

MODULE : Relation structure/Activités des Xénobiotiques

Xénobiotique, génotoxicité, inflammation et cytotoxicité

- Introduction

La génotoxicité d'un produit chimique est une caractéristique chimique intrinsèque dérivée du potentiel électrophile du produit, c'est-à-dire de son aptitude à se lier, dans les macromolécules cellulaires, à des sites nucléophiles tels que l'acide désoxyribonu-cléique (ADN), porteur de l'**information génétique**.

La génotoxicité est donc une toxicité qui s'exerce sur le matériel génétique des cellules.

- Définition

La génotoxicité se définit comme la capacité de certains agents dits « **génétoxiq**ues » à induire des dommages à l'ADN pouvant conduire à **des mutations géniques** ou **chromosomiques**.

Ces dommages, une fois fixés dans le génome, peuvent avoir des conséquences **délétères** sur la santé des organismes exposés et/ou de leur descendance :

Mortalité embryonnaire, malformations congénitales, infertilité, cancers, etc.

On considère deux classes d'agents **génétoxiq**ues:

- **Les génétoxiq**ues directs qui sont capables de modifier directement la structure de l'ADN.
- **Des progénétoxiq**ues qui nécessitent une activation métabolique préalable avant de pouvoir exercer leurs effets génotoxiques.

On parle dans ce cas de processus de **bioactivation**.

En raison de la grande variété de structures et de modes d'action des substances génotoxiques, il existe un grand nombre de dommages à l'ADN possibles.

Ces altérations structurales de l'ADN appelées lésions

primaires concernent principalement des modifications des bases constitutives de l'ADN ou des cassures affectant un seul ou les deux brins de l'ADN.

- **Dommages à l'ADN**

Il y a tout d'abord les adduits encombrants qui correspondent à l'entité chimique résultant de l'établissement d'une liaison covalente entre une molécule chimique électrophile et un site nucléophile d'une base de l'ADN.

Parmi les sites nucléophiles, les azotes aromatiques, les groupements hydroxyles et carbonyles des bases constitutives de l'ADN sont les cibles privilégiées des génotoxiques.

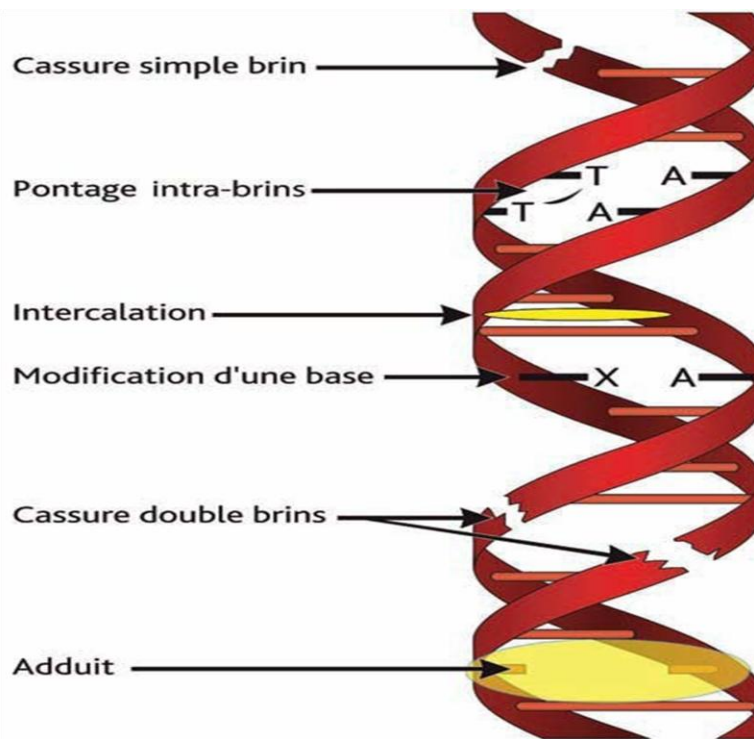


Figure 1 : les différents types de lésions primaires de l'ADN

- **Produits de bio-activation toxiques : les électrophiles**

Les électrophiles : molécules de charge positive partielle ou totale (cations) contenant un atome déficient en e-

Formation :

Soit au cours de la phase I de fonctionnalisation. Le plus souvent oxydation par CYP450.

