

Biotransformation des toxiques

Introduction :

Biotransformation = conversion de la molécule mère en **métabolites** et **dérivés conjugués** plus hydrosolubles et plus polaires, donc plus facilement éliminables par le rein.

Le but général des réactions de biotransformation est la **détoxication**, cependant, dans certains cas, il y a "**bioactivation**" ou toxification.

Deux types de réactions sont impliqués dans les biotransformations :

- Réactions de **dégradation** ou de **fonctionnalisation**, de **phase I**
- Réactions de **conjugaison**, de **phase II**

I. Sites de biotransformation :

a) Organes :

• Foie : principal :

- Flux Sanguin Très Important : organe épurateur reçoit 1,5 L/min.
- Masse volumique importante.
- Activité enzymatique : Grand nombre d'enzymes (Cytochrome P450 +++ : oxydations).

• Tractus Gastro-intestinal: 2^{ème} place après le foie.

- activité enzymatique décroît vers le bas, avec une activité des réactions de phase II.
- flore intestinale intervient dans la biotransformation ...

• Reins (principal organe excréteur) : débit sanguin très élevé : R^{ot} de Phase II prédominant.

• Poumons :

- faible activité métabolique : [enz] <<<< foie
- Débit cardiaque transportant les xénobiotiques ne perfuse pas directement les cellules contenant les cytochromes.

• Autres : Peau et Moelle Osseuse...

b) Au niveau cellulaire :

- **REL** (microsome hépatique+++): enzymes microsomiales => réactions de phase I
- **Cytosol** : phase II principalement
- **Autres** : mitochondries, l'enveloppe nucléaire et la membrane cytoplasmique

II. Phases du métabolisme :

Réactions de phase I :

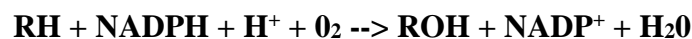
1. Oxydation :

a. Oxydation microsomiale :

• Oxydation par mono-oxygénases :

=> **Système mono-oxygénasique du cytochrome P450 :**

Les réactions d'oxydation peuvent être schématisées de la manière suivante :

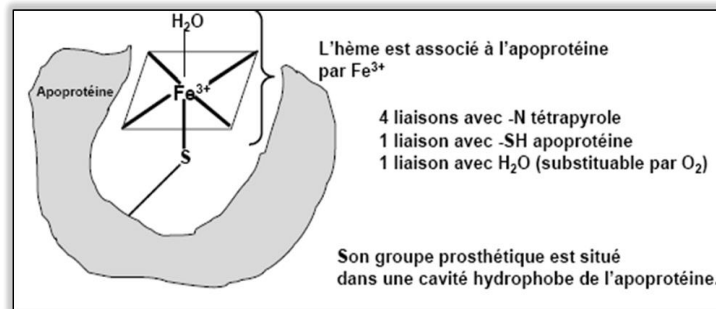


Biotransformation des toxiques

▪ Cytochrome P450 :

Hémoprotéine non cytochrome

Structure = Apoprotéine + Groupement prosthétique "Hème" (protoporphyrineIX+ Fer ; $Fe^{2+} \leftrightarrow Fe^{3+}$).

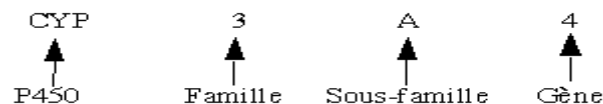


❖ Localisation :

- Tissus : la concentration varie d'un tissu à un autre avec +++foie et absence dans GR et Muscle strié
- Cellule : la face externe de la membrane du Réticulum endoplasmique.

❖ Classification :

La superfamille des cyt P450 contient un grand nombre d'isoenzymes. Chez l'homme, plus de 50 formes différentes ont été identifiées (polymorphisme phénotypique)



❖ Spécificité :

Chaque S/G métabolise des substrats déterminés :

