

Toxicité aiguë et pouvoir cancérigène de tabacs préextraits

par J. L. Nicod

La combustion du tabac produit des corps cancérigènes, personne n'en doute plus. Or comme il serait vain de chercher à empêcher les gens de fumer, on comprend que l'on ait tenté d'obtenir des tabacs, surtout pour la cigarette, exempts de danger en tout ou en partie. Appelé à contrôler au Centre anticancéreux romand la valeur pratique de la préextraction du tabac par le tétrachlorure de carbone (*Neukomm-Bonnet*¹), j'ai eu l'occasion de donner au service fédéral de l'hygiène publique deux rapports dont je voudrais commenter ici l'essentiel.

En présence d'un tabac traité, deux questions majeures se posent immédiatement – indépendamment d'ailleurs de toute appréciation sur sa valeur pratique pour le fumeur – à savoir

I. qu'en est-il de sa toxicité aiguë?

II. que reste-t-il du pouvoir cancérigène de sa fumée?

Pour répondre à ces deux questions, dans le cas particulier, Monsieur *Matthey* du Laboratoire cantonal de Lausanne m'a remis des goudrons provenant de la fumée de divers tabacs dont je fournissais au laboratoire de recherches du Centre anticancéreux les quantités nécessaires aux expériences de contrôle. Celles-ci ont été effectuées sur la souris blanche, plus spécialement sur la souche E sélectionnée et élevée à l'état pratiquement pur au dit Centre.

I. Toxicité aiguë

Nous avons d'abord recherché la toxicité d'une solution dans l'huile d'arachide d'un goudron de tabac non extrait, utilisé couramment au laboratoire, et nous avons vu que l'injection intra-abdominale de 0,5 cc tuait la souris en une minute, alors que 0,25 cc agissaient de même en cinq minutes. Les doses de 0,2 cc et de 0,1 cc laissaient les animaux en vie tout en leur causant des crises tétaniques et en les mettant en état d'apathie, le tout durant par exemple une demi-heure au delà de laquelle l'état antérieur et normal était récupéré.

¹ Mouron J. C., J. Bonnet et S. Neukomm: *Oncologia* 13, 271–278 (1960).

Nous avons donc décidé de procéder à des essais, chaque fois sur quatre souris âgées de 100 et de 107 jours, avec des doses croissantes de 0,10; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30 et si besoin était de 0,35 et 0,40 cc.

A la fin des essais et des contrôles, les types des divers tabacs utilisés ont été confrontés avec les résultats. Il va bien sans dire que ces types n'étaient pas connus des opérateurs, désignés qu'ils étaient par les lettres d'un code secret. En fait il s'agissait de goudrons extraits de la fumée de cigarettes confectionnées de la façon suivante (les lettres sont celles du code).

| | | | |
|---|-----------|-------------|------------|
| S | Maryland | sans filtre | non traité |
| U | Maryland | sans filtre | traité |
| A | Maryland | avec filtre | non traité |
| G | Maryland | avec filtre | traité |
| H | Orient | avec filtre | non traité |
| J | Orient | avec filtre | traité |
| K | Anglais | avec filtre | non traité |
| L | Anglais | avec filtre | traité |
| M | Américain | avec filtre | non traité |
| P | Américain | avec filtre | traité |

Je ne donnerai ici que deux exemples du déroulement des essais. Il s'agit des cigarettes Maryland avec filtre, soit les échantillons A et G.

Lot A: avec 0,10 cc, une souris meurt après 3' 25";
 avec 0,15 cc, trois souris meurent de 3' 10" à 5' 30";
 avec 0,20 cc, deux souris meurent après 2' 45" et 5' 45";
 avec 0,25 cc, les quatre souris meurent de 1' 35" à 4' 15".

Lot G: avec 0,10 cc et 0,15 cc, aucune souris ne meurt;
 avec 0,20 cc, deux souris sont mortes après 4' 40" et 5' 30";
 avec 0,25 cc, les quatre souris meurent de 2' 45" à 4' 5".

La dose létale a été calculée au moyen de la méthode graphique consistant à noter les résultats sur un papier qui porte en ordonnée le % des animaux survivants (probits) et en abscisse la dose administrée. La droite la plus probable a été tracée et ainsi la dose 50% a pu être déterminée.

