

### Chapitre 3 : TOXICODYNAMIQUE D'UN XENOBIOTIQUE

La phase toxicodynamique comporte d'une part les mécanismes impliqués dans l'interaction entre les agents toxiques et leur site moléculaire d'action, et d'autre part, les effets toxiques observés. Les molécules toxiques ainsi que les substances électrophiles ou radicalaires formées au cours des réactions de détoxification et ayant échappé à l'action des mécanismes d'excrétion forment l'ensemble des molécules toxicodisponibles qui vont agir sur les récepteurs endogènes. La toxicité de ces molécules (nature et intensité des effets) est fonction de leur concentration au niveau de leurs récepteurs endogènes. Cette concentration locale définit la toxicodisponibilité.

Le plus souvent, la cible finale d'un xénobiotique toxique sera la cellule, ou, plus précisément, certains de ses constituants vitaux, parmi lesquels les plus exposés seront les protéines, (macromolécules contenant de l'azote et souvent du soufre) les phospholipides insaturés, (graisses complexes renfermant du phosphore sous forme de phosphate et qui constituent par exemple les biomembranes délimitant les cellules) et les acides nucléiques (macromolécules très élaborées contenant de l'azote et du phosphore sous forme de phosphates et qui sont de 2 types l'ADN et les ARN).

#### 1- Action d'un TOXIQUE

D'un point de vue très général, la plupart des composés xénobiotiques seront doués d'activité toxique, s'ils sont capables d'interagir avec les constituants vitaux de l'organisme et ainsi de les modifier (protéines, phospholipides, ADN,...). Si le **xénobiotique parvient jusqu'à sa cible** et s'il présente une réactivité chimique suffisante, l'**interaction** se fera directement. C'est le cas **des toxiques directs** dont beaucoup sont très dangereux, comme par exemple le formaldéhyde, rencontré en général sous forme de formol (solution aqueuse) comme désinfectant.

Les **toxiques indirects ou protoxiques**, qui n'entraînent **pas d'effets néfastes** en tant que tels, deviendront toxiques durant « leur prise en charge par les systèmes enzymatiques de métabolisation ». Ces derniers, comme cela a été décrit précédemment, transformeront le xénobiotique lipophile en métabolites hydrosolubles éliminables par les reins. Mais c'est au cours de cette métabolisation, en particulier lors de la première étape dite de fonctionnalisation correspondant le plus souvent à une oxydation (utilisant l'O<sub>2</sub>), que se formeront une ou plusieurs structures réactives (intermédiaires ou métabolites réactifs).