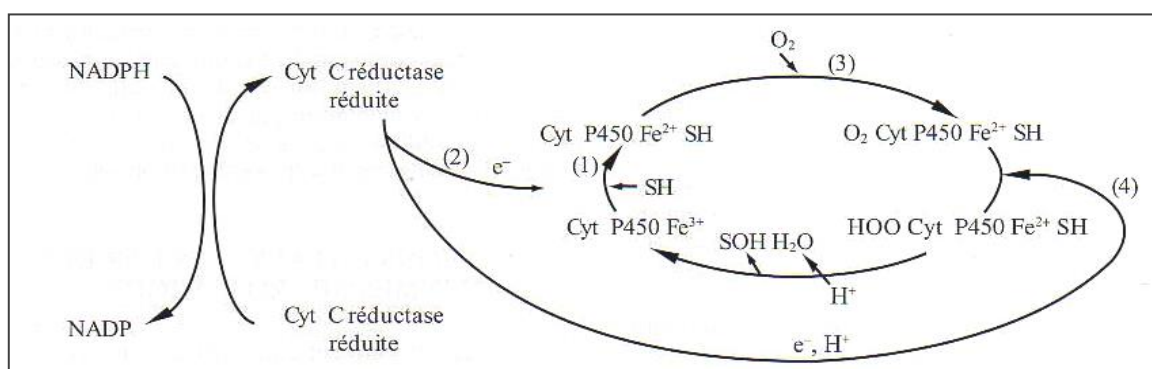
- **CYP1A1** => HAP : benzo(a)pyrone.
- **CYP1A2**, induit par le tabac => AR : caféine, théophylline, clozapine, imipramine.
- **CYP2B6** => cyclophosphamide.
- **CYP2C9** => phénytoïne, tolbutamide, ibuprofène, warfarine.
- **CYP2D6** => antidépresseurs, neuroleptiques, β -bloquants.
- **CYP2E1** +++ , induit par le jeûne & consommation chronique d'alcool => faible PM : alcools, benzène, CCl_4 , paracétamol et nitrosamines.
- **CYP3A4** => 50% méds sur le marché: clozapine, terféndadine, érythromycine, nifédipine...

La spécificité est :

- **Relative** : une isoforme va métaboliser plusieurs substrats différents
- **Chevauchante** : un même substrat est métabolisé par plusieurs isoformes

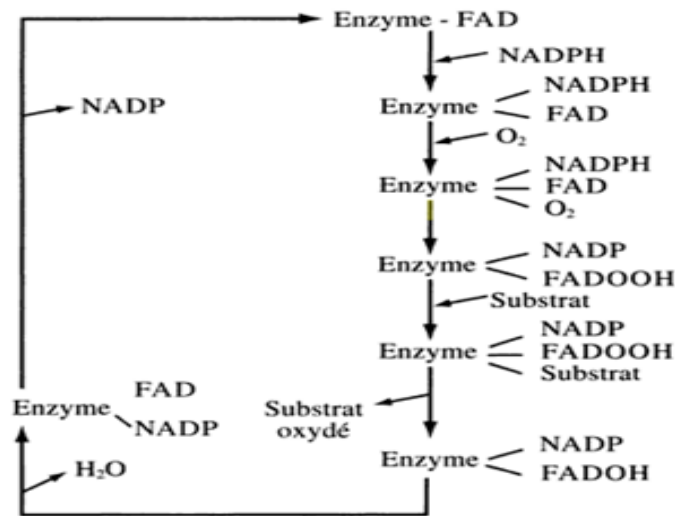
❖ Mécanisme d'action du cytochrome P450 :

a) Activité Oxygénase :



Biotransformation des toxiques

=> Mono-oxygénases dépendant du FAD :



Catalyse l'oxydation de composés aminés, soufrés et séliés par ex : pesticides OP, amines aliphatiques, amines aromatiques, hydrazines, thioamides, sulfures, disulfures, thiols, thiourée.

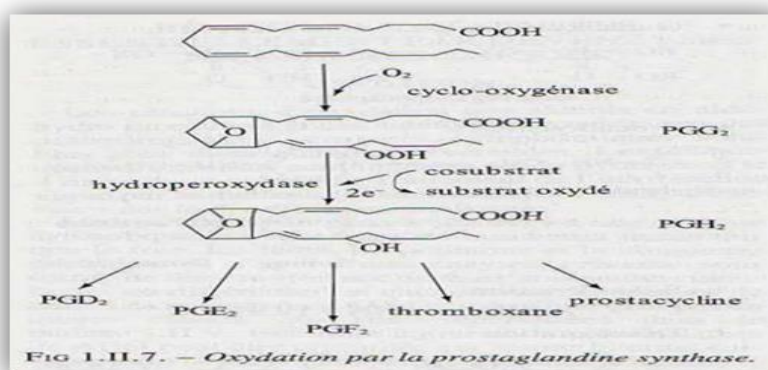
Contrairement au système monooxygénasique dépendant des cytochromes P450, la fixation du substrat s'effectue après la réaction avec l'oxygène.