Parfois au cours de la phase II de conjugaison.

Effets moléculaires des électrophiles

Les électrophiles forment des liaisons covalentes avec les atomes nucléophiles (attirés par les espèces chargées positivement) des macromolécules

Protéines : atomes S ou N (groupements –SH ou –NH₂)

Acides nucléiques (ADN et ARN) : atomes N ou O (bases puriques et pyrimidiques)

Electrophile = molécule déficitaire en électrons qui réagit en partageant un ou plusieurs électrons avec une molécule riche en électrons : un nucléophile

- Dommages à l'ADN

Certains agents mutagènes tels que les amines aromatiques sont capables de réaliser ce type de liaison entraînant la formation d'un complexe appelé adduit (pour produit d'addition).

Cette lésion entraîne une modification de la structure spatiale de l'ADN au voisinage de l'adduit qui va perturber sa reconnaissance par l'ADN polymérase (enzyme) au cours du processus de réplication.

La formation et la persistance de telles lésions de l'ADN sont des étapes clé vers la mutagenèse et le développement tumoral.

Il y a ensuite **les micro-adduits** formés par l'alkylation d'une base azotée de l'ADN.

Ces modifications bien que minimes perturbent la reconnaissance de la base par l'ADN polymérase lors de la duplication de l'ADN.

Les nitrosourées, les alkylsulfonates et les cyclophosphamides qui sont largement utilisés comme agents chimiothérapeutiques pour le traitement du cancer sont pour la plupart **des agents alkylants**.

Un **agent alkylant** est un composé capable d'ajouter des groupements alkyle à divers groupes électronégatifs dans des conditions présentes au sein des cellules.

Certains d'entre eux (agents alkylants antinéoplasiques (anticancer)) sont utilisés pour arrêter la croissance des

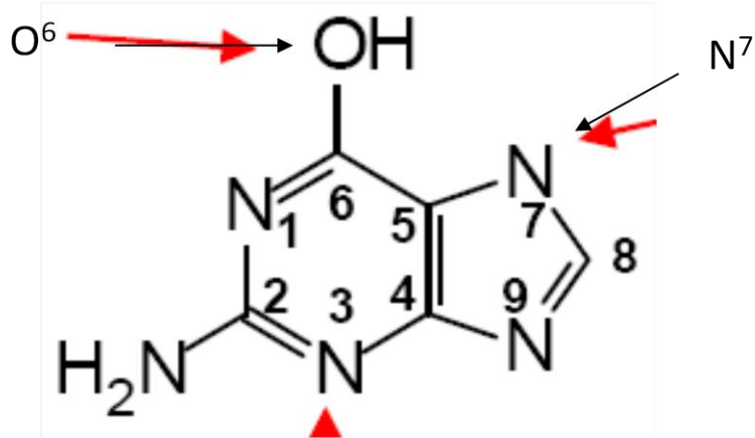
tumeurs ,ce qui empêche ces brins d'ADN de se démêler et de se séparer ; ceci prévient la réplication de l'ADN, et dès lors ces cellules cessent de se diviser.

Les électrophiles : forment des liaisons covalentes avec atomes nucléophiles de l'ADN (O, N)

Formation d'adduits avec N⁷-guanine

Alkylations (méthyl, éthyl...) avec O⁶ et N⁷-guanine

Guanine



- Mutagenèse

L'action se traduit par des *mutations* génétiques et/ou des modifications chromosomiques. Les modifications chromosomiques correspondent à des anomalies de nombre (augmentation ou diminution) ou de structure (délétions (La délétion est une mutation génétique caractérisée par la perte de matériel génétique sur un chromosom), duplications, translocations) des *chromosomes*.

