation, diminution de la fonction pulmonaire, augmentation de la résistance des voies respiratoires, diminution de la clairance muco-ciliaire et des changements dans la réponse des cellules inflammatoires au niveau du BAL [25-26]. Ces effets respiratoires sont exacerbés par l'exercice physique,

la respiration orale et la co-exposition avec d'autres polluants tels que les microparticules [27-28]. Les asthmatiques sont particulièrement sensibles au SO<sub>2</sub> avec une diminution significative du VEMS à partir des concentrations de 0,5 ppm [29].

Beaucoup moins d'informations sont disponibles pour ce qui est des niveaux de SO<sub>2</sub> causant des effets lors d'une exposition chronique. Les études effectuées principalement dans les années 70 ont prouvé que dans des populations ouvrières exposées à des concentrations relativement élevées en SO<sub>2</sub>, les niveaux de ce gaz entraînant des dommages chroniques sur les voies respiratoires sont incertains et variables. Smith *et al* (1977) [30] ont rapporté une diminution significative du VEMS dans un groupe de 113 travailleurs d'une usine de fonderie de cuivre exposés à une concentration supérieure à 1 ppm de SO<sub>2</sub>. Une plus large étude a été conduite quelques années plus tard dans la même usine, les résultats montrent, par contraste, aucune relation significative entre la diminution de la fonction pulmonaire et l'exposition au SO<sub>2</sub> à une concentration supérieure à 5 ppm et ce, sur les 430 ouvriers consultés [31]. Ces auteurs ont suggéré que les résultats de l'étude de 1977 comportaient un biais relatif à la taille de l'échantillon et une correction inadéquate par rapport à l'âge. Dans une autre étude portant sur 953 ouvriers (fonderie de cuivre), une diminution significative du VEMS et CVF était associée à la durée de l'exposition au SO<sub>2</sub> (supérieure à 20 ans) à une concentration de 0,4 à 3 ppm [32]. La réduction des deux paramètres cités plus haut de la fonction pulmonaire était observée avec l'augmentation de la durée d'exposition chez les fumeurs et non fumeurs, mais n'était pas enregistrée chez les témoins. Cependant, il importe de souligner que ces ouvriers étaient exposés à d'autres polluants atmosphériques tels que l'arsenic. Une étude réalisée sur des ouvriers provenant de deux usines différentes (n = 4506 et n = 4543), exposés à une concentration moyenne de SO<sub>2</sub> variant entre 0,84 et 1,2 ppm, n'a montré aucune diminution des symptômes de la fonction pulmonaire [33]. Parmi les travaux les plus récents, on note l'étude conduite par Osterman *et al* (1989) [34] qui a vérifié la relation entre symptômes respiratoires et exposition au SO<sub>2</sub> chez 145 ouvriers travaillant dans une usine de carbure de silicone avec une exposition moyenne au SO<sub>2</sub> de 1,5 ppm au moins, et parfois avec des pics temporaires de 4 ppm. Ces auteurs ont rapporté une association significative et positive entre l'exposition cumulée, moyenne au SO<sub>2</sub> et les symptômes respiratoires (expectoration, respiration avec sifflement et légère dyspnée). Ce qui est intéressant est l'interaction synergique qui a été retrouvée entre le tabac, l'exposition au SO<sub>2</sub> pour la plupart des symptômes. Cette étude suggère que l'exposition au SO<sub>2</sub> à 1,5 ppm ou moins, peut altérer la fonction pulmonaire alors que les seuils actuels (milieux professionnels) sont de 2 ppm

(ACGIH) [35]. Cette TLV peut être inadéquate pour protéger les ouvriers de cette usine.

Au cours des dernières années, de nouvelles approches ont été développées pour évaluer de manière non invasive les dommages des voies aériennes ou l'inflammation causée par des polluants inhalés. Une telle approche (concept des pneumoprotéines) consiste en la mesure de protéines spécifiques du poumon-plasma (pneumoprotéines) qui représentent le reflet de l'intégrité cellulaire ou de la perméabilité de la barrière broncho alvéolaire [36-37]. Parmi ces protéines, les plus valides pour être les biomarqueurs pulmonaires les plus intéressants sont la protéine de la cellule de Clara (CC16, CC10 ou secrétoglobine 1), une protéine anti-inflammatoire sécrétée (dissimulée) le long de l'arbre trachéobronchial, et la protéine surfactant-associée D (SP-D), qui est sécrétée (dissimulée) par l'épithélium alvéolaire dans le poumon profond. Le but dans cette partie d'étude était d'évaluer si ces deux marqueurs du poumon peuvent être utilisés pour détecter des dégâts des voies aériennes chez des ouvriers chroniquement exposés au  $\text{SO}_2$  dans une usine d'électrolyse de zinc et de production d'acide sulfurique.

**DEUXIEME PARTIE**

**REVUE DE LA LITTERATURE**

## I- LES BIOMARQUEURS

### I-1 APERÇU SUR LES BIOMARQUEURS

#### I-1-1 Définition d'un Biomarqueur

Le terme biomarqueur a été introduit en 1989 [38] comme « paramètre biologique mesurable et quantifiable qui sert en tant qu'indice pour les évaluations physiologiques et de santé ». Depuis, différentes définitions ont été suggérées, comme celle de Van Gestel et Van Brummelen [39], ou de Lagadic [40]. Celle qui est actuellement retenue est une définition établie lors d'un atelier conduit sous la responsabilité du National Institute of Health en 1998 puis en 2001 [41] : « un biomarqueur désigne une caractéristique mesurée objectivement (c'est-à-dire avec une précision et une reproductibilité suffisante) et évaluée comme indicatrice de processus physiologiques normaux ou pathologiques ou de l'action des médicaments ».

#### I-2-2 Classification Des Biomarqueurs

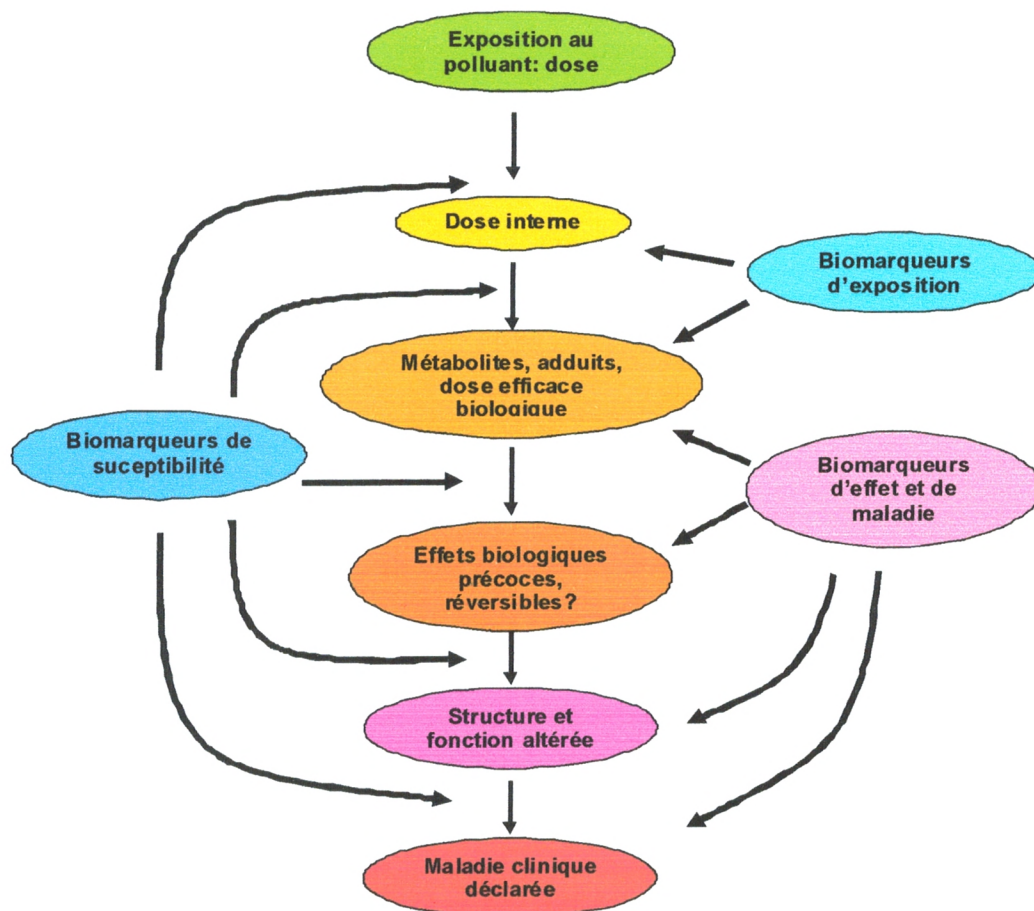
La classification des biomarqueurs diffère en fonction du domaine d'application. En toxicologie, on distingue les biomarqueurs **de susceptibilité, d'exposition et d'effet**.

- *Les biomarqueurs d'exposition (Figure 1)*

Le biomarqueur d'exposition peut être le xénobiotique lui même ou ses métabolites, dans l'organisme, isolé ou associé à un élément de ce dernier. On distingue deux types:

Les biomarqueurs de dose interne, et ceux de dose efficace. *Les biomarqueurs de dose interne* évaluent l'exposition (en cours ou qui a eu lieu dans le passé) et son étendue dans l'organisme en mesurant soit le composé, soit ces métabolites dans les fluides. Exemple : le plomb sanguin, cadmium urinaire et sanguin. De part une variabilité interindividuelle dans l'absorption, distribution et excrétion des substances chimiques, on préfère le dosage du composé ou ses métabolites dans les tissus cibles (*biomarqueurs de dose efficace*). Ex : dosage du plomb dans les os ou encore dosage du cadmium dans le cortex rénal. *Les biomarqueurs de dose efficace* indiquent que le composé ou ses métabolites a atteint une cible critique et a entraîné un effet mais dit non toxicologique.





**Figure 1** : Biomarqueurs de susceptibilité, d'exposition, d'effets et de maladie, entre l'exposition au polluant et la déclaration de la maladie. Les biomarqueurs d'exposition reflétant le composé lui même ou un de ses dérivés, doivent être de bons estimateurs de l'agent polluant étudié. A noter que les facteurs de susceptibilité peuvent influencer chaque étape du spectre du biomarqueur [42].

- **Les biomarqueurs d'effet**

Un biomarqueur d'effet est un composé endogène, mesure d'une capacité fonctionnelle ou encore indicateur d'état ou d'équilibre de l'organisme ou d'un organe modifié par l'exposition. Les biomarqueurs d'effet sont souvent divisés en deux catégories: les marqueurs invasifs, et ceux non invasifs. Les biomarqueurs invasifs sont souvent difficiles à réaliser, particulièrement en routine. Ils couvrent toute une gamme de techniques histo-pathologiques et autres, souvent utilisées *post-mortem*. D'autres biomarqueurs d'effet c'est-à-dire non-invasifs entraînent un changement pathologique, sont plus usuellement utilisés puisque l'échantillonnage est plus facile à réaliser, exemple : le dosage de la NAG urinaire (biomarqueur d'effet rénal) ou encore de la CC16 (biomarqueur d'effet pulmonaire).

- *Les biomarqueurs de susceptibilité*

Ce sont des composés qui traduisent les variations de sensibilité, comme par exemple une diminution de la sensibilité qui est alors appelée résistance. Dans tous les cas, elle concerne surtout des modifications géniques.

### **I-2-3 Intérêt**

Les biomarqueurs sont des outils d'origine biologique permettant de distinguer un état médical normal d'un état pathologique ; il s'agit aussi d'une procédure efficace de diagnostic des manifestations cliniques et infra cliniques.

On distingue différentes finalités ou stades d'intervention possibles des biomarqueurs dans le domaine biomédical :

- **Le diagnostic** : le biomarqueur permet d'identifier la présence d'une maladie;
- **Le pronostic** : le biomarqueur permet de déterminer l'évolution prévisible de la maladie;
- **Le mécanisme** : le biomarqueur rend compte de l'effet observé en aval du médicament (22%);
- **La maladie** : le biomarqueur traduit la conséquence clinique ou la mesure de la maladie (22%) ;
- **L'efficacité** (biomarqueur d'efficacité): le biomarqueur reflète alors le résultat bénéfique du traitement (28%);
- **La toxicité** (biomarqueur de toxicité): le biomarqueur rend compte de l'effet toxicologique du médicament (ou autre) sur les systèmes in vitro et in vivo (20%).
- **Le stade** : le biomarqueur permet de faire la distinction entre les différents stades de la maladie (8%).

## **I-2 LES BIOMARQUEURS RENAUX**

Les produits chimiques peuvent affecter la fonction rénale ou ses structures (voir figures A-B-C-D en glossaire) par toxicité directe, ou par le biais d'effets systémiques variées comme par exemple une hémolyse intra vasculaire, ou un arrêt cardiaque. L'endommagement rénal est progressif, étant silencieux au départ ; puis une cascade d'événements s'en suit, allant du dysfonctionnement à la maladie cliniquement détectable [43] (Figure. 2).



**Figure 2 :** Cascade d'évènements suivant l'exposition aux substances toxiques environnementales. La flèche indique la direction du dommage/maladie rénale. L'effet des néphrotoxiques peut-être divisé arbitrairement en 5 étapes, décrites dans les boîtes centrales. Les rôles potentiels des biomarqueurs à différents niveaux sont indiqués dans les petites boîtes à gauche.

Les effets rénaux peuvent aller d'une enzymurie ou protéinurie infra clinique à une nécrose tubulaire aiguë, ou un dommage rénal chronique suivant les conditions de l'exposition et les propriétés toxicologiques du produit chimique. Ainsi, une batterie assez large de tests caractérisant la présence et le degré d'endommagements néphrotoxiques a été développée dont la protéinurie tubulaire et glomérulaire.

### I-2-1 protéinurie tubulaire et glomérulaire

Dans les conditions normales, la barrière de filtration glomérulaire ne permet pas le passage de protéines de HPM du plasma vers la lumière néphrétique. Dans certains états pathologiques, la perméabilité sélective de la barrière de filtration change et permet ainsi aux protéines de HPM d'apparaître dans l'urine. Quand la capacité de réabsorption de l'épithélium proximal tubulaire est perturbée, des protéines de FPM différentes échappent à la réabsorption et peuvent par conséquent être mesurées dans l'urine.

#### A - Protéinurie de HPM

L'apparition dans l'urine de protéines du sérum avec un poids moléculaire dépassant les 40000 à 50000 daltons est un marqueur précoce de dommage glomérulaire. Une augmentation de protéines de haut poids moléculaire peut être interprétée comme une perte en poly anions glomérulaires (perte en sélectivité de charges), altération structurale non restrictive ou changements hémodynamiques (diminution en vitesse de filtration glomérulaire, augmentation de la pression hydrostatique) [44-47]. Les protéines couramment mesurées sont l'albumine (PM 66438), la transferrine (PM 77000) et l'IgG (PM 146000). Seule la première sera ici brièvement décrite.

\* *Albumine* : D'un point de vue quantitatif, elle est la principale protéine urinaire dérivant du plasma. Sa concentration dans l'urine normale est approximativement 5 fois plus élevée que celle des autres protéines à haut poids moléculaire, et plus de 50 fois plus élevée que celle des protéines à bas poids moléculaire. De part sa taille et sa forte charge négative, l'albumine est retenue de manière efficace par la barrière glomérulaire. Une petite quantité passe néanmoins à travers le filtre glomérulaire et est réabsorbée par le tubule proximal avec une efficacité présumée de 99%. Une albuminurie accrue, voire massive reflète par conséquent un dysfonctionnement glomérulaire [48] (Pour plus de détails, voir le tableau 18 en annexe).

#### B - Protéinurie de FPM

La protéinurie tubulaire est souvent inférieure à 1,0 g/ 24hr et est composée de protéines de FPM. Cette protéinurie peut être due à une diminution de la « consommation » tubulaire de protéines, à une saturation des mécanismes de transport tubulaire, ou encore à une inhibition compétitive de la « consommation » protéique par des agents endogènes ou exogènes [44-47]. Plusieurs protéines apparaissent normalement dans l'urine et sont évaluées comme biomarqueurs potentiels d'effet dans le dommage rénal tubulaire. Entre autre, on retrouve la  $\beta_2$ -microglobuline ( $\beta_2$ -M), la protéine liée au Rétinol (RBP), la  $\alpha_1$ -micro globuline

( $\alpha_1$ ), la protéine 1, l'amylase, le lysozyme, la ribonucléase, la cystatine C ou encore la CC16 protéine de la cellule de Clara. La combinaison de protéines de FPM avec les prostanoides, facteurs de croissance, ou encore avec des enzymes d'origine rénale ou non tel que la NAG, a permis de déterminer des modèles d'excrétion amenant à comprendre le site et mécanisme de lésions néphrotoxiques.

\* **Protéine liée au Rétinol** : Plus connue sous le terme Rétinol-Binding-Protein (RBP), cette protéine est souvent appelée la  $\alpha_2$ -microglobuline. Elle possède un faible poids moléculaire (21400) et a été isolée pour la première fois par Kanai en 1968 [49] à partir du plasma, puis par Peterson et Berggard en 1971 à partir de l'urine [50]. Son rôle consiste à transporter le rétinol du foie vers les cellules épithéliales, suivant un mécanisme bien connu. Après libération du rétinol, la RBP libre est rapidement éliminée du plasma par filtration glomérulaire, puis réabsorbée et catabolisée par les cellules du tubule proximal. La majorité de la RBP urinaire est libre, même chez les patients avec protéinurie massive. La RBP et la  $\beta_2$  M partagent un mécanisme commun concernant leur transport tubulaire. Cependant, la RBP urinaire a plus d'avantages que La  $\beta_2$  M:

- a. Contrairement à la  $\beta_2$  M, la RBP est plus stable dans l'urine acide et ne requiert aucune précaution en ce qui concerne la collection de l'échantillon d'urine.
- b. L'insuffisance rénale est pratiquement le seul état clinique susceptible d'augmenter le taux de RBP libre dans le sérum.

(Pour plus de détails, se référer au tableau 17 en annexe.)

\*  **$\alpha_1$ -Microglobuline** : Aussi appelée protéine HC, cette protéine a été décrite pour la première fois en 1975 [48]. Elle a un poids moléculaire estimé entre 26000 et 33000. Elle est caractérisée par son hétérogénéité électro-phorétique, ainsi que par la présence d'un chromophore marron. Elle est présente dans le sérum et est liée à plusieurs protéines de haut poids moléculaire comme l'Ig A et l'albumine. Le foie est probablement le site principal de synthèse. Mis à part les maladies hépatiques sévères ou la concentration de la  $\alpha_1$ -microglobuline est faible, et les dommages rénaux ou sa concentration est élevée, sa concentration dans le plasma varie peu dans diverses maladies inflammatoires et néoplasiques (Pour plus de détails, se référer au tableau 16 en annexe).

Il existe aussi d'autres biomarqueurs rénaux émergents tels que les antigènes tubulaires, les anticorps de la membrane basale anti-glomérulaire, les composés de la matrice extracellulaire qui comprennent les collagènes, les glycoprotéines, les protéoglycans, les cytokines (les interleukines, interférons, facteurs de nécrose tumoraux, facteurs de croissance

de différents types, et protéine-1 chimio attirante de monocytes (MCP-1)), les facteurs d'activation de plaquettes, qui représentent une famille de phosphocholines produites par des cellules inflammatoires, plaquettes, cellules endothéliales, glomérules isolés,...

### I-2-2 L'approche empreinte

Les néphrotoxiques peuvent affecter un ou plusieurs segments du néphron, tels que le glomérule, le tubule distal ou proximal, l'anse de Henlé, ou l'interstice. Chaque région a ses caractéristiques histologiques et physiologiques. Tout endommagement reflètera un profil caractéristique et particulier en composés et protéines urinaires [51]. Ainsi, pour chaque partie du néphron, correspond des biomarqueurs spécifiques et par conséquent une empreinte spécifique (Tableau 1).

	Origine du biomarqueur	Nom du biomarqueur rénal
Sérum	Marqueurs GFR Marqueurs d'intégrité GBM	Créatinine, $\beta$ 2-microglobuline, Cystatine C anticorps anti-GBM
Urine	Protéines dérivant du plasma : Haut poids moléculaire	Albumine, transferrine, IgG
	Faible poids moléculaire	RBP, $\alpha$ 1microglobuline, CC16, $\alpha$ -amylase, lysozyme
	Composés dérivant du rein : Glomérule	Fibronectine,
	Tubule proximal	Bordure en brosse ex : phosphatases alcalines totale non spécifique, intestinale
	Anse de Henle	Lysosomes : NAG (A, B), cytosol : $\beta$ - galactosidase,
	Tubule distal	Tamm-horsfall, $\Pi$ -glutathione-S-transferase
	Canal collecteur	$\Pi$ -glutathione-S-transferase facteur de croissance épidermique
Autres	acides aminés, protéines totales, glucose, calcium	

**Tableau 1:** Biomarqueurs d'effets rénaux applicables aux populations exposées aux substances néphrotoxiques.

**GFR :** Filtration glomérulaire rénale ; **GBM :** Membrane basale glomérulaire.

### I-3 BIOMARQUEURS PULMONAIRES

#### I-3-1 Concept des pneumoprotéines

Les fluides de passage, qui couvrent l'épithélium de la région nasale et pulmonaire sont la première ligne de défense aux composés inhalés. En effet, l'appareil muco-ciliaire hautement spécifique permet de transporter les particules de poussière de plus de 3 µm de diamètre mais aussi les macrophages remplis de matériaux ingérés de nouveau vers le nasopharynx à une vitesse de 13mm/min. Mis à part les macrophages et les enzymes antibactériennes, les fluides de passage contiennent également des antioxydants comme les S transférase, la Vitamine C, les dismutases de sodium, mais aussi des protéines pulmonaires spécifiques parmi lesquelles la CC16, protéine de la cellule de Clara, des protéines du surfactant SP-A, SP-B, SP-D et différents antigènes associés à la mucine [52]. Ces différents composés de cellules, enzymes, lipides et protéines peuvent en théorie être mesurés dans les fluides de lavage ou même dans l'air expiré. Les lavages broncho alvéolaires sont communément utilisés pour le dosage des protéines secrétées par l'épithélium respiratoire et évaluer la réponse aux polluants mais ces techniques sont compliquées et assez difficiles à réaliser. Ainsi, la découverte de protéines pulmonaires spécifiques passant à travers la barrière alvéolaire et se retrouvant dans le sang à des quantités qui varient en fonction de l'agression toxique a été révolutionnaire. Le concept des pneumo-protéines sériques était né !

En se basant sur la supposition d'une perméabilité épithéliale accrue, permettant la fuite en même temps des protéines vers le sérum et de l'albumine du plasma vers le surfactant, ce concept a été utilisé dans des modèles animaux et humains pour évaluer des effets chroniques et aigus de la pollution de l'air. Par exemple : le tabagisme chronique induit une réduction du nombre de cellules de Clara, une diminution par conséquent de la CC16 et une importante fuite des protéines du surfactant comme la SP-A, ou SP-B dans le sérum du fait que les fonctions alvéolaires serrées entre les pneumocytes s'endommagent [54].

#### I-3-2 La protéine de la cellule de Clara (CC 16)

L'épithélium pulmonaire assure une principale fonction : C'est une barrière protectrice contre l'environnement extérieur, par la production de sécrétions complexes telles que la CC16, SP-A, SP-B, SP-D. La CC16 est la protéine la plus abondamment secrétée par le poumon.



a- Aspects biochimiques

Nom	Cellule de production	Pro-Protéine (kD)	Structure	Hydrophobicité	Point isoélectrique	Fonction
CC16 Ou CC10	Clara (cellule broncho-alvéolaire)	15.840	Quaternaire (deux sous unités de 70 acides aminés)	+	4,6	Immuno supprimeur et anti inflammatoire

Tableau 2 : Aspects biochimiques de la CC16

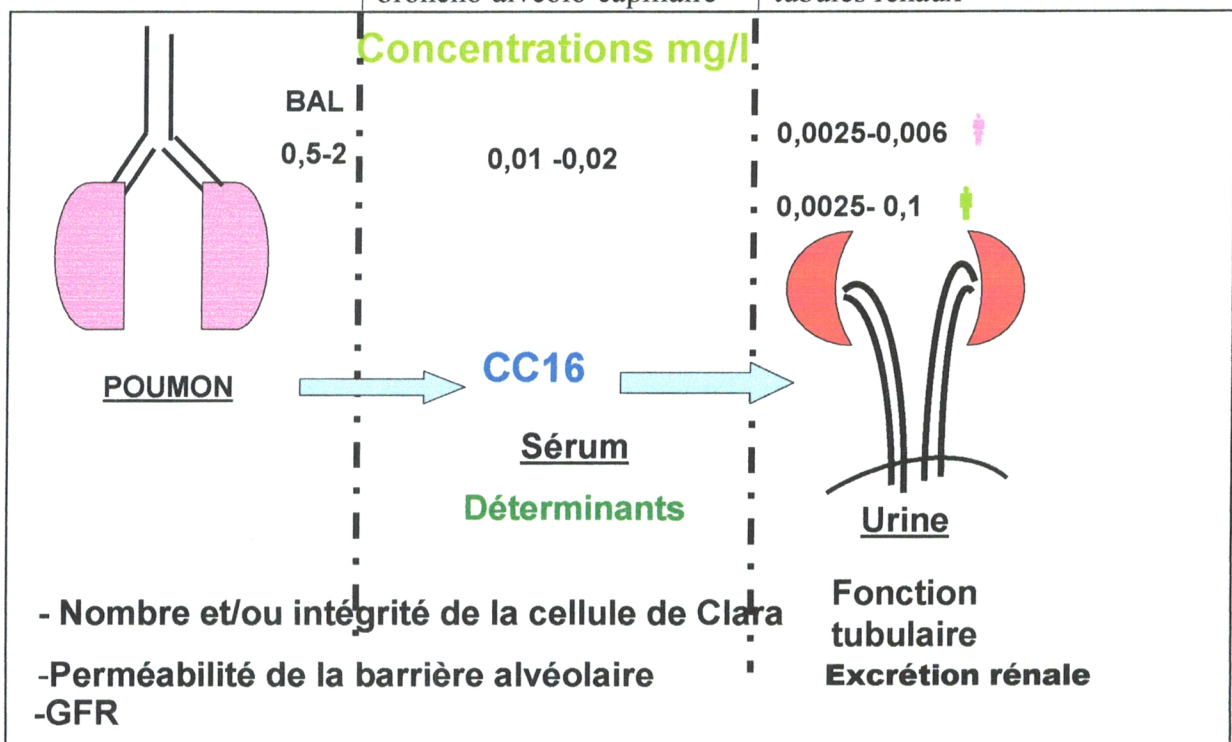
Demi-vie : 18mn

b- Métabolisme :

Sécrétion dans les voies aériennes

Diffusion passive dans le sérum via la membrane broncho-alvéolo-capillaire

Elimination par filtration glomérulaire et réabsorption par les tubules rénaux



Variations si barrière broncho-alvéolo-capillaire endommagée ou si déficience de réabsorption tubulaire

Figure 3 : Métabolisme de la CC16.



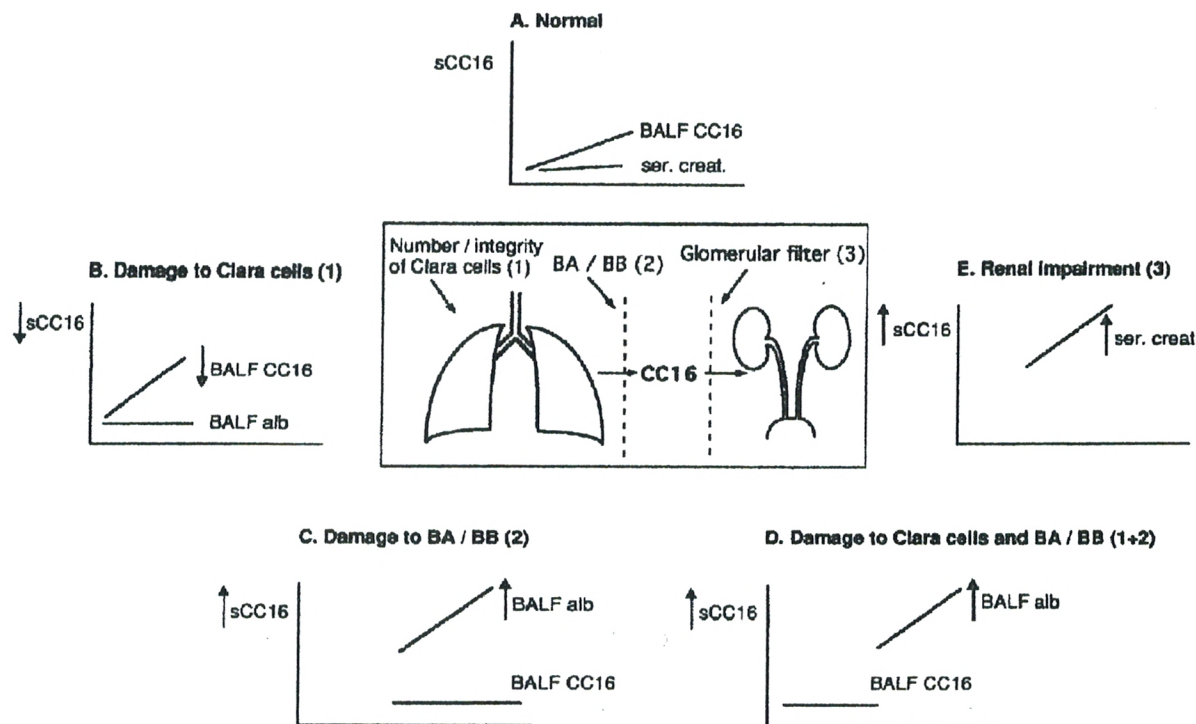
c- Concentrations chez les sujets sains et avec désordres pulmonaires

	Témoins		Patients		Commentaire	P	Références
	n	CC16 µg/l	n	CC16 µg/l			
<b>Sujet en bonne santé</b>							
Males	9	11,8			Pas de différence entre male et femelle	NS	[55]
Femelles	9	13,4					
Males	55	21,7					
Femelles	59	27,9					
<b>Sujets fumeurs</b>	107	11,7	104	7,9	Une baisse de 15% par consommation de 10 paquets / an	S	[56]
	61	16,1	35	11,1		S	[57]
Femelles	75	21	65	15,9		S	[58]
Males	60	23,9	69	15,7		S	[59]
<b>Bronchite chronique</b>	25	20,5	6	9,6	Baisse de la CC16 sérique	S	[60]
<b>Sarcoïdose</b>	25	20,5	17	40,01	Augmentation de la perméabilité de la barrière poumon-sang: Augm. de la CC16 sérique	S	[61]
<b>Cancer du poumon</b>	25	20,5	18	10,5	Baisse de la CC16 sérique	S	[60]
<b>Silicose</b>	86	16,3	86	12,3	Baisse de la CC16 sérique		[62]

P<0.05 : significatif

**Tableau 3:** Concentration de la CC16 sérique des sujets en bonne santé, présentant des désordres pulmonaires et exposés à des pneumo-toxiques.

d- Applications cliniques :



**Figure 4 :** Représentation schématique du passage de la CC16 du pompon vers le sang, suivie de son élimination rénale et mécanismes de changements des niveaux sériques de CC16 dans les situations suivantes: Normale (A), après dommage des cellules de Clara (B), dommage de la barrière bronchoalvéolaire -sang (BA-BB) (C), dommage des cellules de Clara et en même temps du BA-BB(C, D). Avec albumine dans le BAL (C, D) et créatinine sérique (E). Ce diagramme est basé sur des modèles d'observations humains et animaux de dommages rénaux et pulmonaires. [52]

### I-3-3 La SP-D

#### a- Caractéristiques biochimiques

La SP-D est une grande protéine multimérique, hydrosoluble, avec une organisation structurale semblable à celle de la SP-A [63-65]. A maturité, la SP-D se compose de 4 sous unités, constituées chacune d'elles de 3 polypeptides identiques d'environ 43 kD [64-68]. La SP-D est codée par un gène localisé sur le chromosome 10, à proximité des gènes codant pour la SP-A et la protéine liée au mannose (MBP) [69,70]. Les études immunohistochimiques ont localisé la SP-D au niveau des cellules de type alvéolaire II [71]. Même, si le poumon apparaît comme principal organe de synthèse de la SP-D, son expression n'est pas limitée à la région respiratoire. Des transcriptions de SP-D ont été détectées par PCR-RT dans des organes extra - pulmonaires humains (estomac, intestin grêle et colon [72] mais pas au cœur [73]).

Les propriétés fonctionnelles de la SP-D dans le système en tant qu'agent tensioactif n'ont pas été entièrement élucidées, mais la SP-D apparemment ne contribue pas aux propriétés tensioactives du complexe [67]. Les analogies structurales avec d'autres protéines (SP-A) suggèrent que la SP-D joue un rôle dans la défense locale du poumon en fonctionnant comme opsonine [74-76].



## Revue de littérature

### b- Concentrations de la SP-D dans le fluide broncho-alvéolaire :

	Contrôles		Patients		Commentaires	Signification Statistique	Référence No.
	n	(mg/L)	n	(mg/L)			
		Moyenne ± ES		Moyenne ± ES			
SP-D							
protéinose Alvéolaire	28	0.9 ± 0.13	9	19.3 ± 9.3		S	[77]
Tabac	12	1.3 ± 0.2	8	0.5 ± 0.1		S	[78]
Sarcoïdose	28	0.9 ± 0.13	60	0.9 ± 0.08		NS	[77]
Fibrose pulmonaire	28	0.9 ± 0.13	7	0.6 ± 0.16	avec maladie colla génique	NS	[77]
			33	0.6 ± 0.06	fibrose Idiopathique	NS	[77]

**Tableau 4 :** Concentrations de la SP-D dans le BAL des sujets en bonne santé et patients présentant des désordres pulmonaires SP-D dans le liquide broncho – alvéolaire : (0,88 ± 0,13) mg/l

## Revue de littérature

### c- Concentrations de la SP-D dans les fluides extra-pulmonaires (sérum) :

	n	Contrôles ( $\mu\text{g/L}$ ) Moyenne $\pm$ ES	n	Patients ( $\mu\text{g/L}$ ) Moyenne $\pm$ ES	Commentaire	Signification Statistique	Référence No.
SP-D							
Enfants en bonne santé	17	79 $\pm$ 13			0-2 mois-enfants de	NS	[77-79]
	27	55 $\pm$ 9			2-11 mois-enfants de	NS	
	51	47 $\pm$ 4			4-6 ans-enfants de	NS	
	28	67 $\pm$ 8			10-12 ans-enfants de	NS	
	31	64 $\pm$ 7			13-18 ans-enfants de	NS	
Adultes	179	66 $\pm$ 3			pas de différence avec les enfants	NS	[80]
Fibrose pulmonaire	179	66 $\pm$ 3	59	339 $\pm$ 38		S	[77]
	145	98	143	391		S	[77]
	179	66 $\pm$ 3	16	472 $\pm$ 144	avec maladie vasculaire colla génique	S	[77]
Protéinoase alvéolaire	179	66 $\pm$ 3	8	461 $\pm$ 148		S	[77]
Tuberculose	179	66 $\pm$ 3	24	119 $\pm$ 20		S	[77]
Sarcoïdose	179	66 $\pm$ 3	32	104 $\pm$ 15		S	[77]
Asthme	179	66 $\pm$ 3	28	59 $\pm$ 6		NS	[77]
Pneumonie bactérienne	179	66 $\pm$ 3	11	82 $\pm$ 18		NS	[77]
Emphysème	179	66 $\pm$ 3	14	81 $\pm$ 18		NS	[77]
Bronchiectasies	179	66 $\pm$ 3	6	91 $\pm$ 14		NS	[77]
Bronchiolite	179	66 $\pm$ 3	6	89 $\pm$ 15		NS	[77]

**Tableau 5 :** Concentrations de la SP-D dans le sérum des sujets en bonne santé et patients présentant des désordres pulmonaires.

SP-D sérique : (60  $\pm$  3)  $\mu\text{g/l}$

## II- TOXICITE DU CADMIUM, PLOMB ET DIOXYDE DE SOUFRE.

### II-1 TOXICITE DU CADMIUM

Le cadmium fut découvert en 1817 en Allemagne. La production industrielle du cadmium a débuté en 1842, mais ne pris réellement son essor qu'au début du 20<sup>ème</sup> siècle. Alors que la toxicité aigue du cadmium fut reconnue dès 1858 [81], l'intoxication chronique ne fut reconnue qu'un siècle plus tard à la suite d'observations faites en France [82] et en Suède [81] chez des travailleurs fabriquant des accumulateurs nickel-cadmium. Ces études ont révélé des troubles importants de la fonction rénale, pulmonaire et du système nerveux.

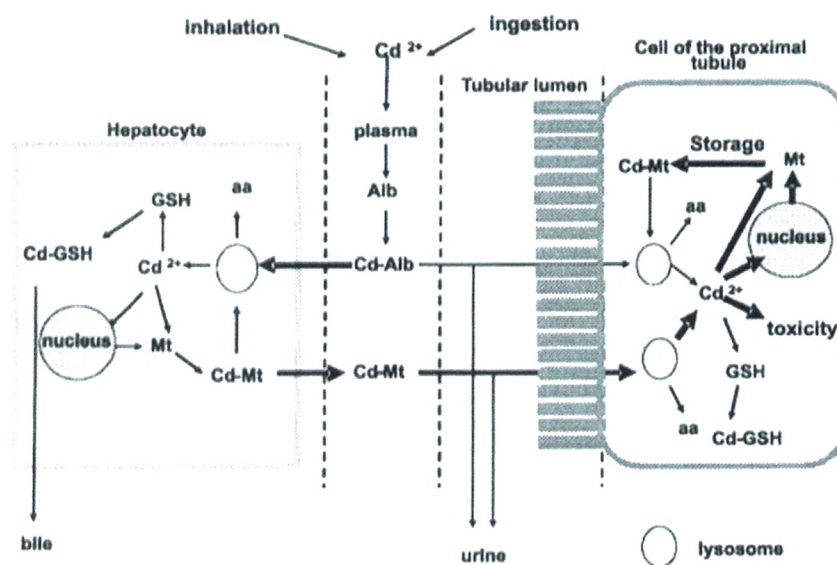
#### II-1-1 Exposition et métabolisme

La principale voie d'exposition au Cd en milieu professionnel est la voie respiratoire par inhalation. La concentration de fumées et poussières de Cd varie considérablement d'une activité industrielle à une autre et le taux d'absorption alvéolaire dépend du type d'exposition, du composé et de la taille des particules. L'alimentation quant à elle est la plus importante source d'exposition au Cd dans une population générale de non fumeurs. La quantité de cadmium ingéré par jour dans la plupart des régions est en moyenne de 10 à 20 µg. En fonction des habitudes alimentaires, cette absorption varie d'un individu à un autre. Dans une population féminine suédoise par exemple, l'absorption de Cd chez des femmes ayant une alimentation riche en céréales, racines végétales et certaines variétés de poissons était bien plus importante que celle des femmes avec une alimentation mixte et plus variée [83-84]. L'absorption gastro-intestinale du Cd varie aussi d'un individu à un autre en fonction des facteurs nutritionnels. Une alimentation pauvre en fer, calcium, et zinc augmente l'absorption du Cd. La déficience en fer augmente aussi le taux d'absorption gastro-intestinale du Cd [85-86]. Les femmes constituent ainsi un groupe à risque dans l'exposition environnementale au Cd. Pour ce qui est du tabac, il s'agit d'une source supplémentaire mais conséquente d'exposition. Une cigarette contient en effet 1-2 µg de Cd [87] dont 10% sera inhalé [88] et 50% du Cd inhalé est absorbé. De ce fait, une personne qui fume en moyenne 20 cigarettes par jour, consomme environ 1 µg de Cd/jour.

Après l'absorption, le Cd est transporté à travers le sang vers d'autres tissus. Au niveau sanguin, le Cd est principalement retrouvé dans les cellules sanguines [89] fixées à l'hémoglobine [90]. Dans le plasma, il est immédiatement après absorption lié à l'albumine et

d'autres protéines de haut poids moléculaire. Capté par le foie où il se dissocie, il induit la synthèse de la métallothionéine (Mt) [91], ce qui le protège d'une action cytotoxique. Une partie du Cd hépatique est excrétée dans les intestins par le biais de la bile sous forme de conjuguée au GSH [92]. Le transport du Cd lié à la métallothionéine du sang vers les cellules tubulaires rénales est rapide et presque complet. Le Cd non lié à la métallothionéine ne pénètre pas pour autant les reins. Exemple : le Chlorure de Cd lié à l'albumine [93].

La Figure suivante décrit le transport du Cd dans le Sang et sa prise par les tubules rénaux.



**Figure 5 :** Transport et distribution de cadmium dans le corps. Rôle des protéines de transport du cadmium dans le sang. Synthèse puis dégradation de la métallothionéine. GSH : glutathion ; Mt : métallothionéine ; aa : acides aminés ; Alb : albumine [94]

L'absorption du Cd-Mt a lieu par pinocytose à plus de 99 % par les cellules tubulaires proximales [95--97]. La Mt est catabolisée dans des lysosomes, libérant les ions Cd cytotoxiques [98].

Le cadmium est efficacement retenu dans l'organisme et s'accumule tout le long de la vie de l'individu. La charge corporelle est négligeable à la naissance, mais augmente de manière continue jusqu'à l'âge de 60-70 ans. A partir de cette tranche d'âge, les niveaux des charges corporelles peuvent diminuer. Lors d'une exposition basse environnementale, approximativement 50% de la charge corporelle est retrouvée dans les reins et le foie [89]. L'accumulation du Cd lors d'une exposition environnementale a lieu aussi dans les muscles (12%) [99]. Dans les reins, la plus importante concentration de Cd est retrouvée au niveau du cortex [100]. Par ailleurs, le Cd peut passer à travers la barrière embryofœtale chez des

animaux en début de gestation [101]; le transport du Cd à travers le placenta est très bas [102], ce qui peut expliquer la faible toxicité fœtale du cadmium par rapport aux autres métaux lourds.

L'accumulation du Cd en fonction de l'âge indique qu'une toute petite proportion du Cd absorbé est excrétée lors d'une exposition chronique. L'excrétion journalière à travers les urines est comprise entre 0,005 à 0,01 % de la charge corporelle humaine. Cette faible excrétion correspond à une demi-vie biologique de plus de 20 ans. Cette demi-vie biologique diminue de 10 ans chez les sujets avec dysfonctionnements tubulaires [91].

### **II-1-2 Toxicité**

#### **a- Toxicité aiguë**

Par voie orale, les symptômes observés sont : une gastro-entérite avec des crampes épigastriques, des vomissements, des diarrhées et des myalgies. L'effet émétique du cadmium est un facteur pouvant expliquer la faible mortalité par cette voie. Une intoxication mortelle a cependant été observée suite à l'ingestion volontaire de 5g d'iodure de cadmium [103]. Par inhalation dans le cas d'intoxication aiguë sévère par les fumées de cadmium, la mortalité est estimée à 15-20 % par rapport à ceux qui développent une pneumonie chimique. La mort survient souvent 1 à 3 jours après l'exposition, les effets observés pendant cette période sont une irritation pulmonaire sévère accompagnée de dyspnée, de cyanose et toux [104].