Ce système enzymatique est moins dépendant de la structure du substrat que dans le cas des cytochromes P450 et est donc susceptible de catalyser l'oxydation de substrats de structures très différentes.

- **Oxydation par les prostaglandines synthétases :**

Ce système comporte deux enzymes ; **Cyclo oxygénase** et **Peroxydase** qui catalysent diverses N-désalkylation en présence d'acide arachidonique.

Cette voie métabolique joue un rôle important dans certaines biotransformations survenant dans les tissus pauvres en mono-oxygénases dépendant du cytochrome P450 et riches en PG synthétase.



Biotransformation des toxiques

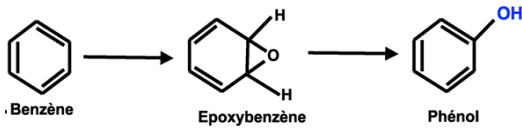
Exemples de réactions d'oxydation microsomiale :

1) Oxydation aliphatique :



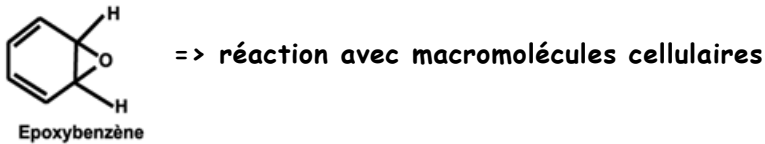
2) Oxydation aromatique :

► Détoxification :



diazépam → 3-hydroxydiazépam

► Toxication :

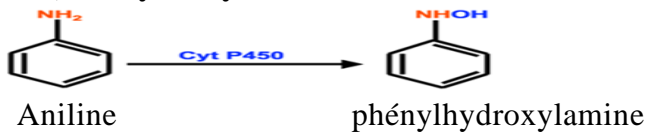


3) N-oxydation : Nicotine → nicotine-1'-N-oxyde

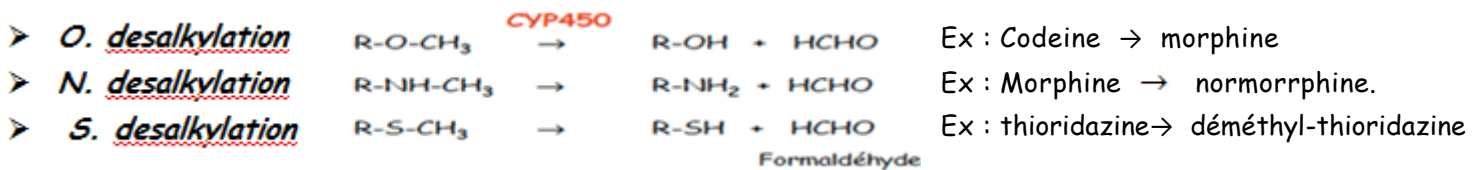
4) Sulfoxydation :



5) N-hydroxylation :

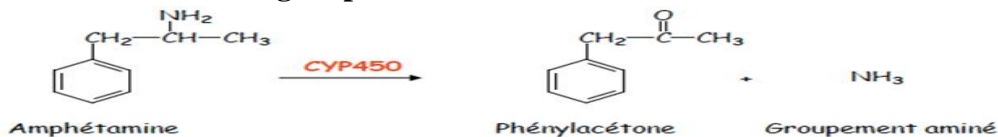


6) Désalkylation :

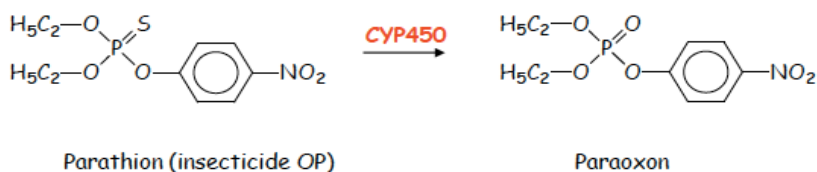


7) Désamination oxydative :

