

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE



ANNEE 1990

THESE N°39

Les cytochromes P450
— METABOLISATION
de quelques Xénobiotiques

THESE

POUR LE

DIPLOME D'ETAT

DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement le 10 Décembre 1990

par

Thierry PAULIAT

né le 27 Février 1963 à LIMOGES (Haute-Vienne)

Examineurs de la Thèse :

Monsieur BENEYTOU, Professeur _____ Président

Madame DESMAISON, Maître de Conférences _____ Juges

Monsieur MORELET, Pharmacien biologiste _____ Juge

U N I V E R S I T E D E L I M O G E S

F A C U L T E D E P H A R M A C I E

- DOYEN de la FACULTE : Monsieur le Professeur RABY
- ASSESSEURS : Monsieur le Professeur GHESTEM (1er Assesseur)
Monsieur DREYFUSS, Maître de Conférences (2e Assesseur)

PERSONNEL ENSEIGNANT

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

BENEYTOUT Jean-Louis	Biochimie
BERNARD Michel	Physique-Biophysique
BROSSARD Claude	Pharmacotechnie
BUXERAUD Jacques	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
CHULIA Albert	Pharmacognosie
CHULIA Dominique	Pharmacotechnie
DELAGE Christiane	Chimie Générale et Minérale
GALEN François Xavier	Physiologie
GHESTEM Axel	Botanique et Cryptogamie
GUICHARD Claude	Toxicologie
HABRIOUX Gérard	Biochimie Fondamentale
LEFORT des YLOUSES Daniel	Pharmacie Galénique
NICOLAS Jean Albert	Bactériologie et Virologie, Parasitologie
LOUDART Nicole	Pharmacodynamie
PENICAUT Bernard	Chimie Analytique et Bromatologie
RABY Claude	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
TIXIER Marie	Biochimie

SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

CELS René

A monsieur J.L BENEYTOU,
professeur des universités
de biochimie,

Vous me faites l'honneur
d'accepter la présidence
de ce jury,

Vous avez toujours été
disponible pour me donner
de nombreux conseils et me
faire partager votre expérience,

Pour tout cela, je vous
remercie et vous témoigne
ici ma sincère et respectueuse
reconnaissance.

A madame A.M DESMAISON,
maître de conférences
de biochimie,

Je suis très sensible
à l'honneur que vous me faites
en voulant bien juger ce travail.

Je vous en remercie et
vous assure de mon
profond respect.

A monsieur L.MORELET,
pharmacien biologiste,

Vous avez spontanément accepté
de siéger parmi mes juges,

Je vous en remercie
et vous assure de
mon profond respect.

A mes parents,

A ma grand-mère,

Vous m'avez soutenu et encouragé
tout au long de mes études.

Pour tous les sacrifices que
vous avez faits,
je vous dédie cette thèse.

Qu'elle soit la récompense de
tous nos efforts et le témoi-
gnage de ma profonde affection
et de ma sincère reconnaissance.

A MURIELLE,

Pour les encouragements et
l'aide précieuse qu'elle
m'a apportés.

A ma famille, à mes amis

avec toute mon affection

PLAN

I INTRODUCTION

II GENERALITES SUR LE CYTOCHROME P450

- 2.1 Définition du cytochrome P450 et rappels sur les systèmes de métabolisation
 - 2.1.1 La phase I
 - 2.1.2 La phase II
- 2.2 Répartition du cytochrome P450
- 2.3 Structure du cytochrome P450
 - 2.3.1 L'hème
 - 2.3.2 La protéine
- 2.4 Mode d'action du cytochrome P450 dans un système plurienzymatique d'oxydation à monooxygénase
- 2.5 Classement des cytochromes P450

III L'INDUCTION

- 3.1 Introduction
- 3.2 Conditions d'étude de l'induction enzymatique
- 3.3 Induction enzymatique: bénéfique ou non?
 - 3.3.1 Efficacité altérée des agents thérapeutiques
 - 3.3.2 Action de l'induction sur la toxicité des drogues et des molécules chimiques de l'environnement

- 3.4 Mécanisme de l'induction des enzymes métabolisant les drogues
- 3.5 Classement des inducteurs du cytochrome P450
- 3.6 Exemples d'induction enzymatique
 - 3.6.1 Hépatotoxicité de l'acétaminophène (paracétamol) et du bromobenzène
 - 3.6.2 Inductibilité de l'aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH) et risque cancérigène
 - 3.6.2.1 Chez la souris
 - 3.6.2.2 Chez l'homme
 - 3.6.3 Aflatoxine B₁ et hépatocarcinôme
 - 3.6.4 Un exemple utilisé en thérapeutique
- 3.7 Conclusion et perspectives

IV LE CYTOCHROME P450 DANS DIFFERENTS ORGANES

- 4.1 Le cytochrome P450 cutané
 - 4.1.1 Le cytochrome P450 épidermique: son rôle
 - 4.1.2 Mécanisme de l'activation métabolique cancérigène par l'aryl hydrocarbon hydroxylase et le cytochrome P450 épidermique
 - 4.1.3 Approche de la prévention des tumeurs cutanées malignes à l'aide d'anticarcinogènes

4.1.3.1 Les dérivés phénoliques

4.1.3.1.1 Les acides ferrulique ,chlorogénique,caféique et élлагique

4.1.3.1.2 Les flavonoïdes

4.1.3.1.3 Conclusion

4.1.3.2 Les dérivés imidazolés

4.1.4 Conclusion

4.2 Le cytochrome P450 au poumon

4.2.1 Evaluation et causes du risque toxique pulmonaire

4.2.2 Bioactivation des molécules chimiques

4.2.3 Classement de quelques molécules chimiques causant des pathologies pulmonaires

4.2.3.1 Molécules actives sur les cellules de l'épithélium alvéolaire

4.2.3.2 Molécules actives sur les cellules de l'endothélium pulmonaire

4.2.3.3 Molécules actives sur les cellules non ciliées de l'épithélium des bronchioles (cellules de CLARA)

4.2.4 Conclusion et perspectives

4.3 Le cytochrome P450 des macrophages

- 4.3.1 Mise en évidence de la présence de cytochrome P450 dans les macrophages
- 4.3.2 Effets du cytochrome P450 des macrophages sur les molécules toxiques
- 4.3.3 Conclusion
- 4.4 Le cytochrome P450 au cerveau
 - 4.4.1 Distribution subcellulaire
 - 4.4.2 Distribution locorégionale
 - 4.4.3 Conclusion

V RÔLE DU CYTOCHROME P450 DANS LA TOXICITE DE DIFFERENTES MOLECULES CHIMIQUES

- 5.1 Détoxification du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT)
 - 5.1.1 Le DDT: présentation et toxicologie
 - 5.1.2 Mécanisme d'action du DDT
 - 5.1.3 Conditions optimales de détoxification (observées sur l'hépatocyte de rat)
 - 5.1.4 Action des inducteurs et des inhibiteurs de cytochrome P450
 - 5.1.4.1 Les inducteurs in vivo
 - 5.1.4.2 Les inhibiteurs in vivo

- 5.1.4.3 Les inhibiteurs in vitro
- 5.1.5 Conclusion
- 5.2 Détoxification des insecticides organophosphorés
 - 5.2.1 Mode d'action et effets des insecticides organophosphorés
 - 5.2.2 Action du disulfure de carbone
 - 5.2.3 Exemple de détoxification d'un organophosphoré : le chlorfenvinphos
 - 5.2.4 Conclusion
- 5.3 Détoxification de l'aflatoxine B₁
 - 5.3.1 Toxicité de l'aflatoxine B₁
 - 5.3.2 Métabolisme de l'aflatoxine B₁
 - 5.3.3 Effets bénéfiques des inducteurs enzymatiques
 - 5.3.3.1 Le β naphthoflavone (hydrocarbure polycyclique aromatique)
 - 5.3.3.2 Le phénobarbital
 - 5.3.3.3 Conclusion
- 5.4 Détoxification et hépatotoxicité du disulfure de carbone
 - 5.4.1 Rôles du disulfure de carbone
 - 5.4.2 Syndromes des intoxications aiguës et chroniques
 - 5.4.2.1 L'intoxication aiguë
 - 5.4.2.2 L'intoxication chronique

- 5.4.3 Mécanisme de détoxification du disulfure de carbone
- 5.4.4 Hépatotoxicité et induction enzymatique
- 5.4.5 Conclusion
- 5.5 Détoxification de la caféine:effets de l'induction enzymatique
 - 5.5.1 Toxicité de la caféine
 - 5.5.2 Tératogénicité de la caféine
 - 5.5.3 Métabolisme de la caféine
 - 5.5.4 Réduction de la tératogénicité par le β naphtoflavone
 - 5.5.4.1 Le β naphtoflavone et le récepteur Ah
 - 5.5.4.2 Effets de l'induction par le β naphtoflavone
 - 5.5.5 Conclusion
- 5.6 Détoxification du paracétamol
 - 5.6.1 Métabolisme du paracétamol et mécanisme de l'hépatotoxicité
 - 5.6.2 Potentialisation de l'hépatotoxicité par un inhibiteur;l'éther,mécanisme
 - 5.6.3 Conclusion

VI CONCLUSION

I INTRODUCTION

Le cytochrome P450 est un système enzymatique découvert il y a une quinzaine d'années. Son importance est de plus en plus grande car il participe aux phénomènes de détoxification de l'organisme.

