

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

AVANT-PROPOS

La **toxicologie** (du grec *toxicon*, poison, et *logos*, discours) est une science aussi austère que passionnante.

Née au 19^{ème} siècle avec des figures telles que Mateu Josep Bonaventura Orfila i Rotger, elle a depuis accompli d'énormes progrès.

Elle fait aujourd'hui appel à des connaissances en biologie, en chimie et en physiologie.

Son objet est le **danger**, c'est-à-dire les propriétés d'une (ou de plusieurs) substance au niveau sanitaire, tandis que le **risque** relève de l'épidémiologie. Au sens strict, elle s'intéresse aux produits chimiques (les poisons d'origine animale et végétale relèvent de la **toxinologie**).

Le texte qui suit se veut le plus simple possible, de telle sorte que le lecteur, quelle que soit sa formation initiale (écologie, géographie, etc.), puisse avec un minimum d'efforts se familiariser avec les bases de la toxicologie.

Bien entendu, beaucoup de choses y manquent, mais il a fallu faire un tri et il n'est pas apparu opportun de revenir sur la toxicologie dite réglementaire (VTR), déjà abordée dans le cadre du Master de Sciences de l'environnement, de la santé, du territoire et de la société.

Un conseil : il est indispensable d'avoir bien compris un « chapitre » avant de passer au suivant, à défaut de quoi vous risquez de perdre beaucoup de temps en vous posant des questions dont la réponse a déjà été donnée en amont.

On ne le dira jamais assez : le plus court chemin, c'est celui qui va d'un point à un autre en ligne droite.

Au bout d'un certain temps, vous vous surprendrez à émettre des hypothèses recevables quant à telle ou telle substance et vous vous prendrez au jeu. Et en cas de doute, ce document vous servira – je l'espère ! – de bouée de secours.

POUR CEUX QUI VEULENT - MALGRE TOUT - SE NOYER

- 1 - sautez des paragraphes ;
- 2 - cherchez à approfondir une réponse « satisfaisante » sans jamais vous arrêter ;
- 3 - ne trouvez pas de réponse « satisfaisante » et passez à autre chose ;
- 4 - interrompez la lecture de ce support pendant plusieurs semaines et revenez-y.

Pour les autres : bonne lecture !

ATOME, CHIMIE, TOXICOLOGIE : QUELQUES RAPPELS

Tout corps, qu'il soit vivant (un microorganisme, un animal, une plante) ou inerte (une pierre), est composé d'**atomes**. Il en va de même pour les substances toxiques.

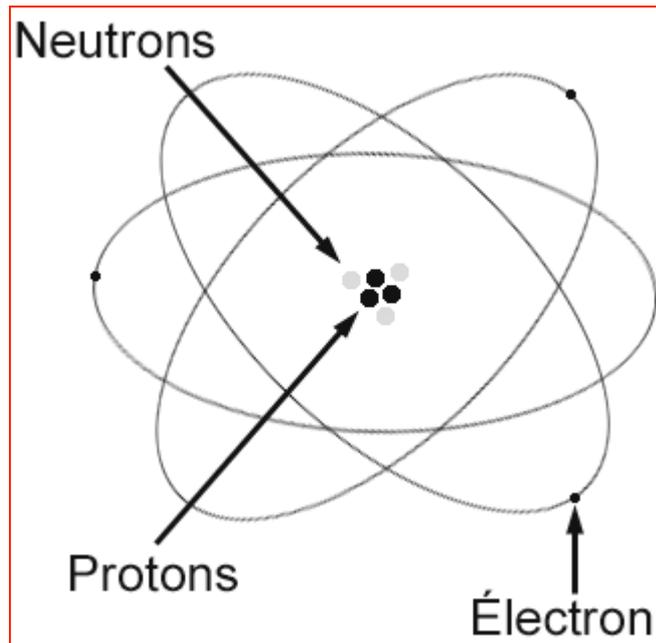


Illustration 1 : l'atome

Un atome est composé d'un **noyau** constitué de **nucléons** : **protons** et **neutrons**. Autour du noyau tournent des **électrons** : c'est le **nuage électronique**. La répartition des électrons est appelée **configuration électronique**.

Le **tableau périodique des éléments (TPE)** ou **table de Mendeleïev**, représente tous les éléments chimiques (carbone C, hydrogène H, oxygène O, azote N, etc.).

Ils sont ordonnés par numéro atomique croissant et en fonction de leur configuration électronique.

Dans chaque case, il y a deux numéros. Celui du bas correspond au nombre de protons du noyau : c'est le **numéro atomique Z**. Celui du haut correspond à la masse d'un atome en tant que multiple d'une masse élémentaire proche de celle d'un nucléon unique : c'est la **masse atomique A**.

Le TPE de la page suivante vous facilite grandement la tâche grâce à un système de couleurs. C'est pratique !

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Illustration 2 : le tableau périodique des éléments

Au cours de vos lectures, vous pourrez rencontrer des termes tels que **ion**, **cation** ou **anion**.

Un ion est une espèce chimique électriquement chargée.

On distingue les ions **monoatomiques** constitués d'un seul atome comme Fe^{2+} et Fe^{3+} , Na^+ ou Pb^{2+} des ions **polyatomiques** constitués de plusieurs atomes comme SO_4^{2-} .

Les ions chargés positivement sont des **cations** ; ceux chargés négativement sont des **anions**.

C'est parti !

CHIMIE : QUELQUES DEFINITIONS

Pour ceux qui n'ont jamais « fait » de chimie (ou il y a bien longtemps), c'est un moment difficile à passer, mais cette gymnastique de l'esprit vous sera bien utile par la suite. Ne vous découragez pas : ce n'est pas aussi ésotérique que vous pouvez le penser.

NB : les termes soulignés renvoient à une définition.

Acide : corps capable de libérer des ions dans l'eau.

Alcalin : corps, également appelé **base**, capable de capturer un ou plusieurs protons. La réaction chimique d'un acide et d'une base donne un **sel** et de l'eau.

Alcane : hydrocarbure saturé constitué d'un enchaînement de carbones liés entre eux exclusivement par des liaisons simples. Formule générale : C_nH_{2n+2} . Le préfixe (ici en gras) indique le nombre d'atomes de carbone. Exemples : **méthane** (un atome de carbone), **éthane** (deux atomes de carbone), **propane** (trois atomes de carbone) et **butane** (quatre atomes de carbone).

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Voici à titre d'information la nomenclature des alcanes linéaires :

Nom	Formule brute
Méthane	CH ₄
Ethane	C ₂ H ₆
Propane	C ₃ H ₈
Butane	C ₄ H ₁₀
Pentane	C ₅ H ₁₂
Hexane	C ₆ H ₁₄
Heptane	C ₇ H ₁₆
Octane	C ₈ H ₁₈
Nonane	C ₉ H ₂₀
Décane	C ₁₀ H ₂₂
Undécane	C ₁₁ H ₂₄
Dodécane	C ₁₂ H ₂₆
Eicosane	C ₂₀ H ₄₂
Heneicosane	C ₂₁ H ₄₄
Docosane	C ₂₂ H ₄₆
Tricosane	C ₂₃ H ₄₈
Triacotane	C ₃₀ H ₆₂
Pentatriacontane	C ₃₅ H ₇₂
Pentacontane	C ₅₀ H ₅₂

Alcène : hydrocarbure insaturé avec une ou plusieurs doubles liaisons carbone C=C. On distingue les alcènes à une double liaison (C_nH_{2n}), les alcènes à deux doubles liaisons (C_nH_{2n-2}), les alcènes à trois doubles liaisons (C_nH_{2n-4}).

Alcyne : hydrocarbure avec au moins une triple liaison C≡C.

Aliphatique : aminoacide dont la chaîne latérale est une longue chaîne carbonée sans hétéroatome comme N, O ou S pour le soufre.

Aromatique : molécule cyclique avec ou sans hétéroatomes, plane, et qui présente un ensemble d'électrons délocalisables en accord avec la formule 4n + 2 de Hückel (2, 6, 10, 14, etc.). Se dit des corps de la chimie organique possédant un ou plusieurs noyaux anthracétiques, benzéniques, naphthaléniques, etc.

Apolaire : se dit des molécules comme CO₂, CS₂, H₂, O₂ dont le moment polaire est nul.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Benzène : carbure cyclique C_6H_6 . C'est le type fondamental de la série dite benzénique C_nH_{2n-6} .

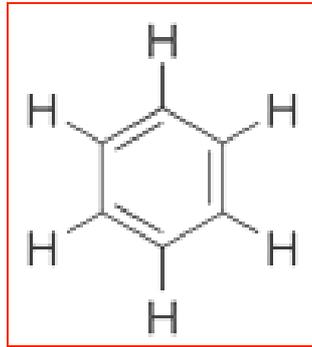


Illustration 3 : benzène

On représente souvent le benzène par un des deux schémas simplifiés suivants (c'est un gain de temps !) :



Biotransformation : en toxicologie, se dit des transformations biochimiques des xénobiotiques au niveau hépatique. On distingue les biotransformations de phase I et de phase II (nous y revenons dans ce support). Ces biotransformations donnent des métabolites.

Carbure : nom générique des composés binaires contenant du carbone. Exemple : carbure de bore B_6C , carbure de manganèse CMn_3 .



CAS : Chemical Abstracts Services. Le numéro CAS attribuée à une substance s'accompagne d'une fiche sur ses propriétés. Exemple du mercure Hg : son numéro CAS est le 7439-97-6.

Cis : quand deux substituants d'un cycle sont situés du même côté de la configuration, on parle de diastéréo-isomère cis. Exemple : *cis*-1,2-Diméthylcyclopropane. Voir énantiomères.

Chaîne : mode de représentation de certaines formules développées sur un plan. Les atomes sont disposés les uns à la suite des autres, unis par leurs valences présumées.

Covalent : avec un électron en commun.

Cyclique : se dit plus particulièrement d'un composé renfermant au moins une chaîne fermée ou un noyau.

Demi-vie : temps au bout duquel, après qu'un composé soit entré dans l'organisme, la moitié de la dose de départ est éliminée. Elle se note T/2.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010



EINECS : European INventory of Existing Commercial chemical Substances (inventaire européen des substances chimiques commerciales existantes). Le numéro EINECS attribuée à une substance s'accompagne d'une fiche sur ses propriétés. Exemple du mercure Hg : son numéro EINECS est le 231-106-7.

Enantiomères : molécules images l'une de l'autre dans un miroir (dites spéculaires), mais non superposables. Du fait de cette asymétrie au niveau moléculaire, les formes R (droite) ou S (gauche) d'une molécule, par exemple un médicament, peuvent avoir des effets physiologiques différents voire antagonistes.

Endocytose : formation d'une vésicule par invagination puis pincement de la membrane plasmique. On parle de phagocytose pour les corps étrangers solides et de pinocytose pour les corps étrangers liquides.

Exocytose : fusion d'une vésicule interne avec la membrane.

Fonction : effet d'un groupement d'atomes. Exemple : la fonction alcool -OH liée à la présence du groupement oxygène-hydrogène dans une molécule, donne lieu à des réactions spécifiques (formation d'esters avec les acides, etc.). Voici quelques fonctions :

Fonction	Formule
Alcool, phénol	-OH
Aldéhyde	-(C)HO
Amide	-(C)ONH ₂ -CONH ₂
Amine	-NH ₂
Carboxyle	-(C)OOH -COOH
Cétone	-CO-
Ester	-(C)OOR -COOR
Imine	=NH
Nitrile	-(C)N -CN
Sulfonyle	SO ₂ ⁻
Thiol	-SH

Hétéroatome : atome d'une molécule organique, différente du carbone et de l'hydrogène et non métallique. Exemples : azote, oxygène, phosphore, soufre.

Hétérocyclique : hydrocarbure dont le cycle carboné comprend un ou des hétéroatomes (N, O, S). Préfixes : Aza-, Oxa-, Thia-.

Hydrocarbure : carbure hydrogéné.

Hydrophilie : propriété d'une molécule ayant des affinités avec l'eau (par opposition aux lipides).

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Isomère : deux molécules avec la même formule brute, mais des formules semi-développées ou développées différentes.



In silico : expression née de « silicium », élément avec lequel sont fabriqués les semi-conducteurs des ordinateurs. Qualifie les recherches menées grâce à l'outil informatique.

In vivo : du latin « au sein du vivant ». Qualifie les recherches menées sur un organisme vivant.

In vitro : du latin « dans le verre ». Qualifie les recherches menées en dehors d'un organisme vivant.

Insaturés : en chimie organique, les composés insaturés sont ceux dont le nombre total d'atomes est inférieur à celui que l'on peut déduire de la valence maximale de chacun des atomes constitutifs prise individuellement. En d'autres termes, d'autres liaisons sont possibles.

Isotope : chacun des différents types d'atomes d'un même élément, différents par leur nombre de neutrons mais ayant le même nombre de protons et d'électrons, et possédant donc les mêmes propriétés chimiques. Exemple : l'uranium 235 et l'uranium 238 dont le premier a 143 neutrons et le second 146.



Kow : coefficient de partage n-octanol-eau d'un composé organique. On met dans un récipient des volumes égaux d'eau et de n-octanol (un alcool gras, donc non miscible à l'eau) ainsi qu'une petite quantité de la substance à tester. On agite et on mesure la concentration de la substance dans chacune des deux phases. Le coefficient de partage est **log** (concentration dans le n-octanol/concentration dans l'eau). Cet indice détermine la lipophilie ou l'hydrophilie d'une molécule. Il permet d'estimer les effets écotoxicologiques potentiels d'un polluant, car il existe une corrélation entre la liposolubilité d'une molécule (entraînant un stockage dans les tissus adipeux) et ses aptitudes à sa bioconcentration voire à sa bioamplification dans les écosystèmes. On peut aisément trouver sur Internet des études sur le Fipronil qui illustrent ces phénomènes.

Liaison : mode d'attachement des atomes de la molécule. On distingue les liaisons métalliques, ioniques ou polaires, homopolaires ou covalentes, résiduelles ou de Van der Waals. La capacité à former des liaisons covalentes, donc fortes, est une propriété très importante en toxicologie. Il existe **cinq types de liaison** :

- trois fortes ;
- deux faibles.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Liaisons fortes	Liaisons faibles
↓	↓
Interactions entre charges positives et négatives	Interactions entre dipôles électriques

Liaisons fortes

Liaison covalente : interaction entre des électrons mis en commun et les noyaux des atomes voisins, entourés de leurs électrons de cœur. Energies de rupture de la liaison exprimées en kilojoules par mole :

- simple C-C : 350 kJ mol^{-1} ;
- double C-C : 615 kJ mol^{-1} ;
- triple C-C : 950 kJ mol^{-1} .

Liaison organique : interaction entre anions, par exemple Cl^- , et cations, par exemple Na^+ .

Liaison métallique : interaction entre un bande d'électrons délocalisés dans un nuage électronique commun et les cations métalliques ou atomes ionisés, localisés sur les sites de la structure.

Liaison(s) faible(s)

Liaison de Van der Waals : interaction entre dipôles électriques (dipôle : ensemble de deux charges de signes contraires mais de même valeur).

Lipophilie/Liposolubilité : propriété d'une molécule ayant des affinités avec les lipides.

Métabolite : produit de la transformation d'une substance par l'organisme.

Métallique : les éléments dits métalliques sont classés en bas à gauche du tableau de Mendeleïev. Ils sont séparés des éléments non métalliques (en haut à droite) par la diagonale qui va du bore B au polonium Po.

Métaux trace toxiques : expression désignant le cadmium Cd, le mercure Hg, le plomb Pb, etc. et tendant à remplacer l'expression « métaux lourds ».

Micromètre : unité de longueur du système métrique valant 0,001 millimètre (10^{-6} m). Son symbole est : μm .

Moment : produit de l'une des charges d'une molécule dipôle par leur distance mutuelle (bras du dipôle). Les molécules dont le moment électrique est différent de zéro sont dites polaires ; dans le cas contraire, elles sont dites apolaires.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010



Phrases de risque : annotations présentes sur les étiquettes de produits chimiques pour mettre en garde les utilisateurs des risques encourus (contact, ingestion, inhalation, etc.) et définies dans l'annexe II de la **directive européenne 67/548/EEC du 27 juin 1967** (mise à jour avec la directive européenne 2001/59/EC du 6 août 2001). Les phrases de risque se présentent sous la forme suivante : la lettre « R » suivie d'un ou de plusieurs nombres. Exemples : R20 (nocif par inhalation), R21 (nocif par contact avec la peau), R22 (nocif en cas d'ingestion), R23 (toxique par inhalation), R24 (toxique par contact avec la peau), R25 (toxique en cas d'ingestion), R26 (très toxique par inhalation), R27 (très toxique par contact avec la peau), R28 (très toxique en cas d'ingestion), R45 (peut provoquer le cancer), R46 (peut provoquer des altérations génétiques héréditaires), R48 (risques d'effets graves sur la santé en cas d'exposition prolongée) et R49 (peut provoquer le cancer par inhalation). A noter : il existe également des combinaisons de phrases de risque. Exemple : R20/21 (nocif par inhalation et par contact avec la peau).

Polaire : se dit des composés dont la formation correspond à un transfert d'électrons (électrovalence).



PM₁₀ : de l'anglais *Particulate matter*. Fines particules solides et/ou liquides aéroportées dont le diamètre aérodynamique (ou diamètre aéraulique) est inférieur à 10 micromètres.

PM_{2,5} : de l'anglais *Particulate matter*. Fines particules solides et/ou liquides aéroportées dont le diamètre aérodynamique (ou diamètre aéraulique) est inférieur à 2,5 micromètres. Ce sont des particules dites fines.

Organique : à base de carbone. La chimie dite organique traite des molécules à base de carbone et d'hydrogène.

Oxydation : perte d'un ou de plusieurs électrons.

Radical : groupement d'atomes caractérisant une fonction ayant une valeur propre et pouvant se déplacer tout d'une pièce d'une combinaison à une autre.

Radical libre : radical présentant une existence effective, c'est-à-dire susceptible d'exister pendant un temps appréciable dans les milieux chimiques. L'état fondamental est généralement le doublet (deux liaisons).

Réduction : gain d'un ou de plusieurs électrons.

Saturé : se dit d'une molécule qui ne peut plus se lier avec d'autres atomes ou molécules. La saturation dépend de la valence.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010



Spéciation chimique : distinction entre les différentes formes de liaisons possibles (espèces) d'un élément donné.

Spéciation biochimique : approche toxico chimique de la toxicologie où la toxicité va résulter de la réactivité des espèces chimiques et de l'interaction avec les cibles cellulaires. Il faut préciser de quelle espèce chimique on parle, sachant que les composés inorganiques sont souvent moins toxiques que les espèces organométalliques (c'est par exemple dans cette famille qu'on trouve les composés alkylés les plus toxiques).

Toxicocinétique : qui a trait au « comportement » du xénobiotique dans l'organisme : dans quel(s) département(s) (organe, os...) va-t-il ?

Toxicodynamique : qui a trait aux atteintes portées par un xénobiotique à l'organisme.

Toxique : substance qui porte préjudice à la santé. Elle peut être naturelle (suc d'une baie, venin d'un insecte, d'un serpent...) ou de synthèse. En toxicologie, on distingue le toxique direct, le toxique indirect et le toxique proximal. Le **toxique direct** est un composé réactif sans métabolisation (il n'est pas transformé par le corps humain). Le **toxique indirect** est un composé réactif après métabolisation (il devient alors un toxique ultime). Le **toxique proximal** est un métabolite non toxique qui après métabolisation devient un métabolite toxique.

Trans : lorsque les deux substituants d'un cycle sont situés d'un côté différent de la configuration, on parle de diastéréo-isomère trans. Exemple : le *trans*-1,2-diméthylcyclopropane.

Valence : nombre possible d'atomes d'une nature donnée qui peuvent se lier chimiquement à un atome. Exemple : le carbone C est tétravalent, ce qui signifie que quatre atomes peuvent s'y fixer.

Valence des principaux atomes de la classification périodique

Monovalence	Divalence	Trivalence	Tétravalence
Br, Cl, F, H, I, K, Li, Na, Ni...	Be, Ca, Mg, O, S...	Al, B, N, P...	C Si...

La méthode la plus simple pour déterminer la valence est celle de Lewis. Elle nécessite la connaissance du nombre d'électrons de l'atome et leur répartition (configuration électronique). La valence de chaque atome peut aussi être déterminée par la classification périodique de Mendeleïev.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010



Xénobiotique : du grec ancien ξενος « étranger » et βιος « vie ». Substance étrangère à l'organisme vivant. Les mécanismes d'action des toxiques sont multiples : destruction cellulaire au point de contact, action sur la phase pulmonaire de la circulation, action sur la phase circulatoire de la circulation, action sur la moelle osseuse (C_6H_6 , radiations ionisantes...), action par combinaison avec le calcium Ca (acide fluorhydrique HF, acide oxalique $C_2H_2O_4$ et leurs sels, éthylène glycol $C_2H_6O_2$...), action sur le **système nerveux central** ou **SNC** (encéphale, cerveau, tronc cérébral, cervelet, moelle épinière, nerfs crâniens I et II), action sur le système nerveux neurovégétatif (insecticides organochlorés).

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

INTRODUCTION

Nous sommes chaque jour exposés à des xénobiotiques (et pas uniquement les fumeurs !), que ce soit dans le cadre d'une activité professionnelle, dans la rue ou chez soi (composés organiques volatiles, formaldéhyde, retardateurs de flamme bromés, etc.)

On distingue trois **voies d'exposition** : respiratoire, orale et cutanée.



En expérimentation animale, on ne parle pas de voie d'exposition, mais de **voie d'administration** pour souligner qu'il s'agit d'un acte délibéré.

Ce n'est qu'après une exposition, c'est-à-dire un **contact** avec l'organisme, qu'une molécule *peut* y pénétrer. C'est ce contact qui va le cas échéant déplacer le scénario du **danger** au **risque**. Un exemple simple : celui des crèmes dermatologiques. Elles contiennent un **excipient** (huile végétale, etc.) pour leur permettre de mieux pénétrer dans la peau. Il est donc évident que si elles contiennent une substance toxique, celle-ci va pénétrer dans l'organisme.

Pour ne pas alourdir ce support, nous nous arrêterons surtout sur les voies d'exposition respiratoire et cutanée (la voie dite parentérale, peu fréquente, ne sera pas abordée).

LA VOIE RESPIRATOIRE



En milieu industriel, il s'agit de la principale voie de pénétration pour les produits chimiques : aérosols, gaz, poussières, vapeurs.

Il s'agit d'un modèle à trois **compartiments** : naso-pharynx, trachée, arbre bronchique...et le compartiment pulmonaire proprement dit (bronchioles respiratoires et alvéoles).

Avant d'aller plus loin, un peu de physiologie n'est pas superflu.