La détermination de cette dose létale 50% - c'est-à-dire celle qui suffit à causer la mort du 50% des animaux - a été comparée aux données de l'analyse chimique: nicotine d'une part, goudrons totaux d'autre part. Ces deux données ont été choisies pour des raisons pratiques, mais en sachant bien que la toxicité aiguë n'est pas liée par exemple à la seule teneur en nicotine, mais aussi à d'autres substances contenues dans la fumée. Il n'y a en effet pas de relation proportionnelle entre l'augmentation de la nicotine dans un échantillon et celle de sa toxicité globale. Au contraire, certains tabacs donnant une fumée

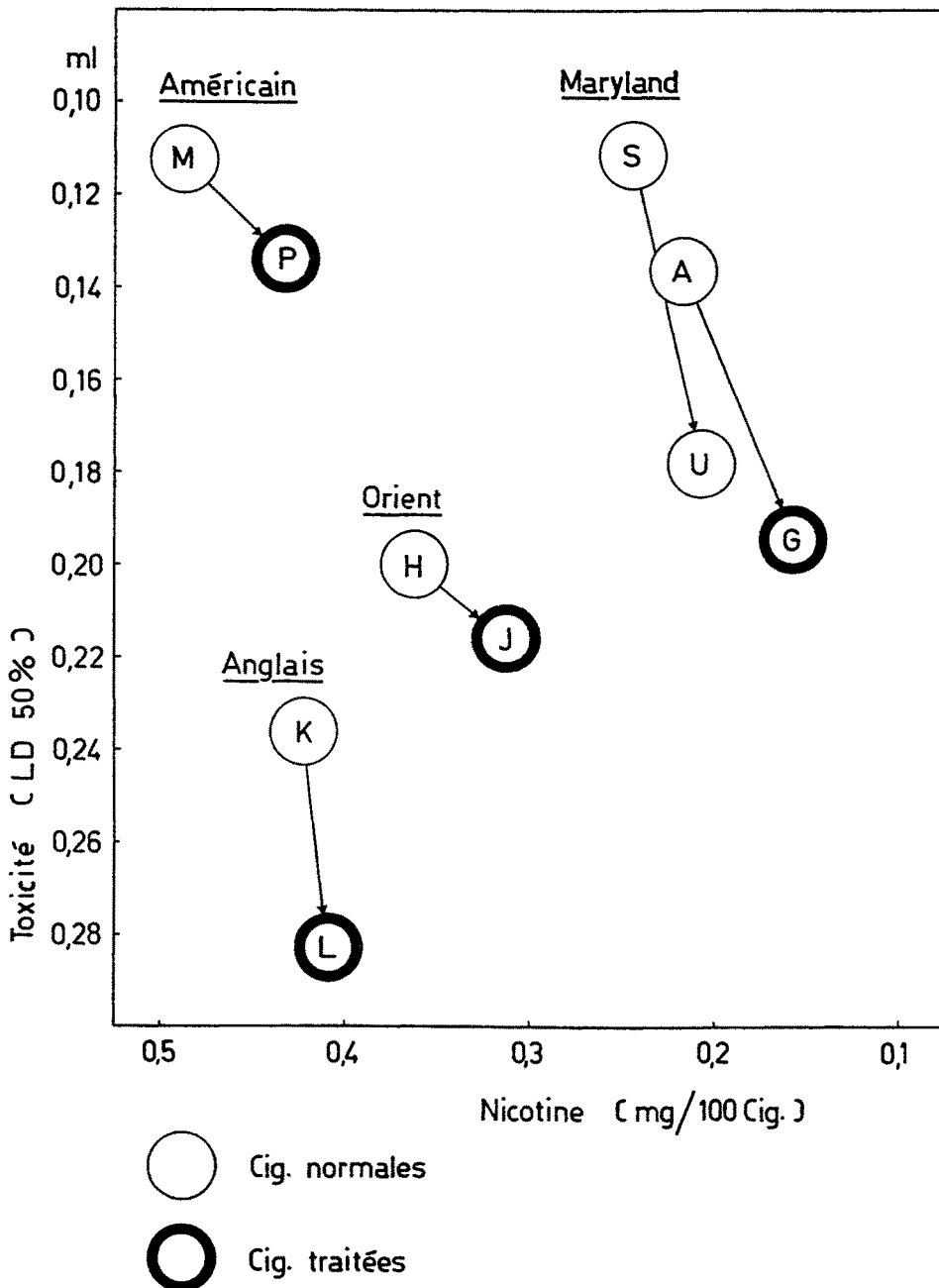


Figure 1: Dose létale 50% en fonction de la teneur en nicotine de la fumée de cigarettes. En ordonnée, la dose létale 50% calculée selon la méthode graphique indiquée dans le texte. En abscisse, la teneur en nicotine en mg/100 cigarettes.

