

20

Toxicocinétique et métabolisme

La toxicocinétique inclut les phénomènes d'absorption, de distribution tissulaire, de métabolisme et d'excrétion des xénobiotiques. Elle permet de déterminer la quantité de substance toxique susceptible d'atteindre sa cible et de préciser sous quelle forme (composé initial ou métabolites) elle y parvient. La toxicodynamie examine plus particulièrement l'interaction du xénobiotique avec sa cible et l'effet toxique que cela produit. L'effet toxique sera d'autant plus important que la forme toxique d'un xénobiotique est capable d'atteindre la cible et que cette dernière est sensible à l'agent exogène. De ce fait, la toxicocinétique est un élément critique de la caractérisation du danger d'une substance chimique.

Pour comprendre le mécanisme d'action des xénobiotiques, il est nécessaire de tenir compte des voies de métabolisme et de détoxification, qui paradoxalement peuvent conduire à des intermédiaires métabolites très toxiques. La toxicité d'un composé sera donc dépendante de son mode d'absorption, mais également de son métabolisme.

Absorption et distribution

Selon les propriétés physicochimiques (masse moléculaire, degré d'ionisation, réactivité, solubilité) et les sources d'exposition, les xénobiotiques peuvent être absorbés de différentes façons (voie cutanée, orale, pulmonaire...) et distribués dans différents tissus de manière active ou passive. Des différences existent selon la nature de la barrière à franchir (peau, poumon, paroi intestinale...) et la taille des molécules, les petites molécules pouvant franchir une ou plusieurs membranes de manière passive. Les substances lipophiles peuvent plus facilement traverser une membrane dont les constituants sont des lipides alors que les substances ionisées seront arrêtées sauf au niveau des pores membranaires pour les plus petites molécules. La membrane des cellules constitue ainsi une barrière efficace protégeant les cellules contre des xénobiotiques hydrosolubles. À l'inverse, les molécules hydrophobes peuvent s'accumuler et atteindre un seuil de toxicité. La relation entre la dose externe et la dose interne dépend essentiellement du niveau d'absorption, lui-même affecté par le caractère lipophile de la substance ou encore de l'efficacité des systèmes

de pompes à efflux. En effet, au cours de leur évolution, les organismes ont développé des systèmes limitant l'accumulation des xénobiotiques : il s'agit en particulier de transporteurs membranaires permettant une sortie rapide des molécules indésirables et également des systèmes de détoxication.

La distribution tissulaire est le processus par lequel une substance absorbée (ou ses métabolites, voir paragraphe suivant) se répartissent dans les différents organes et tissus. Comme pour l'absorption, les mécanismes de diffusion dépendent en premier lieu des propriétés physico-chimiques des substances.

Notons que si le composé est absorbé par voie orale, il passera directement dans le foie par le système porte et sera alors distribué dans tout l'organisme (premier passage hépatique) ; s'il est inhalé (voie pulmonaire), il sera distribué dans l'organisme avant d'avoir atteint le foie.

L'élimination des substances non ionisées lipophiles (qui sont facilement absorbées et distribuées) implique l'intervention des systèmes de détoxication pour être rendues hydrosolubles et ainsi excrétées par les voies biliaire et urinaire. Ce processus de métabolisme et d'excrétion des xénobiotiques implique de nombreux systèmes enzymatiques. Il est classiquement séparé en deux phases. Au cours de la première, le xénobiotique lipophile est oxydé, réduit ou hydrolysé puis il est, au cours de la deuxième phase, conjugué à un groupement sulfate ou acétate au glutathion ou à un acide aminé.

Métabolisme des xénobiotiques

Lorsqu'un xénobiotique pénètre dans une cellule, il est rapidement pris en charge par des transporteurs membranaires, des pompes d'efflux qui vont l'exporter directement à l'extérieur de la cellule, ou par les enzymes du métabolisme des xénobiotiques (EMX) (figure 20.1).

Les EMX vont quant à elles généralement modifier le composé de façon à le rendre moins actif et exportable hors de la cellule. Ces enzymes du métabolisme des xénobiotiques représentent un système complexe essentiel à la protection de l'organisme. Possédant un rôle clé dans le métabolisme et l'élimination de composés potentiellement toxiques, toute altération de leur régulation, expression et/ou de leur activité peut engendrer des conséquences néfastes à l'échelle de l'organisme.