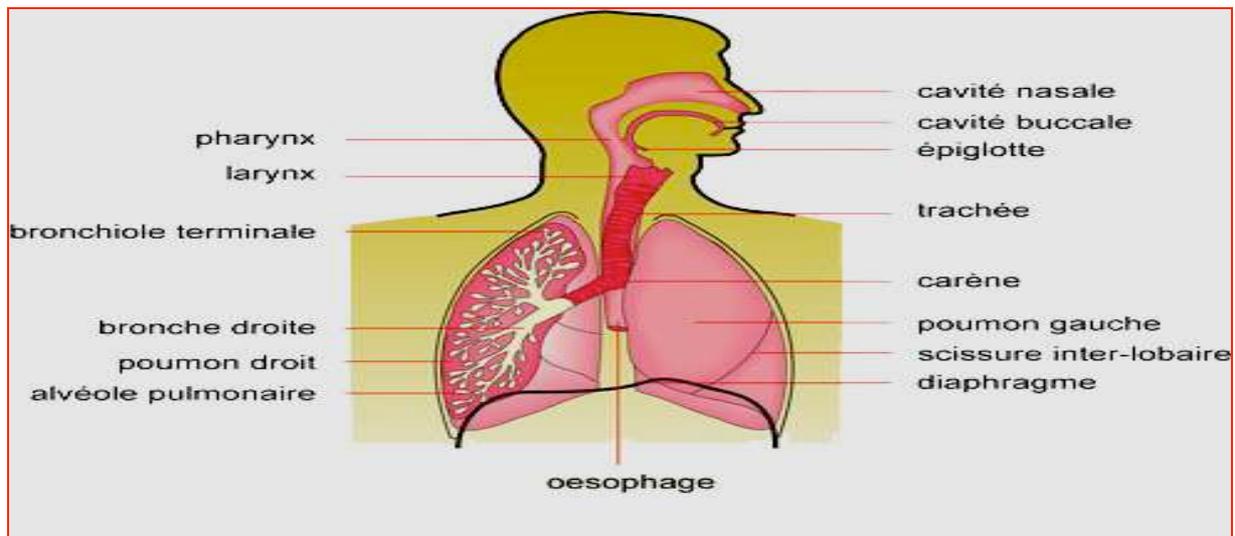


Illustration 4 : l'appareil respiratoire

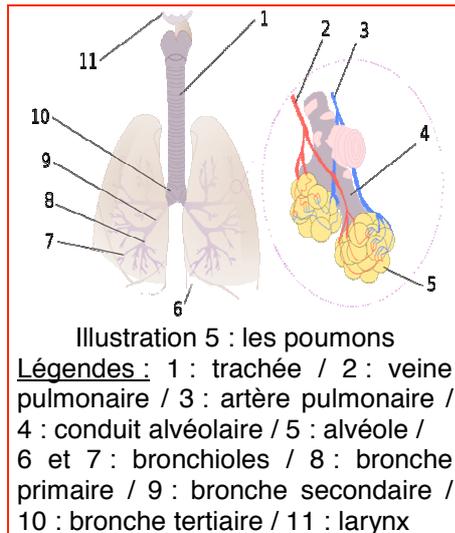
Le développement de l'appareil respiratoire s'effectue jusqu'à l'adolescence. Il comprend :

- les **voies aériennes supérieures (VARS)** : nez, bouche, pharynx, larynx ;
- les **voies aériennes inférieures (VAI)** : trachée, bronches, bronchioles.

Les **fosses nasales** constituent la principale porte d'entrée de l'appareil respiratoire. Lorsque l'air y pénètre, il est réchauffé, nettoyé et humidifié. Les poils situés à l'entrée du nez retiennent les poussières et les particules en suspension, tandis que les cils logés dans la muqueuse des fosses nasales évacuent les particules à l'extérieur. Ce processus de filtration se poursuit jusqu'aux poumons, organes enveloppés d'une membrane étanche appelée **plèvre**.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010



Le **poumon droit** est formé de trois lobes et de millions d'alvéoles où ont lieu les échanges gazeux.

Le **poumon gauche**, plus petit, est formé de deux lobes et d'autant d'**alvéoles**.

Le tissu pulmonaire comprend entre 300 et 600 millions d'alvéoles (ce nombre est fixé à l'âge de deux ou trois ans).

La surface d'échange des alvéoles d'un homme adulte moyen est de 80 m².

Le muscle principal de la respiration est le **diaphragme**. Il sépare la **cavité abdominale** de la **cavité thoracique**. Lorsque nous inspirons, il s'aplatit et descend. Lorsque nous expirons, il se relâche et remonte.

Un adulte possède une capacité respiratoire comprise entre trois à quatre litres d'air. Au repos, il respire 12 à 15 fois par minute (jusqu'à 25 fois en cas d'activité physique intense).

Au cours d'une **inspiration** (le gaz entre), les poumons se gonflent d'un demi-litre d'air. C'est ce qu'on appelle la **respiration externe**.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Le **cœur**, muscle enveloppé par le **péricarde**, agit tel une pompe automatique.

Il recueille le sang oxygéné venant des poumons, puis se contracte pour le chasser de son **ventricule gauche** vers l'aorte puis les artères : c'est la **systole**.

Ensuite, il se remplit à nouveau de sang : c'est la **diastole**.

Le **débit sanguin** varie en fonction de l'activité physique du sujet. Au repos, cinq à six litres de sang sont propulsés dans l'aorte. En cas d'effort physique intense, on passe à 20 litres par minute chez un adulte, voire 35 litres chez les sportifs de haut niveau.

Le **sang artériel** chargé en dioxygène O₂ et en nutriments – voire en xénobiotiques – irrigue ensuite tout l'organisme.

Il gagne ensuite les veines (on parle de sang veineux) et arrive dans les **veines caves** au niveau de l'**oreillette droite** : c'est la **grande circulation** (ou circulation systémique).

De l'oreillette, le sang veineux passe dans le **ventricule droit**, d'où il est projeté dans les artères pulmonaires. Grâce aux capillaires pulmonaires, il revient ensuite dans l'oreillette gauche : c'est la **petite circulation** ou (circulation pulmonaire).

Les **échanges gazeux** entre le sang et les organes s'effectuent grâce aux **capillaires sanguins** : c'est la **respiration interne**. Les tissus relâchent du CO₂ et des déchets métaboliques (créatinine, urée...) qui seront éliminés lors du passage du sang par les **reins**.

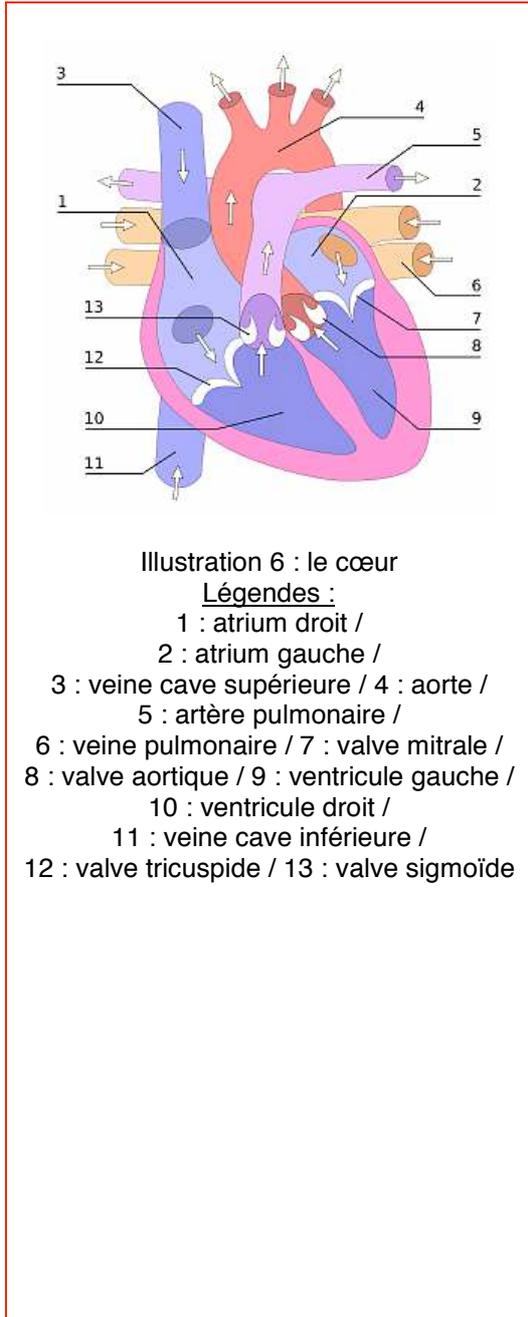


Illustration 6 : le cœur

Légendes :

- 1 : atrium droit /
- 2 : atrium gauche /
- 3 : veine cave supérieure / 4 : aorte /
- 5 : artère pulmonaire /
- 6 : veine pulmonaire / 7 : valve mitrale /
- 8 : valve aortique / 9 : ventricule gauche /
- 10 : ventricule droit /
- 11 : veine cave inférieure /
- 12 : valve tricuspide / 13 : valve sigmoïde

Pour bien fixer les idées, il faut connaître le volume d'air inhalé :

- 10 m³ dans des conditions standard ;
- 6 litres au repos ;
- jusqu'à 60 (voire 80) litres par minute en cas d'effort intense.

L'exposition de l'organisme aux xénobiotiques va dépendre de la concentration C multipliée par le temps T où :

- C = concentration dans l'air ambiant ;
- T = temps d'exposition.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

L'intoxication par voie respiratoire est grave dans la mesure où la ventilation est un phénomène obligatoire et qu'on observe une diffusion rapide des xénobiotiques dans l'organisme (exemple : les solvants).

Par ailleurs, l'intoxication n'est pas toujours suspectée. Ainsi, le monoxyde de carbone CO est un gaz inodore, incolore, insipide, non irritant et dont la densité est proche de celle de l'air. Quant aux solvants (cétones, dérivés benzéniques, éthers, esters), ils ont parfois une odeur agréable qui n'est pas de nature à nous alerter. A ce titre pour certains produits, comme le tétrachlorométhane CCl₄, le seuil olfactif (90 **particules par million** ou **ppm**) est très largement supérieur au seuil de toxicité (2 ppm). En bref : une odeur agréable n'est pas synonyme d'innocuité (de même qu'une odeur désagréable n'est pas synonyme de danger).

On peut observer une toxicité au niveau des bronches, des bronchioles et des alvéoles.

Le **parenchyme pulmonaire** se répare mal, car il y a des mouvements et des échanges gazeux en permanence, donc la cicatrisation est quasiment impossible (voir les séquelles des soldats exposés aux gaz de combat comme l'ypérite pendant la première guerre mondiale)¹.

Pénétration et effets des gaz

La pénétration des gaz est déterminée par la **solubilité**, le **débit sanguin**, le **gradient de pression partielle** du gaz entre les alvéoles et le sang veineux ainsi que la **ventilation pulmonaire**.

Gaz hydrosoluble	Gaz liposoluble
<p>Les liquides recouvrant les voies respiratoires sont majoritairement aqueux</p> <p style="text-align: center;">▼</p> <p>Les gaz hydrosolubles (dioxyde de soufre SO₂, formaldéhyde CH₂O, etc.) vont être arrêtés</p> <p style="text-align: center;">▼</p> <p>Expression d'une toxicité locale</p>	<p>Les gaz liposolubles vont être arrêtés plus bas, au niveau des bronches et des bronchioles</p> <p style="text-align: center;">▼</p> <p>Pathologies plus profondes avec parfois une action toxique contre les macrophages</p>

L'évaluation de la quantité résorbée par voie respiratoire est donnée par la formule suivante : **V.t.Cm.r** où : V (surmonté d'un point) correspond à la ventilation en litres par minute, T correspond au temps d'exposition en minutes, Cm correspond

¹ Parenchyme : parties fonctionnelles d'un organe (néphron dans les reins, alvéoles dans les poumons, etc.) par opposition au stroma.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

à la concentration moyenne dans l'air ambiant et r correspond au **coefficient de rétention** (variable en fonction des produits et des individus)².

Particules

Dans le cas des particules, outre la solubilité, le débit sanguin, le gradient de pression partielle du gaz entre les alvéoles et le sang veineux et la ventilation pulmonaire, il faut prendre en compte leurs propriétés physiques :

- diamètre (déterminé par la granulométrie) ;
- densité ;
- charge ;
- forme.

Diamètre	Pénétration	Localisation	Effets
> 30 μm	Rare		Locaux
1 à 5 μm	Par impact Par sédimentation	Arbre trachéo-bronchique (où la vitesse de l'air est plus faible)	
< 1 μm	Par diffusion	Dans les alvéoles (où la vitesse de l'air est nulle)	Pneumoconiose si présence de poussières dans les voies respiratoires inférieures et les alvéoles

Certaines particules vont être éliminées assez facilement. En effet, l'organisme est doté d'un mécanisme de défense très efficace : le **transport muco-ciliaire**.

L'**épithélium** respiratoire est recouvert de **mucus** (principalement sécrété par les cellules glandulaires bronchiques). Il s'agit d'un « tapis liquide » qui va piéger les particules.

² Si on mentionne la **CL50** (concentration létale médiane), il est impératif d'attribuer une valeur à T. Pour certains gaz comme le phosgène, C x T est une constante appelée K, mais ce concept est uniquement valable pour des expositions limitées. Par ailleurs, la concentration dans l'air ambiant C, par exemple dans un local confiné sans ventilation, ne permet pas de définir la dose interne du xénobiotique étudié.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Grâce aux mouvements continus des **cellules ciliées** (600 par minute), les microorganismes, poussières et particules vont être piégés, mais ils vont remonter vers le **carrefour aérodigestif** puis déglutis. Conséquence : nous allons avoir des produits inhalés, mais résorbés au niveau du tube digestif.

D'autres particules sont phagocytées par les **macrophages** (et peuvent être hydrolysées par le système lysosomal des macrophages).

Ce système appelé **clairance muco-ciliaire** n'est pas infallible : des particules peuvent traverser des **pneumocytes** par **pinocytose**. En outre, une fraction des particules peut pénétrer dans la circulation systémique : c'est le principal mécanisme d'absorption pulmonaire.

A – Effets généraux par voie respiratoire

On peut observer de nombreux effets par voie respiratoire, avec des conséquences plus ou moins graves.

L'aluminium Al, le calcium Ca, l'ozone O₃, les dioxydes d'azote NO_x et le tabac sont responsables d'**emphysème**.

Certains produits comme l'arsenic As et les caustiques sont responsables d'une irritation locale qui peut se traduire par une **bronchostriction** (d'où une mauvaise oxygénation de l'organisme), un **œdème** et une **dyspnée**.

Le phosgène COCl₂, va quant à lui donner du CO₂ et de l'acide chlorhydrique HCl au contact de la muqueuse, tandis que le béryllium Be et le nickel Ni vont entraîner des lésions cellulaires par **péroxydation membranaire**.

Le **syndrome de Mendelson**, observé lors d'accidents voire de tentatives de suicide, désigne une inhalation avec un pouvoir couvrant important. L'intoxication se traduit par des vomissements avec perte du réflexe de déglutition ou « fausse route » avec la formation d'une pellicule sur les cellules, pellicule qui va gêner les échanges gazeux O₂/CO₂, et parfois une destruction des cellules respiratoires.

Tout aussi grave est l'envahissement liquide du poumon appelé **œdème aigu du poumon** ou **OAP** dû au chlore Cl, aux produits corrosifs et aux pesticides organochlorés.

Ces derniers ont la propriété d'inhiber une enzyme dont le rôle est fondamental pour le bon fonctionnement de l'organisme : l'**acétylcholinestérase** ou **AchE** qui dégrade normalement l'acétylcholine en 10⁻⁶ secondes.

Par conséquent, les pesticides organochlorés peuvent entraîner une accumulation d'AchE pendant une durée d'une semaine (le traitement consiste à l'injection d'atropine et d'oxines qui vont rompre les liaisons des xénobiotiques avec leurs sites de fixation).

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

On observe deux types d'effet :

Muscarinique	Nicotinique
Hyperstimulation des récepteurs cholinergiques avec augmentation d'acétylcholine et dégradation Sueurs, larmolements, diarrhée, bronchorrhée, bradycardie, myosis, vomissements	Action au niveau des jonctions neuromusculaires ▼ Paralyse ▼ Tachycardie, HTA, fasciculations

De façon générale, on observe une hypoventilation ou une hyperventilation.

Hypoventilation	Hyperventilation
Inhibition des bulbes Atteinte neuromusculaire Destruction des voies aériennes <u>Exemples :</u> Anesthésiques Dépresseurs Morphinomimétiques (opiacés) Narcotiques (éthanol, solvants)	<u>Exemples :</u> CO ₂ Salicylés

A noter : une toux puissante peut entraîner une déchirure de l'arbre bronchique (intoxications par dichlore Cl₂, COCl₂, hydrogène sulfuré H₂S).

B – Effets locaux par voie respiratoire

- Fosses nasales : carcinomes (poussières de bois, oxyde et sulfure de nickel...) / congestion / irritation (produits caustiques, poussières)
- Larynx : carcinomes (amiante, chrome hexavalent Cr6...)
- Trachée/bronches : **bronchite chronique** (polluants atmosphériques) / irritation (aldéhyde, dioxyde de soufre, toluène C₇H₈...)³

³ Bronchite chronique : expectoration quotidienne plus de trois mois par an depuis plus de deux années consécutives. Elle est surtout observée en zone urbaine/industrialisée et débute généralement entre 30 et 60 ans. Elle est quatre fois plus fréquente chez les hommes que chez les femmes (tabagisme associé). Elle induit une diminution du diamètre des bronches, d'où une mauvaise oxygénation du sang et une dyspnée.

**INITIATION A LA TOXICOLOGIE
FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010**

LA VOIE ORALE

Il s'agit bien entendu d'une voie majeure en toxicologie nutritionnelle et d'une voie d'exposition importante en santé environnementale. Cependant, nous ne nous y attarderons pas dans la mesure où cette introduction à la toxicologie porte essentiellement sur les mécanismes physico-chimiques des xénobiotiques.

		Facteurs facilitant l'absorption
Bouche		
Estomac	Acides faibles	
Intestin		Constante de dissociation Liposolubilité de la forme non dissociée pH Stabilité des substances Interactions avec le bol alimentaire Débit sanguin du tube

LA VOIE CUTANEE

Il s'agit de la deuxième voie de pénétration des produits chimiques.

Il faut distinguer la **voie transdermique** et la **voie poli-cébacée**.

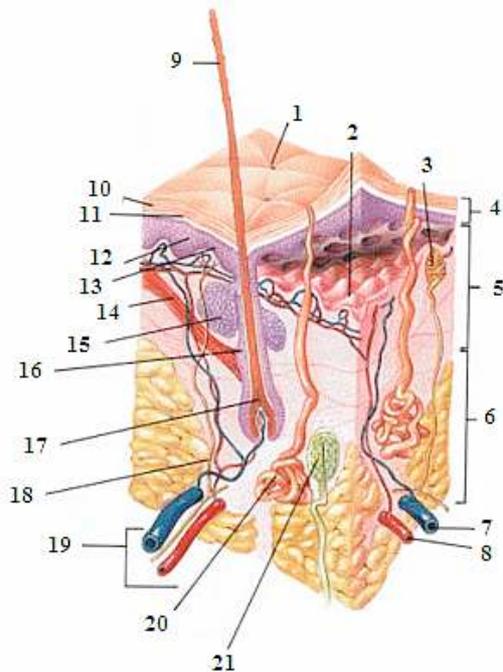


Illustration 7 : la peau

Légendes :

- 1 : pore de transpiration / 2 : jonction dermo-épidermique / 3 : terminaison nerveuse / 4 : épiderme / 5 : derme / 6 : hypoderme / 7 : veine / 8 : artère / 9 : poil / 10 : cornée / 11 : couche pigmentée / 12 : kératocytes / 13 : mélanocytes / 14 : muscle érecteur du système pileux / 15 : glande sébacée / 16 : follicule pileux / 17 : bulbe / 18 : nerf / 19 : système lymphatique et vasculaire / 19 : glande sudoripare eccrine / 20 : corpuscule de Paccini

Voie transdermique	Voie poli-cébacée
Surface de contact 1000 à 10 000 fois plus importante	Pénétration <u>rapide</u>
Pénétration <u>lente</u>	

La solubilité des toxiques liposolubles est supérieure à celle des toxiques hydrosolubles.

D'autres facteurs physico-chimiques sont déterminants pour la pénétration des xénobiotiques :

- durée du contact ;
- poids moléculaire ;
- degré de dissociation ;
- présence de solvants ou d'adjuvants ;
- température ;
- degré d'hydratation ;
- pH de la peau ;
- site cutané (importance de la couche cornée) ;
- circulation périphérique (principalement pour les produits traversant la couche cornée rapidement).

LE TRANSPORT DES XENOBIOTIQUES

Après pénétration dans l'organisme, les xénobiotiques sont transportés par le **sang**, puis amenés vers les organes avant échanges avec les tissus et cellules.

Le sang

Le corps humain contient environ **cinq litres de sang** composé de **plasma** (liquide), de **cellules** et de plaquettes appelées **thrombocytes**, lesquelles agissent au niveau de la coagulation sanguine.

Parmi les cellules sanguines, il faut distinguer d'une part les **globules rouges** (appelés **hématies** ou **érythrocytes**) qui transportent l'oxygène dans l'organisme et d'autre part les **globules blancs** (ou **leucocytes**).

Les leucocytes comprennent des **granulocytes** et des **lymphocytes**, ces derniers étant divisés entre **lymphocytes B** et **lymphocytes T**.

Rappel sur les érythrocytes

La production d'érythrocytes se fait à partir de cellules de la **moelle osseuse** rouge des os. Des cellules souches, les **hémocytoblastes** engendrent des proérythroblastes qui deviennent les **érythroblastes basophiles** synthétisant l'**hémoglobine** ou **Hb**.

Ceux-ci se différencient ensuite en érythroblastes polychromatophiles qui deviennent des normoblastes. Quand le contenu d'Hb dans le cytoplasme des normoblastes atteint 34%, le noyau est éliminé. Il en résulte des réticulocytes qui se transforment en érythrocytes. Ce processus, qui nécessite de la vitamine B9 et de la vitamine B12, est appelé l'**érythropoïèse**.

Le contrôle de la production d'érythrocytes fait intervenir une substance appelée érythropoïétine produite par les reins.

Il est bien entendu inutile de retenir ce paragraphe ! Par contre, il est toujours bon de savoir que les érythrocytes sont des cellules sans noyau (on dit **anucléées**) qui synthétisent peu de protéines et que le sang n'est pas le même de la naissance à la mort dans la mesure où la durée de vie des érythrocytes n'est que de 120 jours.

Le transport des xénobiotiques dans le sang s'effectue sous deux formes : forme libre et forme liée.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE
FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Forme libre				Forme liée	
Fraction hydrosoluble (dissoute dans la phase aqueuse du sang)				Fraction liposoluble OU insoluble dans le sang (fixée sur certains constituants sanguins)	
Substances hydrosolubles +++		Substances liposolubles ionisées		↓	↓
Neutres	Ionisables (formation d'ions à partir de molécules ou d'atomes neutres)	Acides	Basiques	Protéines plasmatiques : Albumine (principal transporteur) Globulines	Fibrinogène Cellules sanguines : GR, etc.

 **Forme libre** : la seule diffusible à travers les membranes biologiques, donc celle qui nous intéresse en priorité !

 **Forme liée** : la fixation des xénobiotiques sur leurs transporteurs fait intervenir des **liaisons de faible énergie**, c'est-à-dire qui nécessitent peu d'énergie pour être rompues : liaisons électrostatiques, hydrogène, hydrophobes, de Van der Waals, etc. Elles sont donc réversibles.