#### **b- Toxicité chronique**

- *Atteintes rénales*

Lors d'une exposition chronique, le rein est l'organe critique. Cette exposition entraîne l'apparition d'une tubulopathie souvent irréversible en fonction de l'intensité de l'exposition est du degré d'atteintes tubulaires (RBP urinaire < 1000 – 1500 µg/g creat, l'atteinte est irréversible) [105]. Une atteinte glomérulaire a aussi été observée chez des salariés exposés au Cd [83]. Cette atteinte peut survenir de manière isolée ou superposée au dysfonctionnement tubulaire engendrant une protéinurie mixte [106-107]. Des travaux expérimentaux suggèrent qu'au stade précoce de l'intoxication, l'hyperfiltrabilité glomérulaire des protéines de haut poids moléculaire résulte d'une réduction des charges poly-anioniques au niveau de la membrane basale glomérulaire [108].

Comme il a été déjà cité, la tubulopathie proximale induite par le Cd entraîne une excrétion accrue de protéines de faibles poids moléculaire (RBP,  $\alpha_1$ -microglobuline). D'autres signes



peuvent être associés à cette protéinurie telle une enzymurie, une amino – acidurie, une glucosurie, une hyper calciurie ou une hyperphosphaturie.

La concentration critique de Cd dans le cortex rénal, dans les urines ou le sang susceptible de produire un dysfonctionnement rénal reste un sujet d'investigation, particulièrement lors des basses expositions. De nombreux auteurs ont tenté d'estimer le seuil critique d'apparition des effets rénaux. Cette évaluation se heurte à de nombreuses difficultés parmi lesquelles les grandes variétés des paramètres recherchés, leur signification sanitaire pas toujours connue, ni leurs valeurs considérées comme anormales. Dans les études récentes, les taux de CdU faiblement élevés résultent d'anciennes expositions qui ont diminuées. Aussi l'influence de facteurs tels que le tabac, le diabète ou l'hypertension n'est pas toujours prise en compte.

Les données recueillies auprès des travailleurs démontrent que les premières manifestations infra-cliniques de toxicité tubulaire ainsi que la micro protéinurie de haut poids moléculaire peuvent survenir avec une prévalence de 10 % lorsque la concentration de Cd dans le cortex rénal dépasse 140 ppm ou lorsque l'excrétion urinaire du métal excède 4  $\mu\text{g/g creat}$  [109]. Le développement classique d'une protéinurie tubulaire nécessite une charge corporelle en Cd plus importante (10  $\mu\text{g/g creat}$ ), ce qui correspond à une concentration du Cd dans le cortex rénal de 200 ppm. A ce stade, la protéinurie tubulaire est habituellement irréversible même lors de l'arrêt de l'exposition et mène à une diminution du taux de filtration glomérulaire plus importante que celle attendue par l'âge [110]. Certaines données indiquent cependant qu'une protéinurie tubulaire débutante ( $\beta_2\text{-M}$  inférieure à 1500  $\mu\text{g/g creat}$ ) est réversible en cas de diminution ou arrêt de l'exposition. Des études épidémiologiques ont également été menées sur des populations générales. Celles-ci rapportent des associations entre une protéinurie tubulaire, ou une perturbation de l'activité de la NAG et l'exposition au Cd à des niveaux d'exposition plus bas que ceux des populations professionnellement exposées. Cependant la signification clinique de ces résultats n'est pas encore bien élucidée. Ainsi, Plusieurs investigations des habitants des régions polluées du Japon, ont montré des lésions irréversibles quand l'excrétion de la  $\beta_2\text{-M}$  excédait 1000  $\mu\text{g/g creat}$  [111]. Une diminution du pH sanguin et une augmentation de la créatinine persistent même après arrêt de l'exposition [112]. L'atteinte rénale induite par le Cd a été retrouvée aussi dans une autre étude qui a investigué 12559 habitants des régions polluées du Japon et 6435 autres de régions non polluées. Le dysfonctionnement tubulaire proximal (mis en évidence par un ou plusieurs de ces paramètres :  $\beta_2\text{M urinaire} \geq 10 \text{ mg/l}$  ;  $\text{RBP} \geq 4 \text{ mg/l}$  ;  $\text{Lysozyme} \geq 2 \text{ mg/l}$  ;  $\text{glucose} \geq 100 \text{ mg/l}$  et  $\text{amino-acidurie générale} \geq 20 \text{ mmole/l}$ ) a été détecté chez 333 habitants des régions

polluées au Cd contre un seul habitant des régions non polluées. De plus, un dysfonctionnement tubulaire proximal spécifique (% TRB < 80% et bicarbonate artériel sanguin < 23 mEq/l) a été détecté chez 202 habitants des régions polluées au Cd versus aucun dans les régions non polluées [113].

En Europe, des travaux étudiant l'impact du Cd sur la fonction rénale au sein de populations générales ont aussi été conduits [114-117]. Une étude transversale en Belgique pratiquée sur 1699 individus a cherché à identifier les effets du Cd sur des paramètres de l'excrétion urinaire (RBP, NAG,  $\beta_2$ M, acides aminés et calcium) dans la population générale exposée en milieu urbain et rural [115-118]. Une bonne corrélation a été mise en évidence entre les niveaux d'exposition au Cd et l'élévation de ces paramètres. Ces résultats furent confrontés à ceux d'une étude suédoise pratiquée sur 1027 individus exposés professionnellement ou par le biais de l'environnement [117]. De ces études, il apparaît que les effets rénaux liés à l'exposition au Cd par ingestion sont observés pour une charge corporelle de Cd correspondant à une élimination urinaire de 1 à 2  $\mu$ g de Cd/g creat. Akesson *et al* (2005) [119] ont déjà détecté des effets significatifs à des niveaux de CdU moyens plus bas (0.6  $\mu$ g/g creat). Au Japon, Yamagani *et al* n'ont pas observé d'augmentation des marqueurs de dysfonctionnements tubulaires (NAG,  $\alpha_1$ ,  $\beta_2$  M) parmi des femmes ayant une cadmiurie moyenne de 2  $\mu$ g /g creat [120]. Ikeda *et coll* ont estimé qu'en cas d'exposition au Cd par le biais de l'environnement, le niveau critique de CdU engendrant une augmentation substantielle de la  $\beta_2$ -M ( $\beta_2$ -M supérieure à 1000  $\mu$ g /g creat) dans la population générale est de 4  $\mu$ g /g creat [121].

Par ailleurs, des preuves épidémiologiques sont disponibles sur une augmentation de la susceptibilité à développer une néphropathie chez les diabétiques exposés au Cd [122]. Des études épidémiologiques récentes ont démontré une augmentation de la prévalence du dysfonctionnement tubulaire en fonction des niveaux de CdU chez les diabétiques de type II.

- *Effets sur les os*

Si la toxicité osseuse du Cd (ostéoporose et ostéomalacie) est clairement établie chez des populations ouvrières potentiellement exposés au Cd, et des populations de régions polluées par le Cd [123-124-125], les études les plus récentes montrent que les atteintes osseuses ont été mises en évidence pour des concentrations très basses similaires à celles rencontrées dans l'environnement. Dans un groupe de 508 habitants de régions moyennement à modérément polluées par le Cd en Belgique, les relations entre la densité osseuse de l'avant bras et la fracture osseuse ainsi que l'excrétion urinaire en Cd ont été étudiées chez les femmes

ménopausées. La densité des os proximaux et distaux avait chuté de presque  $0,01\text{g/cm}^2$  quand l'excrétion urinaire du Cd avait doublé. Ceci était associé à une augmentation des risques de fractures de 73% chez ces femmes [126]. Une autre étude portant sur 520 hommes et 544 femmes exposés au Cd a montré une relation dose réponse entre le CdU et la diminution de la densité minérale osseuse. Plus tard, il a été confirmé que l'exposition au Cd faisait augmenter les fractures osseuses [127-128]. La concentration de CdU dans cette population au moment où la densité osseuse a été déterminée était de  $0,74\ \mu\text{g/g}$  crea. En Chine [129], des résultats ont indiqué que les effets sur les os (augmentation de la prévalence des fractures et diminution de la densité osseuse au niveau de l'avant bras) étaient corrélés à des doses cumulatives de Cd, mais toujours plus basses que celles provoquant la maladie « Itai Itai ». L'examen de 908 femmes, dans une région non polluée du Japon a montré une corrélation entre la masse osseuse des chevilles et le CdU et cela même en prenant en considération certains facteurs comme l'âge, le poids et le statut menstruel [130].

Les mécanismes suivants ont été proposés pour expliquer l'influence du Cd sur la matière osseuse : Une altération de l'activité de la vitamine D dans le rein, l'action du Cd au niveau digestif interférant l'absorption du calcium, l'action directe du Cd sur l'os avec perturbation du métabolisme du collagène.

- *Anémie*

Des petites diminutions dans les concentrations de l'hémoglobine ont été observées chez des ouvriers exposés au Cd. Ces perturbations se sont avérées réversibles [131].

- *Atteintes respiratoires*

Des troubles respiratoires ont été rapportés pour des expositions cumulées atteignant des niveaux élevés et lors d'expositions réalisées par inhalation ; les niveaux d'exposition étaient compris entre 30 et  $13\ 277\ \mu\text{g/m}^3$  par an [132]. Ces troubles sont essentiellement liés aux effets irritants des particules de cadmium. Ils correspondent à une diminution de la capacité respiratoire, de l'odorat, la survenue de rhinite, de bronchite et d'emphysème [133]. Dans les conditions d'exposition professionnelle au cadmium, l'altération de la fonction pulmonaire ne survient qu'après 20ans environ d'exposition.

- *Atteintes neuropathiques*

Il est probable que le cadmium soit également à l'origine de neuropathie. Cette observation a été réalisée chez une population de retraités ayant été exposés au cadmium au cours de leur activité professionnelle [134].

- **Atteintes cardiovasculaires**

Différentes études épidémiologiques n'ont pas mis en évidence d'augmentation de la pression artérielle ou une fréquence accrue d'affections cardiovasculaires lors de l'exposition au cadmium [135].

- **Atteintes sur la reproduction et le développement**

Les rares études ayant cherché à identifier un effet du Cd sur la fonction de reproduction chez l'homme n'ont pas montré de diminution de la fertilité ; ni d'effets sur la fonction endocrine (testostérone, hormone lutéine, hormone de stimulation ou des follicules) [136].

- **Autres effets**

Parmi les autres effets associés à une exposition chronique au Cd, on peut citer une pigmentation jaune de l'email des dents due à un précipité de sulfure de Cd, une asthénie. Une étude épidémiologique pratiquée parmi les habitants d'une région polluée par le Cd au Japon a révélée une légère dépression de la fonction thyroïdienne [137].

### II-1-3 Bio monitoring biologique

Pour le bio monitoring d'exposition au Cd, les principaux indices sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Indicateurs	Utilisation	Références
Cd sanguin (Cd B)	Indicateur d'exposition récente	[138-139-140-141-142]
Cd urinaire (Cd U)	Non invasif. Pour la relation entre Cd U, exposition et charge corporelle (voir toxico – cinétique du Cd)	[138-139-140-141-142-143]
Cd dans le rein et le foie	Détermination directe de la charge corporelle, non invasif mais nécessite pour l'instrumentation un personnel qualifié. N'est pas utilisé dans le monitoring de routine	[144-145]
Protéines Urinaires	Utilisées pour le monitoring d'effet	[146-147-148]

**Tableau 6** : Indices de bio monitoring d'exposition et d'effets au cadmium

Pour le bio monitoring d'exposition en milieu professionnel, le CdU et le CdS sont les paramètres les plus importants [138-140, 142-143]. Il est recommandé de les réaliser ensemble. Le dosage de la métallothionéine au niveau urinaire pourrait aussi refléter l'exposition au cadmium.

### a- Le Cd Urinaire

- *Toxico-cinétique :*

Il existe 3 phases reliant le CdU à l'exposition et la charge corporelle [149]. Dans la première phase, le Cd s'accumule dans le cortex-rénal et est lié à la méthallothionéine. Tant que les sites d'accumulation ne sont pas saturés, l'excrétion urinaire du Cd augmente progressivement avec la durée d'exposition. Dans la seconde phase, la saturation est atteinte, le CdU s'élève brusquement pour ne plus fluctuer qu'en fonction de l'intensité de l'exposition [150]. Durant cette phase, le CdU reflète l'exposition passée (charge corporelle) et l'actuelle. Durant, la 3<sup>ème</sup> phase, les dysfonctionnements rénaux apparaissent à des concentrations critiques bien définies [151-152].

- *Interprétation des taux de CdU :*

Les taux de CdU sont influencés par la charge corporelle et sont proportionnels à la concentration au niveau rénal. Dans une population générale de non fumeurs, la concentration de CdU varie entre 0,02 – 0,7 µg/g creat et les niveaux de cadmium augmentent légèrement en fonction de l'âge et en parallèle avec le Cd dans les reins [153-154]. L'organisation mondiale de la santé (1980) a recommandé que l'excrétion du CdU ne doive pas dépasser les 10µg/g creat. Un contrôle spécifique est effectué lorsque les concentrations de CdU excèdent les 5 µg/g creat [155]. L'ACGIH a adopté un indice biologique d'exposition (BEI) de 5 µg/g creat [156]. Les revues de la littérature [157] et des études épidémiologiques récentes suggèrent que dans la population générale, une concentration de CdU de 1 – 2 – 2,5 µg/g creat serait déjà associée à des modifications de la fonction rénale.

### b- Le Cd sanguin

- *Toxico-cinétique :*

Lauwerys *et al* ont observé une augmentation linéaire du CdS dans les 120 jours, suivie par un plateau chez 4 employés exposés à des niveaux élevés de Cd [152]. La cinétique de Cd dans le sang exige un modèle à deux compartiments. Jarup *et al* ont étudié 5 ouvriers pendant 15 ans après cessation de l'exposition [158]. Ils ont déterminé deux phases de déclin. Une

première avec une demi-vie de 75 à 130 jours, et une deuxième plus lente avec une demi-vie de 7,4 à 16 ans (11 à 16 ans sans dysfonctionnements rénaux)

- *Interprétation des taux de CdS:*

Dans une population de non fumeurs et non professionnellement exposés, les niveaux de CdS varient entre 0,1 et 0,85 µg/l, alors que chez les fumeurs, ils varient de 1 – 4 µg/l [159]. Les taux de CdS sont influencés aussi par la charge corporelle, l'âge, le sexe et la gestation. Le CdS reflète l'exposition récente (de quelques mois), plus que l'exposition à long terme ; cependant et en concordance avec le modèle cinétique proposé par Kjellstrom et Nordberg [151], une fraction du CdS reflète la charge corporelle. L'organisation mondiale de la santé a proposé un taux de CdS de 10 µg/l (89 nmol/l) comme niveau individuel critique lors d'une exposition régulière et à long terme. Elle a recommandé des mesures de contrôle qui doivent être appliquées dès que le CdS excède 5 µg/l (45 nmol /l) [158]. L'ACGIH a adopté un BEI de 5 µg/l de Cd S [156].

Les indicateurs de dysfonctionnement tubulaire sont l'élévation des protéines de faibles poids moléculaire dans les urines [147-160] tels que la RBP, ou la α1-microglobuline. L'augmentation des protéines de haut poids moléculaire est quant à elle, signe d'une atteinte de la fonction glomérulaire, exemple : élévation de l'albuminurie.

### **c- Valeurs limites des protéines indicatrices d'effets rénaux**

#### *La protéine liée au rétinol (RBP)*

La valeur limite de référence de la RBP reportée dans la littérature dans une population masculine est entre 200 – 300 µg/g creat. Dans une population féminine, cette valeur peut augmenter de 15 – 20 % et correspond à 300 – 450 µg/g creat. Quand le taux de filtration glomérulaire est normal ou légèrement perturbé, l'excrétion urinaire de la RBP excède les 300 µg/g creat et peut être considérée comme signe d'une diminution de la capacité de réabsorption des cellules du tubule proximal [159]. L'interprétation de l'augmentation des valeurs de RBP est représentée dans le tableau ci-dessous [161].

RBP urinaire ( $\mu\text{g/g creat}$ )	Signification
< 300	Valeurs normales
300 – 1,000	Tubulopathie cadmique naissante (Réversibilité possible après cessation de l'exposition si le Cd U est < à 20 $\mu\text{g/g creat}$ .)
1,000 – 10,000	Protéinurie tubulaire irréversible qui peut accélérer le déclin du GFR en fonction de l'âge. A ce stade, le GFR est normal ou légèrement réduit.
> 10,000	La néphropathie cadmique est associée à une réduction du GFR.

**Tableau 7:** Interprétation de l'élévation des valeurs de RBP urinaire.

*La  $\alpha_1$ -microglobuline*

Chez des sujets avec une filtration glomérulaire normale, l'excrétion urinaire de la  $\alpha_1$ -microglobuline au-delà de 20 mg/g creat peut être interprétée comme un signe d'une altération tubulaire. Cependant, quand l'albuminurie augmente aussi comme il est fréquemment le cas, il n'est pas exclus que l'élévation urinaire de la  $\alpha_1$ -microglobuline résulte en partie des dommages glomérulaires.

*L'albuminurie*

Au-delà de 20 mg/g créatinine, l'albuminurie devient un signe de dysfonctionnement glomérulaire.

**II-2 TOXICITE DU PLOMB**

Le plomb est un métal utilisé par l'homme depuis des millénaires. La production et l'utilisation du plomb ont augmenté de façon spectaculaire durant la révolution industrielle entraînant une libération intense de ce matériel indestructible et son accumulation massive dans l'environnement. L'utilisation des pigments au plomb dans les peintures depuis la fin de XIX<sup>ème</sup> siècle et jusqu'à une époque récente constitue une source de dispersion importante, encore très présente dans de nombreux revêtements intérieurs d'une fraction élevée de l'habitat ancien non réhabilité. De même, l'utilisation du plomb pour les canalisations du réseau de distribution publique de l'eau est une source non négligeable d'apport de plomb par

ingestion d'eau contaminée [162]. Depuis l'introduction des alkyles de plomb dans l'essence au cours de la 1<sup>ère</sup> moitié du XX<sup>ème</sup> siècle, la diffusion de ce polluant non seulement autour des voiries des grands centres urbains, mais aussi à longue distance est devenue importante et à l'origine d'un problème planétaire. L'accumulation massive dans le sol de ce métal indestructible et peu mobile, demeurant dans les couches superficielles où il reste accessible au contact de l'homme, surtout des enfants, représente une menace permanente pour la santé des populations [163]. En milieu professionnel, le plomb tout comme le cadmium est reconnu comme maladie professionnelle.



## Revue de littérature

### II-2-1 Métabolisme du plomb :

Les principales caractéristiques du plomb ainsi que son métabolisme sont décrits dans le tableau ci-dessus :

Caractéristique	Forme entrante dans le corps	absorption	distribution	Principaux effets cliniques	Aspect-clés des mécanismes	Elimination	Elimination $\frac{1}{2}$ vie
Métal, lourd, abondant, bon marché, malléable, ductile, ayant une faible conductivité électrique.	Sels et oxydes inorganiques	Gastro-intestinale, respiratoire	Tissus mous ; redistribués au squelette	Multi systémique: Déficit au SNC, neuropathie périphérique, anémie, <b>néphropathie</b> , hypertension ( ? )	Inhibe les enzymes, interfère avec les cations essentiels, altère la structure membranaire.	Rénal (majoritaire)	10 à 20 ans
Facilement fondu, soudé et oxydé au contact de l'oxygène, stable dans l'eau, l'air et le sol. Résistant à la corrosion	Organique (tétra éthy/le de plomb)	Peau, gastro-intestinale, respiratoire	Tissus mous, spécialement le foie, le rein, le SNC	Encéphalopathie	Déalkylation hépatique (rapide) → trialkylmétabolites (lente) → dissociation en Pb.	Urine et fèces (majoritaire), transpiration (minoritaire)	10 à 20 ans

**Tableau 8:** Caractéristiques et métabolisme du plomb

### **II-2-2 Toxicité**

#### **a- Toxicité aiguë**

Elle ne se rencontre actuellement que très rarement aussi bien dans l'industrie qu'en milieu non professionnel, mais elle peut néanmoins se produire par inhalation ou par absorption dans des situations accidentelles. L'essentiel des données rapportées dans la littérature concerne l'absorption du plomb ou ses dérivés par voie orale. Les troubles digestifs sont parmi les symptômes les plus précoces. Ils se traduisent par l'apparition de fortes colites associées à des douleurs et crampes abdominales ainsi qu'à des vomissements [164-165]. Ces effets apparaissent en général pour les taux de plombémies compris entre 1000 et 2000  $\mu\text{g/l}$ , mais peuvent se déclarer chez certains sujets à des taux bien plus faibles, compris entre 400 et 600  $\mu\text{g/l}$ .

#### **b- Toxicité chronique**

Les atteintes sur la santé peuvent aller de la manifestation sub-clinique aux maladies (voir tableau ci- dessous).

Effets observés aux plus bas niveaux de PbS (ug/dl)]	Synthèse del'hème et effets hématologiques	Effets Neurologiques	Effets Rénaux	Effets sur la reproduction	Effects Cardiovasculaires
100-120	—	Symptômes Encephalopathiques	—	—	—
80	Anémie	Symptômes Encephalopathiques	Néphropathie Chronique	—	—
60	—	—	—	Effets chez les femmes	—
50	Production Réduite d'hémoglobine	Symptômes sub-encephalopathiques neurologiques clairs	—	—	—
40	Augmentation de la ALA urinaire et coproporphyrines élevées	Dysfonctionnement du nerf périphérique (réduction de conduction du nerf)	—	—	—
30	—	—	—	Fonction testiculaire altérée	—
25-30	Elévation de protoporphyrine Erythrocytaire chez les hommes	—	—	—	—
15-20	Elévation de protoporphyrine Erythrocytaire chez les femmes	—	—	—	—
<10	inhibition d'ALA-D	—	—	—	—

ALA, aminolevulinic acid; ALA-D, aminolevulinic acid déshydratase.

**Tableau 9:** Résumé des plus bas niveaux de plomb associés à des effets sur la santé chez les adultes [166]

Plusieurs enquêtes épidémiologiques en milieu professionnel (exposition par inhalation) ont mis en évidence un excès de mortalité (rarement significatif) par insuffisance rénale chez des sujets ayant subi des expositions chroniques intenses au plomb [167-169]. Les lésions qui se développent peuvent se caractériser notamment par la présence de tissu interstitiel fibrotique, une atrophie ou une hyperplasie des cellules épithéliales tubulaires et une sclérose glomérulaire qui conduisent à une altération irréversible de la fonction rénale avec hypertension artérielle [170]. L'atteinte glomérulaire pourrait être secondaire à l'atteinte tubulo-interstitielle. Plusieurs études ont démontré une association entre une néphropathie chronique et une exposition professionnelle au plomb à un niveau de 60 à 100 µg/dl. Il est donc peu probable que des expositions professionnelles n'engendrant pas de plombémies supérieures à 60-70 µg/dl soient à l'origine d'une perturbation significative de la fonction rénale. Le travailleur plus âgé est cependant sensible à l'action néphrotoxique.

Dans la population générale, ce type d'atteintes ne semble pas être démontré à des niveaux de plombémies inférieures à 400 µg/l [171]. Cependant les niveaux de plomb provoquant des effets néfastes demeurent imprécis. Le diagnostic de néphropathie saturnine étant difficile. Certaines études suggèrent que le plomb, même à des niveaux faibles de plombémie, pourrait exercer un effet négatif sur la fonction rénale. En Belgique, Staesen *et al*, (1992) ont pu constater dans le cadre d'une grande enquête épidémiologique une réduction significative de la filtration glomérulaire chez les personnes âgées pour des plombémies n'excédant pas 200 µg/l [172]. Ce résultat a été confirmé pour les personnes âgées ou d'âges moyens dans une autre étude longitudinale [173]. Payton *et al*, ont également observé une élévation de la plombémie de 100 µg/l associée à une réduction de la clairance de la créatinine [174]. L'hypothèse alternative qu'une insuffisance rénale soit à l'origine d'une élévation de la plombémie n'est pas à exclure. Certaines données suggèrent qu'une exposition environnementale à de très faibles niveaux pourrait accélérer la progression de l'insuffisance rénale chez des sujets ayant une pathologie rénale chronique ne souffrant pas de diabète. Une accélération de l'altération de la fonction rénale liée à l'âge est aussi suggérée.

### II-2-3 Bio monitoring biologique

Pour le bio monitoring d'exposition professionnelle, la détermination du plomb sanguin reste le premier moyen. L'ALA urinaire est un paramètre en plus.

### a- Le plomb sanguin

- *Toxico- cinétique*

La concentration du plomb sanguin s'élève immédiatement après la première exposition par inhalation, puis une augmentation graduelle a lieu jusqu'à atteindre un état sévère au bout de quelques semaines ou mois. Après une importante exposition, le taux de PbS s'élève au bout de quelques heures [175]. Après cessation de l'exposition, on note une diminution initiale rapide des niveaux de PbS puis la réduction devient plus lente. Chez les adultes, le déclin des niveaux de PbS comporte 2 phases : une première avec une demi-vie d'un mois qui correspond au « lavage » des tissus mous et cellules rouges sanguines. Une deuxième phase, lente qui comporte deux autres phases, une avec une demi-vie de un an et une autre plus longue de 1 ou 2 décennies. Ces deux phases correspondent au « lavage » du squelette [176-175]. L'élimination du plomb sanguin après cessation de l'exposition est sujette à une variation interindividuelle. Chez les sujets non professionnellement exposés, les niveaux de PbS sont remarquablement stables.

- *Interprétation des concentrations dePbS :*

- Les valeurs de référence : sont celles qui se rapportent à une population non professionnellement exposés (WHO 2000) [177] :

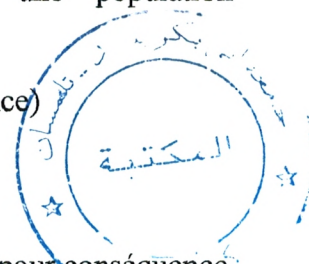
10 µg/dl.

- Les valeurs tolérables : sont celles qui se rapportent à une population professionnellement exposés (ACGIH 2006) [178] :

30 µg/dl (Non valable pour les femmes en âge de donner naissance)

### b- La delta- ala urinaire

Le blocage du delta ALA – deshydratase suite à une exposition au plomb a pour conséquence une augmentation de l'excrétion urinaire du substrat non transformé (L'acide delta amino - lévulinique). L'ala urinaire est donc le témoin des effets du plomb sur l'organisme après une exposition récente. En cas d'exposition intense, il s'élève précocement dès la deuxième semaine. La spécificité de l'ala urinaire semble meilleure que celle de la protoporphyrine érythrocytaire (paramètre qui s'élève suite à l'action du plomb sur l'hème synthétase), du moins lorsque la plombémie dépasse les 40 µg/dl.



- *Interprétation des valeurs de La delta- ala urinaire) [178] :*
  - Valeurs de référence : < 4,5 mg/g créatinine.
  - Valeurs tolérables : 5 mg/g créatinine.

## Revue de littérature

### II-3 TOXICITE DU DIOXYDE DE SOUFRE

#### II-3-1 Caractéristiques, métabolisme et toxicité du dioxyde de soufre :

Le dioxyde de soufre provient principalement de la combustion des combustibles fossiles (charbons, fuels, ...), au cours de laquelle les impuretés soufrées contenues dans les combustibles sont oxydées par l'oxygène de l'air en dioxyde de soufre. Ce polluant gazeux est ainsi rejeté par de multiples petites sources (installations de chauffage domestique, véhicules à moteur diesel, ...) et par des sources ponctuelles plus importantes (centrales de production électrique, chaufferies urbaines, ...).

description	Exposition	Absorption	Métabolisme	Mécanisme de toxicités	Toxicité aiguë	Toxicité chronique	TLV (ACGIH)
A température ambiante, gaz inflammable, incolore avec une odeur très forte, piquante. La plupart des personnes la sentent au niveau de 0.3 à 1 ppm	Combustibles fossiles, la fonte du minerai de sulfure. Emissions volcaniques...	Inhalation (principale voie)  Peau /contact des yeux (10 à 20 ppm : irritation des muqueuses)  Ingestion (peu probable)	Au contact avec les membranes humides, le SO <sub>2</sub> est hydrolysé en sulfites qui passent dans le sang et se distribuent dans le corps. Les sulfites sont oxydés en sulfates (foie), qui peuvent réagir avec les protéines pour former les Sulfonâtes. Les sulfates sont excrétés par l'urine.	L'unité bisulfite est la plus réactive (Effets de broncho constriction, et clastogéniques)	<b>Effets respiratoires :</b> Eternuements, mal de gorge, gêne respiratoire, sentiments de suffocation et même fibrose pulmonaire et bronchite chronique.  Asthmatiques, sujets avec troubles pulmonaires et enfants plus sensibles.  <b>Autres effets :</b> Dermique, oculaire, gastro-intestinaux.	Sensibilité aux infections respiratoires, symptômes de bronchite chronique, baisse de la fonction pulmonaire.  Enfants plus sensibles.	<b>Environnement</b> : 0.02 ppm (50 µg/m <sup>3</sup> ).  <b>Milieu professionnel</b> : 2 ppm.

**Tableau 10 :** Caractéristiques, métabolisme et toxicité du dioxyde de soufre.

Concentration (ppm)	Effet
≥0.1	Broncho constriction chez les asthmatiques sensibles durant l'exercice
0.3-1	Possibilité de détection par odeur ou gout
1-2	Changement de fonction pulmonaire chez les non asthmatiques sains
2	Seuils limites /moyenne en temps recommandé par L'ACGIH
3	Odeur facilement détectable
5	Limite d'exposition à cours terme recommandé par Le NIOSH américain
6-12	Peut causer une irritation du nez et de la gorge
10	Irritation du système respiratoire supérieur, quelques saignements du nez
20	Définitivement irritant aux yeux, symptômes respiratoires chroniques ; protection respiratoire nécessaire
50-100	Exposition maximale tolérable pendant 30-60 min
≥ 100	Danger immédiat à la vie recommandé par le NIOSH américain

**Tableau 11** : les effets de santé causés par le dioxyde de soufre, ainsi que les mesures à prendre.

*ACGIH*: American Conférence of Governmental Industrial Hygienists (Conférence Américaine des hygienists industriels gouvernementaux)

*NIOSH*: National Institut for Occupationnel Sadet and Heath (Institut national de santé et sécurité professionnels).



### II-3-2 Mécanismes de base de la toxicité au dioxyde de soufre

Les mécanismes exacts de la toxicité au dioxyde de soufre ne sont pas encore très bien élucidés. Une broncho-constriction (voir rappel anatomique de l'appareil respiratoire sur la figure D-E en annexe) serait due à la contraction du muscle mou par réflexe parasympathique et/ou suivant la libération de médiateurs humoraux tels que l'histamine. Ceci est probablement dû à l'ion bisulfite, produit par dissolution du  $\text{SO}_2$  dans les fluides du système aérien. L'ion bisulfite peut agir en altérant les récepteurs de l'acétylcholine par sulfonation de ponts disulfures, modulant ainsi la contraction du muscle mou.

Par ailleurs, la toxicité aux sulfates acides serait due aussi à la déposition des ions  $\text{H}^+$  au niveau des surfaces aériennes. L'examen de divers paramètres biologiques (transport mucociliaire, évacuation alvéolaire, fonction pulmonaire et production de médiateurs biologiques) a montré que la toxicité des aérosols sulfate acides est directement liée au degré d'acidité (degré de  $\text{H}^+$  dans le milieu d'exposition). De ce fait, le mode d'inhalation influe sur le potentiel de la réponse biologique. La neutralisation des sulfates acides inhalés a réduit potentiellement les effets toxiques.

D'autres mécanismes sont possibles, tels que l'évacuation mucociliaire par altération de la vitesse ou de la quantité de muqueuse secrétée. Une faible augmentation de production de la muqueuse facilite l'évacuation, tandis que l'augmentation de la production induit une couche de muqueuse épaisse, qui serait associée de manière inefficace aux cellules ciliées. De plus, on a noté un changement dans la composition des glycoprotéines de la muqueuse, suggérant une augmentation de la viscosité de cette muqueuse.

Certains mécanismes ont été aussi suggérés en ce qui concerne le développement du cancer pulmonaire suite à l'exposition au  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Ainsi, une modulation du pH induirait des changements dans les cellules en termes de régulation mitotique et enzymatique. Cependant, le mécanisme le plus plausible reste encore l'irritation, résultat d'une inflammation chronique induite par l'acide. Les études dans ce domaine restent cependant à vérifier [179].

### II-3-3 Biomarqueurs d'exposition et d'effet

Aucune étude relative aux biomarqueurs spécifiques utilisés pour identifier ou quantifier l'exposition au dioxyde de soufre n'a été décrite. Cependant, le taux de S-sulfonâtes plasmatique peut servir comme indicateur potentiel à l'exposition au dioxyde de soufre. De même, le dioxyde de soufre inhalé est excrété dans l'urine sous forme de sulfate. Cependant, le SO<sub>2</sub> n'est pas la seule source de sulfate dans l'urine. Les sulfates sont des métabolites d'acides aminés contenant le soufre, et sont donc des constituants normaux des fluides intracellulaires et de l'urine [180]. Les concentrations de sulfates dans l'urine vont de 53 μmol/dL/Kg chez un enfant de 1 jour à 50053 μmol/dL/Kg chez des jeunes adultes.

Aucun biomarqueur spécifique utilisé pour caractériser les effets causés par le dioxyde de soufre n'est décrit. Cependant, les altérations dans les paramètres de la fonction pulmonaire, tel que l'augmentation de la résistance aérienne, diminution de la conductance aérienne, et diminution du volume d'expiration peuvent être considérés comme les biomarqueurs potentiels pour caractériser les effets causés par le dioxyde de soufre, quoiqu'ils ne sont pas spécifiques et peuvent indiquer une exposition à d'autres types de polluants. Une augmentation du nombre de leucocytes dans le fluide de lavage broncho alvéolaire est un biomarqueur des effets inflammatoires induits par le dioxyde de soufre [181-182], mais ce biomarqueur n'est nullement spécifique. La formation de l'adduit d'ADN dans la muqueuse nasale est un biomarqueur potentiel qui peut être utilisé dans le futur. En effet, la formation de l'adduit entre l'ADN et le bisulfite a été démontrée *in vitro* [183]. L'application de la technique pour la mesure de l'adduit a été démontrée par Flato [184].

Les effets clastogéniques chez les humains suivant une exposition professionnelle au dioxyde de soufre par inhalation a été décrite. Une augmentation dans les aberrations chromosomiques et échanges de chromatides sœurs a été détectée dans les lymphocytes de 42 ouvriers exposés à une concentration moyenne de 41,7 mg/m<sup>3</sup> (15,92 ppm). En plus, une augmentation dans la fréquence de lymphocytes avec micronoyaux a été notée [185]. Ces effets clastogéniques peuvent donc servir en tant que biomarqueurs potentiels quoiqu'ils ne soient pas spécifiques. Les études métaboliques ont démontré une réduction de l'activité du sulfite oxydase chez les jeunes rats [186]. La comparaison de l'activité de l'enzyme chez les animaux nouveau-nés, enfants et adultes serait utile.

**TROISIEME PARTIE**

**ETUDE DES BIOMARQUEURS**

**PULMONAIRES**

**I. BUT :**

La prévention des effets pneumotoxiques liés à une exposition chronique au dioxyde de soufre.

**II. OBJECTIFS :**

- 1- Aperçu sur l'exposition au dioxyde de soufre dans l'usine Alzinc.
- 2- Évaluation de la toxicité respiratoire chez les travailleurs de l'usine et étude comparative par rapport à des salariés du textile (fabrication de couvertures).
- 3- Évaluation de la concentration des biomarqueurs CC16 et SP-D dans la détection des effets précoces des polluants (SO<sub>2</sub> principalement) sur la fonction pulmonaire.

**III. POPULATION :**

Il s'agit d'une étude descriptive, analytique et transversale qui a eu lieu entre septembre 2005 et Février 2007.

**3-1 Critères d'inclusion :**

La population d'étude concerne des ouvriers permanents avec une ancienneté au travail d'au moins une année dans une entreprise d'électrolyse de zinc (Ghazaouet). Le groupe de témoins provenait d'une usine de textile fabricant des couvertures à partir des fibres acryliques (Tlemcen), où il n'y a aucune exposition aux pneumotoxiques.

**3-2 Critères d'exclusion :**

Nous avons exclu de l'étude les travailleurs qui ont refusé de participer à l'enquête, les personnes ne sachant pas souffler dans le spiromètre et les sujets atteints d'une affection respiratoire d'origine non professionnelle.

**IV – METHODOLOGIE :**

- Enquête initiale sur les lieux de travail.
- Enquête épidémiologique.
- Exploration médicale.
- Investigations toxicologiques (paramètres d'exposition externe au SO<sub>2</sub> et d'effet pulmonaire).

**4-1 Enquête initiale :**

Elle a été conduite pour identifier les produits chimiques utilisés et les niveaux d'exposition par :

- L'observation et la consultation de documents techniques ;
- L'interview des travailleurs, des chefs d'ateliers et des responsables de la production ;
- La Consultation des archives de laboratoire.

**4-2 Le questionnaire :**

Il a consisté en :

- L'identification du malade
- La recherche des données socioprofessionnelle avec reconstitution du calendrier professionnel dans l'entreprise.
- La détermination de l'état de santé (antécédents médicaux) : Asthme, bronchite, pneumonie, diabète, hypertension artérielle, maladie rénale ...
- L'étude des habitudes tabagiques ...

**4-3 Examen clinique :*****a- Mesure de la tension artérielle systolique et diastolique :***

Chaque sujet a été mis en décubitus dorsal pendant cinq minutes de repos. La mesure a été répétée deux fois au niveau du bras droit à une minute d'intervalle, en utilisant le sphygmomanomètre à mercure. On a retenu, les valeurs les plus basses de la pression artérielle systolique, qui correspondaient à l'apparition des bruits de phase I de Korotkoff, et de la pression artérielle diastolique, qui correspondaient à la disparition des bruits de phase V de Korotkoff.

Les sujets considérés comme hypertendus étaient ceux dont la pression artérielle systolique était supérieure ou égale à 160 mm Hg et / ou la pression artérielle diastolique était supérieure ou égale à 95 mm Hg ou prenant un traitement anti-hypertenseur.

***b- Mesure des paramètres anthropométriques :***

A partir du poids et de la taille, nous avons défini l'indice de corpulence qui correspond au rapport du poids (Kg) sur la taille au carré (m<sup>2</sup>). Un IMC < 27 Kg /m<sup>2</sup>, correspond au poids idéal.

***c- Examen spirométrique :***

Les EFR ont été réalisés au sein du service de médecine de travail du CHU de Tlemcen, au moyen d'un appareil : Schiller type Sp1, serial N° 540.05686 (Made in Switzerland) qui était régulièrement calibré. Chaque test était réalisé deux fois et le meilleur était retenu pour l'analyse. Lors de ce test, ont été encodés la date de réalisation du test, la taille, l'âge et le sexe. Les différents paramètres mesurés sont : La capacité vitale (CV), la capacité vitale forcée (CVF) exprimées en mL, le volume maximal expiré par seconde (VEMS) exprimé en ml, les rapports VEMS/CVF, le « peak Flow », le débit expiratoire moyen 25-75%CVF, le débit expiratoire après 25 % CVF et le débit expiratoire moyen /CVF .Chaque test est exprimé en valeur absolue et en pourcentage de la valeur prédite.

**4-4 Investigations toxicologiques :*****a- Dosage atmosphérique du dioxyde de soufre :***

Il a été effectué des dosages dans l'air, du dioxyde de soufre avec un appareil de mesure portable pour les mesures instantanées ou de longue durée .L'unité de contrôle (testo 350 M/XL, testo 454) est équipé d'une entrée libre ainsi que d'une sonde de précision différentielle intégrée. L'entrée libre permet de choisir dans une palette de sondes de mesure de précision dans le domaine de la température, de la vitesse, de l'humidité, du Co<sub>2</sub>, du niveau de turbulence, de la pression, de la rotation, du courant et de la tension .L'affichage graphique permet d'afficher simultanément jusqu'à six grandeurs.

Les mesures ont été effectuées dans chaque atelier à trois endroits différents. Une moyenne a été calculée pour chaque atelier.

***b- Biomarqueurs d'effets pulmonaires :***

Les échantillons de sang ont été fraîchement récoltés (8h du matin) sur des tubes EDTA pour la détermination des protéines spécifiques d'effets pulmonaires. Après centrifugation, les sérums ont été conservés à -18°C jusqu'à l'analyse, à l'Université Catholique de Louvain (Bruxelles), service de Toxicologie Industrielle et de médecine de travail. La protéine des cellules de Clara (CC<sub>16</sub>) a été ainsi dosée dans le sérum par Latex – Immuno – Assay (LIA), en utilisant des anticorps anti CC<sub>16</sub> de lapin (Dako patts, Glostrup, Danemark). La CC<sub>16</sub> purifiée au laboratoire (UCL) a été utilisée comme standard (Bernard et al 1992) [187]. Ce test a été validé par ailleurs en le comparant à un test Elisa (Hermans et al 1998) [36].

La concentration d'une protéine associée au surfactant (SP- D) au niveau sérique a été aussi déterminée par une technique Elisa (SP-D Elisa Kit, de Yamasa corporation, Tokyo Japan).

***b-1- Dosage de laCC16 :***

La procédure de dosages des biomarqueurs pulmonaire (CC16 sérique) mais aussi rénaux (RBP,  $\alpha$ 1, Albuminurie) et a été réalisée par la méthode du latex immuno assay (LIA) (Bernard *et al*, 1981) [188].

- ***Principe de la technique LIA :*** Pour le dosage des protéines, deux types de réaction peuvent être rencontrés :
- Réaction primaire : Réaction entre Antigène et Anticorps-Latex
  - Réaction secondaire : Détection à l'oscilloscope, des agglutinats et des particules libres qui résultent d'une réaction plus ou moins forte entre Antigène et complexe Anticorps-Latex.

Un réseau pourra se former, un Ag pouvant fixer plusieurs Ac et plusieurs billes de latex pouvant être rassemblées par cette réaction. Le système de lecture permet électroniquement de ne tenir compte que des particules libres (Ac fixés sur les billes de latex).

Les Ac sont fixés à la surface des billes de latex, les places inoccupées étant remplies par de la BSA : Bovine Sérum Albumine qui stabilise le latex à pH 10.1, par répulsion de charges identiques, la BSA étant chargée négativement à ce pH.

Les Ag sont diluées dans un tampon de GBSA : tampon composé de BSA et de glycine. Les dilutions varient selon la protéine dosée, et selon l'origine des prélèvements : urines, sérum...