Il y a une corrélation importante entre effets *mutagènes* et *cancérogènes* pour une même molécule

Exemple

L'action mutagène du méthylmercure est due à une fixation sur l'ADN, au fait du caractère électrophile du groupement CH₃Hg⁺ qui se comporte comme un agent alkylant vis-à-vis des groupements azotés des bases nucléiques notamment de la thymine.

Cette fixation aboutit à dénaturation de l'ADN qui explique des ruptures chromosomiques.

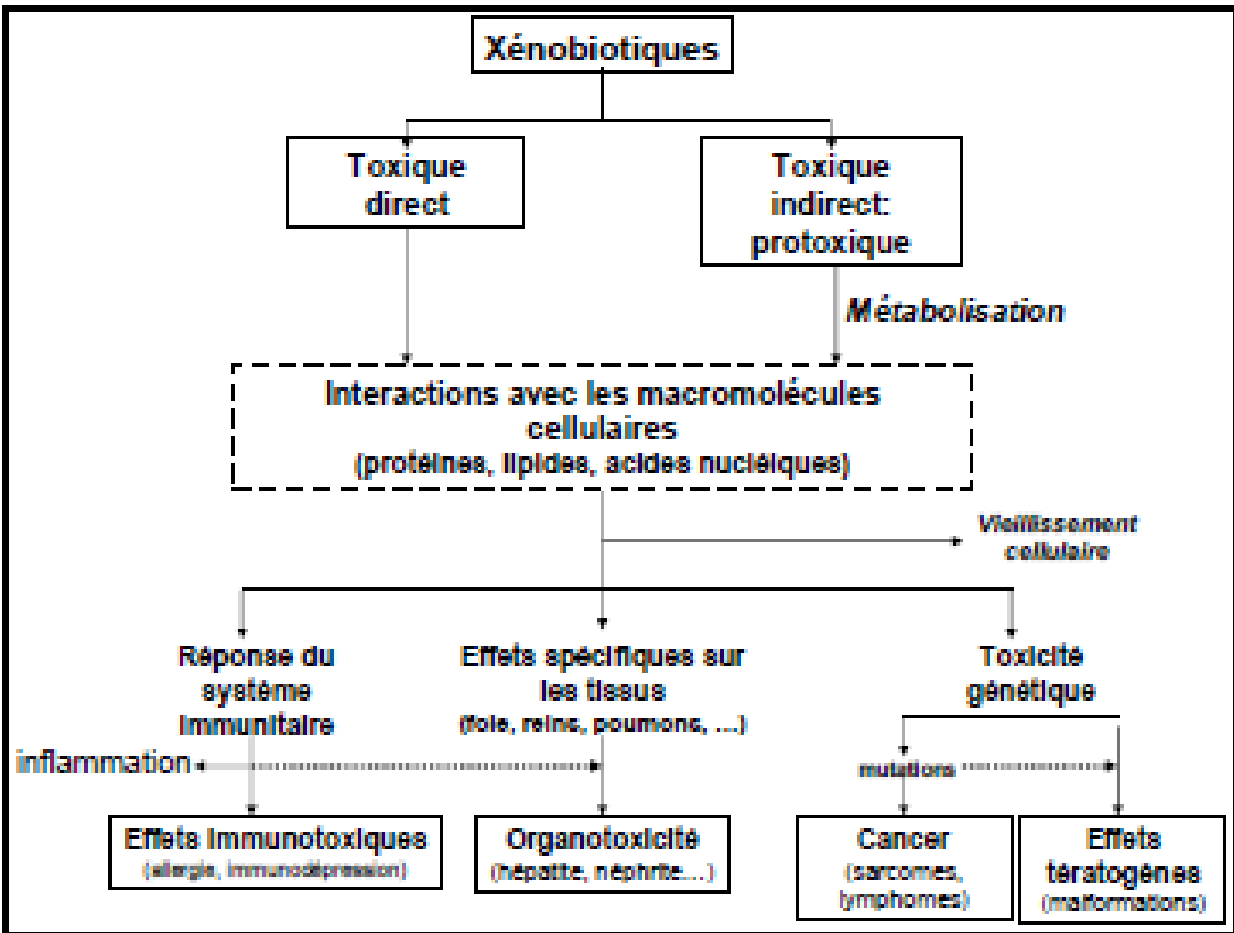
- CANCEROGENESE

Processus pathologique entraînant l'apparition de cellules malignes, envahissant progressivement les tissus et capables de migrer en provoquant l'apparition de foyers secondaires (métastases).