Il faut distinguer les **liaisons spécifiques** des **liaisons non spécifiques**, selon que la substance S est acide, neutre ou basique.

Liaison spécifique					Liaison non spécifique				
↓ S. acide	<i>OU</i>	↓ S. neutre	<i>OU</i>	↓ S. basique	↓ S. acide	<i>ET</i>	↓ S. neutre	<i>ET</i>	↓ S. basique
					Exemple : l'albumine				

NB : les formes libres et liées sont en équilibre constant dans le sang.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Equilibre des formes libres et liées

$$\text{rapport} \frac{\text{forme liée}}{\text{formes libres (M) + formes liées (M-Prot)}}$$

De multiples facteurs agissent sur cet équilibre, notamment :

- la nature du xénobiotique ;
- l'espèce animale considérée ;
- les phénomènes de compétition entre les différents composés susceptibles de se lier au même transporteur ;
- différents facteurs pathologiques.

Par ailleurs, on peut assister à des phénomènes dits de **saturation**, variables selon les substances :

S. neutres OU basiques	Acides faibles	Bases faibles
<p>↓</p> <p>rare car les protéines plasmatiques possèdent de nombreux groupements hydrophobes ou chargés négativement aptes à leur transport)</p>	<p>↓</p> <p>très importante (> 90%)</p>	<p>↓</p> <p>moyenne (30% > saturation < 40%)</p>

NB : en raison de la saturation possible des sites de fixation des protéines plasmatiques par les acides, les molécules en excès se trouvent sous forme active et diffusible dans le sang, donc pour les acides, le taux de fixation des xénobiotiques est inversement proportionnel à leur concentration plasmatique.

L'HEMOTOXICITE

On dénombre plusieurs mécanismes de toxicité du sang ou **hémotoxicité** :

- la destruction des hématies ou **hémolyse** ;
- l'oxydation du fer ferreux Fe^{++} de Hb en fer ferrique Fe^{+++} impropre au transport de l'oxygène : c'est la **méthémoglobinémie** ;
- la diminution du taux d'Hb : c'est l'**anémie** (par exemple dans le cas d'une intoxication au plomb Pb).

Il faut ajouter à ces trois mécanismes la substitution de l'oxygène par un xénobiotique (intoxications au monoxyde de carbone CO).

Par ailleurs, même s'il ne s'agit pas d'un mécanisme d'hémotoxicité proprement dit, certains composés comme les cyanures ont des effets sur des enzymes de type CYP en empêchant l'utilisation cellulaire de l'oxygène.

Enfin, il faut savoir que les xénobiotiques peuvent perturber les lignées d'érythrocytes, leucocytes, thrombocytes ainsi que les facteurs de coagulation (glycoprotéines synthétisées par le foie avec ou sans intervention de la vitamine K).

Afin de ne pas alourdir ce texte, soulignons simplement que ces effets peuvent se traduire par une augmentation ou une diminution de ces lignées.

L'hémolyse

Sous cette appellation générique, on retrouve plusieurs scénarii. Tous ne relèvent pas de la toxicologie, mais il est important de savoir que l'hémolyse n'est pas systématiquement liée à une exposition à un xénobiotique.

Déficit en G6PD

Il s'agit d'un mécanisme biochimique important étant donné que la G6PD permet la régénération de la GSH, laquelle est indispensable pour certaines enzymes comme la glyceraldéhyde 3 phosphodéshydrogénase et les hexokinases, mais également pour le maintien de groupements sulfhydryl dans l'hématie ET la membrane.

Des traitements (aspirine, antipaludéens, isoniazide, etc.) sont responsables de toxicité par réduction. L'oxydation du GSSG entraîne une hémolyse.

Déficit d'autres enzymes

On peut citer à titre d'exemple un déficit de G réductase (héréditaire voire acquis et associé à une carence en riboflavine) ou un déficit en G synthétase.

Défaut de membrane

Le défaut de membrane le mieux documenté est la sphérocytose. Nous ne le détaillerons pas ici, car il s'agit d'une anomalie relevant davantage de la médecine.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Anomalies de l'hémoglobine

La plus connue des anomalies de Hb est sans doute l'Hb en forme de « S » due au remplacement de l'acide glutamique $C_5H_9NO_4$ en 6 du N de la chaîne B par la valine. La forme désoxydée est la plus sensible avec la formation de cristaux qui déforment l'hématie.

Quand on parle d'hémolyse, il faut distinguer l'**hémolyse à répétition** ou continue (rapide) et l'**hémolyse chronique**.

Hémolyse continue	Hémolyse chronique
On observe une hyperplasie du tissu érythropoïétique avec une augmentation importante des réticulocytes circulants jusqu'à 30% (contre 2% en temps normal)	On observe une augmentation de l'activité du système réticulo-endothélial avec une augmentation du volume de la rate ou splénomégalie

Au nombre des toxiques hémolytiques à action directe, on peut citer : l'acétylphénylhydrazine, l'alcool isopropylique, l'amphotéricine B, le butoxyéthanol, le dinitrobenzène, l'hydrogène arsénié, l'hydroquinone, le méthyl-dopa, le naphthalène, la nitroaniline, la phénylhydrazine, le résorcinol et... l'eau (par voies parentérales).

C'est dans cette catégorie qu'on va principalement retrouver les polluants industriels.

Arrêtons-nous un instant sur le cas de l'hydrogène arsénié AsH_3 .

Il s'agit d'un gaz réducteur beaucoup plus dense que l'air obtenu par hydrogène naissant (ou de l'eau) avec des arséniures.

Il est utilisé dans la fabrication d'appareils électroniques.

Sa toxicité est très élevée puisque 20% à 25% des sujets exposés décèdent. Une concentration de 100 ppm dans l'air ambiant entraîne la mort en quelques minutes tandis qu'une concentration de 2 ppm se traduira par une intoxication dans les deux à trois heures qui suivent l'exposition.

Les premières manifestations de l'intoxication (symptomatologie) varient en fonction des quantités inhalées. Le plus souvent, on note un malaise général (syndrome pseudo grippal), une oppression thoracique, des céphalées, des vertiges, de frissons, des douleurs abdominales, des brûlures du visage et des troubles à l'encéphalographie ou ECG.

Si l'hémolyse est rapide, le potassium K circulant à raison de 6 mmol/L de sang est libéré de façon importante dans l'organisme, d'où des troubles cardiaques.

Si l'hémolyse est lente, il va être éliminé par les reins, puis redistribué dans les tissus (hyperkalicylie).

Il faut compter entre huit et douze heures pour que le sujet soit hémolysé, mais la destruction des hématies est très rapide : $100\ 000/mm^3$ par heure, sachant que le sang ne contient « que » cinq millions d'hématies/ mm^3 (5 terra/L).

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

La diminution du nombre d'hématies circulantes va alors entraîner successivement une hypoxémie, une hypoxie cellulaire, une cyanose, un ictère, une anémie et une acidose lactique.

Les hématies n'étant pas renouvelées instantanément, la mort interviendra en quelques jours, sauf si le sujet est pris en charge (des séquelles rénales et des polynévrites sont à craindre).

La méthémoglobinémie

On distingue deux types de méthémoglobinémie : la **méthémoglobinémie congénitale récessive** (due à un déficit d'enzymes de réduction dépendantes de la **nicotinamide adénine dinucléotide** ou **NAD**) et la **méthémoglobinémie congénitale dépendante**. Dans ce second cas, l'hémoglobine est bloquée sous sa forme oxydée : on parle d'hémoglobine M (elle résulte du remplacement dans l'hémoglobine de l'histidine par la tyrosine).

Les méthoglobinisants MINERAUX

Ils peuvent être actifs *in vivo* et *in vitro*. N'étant pas liposolubles, ils n'exercent pas d'action directe sur le SNC. Quelques exemples :

- les ferricyanures ;
- les nitrates, les nitrites (le nourrisson y est plus sensible que l'adulte, car il possède moins d'hémoglobine oxydable et moins d'enzymes de protection) ;
- les permanganates ;
- les peroxydes d'azote (NO_2 , N_2O_4).

Les méthoglobinisants ORGANIQUES

Ils sont actifs *in vivo*. Liposolubles, ils sont dangereux pour le SNC. Il s'agit surtout de produits aminés et de produits nitrés. Quelques exemples :

- l'aniline (utilisée en teinturerie) ;
- le nitrobenzène (présent dans les cirages, la parfumerie et même la pâtisserie avec l'essence de mirbane).

L'anémie

L'exemple du plomb Pb nous servira de fil conducteur. Le plomb est un métal gris bleuâtre. Son point de fusion est 327 °C. Il y a émission de vapeurs toxiques dès que sa température atteint 550 °C.

On l'utilise en tuyauterie, dans le bâtiment (couverture), etc. A savoir : un accumulateur pour voiture, plus communément appelé batterie, peut contenir jusqu'à huit kilos de plomb (Société française de chimie, 2007).

Comment le plomb agit-il au niveau du sang ?

Au niveau sanguin, l'hémoglobine contient de l'hème b, lequel possède un atome de fer.

Revenir sur la synthèse de l'hémoglobine nous permettra de mieux appréhender la suite : glycine + succinyl-CoA ► acide aminolévulinique.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Sous l'action d'une enzyme, l'ALA déshydratase ou ALAD, l'acide aminolévulinique donne du porphobilinogène.

S'en suit une série de réactions en cascade : ► uroporphyrinogène ► coproporphyrinogène ► protoporphyrinogène ► protoporphyrine IX.

Sous l'action conjointe de la ferrochélatase et de Fe^{2+} , un atome de fer est ajouté à la protoporphyrine IX : le résultat est l'hème. Or, le plomb va inhiber la protoporphyrine ferrochélatase. Conséquence : ce n'est plus du fer, mais du zinc qui va être incorporé dans l'hème.

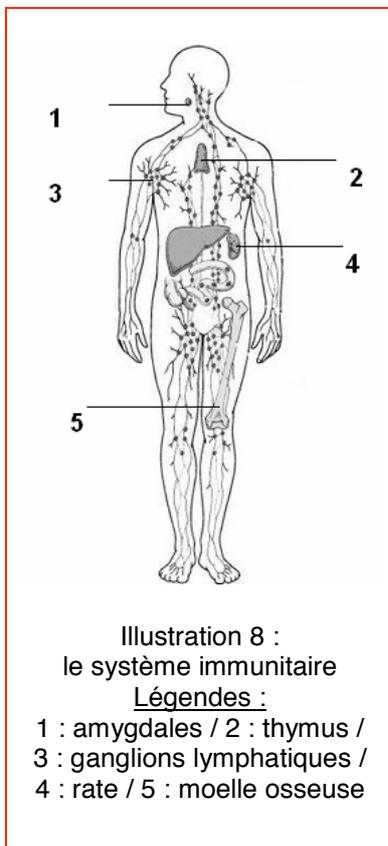
On pourra ainsi, grâce à des examens sanguins, établir le diagnostic d'une exposition au plomb en dosant la quantité de protoporphyrines zinc ou PPZ, puisque la valeur normale pour les PPZ est inférieure à $1,5 \mu\text{g/g}$ d'hémoglobine.

LE SYSTEME IMMUNITAIRE ET L'IMMUNOTOXICITE

Le système immunitaire

Il s'agit d'un mécanisme de défense contre les agents pathogènes : bactéries, cellules cancéreuses, parasites, virus et xénobiotiques. Il permet au corps de discriminer le « soi » du « non-soi ».

C'est un réseau d'organes comprenant : les **amygdales**, le **thymus**, les **ganglions lymphatiques**, la **rate** et la **moelle osseuse**.



La lymphe est un liquide jaunâtre de pH alcalin qui contient les lymphocytes. **Le réseau lymphatique circule des tissus vers le système veineux central.** Les capillaires lymphatiques, présents dans le tissu conjonctif, convergent en vaisseaux qui eux-mêmes se rejoignent dans le canal thoracique. Le plus gros vaisseau lymphatique se jette dans le **système veineux** à la base gauche du cou.

Il existe deux types de vaisseaux : les **vaisseaux lymphatiques profonds** (dont le trajet est parallèle aux veines profondes) et les **vaisseaux lymphatiques superficiels**.

Les vaisseaux lymphatiques sont jalonnés de relais, les **ganglions lymphatiques**.

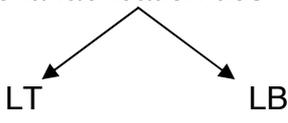
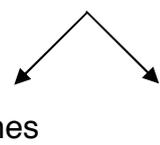
Ils possèdent un tissu lymphoïde essentiel à la maturation des lymphocytes. Isolés ou en amas, ils sont enfermés dans une capsule et contiennent des cellules mésenchymateuses et des lymphocytes.

Il existe des foyers lymphoïdes particulièrement denses dans les parois du tube digestif.

Le réseau lymphatique remplit deux fonctions : 1) il draine les liquides des tissus ; 2) il joue un rôle dans le système immunitaire.

**INITIATION A LA TOXICOLOGIE
FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010**

Il faut distinguer les **organes lymphoïdes primaires** et les **organes lymphoïdes secondaires**.

Organes lymphoïdes primaires	Organes lymphoïdes secondaires
Siège de la fabrication des 	Lieu de passage, d'accumulation et de rencontre entre :  antigènes cellules Lieu de drainage de la lymphe (sang moins les érythrocytes)
Moelle osseuse Thymus	Ganglions lymphatiques Rate (pulpe blanche) MALT

Les cellules impliquées dans la défense de l'organisme sont les **leucocytes**. Ils circulent dans le sang et dans la lymphe.

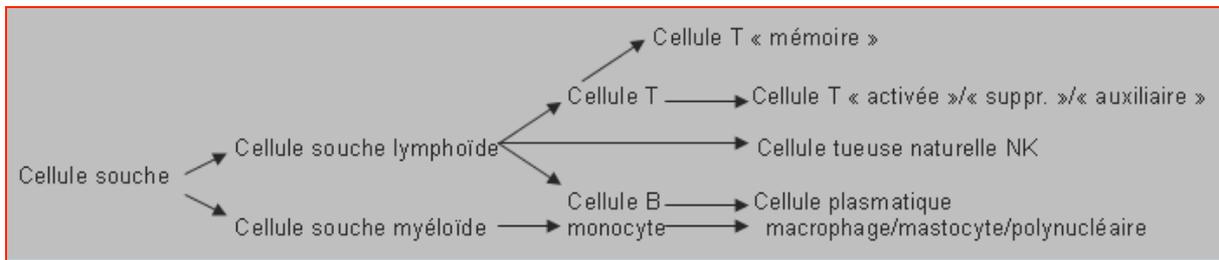
Comme dit plus haut, ils prennent naissance à partir des **cellules pluripotentes** produits par la **moelle osseuse** (à ne pas confondre avec la moelle épinière !).

Une partie	Une partie	Une partie
est transformée par le thymus et devient des ↓	1/ passe par les tissus formant <u>l'équivalent</u> de la bourse de Fabricius : ganglions lymphatiques moelle osseuse tissus lymphoïdes de l'intestin ↓ 2/ et devient des :	est libérée par la moelle osseuse sans être transformée ↓
Lymphocytes T	Lymphocytes B	Cellules tueuses naturelles ou NK

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Le schéma ci-dessous résume (de façon très simplifiée) la **différenciation cellulaire** à partir de la moelle osseuse.



Il existe différents types de leucocytes.

Type	% des leucocytes totaux	Fonction principale
Granulocytes neutrophiles	40-70%	Phagocytose des bactéries
Lymphocytes B	20-45%	Libération d'anticorps (réponse humorale)
Lymphocytes T		Attaque des cellules infectées (réponse cellulaire)
Monocytes	4-8%	Phagocytose
Granulocytes éosinophiles	1-4%	Destruction des vers parasites
Granulocytes basophiles	0,5-1%	Libération des médiateurs chimiques (réaction inflammatoire)
Mastocytes		



Il faut distinguer :

- l'**immunité cellulaire** → cellules → LT
- l'**immunité humorale** → anticorps → LB (mais aussi macrophages et polynucléaires)

**INITIATION A LA TOXICOLOGIE
FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010**

Lymphocytes T

Certains entrent dans la circulation générale. D'autres restent dans les zones dépendant :

- des ganglions lymphatiques ;
- de la rate ;
- du thymus.

Ils possèdent des **marqueurs de surface**. Au contact de l'**antigène**, les LT vont :

- proliférer ;
- se différencier pour être :

Activés	Transformés en T-mémoire	Transformés en auxiliaires ou helpers	Transformés en suppresseurs ou suppressors
Responsables du transfert de l'immunité cellulaire	Peuvent être activés en se combinant avec les antigènes	Vont permettre la régulation de la suppression d'anticorps par les LB	

ATTENTION : les lymphocytes T activés réagissent de deux façons :

- soit directement avec les antigènes associés à la membrane cellulaire ;
- soit en larguant des facteurs solubles appelés **lymphokines**.

Lymphocytes B

Ils possèdent des **marqueurs de surface**.

La réponse immunitaire initiale est provoquée par le contact antigène/LB. Ensuite, les LB vont :

- proliférer ;
- se différencier en **cellules mémoires** et **cellules plasmatisques**.

Cellules mémoires	Cellules plasmatisques
↓	↓
Retenues à la surface des récepteurs pour l'Ig	Capables de synthétiser de petites quantités d'IgM

**INITIATION A LA TOXICOLOGIE
FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010**

Autres types de lymphocytes

Ils ne possèdent PAS les marqueurs de surface caractéristiques des LT et LB.
Ils participent donc aux **fonctions immunitaires non spécifiques**.

Cellules tueuses naturelles

Elles ont une **activité cytolytique** spontanée, c'est-à-dire sans activation préalable, à l'encontre des autres cellules, en particulier :

- leucémiques ;
- tumorales.

Macrophages

Comme les autres, ils dérivent des cellules souches de la moelle osseuse.
Une fois libérés, ils apparaissent :

Dans le sang	Dans les tissus
Monocytes	Histiocytes

Au contact d'un corps étranger, ils le phagocytent ET deviennent des **macrophages** activés riches en enzymes d'hydrolyse.

Les macrophages peuvent aussi être activés par certaines lymphokines produites par les LT.

Ils participent aussi aux réactions immunitaires spécifiques liées aux LT et LB.

Polynucléaires

Type	Mode d'action
Basophiles	Relargage d'histamine
Eosinophiles	Cytotoxique
Neutrophiles	Phagocytose

**INITIATION A LA TOXICOLOGIE
FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010**

Rappels sur les composants humoraux

A - Immunoglobulines Ig	B - Interleukines			C - Complément
<p>Protéines produites par les cellules plasmatiques dérivées des LT Possèdent la fonction spécifique d'un anticorps</p>	<p>Protéines produites par les LT activés (ce sont les lymphokines) Protéines produites par les macrophages (ce sont les monokines) Dans ces deux cas, il s'agit d'une réponse à une stimulation (antigénique ou mitogénique) Les interleukines induisent la prolifération :</p>			<p>13 protéines (au moins) utilisées dans diverses fonctions immunitaires telles que :</p> <p>adhérence de bactéries porteuse d'Ig sur les macrophages</p> <p>modulation de la réponse immunitaire</p> <p>lyse cellulaire</p>
	des LT	des LB	des cellules des la moelle osseuse	

**INITIATION A LA TOXICOLOGIE
FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010**

Il existe 5 types majeurs d'Ig :

Type	Poids moléculaire	Demi-vie moyenne (en jours)	Concentration moyenne (mg/dl de sérum)	Fonction principale
IgG	150 000	23	720-1 500	Anticorps majeur pour les bactéries, toxines et virus NB : les plus courantes
IgA	170 000	6	90-325	Défense précoce contre bactéries et virus (présents dans les sécrétions des muqueuses)
IgM	900 000	5	45-150	Anticorps majeur après exposition à la plupart des antigènes
IgD	180 000	3	3	Fonction inconnue (présents à la surface des LT)
IgE	200 000	2	0,03	Responsables du choc anaphylactique (fixés sur les mastocytes)

**INITIATION A LA TOXICOLOGIE
FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010**

L'IMMUNOTOXICITE

L'altération du système immunitaire peut être de deux types :

Quantitative	Qualitative
<p>Le xénobiotique agit directement sur la moelle osseuse avec des résultats variables :</p> <ul style="list-style-type: none"> - déficit d'un seul type de cellule (exemple : neutropénie par action toxique sur les myéloblastes) - myélotoxicité globale 	<p>Le nombre de leucocytes est normal, mais leur fonctionnement est inapproprié. Le plus souvent, on observe une immunodépression. Plus rarement, une immunostimulation. Exemple : infection à <i>Candida</i>, staphylocoque, etc. quand les polynucléaires neutrophiles sont touchés.</p>

Les conséquences de l'interférence entre xénobiotique et système immunitaire sont à regrouper dans trois catégories :

A - Immunodépression	B - Immunostimulation	C - Réponses anormales ou maladies allergiques (c'est-à-dire réactions d'immunostimulation à des hétéroantigènes)
-----------------------------	------------------------------	---

A - Immunodépression

Elle peut être induite par des :

Médicaments (stéroïdes, cytostatiques)	Toxiques industriels (asbeste, biphényles polychlorés ou polybromés, TCDD, certains organostaneux)
--	--

On observe, au moins chez l'animal, une action immunodépressive. Les conséquences peuvent être une augmentation du risque d'infection et de cancer.

Par contre, le développement de maladies auto-immunes (par interférence avec les LT suppresseurs) demeure une hypothèse (polémique sur la sclérose en plaques, en 2000).

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

B - Immunostimulation

On dispose de moins de données. Il s'agit de molécules entraînant des réactions de deux types :

Hypersensibilité	Allergie
------------------	----------

Ces **réactions sont immédiates** : elles surviennent dans les 15 minutes suivant l'exposition au xénobiotique. Le mécanisme (simplifié) est le suivant :

- une première exposition → production d'IgE ;
- expositions suivantes → relargage de molécules préexistantes comme :
 - l'histamine ;
 - l'héparine ;
 - la sérotonine (vasoconstricteur libéré par les plaquettes et neuromédiateur du SNC) ;
 - des molécules néoformées comme la SRS-A (slow reacting substance) ;
 - des prostaglandines⁴.