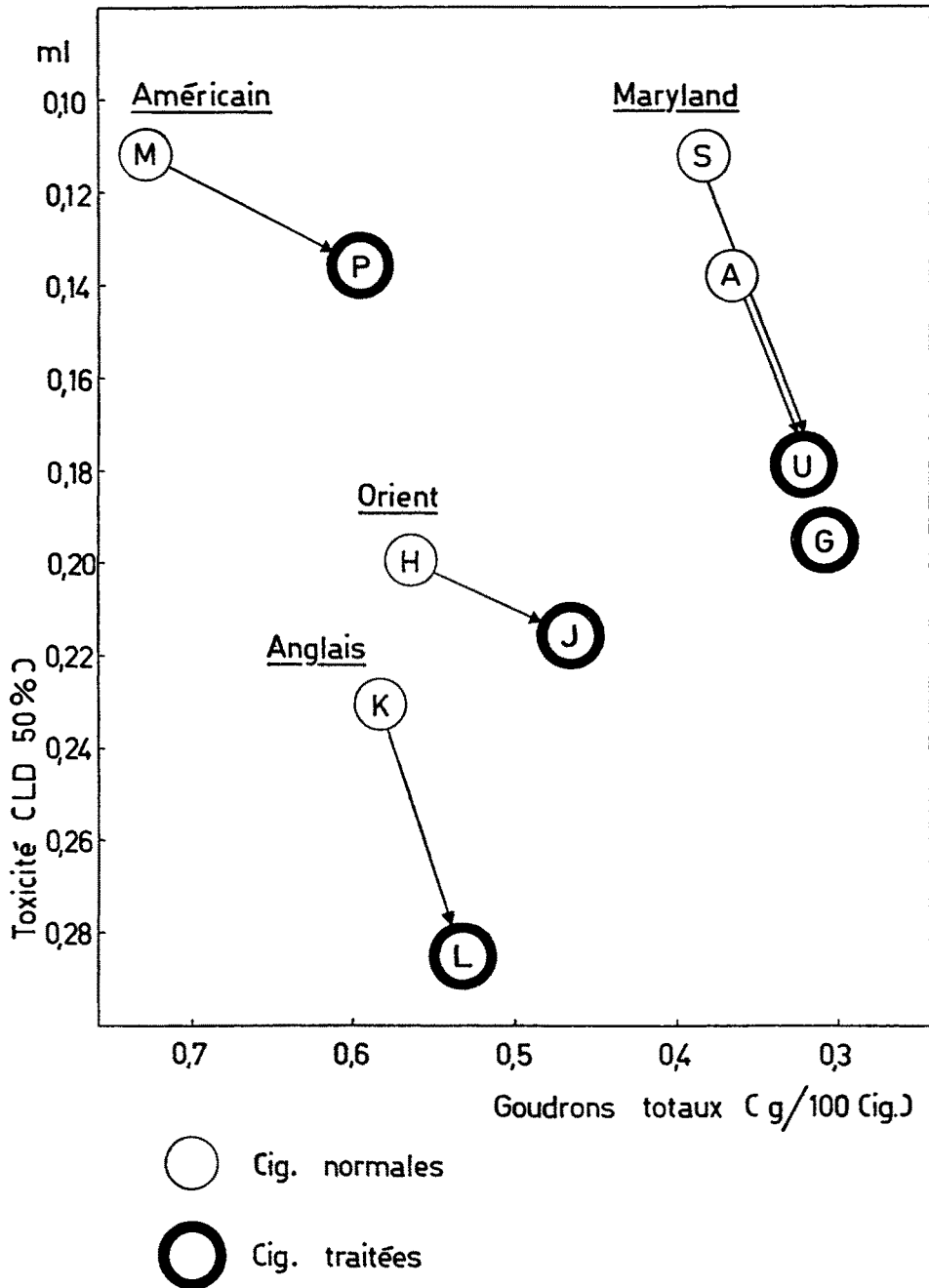


Figure 2: Dose létale 50% en fonction de la teneur en goudrons totaux de la fumée de cigarettes. En ordonnée, la dose létale 50% calculée selon la méthode graphique indiquée dans le texte. En abscisse, la teneur en goudrons totaux en g/100 cigarettes.

relativement pauvre en nicotine, tels le Maryland, présentent une toxicité aussi grande que les tabacs du type « American blend ». C'est ainsi que par ordre de toxicité décroissante nos échantillons s'ordonnent de la façon suivante :

1. Américain
2. Maryland (avec ou sans filtre)
3. Orient
4. Anglais

Nos résultats sont reportés sur les tableaux 1 (nicotine) et 2 (goudrons totaux).

Si l'on considère la réduction de toxicité mesurée par la réduction de dose létale 50%, on constate qu'elle varie d'un type de tabac à l'autre, cette réduction étant grande pour le Maryland (environ 33%), moyenne pour l'Anglais et l'Américain (environ 17%) et faible pour l'Orient (environ 7%) ainsi qu'il ressort du tableau 1.

Tableau 1: Les effets du traitement de divers tabacs sur leur teneur en nicotine, en goudron et sur leur toxicité.

Condensat de fumée

| Cigarettes | Nicotine mg/100 cig. | Goudrons totaux g/100 cig. | Dose létale 50% | Réduction % |
|---|-------------------------|----------------------------------|--------------------|----------------|
| Maryland sans filtre non traitées. . . | 0,245 | 3,88 | 0,112 | 37,8 |
| Id. traitées . . . | 0,207 | 3,26 | 0,180 | |