La première étape ou phase de fonctionnalisation met en jeu souvent les cytochromes P450 (CYPs), notamment ceux appartenant aux familles 1, 2 et 3 (Guengerich, 2008). Cette phase I consiste en une activation métabolique qui conduit à la formation d'intermédiaires électrophiles hautement réactifs qui seront alors pris en charge par les enzymes de la phase II (enzymes de conjugaison ou transférases comme la glutathion-S- ou glucuro-transférase),

capables de greffer des résidus hydrophiles et de les transformer en composé inactif facilement excrété par la cellule.

Cette excrétion des xénobiotiques à l'extérieur de la cellule, implique des protéines de transport ou d'efflux de phase III (P-glycoprotéine et les *Multidrug Resistance-associated Proteins*-MRP).

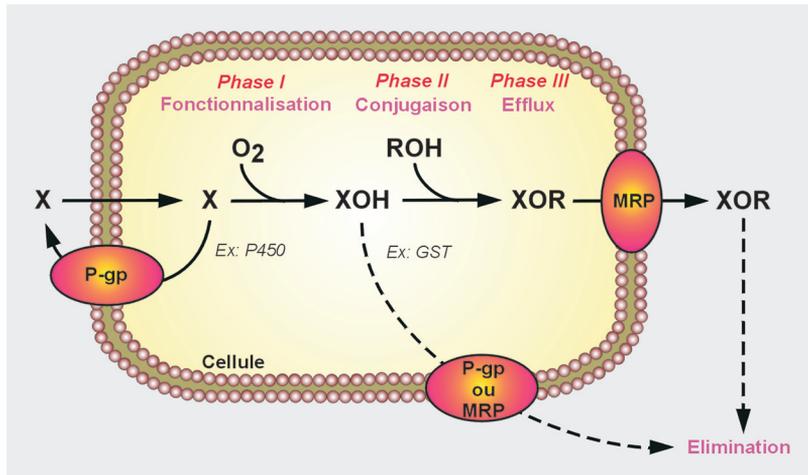


Figure 20.1 : Métabolisme des xénobiotiques

MRP : *Multidrug Resistance-associated Proteins* ; P-gp : P-glycoprotéine

Régulation du métabolisme des xénobiotiques

La régulation des EMX, et plus particulièrement celle des CYPs constitue un paramètre capital de l'élimination et de l'innocuité des molécules chimiques formées après métabolisation des xénobiotiques. L'expression de ces enzymes membranaires localisées dans le réticulum endoplasmique est inductible. Elle dépend généralement de la liaison des composés à des récepteurs et constitue la première étape nécessaire à l'adaptabilité de la cellule, entraînant la transcription des enzymes de phase I et de II, ainsi que des transporteurs de la phase III. L'induction, activation ou inhibition des différentes formes de CYP peut se traduire par une modification des taux de synthèse des hormones lorsqu'elles sont prises en charge par ces enzymes. Par exemple, l'atrazine est un inducteur du CYP2C19 (aromatase) favorisant une surproduction d'œstrogène et entraînant des effets féminisants (Holloway et coll., 2008). Par des effets anti-aromatase, d'autres pesticides (propiconazole, kétoconazole, tributylétain, organochlorés) perturbent la fonction androgénique.

Il existe un polymorphisme génétique important pour plusieurs CYP, en particulier les formes 2C9, 2C19 et 2D6, conduisant à des niveaux d'expression

enzymatiques très différents selon les individus (Guengerich, 2008). Ce polymorphisme se traduit par des différences interindividuelles de susceptibilité à l'action des toxiques (Hatagima, 2002).

Les enzymes de phase II peuvent être également induites ou inhibées par des xénobiotiques mais dans une moindre mesure que les cytochromes P450.

Fixation aux différents récepteurs

Il faut distinguer un premier ensemble de récepteurs ayant pour fonction l'adaptation de l'organisme à l'afflux de xénobiotiques et dont l'activation est responsable de l'induction des systèmes enzymatiques d'élimination des xénobiotiques et un deuxième ensemble qui regroupe des récepteurs des composés endogènes comme les récepteurs hormonaux qui sont néanmoins susceptibles d'être modulés par des polluants comme les pesticides (figure 20.2).