C - Réponses anormales et allergies

Elles résultent d'une réponse du système immunitaire qui peut être :

Exagérée	Inappropriée
Vis-vis d'un hétéroantigène complet ou d'un haptène qui entraîne des dommages tissulaires (Roitt et <i>al.</i>)	

⁴ Les prostaglandines sont des médiateurs lipidiques autocrines et paracrines agissant entre autres sur l'endothélium, les mastocytes, les plaquettes, etc. On en dénombre 20 variétés réparties en neuf classes, nommées de A à I (PGA, PFE, PGF, PGI etc.) selon leur structure. Principaux effets biologiques : effet vasoconstricteur facilitant l'agrégation des plaquettes pour la classe des thrombokinas, protection des cellules, vasodilatation et frein à l'agrégation des plaquettes pour la classe des prostacyclines, réactions d'hypersensibilité immédiate (allergies), bronchoconstriction et augmentation de la perméabilité des vaisseaux pour la classe des leucotriènes qui sont des substances libérées par les macrophages et les polynucléaires neutrophiles sous l'influence d'une enzyme. Les immunostimulants entraînent divers signes cliniques tels que anaphylaxie, asthme, rhinite et urticaire. L'activation du système réticuloendothélial peut de manière non spécifique, interférer avec le métabolisme hépatique des xénobiotiques. L'induction de maladies auto-immunes est possible. Certaines amines aromatiques peuvent entraîner un lupus par l'altération de molécules endogènes, lesquelles deviennent antigéniques L'halothane et le 1,1-dichloro-2,2,2-trifluoroethane (HCF-123) ont un effet toxique par production de néoantigènes trifluoroacétylés au niveau du tissu hépatique (Hoet et *al.*, 1997)

INITIATION A LA TOXICOLOGIE FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Parmi les agents allergéniques, on peut mentionner : le béryllium, les dérivés du platine, le nickel, les pesticides (pyrèthre...) et le toluène diisocyanate TDI.

Pour la classification des réponses immunes anormales, on utilise la **classification de Coobs et Gell**.

Hypersensibilité de type I	Hypersensibilité de type II	Hypersensibilité de type III	Hypersensibilité de type IV
<p>Caractérisée par des réactions allergiques immédiates ayant pour origine l'activation par un antigène spécifique des mastocytes sensibilisés par IgE.</p> <p>Les mastocytes libèrent des médiateurs pharmacologiques responsables :</p> <div style="text-align: center;"> <pre> graph TD A[responsables :] --> B[asthme] A --> C[rhinite] A --> D[urticaire] </pre> </div>	<p>Les antigènes fixés sur les membranes cellulaires interagissent avec les Ig circulants dans le sang, lesquels activent aussi le complément ou des cellules effectrices.</p>	<p>Dite réaction d'Arthus. Regroupe les maladies à complexes immuns qui se déposent dans les tissus. De nombreux allergènes animaux et végétaux inhalés peuvent engendrer la production d'Ig précipitants et provoquer une alvéolite allergique extrinsèque.</p>	<p>Ou retardée. Il s'agit d'une hypersensibilité à médiation cellulaire impliquant essentiellement des LT sensibilisés par un contact préalable avec l'antigène. Exemple : eczéma de contact provoqué par de nombreux toxiques industriels.</p>

ATTENTION : certains sujets peuvent présenter une hypersensibilité d'origine génétique (par exemple consécutive à un défaut enzymatique). Il est également possible d'observer une hypersensibilité aux médicaments (acide nalidixique, acétamilide, primaquine, naphatène, sulfanilamide), qui entraînent un excès d'hémolyse.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Il existe de très nombreuses molécules affectant le système immunitaire (Dean et al., 1979). On peut les classer dans cinq catégories :

Médicaments antinéoplasiques	Métaux traces toxiques et organométalliques	Pesticides	Hydrocarbures allogénés	Divers
5-fluoro-uracile 6-mercaptopurine Actinomycine Azathioprine Cyclophosphamide Doxorubicine	Arsénite Arséniat de sodium Cd Cr Di-N-butyl Dichlorure Di-N-octyl Dichlorure d'étain Ni Pb Trioxyde d'arsenic	Carbaryl Carbofuran Chlordane DDT Dielldrine Hexachlorobenzène (HCB) Manèbe Méthylparathion	Biphényles polybromés (PBB) Chlordane Chloroforme Pentachlorophénol PCB TCC Trichloroéthylène	B(a)P Benzène Diéthyl stilbérol Glucocorticoïdes Méthylcholanthrène

Le tableau ci-dessous synthétise les effets d'une exposition *in vivo* à trois molécules sur les fonctions immunitaires et la résistance de l'hôte :

Paramètres considérés	DES	BaP	TPA
Résistance à <i>Listeria</i>	-	0	+
Résistance à l'apparition de tumeurs	-	0	-
Expulsion de <i>Trichinella</i>	-	-	0
Poids du thymus	-	0	-
Hypersensibilité retardée	-	0	-
Réponse lymphocytaire	-	-	-
Nombre de LT	-	NM	-
Cytotoxicité spontanée sur les lymphocytes	0	0	-
Réponse en plaque aux Ig	-	-	-
Taux d'IgM, IgG et IgA	0	0	-
Phagocytose des macrophages	+	0	+
Cytostase des macrophages	+	0	+
RES (temps de clairance)	+	0	+
Cellularité de la moelle osseuse	-	-	0

A plusieurs reprises ces dernières années, des polémiques ont éclaté dans la presse à propos de la toxicité réelle ou supposée des **adjuvants**. Leur rôle est d'activer les cellules présentatrices, d'où une stimulation accrue des LT. Ils entrent

INITIATION A LA TOXICOLOGIE FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

dans la composition des vaccins, par exemple l'hydroxyde d'aluminium Al(OH)_3 , sans que la question de leur innocuité n'ait réellement été tranchée (la dernière polémique en date a concerné la présence de mercure dans le vaccin contre la grippe A).

A l'échelle moléculaire, on observe :

- une stimulation de la phagocytose ;
- une stimulation de la migration vers les ganglions lymphatiques ;
- un dépôt du xénobiotique transporté par les cellules présentatrices dans les ganglions lymphatiques (persistance de la stimulation).

LES PASSAGES MEMBRANAIRES

Il faut garder à l'esprit que le diamètre des pores membranaires est en général compris entre quatre à dix Å (sauf au niveau du rein et des capillaires périphériques).

En d'autres termes, le corps humain n'est pas une éponge. Les xénobiotiques ne peuvent y pénétrer que dans certaines conditions liées d'une part à leurs propriétés physicochimiques, d'autre part à l'état du sujet (jeune, âgé, sain, malade).

On connaît deux grands mécanismes de transport membranaire : les **transports passifs** et les **transports actifs**.

Transports passifs	Transports actifs
Pas besoin d'énergie	Besoin d'énergie

Transports passifs

On dénombre trois types de transport passif : **A - diffusion passive**, **B - diffusion facilitée**, **C - filtration**.

A - diffusion passive

C'est le mécanisme le plus répandu. Il concerne les composés neutres. La liposolubilité est obligatoire. Le passage s'effectue selon la **loi de Fick**, soit : $dx/dt = k(C_1 - C_2)$ où dx/dt correspond à la vitesse de passage en moles par unité de temps, k correspond au coefficient de passage et $C_1 - C_2$ correspond au **gradient de concentration**. De façon simple, une substance va migrer d'un côté à l'autre de la membrane du « plus » vers le « moins » pour assurer l'équilibre ou **homéostasie**.

B - diffusion facilitée

Elle fait appel à des transporteurs : les **perméases**, les **protéines membranaires** et les **translocases**.

C - filtration

Elle concerne les petites molécules polaires et s'effectue selon le gradient de concentration. L'hydrosolubilité est requise.

Transports actifs

Il s'agit d'un moyen efficace pour assurer l'**homéostasie**. Dans ce type de transport, les pompes sodium/potassium Na/K jouent un rôle déterminant. La

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

particularité du transport actif est qu'il peut s'effectuer contre le gradient de concentration au niveau rénal et intestinal.

C'est le mode de transport privilégié pour les particules solides (poumon). **Phagocytose** et **pinocytose** correspondent à ce modèle, mais il faut aussi mentionner le **cotransport**, c'est-à-dire l'utilisation de transporteurs actifs secondaires qui utilisent le gradient ionique « préformé », le **symport** (transport dans le même sens) et enfin l'**antiport** (dans le sens opposé).

Les facteurs physico-chimiques et biologiques sont déterminants.

Facteurs physico-chimiques	Facteurs biologiques
Solubilité Ionisation (le passage des molécules ionisables va dépendre du pH des compartiments biologiques) Rapport molécules ionisées/non ionisées	Besoin d'énergie Taille de la surface d'échange Exemple : la surface d'échanges (80 m ² pour les poumons, 10 à 15 m ² pour l'intestin chez l'homme moyen) Temps de contact des toxiques avec la membrane Gradient de concentration Flux sanguin

S'il est possible de déterminer quelle quantité de substance X va traverser une membrane, quelques rappels s'imposent.

Potentiel hydrogène pH

Le **potentiel hydrogène** ou **pH** est défini par la relation : $\text{pH} = -\log [\text{H}_3\text{O}^+] = -\log [\text{H}^+]$. L'autoprotolyse de l'eau est donnée par : $\text{H}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_3\text{O}^+ + \text{HO}^-$

Constante d'équilibre

La **constante d'équilibre** s'écrit $\text{Ke} = [\text{OH}^-][\text{H}^+]/1 = [\text{OH}^-][\text{H}^+]$. Le produit ionique de l'eau s'écrit $\text{Ke} = [\text{OH}^-][\text{H}^+] = 10^{-14}$ à 25°C. Pour l'eau pure $[\text{OH}^-] = [\text{H}^+] = 10^{-7}$ mol /L le pH vaut donc 7.

Constante d'acidité Ka

Dans le cas des acides faibles, on définit la constante d'équilibre de dissociation de l'acide (appelée **constante d'acidité**) ainsi : $\text{AH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{A}^- + \text{H}_3\text{O}^+$. Elle est notée **Ka** et s'écrit : $\text{Ka} = [\text{A}^-][\text{H}^+]/[\text{AH}]$. Pour déterminer la force d'un acide, on utilise le pKa, qui correspond à $-\log \text{Ka}$. Plus l'acide est fort plus le pKa sera petit (un acide fort aura un pKa inférieur à 0). Nous avons donc : $-\log [\text{Ka}] = -\log [\text{H}^+] - \log [\text{A}^-]/[\text{AH}] \rightarrow \text{pKa} = \text{pH} - \log [\text{A}^-]/[\text{AH}]$. Autrement dit, le $\text{pH} = \text{pKa} + \log [\text{A}^-]/[\text{AH}]$.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Premier exemple : un acide

Nous souhaitons savoir quelle quantité de molécules d'acide urique $C_5H_4O_3N_4$ va passer du sang dans un tissu (on parle de **compartiments** : le premier est le sang, le second est le tissu). Pour ce faire, nous allons utiliser les équations de **Henderson-Hasselbalch**. Au préalable, nous avons besoin de connaître :

- le pKa de la substance S ;
- le pH de chaque compartiment.

Le pKa de l'acide urique est de 5,4. Le pH du sang est de 7,4. Celui du tissu est de 6,4.

Dans chacun des compartiments le rapport entre **fraction ionisable [f.i.]** et **fraction non ionisable [f.n.i.]** est obtenu de la façon suivante :

$$pH = pKa + \log \frac{[A^-]}{[AH]} = \log \frac{[f.i.]}{[f.n.i.]}$$

...ce qui revient à dire que $pH - pKa = \log \frac{[A^-]}{[AH]} = \log \frac{[f.i.]}{[f.n.i.]}$

Dans un premier temps intéressons nous à chacun des compartiments, séparément, sans tenir compte du passage entre les deux compartiments.

Compartiment 1 (sang) pH = 7,4	Compartiment 2 (tissu) pH = 6,4
[f.n.i.]	[f.n.i.]
	
[f.i.]	
[f.n.i.] / [f.i.] = 0,01	[f.n.i.] / [f.i.] = 0 ?

Dans le compartiment 1 (sang), $pH - pKa = 7,4 - 5,4 = 2$ donc : $[f.i.] / [f.n.i.] = 100$, donc $[f.n.i.] / [f.i.] = 0,01$. En d'autres termes, pour 100 molécules ionisées, nous en avons 1 non ionisée.

Passons maintenant au compartiment 2 (tissu) : $pH - pKa = 6,4 - 5,4 = 1$, donc $[f.n.i.] / [f.i.] = 0,1$.

Sous une forme **non ionisée** les molécules vont être **hydrosolubles**, donc capables de franchir la membrane.

Le passage est guidé par le **gradient de concentration**. Or, la concentration en f.n.i. étant plus forte dans le compartiment 2 (tissu) que dans le compartiment 1 (sang), le flux à travers la membrane va s'effectuer du tissu vers le sang.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Dans le compartiment 2, nous observons un mouvement de rééquilibrage f.n.i. → f.i., soit l'inverse de ce qu'il serait si le tissu était isolé.

Attention : n'oubliez pas que ce sont les molécules non ionisées qui franchissent les membranes pour assurer un équilibre biologique de part et d'autre.

Second exemple : une base

Nous allons nous intéresser à une autre substance, le diphénoxylate $C_{30}H_{32}N_2O_2$ indiqué dans le traitement de la diarrhée. Son pKa est de 4,4. Attention : cette fois-ci, il ne s'agit non plus d'un acide, mais d'une base. Prenez garde aux calculs !

Ainsi, dans le compartiment 1 (sang), $pH - pKa = \log[B^+]/[BH] = \log[f.n.i.]/[f.i.] = 3$, donc $[f.i.]/[f.n.i.] = 0,001$, donc $[f.n.i.]/[f.i.] = 1$. Total pour le compartiment 1 : $1 + 0,001 = 1,001$.

Cette fois-ci, le compartiment 2 n'est pas un tissu, mais un organe : l'estomac. Son pH est 1,4. Nous avons donc la relation $pH - pKa = \log[B^+]/[BH] = \log[f.n.i.]/[f.i.] = -3$, donc $[f.i.]/[f.n.i.] = 1000$, donc $[f.n.i.]/[f.i.] = 1$. Total pour le compartiment 2 : $1 + 1000 = 1001$.

En conclusion, les bases liposolubles sont fortement ionisées au niveau de l'estomac, donc peu absorbées.

LE FOIE : ANATOMOPHYSIOLOGIE

**ANATOMOPHYSIOLOGIE
ET IMPLICATIONS METABOLIQUES
DU FOIE**

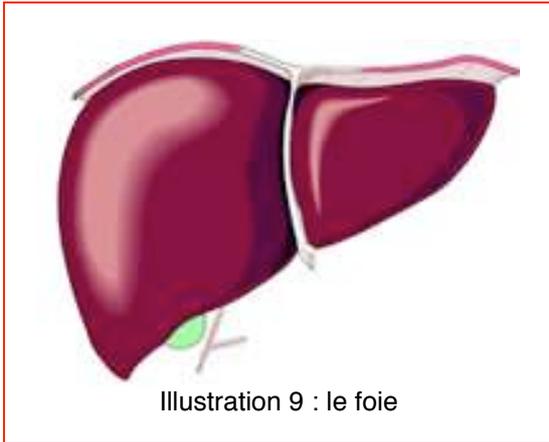


Illustration 9 : le foie

Situé sous le diaphragme, du côté droit de la cavité abdominale au-dessus du duodénum, le foie est la **cible principale des xénobiotiques**.

C'est aussi l'organe de détoxification par excellence. De ce fait, il est extrêmement important en toxicologie.

Pesant 1,5 kilo chez l'adulte, il est très vascularisé, donc très irrigué (il reçoit un litre et demi de sang par minute).

Le sang (riche en O₂ et nutriments) arrive par l'**aorte**.

On parle de **voies afférentes** (qui « arrivent ») et de **voie efférente** (qui « part »). Parmi les voies afférentes, il faut distinguer la voie orale et la voie pulmonaire.

Voie orale	Vie pulmonaire
Veine porte Le foie est le premier organe rencontré à partir de la sphère intestinale Tout xénobiotique pénétrant par voie orale passe par la veine porte	Artère hépatique Tout xénobiotique pénétrant par voie pulmonaire ▼ Circulation cardiaque ▼ Aorte ▼ Artère hépatique

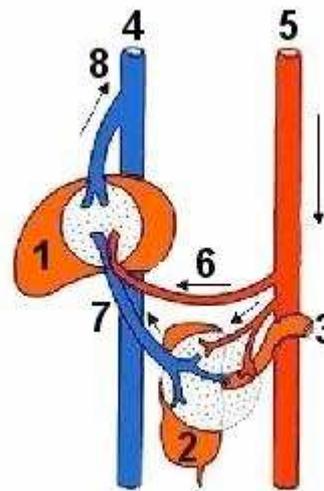


Illustration 10 : la vascularisation du foie

Légendes :

- 1 : foie / 2 : gros intestin / 3 : intestin grêle /
4 : veine cave inférieure / 5 : aorte /
6 : artère hépatique / 7 : veine porte /
8 : artère sus-hépatique

Par voie efférente, on entend la **veine sus-hépatique**.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Le foie remplit de très nombreuses fonctions. On peut les classer dans trois groupes :

Fonction parenchymateuse	Fonction enchymateuse	Fonction excrétoire
Métabolisme glucidique Métabolisme lipidique (biosynthèse du cholestérol et des triglycérides) Métabolisme de l'azote (en particulier dans la biosynthèse des protéines, notamment l'albumine, et l'urogenèse)		Cellules hépatiques tournées vers les canaux biliaires pour permettre l'élimination des pigments et des sels biliaires

Le foie sécrète et recycle de la **bile**, à raison de 500 à 750 mL par jour. Elle s'écoule au travers du **canal cystique** jusqu'à la **vésicule biliaire** où elle est stockée et concentrée.

Dans les 30 minutes qui suivent un repas, la vésicule se vide par le **canal cholédoque** dans le **duodénum**, où elle participe à la dissolution des graisses. Elle neutralise le **chyme** gastrique acide issu de l'estomac grâce à des ions basiques bicarbonates.

Elle permet aussi la formation de micelles (émulsion) permettant la digestion des graisses par la **lipase pancréatique** et d'autres enzymes, ainsi que leur absorption par l'**intestin grêle**. La bile transforme alors le chyme en **chyle**.

Au niveau non digestif, elle permet l'excrétion de certains médicaments (principes actifs et métabolites se retrouvent dans les fèces).

La bile participe au rôle de détoxification de l'organisme par le foie. Elle circule dans le sens contraire du sang.

Les cellules du foie sont appelées **hépatocytes**. Tous ne sont pas identiques (ils sont plus ou moins alimentés en oxygène) et ne remplissent pas les mêmes fonctions (les **cellules de Kupffer** interviennent par exemple dans la métabolisation du calcium Ca, du cholestérol, du fer, de l'hémoglobine et dans la synthèse des Ig).

D'un point de vue histologique, on parle d'**Acinus hépatique** ou **unité fonctionnelle de Rappaport**, laquelle comprend trois zones : **périportale**, **intermédiaire** et **centrolobulaire**.

La première et la troisième nous intéressent **plus** particulièrement ici. La zone périportale assure la respiration cellulaire. La zone centrolobulaire est la moins riche en oxygène, mais la plus riche en **enzymes de biotransformation** : enzymes à CYP-450 et enzymes à cofacteur NADPH. De quoi s'agit-il ? Nous allons y revenir en détail.

LES BIOTRANSFORMATIONS

Après pénétration dans l'organisme, les xénobiotiques doivent être transformés en composés chimiques hydrosolubles pour être éliminés. Plusieurs mécanismes de biotransformation, généralement **enzymatiques**, facilitent leur élimination. Il existe deux types de réactions successives : **réactions de phase I** et **réactions de phase II**.

PHASE 1	PHASE 2
<p>Oxydation <i>ou</i> Réduction <i>ou</i> Hydrolyse</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>de la molécule initiale</p> <p style="text-align: center;">→</p>	<p style="text-align: center;">Ces réactions :</p> <p>1) font apparaître sur la molécule des groupements fonctionnels</p> <p style="text-align: center;">COOH OH NH₂ SH</p> <p>2) augmentent <u>faiblement</u> la polarité</p> <p>Le produit devient beaucoup plus polaire, donc plus facilement éliminable</p>
= réactions de fonctionnalisation	= réactions de conjugaison

De nature généralement enzymatiques, ces réactions sont des processus saturables. Aux fortes doses, les capacités métaboliques de l'organisme ne peuvent être dépassées : l'intensité des réactions atteint un plateau et devient indépendante de la concentration en substrat.

LES BIOTRANSFORMATIONS DE PHASE I

L'OXYDATION

Elle **concerne les réactions les plus importantes**, qui ont **principalement lieu dans le foie**, plus précisément au niveau du **Réticulum endoplasmique lisse** ou **REL** des microsomes hépatiques (oxydations dites microsomiques).

Il s'agit d'un système multi enzymatique, faisant surtout intervenir des enzymes à cytochrome P-450. Les **cytochromes P-450** ou **CYP-450** sont des

INITIATION A LA TOXICOLOGIE FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

protéines contenant un hème du groupe prosthétique (on les appelle des **hémoprotéines**).

Elles sont présentes dans tous les organismes vivants. On les trouve dans tout le corps humain, sauf dans les muscles, les os et les globules rouges.

Le CYP-450 possède un atome de fer capable d'avoir plusieurs états d'oxydation : Fe⁺⁺, Fe⁺⁺⁺.

A noter : la dénomination des CYP répond à une nomenclature bien précise. Exemple de la CYP1A1 : le premier chiffre (1) renvoie à la famille, la lettre à la sous-famille, et le dernier chiffre au gène. Il existe ainsi dix familles de CYP chez les mammifères, dont trois sont impliquées dans le métabolisme des xénobiotiques.

Pour fonctionner, le CYP-450 a besoin d'une enzyme appelée **cytochrome P-450 réductase**, qui est un transporteur d'électrons. Celle-ci prélève deux électrons à une flavoprotéine réduite puis les transfère au substrat qui est alors oxydé. La flavoprotéine reçoit quant à elle ses électrons du NADPH + H, dont nous allons parler sous peu.

ATTENTION : le cytochrome P-450 intervient dans les oxydations, mais permet aussi des réductions des xénobiotiques grâce à son couplage avec la NADPH cytochrome P-450 réductase.

Le système à CYP-450 est peu spécifique, aussi est-il capable de recevoir une grande variété de substrats (contrairement à la plupart des enzymes) : **substrats endogènes** (par exemple les hormones stéroïdes) et **substrats exogènes** (par exemple des médicaments, des toxiques).

Le tableau ci-dessous permet de récapituler les propriétés du système.

Système peu spécifique capable de recevoir une grande variété de substrats	
Mono-oxygénase = un seul atome d'oxygène est transféré sur le substrat	
Système réducteur mono-électronique qui concerne un seul électron	
Système intracellulaire localisé dans le REL, riche en phospholipides, donc l' oxydation concerne surtout les xénobiotiques liposolubles	
Système adaptable	
selon la quantité de xénobiotique à dégrader ↓ induction enzymatique	sensible à de nombreux facteurs ↓ inhibition enzymatique

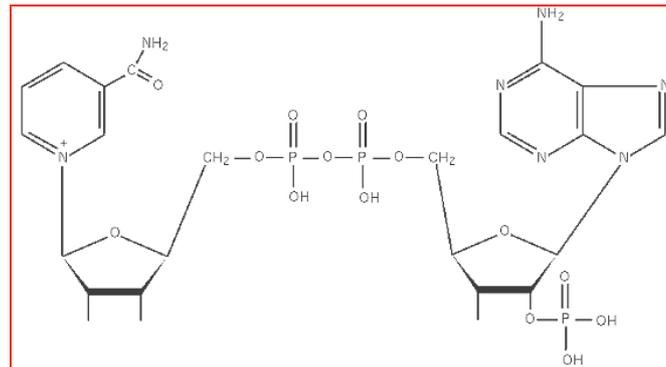
INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

NADP et NADPH

Le **nicotinamide adénine dinucléotide phosphate** ou **NADP** est une coenzyme d'oxydoréduction.