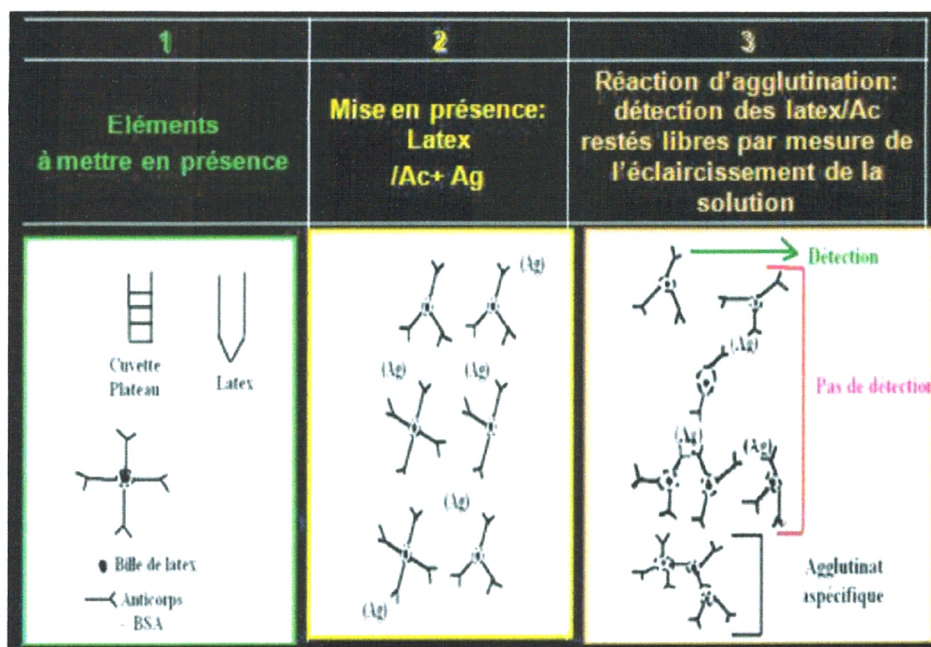
Au cours des différentes étapes, le complexe Ac –Latex sera mis en présence de la protéine à dosée (Ag). Selon que l'affinité est plus ou moins forte, des agglutinats vont se former. Plus il y aura d'agglutinats, plus la solution s'éclaircira.

L'oscilloscope va évaluer la transparence de la solution et donc l'importance de la réaction en comptant le nombre de particules de latex restées libres.

➤ ***Etapas de la technique LIA :***

1. Préparation du latex
2. Dilutions : courbes standards, sérum ou urines contrôles et échantillons .Ceux –ci sont dilués en double c'est-à-dire qu'il y a deux dilution différentes pour un même échantillon et ces deux résultats sont comparés lors des calculs (si la différence entre les deux valeurs est importante, l'analyse est refaite).
3. Mise en présence du latex/Ac +Ag
4. Incubation à 37°C.
5. Blocage de la réaction par dilution avec du NaCl –tween 0.1%.
6. Comptage des particules libres. Après le compteur de particules, se situe un enregistreur qui permet d'obtenir un graphique d'un ensemble de pics.
7. Calcul des résultats : Introduire les valeurs des hauteurs de pics en mm de la première et dernière courbe standards sur la feuille de calcul. Retranscrire les coefficients des courbes obtenues, les échantillons seront calculés en fonction de leur localisation par rapport à ces deux courbes.





**Figure 6 :** Etapes de la technique

➤ **Mode opératoire pour le dosage de la CC16 :** La solution de latex a été préparée en mélangeant 36µl d'anticorps (DAKO, code A0257) et 50 µl de latex (microsphères Estapor, réf. K080, Merck) dans une solution saline à 10 mM. Les standards, les contrôles et les échantillons sont dilués dans du GBS-BSA à 0.27 M, pH 9. Le standard de CC16 à 1300 µg/l est dilué 100 fois puis 7 dilutions successives de deux en deux sont effectuées. Les concentrations sont donc 13 ; 6.5 puis 3.25 puis 1.625,...jusqu'à 0.101 µg/l. Une urine contrôle diluée 50 fois et 100 fois suit la courbe. Chaque échantillon est reparti en deux dilutions (10 et 20 fois).

La CC16 est dosée dans de nombreux liquides biologiques. Seul le dosage dans le sérum nécessite un traitement préalable.

500 µl de sérum sont complétés 30 minutes à 56°C. On y ajoute 500 µg/l de PEG 6000 à 16%, mélangez, puis 25 µg/l de TCA à 10% sous agitation, on laisse décanter une nuit. Le surnageant de la centrifugation 10 minutes à 4000 rpm est encore dilué 10-20 fois pour l'analyse. Il en résulte une dilution finale de 20-40 fois et une limite de détection dans l'échantillon de 4µg/l.

*b-2- Dosage de la SP-D :*

Les standards, contrôles et échantillons sont incubés dans des plaques avec un anticorps monoclonal humain SP-D. Après toute une nuit d'incubation et lavage, le HRP conjugué est rajouté. On incube pendant 2 heures pour détecter la SP-D. Après trois lavages successifs, l'anticorps conjugué fixé sur la SP-D réagit avec la solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> contenant le substrat tetramethylbenzidine. La réaction est stoppée en ajoutant une solution d'acide sulfurique et l'absorbance de la couleur jaune résultante est mesurée à 450 nm. L'absorbance est proportionnelle à la concentration de SP-D. Une courbe standard (100 ; 50 ; 25 ; 12.5 ; 6.25 ; 3.13 ; et 1.56 ng/ml) sert au calcul de la concentration de la SP-D dans les échantillons. Les échantillons sont dilués 11 fois. La limite de détection est de 0.2 ng/l \*11 donc 2.2ng/ml).

**V- ETUDE STATISTIQUE :**

Pour cette étude, les variables continues ont été représentées en moyenne et déviation standard et comparées entre les 3 groupes par un test d'ANOVA ou de Dunnett pour les comparaisons multiples sur les valeurs de log transformées.

Les variables catégorielles ont été comparées par un test de X<sup>2</sup>. En plus, nous avons utilisé une ANOVA à deux voies pour évaluer les changements des pneumo-protéines sériques associées à l'exposition au SO<sub>2</sub>, statut tabagique et l'interaction entre ces deux facteurs.

Les facteurs influençant les niveaux sériques des pneumo-protéines ont été évalués par une analyse de régression conduite pas à pas et qui a testé le potentiel prédictif de l'âge, du tabac chez les témoins et la durée d'emploi avec le tabac dans les deux groupes exposés au SO<sub>2</sub>. Les variables indépendantes dans l'analyse de régression multiple ont été introduites à une valeur de 0,25 ; le modèle était retenu quand  $p < 0,05$ . La relation entre CC<sub>16</sub> et durée d'emploi a été évaluée par une simple corrélation (test de Pearson) chez les ouvriers exposés aux fortes concentrations de SO<sub>2</sub>.

A l'exception de l'âge, toutes les variables ont été normalisées en les transformant en log ; les niveaux de signification statistique étaient  $p < 0,05$ .

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

I-RESULTATS :

I-1 DESCRIPTION DE L'USINE ALZINC :

La société Algérienne de zinc (ALZINC) est une filiale de METANOF. Son capital est de 855 millions de dinars divisés en 855 actions de 100.000 chacune, détenu entièrement par METANOF.

L'usine d'électrolyse de zinc de Ghazaouet en Algérie est située à l'extrême Ouest du pays, sur le littoral Oranais à une trentaine de kilomètres de la frontière Algéro-Marocaine sur la rive ouest de la ville de Ghazaouet où les vents dominants soufflent du Nord-Ouest. Elle s'étale sur une superficie de 14 hectares.

Elle est destinée à valoriser les concentrés de minerai de zinc (la blende) Algérien provenant des mines d'El Abed ou Péruvien.

L'usine est entrée en production en 1974 et à une capacité de production de 40.000 t/an de zinc électrolytique, le procédé nous permet en outre de récupérer des sous-produits tels que l'acide sulfurique (60.000t/an) et le cuivre (150t/an).

a- Procédé de travail et composition de la blende

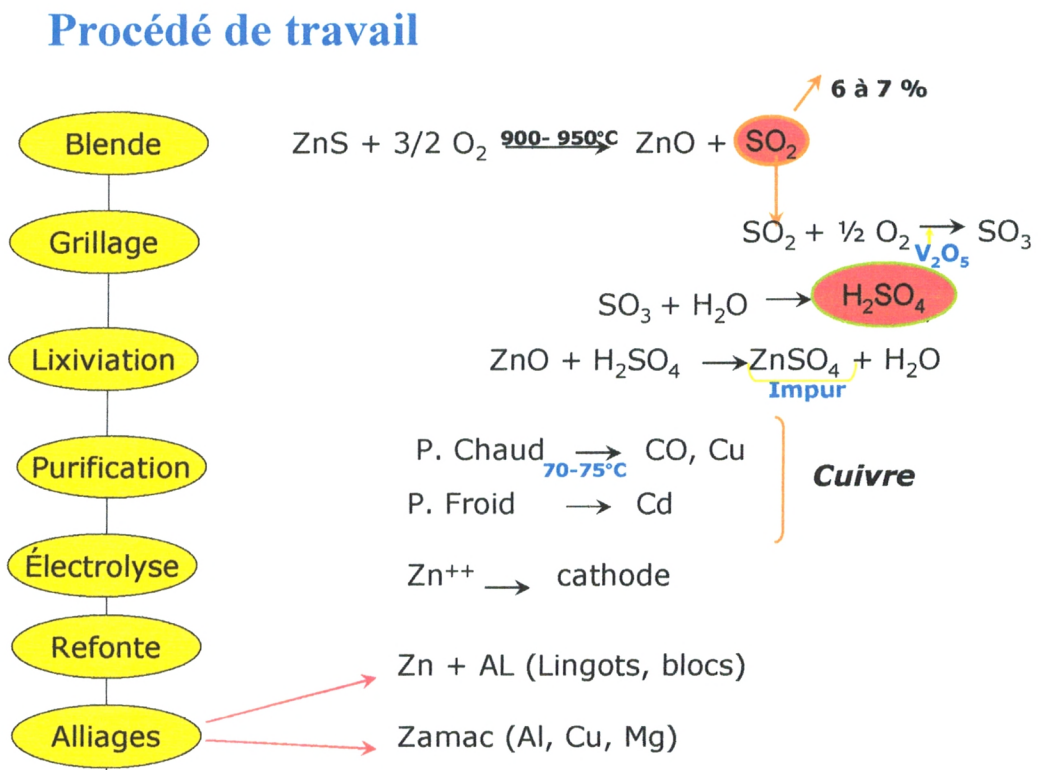


Figure 7 : Procédé de travail (Alzinc)

**Tableau 12** : Composition Chimique de la Blende

<b>Zn</b>	<b>≥52</b>
<b>Cd</b>	<b>≤0.3</b>
<b>Fe</b>	<b>≤6</b>
<b>Pb</b>	<b>≤3</b>
<b>S</b>	<b>≤32</b>
<b>SiO2</b>	<b>&lt;1.47</b>
<b>Cu</b>	<b>≤0.3</b>
<b>As</b>	<b>≤0.05</b>
<b>Sb</b>	<b>≤0.005</b>
<b>Ni</b>	<b>≤0.005</b>
<b>Co</b>	<b>≤0.008</b>
<b>Ge</b>	<b>≤0.015</b>
<b>Ca</b>	<b>≤0.50</b>
<b>Cl</b>	<b>≤0.09</b>
<b>F</b>	<b>≤0.01</b>
<b>MgO</b>	<b>≤0.42</b>
<b>BaO</b>	<b>0.50à1</b>
<b>Hg</b>	<b>≤0.01</b>
<b>Al</b>	<b>&lt;0.10</b>

Après le zinc, le soufre est le deuxième élément le plus abondamment présent dans la blende. Sa toxicité est principalement due à ses composés soufrés tel le dioxyde de soufre.

L'usine d'électrolyse de zinc de Ghazaouet produit de l'acide sulfurique, les rejets atmosphériques générés par l'usine se résument à des gaz contenant du N<sub>2</sub> et du SO<sub>2</sub>. Le débit de ces rejets gazeux est estimé à 3,3 x10<sup>13</sup> m<sup>3</sup>/h à une température de 70°C avec une vitesse d'injection de 3,3 m<sup>3</sup>/s [23].

**b- Description des ateliers et postes où réside un risque d'exposition au SO<sub>2</sub>:**➤ **Atelier de grillage :**

Poste	Nature des produits chimiques	Niveau d'exposition	Organisation
<b>Chargeur blende</b>	Zn, Cd, Pb, Fe, Cu, AS, Ni, Co, S, Si, Mg, BaO	3	-Travail à l'air libre (surveillance, Récup chutes)
<b>Homme four</b>	Idem + ZnO, PbO, CdO, CuO, SO <sub>2</sub> , CO, NOx	2-3	-surveillance four et en amont -Récup chutes, Purgeage manuelle four - exposition permanente poussières
<b>Homme-chaudière</b>	Idem + ZnO, PbO, CdO, CuO, SO <sub>2</sub> , CO, NOx	2-3	Entretien de la chaudière (2 heures)
<b>Chef de poste</b>	Idem	3	Intervient à tous postes et par moment de la même façon que l'ouvrier au poste
<b>Mécanicien</b>	Idem	2-3	Permanent et intervient à tous les postes. Fréquence moindre
<b>Électricien</b>	Idem	1-2	dans tous les ateliers.

**Tableau 13:** Description des postes de travail de l'atelier grillage et de l'exposition au dioxyde de soufre.

Mis à part les ouvriers intervenant dans le chargement de la blende, tous les travailleurs de l'atelier de grillage présentent un risque d'exposition au dioxyde de soufre (niveau d'exposition variant entre 2 et 3).

## ➤ Atelier de lixiviation Purification :

Poste	Nature expo	Niveau d'exposition	Organisation
<b>Chef service</b>	Pb, Cd, Fe, Zn, Si, Mn, Sb, Cu, Zn, Co, vapeurs	± 1	N'intervient qu'occasionnellement
<b>Chef d'atelier</b>	Idem,	1 à 2	Ateliers Sollicité par les chefs de poste
<b>Chef de poste</b>	Idem, Mn	3	Intervient et organise l'activité dans tous les postes (lixiviation et purification)
<b>Agent de fab</b>	Idem, Mn	3	Polyvalent, à l'air libre -cuves ouvertes –Aspiration insuffisante -Alimentation en grillé -Préparation solution de Mn, supervision de la lixiviation -Récupération chutes de grillés
<b>Chimiste</b>	Idem+HCl, HNO <sub>3</sub> Acetate de Na <sup>+</sup> ,	1	Prélèvement, analyse solution lixiviation, dosage Cu, PH, densité. Durées d'exposition courtes Fe, Co,

**Tableau 14** : Description des postes de travail de l'atelier lixiviation Purification et de l'exposition au dioxyde de soufre.

L'exposition au dioxyde de soufre ne semble pas exister dans cet atelier. Cependant, on enregistre la présence de vapeurs qui risqueraient d'entraîner un effet sur les poumons.

## ➤ Atelier d'électrolyse

Poste	Nature	Niveau	Organisation
<b>Chef de poste pelage</b>	Vapeurs d'hydrogène, solution ZnSO <sub>4</sub> ,	2 à 3	-3*8 (5h- 13h) Organisation activité, contrôle, pelage -Absence d'aspiration -ventilation insuffisante
<b>Pêleur</b>	Idem + Cu, Cd, Pb	2 à 3	-Brossage cathodes -Préparation baignoires
<b>Dragueur</b>	Vapeurs H <sub>2</sub> , solution ZnSO <sub>4</sub> épuisée, Mn., Autres métaux	2 à 3  ±1	-Décrassage anodes -Risque d'exposition au moment de l'évacuation des boues sèches
<b>Contrôleur de bac</b>	Vapeurs H <sub>2</sub> solution ZnSO <sub>4</sub>	3	-Prélèvement -Contrôle du PH, densité -Adaptation débit
<b>Chef de poste dragage</b>	Vapeurs H <sub>2</sub> solution ZnSO <sub>4</sub> épuisée.	3	-Organisation, Coordination, Intervention -Dragage, Vidange solution épuisée

**Tableau 15** : Description des postes de travail de l'atelier électrolyse et de l'exposition au dioxyde de soufre.

En dehors du dioxyde de soufre, d'autres polluants atmosphériques ayant un risque sur la fonction pulmonaire semblent exister dans l'atelier d'électrolyse (vapeurs d'hydrogène)



## ➤ Atelier de refonte de plomb :

Poste	Nature	Niveau	Observation
<b>Homme four</b>	PbO, MnO, sels arsenicaux, cobalt, Poussières et fumées	3	- Poussières lors du dépoussiérage et alimentation du four - Surveillance visuelle de la fusion - Four ouvert - Aspiration non fonctionnelle - Ventilation insuffisante - Roulement Refonte/électrolyse
<b>Brossage</b>	Cu, Mn, PbO Essentiellement >	3	-Nettoyage de vieilles anodes contaminées -Empoussiérage abondant brossage mécanique à forte pression -L'ouvrier permanent ne porte pas protection individuel

**Tableau 16** : Description des postes de travail de l'atelier refonte de plomb et de l'exposition au dioxyde de soufre.

L'exposition au dioxyde de soufre ne semble pas exister dans cet atelier. Cependant, on enregistre la présence d'autres éléments tel le cobalt qui risqueraient d'entraîner un effet sur les poumons.

## **I-2 DESCRIPTION DE L'USINE DE TEXTILE (POPULATION TEMOIN) :**

Mantal est une entreprise spécialisée dans le tissage des articles lourds (couvertures, filets...) dont le siège est situé à proximité de la pépinière de Tlemcen. L'entreprise est conçue en 2 unités distinctes : La première unité est située à proximité du siège social et comporte le département de production (La teinturerie ou le cardage, nouvelle filature, ancienne filature) et le Département d'assistance (La direction, sécurité industrielle, maintenance, et moyens généraux), La deuxième unité à BAB EL KHEMIS, comporte les ateliers de tissage et de finition.

### **a- Procédé de travail**

La production de la couverture est la principale activité de l'entreprise ; elle passe par plusieurs étapes :

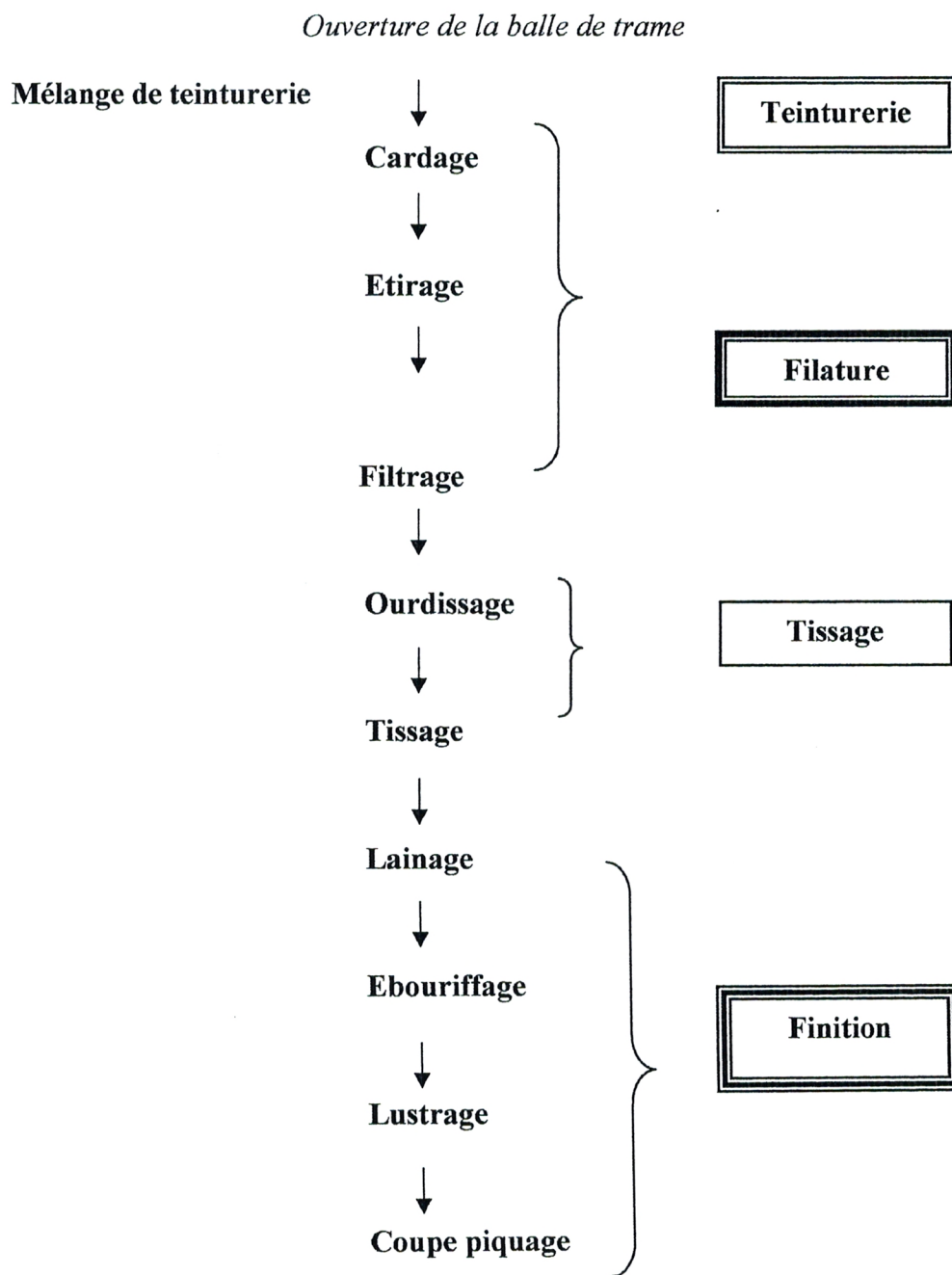


Figure 8 : Procédé de travail de l'usine de textile (Mantal).

Seuls les ouvriers de l'atelier tissage et finissage ont servis de témoins dans la présente étude. Le tissage passe par les opérations suivantes : l'ourdissage qui consiste à transférer les bobines de fils de chaîne en entre soupes qui servent à alimenter les métiers et ceci grâce à l'ourdissoir. Une fois les métiers alimentés par l'entre soupe et les bobines de fil de trame, s'effectue le nouage des anciennes chaînes avec les nouvelles chaînes, puis le tissage où les 02 fils (de chaînes et de trames) sont entrelacés selon un schéma déjà choisi et fixé sur les différentes machines, produisant ainsi un tissu écru qui après finition donne la couverture. Ce rouleau de tissu passe ensuite au niveau de la métreuse visiteuse où il sera étalé afin de détecter d'éventuels défauts. En fin, ce rouleau sera pesé puis stocké pour passer dans l'atelier de finition.

### I-3 CARACTERISTIQUES GENERALES DE LA POPULATION D'ETUDE :

Les travailleurs examinés dans cette étude sont au nombre de 237 : 161 de l'usine Alzinc (ghazaouet) dont 42 exposés à de bas niveaux de  $\text{SO}_2$  ( $\text{SO}_2 < 0,5$  ppm) et 119 à de hauts niveaux de  $\text{SO}_2$  ( $\text{SO}_2 > 0,5$  ppm) et 70 (contrôles) de l'usine de textile (Mantal).

Paramètres	Témoins (Employés de l'usine de Textile)	Employés exposés au $\text{SO}_2$		p
		Exposition faible (0.2-0.3 ppm $\text{SO}_2$ )	Exposition élevée ( $\text{SO}_2$ 0.7-2.2 ppm)	
N	70	42	119	
Age (années)	40.5 (8.6)	40.0 (9.1)	39.2 (10.7)	0.82
BMI ( $\text{Kg/m}^2$ )	24.5 (4.9)	25.9 (3.8)	25.5 (3.9)	0.17
Ancienneté dans le travail (années)	8.4 (7.0)	12.6 (9.1)	9.1 (8.2)	0.06

Les résultats sont représentés en moyenne (Ecart - type). Les valeurs de p indiquent les niveaux de significations de l'ANOVA, test sur les valeurs moyennes.

**Tableau 17 :** Caractéristiques générales de la population d'étude

Le tableau 17 reprend les caractéristiques des travailleurs en fonction de l'exposition au dioxyde de soufre. Dans ce tableau, on retrouve un seul type de variable, continu pour lesquels sont retenues les moyennes arithmétiques et déviation standard. La comparaison entre les trois groupes a été réalisée par une ANOVA. La colonne p, donne la signification entre les trois groupes (témoins, exposés au faible et haut niveau de dioxyde de soufre).

Ce tableau montre qu'aucune différence significative n'est enregistrée entre les trois groupes pour l'âge, le BMI et l'ancienneté au travail.

## 1-4 STATUT TABAGIQUE DE LA POPULATION D'ETUDE :

Paramètres	Témoins (Employés de l'usine de Textile)	Employés exposés au SO <sub>2</sub>		p
		Exposition faible (0.2-0.3 ppm SO <sub>2</sub> )	Exposition élevée (SO <sub>2</sub> 0.7-2.2 ppm)	
Non fumeurs				
N (%)	28 (40.0)	13 (31.0)	34 (28.6)	0.47
Ex-fumeurs				
N (%)	15 (21.4)	14 (33.3)	34 (28.6)	0.35
Paquets par an (nombre)	14.1 (8.9)	16.7 (8.4)	15 (4.9)	0.57
Fumeurs actuels				
N (%)	27 (38.6)	15 (35.7)	51 (42.9)	0.68
Paquets par an (nombre)	18.1(10.3)	17.5 (2.0)	18.0 (7.4)	0.96

Les résultats sont représentés en effectif (pourcentage). Les valeurs de p indiquent les niveaux de significations du test chi-square (sur les prévalences).

**Tableau 18** : Statut tabagique de la population d'étude

Le tableau 18 reprend les habitudes tabagiques de la population d'étude. On retrouve dans ce tableau des variables catégorielles pour lesquels l'effectif et pourcentage sont donnés. La comparaison entre les trois groupes a été réalisée par un test du chi-square sur les prévalences.

Les proportions des ex et actuels fumeurs tout comme le nombre de paquets fumés par an sont similaires dans les trois catégories de travailleurs.

**I-5 PARAMETRES D'EXPOSITION INTERNE AU Cd U et Zn U :**

Paramètres	Témoins (Employés de l'usine de Textile)	Employés exposés au SO <sub>2</sub>		p
		Exposition faible (0.2-0.3 ppm SO <sub>2</sub> )	Exposition élevée (SO <sub>2</sub> 0.7-2.2 ppm)	
Zinc dans l' urine (µg /g créatinine)	351 (300)	299 (171)	365 (305)	0.34
Cadmium dans l' urine (µg/g créatinine)	0.75 (0.53)	0.74 (0.41)	1.10 (1.32)	0.22

Les résultats sont représentés en moyenne (Ecart - type). Les valeurs de p indiquent les niveaux de significations de l'ANOVA, test sur les valeurs moyennes.

**Tableau 19 :** Description des paramètres d'exposition interne au cadmium et zinc

Tableau 19 décrit l'exposition interne au cadmium et zinc (Cd U ET Zn U) en fonction de l'exposition au SO<sub>2</sub>. Dans ce tableau, on retrouve des variables, continues pour lesquels sont retenues les moyennes arithmétiques et déviation standard. La comparaison entre les trois groupes a été réalisée par une ANOVA. Les trois groupes de travailleurs n'ont pas de différences pour les valeurs moyennes de zinc urinaire et cadmium urinaire, quoique ce dernier paramètre soit un peu plus élevé chez les ouvriers exposés à de fortes concentrations en SO<sub>2</sub> par rapport aux deux autres groupes.

## I- 6 EXPLORATION DE LA FONCTION PULMONAIRE ET NIVEAUX DES PNEUMOPROTEINES SÉRIQUES

	Témoins (Usine de textile)		Employés exposés au SO <sub>2</sub>				p
	N	Moyenne (SD)	Exposition faible (0.2-0.3 ppm SO <sub>2</sub> )		Exposition élevée (0.7-2.2 ppm SO <sub>2</sub> )		
Paramètres	N	Moyenne (SD)	N	Moyenne (SD)	N	Moyenne (SD)	
CVF (% de valeur prédite)	70	86.8 (6.2)	26	94.5(5.4)	64	93.7 (6.7)	0.11
VEMS (%de valeur prédite)	70	90.3(12.8)	26	91.7 (6.4)	64	93.5 (6.2)*	0.0005
CC16 dans sérum (µg/l)							
Employés avec ESE	70	7.5 (2.3)	26	5.7 (1.9)	64	5.7(2.7)*	<0.001
Tous les Employés	70	7.5 (2.4)	42	6.2 (2.6)	119	5.8 (3.0)*	<0.001
SP-D dans sérum (µg/l)							
Employés avec ESE	70	54.5 (37.1)	26	73.8 (53.4)	64	74.2 (34.8)*	<0.002
Tous les Employés	70	54.5 (37.2)	42	74.9 (44.4)	119	77.6 (40.9)*	<0.001
CC16/SP-D dans sérum							
Employés avec ESE	70	0.19 (0.15)	26	0.17 (0.34)	64	0.11 (0.10)*	<0.001
Tous les Employés	70	0.19 (0.15)	42	0.14 (0.27)	119	0.10 (0.09)*	<0.001

Les valeurs de p indiquent le niveau de signification statistique dans le test de  $(\chi)^2$  (Prévalence) ou dans le test ANOVA (valeurs moyennes). \* différent de manière significative des référents  $p < 0.05$ .

ESE = Examen spirométrique effectué.

**Tableau 20 :** Tests de la fonction pulmonaire et pneumoprotéines sériques chez les ouvriers de l'usine d'électrolyse de zinc et leurs témoins.



Dans le tableau 20, les moyennes (et déviation standard) des valeurs de VEMS, CVF, pneumoprotéine sériques ( $CC_{16}$ , SP-D) ainsi que le rapport  $CC_{16} / SP-D$  sont données chez l'ensemble des ouvriers, ainsi que ceux qui ont consenti à tester leur fonction pulmonaire. Une comparaison entre les trois groupes respectifs (témoins, faiblement exposés au  $SO_2$  et fortement exposés au  $SO_2$ ) a été réalisée en utilisant une ANOVA sur les valeurs logarithmiques (Test de comparaison multiple : Test de Dnnett).

Le tableau montre donc les résultats des tests spirométriques ainsi que les valeurs des pneumoprotéines sériques. Si tous les témoins ont accepté de vérifier leur fonction pulmonaire, seulement 54 % et 62 % des ouvriers respectivement exposés aux hauts et faibles niveaux de  $SO_2$  ont donné leur accord pour l'évaluation de leur fonction pulmonaire. On ne note pas de différence significative dans les valeurs moyennes de CVF entre les trois groupes.

Alors que les valeurs moyennes de CVF entre les trois groupes ne diffèrent pas, on enregistre pour le VEMS une augmentation significative dans le groupe des ouvriers exposés aux hauts niveaux de  $SO_2$  par comparaison aux témoins. Malgré l'absence de signes cliniques de diminution de la fonction pulmonaire, on note par contraste une modification significative des niveaux sériques de  $CC_{16}$  et SP-D.

L'exposition au  $SO_2$  dans l'usine de production de zinc est associée à une diminution des niveaux sériques de  $CC_{16}$  et une augmentation des niveaux de SP-D. Le rapport  $CC_{16} / SP-D$  sérique qui intègre les deux types de changements est aussi significativement diminué (une diminution de 57 % en moyenne dans le groupe des exposés aux hauts niveaux de  $SO_2$ ). La comparaison des niveaux des pneumoprotéines sériques ( $CC_{16}$  SP-D et rapport  $CC_{16}/SP-D$ ) chez l'ensemble des ouvriers incluant ceux qui n'ont pas accepté de réaliser les tests spirométriques révèle les mêmes variations significatives que celles enregistrées plus haut.

### **I-7 EVALUATION DE LA RELATION ENTRE PNEUMPROTEINES SÉRIQUES (ANALYSE BI VARIÉE)**

Une analyse bi variée à été aussi conduite pour évaluer la relation entre les différentes pneumoprotéines sériques ( $CC_{16}$  , SP-D et les rapport  $CC_{16}/SP-D$ ).La concentration sérique de  $CC_{16}$  est corrélée négativement aux concentration de SP-D dans l'ensemble de la population ( $r = -0,31$  ,  $p < 0,001$  ,  $n = 231$ ) et dans le groupe des témoins ( $r = -0,27$  ,  $p = 0,02$  ,  $n = 70$ ), ainsi que dans le groupe exposé à des hauts niveaux en  $SO_2$  ( $r = 0,23$  ,  $p = 0,01$  ,  $n = 119$ ).

### **I-8 EFFETS $SO_2$ , TABAC SUR LES NIVEAUX DE $CC_{16}$ ET INTERACTION ENTRE CES DEUX FACTEURS**

Puisque le tabac influence les niveaux de  $CC_{16}$  et SP-D, nous avons poursuivie l'évaluation de l'effet  $SO_2$  sur les pneumoprotéines sériques par une analyse de la variance à deux voies, en testant l'effet du tabac (ex fumeurs, actuels fumeurs) et une possible interaction entre ces deux facteurs.

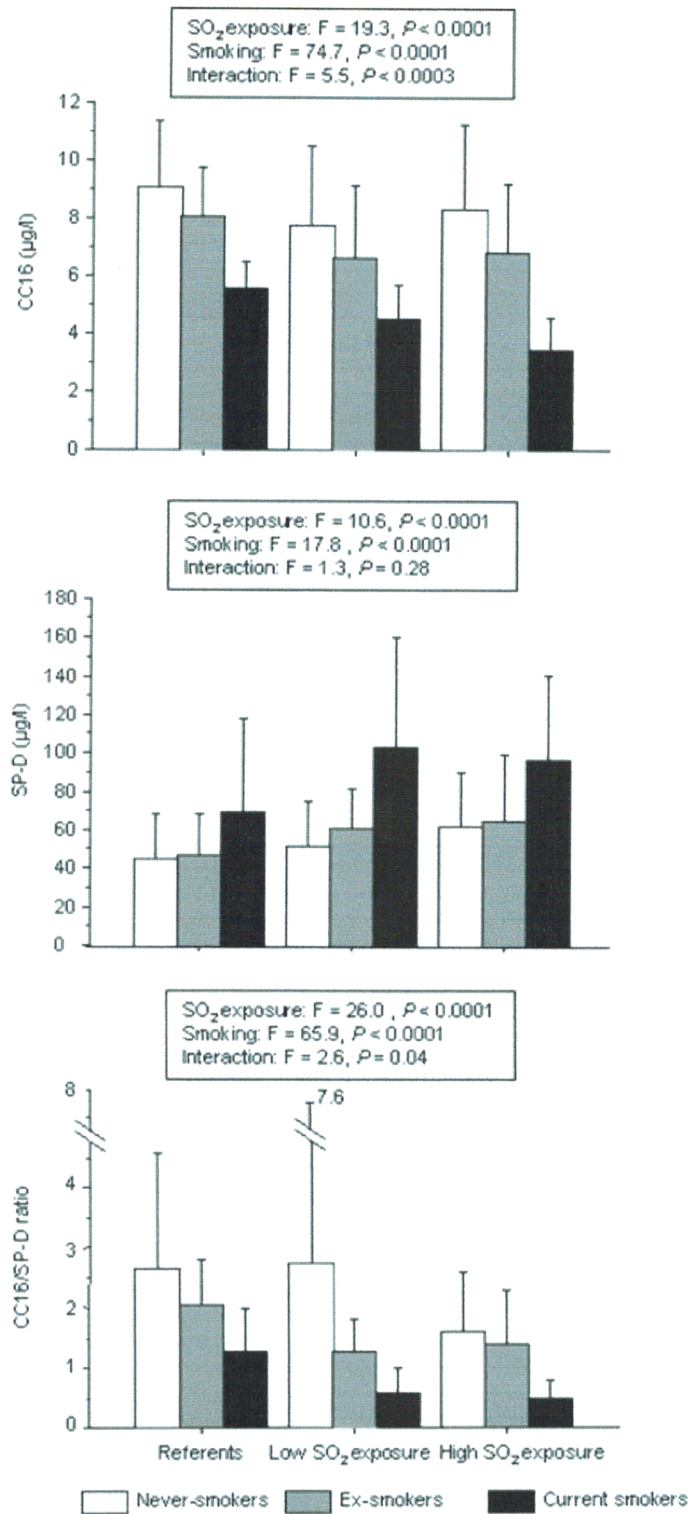


Figure 9 : Evaluation de l'effet SO<sub>2</sub> sur les niveaux de CC16 en testant l'effet tabac et une possible interaction.

Comme illustré par la figure 9, l'exposition au SO<sub>2</sub> est associée avec une diminution significative et importante des niveaux de CC<sub>16</sub> et une augmentation des niveaux de SP-D sérique, le rapport de ces deux protéines était aussi remarquablement affecté (diminution).

Le tabac cause des modifications similaires pour les deux pneumoprotéines sériques tout comme le rapport et interagit avec l'exposition au SO<sub>2</sub> pour diminuer davantage les niveaux de CC<sub>16</sub> sérique.

Aucune interaction n'est enregistrée entre le tabac et l'exposition au SO<sub>2</sub> quand les concentrations en SP-D augmentent ou le rapport CC<sub>16</sub>/SP-D diminue.

### 1-9- INFLUENCE DE L'AGE, ANCIENNETE AU TRAVAIL ET TABAC SUR LES PNEUMOPROTEINES SERIQUES

Une analyse multivariée par catégories d'exposition a été aussi réalisée. Les variables dépendantes étaient log CC<sub>16</sub>, log SP-D et log CC<sub>16</sub>/SP-D ; les variables indépendantes étaient tabac, BMI, l'âge, l'ancienneté au travail, Log ZnU. Un modèle pas à pas a été conduit (Tableaux 21-22-23).

Variables dépendantes	Variables indépendantes	R au carré	pente	F	P
Log CC <sub>16</sub>	Tabac	-0,67	0,099	57,36	<0,0001
Log SP-D	Tabac	0,258	0,067	4,79	0,032
Log (CC <sub>16</sub> / SP-D)	Tabac	-0,50	-0,16	23,48	<0,0001

**Tableau 21 :** Analyse multivariée par catégorie d'exposition ajustée en fonction du tabac, BMI, Age, Ancienneté, Log ZnU chez les témoins.

L'influence de l'âge, l'ancienneté au travail et le statut tabagique sur les pneumoprotéines sériques ont été analysé comme mentionner plus haut par l'analyse multivariée chez les témoins (tableau 20) mais aussi les groupes avec niveau d'exposition au SO<sub>2</sub> bas (tableau 21) et élevé (tableau 22).

Le tableau 21 montre bien que le tabac est le seul facteur significatif de la modification des niveaux de  $CC_{16}$ , Sp-D et rapport  $CC_{16} / Sp-D$ . Le tabac est inversement corrélé à la  $CC_{16}$ .

L'âge et l'ancienneté au travail non aucune influence sur le changement des niveaux des biomarqueurs pulmonaires.

<b>Variabes dépendantes</b>	<b>Variabes indépendantes</b>	<b>R au carré</b>	<b>Pente</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Log <math>CC_{16}</math></b>	tabac	-0,66	-0,03	27,83	<0,0001
<b>Log SP-D</b>	log BMI	-0,450	-2,13	10,87	0,0022
	tabac	0,340	0,12	6,21	0,0174
<b>Log (<math>CC_{16} / SP-D</math>)</b>	log BMI	0,28	1,72	5,244	0,028
	Tabac	-0,58	-0,26	22,02	<0,0001

**Tableau 22 :** Analyse multivariée par catégorie d'exposition ajustée en fonction du tabac, BMI, Age, Ancienneté, Log ZnU chez les exposés à de bas niveaux de  $SO_2$ .

Le tableau 22 montre que chez les exposés aux faibles niveaux de  $SO_2$ , le tabac est responsable à :

- 27.83% de la variation de la  $CC_{16}$  (log transformée).
- 6.21% de la variation de la SP-D (log transformée).
- 22.02 % de la variation de la  $CC_{16} / SP-D$  (log transformée).

On note aussi pour ce groupe, une corrélation négative entre le tabac et  $\log CC_{16}$  .

Variables dépendantes	Variables indépendantes	R au carré	Pente	F	P
Log CC <sub>16</sub>	Anc	-0,126	0,003	4,077	0,046
	tabac	-0,749	-0,20	142,90	<0,001
Log SP-D	log ZnU	-0,222	-0,155	6,66	0,011
	tabac	0,339	0,093	15,51	0,0001
Log (CC <sub>16</sub> / SP-D)	log ZnU	0,28	1,72	5,244	0,0162
	Tabac	-0,58	-0,26	22,02	<0,0001

**Tableau 23 :** Analyse multivariée par catégorie d'exposition ajustée en fonction du tabac, BMI, Age, Ancienneté, Log ZnU chez les exposés à des niveaux relativement élevé de SO<sub>2</sub>.

Dans ce groupe avec une forte exposition au dioxyde de soufre , le tabac est toujours le seul facteur significatif prédisant des modifications de SP-D et le rapport CC<sub>16</sub>/ SP-D. Non seulement, le tabac ( $r = -0,75$ ,  $p < 0,0001$ ) mais aussi l'ancienneté au travail ( $r = -0,126$ ,  $p = 0,046$ ) est corrélée négativement avec la CC<sub>16</sub>, mais aussi avec l'ancienneté à l'emploi ( $r = -0,126$ ,  $p = 0,046$ ). D'où l'étude des Corrélations entre CC16 et ancienneté au travail en fonction de la catégorie tabac.