| Maryland avec filtre non traitées. . . | 0,216 | 3,55 | 0,137 | 29,8 |
| Id. traitées . . . | 0,171 | 3,12 | 0,195 | |
| Orient avec filtre non traitées. . . | 0,361 | 5,55 | 0,200 | 6,9 |
| Id. traitées . . . | 0,316 | 4,59 | 0,215 | |
| Anglais non traitées. . . | 0,420 | 5,81 | 0,237 | 17,5 |
| Id. traitées . . . | 0,416 | 5,39 | 0,287 | |
| Américain non traitées. . . | 0,492 | 7,33 | 0,112 | 17,0 |
| Id. traitées . . . | 0,442 | 5,93 | 0,135 | |

Les résultats sont sensiblement les mêmes pour la nicotine et les goudrons totaux.

D'une manière générale le traitement de nos tabacs entraîne donc une réduction moyenne de 20% environ de la dose létale 50%, avec un maximum de 33% pour le Maryland et un minimum de 7% pour l'Orient.

II. Pouvoir cancérigène

Les essais dont il est question ici ont été faits sur des souris femelles de la souche E, âgées de 141 jours au moment de la mise en expérience, soit le 23 juin 1958. Les goudrons ont été préparés à partir de cigarettes, traitées et non traitées. Ils m'étaient remis au fur et à mesure des besoins par Monsieur *Matthey*, chimiste cantonal à Lausanne. Ces goudrons étaient en solution dans un mélange d'alcool absolu (un tiers) et de benzène (deux tiers). Marqués de lettres et chiffres d'un code secret, j'ai moi-même modifié ce dernier une seconde fois pour empêcher au maximum une éventuelle reconnaissance des échantillons par le personnel chargé de la conduite matérielle des essais.

