

Thèses remarquées

Biocinétique et toxicologie de l'uranium chez le rat après inhalations aiguës et répétées.

M. Monleau. Thèse de doctorat de l'université de la Méditerranée, Aix-Marseille-II, soutenue le 9 décembre 2005, Laboratoire d'accueil : IRSN/DRPH/SRBE – Laboratoire de radiotoxicologie expérimentale, direction de thèse : Prof. G. Duménil, responsable IRSN : V. Chazel.

Le travail de thèse porte sur la radioprotection des travailleurs du nucléaire exposés à l'inhalation de particules uranifères et aux effets potentiels de l'uranium après contamination interne. Dans les installations du cycle du combustible, le risque d'exposition radiologique des travailleurs du nucléaire est variable d'un poste de travail à l'autre et est évolutif avec le temps. En effet, les différents composés uranifères auxquels le personnel est exposé, présentent des compositions isotopiques et des formes physico-chimiques variées. De plus, il existe différentes situations d'exposition externe ou interne, et les travailleurs peuvent être exposés de manière chronique ou accidentelle. Dans le cas d'une contamination interne, l'inhalation est la principale voie d'incorporation.

Suite à l'inhalation d'aérosols d'uranium présents dans l'atmosphère, le système respiratoire constitue un organe cible et est le site d'entrée et de dépôt. Celui-ci dépend des caractéristiques physico-chimiques de l'aérosol, en particulier de sa taille, de sa densité et de sa solubilité. Si les composés sont insolubles, ils s'accumulent principalement dans les poumons et entraînent des effets toxiques tels que fibroses et cancers. En revanche, s'ils sont solubles, ils s'accumulent principalement dans les reins, où ils sont néphrotoxiques, et dans le squelette qui est l'organe de stockage à long terme pour l'uranium.

In vivo, la majorité des études, après contamination aiguë ou chronique d'uranium, a porté sur le comportement biocinétique du composé inhalé et sur ses effets macroscopiques. Les processus moléculaires conduisant aux effets pathologiques observés *in vivo* sont en revanche peu décrits et ont été principalement étudiés *in vitro*.

La Commission internationale de protection radiologique (CIPR) élabore, à partir des données de biocinétique de l'uranium, des modèles dosimétriques utilisés dans le cadre de la surveillance radiotoxicologique des travailleurs. Ils permettent, lorsqu'une contamination est détectée suite aux analyses effectuées lors d'examens médicaux, de déduire la quantité d'uranium incorporée et d'estimer la dose reçue. Ces modèles linéaires supposent qu'une contamination chronique équivaut à la somme d'expositions aiguës.

Ce travail s'est donc focalisé sur l'étude des conséquences biocinétiques et toxicologiques d'une exposition répétée d'aérosols d'oxydes d'uranium par inhalation chez le rat par comparaison avec des expositions aiguës aux mêmes types de composés.

THÈSES REMARQUÉES

Pour ce faire, dans un premier temps, il a été nécessaire de vérifier les recommandations de la CIPR en cas d'exposition chronique afin d'évaluer expérimentalement le bien-fondé de l'utilisation itérative d'incorporations indépendantes pour rendre compte d'une exposition répétée. Ce modèle sous-entend de plus qu'une exposition n'a pas d'effet sur la biocinétique de l'élément lors des expositions ultérieures. Deux approches ont été utilisées pour vérifier ces hypothèses. La première a consisté à comparer le modèle avec les résultats expérimentaux d'une contamination répétée d' UO_2 , la seconde à suivre la biocinétique d'un composé inhalé seul (UO_4) ou après une exposition préalable à un autre composé (UO_2).

Ainsi, plusieurs séries d'expérimentations d'inhalations aiguës et répétées ont été réalisées chez le rat en utilisant un système d'inhalation « nose only » et deux composés uranifères de compositions isotopiques et de solubilité différentes, l' UO_2 et l' UO_4 . Le tableau I indique les concentrations d'aérosols utilisées pour chaque série d'inhalations aiguës et répétées.

Tableau I. Séries d'inhalations effectuées et conditions opératoires.