NADP est très proche du nicotinamide adénine dinucléotide ou NAD, dont il ne diffère que par la présence d'un groupement phosphate sur le second carbone du β -D-ribofurannose du résidu adénosine. Sa forme **réduite** est désignée par **NADPH** ou **NADPH₂** ou encore **NADPH=H⁺** (illustration ci-dessous).



Il s'agit d'une coenzyme libre (co-substrat) associé à des **oxydoréductases**. NADPH est principalement produit par la phase oxydative de la voie des pentoses phosphates. Il constitue la source principale d'électrons utilisés dans les réactions biosynthétiques au niveau cellulaire. Il est également utilisé dans les mécanismes de protection contre le **stress oxydant** et les espèces **réactives de l'oxygène** ou **ERO⁵**.

La détoxification de ces ERO fait intervenir le **glutathion** qui doit être constamment régénéré par la **glutathion réductase** suivant le schéma suivant :



A noter : la maladie connue sous le nom de **favisme** ou déficit en glucose-6-phosphatase déshydrogénase (G6PDH) entraîne un déficit cellulaire en NADPH, d'où une hypersensibilité au stress oxydant.

La **NADPH cytochrome P-450 réductase** est une flavoprotéine qui contient un reste de flavine mononucléotide **FMN** pour un de flavine dinucléotide **FAD** (NADPH \rightarrow FAD \rightarrow FMN \rightarrow P-450).

La NADPH cytochrome P-450 réductase oxyde le NADP et réduit le CYP-450 (Fe⁺⁺⁺).

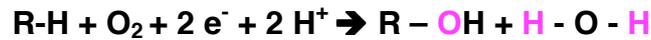
Dans une réaction de mono-oxygénation, nous avons : 1) consommation d'une molécule de O₂ par molécule de substrat (R-H) ; 2) un atome d'oxygène qui

⁵ Les ERO sont **clivées** (séparées) par des enzymes présentes au niveau cellulaire dans le cytosol et dans les **mitochondries** (organites cellulaires sièges de la synthèse d'adénosine triphosphate ou ATP lors du cycle de Krebs) : la **catalase** et la **glutathion peroxydase GPX** agissent contre le groupement hydroperoxyde LOOH, la GPX agit contre le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ et la **superoxyde dismutase SOD** agit contre l'anion superoxyde O₂^{o-}

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

apparaît dans le produit de la réaction ; 3) l'autre atome qui reçoit deux équivalent-réducteur. Exemple :



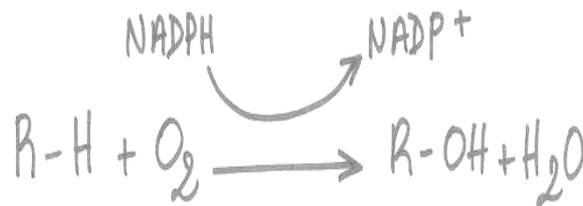
Les mono-oxygénases à CYP sont également appelées **oxydases à fonction mixte (MFO)** car elles oxydent à la fois :

- le substrat ;
- le NADPH.

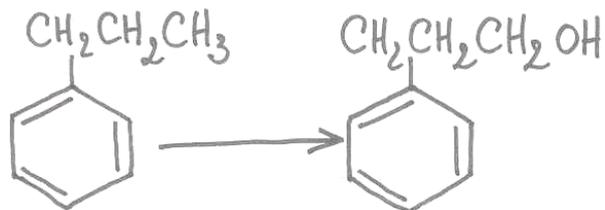
LES DIFFERENTS TYPES D'OXYDATION PAR LES MONO-OXYGENASES A CYP-450

Hydroxylation aliphatique

Elle concerne d'une part les **alcane linéaires**, d'autre part les composés avec une chaîne d'atomes de carbone C linéaires (**chaîne aliphatique**).



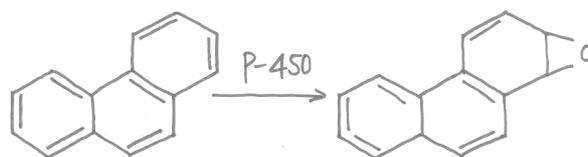
Exemple :



Hydroxylation aromatique

Elle concerne le chlorure de vinyle $\text{C}_2\text{H}_3\text{Cl}$, les hydrocarbures **aromatiques polycycliques** ou **HAP**, mais aussi les mycotoxines (toxines des moisissures). Il s'agit d'une réaction de **toxification** en deux étapes :

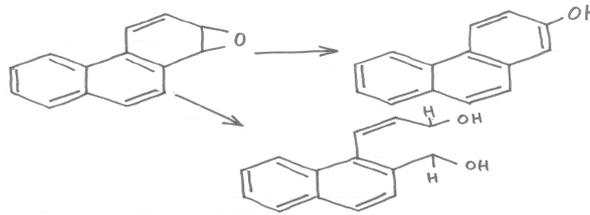
- 1) il y a insertion d'un atome de O sur la double liaison entre deux atomes de C → époxyde d'arène :



INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

- 2) Il y a réarrangement en produit **hydroxylé** avec (souvent) une migration de H sur la position adjacente ; l'action de l'époxyde hydrolase va conduire à un composé dihydroxylé.

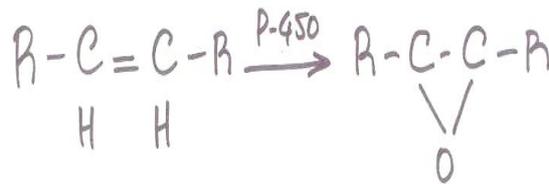


Ouvrons une parenthèse sur l'époxydation des alcènes, car il s'agit d'une réaction analogue à l'hydroxylation aromatique : leur toxicité est généralement augmentée.

Pour mémoire :

Alcènes à une double liaison C_nH_{2n}	Alcènes à deux doubles liaisons C_nH_{2n-2}	Alcènes à trois doubles liaisons C_nH_{2n-4}
--	---	--

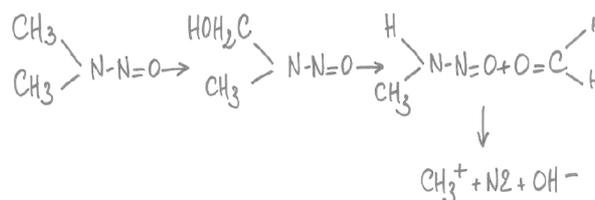
La réaction est la suivante :



Désalkylation

La présence d'un hétéroélément (N, O, ou S) active les liaisons C-H en α - des groupements alkyles (CH_3) et permet l'insertion d'un atome d'oxygène.

L'intermédiaire hydroxylé est instable et se décompose en aldéhyde OU en cétone et en métabolite à groupement amine, hydroxyle OU sulfhydryle. Exemple de la diméthylnitrosamine :

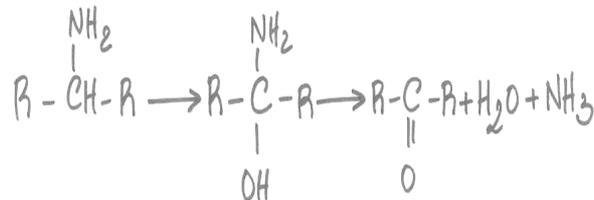


INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

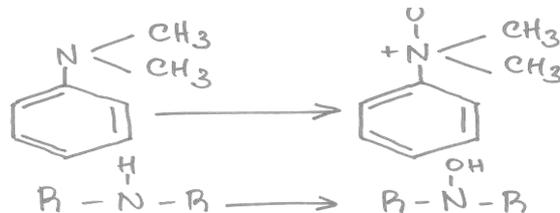
Désamination

Elle concerne les amines primaires contenant une chaîne aliphatique. Le carbone en α - du groupe amine est hydroxylé en intermédiaire instable qui, par perte d'un proton, donne de l'ammoniac ou une cétone.



N-oxydation

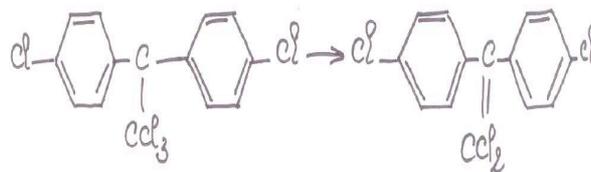
Dans ce cas, l'atome d'oxygène actif peut se lier au doublet d'électrons libres de l'azote.



Désulfuration oxydative

Il s'agit de l'addition d'oxygène et d'un atome de soufre en liaison simple à deux atomes de C, avec pour résultat un métabolite sulfoxyde stable.

Déshalogénation oxydative



LA REDUCTION

Elle est beaucoup moins importante chez les animaux (au contraire des bactéries). Elle s'effectue en **anaérobiose**, principalement dans les microsomes hépatiques et dans le tube digestif sous l'action de la flore réductrice.

L'HYDROLYSE

C'est une réaction très importante compte tenu de la richesse en eau des milieux biologiques. Les molécules avec des fonctions esters ($\text{R}-\text{CO}-\text{R}'$) et amides

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

(R-CO-NH₂ où R est un groupement alkyle) sont facilement hydrolysées et rapidement métabolisées.

LES BIOTRANSFORMATIONS DE PHASE II

Contrairement aux biotransformations de phase I, il s'agit ici de **détoxification** proprement dite (l'hydrosolubilité des métabolites va être supérieure aux molécules de départ, d'où une meilleure élimination par voie urinaire).

Ce sont des réactions dites de **conjugaison**, qui interviennent après les oxydations des microsomes hépatiques : acétylconjugaison, conjugaison peptidique, conjugaison mercaptique, méthylation (pour les molécules organiques ET minérales), trans-sulfuration...

Les xénobiotiques et les métabolites vont se lier avec certains constituants endogènes. Le principe est le suivant :

Activation par des substrats endogènes de l'**adénosine triphosphate** ou **ATP** sous forme de complexes nucléotidiques



catalysation par les transférases

Glucuroconjugaison

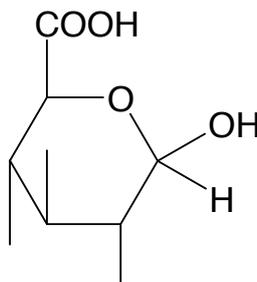
Ce sont les plus importantes des réactions de phase II et elles concernent presque toutes les catégories de xénobiotiques : **aliphatiques**, **aromatiques**, **cyclaniques**.

La réaction est catalysée par des **UDP-glucuronyl-transférases** qui favorisent la fixation de l'acide glucuronique sur un atome O, N ou S d'une molécule.



Rappel sur l'acide glucuronique

C'est un dérivé du glucose.



INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

L'acide uronique est un composé chimique obtenu par **oxydation** du dernier carbone des **oses simples (monosaccharides)**.

Glucose oxydé sur la fonction aldéhyde du carbone n°1	Glucose oxydé sur la fonction alcool primaire du carbone n°6
↓ acide gluconique	↓ acide glucuronique

L'acide glucuronique se condense avec les molécules porteuses d'un groupe amine primaire, carboxyle, hydroxyle et thiol.

Dans un premier temps il y a **conjugaison** des composés aliphatiques, aromatiques ou cyclaniques avec l'acide glucuronique activé. Dans un second temps, il y a **catalysation** de la réaction par une **glucuronyl-transférase**. Dans un troisième temps, il y a **condensation** de l'acide glucuronique par de l'acide glucuronique avec les molécules porteuses d'un groupe -NH₂, -COOH, -OH ou -SH.

Le groupe carboxylique de l'acide glucuronique n'est pas impliqué dans la réaction et reste libre en **augmentant fortement l'hydrosolubilité** des composés auquel il est lié.

Sulfoconjugaison

Cette réaction concerne surtout les amines aromatiques, les hydroxyles alcooliques et les hydroxyles phénoliques. La sulfoconjugaison fait intervenir l'activation des ions sulfates SO₄⁻ sous forme de phospho-adénosine phosphosulfate ou PAPS, l'intervention d'une sulfotransférase (sulfokinase) ainsi que la conjugaison aux ions sulfate SO₄⁻.

Le résultat est la formation d'éthers sulfate.

Acétylation

L'acétylation concerne surtout les amines aromatiques. On observe un apport d'acétyl-CoA et une fixation de molécules d'acétate endogène.

 Le vivant se caractérise par une grande diversité. Elle s'exprime au niveau des espèces, des individus d'une même espèce et même chez le même individu en fonction de son âge et de son état de santé.

Outre les facteurs génétiques, il faut avoir à l'esprit les facteurs physiopathologiques.

**INITIATION A LA TOXICOLOGIE
FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010**

Sexe	Age	Gestation	Etat nutritionnel et santé
<p>Oxydations microsomiques en général plus intenses chez le mâle (différence liée aux hormones stéroïdiennes sexuelles)</p> <p>Rappel : Hormones stéroïdes = groupes hormones génitale plus corticosurrénales dérivées du cholestérol</p>	<p><u>Fœtus :</u></p> <p>Equipement enzymatique réduit (principalement la glucuroconjugaison)</p> <p align="center">↓</p> <p>Sensibilité à la tératogénicité</p> <p><u>Personnes âgées :</u></p> <p>Activité métabolique ralentie</p> <p align="center">↓</p> <p>Plus grande sensibilité aux toxiques</p>	<p>Glucuroconjugaison « en baisse »</p>	<p>Toute atteinte hépatique sévère peut réduire les capacités enzymatiques</p>

Il y a en sus des facteurs de variation externe, d'une part liés aux xénobiotiques, d'autre part liés à l'environnement.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

A - Facteurs liés aux xénobiotiques

Nature du xénobiotique	Dose	Voie d'exposition
Liposolubilité du substrat pour pouvoir pénétrer dans le REL des microsomes hépatiques	Réactions enzymatiques saturables ↓ Aux fortes doses les capacités métaboliques peuvent être dépassées ↓ Plateau indépendant de la concentration en substrat	Parfois prépondérante sur le métabolisme ↓ Certains xénobiotiques vont être transformés dans le tube digestif mais ne seront pas modifiés par voie cutanée ou pulmonaire ↓ Modification de la toxicité

B - Facteurs d'environnement

<u>Induction</u> enzymatique	<u>Inhibition</u> enzymatique		
Xénobiotiques liposolubles ↓ Exposition répétée/prolongée ↓ Activation du système d'oxydation microsomique Augmentation du volume du foie Augmentation du REL Augmentation des microsomes Augmentation du CYP-450 ↓ Apparente adaptation de l'organisme ↓ La toxicité se manifeste à des doses supérieures	Blocage de certains enzymes ↓ <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%;"> Fixation covalente sur site enzymatique spécifique La plus fréquente Exemple : Organo-phosphorés et cholinestérase </td> <td style="width: 50%;"> Compétition entre xénobiotiques </td> </tr> </table>	Fixation covalente sur site enzymatique spécifique La plus fréquente Exemple : Organo-phosphorés et cholinestérase	Compétition entre xénobiotiques
Fixation covalente sur site enzymatique spécifique La plus fréquente Exemple : Organo-phosphorés et cholinestérase	Compétition entre xénobiotiques		

A noter : l'induction enzymatique est progressive (réversible, non spécifique), tandis que l'inhibition enzymatique est immédiate.

AUTRES MECANISMES DE DETOXIFICATION

Le corps humain est une machine très sophistiquée dotée de nombreux mécanismes de défense. Ainsi, l'auto-inactivation des monooxygénases CYP-450 limite t-elle la formation d'intermédiaires réactifs par blocage du complexe enzyme-substrat qui devient incapable de se dissocier.

Autre mécanisme : la transformation du métabolite réactif en métabolites stables (exemple d'un époxyde à un diol soit deux fonctions OH).

LES MECANISMES DE L'HEPATOTOXICITE

Bien que le foie soit l'organisme avec un grand « O » de détoxification, des situations à risque ne sont pas à exclure.

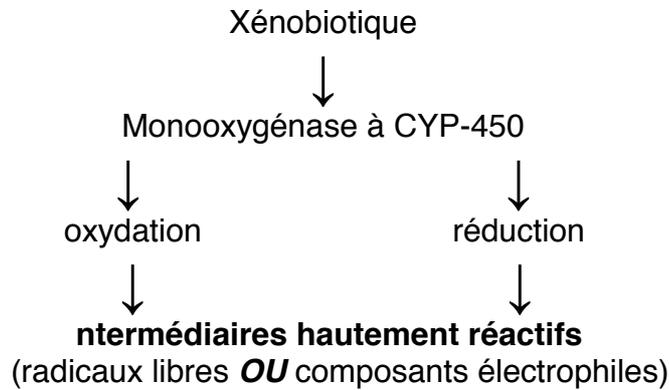
En cas d'exposition massive à un (ou des xénobiotiques), le système peut être débordé. Il va en résulter une **induction** des monooxygénases à cytochrome P-450, d'où la production d'intermédiaires hautement réactifs (exemple : induction due à l'alcoolisme chronique).

On peut aussi observer un déficit en substrats nécessaires aux enzymes de phase II, souvent d'origine nutritionnelle (défaut d'apports en antioxydants, de protéines dont le glutathion)

Classification des mécanismes de toxicité

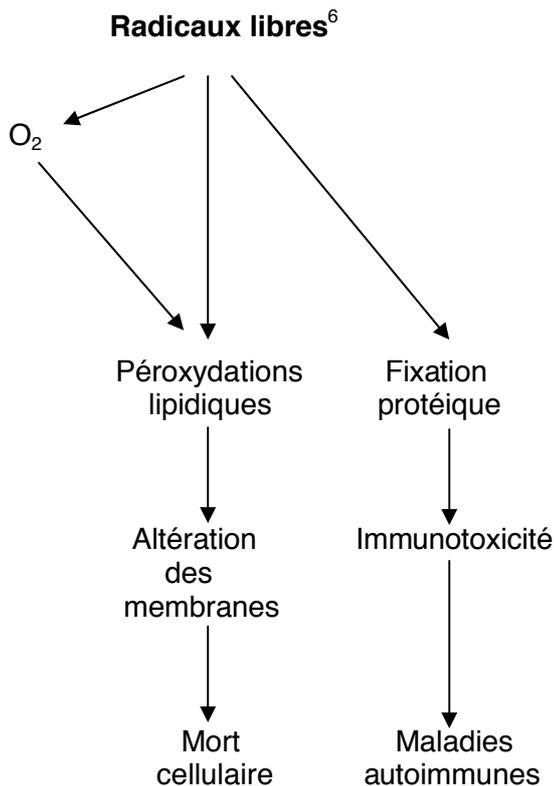
Toxicité directe	Toxicité indirecte dite idiosyncrasique
Exemples : CCl ₄ , solvants bromés, chlorés	Immunoallergies Métabolisme anormal (certains sujets vont posséder des monooxygénases à CYP-450 qui vont produire plus d'intermédiaires réactifs)
<i>Prévisible</i>	<i>Imprévisible</i>
Relation dose/effet	Pas de relation dose/effet (atteintes hépatiques à de très petites doses)
Réaction QUANTITATIVE	Réaction QUALITATIVE
	Pas de mise en évidence chez l'animal

MECANISMES MOLECULAIRES
DE L'HEPATOTOXICITE DIRECTE



Les intermédiaires hautement réactifs sont très instables. Il en découle d'une part qu'ils ont une vie courte, d'autre part que leur action se déroule in situ.

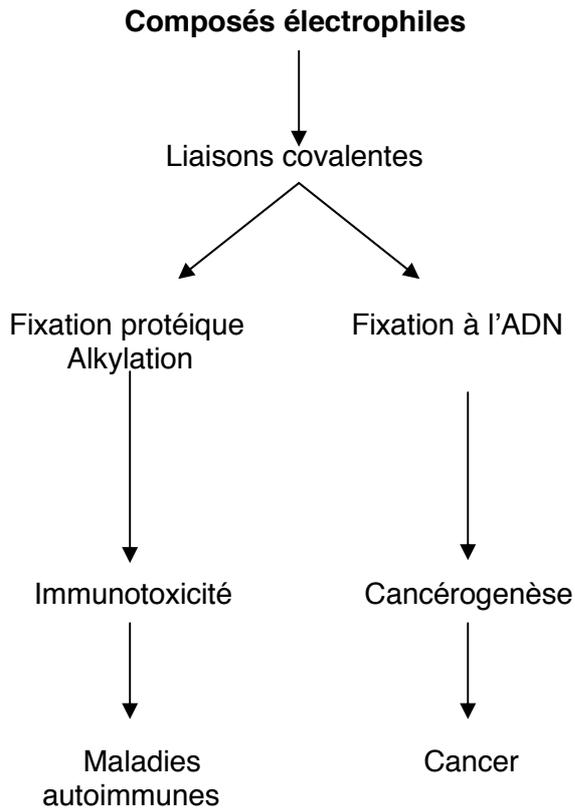
Ils ont tendance à se fixer sur ce qui se trouve autour d'eux dans la cellule : lipides des membranes, matériel nucléaire (ADN, ARN, bases), oxygène et protéines.



⁶ On appelle radicaux libres des molécules qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe et qui peuvent donc réagir avec de nombreux composés.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

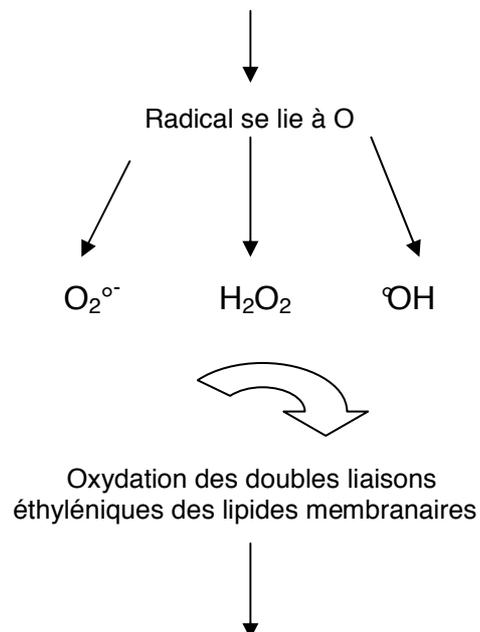


ATTENTION : pour les composés électrophiles, après fixation protéique, il peut y avoir mort cellulaire/organotoxicité.

CONSEQUENCES DES REACTIONS D'OXYDATION ET/OU DE REDUCTION

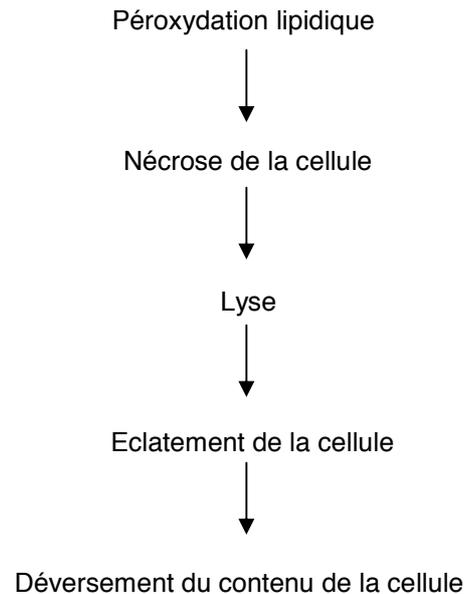
Ces conséquences sont la lipopéroxydation, la nécrose et la modification de l'homéostasie calcique des hépatocytes (phénomène très important, car la teneur en Ca détermine leur souplesse).