A l'heure actuelle, on parle des cytochromes P450 car il existe de nombreuses isoenzymes décrites tout d'abord dans les cellules hépatiques puis au niveau de différents organes comme la peau, le poumon, le cerveau, les macrophages...

L'utilisation de plus en plus grande de molécules hydrophobes telles que les dérivés du pétrole, les hydrocarbures polycycliques aromatiques, le disulfure de carbone nécessite la présence dans l'organisme de systèmes permettant de solubiliser ces divers composés. Ces systèmes (cytochrome P450, monooxygénase, NADPH, cytochrome P450 réductase) en oxydant ces dérivés les rendent plus hydrophiles donc plus solubles dans l'eau et ainsi facilement éliminables.

Ces systèmes indispensables aux organismes vivants présentent aussi des inconvénients; l'oxydation de certains dérivés peut entraîner une augmentation provisoire de leur toxicité vis à vis des cellules de l'organisme.

L'étape cytochrome P450 dépendante peut être modulée par le phénomène important d'induction enzymatique dans lequel une molécule peut modifier le métabolisme de tel ou tel autre composé.

Dans l'élaboration de nouvelles molécules médicamenteuses, on tient compte de l'induction des cytochromes P450 car ils peuvent modifier l'efficacité thérapeutique dans de fortes proportions.

II GENERALITES SUR LE
CYTOCHROME P450

2.1 Définition du cytochrome P450 et rappels sur les systèmes de métabolisation (7).

Le terme cytochrome désigne une substance colorée dans la cellule.

"P450" fait référence à un pigment dont le spectre d'absorption présente un maximum à 450 nanomètres (pic de Soret) après réduction et combinaison à l'oxyde de carbone (Omura et Sato, 1964).

Le cytochrome P450 est une protéine catalytique faisant partie d'un système plurienzymatique d'oxydation comprenant:

- une monooxygénase qui oxyde des molécules exogènes en leur transférant un atome d'oxygène à partir de l'oxygène moléculaire,
- une source d'électrons: NADPH,
- un système de transport d'électrons (cytochrome P450 réductase),
- et une protéine catalysant la réaction d'oxydation: le cytochrome P450.

Plus rarement et en absence d'oxygène le cytochrome P450 peut agir comme réducteur en transférant ses électrons (métabolisation du tétrachlorure de carbone en carbène, nitroarènes réduits en nitrosoarènes).

Ce système plurienzymatique fait partie du système de métabolisation des composés lipophiles (donc hydrophobes) exogènes (pesticides, polluants de l'environnement, médicaments, additifs alimentaires) ou endogènes (hormones stéroïdes, acides gras...).

Cette métabolisation rend les molécules hydrophiles, elles peuvent donc être éliminées de l'organisme, ce qui est le but final. On distingue deux phases dans ce métabolisme: la phase I et la phase II.

2.1.1 La phase I:

Les molécules lipophiles reçoivent ou extériorisent des groupements polaires (type OH) ceci grâce à des enzymes de phase I qui sont:

- des réductases (azo et nitroréduction),
- des hydrolases (estérases),
- des enzymes d'oxydation mitochondriales (monoaminoxydases),
- des enzymes d'oxydation cytosoliques (déshydrogénases à NAD),
- des enzymes d'oxydation du réticulum endoplasmique (mono-oxygénases à fonction mixte, prostaglandines synthétases).

Le cytochrome P450 associé aux mono-oxygénases à fonction mixte fait donc partie de cette phase I.

2.1.2 La phase II:

Les produits de phase I (souvent des alcools ou des quinones) qui ne sont pas assez hydrophiles sont conjugués à des groupements hydrophiles (acide glucuronique, acide sulfonique ou glycolle).

Ces produits de phase II devenus suffisamment polaires et solubles dans l'eau sont alors excrétés par l'organisme.

Parmi les enzymes de phase II on trouve:

- l'époxyde hydrolase,
- la superoxyde dismutase,
- les enzymes de conjugaison (glucuronyltransférase, sulfotransférase, glutathiontransférase, acétylase).

2.2 Répartition du cytochrome P450 (7).

Chez les mammifères, il a été mis en évidence dans les microsomes hépatiques puis dans les mitochondries et dans de nombreux tissus et organes: intestin, peau, ovaire, poumon, rein, glande surrénale et gonade. On le trouve également chez les insectes, les bactéries de type pseudomonas et les levures de type saccharomycès. Enfin, certains végétaux supérieurs possèdent aussi des cytochromes P450.

2.3 Structure du cytochrome P450 (7) .

En fait il existe un grand nombre de cytochromes P450 qui ont une structure commune mais qui réagissent spécifiquement avec tel ou tel composé exogène ou endogène (cf l'induction enzymatique).

Le cytochrome P450 est une hémoprotéine de poids moléculaire de 43000 à 60000 daltons: elle est formée d'une apoprotéine et d'un groupement prosthétique: l'hème.

2.3.1 L'hème.

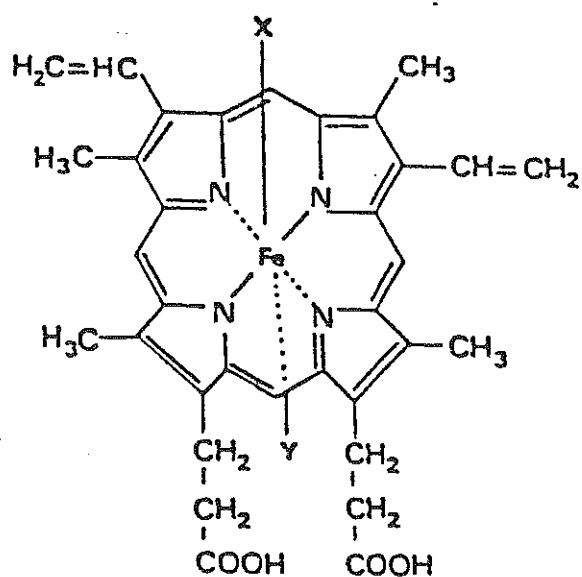
L'hème est un noyau tétrapyrrolique, appelé protoporphyrine IX, associé à un atome de fer (cf figure n°1).

L'atome de fer hémique est à l'état oxydé Fe^{3+} , il est lié aux atomes d'azote du cycle porphyrinique et à deux ligands provenant d'acides aminés de la protéine. Ces deux ligands sont un thiolate (SH) d'une cystéine et probablement un hydroxyle (OH) d'un autre acide aminé.

Le fer serait le site catalytique

2.3.2 La protéine.

La protéine possède un cycle hydrophobe éloigné du fer hémique où se fixent les molécules exogènes par liaison hydrophobe non spécifique.



Ferroprotoporphyrine IX

FIGURE 1. Schéma de l'hème du cytochrome P-450

X = ligand 5 (groupement thiol -SH d'un résidu cystéine
de la protéine)

Y = ligand 6 (groupement hydroxyle -OH ?)

2.4 Mode d'action du cytochrome P450 dans un système plurienzymatique d'oxydation à monooxygénase (7).

Les monooxygénases incorporent un atome d'oxygène dans un substrat, alors que les oxydases permettent seulement le transfert d'un ou plusieurs électrons sur un oxygène accepteur.

Le système plurienzymatique d'oxydation comprend donc des donneurs d'électrons (NADH et NADPH), une flavoprotéine transporteuse d'électrons (la NADPH cytochrome P450 réductase) et une oxygénase terminale (le cytochrome P450) catalysant la réaction (cf figure n°2).