Voici les tabacs dont il s'agissait :

Goudron J = goudron NC = tabac d'Orient traité
Goudron E = goudron FTR₂ = tabac d'Orient non traité
Goudron A = goudron NE = tabac American blend traité
Goudron N = goudron FTR₄ = tabac American blend non traité

Dans la suite j'emploierai les lettres J, E, A, N pour désigner les divers lots d'animaux.

Le test de cancérisation choisi a été celui de la peau de la souris au moyen de badigeonnages répétés, suivant la technique aujourd'hui usuelle et classique. Les badigeonnages ont été pratiqués deux fois par semaine au moyen d'un pinceau à aigrettes No 7, sur la nuque préalablement rasée (on a utilisé toujours le même pinceau pour appliquer la même solution donnée). Lors de la repousse des poils, on a rasé à nouveau la nuque, afin d'assurer le contact le plus sûr et le plus intime du goudron avec l'épiderme. Les modifications de la peau ont été notées dans des procès-verbaux individuels pour chaque animal. Les lésions ont été biopsiées et, à la mort des animaux, lésions et peau ont été incluses à la paraffine et préparées selon les techniques histologiques usuelles dans mon service. J'ai étudié moi-même chaque prélèvement. Je précise que les contrôles histologiques ont été faits et refaits par moi-même à plusieurs reprises et toujours dans l'ignorance du type de tabac ayant servi à produire les goudrons. Ce n'est que lorsque les chiffres ont été pour moi définitifs que je les ai ordonnés selon la clef du laboratoire de Monsieur *Matthey*. En cours d'expérience, un personnel qualifié – et toujours le même – a noté l'apparition des papillomes et des cancers évidents.

Les animaux ont été distribués de la façon suivante : cinq lots de 40 souris répartis chacun en deux cages de 20 animaux, soit un lot de témoins qui n'ont été badigeonnés qu'avec le solvant (benzène) et quatre lots respectivement lot J, lot E, lot A, lot N. L'expérience a débuté le 23 juin 1958 et a duré jusqu'au 11 juillet 1960, soit 750 jours. Les animaux qui ont vécu jusqu'à cette date ont donc reçu autour de 200 applications de goudron.

Au 93e badigeonnage une moitié du lot J et une moitié du lot E ont été par erreur mélangées. Sans savoir que ces lots étaient soumis au goudron de tabac d'Orient traité et non traité, on a décidé de les conserver en un lot dorénavant dénommé J + E et de continuer les badigeonnages avec le seul goudron E. De ce fait les lots J + E ont été ramenés à 20 animaux chacun. Pour ne pas compliquer les choses je ferai dans la suite abstraction du lot J + E.

Le tableau 2 donne une idée des badigeonnages.

Tableau 2: Nombre de badigeonnages dans l'étude du pouvoir cancérigène.

| Lot | Date | Nombre de badigeonnages | Animaux survivants |
|--------|-----------------|-------------------------|--------------------|
| J | 11 juillet 1960 | 206 | 1 |
| E | 11 juillet 1960 | 206 | 1 |
| A | 13 juin 1960 | 198 | 0 |
| N | 5 mai 1960 | 186 | 0 |
| Témoin | 11 juillet 1960 | 206 | 1 |

Qu'on ne m'en veuille pas si j'insiste sur tous ces détails de technique. Je crois qu'ils sont nécessaires, car les résultats que nous avons obtenus seront certainement discutés. Aussi faut-il que nos expériences puissent être répétées par d'autres et exécutées exactement de la même façon.

Voyons maintenant ces résultats. Du point de vue histologique les lésions de la peau peuvent être classées en épilation, hyperkératose, hyperplasie épithéliale et cancers. Afin de ne pas compliquer l'interprétation des résultats finals, j'ai groupé tous les échantillons que j'ai contrôlés sous le microscope de la façon suivante:

- a) Peau sans lésions;
- b) kératose, hyperplasie épithéliale et papillomes;
- c) cancers cutanés débutants ou avancés;
- d) cancers spontanés.

La dernière catégorie, celle des cancers spontanés, doit être en effet séparée des cancers provoqués. L'élevage d'où sont issues les souris en expérience est pauvre en tumeurs spontanées et celles-ci surviennent pratiquement toujours dans la glande mammaire. J'en ai vu quelques rares exemplaires sur les coupes que j'ai examinées. Leur nombre peut être considéré comme correspondant à ce que l'élevage donne depuis longtemps. Ces cancers ont été éliminés de la statistique finale car, à mon sens, ils ne relèvent pas de l'action de l'un ou l'autre des goudrons.