Monooxygénase CYP-450 → radical → radical se fixe sur lipides/protéines



INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010



Il ne faut pas oublier que les individus ne sont pas égaux (facteurs génétiques et facteurs acquis) : l'alimentation, un traitement médicamenteux, etc., vont avoir une incidence sur les réactions chimiques de l'organisme. Exemples :

Grossesse ► ↓ glutathion, donc moins d'enzymes de phase II

Jeûne ► ↓ glutathion, donc moins d'enzymes de phase II

Alcoolisme chronique ► induction enzymatique des CYP-450

LIPOPEROXYDATION (OU PEROXYDATION LIPIDIQUE)

Les doubles liaisons des acides gras insaturés permettent la déformabilité des cellules. Le transfert d'une structure radicalaire va les rendre moins souples. Or, les cellules doivent être souples pour faire face aux pressions exercées par le sang, mais aussi la bile. Privés de cette capacité de déformabilité pour résister aux pressions, les cellules éclatent et libèrent leur contenu dans le sang.

C'est un phénomène fréquemment observé pour des xénobiotiques tels que CCl_4 ou le chloroforme CHCl_3 .

LESIONS HEPATIQUES

Sous cette appellation générique, sont regroupées les hépatites, les stéatoses (envahissements graisseux), les syndromes vasculaires ainsi que les tumeurs.

Hépatites

Il s'agit d'atteintes inflammatoires. On observe un envahissement fibreux qui va conduire à une cirrhose.

Il peut se développer même en cas d'arrêt de l'exposition, en raison de la persistance du produit dans les tissus adipeux.

**INITIATION A LA TOXICOLOGIE
FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010**

Hépatite cytolytique	Hépatite cholestatique	Hépatite mixte
Zone centrolobulaire	Cellules proches des canalicules biliaires Voies biliaires	

En cas d'hépatite cholestatique, le signe clinique majeur sera l'ictère.

Stéatoses

Elles peuvent être macrovésiculaires ou microvésiculaires. Le diagnostic peut être **clinique** ou **biologique**.

Diagnostic clinique	Diagnostic biologique
Fatigue Nausées Vomissements Teint jaune (ictère)	Dosage des transaminases : ALAT ASAT (foie, muscle, cœur) Phosphatases alcalines Gamma GT Biluribine totale Prothombine

Le calcul du rapport transaminases/phosphatases est une indication précieuse.

ATTENTION : il faut faire un diagnostic différentiel avec l'éthylisme, les hépatites virales A, B et C, l'état cardiovasculaire, une échographie, la sérologie, etc. pour éviter les conclusions erronées.

**INITIATION A LA TOXICOLOGIE
FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010**

LA CANCEROGENESE

Par cancérogénèse, on entend l'action d'un **agent**, qu'il soit **biologique**, **chimique** ou **physique** capable **chez une espèce donnée** : 1) d'induire des tumeurs (non spontanément présentes) et/ou 2) d'augmenter la fréquence d'apparition des tumeurs et/ou 3) de raccourcir le temps de latence des tumeurs spontanées. Bien entendu, nous nous intéresserons ici aux agents chimiques.

Il faut distinguer les :

Cancérogènes complets	Cancérogènes incomplets	Cocancérogènes
▼ Peuvent agir seuls Exemple : benzo(a)pyrène	▼ Besoin de deux agents : un initiateur et un promoteur Exemple : diméthylbenzo(a)anthracène	▼ Apparition de tumeurs en association avec une substance cancérogène

Il faut également distinguer les :

Cancérogènes génotoxiques	Cancérogènes épigénétiques
Agissent sur l'ADN du génome ▼ Introduction dans l'ADN de lésions stables et transmissibles au génome des cellules filles <u>NB</u> : surtout des électrophiles réagissant avec les centres nucléophiles portés entre autres par les atomes d'azote et d'oxygène des bases azotées (purines et pyrimidines)	N'agissent PAS sur l'ADN mais perturbent l'expression des gènes (sans les modifier)

**INITIATION A LA TOXICOLOGIE
FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010**

Action des génotoxiques sur l'ADN

Rappels : structure de l'ADN (double hélice de Watson et Crick)

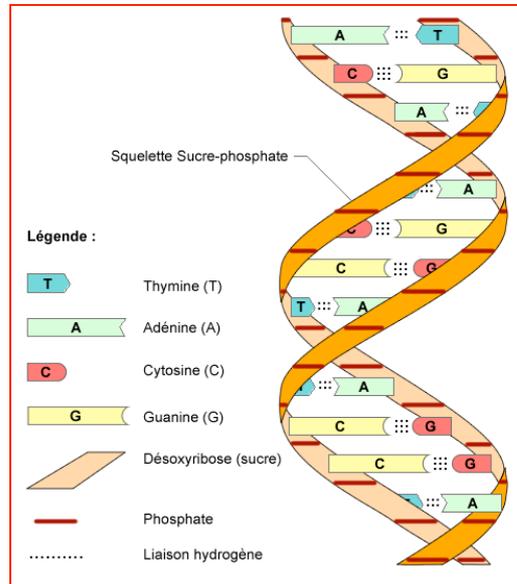


Illustration 11 : la double hélice de l'ADN

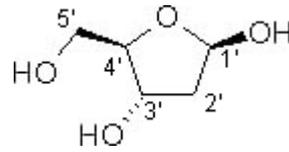
Les bases azotés de l'ADN sont appariées comme suit (A avec T, G avec C).

<p>Adénine (purine)</p>	<p>Thymine</p>
<p>Guanine (purine)</p>	<p>Cytosine</p>

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

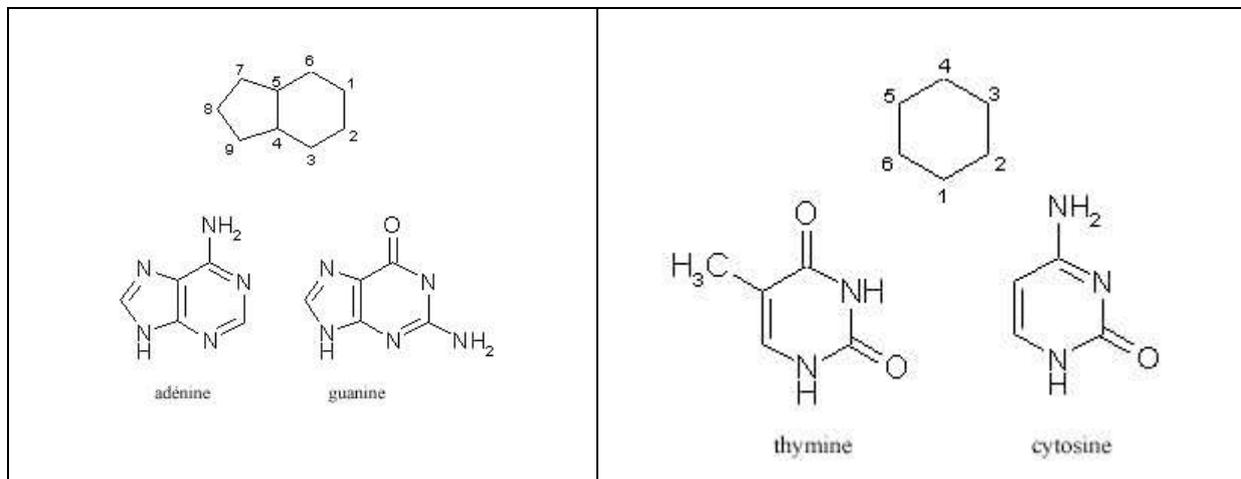
FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Le sucre présent dans l'ADN est le bêta-D-désoxyribose :

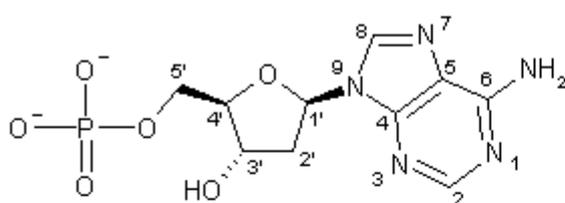


Dérivé du furane , il est dans l'ADN sous sa forme cyclique.

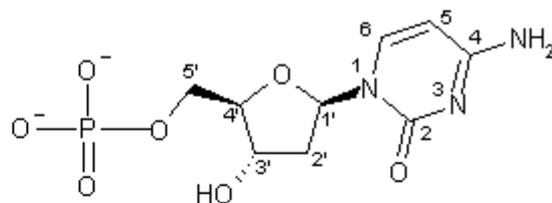
Les purines (adénine, guanine) sont reliées par leur atome d'azote 9 à l'oxygène porté par le 1' du désoxyribose. Les pyrimidines (thymine, cytosine) sont reliées par leur atome d'azote 1.



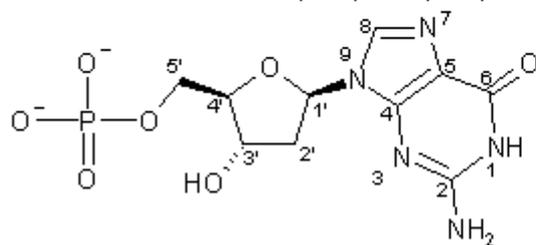
Ces ensembles sucre plus base sont appelés **nucléosides**. Avec en plus un groupement phosphate lié en 5' sur le sucre, on obtient un **nucléotide**, unité de base de l'ADN :



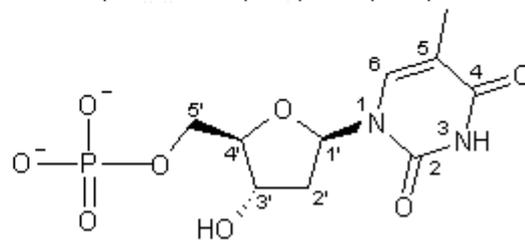
Adénosine monophosphate (AMP)



Cytidine monophosphate (CMP)



Guanosine monophosphate (GMP)

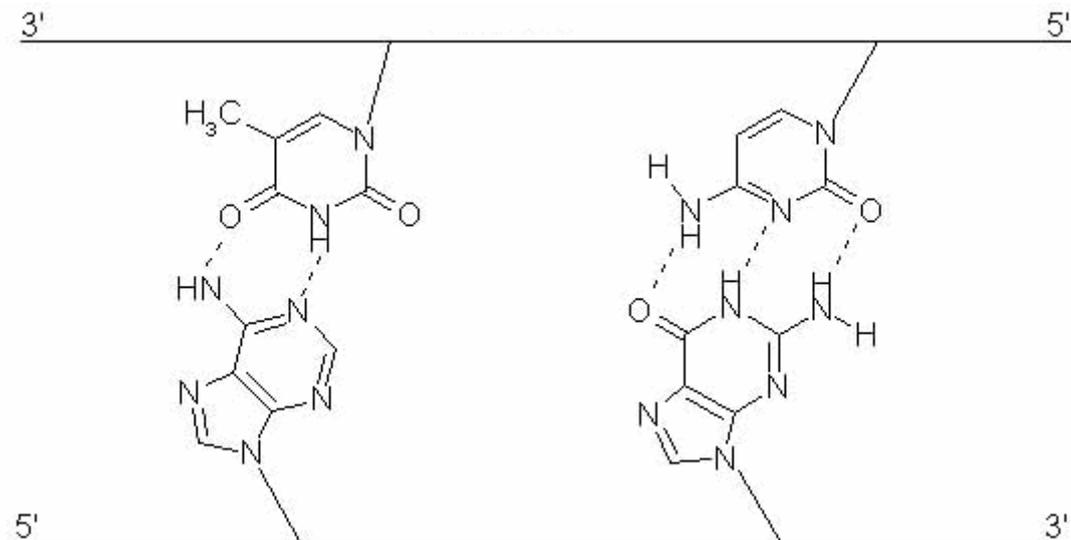


Thymidine monophosphate (TMP)

INITIATION A LA TOXICOLOGIE FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Les nucléotides peuvent s'apparier deux à deux par liaison hydrogène. Du fait des contraintes de taille d'une paire de bases imposées par la structure générale de l'ADN, les appariements ne peuvent se faire qu'entre une purine et une pyrimidine. Si on rajoute à cela les contraintes imposées par la formation de liaisons hydrogène, les seules deux paires de bases sont possibles :

- adénine/thymine (A-T) ;
- guanine/cytosine (C-G).



On remarque que la paire C-G implique trois liaisons hydrogène contre deux pour A-T. Un appariement C-G a donc une énergie de dissociation plus grande : 5.5 kcal/paire contre 3.5 kcal/paire pour un appariement A-T. Ainsi, plus une séquence d'ADN a un pourcentage de paires G-C, plus il faudra fournir d'énergie pour la dénaturer.

Pour avoir un effet **génétoxique**, la substance S doit posséder un caractère **électrophile**, c'est-à-dire une déficience en électrons ET être capable de réagir avec les sites **nucléophiles**, c'est-à-dire riches en électrons selon deux schémas : réactions **homolytiques** et réactions **hétérolytiques**.

Dans le premier cas, il y a rupture symétrique de la liaison covalente donc formation de radicaux libres, soit : $X - X \blacktriangleright X^\bullet + X^\bullet$

Dans le second cas, il y a rupture asymétrique de la liaison covalente, soit : $X - X \blacktriangleright X^+ + X^-$

Les principaux électrophiles réactifs sont les ions carbonium $-C^+=$ et les ions nitronium $-C^+-$.

Au nombre des nucléophiles cellulaires, nous avons les résidus soufrés des acides aminés, les azotes à caractère aromatique, certains atomes de C des bases nucléiques et des acides aminés, le groupement fonctionnel OH et le groupement fonctionnel C=O.

**INITIATION A LA TOXICOLOGIE
FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010**

**MOLECULES EXOGENES SUSCEPTIBLES
D'AVOIR DES PROPRIETES GENOTOXIQUES**

Deux grandes familles de composés méritent notre attention : les **alkylants directs** et les **alkylants indirects**.

Alkylants directs	Alkylants indirects
<p><u>SANS</u> activation métabolique ▼ Formation d'entités électrophiles</p> <p><u>Exemples :</u> halogénure d'alkyle nitrosamides</p>	<p><u>AVEC</u> activation métabolique, c'est-à-dire détoxication par fonctionnalisation / hausse de l'hydrosolubilité</p> <p><u>Exemples :</u> chlorure de vinyle Nitrosamines</p>

Un bref rappel sur l'alkylation :

Un groupement alkyle se note R-. C'est un **alcane** auquel a été enlevé un **hydrogène** afin d'être fixé sur un squelette carboné. Une réaction d'alkylation permet de fixer un groupement alkyle C_nH_{2n+1} sur un des carbones d'une molécule organique.

MECANISMES DE LA CANCEROGENESE

1	2	
Cancérogène dans le cytoplasme	Détoxication	
	Totale	Partielle

Dans le noyau l'ADN est protégé : les sites importants sont inaccessibles et protégés dans la **chromatine** par :

des protéines	des composés comme la vitamine A
---------------	----------------------------------

ATTENTION : une cellule portant des mutations n'est PAS *ipso facto* transformée en cellule **néoplastique**. Elle peut être **quiescente** sous forme de cellule initiée encore sensible aux mécanismes de contrôle.

Tous les cancérogènes sont électrophiles : ils ont donc une affinité pour les nucléophiles (ADN, ARN), d'où la formation d'**adduits**.

Si tous les cancérogènes subissent des biotransformations, il n'en reste pas moins qu'au cours de la métabolisation se forment des dérivés électrophiles dits **dérivés ultimes** qui peuvent agir avec l'ADN.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Mais là encore, le corps humain est une merveille de complexité/ingéniosité : dans tous les systèmes cellulaires, on trouve des systèmes enzymatiques pour :

- repérer les lésions géniques ;
- les faire disparaître.

Certains systèmes sont qualifiés de **fidèles**, d'autres d'**infidèles**.

Systèmes fidèles	Systèmes infidèles
▼ Effacent la lésion restituent 2 brins d'ADN normaux	▼ Peuvent introduire des erreurs d'appariement des bases

LES QUATRE PHASES DE LA CANCEROGENESE

La cancérogenèse comprend quatre phases : initiation, promotion, progression et invasion. Elle est dite **multiphasique**.

Initiation

Elle débute à deux conditions : l'action des agents génotoxiques ET l'introduction dans l'ADN de lésions, qui peuvent être **spécifiques**, **stables** ou **transmissibles**.

Promotion

La deuxième étape de la cancérogenèse est la promotion. Des promoteurs tumoraux (biologiques, chimiques, physiques) doivent d'une part agir de façon répétée, d'autre part agir de façon rapprochée dans le temps. A ce stade, la cellule devient **précancéreuse**.

A noter : les promoteurs tumoraux n'interviennent PAS directement sur le génome : ils lui transmettent des informations qui en modifient l'activité (mécanismes épigénétiques).

L'état (quiescence, prolifératif...) dans lequel se trouvent les cellules qui reçoivent un message intervient dans le choix de la voie dans laquelle elles vont s'engager.

Progression

Il s'agit de la troisième période, celle pendant laquelle les phénomènes amorcés vont évoluer vers un état définitif et irréversible.

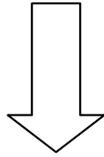
Des facteurs très différents, surtout les **oncogènes**, induisent différents événements génétiques :

- translocations ;
- recombinaisons ;

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

- amplifications ;
- surexpressions géniques ;
- remaniements chromosomiques.



Il en résulte une **instabilité caryotypique**.

A ce moment, la cellule a échappé à tout mécanisme de contrôle ; elle est devenue une entité **autocrine**. ATTENTION : à l'état normal, il y a des proto-oncogènes dans toute cellule animale, par exemple c-fos, c-myc, c-ras, c-sis, etc. Leur présence n'est donc pas synonyme de cancérogenèse...

ONCOGENES ET GENES SUPPRESSEURS DE LA TUMEUR

Deux types de gènes sont responsables de la formation d'un cancer : les **oncogènes** et les **gènes suppresseurs de la tumeur**. Dans la cellule normale, ils interviennent au niveau de la croissance cellulaire, de la différenciation cellulaire, de la réparation de l'ADN et de la mort cellulaire.

Une rupture d'équilibre entre ces deux types de gène entraîne une transformation maligne.

Oncogènes

Les **proto-oncogènes** sont les **gènes dominants** (rappel : la dominance est la propriété d'un caractère génique s'exprimant chez un individu hétérozygote issu d'un croisement de deux lignées pures). Ils doivent être activés pour devenir des oncogènes et donc transformer les cellules normales en cellules tumorales. Il existe différents mécanismes d'activation des proto-oncogènes :

- modification quantitative / qualitative ;
- activation liée à un virus à ADN (par exemple l'hépatite B chez l'homme) ou à ARN ;
- amplification génique / mutation ponctuelle / transposition-activation.

Gènes suppresseurs de tumeurs

Il s'agit de **gènes récessifs**. Ils doivent être inactivés pour entraîner la transformation maligne via différents mécanismes d'inactivation :

délétions	mutations
Sur chacun des deux allèles	

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Invasion

Il s'agit de l'infiltration de cellules tumorales dans les tissus avoisinants et/ou de la migration de cellules tumorales dans différents sites de l'organisme par :

voie sanguine	voie lymphatique
----------------------	-------------------------

Le résultat : des **métastases**.

LA CROISSANCE TUMORALE

A ce stade, il y a besoin d'une interrelation avec les tissus voisins. Cela se traduit par la multiplication de néo-vaisseaux, une **angiogenèse** tumorale, la prolifération de cellules du tissu conjonctif qui secrètent les composés de la matrice extracellulaire (collagène, fibronectine, lamine, etc., et les protéines du tissu conjonctif) : ce sont les **fibroblastes**. On observe également la production de collagène et l'attraction des macrophages et des cellules phagocytaires.

L'attraction et la prolifération de lymphocytes reflètent la réponse immune anti-tumorale. Ces éléments de la réponse locale aboutissent à la constitution de **stroma**, tissu conjonctivo-vasculaire normal qui a pour rôles indispensables à la croissance tumorale la nutrition et le soutien.

LA MUTAGENÈSE

Par mutations, il faut entendre des accidents de copie au niveau des bases azotées. Le tableau ci-dessous en offre un résumé :

Transition	Substitution d'une purine par une purine
Transversion	Substitution d'une purine par une pyrimidine (et vice versa)
Délétion	La réplication est incomplète
Insertion	Un élément étranger est inséré dans l'ADN

Ces mutations peuvent être ponctuelles (une seule base est touchée) ou concerner plusieurs d'entre-elles. Par ailleurs, elles sont possibles pendant les réparations. Cependant, pendant la réplication, les mutations sont rares car les

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

enzymes chargées de ce travail, les ADN polymérases, sont très fidèles, tant au niveau de la lecture que de la correction des éventuelles erreurs.

Les différents types de mutation

Quatre types de mutation sont bien documentés :

A - Altérations primaires de l'ADN

Il s'agit de problèmes lors de la réparation, d'altérations dues à la formation d'adduits, d'altérations dues à des réactions hydrolytiques de l'ADN, d'altérations dues à des pontages ADN/histones ou d'altérations dues à des cassures.

B - mutations géniques

Elles sont dues soit à un changement dans la séquence des nucléotides dans un ou plusieurs **codons** (ensemble de trois nucléotides consécutifs de la séquence d'un acide nucléique portant l'information génétique et qui permet l'incorporation d'un acide aminé dans la séquence primaire d'une protéine), soit dues à la substitution d'acides aminés. Dans ce cas, on notera la présence de protéines défectueuse OU un arrêt de la synthèse.

C - aberrations chromosomiques

D - mutations génomiques

Identifier les substances mutagènes est un enjeu important en terme de **santé publique** et ce afin de prévoir les risques pour les individus et leur descendance. Les chercheurs ont donc développé des tests *in vitro* et *in vivo* pour faire la lumière sur certaines substances.

Tests <i>in vitro</i>		Tests <i>in vivo</i>
Sur des bactéries Sur des levures Sur des cellules	Dénuées de membrane nucléaire pour faciliter le passage du xénobiotique vers l'ADN	Sur des cellules sanguines

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Quelques tests

A - Tests de lésion primaire de l'ADN

Ils sont basés sur la mise en évidence des mécanismes de réparation de l'ADN. Exemples : test de synthèse non programmée de l'ADN, SOS Chromotes Spot, test bactérien, test d'échange des chromatides sœurs.

B - Tests de mutation génique

Le plus connu est le **test de Ames**. Le principe est le suivant : on prend pour sujet d'étude une bactérie, *Salmonella typhimurium*, qui synthétise normalement l'histidine, acide aminé indispensable à l'homme. Ensuite, on choisit des mutants incapables de la synthétiser. Ils sont cultivés dans un milieu sans histidine et sont donc incapables de se multiplier. Cependant, certaines bactéries mutent (mutation reverse) et synthétisent de l'histidine. On dispose au centre de la colonie un disque de papier imbibé de substances mutagènes et on obtient 100 à 1 000 fois plus de mutations reverse que de mutations reverse spontanées attendues. On peut donc conclure que la substance S est mutagène. Il y a cependant une limite de taille à ce test : certains composés ne sont pas détectés, car ils ne deviennent mutagènes qu'*in vivo* après métabolisation hépatique. Or les bactéries sont dépourvues de foie.