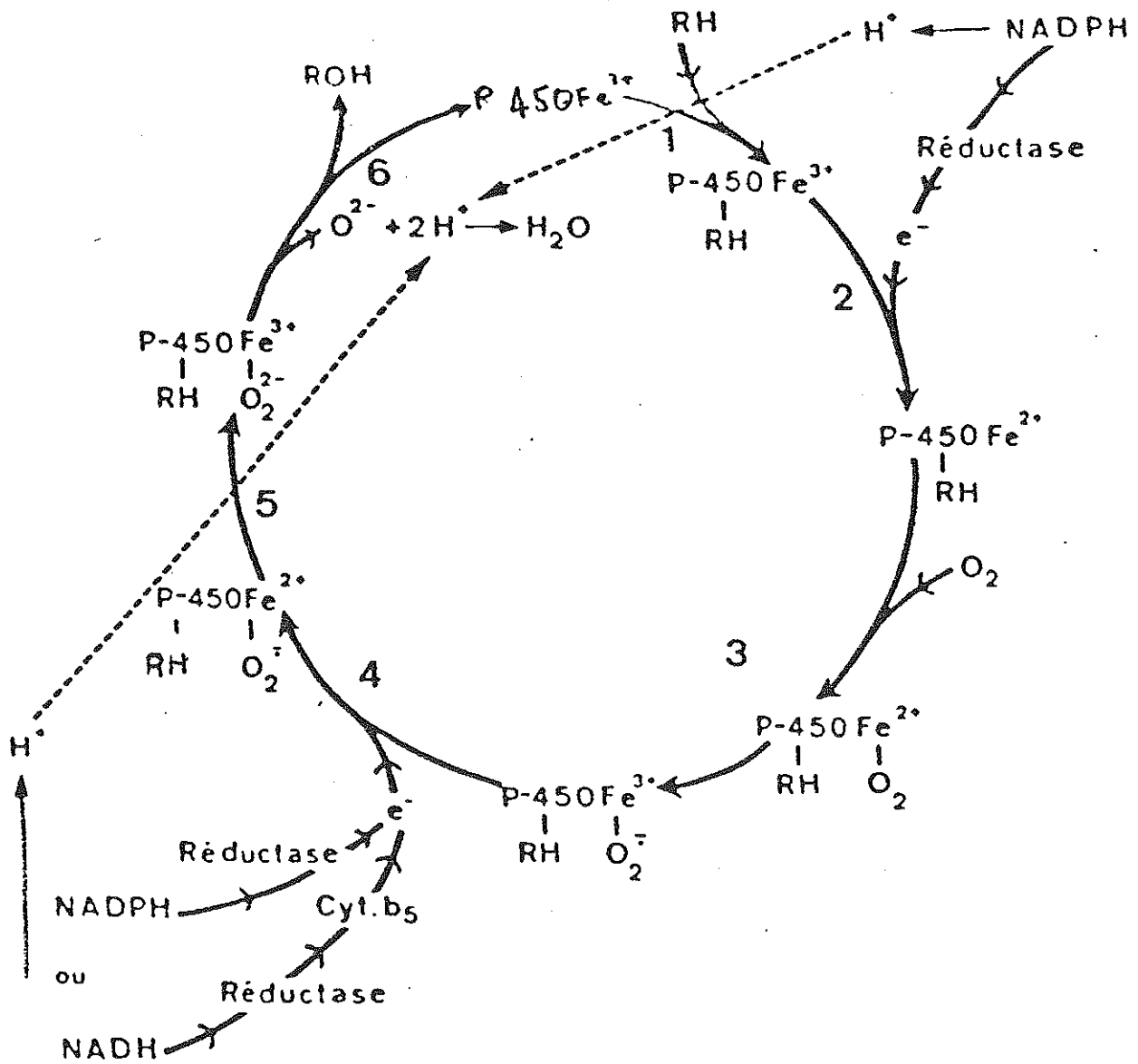
Le cycle catalytique du cytochrome P450 commence par une interaction du substrat à oxyder (RH) avec le cytochrome P450 (cf figure n°2).

Il se forme un complexe $[\text{RH-cytochrome P450}(\text{Fe } 3^+)]$ (phase I).

Ce complexe subit ensuite une réduction de son fer hémique:

$[\text{RH-cytochrome P450}(\text{Fe } 2^+)]$ (phase II).

La réduction se passe ainsi: les électrons des pyridines nucléotides (NADPH et NADH) réduisent la NADPH cytochrome P450 réductase qui à son tour donne ses électrons à plusieurs cytochromes P450 ayant ainsi leur fer hémique réduit à l'état $\text{Fe } 2^+$ (cf figure n°2). Les hydrogènes du NADPH proviennent du glucose 6 phosphate par l'intermédiaire de la glucose 6 phosphate déshydrogénase.



Fonctionnement du cytochrome P450 : figure n°2

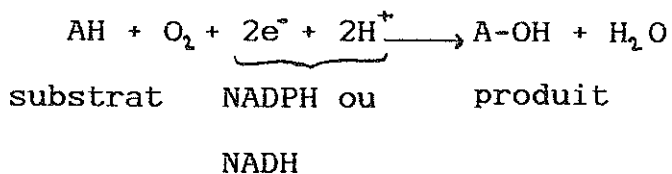
RH: substrat ROH: produit

Le cycle catalytique se poursuit par une interaction entre l'oxygène moléculaire et la 6ème position de coordination de l'atome de fer hémique, on a alors un complexe [oxy-cytochrome] puis formation d'un anion superoxyde avec oxydation du fer Fe 2+ en Fe 3+. L'atome de fer est ensuite à nouveau réduit en Fe 2+ par un 2ème électron : du NADPH (ou du NADH via le cytochrome b5)(phase 4).

On a alors réoxydation du fer Fe 2+ en Fe 3+ avec formation d'un oxygène actif $O_2^{\cdot -}$ très instable et réagissant donc rapidement avec le substrat voisin (AH) associé au cytochrome P450. On a ainsi une oxydation du substrat (A[•]OH) et séparation entre ce substrat et le cytochrome P450(Fe 3+)(qui est ainsi régénéré) avec libération d'une molécule d'H₂O dont les hydrogènes proviennent de NADPH.

Le cycle catalytique est terminé et on a donc bien eu incorporation d'un atome d'oxygène dans le substrat.

La réaction globale est:



2.5 Classement des cytochromes P450 (4).

La biologie moléculaire a permis le clonage et le séquençage de plusieurs gènes codant pour un certain nombre de cytochromes P450. Une certaine homologie dans la séquence des acides aminés composant ces protéines a été mise en évidence et autorise à penser que les différents cytochromes P450 ont une origine commune.

Le cytochrome P450 est composé de multiples isoenzymes différentes tant chez l'homme que chez l'animal. Ces isoenzymes ont toutes un même centre actif, le fer et l'hème, sur lequel se fixe l'oxygène oxydant les substrats.

C'est au niveau de la structure de leurs apoprotéines qu'il y a modification, ce qui entraîne des propriétés immunologiques différentes. Il en résulte des sites catalytiques variés qui présentent des affinités différentes pour les substrats de toutes sortes. Suivant l'isoenzyme, un substrat X sera orienté dans plusieurs positions vis à vis du fer de l'hème et sera oxydé en plusieurs endroits.

Les différences et les homologies entre les apoprotéines, ont permis de classer les cytochromes P450 en familles et sous-familles en fonction des gènes codant pour ces apoprotéines.

En première approche, on a deux groupes de cytochromes P450:

- ceux à spécificité large, responsables de la synthèse d'hormones stéroïdes et de prostaglandines. Ce sont les formes constitutives des cytochromes P450.
- les isoformes inductibles.

L'ensemble des cytochromes P450 est divisé en douze familles de gènes, dont huit pour les mammifères.

Exemples de familles de cytochromes P450 inductibles:

cytochrome P450 I: inductible par les hydrocarbures polycycliques aromatiques

cytochrome P450 II: inductible par le phénobarbital

cytochrome P450 III: inductible par les glucocorticoïdes et la rifampicine

cytochrome P450 IV: inductible par les fibrates

III L'INDUCTION ENZYMATIQUE

3.1 Introduction (10)(15)(16).

Des différences individuelles marquées existent dans le métabolisme des drogues et autres xénobiotiques qui sont présents dans notre environnement. Ces différences sont causées par des facteurs génétiques et environnementaux qui influent, entre autre, sur le taux d'enzymes cytochromes P450 ainsi que sur les voies de biotransformations des xénobiotiques.

Quelques drogues, hydrocarbures aromatiques polycycliques et beaucoup d'autres molécules chimiques de l'environnement induisent la synthèse de cytochromes spécifiques qui métabolisent le composé administré ou d'autres molécules.

Ainsi l'activité, de beaucoup d'enzymes aboutissant à la biotransformation de drogues ou de xénobiotiques peut être augmentée par une première exposition des humains, ou des animaux à une large variété de produits chimiques étrangers.

Certains cytochromes P450 sont inductibles comme le sont certaines enzymes de conjugaison telles que la glutathion-S-transférase, la glucuronyl transférase (enzyme de phase II de détoxification).

Ces cytochromes P450 ne s'expriment qu'en réponse à un stimulus chimique ou hormonal alors que d'autres peuvent s'exprimer sans qu'il y ait induction.

On suppose aussi que les cytochromes P450 auraient une forme active et une autre non active appelée P420. Le passage du cytochrome P420 au P450 se ferait par pression hydrostatique en présence de potassium (K^+), de spermine (polycation ayant une charge +4) et de cystéine.

3.2 Conditions d'étude de l'induction enzymatique (5).

Les connaissances sur les mécanismes d'induction des enzymes de métabolisation des drogues proviennent surtout des expériences faites sur les animaux de laboratoire ou sur des cultures cellulaires.

Il n'y a pas de doute quant à l'induction chez l'homme, mais les connaissances des mécanismes, chez celui-ci, sont nécessairement limitées par manque de méthodes d'études convenables non traumatisantes. La démonstration directe de l'induction enzymatique chez les humains nécessiterait un prélèvement de tissu humain avant et après exposition à des inducteurs potentiels. Pour des raisons évidentes cela n'a été fait que rarement, spécialement chez les individus sains; de même, l'utilisation de cellules isolées

en cultures élimine l'influence de leur environnement tissulaire qui existe normalement in vivo. Ce n'est pas non plus nécessairement le même type d'inducteur enzymatique agissant in vivo qui est susceptible d'induction sur les cultures cellulaires.

Ainsi de manière générale, les cellules en culture répondent bien aux inducteurs enzymatiques de type 3-méthylcholanthrène mais perdent leur sensibilité aux inducteurs de type phénobarbital, après quelques jours seulement de culture (cf 3.5 classement des inducteurs de cytochromes P450).

