

Chapitre III

3. TOXICITÉ CHRONIQUE

A. BENSAXHRIA

3.1. Introduction

La toxicité chronique regroupe l'ensemble des effets délétères qui touchent un organisme vivant suite à une exposition ou à une administration répétée d'un toxique à des doses multiples non létales. Ces doses, individuellement, sont insuffisantes pour provoquer un effet immédiat. L'exposition doit être répétée sur une longue période pour causer des effets néfastes. L'apparition de ces effets est souvent insidieuse de manifestation brutale sans aucun symptôme alarmant, elle peut être réversible ou irréversible. Il se peut qu'il y ait une sommation de doses absorbées jusqu'à atteindre la dose *seuil* (c'est le cas de *toxiques dont les effets sont dus à l'accumulation de doses* comme le Pb – saturnisme). Il se peut qu'il y ait sommation des effets comme dans le cas des substances irritantes ou le cas du tabagisme passif et l'intoxication chronique au CO, ou encore les mutagènes (c'est le cas de *toxiques dont les effets sont cumulatifs*).

3.2. Mécanisme réactionnel

3.2.1. Accumulation de doses

Le toxique s'accumule dans l'organisme de manière à ce que la quantité éliminée soit inférieure à la quantité absorbée. La concentration du toxique dans l'organisme augmente progressivement jusqu'à l'obtention d'une quantité suffisante pour engendrer des manifestations cliniques. Exemple de toxiques cumulatifs : Les métaux : Pb, Cd, les non-métaux : Arsenic, Fluore, l'insecticide organochloré (DDT).

3. Toxicité chronique

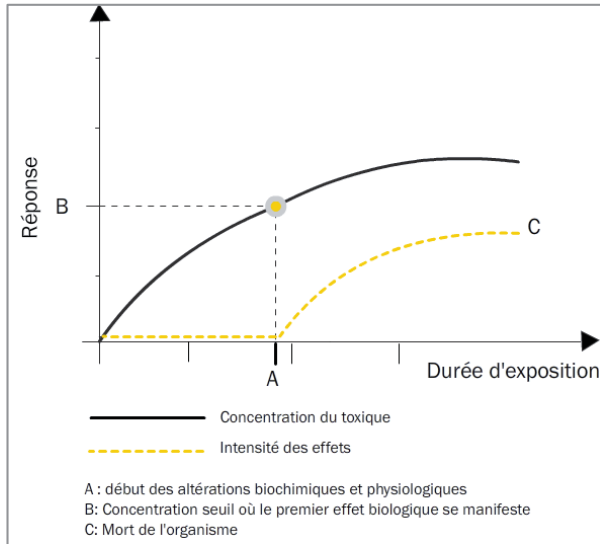


Figure 3.4. Toxicité chronique due à une accumulation de doses

Facteurs favorisant l'accumulation des toxiques dans l'organisme

Certains facteurs physiques augmentent la liposolubilité. Des facteurs chimiques comme l'affinité du fluor pour le calcium, l'affinité de certains toxiques à action thioloprive pour les groupements thiols des protéines soufrées (telles que la kératine) des phanères favorisent l'accumulation de ces derniers. Des facteurs biologiques contribuent à cette action par exemple, l'action néphrotoxique de certains métaux lourds tels que le mercure, ce dernier entrave son propre site d'élimination par voie rénale.

Certains toxiques s'accumulent dans l'organisme sans entraîner aucun effet jusqu'à leur relargage dans des conditions précises, par exemple, le Dichlorodiphényltrichloroéthane (DTT) qui s'accumule au niveau des tissus adipeux, relargué pendant les périodes de jeûne engendrant des effets toxiques sur le système nerveux central. Le cadmium stocké au niveau du foie pourrait être libéré suite à des atteintes hépatiques favorisant ainsi des lésions tubulaires rénales.

3.2.2. Accumulation des effets

Le toxique ne se dépose pas et ne s'accumule pas dans l'organisme, cependant, les effets de l'exposition répétée à ce toxique s'additionnent de façon irréversible et indépendante de la dose.

3. Toxicité chronique

Exemple : l'intoxication chronique au disulfure de carbone « CS₂ ». Le n-hexane (et ses métabolites) qui endommage les cellules nerveuses des doigts et des orteils.