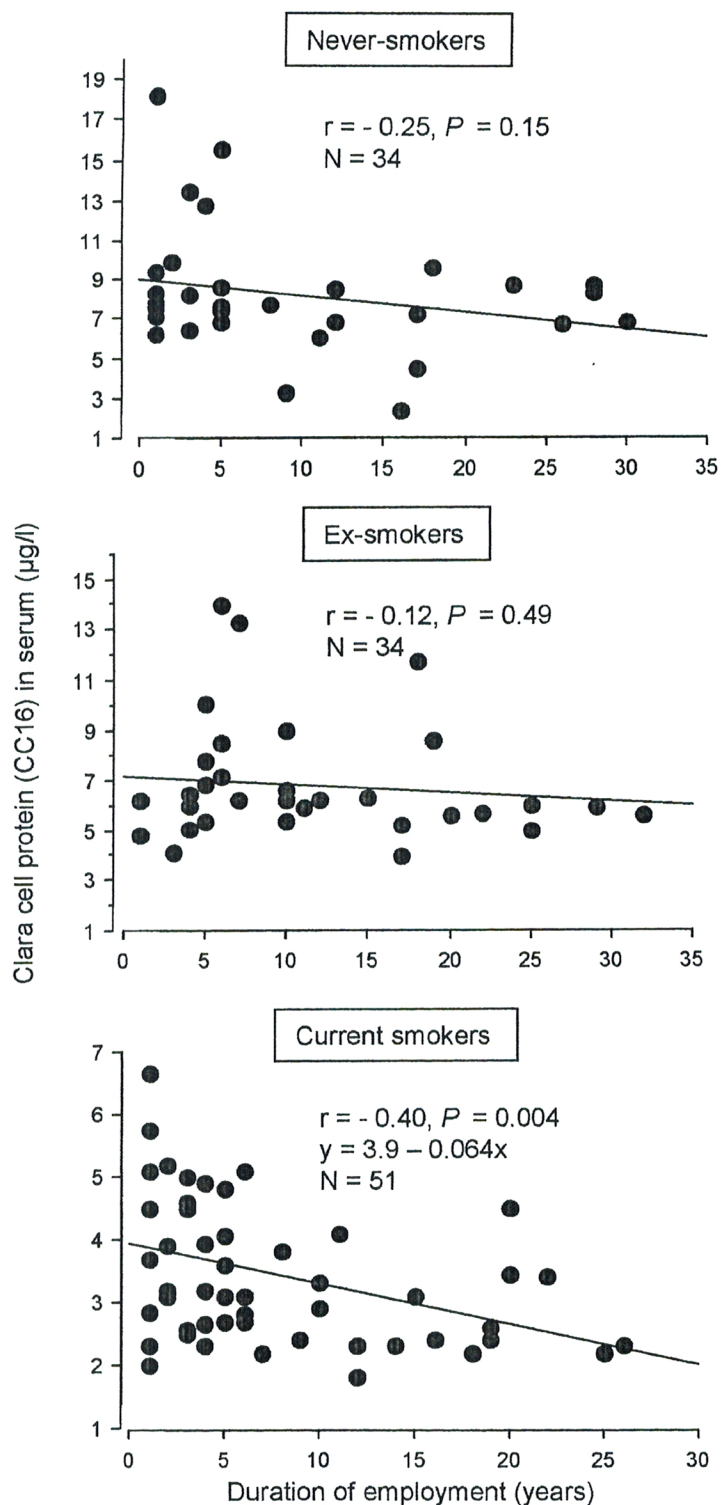


Figure 10 : Corrélations entreCC16 et ancienneté au travail en fonction de la catégorie tabac.

Comme illustré par la figure 10, l'influence de la durée d'emploi sur la CC<sub>16</sub> est retrouvée particulièrement chez les fumeurs.

## I1- DISCUSSION

La présente étude a été réalisée dans une usine de production d'acide sulfurique et d'électrolyse de zinc. Elle a contribué à fournir un état descriptif et analytique des manifestations infra-cliniques de la fonction pulmonaire.

Avant d'aller plus loin dans l'analyse, il nous a paru important d'aborder en premier lieu les biais de l'Etude, relatifs à :

- La méthode de dosage du SO<sub>2</sub> dans l'atmosphère de travail. En effet la métrologie d'ambiance a été appréciée par une mesure ponctuelle au niveau des différents ateliers. Une métrologie individuelle puis une analyse quantitative en laboratoire aurait été plus intéressante.
- Le spirométrie qui nécessite une parfaite coopération de l'ouvrier, qui reste parfois difficile à obtenir.
- La polyvalence des postes de travail de certains ouvriers de l'entreprise Alzinc.
- La population témoin qui intervient dans le secteur du textile où des affections respiratoires d'origine allergiques peuvent être provoquées par les poussières de coton. L'usine en question produit des couvertures à partir des fibres acryliques ; l'acrylonitrile qui sert à la fabrication des fibres synthétiques entraîne à long terme des signes d'irritation des muqueuses respiratoires.

Néanmoins des observations tout à fait intéressantes ont pu être faites.

Les changements sériques des niveaux de CC<sub>16</sub> et SP-D observés dans cette étude sont le reflet des dommages de l'épithélium pulmonaire induits, par le tabac et l'exposition au SO<sub>2</sub> et probablement par d'autres irritants présents dans l'atmosphère de l'usine.

Comme il a été déjà démontré dans plusieurs études [189], la réduction des niveaux de CC<sub>16</sub> sérique en fonction du tabac est le reflet de la réduction du nombre de cellules de Clara et plus tard de la sécrétion des protéines à la surface des voies aériennes [190-191].

La réduction de la CC<sub>16</sub> associée à l'exposition au SO<sub>2</sub> est aussi probablement la conséquence de la réduction des cellules de Clara tapissant les voies aériennes. Jusqu'à présent aucun autre mécanisme n'a été proposé pour expliquer la diminution des niveaux des protéines pulmonaires. L'hypothèse de dommages chroniques causés par l'exposition au dioxyde de soufre est renforcée par l'augmentation de la perméabilité pulmonaire



reflétée par l'augmentation des niveaux de SP-D. La réduction du nombre de cellules de Clara est fréquemment associée à une perturbation de la barrière air –sang lors les dommages chroniques et aigus dans les modèles expérimentaux et humains [37]. D'ailleurs, c'est la raison pour laquelle le rapport CC16/SP-D ajustant la CC16 en fonction de la SP-D a été proposé comme indicateur plus sensible des dommages des cellules de Clara. Le calcul de ce rapport suppose cependant que la CC16 et la SP-D fuient de la même façon quand la barrière de l'épithélium pulmonaire est perturbée [191]. En d'autre terme, le rapport  $CC_{16} / SP-D$  pourrait être considéré comme un paramètre intégrant à la fois les dommages cellulaires ainsi que les changements de perméabilité de l'épithélium pulmonaire, ce qui pourrait expliquer la plus grande sensibilité de ce paramètre par rapport à la  $CC_{16}$  et SP-D seule.

Si tous les témoins ont accepté de réaliser l'examen spirométrique, seulement 55 % des ouvriers de Ghazaouet l'ont fait ; ce qui signifie que nos observations sont confondues par un biais de participation. Ce biais ne semble pas avoir d'effets sur les résultats des pneumoprotéines sériques. En effet, le profil de changements des pneumoprotéines en fonction du tabac et de l'exposition au  $SO_2$  est virtuellement le même dans l'ensemble de la population ou encore chez les sujets ayant accepté de réaliser les tests spirométriques.

Cette observation illustre la grande sensibilité des biomarqueurs pulmonaires qui peuvent détecter les dommages des voies aériennes avant que la fonction pulmonaire ne diminue. Cette observation souligne ainsi un intéressant aspect du biomarqueur utilisé pour l'évaluation du risque. Par définition, les biomarqueurs fournissent des mesures objectives. Ils ne prônent pas de biais de mémoire ou de rappel [91]. Ce qui est suggéré par cette étude, c'est que les biomarqueurs d'effet sont moins sensibles au biais de participation. C'est une issue très utile dans plusieurs cas particuliers comme celui ou les ouvriers refusent de faire les tests traditionnels et ce pour des raisons différentes.

Dans plusieurs points, notre étude se rapproche de celle d'Osterman et al (1989) [34]. En examinant des ouvriers exposés à des niveaux de  $SO_2$  comparables aux notre, les auteurs ont trouvé que le dioxyde de soufre et le tabac interagissent étrangement dans le développement des symptômes respiratoires.

Le tabac et le  $SO_2$  interagissent aussi d'une manière synergique dans notre étude causant un effet additif sur la diminution des niveaux de  $CC_{16}$  sériques. Cette interaction a aussi

émergée dans la relation entre  $CC_{16}$  et ancienneté au travail qui était plus significatif chez les sujets fumeurs, mais n'atteignait pas le seuil de signification statistique chez les non fumeurs. Par contraste, on n'a pas noté d'interaction significative entre tabac et  $SO_2$  quand les niveaux de SP-D augmentaient ou le rapport  $CC_{16} / SP-D$  diminuait.

La raison de cette différence de réponse entre  $CC_{16}$  et SP-D n'est pas claire, mais pourrait être due aux sites de sécrétion de ces deux pneumo protéines. Si, la SP-D est toujours sécrétée par l'épithélium alvéolaire dans le poumon profond, la  $CC_{16}$  est sécrétée principalement dans les voies aériennes où la majorité du tabac et l'exposition au  $SO_2$  sont déposés. Ceci suggère que la  $CC_{16}$  est un biomarqueur plus convenable pour la détection de l'interaction entre les toxiques inhalés.

Il est difficile d'estimer à partir de notre étude, un niveau atmosphérique de  $SO_2$  pour lequel l'épithélium respiratoire des ouvriers pourrait être chroniquement endommagé.

Une des raisons, est l'absence de données historiques concernant les niveaux moyens d'exposition au  $SO_2$  dans cette entreprise, tout comme les pics éventuels d'exposition. Si le  $SO_2$  est le polluant atmosphérique majeur, les effets observés peuvent être aussi attribués à d'autres irritants pulmonaires auxquels les ouvriers sont aussi exposés, comme les oxydes de nitrogène.

La situation est aussi plus compliquée par l'interaction avec le tabac qui probablement rend les voies aériennes des fumeurs plus sensibles au  $SO_2$ . Néanmoins, on peut conclure que le niveau de  $SO_2$  en moyenne est deux fois plus bas que la TLV actuelle (2 ppm) et est délétère pour les voies aériennes des ouvriers.

Notre étude étend cependant la liste des toxiques professionnels provoquant un effet aiguë ou chronique sur les changements des niveaux sériques de  $CC_{16}$  ou SP-D.

Les ouvriers exposés à la silice cristalline ou souffrant de silicose ont montré le même profil pour ce qui est des effets observés dans cette présente étude (Diminution des niveaux de  $CC_{16}$  sérique) [192], associée avec une augmentation de la SP-D sérique [193]. Une diminution des niveaux de  $CC_{16}$  sériques a aussi été enregistrée chez des ouvriers d'une fonderie de fer [194] et d'aluminium [195]. La  $CC_{16}$  peut avoir un double significatif et refléter aussi une augmentation de la perméabilité de l'épithélium pulmonaire.

On a noté une augmentation de la  $CC_{16}$  sérique chez des ouvriers exposés d'une manière aigue ou répétées à des irritants endommageant la barrière de l'épithélium pulmonaire comme la fumée d'incendie [196-197], les bio aérosols (endotoxines) [198] ou des expositions au goudron [199]. Des variations similaires dans les niveaux de  $CC_{16}$  reflétant une perte des cellules de Clara ou une diminution de la perméabilité pulmonaire ont été aussi décrites récemment dans des populations avec des courtes ou longues expositions aux gaz ou des particules polluantes [200-201-202-203].

## **CONCLUSION ET PERSPECTIVE**

Ce travail a été mené afin d'améliorer la protection de la santé des ouvriers d'Alzinc par une meilleure connaissance et une prévention plus efficace des effets respiratoires induit par une exposition chronique au SO<sub>2</sub>.

La métrologie d'ambiance a été déterminée par mesure ponctuelle du SO<sub>2</sub> dans tous les ateliers de l'usine Alzinc et à chaque fois à trois endroits différents. Une moyenne a été calculée pour chaque atelier. Ainsi deux niveaux d'exposition au SO<sub>2</sub> ont été définis < 0,5 ppm (bas) et > 0,5 ppm (relativement élevé).

Afin de détecter les modifications infra cliniques de l'appareil respiratoire causées par l'exposition chronique au SO<sub>2</sub>, nous avons évalué les concentrations sériques de deux protéines pulmonaires secrétées dans les voies aériennes distales et reflétant l'intégrité de l'épithélium pulmonaire et le revêtement cellulaire du poumon (cellule de Clara). Ces deux protéines spécifiques sont la SP-D et la CC<sub>16</sub>.

Les résultats que nous avons obtenus montrent que :

- 1- L'exposition au SO<sub>2</sub> dans l'usine de production de zinc est associée à une diminution de niveaux sériques de CC<sub>16</sub> et une augmentation des niveaux de Sp-D. Le rapport CC<sub>16</sub>/Sp-D est aussi significativement diminué. Ceci est signe d'un effet précoce du SO<sub>2</sub> sur la fonction pulmonaire (réduction du nombre de cellule de Clara et augmentation de la perméabilité de l'épithélium pulmonaire).
- 2- On note une modification significative des niveaux sériques de CC<sub>16</sub> et Sp-D en l'absence de signes cliniques de diminution de la fonction pulmonaire. Cette observation illustre la grande sensibilité des biomarqueurs pulmonaires qui peuvent détecter les dommages des voies aériennes avant que la fonction pulmonaire ne diminue.
- 3- Le tabac cause des modifications similaires à l'exposition du SO<sub>2</sub> pour les deux pneumoprotéines sériques. Il s'agit donc d'un toxique supplémentaire rendant les voies aériennes des fumeurs plus sensibles au dioxyde de soufre.
- 4- Le tabac et le SO<sub>2</sub> interagissent de manière synergique causant un effet additif sur des niveaux de CC<sub>16</sub> sériques. Par contraste, on ne note pas cette interaction

significative quand les niveaux de Sp-D augmentent ou le rapport  $CC_{16}/Sp-D$  diminue. La  $CC_{16}$  pourrait donc être considérée comme un biomarqueur plus convenable pour la détection de l'interaction entre les toxiques inhalés.

- 5- Il est difficile d'estimer à partir de notre étude, un niveau atmosphérique de  $SO_2$  pour lequel l'épithélium respiratoire des ouvriers pourrait être chroniquement endommagé. Néanmoins, on peut conclure que le niveau de  $SO_2$  en moyenne est deux fois plus bas que la TLV actuelle (2 ppm) et est délétère pour les voies aériennes des ouvriers.

### Perspectives :

Le risque d'intoxication chronique induit par dioxyde de soufre semble menacer la fonction pulmonaire des travailleurs de l'usine d'électrolyse de zinc de Ghazaouet. Pour réduire ce risque, il est impératif d'utiliser un moyen de prévention sûre telle que le déclenchement d'une alarme dès que la concentration dans l'atmosphère atteint la TLV. En plus, l'usine se doit de procéder à la restructuration des sites afin de permettre aux ouvriers de travailler en vase clos et dans des locaux bien ventilés. Adopter une ventilation localisée surtout dans l'atelier grillage et production d'acide sulfurique. L'efficacité des mesures de ventilation doit être vérifiée par des dosages atmosphériques (métrologie) en vue d'une comparaison aux valeurs limites d'exposition. Il est essentiel d'entretenir régulièrement les installations, réduire les gaz d'échappement de la grande cheminée qui pollue l'atmosphère de l'usine et de l'entourage et éviter au maximum les incidents techniques qui augmentent d'avantage le débit des rejets gazeux de l'usine.

Nos résultats nous ont permis aussi de suggérer que le  $SO_2$  peut induire ses effets chroniques sur la fonction respiratoire à des niveaux plus faibles que la TLV actuelle. Signalons que la norme actuelle aux Etats unis est de 0.5ppm au lieu de 2ppm en Europe.

La main d'œuvre de l'usine n'hérite d'aucun passé industriel, elle est d'origine rurale et fait son apprentissage sur le tas, il est donc essentiel de l'avertir sur le risque encouru. Ces travailleurs doivent adopter de manière rigoureuse des mesures d'hygiène générale (Vêtement de travaux régulièrement nettoyés, vestiaires à deux compartiments pour éviter la contamination des effets personnels, éviter de boire et manger sur les lieux de travail, se laver les mains, ongles coupés courts...).

Aussi ce travail a mis en évidence l'effet délétère du tabagisme sur les voies aériennes en plus de l'exposition au dioxyde de soufre. Une campagne intensive de prévention du tabagisme et donc justifiée.

Le dioxyde de soufre n'est pas le seul corps nocif dans cette entreprise .Il pourrait également exister le risque d'exposition à l'arsenic, le vanadium, le thallium, le manganèse, existant à l'état d'impureté dans le minerai et éliminé au fur et à mesure au cours du procédé de purification du zinc. Aussi, L'hydrogène arsénié qui se dégage sous l'action de l'acide sulfurique sur le minerai pourrait provoquer des intoxications aiguës.

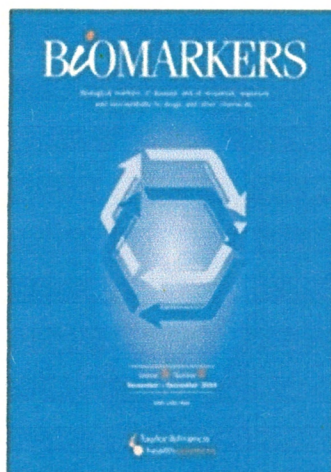
This article was downloaded by: [Bernard, Alfred]

On: 7 August 2009

Access details: Access Details: [subscription number 905074379]

Publisher Informa Healthcare

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



## Biomarkers

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713693137>

### Lung epithelium injury biomarkers in workers exposed to sulphur dioxide in a non-ferrous smelter

Nahida Haddam <sup>a\*</sup>; Sekkal Samira <sup>\*</sup>; Xavier Dumont <sup>‡</sup>; Abdesselem Taleb <sup>\*</sup>; Vincent Haufroid <sup>‡</sup>; Dominique Lison <sup>‡</sup>; Alfred Bernard <sup>‡</sup>

<sup>a</sup> Laboratory of Medical Toxicology (ToxicoMed), Faculty of Medicine, University Abou Bekr Belkaid,

Tlemcen, Algeria <sup>b</sup> Institute of Biology, Faculty of Science, University Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algeria

<sup>‡</sup> Unit of

Industrial Toxicology and Occupational Medicine, Catholic University of Louvain, Belgium

Online Publication Date: 01 August 2009

To cite this Article Haddam, Nahida, Samira, Sekkal, Dumont, Xavier, Taleb, Abdesselem, Haufroid, Vincent, Lison, Dominique and Bernard, Alfred(2009)'Lung epithelium injury biomarkers in workers exposed to sulphur dioxide in a non-ferrous smelter', *Biomarkers*, 14:5,292 — 298

To link to this Article: DOI: 10.1080/13547500902989088

URL: <http://dx.doi.org/10.1080/13547500902989088>

## PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.informaworld.com/terms-and-conditions-of-access.pdf>

This article may be used for research, teaching and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, re-distribution, re-selling, loan or sub-licensing, systematic supply or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.



## RESEARCH ARTICLE

# Lung epithelium injury biomarkers in workers exposed to sulphur dioxide in a non-ferrous smelter

Nahida Haddam<sup>1,2</sup>, Sekkal Samira<sup>1</sup>, Xavier Dumont<sup>3</sup>, Abdesselem Taleb<sup>1</sup>, Vincent Haufroid<sup>3</sup>, Dominique Lison<sup>3</sup>, and Alfred Bernard<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Medical Toxicology (ToxicoMed), Faculty of Medicine and <sup>2</sup>Institute of Biology, Faculty of Science, University Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algeria, and <sup>3</sup>Unit of Industrial Toxicology and Occupational Medicine, Catholic University of Louvain, Belgium

---

**Abstract**

Serum Clara cell protein (CC16) and surfactant-associated protein D (SP-D) were measured in 161 workers exposed to sulphur dioxide (SO<sub>2</sub>) in a non-ferrous smelter. Seventy workers from a blanket manufacture served as referents. Exposure to SO<sub>2</sub> and tobacco smoking were associated with a decrease of CC16 and an increase of SP-D in serum. Tobacco smoking and exposure SO<sub>2</sub> interacted synergistically to decrease serum CC16 but not to increase serum SP-D. While further illustrating the potential of serum CC16 and SP-D, our study confirms that SO<sub>2</sub> can cause airways damage at exposure levels below current occupational exposure limits.

**Keywords:** Clara cell protein; surfactant-associated protein D; sulphur dioxide exposure; lung epithelium; pneumoprotein

---

## Introduction

Sulphur dioxide (SO<sub>2</sub>) is a corrosive gas released primarily during the burning of fossil fuels, the manufacture of sulphuric acid and the roasting of sulphide ores in non-ferrous smelters. The short-term effects of this pulmonary irritant are well documented especially by controlled-exposure experiments on volunteers. Respiratory effects of SO<sub>2</sub>, which develop very quickly, consist in irritation symptoms, lung function decrements, decreased mucociliary clearance and an inflammatory response (Schlesinger 1999, Lippmann 2000). Exercise, oral breathing and co-exposure to other pollutants such as particulate matter have been shown to aggravate the respiratory effects of SO<sub>2</sub> (Schlesinger 1999). Asthmatics are particularly sensitive to SO<sub>2</sub> and show a significant decrease in forced expiratory volume in 1 s (FEV<sub>1</sub>) even from concentrations of about 0.5 ppm (Sheppard et al. 1980).

Much less is known about the long-term respiratory effects of SO<sub>2</sub>. Even in industrial workers exposed to relatively high concentrations of SO<sub>2</sub>, the exact levels from which this gas can chronically damage the airways and impair lung function are still uncertain. Studies in occupational settings, most of which date to the 1970s, have provided conflicting results. Smith et al. (1977) found a significant decrease in FEV<sub>1</sub> in a group of copper smelter workers (n = 113) exposed to more than 1 ppm SO<sub>2</sub>. The study of a larger cohort in the same plant (n = 430) did not confirm these findings as no change in pulmonary function was detected in workers exposed to more than 5 ppm SO<sub>2</sub> (Lebowitz et al. 1979). Lowe et al. (1970) also found no increase in respiratory symptoms and no reduction in respiratory performance in a survey of two large cohorts of steel plant workers (n = 4506 and 5943) exposed to 0.8-1.2 ppm SO<sub>2</sub>. However, in another study of copper smelter workers (n = 953), a reduction of the forced vital capacity (FVC) and FEV<sub>1</sub> was found in

---

Address for Correspondence: Alfred Bernard, Unit of Industrial Toxicology and Occupational Medicine, Faculty of Medicine, Catholic University of Louvain, Avenue E. Mounier 53.02, B-1200 Brussels, Belgium. Tel.: 32-2-7645334. Fax: 00-32-2-7645328. E-mail: alfred.bernard@uclouvain.be

(Received 22 April 2009; accepted 22 April 2009)

ISSN 1354-750X print/ISSN 1366-5804 online © 2009 Informa UK Ltd  
DOI: 10.1080/13547500902989088

<http://www.informapharmascience.com/bmk>

workers who had been exposed to 0.4–3.0 ppm SO<sub>2</sub> for more than 20 years (Archer & Gillan 1978). This reduction correlated with the duration of exposure, both in smokers and in non-smokers. More recently, Osterman et al. (1989) reported similar observations in silicon carbide workers who had been exposed to an average of 1.5 ppm SO<sub>2</sub> or less and momentarily to peaks up to 4 ppm SO<sub>2</sub>. These authors found highly significant relations between cumulative exposure to SO<sub>2</sub> and symptoms of phlegm, wheeze and dyspnoea. Interestingly, they found a synergistic interaction between tobacco smoking and exposure to SO<sub>2</sub> in the development of most respiratory symptoms. These findings suggest that exposure to 1.5 ppm SO<sub>2</sub> or less can be detrimental to airways and that the current occupational exposure limit for SO<sub>2</sub> (American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH 2008) threshold limit value (TLV)-time weighted average (TWA), 2 ppm) may not adequately protect workers.

Over the past few years, novel approaches have been developed to assess non-invasively airway damage or inflammation caused by inhaled pollutants. Such an approach, referred to as pneumoproteinaemia, consists of measuring plasma lung-specific proteins (pneumoproteins) reflecting the cellular integrity or the permeability of the bronchoalveolar blood barrier (Hermans & Bernard 1998, 1999). Among these proteins, the most validated as a lung biomarker is the Clara cell protein (CC16, CC10 or secretoglobin 1A1), an anti-inflammatory protein secreted along the tracheobronchial tree, and the surfactant-associated protein D (SP-D), which is secreted by the alveolar epithelium in the deep lung. The aim of the present study was to evaluate whether or not these two lung markers can detect airway damage in workers chronically exposed to SO<sub>2</sub> in a non-ferrous smelter.

## Materials and methods

### Study population

The study population included 161 apparently healthy workers, all male, who had been exposed to SO<sub>2</sub> in the non-ferrous smelter of Ghazaouet in Algeria. The smelter annual production is 36 000 tons of zinc and 72 000 tons of sulphuric acid. The production of cadmium ceased in 1999. Exposed workers were recruited out of a total population of 235 workers (participation rate of 69%). They were divided into a low- and high-exposure group according to the level of SO<sub>2</sub> at the worksite. The low-exposure group included 42 workers who had been exposed on average to less than 0.5 ppm (0.2–0.3 ppm SO<sub>2</sub>). These subjects were members of the administrative staff or were workers not directly involved in

smelting operations. The high-exposure group included 119 workers exposed to SO<sub>2</sub> concentrations higher than 0.5 ppm and ranging from 0.7 to 2.2 ppm. These workers were directly engaged in the smelting operations or in the production of sulphuric acid. The referents group was constituted of 70 male workers from an acrylic blanket factory located in Tlemcen, a city 60 km from Ghazaouet.

### Protocol

The protocol included a questionnaire, a spirometric test and the collection of urine and blood for metals or pneumoprotein analyses. All workers were examined in the morning between 7:30 and 8:30. A Schiller type Sp1 spirometer (Schiller, Baar, Switzerland) was used to assess the FVC (% of predicted values) and the FEV<sub>1</sub> (% of predicted values). The FVC and the FEV<sub>1</sub> were the means of the best acceptable values obtained in accordance with the guidelines of the American Thoracic Society (1995). Blood samples were obtained by venipuncture and collected in dry tubes. Each sample was allowed to clot and after centrifugation, the serum was decanted and stored at -18°C. CC16 was determined in serum by latex immunoassay using rabbit anti-Clara cell protein (Dakopatts, Glostrup, Denmark) and as standard CC16 purified in our laboratory (Bernard et al. 1992a). This assay has been validated by comparison with a monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Hermans et al. 1998). The concentration of SP-D in serum was determined by the SP-D ELISA kit from the Yamasa Corporation, Tokyo, Japan. Urinary cadmium and zinc were quantified by means of inductively coupled argon plasma mass spectrometry (ICP-MS) with an Agilent 7500 instrument. Briefly, urine specimens (500 µl) were diluted quantitatively (1 + 9) with a HNO<sub>3</sub> 1%, HCl 0.5% solution containing Sc, Ge, Rh and Ir as internal standards. Cd was analysed using no-gas mode while helium mode was selected to quantify Zn. Using this validated method, the laboratory has obtained successful results in external quality assessment schemes organized by the Institute for Occupational, Environmental and Social Medicine of the University of Erlangen, Germany (G-EQUAS programme) and by the 'Institut National de Santé Publique, Québec (PCI and QMEQUAS programmes). Creatinine was determined using a Beckman Synchron LX 20 analyser (Beckman Coulter GmbH, Krefeld, Germany). Urine samples with a creatinine concentration lower than 0.3 g l<sup>-1</sup> or higher than 3 g l<sup>-1</sup> were excluded. The concentration of SO<sub>2</sub> in the air of the smelter was measured at different stationary sites using the transportable Testo 350 M/XL control unit (Testo N.V/S.A. Schapenbaan 1, B-1741 Ternat, Belgium).

### Statistics

Continuous variables were described as the mean with standard deviation and compared between groups by the ANOVA test followed by the Dunnett's multiple comparison test. Categorical variables were compared by the  $\chi^2$  test. We used two-way ANOVA to assess the changes in serum pneumoproteins associated with exposure to SO<sub>2</sub>, smoking status (never-, ex- and current smoker categorized as 1, 2 and 3) and the possible interactions between these factors. Factors influencing the serum levels of pneumoproteins were identified by a stepwise regression analysis testing as potential predictors the age and the smoking status in referents and the duration of employment and smoking status in the low- and high-exposure groups analysed separately. Independent variables in multiple regression analyses were entered at a p-value of 0.25 and kept in the model at p < 0.05. The relations between serum CC16 and duration of employment in the exposed groups were assessed by Pearson's correlation. With the exception of age, all variables were normalized by log transformation. The level of statistical significance was set at p < 0.05. Statistical analyses were performed by using SAS version 9.1.3 (SAS International, Cary, NC, USA).

### Results

Table 1 shows the characteristics of the two exposure groups of smelter workers and of the acrylic blanket factory workers who served as referents. There were no significant differences between the three groups with respect to age, body mass index, duration of employment and the urinary excretion of zinc and cadmium,

even though the latter was slightly higher in the higher SO<sub>2</sub> exposure group. The proportions of never-, ex- and current smokers as well as the mean pack-years were also very similar between the three groups of workers.

The results of lung function tests and of pneumo-protein determination in serum are given in Table 2. All referents performed the spirometry whereas only 62% of the workers in the low and 54% in the high SO<sub>2</sub> exposure group agreed that their lung function be evaluated. While the FVC did not differ between the groups, the FEV<sub>1</sub> was significantly higher in workers with the greatest SO<sub>2</sub> exposure compared with the referents. While lung function tests did show, if any, an apparent improvement with SO<sub>2</sub> exposure, tobacco smoking and exposure to SO<sub>2</sub> in the smelter were associated with a decrease of serum CC16 and an increase of serum SP-D. The serum CC16/SP-D ratio, integrating both types of changes, was markedly decreased, on average by 42% in the most exposed workers. The comparison of serum pneumo-protein levels among all workers, including those who did not perform lung function tests, revealed the same pattern of changes in serum CC16 and SP-D as well as in the CC16/SP-D ratio. The concentration of serum CC16 correlated negatively with that of serum SP-D in the whole population ( $r = -0.31$ ,  $p < 0.0001$ ,  $n = 231$ ), in the referents ( $r = -0.27$ ,  $p = 0.02$ ,  $n = 70$ ) as well as in the high SO<sub>2</sub> exposure group ( $r = -0.23$ ,  $p = 0.01$ ,  $n = 119$ ).

As tobacco smoking is known to strongly influence the circulating levels of CC16 and SP-D, we assessed by a two-way analysis of variance the effects of SO<sub>2</sub> exposure and of the smoking status (never-, ex- and current smokers) and the possible interactions between both factors. As illustrated in Figure 1, exposure to SO<sub>2</sub> was associated with a highly significant decrease of serum CC16 and increase of serum

Table 1. Characteristics of smelter workers and their referents.

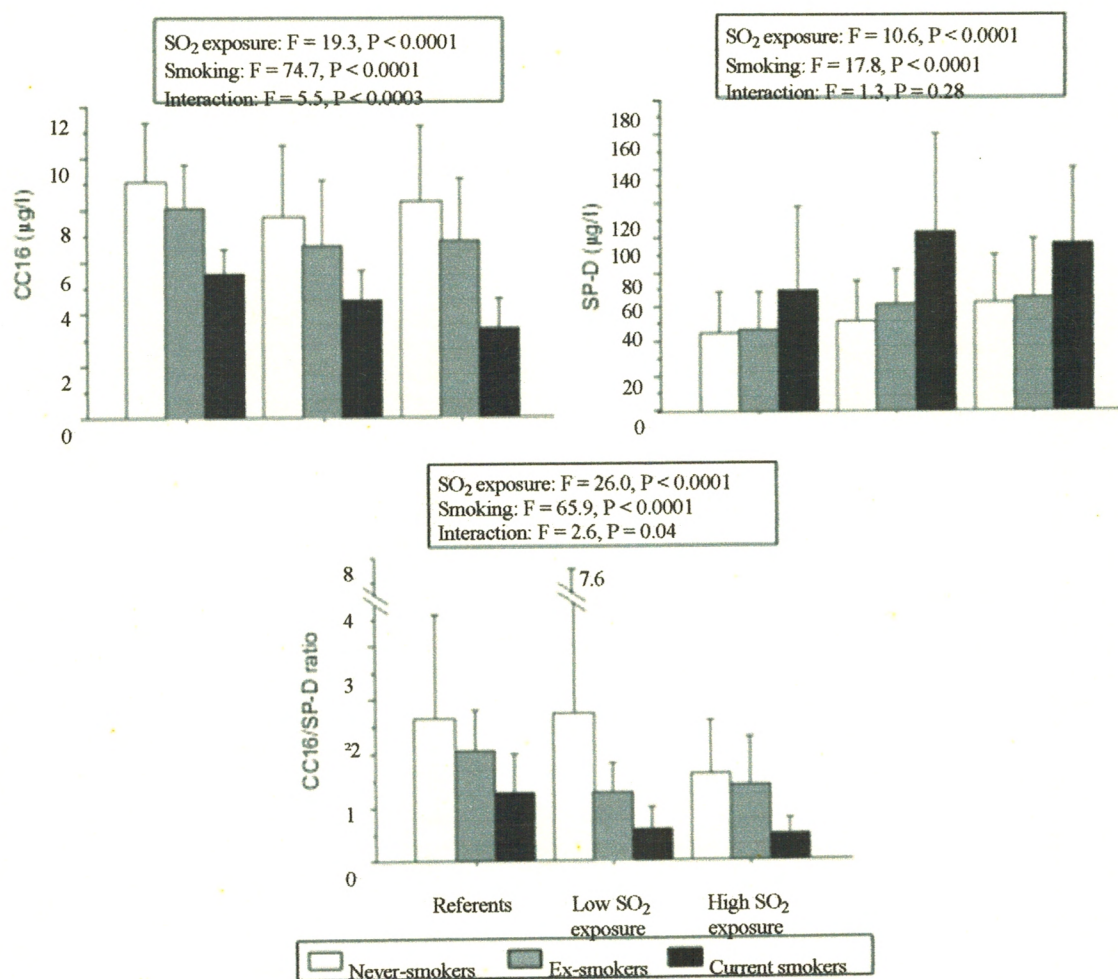
Parameter	Referents (blanket factory workers)	Workers exposed to sulphur dioxide		p-Value
		Low exposure (0.2-0.3 ppm SO <sub>2</sub> )	High exposure (SO <sub>2</sub> 0.7-2.2 ppm)	
n	70	42	119	
Age (years)	40.5 (8.6)	40.0 (9.1)	39.2 (10.7)	0.82
Body mass index (kg m <sup>-2</sup> )	24.5 (4.9)	25.9 (3.8)	25.5 (3.9)	0.17
Duration of employment (years)	8.4 (7.0)	12.6 (9.1)	9.1 (8.2)	0.06
Zinc in urine ( $\mu\text{g g}^{-1}$ creatinine)	351 (300)	299 (171)	365 (305)	0.34
Cadmium in urine ( $\mu\text{g g}^{-1}$ creatinine)	0.75 (0.53)	0.74 (0.41)	1.10 (1.32)	0.22
Never-smokers, n (%)	28 (40.0)	13 (31.0)	34 (28.6)	0.47
Ex-Smokers				
n (%)	15 (21.4)	14 (33.3)	34 (28.6)	0.35
Pack-years (n)	14.1 (8.9)	16.7 (8.4)	15 (4.9)	0.57
Current smokers				
n (%)	27 (38.6)	15 (35.7)	51 (42.9)	0.68
Pack-years (n)	18.1(10.3)	17.5 (2.0)	18.0 (7.4)	0.96

Data are represented as mean (SD). p-Values indicate the level of statistical significance in  $\chi^2$  test (prevalences) or in the ANOVA test (mean values).

**Table 2. Lung function and serum pneumoproteins in workers exposed to sulphur dioxide and their referents.**

Parameter	Referents (blanket plant)		Workers exposed to sulphur dioxide				p-Value
	n	Mean (SD)	n	Mean (SD)	n	Mean (SD)	
FVC (% of predicted value)	70	86.8 (6.2)	26	94.5(5.4)	64	93.7 (6.7)	0.11
FEV <sub>1</sub> (% of predicted value)	70	90.3(12.8)	26	91.7 (6.4)	64	93.5 (6.2)*	0.0005
CC16 in serum ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )							
Workers with LFTs	7070	7.5 (2.3)	26	5.7 (1.9)	64	5.7(2.7)*	<0.001
All workers		7.5 (2.4)	42	6.2 (2.6)	119	5.8 (3.0)*	<0.001
SP-D in serum ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )							
Workers with LFTs	7070	54.5 (37.1) 54.5	26	73.8 (53.4) 74.9 (44.4)	64	74.2 (34.8)* 77.6 (40.9)*	<0.002
All workers		(37.2)	42		119		<0.001
CC16/SP-D in serum							
Workers with LFTs	7070	0.19 (0.15) 0.1	26	0.17 (0.34) 0.14 (0.27)	64	0.11 (0.10)* 0.10 (0.09)*	<0.001
All workers		9 (0.15)	42		119		<0.001

FVC, forced vital capacity; FEV<sub>1</sub>, forced expiratory volume in 1 s; LFTs, lung function tests. p-Values indicate the level of statistical significance in the  $\chi^2$  test (prevalences) or in the ANOVA test (mean values.). \*Significantly different from referents p < 0.05.



**Figure 1.** Effects of exposure to sulphur dioxide ( $\text{SO}_2$ ), smoking status and their possible interactions on the serum concentrations (mean and SD) of Clara cell protein (CC16), surfactant-associated protein D (SP-D) and the serum CC16/SP-D ratio. Results were assessed by two-way analysis of variance. The numbers in the different exposure and smoking categories are given in Table 1.

SP-D, the ratio between the two proteins being also markedly decreased. Almost exactly the same pattern of changes in the serum levels of the two pneumoproteins and their ratio was induced by tobacco smoking. When tobacco smoking and SO<sub>2</sub> exposure were combined, these two factors interacted synergistically to decrease serum CC16 and the CC16/SP-D ratio in serum. Tobacco smoking and SO<sub>2</sub> exposure did not interact, however, when increasing serum SP-D.

The influence of age in referents or of the duration of employment in the two exposure groups on the circulating levels of pneumoproteins were assessed by a multiple regression analysis adjusting for the smoking status. In referents and in the low-exposure group, tobacco smoking was the only significant predictor of serum CC16, SP-D and CC16/SP-D ratio; the age (in referents) and the duration of employment (low exposure) exerted no significant influence (results not shown). In the high SO<sub>2</sub> exposure group, serum SP-D correlated only with smoking status but interestingly an inverse association emerged between serum CC16 and both smoking status (log serum CC16, partial  $r = -0.75$ ,  $p < 0.0001$ ) and duration of employment (log serum CC16, partial  $r = -0.126$ ,  $p = 0.046$ ). The association of serum CC16 ( $r = -0.28$ ,  $p = 0.04$ ) persisted after adjustment for the number of pack-years, which indeed correlated with both age and duration of employment. As illustrated in Figure 2, this influence of duration of employment on serum CC16 was notable only in current smokers.

## Discussion

Changes in the serum levels of CC16 and SP-D observed in the present study are most likely the reflection of damage to the respiratory epithelium caused by tobacco smoking and exposure to SO<sub>2</sub> and perhaps also some other toxicants present in the atmosphere of the smelter. As demonstrated by several studies (Bernard et al 1992b, Bernard et al. 1994a, Shijubo et al 1997, Robin et al 2002), the reduction of serum CC16 caused by tobacco smoking mirrors a parallel reduction of the number of Clara cells and of the amount of protein secreted at the surface of airways. The reduction of serum CC16 associated with SO<sub>2</sub> exposure is probably also the consequence of a progressive loss of Clara cells as there is currently no evidence of an alternative mechanism that decrease the circulating levels of this lung-derived protein. The hypothesis of a chronic airways damage caused by SO<sub>2</sub> exposure is supported by the increased permeability of the pulmonary barrier as reflected by the elevation of serum SP-D. Loss of Clara cells is indeed frequently associated with a disruption of lung epithelial barrier both in acute or chronic lung damage in human and in experimental models of Clara cell damage (Hermans et al. 1999). This is the reason why the CC16/SP-D ratio, adjusting the level of CC16 for that of

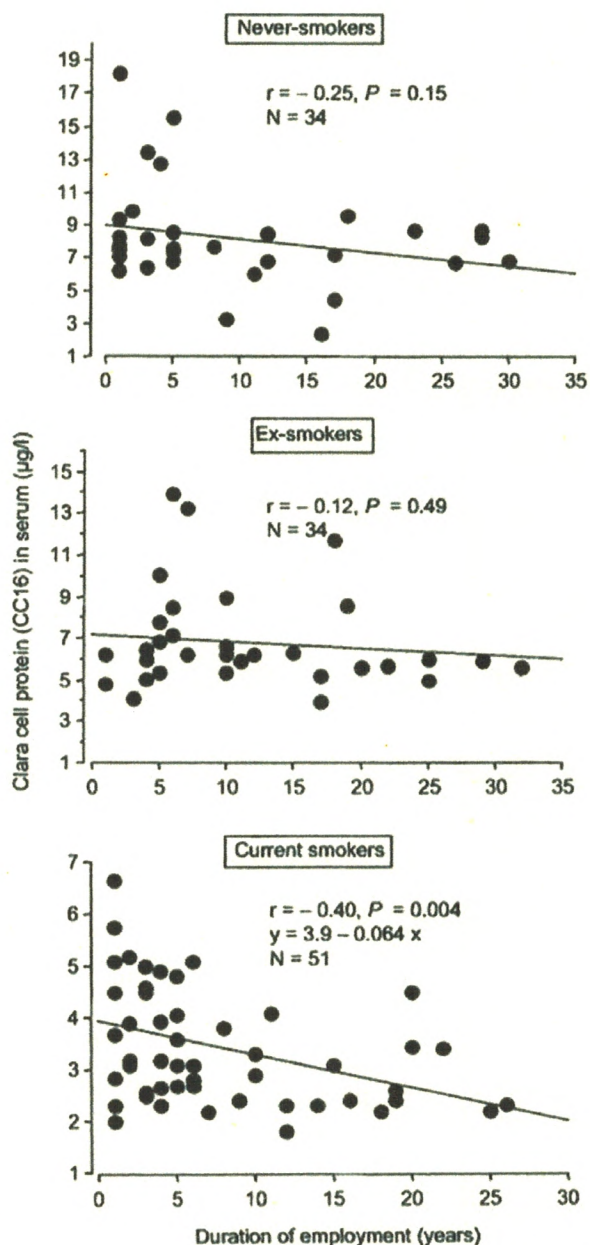


Figure 2. Associations between serum Clara cell protein (CC16) and duration of employment in workers exposed to sulphur dioxide ( $n = 119$ , high-exposure group, SO<sub>2</sub> 0.7–2.2 ppm) categorized by smoking status.

SP-D, has been proposed as a more accurate indicator of Clara cell damage. The calculation of this ratio relies, however, on the assumption that CC16 and SP-D similarly leak across the disrupted lung epithelial barrier (Robin et al. 2002). If CC16 and SP-D respond differently to changes in the permeability of the lung epithelial barrier, the CC16/SP-D ratio should be regarded as a more sensitive index of airway injury, integrating both cell damage and permeability changes of the lung epithelial barrier.

While all referents performed lung function tests, about 40% of the smelter workers refused to perform lung function tests, meaning that our observations might have been confounded by a participation bias. This participation bias has undoubtedly affected the results of the lung function tests, which paradoxically were significantly better in the most exposed group compared with the referents. Participation bias, however, does not seem to have affected the results of the serum pneumoproteins. The pattern of smoking and exposure-related changes in the circulating levels of these two proteins was indeed virtually the same whether considering the whole population or only the subjects who had their lung function tested. This observation confirms the great sensitivity of lung biomarkers, which can detect airway injury before lung function declines. This observation also highlights another interesting feature of lung biomarkers when used in population-based studies or surveys in the industry (Bernard 2008). Because they detect preclinical effects on the respiratory epithelium, which poorly correlated with lung function or symptoms and are normally unknown to the studied subjects, lung biomarkers might be less prone to participation biases than classical endpoints based on questionnaire or functional tests whose results are foreseeable or require an active participation of the subject. As shown in our study, this may be an advantage when study participants are not blinded to the tested hypothesis or when for different reasons it is not possible to achieve a satisfactory participation rate.