Les récepteurs des xénobiotiques comprennent le AhR ou *Aryl hydrocarbon Receptor* (récepteur pour dioxine, hydrocarbures aromatiques) ; le PXR ou *Pregnane X Receptor* (récepteur pour pesticides, médicaments...) ; le CAR ou *Constitutive Androstane Receptor*. La fixation de xénobiotiques sur leurs récepteurs (PXR, CAR, AhR) déclenche la transduction d'un signal permettant l'induction d'enzymes et de transporteurs nécessaires à leur élimination, mais cette signalisation met également en jeu tous les processus nécessaires à l'adaptation d'une cellule face au stress. Dans ce sens, les récepteurs aux xénobiotiques sont considérés comme des xénosenseurs car ils permettent de coordonner une réponse cellulaire adaptée. Parmi les xénosenseurs, le PXR constitue un acteur clé des systèmes adaptatifs. En effet, il est activé par un grand nombre de molécules structurellement et fonctionnellement variées. Cette spécificité très large vis-à-vis des xénobiotiques caractérise les fonctions de xénosenseur du PXR (Kliwer et coll., 2002). Il coordonne les processus de défense au niveau hépatocytaire en co-régulant les mécanismes de détoxification, permettant la transcription de gènes codant pour des EMX (CYP3A4, CYP2B6, GST, MDR...) et les voies de survie et de mort cellulaire.

Les xénobiotiques peuvent également se fixer sur des récepteurs dont les fonctions physiologiques sont connues tels que le récepteur aux œstrogènes (ER), le récepteur aux androgènes (AR), le récepteur aux rétinoïdes (RAR), les récepteurs activés par les proliférateurs de peroxyosomes (PPAR) et le récepteur T3R aux hormones thyroïdiennes. Il s'agit là d'une activation illégitime de ces récepteurs conduisant à une perturbation endocrinienne ou métabolique. Certains cancérigènes non-génotoxiques sont des perturbateurs endocriniens car ils se lient directement aux récepteurs ER (*Estrogen Receptor*), à celui de la progestérone, au récepteur AhR ou encore au récepteur de l'hormone thyroïdienne.

En tant que xéno-œstrogènes, plusieurs pesticides sont considérés comme des perturbateurs endocriniens. Dans cette catégorie, on trouve des fongicides (alachlore, atrazine, bénomyl, vinclozoline...), des insecticides (DDT, métoxychlore, chlordécone, dieldrine, endosulfan, chlordane, toxaphène...). Ils sont actifs par eux-mêmes ou par leurs métabolites (Sonnenschein et Soto, 1998). Certains sont capables d'activer les deux types de récepteurs aux œstrogènes, ER alpha et ER bêta. L'endosulfan, l'alachlore et la chlodécone sont des ligands compétitifs du récepteur de la progestérone. Des fongicides (vinclozoline), des herbicides (linuron...), des insecticides (p'p'DDE métabolite du DDT, pyréthrinoïdes comme la perméthrine...) sont des antagonistes des androgènes (Curtis, 2001). Cependant, la plupart des substances présentent des effets variés sur d'autres hormones (cortisol, thyroxine, insuline...).

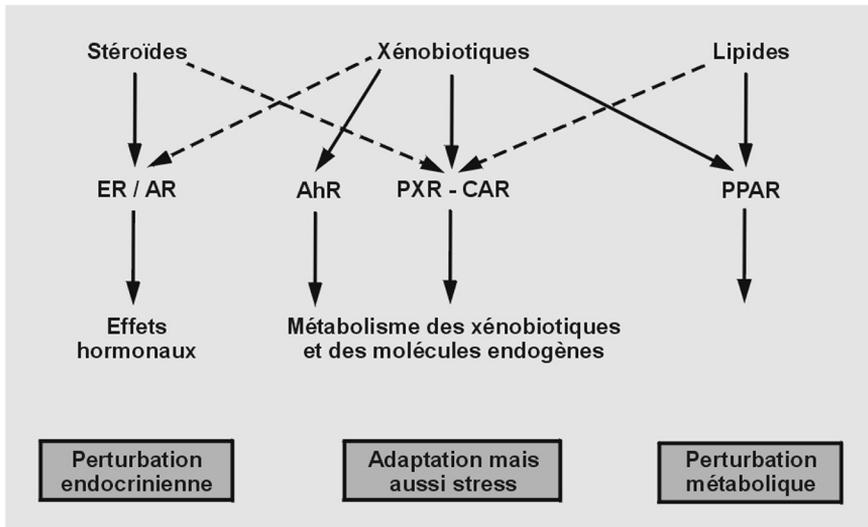


Figure 20.2 : Différents types de récepteurs des xénobiotiques

Par ailleurs, les xénobiotiques peuvent induire l'expression d'un grand nombre de gènes qui ne sont pas impliqués dans leur élimination. Il est essentiel de déterminer le rôle de ces gènes dans la toxicité des xénobiotiques (Bui et coll., 2009 ; Tomkiewicz et coll., 2012).