Inhalation	Nom du groupe de rat	Durée de l'inhalation	Concentration des aérosols (mg m^{-3})	Charge pulmonaire à J1 ($\mu\text{g g}^{-1}$)
aiguë UO_2	Ac UO_2 -1	30 min	190	46
aiguë UO_2	Ac UO_2 -2	2 h	375	420
aiguë UO_2	Ac UO_2 -3	3 h	375	650
répétée UO_2	Rep UO_2 n°1	1 h, 2 j/sem, pendant 3 sem	190	496
répétée UO_2	Rep UO_2 n°2	30 min, 4 j/sem, pendant 3 sem	190	504
aiguë UO_4	Ac UO_4	30 min	116	65
aiguë UO_2 + aiguë UO_4	Ac UO_2 + UO_4	Ac UO_2 -3 + 11 jours après Ac UO_4		506
répétée UO_2 + aiguë UO_4	Rep UO_2 + UO_4	Rep UO_2 n°2 + 11 jours après Ac UO_4		555
air	control	plusieurs types		

À partir d'une expérience de contamination aiguë à l' UO_2 , un modèle biocinétique a été développé pour le rat en modifiant certains paramètres du modèle existant pour l'homme et utilisé par la CIPR. Après la construction de ce modèle « rat », la modélisation d'une contamination répétée d' UO_2 a pu être réalisée par itération d'une contamination aiguë. Ces résultats biocinétiques théoriques calculés pour une exposition répétée pour chaque organe et excréta ont ensuite été comparés aux résultats expérimentaux de deux séries d'expositions répétées à l' UO_2 , variant seulement par la fréquence d'exposition. La comparaison du modèle et des expériences a permis de montrer que dans les conditions opératoires utilisées dans ces études, une contamination répétée était correctement modélisée par la somme d'incorporations aiguës successives et indépendantes, et ce pour la majorité des organes et excréta, à l'exception du fémur.

En effet, la rétention dans le fémur est surestimée par l'utilisation du modèle itératif. L'hypothèse avancée pour rendre compte de cette différence avec l'expérience, est que l'uranium a une toxicité osseuse. Les effets de cette toxicité seraient une diminution de la

THÈSES REMARQUÉES

rétenion correspondant à une diminution du taux de formation de l'os et une augmentation du taux de résorption ; ces effets pourraient apparaître dès les premières incorporations lors d'inhalations répétées.

La deuxième approche a consisté à comparer les biocinétiques de l' UO_4 inhalé seul ou après une exposition préalable à l' UO_2 . Les résultats ont montré des différences dans les biocinétiques de certains organes, en particulier le tractus gastro-intestinal et les reins, ainsi que les excréta. Le modèle itératif ne peut donc pas être appliqué strictement dans ce cas de figure.

Cependant, dans le cadre de la surveillance médicale des travailleurs du nucléaire, ce modèle itératif est utilisé pour évaluer l'incorporation à partir de mesures urinaires chez les agents supposés contaminés. Dans ce contexte d'utilisation, les calculs d'incorporations théoriques réalisés à partir du modèle « rat », ont donné des valeurs équivalentes aux valeurs expérimentales pour une exposition répétée. La conclusion est que l'utilisation du modèle actuel pour des inhalations chroniques est un outil tout à fait valable dans le cadre de la surveillance médicale. Il serait cependant nécessaire de compléter cette étude par des expositions plus longues et à des doses plus faibles.

La seconde partie de la thèse aborde les conséquences biologiques d'expositions aiguës d' UO_2 et d' UO_4 , d'une exposition répétée d' UO_2 et de doubles expositions (répétées ou aiguës d' UO_2 suivies d'une exposition aiguë d' UO_4). Les études ont, d'abord, été consacrées à l'organisme pris dans son ensemble à l'aide d'analyse des paramètres généraux de santé et des fonctions cognitives (études comportementales). Ainsi, les paramètres tels que la prise alimentaire et d'eau de boisson, le poids des rats (Tab. II) et le suivi de paramètres biochimiques, tels que la créatinine et l'urée, l'ALAT (alanine amino-transférase) et l'ASAT (aspartate amino-transférase), rendant compte respectivement d'une possible atteinte rénale et hépatique, ont été suivis pour les différentes séries d'expositions aiguës et répétées.