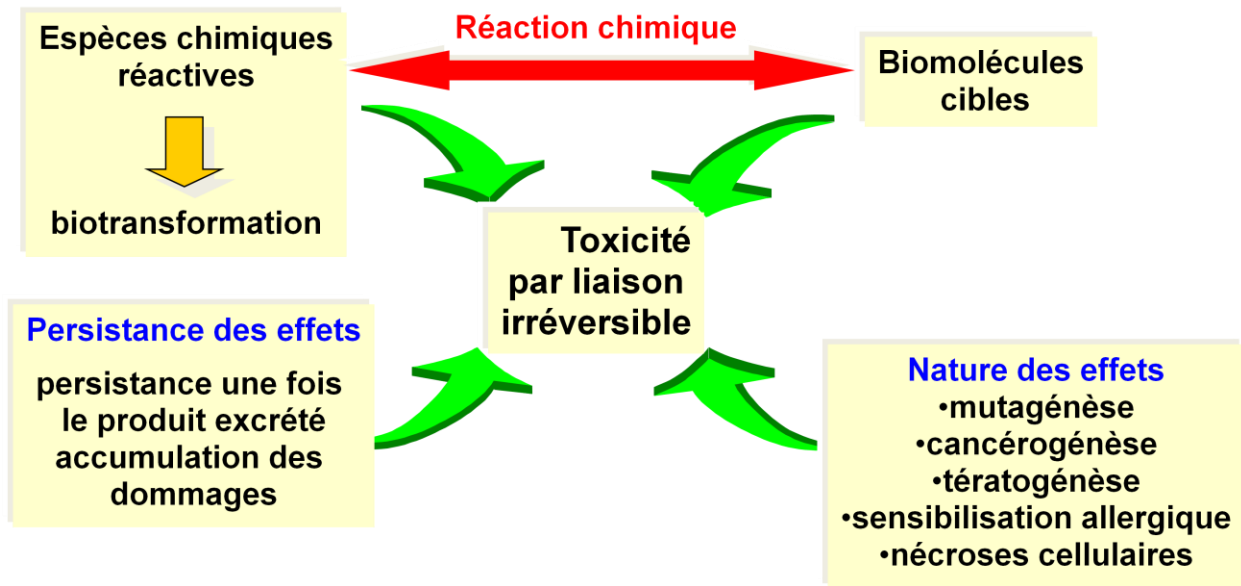
- TERATOGENESE

Ce sont des substances qui agissent principalement sur l'embryon à des stades bien précis de son développement et qui induisent une ou des anomalies, se manifestant par des malformations.

Apparition de malformations congénitales au cours du développement de l'embryon (ou embryogenèse) après exposition de la femme enceinte à des facteurs d'altération exogènes.



Toxicité basée sur une liaison irréversible



Pour les liaisons irréversibles (covalente)

1. Les toxiques sont, en principe, toujours activés avant d'exercer leur action.
2. Ce sont les sites nucléophiles des biomolécules qui sont visés (-NH₂, -SH...)
3. Les liaisons sont de types covalents, extrêmement stables.
4. Effets tératogène, cancérologène, mutagène, sensibilisation allergique, nécrose.
5. Liaison irréversible signifie que le dommage induit persistera même après disparition du toxique.

