



# Effets du tritium in utero

L. Lebaron-Jacobs, A. Flury-Hérard,  
Direction des Sciences du Vivant - CEA

## 1 | Introduction

Quelle que soit son origine, le tritium est extrêmement mobile au niveau de tous les systèmes biologiques et dans l'environnement, et s'échange avec les atomes d'hydrogène au sein de molécules biologiques (ADN, protéines...).

Le tritium, émetteur bêta de faible énergie, est considéré comme un élément de faible radiotoxicité sur la base d'études expérimentales. Son parcours moyen dans l'eau est faible (0,56  $\mu\text{m}$ ). Néanmoins, des interrogations subsistent sur le niveau de risque à lui attribuer en raison de sa forte densité d'ionisation de répartition hétérogène : (1) répartition hétérogène de la dose absorbée au niveau tissulaire, cellulaire et même moléculaire (ADN) ; (2) densité d'ionisation élevée (TLE du tritium: 11,5 keV/mm comparé au TLE du  $^{60}\text{Co}$  : 6,9 keV/mm) ; (3) grande hétérogénéité du dépôt d'énergie (moins de cellules sont atteintes que par un rayonnement gamma, mais plus nombreuses lésions intracellulaires) ; (4) plus grande fréquence de lésions double brins de l'ADN.

## 2 | Biocinétique du tritium

L'eau de boisson et l'alimentation sont des sources en eau tritiée et en tritium organiquement lié. D'après la publication n°56 de la Commission Internationale de Protection contre les Rayonnements ionisants (CIPR), l'apport alimentaire total en tritium est constitué d'environ 90% d'HTO et de 10% d'OBT (formes échangeables (échanges de l'hydrogène avec les groupements OH, SH...) et non échangeables) (ICRP, 1989). Compte tenu des sources d'OBT dans la biosphère, c'est l'ingestion qui apporte le tritium non échangeable (lié à un carbone par réaction enzymatique). Les études menées sur la biocinétique du tritium chez des rongeurs montrent que le comportement du OBT diffère de celui de l'HTO : cette dernière forme se répartit de manière homogène dans les liquides intra- et extracellulaires en suivant le parcours de l'eau, alors que l'OBT est plus abondant dans les cellules ayant de forts besoins énergétiques ou dans les tissus à renouvellement rapide. Au final, après incorporation et transformation des molécules tritiées sous forme d'OBT, on peut considérer qu'environ 9/10 est sous forme d'HTO et environ 1/10 sous forme d'OBT (échangeable et non échangeable).

Il n'y a pas d'accumulation significative de tritium chez l'homme. D'après un modèle élaboré par Etnier *et al.* (1984) revu par Hill et Johnson (1993), l'élimination du tritium chez l'adulte s'effectue selon les proportions et périodes respectives des trois composantes suivantes :

- 90,8 % du tritium incorporé suivent la période biologique de l'eau libre (environ 9,6 jours, avec des variations en fonction des apports hydriques) ;
- moins de 9 % du tritium incorporé suivent les périodes biologiques de composés organiques de renouvellement rapide (0,75 jour et 22 jours en moyenne, en fonction des sous-compartiments) ;
- moins de 1% du tritium incorporé suit la période biologique de composés organiques de renouvellement lent (450 jours environ).

L'excrétion est urinaire et fécale, essentiellement sous forme d'HTO (environ 99%), mais aussi sous forme d'OBT.

A partir des données métaboliques du tritium, la CIPR considère deux compartiments de « rétention » :

- l'HTO est rapidement transférée dans le sang en totalité : 97% reste sous forme d'eau tritiée et 3% passe dans le pool des OBT.
- sur les 10 % d'OBT alimentaire, environ la moitié des OBT ingérés sont oxydés dans le tube digestif et produisent de l'HTO ; l'autre moitié est transformée en molécules organiques tritiées de petite taille pouvant traverser la barrière digestive et passer directement dans le sang.