Il en ressort que ces paramètres sont dépendants (1) de la quantité d'uranium incorporé avec une dégradation de ces paramètres quand la quantité d'uranium incorporé augmente, (2) du type d'inhalation et (3) de la solubilité du composé. On constate ainsi qu'à charge pulmonaire comparable, une exposition répétée n'influence pas ces paramètres contrairement à une exposition aiguë et que le composé soluble UO_4 , de par sa néphrotoxicité entraîne une diminution de la prise alimentaire et de boisson ainsi que du poids des animaux, contrairement au composé UO_2 insoluble. De plus dans le cadre des doubles expositions UO_2 suivies d' UO_4 (*résultats non présentés*), les résultats ne permettent pas de voir l'effet direct d'une exposition préalable car c'est la néphrotoxicité du composé soluble UO_4 qui perturbe les paramètres généraux de santé.

L'effet d'une exposition répétée à l' UO_2 a ensuite été évalué sur le comportement de l'animal, conjointement à des dosages de l'uranium dans différentes structures cérébrales, soit les hippocampes, le bulbe olfactif, le cervelet et le cortex frontal.

L'uranium pénètre dans le cerveau après inhalations répétées, et s'accumule différemment d'une structure à l'autre dans l'ordre décroissant suivant : bulbe olfactif ($567 \mu\text{g g}^{-1}$ vs. $16 \mu\text{g g}^{-1}$ pour les témoins), hippocampes ($156 \mu\text{g g}^{-1}$ vs. $20 \mu\text{g g}^{-1}$), cortex frontal ($122 \mu\text{g g}^{-1}$

THÈSES REMARQUÉES

Tableau II. Paramètres généraux de santé des différents groupes de rats.

	Jours après exposition	Contrôle	AcUO4	AcUO2-1	AcUO2-2	AcUO2-3	RepUO2
Poid du rat (g)	0	563 ± 25	554 ± 35	577 ± 26	552 ± 50	513 ± 57	565 ± 32
	10	578 ± 29	431# ± 36	590 ± 37	528# ± 36	469# ± 60	575 ± 36
	14	592 ± 31	483# ± 27	600 ± 29	541# ± 38	520# ± 81	610 ± 29
Nourriture (g)	0	21 ± 2	20 ± 3	20 ± 3	21 ± 6	21 ± 6	18 ± 4
	4	24 ± 3	1# ± 1	23 ± 5	15# ± 4	5# ± 6	20 ± 3
	10	25 ± 3	30 ± 2	26 ± 5	21.5 ± 2	17 ± 5	25 ± 2
Eau (g)	0	35 ± 7	31 ± 6	30 ± 7	32 ± 4	37 ± 9	38 ± 9
	4	37 ± 6	14# ± 5	38 ± 4	35 ± 7	18# ± 10	35 ± 6
	10	38 ± 5	36.5 ± 5	37 ± 4	35 ± 9	32 ± 6	36 ± 12

Les valeurs correspondent à la moyenne ± SE, $n > 3$. # $p < 0,05$ entre les groupes exposés et le groupe contrôle.

vs. 4 $\mu\text{g g}^{-1}$), cervelet (42 $\mu\text{g g}^{-1}$ vs. 8 $\mu\text{g g}^{-1}$). Dans les hippocampes et le cortex frontal, les concentrations d'uranium sont encore plus élevées que celles des rats témoins trois jours après la fin de l'exposition répétée. L'hypothèse avancée est un passage de l'uranium vers le cerveau par plusieurs voies dont une spécifique à l'inhalation. Il pourrait s'agir d'un passage direct de l'uranium de la cavité nasale vers le bulbe olfactif, puis les autres structures, *via* le nerf olfactif. Cette voie est décrite en particulier pour le manganèse et des expériences complémentaires pourraient aider à la confirmation de cette hypothèse. D'autres voies non spécifiques à l'inhalation sont possibles, en particulier la voie systémique puis le transfert au travers de la barrière hémato-encéphalique.

Des tests de comportement visant à évaluer l'effet des inhalations répétées sur la locomotion et la mémoire de travail spatiale ont également été réalisés. Les résultats indiquent une augmentation de la locomotion des rats contaminés par rapport aux témoins et une diminution de la mémoire de travail spatiale. Ces effets pourraient être liés à l'accumulation de l'uranium dans les différentes structures cérébrales. Des effets semblables ont été décrits après ingestion d'uranium enrichi et appauvri.