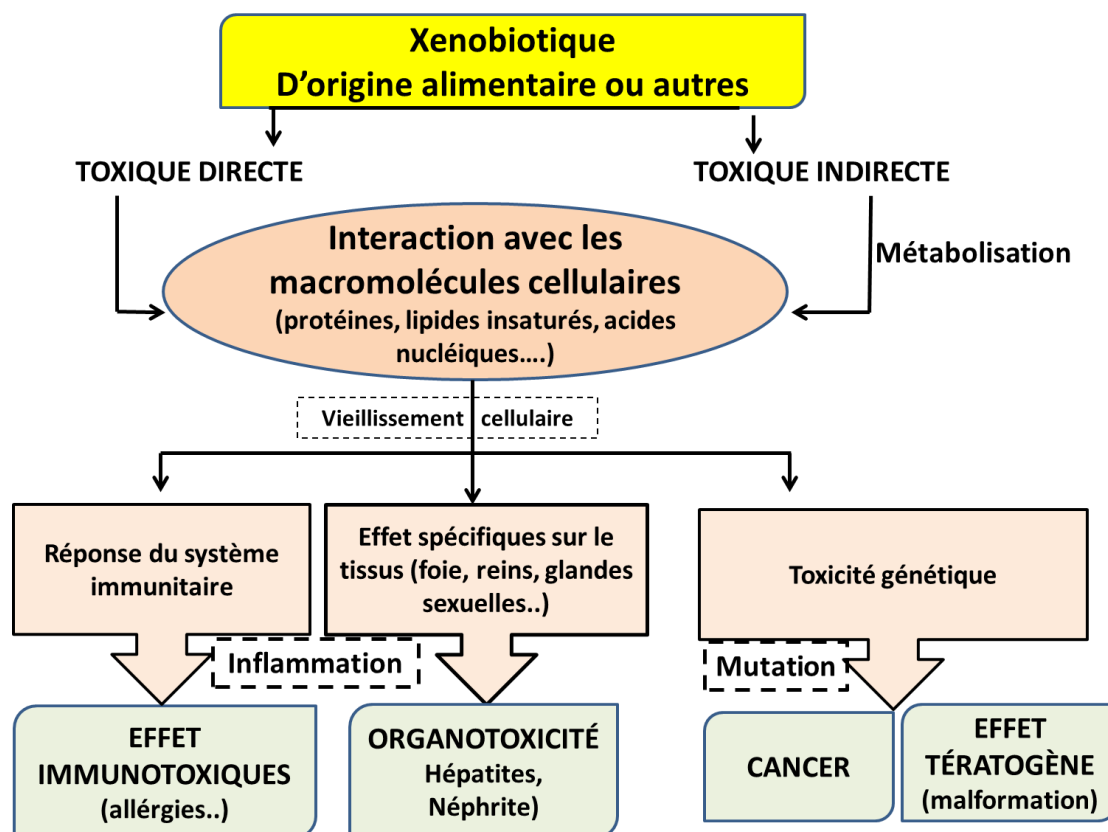
Si les structures réactives formées lors de la métabolisation ne sont pas immédiatement neutralisées par les systèmes de défense de l'organisme (molécules soufrées comme le glutathion, mais aussi vitamines C, E et bien entendu les enzymes de défense), elles vont attaquer les macromolécules cellulaires essentielles (protéines, lipides insaturés, acides nucléiques) qui ne pourront plus exercer leurs fonctions normales. Ainsi va apparaître un processus toxique qui, selon la ou les cibles biologiques touchées pourra aller d'une simple destruction cellulaire (nécrose) à une atteinte des systèmes de défense immunitaire (effets immunotoxiques comme par exemple une allergie) ou plus grave à des transformations du patrimoine génétique (effets génotoxiques).

Dans le cas d'effets génotoxiques, l'apparition de modifications au niveau de nos génomes (mutations) entraînera le démarrage d'un processus tumoral (cancer) ou l'apparition

de malformations dans la descendance, si ce sont les cellules sexuelles (gamètes) qui sont touchées.

Par ailleurs, quoique cela soit difficilement quantifiable, il est probable que le contact prolongé avec des petites doses de produits chimiques toxiques, active dans un premier temps les systèmes de défense (synthèse de protéines de résistance) puis ensuite accélère le vieillissement cellulaire.

Comme le résume le schéma, la plupart des effets toxiques correspondent à une interaction plus ou moins spécifique avec les constituants. Les effets sur un organe donné (foie, reins, poumons, moelle osseuse) ou un système (système nerveux, appareil reproducteur) donné entraîneront par contre une organotoxicité souvent assez spécifique.



**1.1. Cytotoxicité spécifique** : elle met en jeu, en général, des interactions labiles (liaison réversibles peu stables) entre le toxique et sa cible. La molécule exogène exerce un effet toxique dans la mesure où elle occupe la place d'une molécule endogène. Cette action disparaît avec l'élimination du toxique.

Parmi les toxiques ayant une liaison réversible avec leur site moléculaire, on distingue ceux qui interfèrent dans la neurotransmission tels que les toxines botuliques, les pesticides organophosphorés et les pesticides (les carbamates). D'autres toxiques peuvent interférer avec l'action des hormones.

- ***Strychnine*** (alcaloïde très toxique se trouvant dans une plante) : elle agit en compétition avec la glycine (neurotransmetteur inhibiteur), il en résulte une paralysie contracturante des muscles qui se termine par des convulsions mortelles.
- ***Insecticides organophosphorés et carbamates*** : les organophosphorés et les carbamates donnent avec la cholinestérase des complexes stables, ce qui entraîne une baisse des capacités d'hydrolyse de cette enzyme vis-à-vis de l'acétylcholine.

L'homme contrairement à l'insecte, a la possibilité d'hydrolyser les organophosphorés et de réduire ainsi leur toxicité.

Les principaux symptômes de l'intoxication par ces pesticides sont des tremblements, incoordination, convulsions, contractions musculaires et paralysie.