En cours d'expérience quelques animaux ont été perdus; d'autres sont morts trop tôt; quelques-uns enfin étaient, au moment où leur mort a été constatée, en trop mauvais état pour permettre une analyse histologique. Ils ont donc été simplement éliminés.

Le tableau 3 résume les observations faites.

Tableau 3: L'effet cancérigène de quatre extraits de tabac.

| Lot | Animaux examinés histologiquement | Pas de lésions | Kératose Papillomes | Cancers cutanés | Cancers spontanés |
|--------|-----------------------------------|----------------|---------------------|------------------|-------------------|
| J | 21 | 4 | 13 | 4 | - |
| E | 17 | - | 10 | 7 | - |
| | | | | dont 3 débutants | |
| A | 34 | 3 | 25 | 4 | 2 |
| N | 39 | - | 30 | 9 | - |
| | | | | dont 2 au début | |
| Témoin | 31 | 8 | 21 | 1 au début | 1 |

Si maintenant nous rapportons chaque lot au type de tabac employé nous obtenons les données consignées au tableau 4.

Tableau 4: La réduction de l'effet cancérigène des tabacs traités par rapport aux tabacs non traités (R% = réduction en % des tumeurs, consécutives au traitement du tabac).

| Type de tabac | Nombre d'animaux | Tumeur | % | R% |
|--|------------------|--------|------|------|
| Tabac Orient non traité | 17 | 7 | 41,1 | 53,8 |
| Tabac Orient traité | 21 | 4 | 19,0 | |
| Tabac Américain non traité | 39 | 9 | 23,0 | 49,2 |
| Tabac Américain traité | 34 | 4 | 11,7 | |
| Témoins badigeonnés au benzène | 31 | 1 | 3,2 | |

Les chiffres montrent que, dans les conditions expérimentales dans lesquelles les animaux se sont trouvés, le goudron provenant d'un tabac traité a donné environ la moitié moins de tumeur que celui d'un tabac non traité. Et ceci est sensiblement identique pour les deux types de tabacs analysés. On fera peut-être remarquer que les chiffres dont je fais état sont faibles et que le petit nombre de cancers provoqués est insuffisant pour permettre une conclusion tant soit peu appréciable. Je pense que cette objection est sans valeur, car les chiffres obtenus sont statistiquement valables.

D'ailleurs, avec un goudron de tabac, il ne faut pas s'attendre à obtenir autant de cancers qu'avec un goudron de houille. Au Centre anti-cancéreux

romand, ce dernier cancérise depuis des années environ 70% des animaux. Celui de tabac est en général sensiblement moins cancérogène. Ainsi Wynder a obtenu 24% de cancers avec une souche Swiss et 29% avec une souche CAF₁.

Si les chiffres obtenus dans la présente expérience sont plus forts que les siens, au moins pour le lot E (non traité), c'est sans doute parce que l'expérience a été poursuivie pendant plus de deux ans.

Un goudron donné cancérise vite ou plus lentement. Il était donc intéressant de rechercher s'il y avait une éventuelle différence entre nos divers échantillons quant à l'apparition du premier cancer, c'est-à-dire si le temps de latence était allongé pour les tabacs traités ou non. Le tableau 5 répond à cette question.

Tableau 5: Temps de latence de l'apparition des papillomes et des cancers (P% = prolongation du temps de latence en %).

| Type de tabac | Apparition du 1er | | Différence | P % |
|--------------------------------------|-------------------|-------------|------------|------|
| | papillome | cancer | | |
| Tabac Orient non traité | 61 semaines | 63 semaines | 22 | 34,9 |
| Tabac Orient traité | 61 semaines | 85 semaines | | |
| Tabac Américain non traité | 55 semaines | 55 semaines | 15 | 27,5 |
| Tabac Américain traité | 58 semaines | 70 semaines | | |

Si donc il n'y a pratiquement pas de différence pour les papillomes, il y en a – et elle est significative – pour les cancers, 22 semaines pour le tabac d'Orient et 15 semaines pour le tabac Américain.