L'induction chez l'homme n'a été mise en évidence que par la mesure de la demi-vie plasmatique des drogues, mais celle-ci doit être interprétée avec précaution car beaucoup d'autres facteurs que l'induction peuvent modifier la résorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination des drogues.

Plus récemment on s'est servi du " ^{14}C breath test" pour mesurer l'induction enzymatique chez l'homme: il s'agit d'un marquage des atomes de carbone des drogues avant leur administration, soit par l'isotope radioactif ^{14}C , soit par l'isotope stable ^{13}C . Un certain temps après leur adminis-

tration on mesure dans l'air expiré le taux de CO_2 ayant un carbone marqué par spectrophotométrie de scintillation (si on a utilisé $\text{C}14$) ou par spectrométrie de masse (si on a utilisé $\text{C}13$).

Mais là aussi il y a possibilité de variations non liées à l'induction. On a également étudié l'induction par mesure dans l'urine de certains marqueurs potentiels de l'activité de métabolisation des drogues par les enzymes.

Donc tout résultat est à exploiter avec prudence, sans généralisation hâtive, ainsi que toute extrapolation de l'animal à l'homme.

3.3 Induction enzymatique: bénéfique ou non? (5)(15).

3.3.1 Efficacité altérée des agents thérapeutiques.

L'induction d'une enzyme métabolisant une drogue particulière peut altérer l'efficacité d'autres agents thérapeutiques et souvent les drogues induisent les enzymes de leur propre métabolisme; de telles drogues sont à la fois inducteur enzymatique et substrat de l'enzyme induit, et stimulent donc leur propre biotransformation, réduisant ainsi leur propre efficacité par augmentation de la clairance.

Par exemple, la tolérance des barbituriques est basée sur cet effet: ils sont métabolisés de plus en plus rapidement, car il y a induction enzymatique, donc le pourcentage de molécules actives arrivant aux sites d'action est plus faible et il faut alors augmenter les doses pour conserver une fraction efficace suffisante.

En stimulant leur propre métabolisme, beaucoup d'inducteurs accélèrent également celui de molécules administrées simultanément. Ainsi le phénobarbital augmente la clairance de l'antipyrine, de la phénitoïne (DIHYDAN* : anti-épileptique), des oestroprogestatifs et de la warfarine (COUMADINE* : antivitaminique K). Fréquemment c'est sans conséquence sur l'effet thérapeutique du médicament mais si celui-ci ainsi biotransformé a un index thérapeutique bas $\left[\frac{\text{dose létale: 50\%}}{\text{dose efficace 50\%}} \right]$, c'est à dire une zone d'efficacité étroite, cela peut compromettre son action thérapeutique: c'est le cas de la rifampicine (RIFADINE* : antituberculeux) qui inactive plus rapidement un anticoagulant tel la warfarine entraînant donc un risque de thrombose.

3.3.2 Action de l'induction sur la toxicité des drogues et des molécules chimiques de l'environnement.

Certains cytochromes P450 génèrent des intermédiaires métaboliques toxiques à partir de composés relativement

peu réactifs. L'induction serait-elle une réponse adaptative ayant une valeur de survie pour l'organisme?

En fait, l'induction des enzymes métabolisant les drogues n'est ni universellement bénéfique, ni universellement au détriment des animaux et des hommes exposés aux molécules chimiques de l'environnement et aux drogues.

Les circonstances spécifiques dictent si l'induction est bénéfique ou non. Mais globalement, beaucoup pensent que l'induction est positive et offre de formidables possibilités. Pour savoir si l'induction sera bénéfique ou pas, on peut se poser les questions suivantes:

1. Quel objectif spécifique est en question: organe ou système biochimique?
2. Quel substrat est concerné?
3. a. Quel xénobiotique ou drogue agit comme inducteur?
b. Quel potentiel génétique doit avoir l'animal concerné pour répondre à cet inducteur particulier, et de là, que est le "spectre des enzymes" qui vont être induits chez l'animal?
4. Quel est le "timing" d'administration de l'inducteur par rapport à l'administration du substrat?
5. Quelle est la voie d'administration de la drogue substrat?

3.4 Mécanisme de l'induction des enzymes métabolisant les drogues(1)(5)(15).

Il faut déjà rappeler que l'induction ne se passe pas seulement dans le foie mais aussi dans les poumons, les reins, le placenta et la muqueuse intestinale, donc dans les lieux où se trouve le cytochrome P450.

Il est établi que l'induction de quelques types de cytochromes P450 nécessite une synthèse de protéines de "novo". L'activité catalytique augmentée des monooxygénases cytochrome P450 dépendantes, est la conséquence d'une synthèse accrue d'apoprotéine P450 plutôt que d'une stabilisation des enzymes ou d'une activation d'enzymes latentes. Ainsi, la régulation de l'induction de cytochrome P450 se fait principalement au niveau de la transcription génétique.

De nombreux laboratoires ont montré, lors de l'induction, une rapide augmentation de la transcription du RNA messager qui code pour les apoprotéines P450 induites spécifiquement. Par contre, le mécanisme initial par lequel une cellule peut reconnaître la présence d'inducteurs enzymatiques et transmettre cette information aux sites de transcription est moins bien connu. Dans le cas de l'induction du cytochrome P450 par des composés du type 3-méthylchlo-lanthrène (MC), le mécanisme global de l'induction semble

relativement bien compris: les inducteurs de type MC sont très hydrophobes et passent donc probablement dans la cellule par simple diffusion à travers la membrane plasmique. Le premier évènement spécifique du processus d'induction enzymatique est la fixation d'un inducteur du type MC à une protéine soluble intracellulaire: le récepteur Ah (aromatic hydrocarbon); celui-ci apparaît comme étant un composé cytosolique dans sa forme inoccupée; une étude plus récente suggère que le récepteur Ah est localisé à l'intérieur du compartiment nucléaire, toujours sous sa forme libre, avant d'être libéré de ce compartiment durant le fractionnement cellulaire.

Par contre, il est admis que le site final du récepteur, à partir duquel il régule l'induction enzymatique, est à l'intérieur du noyau. Beaucoup de protéines cellulaires portent des groupements hydrophobes du type MC; la signification fonctionnelle de cette fixation par la plupart des protéines cellulaires est inconnue mais il a été clairement montré que le récepteur Ah remplit toutes les conditions nécessaires pour être considéré comme un vrai récepteur qui régule l'induction du cytochrome P450 par les produits chimiques du type MC.

La relation entre le récepteur Ah et la régulation de l'induction du cytochrome P450 est mise en évidence par une forte relation structure activité. L'affinité de la plupart des molécules, pour le récepteur Ah, est proportionnelle au potentiel in vivo de ces molécules à induire le cytochrome P450 chez les animaux de laboratoire. Cela a été corroboré par une approche génétique du mécanisme de régulation des enzymes métabolisant les drogues.

Après la liaison des inducteurs chimiques avec le récepteur Ah, le complexe formé subit une activation (dépendant de la température) qui le convertit en une forme compétente pour entrer dans le compartiment nucléaire et se lier avec une haute affinité à une région spécifique des gènes; celle-ci a été récemment identifiée par des techniques moléculaires génétiques appliquées à des cellules hépatiques en culture. On s'est servi en particulier du radioligand 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine (TCDD) tritié qui est l'inducteur à potentiel le plus élevé et qui a une activité spécifique; le complexe [TCDD-récepteur Ah] se fixe sur une région du gène appelé locus Ah en amont de la région contrôlant la structure du cytochrome P450; 1200 à 1500 paires de bases les séparent.

Le récepteur Ah existe dans beaucoup d'espèces de mammifères dont l'homme et les primates. Sa désignation Ah vient d'ailleurs de sa découverte chez des souris sauvages qui étaient toutes "Aryl hydrocarbon" inductibles: c'est à dire qu'elles ont une activité aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH) cytochrome P450 dépendante pouvant être induite par des inducteurs de cytochrome P450. L'AHH métabolise, rend toxique les hydrocarbures polycycliques aromatiques (PAH_s) (cf 3.6.2 inductibilité de AHH et risque cancéreux).

Le mécanisme d'action du récepteur Ah est proche de celui des récepteurs des hormones stéroïdes. Les deux récepteurs ont de nombreuses propriétés physicochimiques en commun.

3.5 Classement des inducteurs du cytochrome P450 (2)(15).

Jusqu'à ces dernières années, deux catégories majeures d'inducteurs existaient: ceux agissant comme le 3-méthyl-chlolanthrène (3MC) et ceux agissant comme le phénobarbital. Mais avec l'amélioration des techniques de caractérisation des cytochromes P450, il est devenu clair qu'il y avait beaucoup plus d'espèces de cytochromes P450 inductibles que celles induites par le 3-MC et le phénobarbital.