C - Tests de mutations ponctuelles

Ils sont pratiqués sur des cellules de mammifères mises en culture et basés sur la déficience d'une enzyme révélée par la résistance à un agent cytotoxique.

Les mutations ponctuelles concernent surtout les **locus** codant pour :

- l'adénylcyclase membranaire ;
- l'hypoxanthineguaninephosphoribosyltransférase HPRT ;
- la thymine kinase TK.

D - Test sur drosophile

C'est le plus connu ! Il s'agit d'un test de mutation létale récessive liée aux chromosomes.

E - Test de mutation ou d'aberration chromosomique

Il s'agit de mettre en évidence des modifications :

Du nombre		De la forme	
Des chromosomes	Des chromatides	Des chromosomes	Des chromatides

LA REPROTOXICITE

Comme nous l'avons déjà souligné, de nombreux facteurs doivent être pris en compte en toxicologie. Parmi eux, la grossesse. C'est là un enjeu de santé publique puisqu'on dénombre pas moins de 800 000 grossesses par an en France. Si des femmes enceintes sont exposées à une ou des substances dangereuses, les conséquences risquent d'être catastrophiques.

Le drame qui a sans conteste donné le coup d'envoi à la **pharmacovigilance** a été celui dû à la **thalidomide**. De 1959 à 1961, cet hypnotique sédatif (non commercialisé en France) a été prescrit aux femmes enceintes. Or, les études toxicologiques avaient montré que ce médicament était non **tératogène** chez le rat (avec quelques malformations chez le lapin NZW).

Malheureusement, près de 12 000 cas de phocomélie ont été recensés chez l'homme après coup.

Plus près de nous, l'affaire du **distylobène** (diethylbestérol ou DES) a également marqué les esprits.

Ce produit, un oestrogène non stéroïdien synthétique, a été préconisé par le corps médical contre les avortements comme thérapie hormonale. Bien que le traitement ait été jugé inefficace dès 1952 (en France, on utilise à propos des médicaments l'expression **service médical rendu** ou **SMR**), il a continué à être prescrit pendant des années.

200 000 enfants en gestation y ont été exposés.

En 1973, les premiers effets indésirables ont été détectés, mais il a cependant fallu attendre près de dix ans (en 1983), avant que le DES ne soit retiré du marché.

Cette affaire est dramatique puisque les effets toxiques du DES ont été constatés après la puberté dans la descendance (ce qui n'était pas possible sur des animaux de laboratoire, sacrifiés au bout d'un temps donné). On a ainsi observé 30% d'anomalies morphologiques du tractus vaginal (0,1% d'adénocarcinome du vagin) ainsi qu'une baisse de fertilité...sans même parler des conséquences sociales et psychologiques.

Aujourd'hui, plusieurs produits sont source d'inquiétude : des **solvants** (certains éthers de glycol initialement mis sur le marché en faibles tonnages, donc sans test sur la reproduction), le **perchloréthylène** (utilisé dans 80% des pressings et soupçonné de favoriser les fausses couches), etc.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

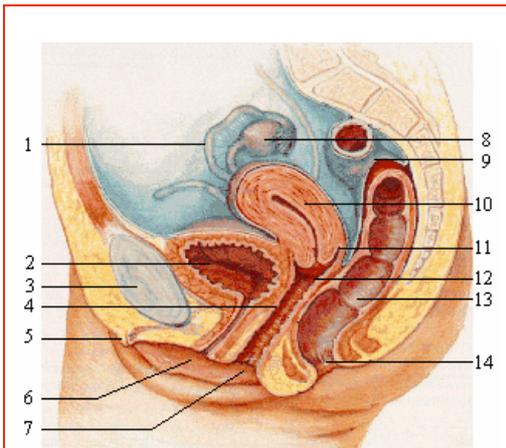


Illustration 12 : l'appareil reproducteur féminin (coupe sagittale)

Légendes :

1 : trompes de Fallope / 2 : vessie urinaire / 3 : symphyse pubienne / 4 : ligaments vésico-pubiens / 5 : clitoris / 6 : petites lèvres / 7 : vestibule vaginal / 8 : ovaire / 9 : péritoine / 10 : utérus / 11 : cul-de-sac de Douglas / 12 : col de l'utérus / 13 : rectum / 14 : anus

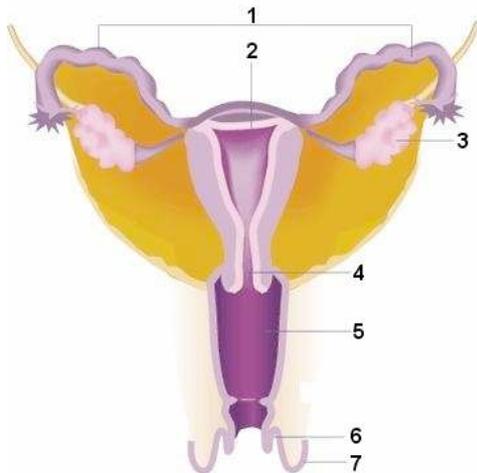


Illustration 13 : l'appareil reproducteur féminin (de face)

Légendes :

1 : trompes de Fallope / 2 : utérus / 3 : ovaire / 4 : vagin / 5 : petite lèvre / 6 : grande lèvre / 7 : vulve

Il ne peut y avoir de grossesse sans **gamètes**.

L'ovaire libère un ovule dans les trompes où il est fécondé par un spermatozoïde. Après fécondation, il y a implantation de l'embryon dans la paroi de l'utérus. La croissance de l'embryon est relativement rapide puisqu'il mesure 7 mm au 46^{ème} jour et 31 mm dix jours plus tard.

Il faut distinguer d'une part la toxicologie de la reproduction, d'autre part la toxicologie du développement.

La première étudie l'altération des fonctions ou de la capacité de reproduction chez l'homme ou la femme ET l'induction d'effets néfastes non héréditaires sur la descendance.

La seconde étudie les réactions indésirables induites avant d'atteindre la vie d'adulte (incluant effets induits ou apparus pendant la **période embryonnaire** ou la **période foetale** et ceux induits ou apparus pendant la période postnatale).

Période embryonnaire	Période foetale
Période de la conception jusqu'à la fin de l' organogenèse principale (fermeture du palais), soit environ les 3 premiers mois de grossesse	Période de la fin de l'organogenèse principale à la parturition



Deux principes fondamentaux à mémoriser : le **principe de Karnofsky** et le **principe de Palmer**.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Principe de Karnofsky	Principe de Palmer
En toxicologie de la reproduction, n'importe quelle substance peut être tératogène si elle est donnée à la bonne espèce, à la bonne dose et au bon moment	Toutes les malformations qui peuvent être induites par des agents tératogènes apparaissent également spontanément dans la population

Les atteintes au développement pendant la grossesse peuvent être de quatre types :

- mort de l'embryon ;
- retards de croissance ;
- déficits du développement fonctionnel ;
- malformation.

ATTENTION : les causes des malformations constituent actuellement une boîte noire, puisqu'elles sont inconnues dans 60% des cas.

20% sont d'origine multifactorielle, 10% sont d'origine génétique, et autant sont d'origine environnementales (radiations, produits chimiques, agents infectieux).

Dans ce domaine, comme dans beaucoup d'autres, établir un lien de causalité n'est donc pas chose aisée. Voici à titre d'exemple un cas de causalité plurifactorielle : celui de l'**hypospadias**. Il s'agit du développement et de l'**élongation de la verge entre la 8^{ème} et la 14^{ème}** semaine sous l'action de la testostérone et de la 5-alpha-dihydrotestostérone (DHT).

Depuis une trentaine d'années, les cas d'hypospadias, souvent associés aux **cryptorchidies**, sont en augmentation. On observe en outre une augmentation du risque de l'ordre de 10% chez le frère d'un enfant atteint, ainsi qu'une augmentation du risque chez les jumeaux (chez les homozygotes, c'est celui de petit poids qui est atteint, suggérant une interaction entre gène et environnement).

Dans certains cas, des facteurs endogènes peuvent aboutir à des malformations. Ainsi, la sécrétion de cortisone due au stress chez la femme enceinte peut-elle aboutir à une malformation chez l'enfant. L'hyperthermie (augmentation de la température corporelle de 1,5 °C), peut également être dangereuse. D'autre part, chez une femme enceinte malade, l'atteinte de l'homéostasie maternelle et de la nutrition du fœtus peuvent s'avérer néfastes. Les effets de l'alcoolisme chronique étant connus, il n'est pas utile d'en dire d'avantage dans ce support.

Un autre concept très important est celui de **fenêtre**, c'est-à-dire le moment de la grossesse compris entre t0 et t1 où l'agent X peut entraîner des effets indésirables. Ainsi, dans le cas de la rubéole, le risque est négligeable jusqu'au onzième jour d'absence de règles ou **aménorrhée**, mais il atteint 90 % jusqu'à 11 semaines de grossesse, puis décroît à 25 % entre la 23^{ème} et la 24^{ème} semaine pour atteindre 100% à 9 mois.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

LE DEVELOPPEMENT DE L'EMBRYON

L'embryon peut être caractérisé selon trois critères : son **âge**, sa **taille** et ses **caractéristiques morphologiques**. C'est la corrélation de ces trois critères qui va permettre d'identifier les **stades embryonnaires**.

L'enchaînement des événements caractérisant à la fois les différences que présentent les ébauches embryonnaires les unes par rapport aux autres quant à leur rythme de développement (par exemple l'apparition des ébauches des membres) et à la synchronisation de certains événements (fermeture du neuropore rostral suivi de celle du neuropore caudal), se trouve inchangé d'un individu normal à un autre.

Ces observations ont permis d'échelonner conventionnellement des « stades d'évolution », au cours desquelles chaque ébauche se trouve dans un état défini.

Cette classification initialement développée par Streeter (1942), qui a appelé ces différents degrés d'organisation des **horizons**, a été complétée par O'Rahilly et Müller en 1987.

O'Rahilly et Müller ont plus simplement défini des « stades embryonnaires » ou **stades de Carnegie**.

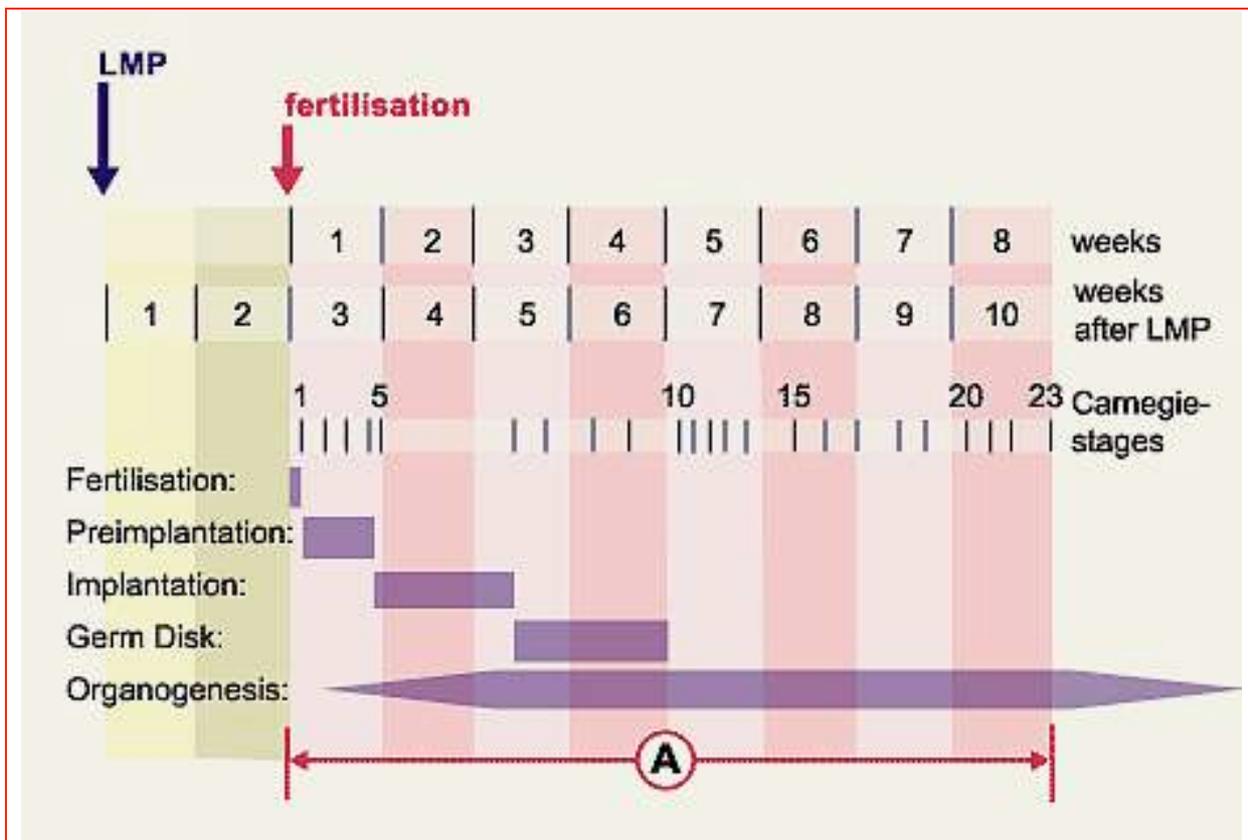


Illustration 14 : les stades de Carnegie

LMP = *last menstrual period* (aménorrhée). Les surfaces violettes correspondent aux événements principaux de la période embryonnaire (A).

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Pour les embryologistes, les stades de Carnegie offrent un repérage plus fiable que la taille (bien que la relation entre la taille et les stades soit assez fiable) et surtout une précision nettement supérieure à la datation.

Les données chronologiques sont en effet moins fiables, ne serait-ce qu'en raison de la date supposée de l'ovulation calculée en fonction de la date d'aménorrhée.

C'est donc sur cette base que les **8 semaines (56 jours)** de la **période embryonnaire** ont été **subdivisées en 23 stades de Carnegie**. La période foetale qui débute après la 8^{ème} semaine est caractérisée par la croissance en taille et la maturation des organes de l'embryon. Les modifications morphologiques y sont moins remarquables et il n'y a dès lors plus de classification en stades de Carnegie au cours de cette période.

Ces stades de Carnegie ne sont pas identiques selon les espèces, ce qui est bien entendu source de difficultés en toxicologie.

Comparaison entre les stades de Carnegie chez différentes espèces

Espèce	Stade	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Homme	Jours	20	22	24	28	30	33	36	40	42	44	48	58	54	55	58
Cobaye	Jours	14,5	15	15,5	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	29
Lapin	Jours	8	8,5	9,5	10,5	11	12	12,5	13,5	14	14,5	15,5	16	16,5	17	18
Rat	Jours	10,5	11	11,5	12	12,5	13	13,5	14	14,5	15	15,5	16	16,5	17	17,5
Souris	Jours	9	9,5	10	10,5	11	11,5	12	12,5	13	13,5	14	14,5	15	15,5	16

DIFFERENCES D'EFFETS SELON LE MOMENT D'EXPOSITION

Phase embryonnaire

Pendant les deux premières semaines de grossesse : malformations, effets incompatibles avec la viabilité, effet tout ou rien. ATTENTION : il y a une période « invisible » ; une femme qui ne peut avoir d'enfant ne souffre pas forcément d'un problème de fertilité. La cause peut être l'exposition à un xénobiotique.

De la 3^{ème} à la 8^{ème} semaine de grossesse : avortements précoces (fréquents, mais passant inaperçus car nous ne sommes que 15 jours après l'aménorrhée), malformations, rares, mais lourdes de conséquences et souvent détectables (exemple : *spina bifida* à la 4^{ème} semaine, fentes palatines à la fin de la période), malformations des membres, malformations vasculaires, malformations cardiaques (double crosse aortique, coarctation de l'aorte, déficit septal atrial, déficit septal atrio-ventriculaire, déficit ventriculaire, anomalies des valves, persistance du tronc artériel, tératologie de Fallot, malformations oculaires (colobome, cataracte congénitale, microophtalmie, anophtalmie, aphaquie, cyclopie, synophtalmie).

Phase foetale

On observe plusieurs types de risque : retard de croissance (hypotrophie), prématurité, anomalies fonctionnelles (surtout du SNC).

INITIATION A LA TOXICOLOGIE FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010



Illustration 15 : thalidomide / enfants phocomèles en Grande-Bretagne



Illustration 16 : enfants japonais exposés *in utero* au méthylmercure

Dans le cas de la thalidomide évoqué plus haut, la fenêtre de sensibilité chez l'espèce humaine se situe entre le 21^{ème} et le 31^{ème} jour de grossesse. De plus, si la dose seuil chez l'animal est de 100 mg/kg, elle n'est que de 1 mg/kg chez l'homme.

Les effets induits chez l'animal sont prédictifs d'un effet sur le développement humain. On sait ainsi qu'une baisse du poids corporel et la déformation de la cage thoracique chez l'animal sont des signaux d'alerte de la tératogénicité.

Celle-ci dépend du **génotype** du **conceptus** ET de son interaction avec des facteurs environnementaux.

Dans tous les cas, il faut qu'il y ait contact entre le xénobiotique et la mère, franchissement de la **barrière placentaire** et un contact avec le conceptus.

si on ne décèle rien chez l'animal (cas du rat concernant la thalidomide), on peut conclure de façon erronée à l'innocuité de la substance...

En outre, certains xénobiotiques toxiques présents dans l'environnement peuvent donner des composés encore plus toxiques que le composé mère. Exemple : le mercure méthylé par des bactéries, ingéré par des poissons, eux-mêmes consommés par les pêcheurs à Minamata et Niigata au Japon dans les années soixante (phénomène de bioamplification).

Il ne faut pas oublier que les xénobiotiques peuvent passer dans l'alimentation. S'ils sont liposolubles, on va les retrouver en quantité plus ou moins importante dans le lait maternel qui contient 40 grammes de lipides par litre en moyenne. Pendant la lactation, la mère peut donc intoxiquer son enfant (il faut cependant tenir compte des variations dans la composition du lait).

INITIATION A LA TOXICOLOGIE FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

COMMENT EVALUER LA TOXICITE POUR LA REPRODUCTION ?

Il existe de nombreuses sources d'information (données épidémiologiques et données expérimentales). En France, on diagnostique 10 à 15% de fausses couches et on observe un taux de malformation à la naissance compris entre 2% et 4%. La pyramide des âges ne doit pas être occultée : plus la mère est âgée, plus le risque de prématurité est élevé, plus on note des enfants de petit poids à la naissance et plus le risque de **syndrome de Down** (trisomie 21) est élevé.

Les toxicologues ont mis au point une batterie de tests normalisés par l'Organisation de coopération et de développement économique (OCDE). Validés internationalement, ils permettent des comparaisons :

- OCDE 414 (téatogénicité) ;
- OCDE 415 (étude de reproduction sur une génération) ;
- OCDE 416 (étude de reproduction sur 2 générations) ;
- OCDE 421 (dépistage) ;
- OCDE 422 (dépistage) ;
- OCDE 423 (neurotoxicité).

CLASSEMENT DES REPROTOXIQUES

On a pour habitude de classer les reprotoxiques en fonction de leurs effets sur la **fertilité** ou de leurs effets sur le **développement**.

Effets sur la fertilité (masculine OU féminine)

Vont être étudiés les différents aspects de la spermato- et de l'ovogenèse ainsi que l'activité hormonale et la réponse physiologique qui perturbent la capacité de fécondation ou le développement de l'ovule fécondé (implantation incluse).

Effets sur le développement

Vont être étudiés les effets **embryotoxiques**, **foetotoxiques** (diminution du poids, retard de croissance et de développement, toxicité pour les organes, avortement, anomalies structurelles, anomalies fonctionnelles, anomalies péri ou postnatales, mort) ainsi que les altérations du développement mental ou physique après la naissance (y compris le développement pubertaire).

Trois catégories de substances ont été définies :

- **1^{ère} catégorie** = substances avec preuves épidémiologiques chez l'homme ;
- **2^{ème} catégorie** = substances devant être assimilées aux substances altérant la fertilité de l'espèce humaine. Forte présomption ;
- **3^{ème} catégorie** = substances préoccupantes pour la fertilité ou le développement. Forte suspicion.

LE REIN : NEPHROTOXICITE ET ELIMINATION

LA NEPHROTOXICITE

Tout comme le foie, le rein est un organe très important en toxicologie. Il joue en effet un rôle majeur dans l'élimination des toxiques et des métabolites. Cependant, il peut être la cible des produits toxiques : c'est la **néphrotoxicité**.

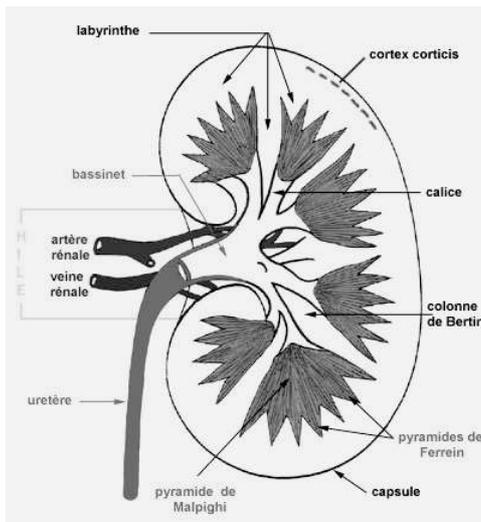


Illustration 17 : organisation générale

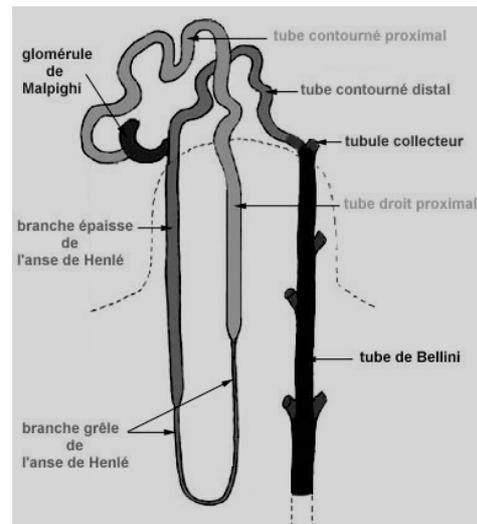


Illustration 18 : les tubes proximal et distal

Les xénobiotiques sont concentrés dans le filtrat et transportés à travers vers les cellules tubulaires.

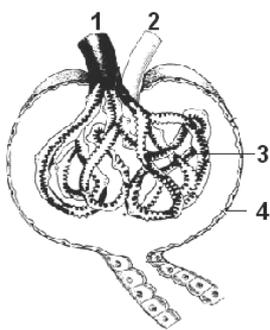


Illustration 19 : le glomérule

Légendes :

- 1 : artériole afférente
- 2 : artériole efférente
- 3 : peloton capillaire
- 4 : capsule de Bowman

Le **glomérule** ou **corpuscule de Malpighi**, constitue une partie du **néphron**, unité structurale du rein. Il possède un système capillaire à pression élevée qui produit un **filtrat** à partir du **plasma** (25% du débit sanguin est filtré par le rein).