2- Inflammation et xénobiotiques

Rappel sur les différentes cellules immunitaires

❖ Les monocytes et les macrophages

- Elles assurent la destruction complète de l'organisme

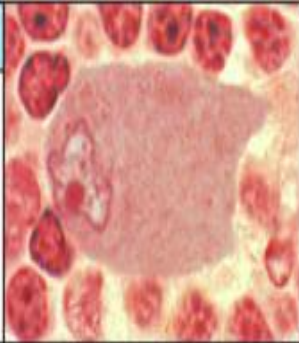
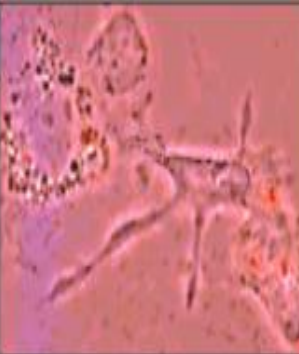
Capté.

- Rôles : phagocytose, opsonisation.
- L'**opsonisation** est un processus biochimique par lequel une molécule (alors qualifiée d'opsonine) recouvre la membrane d'une cellule cible (une bactérie ou une cellule du

corps infectée par un agent pathogène). Pour favoriser sa phagocytose par une cellule dotée de récepteurs pour les opsonines.

❖ Les cellules dendritiques

-Grande activité de présentation d'antigènes

Macrophage		Phagocytosis and activation of bactericidal mechanisms Antigen presentation
Dendritic cell		Antigen uptake in peripheral sites Antigen presentation in lymph nodes

➤ **Les polynucléaires**

➤ Les neutrophiles

- Un noyau polylobé,
- Des granulations cytoplasmiques
- Action antibactérienne (opsonisation).

❖ Les basophiles et mastocytes

- Granulations cytoplasmiques acides (fixant les colorants basiques).
- Ces granulations : histamine et héparine
- Défense anti-parasitaire et les allergies à IgE.

❖ Les éosinophiles

- Coloré en rose orangé par éosine
- Défense anti-parasitaire et les allergies

à IgE.