Inducteurs prototypes	Autres composés de la catégorie	Substrats préférentiellement métabolisés par les cytochromes P450 induits
. Phénobarbital	La plupart des barbituriques et anticonvulsivants, la phénitoïne (antiépileptique), le DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane), le 2,2',4,4'-tétrachlorobiphényl	. d-benzphétamine hexasubarbital
. 3-méthylchlo- lanthène	Hydrocarbures polycycliques aromatiques: benzo(a)pyrène, benz(a)anthracène Hydrocarbures halogénés aromatiques, TCDD (tétrachloro-dibenzo-p-dioxine); 3,3',4,4' tétrachlorobiphényl, β naphthoflavone	. Benzo(a)pyrène acétanilide
. Isosafrole . Prénolone-16 α -carbonitrile . Ethanol . Clofibrate	Glucocorticoïdes: dexaméthasone	. Isosafrole . Ethyl morphine aminopyrine

Catégories majeures des composés induisant des cytochromes P450 chez les animaux de laboratoire: figure n° 3.

Tous les inducteurs du cytochrome P450 actuellement connus ne rentrent pas dans le tableau précédent: comme de nouveaux composés sont découverts et qu'ils induisent uniquement une espèce de cytochrome P450 ou d'autres enzymes métabolisant les drogues, le nombre des catégories d'inducteurs s'élargit. Il sera toujours inférieur au nombre d'espèces de cytochromes P450 induits car quelques composés induisent simultanément plusieurs espèces de cytochromes P450 ou peuvent aussi induire des enzymes de phase I [cytochromes P450, réductases, hydrolases] et des enzymes de phase II de détoxification [glutathion-S-transférases, glucuronyl-transférases, sulfotransférases, acyltransférases].

3.6 Exemples d'induction enzymatique (5)(15).

L'induction peut être bénéfique ou non selon les inducteurs, selon les toxiques. Les facteurs génétiques ainsi que la voie d'administration interviennent aussi.

3.6.1 Hépatotoxicité de l'acétaminophène (paracétamol) et du bromobenzène.

De fortes doses d'acétaminophène causent des nécroses hépatiques sévères voire fatales chez les animaux de

laboratoire et chez l'homme; un traitement préalable par un inducteur enzymatique de type méthylchlolanthrène ou phénobarbital aggrave la sévérité des nécroses chez les rongeurs. On observe ici une réponse qui n'est pas adaptative.

Le traitement préalable par le phénobarbital potentialise aussi la toxicité hépatique du bromobenzène, car il y a formation du 3,4-époxyde bromobenzène qui cause des dommages aux composants cellulaires hépatiques.

Par contre le "prétraitement" par un inducteur de type 3- méthylchlolanthrène (3MC) n'augmente pas l'hépatotoxicité du bromobenzène car il y a formation du 2,3-époxyde bromobenzène qui, lui, est moins toxique.

Ce double exemple montre que pour déterminer si l'induction est bénéfique ou pas il faut au moins connaître:

- l'identité de l'inducteur: ici le 3- méthylchlolanthrène ou le phénobarbital.
- l'identité du substrat (qui est souvent l'inducteur lui-même): ici l'acétaminophène ou le bromobenzène.

3.6.2 Inductibilité de l'aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH) et risque cancérigène.

3.6.2.1 Chez la souris.

L'activité enzymatique de l'AHH s'exerce en association avec un cytochrome P450 qui est induit par les composés de type 3-méthylchlolanthrène.

L'AHH est une voie majeure pour la conversion des précarcinogènes comme les hydrocarbures polycycliques aromatiques, type benzopyrène, en intermédiaires chimiquement réactifs:diols et surtout époxydes. Les diols et époxydes d'hydrocarbures polycycliques aromatiques sont hautement toxiques et mutagènes; ils agissent probablement comme initiateurs de carcinômes par leur possibilité de se lier aux sites critiques du DNA de manière covalente.

L'induction de l'AHH est régulée par un récepteur Ah (cf 3.4 étude du mécanisme de l'induction). Il existe des souris "sensibles génétiquement" qui ont un récepteur Ah normal à haute affinité: l'induction de l'AHH se fait alors normalement et de manière importante lors d'exposition au 3- méthylchlolanthrène (3-MC), au benzopyrène ou au benz(a)antracène. Il existe aussi des souris "résistantes génétiquement": elles ont un récepteur Ah défectueux qui ne permet pas une inductibilité correcte de l'AHH. Les souris "résistantes" diffèrent des "sensibles" par leur susceptibilité aux effets toxiques et carcinogènes des hydrocarbu-

res polycycliques aromatiques. Certains tissus sont plus sensibles que d'autres aux effets toxiques de ces molécules: ce sont les tissus cibles.

Les souris "sensibles" sont plus prédisposées aux:

- fibrosarcômes induits par injection sous-cutanée de 3-MC ou de benzopyrène,
- tumeurs pulmonaires induites par instillation intratrachéale de 3-MC ou de benzopyrène.

Les souris "résistantes" sont, elles, plus prédisposées aux:

- lymphosarcômes induits par injection intrapéritonéale de 7,12-diméthylbenzanthracène,
- leucémies induites par injection sous-cutanée de 3-méthylcholanthrène ou par administration orale de benz(a)pyrène.

Ces phénomènes illustrent l'importance de la voie d'administration qui détermine si l'induction sera bonne ou pas pour l'organisme. Ces expériences accentuent aussi le rôle de la génétique déterminant l'issue d'une exposition à des xénobiotiques:

- chez une souris "sensible" qui a donc un potentiel génétique élevé pour une haute inductibilité de l'AHH, le risque le plus grand se situe lorsque le précarcinogène est placé en contact relativement direct avec le tissu cible,

-chez une souris "résistante" , au contraire le lieu de la tumeur est distant du site d'application du précarcinogène.

Si on donne un précarcinogène, comme le benzopyrène, oralement ou par injection intrapéritonéale à des souris "sensibles" (donc par deux voies d'administration ne touchant pas directement des tissus cibles), il arrive rapidement au foie par la circulation sanguine et induit de hauts niveaux d'activité de l'AHH hépatique. Cette haute activité hépatique de l'AHH permet de métaboliser efficacement le benzopyrène lors de ce premier passage à travers le foie. Le foie transforme le précarcinogène en carcinogène par un cytochrome P450 et l'AHH (phase I) puis le conjugue (par les enzymes de phase II) ce qui permet de l'éliminer avec des produits hydrosolubles: le foie joue son rôle de filtre, de détoxifiant. C'est une "first pass clearance" efficace réduisant la délivrance du précarcinogène aux tissus périphériques tels que le poumon, la moelle osseuse ou la peau. Cela limite donc le risque de carcinogénèse dans ses tissus. Par contre, toujours chez la souris "sensible", si un précarcinogène est appliqué directement sur un tissu sensible périphérique tel le poumon (par voie intratrachéale) ou la peau (par voie sous-cutanée), les niveaux élevés de AHH induits ici sont indésirables car ils convertissent

le précarcinogène en métabolites réactifs et carcinogènes (diols et surtout époxydes), comme au niveau du foie, mais ici ils ne sont pas conjugués, ni excrétés aussi promptement qu'ils le seraient dans le foie. En effet, ce dernier possède une activité AHH, comme les autres tissus cités, rendant les précarcinogènes actifs et toxiques mais aussi plus rapidement conjuguables excrétables car il possède un système enzymatique de conjugaison efficace associé (enzymes de phase II de détoxification), que ne possèdent pas les autres tissus.

On explique ainsi le risque plus élevé de cancer aux sites d'application quand ils sont proches des sites sensibles du précarcinogène, la "first pass clearance" hépatique ne pouvant intervenir chez la souris "sensible" (AHH hautement inductible). La "first pass clearance" hépatique joue également un rôle important dans la détermination de la posologie de nombreuses molécules médicamenteuses. Cette clearance métabolise et élimine une partie de la molécule avant même qu'elle ait atteint le tissu cible; il faut donc en tenir compte pour établir les posologies et ainsi obtenir l'effet thérapeutique réellement attendu.

On donne à une souris "résistante" (c'est à dire ayant un taux de AHH faible et peu inductible) du benzopyrène: le faible taux d'AHH n'augmente pas ce qui peut expliquer les

faibles taux de cancers au point d'application (quand il est un tissu cible du précarcinogène). En contrepartie, le foie ne peut épurer efficacement le benzopyrène, car la première partie de la détoxification ne se faisant pas ou peu (il s'agit de l'activation du précarcinogène en carcinogène par l'AHH et un cytochrome P450), la deuxième partie consistant en une conjugaison ne pourra être réalisée correctement. Le benzopyrène ne sera pas éliminé et restera dans la circulation sanguine, expliquant l'apparition de carcinômes distants du point d'application chez les souris résistantes (ces cancers étant souvent localisés au niveau sanguin). On peut en effet supposer que dans le temps, au niveau des tissus cibles, l'induction continuera faiblement mais durablement, permettant ainsi à une fraction suffisante de benzopyrène d'être activée en carcinogène (diol et surtout époxyde) avec élimination hépatique ralentie. Ce mécanisme paraît peu probable au point d'application du benzopyrène: après administration, le précarcinôme est dilué dans la circulation sanguine, empêchant à ce niveau un processus cancéreux même avec une induction enzymatique faible mais durable.

En conclusion: pour le métabolisme du benzopyrène, l'induction enzymatique est bénéfique quand elle siège au niveau du foie mais elle est nocive au niveau des tissus

cibles car ils ne possèdent pas de conjugaison efficace permettant d'éliminer le toxique.