Cependant, de nombreuses données sur l'homme et l'animal soulignent l'intérêt d'identifier un troisième compartiment pour les molécules tritiées à élimination lente (jusqu'à 450 jours de période), correspondant au tritium incorporé dans des structures biologiques (ADN) de tissus à renouvellement lent (OBT non échangeable) (Harrison, 2002 ; Taylor, 2003).

## 3 | Dosimétrie du tritium

Pour estimer la dose reçue lors d'une incorporation de tritium, on utilise des coefficients de dose qui permettent de la calculer à partir de l'activité incorporée. Les coefficients de dose du tritium sont les plus faibles parmi ceux des radionucléides les plus fréquemment rencontrés dans l'environnement (1,8.10<sup>-11</sup> Sv par Bq en cas d'ingestion d'eau tritiée et 4,2.10<sup>-11</sup> Sv.Bq<sup>-1</sup> pour les OBT). En 1978, la CIPR avait seulement pris en compte la forme HTO pour les travailleurs dans ses recommandations (Publication n°30), pour estimer les risques de cancers que peuvent représenter l'inhalation, l'ingestion ou l'absorption de tritium par la peau (ICRP, 1978). En 1989, un ajustement de ces recommandations, prenant en compte les nouvelles données expérimentales, a été réalisé (Publication n°56) : pour la première fois, ont été développés un modèle pour OBT et des recommandations pour les membres du public, notamment pour l'enfant. Les estimations de

risque chez l'enfant s'appuient sur l'analyse des données physiologiques d'équilibre hydrique en fonction de l'âge et sur les résultats d'études expérimentales de transfert d'HTO chez le jeune rat. Ainsi, chez l'enfant, en l'absence de données spécifiques dépendantes de l'âge, les mêmes extrapolations que pour l'HTO ont été effectuées pour l'OBT à partir de données obtenues chez l'adulte (ICRP, 1989).

En 2002, la biocinétique et la dosimétrie d'une exposition au tritium in utero ont été abordées dans les recommandations de la publication n°88 de la CIPR (2002). Chez l'embryon, la dose est analogue à celle de la paroi utérine ; chez le fœtus, la distribution dans les tissus est considérée comme analogue à celle du jeune enfant (trois mois). En fonction de l'âge fœtal, des valeurs de dose efficace ont été établies à partir de données expérimentales de transfert placentaire après ingestion de tritium par la mère avant ou pendant la grossesse. Ainsi, la dose efficace chez l'enfant est supérieure à celle de sa mère après exposition maternelle entre la conception et la fin de la grossesse. Malgré ces données biocinétiques et dosimétriques qui apparaissent relativement précises, les conséquences sanitaires d'une exposition in utero restent relativement méconnues.

## 4 | Effets du tritium in utero

Les données expérimentales proviennent essentiellement d'études cellulaires et animales après exposition à l'eau tritiée (HTO). En revanche, peu d'études analysent les conséquences biologiques de l'exposition à l'OBT. De plus, les résultats diffèrent fortement en fonction du protocole expérimental : il s'agit pour la plupart d'études sur des cellules en culture ou sur des modèles animaux exposés par injection intraveineuse de molécules tritiées. D'autre part, les doses et débits de dose utilisés sont élevés et rarement comparables, ce qui rend complexe l'interprétation de ces études. Enfin, on ne dispose pas actuellement de données expérimentales sur des expositions chroniques à faible débit et faible dose cumulée pour des expositions in utero ou chez le jeune rongeur.

Qu'il soit sous forme HTO ou de molécules organiques OBT, le tritium traverse aisément la barrière placentaire. Les mécanismes de prolifération, migration et différenciation étant étroitement liés chez l'embryon, l'apoptose et la mutagenèse engendrées localement par le rayonnement bêta du tritium peuvent avoir des conséquences fonctionnelles (altération de l'organogenèse) ou tumorigènes.