Amine → cétone + groupement aminé



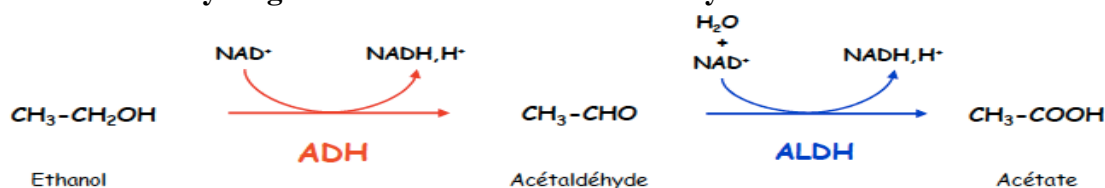
8) Désulfuration :



Biotransformation des toxiques

b. Oxydation non microsomiale :

- **Déshydrogénation des alcools et des aldéhydes :**



Réactions réversibles catalysées par des déshydrogénases :

- **ADH :**

- Enzyme cytosolique
- Localisation : foie, reins, les poumons et muqueuse gastrique.
- Inhibée par le pyrazole et le 4 méthylpyrazole.

- **ALDH :**

- ALDH1 : cytosol hépatique → oxydation du rétinol.
- ALDH2 : mitochondrie hépatique → oxydation de l'acétaldéhyde en acétate.

Autres Réactions d'Oxydation :

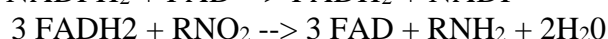
- Désamination oxydative des amines aliphatiques par **MAO** mitochondriales et **DAO** solubles. Toutes deux sont impliquées dans l'oxydation des amines primaires, secondaires et tertiaires (par exemple la 5-hydroxytryptamine et la putrescine) en aldéhydes.
- Oxydation de dihydrodiols par **dihydrodiol déshydrogénases** cytosoliques en catéchols.
- Aromatisation de dérivés alicycliques par un système enzymatique mitochondrial.

2. Réduction :

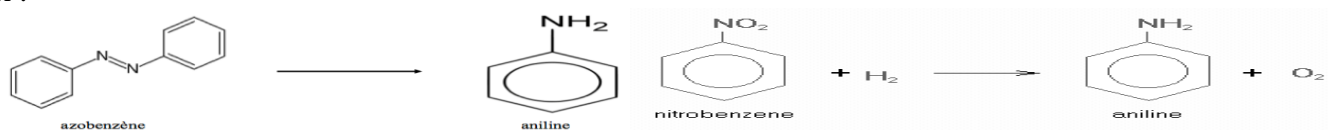
a. Réduction microsomiale :

Certains enzymes RE du foie réduisent les composés aromatiques nitrés et azoïques en amines.

Les 02 systèmes enzymatiques réducteurs constitués de flavoprotéines ayant le FAD comme groupement prosthétique. Il est probable que des enzymes microcosmiques (ex : NADPH, cyt P450 réductase ou NADH) réduisent le FAD en FADH₂, qui lui-même réduit non enzymatiquement le substrat : $\text{NADPH}_2 + \text{FAD} \rightarrow \text{FADH}_2 + \text{NADP}$



Ex :



Certains cytochromes P450 peuvent aussi agir comme réductases :

- Lorsque la PO₂ tissulaire est faible (zone centro-lobulaire du foie), ils peuvent directement transférer un électron à un substrat exogène → RL.
- 4 classes de substances étrangères susceptibles d'être réduites/cytochrome P450 :
 - Alcanes halogénés
 - Composés azoïques
 - Dérivés nitrés
 - Quinones et les quinones imines.

b. Réduction non microsomiale :

- Réduction de doubles liaisons
- Réduction de disulfures en thiols
- Réduction de sulfoxydes
- Réduction de n-oxydes
- Déshydroxylation d'acides hydroxamiques

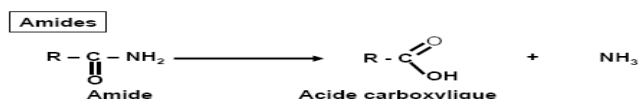
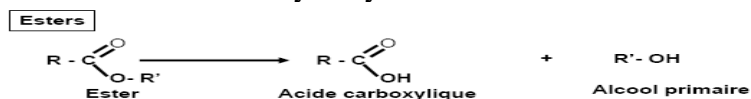
Biotransformation des toxiques

- Réduction de cétones en alcools secondaires
 - Réduction d'aldéhydes en alcools primaires
- } réactions réverses de l'ADH

3. Hydrolyse :

Catalysée par des enzymes microcosmiques et non microcosmiques, localisées dans le foie , Tube digestif et autres tissus (+le plasma) ; grandes quantités.

