

UNIVERSITE FERHAT ABBAS SETIF 1
FACULTE DE MEDECINE
DEPARTEMENT DE PHARMACIE

INTRODUCTION A LA TOXICOLOGIE

Plan du cours :

- I- Définitions.
- II- Domaines de la toxicologie moderne.
- III- Procédure d'évaluation de la toxicité.
- IV. Conclusion

Dr. Sabah BENBOUDIAF
Cours de Toxicologie 5eme Année pharmacie



عميد كلية الطب
الأستاذ : لعوامري سليمان

I- DEFINITIONS :

1/ Toxicologie :

Discipline scientifique qui s'occupe des toxiques, de leurs propriétés, de leur devenir dans l'organisme, de leur mode d'action, de leur recherche dans différents milieux et des moyens (préventifs et curatifs) permettant de combattre leur nocivité.

2/ Toxique – Poison – Intoxication – Empoisonnement :

- On dit qu'une substance est un **toxique** lorsque, après pénétration dans l'organisme, par quelque voie que ce soit, à une dose relativement élevée en une ou plusieurs fois très rapprochées ou par petites doses longtemps répétées, elle provoque, immédiatement ou à terme, de façon passagère ou durable, des troubles d'une ou plusieurs fonctions de l'organisme pouvant aller jusqu'à leur suppression complète et amener la mort (*Fabre et Truhaut*).

Cette définition permet déjà de distinguer des phénomènes de toxicité **aiguë** ou **subaiguë** et des effets de toxicité à long terme, dite **chronique**.

- **Poison** est synonyme de **toxique**, de même qu'**intoxication** est synonyme d'**empoisonnement**.

L'usage semble cependant attribuer un sens plus général aux termes toxique et intoxication et réserver les termes poison et empoisonnement à l'attentat criminel (voire suicidaire). Comme l'écrivait *Paracelse* au XVI^e siècle : « *Aucune substance n'est un poison en elle-même, c'est la dose qui fait le poison* ».

Ainsi, un médicament a une action thérapeutique à une certaine dose et peut avoir une action toxique (voire mortelle) à dose plus élevée

II- DOMAINES DE LA TOXICOLOGIE MODERNE :

- ***Toxicologie médico-légale (expertise judiciaire)***, où la toxicologie analytique joue un rôle important.
- ***Hygiène alimentaire*** (problème des additifs et des résidus toxiques dans l'alimentation).
- ***Toxicologie professionnelle (industrie et agriculture)*** : pollution des ambiances de travail ; problème des pesticides,...
- ***Hygiène sociale*** : étude des toxicomanies, lutte contre la « drogue ».
- ***Ecotoxicologie*** : toxicologie environnementale (pollution de l'air, des eaux, des sols) et leurs répercussions sur l'homme et les équilibres biologiques.
- ***Toxicologie réglementaire*** : contribue à établir les autorisations, limitations ou interdictions d'emploi des substances éventuellement toxiques, et à en définir les conditions d'utilisation.
- ***Biotoxicologie*** : intervient dans plusieurs domaines, tels que les essais de toxicité que doivent subir tout nouveau médicament ou toute nouvelle substance chimique pour pouvoir obtenir une autorisation de mise sur le marché (AMM), les études pharmacocinétiques et toxicocinétiques, la détermination du mode d'action du produit et de ses métabolites à différents niveaux de l'organisme (fonctions ou organes-cibles, action cellulaire, moléculaire : sur l'ADN, sur des enzymes,...) d'où pourra découler l'établissement d'un traitement approprié de l'intoxication (toxicologie clinique), la connaissance des composés qu'il conviendra de rechercher dans les milieux biologiques en cas d'intoxication (composé initial et/ou ses métabolites),...

III- PROCEDURE D'EVALUATION DE LA TOXICITE :

1/- Rappels :

1.1- Courbe dose / réponse :

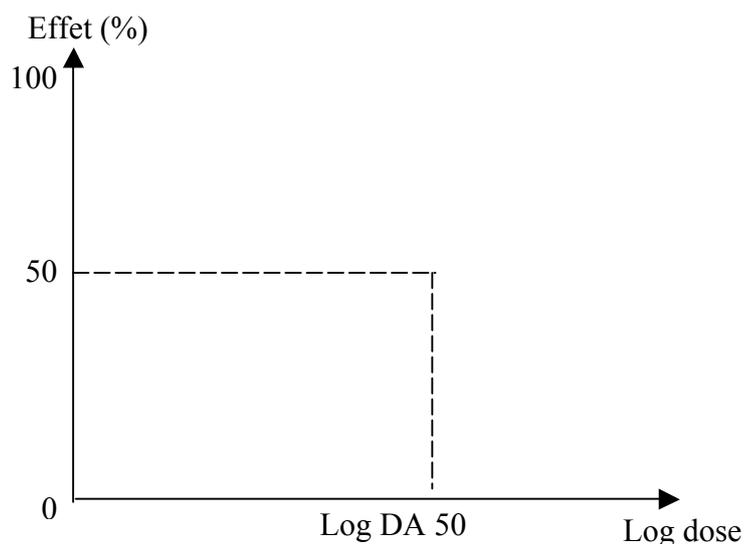
La courbe entre la dose d'une substance introduite dans un organisme et la réponse qu'elle détermine se matérialise habituellement par une courbe en S :