## 1.2. Cytotoxicité globale

Elle s'exerce sur les molécules des différentes parties de la cellule (les composés cancérogènes attaquent indifféremment les cibles protéiques (protéines, glyco et lipoprotéine) ou les acides nucléiques dans le cytoplasme ou dans le noyau.

### 1.2.1. Toxicité due au composé lui-même

*Exp. Action des agents alkylants* : La mutagénicité, la cancérogénicité et la tératogénicité des agents alkylants s'explique par leur action sur les acides nucléiques.

A titre d'exemple l'oxyde d'éthylène ( $\text{CH}_2 \backslash \text{O} / \text{CH}_2$ ), un gaz utilisé comme agent désinfectant du matériel opératoire dans les hôpitaux, mais aussi comme décontaminant d'aliments en provenance de pays exotiques (épices ...), est une molécule particulièrement réactive et toxique. Il a été signalé que chez des travailleurs en contact prolongé avec cette molécule peut apparaître une leucémie (cancer du sang). On sait maintenant qu'il y a une relation directe entre l'attaque de l'ADN par cette molécule réactive\*, et l'apparition de ce type de cancer, qui touchera certains globules blancs qui vont se multiplier de façon anarchique.

### 1.2.2. Toxicité due aux métabolites

Les xénobiotiques sont soumis à l'action des enzymes hépatiques, certains de leurs métabolites sont très toxiques: La métabolisation de l'hexane en hexadione (2-5) très toxiques.

### 1.2.3. Toxicité due aux intermédiaires réactifs

Les intermédiaires réactifs sont presque toujours des électrophiles puissants (carbocation, nitrénium, sulfonium), des époxydes et des radicaux libres.

## 2. Mécanisme d'action des toxiques

L'étude de la toxicité d'une substance chimique vise non seulement à préciser les signes cliniques et biologiques de l'intoxication, mais également à définir son mécanisme d'action, c'est-à-dire découvrir la lésion initiale responsable des perturbations physiologiques et anatomopathologiques observées au cours de l'intoxication, et de connaître les détails de la chaîne d'événement depuis la réaction moléculaire primaire jusqu'aux signes cliniques terminaux.

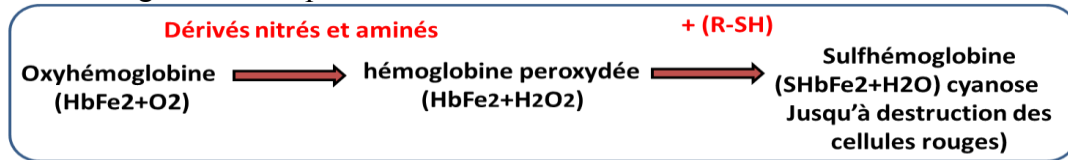
### 2.1. Action sur l'hémoglobine

- L'oxyde de carbone se combine avec l'hémoglobine et la transforme en carboxyhémoglobine. L'affinité du CO pour l'hémoglobine étant 210 fois plus importante que celle de l'O<sub>2</sub>, le CO déplace l'O<sub>2</sub> de sa combinaison avec l'hémoglobine. Lorsque l'air contient 20% d'O<sub>2</sub> et 0.1% de CO, plus de la moitié de l'hémoglobine se trouve sous forme de carboxyhémoglobine, et devient incapable de remplir sa fonction respiratoire.

- Les nitrites (de sodium NaNO<sub>2</sub>, de calcium Ca(NO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, nitrite d'amyle C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>) entraînent une oxydation du fer ferreux (méthémoglobine). Comme la carboxyhémoglobine, la méthémoglobine est incapable de fixer l'O<sub>2</sub>.



- Des dérivés nitrés et aminés peuvent aussi entraîner l'apparition de sulfhémoglobine responsable de cyanose. Le métabolite actif du dérivé nitré et aminé provoque la transformation de l'oxyhémoglobine ( $\text{HbFe}^{2+}\text{O}_2$ ) en hémoglobine peroxydée ( $\text{HbFe}^{2+}\text{H}_2\text{O}_2$ ) qui en présence de groupement thiols se transforme en sulfhémoglobine ( $\text{SHbFe}^{2+}\text{H}_2\text{O}$ ). La sulfhémoglobine est stable contrairement à la méthémoglobine, qui est normalement rapidement réduite. Dans les cas de la sulfhémoglobinémie, la cyanose va persister tant que les globules rouges n'auront pas été détruites.