Liaisons sensibles à l'hydrolyse => esters et amides.



- **Estérasés** (fraction soluble de la cellule), 4 catégories:

- 1/**Arylestérasés** :hydrolysant les esters aromatiques,
- 2/**Carborylestérasés** :hydrolysant les esters aliphatiques,
- 3/**Cholinestérasés** : hydrolysant les esters dont le résidu est un alcool,
- 4/**Acétylestérasés**: hydrolysant les esters dont la moitié acide est l'acide acétique.

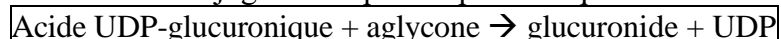
Ex : Ac. acétyl salicylique → Acide salicylique + Acide acétique

- **Amidases** => Hydrolyse lente P/R estérasés par manque de spécificité.

Réactions de phase II

1. Glucuroconjugaison :

C'est la réaction de conjugaison la plus importante quantitativement.



- **Enzymes** : **UDP-glucuronyltransférases** (UGT) ; permettent le transfert de l'acide glucuronique à partir de l'acide UDP-glucuronique sur le groupe accepteur d'un substrat (aglycone). UGT => membrane RE (foie, rein, peau).

Il existe 02 types :

- UGT1 : substrats → endogènes (bilirubine) et exogènes (par exemple phénols).
- UGT2 : substrats → les composés stéroïdes.

- **Donneur de l'Ac. glucuroniques** : **Acide UDP-glucuronique**

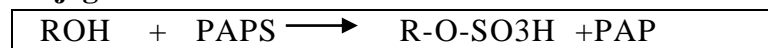
Les différents types de glucuronides :

O-glucuronides : alcools , phénols ou acides carboxyliques

N-glucuronides : amines aromatiques (aniline), amides, composés azotés hétérocycliques.

S-glucuronides : formés à partir de thiols

2. Sulfoconjugaison :



- **Enzyme** : **sulfotransférases cytosolique.**
- **Donneur de sulfate** : **3'-phospho adénosine-5'- phosphosulfate (PAPS)**
- **Métabolites** sont, généralement, **hydrosolubles et inactifs** mais, peuvent être très réactifs; **bioactivation** de certains cancérogènes dont certaines amines aromatiques.

Composés sulfoconjugables : phénols, alcools, amines et acides carboxyliques.

Biotransformation des toxiques

3. Méthylation :

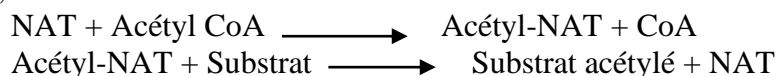
Fixation d'un groupement méthyle sur fonctions phénols, thiols, amines et certains éléments tels que As et Se.

- **Enzyme : méthyltransférase** dont il existe plusieurs :
 - Catéchol-O-méthyltransférase (COMT) [catécholamine].
 - Thiopurine méthyltransférase (TPMT) [6-mercaptopurine, 6-thioguanine].
- **Donneur de groupement méthyle : S-adenosylméthionine (SAM)**

Les produits méthylés ne sont pas nécessairement plus hydrosolubles.

4. Acétylation :

- **Coenzyme : Acétyl-CoA.**
- **Enzyme : N-acétyltransférases (NAT)** [cytoplasme hépatique, l'intestin et le poumon].
- **Substrats :** amines aromatiques primaires, amines aliphatiques primaires, hydrazines, hydrazides, sulfonamides, selon le mécanisme suivant :



Ex : isoniazide → acétylisoniazide ⇒ Existence d'acétyleurs lents et rapides.

Les métabolites acétylés : éliminés de l'organisme/excrétion rénale, mais certains sont parfois moins hydrosolubles que le produit d'origine (sulfonamides) → précipitation → lésion du rein.

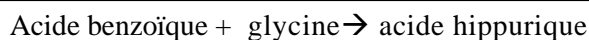
5. Conjugaison avec les acides aminés :

Le groupement carboxylique d'un xénobiotique peut se conjuguer avec le groupement aminé d'un aminoacide (**glycine, glutamine**) pour former un amide.