3.6.2.2 Chez l'homme.

La variation génétique dans l'inductibilité de l'AHH et l'association de l'inductibilité au risque cancéreux chez la souris ont conduit à faire le même examen chez l'homme avec toutes les réserves que cela comporte comme nous l'avons déjà vu.

On a donc réalisé un classement par phénotype des populations humaines pour l'inductibilité de l'AHH par des composés de type 3-méthylchlolanthrène (3-MC), ceci principalement par exposition de lymphocytes humains en culture à l'inducteur de type MC et en comparant l'activité AHH de ces lymphocytes exposés avec celle des lymphocytes de contrôle. Par cette technique Kellerman et ses collaborateurs (14) ont rapporté que l'induction de l'AHH chez les lymphocytes humains suivait une triple distribution dans la population. On a trois phénotypes possibles:

- individus à inductibilité basse,
- individus à inductibilité intermédiaire,
- individus à inductibilité haute.

Ceci est en accord avec une hypothèse selon laquelle l'inductibilité de l'AHH s'exprime génétiquement par deux allèles possibles sur un même locus génétique. Cette hypothèse est aussi valable pour expliquer l'existence de souris "sensibles ou résistantes" (vis à vis de l'AHH et de son induction). Kellerman a aussi défini les risques relatifs de développer un carcinôme pulmonaire humain en association avec le tabagisme: les personnes ayant une inductibilité moyenne ou haute ont respectivement 16 et 36 fois plus de risques de développer un carcinôme pulmonaire qu'une personne ayant une inductibilité basse (confirmé par les statistiques sur les cancers primaires du poumon). Là encore, il existe une similitude avec l'étude menée chez les souris: celles à AHH hautement inductible présentent aussi un risque augmenté de développer une tumeur pulmonaire (quand l'inducteur est donné par voie intratrachéale donc près du tissu sensible).

Chez l'homme les inducteurs de l'AHH se trouvent dans la fumée de cigarette qui elle aussi est délivrée près de l'épithélium pulmonaire sensible: on trouve en particulier le benzopyrène et le benzanthracène, deux hydrocarbures aromatiques polycycliques inducteurs de type 3-MC. Ces deux molécules, chez les individus à phénotype à haute inductibilité, peuvent efficacement stimuler leur propre conversion en carcinogènes en induisant l'activité AHH direc-

tement dans les cellules pulmonaires; ceci explique que ce soit des molécules très dangereuses car elles donnent elles-mêmes, par auto-induction, des dérivés carcinogènes.

Chez l'homme aussi la voie d'administration du précarcinogène est très importante: la toxicité, chez les individus hautement inductibles, est augmentée lorsque le précarcinogène est administré près du site sensible, mais il n'est pas sûr que la toxicité soit augmentée si le précarcinogène est administré loin du tissu cible.

3.6.3 Aflatoxine B1 et hépatocarcinôme.

Chez le rat, un traitement préalable par le β naphtoflavone (inducteur enzymatique de type 3-méthylchlolanthrène) ou par le phénobarbital diminue fortement l'effet hépatocarcinogène de l'aflatoxine B1. C'est un exemple bénéfique de l'induction.

3.6.4 Un exemple utilisé en thérapeutique (18).

On administre parfois du phénobarbital à une mère avant l'accouchement et/ou au nouveau-né, dans l'intention de réduire la fréquence et l'intensité de l'ictère physio-

logique à bilirubine non conjuguée.

Le phénobarbital diminue aussi le taux de bilirubine lors de l'ictère hémolytique du nouveau-né.

3.7 Conclusion et perspectives (5)(16)(18).

Un traitement préalable des rats avec du diphényldichlorotrichloréthane (DDT:inducteur de cytochrome P450) réduit significativement l'incidence des carcinômes mammaires (et des leucémies) causés par l'exposition ultérieure au diméthylbenz(a)anthracène (DMBA:hydrocarbure polycyclique aromatique).

Le mécanisme apparaît être encore une "first pass clearance", c'est à dire une conjugaison au niveau hépatique permettant d'augmenter l'élimination du DMBA avant qu'il n'atteigne les tissus cibles (la moelle osseuse et le tissu mammaire).

L'induction enzymatique peut donc dans certains cas, être bénéfique et on peut même essayer de la provoquer par des molécules qui ont alors un rôle prophylactique. L'utilisation, dans ce cas là, de plusieurs inducteurs enzymatiques est reconnue comme augmentant la détoxification. Les agents les plus chimioprophylactiques sont souvent des inducteurs potentiels des enzymes de la phase II de déto-

xification, tels que l'époxyde hydrolase et la glutathion-S-transférase.

Les individus avec des déficits en enzymes de phase II sont à haut risque lors d'exposition aux métabolites réactifs formés à partir de drogues ou de produits chimiques de l'environnement: ces métabolites sont rendus réactifs par un cytochrome P450 lors de la phase I de détoxification, pour qu'ils soient plus aisément conjugués et rendus hydrophiles par la phase II. Cette phase I est nécessaire à l'élimination hors de l'organisme, et si elle ne se réalise pas, on a donc des métabolites plus toxiques que la drogue de départ qui n'est souvent qu'un précarcinogène (ex: le benzopyrène).

C'est donc l'équilibre entre le taux de formation de métabolites réactifs lors de la phase I et le taux de leur inactivation par la phase II qui détermine principalement le risque réel de toxicité d'un xénobiotique.

Les recherches actuelles et futures dans ce domaine portent sur plusieurs points:

- essayer d'induire les voies de détoxification et de supprimer les voies toxifiantes,
- exploiter l'induction enzymatique pour augmenter l'efficacité thérapeutique et/ou réduire les effets secon-

daires d'une molécule médicamenteuse, en se rappelant que l'induction enzymatique peut protéger d'une classe de xénobiotiques tout en augmentant la toxicité d'agents d'autres classes.

L'inhibition enzymatique en quelques mots: plus rare que l'induction enzymatique mais à action presque immédiate, elle peut aussi avoir des conséquences redoutables. L'une des plus connue concerne l'inhibition par la troléandomycine (TAO: antibiotique macrocolide) du catabolisme des dérivés de l'ergot de seigle, ce qui entraîne un risque de vasoconstriction généralisée. La troléandomycine inhibe aussi la théophylline et la carbamazépine (TEGRETOL* : anti-épileptique), ce qui entraîne le maintien prolongé dans l'organisme de la substance active, l'élimination retardée et l'augmentation de la concentration plasmatique pouvant entraîner l'apparition de phénomènes toxiques. Mais, comme pour l'induction, cette inhibition peut être bénéfique, par exemple au niveau cutané dans le cas de tumeurs malignes (cf 4.1 le cytochrome P450 épidermique).

Exemples d'inhibiteurs enzymatiques:

chloramphénicol (TIFOMYCINE* : antibiotique)

cimétidine (TAGAMET* : antiulcéreux)

clofibrate (LIPAVLON* :lipolytique)
disulfirame (ESPERAL* :désintoxication alcoolique)
nortriptyline (MOTIVAL* :antidépresseur)
isoniazide (RIMIFON* :antituberculeux)
phénylbutazone (ALPHA KADOL* :anti-inflammatoire)
sulfadiazine (FLAMMAZINE* :anti-infectieux)
sulfaméthoxazole (BACTRIM* :anti-infectieux)
triméthoprime (BACTRIM* :anti-infectieux)

IV LE CYTOCHROME P450 DANS
DIFFERENTS ORGANES

4.1 Le cytochrome P450 cutané(3)(17).

4.1.1 Le cytochrome P450 épidermique:son rôle.

La peau est l'interface majeure entre le corps et l'environnement. Elle possède une structure complexe qui constitue une véritable barrière évitant la pénétration de nombreux toxiques de l'environnement. Elle n'est pas inerte, elle est le site de multiples activités métaboliques dont beaucoup dépendent de cytochromes P450.

Le cytochrome P450 cutané peut détoxifier des substrats exogènes mais aussi endogènes.

Une autre activité du cytochrome P450 cutané est la conversion de substrats précurseurs relativement inertes en métabolites hautement réactifs pouvant entraîner des phénomènes toxiques, ceci par l'intermédiaire d'une enzyme particulière: l'aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH)(cf l'induction). L'AHH est dépendante d'un cytochrome P450 et permet la transformation d'hydrocarbures polycycliques aromatiques (PAH_c) tels le benzopyrène en une gamme de métabolites comme les phénols, les quinones et les dihydrodiols plus ou moins toxiques. Ces hydrocarbures polycycliques aromatiques, relativement inertes par eux-mêmes, sont des polluants de l'environnement provenant de la combustion incomplète de substances organiques.

Ces hydrocarbures sont donc des précarcinogènes devant d'abord être activés par l'aryl hydrocarbon hydroxylase en métabolites biologiques réactifs qui sont eux des agents oncogènes, mutagènes et cytotoxiques. Certains de ces métabolites sont à l'origine de cancers de la peau.

Les ultimes métabolites sont des époxydes hautement réactifs et des diols pouvant se lier de manière covalente aux macromolécules cellulaires comme l'acide ribonucléique et désoxyribonucléique (RNA et DNA) et aux protéines.

Ces liaisons covalentes surtout avec le DNA représentent un niveau essentiel dans l'induction de tumeurs.