### 4|1 | Biocinétique

Après inhalation ou ingestion l'HTO passe complètement et rapidement dans la circulation maternelle et traverse le placenta. Chez le fœtus, le tritium se répartit dans tous les tissus. Au cours de la croissance in utero, les teneurs en eau diminuent alors qu'elles augmentent chez la mère (augmentation du pool d'eau corporelle et des graisses). Cette modification peut augmenter la période biologique de l'HTO chez la mère (12 jours environ en fin de grossesse au lieu de 9,6 jours). Les cinétiques de distribution de l'eau tritiée ont été étudiées sur différents modèles animaux (CIPR 88) : chez le fœtus, 3% de HTO se transforme en OBT (10% chez la mère) et les teneurs en HTO des tissus du nouveau-né correspondent à 65-70% des concentrations en HTO ingérée par la mère.

Toutes les molécules tritiées présentes dans le sang maternel traversent le placenta, puis le comportement biologique dépend de la forme, HTO ou OBT. Quelle que soit la forme chimique d'entrée, la distribution rapide aboutit à un équilibre entre concentration maternelle (CM) et concentration chez le fœtus (CF), tel que le rapport CF/CM est égal à 1,6 : le transfert vers le fœtus est un transport actif (CIPR 88). D'après les calculs de dose, la dose efficace chez le fœtus est supérieure à celle de la mère : un rapport de 1 à 2 est maximal pour une exposition maternelle à 10 semaines de grossesse.

Les études réalisées sur des modèles animaux in vivo ou in vitro, comparant les concentrations en tritium (libre ou lié) au niveau des tissus maternels et fœtaux après exposition à de l'eau tritiée ou à différents

composés organiques tritiés (alimentation), durant toute ou une partie de la gestation, montrent des différences en fonction des espèces et des protocoles expérimentaux. Ainsi, l'interprétation des résultats de ces études doit tenir compte des différences entre les espèces animales : les fœtus humains ont un rapport poids du cerveau/poids total plus élevé par rapport aux autres mammifères, ainsi qu'un poids du tissu adipeux plus important.

Des études expérimentales ont été réalisées chez le rat. La plupart des acides aminés subissent un transport actif au niveau des villosités placentaires. Les précurseurs de l'ADN (thymidine tritiée ou acides aminés tritiés) pourraient être préférentiellement incorporés dans l'ADN de cellules en multiplication active ou au niveau de protéines de structure. Cependant, cette incorporation préférentielle reste faible : 1,5 % de la totalité des OBT incorporés. D'autre part, ces concentrations fœtales sont similaires à celles retrouvées chez la mère (environ 2,5 %) (Takeda, 1991 et 1994).

### 4|2 | Conséquences sur la morphogenèse et le développement

La gravité des altérations fonctionnelles ou morphologiques du système nerveux central (SNC), observées chez les rongeurs (rat et souris), varie en fonction de l'âge gestationnel, des niveaux et de la durée d'exposition à du tritium. Une des difficultés dans l'analyse de ces données est leur caractère apparemment disparate quant à l'expression de la relation dose-effet et de la comparaison entre les études. En effet, suivant l'étude, la référence dosimétrique peut être soit l'activité totale incorporée par la mère, soit l'activité amenée par l'alimentation, soit une concentration dans l'eau de boisson, soit une dose estimée à tout ou partie du fœtus et à des âges variés. Cependant, il n'existe pas de facteur de conversion permettant de calculer la dose reçue par le fœtus en fonction de l'activité ingérée par la mère. Bien que la plupart des études s'attachent à conclure à une augmentation des effets avec l'exposition, il semble néanmoins difficile d'établir une réelle relation dose-effet sur la base de ces résultats et des incertitudes liés aux calculs dosimétriques. Ces précautions sont également à prendre en compte pour les études in vitro.