## 2.2. Action sur les enzymes

Inhibition des enzymes : l'inhibition des enzymes peut être compétitive ou non, réversible ou irréversible. L'inhibition est dite compétitive lorsque, elle peut être levée par l'addition d'un excès de substrat. L'inhibiteur agit comme un substrat, cette forme est donc réversible. L'inhibition est non compétitive lorsqu'elle n'est pas levée par un excès de substrat, elle peut être réversible, l'enzyme peut être régénérée par dialyse, ou irréversible, et l'inhibition résulte d'une liaison covalente du toxique avec l'enzyme.

Exp. L'inhibition de l'acétylcholinestérase par certains pesticides organophosphorés est un exemple d'inhibition irréversible

Le plomb exerce de multiples actions toxiques, il inhibe plusieurs enzymes nécessaires à la synthèse de l'hème dans les érythroblastes de la moelle osseuse.

Stimulation des enzymes : La stimulation de la synthèse d'enzymes microsomique par des corps chimiques de structure très variables (phénobarbital, DDT, ...)

## 2.3. Toxicité par génération de radicaux libres

Des radicaux libres peuvent être produits par capture d'électrons ou par fission d'une liaison covalente. Ces groupes chimiques possèdent généralement une grande réactivité et une durée de vie limitée. Des molécules biologiques importantes pour le fonctionnement cellulaire constituent des cibles privilégiées, en particulier les acides gras insaturés (constituant des phospholipides membranaires), les acides ribonucléiques et désoxyribonucléiques. Ce phénomène a des conséquences graves, les structures membranaires seront altérées ; la désintégration des membranes (microsomiales, mitochondriales, lysosomiales) entraîne la mort de la cellule.

## 3. Etudes des effets d'un toxique

**3.1. Etude de l'effet allergisant** Cette étude a pour but de mettre en évidence un pouvoir sensibilisant ou allergisant chez l'homme. La sensibilisation de la peau survient chez l'homme à la suite de contacts répétés avec des produits ayant un pouvoir sensibilisant. Cette sensibilisation se traduit par une dermatite allergique de contact, caractérisée par des érythèmes et des oedèmes.

L'étude de l'effet allergisant de la peau comprend trois phases :

- Sensibilisation de la peau après une ou plusieurs applications de la substance à tester
- Phase de repos qui constitue la période de développement des phénomènes immunologiques.
- La phase déclenchante consiste en une nouvelle application cutanée de la substance à tester, provoquant la réaction allergique s'il y a eu une sensibilisation.

Il est recommandé de pratiquer un examen histo-pathologique de la peau au niveau de la zone déclenchante.

### 3.2. Etude de l'effet mutagène

La mutagenèse regroupe les processus de transformations du patrimoine génétique transmissible à la descendance cellulaire.

Les possibilités du potentiel mutagène sont recherchées, par des techniques *in vitro* et *in vivo*:  
Chez des bactéries (effet de mutations génétiques) ;

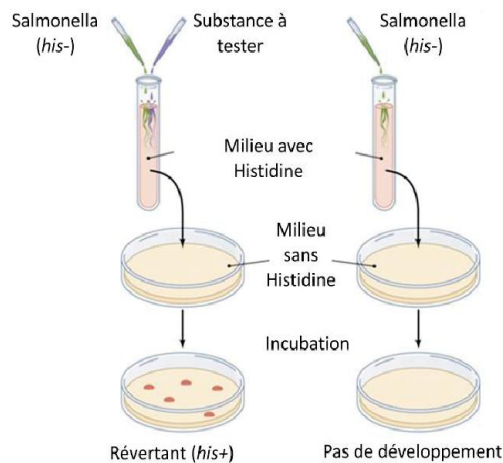
Dans des cellules de mammifères cultivées *in vitro* pour apprécier les dommages chromosomiques ;

Sur des animaux d'au moins deux espèces différentes, choisies généralement chez les rongeurs parce que leur temps de génération est court.

Lorsqu'il y a des dommages sur l'ADN ou une stimulation imprévue de synthèse d'ADN, responsables d'apparition de métabolites actifs ou de transformation cellulaire, la substance étudiée est considérée comme potentiellement cancérogène.