Sur ce point aussi le traitement du tabac a une influence freinatrice ou retardatrice si l'on veut.

Les essais ont mis encore en évidence la plus grande toxicité du goudron provenant du tabac Américain. Les derniers animaux des lots A et N sont morts respectivement 8 et 20 semaines plus tôt que ceux du tabac d'Orient.

Remarquons enfin – et ceci est une constatation accessoire qui ne manque pas d'intérêt – que le benzène à lui seul a provoqué un cancer cutané, un seul il est vrai et encore débutant au moment de la mort de l'animal, soit au 650e jour depuis le début du badigeonnage. Le faible pourcentage que ce seul cas représente (3,2%), ne saurait modifier les conclusions auxquelles m'amènent les résultats obtenus.

Ces conclusions sont formelles.

a) Les goudrons de fumée de tabac de cigarettes (Orient et Américain) préextraits par le tétrachlorure de carbone se sont montrés moins cancérogènes que ceux qui proviennent des mêmes tabacs non traités.

b) Le traitement réduit de 53,8% le nombre des cancers provoqués par le goudron de fumée du tabac d'Orient; la réduction est de 49,2% pour le tabac Américain.

c) Le traitement prolonge de 34,9% le temps nécessaire à l'apparition du premier cancer avec le tabac d'Orient; la prolongation est de 27,2% avec le tabac Américain.

d) Le goudron de tabac Américain, s'il n'a pas donné un pourcentage de cancers plus élevé que celui d'Orient, n'en a pas moins manifesté une toxicité plus grande. Les dernières souris sont mortes 8 et 20 semaines plus tôt que les derniers animaux des lots Orient. Ce fait vient corroborer les résultats obtenus dans l'étude de la toxicité aiguë.

Nos résultats et ce que nous en avons tiré valent, il va bien sans dire, pour les expériences telles qu'elles ont été conduites. Je ne saurais sans autre les généraliser. Pourtant, comme il semble bien certain que l'aspiration de la fumée de cigarettes dans les voies respiratoires soit à l'origine de certains cancers pulmonaires de l'homme, on est en droit de postuler que la diminution des substances cancérigènes dans la fumée entraînera automatiquement une réduction de leur nombre. Point ne serait besoin d'ailleurs qu'une fumée fut absolument exempte de cancérigènes. Il suffirait que leur quantité soit réduite assez pour que l'action cancérigène soit retardée peut-être d'une ou deux décennies et pour que socialement on soit en droit de parler d'un réel progrès. Reste à savoir cependant si les épithéliums bronchiques de l'homme se comportent vis-à-vis des goudrons comme l'épiderme de la souris. Le seul moyen de s'en assurer est de tenter une expérience de grand style et de longue durée: mettre sur le marché des cigarettes dont le tabac a été traité, c'est-à-dire soumis à extraction par un solvant approprié; les faire accepter par la majorité des fumeurs et voir dans 10, 20 ou 30 ans si la courbe de fréquence du cancer pulmonaire accuse un fléchissement statistiquement valable. C'est bien long, dira-t-on. Sans doute; mais, si entre temps on ne trouve pas de procédé prophylactique meilleur et si le résultat est favorable, le jeu aura grandement valu la peine d'être joué.

Résumé

La toxicité aiguë et le pouvoir cancérigène du goudron de la fumée de tabacs pré-extraits par CCl_4 (Maryland, Orient, Anglais, Américain) sont étudiés sur la souris blanche. La préextraction diminue en moyenne de 20% la dose léthale 50% calculée en fonction de la teneur en nicotine et en goudrons totaux avec un maximum de 33% pour un tabac Maryland et un minimum de 7% pour un tabac Orient. Le pouvoir cancérigène est réduit de 53,8% pour un tabac Orient et de 49,2% pour un tabac Américain. La préextraction prolonge de 34,9% le temps nécessaire à l'apparition du premier cancer avec le tabac Orient; la prolongation est de 27,2% avec le tabac Américain.