Le travail de recherche s'est ensuite focalisé sur les cellules cibles, principalement les cellules épithéliales nasales, les cellules obtenues après lavage broncho-alvéolaire et les cellules rénales, avec l'analyse de la génotoxicité provoquée par les différentes expositions étudiées. Il ressort de ces expérimentations réalisées par le test des comètes en conditions neutre et alcaline, que les particules d'uranium peuvent induire des dommages de l'ADN, que plusieurs types cellulaires sont atteints et que les dommages sont induits de façon prolongée dans le temps. Ces dommages comprennent, entre autre, des cassures double brin. D'autre part, l'exposition répétée induit des dommages plus importants qu'une exposition aiguë comparable. Enfin, il pourrait y avoir un effet synergique de l' UO_2 et l' UO_4 dans le cadre des doubles expositions.

THÈSES REMARQUÉES

En dernier lieu, la thèse présente les résultats de l'effet d'une contamination répétée sur la réponse inflammatoire et le stress oxydatif comparativement à une exposition aiguë. L'expression des gènes des cytokines pro et anti-inflammatoires (TNF- α , IFN- γ , MIP-2, IL-10) et le dosage du peroxyde d'hydrogène, ont montré qu'une exposition répétée induisait la production d'un stress oxydatif et d'une possible réponse inflammatoire, et ce selon un schéma différent d'une exposition aiguë.

Les conclusions de ce travail sont qu'une exposition répétée ne peut pas être strictement modélisée par la somme d'incorporations aiguës successives et indépendantes, tant d'un point de vue des biocinétiques que des effets sur l'organisme, pris dans son ensemble ou au niveau cellulaire et moléculaire.

Les perspectives font ressortir l'intérêt (1) de vérifier l'hypothèse de la CIPR en cas de contamination chronique par des expérimentations sur des temps plus longs et à des doses plus faibles (2) d'étudier les effets de l'inhalation sur le système nerveux central en particulier, en étudiant les voies de passage possibles de l'uranium vers le cerveau et de rechercher une relation entre l'accumulation dans les différentes structures et les effets comportementaux observés, (3) de compléter les études visant à évaluer les mécanismes d'induction des effets pathologiques, en particulier en s'intéressant à la réponse inflammatoire et au stress oxydatif par l'évaluation de l'expression des gènes d'autres cytokines telles que IL-1 β , IL-6, 8-oxodG, SOD, ..., les processus de réparation en étudiant l'interférence avec les métaux essentiels et l'évaluation de la balance apoptose / prolifération (p53, caspases), (4) de vérifier l'hypothèse de l'existence d'une synergie de l'UO₂ et l'UO₄ en vérifiant en particulier si la solubilité pourrait avoir un effet sur les mécanismes d'entrée de l'uranium dans les cellules et ses compartiments.

Transfert des radionucléides artificiels par voie fluviale : Conséquences sur les stocks sédimentaires et les exports vers la Méditerranée. B. Rolland. Thèse de doctorat de Géosciences de l'environnement de l'université Paul Cézanne, Aix-en-Provence, soutenue publiquement le 10 février 2006, directeur de thèse : D. Bourlès, responsable IRSN : F. Eyrolle.

Les travaux développés dans le cadre de cette thèse s'inscrivent dans la recherche d'une meilleure compréhension du devenir des contaminants présents à l'état de traces en milieu fluvial suite à un rejet chronique ou accidentel.

En France, la vallée du Rhône a été un lieu d'ancrage du développement de l'énergie nucléaire. Jusqu'en 1997, l'ensemble du cycle du combustible y était représenté à l'exception de l'exploitation des mines uranifères : conversion, enrichissement, fabrication, production et retraitement du combustible irradié. Les rejets liquides issus de l'installation de retraitement du combustible irradié de Marcoule, actuellement en démantèlement, ont constitué pendant de nombreuses années le terme source majeur de radioactivité artificielle pour les eaux du Rhône. Le bassin rhodanien a également été soumis aux retombées radioactives des essais atmosphériques d'armes nucléaires effectués entre 1945 et 1980, et à celles de l'accident de Tchernobyl. L'ensemble de ces apports a conduit à une contamination radioactive chronique des eaux du Rhône durant près de 50 ans.

L'étude s'intéresse aux flux de radioactivité artificielle du Rhône vers la Méditerranée dans un contexte de diminution des rejets du centre de retraitement du combustible nucléaire irradié de Marcoule. Les radionucléides et plus particulièrement leurs rapports d'activités sont utilisés comme outil de traçage des processus hydro-sédimentaires dans la partie terminale du fleuve.