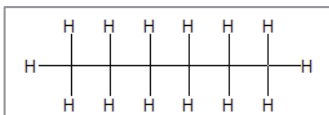


Figure 3.5. Structure chimique du n-Hexane

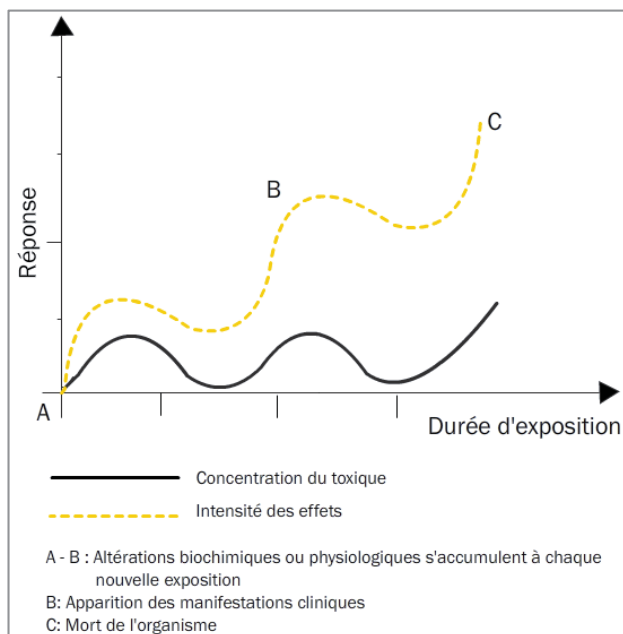


Figure 3.6. Toxicité chronique due à une sommation d'effets toxiques

L'énergie et la réversibilité de la liaison chimique établie entre toxique et la cible détermine la durée et la réversibilité du mécanisme de l'accumulation du toxique, en effet, les systèmes enzymatiques (cibles physiologiques du toxique) étant rarement saturables, leur activité reste pratiquement égale à la concentration du toxique. L'action du toxique est liée alors à sa concentration dans les fluides organiques et disparaît avec son élimination. Une liaison non covalente (réversible) engendre des effets toxiques cumulatifs aigus à court terme sans bioactivation préalable du toxique. La liaison carbamates anticholinestérasiques-cholinestérase de type non covalent peut être rompue par compétition d'un autre composé

3. Toxicité chronique

plus affiné à la cholinestérase que le toxique, ce dernier se détache de la cible physiologique (enzyme) d'où la réversibilité de l'effet.

Certaines substances mutagènes et cancérigènes possèdent une grande affinité à l'ADN, la liaison est de type covalent irréversible et est donc directement responsable de la sommation totale des effets toxiques et la persistance de la toxicité. C'est le cas du Bromure d'éthidium (BEt) agent intercalant utilisé comme marqueur d'acide nucléique en biologie moléculaire, hautement toxique par son pouvoir mutagène, mais aussi cancérigène et tératogène.

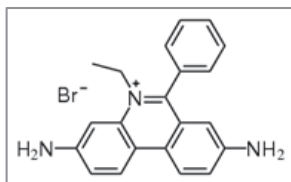


Figure 3.7. Structure chimique du Bromure d'éthidium (BEt)

Remarque : Il faut faire la distinction entre une exposition aiguë ou chronique et des effets aigus ou chroniques. Une exposition aiguë entraîne un effet persistant, exemple, une seule dose de triorthocrésylphosphate (TOCP) produit chez l'homme, une lésion nerveuse permanente. Une exposition chronique entraîne un effet aigu, exemple, des rats exposés au DDT de manière prolongée, en quantité croissante sans aucune altération métabolique apparente, le fait de soumettre ces animaux à un jeûne prolongé, mobilise les graisses des tissus adipeux et libère dans la circulation une quantité importante de DDT toxique pour le système nerveux central.

3.3. Évaluation de la toxicité chronique

L'évaluation de la toxicité chronique consiste à une mise en évidence des altérations fonctionnelles et/ou morphologiques suite à l'administration répétée d'une substance seule ou en association et à établir les conditions d'apparition de ces altérations en fonction de la posologie. Cette évaluation a pour buts :

- Estimer la dose sans effets toxiques pour l'espèce animale étudiée (NOEL : *no observed effect level*).
- Déterminer la dose journalière admissible (DJA).
- Déterminer les effets toxiques et les organes cibles après une exposition répétée.
- Déterminer si les effets sont réversibles ou irréversibles.
- Définir le mécanisme d'action de la substance et d'éventuelles interactions avec d'autres substances chimiques.