Although based on different endpoints, our results are in agreement with those of Osterman et al. (1989). Examining workers exposed to similar levels of sulphur dioxide, these authors found that SO<sub>2</sub> and tobacco smoking strongly interacted in the development of respiratory symptoms. Tobacco smoking and SO<sub>2</sub> also interacted synergistically in our study when decreasing the serum level of CC16. This interaction also emerged in the relationship between serum CC16 and duration of employment, which was highly significant in current smokers but failed to reach the level of statistical significance in never- or ex-smokers. There was however no significant interaction between tobacco smoking and SO<sub>2</sub> exposure when considering the increase of serum SP-D or the decrease of the serum CC16/SP-D ratio. The reason for this different response between CC16 and SP-D is unclear but it might be related to the site of secretion of these two pneumoproteins. While SP-D is mainly secreted by the alveolar epithelium in the deep lung, CC16 is predominantly secreted in the airways, precisely where most of the inhaled dose of tobacco smoke and of sulphur dioxide is deposited.

Our study further extends the list of occupational toxicants which have been shown to cause acute or chronic changes in the serum levels of CC16 or SP-D.

Workers exposed to crystalline silica or suffering from silicosis show the same pattern of effects as observed here, with a decrease of serum CC16 (Bernard et al. 1994b) and an increase of serum SP-D (Wang et al. 2007). Serum CC16 has also been found to be reduced in workers exposed to the atmosphere of iron (Bergamaschi et al. 2003) and aluminium foundries (Halatek et al. 2006). The serum CC16 test has, however, a dual meaning. In some circumstances the protein is elevated because of an increased leakage across the disrupted pulmonary epithelial barrier. For instance, an increase of CC16 has been found in workers with acute or repeated exposures to irritants disrupting the epithelial barrier such as firesmoke (Bernard et al. 1997, Burgess et al. 2001, Burgess et al. 1993), bioaerosols (endotoxin) (Steiner et al. 2005) or exposure to asphalt (Ulvestad et al. 2007). Similar variations of serum CC16 mirroring a loss of Clara cells or an increased epithelial permeability have been described recently in populations with short- or long-term exposures to gaseous or particulate pollutants (Arjomandi et al. 2008, Barregard et al. 2008, Madsen et al. 2008, Parvez et al. 2008).

In conclusion, our study further illustrates the potential of non-invasive lung markers to detect early effects of air pollutants. Even in situations where the assessment can be confounded by participation bias and co-exposure to other lung toxicants, lung markers such as CC16 or SP-D still prove reliable tools to detect airway damage and to bring to light possible interactions between lung toxicants. Applied to workers exposed to SO<sub>2</sub> these two markers show that this irritant gas can cause chronic effects on airways at exposure levels which are lower than the occupational exposure limits still in application in most countries (TLV of 2 ppm recommended by ACGIH, 2008).

## Acknowledgements

Alfred Bernard is Research Director of the National Fund for Scientific Research, Belgium. This work was supported by the Faculty of Science, University Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algeria.

**Conflicts of interest:** The authors report no conflict of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

## References

- ACGIH. American Conference of Governmental Industrial Hygienists. (2008). TLVs and BEIs.
- American Thoracic Society. (1995). Standardization of spirometry. 1994 update. *Am J Respir Crit Med* 152:1107-38.
- Archer VE, Gillam JD. (1978). Chronic sulfur dioxide exposure in a smelter. II. Indices of chest disease. *J Occup Med* 20:88-95.

- Arjomandi M, Tager IB, Bastaki M, Chen C, Holland N, Balmes JR. (2008). Is there an association between lifetime cumulative exposure and acute pulmonary responses to ozone? *J Occup Environ Med* 50:341-9.
- Bergamaschi E, Apostoli P, Catalani S, Festa D, Folesani G, Andreoli R, Manini P, Schenato S, DePalma G, Franchini I, Bernard A, Muti A. (2003). Indicators of pulmonary epithelial damage among workers at a foundry exposed to airborne pollutants. *G Ital Med Lav Ergon* 25:104-6.
- Barregard L, Sällsten G, Andersson L, Almstrand AC, Gustafson P, Andersson M, Olin AC. (2008). Experimental exposure to wood smoke: effects on airway inflammation and oxidative stress. *Occup Environ Med* 65:319-24.
- Bernard A. (2008). Biomarkers of metal toxicity in population studies: research potential and interpretation issues. *J Toxicol Environ Health A* 71:1259-65.
- Bernard A, Marchandise FX, Depelchin S, Lauwerys R, Sibille Y. (1992a). Clara cell protein in serum and bronchoalveolar lavage. *Eur Respir J* 5:1231-8.
- Bernard A, Roels H, Buchet JP, Lauwerys R. (1992). Decrease of serum Clara cell protein in smokers. *Lancet* 339:1620.
- Bernard AM, Roels HA, Buchet JP, Lauwerys RR. (1994a). Serum Clara cell protein: an indicator of bronchial cell dysfunction caused by tobacco smoking. *Environ Res* 66:96-104.
- Bernard AM, Gonzalez-Lorenzo JM, Siles E, Trujillano G, Lauwerys R. (1994b). Early decrease of serum Clara cell protein in silica-exposed workers. *Eur Respir J* 7:1932-7.
- Bernard A, Hermans C, Van Houte G. (1997). Transient increase of serum Clara cell protein (CC16) after exposure to smoke. *Occup Environ Med* 54:63-5.
- Burgess JL, Nanson CJ, Bolstad-Johnson DM, Gerkin R, Hysong TA, Lantz RC, Sherrill DL, Crutchfield CD, Quan SF, Bernard AM, Witten ML. (2001). Adverse respiratory effects following overhaul in firefighters. *Occup Environ Med* 43:467-73.
- Burgess JL, Witten ML, Nanson CJ, Hysong TA, Sherrill DL, Quan SF, Gerkin R, Bernard AM. (2003). Serum pneumoproteins: a cross-sectional comparison of firefighters and police. *Am J Ind Med* 44:246-53.
- Halatek T, Trzcinka-Ochocka M, Matczak W, Gruchala J. (2006). Serum Clara cell protein as an indicator of pulmonary impairment in occupational exposure to aluminum foundry. *Int J Occup Med Environmental Health* 19:211-23.
- Hermans C, Bernard A. (1996). Clara cell protein (CC16): characteristics and potential applications as biomarker of lung toxicity. *Biomarkers* 1:3-8.
- Hermans C, Bernard A. (1998). Pneumoproteinaemia: a new perspective in the assessment of lung disorders. *Eur Respir J* 11:801-3.
- Hermans C, Aly O, Nyberg BI, Peterson C, Bernard A. (1998). Determinants of Clara cell protein (CC16) concentration in serum: a reassessment with two different immunoassays. *Clin Chim Acta* 272:101-10.
- Hermans C, Bernard A. (1999). Lung epithelium-specific proteins: characteristics and potential applications as markers. *Am J Respir Crit Care Med* 159:646-78.
- Hermans C, Knoop B, Wiedig M, Arsalane K, Toubeau G, Falmagne P, Bernard A. (1999). Clara cell protein as a marker of Clara cell damage and bronchoalveolar blood barrier permeability. *Eur Respir J* 13:1014-21.
- Lebowitz MD, Burton A, Kaltenbom W. (1979). Pulmonary function in smelter workers. *J Occup Med* 21:255-9.
- Lippmann M. (2000). Sulfur oxides: acidic aerosols and SO<sub>2</sub>. In: Lippmann M, editor. *Environmental Toxicants. Human Exposures and Health Effects*. New York: Wiley-Interscience, John Wiley and Sons. p. 771-810.
- Lowe CR, Campbell H, Khosla T. (1970). Bronchitis in two integrated steel works. III. Respiratory symptoms and ventilator-y capacity related to atmospheric pollution. *Br J Ind Med* 27:121-9.
- Madsen C, Durand KL, Nafstad P, Schwarze PE, Rønningen KS, Håheim LL. (2008). Associations between environmental exposures and serum concentrations of Clara cell protein among elderly men in Oslo, Norway. *Environ Res* 108:354-60.
- Osterman JW, Greaves IA, Smith TJ, Hammond SK, Robins JM, Theriault G. (1989). Work related decrement in pulmonary function in silicon carbide production workers. *Br J Ind Med* 46:708-16.
- Parvez F, Chen Y, Brandt-Rauf PW, Bernard A, Dumont X, Slavkovich V, Argos M, D'Armiento J, Foronjy R, Hasan MR, Eunus HE, Graziano JH, Ahsan H. (2008). Nonmalignant respiratory effects of chronic arsenic exposure from drinking water among never-smokers in Bangladesh. *Environ Health Perspect* 116:190-5.
- Petrek M, Hermans C, Kolek V, Fialová J, Bernard A. (2002). Clara cell protein (CC16) in serum and bronchoalveolar lavage fluid of subjects exposed to asbestos. *Biomarkers* 7:58-67.
- Robin M, Dong P, Hermans C, Bernard A, Bersten AD, Doyle IR. (2002). Serum levels of CC16, SP-A and SP-B reflect tobacco-smoke exposure in asymptomatic subjects. *Eur Respir J* 20:1152-61.
- Schlesinger RB. (1999). Toxicology of sulfur oxides. In: Holgate S, Samet J, Koren H, Maynard R. *Air Pollution and Health*. New York: Academic Press. p. 585-602.
- Sheppard D, Wong WS, Uehara CF, Nadel JA, Boushey HA. (1980). Lower threshold and greater bronchomotor responsiveness of asthmatic subjects to sulfur dioxide. *Am Rev Respir Dis* 122:873-8.
- Shijubo N, Itoh Y, Yamaguchi T, Shibuya Y, Morita Y, Hirasawa M, Okutani R, Kawai T, Abe S. (1997). Serum and BAL Clara cell 10kDa protein (CC10) levels and CC10-positive bronchiolar cells are decreased in smokers. *Eur Respir J* 10:1108-14.
- Smith TJ, Peters JM, Reading JC, Castle CJH. (1977). Pulmonary impairment from chronic exposure to sulphur dioxide in a smelter. *Am Rev Respir Dis* 116:31-9.
- Steiner D, Jeggli S, Tschopp A, Bernard A, Oppliger A, Hilfiker S, Hotz P. (2005). Clara cell protein and surfactant protein B in garbage collectors and in wastewater workers exposed to bioaerosols. *Int Arch Occup Environ Health* 78:189-97.
- Ulvestad B, Randem BG, Andersson L, Ellingsen DG, Barregard L. (2007). Clara cell protein as a biomarker for lung epithelial injury in asphalt workers. *J Occup Environ Med* 49:1073-8.
- Wang SX, Liu P, Wei MT, Chen L, Guo Y, Wang RY, Tu ZG, Liang XC. (2007). Roles of serum clara cell protein 16 and surfactant protein-D in the early diagnosis and progression of silicosis. *J Occup Environ Med* 49:834-9.

**QUATRIEME PARTIE**

**ETUDE DES**

**BIOMARQUEURS RENAU**





**I- BUT :**

Evaluation des effets néphrotoxiques possibles d'une exposition faible et chronique aux métaux lourds (plomb, cadmium).

**II- OBJECTIFS :**

- 1- Évaluation de l'exposition au plomb et cadmium chez les salariés de l'usine Alzinc d'électrolyse de zinc de Ghazaouet par dosage de ces métaux dans les urines, le sang et comparaison par rapport aux témoins.
- 2- Caractérisation de la protéinurie glomérulaire et tubulaire des travailleurs de l'usine Alzinc et étude comparative par rapport aux témoins.
- 3- Évaluation des biomarqueurs précoces d'effets rénaux (Albuminurie, RBP et  $\alpha$ 1-microglobulinurie) en prenant en considération des facteurs confondants (diurèse, tabac et co-excrétion du cadmium avec l'albumine).

**III- METHODOLOGIE :**

Il s'agit d'une étude descriptive, analytique et transversale qui s'est déroulée entre septembre 2005 et Avril 2007.

**3-1 CRITERES D'INCLUSION :**

Les travailleurs examinés dans cette étude proviennent de l'usine d'électrolyse de zinc de Ghazaouet et d'une entreprise où il n'existe aucune exposition aux métaux lourds considérée comme usine témoin. Les ouvriers inclus dans la population d'étude sont permanents avec une ancienneté au travail d'au moins une année.

**3-2 CRITERES D'EXCLUSION :**

Nous avons exclu de l'étude les travailleurs qui ont refusé de participer à l'enquête et les sujets atteints d'un dysfonctionnement rénal d'origine non professionnelle ou de toute maladie affectant cet organe.

## IV – METHODOLOGIE :

- Enquête initiale sur les lieux de travail.
- Enquête épidémiologique.
- Exploration médicale.
- Investigations toxicologiques (paramètres d'exposition aux plomb et cadmium et paramètres d'effets rénaux).

**4-1 ENQUETE INITIALE :** (voir page 44)

**4-2 QUESTIONNAIRE :** (voir page 45)

**4-3 EXPLORATION MEDICALE :** (voir page 46)

**4-4 INVESTIGATION TOXICOLOGIQUE :**

**a- Marqueurs d'exposition au plomb, cadmium et zinc**

**a-1 Dosage du cadmium et zinc urinaire par ICP-MS :**

**a-1-1 Principe :** Il s'agit d'une technique instrumentale d'analyse reposant sur la séparation, l'identification et la quantification des éléments constitutifs d'un échantillon en fonction de leurs masses. Elle est basée sur le couplage d'une torche à plasma générant des ions et d'un spectromètre de masse quadripolaire qui sépare ces ions en masse.

L'échantillon est mis en solution. Un passeur automatique d'échantillon couplé à une pompe péristaltique introduit la solution dans une chambre de vaporisation où le nébulisateur la transforme en un aérosol liquide composé de micro gouttelettes de quelques  $\mu\text{m}$  à l'aide d'argon gazeux. L'aérosol ainsi formé est envoyé dans une torche à plasma d'argon (15L/mn) à très haute température (entre 6.000 et 10.000 °C) suffisante pour vaporiser, dissocier, atomiser, ioniser complètement la plupart des éléments.

Un système de vide différentiel accélère les ions du plasma vers un ensemble de lentilles électrostatique qui extrait les ions chargés positivement et les transporte vers un filtre de masse quadripolaire.

Le principe du spectromètre est basé sur la séparation des éléments en fonction de leurs charges et leurs masses.

**a-1-2 Mode opératoire :** Le Cd U et Zn U ont été déterminés à partir d'échantillons d'urines récoltés fraîchement et conservés jusqu'à l'analyse à -18°C. Une cellule de collision est utilisée pour le dosage des éléments potentiellement interférés (comme le zinc). Le cadmium a été analysé en utilisant un mode sans gaz tandis que l'hélium a été utilisé pour l'évaluation quantitative du zinc. Les urines ont été diluées (1+9ml) dans un diluant contenant une solution de base (solution A) et des standards internes. La solution A contient du HCl supra pur 30% à 0.5% et du HNO<sub>3</sub> supra pur 65% à 0.1%. Les standards internes étaient : scandium 1.000 ppm, germanium 1.000 ppm, rhodium 1.000 ppm et indium 1.000 ppm. 50 µl de chaque standard interne ont été mis dans un litre de solution A. La droite d'étalonnage est entre 0 et 500 ppb. Cette méthode a été validée après comparaison des résultats obtenus avec plusieurs laboratoires : Médecine professionnelle, Environnementale et Sociale de l'Université d'Erlangen, Allemagne (programme, G-EQUAS) et par l'institut national de Santé Publique, Québec (PCI et des programmes de QMEQUAS).

Les concentrations sont exprimées en µg/100ml.

Il est impossible de proposer actuellement une valeur tolérable pertinente pour le zinc. Néanmoins, la concentration est généralement inférieure à 0.5 mg/g creat.

## **a-2 Dosage du plomb sanguin et cadmium sanguin par absorption atomique:**

**a-2-1 Principe :** Les solutions sont pulvérisées dans un four graphite où elles se transforment en vapeurs atomiques.

On envoie sur ces vapeurs une radiation caractéristique des atomes à doser qui est produite par la lampe à cathode. La radiation est absorbée par des atomes non excités.

L'absorption est convertie par l'appareil en absorbance qui est proportionnelle à la concentration de l'élément à doser.

On trace donc une droite d'étalonnage en fonction de la concentration connue de la solution étalonnée. On reporte ensuite sur cette droite, l'absorbance obtenue pour la solution étudiée, ce qui permet d'en déterminer la concentration.

**a-2-2 Mode opératoire :**

Les dosages de Pb S et Cd S ont été déterminés à partir d'échantillons sanguins récoltés sur tube EDTA et conservés jusqu'à l'analyse à -18°C.

➤ Le dosage du cadmium dans le sang total a été effectué suivant une méthode modifiée par Perry *et al* (1975) [204]. Les échantillons et les contrôles (au nombre de 3) sont dilués 11 fois avec une solution de travail de HNO<sub>3</sub> 0.05N (5volumes) et de Triton TX-100 à 0.2% (4volumes) dans un volume final de 1100µL. Lors de chaque analyse, une courbe standard est établie (0 ; 10 ; 20 ; 30 µg Cd /L de HNO<sub>3</sub> 0.05N). Le Cd est dosé par spectrophotométrie d'absorption atomique modèle Perkin Elmer, équipé d'un four graphite avec plate forme de l'VOV et d'un correcteur de Zeeman/3030. Des aliquotes de 20 µL sont injectés dans le four et le programme suivant est appliqué:

- Séchage : 5 secondes à 90-120°C.
- Température-programme : Elévation progressive de la température de 120 à 550°C.
- Minéralisation : 30 secondes à 550°C.
- Atomisation : 3 secondes à 1700°C.

Le contenu de chaque godet est mesuré deux fois, l'ordinateur calcule automatiquement la moyenne des deux résultats. La concentration de Cd dans le sang est exprimée en µg/100mL. La limite inférieure de détection est de 0.05 µg/100ml.

➤ Le dosage du plomb dans le sang total a été effectué suivant la méthode de Fernandez *et al* (1975) [205]. Les échantillons et les contrôles sont dilués 11 fois avec une solution de travail de HNO<sub>3</sub> 0.05N (5volumes) et de Triton TX-100 à 0.2% (4volumes) dans un volume final de 1100µL. Lors de chaque analyse, une courbe standard est établie (0 ; 400 ; 800 ; 1200 µg Pb/L de HNO<sub>3</sub> 0.05N). Le Pb est dosé par spectrophotométrie d'absorption atomique avec correction de Zeeman de marque Perkin Elmer. Les échantillons sont injectés dans un four graphite avec plate forme de l'VOV. Des aliquotes de 10 µL sont injectés dans le four et le programme suivant est appliqué :

- Séchage : 5 secondes à 90-120°C.
- Température-programme : Elévation progressive de la température de 120 à 550°C.
- Minéralisation : 30 secondes à 550°C.
- Atomisation : 3 secondes à 1700°C.

La concentration de Pb dans le sang est exprimée en  $\mu\text{g}/100\text{mL}$ . La limite inférieure de détection est de  $1 \mu\text{g}/100\text{mL}$ .

Le dosage des métaux lourds (plomb et cadmium) se fait sur du sang (5ml) récolté dans un tube EDTA conservé jusqu'à l'analyse à  $-18^\circ \text{C}$ .

### a-3 Dosage du delta ala urinaire :

L'acide delta aminolevulinique a été mesuré par la méthode de lauwerys *et al* (1972) [206]. Le principe est basé sur la détermination colorimétrique du complexe formé entre le réactif d'Ehrlich et le composé pyrrolique (PBG), résultant lui-même de la condensation du delta-ala avec l'acétyl-acétone. Le dosage du delta ala urinaire se fait donc par un triple passage à l'auto analyseur.

- 1er tour : Dosage des blancs donc du PBG plus des interférences des urines.
- 2<sup>ème</sup> tour : Dosage du delta ala des urines.
- 3<sup>ème</sup> tour : On prélève en coïncidence l'échantillon et la solution de 20mg de delta ala/L qui est un standard interne.

La lecture se fait à 550 nm par un spectrophotomètre Flow Photometer Model 1510/1 Carlo Erba qui est relié à un enregistreur Ankersmit. Le calcul se fait manuellement à partir des transmissions enregistrées sur papier. On calcule les valeurs d'absorbance correspondantes. La concentration du delta ala urinaire est déterminée, en utilisant la formule suivante :

$$\frac{A \text{ analyse} - A \text{ blanc}}{(A \text{ Analyse} + A \text{ standard}) - A \text{ analyse}} \times 20\text{mg/l}$$

$$A : \text{Absorbance} = \log \frac{I_0}{I} = \frac{\text{Intensité maximale}}{\text{Intensité du pic}}$$

La limite de détection est de 0.5 mg/litre.

Le dosage se fait sur urine récoltée dans une boîte de polyéthylène de 30 ml contenant 100 mg d'acide tartrique.

### **b- Biomarqueurs d'effets rénaux par LIA :**

Pour le principe technique LIA, se référer à la page 47

#### **b-1 Dosage de la RBP Urinaire :**

La technique LIA est adaptée à la RBP en utilisant la charge de 6µl d'anticorps (Sigma, code A0040) et 50 µl de latex (microsphères Estapor, réf .K080, Merck). Le standard de RBP à 6.4 mg/l est dilué 100 fois puis 7 dilutions successives de deux en deux. Les concentrations sont donc 64 puis 32 puis 16...jusqu'à 0.5 µg/l. Un sérum contrôle pré dilué 10 fois est dilué 1000fois puis 2000 fois. Chaque échantillon est reparti en deux dilutions (20 et 40 fois). La limite de détection est de 20 µg/l pour cette dilution.

#### **b-2 Dosage de la $\alpha$ 1microglobulinurie :**

Un latex utilisant une charge de 20µl d'anticorps (Dako, code A0256) et 50 µl de latex (microsphères Estapor, réf .K080, Merck) est préparé. Le standard de  $\alpha$ 1 est dilué 100 fois puis 7 dilutions successives de deux en deux. Les concentrations vont donc de 800à 6.25µg/l. Une urine contrôle diluée 200 fois puis 400 fois suit la courbe. Chaque échantillon est reparti en deux dilutions (500 et 1000 fois).La limite de détection est de 2.4 mg/l dans ces conditions.

#### **b-3 Dosage de l'albuminurie :**

Suivant la même procédure 10µl d'anticorps (sigma, code A0433) et 50 µl de latex (latex carboxylique, Estapor, réf .K080, Merck) sont utilisés. Le standard de l'albuminurie à 40 mg/l est dilué 100 fois puis 7 dilutions successives de deux en deux. Les concentrations sont donc 400 puis 200 puis 100...jusqu'à 3.125µg/l. Une urine contrôle diluée 50fois puis 100 fois suit la courbe. La dilution des échantillons dans les mêmes conditions satisfait la majorité des dosages. La limite de détection est de 0.31 mg/l.

### **c- Dosage de la créatinine urinaire :**

Par une technique chimique colorimétrique fondée sur la réaction de Jaffé (Henry, 1965) [207]. Elles mesurent à 505 nanomètres, l'intensité de la coloration rouge-orangé du

complexe que forment la créatinine et l'acide picrique en milieu alcalin. Les échantillons urinaires avec créatinine en dessous de 0.3 g/l ou en dessus de 3 g/l ont été éliminés.

Pour tous ces paramètres, une urine (5 ml) récoltée a été conservée à -18 °C jusqu'à l'analyse.

Norme : 1 à 1.35 g/24h chez l'homme.

## **V- ETUDE STATISTIQUE**

Pour l'étude portant sur la toxicité rénale du Cd, les variables catégorielles ont été représentées en effectif et pourcentage, les autres continues sont représentées par la moyenne arithmétique, le 25<sup>ème</sup> et le 50<sup>ème</sup> %. Nous avons évalué l'effet éventuel des métaux lourds sur la fonction rénale par une analyse de la variance à deux voies, en testant l'effet du tabac (Non fumeurs, ex fumeurs et actuels fumeurs) et une possible interaction entre ces deux facteurs. La comparaison entre les groupes différant en fonction des habitudes tabagiques chez les exposés et contrôles a été réalisée au moyen d'un test de Scheffe. Une étude de prévalence a été conduite sur les valeurs les plus élevées des marqueurs précoces d'effets rénaux. Dans les deux groupes (usine A et B), les fréquences des valeurs élevées des paramètres d'effets rénaux ont été calculées et comparées à l'aide du test du X<sup>2</sup>. Les valeurs élevées ont été définies au sein de la population d'étude. Elles correspondent à celles qui sont supérieures au 95<sup>ème</sup> percentile dans la population générale (cut-off). L'évaluation de la relation entre les paramètres d'exposition et la fonction glomérulaire et /ou tubulaire en fonction du tabac, a été effectuée dans un premier temps par une analyse bi variée ( test de Pearson). Afin de mieux étudier les associations entre protéines urinaires et cadmiurie, nous avons testé différents modèles de régression multiple. Cette analyse a été effectuée sur les protéines urinaires et cadmium exprimés par gramme de créatinine (modèle A) et / ou par litre (modèle B). Les variables indépendantes introduites étaient: l'âge, les fumeurs, paquets fumés par années (catégories : 0, >0-10, >10-20 et >20), Cd U dans un modèle "pas à pas" et dans le modèle 2 et 3, la créatinine urinaire. Dans le modèle 3, le cadmium urinaire a été ajusté par la créatinine urinaire en utilisant le coefficient d'analyse de régression simple. L'analyse de la nature de l'association entre cadmium urinaire et RBP U et cadmium urinaire et albuminurie a aussi été conduite en vérifiant les corrélations entre ces différents paramètres chez les sujets avec albuminurie élevée et normale et les sujets avec RBP U élevée et normales. En fin, nous avons essayé d'évaluer l'interdépendance de la RBPU et l'albuminurie avec le cadmium urinaire (corrélations simples).

## **RESULTAS ET DISCUSSION**



## **I- RESULTATS :**

### **I-1 COMPOSITION DE LA BLENDE ET POSTES OÙ RESIDE UN RISQUE D'EXPOSITION AUX METAUX LOURDS (Pb, Cd) :**

L'enquête initiale sur les lieux de travail nous a permis de déterminer la composition de la blende (tableau12). Si le zinc représente le principal constituant de celle-ci, le plomb est le deuxième métal lourd uniquement toxique, le plus abondamment présent, suivi par le cadmium. Les interférences du mercure, un métal également néphrotoxique sont considérés comme négligeable. En effet, la blende, matière première d'où on extrait le zinc ne contient quasiment pas de mercure.

#### **a- Atelier de grillage :**

Les ouvriers de l'atelier grillage (tableau 13) semblent présenter un risque d'exposition aux plomb et cadmium.

#### **b- Atelier de lixiviation Purification :**

L'exposition aux plomb et cadmium semble concernée tous les travailleurs de cet atelier (tableau 14).

#### **c- Atelier d'électrolyse**

Seul les ouvriers occupant le poste de pèleur semblent présenter un risque d'exposition aux plomb et cadmium (Tableau 15).

#### **d- Atelier de refonte de plomb :**

L'exposition au plomb semble représenter un risque pour les ouvriers de l'atelier refonte de plomb (Tableau 16).

### **I-2 DESCRIPTION DE LA POPULATION D'ETUDE, ETUDE DE L'EXPOSITION ET DES PARAMETRES D'EFFET :**

La population d'étude comporte 186 ouvriers dont 134 exposés et 52 contrôles. Le tableau 24 compare les caractéristiques des travailleurs et les niveaux des biomarqueurs d'exposition et d'effet, d'une part en fonction de l'exposition (exposés par rapport aux contrôles) et d'autre part en fonction des habitudes tabagiques. Dans ce tableau, on retrouve deux types de variables, catégorielles et pour lesquels l'effectif et le pourcentage sont donnés les autres continues, et où sont retenus la moyenne

arithmétique, le 25<sup>ème</sup> et le 50<sup>ème</sup> %. Puisque le tabac influence les niveaux de cadmium sanguin et urinaire, nous avons évalué l'effet éventuel des métaux lourds sur la fonction rénale par une analyse de la variance à deux voies, en testant l'effet du tabac (Non fumeurs, ex fumeurs et actuels fumeurs) et une possible interaction entre ces deux facteurs. La comparaison entre les groupes différents en fonction des habitudes tabagiques chez les exposés et contrôles a été réalisée au moyen d'un test de Scheffé.

	Contrôles				Ouvriers d'Alzinc				ANOVA à deux voies						
	Non fumeurs		Ex fumeurs		Fumeurs		Non fumeurs		Ex fumeurs		Fumeurs		Exposition	Fumeurs	Interaction.
N (%)	19 (36.5)	12 (23.1)	21 (40.4)	41 (30.6)	38 (28.4)	55 (41.0)									
Age (années)	40.6 (10.1)	42.4 (8.4)	39.6 (8.4)	35.5 (10.1)	42.7 (10.6)	39.0 (10.9)			0.29	0.10	0.36				
Ancienneté au travail (années)	10.6 (7.3)	12 (8.3)	9.6 (7.1)	9.4 (10.3)	14.7 (8.8)	12.2 (9.3)			0.36	0.22	0.46				
BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	24.8 (22.1-27.0)	25.0 (23.3-27.5)	22.8 (20.7-25.9)	24.8 (24.8-28.2)	24.8 (23.5-26.7)	24.5 (21.9-25.7)*			0.04	0.004	0.94				
Paquets années	-	14.9 (9.4)	18.8 (11.8)	-	14.2 (7.6)	17.5 (9.20)			0.87	0.002	0.99				
Cd-S (µg/l)	0.40 (0.30-0.45)	0.50 (0.45-0.85)	0.90 (0.70-1.23)*\$	0.50 (0.30-0.70)	0.60 (0.40-0.80)	1.20 (0.80-1.70)*\$			0.09	<0.001	0.92				
Cd-U (µg/g creat)	0.53 (0.37-0.68)	0.78 (0.67-0.90)	0.65 (0.48-1.02)	0.48 (0.37-0.81)	0.76 (0.55-1.18)*	1.00 (0.70-1.37)*			0.37	<0.001	0.19				
PB-S (µg/l)	46 (36-58)	55 (44-58)	49 (36-59)	95 (76-137)	89(70-116)	116 (86-143)			<0.001	0.51	0.34				
Zn-U (mg/g creat)	0.23 (0.18-0.35)	0.28 (0.27-0.39)	0.26 (0.21-0.32)	0.26 (0.16-0.40)	0.28 (0.21-0.48)	0.32 (0.20-0.47)			0.34	0.19	0.38				
ALB-U (mg/g creat)	5.4 (3.4-8.5)	6.9 (4.7-9.1)	5.6 (4.0-9.6)	7.9 (5.0-10.8)	8.3 (4.2-12.4)	7.8 (4.7-14.3)			0.09	0.28	0.97				
α <sub>1</sub> -U (mg/g creat)	9.3 (5.9-17.4)	15.5 (10.9-18.6)	13.1 (8.6-22.7)	9.4 (5.5-14.1)	12.6 (8.5-20.8)	16.0 (9.9-27.5)*			0.82	0.01	0.63				
RBP-U (mg/g creat)	120 (91.3-146)	149 (107-232)	153 (102-194)	122 (85-161)	123 (90-152)	172 (141-200)			0.74	0.01	0.99				
CR-U(g/l)	1.14 (0.91-1.73)	1.10 (0.94-1.33)	1.18 (0.95-1.51)	1.31 (0.88-1.78)	1.27 (0.85-1.66)	1.08 (0.78-1.51)			0.73	0.44	0.77				

\* p<0.05 par rapport aux non fumeurs ; \$ p<0.05 par rapport aux ex fumeurs. Test de Scheffé.

Tableau 24 : Caractéristiques des ouvriers et leurs paramètres biologiques.

**a- Description de la population d'étude**

L'âge moyen de la population d'étude est de  $(39.06 \pm 10.5)$  ans. Il est comparable à celui des contrôles. L'ancienneté moyenne au travail dans le groupe des exposés est de  $(12.1 \pm 9.4)$  ans. Il n'existe aucune différence significative entre les deux groupes exposés et contrôles pour ce qui est de l'ancienneté au travail et le passé tabagique.

Les fumeurs actifs ont un faible BMI par rapport aux non fumeurs et cela que se soit chez les ouvriers ou leurs contrôles.

**b- Evaluation de l'exposition professionnelle aux Pb, Cd et de la fonction rénale des ouvriers :**

- **Paramètres d'exposition :**

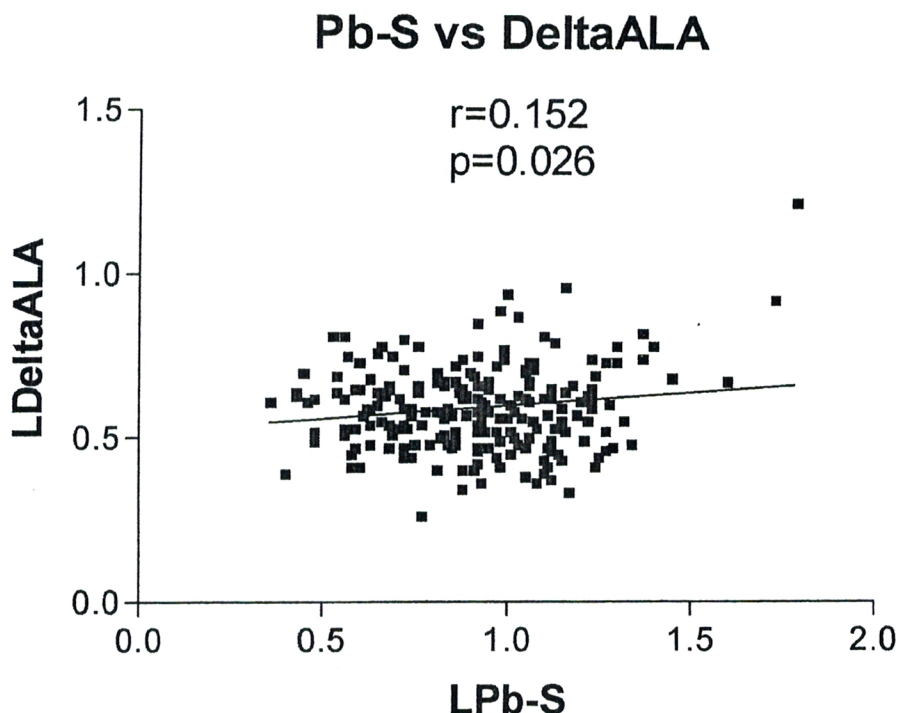
Comme il est décrit dans le tableau 24, la cadmiémie tout comme la cadmiurie des ouvriers d'Alzinc sont inférieures aux valeurs tolérables établies dans une population Européenne professionnellement exposée ( $Cd\ U \geq 5\mu g/g$  créat,  $Cd\ S > 5\mu g/l$  [208]).

Les valeurs respectives de Cd S et Cd U des exposés sont comparables à celles des contrôles (0.6 versus 0.766  $\mu g/l$  et 0.759 versus 0.659 5  $\mu g/g$  créat). Aucune différence significative n'est enregistrée entre les deux groupes.

La plombémie des travailleurs de l'usine d'électrolyse de zinc est inférieure aux valeurs tolérables établies dans une population Européenne professionnellement exposés (Pb S de 30  $\mu g/dl$ ) mais est supérieure aux valeurs de référence (Pb S  $< 10\ \mu g/dl$  [208]). Les ouvriers d'Alzinc ont une plombémie significativement plus élevée que leurs contrôles. Même si on constate à Alzinc une plombémie plus élevée, elle n'est toutefois pas accompagnée d'une augmentation significative de la delta-ala urinaire.

La concentration de l'acide  $\delta$  aminolévulinique (un paramètre reflétant l'imprégnation par le plomb et son action toxique sur la voie de synthèse de l'hème) est comparable entre les deux groupes (contrôles /exposés) et témoigne aussi d'une faible exposition au plomb.

La plombémie du groupe exposé paraît significativement corrélée à l'acide  $\delta$  aminolévulinique (Figure 11).



**Figure 11** : Corrélations entre les paramètres d'exposition au plomb.

Pour ce qui est des niveaux de zinc urinaires, ils paraissent comparables entre les deux groupes. L'effet exposition à Ghazaouet n'existe donc pas pour le cadmium et le zinc.

- **Paramètres de réponse biologique:**

Les valeurs moyennes de RBP U, albuminurie et  $\alpha$ 1 microglobulinurie sont inférieures aux valeurs de référence (139 vs 300  $\mu$ g/g créa ; 8 vs 20 mg/g créa, 12,6 vs 20 mg/l) [208]. Pour aucun des marqueurs rénaux, on observe de différence statistiquement significative entre les travailleurs des 2 usines.

Afin de vérifier s'il n'existe réellement pas « un effet exposition », une étude de prévalence a été conduite sur les valeurs les plus élevées des marqueurs précoces d'effets rénaux.

Dans les deux groupes (usine Alzinc et Mantal), les fréquences des valeurs élevées des paramètres d'effets rénaux ont été calculées et comparées à l'aide du test du  $X^2$ . Les valeurs élevées ont été définies au sein de la population d'étude. Elles correspondent à celles qui sont supérieures au 95<sup>ème</sup> percentile dans la population générale (cut-off).

Aucun paramètre ne montre une prévalence significativement plus élevée chez les travailleurs de l'usine de Ghazaouet. Ce résultat confirme **l'absence de l'effet exposition à Ghazaouet sur les biomarqueurs d'effets rénaux.**

Marqueurs	Cut-off value	Contrôles		Ouvriers d'Alzinc		P
		N	%	N	%	
Albuminurie	>23	10	0,14	25	0,15	0,47
RBP U	>205	8	0,11	24	0,16	0,26
$\alpha$ 1 microglobuline	>30	8	0,11	32	0,12	0,42

**Tableau 25 :** Prévalence des valeurs élevées des marqueurs rénaux en fonction de l'usine

### c- Effet tabac ?

- **Paramètres d'exposition :**

Comme illustré sur le tableau 24, les concentrations de cadmium dans le sang et les urines augmentent chez les fumeurs et en particulier chez les fumeurs actifs.

La cadémie et cadmiurie diffèrent significativement en fonction du statut tabagique (actuel et ancien fumeur/ aux non fumeurs ;  $p < 0.001$ ).

La plombémie ne varie pas en fonction des habitudes tabagiques.

- **Paramètres d'effet rénal :**

Même si les paramètres d'effets glomérulaire et tubulaire demeurent inférieurs aux valeurs de référence établies dans une population Européenne générale, on note une variation significative de la protéine HC et la RBP en fonction du statut tabagique ( $p=0.01$ ). En effet, on enregistre une augmentation des seuils de la protéine HC et RBP particulièrement chez les fumeurs actuels. Aucune interaction entre exposition professionnelle et statut tabagique n'est enregistrée.

### **I-3 RELATION ENTRE LES MARQUEURS RENAUX ET LES PARAMETRES D'EXPOSITION AUX Cd ET Pb EN FONCTION DU TABAC :**

Puisque la plupart des paramètres d'exposition au plomb et cadmium montrent, pour les deux usines, des concentrations plus basses que les valeurs de référence, nous avons considéré plus intéressant pour la suite des analyses de les regrouper et de les considérer comme une seule population exposée à des niveaux de pollution environnementale.

#### **a- Analyse bi variée :**

Afin de vérifier et confirmer la relation entre les paramètres d'exposition et la fonction glomérulaire et /ou tubulaire en fonction du tabac, nous avons effectué dans un premier temps une analyse bi variée. Celle-ci préparera l'analyse de régression multiple qui a bien plus de puissance et donc de signification.

	RBP urinaire	Protéine HC urinaire	Albumine urinaire	Age	BMI	Créatinine urinaire	Paquets par années	Cadmium urinaire	Plomb sanguin
Protéine HC urinaire	0.45								
Albumine urinaire	0.29	0.31							
Age	ns	0.29	ns						
BMI	ns	ns	ns	0.15					
Créatinine urinaire	ns	-0.34	ns	-0.22	ns				
Paquets par années	0.15	0.27	ns	0.26	-0.15	ns			
Cadmium urinaire	0.21	0.23	0.15	0.24	-0.18	-0.22	0.37		
Cadmium sanguin	0.26	0.22	ns	ns	-0.19	ns	0.43	0.43	
Plomb sanguin	0.17	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0.17	0.25

Pour les unités des paramètres, voir tableau 17. ns,  $p < 0.05$ .

**Tableau 26** : Corrélation (coefficient de Pearson) entre les protéines urinaires et leur potentiel prédicteur.



Dans cette étude, deux paramètres permettent d'évaluer l'exposition au cadmium, le CdU et CdS. On note une corrélation positive entre ces deux paramètres, reflétant probablement le fait qu'à ces niveaux d'exposition, les deux paramètres reflèteraient principalement la charge corporelle. On note également une corrélation entre PbS et les paramètres d'exposition au Cd. . La Figure 12, illustre les corrélations entre CdS, PbS et CdU.

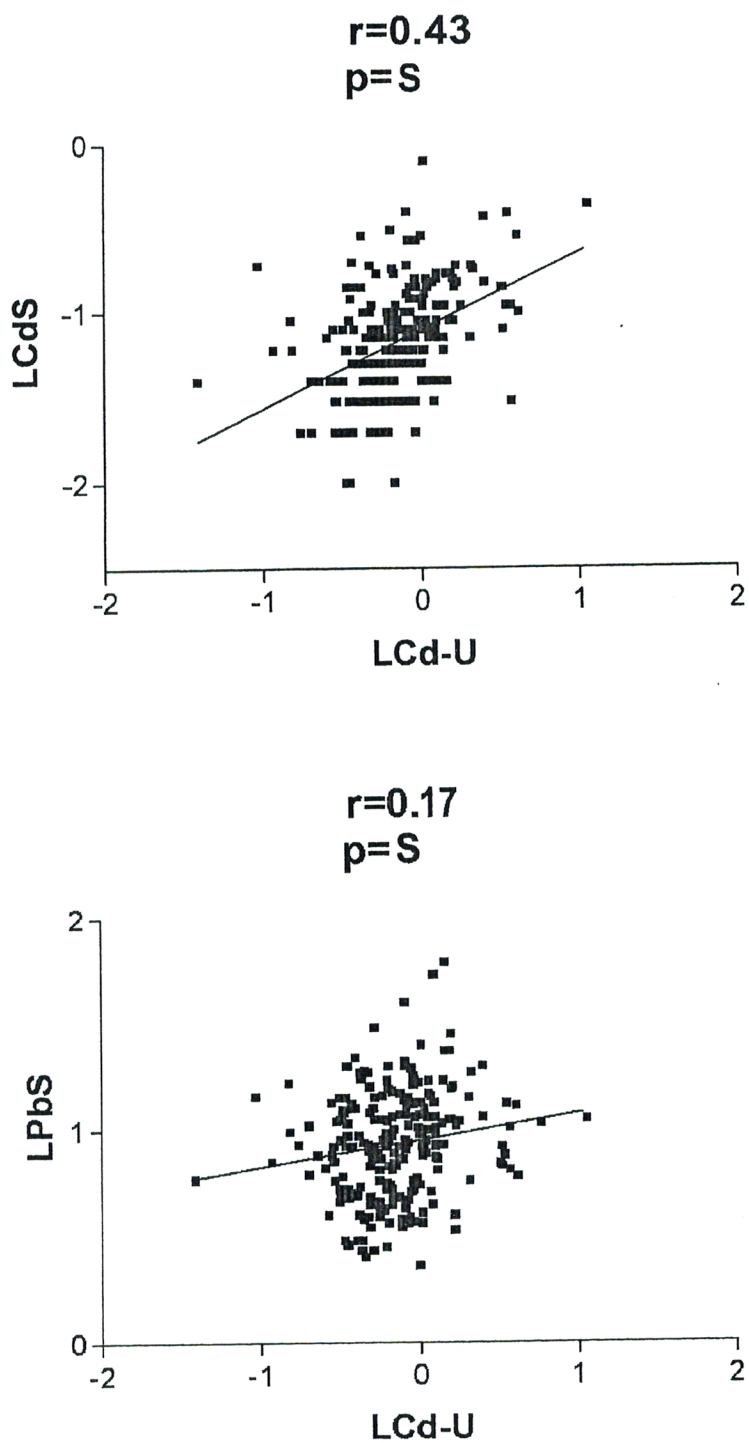


Figure 12 : Corrélations entre les paramètres d'exposition

L'analyse de régression simple révèle aussi une association intéressante et significative entre les différents biomarqueurs d'effet rénal (tubulaire et glomérulaire). La concentration urinaire d'albuminurie, protéine HC et RBP est significativement corrélés avec le Cd U .Les protéines HC et RBP urinaires sont aussi corrélées avec le CdS mais seule la RBP U semble être associée avec le plomb sanguin.