4.1.2 Mécanisme de l'activation métabolique cancérigène par l'aryl hydrocarbon hydroxylase et le cytochrome P450 épidermique.

On prend l'exemple du métabolisme du benzopyrène (hydrocarbure polycyclique aromatique). Le cytochrome P450 et l'AHH agissent en trois étapes lors de la phase I de métabolisation (cf figure n°4).

- production de benzopyrène-époxyde par l'AHH et une monooxygénase cytochrome P450 dépendante,
- conversion de l'époxyde en dihydrodiol par une époxyde hydroxylase.
- métabolisation du dihydrodiol en diol et époxyde par l'AHH.

Ce dernier métabolite peut être détoxifié par conjugaison avec un sulfate ou par glucuronoconjugaison, ou bien alors être activé plus loin sous forme d'un dérivé électrophile pouvant se lier de manière covalente avec l'acide désoxyribonucléique.

On a récemment découvert le processus de formation de la liaison benzopyrène-acide désoxyribonucléique (BP-DNA). Il y a d'abord formation d'un complexe préliminaire BP-DNA, puis il y a oxydation (par perte d'un électron) du BP, ceci catalysé par un cytochrome P450. Enfin la liaison covalente se fait entre le benzopyrène oxydé et le DNA.

Il semble que l'électron perdu lors de l'oxydation irait sur l'hème du cytochrome P450, ceci serait en accord avec l'hypothèse selon laquelle le cytochrome P450, sous sa forme active, est un radical cation Fe^{2+} avec sa charge délocalisée sur la périphérie de l'hème.

Il faut souligner que, dans un tissu cible exposé aux carcinogènes comme le benzopyrène, l'importance de l'activité et de l'inductibilité de l'AHH sera un facteur de risque majeur de cancer dans ce tissu.

4.1.3 Approche de la prévention des tumeurs cutanées malignes à l'aide d'anticarcinogènes.

L'animal de référence, pour cette étude, est le rat SPRAGUE DAWLEY agé de quelques jours, car la majorité de son cytochrome P450 se trouve au niveau de la peau ou dans les organes dérivés embryologiquement de la peau.

La mesure de l'activité cytochrome P450 épidermique se fait sur les produits formés, par chromatographie liquide hautes performances (HPLC).

De multiples niveaux ou sites d'activation métabolique des carcinogènes peuvent être des cibles pour les anticarcinogènes. On a trouvé deux grandes classes de molécules chimiques pouvant limiter le développement ou diminuer le risque de tumeurs cutanées: les dérivés phénoliques et les dérivés imidazolés.

4.1.3.1 Les dérivés phénoliques.

4.1.3.1.1 Les acides férulique, chlorogénique, cafféique et ellagique.

Ils sont contenus dans de nombreuses plantes communes. Ils ont une activité antimutagène vis à vis des diols et des époxy-

des des hydrocarbures polycycliques aromatiques (PAH_s) tels le benzopyrène. En effet, Muktar et ses collaborateurs (3) ont montré que l'acide ellagique est un inhibiteur potentiel de l'activité de l'aryl hydrocarbon hydroxylase épidermique; il empêche aussi la liaison du benzopyrène avec l'acide désoxyribonucléique du thymus d'un veau (in vitro) ou avec le DNA épidermique (in vivo). Cela empêche, à deux niveaux métaboliques différents, l'induction d'une tumeur cutanée:

- absence d'activité de l'aryl hydrocarbon hydroxylase donc pas de transformation de précarcinogènes (dérivés polycycliques aromatiques) en carcinogènes,
- pas de liaison benzopyrène-DNA.

Shugar et Kao (3) ont montré que l'acide ellagique inhibe la liaison covalente entre le benzopyrène et l'acide désoxyribonucléique épidermique d'une souris (in vitro).

Muktar et ses collaborateurs ont obtenu le même résultat sur des kératinocytes de souris. Ils ont aussi prouvé que l'acide ellagique est un inhibiteur potentiel du métabolisme du benzopyrène, en particulier de sa sulfo ou glucuronoconjugaison.

Enfin, l'application d'acide ellagique sur la peau de souris procure une protection substantielle contre les carcinômes de la peau induits par le 3-méthylchlolanthrène (inducteur de cytochrome P450 et de l'aryl hydrocarbon hydroxylase) en retardant la période de latence qui précède toujours le développement d'une tumeur. Cette explication a été confirmée par Lesca (3).

Une telle modulation du métabolisme des dérivés polycycliques aromatiques par l'acide ellagique ne peut être expliquée que par ses effets anticarcinogènes au niveau de la peau.

L'acide ellagique est l'un des meilleurs composés phénoliques anticarcinogènes au niveau de la peau mais aussi parfois au niveau d'autres tissus (poumons, moelle osseuse et foie).

4.1.3.1.2 Les flavonoïdes.

Les acides gallique, tannique, anthraflavique, la myricétine, l'alizarine, la monolactone et la purpurogalline sont présents dans de nombreux fruits comestibles et dans des végétaux. Dans un repas normalement équilibré on consomme en moyenne un gramme par jour de ces flavonoïdes.

Stick et ses collaborateurs (3) ont montré que l'acide tannique inhibe l'effet mutagène de la méthylurée en empêchant la formation de produits de nitrosation.

Buening et ses collaborateurs (3) ont observé que l'addition de flavonoïdes polyhydroxylés, tels que l'apigénine, la chrysin, la myricétine, la fisétine et le kaempférol, à un système microsomal hépatique humain inhibe le métabolisme du benzopyrène. Le kaempférol et la quercétine sont, eux, des inhibiteurs potentiels de la NADPH cytochrome P450 réductase, enzyme nécessaire à l'activité catalytique du cytochrome P450 (cf 2.4 mode d'action du cytochrome P450). Si le cytochrome P450 ne

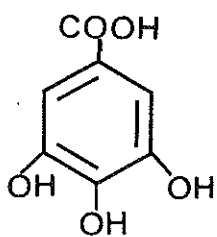
peut agir, il n'y aura pas activation des hydrocarbures polycycliques aromatiques et donc pas de toxicité (cf 4.1.2 mécanisme de l'activation métabolique cancérigène par l'AHH et le cytochrome P450 épidermique).

Huang et ses collaborateurs (3) ont récemment montré que certains flavonoïdes inhibent l'effet mutagène du dihydroépoxytétrahydrobenzopyrène, qui est l'ultime métabolite du benzopyrène et qui est le plus carcinogène et le plus mutagène.

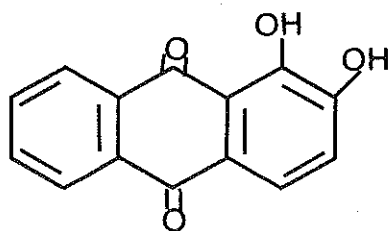
L'acide tannique et la myricétine, flavonoïdes hydroxylés, sont les plus actifs; les flavonoïdes sans groupement hydroxyle (OH) ou les flavonoïdes hydroxyméthylés (OCH₃) sont eux inefficaces. Ces dernières constatations suggèrent que l'activité antimutagène des flavonoïdes est due à leurs groupements hydroxyles (quand ils en possèdent) et ceci par interaction directe avec les diols-époxydes des hydrocarbures polycycliques aromatiques bloquant ainsi leur activation métabolique toxique.

4.1.3.1.3 Conclusion

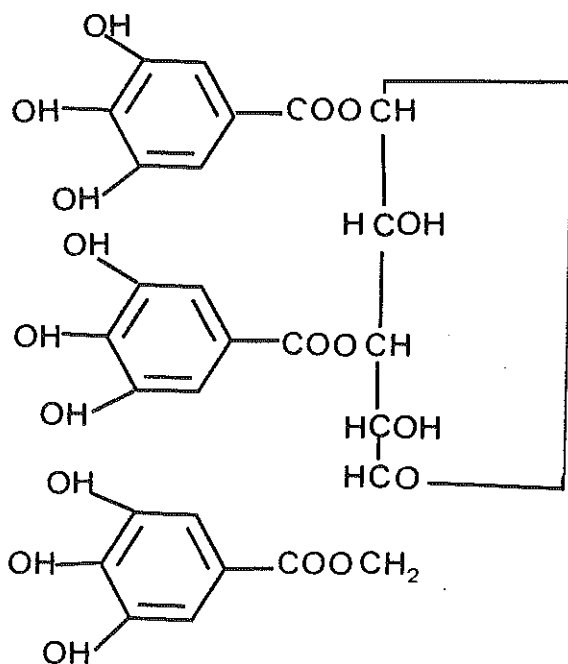
Ces expériences ont convaincu que les polyphénols en général, les flavonoïdes hydroxylés et l'acide ellagique en particulier, ont un rôle positif dans la prévention des cancers induits par des hydrocarbures polycycliques aromatiques, tout particulièrement au niveau cutané.