3.3.1. Dispositif expérimental

Produit à tester : il faut avoir le maximum de renseignements concernant le produit à tester tels que ses propriétés physico-chimiques et ses produits de dégradation.

L'espèce animale : Les essais sont effectués sur des animaux présentant des paramètres pharmacocinétiques aussi proches que possible de ceux chez l'homme. Les essais doivent porter sur deux espèces animales dont l'une n'appartient pas à l'ordre des rongeurs pour réduire autant que possible les erreurs d'extrapolation. Plusieurs espèces animales sont utilisées, mais le rat et le chien restent les deux animaux de choix suivis des primates. Les souris sont moins utilisées.

Voie d'administration : La voie d'administration est celle prévue en clinique (médicament) ou la voie de pénétration dans l'organisme (produits chimiques). Lorsque le produit est à pénétration orale, il est incorporé dans la nourriture ou dans l'eau potable.

Il existe des applications cutanées, des expositions par inhalation et des administrations par voies parentérales qui facilitent les tests des produits industriels et à usage agricole et aussi certains médicaments.

Dose : trois doses différentes sont utilisées : une dose forte : entraîne une toxicité pour les organes cibles, une dose faible : entraîne l'effet pharmacodynamique et thérapeutique, une dose moyenne : qui est la moyenne géométrique entre les deux doses.

Constitution des lots : Chaque lot expérimental et le lot témoin comprend un nombre identique de mâles et de femelles, généralement entre 40 – 100 individus pour les rats, un nombre plus faible des chiens et des primates est admis. Généralement, un nombre de 10/sexe/dose est accepté.

Durée d'observation : La durée des études est généralement de 2 ans chez le rat, les chiens et les primates peuvent être maintenus sept ans ou plus.

Signes recherchés : Les animaux sont observés avant l'essai et au cours des études. Sur le plan clinique, on apprécie les paramètres suivants : l'aspect, le comportement, le poids corporel, la consommation de nourriture et de boissons. Sur le plan biologique : selon l'impact du toxique sur l'organisme, on peut évaluer des paramètres biochimiques tels que l'inhibition des enzymes (action des esters organophosphorés sur l'acétylcholine estérase), la libération des enzymes tissulaires dans la circulation.

Analyses biologiques : dans le sang telles que la formule de numération FNS, l'hémogramme, le taux d'urée, la créatinine, la bilirubine, le cholestérol, et dans les urines telles que les sucres, l'albumine, des sédiments, etc.

3. Toxicité chronique

Examens fonctionnels (Tests physiologiques) : Tels que les tests d'irritation pulmonaire par des EFP «épreuves fonctionnelles pulmonaires». L'évaluation de la fonction rénale, l'électrocardiogramme ECG, et l'électroencéphalogramme EEG sont aussi faits.

Examens post mortem : tous les animaux morts doivent être autopsiés, même les survivants doivent être sacrifiés et examinés à la fin des études, les organes sont pesés, lorsque ces derniers présentent une anomalie, ils seront soumis à un examen histologique.

Études spéciales : des essais de cancérogénicité, de la mutagénicité et de génotoxicité sont nécessaires dans des cas particuliers de toxicité chronique tels que le cancer.

3.3.2. Exemple d'évaluation de la mutagenèse d'un toxique

Une mutation est une modification qui se produit dans le matériel génétique de la cellule, l'ADN. Une mutation dans une cellule germinale est suffisante pour induire un effet nocif héréditaire, tandis qu'une mutation dans une cellule somatique indique le potentiel de mutagénicité des cellules germinales ou de cancérogénicité. Environ 95% des substances mutagènes sont également cancérogènes.

Différents types de mutations

Les mutations géniques : ce sont des modifications de la structure de la molécule d'ADN à l'intérieur d'un même gène.

Les aberrations chromosomiques : elles se manifestent par des modifications du nombre (augmentation ou diminution) ou de la structure des chromosomes.

Il existe de nombreux tests de mutation :

Tests de mutations géniques : Test D'Ames : des mutations géniques sont provoquées sur le locus de l'hypoxanthine - guanine phosphoribosyltransferase (HGPRTase) rendant cette enzyme inefficace et qui sont à l'origine du syndrome de Lesch-Nyhan

Tests de mutations chromosomiques :

Test du micronoyau (MN) : le but de cet essai est d'identifier des toxiques qui causent des lésions cytogénétiques et des micronoyaux dans lesquels il reste des fragments de chromosomes ou des chromosomes entiers,

Test des aberrations chromosomiques : le but est d'identifier les agents qui causent des aberrations chromosomiques structurales dans les cellules mammifères cultivées.