En règle générale, plus la dose augmente et plus la réponse augmente, soit par la sévérité de cette réponse soit par le pourcentage d'individus affectés.

1.2- Dose active 50 :

La dose active 50 se définit par rapport à la dose déterminant l'effet maximum (100%) pouvant être obtenu sur tel ou tel paramètre défini (action sur un organe isolé animal, par exemple). C'est celle qui détermine la moitié de l'effet maximum (50%), compte tenu d'un certain pourcentage d'erreur. Une interprétation statistique est indispensable.



1.3- Dose efficace 50 :

La dose efficace 50 (DE 50) est celle qui provoque un type d'effet clairement défini (irritation des voies respiratoires, sommeil, altérations hépatiques ou rénales, perturbations sanguines, troubles neuromusculaires,...) chez la moitié (50%) des animaux en expérimentation soumis à la substance essayée.

2/- Essais de toxicité aiguë :

La dose minimum mortelle chez l'animal, ou dose létale, est toujours délicate à déterminer de façon précise. On préfère habituellement, dans le cadre des essais de toxicité aiguë portant sur les médicaments ou les produits chimiques en vue de leur autorisation de mise sur le marché (AMM), établir la dose létale 50 (DL50) définie comme « *l'estimation statistique d'une dose unique de produit supposée tuer 50% des animaux* » en expérimentation.

L'essai est pratiqué habituellement sur 5 à 6 lots d'animaux, généralement le rat.

Chaque animal d'un même lot reçoit une dose identique (dose unique) de la substance à tester, mais la dose administrée est différente d'un lot à l'autre, afin que le pourcentage de mortalité varie entre 0 et 100. La voie d'administration est celle qui sera utilisée en clinique s'il

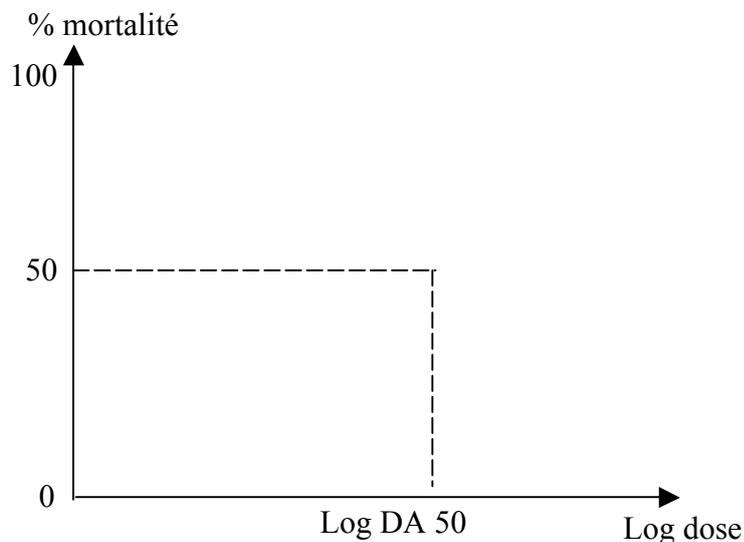
s'agit d'un médicament (voie orale, injection,..), ou celle par laquelle la substance pourra pénétrer dans l'organisme s'il s'agit d'un produit chimique (voie orale, inhalation, voie transcutanée,...).

Après l'administration, les animaux sont observés pendant 14 jours, au cours desquels les examens cliniques sont fréquents.

L'instant et les circonstances de la mort sont soigneusement notés. Les animaux demeurés vivants à la fin de l'essai sont sacrifiés.

Tous les animaux (morts en cours d'essai et sacrifiés en fin d'essai) font l'objet d'une autopsie.

On construit ensuite la courbe donnant le pourcentage de mortalité en fonction du logarithme de la dose. C'est une courbe en « S », dite *courbe de Trévan*, qui peut être linéarisée par des moyens appropriés. On en déduit la DL50 (exprimée en mg par kg de poids corporel), dont on calcule aussi l'écart-type.