Le filtrat est collecté dans la **capsule de Bowman**, puis passe dans le **tube contourné proximal**, puis passe dans l'**anse de Henlé**, puis passe dans le **tube contourné distal**, puis passe dans le canal collecteur dans le pelvis rénal pour former l'**urine**.

Le rein est un donc un organe filtrant, mais la concentration d'un toxique peut être non toxique dans le sang et toxique au niveau rénal.

L'eau et le sel sont beaucoup réabsorbés au niveau tubulaire, donc les toxiques peuvent s'y concentrer, voire s'y précipiter.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

L'insuffisance circulatoire et la déshydratation dues à certains toxiques entraînent la diminution du filtrat glomérulaire. Il existe bien entendu des facteurs prédisposant : âge (plus de 60 ans), diabète, hypotension, athérosclérose, goutte, myélome...

D'autre part, toutes les zones du néphron peuvent être atteintes (de légères altérations biochimiques à la mort cellulaire se traduisent pas une insuffisance rénale).

COMPOSES NEPHROTOXIQUES ENVIRONNEMENTAUX ET INDUSTRIELS

Herbicides :

Paraquat, diquat, acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique

Hydrocarbures halogénés

CCl₄, chloroforme, trichloréthylène, tétrachloréthylène

Métaux

Bismuth, Cd, Cr, Hg, Ni, Pb

Solvants :

Diéthylène glycol, éthylène glycol, toluène

Divers

Benzidine, essence sans plomb, d-Limonène, lindane, p. Aminophénol

ATTEINTES DU GLOMERULE

De nombreux xénobiotiques exercent un effet nocif sur le glomérule. Ainsi, les aminoacides modifient la charge électrostatique de l'endothélium d'où une diminution de la filtration glomérulaire. Autre exemple : la ciclosporine mobilise le calcium Ca intracellulaire entraînant une baisse de l'activité des cellules endothéliales. Enfin, un antitumoral, la doxorubicine, altère le fonctionnement des cellules épithéliales.

ATTEINTES TUBULAIRES

Les métaux trace toxiques, le cis-platine et le carboplatine (des antitumoraux), peuvent ralentir leur propre élimination et provoquer glycosurie et aminoacidurie.

Quant aux aminoacides, aux céphalosporines et à l'amphotéricine-B, ils nuisent au bon fonctionnement des tubes proximaux (le même effet est suspecté dans le cas des hydrocarbures halogénés)

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

AUTRES EFFETS TOXIQUES

Les produits de contraste triodés hydrosolubles utilisés en uro-angiographie peuvent entraîner des néphropathies.

Les sulfamides antibactériens peuvent donner des précipités dans les tubes rénaux, d'où des néphrites.

Les HAP, les diméthyl-nitrosamines et les MTT entraînent des cancers rénaux.

ADAPTATION DU REIN AUX NEPHROTOXIQUES

La réponse peut être de trois types : **hypertrophie, induction de protéines et prolifération/régénération.**

Induction de protéines

Elle se caractérise par la production :

1 - de **métallothionéine**, protéine de bas poids moléculaire capable de se fixer (par exemple Cd) ;

2 - de **Heat shock protéines** : protéines induites par un choc thermique, l'anorexie, des toxiques, qui dégradent les protéines altérées.

Prolifération/régénération

Il s'agit d'une part de la différenciation des cellules adjacentes aux cellules lésées, de l'augmentation de la synthèse de l'ADN et de l'intervention de facteurs de croissance comme l'**epidermal growth factor** ou **EGF** qui peuvent améliorer la récupération du fonctionnement rénal (sauf en cas de toxicité très importante).

EVALUATION DU RISQUE RENAL

Elle peut s'effectuer *in vivo* et *in vitro*.

In vivo

On peut procéder à des analyses d'urines (protéinémie, glycosurie, osmolarité, créatinine), à un dosage enzymatique (phosphatase alcaline, N-acétyl-glucosaminidase, Beta-glutamyltransférase...), à des analyses du sang (urée, créatinine...), à un diagnostic de la clairance rénale ainsi qu'à des examens morphologiques (microscopie, macroscopie).

In vitro

Il faut citer trois méthodes principales : les coupes histologiques, la perfusion des tubules ou l'isolation des néphrons isolés.

L'ELIMINATION DES XENOBIOTIQUES

L'excrétion/élimination des xénobiotiques peut emprunter diverses voies : rénale, fécale, pulmonaire, mammaire, cutanée et lacrymale. La **voie rénale** (qui va donner l'urine) et la **voie fécale** (qui va donner les fèces), sont prépondérantes.

EXCRETION RENALE

L'intensité de l'excrétion rénale des xénobiotiques est appréciée par la **clairance rénale** donnée par la formule $Cr = V.U / P$ où :

- V = débit urinaire ;
- U = concentration urinaire des composés ;
- P = concentration plasmatique des composés.

Trois processus physiologiques entrent en jeu : la **filtration glomérulaire**, la **sécrétion tubulaire** et la **réabsorption tubulaire**.

Filtration glomérulaire

La filtration glomérulaire est un **mécanisme passif** : il est conforme à la loi de Fick.

Le glomérule filtre des molécules dont la masse s'échelonne jusqu'à 69 000 Dalton (le Dalton Da équivaut au 12^{ème} de la masse d'un atome de carbone 12 et exprime la masse d'un atome d'hydrogène, soit $1,66.10^{-27}$ kg).

La filtration glomérulaire concerne les molécules hydrosolubles mais aussi la fraction ionisée hydrosoluble des molécules liposolubles : il s'agit surtout de métabolites ayant subi une conjugaison.

Sécrétion tubulaire

La sécrétion tubulaire a lieu niveau du **tube contourné proximal** (en haut à droite sur ce schéma).

Mécanisme actif, il peut s'effectuer contre le gradient de concentration.

Il concerne tout particulièrement les acides (anions), beaucoup les bases (cations).

C'est un mécanisme saturable, sujet à compétition comme tous les processus actifs.

Réabsorption tubulaire

Il s'agit d'un **mécanisme passif**, dont la particularité est de ne concerner que les molécules liposolubles. Cependant, il peut aussi assurer la filtration des molécules liposolubles ionisables grâce à la différence de pH entre l'urine et le sang en fonction du pKa des molécules et du pH de l'urine.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

La réabsorption tubulaire est directement proportionnelle au gradient de concentration entre l'urine tubulaire et le sang.

Urines pH acide	Urines pH alcalins
↓	↓
Favorables à la réabsorption des acides de pKa entre 3 et 7	Favorables à la réabsorption des composés basiques

Attention : le pH urinaire est lui aussi soumis à des variations, en fonction de l'espèce animale considérée, du régime alimentaire et de l'activité physiologique. Le pH urinaire varie en raison de la dissociation ionique et du fait que seule la forme non ionisée liposoluble peut diffuser passivement à travers les membranes cellulaires des tubules rénaux.

Milieu	pH
Sang	7,35
Urines des carnivores	5,5 - 7
Urines des herbivores	7,3 - 7,6
Urines des omnivores	5 - 7,5

Le passage des xénobiotiques s'effectue de la lumière du tube (l'intérieur) vers le sang au niveau du **tube contourné distal** et du **tube collecteur**, siège de la formation du pH urinaire.

EXCRETION FECALE

L'excrétion fécale est un mécanisme complexe, qui comprend des **voies majeures** et des **voies mineures**.

Voies majeures

Elles concernent les ingestas non absorbés, l'**excrétion biliaire**, l'**excrétion salivaire** et l'**excrétion par la muqueuse intestinale** (ce dernier ne sera pas abordé, car il s'agit d'un mécanisme très mal connu). Sont à prendre en compte la fraction non digestible du **bol alimentaire** ainsi que la digestibilité partielle des xénobiotiques.

La formule **A = ing – fec**, où A (pour absorption) correspond à la quantité de xénobiotique absorbée, ing à celle ingérée et fec à la quantité excrétée dans les fèces, donne une approximation du mécanisme.

Cependant, elle n'est pas tout à fait conforme à la réalité, car la fraction absorbée peut être excrétée par le système entéro-hépatique.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Excrétion biliaire

L'excrétion biliaire est la plus importante source d'excrétion fécale. Les xénobiotiques suivent ce chemin : hépatocytes ► bile ► tube digestif. De là, ils seront soit éliminés dans les fèces, soit réabsorbés.

Les xénobiotiques excrétés dans la bile sont divisés en **trois classes** selon le rapport :

$$\frac{\text{concentration bile}}{\text{concentration plasma}}$$

Classe	Rapport des concentrations	Xénobiotiques (exemples)
A	1	Co Cs Hg K Na Tl
B	>1 (souvent entre 10 et 1000)	As Pb Mg
C	<1	Cr Fe Or Zn

La classe B comprend les composés les plus rapidement excrétés.

Excrétion salivaire

Il s'agit d'un **mécanisme passif** qui fonctionne selon deux facteurs prépondérants :

- le **pH salivaire** ;
- le **débit salivaire**.

Tous deux étant variables selon l'espèce considérée.

**INITIATION A LA TOXICOLOGIE
FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010**

Espèces	pH salivaire
Ruminants	8 - 8,4
Carnivores	7,3 - 7,6
Homme	6,5 - 7,2

LA NEUROTOXICITE

C'est un chapitre très important de la toxicologie, mais il nécessiterait à lui seul un support de cours très volumineux. Vouloir traiter de façon exhaustive de la neurotoxicité est une gageure, aussi nous contenterons-nous de poser quelques jalons.

Le système nerveux est constitué du **système nerveux central** ou **SNC** (encéphale, cerveau, tronc cérébral, cervelet, moelle épinière, nerfs crâniens I et II), et du **système nerveux périphérique**.

Le **système nerveux périphérique** désigne les ganglions ainsi que les nerfs (cubital, fémoral, radial, sciatique, etc.). Il est divisé entre le **système nerveux somatique** et le **système nerveux végétatif**, ce dernier étant lui-même divisé entre **système orthosympathique** et **système parasympathique**.

L'unité fonctionnelle du cerveau est une cellule appelée **neurone** (le cerveau en comprend environ 100 milliards). Ces cellules transmettent un signal grâce leurs axones : c'est le **flux nerveux**.

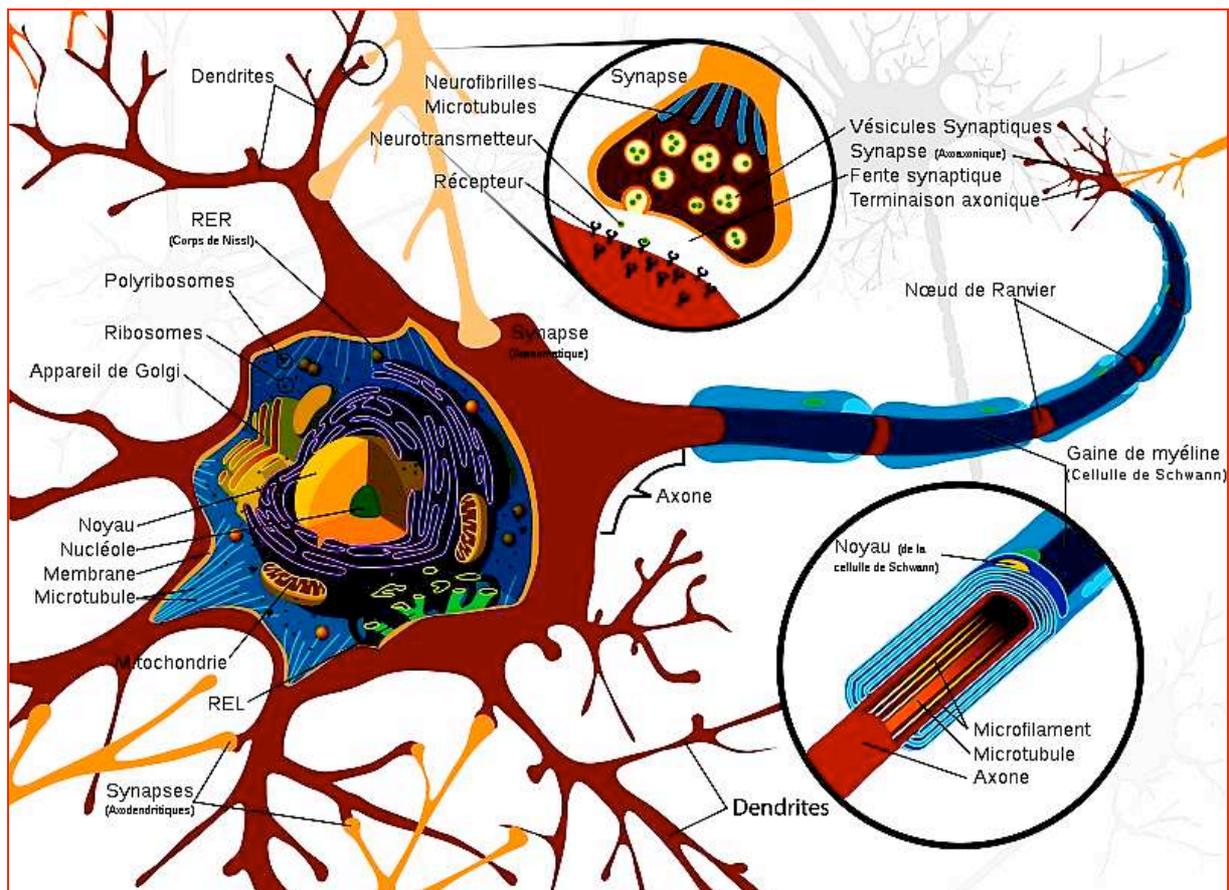


Illustration 20 : le neurone

Il s'agit d'un signal biochimique (dépolérisation/repolarisation Na^+/K^+).

Cependant, on a coutume de comparer le fonctionnement du neurone à celui d'un réseau électrique pour en faciliter la compréhension.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Si nous considérons donc l'axone comme un câble électrique, nous observons qu'il est partiellement recouvert d'un « isolant » : c'est la **myéline (gaine de Schwann)**. Certaines zones en sont moins pourvues : ce sont les **nœuds de Ranvier**.

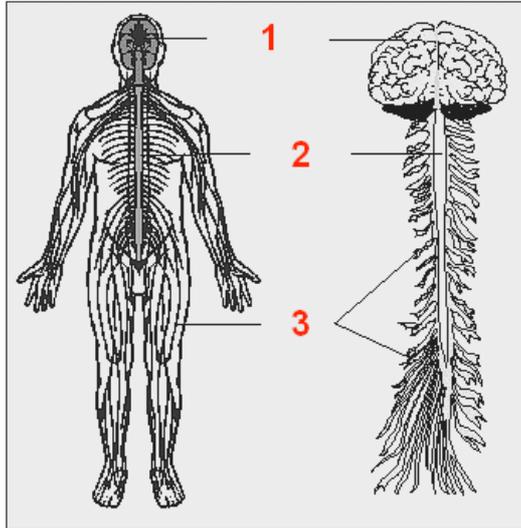


Illustration 21 : le SNC et le prolongement de la moelle épinière

Légendes :

1 : cerveau / 2 : moelle épinière / 3 : nerfs

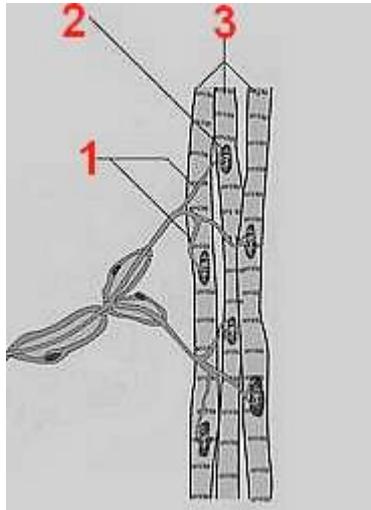


Illustration 22 : fibres musculaires

Légendes :

1 : arborisation terminale / 2 : plaques motrices / 3 : fibres musculaires

Ils permettent que le flux nerveux ne soit pas « continu », mais qu'il « saute » tout au long de l'axone (on dit qu'il est saltatoire), donc qu'il se propage rapidement.

Etant donné que les axones ont pour finalité de transmettre une information (contraction, etc.) aux **fibres musculaires**, la perte de myéline ou **démyélinisation** va s'accompagner d'un ralentissement du flux nerveux et de troubles moteurs : une maladie auto-immune comme la sclérose en plaques ou SEP en est la parfaite illustration (bien qu'il ne s'agisse nullement d'une pathologie liée à une substance toxique).

Le système nerveux est particulièrement sensible à l'action des xénobiotiques en raison de la présence de prolongements qui ne peuvent fonctionner que si des métabolites sont fournis par les flux axonaux, de l'excitabilité des neurones et des **cellules gliales**, de l'impossibilité pour les cellules nerveuses de se multiplier et de leur mort programmée.

Il est cependant protégé par des barrières.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE

FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

LA PROTECTION DU SNC

Le SNC est protégé par la **barrière hémato-encéphalique** ou **BHE**, située entre le sang et le parenchyme cérébral⁷.

Le BHE comprend trois éléments :

- des cellules capillaires endothéliales jointives : c'est là que passent toutes les substances, bénéfiques ou pas, du sang au parenchyme cérébral ;
- une membrane basale ;
- des prolongements d'astrocytes ou pieds astrocytaires.

LE PASSAGE DES XENOBIOTIQUES DANS LE SNC

Même si la BHE n'est pas un système de protection infallible contre les xénobiotiques, le fait qu'il soit constitué d'une succession de membranes

endothéliales et basales le rend très efficace contre les grosses molécules et les grosses protéines qui s'avèrent incapables de pénétrer le cerveau. Des substances comme les toxines bactériennes (diphthérique, staphylococcique, tétanique) ou des dérivés de métaux traces toxiques comme le méthylmercure (dont nous avons parlé dans les pages précédentes), sont incapables de franchir la BHE.

Par contre, les substances volatiles et les substances lipophiles vont passer par **diffusion passive**.

Le **transport actif** va surtout concerner les xénobiotiques hydrosolubles.

LA PROTECTION DU SYSTEME NERVEUX PERIPHERIQUE

Le système nerveux périphérique est protégé par la **barrière hémato-nerveuse** ou **BHN**, composée de deux gaines de tissu conjonctif : l'**épinèvre** et l'**endonèvre**. Elle est beaucoup moins efficace que la BHE pour stopper les xénobiotiques.

LES ACTIONS DES XENOBIOTIQUES SUR LE SYSTEME NERVEUX

Les actions des xénobiotiques sur le système nerveux sont extrêmement variées. Des xénobiotiques peuvent perturber un canal iodique, tandis que d'autres peuvent avoir des sites d'action multiples.

Au niveau du SNC, on peut observer une action directe sur les cellules gliales et les neurones ainsi qu'une action indirecte (par les métabolites).

Le système nerveux périphérique est quant à lui sensible à l'action de nombreux neurotoxiques, directement, par exemple par toxicité axonale, ou indirectement, par exemple dans le cas de l'éthanol.

⁷ La BHE ne doit pas être confondue d'une part avec la barrière hémato-méningée ou BHM constituée des plexus choroïdes et des vaisseaux sanguin sous-arachnoïdiens, ni avec la barrière hémato-encéphalique ou BME, c'est-à-dire l'interface entre le liquide céphalorachidien ou LCR et le parenchyme cérébral constituée de cellules gliales et du cortex.

INITIATION A LA TOXICOLOGIE FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Les conséquences sont extrêmement variées : myélites, névrites et polynévrites, syndrome dit de Guillain-Barré etc.

Attention : du fait de la contiguïté entre SNC et système nerveux périphérique, on peut également observer des syndromes affectant la moelle épinière, le système nerveux périphérique ainsi que le système neuromusculaire : les plus importants sont l'axonopathie distale centrale et de l'axonopathie périphérique.

A noter : certains xénobiotiques ont la propriété de remonter de la périphérie au niveau cellulaire : c'est le **transport axonal rétrograde**.

LES INTOXICATIONS DU SYSTEME NERVEUX

On dénombre quatre grands groupes de syndromes cérébraux dus à l'action de xénobiotiques :

- 1 – atteintes cognitives et neuropsychologiques isolées ;
- 2 – encéphalopathies et troubles de la vigilance ;
- 3 – syndromes convulsifs ;
- 4 – altérations du système nerveux périphérique (myélopathies, etc.)

Attention : il ne s'agit là que d'une simplification puisqu'il est délibérément fait abstraction de l'intrication des divers syndromes.

Il existe une classification des atteintes du système nerveux dues aux **solvants** : c'est la **classification OMS/Raleigh**. Elle comprend trois types :

- type 1 : syndromes subjectifs avec troubles de l'humeur ;
- type 2 : encéphalopathie chronique modérée, c'est-à-dire les signes cliniques de type 1 auxquels s'ajoutent des problèmes d'attention, des problèmes de mémorisation, des axonopathies périphériques ainsi que diverses anomalies détectées par électroencéphalogramme ou EEG ;
- type 3 : encéphalopathie sévère.

Le tableau page suivante résume pour quelques xénobiotiques présents dans l'environnement, quelles sont les cellules touchées, les cibles ainsi que les mécanismes en œuvre (ce tableau n'est en aucune façon exhaustif).

**INITIATION A LA TOXICOLOGIE
FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010**

Toxiques	Cellules touchées	Cibles	Mécanismes
CO Cyanures de carbone Méthylmercure	Neurones	Corps cellulaire (neuropathie)	Atteinte du métabolisme énergétique neuronal Anoxie cellulaire Anoxie cytotoxique (blocage de la cytochrome oxydase) Cassure de l'ADN Destruction des neurotubules Dégénérescence neurofibrillaire Œdème du péricaryon
CO Thallium	Neurones	Axone (axonopathie)	Gonflement et dégénérescence des mitochondries axonales Prolifération de neurofilaments Gonflement axonal etc.
Chlordiméforme DDT Hydrure de bore Manganèse Sulfure de chrome	Neurones	Synapses (altération de la transmission synaptique cérébrale ou neuromusculaire)	Interférence avec le Ca ²⁺ des cellules de Schwann Modification de la composition de la myéline et démyélinisation Œdème des astrocytes et des oligodendrocytes Œdème des cellules de Schwann
Pb Tri-éthylétain	Cellules gliales	Gaine de myéline	Action directe contre la gaine de myéline du SNC Action directe contre la gaine de myéline du SNP Œdème des gaines de myéline
Héxachlorophène Pb Pb tétraéthyle	Cellules endothéliales des vaisseaux	Mur endothélial	Lésions des cellules endothéliales (en particulier dans la substance blanche du cerveau) Lésions des cellules endothéliales de l'endonèvre Lésion des cellules endothéliales du SNC et accroissement de sa perméabilité
Manganèse			Blocage de SOD et production de radicaux libres

INITIATION A LA TOXICOLOGIE FRANCK CANOREL/MASTER SSENTS/AVRIL 2010

Ce support de cours mérite sans nul doute d'être amélioré. Toute suggestion est donc la bienvenue.

Le PDF suivant est intitulé *La construction des valeurs toxicologiques de référence*. Il s'agit d'une introduction à l'utilisation du site FURETOX développé par l'Institut national de veille sanitaire et les cellules régionales d'épidémiologie d'Ile-de-France et du Nord.