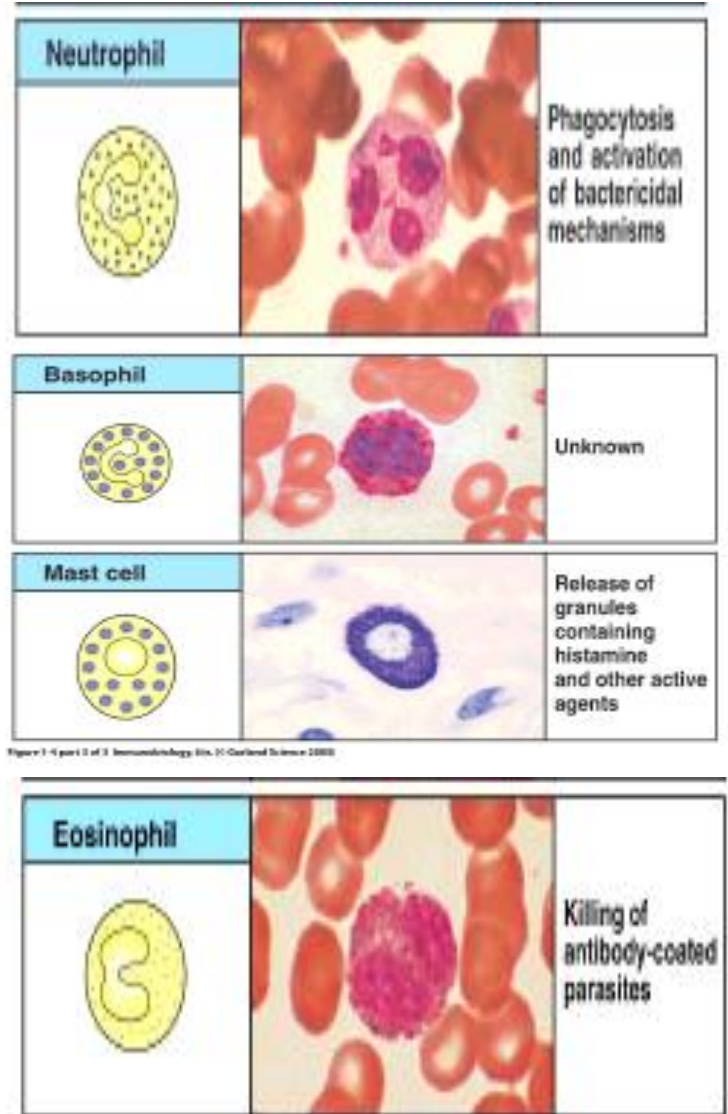


Figure 1-4 part 2 of 3 Immunobiology, 6th, © Garland Science 2008

Figure 1-4 part 2 of 3 Immunobiology, 6th, © Garland Science 2008

➤ Les lymphocytes T (LT)

- LT portent un TCR (recep LT) et des marqueurs CD4⁺ et CD8⁺
- Reconnaissent l'Ag porté par HLA classe II (T4) et (T8)

➤ Les lymphocytes B (LB)

- LB expriment des IgM et des IgD membranaires
- Les marqueurs de surfaces : CD19, CD38, CD40
- Reconnaissent l'Ag grâce IgM/D
- LB donne : des cellules mémoires et des plasmocytes (producteurs Ac).

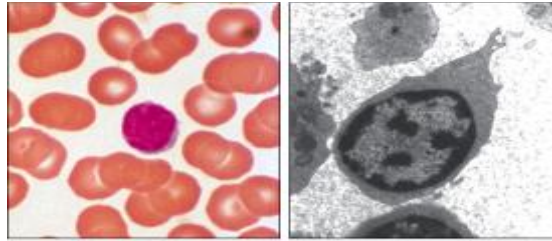


Figure 1-3 Immunobiology 6/e © Garland Science 2005

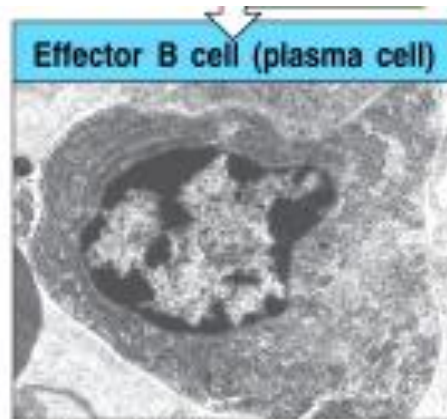


Figure 1-18 part 2 of 2 Immunobiology 6/e © Garland Science 2005

-Autres cellules immunitaires

- *Les NK (natural killer)*
 - Cellules lymphoïdes dépourvues de TCR, CD3
 - Douées de propriétés cytotoxiques
 - Libèrent des substances toxiques

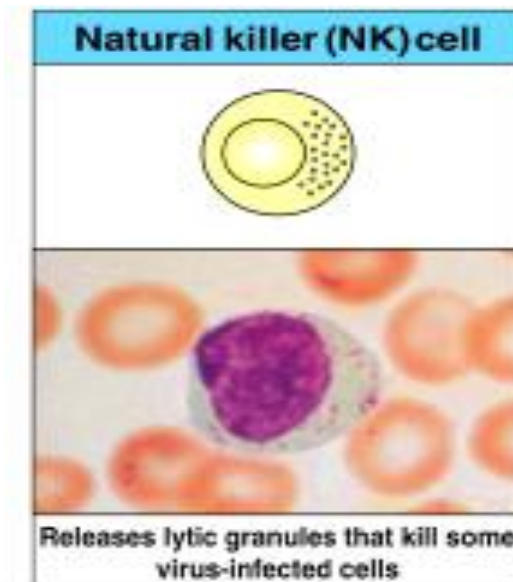


Figure 1-6 Immunobiology 6/e © Garland Science 2005

- **L'inflammation**

L'ensemble des mécanismes réactionnels de défense par lesquels l'organisme reconnaît, détruit et élimine toutes les substances qui lui sont étrangères.