Altérations primaires de l'ADN : incluent le test des échanges entre chromatides sœurs, test des comètes, test de détection des adduits.

Étude de la cancérogenèse : La cancérogenèse, un processus néoplasique, qui est l'ensemble de phénomènes qui conduisent à la transformation d'un tissu normal en tissu cancéreux. Cette

3. Toxicité chronique

étude est indiquée lorsque les effets cancérogènes doivent être recherchés notamment pour les produits qui présentent une analogie structurale étroite avec des composés reconnus cancérogènes, elle est aussi nécessaire pour les produits qui, lors de l'étude toxicologique à long terme, ont provoqué des manifestations suspectes, pour les produits ayant donné des résultats douteux aux tests de mutagenèse ou à d'autres tests à court terme, et pour les substances entrant dans la composition des médicaments destinés à être administrés à vie (les antihypertenseurs, les antidiabétiques oraux...).

Parmi les substances reconnues cancérogènes chez l'homme, on compte de nombreuses molécules industrielles comme le benzène, chlorure de vinyle.

Méthodes d'évaluation de la cancérogenèse des substances chimiques

Méthodes épidémiologiques : La découverte d'une augmentation de la prévalence de cancers parmi les travailleurs exposés à certains corps chimiques pendant de nombreuses années a permis de démontrer leurs activités cancérogènes chez l'homme. Néanmoins ces méthodes ont des limites, la preuve n'est fournie qu'après de nombreuses années d'exposition, les travailleurs sont exposés à de multiples substances au cours de leur vie professionnelle, le problème d'interférence de facteurs extra-professionnels (tabac, alcool, alimentation) est quasiment présent.

Méthodes expérimentales

Test classique in vivo : se fait par administration prolongée d'une dose de produit à des animaux de laboratoire durant la vie entière puis des examens macroscopiques et microscopiques des tissus d'animaux en post mortem à la recherche de tumeurs, les résultats seront comparés à un groupe témoin de mêmes sexes.

Tests rapides d'inductions des tumeurs : On réduit dans ce cas la période de latence avant l'apparition des tumeurs (emploi d'animaux nouveau-nés).

Tests rapides prédictifs : Ce sont des tests dont le résultat n'est pas nécessairement le développement de tumeurs, mais de transformations cellulaires et de mutations.

Relation entre le pouvoir mutagène et le pouvoir cancérogène :

L'enchaînement génotoxicité – lésion – mutation – cancérisation est dans la majorité des cas impliqué dans le développement du cancer pour cette raison les tests de génotoxicité et de mutagenicité peuvent être utilisés comme tests prédictifs rapides de l'activité cancérogène.

3.3.3. Exemple d'évaluation de la reprotoxicité d'un toxique

Étude in vivo : Les xénobiotiques peuvent exercer des effets toxiques à différents niveaux du processus de reproduction, ceci par action sur la fécondation (gamètes mâles et femelles), par action sur l'embryon et le fœtus, par action lors de la période péri- et postnatale

3. Toxicité chronique

(accouchement, développement postnatal, lactation). L'étude des fonctions de reproduction se divise en trois segments :

Segment I : étude de fertilité et du développement embryonnaire précoce par application des tests pendant la gamétogenèse jusqu'à accouplement pour les mâles et nidation pour les femelles. On apprécie l'effet néfaste sur le comportement sexuel, les différents aspects de la spermatogenèse, de l'ovogenèse ou sur l'activité hormonale.

Segment II : étude du développement embryofœtal, d'embryofœtotoxicité et de la tératogénèse.

Segment III : étude du développement péri- et post natal (mise-bas et allaitement). Cette étude a pour but de déceler les perturbations de la croissance du fœtus, de la parturition et de la lactation.

En pratique, l'embryotoxicité présente deux manifestations principales : L'embryolétalité et la teratogénéicité. L'embryolétalité se traduit par la mort de l'embryon ou du fœtus. Elle intervient quand le produit a pu exercer sa toxicité pendant la blastogenèse. Le risque d'embryolétalité diminue avec l'âge de la grossesse. La teratogénéicité correspond à l'apparition de malformations congénitales au cours du développement embryonnaire.

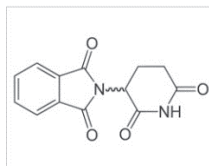


Figure 3.8. Un enfant atteint de phocomélie due au thalidomide.