On utilise dans ce test un mutant de la bactérie *Salmonella typhimurium*, mutant qui ne peut croître qu'en présence d'histidine (*his*<sup>-</sup>). En présence d'une substance mutagène, les bactéries *his*<sup>-</sup> donnent des mutants *his*<sup>+</sup> capable de synthétiser de l'histidine, donc de pousser sur un milieu dépourvu d'histidine.

Pour tenir en compte des métabolites de la substance à tester des enzymes de métabolisation de mammifères (rat, souris, homme) sont apportées au milieu.



Toutes les substances cancérogènes sont mutagènes mais la réciproque n'est pas toujours vraie (85 à 90% des mutagènes sont cancérogènes).

### 3.3. Études de la cancérogenèse

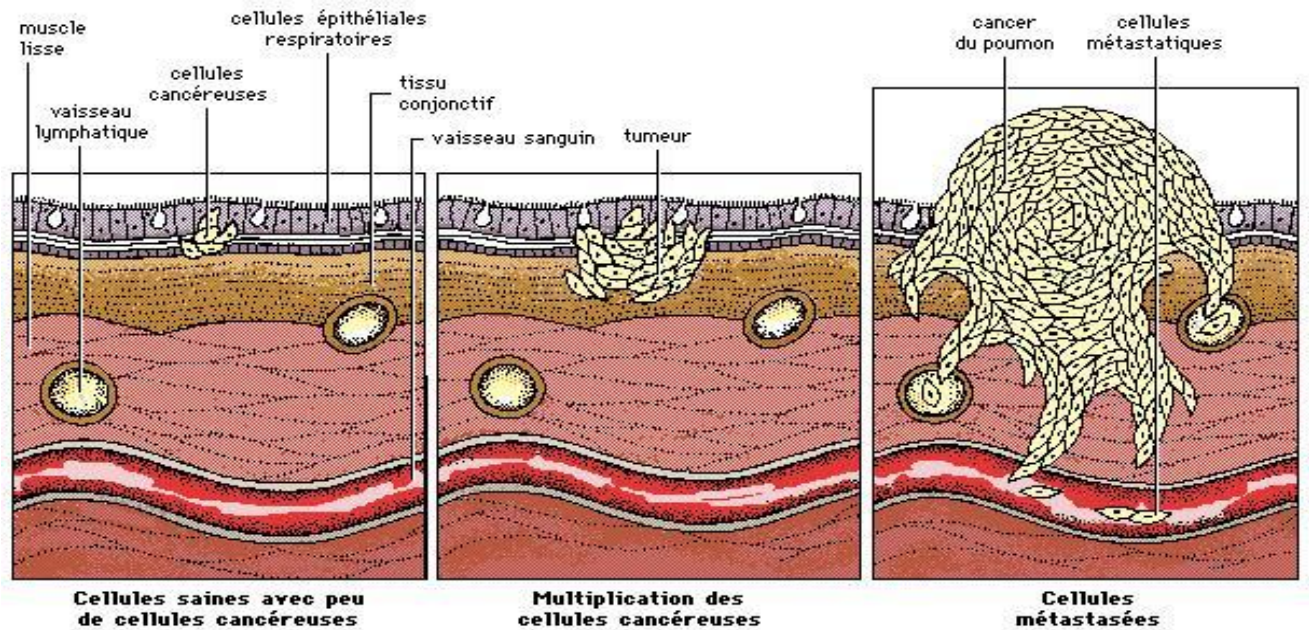
La cancérogenèse est un processus de mutagenèse auquel s'ajoute un pouvoir de malignité.

Une cellule maligne possède les caractéristiques suivantes :

- Elle est devenue immortelle
- Elle n'obéit plus aux facteurs de régulation tissulaire
- Elle est capable d'aller coloniser d'autres tissus (métastases).

Les études de cancérogenèse ont pour but de mettre en évidence le processus par lequel les cellules se divisent à une fréquence accrue. Cette prolifération cellulaire excessive ou hyperplasie constitue un des stades précoces de la cancérisation. Ce processus peut conduire à l'apparition de tumeurs malignes qui envahissent les tissus voisins et qui peuvent migrer donnant des métastases.





Une substance cancérigène peut induire, seule ou en association avec un autre produit :

- Des tumeurs ;
- L'augmentation de la fréquence de certains types de tumeurs ;
- La diminution du temps de latence de tumeurs spontanées.