Diverses conséquences sur la morphogenèse et le développement ont été mises en évidence:

- des altérations de fonctions cognitives chez les jeunes rats après injections d'eau tritiée au 13<sup>ème</sup> jour de gestation respectivement de 241, 482 et 1445 kBq/g de poids du corps de la mère (Gao, 1999 ; Wang, 1995) ;
- une réduction du nombre de cellules neurales après exposition de souris gestantes (13<sup>ème</sup> jour) par injection intrapéritonéale d'eau tritiée à des concentrations de 482, 964, 1928 et 3854 kBq/g de masse corporelle. La réduction de la masse cérébrale est associée à une réduction du nombre de certaines cellules cérébrales (cellules pyramidales) (Sun, 1997 ; Gao, 1999) confirmant des études plus anciennes (Zamenhof, 1981 ; Zamenhof, 1990).

Sur le plan biologique, ces atteintes morphologiques sont corrélées à :

- une augmentation de la concentration de tritium dans le SNC de rats nouveaux nés, par rapport aux autres organes, après exposition à de l'eau tritiée (injection intra-péritonéale de 8,14 MBq/g), ainsi qu'une atrophie testiculaire avec destruction de la spermatogenèse (Yamada, 1996) ;
- une augmentation des lésions et de la mortalité par apoptose de neuroblastes au niveau du cervelet des fœtus de souris après exposition des mères à plusieurs dizaines ou centaines de kBq/mL d'HTO (eau de boisson), l'effet augmentant avec les doses cumulées (Jain, 1996) ;
- une augmentation du marquage de certains acides aminés (tryptophane) d'autant plus élevée qu'il s'agit d'une incorporation de molécules tritiées à des protéines cérébrales de rats exposés sur trois générations à de l'eau tritiée (37 kBq/mL) ou à une alimentation contenant 48,1 kBq/g d'OBT (Kowalska, 1985).

## 4|3| Etudes expérimentales in vitro

L'intérêt d'une analyse plus approfondie des effets du tritium (HTO et OBT) après exposition au cours du développement in utero a été souligné au regard des résultats expérimentaux des années 1970-80. Notamment, Müller et Spindle montrent une augmentation des aberrations chromosomiques après exposition in vitro de cellules embryonnaires au stade embryonnaire de quelques cellules (immédiatement avant ou après l'implantation des embryons de souris). De plus, les aberrations sont plus nombreuses après exposition à des précurseurs d'ADN ou acides aminés tritiés. Les molécules qui semblent les plus toxiques sont celles ayant une teneur en tritium plus élevée, comme l'arginine (Müller, 1986). Cependant, ces études réalisées in vitro ne sont pas nécessairement représentatives de la situation in vivo.

## 5| Conclusions

On s'aperçoit, au travers des études décrites ici, des difficultés de comparaison, du fait des disparités liées aux conditions expérimentales : concentrations utilisées en HTO ou OBT, modes d'incorporation, paramètres mesurés. De ce fait, il semble nécessaire de mettre en place une « dosimétrie du tritium » au niveau des organes contaminés (*in vivo*), ainsi qu'une microdosimétrie à l'échelle cellulaire (*in vitro*). La concentration en tritium (sous quelque forme qu'il soit) mesurée in fine au niveau de chaque organe est-elle vraiment représentative de la dose absorbée ?

D'autre part, il reste à réaliser, en particulier pour les formes de tritium organiquement lié et pour les expositions de tissus à croissance et renouvellement rapides (cas de l'embryon et du fœtus), des études sur les effets d'expositions chroniques (HTO ou OBT) à des concentrations environnementales (de l'ordre de la centaine ou du millier de Bq/L).