Zusammenfassung

Die akute Toxizität und die cancerogene Wirkung des Teers vom Rauch von mit CCl_4 behandelten Tabaken (Maryland, Orient, Englisch, «American Blend») wurden an der weißen Maus untersucht. Die Behandlung vermindert die LD_{50} in Funktion des Nikotin- und Teergehaltes um durchschnittlich 20%, mit einem Maximum von 33% für den Marylandtabak und einem Minimum von 7% für den Orienttabak. Die cancerogene Wirkung sank bei einem Orienttabak um 53,8% und bei einem «American Blend»-Tabak um 49,2%. Die Behandlung verlängert die notwendige Zeit zur Krebserzeugung beim Orienttabak um 34,9% und beim «American Blend»-Tabak um 27,2%.

Wir haben für Sie gelesen — Nous avons lu pour vous

The Epidemiology of Cigarette Smoking in Rural School Children. *Bothwell P.W.* Med. Officer 102, 125 (1959). (ref. in Bull. Hyg. (Lond.) 35, 5 (1960).

Durch Fragebogen wurden die Rauchergewohnheiten von 8314 Schulkindern einer ländlichen Gegend untersucht. Der Anteil der Raucher von mindestens einer Zigarette pro Woche stieg zwischen 11 und 15 Jahren bei Knaben von 16% auf 39%, bei Mädchen von 2% auf 16% an. Der Wochendurchschnitt bei 15jährigen Rauchern betrug bei Knaben 18 Zigaretten, bei Mädchen 6 Zigaretten. Mehr als die Hälfte der Knaben gaben an, daß sie ihre Rauchware von Tabakläden oder Automaten her hätten, während die Mädchen sie meist «von Freunden» erhalten hatten. Etwa ein Drittel der Knaben und Mädchen rauchten im Kino, nicht viel weniger aber zu Hause. Wie in anderen Untersuchungen wußten etwa die Hälfte der Eltern, daß ihre Kinder rauchten. Es hatte auf die Rauchergewohnheiten der Kinder keinen Einfluß, ob der Vater rauchte oder nicht. In Familien aber, in denen die Mutter rauchte, rauchten auch die Kinder viel eher. 81% der jungen Nichtraucher und 61% der Raucher wußten, daß das Rauchen gesundheitsschädigend wirkt. Schließlich wurden die Kinder gefragt, warum sie zu Rauchen angefangen hätten. Als wichtigste Gründe wurden genannt: sie hätten es aus Neugierde versucht, die Zigaretten seien ihnen angeboten worden und (seltener) «um zu sein wie die andern».

Th. Abelin, Zürich

Smoking Habits of Young Soldiers. *Richards, H.J.A. u. Crowdy, J.P.* Brit. J. prev. soc. Med. 15, 84 (1961).

4381 Schüler einer militärischen Ausbildungsstätte für angehende Berufssoldaten und Lehrlinge wurden durch Fragebogen über ihre Rauchergewohnheiten befragt.

Zu Beginn der Dienstzeit mit 15 Jahren entsprachen die Rauchergewohnheiten denjenigen gleich alter Schüler in anderen Erhebungen, indem 50% der Befragten regelmäßig rauchten. Der Anteil der Raucher stieg dann an, um sich im Alter von 18 Jahren mit 81% Rauchern von über 40 Zigaretten pro Woche den Verhältnissen bei Erwachsenen anzugleichen. Die stärkste Zunahme erfolgte im 17. Altersjahr. In diesem Alter nahm auch der einzelne Raucher die Gewohnheiten des Erwachsenen an, indem es zum Beispiel kaum noch Raucher gab, die einen wöchentlichen Konsum von unter zehn Zigaretten aufwiesen.

Ein Vergleich mit Angaben der Tabakindustrie zeigt, daß in der Armee bedeutend mehr Raucher sind als bei gleichaltrigen Leuten im Zivilleben.

Als praktische Folgerung wird empfohlen, mit einer das Rauchen betreffenden Gesundheitserziehung bei 13jährigen zu beginnen und sie bis zum Alter von 18 Jahren weiterzuführen. Die Hauptanstrengung muß bei den 15- und 16jährigen unternommen werden.

Th. Abelin, Zürich