Sans aucune surprise, on remarque que les concentrations des trois protéines urinaires sont corrélée significativement entre elles .D'une manière exceptionnelle, on signale que les concentrations de cadmium urinaire et protéine HC exprimées par gramme de créatinine, semblent montrer une étrange association puisque négative avec la créatinine urinaire. Cette association est d'ailleurs illustrée dans la figure 13.

Cela suggère que l'ajustement basé sur la créatinine urinaire seulement, ne semble pas être suffisant pour corriger les variations de cadmiurie et protéine HC urinaires induites par les changements de la diurèse !!!!!

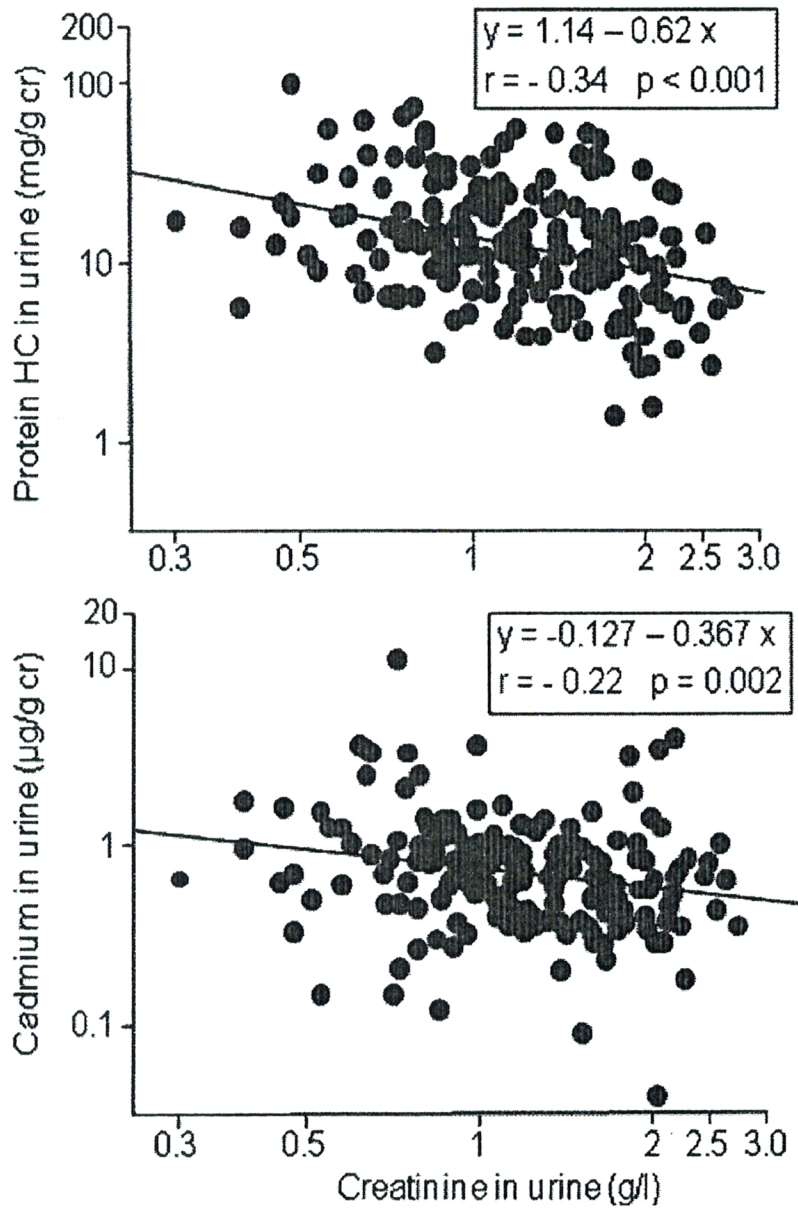


Figure 13: Corrélations entre Protéine HC, cadmium urinaire et créatinurie.

**b- Régression multiple:**

Guidé par l'influence de la diurèse sur la concentration de cadmium et protéine HC exprimée par gramme de créatinine, nous avons testé différents modèles de régression multiple afin de déterminer l'extension de ce phénomène qui pourrait perturber et biaiser les associations entre protéines et cadmium urinaire.

Comme indiqué sur le tableau 27, cette analyse a été effectuée sur les protéines urinaires et cadmium exprimés par gramme de créatinine (modèle A) et / ou par litre (modèle B). Les variables indépendantes introduites étaient: l'âge, les fumeurs, paquets fumés par années (catégories: 0, > 0-10, > 10-20 et > 20), Cd U dans un modèle "pas à pas » et dans le modèle 2 et 3, la créatinine urinaire. Dans le modèle 3, le cadmium urinaire a été par la suite ajusté par la créatinine urinaire en utilisant le coefficient d'analyse de régression simple.

Variables dépendantes	Concentrations des marqueurs urinaires par g créatinine (Modèle A)				Concentrations des marqueurs urinaires par litre (Modèle B)			
	Variables indépendantes	B	95% CI	P	Variables indépendantes	B	95% CI	P
RBP dans l'urine	<i>Modèle 1</i>				<i>Modèle 1</i>			
	Current smoking	27.3	9.1 to 46.0	0.004	Current smoking	0.085	0.002 to 0.17	0.04
	Log CdU	30.9	1.81 to 60.0	0.04	Log CdU	0.31	0.061 to 0.35	<0.001
					Log BMI	1.23	0.54 to 1.93	<0.001
					Age	-0.005	-0.009 to -0.001	0.02
	<i>Modèle 2</i>				<i>Modèle 2</i>			
	Current smoking	27.3	8.8 to 45.7	0.004	Current smoking	0.12	0.05 to 0.20	0.001
	Log CdU	25.6	-3.7 to 55.6	0.08	Log CdU	0.12	0.001 to 0.24	0.049
	Log CrU	-36.9	-83.8 to 10.0	0.12	Log CrU	0.73	0.53 to 0.93	<0.001
					Log BMI	0.78	0.16 to 1.40	0.01
	<i>Modèle 3</i>				<i>Modèle 3</i>			
	Current smoking	27.3	8.9 to 45.7	0.004	Current smoking	0.09	0.002 to 0.17	0.001
Log CdUadj	26.0	-3.7 to 55.6	0.09	Log CdUadj	0.12	0.001 to 0.24	0.049	
Log CrU	-46.4	-92.3 to -0.51	0.04	Log CrU	0.81	0.63 to 0.99	<0.001	
				Log BMI	0.78	0.16 to 1.40	0.01	
Protein HC dans l'urine	<i>Modèle 1</i>				<i>Modèle 1</i>			
	Age	0.009	0.005 to 0.014	<0.001	Age	0.009	0.005 to 0.013	<0.001
	Current smoking	0.12	0.02 to 0.22	0.02	Current smoking	0.14	0.054 to 0.22	0.001
	Log CdU	0.13	-0.033 to 0.29	0.12	Log CdU	-0.039	-0.16 to 0.086	0.54
	<i>Modèle 2</i>				<i>Modèle 2</i>			
	Age	0.006	0.001 to 0.011	0.02	Age	0.007	0.003 to 0.011	<0.001
	Pack-years	0.061	0.011 to 0.11	0.02	Current smoking	0.11	0.03 to 0.20	0.008
	Log CdU	0.068	-0.095 to 0.23	0.41	Log CdU	0.05	-0.084 to 0.19	0.46
	Log CrU	-0.49	-0.74 to -0.24	<0.001	Log CrU	-0.36	-0.59 to -0.13	0.003
	<i>Modèle 3</i>				<i>Modèle 3</i>			
	Age	0.006	0.001 to 0.011	0.02	Age	0.007	0.003 to 0.011	<0.001
	Pack-years	0.061	0.011 to 0.11	0.02	Current smoking	0.11	0.03 to 0.20	0.008
Log CdUadj	0.068	-0.095 to 0.23	0.41	Log CdUadj	0.05	-0.084 to 0.19	0.46	
Log CrU	-0.52	-0.77 to -0.27	<0.001	Log CrU	-0.33	-0.54 to -0.12	0.003	
Albumin dans l'urine	<i>Modèle 1</i>				<i>Modèle 1</i>			
	Log CdU	0.19	0.012 to 1.00	0.04	Log CdU	0.39	0.201 to 0.58	<0.001
	<i>Modèle 2</i>				<i>Modèle 2</i>			
	Log CdU	0.19	0.012 to 1.00	0.04	Log CdU	0.20	0.02 to 0.39	0.03
					Log CrU	0.86	0.54 to 1.18	<0.001
	<i>Modèle 3</i>				<i>Modèle 3</i>			
Log CdUadj	0.20	0.016 to 0.39	0.03	Log CdUadj	0.20	0.02 to 0.39	0.03	
				Log CrU	0.99	0.69 to 1.29	<0.001	

**Tableau 27:** Protéines prédictives d'effets rénaux (RBP, protéine HC et albumine urinaires) en fonction des différents modèles d'ajustement (ajustement en fonction de la créatinine urinaire et du cadmium).

Dans le modèle 1-A basé sur les concentrations de protéines et cadmium exprimées par gramme de créatinine comme c'est le cas dans la plupart des études, le cadmium urinaire paraît un paramètre significatif et déterminant pour la RBP U et l'albuminurie. Aucune association significative n'est enregistrée avec la protéine HC.

Dans le modèle 2-A, la créatinine urinaire est toujours ajoutée comme variable indépendante. On remarque que l'association entre cadmium et protéine HC s'affaiblit considérablement et est presque abolie ( $p=0.48$ ). L'association du CdU avec la RBP U devient moins significative ( $p=0.08$ ), alors que celle entre cadmium urinaire et albuminurie persiste et demeure immuable ( $p=0.04$ ).

Dans le modèle 3-A, nous n'avons pas rajouté la créatinine urinaire comme le paramètre potentiel, prédicateur mais nous avons testé le cadmium urinaire exprimé par gramme de créatinine et ajusté par rapport à l'effet de la diurèse. Pour la RBP U et la protéine HC, les résultats sont comparables à ceux du modèle précédent et ne révèlent aucune association significative avec le cadmium urinaire ajusté en fonction de la diurèse. Par contraste, l'association avec l'albuminurie persiste, voire même s'améliore légèrement! Dans le modèle avec Cd S (résultats non montrés), aucune association entre les marqueurs rénaux et le Cd S n'est enregistrée. L'effet causal (le Cd est à l'origine des dysfonctionnements rénaux) est à écarter.

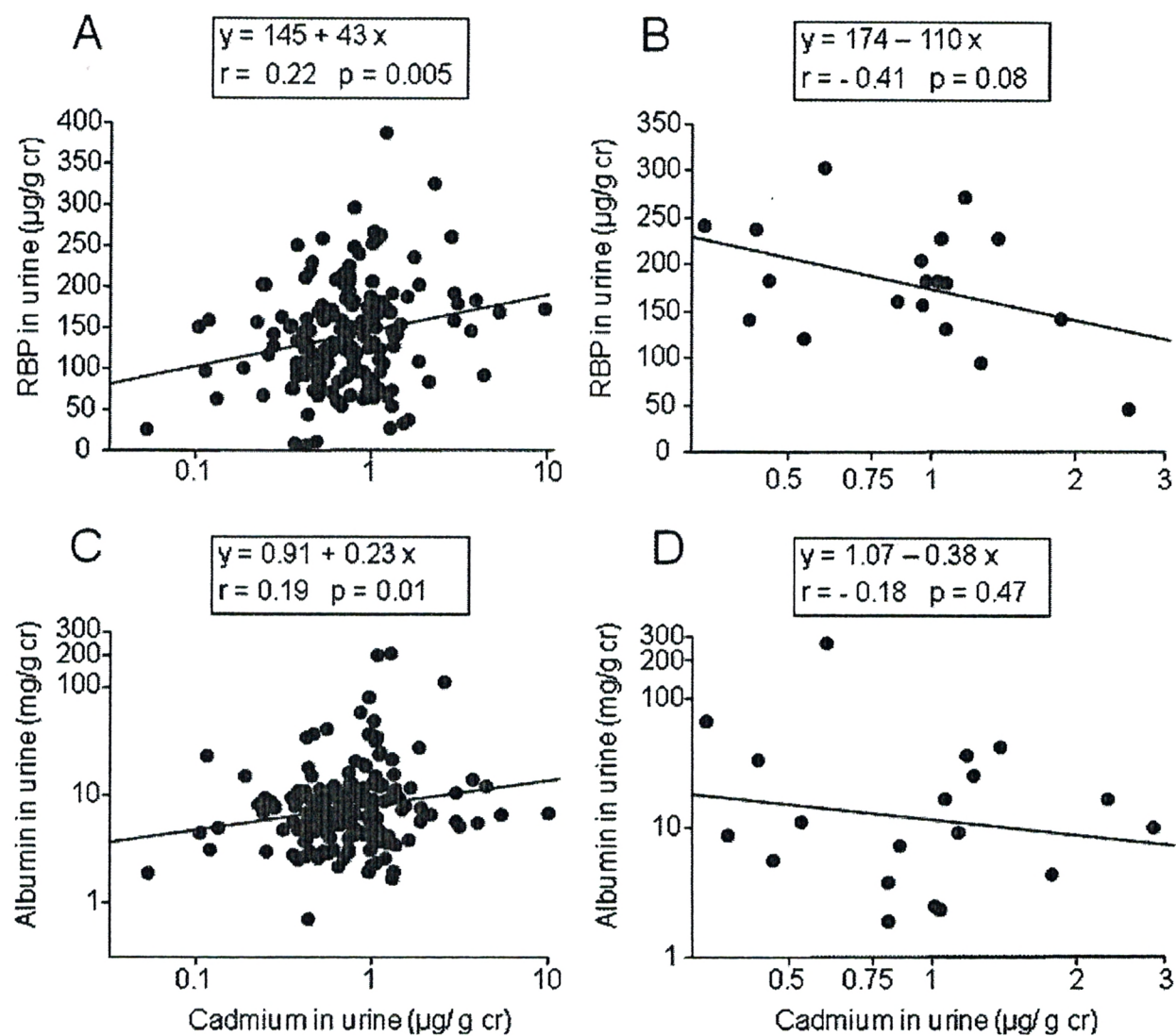
Les concentrations des protéines et cadmium exprimées par litre montrent les mêmes résultats. La seule différence est que tout comme l'albuminurie, la RBP U était elle aussi associée significativement au cadmium dans les 3 modèles (1-B, 2-B, 3-B). Cette association est à la limite de la signification dans les modèles 2-B et 3-B ( $p=0.049$ ).

#### **I-4 ANALYSE DES ASSOCIATIONS ENTRE Cd U ET MARQUEURS D'EFFETS TUBULAIRES :**

Nous avons par la suite analysé la nature de l'association entre cadmium urinaire et Alb U afin de déterminer si elle était influencée par l'intégrité du glomérule ou par la fonction tubulaire. Pour cela , les corrélations entre RBP U et cadmium urinaire ont été étudiées d'une part chez les sujets avec fonction glomérulaire normale (exclusion des sujets avec albuminurie élevée ; Figure 14-A) et d'autre part chez les sujets exclus en (14-A) c'est à dire avec albuminurie élevée (Figure 14-B).

Les corrélations entre albuminurie et cadmium urinaire ont été aussi définis d'une part chez les sujets avec fonction tubulaire normale (exclusion des sujets avec RBP élevée ; Figure 14-C) et d'autre part chez les sujets exclus en (14-C) c'est-à-dire avec RBP élevée (figure 14-D).





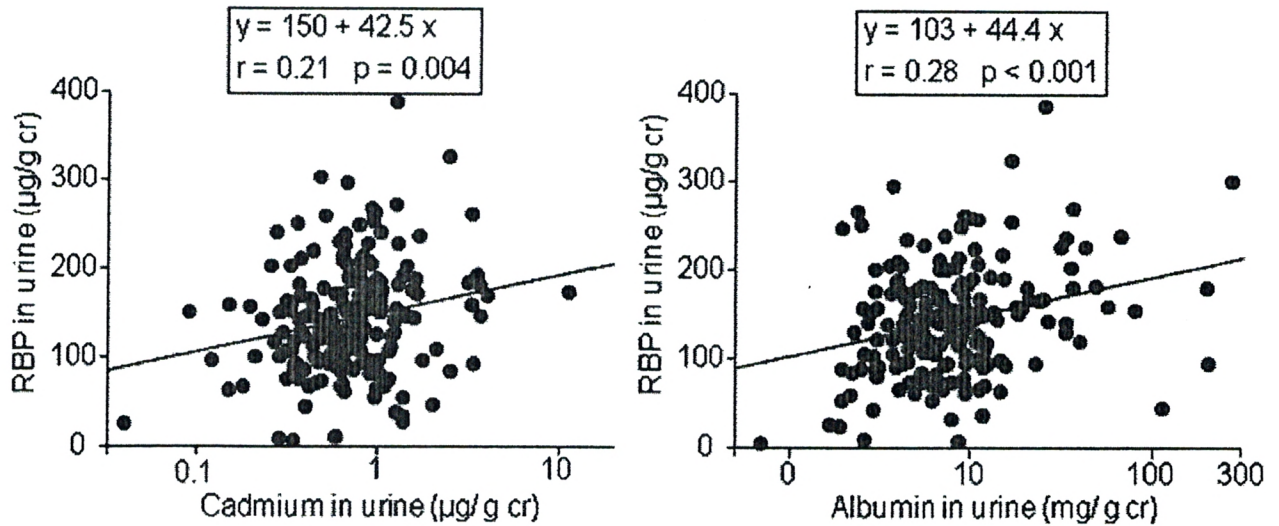
**Figure 14:** Illustration des corrélations entre RBP U et Alb U avec Cd U ajusté par la créatinine urinaire en distinguant les sujets avec Alb U élevée et normale et les sujets avec RBP U élevée et normale.

La relation entre albuminurie et Cd U persiste en l'absence de dysfonctionnement tubulaire (figure14-C). L'association entre albumine et cadmium urinaire paraît non significative chez les sujets avec une RBP urinaire élevée (90th percentile ou 220µg/g de créat) (Figure 14-D). En excluant les sujets avec dysfonctionnement glomérulaire, on remarque d'une manière spectaculaire que l'association entre CdU et albuminurie perd sa signification statistique ( $p=0.11$ ) (résultat non montré sur la figure 14).

Comme mentionner sur la figure 14-A, l'association entre RBP U et cadmiurie paraît étrange en excluant les sujets avec une albuminurie élevée (>90th percentile ou 27 mg/g créat) .En cas d'albuminurie élevée, la RBP urinaire semble inversement corrélée au cadmium urinaire (Figure 14-B). Il n' y a donc pas de relation causale entre RBP U et Cd U chez ces sujets avec atteintes glomérulaires. En d'autres termes l'albuminurie est bien un confondant qui inverse la relation RBP U/Cd U.

Rappelons aussi que l'association entre RBP U et Cd U toujours persistait après exclusion des sujets avec albuminurie élevée et RBP U augmentée ( $p=0.01$ ) (résultat non montré sur la figure 14).

Nous avons aussi essayé d'évaluer dans quelle mesure l'association de l'albuminurie et la RBP U avec le CdU était indépendante l'une de l'autre en ajustant mutuellement leur concentration dans l'analyse de régression multiple.



**Figure 15 :** Comparaison des corrélations entre albuminurie et RBP U et entre cadmiurie et RBP U.

L'association entre RBP U et Cd U après leur ajustement en fonction de la diurèse n'était pas plus significative sur le plan statistique lorsqu'on a considéré l'albumine comme paramètre prédicteur.

De même, l'association entre albumine et CdU disparaissait après ajustement en fonction de la RBP urinaire. L'étroite interdépendance du Cd U, RBP U et albuminurie est illustrée dans la figure 15 qui compare la relation entre RBP U et albumine puis celle entre RBP U et cadmium urinaire. On peut remarquer qu'il existe une étrange similarité sur les deux figures et ce en ce qui concerne leur échelle et pente. La concentration d'albumine et cadmium urinaire varient tous les deux sur des distributions logarithmiques couvrant deux ordres de magnitude tandis que la RBP U toujours sur une échelle arithmétique.

La pente des deux lignes de régression est aussi virtuellement identique (42.5 versus 44.4) donc l'association RBP-Cd U est exactement la réplique de celle entre RBP U et albuminurie.

## II- DISCUSSION

Les niveaux d'exposition au cadmium retrouvés chez les ouvriers d'Alzinc (usine d'électrolyse de zinc) sont proches de ceux rencontrés dans l'environnement. En effet aucune différence n'est enregistrée pour les marqueurs d'exposition au cadmium (Cd S, Cd U) entre les groupes des exposés et contrôles. La cadmiurie de l'usine Alzinc est plus basse que la valeur de référence établie dans une population Européenne non professionnellement exposée (CdU < 2 µg/g creat [208]) ; la cadmiémie quant à elle est juste un peu plus élevée que la valeur de référence (CdS < 0,5 µg /dl [208]). Ces faibles niveaux d'exposition enregistrés à Alzinc pourraient s'expliquer par le réaménagement du site et la fermeture de l'atelier d'électrolyse de Cd depuis 2000. Ces concentrations ne peuvent cependant représenter la population ouvrière de l'usine puisqu'il y a eu un biais de sélection lors d'échantillonnage : Les ateliers potentiellement exposés à ce métal comme mentionné par Azza et al 1974 [209] et Benyelles et al [210] tel le chargement de la blende et le grillage sont représentés par très peu, d'ouvriers ou par des ouvriers récemment embauchés.

Même si la concentration de l'indice biologique d'exposition au plomb augmente de manière significative dans l'usine Alzinc ,elle reste à la limite de la valeur de référence (PbS<100 µg/L [208]). Le petit effet exposition au plomb peut s'expliquer par le fait que cet élément représente après le zinc et le soufre, le troisième élément le plus abondamment présent dans la blende (teneur ≤ 3%). Il est par ailleurs présent à des niveaux d'exposition différents durant tout le processus du travail. La plupart des études s'accordent pour préciser que les niveaux d'action du plomb sur la fonction rénale nécessitent une plombémie supérieure à 400 µg/l [211]. Rappelons que dans la présente étude, le PbS est en moyenne de 100 µg/l chez les ouvriers d'alzinc. Par ailleurs la plombémie ne semble pas associée à l'augmentation du delta ala urinaire.

Les concentrations de Cd au niveau sanguin et urinaire augmentent de manière significative en fonction du statut tabagique et particulièrement chez les fumeurs actifs. Le tabac est une source d'exposition au cadmium. Une cigarette contient en moyenne 1 à 2 µg de Cd [212]. Une personne qui fument 20 cigarettes / jour, consomme environ 20à 40 µg Cd/j [213]. Si la concentration moyenne du cadmium sanguin est de 0,5 à 1 µg/l chez les non fumeurs, celle-ci est deux fois plus élevée chez les fumeurs [214].

L'organe cible lors d'une exposition chronique au cadmium est le rein et en particulier le cortex rénal. Si les paramètres d'effets rénaux (glomérulaire et tubulaire) ne varient pas significativement en fonction de l'exposition (Absence d'effet exposition ou encore d'effet « Ghazaouet » sur le rein), ceci ne semble pas se reproduire pour le tabac. Nos résultats suggèrent un effet du tabac sur la fonction tubulaire. Cependant, il ne semblerait pas que se soit le Cd présent dans la cigarette qui serait à l'origine de cet effet tubulaire. Il revient à E. Ritz [215] puis R. Orth [216] les premières revues synthétiques sur tabac et reins depuis lors réactualisées [217]. Nous en retiendrons que chez le sujet sain, le tabagisme par l'activation du système orthosympathique, provoque une augmentation des résistances artérielles intra – rénales, ce qui s'accompagne d'une diminution du débit de filtration glomérulaire (-15 %) et de la fonction filtrée (-18 %). Cet effet est présumé dû à la nicotine [218] par la libération des catécholamines et indirectement par l'action bêta – adrénergique sur la libération locale d'angiotensine II. Chez le fumeur chronique, comparativement au non fumeur, une diminution du flux plasmatique rénal, mais pas du débit de filtration glomérulaire est constatée. L'étude anatomo – pathologique montre des lésions de la vascularisation intra – rénale. Si les effets à court terme sont médiés par le système orthosympathique, les effets à long terme sont probablement induit par le dommage du lit vasculaire et l'hypoxie causée par le Co. Rappelons que la Pa O<sub>2</sub> dans la zone médullaire profonde du rein n'est que de 30 à 40 mm Hg, ce qui la rend très vulnérable, si l'hypoxie et un important travail métabolique sont associés. Quant au dommage du lit vasculaire, il est caractérisé par un défaut de production de NO, une production accrue d'endothéline. Plusieurs études dont l'Italian longitudinal study on Ageing [219] ont démontré par analyse statistique multifactorielle que le tabagisme (<20 cigarettes / j) est un facteur de progression du dysfonctionnement rénale plus redoutable que le diabète et l'hypertension systolique.

La diurèse est l'élimination urinaire dans son ensemble en termes de quantité d'urine ou de composition de celle-ci. Le volume d'urine qui est secrété par les reins durant une période de temps donné n'est pas obligatoirement équivalent à l'urine qui est évacuée. En effet, les urines sont susceptibles de s'accumuler à l'intérieur de la vessie et de ne pas être évacuées par suite d'un dysfonctionnement de vidange. La diurèse peut ainsi être réduite menant à une augmentation de la concentration de certains éléments urinaires. Le volume urinaire varie également physiologiquement selon la quantité de liquide

absorbé dans la journée (volume hydrique  $\approx 1500$  ml / 24h) et inversement au volume de sudation en fonction de la température. Dans la présente étude, on relève tout particulièrement des effets résiduels de la diurèse (corrélations négatives relevées dans le tableau 26) sur le cadmium urinaire et la protéine HC malgré la correction par la créatinine. Plusieurs auteurs [220-221] ont récemment proposé la protéine HC comme un marqueur de dysfonctionnement tubulaire proximal plus sensible que la RBP ou l'usuel  $\beta_2$  microglobuline. La raison est sa résistance aux protéases acides et sa haute concentration dans l'urine permettant sa détermination de manière plus facile que la RBP ou la  $\beta_2$  microglobuline. Nos résultats ne rejoignent pas ceux qui viennent d'être cités puisque la protéine HC est tout particulièrement influencée par la diurèse. En effet dans les travaux cités précédemment [220-221], seule une correction de la protéine HC par la créatinine ou une densité de 1.016 a été réalisée, l'effet de la diurèse n'ayant pas été pris réellement en compte. D'autres travaux ont par ailleurs comparés l'excrétion urinaire de la  $\alpha_1$  microglobuline à celle d'autres micro-protéines chez des sujets avec des désordres rénaux variés. Ces travaux suggèrent que la protéine HC serait probablement moins spécifique et sans doute moins sensible comme marqueur de la fonction tubulaire par rapport à la RBP. En effet, les  $\alpha_1$  sont souvent plus élevées dans les pathologies mixtes, glomérulaires et tubulaires [222-223]. Yu *et al* [222] ont rapporté chez des patients avec des dommages tubulaires, des corrélations entre  $\alpha_1$  microglobuline et  $\beta_2$  ou RBP qui étaient bien moindres que celles entre  $\beta_2$  et RBP. Les trois protéines urinaires ont souvent le même schéma d'augmentation mais les magnitudes des variations de la RBP ou  $\beta_2$  sont deux à trois fois supérieures à celle de la  $\alpha_1$ . Pour ces raisons, les chercheurs ont considéré que la  $\alpha_1$  pourrait avoir une meilleure utilisation dans l'évaluation de la protéinurie mixte plutôt que pour une évaluation sensible et spécifique de l'intégrité du fonctionnement tubulaire proximal.

Au cours de ces dernières années, plusieurs études ont décrit la néphrotoxicité induite par le Cd à des niveaux de cadmiurie très bas (exposition environnementale : population générale vivant dans des zones polluées). Ainsi, de modestes augmentations de l'excrétion urinaire des protéines de faible poids moléculaire ou de petites, variations du taux de filtration glomérulaire ont été observées [224-225]. Les études conduites en Belgique ou en Suède [224-226] ont suggéré qu'un dysfonctionnement tubulaire pourrait se produire à une cadmiurie de 1 à 2  $\mu\text{g/g}$  creat. Par contraste, des études

menées au Japon sur des populations générales ont décrit des treshold bien plus hauts de l'ordre de 8 à 10  $\mu\text{g/g creat}$  [227-228] et qui se rapprochent de ceux qu'on a l'habitude d'observer en milieu industriel chez des ouvriers potentiellement exposés au cadmium. Il est ainsi difficile d'estimer le seuil critique d'apparition des effets rénaux. Cette évaluation se heurte à de nombreuses difficultés et biais d'analyse parmi lesquels la signification sanitaire des différents marqueurs utilisés ou encore la taille des échantillons bien souvent réduite. Il est aussi nécessaire de prendre en considération certains aspects analytiques tel un ajustement suffisant en fonction des variations de la diurèse ou encore l'influence de certains facteurs comme le tabac et certaines maladies (diabète) qui pourrait être à l'origine d'association non causales entre Cd et dysfonctionnement rénal comme c'est le cas dans le présent travail. Les « causalités inverses » (inverse causality) peuvent ainsi avoir lieu lorsque le métal (le cadmium) n'est pas à l'origine de l'augmentation de l'excrétion des niveaux des biomarqueurs rénaux [229]. Un dysfonctionnement rénal ou des désordres métaboliques peuvent accompagnés certaines maladies dégénératives affectant forcément la clairance du Cd dont l'excrétion urinaire est la principale voie. On assiste alors à une perturbation de la concentration du Cd dans les urines ou le sang.

Par ailleurs, un autre mécanisme pourrait aussi théoriquement augmenter indirectement les niveaux du Cd dans les fluides biologiques (urine). Il pourrait s'agir du phénomène de co-excrétion de ce métal avec les protéines urinaires. Dans le plasma, le Cd est immédiatement après absorption essentiellement lié à l'albumine. Capté par le foie ou il se dissocie, le Cd induit la synthèse de la MT, une protéine de faible poids moléculaire riche en groupements SH à laquelle il se lie, ce qui protège le foie d'une action cytotoxique. Le Cd suit la même voie de filtration glomérulaire et réabsorption tubulaire que les protéines auquel il serait lié. L'augmentation de l'excrétion de l'albumine induit par un dysfonctionnement glomérulaire ou tubulaire non lié à l'exposition au Cd pourrait s'accompagner d'une augmentation de l'excrétion du Cd [230]. Le mécanisme de co-excrétion démontré dans plusieurs études expérimentales [231] pourrait donc être à l'origine d'association non causale entre le Cd et l'albumine. Rappelons que L'albuminurie est utilisée comme un indicateur de lésion glomérulaire. Les faibles quantités filtrées sont normalement réabsorbées par le tubule proximal par un mécanisme d'endocytose médié par deux récepteurs dont la mégaline. Les ligands de

ce récepteur peuvent être des protéines se liant aux vitamines telles la RBP [232]. Etant donné que l'urine humaine contient normalement de très faible quantité d'albumine et de protéines, le processus d'élimination doit être très efficace pour les petites et grosses protéines filtrées par le glomérule. L'albuminurie et la protéinurie sont donc en général dépendantes à la fois de la filtration glomérulaire et de la réabsorption tubulaire [233-234]. Physiologiquement, il semblerait que seule une petite quantité d'albumine est filtrée par le glomérule. Dans certaines situations pathologiques lorsque le filtre glomérulaire est lésé, les reins commencent à excréter de l'albumine dès que la capacité de réabsorption du tubule proximal a été dépassée. Une compétition pourrait ainsi avoir lieu entre RBP et albumine au niveau des sites de réabsorption tubulaire. La liaison du compétiteur (l'albumine) pourrait bloquer celle de la RBP. Il serait d'ailleurs très intéressant de vérifier, dans des travaux expérimentaux ultérieurs, cette hypothèse et d'analyser les liaisons de ces deux protéines aux récepteurs tubulaires.



## **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

Afin d'étudier les effets néphrotoxiques possibles d'une exposition faible et chronique aux plomb et cadmium, nous avons caractérisé la protéinurie des travailleurs d'une usine d'électrolyse de zinc.

Les concentrations urinaires des protéines de haut et faible poids moléculaire (albuminurie,  $\alpha_1$  microglobuline et protéine transporteuse du rétinol) ont été ainsi déterminées.

L'intensité de l'exposition aux plomb et cadmium a été appréciée par le dosage respectif du PbS,  $\delta$  ala U, Cd S et Cd U.

Dans ce présent travail, nous avons essayé aussi de mieux évaluer les biomarqueurs d'effets rénaux (Albuminurie, RBP et  $\alpha_1$  microglobulinurie) en fonction de certains facteurs confondants (tabac, diurèse, co-excrétion du Cd avec les protéines urinaires) pour une interprétation précise des résultats des analyses.

Les résultats que nous avons obtenus montrent que :

- 1- La cadmiémie, tout comme la cadminurie des ouvriers d'Alzinc sont inférieures aux valeurs tolérables établies dans une population Européenne professionnellement exposée. Les niveaux d'exposition au cadmium retrouvés dans cette population sont proches de ceux rencontrés dans l'environnement.
- 2- Même si la plombémie augmente de manière significative dans l'usine d'électrolyse de Zinc, elle reste à la limite de la valeur de référence établie dans une population non professionnellement exposée et ne semble pas augmenter la concentration de l'acide delta aminolévulinique. En effet ce paramètre reflétant l'imprégnation par le plomb et son action toxique sur la synthèse de l'hème est comparable entre les groupes des contrôles et exposés et témoigne ainsi d'une faible exposition au plomb.
- 3- Pour aucun des marqueurs rénaux, on n'observe de différence statistiquement significative entre les travailleurs des deux usines. L'étude des prévalences sur les valeurs les plus élevées des marqueurs précoces d'effet glomérulaire et tubulaire ne montre aucune différence significative entre les deux usines et confirme l'absence de « l'effet exposition à ghazaouet ». En d'autres termes, l'intensité de l'exposition au

- Cadmium et/ou plomb (dose interne) des ouvriers explorés à Alzinc n'a pas d'impact sur leur fonction rénale.
- 4- La cadmiémie et cadminurie diffèrent significativement en fonction du statut tabagique. Ce qui n'est pas le cas pour la plombémie.  
Même si les paramètres d'effets glomérulaire et tubulaire demeurent inférieurs aux valeurs de référence établies dans une population Européenne générale, on note une variation significative de la protéine HC et RBP en fonction du statut tabagique. Les niveaux de ces deux biomarqueurs augmentent particulièrement chez les fumeurs actifs. Il existe donc une relation entre les paramètres d'exposition au cadmium et la fonction glomérulaire et/ou tubulaire en fonction du tabac.
  - 5- L'analyse bi variée confirme la relation entre le tabac, (paquets/années), les marqueurs de dysfonctionnement tubulaire et les marqueurs d'exposition au Cd.
  - 6- On note une étrange association puisque négative entre le cadmium urinaire et la protéine HC exprimés par gramme de créatinine. Cela suggère que l'ajustement basé seulement sur la créatinine urinaire n'est pas suffisant pour corriger les variations de ces deux paramètres induites par les changements de la diurèse.
  - 7- La RBP paraît être un marqueur de dysfonctionnement tubulaire meilleur que la protéine HC.
  - 8- Après ajustement en fonction de la diurèse (Modèle 3 de régression multiple), les résultats ne révèlent aucune association significative entre la cadmiurie ajustée et la RBP ou la protéine HC ; alors que le tabac demeure toujours un paramètre significatif et déterminant pour les deux protéines urinaires. Ce n'est donc pas le Cadmium présent dans la cigarette qui pourrait être responsable de l'effet sur les tubules.
  - 9- Dans le modèle avec Cd S, aucune association entre marqueurs rénaux et cadmiémie n'est enregistrée. Ceci est en faveur d'un effet non causal entre le Cd et les dysfonctionnements rénaux.

10-La relation entre albuminurie et Cd U n'est pas le résultat d'une atteinte tubulaire induite par le Cd mais plutôt le contraire (phénomène d'invers causality). C'est une maladie dégénérative comme le diabète (maladie souvent insidieuse) qui pourrait entraîner un dysfonctionnement glomérulaire et affecter la clairance du Cd.

11-La relation RBP / Cd U pourrait être secondaire aux phénomènes de :

- Compétition entre albumine et RBP.
- Affinité de l'albumine pour le Cd.

### **Perspectives**

Les niveaux d'exposition au Pb au sein de l'entreprise d'Alzinc semblent à la limite des valeurs de référence mais inférieurs aux valeurs tolérables. Ces résultats témoignent d'une faible exposition au plomb. Au vu de la longue demi-vie du Pb, toute réduction supplémentaire de cette exposition à ce métal ne peut être qu'encouragée. Une systématisation des dosages sanguins du plomb et urinaire du delta ala urinaire semble justifiée.

Par ailleurs, cette étude a bien mis en évidence l'effet délétère du tabagisme, sur la fonction rénale. Une campagne intensive de prévention du tabagisme et donc conseillée.

Notre étude n'a consisté qu'en une photographie de la situation à un moment donné. Nous avons essayé d'évaluer le risque cadmium et plomb. Nous espérons que ces résultats permettront d'orienter les enquêtes futures et serviront de base pour évaluer l'évolution de la situation dans l'usine.

# **CONCLUSION GENERALE**

Le potentiel du biomarqueur d'effet précoce réside dans sa grande sensibilité par rapport aux signes cliniques de la maladie, tests fonctionnels ou biomarqueurs tardifs. Dans le contexte des métaux lourds, un des exemples illustrant la grande sensibilité des biomarqueurs est celui de la RBP utilisé dans la détection des dommages tubulaires induits par le cadmium. En effet la perte d'un pour cent de la fonction tubulaire est suffisante pour augmenter l'excrétion urinaire de cette protéine par 3000%. La créatinine sérique, test usuellement utilisé pour la détection des dysfonctionnements rénaux, augmente que lorsque 40 à 50% des néphrons sont endommagés !!!

Le biomarqueur d'effet désigne une caractéristique mesurée objectivement c'est-à-dire avec une précision et une reproductibilité suffisante (ex : dosage de la CC16). Ils ne prônent donc pas de biais de rappel ou de mémoire tel les tests d'exploration fonctionnelle comme la spirométrie.

Le dosage du biomarqueur doit s'effectuer par une technique non invasive et facile à réaliser. Les pneumoprotéines sériques (CC16, Sp-D) représentent une approche non invasive très intéressante dans la détection des effets précoces respiratoires des polluants de l'air ou des métaux. La Sp-D peut en effet être utilisée pour évaluer la perméabilité de la barrière alvéolo-capillaire. La CC16 quant à elle est un indicateur sensible des dommages des cellules de Clara.

L'étude des relations dose – effet / réponse doit permettre de déterminer des niveaux seuil de toxicité. Parfois ces valeurs prédictives sont difficiles à déterminer. La principale raison est que le biomarqueur en question répond à un stade de l'intoxication où il est influencé par plusieurs facteurs. En plus, certains biomarqueurs d'effet présentent une large variabilité interindividuelle, ce qui représente un inconvénient majeur, c'est justement le cas de la protéine HC. En effet, il existe que quelques exemples de biomarqueurs d'effets précoces avec des valeurs prédictives bien déterminés ex : La RBP.

La plupart des biomarqueurs y compris les biomarqueurs d'effet sont influencés par certains facteurs tel l'ancienneté au travail, l'âge, le tabac, la diurèse, l'arrêt de l'exposition ... Il est essentiel au cours des analyses, d'ajuster en fonction de ces confondants afin de minimiser les biais d'analyse.

Le diagnostic de l'intoxication est établi lorsque les effets adverses observés sont associés à une exposition excessive ou une charge corporelle du toxique. On parle alors d'un effet causal : C'est le toxique (ex : le  $\text{SO}_2$ ) qui est responsable de l'effet observé. Le phénomène de causalité inverse se produit lorsque ce n'est pas le toxique qui fait varier les niveaux des biomarqueurs d'exposition et d'effet mais plutôt l'inverse. En effet, lorsque l'excrétion rénale est la principale voie d'élimination du toxique tel le Cd, un dysfonctionnement rénal induit par une maladie dégénérative tel le diabète peut affecter la clairance du Cd et sa concentration dans l'urine ou le sang.

Les associations retrouvées entre marqueurs d'exposition au toxique et les marqueurs d'effet peuvent être aussi secondaires. Ce phénomène a lieu lorsque un troisième facteur influence en même temps les biomarqueurs d'exposition et d'effet et prend de l'ampleur particulièrement lors des basses expositions (environnementales), durant lesquelles les associations entre biomarqueurs sont faibles. Ainsi, les relations entre RBP U / Cd U pourrait être secondaire à une compétition entre l'albumine et la RBP et à l'affinité de l'albumine pour le Cd. Les associations entre Cd U et marqueurs d'effets tubulaire et glomérulaires observés dans les populations générales peuvent donc s'expliquer par la cinétique du Cd au sein de l'organisme plutôt que sa dynamique d'action.