Glycine ⇒ Substrat ; les acides carboxyliques aromatiques.

Deux étapes :

- Catalysée par ligase implique l'activation de l'acide par le coenzyme A en présence d'ATP avec formation d'un dérivé thioester du CoA.
- thioester du CoA transfère ensuite sous l'action de N-acyltransférases le groupement acyl sur le groupement aminé de l'acide aminé accepteur.



6. Conjugaison avec le glutathion :

Formation des Acides Mercapturiques ⇒ Voie majeure de détoxication.

Enzyme : **glutathion-S-transférases (GST)** ; groupe d'enzymes présentes dans le cytosol ou le RE.

Coenzyme : **glutathion réduit** (donneur des groupements sulfhydriles),

C'est un tripeptide formé de: **GLUTAMINE + CYSTÉINE + GLYCINE**

Substrat : substances électrophiles ou donnant naissance à des dérivés électrophiles in vivo.

- Les composés aromatiques comme les HAP (époxydes).
- Dérivés halogénés aliphatiques et aromatiques.
- Esters de l'acide diméthyl phosphorique.

Ex: paracétamol, benzo (a) pyrone

7. Conjugaison avec le soufre :

Transformation du radical cyanure en thiocyanate : $CN^{\cdot} + S_2O_3^{\cdot-} \longrightarrow SCN^{\cdot} + SO_3^{\cdot-}$

8. Formation de triglycérides hybrides :

Sous l'action du CoA, certains acides organiques (ibuprofène) pourraient être incorporés au même titre que des AG exogènes dans les TG → molécules hybrides.

Biotransformation des toxiques

III. Facteurs influençant le métabolisme :

1. Facteurs liés au sujet :

1/facteurs physiopathologiques :

a. espèce :

Variation qualitatives (différents isoformes) ou quantitatives (taux différents de même isoforme).

b. âge :

Activité enzymatique microsomale plus faibles chez le NNé et le vieillard, ainsi que la vitesse des réactions
=> fragilité de certains enfants vis-à-vis des xénobiotiques.

c. sexe :

Le métabolisme est influencé par la différence d'activité hormonale selon le sexe :

-t_{1/2} benzène : plus long chez la femme que chez l'homme.

-Trichloréthylène : préférentiellement oxydé en TCA chez la femme et en TCE (trichloéthanol) chez l'homme.

d. grossesse :

Réduction de l'activité des enzymes ► sulfo et Glucurono-conjugaison par la progestérone.

Des substances stockées dans le tissu osseux (Pb) peuvent être mobilisées pendant la grossesse (et la lactation) exposant ainsi le fœtus ou le nouveau-né.

e. état nutritionnel :

Un régime déficient en protéines ou riche en hydrates de carbones diminue l'action des enzymes et la concentration en cytochrome P450.

f. Pathologies associées:

Atteinte hépatique sévère (Cirrhose, hépatite, hépatocarcinome) :

► nette réduction de la clairance métabolique de l'antipyrine.

► réduction de la capacité de méthylation d'As

2/ polymorphisme génétique :

Présence au sein de la population d'au moins 2 variants stables d'une même isoforme → capacité métaboliques différentes. **Mécanisme** = mutation

• Isoformes du cyt P450 => CYP2D6 :

Substrats : principe actif à index thérapeutique étroit :Bêta bloquants ,ATD ,neuroleptiques ,opiacés

Chez les métaboliseurs lents → surdosage → toxicité

Ex : désipramine (ATD ,tricycliques) => métaboliseurs rapides : t_{1/2} =17H

=> métaboliseurs lents : 100H → cardiotoxicité

Ex : codéine → morphine ; métaboliseurs lents pas d'effet analgésique

2. Facteurs Extrinsèques :

1/ stress divers :

- température : au froid l'activité de certaines enzymes microsomales peut être augmentée.

- lumière : chez un animal maintenu à l'obscurité, le métabolisme de l'hexobarbital est plus rapide que celui d'un animal exposé à la lumière => Influence de la photothérapie sur le métabolisme de la bilirubine (effet bénéfique sur l'hyperbilirubinémie du prématuré).

2/ Interactions :

a. Induction Enzymatique :

Augmentation de la **synthèse** des **enzymes microsomiques** hépatiques, stimulée par certaines substances.

- Conséquences:

► Accélération des biotransformations.