L'inflammation une réaction immunitaire non spécifique, elle peut être en réponse à un traumatisme physique, une chaleur intense, à des substances chimiques, à des infections de micro-organismes ou des parasite protozoaires.

Les causes de l'inflammation sont nombreuses et variées :

agent infectieux, substance étrangère inerte, agent physique, lésion cyto-tissulaire post-traumatique...

L'inflammation commence par une réaction de « reconnaissance » faisant intervenir certaines cellules de l'organisme (macrophages) ou des protéines circulantes (anticorps, protéines du complément...).

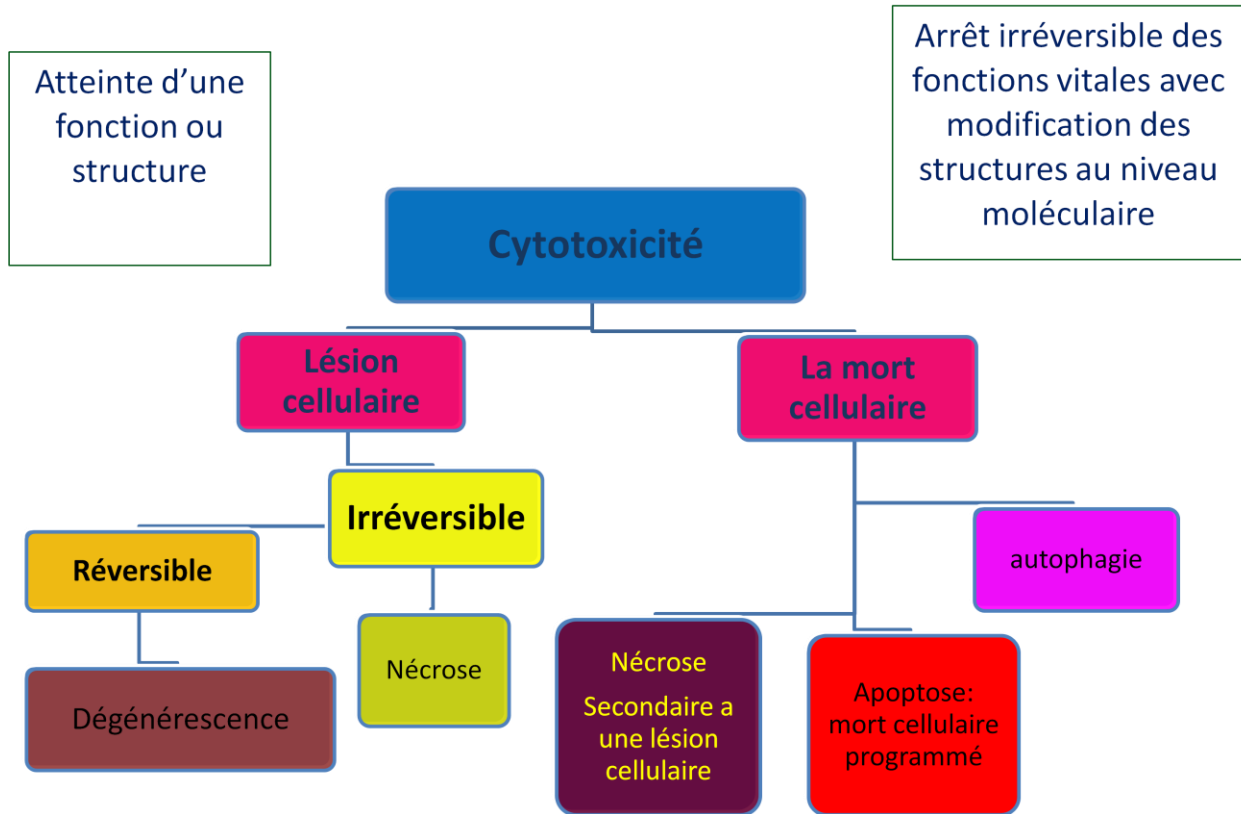
Ce caractérise par :