# **A N N E X E S**



<b>Description</b>	La principale protéine synthétisée dans le foie est présente dans le fluide corporel. Une molécule monomérique constituée d'une seule chaîne, avec aucun groupe prosthétique ou carbohydrates attachés. Similitudes structurelles avec la $\alpha$ - fœto protéine et a protéine liée à la vitamine D (Gc globuline).
<b>Structure</b>	Un ellipsoïde avec axe 40 x 140 Å unités. Unique chaîne peptidique divisée en 9 S S – boucles collées, regroupées en 3 homologues domaines.
<b>Poids moléculaire</b>	66,438 (calculé à partir de la composition en AA)
<b>Coefficient de sédimentation</b>	4,4 S
<b>Point isoélectrique</b>	5,6
<b>Coefficient d'extinction</b>	5,31 (280 mm, 1%, 1cm) ; absorbance molaire 35,279.
<b>Fonctions biologiques</b>	Agent de transport de longue chaîne d'acides gras, les prostaglandines, hématine, thyroxine, cystine et le phosphate pyridoxal lié à la bilirubine et de nombreux médicaments.
<b>Physiopathologie</b>	Fournit 80% de la pression osmotique colloïdale et contribue à 100 % dans l'équilibre acide – base plasmatique.
<b>Physiologie</b>	Sa concentration est un marqueur d'une bonne nutrition et longévité. La production de l'albumine diminue lors des infections ... L'hypo albuminurie est un présage de morbidité. Une valeur en dessous de 20 g/l est usuellement accompagnée d'un œdème.
<b>Dégradation</b>	Dégradation intracellulaire dans le plusieurs tissus en acides aminés.
<b>Demi-vie</b>	19 jours (circulation sanguine)
<b>Concentration</b>	<u>Sérum ou plasma</u> : 42 g/L (range 35 – 50 g/l) <u>Urine</u> : < 15 mg/g créatinine

**Tableau 28** : Caractéristiques de l'albumine

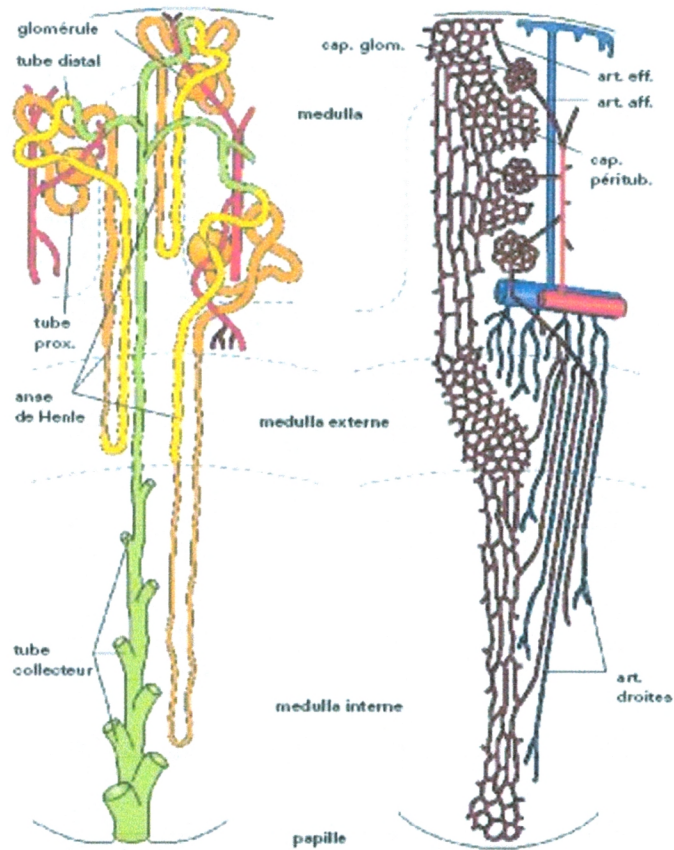
<b>Description</b>	<p>Protéine plasmatique constituée d'une seule chaîne, liée à une molécule de rétinol (Vitamine A). dans le plasma, la RBP est liée d'une manière non covalente à la transthyretin, avec une constante de dissociation d'environ <math>2 \times 10^{-7}</math> M.</p> <p>Dans les conditions physiologiques la stoechiométrie du complexe est 1 : 1. la stabilité de la protéine complexe dépend de la force ionique – A une force ionique de 0,001 et un pH 8, pas de liaison de la RBP à la transthyretin. La RBP appartient à la superfamille des protéines lipocalin, composée essentiellement de protéines lipophiles transporteuses.</p>
<b>Structure</b>	182 AA (peptide) pliés en une molécule globulaire avec un rayon de 2,05 nm et une ration de frottement de 1,82..
<b>Poids moléculaire</b>	21,200
<b>Coefficient de sédimentation</b>	2,3 S
<b>Point isoélectrique</b>	4,4 – 4,8 Electrophorétiquement hétérogène
<b>Coefficient d'extinction</b>	18,4 (280nm, 1%, 1cm) ou $3,91 \times 10^4$ ( $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )
<b>Fonctions biologiques</b>	<p>Transport de la vitamine A en forme de rétinol, de son site de stockage dans le foie aux cellules cibles (ex : cellules épithéliales) où la vitamine est utilisée.</p> <p>La RBP transfert aussi le rétinol de l'hépatocyte aux stellate cellules dans le foie. La RBP est surtout synthétisée dans le foie.</p>
<b>Physiopathologie Physiologie</b>	Le relargage de la RBP de l'hépatocyte dépend de la vitamine A. dans le cas d'une déficience en vit A, la RBP est piégée dans l'appareil de golgi et la concentration plasmatique diminue.
<b>Dégradation</b>	<p>La RBP libre est éliminée par filtration glomérulaire, après catabolisation par les cellules proximales.</p> <p>La RBP est aussi dégradée par le foie.</p>
<b>Demi-vie</b>	12 heures pour RBP avec une affinité pour transthyretin (pré-albumine)
<b>Concentration</b>	<p><u>Plasma</u> : 46 mg/l (range 37 – 56 mg/l)</p> <p>La concentration plasmatique est âge dépendant.</p> <p><u>Urine</u> : 0,11 mg/24h, volume (range 0,04 – 0,22 mg/24h volume).</p>

**Tableau 29** : Caractéristiques de la RBP

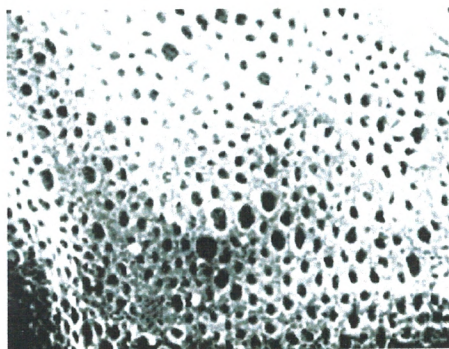
<b>Description</b>	<p>Une protéine du plasma avec un chromophore jaune-brun, de structure inconnue synthétisée dans le foie, où il est traduit à partir du même ARN<sub>m</sub> que le bikunin, la chaîne légère de la protéine plasmatique inter-<math>\alpha</math>-trypsin inhibiteur. Cette di-protéine est clivée avant la sécrétion de <math>\alpha_{1m}</math> dans la circulation.</p> <p>On la retrouve dans le plasma en forme libre et liée (liaison covalente) aux monomères d'IgA.</p>
<b>Structure</b>	<p>183 AA, pliés en une molécule globulaire d'un rayon de 2,85 nm et un ratio de frottement de 1,45.</p> <p>Glycoprotéine avec deux complexes liés, type N-oligosaccharide au niveau de l'AA 17 et 96 et un O-oligosaccharide en position 5.</p>
<b>Poids moléculaire</b>	26,700 (sédimentation equilibrium centrifugation)
<b>Coefficient de sédimentation</b>	2,35 S
<b>Point isoélectrique</b>	4,3 – 4,8 – électrophorétiquement hétérogène
<b>Coefficient d'extinction</b>	17,7 – 18,3 (280 nm, 1%, 1cm) ou $4,72 \cdot 10^4$ ( $M^{-1}cm^{-1}$ )
<b>Fonctions biologiques</b>	Inconnu – Indication dans l'immuno-régulation et association avec protéinase inhibition
<b>Physiopathologie Physiologie</b>	<p>Taux élevé dans le plasma des patients présentant une insuffisance rénale, troubles durant le 3<sup>ème</sup> trimestre de la grossesse et en cas d'Ig A plasmatiques élevées.</p> <p>Infection au HIV, taux plasmatiques sub-normal ; de même dans certaines atteintes hépatiques.</p> <p>Normalement excrétée dans l'urine ; les concentrations élevées témoignent de troubles tubulaires.</p>
<b>Dégradation</b>	Elimination de la circulation par filtration glomérulaire
<b>Demi-vie</b>	Inconnu
<b>Concentration</b>	<p><u>Plasma</u> : 20 – 100 mg/l (et 54 mg/l depuis peu)</p> <p><u>Urine</u> : 2 – 10 mg/ 24 heures volume</p>

Tableau 30 : Caractéristiques de la  $\alpha_1$  microglobuline

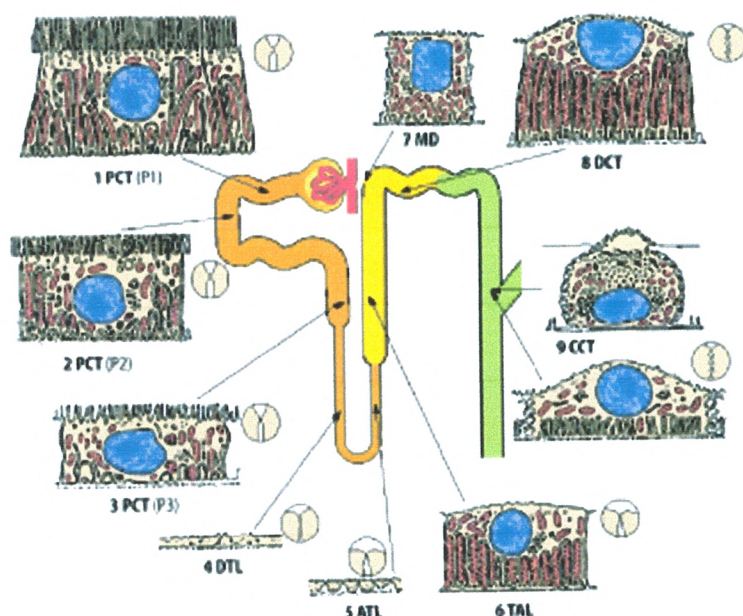
## Rappels anatomiques sur le rein : Figure A – B - C



**Figure A :** Organisation structurelle du rein: le néphron. Partie gauche: 3 néphrons sont représentés avec leur système de tubes collecteurs. Les néphrons corticaux ont des anses de Henle courtes, et les profonds (juxta médullaires) des anses longues, atteignant la médulla interne. Font suite aux glomérules les tubes proximaux, les anses de Henle et les tubes distaux, qui débouchent dans le système des tubes collecteurs. Partie droite: vascularisation du rein: les artères inter lobulaires donnent les artéριοles afférentes, qui se terminent par le peloton capillaire glomérulaire. Le sang passe ensuite par les artéριοles efférentes dans le réseau capillaire péri tubulaire. Les capillaires des glomérules juxta médullaires donnent les artéριοles droites allant jusque dans la médulla.



**Figure B :** Microscopie électronique d'un glomérule. (De: Churg J, Bernstein J, Glasscock RJ. Renal disease. Classification and atlas of glomerular diseases. New York: Igaku-Shoin; 1995).



**Figure C :** Structure du tube. Les cellules épithéliales sont représentées avec leur face apicale dans la lumière du tube, vers le haut. Les détails circulaires à côté des cellules sont des agrandissements des jonctions étroites (en anglais tight junctions). 1. tube contourné proximal (segment S1) ; 2. Tube contourné proximal (segment S2) ; 3. Tube droit proximal (segment S3) ; 4. Branche descendante fine ; 5. Branche ascendante fine ; 6. Branche ascendante large de l'anse de Henle ; 7. Macula densa ; 8. Tube contourné distal ; 9. Partie corticale du tube collecteur ; *en haut*: cellule foncée ; *en bas*: cellule claire. La richesse en mitochondries témoigne d'une importante fonction de transport actif (1-2 et 6-8). Les petites cellules plates ne font preuve d'aucun transport actif mesurable (4-5). Le plissement de la membrane apicale (agrandissement) et les jonctions étroites punctiformes sont typiques d'épithélial «de fuite» très perméables, avec transport important et impossibilité de transporter contre d'importants gradients (1-2) : les jonctions étroites en fermeture éclair sont typiques d'épithélial «de fuite modérée» ou «moyennement denses» avec perméabilité moindre, transport moins important et aptitude à transporter contre de fortes gradients.

## Physiologie et rappels anatomiques de l'appareil respiratoire :

Le poumon est l'organe des échanges gazeux. Il est constitué par une vaste surface d'échange, la surface alvéolaire, (80 m<sup>2</sup>), interposée entre deux circulations : celle de l'air dans les voies aériennes, qui est périodique, et celle du sang dans la petite circulation, qui est continue et puisée. On peut donc distinguer plusieurs étapes dans les échanges gazeux : une étape pulmonaire, une étape sanguine et une étape tissulaire.

Au cours de l'étape pulmonaire, plusieurs mécanismes concourent aux échanges gazeux (fig.D).

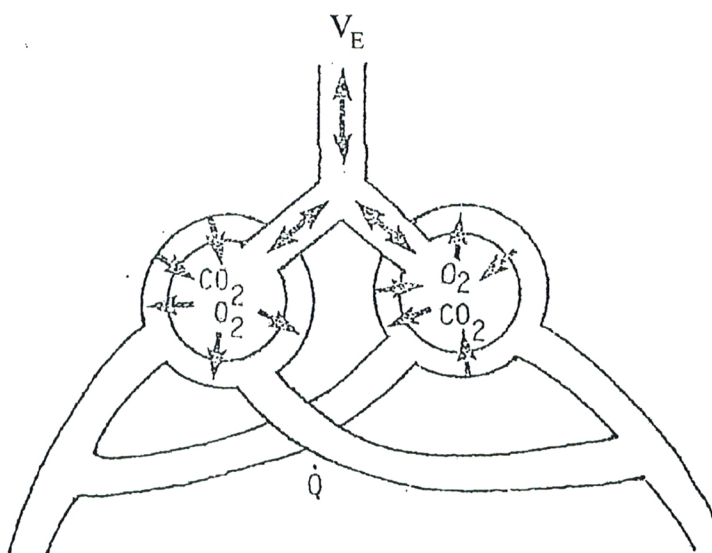


Fig. D Le système respiratoire



La ventilation : c'est le mouvement de l'air atmosphérique qui pénètre dans les poumons à l'inspiration et de l'air pulmonaire qui en ressort à l'expiration. La mécanique ventilatoire étudie ces mouvements ainsi que les forces et le travail nécessaires pour les accomplir. Le but des mouvements ventilatoires est de renouveler l'air alvéolaire. Sans ce renouvellement, il n'y aurait pas d'échanges gazeux d' $O_2$  et de  $CO_2$ .

La distribution : pour que le renouvellement de tout l'air alvéolaire soit efficace, il faut que la ventilation soit distribuée le plus uniformément possible à tous les alvéoles pulmonaires, La distribution de la ventilation est assurée par les nombreuses ramifications de l'arbre bronchique et l'homogénéité des propriétés mécaniques des bronches et des alvéoles.

La diffusion : c'est le mécanisme des échanges gazeux proprement dits entre le gaz alvéolaire et le sang des capillaires pulmonaires. L'O<sub>2</sub> et le CO<sub>2</sub> diffusent passivement suivant les gradients de pression partielle de ces gaz entre les alvéoles et les capillaires.

La circulation sanguine capillaire est le dernier mécanisme de l'étape pulmonaire des échanges gazeux. Son débit et sa distribution doivent s'adapter à la ventilation et sa distribution.

### **Rappel anatomique**

Le système respiratoire se compose d'une série de structures adaptées aux échanges gazeux.

1. Les voies aériennes (fig.E) : la trachée se subdivise en 2 bronches principales et celles-ci en bronches lobaires, en bronches segmentaires et ainsi de suite jusqu'aux bronchioles terminales. Au fur et à mesure que les bronches se subdivisent elles pénètrent plus profondément dans le poumon, deviennent plus étroites et plus nombreuses. Le nombre de bronchioles terminales qui forment la 16<sup>ème</sup> génération est de  $3 \cdot 10^4$ . Toutes ces bronches constituent les voies de conduction dans lesquelles circule l'air. Elles forment 19 générations de subdivisions; les 7 premières sont pourvues de pièces cartilagineuses tandis que les générations 8-19 sont membraneuses (de 2 mm à 0,6 mm). Les bronches et les bronchioles ont un volume de 150 ml qui représente l'espace mort du poumon ainsi appelé parce que l'air qu'il contient ne participe pas aux échanges gazeux.

La surface de section de la trachée est de 2,5 cm<sup>2</sup>. La section totale des bronchioles terminales est de 180 cm<sup>2</sup>, celle des sacs alvéolaires de 12.000 cm<sup>2</sup>.

2. Les alvéoles pulmonaires : les bronchioles terminales donnent naissance aux bronchioles respiratoires (0,4 mm) qui, de ci delà, possèdent des alvéoles dans leurs parois. Aux bronchioles respiratoires font suite les canaux alvéolaires ( $3 \cdot 10^7$ ) puis les sacs alvéolaires ( $8 \cdot 10^7$ ) dont les parois sont entièrement tapissées d'alvéoles. Cette région alvéolée du poumon représente la zone respiratoire. Le nombre d'alvéoles s'élève à 300 millions. Ils développent une surface totale de 80 à 100 m<sup>2</sup> et contiennent un volume gazeux de 3 l environ. Chaque alvéole a un diamètre de 0,3 mm.

Une telle collection de petits sacs aériens s'ouvrant dans des canaux constitue une structure fort instable. A cause de la tension superficielle du film liquide de la surface alvéolaire, les petits alvéoles ont tendance à se vider dans les grands.

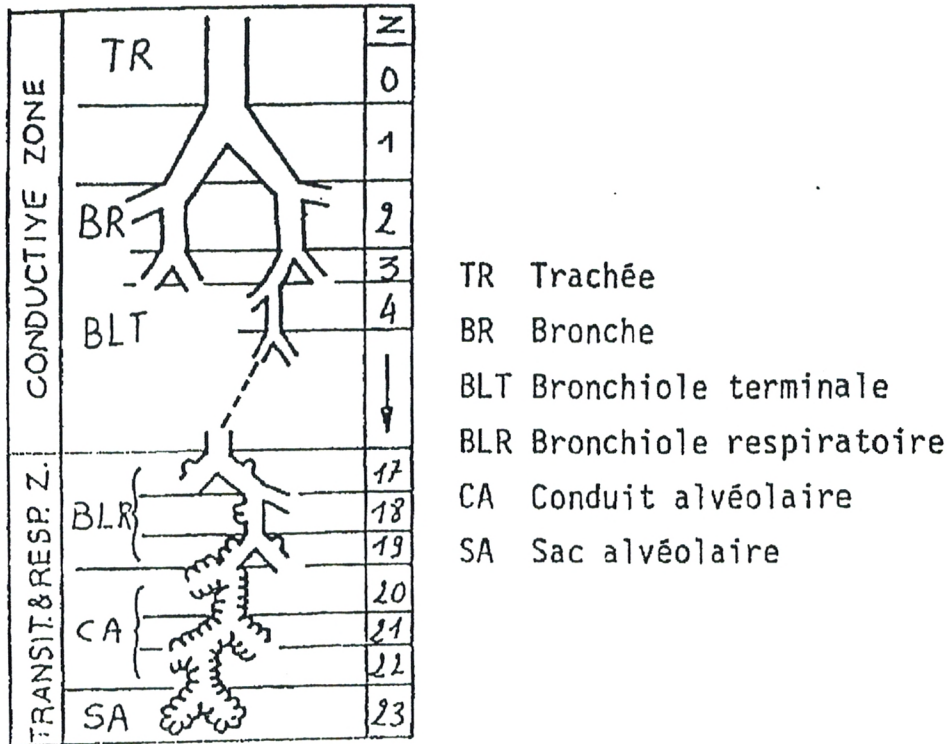


Fig. E L'arbre aérien.





Quels sont les produits chimiques utilisés ?

- |    |    |
|----|----|
| 1- | 2- |
| 3- | 4- |

Quels sont les produits finis ?

- |    |    |
|----|----|
| 1- | 2- |
| 3- | 4- |

Quels sont les matériaux et machines utilisés ?

- |    |    |
|----|----|
| 1- | 2- |
| 3- | 4- |

Quels sont les moyens de prévention ?

- |                      |                 |                 |               |
|----------------------|-----------------|-----------------|---------------|
| Gants / ... /        | Masques / ... / | Tablier / ... / | Autre / ... / |
| Ventilation / ... /  | 1- Naturelle    | 2-Artificielle  | 3-Mixte       |
| Ventilation adéquate | 1- Oui          | 2- Non          | / ... /       |

Date d'entrée à l'entreprise : ...../ ...../ .....

Quels sont les postes antérieurs dans votre entreprise ?

Poste Atelier Période

Poste 1

Poste2

Poste3

Poste4

Quels sont les postes antérieures dans autres entreprises ?

Poste Entreprise Période

poste5

Poste6

Poste7

Poste8

### **Poste 01 :**

Quels sont les produits chimiques utilisés en poste 01 ?

Quels sont les produits finis ?

- |    |    |
|----|----|
| 1- | 2- |
| 3- | 4- |

Quels sont les matériaux et machine utilisés ?

Définition sommaire et description de la tâche

- |    |    |
|----|----|
| 1- | 2- |
| 3- | 4- |

Quels sont les moyens de prévention en poste 01 ?

Gants /...../	Masques /...../	Tablier /...../	Autres /...../
Ventilation /...../	1-Naturelle	2-Artificielle	Mixte /...../
Ventilation adéquate	1-Oui	2-Non	/...../

### **Poste 02:**

Quels sont les produits chimiques utilisés en poste 02 ?

Quels sont les produits finis ?

- |    |    |
|----|----|
| 1- | 2- |
| 3- | 4- |

Quels sont les matériaux et machine utilisés ?

Définition sommaire et description de la tâche

- |    |    |
|----|----|
| 1- | 2- |
| 3- | 4- |

Quels sont les moyens de prévention en poste 02 ?

Gants /...../	Masques /...../	Tablier /...../	Autres /...../
Ventilation /...../	1-Naturelle	2-Artificielle	Mixte /...../
Ventilation adéquate	1-Oui	2-Non	/...../

### **Poste 03 :**

Quels sont les produits chimiques utilisés en poste 03

**RÉFÉRENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

# RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Coritsidis GN. Renal blood flow – glomerular filtration rate. 1999. Story Brook University Hospital webpages. [http://www.uhmc.sunysb.edu/i.temalmednephro/webpages/Part\\_A.htm](http://www.uhmc.sunysb.edu/i.temalmednephro/webpages/Part_A.htm), accessed 12 june 2006.
- [2] The renal Commission of the international Union of Physiological Sciences. A standard nomenclature dor structures of the kidney. *Kidney int* 1988; 33: 1-7
- [3] Landrigan Pj, Goyer RA, Clarkson TW, et al. The work relatedness of renal deseases. *Arch Environ Health* 1984; 39; 225-230
- [4] Anderson Rj, Linas SL, Berns AS, et al. Non-oliguric acute renal failure. *N Engl J Med* 1977; 296: 1134-1138
- [5] Hou SH, Bushinsky DA, Wish JB, Cohen JJ, Harrington JT. Hospital acquired renal insufficiency: a prospective study. *Am J Med* 1983; 74: 243-248
- [6] Leaf A, Cortan R S .Renal pathophysiology, 3 rd ed .Oxford: Oxford Uiversity Press, 1985.
- [7] Jàrup L. Hazards of heavy metal contamination. *British medical Bulletin* 2003; 68:167-182.
- [8] Health Canada Mercury Issues Task Group. Mercury – Your Health and Environment – Aresource Tool, 2007; pp54. [http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt\\_formats/hecs-secs/pdf/pubs/contaminants/mercury/mercur\\_e.pdf](http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt_formats/hecs-secs/pdf/pubs/contaminants/mercury/mercur_e.pdf)
- [9] Gendreau PL, Vitaro F. The unbearable lightness of « light » cigarettes: a comparison of smoke yields in six varieties of Canadian “light” cigarettes. *Can J Public Health* 2005; 96(3): 167-172
- [10] Nordberg GF, Jin T, Hong F, Zhang A, Buchet JP, Bernard A. Biomarkers of cadmium and arsenic interactions. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 206(2): 191-197
- [11] Walkes MP, Harvey MJ, Klaasen CD. Relative in vitro affinity of Hepatic metallothionein for metals. *Toxicol Lett.* 1984; 20(1):33-39
- [12] KidoT, Honda R, Tsuritani I, Yamaha H, Ishizaki M, Yamada Y et al. Progress of renal dysfunction in inhabitants environmentally exposed to cadmium. *Arch Environ Health* 1988; 43:213-217

## Références bibliographiques

---

- [13] Roels HA, Van Assche FI, Oversteyns M, De Groot M, Lauwerys RR, Lison D. Reversibility of microproteinuria in cadmium workers with incipient tubular dysfunction after reduction of exposure. *Am J Ind Med* 1997; 31; 645-652
- [14] Roels H, Bernard M, Cardenas A, Buchet JP, Lauwerys R, Hotter G et al. Markers of early renal changes induced by industrial pollutants. III. Application to workers exposed to cadmium. *Br J Ind Med* 1993; 50:37-48
- [15] Järup L, Berglund M, Elinder CG, Nordberg G, Vahter M. Health effects of cadmium exposure; a review of the literature and a risk estimate. *Scand J Work Environ Health* 1998; 24 (Suppl 1): 1-52
- [16] Hotz P, Buchet PJ, Bernard A, Lison D, Lauwerys R. Renal Effects of low-level environmental cadmium exposure: 5 years follow – up of a subcohort from the Cadmibel study. *Lancet* 199; 354:1508-1513
- [17] Jarup L , Hellstrom L , Alfvén T , Carlsson D , Grubb A , Persson B , Pettersson C , Spang G , Schutz A , and Elinder A .LOW level exposure to cadmium and early kidney damage : The Oscar study.*Occup Environ Med* 2000;57:668-672
- [18] Bennett WM. Lead nephropathy *Kidney Int* 1985; 28:212-220
- [19] Bernard A. *Clinical Renal Toxicology*. 2004. 2ème Edition. Sullivan J.B. Jr ; Kreiger G.R Editeurs. Lippincott Williams & Wilkins.pp 281-289.
- [20] Cardenas A, Roels H , Bernard A, Barbon R, Buchet JP, Lauwerys R, Rosello J, Hotter G, Mutti A, Franchini I, et al .Markers of early renal changes induced by industrial pollutants.I.Application to workers exposed to mercury vapour .*Br J Ind Med* 1993;50(1):17-27.
- [21] Roels H, Lauwerys R, Konings J, Buchet JP, Bernard A, Greens S et al.Renal function and hyperfiltration capacity in lead smelter workers with high bone lead.*Occup Environ Med*.1994;51:505-502.
- [22] Weaver VM, Lee BK , Ahn KD, Lee Gs ,Todd AC,Stewart WF, et al. Associations of lead biomarkers with renal function in Korean lead workers .*Occup Environ Med* 2003a ;60:551-562.
- [23] La neutralisation des effluents de l'usine d'électrolyse de zinc de Ghazaouet. 1998. 11-12-14.

- [24] Bernard A. Biomarkers of metal toxicity in population studies: Research potential and interpretation issues. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 2008; 71:1259-1256.
- [25] Ezaki T, Tsukahara T, Miriguchi J, Furuki K, Fukui Y, Ukai H, Okamoto S, Sakurai H, Honda S, Ikeda M. Analysis for threshold levels of cadmium in urine that induce tubular dysfunction among women in non-polluted areas Japan. *Int Arch Occup Environ Health* 2003; 76:197-204.
- [26] Bernard A, Lauwerys R. The effect of cadmium chromate and carbon tetrachloride on the urinary excretion and tissue distribution of cadmium in cadmium-pretreated rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1981; 57:30-38.
- [27] Schlesinger RB. 1999. Toxicology of sulfur oxides. In "Air pollution and health". Eds Stephen Holgate, Jonathan Samet, Hillel Koren, Maynard, R. Academic Press, New York, pp 585-602.
- [28] Lippmann. 2000. Sulfur oxides: acidic aerosols and SO<sub>2</sub>. In "Environmental toxicants. Human exposure exposures and health effects". Ed. Morton Lippmann. Wiley-Interscience. John Wiley and Sons. New York, pp 771-810.
- [29] Sheppard D, Wong WS, Uehara CF, Nadel JA, Boushey HA. 1980. Lower threshold and greater bronchomotor responsiveness of asthmatic subjects to sulfur dioxide. *American Reviews Respiratory Disease* 122:873-878.
- [30] Smith TJ, Peters JM, Reading JC, Castle CJH. 1977. Pulmonary impairment from chronic exposure to sulphur dioxide in a smelter. *American Reviews Respiratory Disease* 116:31-
- [31] Lebowitz MD, Burton A, Kaltenbom W. Pulmonary function in smelter workers. *Journal Occupational Medicine* 1997 ; 21 :255-259.
- [32] Archer VE, Gillam JD. Chronic sulfur dioxide exposure in a smelter. II. Indices of chest disease. *Journal Occupational Medicine* 1978 ; 20:88-95.
- [33] Lowe CR, Campbell H, Khosla T. Bronchitis in two integrated steel works, III. Respiratory symptoms and ventilator-y capacity related to atmospheric pollution. *British Journal Industrial Medicine* 1970 ; 27: 121-129.
- [34] Osterman J W, Greaves I A , Smith T J, Hammond S K , Robins J M , Theriault G. Work related decrement en pulmonary function in silicon carbide production workers. *British Journal of Industrial Medicine* 1989 ;46:708-716.

- [35] American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). 2008 TLVs and BEIs.
- [36] Hermans C, Bernard A. Pneumoproteinaemia: a new perspective in the assessment of lung disorders. *European Respiratory Journal* 1998 ; 1:801-803
- [37] Hermans C, Bernard A. Lung epithelium-specific proteins: characteristics and potential applications as markers. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1999 ; 159:646-678.
- [38] Vasan, Ramachandran S. Biomarkers of Cardiovascular Disease: Molecular Basis and Practical Considerations. *Circulation, Indian heart J* 2006 ; 113; 2335-2362.
- [39] Van Gestel et Van Brumennen ( ziani lui demander la reference )
- [40] Lagadic L, Caquet, Th, Amiard, JC .1997. Biomarqueurs en Ecotoxicologie : Principes et définitions. In : Lagadic L, Caquet, Th, Amiard, JC et Ramade F (eds), *Biomarqueurs en Ecotoxicologie : Aspects fondamentaux*. Masson, Paris, 1-9.
- [41] Working group (2001). Biomarkers definitions. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol* 2001; 69:89-95.
- [42] De Burbure C, Buchet J .P, Bernard A and all. Biomarkers of renal effects in children and adults with low environmental exposure to heavy metals. *J Toxicol Environ Health A*, 2003 ; 66(9):783-98
- [43] Price, R.G et coll,. Developpement and validation of new screening teste for nephrotoxic effets. *Human & Experimental toxicology* 1996, 15, Suppl.1. S10-S19.
- [44] Asanuma K, Mundel P, The role of podocytes in glomerular pathobiology. *Clin Exp Nephrol* 2003, 7(4): 255-259.
- [45] Bjömson A, Moses J, Ingemansson A, haraldson B, Sorensson J. Primary human glomerular endothelial cells produces proteoglycans, and puromycin affects their posttranslational modification. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 288(4): F748-756
- [46] Bjömson A, Ebefors K, Saleem M, Mathieson P, Haraldsson B, Sorensson J. Podocyte Proteoglycan synthesis is invlolved in the development of nephritic syndrome. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 291: 722-730.
- [47] Araki S, Haneda M, Sugimoto T, Isono M, Isshiki K, Kashiwagi A, Koya D, Factors associated with frequent remission of microalbuminuria in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2005; 54 (10): 2983-2987.



## Références bibliographiques

---

- [48] Bernard A, Lauwerys R. Proteinuria: Changes and Mechanisms in Toxic nephropathies. *Critical reviews in toxicology* 1991; 21 5: 373-405.
- [49] Kanai M, Raz A, Goodman D.S. Retinol-binding protein: the transport protein for vitamin A in human plasma. *J. Biol. Chem* 1968; 246: 45.
- [50] Peterson P.A, Berggard I. Isolation and properties of a human retinol-transporting protein. *J. Biol. Chem* 1971; 246: 25.
- [51] Butler E.A, Flynn F.V. The occurrence of post-gamma globulin protein in urine: a new protein abnormality. *J. Clin. Pathol* 1961; 14: 172.
- [52] Hermans C, Bernard A. Lung epithelium – specific proteins characteristics and potential applications – state of the art. *Am J Resp Crit Care Med* 1999; 159: 646 – 678.
- [53] Robin M, Dong P, Hermans C, Bernard A, Bersten A D, Doyle IR. Serum Levels of CC<sub>16</sub>, SPA and SP-B reject tobacco – smoke exposure in asymptomatic subjects. *Eur Respir J* 2002; 20: 1152-1161.
- [54] Tzouvelekis A, Kouliatsis G, A nexlxis S, Bouros D. Serum biomarkers in interstitial lung diseases. *Respir Res* 2005; 6: 78.
- [55] Itoh, Y., S. Ishii, R. Okutani, Y. Asano, and T. Kawai. 1993. Protein 1: its purification and application in clinical medicine. *J. Clin. Lab. Anal.* 7:394-400.
- [56] Shijubo, N., Y. Itoh, T. Yamaguchi, Y. Shibuya, Y. Morita Hirasawa, R. Okutani, T. Kawai, and S. Abe. Serum and BAL Clara cell 10 kDa protein (CC10) levels and CC10-positive bronchiolar cells are decreased in smokers. *Eur. Respir. J.* 1997; 10:1108-1114.
- [57] Hermans, C., O. Aly, B. I. Nyberg, C. Peterson, and A. Bernard. Determinants of Clara cell protein (CC16) concentration in serum: a reassessment with two different immunoassays. *Clin. Chim. Acta* 1998 ; 272:101-110.
- [58] Bernard, A. M., H. A. Roels, J. P. Buchet, and R. R. Lauwerys. Serum Clara cell protein: an indicator of bronchial cell dysfunction caused by tobacco smoking. *Environ. Res* 1994 ; 6:96-104.
- [59] Bernard, A., H. Roels, J. P. Buchet, and R. Lauwerys. Decrease of serum Clara cell protein in smokers (letter). *Lancet* 1992 ; 339:1620.
- [60] Bernard, A., F. X. Marchandise, S. Depelchin, R. Lauwerys, and Y. Sibille. Clara cell protein in serum and bronchoalveolar lavage. *Eur. Respir. J.* 1992 ; 5:1231-1238.

## Références bibliographiques

---

- [61] Hermans, C., M. Petrek, V. Kolek, Th. Pieters, M. Lambert, and A. Bernard. Serum Clara cell protein (CC16) correlates with chest radiographic abnormalities of sarcoidosis (abstract). *Am.J. Respir. Crit. Care Med*1997 ; 155:A981.
- [62] Bernard, A. M., J. M. Gonzalez Lorenzo, E. Siles, G. Trujillano, and R. Lauwerys. Early decrease of serum Clara cell protein in silica-exposed workers. *Eur. Respir. J.* 1994 ; 7:1932-1937.
- [63] Persson, A., D. Chang, K. Rust, M. Moxiey, W. Longmore, and E. Crouch. Purification and biochemical characterization of C'P4 (SP-0), a collagenous surfactant-associated protein. *Biochemistry* 1989; 28:6361-6367.
- [64] Persson, A., K. Rust, D. Chang, M. Moxiey, W. Longmore, and E. Crouch. CP4: a pneumocyte-derived collagenous surfactant-associated protein. Evidence for heterogeneity of collagenous surfactant proteins. *Biochemistry* 1988; 27:8576-8584.
- [65] Beers, M. F., and A. B. Fisher. Surfactant protein C: a review of its unique properties and metabolism. *Am. J. Physiol*1992; 263:L151-L160.
- [66] Lu, J., A. C. Willis, and K. B. Reid. Purification, characterization and cDNA cloning of human lung surfactant protein D. *Biochem*1992; *J.* 284:795-802.
- [67] Persson, A., D. Chang, and E. Crouch. Surfactant protein D is a divalent cation-dependent carbohydrate-binding protein. *J. Biol.Chem.*1990; 265:5755-5760.
- [68] Kuroki, Y., M. Shiratori, Y. Ogasawara, A. Tsuzuki, and T. Akino. Characterization of pulmonary surfactant protein D: its copurification with lipids. *Biochim. Biophys. Acta*1991; 1086:185-190. 145.
- [69] Crouch, E., K. Rust, R. Veile, H. Donis Keller, and L. Grosso. Genomic organization of human surfactant protein D (SP-D): SP-D is encoded on chromosome 10q22.2-23.1. *J. Biol. Chem*1993; 268:2976-2983.
- [70] Kolble, K., J. Lu, S. E. Mole, S. Kaluz, and K. B. Reid. . Assignment of the human pulmonary surfactant protein D gene (SFTP4) to 10q22-q23 close to the surfactant protein A gene cluster. *Genomics*1993; 17:294-298.
- [71] Voorhout, W. F., T. Veenendaal, Y. Kuroki, Y. Ogasawara, L. M. van Golde, and H. J. Geuze. Immunocytochemical localization of surfactant protein D (SP-D) in type II cells, Clara cells, and alveolar macrophages of rat lung. *J. Histochem. Cytochem.* 1992; 40:1589-1597.

## Références bibliographiques

---

- [72] Lu, J. Collectins: collectors of microorganisms for the innate immune System. *Bioessays* 1997; 19:509-518.
- [73] Motwani, M., R. A. White, N. Guo, L. L. Dowler, A. I. Tauber, and K. N. Sastry. Mouse surfactant protein-D: cDNA cloning, characterization, and gene localization to chromosome 14. *J. Immunol* 1995; 155:5671-5677.
- [74] Pison, U., M. Max, A. Neuendank, S. Weissbach, and S. Pietschmann. Host defence capacities of pulmonary surfactant: evidence for “non-surfactant” functions of the surfactant System. *Eur. J. Clin. Invest.* 1994; 24:586-599.
- [75] Thiel, S., and K. B. Reid. Structures and functions associated with the group of mammalian lectins containing collagen-like sequences. *FEBS Lett.* 1989; 250:78-84.
- [76] Lu, J., H. Wiedemann, U. Holmskov, S. Thiel, R. Timpl, and K. B. Reid. Structural similarity between lung surfactant protein D and conglutinin: two distinct, C-type lectins containing collagen-like sequences. *Eur. J. Biochem* 1993; 215:793-799.
- [77] Honda, Y., Y. Kuroki, E. Matsuura, H. Nagae, H. Takahashi, T. Akino, and S. Abe. Pulmonary surfactant protein D in sera and bronchoalveolar lavage fluids. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995 ; 152:1860-1866.
- [78] Honda, Y., H. Takahshi, Y. Kuroki, T. Akino, and S. Abe. Decreased contents of surfactant proteins A and D in BAL fluids of healthy smokers. *Chest* 1996; 109:1006-1009.
- [79] Kaneko, K., H. Shimizu, Y. Kuroki, and Y. Ogawa. Pulmonary surfactant protein D in sera in childhood (abstract). *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997 ; 155:A210.
- [80] Greene, K. E., B. L. Bucher-Bartelson, A. K. Kuroki, T. E. King, G. W. Hunninghake, L. S. Newman, P. E. Parson, and R. J. Mason. Serum SP-A and SP-D levels are elevated in patients with IFF (abstract). *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997 ; 155:A216.
- [81] Sovet. Empoisonnement par une poudre à récurer l'argenterie. *Presse Med Belge.* 1858 ; 10 :69-71.
- [82] Nicard P, Lafitte A, Gros A. Symptoms of chronic cadmium intoxication. *Arch Mal Prof Med Trav Secur Soc.* 1942; 4:192-202.
- [83] Berglund M, Akesson A, Nermell B, Vahter M. Intestinal absorption of dietary cadmium in women is dependent on body iron stores and fiber intake. *Environ Health Perspect* 1994; 102:1058-66.

## Références bibliographiques

---

- [84] Vahter M, Berglund M, Nermell B, A kesson A. Bioavailability of cadmium from shellfish and mixed diet in women. *Toxicol Appl Phormacol* 1996; 136:332-41.
- [85] Sandberg B, Arvidsson B, Nearby A, Rybo G, Sölvell L. Absorption of supplemental iron during pregnancy – a longitudinal study with repeated bone – massow studies and absorption measurements – *Acte Obstet Gynecol secand* 1975 ; suppl 48 :87-108.
- [86] Bergström E, Hornell O, Lönnerdahl B , Persson L-A. Sex differences in iron stores of adolescents: what is normal? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 20: 215-24 .
- [87] Friberg L, Piscator M, Nordberg G, Kjellstrom T. Cadmium in the environement; end ed. Cleveland (OH) : CRC Press, 1974.
- [88] Elinder C-G, Kjellstrom T, Lind B, Linaman L, Riscator M, Sundstedt K. Cadmium exposure from smoking cigarettes : variations with time and country where purchased. *Environ Res* 1983; 32:220-7.
- [89] NordbergGF, Kjellstrom T, and Nordberg M. In cadmium and Health.A toxicological and epidemiological Appraisal. (CL Friberg, CG Elinder, T Kjellstrom Kjestrom, T, et al, Eds) 1985,ch6. CRC press, boca Rotan fl.
- [90] Nordberg GF, Riscotor M, Nordberg M. *Acta pharmacol. Toxicol* 1971b; 30:289-295.
- [91] Nordberg M, Nordberg GF. Toxicological aspects of metallothionein.*Celluler Mol biol* 2000; 46:451-463.
- [92] Zalups RK, and Ahmed S. Molecular handling of cadmium in transporting epithelia. *Toxicol appl pharmacol* 2003; 186 : 163-188.
- [93] Nordberg. Studies on metallothionein and cadmium.*Environ Res* 1978 ; 15 :381-404.
- [94] Bernard A. Cadmium & its adverse effects on human health.*Indian J Med Res.* 2008 Oct;128(4):557-64. Review.
- [95] Jin T, Nordberg GF, Nordberg M. J. Uptake of cadmium in isolated kidney cells--influence of binding form and in vivo pretreatment.*J Appl Toxicol.* 1986 Dec;6(6):397-400
- [96] Liu YP, Liu J, Palmiter RD, Klaassen CD. Distribution and retention of cadmium in metallothionein I and II null mice.*Toxicol appl pharm* 1996 ; 136 :260-268.
- [97] Bernard AM, Ouled AA, Lauwerys BR. Pronounced decrease of Tamm-Horsfall proteinuria in diabetics.*Toxicol Appl Phamacol* 1987 ;87 440-445.