Pour une substance administrée par voie orale, on considère que :

- si la DL50 est ≤ 5 mg /kg, le produit est **extrêmement toxique** ;
- si la DL50 est comprise entre 5 et 50 mg /kg, le produit est **très toxique** ;
- si la DL50 est comprise entre 50 et 500 mg/kg, le produit est **toxique** ;

- si la DL50 est comprise entre 0,5 et 5 g/kg, le produit est **peu toxique** ;
- si la DL50 est ≥ 5 g /kg, le produit **n'est pas toxique ou l'est très peu**;

Lorsque les substances à essayer se présentent sous forme de gaz ou de vapeurs, on établit non plus la DL50, mais la *CL50* ou *concentration létale 50*, c'est-à-dire la concentration atmosphérique entraînant la mort de la moitié de la population animale en expérimentation pour une durée d'exposition déterminée.

L'essai se fait alors par inhalation. On peut également retenir comme valeur le *TL50* ou *temps létal 50* pour une concentration déterminée du toxique dans l'air.

En fait, même si la DL50 constitue le paramètre de base permettant d'apprécier la toxicité aiguë d'une substance, sa signification est limitée. Il est difficile de déduire des résultats expérimentaux obtenus chez l'animal les doses qui seraient toxiques ou mortelles chez l'homme.

L'extrapolation de l'animal à l'homme, si tant est qu'elle soit valable, doit être faite avec une extrême prudence.

3/- Essais de toxicité conventionnelle par administrations répétées :

3.1- Toxicité subaiguë et toxicité chronique :

En plus des essais de toxicité aiguë (DL50, CL50), des essais de toxicité conventionnelle par administrations répétées (*toxicité subaiguë et toxicité chronique*) doivent être entrepris dans le cadre des demandes d'autorisation de mise sur le marché formulées par les fabricants pour les médicaments et pour les produits chimiques à autres usages. Ils durent de 2 à 3 mois (toxicité subaiguë) ou dépassent souvent une année (toxicité chronique).

Ils sont, en principe, effectués sur des animaux présentant des paramètres pharmacocinétiques aussi proches que possible de ceux de l'homme.

La voie d'administration est, là encore, celle qui est prévue en clinique (médicament) ou la voie possible de pénétration dans l'organisme (produit chimique).

Plusieurs lots d'animaux (autant de mâles que de femelles) sont mis en expérimentation, y compris des lots témoins appropriés.

Les essais doivent porter sur 2 espèces animales, dont l'une n'appartient pas à l'ordre des rongeurs, de façon à réduire autant que possible les erreurs d'extrapolation.

Classiquement, on a recours au rat et au chien.

Trois niveaux de doses sont administrés 7 jours sur 7 :

- une dose **forte**, entraînant une toxicité pour les organes-cibles ou d'autres fonctions ;
 - une dose **faible**, suffisante pour provoquer un effet pharmacodynamique ou l'effet thérapeutique désiré, ou pour donner des concentrations sanguines comparables à celles qui devraient être corrélées à ces effets chez l'homme ;
 - une dose **intermédiaire**, représentant par exemple la moyenne géométrique entre les deux doses précédentes ;
- habituellement, l'un des lots témoins ne reçoit pas la substance à tester ; l'autre, traité par la dose la plus forte, est observé pendant 14 jours après la dernière administration pour pouvoir se rendre compte de la réversibilité, de la persistance, ou de l'apparition retardée des effets toxiques.

Les animaux sont observés avant l'essai et au cours d'étude sur le plan de :

- la consommation alimentaire ;
- le poids corporel ;
- l'hématologie, la chimie clinique, l'analyse des urines ;
- l'ophtalmologie ;

- l'électrocardiographie ;
- le comportement général,...

Ils sont sacrifiés en fin d'essai et leurs organes sont soumis à un examen anatomo-pathologique attentif.

3.2- Méthodes alternatives :

Tous ces essais entraînent une consommation grandissante d'animaux de laboratoire et, périodiquement, des campagnes sont menées contre cette utilisation massive et « cruelle » d'animaux.

Des solutions de remplacement ou « méthodes alternatives », sont donc proposées : il s'agit notamment de *cultures de tissus ou de cellules*.

Celles-ci peuvent, certes, contribuer à la réduction du nombre des animaux et rendre des services appréciables pour appréhender des problèmes particuliers ou pour effectuer des tests d'approche, mais elles ne peuvent pas encore remplacer dans tous les domaines l'expérimentation animale, notamment lorsque l'on doit rechercher le pouvoir tératogène, cancérigène, toxicomanogène d'une substance, ou ses effets néfastes sur la descendance.