Enfin, il faudrait mettre en place une « normalisation » des protocoles expérimentaux afin de parvenir à comparer les études montrant ou non des effets du tritium.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Etnier EL., Travis CC., Hetrich DM. (1984) Metabolism of organically bound tritium in man, *Radiat Res* 100, 487-502.
- Gao W., Wang B., Zhou XY. (1999) Effects of prenatal low-dose beta radiation from tritiated water on learning and memory in rats and their possible mechanisms, *Radiat Res* 152, 265-272.
- Harrison JD., Khurseed A., Lambert BE. (2002) Uncertainties in dose coefficient for intakes of tritiated water and organically bound forms of tritium by members of the public, *Rad Prot Dos* 98, 299-311.
- Hill RL., Johnson IR (1993) Metabolism and dosimetry of tritium, *Health Phys* 65, 628-647.
- ICRP Publication 30 (1978) Limits for intakes of radionuclides by workers, Part 1. Ann ICRP 2(3/4) Pergamon Press, Oxford.
- ICRP Publication 56 (1989) Age-dependent doses to members of the public from intakes of radionuclide, Part 1, *Annals of the ICRP* 20(1) Pergamon Press, Oxford.
- ICRP Publication 88 (2001) Doses to the embryo and fetus from intakes of radionuclides by the mother, 31, n°1-3, Pergamon Press, Oxford.
- Jain N., Bhatia A. (1996) Radiobiological effects of low doses of tritiated water on developing mouse cerebellum from 17th day post-coitum, *Indian J of experimental Biology* 34, 891-984.
- Kowalska M. (1985) Incorporation of tritiated water (HTO) or Organically Bound Tritium (OBT) into amino acids of rat brain proteins, *J Rad Res* 26, 99-108.

Müller WU, Spindle A. (1986) Induction of sister chromatid exchange in preimplantation mouse embryos in vitro by  $^3\text{H}$ -thymidine or ultraviolet light in combination with caffeine, *Teratog Carcinog Mutagen* 6, 107-114.

NCRP report n° 89 (1997) Genetic effects from internally deposited radionuclides, Bethesda, MD.

Sun X., Inouye M., Yamamura H., Fukui Y. (1997) Effects of prenatal treatment with tritiated water on the developing brain, *Int J Radiat Biol* 71, 309-313.

Takeda H. (1991) Incorporation and distribution of tritium in rats after chronic exposure to various tritiated compounds, *Int J Radiat Biol* 59, 843-853.

Takeda H., Nishimura Y., Inaba J. (1994) Transfer of tritium to prenatal and neonatal rats from their mothers exposed to tritiated compounds, *Radiat Prot Dosim* 53, 281-284.

Takahashi S. (1991) Distribution of tritium in rat conceptus cultured in vitro following brief administration of tritiated-thymidine, *Radiat Res* 128, 59-63.

Taylor DM (2003) A biokinetic model for predicting the retention of  $^3\text{H}$  in the human body after intakes of tritiated water, *Radiat Prot Dosim* 105, 225-228.

Wang B., Zhou X. (1995) Effects of prenatal exposure to low-dose beta radiation from tritiated water on the neurobehavior of mice, *J Radiat Res* 36, 103-111.

Wang B., Watanabe K., Yamada T., Shima A. (1996) Effects of beta radiation from organically bound tritium on cultured mouse embryonic mid brain cells, *Health Phys.* 71, 915-921.

Wang B, Takeda H., Gao WM., Zhou XY., Okada T., Ohyama H., Yamada T., Hayara I. (1999) Induction of apoptosis by beta radiation from tritium compounds in mouse embryonic brain cells, *Health Phys* 77, 16-23.

Yamada K., Gotoh T., Ito A., Komatsu K. (1996) High level of tritium-remaining in brain of rats exposed to tritiated water as infants, *In Vivo* 10, 489-494.

Yamamoto O., Seyama T., Jo T., Terato H., Saito T., Kinomura A. (1995) Oral administration of tritiated water (HTO) in mouse. II. Tumour development, *Int J Radiat Biol* 68, 47-54.

Yin H., Bhattacharjee D., Roy G., Fujimoto N., Nakatani T., Ito A. (2002) Tumorigenesis in infant  $^3\text{H}/\text{HeN}$  mice exposed to tritiated water (HTO), *J Radiat Res (Tokyo)* 43, 345-351.

Zamenhof S., Marthens E. (1981) The effects of pre-and post-natal exposure to tritiated water for five generations on postnatal brain development, *Radiat Res* 85, 292-301.

Zamenhof S. (1990) Differential effects of chronic ingestion of tritiated water on prenatal brain development, *Radiat Res* 122, 101-103.