## Références bibliographiques

---

- [98] Gunn SA, Gould TC. Selective accumulation of Cd115 by cortex of rat kidney. *Proc Soc EXP Biol Med* 1957 ;96 :820-823.
- [99] Who/IPCS. Environmental Health criteria Document 134 Cadmium. WHO Genève. 1992.
- [100] Livingston HD. Measurement and distribution of zinc, cadmium, and mercury in human kidney tissue. *Clin Chem* 1972 ;18 :67-72.
- [101] Dencker L. Possible mechanisms of cadmium fetotoxicity in golden hamsters and mice: uptake by the embryo, placenta and ovary. *J Resp Per Til* 1975 ;44 :461-471.
- [102] Sonawan BR, Nordberg M, Nordberg GF, et al. *Environ Health Perspect* 1975; 12:97-102.
- [103] Wisniewska – Knypl J-M., Jablonska J and Myslak Z. Binding of cadmium on metallothionein in man : an analysis of a fatal poisoning by cadmium rodide. *Arch toxicol* 1971 :26-46.
- [104] Lauwerys R., Lison D. and Hoet P. *Toxicologie industrielle et intoxication professionnelle*, 2007- Edt Maisson Paris.
- [105] Kido T, Honda R, Tsuritani, Yamada Y, Ishizaki M, Yamada Y et al. Progress of renal dysfunction in inhabitants environmentally exposed to cadmium. *Arch Environ on health* 1988; 43 :213-217.
- [106] Bernard A, Lauwerys R, Cadmium. *Ecycl Med chir* (Editions Scientifiques et Medicales Elsevier SA S, Paris), *Toxicologie – Pathologie professionnelle*, 16-002-B30, 1992:1-4.
- [107] Buchet JP, Lauwerys R, Roels H ,Bernard A ,Bruaux P ,Claeys F ,Ducoffre G, De Plaen P, Staessen J and Amery A .Renal effects of cadmium body burdern of the general population .*Lancet* 1990 ;699-702
- [108] Bernard A, Goret A, Roels H, Buchet JP, Lauwerys R. Experimental confirmation in rats of the mixed type proteinuria observed in workers exposed to admium. *Toxicology*. 1978 Aug;10(4):369-75
- [109] Roels H, Bernard M, Cardenas A, Buchet JP, Lauwerus RR, Hotter G et al. Markers of early renal changes induced byu industrial pollutants. III. Application to workers exposed to cadmium. *Br J Ind Med* 1993;50:37-48
- [110] Bernard A. Renal dysfunction induced by cadmium : biomarkers of critical effects – 1996.
- [111] Nordberg M, Nordberg GF. Toxicological aspects of metallothionein. *Cell Mol Biol* (Noisy-le-grand). 2000 Mar;46(2):451-63. Review
- [112] Nogawa K, Kido T, Shaikh ZA. Dose - reponse relationship for renal dysfunction in a population environmentally exposed tyo cadmium. Lyon : International Agency for Research on cancer (IARC), 1992 :311-8. IARC, Scientific publications, n°118.
- [113] Shigematsu A, Iida M, Lien GS, Imamura T, Okada M, Fuchigami T, Fujishima M, Itoh H, Iwashita A. Spontaneous regression of primary malignant lymphoma of the stomach in two nontreated Japanese. *J Clin Gastroenterol*. 1989 Oct;11(5):511-7

- [114] Roels H.A, Lauwerys R.R., Buchet J.P., Bernard A., Chettle D.R., Harvey T.C. and Al Haddad I.K. In vivo measurement of liver and kidney cadmium in workers exposed to this metal: its significance with respect to cadmium in blood and urine. *Environ Res* 1981; 26, 1: 4217-240.
- [115] Buchet J.P, Lauwerys R., Roels H., Bernard A., Bruaux P., Claeys F., Ducoffre G., de Plaen P., Staessen J. and Amery A. Renal effects of cadmium body burden of the general population. *Lancet* 1990; 336, 8717:699-702.
- [116] Hotz P. Buchet J.P., Bernard A., Lison D. and Lauwerys Renal effects of low-level environmental cadmium exposure : 5-year follow-up of a subcohort from the Cadmibel study. *Lancet* 1999; 354, 9189: 1508-1513.
- [117] Jarup L., Elinder C.G. and Spang G. Cumulative blood-cadmium and tubular proteinuria : a dose-response relationship. *Int Arch Occup Environ Health* 1988; 60, 3: 223-229.
- [118] Lauwerys R., Bernard A., Buchet J.P, Roels H., Bruaux P. Claeys F., Ducoffre G. De Plaen P., Staessen J., Amery A., Fagard R., Lijnen P., Thijs L., Rondia D. Sartor F., Saint Remy A. and Nick L. Does environmental exposure to cadmium represent a health risk? Conclusions from the cadmibel study. *Acta Clin Bel* 1991; 46, 4: 219-225.
- [119] Akesson A, Lundth T, Vahter M, Bjellerup P, Lidfeldt J, Nerbrand C, Samsioe G, Stromberg U. Tubular and glomerular kidney effects in Swedish women with low environmental cadmium exposure. *Environ Health Perspect* 2005; 113, 1627.
- [120] Yamagami T, Ezaki T, Moriguchi J, Fukui Y, Okamoto S, Ukai H, Sakurai H, Aoshima K, Ikeda M. Low level cadmium exposure in Toyama city and its surroundings in Toyama prefecture, Japan with references to possible contribution of shellfish intake to increase urinary cadmium levels. *Sci Total Environ* 2005.
- [121] Ikeda M, Ezaki T, Moriguchi J, Fukui Y, Ukai H, Okamoto S, Sakurai H. The threshold cadmium level that cause a substantial increase in beta2-microglobulin in urine of general populations. *Tohoku J. Exp Med* 2005c ;205:247.
- [122] Buchet JP, Lawerys R, Roels H, Bernard A, Bruaux P, Claeys F, et al. Renal effects of camium body berden of the general population. *Lancet* 1990 ; 336 :699-702.
- [123] Nordberg G, Jin T, Bernard A et al . Low bone density and renal dysfunction following environmental cadmium exposure in China. *Ambio*. 2002 Sep;31(6):478-81
- [124] Wang H, Zhu G, Shi Y et al. Influence of environmental cadmium exposure on forearm bone density. *J Bone Miner Res*. 2003 Mar;18(3):553-60.
- [125] Takebayashi S, Jimi, S, Segawa M et al. Cadmium induces osteomalacia mediated by proximal tubular atrophy and disturbances of phosphate reabsorption. A study of 11 autopsies. *Pathol Res Pract*. 2000;196(9):653-63.
- [126] Staessem JA, Roels HA, Emelianov D, Kuznetsova T, Thijs L, Vangrosveld J, and Fagard R. Environmental exposure to cadmium, forearm bone density, and risk of fractures : prospective population study. Public Health and Environmental Exposure to cadmium (Pheecad) Study group – *Lancet* 1999; 353, 9159.

## Références bibliographiques

---

- [127] Alfven T, Elinder CG, Carlsson MD, Grubb A, Hellstrom L, Persson B, Pettersson C, Spang G, Schutz A, and Jarups L. Low level cadmium exposure and osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2000; 15:1579-1586.
- [128] Jarup L, Alfven T, Low level cadmium exposure, renal and bone effects, the oscar study. *Biometal* 2004; 17 : 505-509.
- [129] Nordberg M, and Nordberg GF. In "Heavy Metals in the Environment" (B. Sarkar, Ed) 2002 : 231-270. Marcel Dekker, Inc. New York.
- [131] Friberg L. Health hazards in the manufacture of alkaline accumulators with special reference to chronic cadmium poisoning. *Acta Med Scand* 1950; suppl 240: 1-124.
- [132] Davison AG, Fayers PM, Taylor AJ, Venables KM, Darbyshire J, Pickering CA, Chettle DR, Franklin D, Guthrie J, Scott MC, et al. Cadmium fume inhalation and emphysema. *Lancet* 1988; 1 : 8587 – 663-667.
- [133] Chan OY, Poh SC, Lee HS, Tan KT, Kwok SF. Respiratory function in cadmium battery workers a follow study. *Ann Acad Med Singapore* 1988; 17 : 283-287.
- [134] Viaene MK, Roels HA, Leeders J, De Groof M, Sweters LJ, Lison D, Masschelein R. Cadmium : a possible etiological factor in peripheral polyneuropathy. *Neurotoxicol* 1999; 20: 1-7-16.
- [135] Lauwery R, Bernard A, Buchet JP, Roels H, Brunaux P, Ctaeys F, Ducoffre G, De Plaen P, Staessem J, Amery A, Fagard R, Lijen P, Higs L, Rondia D, Sartor F, Paint Remy A, Nick L. Does environmental exposure to cadmium represent a health risk ? Conclusions from the cadmibel study. *Acta Clin Bel* 1991; 46,4 : 219-225.
- [136] Mason HJ. Occupational cadmium exposure and testicular endocrine function. *Hum Exp Toxicol* 1990; 9: 91-94.
- [137] Yoshida K, Aaito H, Sughira N, Nakado A. Thyroid gland function of people in cadmium polluted area Kokuritsu Kogai Kenkyusho. *Kenkyu Hokoku* 84,91,1985 .
- [138] Schaller KH, Angerer J. Biological monitoring in the occupational setting - relation- ship to cadmium exposure. In: *Cadmium in the Human Environment: Toxicity and Carcinogenicity*. Nordberg GF, Herber RFm, Alessio L. (Eds.) IARC, Lyon; 1992.
- [139] Nordberg GF, Nordberg M. Biological monitoring of cadmium. In: *Biological monitoring of Toxic Metals*. Clarkson TW, Friberg L, Nordberg GF, Sager P. (Eds.) Plenum Press, New York, 1988:151-68.
- [140] Nordberg G. Cadmium. In: *Criteria Documents from the nordic expert group*. Beije B, Lundberg P. (Eds) 1992:85-124.
- [141] Alessio L, Odone P, Bertel li G ; Foa V. Cadmium In: *Human biological monitoring of industrial chemicals series, Vol1*. Alessio L, Berlin A, Roi R, Boni M. (Eds.) Joint Research Centre Ispra Establishment; 1983.
- [142] Ewers U, Brockhaus A, Freier I, et al. Exposure to cadmium of the West-German population – Results of Biological Monitoring Studies 1980-1986. *Environmental Toxin Series, Vol 2*. Springer Verlag Berlin, Heidelberg 1988.

## Références bibliographiques

---

- [143] Friberg L. Cadmium and the kidney. *Environmental Health perspectives* 1984, 54:1-11.
- [144] Ellis KJ, Varrsky D, Zanzi I, et al. In vivo measurement in smokers and no smokers, *Science* 1979; 20 :323-325.
- [145] Skerfving S, Nilsson U. Assessment of accumulated body burden of metals. *Toxicology Letters* 1992; 64/65:17/24.
- [146] Roels HA, Lauwerys RR, Buchet Jp, et al. Health significance of cadmium induced renal dysfunction : a five-year follow up. *British Journal of Industrial Medicine* 1989; 46: 755-64.
- [147] Herber RFM. Beta-2-microglobulin and other urinary proteins as an index of cadmium nephrotoxicity. *Pure & applied Chemistry* 1984, 56:957-65.
- [148] Oversteyns M, De Groof M, Van assche F. The medical biomonitoring of Cd-exposed workers at two Belgian zinc smelters. In: *Proceedings of the 3rd int. symposium on hygiene and health Management in the working environment*. Publ. KVIV, Ghent, Belgium 1993: 99-103.
- [149] Lauwerys RR. *Industrial Chemical Exposure: Guidelines for Biological monitoring* Biological Publications, Davis, CA, 1983:17-21.
- [150] Bernard A. Significance of cadmium levels in blood and urine during long-term exposure of rats to cadmium. *J Toxicol Environ Health*. 1980 Jan;6(1):175-84.
- [151] Kjellström T, Nordberg GF, A kinetic model of cadmium metabolism. In: *Cadmium and health. A Toxicological and Epidemiological Appraisal*. Vol 1. Dose and metabolism in the human being, *Environmental Research* 1978; 16:248-69.
- [152] Lauwerys RR, Roels H, regniers M, et al. Significance of cadmium concentration in blood and in urine in workers exposed to cadmium. *Environmental research* 1979; 20:375-91.
- [153] Berglund M, Akesson A, Nermell B, Vather M. Intestinal absorption of dietary cadmium in women is dependent on body iron stores and fiber intake *environ health perspect* 1994; 102:1058-66.
- [154] Vahter M, Berglund M, Nermell B, Akesson A, Bioavailability of cadmium from shellfish and mixed diet in women. *Toxicol appl phrmacol* 1996; 136:332-41.
- [155] WHO. *Recommended Health-based Limits in Occupational Exposure to heavy Metals*. Report of a WHO study group. *Who Technical Report series* 647; WHO Geneva, 1980.
- [156] American conference of governmental industrial hygienists (ACGIH). *Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices*, ACGIH, Cincinnati, OH, USA 1994.
- [157] Verougstraete V, Bernard A, Cadmium 2001, *Encyclopedie, Medico-Chirurgicale* 16-002-B30.
- [158] Järup L, Persson B, Elinder CG. Blood cadmium as an indicator of dose in a long-term follow-up of workers previously exposed to cadmium. *Scand J Work Environ Health*. 1997 Feb;23(1):31-6



## Références bibliographiques

---

- [159] Järup L, Berglund M, Elinder CG, Nordberg G, Vahter M. Health effects of cadmium exposure—a review of the literature and a risk estimate. *Scand J Work Environ Health*. 1998;24 Suppl 1:1-51. Review
- [160] Lauwerys RR, Bernard A, Roels HA, et al, Characterization of cadmium proteinuria in man and rat. *Environmental Health Perspectives* 1984; 54: 147-52.
- [161] Bernard A. Renal dysfunction induced by cadmium: biomarkers of critical effects – 1996
- [162] Goyer RA. Toxic effects of metals. In : Doull J, Klaassen C D, Amudur, eds. Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons. New York: Maemillan, 1991: 634 – 638.
- [163] Frigerg L, Elinder C G, Kj ellstrom T, Nordberg GF eds. Cadmium and health. Cleveland: CRC Press, 1986.
- [164] Awad El Karim MA, Hamed AS, El Haimi YA, Osman Y, Karim MA. Effects of exposure to lead among lead – acid battery factory workers in Sudan. *Arch Environ Health* 1986 ; 4 1(4) : 261-265.
- [165] Dollock CA, Ibels LS. Lead intoxication in paint removal workers on the Sydney harbour bridge. *Med J Aust* 1986 ; 145: 11-12-635-639.
- [166] John B, Sullivan Jr., R. And Kriegen. Clinical Environnemental health and toxic esposures, 2005. Eds... 383
- [167] Cooper X.C. Death from chronic renal disease In US Battery and lead production workers, 1988. *Environ Health Prospect*, 78-61-63.
- [168] Davies D.J., Thornton I., Watt J.M., Culbord E.B., Harvey P.G., Delves H.T., Sherlock J.C., Smart G.A., Thomas J.F. and Quinn M.J. Lead intake and bloodlead in two year old UK urban children, 1990 *Sci total Environ* 90, 13-29
- [169] Selven S.G., Landrigan P.J., Stren F.B. and Jones J.H – Mortality of lead smelter workers, 1985. *Am J Epidemiol*, 1224, 673 – 683
- [170] Allbahary C., Ricket G., Guillaume J. and morel Maroger L. Le rein et le saturisme professionnel, 1965. *Arch Mal Prof*, 26,5.
- [171] Kim R., Rotnitzky A. and Sparrow D. A longitudinal study of low level lead exposure and impaiement of renal function. The normative aging study, 1996. *J. and Med Assoc*, 275, 1177 – 1181
- [172] Staessen J., Yeamon W.B., Fletcher A.E., Markowe H.L., Marmot M.G., Rose G., Semmence A., Shipley M.J., and Bulpitt C.J. Blood lead concentration, renal function, and blood pressure in London civil servants, 1990. *Br. J. Ind Med* 47, 4, 442-447
- [173] Kim R., Rotnitzky A. and Sparrow D. A longitudinal study of low level lead exposure and impaiement of renal function. The normative aging study, 1996. *J. and Med Assoc*, 275, 1177 – 1181
- [174] Paryton M. Riggs K.H., Spiro A., Wears S. Trand Hu M. Relations of bone and blood lead to cognitive function: the VA Normative aging study. 1998-20, 1, 19-27
- [175] American Conference of gouvernemental industrial Hygienysts. Documentation of the biological exposure indices: lead (REI99) ACGRH, Cincinnati, OH, 1989.

## Références bibliographiques

---

- [176] Skerfving S. Inorganic lead. In Criteria documents from the Nordic expert group, 1992. Beije B. , tund berg P. Eds Arbete och Hälsa 1993;1 ; 125-238
- [177] WHO –Air quality guidelines of Europe. 2nd ed. Who regional publications, European series. N°91, Copenhagen, 2000.
- [178] ACGIH-Threshold limit Value for chemical substances and physical agents and biological exposure indices. Cincinnati 2005.
- [179] Schlesinger RB. Toxicology of Sulfur Oxides. Chapitre 26 dans *Air Pollution and Health*. 1999. Academic Press. ISBN 0-12-352335-4
- [180] Lentner C, ed. 1981. Geigy Scientific Tables. Vol 1: Units of measurement, body fluids, composition of the body, nutrition. West Caldwell, NJ: Medical Education Division, Ciba-Geigy Corporation, 57-62.
- [181] Sandstrom T, Stjernberg N, Andersson M, et al. Cell response in bronchoalveolar lavage fluid after exposure to sulfur dioxide: A time-response study. *Am Rev Respir Dis* 1989a;140: 1828-1831.
- [182] Sandstrom T, Stjernberg N, Andersson MC, et al. . Is the short term limit value for sulphur dioxide exposure safe? Effects of controlled chamber exposure investigated with bronchoalveolar lavage. *Br J Ind Med* 1989b; 461:200-203.
- [183] Moreguchi G, Ezaki T, Tsukamara T, Furuki K, Okamoto S, Ukai H, Sakurai H, Ikeda M.  $\alpha$ 1-microglobulin as a promising marker of cadmium induced tubular dysfunction possibly better than  $\beta$  2 microglobulin. *Toxicology letters* 2004. 420 : 11-20.
- [184] Kido T, Honda R, Yamada Y, Tsuritani I, Ischizaki M, Nogawa K.  $\alpha$ 1 microglobulin determination in urine for the early detection of renal tubular dysfunctions caused by exposure to cadmium. *Pub med* 1985.
- [185] Vasan, Ramachandran S. (2006). Biomarkers of Cardiovascular Disease: Molecular Basis and Practical Considerations. *Circulation*, 113; 2335-2362.
- [186] Van Gestel et Van Brumennen ( ziani lui demander la reference)
- [187] Bernard A, Marchandise FX, Depelchin S, Lauwerys R, Sibille Y. 1992a. Clara cell Protein in serum and bronchoalveolar lavage. *European Respiratory Journal* 5:1231-1238
- [188] Bernard A, Vyskocil A, Lauwerys R. Determination of beta2-microglobulin in human urine and serum by latex immunoassay. *Clin Chem* ;27 :832-837.
- [189] Bernard A, Roels H, Buchet JP, Lauwerys R. 1992. Decrease of serum Clara cell protein in smokers. *Lancet* 339 :1620
- [190] Shijubo N, Itoh Y, Yamaguchi T, Shibuya Y, Morita Y, Hirasawa M, Okutani R, Kawai T, Abe S. 1997. Serum and BAL Clara cell 10 kDa protein (CC10) levels and CC10-positive bronchiolar cells are decreased in smokers. *European Respiratory Journal* 10:1108-1114
- [191] Robin M, Dong P, Hermans C, Bernard A, Bersten AD, Doyle IR. 2002. Serum levels of CC16, SP-A and SP-B reflect tobacco-smoke exposure in asymptomatic subjects. *European Respiratory Journal* 20:1152-1161.

## Références bibliographiques

---

- [192] Bernard AM, Roels HA, Buchet JP, Lauwerys RR. 1994a. Serum Clara cell protein: an indicator of bronchial cell dysfunction caused by tobacco smoking. *Environmental Research* 66:96-104.
- [193] Wang SX, Liu P, Wei MT, Chen L, Guo Y, Wang RY, Tu ZG, Liang XC. 2007. Roles of serum clara cell protein 16 and surfactant protein-D in the early diagnosis and progression of silicosis. *Journal Occupational Environmental Medicine* 49:834-839.
- [194] Bergamaschi E, Apostoli P, Catalani S, Festa D, Folesani G, Andreoli R, Manini P, Schenato S, DePalma G, Franchini I, Bernard A, Mutti A. 2003. Indicators of pulmonary epithelial damage among workers at a foundry exposed to airborne pollutants. *Giornale Italiano di Medicina del Lavoro ed Ergonomia*. 25:104-106.
- [195] Hałatek T, Trzcinka-Ochocka M, Matczak W, Gruchała J. 2006. Serum Clara cell protein as an indicator of pulmonary impairment in occupational exposure at aluminum foundry. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*. 19:211-223.
- [196] Bernard A, Hermans C, Van Houte G. 1997. Transient increase of serum Clara cell protein (CC16) after exposure to smoke. *Occupational Environmental Medicine* 54:63-65.
- [197] Burgess JL, Nanson CJ, Bolstad-Johnson DM, Gerkin R, Hysong TA, Lantz RC, Sherrill DL, Crutchfield CD, Quan SF, Bernard AM, Witten ML. 2001. Adverse respiratory effects following overhaul in firefighters. *Occupational Environmental Medicine* 43:467-473.
- [198] Steiner D, Jeggli S, Tschopp A, Bernard A, Oppliger A, Hilfiker S, Hotz P. 2005. Clara cell protein and surfactant protein B in garbage collectors and in wastewater workers exposed to bioaerosols. *International Archives Occupational Environmental Health*. 78:189-197.
- [199] Ulvestad B, Randem BG, Andersson L, Ellingsen DG, Barregard L. 2007. Clara cell protein as a biomarker for lung epithelial injury in asphalt workers. *Journal Occupational Environmental Medicine* 49:1073-1078.
- [200] Arjomandi M, Tager IB, Bastaki M, Chen C, Holland N, Balmes JR. 2008. Is there an association between lifetime cumulative exposure and acute pulmonary responses to Ozone? *Journal Occupational Environmental Medicine* 50:341-349
- [201] Bergamaschi L, Sällsten G, Andersson L, Almstrand AC, Gustafson P, Andersson M, Olin AC. 2008. Experimental exposure to wood smoke: effects on airway inflammation and oxidative stress. *Occupational Environmental Medicine* 65:319-324.
- [202] Madsen C, Durand KL, Nafstad P, Schwarze PE, Rønningen KS, Håheim LL. 2008. Associations between environmental exposures and serum concentrations of Clara cell protein among elderly men in Oslo, Norway. *Environmental Research* 108:354-360.

## Références bibliographiques

---

- [203] Parvez F, Chen Y, Brandt-Rauf PW, Bernard A, Dumont X, Slavkovich V, Argos M, D'Armiento J, Foronjy R, Hasan MR, Eunus HE, Graziano JH, Ahsan H. Nonmalignant respiratory effects of chronic arsenic exposure from drinking water among never-smokers in Bangladesh. *Environmental Health Perspectives* 2008; 116:190-195.
- [204] Perry EF, Koirttyohann SR, Perry HM Jr. Determination of cadmium in blood and urine by graphite furnace atomic absorption spectrophotometre. *Clin Chem* .1975 Apr ;21(4) :626-9
- [205] Fernandez FJ. Micromethod for lead determination in whole blood by atomic absorption, with use the graphite furnace. *Clin Chem* .1975 Apr ; 21(4) :558-61.
- [206] Lauwerys R, Delbroek R, Vens D. Automated analysis of delta-aminolaevulinic in urine. *Clinica Chimica Acta*.1972 ; 40 :443-447.
- [207] Henry RJ. *Clinical chemistry, principles and technics*.3rd edn Harper and Row, New york.
- [208] <http://www.toxi.ucl.ac.be/nbi.htm-juin2007>.
- [209] Azza A. Etude pilote en vue d'évaluer l'intensité d'exposition au plomb et cadmium des travailleurs d'une usine d'electrolyse de zinc en Algérie, 1979.
- [210] Benyelles
- [211] Cardenas A, Roels H, Bernard A, Barbon R, Buchet JP, Lawerys R, Rosello J, Hotter G, Multi A, Franchini I, et al. Makers of early renal chnages unduced by industrial pollutants. Application to workers exposed to mercury vapors. *Br J Ind Med* 1993 ; So (1) : 17-27.
- [212] Friberg L, Piscator M, Nordberg G, Kjellstroms T. *Cadmium in the environment*. CRC Press, 1974.
- [213] Elinder CG, Kjellstrom T, Lind B, Linaman L, Riscator M, Sundstedt K. Cadmium exposure from smoking cigarettes : variations with time and country where purchas ed. *Environ Res* 1983 ; 22 : 220-7.
- [214] Friberg L, Kjellstrom T, Nordberg GF. Cadmium. In : *Hand book on the toxicology of metal*, Vol II, Znd ed. Friberg L, Nordberg GF, Youk Y (Eds) Amsterdam, Elsevies 198 : 84.
- [215] Ritz E. and coll. Effects of smoking on renal hemodynamics in healthy volunteers and in patients with glomerular disease. *J. Am Soc Nejhrol* 1998 ; 9 : 1798 – 1804.
- [216] Orth. JR. et coll. Smoking as risk factor for end sate renal failure in men with primary renal disease. *Kidney Int* 1998 ; 54 : 926 – 931.
- [217] Simon P, Halimi JP, Cordonnier D. Tabac et reins. *Nephrologie* 2001 ; 22 (4) : 137–40.
- [218] Jean – Michel Halimi and Albert Mimran. Renal effects of smoking : potential mechanisms and perspectives. *Nephrol Dial Transplant* July 2000 ; 15 : 938 – 940.
- [219] Baggio B, Budakovic A, Gjambaro G. Cardiovascular risk factors, smoking and kidney function. *Nephrol Dial Transplanc* Dec 1998 ; 13 : 2-5.

- [220] Ukais S, Okamoto, Skurai M. Critical evaluation of  $\alpha_1$  and  $\beta_2$  microglobulins in urine as a marker of cadmium induced tubular dysfunction. *Biometal* 2004 ; 17 : 539-541.
- [221] Jakurau H, Ikeda M.  $\alpha_1$  microglobulin as a promising marker of cadmium induced tubular dysfunction possibly better than  $\beta_2$ . *Toxicology letters* 2004 ; 420 : 11-20.
- [222] Yu H, Yanagisawa Y, Forbes MA. Alpha 1 microglobulin : an indicator proteins for renal tubular function – *Journal of clinical pathology* 1983 ; 36 : 253-259.
- [223] Bernard A, Thielemans N, Lauwerys R. Urinary protein 1 (Clara cell protein) : a new sensitive marker of proximal tubular dysfunction. *Kidney International* 1994 ; 46 (supplement 47) : 534-537.
- [224] Buchet JP, Lauwerys R, Roels H, Bernard A, Bruaux P, Claerys F, et al. Renal effects of cadmium body burden of the general population. *Lancet* 1990 ; 336 : 699-702.
- [225] Akesson A, Lundh T, Vahter M, Bjellerup P, Lidfeldt J, Nerband C, et al. Tubular and glomerular kidney effects in Swedish women with low environmental cadmium exposure. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 : 1627-31.
- [226] Järup L, Hellström L, Alfvén T, Carlsson HD, Grubb A, Persson B, et al. Low level exposure to Cadmium and early kidney damage : The Oscar study. *Occup Environ Med* 2000 ; 57 : 668-72.
- [227] Ikeda M, Ezaki T, Tsuka Hara T, Moriguchi J, Furuki K, Fukui Y, et al. Threshold level of urinary cadmium in relation to increases in urinary beta 2 – microglobulin among general Japanese populations – *Toxicol celt* 2003 ; 137 : 135-41.
- [228] Ikeda M, Ezaki T, Moriguchi J, Fukui Y, Ukai H, Okamoto S et al. The threshold cadmium level that causes a substantial increase in beta 2 – micro globulin in urine of general populations. *Tottoku J Exp Med* 2005 ; 2005 : 247-61.
- [229] Bernard A. Biomarkers of metal toxicity in population studies : Research potential and interpretation issues. *J. Toxicol Environ Health* 2008 ; 71 : 1259-65.
- [230] Ezaki T, Tsukahara T, Moriguchi J, Furuki K, Fukui Y, Ukai H, Okamoto S, Sakurai H, Honda S, Ikeda M. Analysis for threshold levels of cadmium in urine that induced tubular dysfunction among women in non – polluted area in Japan. *Int Arch Occup Environ Health* 2003b ; 76 : 197-204.
- [231] Bernard A, Lauwerys R. The effects of sodium chromate and carbon tetra – chloride on the urinary excretion and tissue distribution of cadmium in cadmium – pretreated rats. *Toxicol appl Pharmacol* 1981 ; 57 : 30-38.
- [232] Christensen EI, Nielsen R. Role of megalin and cubulin in renal physiology and pathophysiology. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 2007 ; 158 : 1-22.
- [233] Gekle M. Renal tubule albumin transport. *Annu Rev Physiol*, 2005 ; 67 : 373-594.
- [234] Birn H, Christensen EI. Renal albumin absorption in physiology and pathology. *Kidney Int*, 2006 ; 69 : 440-449.

# **GLOSSAIRE**

**Background** : Milieu ambiant

**Charge corporelle** : Désigne la concentration d'une substance chimique (toxine) dans le corps à un moment donné suite à une exposition.

**La metallothioneine** : C'est une protéine dont le poids moléculaire approximatif est de 6000-7000 g/ml ; 11% de son poids est constitué de Cd, Zn et cuivre liés par des groupements sulfhydriles [109]. Il s'agit d'une protéine qui joue un rôle protecteur pour nos cellules contre les éléments métalliques anciennement appelés métaux lourds comme le cadmium, plomb, zinc, cuivre... Cette protéine a été isolée du foie et de plusieurs autres tissus d'animaux exposés au Cd. La petite taille de la molécule de la metallothioneine lui permet d'être filtrée à travers le glomérule. Comme d'autres protéines de l'urine primaire, la metallothioneine est réabsorbée dans les cellules tubulaires proximales. Le transport du Cd lié à la metallothioneine du sang vers les cellules tubulaires rénale est rapide et presque complet. Le Cd non lié à la metallothioneine ne pénètre pas autant les reins.

**Transferrine**: Cette protéine de transport de fer est présente dans l'urine à une concentration approximative 15 fois plus basse que celle de l'albumine. L'intérêt principal de cette protéine urinaire consiste dans le fait qu'elle permet une détection beaucoup plus sensible de l'implication glomérulaire précoce dans certaines néphropathies comme celle du diabète ou du cadmium.

**Gamma globuline** : Les gamma-globulines secrétées dans l'urine sont composées principalement d'IgG, IgM, IgA et des chaînes légères d'immunoglobulines. En raison de leur hétérogénéité, ces dernières n'ont pas trouvé beaucoup d'applications comme marqueurs de néphrotoxicité.

**Protéine 1** : La protéine est une  $\alpha$ -microprotéine isolée de la protéinurie tubulaire, cette dernière est unique dans la mesure où elle est dépendante du sexe, secrétée en plus grandes concentrations par les hommes que par les femmes après la puberté.

**Amylases** : Elles sont secrétées en plus grand nombre dans la protéinurie tubulaire. Cependant, parce que leur absorption fractionnelle par le tubule proximal est plus basse que celle de la  $\beta_2$  M ou la RBP, ils sont considérés comme des indicateurs moins sensibles des lésions tubulaires.

**Lysozyme** : Aussi appelée muramidase, cette enzyme catalyse l'hydrolyse de la couche peptidoglycanique de la paroi cellulaire bactérienne. Elle a pour origine les cellules phagocytaires, et est secrétée par les monocytes et macrophages. La sécrétion urinaire de cette enzyme augmente pendant l'infection du système urinaire, l'endommagement tubulaire proximal, ou encore la synthèse excessive de lysozyme endogène. De ce fait, le lysozyme ne représente pas un marqueur

de disfonctionnement tubulaire proximal sans équivoque, et des valeurs positives erronées peuvent être observées pendant une infection du système urinaire.

**Cystatine C** : Cette protéine, de nature basique et non glycosylée, à un poids moléculaire de 13,300, semblable à celui de la  $\beta_2$  M. Les cystéine-protéinases sont l'une des 4 classes les plus importantes des endoprotéinases qui possèdent le pouvoir de dégrader les membranes de base glomérulaires intactes.

**Glycoprotéine de Tamm-Horsfall (THG)** : appelée aussi uromucoïde, cette protéine est spécifiquement rénale, isolée pour la première fois à partir de l'urine par Tamm et Horsfall en 1950. La THG est la protéine d'origine rénale la plus abondante dans l'urine, étant sécrétée à un taux relativement constant (20 à 60 mg/24hr). La protéine native de la THG a un poids moléculaire approximatif de  $7 \times 10^6$ , mais consiste en une série de sous-unités liées de manière non-covalente, et qui ont un poids moléculaire approximatif de 80,000. Des études variées suggèrent que cette protéine joue un rôle dans la production du fluide hypotonique délivré au tubule distant. Il peut y avoir augmentation de sécrétion urinaire de la THG dans le cas de dommage de la partie distante du tubule, la sécrétion peut aussi être anormale quand la masse rénale est réduite.

**Clara Cell (CC16, CC10)** : La protéine des cellules de Clara, ou Clara Cell Protein a été isolée en 1992 et purifiée à partir de l'urine de certains patients avec un disfonctionnement tubulaire rénal. Il a été montré que sa concentration augmentait dans le sérum en cas d'exposition à des toxines de l'air comme l'ozone, et est donc un bon marqueur de stress oxydatif. De plus, il a été montré que la CC16 est un marqueur de choix de dommage chronique du système respiratoire par des toxines. Son faible poids moléculaire ainsi que sa réabsorption par le tubule proximal ont fait d'elle un biomarqueur tubulaire rénal très utile.

**Lactate déshydrogénase** : l'utilisation de cette enzyme date de 1959. Rosalki et Wikinson ont décrit une augmentation de l'enzyme chez les patients atteints de maladie rénale. L'utilisation de cette enzyme fut cependant rapidement remplacée par d'autres enzymes plus spécifiques.

**N-Acetyl-beta-D glucosaminidase (NAG)** : Cette enzyme urinaire est considérée comme l'une des enzymes les plus fiables, de part sa stabilité dans l'urine, son haut poids moléculaire (et donc ne peut pas passer à travers le glomérule) [74]. De plus, elle présente une corrélation apparente avec certains toxiques, comme le cadmium, sans évidence d'un certain seuil. La NAG présente diverses formes, les isoenzymes A et A2 (formes fonctionnelles libérées par exocytose) et l'isoenzyme B (forme lésionnelle libérée à partir des fragments membranaires), permettent la détection d'effets



cellulaires plus subtils. Les études récentes confirment que la NAG est le biomarqueur précoce le plus fiable lors d'un dommage tubulaire rénal.

**Alanine aminopeptidase (AAP) :** elle est restreinte au tubule proximal. Elle partage avec la NAG une grande popularité dans l'estimation du dommage tubulaire. L'augmentation de sécrétion de la NAG et de l'AAP a été décrite dans un certain nombre de maladies rénales, y compris la pyélonéphrite, glomérulonéphrite, cancers urologiques et le rejet de transplant rénal.

**Phosphatase alcaline intestinale et la phosphatase alcaline du tissu non spécifique du tissu Humain :** ce sont deux isoenzymes urinaires qui ont élicité un intérêt en tant que marqueurs spécifiques du segment S3 du néphron humain.

**Glutathione-S-transférases (GST) :** ce sont des enzymes cytosoliques. Quatre classes d'isoenzymes GST ont été identifiées : alpha, mu, pi et théta. L'isoforme alpha est localisée dans les cellules tubulaires proximales humaines. L'isoforme pi est localisée dans le tubule distal, le bras fin de la boucle de Henlé, ainsi que le tube collecteurs. La mesure des GST a été appliquée comme paramètre précoce du dysfonctionnement rénal suite à une greffe précoce, pour vérifier un rejet et pour distinguer entre la néphrotoxicité induite par la cyclosporine A et un rejet aigu

**Facteurs de croissance :** plusieurs facteurs de croissance ont été isolés du tissu rénal. Cela comprend entre autres, le facteur de croissance épidermique, facteurs de croissance d'un semblable de l'insuline, facteur  $\beta$  de croissance de transformation, facteurs de croissance dérivant de plaquettes.

**Calcium :** Quand on atteint une saturation dans la synthèse de la MT, un influx de Cd-MT dans les lysosomes devient limité, la concentration de cadmium libre devient suffisamment grande pour interagir avec les cellules membranaires et bloquer les voies de transport du calcium, par conséquent il ya déficience en absorption et transport du calcium à travers la cellule. Cette déficience conduit à une augmentation de la sécrétion du calcium et protéine dans l'urine. Il est possible dans les modèles animaux d'injecter du Cd-MT et induire une néphrotoxicité par influx large de Cd-MT dans le compartiment tubulaire rénal

**La fibronectine** est une glycoprotéine extra-cellulaire ubiquitaire. Elle est présente sous forme soluble (sécrétée par les hépatocytes et les cellules endothéliales) dans les liquides de l'organisme et sous forme insoluble dans la MEC, où elle est sécrétée par les cellules mésenchymateuses (en particulier les fibroblastes) et par certaines cellules épithéliales. Lorsque la cellule tubulaire se

dédifférencie (ex : Insuffisance rénale aiguë), elle acquiert un phénotype fibroblastique (synthèse de fibronectine) favorisant la fibrose rénale

**Sp-A** : Protéine associée (représente 3-4% de toute la masse d'agent tensio-actif et 50% de toutes les protéines d'agent tensio-actif). Elle est présente au niveau des cellules alvéolaires de type II et les cellules non ciliées bronchiales de Clara.

**Sp-B** : Protéine apparaissant comme constituant mineur de l'agent tensio-actif pulmonaire. Il a été très difficile de l'obtenir sous forme purifiée. Elle est synthétisée par les cellules alvéolaires de type II et les cellules de Clara.

## Résumé

La CC<sub>16</sub> et la Sp-D sont des pneumoprotéines spécifiques qui peuvent être utilisés comme marqueurs sériques non invasifs dans l'évaluation de l'intégrité de la barrière pulmonaire. Dans cette étude, nous avons investigué les changements sériques de ces deux pneumoprotéines chez 161 ouvriers exposés de manière chronique au SO<sub>2</sub> dans une usine d'électrolyse de zinc. Ensemble, le tabac et l'exposition au SO<sub>2</sub> étaient associés à une réduction de la CC<sub>16</sub>, une augmentation significative de la SP-D et une diminution du rapport CC<sub>16</sub> / SP-D. Ce dernier paramètre reflète les deux types de changements et sa diminution était de 42% dans le groupe fortement exposé. Le tabac et l'exposition au SO<sub>2</sub> ont aussi interagis de manière synergique pour réduire les niveaux de CC<sub>16</sub> sériques seulement. En illustrant le potentiel spécifique, non invasif de l'évaluation des dommages épithéliaux respiratoires et de l'intégrité de la barrière pulmonaire, cette présente étude a montré que le SO<sub>2</sub> peut causer des effets sur les voies aériennes à des niveaux d'exposition en dessous des normes professionnelles actuelles.

Par ailleurs, pour évaluer les possibles effets néphrotoxique d'une exposition faible et chronique aux métaux lourds (Cd, Pb), nous avons caractérisé la protéinurie de faible et haut poids moléculaire des travailleurs de cette même usine. Au total, 134 ouvriers ont été explorés. Il ne semblerait pas exister un risque plomb et/ou cadmium à Alzinc qui entraînerait une perturbation de la fonction rénale des ouvriers. Nos résultats suggèrent un effet du tabac sur la fonction tubulaire. La signification des dysfonctionnements rénaux trouvés dans des populations exposées à de faible niveau de cadmium (similaire aux populations générales) doit être analysé et interprété prudemment afin d'éviter les associations non causales entre cadmium et dysfonctionnement rénale.

**Mots clés :** SO<sub>2</sub>, CC<sub>16</sub>, Sp-D, Tabac, Toxicité pulmonaire, Exposition à des faibles niveaux de cadmium, Albuminurie, Protéine HC, RBP, toxicité rénale.

## Abstract

CC<sub>16</sub> and SpD are specific pulmonary proteins of likely use as non-invasive serum markers for the evaluation of the pulmonary barrier integrity. In the present study, we have investigated serum changes of these two proteins in 161 workmen chronically exposed to the SO<sub>2</sub> in a zinc electrolysis factory. Both tobacco and SO<sub>2</sub> exposure were associated with a reduction of the CC<sub>16</sub>, a significant increase in the SpD and a decrease of the CC<sub>16</sub> / SpD ratio. This last parameter reflects the two types of changes, its reduction being 42% in group of strongly exposed workmen. Tobacco and the SO<sub>2</sub> exposure have also synergistically interacted to reduce the serum levels of CC<sub>16</sub> only. By illustrating the noninvasive specific potential of the evaluation of the respiratory epithelial damages and the integrity of the pulmonary barrier, this present study showed that the SO<sub>2</sub> can cause effects on the airways down to exposure levels below the current professional standards.

In another hand, to evaluate the possible nephrotoxic effects of a weak and chronic exposure to heavy metals (Cd, Pb), we have characterized proteinuria of weak and high molecular weight for this same factory workers. All together, 134 workmen were explored. *A priori*, no lead or cadmium induced risk involving renal function disturbance seems to exist. Our results suggest an effect of the tobacco on the tubular function. The significance of the renal dysfunction found in populations exposed to low cadmium levels (similar to the general populations) must be carefully analyzed and interpreted in order to avoid non-causal associations between cadmium and renal dysfunction.

## المخلص

CC<sub>16</sub> و SPD هي بنوموبروتينين محددة يمكن استخدامها كعلامة المصل غير مرواغة لتقييم سلامة الجهاز الرئوي. في هذه الدراسة تحققنا من تغيير هاتين البنوموبروتينين في المصل عند 161 عامل معرض بطريقة مزمنة لـ SO<sub>2</sub> في معمل لإنتاج الزنك. معاً، التبغ و التعرض لـ SO<sub>2</sub> كانوا متعلقين بتخفيض من مستوى CC<sub>16</sub>، ارتفاع مستوى SPD و انخفاض الرابط CC<sub>16</sub>/SPD. هذا الإعداد الأخير يعكس نوعين من التغيرات و كان انخفاضها يقدر بـ 42% في المجموعة المعرضة بقوة. التبغ و التعرض لـ SO<sub>2</sub> أيضاً تفاعلا بطريقة تآزرية من أجل تخفيض من مستويات CC<sub>16</sub> المصلية فقط. هذه الدراسة أظهرت أن مستويات SO<sub>2</sub> التي تسبب تأثيرات على القنوات الهوائية هي أسفل من المعايير المهنية الحالية. من ناحية أخرى، لتقييم آثار التعرض المنخفض و المزمّن للمعادن الثقيلة (Cd, Pb) على الكلى، لقد وصفنا مستويات بروتينات ذات الوزن الجزيئي المنخفض و المرتفع لعمال هذا المصنع. في المجموع 134 من العمال قد تم استكشافها. لا يبدو في الوجود خطر الرصاص و/أو الكاديوم في المصنع يسبب خلل في وظيفة الكلى للعمال. نتائجنا تشير إلى تأثير التدخين على الوظيفة الأنبوبية في الكلى. معنى الاختلال الوظيفي الكلوي عند السكان المعرضون لمستويات منخفضة من الكاديوم (مماثلة لعامة السكان) يجب تحليله و تفسيره بجدد لتجنب رابطات لا سببية بين الكاديوم و اختلاف وظائف الكلى.