- **Rougeur** (dilatation des vaisseaux sanguins et donc augmentation du flux sanguin au niveau de la zone lésée)
- **Gonflement** (souvent se forme un œdème, c'est-à-dire une poche de lymphe interstitielle formée à partir du plasma qui sort entre les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins distendus),
- **Chaleur** (essentiellement due à l'afflux sanguin mais aussi à la libération de substances pyrogènes : capables de provoquer la fièvre)
- **Douleur** (c'est l'œdème qui souvent comprime les terminaisons nerveuses du derme, mais il peut y avoir des toxines libérées par les bactéries infectieuses ou des substances libérées par les cellules lésées qui ont le même rôle..). L'inflammation conduit à une altération de la fonction de l'organe ou du tissu lésé.

- Cytotoxicité

Dysfonctionnement cellulaire → mort cellulaire

Cytotoxicité



Atteintes cellulaires : synthèse mitochondriale d'ATP

Rôle central de l'ATP dans l'homéostasie cellulaire

Source d'énergie : contraction musculaire, pompes membranaires...

Substrat de réactions chimiques : phosphorylations...

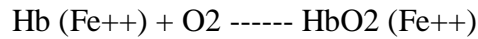
Production d'ATP : phosphorylation oxydative de l'ADP dans les mitochondries

4 groupes de substances toxiques inhibitrices de la production d'ATP selon le site d'inhibition :

- Groupe 1 : **inhibiteurs de l'apport de H⁺** sous forme de co-facteurs réduits (NADH₂, FADH₂) (Ex : Arsenic)
- Groupe 2 : **inhibiteurs de la chaîne de transport d'e⁻** vers l'O₂ (Ex : cyanure)
- Groupe 3 : **inhibiteurs de l'apport d'O₂** (Ex : CO)
- Groupe 4 : **inhibiteurs de la phosphorylation de l'ADP** par l'ATP synthétase (Ex : DDT).

- **Action sur l'hémoglobine**

L'hémoglobine est une protéine renfermant un hème avec un atome de fer à l'état ferreux (Fe^{++}) chargée du transport de l'oxygène.



Plusieurs toxiques agissent sur l'hémoglobine, la rendant incapable d'assurer sa fonction essentielle : le transport de l'oxygène. Ceux qui interviennent le plus fréquemment sont le monoxyde de carbone et les toxiques méthémoglobinisants.

Les chlorates (herbicides) et les nitrites, oxydent le fer ferreux (Fe^{++}) de l'hémoglobine et le transforme en méthémoglobine (Fe^{+++}), inapte au transport de l'oxygène.

Exemple

- **Élévation de la concentration cytosolique en Ca^{2+}**

L'origine du développement de la toxicité cellulaire. Certaines toxines provoquent une augmentation de la concentration cytosolique du calcium. Cette augmentation des concentrations intracellulaires de calcium ionisé entraîne une augmentation non spécifique de la perméabilité membranaire et entraîne l'activation de nombreuses enzymes de dégradation, comme des endonucléases capables de dégrader l'ADN, des protéases capables de dégrader les protéines intracellulaires et certaines phospholipases capables de dégrader les lipides des membranes cellulaires.

- **Lipoperoxydation**

Action des radicaux libres sur la membrane:

Les RL sont responsable d'un processus d'oxydation.

Le R° est le radical libre initiateur de la réaction ; l'attaque initiale s'effectue sur le groupement méthylène séparant deux doubles liaisons dans l'acide gras.

Les conséquences peuvent être graves. Des structures membranaires au sein de la cellule (riches en phospholipides contenant des acides gras insaturés) seront altérées entraînant la mort des cellules.

Conclusion

L'étude, du mécanisme d'action des toxiques présente un aspect essentiel de la toxicologie. En effet, elle permet de prévoir les manifestations pathologiques résultant d'une exposition , de développer des antidotes, de formuler des tests biologiques de détection, et d'étendre nos connaissances sur certains désordres métaboliques de divers processus biochimiques.