Une attention particulière est portée au rôle des crues dans les processus d'exportation. Sur la période 2002-2004, ces événements qui n'ont représenté que 5 % du temps ont conduit au transfert de plus de 60 % des flux de ^{137}Cs , ^{238}Pu et $^{239+240}\text{Pu}$. L'étude souligne également que la reprise lors des crues, des stocks sédimentaires marqués par les rejets du centre de Marcoule contribue entre 20 et 45 % des flux annuels vers la Méditerranée, pour ces trois radionucléides très réactifs aux supports particulaires. En moyenne annuelle, le drainage des sols du bassin versant représente quant à lui aujourd'hui 35 % des flux de ^{238}Pu et plus de 60 % des flux de ^{137}Cs et de $^{239+240}\text{Pu}$. Les rejets liquides directs du centre de retraitement ne représentent plus que 15 à 20 % des exports vers le milieu marin. Concernant les éléments traces étudiés, la reprise sédimentaire dans le Rhône représente donc aujourd'hui un terme source différé non négligeable pour les eaux du fleuve et de son embouchure. Ce terme source secondaire étant principalement actif lors des épisodes de crue.

Des zones d'accumulation de sédiments marqués ont été identifiées. Ces zones sont représentées d'une part par l'amont des ouvrages hydroélectriques, et d'autre part par les berges et les annexes fluviales telles que certains bras morts ou lônes (Fig. 1). Les stocks de radioactivité artificielle accumulés en amont des ouvrages constituent vraisemblablement les stocks les plus facilement remobilisables.

L'analyse des profils des carottes sédimentaires échantillonnées a permis de retracer l'historique des niveaux de radioactivité ayant transité dans le fleuve aval au cours des soixante dernières années. Cette approche permettra en outre d'identifier, en collaboration avec l'équipe de géomorphologie du CEREGE, les événements hydrologiques ayant conduit au rehaussement des berges ou au comblement des lônes.

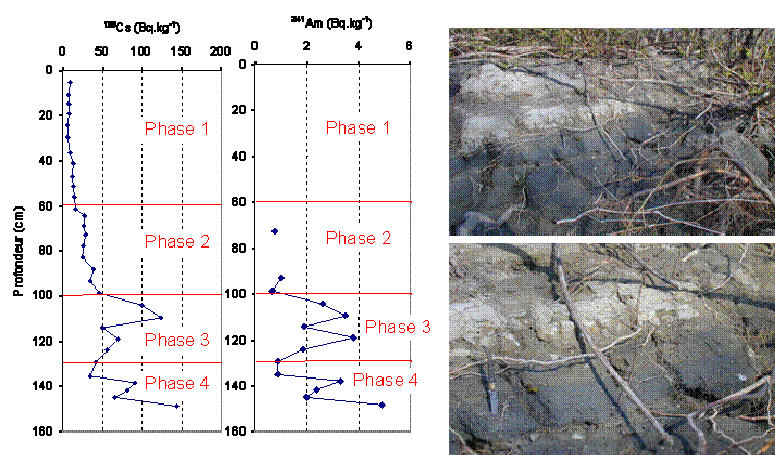


Figure 1 – Accumulation de ^{137}Cs et ^{241}Am dans les berges du Rhône, Fourques, rive droite.

THÈSES REMARQUÉES

La détermination des temps de résidence des stocks sédimentaires contaminés par le centre de Marcoule avant leur reprise par les crues permet d'évaluer la capacité du Rhône à évacuer ses stocks. En ce qui concerne le bief Marcoule-Arles, il apparaît que si les plus petites crues ne remobilisent que les stocks qui se sont constitués dans les mois précédents, les plus fortes crues, décennales ou centennales sont à même de remobiliser des stocks accumulés depuis plusieurs années. Les temps de résidence des radionucléides artificiels originaires du centre de Marcoule et accumulés depuis près de cinquante ans dans le compartiment sédimentaire du fleuve sont estimés, en tenant compte de la décroissance radioactive des éléments, à 150 ans pour les ^{137}Cs et ^{238}Pu , et à près de 900 ans pour le $^{239+240}\text{Pu}$.

Si les épisodes de crues permettent d'évacuer progressivement les stockages sédimentaires vers le milieu marin, ils sont également à l'origine de leur redistribution sur les berges et sur l'ensemble de la plaine alluviale notamment lors d'inondations. Ainsi, cette thèse apporte des données clés pour la prise en compte des processus extrêmes paroxystiques tels que les crues et les inondations dans les modèles prédictifs de distribution des radionucléides artificiels en milieu aquatique continental.