On classe les cancérigènes en trois catégories :

**Catégorie 1 :** Les cancérigènes complets qui, par leur seule action, induisent des tumeurs ;

**Catégorie 2 :** Les cancérigènes incomplets pour lesquels deux agents sont nécessaires, un **initiateur** et un **promoteur**. L'initiateur crée des lésions du matériel génétique dans des cellules qui deviennent alors "initiées". Ces lésions non décelables, peuvent se révéler au contact, surtout répétitif, d'un agent promoteur. L'effet cancérigène va alors se développer ;

**Catégorie 3 :** Les co-cancérigènes qui ont un effet additif ou amplificateur en association avec une autre substance cancérigène.

De plus un cancérigène sera dit génotoxique si l'on met en évidence que son pouvoir de malignité est lié à une altération de génome.

Les études de cancérogenèse se font à long terme, dix-huit mois au moins, sur des animaux des deux sexes pour prendre en compte les différences imputables aux hormones sexuelles.

L'extrapolation à l'homme nécessite l'utilisation comparée de tous les résultats.

Les études de cancérogenèse à long terme consistent à administrer la substance à tester par voie orale, cutanée ou respiratoire à un nombre important d'animaux pendant la majeure partie de leur vie. L'étude suppose l'utilisation au minimum de 100 animaux par groupe (50 mâles et 50 femelles).

Au cours de cette étude les animaux font objet d'examen clinique régulier afin de détecter l'apparition de masses palpables.

### 3.4. Études de la fonction de reproduction

Trois grands types d'études sont menés :

Les études de fertilité : accouplement, fécondation et blastogenèse

Les études d'embryogenèse : développement du fœtus et de l'embryon

Les études de périnatalité : lactation et développement morphologique et sensoriel.

#### 3.4.1 Études de fertilité

Les mâles sont traités lors de la spermatogenèse, puis accouplés avec des femelles non traitées. Le traitement des femelles est réalisé de l'ovogenèse à la nidation et l'accouplement a lieu avec des mâles non traités. On réalise aussi des accouplements entre mâles et femelles traités.

### 3.4. 2 Tératogenèse

La tératogenèse est l'**aptitude à provoquer des malformations de l'embryon ou du fœtus**. Elles fournissent des informations sur l'augmentation possible, au cours des générations, de la sensibilité de l'organisme à la substance étudiée.

**Un agent tératogène cause des dommages structurels et fonctionnels permanents** au cours de l'embryogenèse, après les premiers clivages de l'embryon implanté. Deux espèces animales, choisies parmi souris, rat, lapin, hamster ou cobaye doivent servir à la détection de la tératogenèse.

Exp.

La thalidomide prise au cours des premières semaines de la gestation afin de réduire les nausées, a eu, à la fin des années 50, des effets tératogènes désastreux, plusieurs milliers d'enfants sont nés avec diverses malformations, en particulier la phocomélie (insertion directe des pieds et des mains sur le tronc). Depuis des tests de tératogenèse sont systématiquement réalisés. L'évaluation de la toxicité ne s'effectue plus seulement sur les animaux eux-mêmes mais également sur leur descendance.



### 3.4. 3. Études de péri-natalité

Elles ont pour but de déterminer si une substance administrée à des femelles lors de la gestation et/ou de la lactation peut perturber la croissance du fœtus, la parturition, la lactation et le développement du nouveau-né.

## 4. Examens de laboratoires au cours des études toxicologiques

L'ensemble des examens de laboratoires qui peuvent être réalisés sur le sang e/ou les urines et/ou les matières fécales au cours d'une étude quelle que soit sa durée sont les suivants :

- Paramètres en hématologie : globules rouges, concentration en hémoglobine, globules blancs, vitesse de sédimentation, fragilité érythrocytaire.
- Paramètre en biochimie : Na, Ca, Fer, phospholipides, cholinestérase, acide urique, protides totaux, triglycérides, méthémoglobine, chlore, urée.
- Examens urinaires : Volumes, pH, recherche de corps cétonique, glucose, protéines, sang, nitrites, Na ; urée, phosphore inorganique.
- Examens anatomo-pathologie : a la fin d'une étude in vivo, après administration de la substance à tester, les animaux sont sacrifiés puis autopsiés. Un examen macroscopique puis microscopique des organes et tissu est réalisé.