► Réduction ou augmentation de l'intensité d'action de la substance étrangère suivant que le métabolite est plus ou moins actif que le corps initial.

► Effet cancérogène : alcool & tabagisme.

Biotransformation des toxiques

NB :Auto-induction : Capacité d'un composé donné d'induire à la fois la biotransformation d'autres composés et son propre métabolisme ► carbamazépine.

b. Inhibition Enzymatique :

- élévation du **taux de la molécule mère**.

Ex: cimétidine & kétoconazole inhibent le métabolisme oxydatif des xénobiotiques en formant un complexe étroit avec le fer de l'hème du cyt P450.

- Inhibition ;

* Réversible : Fixation réversible sur le site actif : compétition

* Irréversible : Son métabolite inhibe le cytochrome par liaison avec le fer ou le N des noyau pyrroles ou de l'apoprotéine ou en donnant un complexe stable (substrat suicide : altération irréversible de l'isoforme).

- Les réactions de **Phase II** sont inhibées par déplétion en cofacteurs nécessaires à la réaction.

Substance	xénobiotiques	xénobiotiques
Métabolite	Métabolite inactif	métabolites toxiques
Conséquences de l'Induction	↓ de la toxicité (détoxification)	toxicité (bioactivation)
Conséquences de l'Inhibition	toxicité	Diminution de la toxicité

Exemples:

INDUCTEURS: phénobarbital , éthanol

INHIBITEURS : inhibiteur réversible : cimétidine

inhibiteur irréversible : chloramphénicol

IV. Conséquences de la biotransformation :

A – sur le plan toxicologique :

1- Inactivation : Réduction de la toxicité : C'est la situation la plus fréquente

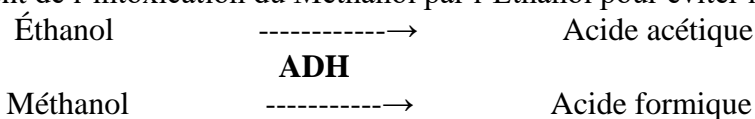
- Transformation des **cyanures** en **thiocyanates**,
- Conjugaison du **phénol** en **phénolglucuronide**,
- Hydrolyse du **paraoxon** en **paranitrophénol** et **diéthylphosphate**.

2- Activation : toxification :

- **Parathion** (insecticide organo-phosphore) est bioactive en **paraoxon**, inhibiteur beaucoup plus Puissant des cholinesterases que la molécule-mère.
- **Méthanol** est oxyde en **formaldéhyde** et en **acide formique** dont l'accumulation dans le nerf Optique=cécité.
- Epoxydation du hydrocarbures cycliques **benzène** par des oxygénases est responsable de leur action toxique.

B – sur le plan thérapeutique :

- Le risque d'accident thérapeutique lors d'association soit par effet: **Inducteur** ou **inhibiteur**.
- Le rôle détoxifiant par stimulation d'enzymes spécifiques.
- Traitement d'un dysfonctionnement physiologique (phénobarbital dans le traitement de l'ictère de nouveau né).
- Traitement de l'intoxication du Méthanol par l'Éthanol pour éviter la métabolisation du Méthanol



Biotransformation des toxiques

C – sur le plan analytique :

1- Extraction :

Modification de la solubilité des substances. Ex : imipramine

- **avant tout métabolisme** : Extractibles par des solvants organiques peu polaires (chloroforme) après alcalinisation du 1/2 pH > 9
- **après métabolisation** : (→ composées phénoliques subissant glucuroconjugaison) : Extractibles par des solvants organiques polaires (éther) après acidification du 1/2 biologique pH = 2

Les métabolites sont responsables de certaines interférences dans la recherche des médicaments ayant un caractère acide au cours d'une analyse toxicologique.

2- Réactions colorées :

Ex : Salicylés :

Substance : Acétylsalicylique → Métabolite : l'acide salicylique + ions ferriques (Trinder) => coloration violette

3- Analyse chromatographique :

Substance (imipramine) → plusieurs métabolites → chromatogramme complexe,

En cas d'absorption massive lors d'une intoxication aiguë, on trouve :

- Un spot → produit absorbé
- une série de taches d'intensité variable → divers métabolites.

Remarque : Les liquides d'aspiration ou de lavage gastrique présentent pour l'identification un avantage considérable puisqu'ils renferment le composé absorbé non métabolisé.