L'exemple le plus dramatique des effets tératogènes est celui du Thalidomide, un médicament doué de propriétés sédatives, anxiolytiques, antinauséuses. Au début des années 1960, dans plusieurs pays européens et au Japon, sont nés environ 10 000 enfants porteurs de malformations caractéristiques telles que phocomélies (implantation directe des mains ou de pieds sur le tronc), amélies (absence de membres) souvent associées à des malformations cardiaques. Leurs mères avaient toutes été traitées par le Thalidomide pendant le premier trimestre de leurs grossesses.

3. Toxicité chronique

Méthodes alternatives : in vitro sur des cultures d'embryons, d'organes, de cellules. L'intérêt est la possibilité d'utiliser des espèces non mammifères, la réduction du nombre d'animaux utilisés, et la diminution de la durée requise pour les essais. Cependant, elles présentent la limite de ne pas pouvoir assurer l'absence d'effet. Ce sont des études préliminaires (prescreening).

Extrapolation à l'Homme

En général, l'espèce humaine est qualitativement similaire aux autres animaux. En termes de réponse aux molécules toxiques, cette similitude est à la base de l'extrapolation des résultats obtenus sur les animaux, mais il faut signaler qu'il y'a des différences quantitatives marquées.

Afin de transposer les valeurs à l'homme, des facteurs de sécurité sont appliqués aux valeurs obtenues expérimentalement :

1) Dose journalière admissible (DJA) : c'est la dose d'un produit qui peut être ingérée journalièrement par un individu pendant sa vie entière sans inconvénient prévisible pour sa santé.

2) Dose sans effet DSE (NOEL : *no observed effect level*) : c'est la dose maximale n'induisant aucun signe de toxicité dans l'espèce animale la plus sensible et la plus appropriée en utilisant l'indicateur de toxicité le plus sensible.

3) Facteur de sécurité : lors de l'extrapolation de la DSE sur l'animal à la DJA chez l'Homme un facteur de sécurité de 100 a été proposé. Ce facteur est destiné à compenser les différences de sensibilité entre les espèces, à tenir compte des larges variations de sensibilité à l'intérieur de la population humaine.

Les enquêtes épidémiologiques

Dans le cas où la mise en évidence de la relation cause à effet entre un produit et le développement d'un état pathologique est difficile (exemple d'un polluant d'air) et que l'expérimentation animale est inopérante (durée des essais qui ne dépassent pas les 2 à 3 ans) alors que parfois l'homme est exposé à un toxique pendant toute sa vie, des enquêtes épidémiologiques seront requises.

Observation des travailleurs : Quand une substance chimique est utilisée régulièrement dans l'industrie, il faut évaluer la contamination de l'ambiance de travail et l'intensité d'exposition des travailleurs à cette substance par des examens cliniques, biochimiques, et comportementaux réguliers.

Pour bien apprécier le risque d'exposition, une étude épidémiologique sera nécessaire en suivant différentes démarches :

- Comparaison de deux cohortes (populations) : étude cas-témoin.

3. Toxicité chronique

- Études prospectives ou rétrospectives sur la base des dossiers médicaux.
- Études transversales répétées de différents groupes de sujets exposés et témoins.

Investigations sur volontaires

Pour des raisons éthiques évidentes, ces études ne peuvent être réalisées que si les mêmes résultats ne peuvent être obtenus par d'autres moyens et dans des circonstances où le risque pour les volontaires peut raisonnablement être estimé comme non existant.

Bibliographie

- Frank A. Barile (23 July 2007). Principles of Toxicology Testing. CRC Press. pp. 89–90. ISBN 978-1-4200-0832-6.
- Stephen Penningroth (19 April 2016). Essentials of Toxic Chemical Risk: Science and Society. CRC Press. pp. 49–79. ISBN 978-0-203-02262-7.
- Andor Kocsis; Hajna Molnar (2009). Genotoxicity: Evaluation, Testing and Prediction. Nova Biomedical Books. ISBN 978-1-60741-714-9.
- Micheline Kirsch-Volders (6 December 2012). Mutagenicity, Carcinogenicity, and Teratogenicity of Industrial Pollutants. Springer Science & Business Media. pp.281-285. ISBN 978-1-4613-2643-4.
- Objectifs de l'évaluation de la Toxicité Chronique » Analytical Toxicology. (2017, November 13). Page web: <https://www.analyticaltoxicology.com/objectifs-de-levaluation-de-la-toxicite-chronique/>