Mécanismes généraux de la toxicité

Ces mécanismes sont sans doute multiples. Certains sont liés aux mécanismes adaptatifs. Ainsi, la formation de métabolites intermédiaires réactifs par les enzymes de phase I est nécessaire pour l'activité des enzymes de phase II. Mais ces mêmes métabolites peuvent aussi réagir avec des macromolécules

cellulaires, notamment l'ADN et former des adduits, ce qui rend compte de leur toxicité, et plus précisément de leur génotoxicité. Des études menées à l'aide de modèles animaux « *knock-out* » (KO) ont montré que la fonction de détoxification (élimination des xénobiotiques) semblait prépondérante sur celle de bioactivation (production de composés réactifs). Ainsi, des souris CYP1 KO sont plus sensibles à certains génotoxiques que des modèles sauvages. Bien que ces études ne se focalisent pas sur des pesticides, elles peuvent être utilisées comme référence pour appuyer le rôle essentiel des EMX dans les processus de détoxification qui impliqueraient potentiellement des pesticides.

L'activité de certains cytochromes P450 peut conduire à la production de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) qui jouent en fonction de leur concentration, soit un rôle dans l'activation de certaines voies de transduction, soit un effet toxique (adduits à des macromolécules) pour la cellule : c'est le cas par exemple des cytochromes P450 CYP1A1 et CYP2E1 qui sont particulièrement impliqués dans le métabolisme d'agents découplants⁵⁹ favorisant la production de ces DRO (Morel et Barouki, 1998 ; Morel et coll., 1999 ; Marchand et coll., 2004).

D'autres mécanismes de toxicité peuvent être liés au groupe de gènes induits par les récepteurs des xénobiotiques, qui dépasse largement celui des gènes impliqués dans leur métabolisme conduisant à leur élimination. C'est le cas du récepteur de la dioxine (AhR) pour lequel de nouvelles cibles géniques ont été mises en évidence (Marchand et coll., 2005). Outre le métabolisme, les récepteurs nucléaires sont au cœur de la régulation de nombreux réseaux de gènes impliqués dans la prolifération, la différenciation cellulaire, le développement et l'homéostasie (Gronemeyer et coll., 2004). Leur dysfonctionnement peut conduire à diverses pathologies (cancers hormono-dépendants, diabète, obésité, stérilité...).

Enfin, les mécanismes de toxicité peuvent dépendre de la nature et des fonctions de chaque tissu. Le tissu adipeux stocke une grande quantité de xénobiotiques hydrophobes et les implications de cette fonction ne sont sans doute pas suffisamment appréciées. De même les effets des xénobiotiques et de leurs métabolites sur le développement et le fonctionnement du système nerveux ainsi que sur la barrière hémato-encéphalique ne sont pas assez connus.

Stress d'exposition aux xénobiotiques / stress cellulaires

Les pesticides peuvent présenter un risque de toxicité soit en raison de leurs propriétés physico-chimiques (hydrophobicité comme pour les organochlorés, qui entraîne une accumulation et une difficulté d'élimination) soit en raison de leur réactivité chimique. L'exposition aux xénobiotiques en général provoque une

réponse cellulaire adaptative désignée sous le terme de « stress d'exposition aux xénobiotiques ». Cette réponse fait partie d'un ensemble de réactions adaptatives cellulaires, ou stress cellulaires, permettant la survie de la cellule. On distingue ainsi les stress oxydant, hypoxique, conformationnel, mécanique, inflammatoire... Chaque stress comporte deux composantes essentielles : la première permet la détection de l'état de carence ou de l'agression, alors que la deuxième permet la mise en œuvre effective de l'adaptation. Ainsi, l'hypoxie, en stabilisant les protéines HIF (*Hypoxia Inducible Factor*, détecteur de l'état d'hypoxie), induit des facteurs angiogéniques et vasodilatateurs (adaptation). En ce qui concerne le stress oxydant, l'activité de nombreux facteurs transcriptionnels est modifiée par le déséquilibre d'oxydo-réduction (Morel et Barouki, 1999 ; Morel et coll., 1999 et 2000). De même, le stress du réticulum endoplasmique qui résulte de l'accumulation de protéines malformées dans cet organite, provoque l'activation d'au moins trois voies de signalisation conduisant à l'induction de gènes de protéines chaperons, de protéines impliquées dans la dégradation des protéines mal conformées et de protéines impliquées dans l'apoptose ou mort cellulaire programmée (Garlatti et Barouki, 2002 ; Marchand et coll., 2006).