4/- Autres essais de toxicité par administrations répétées :

Effectivement, les études de toxicité à terme doivent aussi comporter :

- L'examen de la *toxicité fœtale*, par exemple la recherche d'effets cumulatifs sur la descendance après passage transplacentaire.
- L'examen de la *fonction de reproduction*, avec étude de la *fertilité* du mâle et de la femelle.
- L'étude des effets sur la *péri- et la postnatalité*, de la *tératogénèse* (apparition de malformations congénitales).
- Des essais de *mutagenèse*, phénomène résultant d'interactions entre des agents mutagènes et le matériel génétique des organismes, le plus souvent recherché par des tests rapides *in vitro* et *in vivo* ;

- une substance mutagène est potentiellement cancérigène et on a constaté que 85 à 90 % des cancérigènes chimiques connus sont mutagènes expérimentalement.
- Des essais de *cancérogenèse* (longs et coûteux) dont l'interprétation est toujours délicate malgré la multiplicité des tests pouvant actuellement être mis en œuvre. Le CIRC (Centre International de Recherche contre le Cancer), agence fonctionnant sous l'égide de l'OMS et regroupant des experts internationaux, a pu cependant définir sur le plan du pouvoir cancérigène 5 groupes de substances chimiques ou procédés :

- **Groupe 1** : agents cancérigènes pour l'homme (arsenic, benzène, chlorure de vinyle, nickel, fabrication du coke, fumée de tabac, industrie du caoutchouc,...) ;

- **Groupe 2A** : agents probablement cancérigènes pour l'homme (benzo-a-pyrène, polychlorobiphényles, cadmium, formaldéhyde, acétaldéhyde, oxyde d'éthylène,...) ;

- **Groupe 2B** : agents pouvant être cancérigènes pour l'homme ;

- **Groupe 3** : agents ne pouvant être classés du point de vue de leur cancérogénicité ;

- **Groupe 4** : agents probablement non cancérigènes pour l'homme.

- Des *essais de tolérance locale* (éventuellement) sur la peau et sur l'œil ;
- La recherche du *pouvoir allergisant* ;
- La recherche éventuelle d'un *pouvoir immunostimulant* ou *immunosuppresseur*,...

5/- Enquêtes épidémiologiques :

En toxicologie humaine, il est quelquefois difficile de mettre en évidence une véritable relation de cause à effet entre un produit, un procédé, une nuisance,... et le développement d'un état pathologique.

C'est le cas, par exemple, pour les polluants de l'air (dioxyde de soufre, oxydes d'azote, particules,...) et l'apparition d'affections respiratoires, cardiovasculaires ou autres ; dans ce domaine l'expérimentation animale est inopérante, les concentrations habituelles n'étant pas suffisantes pour déterminer une pathologie.

Le recours à l'enquête épidémiologique pour pallier cette déficience. L'enquête comporte habituellement la comparaison de deux groupes d'individus humains (populations ou cohortes) aussi semblables que possibles à l'exception du facteur étudié qui peut être par exemple :

- une maladie contagieuse ;
- une maladie d'origine professionnelle ;
- l'exposition à un agent toxique, environnemental ou autre ;
- une habitude alimentaire,.....

La comparaison entre un groupe de personnes exposées et un groupe de personnes non exposées (cas-témoins) peut déboucher sur des données de corrélation qu'il faudra étayer par une approche statistique appropriée.

6/- Evaluation des données obtenues :

l'objectif des études de toxicité à terme est de préciser la nature de la toxicité et de tenter de définir une dose sans effet observé (DES) ou « no observed effect level » (NOEL).

Si la toxicité n'est pas trop sévère et qu'une dose sans effet a pu être établie, une dose journalière admissible (DJA) ou « acceptable daily intake » (ADI) peut être extrapolée à partir des données animales, en appliquant le plus souvent un facteur de sécurité (le facteur 100 est habituellement recommandé par l'OMS), qui tient compte des différences de sensibilité entre les animaux et l'homme, des variations inter-individuelles existant au sein de l'espèce humaine, et du fait que le nombre d'animaux testés est faible par rapport au nombre d'individus humains susceptibles d'être exposés.

Le point de départ de la DJA peut être aussi la dose sans effet adverse observé ou « no observed adverse effect level » (NOAEL).

Un facteur d'incertitude de 10 est appliqué au NAOEL pour les variations interindividuelles chez l'homme, un autre facteur de 10 pour l'extrapolation de l'animal à l'homme.

Toutefois, l'approche de la DJA n'est pas applicable dans le cas des substances cancérigènes ou capables d'induire des réactions d'hypersensibilité.

IV- Conclusion :

Malgré les progrès de la toxicologie et la mise en œuvre d'examen de plus en plus nombreux incorporés dans les protocoles d'essais à long terme, des études supplémentaires sont encore nécessaires pour élargir nos connaissances sur la nature de la toxicité et les mécanismes d'action des substances chimiques.