Il est important de noter que cette réaction de survie comporte aussi un potentiel toxique surtout lorsqu'elle est intense ou lorsqu'elle est mise en jeu de manière chronique. Cette situation apparemment paradoxale est néanmoins importante pour la compréhension de nombreux phénomènes pathologiques. Ainsi, si la réponse à l'hypoxie joue un rôle favorable au cours du développement ou lors de pathologies vasculaires, elle est aussi impliquée dans le développement des tumeurs et de leur vascularisation.

BIBLIOGRAPHIE

BUI LC, TOMKIEWICZ C, CHEVALLIER A, PIERRE S, BATS AS, et coll. Nedd9/Hef1/Cas-Lmediates the effects of environmental pollutants on cell migration and plasticity. *Oncogene* 2009, **28** : 3642-3651

BUTERS JT, DOEHMER J, GONZALEZ FJ. Cytochrome P450-null mice. *Drug Metab Rev* 1999, **31** : 437-447

CURTIS LR. Organophosphate antagonism of the androgen receptor. *Toxicol Sci* 2001, **60** : 1-2

GARLATTI M, BAROUKI R Le stress du réticulum endoplasmique: adaptation et toxicité. *Med Sci* 2002, **18** : 585-594

GRONEMEYER H, GUSTAFSSON JA, LAUDET V. Principles for modulation of the nuclear receptor superfamily. *Nat Rev Drug Discov* 2004, **3** : 950-964

GUENGERICH FP. Cytochrome P450 and chemical toxicology. *Chem Res Toxicol* 2008, **21** : 70-83

- HATAGIMA A. Genetic polymorphisms and metabolism of endocrine disruptors in cancer susceptibility. *Cad Saúde Pública* 2002, **18** : 357-377
- HOLLOWAY AC, ANGER DA, CRANKSHAW DJ, WU M, FOSTER WG. Atrazine-induced changes in aromatase activity in estrogen sensitive target tissues. *J Appl Toxicol* 2008, **28** : 260-270
- KLIEWER SA, GOODWIN B, WILLSON TM. The nuclear pregnane X receptor: a key regulator of xenobiotic metabolism. *Endocr Rev* 2002, **23** : 687-702
- MARCHAND A, BAROUKI R, GARLATTI M. Regulation of NAD(P)H : quinone oxidoreductase 1 gene expression by CYP1A1 activity. *Mol Pharmacol* 2004, **65** : 1029-1037
- MARCHAND A, TOMKIEWICZ C, MARCHANDEAU JP, BOITIER E, BAROUKI R, GARLATTI M. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin induces insulin-like growth factor binding protein-1 gene expression and counteracts the negative effect of insulin. *Mol Pharmacol* 2005, **67** : 444-452
- MARCHAND A, TOMKIEWICZ C, MAGNE L, BAROUKI R, GARLATTI M. Endoplasmic reticulum stress induction of insulin-like growth factor-binding protein-1 involves ATF4. *J Biol Chem* 2006, **281** : 19124-19133
- MOREL Y, BAROUKI R. Down-regulation of cytochrome P450 1A1 gene promoter by oxidative stress. Critical contribution of nuclear factor 1. *J Biol Chem* 1998, **273** : 26969-26976
- MOREL Y, BAROUKI R. Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J* 1999, **342** : 481-496
- MOREL Y, MERMOD N, BAROUKI R. An autoregulatory loop controlling CYP1A1 gene expression: role of H(2)O(2) and NF1. *Mol Cell Biol* 1999, **19** : 6825-6832
- MOREL Y, COUMOUL X, NALPAS A, BAROUKI R. Nuclear factor I/CCAAT box transcription factor trans-activating domain is a negative sensor of cellular stress. *Mol Pharmacol* 2000, **58** : 1239-1246
- SONNENSCHN C, SOTO AM. An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1998, **65** : 143-150
- TOMKIEWICZ C, HERRY L, BUI LC, MÉTAYER C, BOURDELOUX M, et coll. The aryl hydrocarbon receptor regulates focal adhesion sites through a non-genomic FAK/Src pathway. *Oncogene* 2012 Jun 4, (*Epub ahead of print*)