Acide gallique

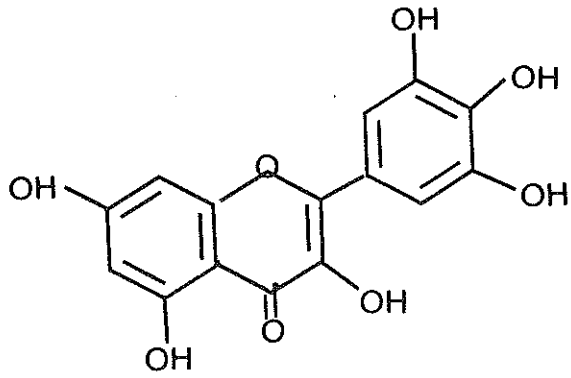


Alizarine

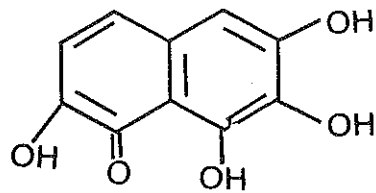


Acide tannique

Quelques flavonoïdes : figure n°4.

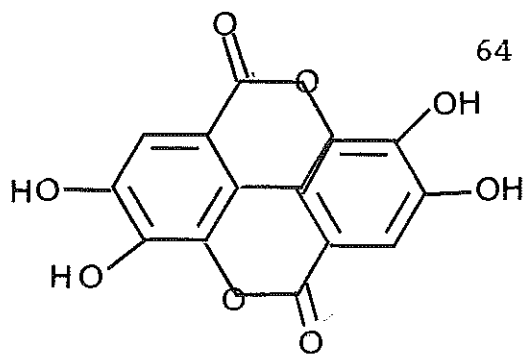


Myricétine

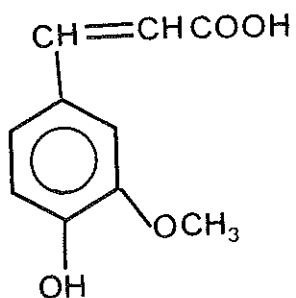


Purpurogalline

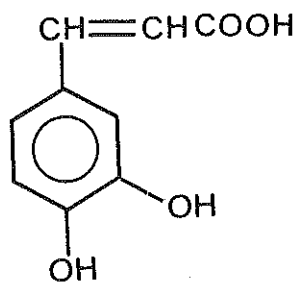
Quelques flavonoïdes : figure n°5.



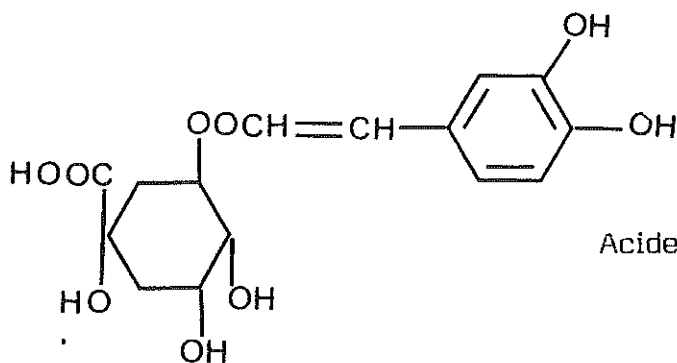
Acide ellagique



Acide férulique



Acide cafféique



Acide chlorogénique

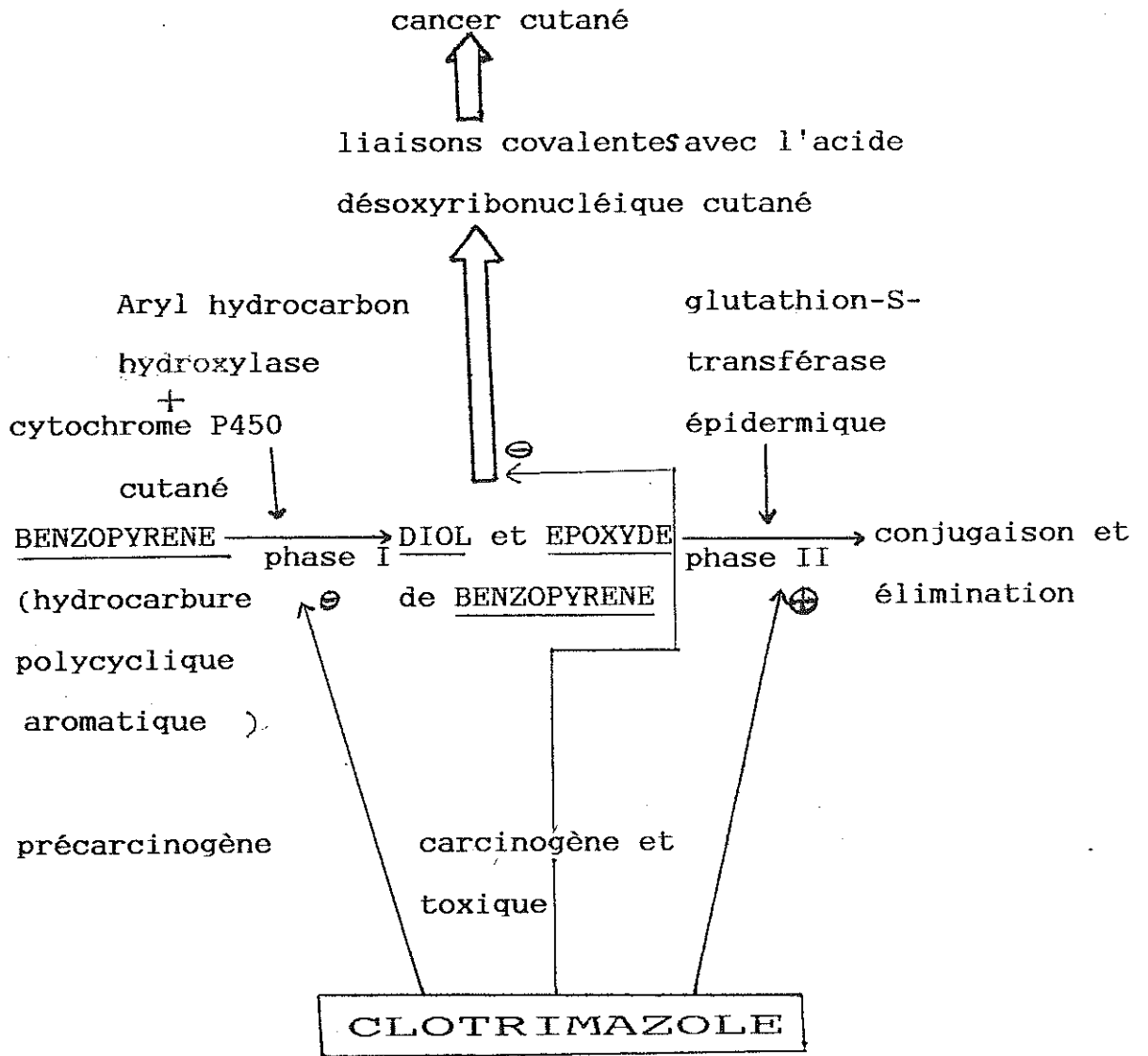
Quelques dérivés phénoliques : figure n°6.

4.1.3.2 Les dérivés imidazolés (3)(9)(14)(19).

Kahl et ses collaborateurs (3) ont émis l'hypothèse que certains médicaments imidazolés tels la cimétidine (TAGAMET[®]; antiulcéreux), le benzimidazole, le kétoconazole (NIZORAL[®]: antifongique) et le clotrimazole (TRIMYSTEN[®]: antifongique) pourraient avoir un effet bénéfique sur le métabolisme carcinogène au niveau de l'épiderme en inhibant les monooxygénases à cytochrome P450 microsomaux.

Muktar et ses collaborateurs (3) ont ensuite montré que le clotrimazole (TRIMYSTEN[®]) appliqué sur la peau d'un rat (agé de quinze jours) est un inhibiteur potentiel de l'activation métabolique épidermique.

On empêche ainsi l'activation du précarcinogène, qu'est le benzopyrène, en carcinogène (diol ou époxyde de benzopyrène) en bloquant le cytochrome P450 associé à l'aryl hydrocarbon hydroxylase épidermique. Cette inhibition est dépendante de la dose de clotrimazole et nécessite un certain délai. De plus cette simple application topique de clotrimazole augmente de 80% l'activité épidermique et de 30% l'activité hépatique de la glutathion-S-transférase, qui est une enzyme de la phase II de détoxification, ceci permettant une meilleure conjugaison et une meilleure élimination du toxique.



Métabolisation du benzopyrène au niveau cutané et rôle du clotrimazole (chez le jeune rat): figure n°7

On a donc une inhibition de la phase I de "détoxification" cytochrome P450 dépendante aboutissant à des carcinogènes et une induction de la phase II de détoxification qui augmente le taux de conjugaison et d'élimination des hydrocarbures polycycliques aromatiques (cf figure n° 3)

Le bilan de l'action du clotrimazole est une diminution de la production de fractions carcinogènes, une augmentation de l'élimination des fractions carcinogènes déjà produites et une diminution des liaisons covalentes entre ces fractions carcinogènes et l'acide désoxyribonucléique cutané.

Les médicaments imidazolés et le clotrimazole en particulier semblent être des agents efficaces pour diminuer le risque des cancers cutanés lors d'exposition à des hydrocarbures polycycliques aromatiques carcinogènes.

4.1.4 Conclusion.

Le cytochrome P450 est généralement considéré comme un agent détoxifiant lors de la phase I de métabolisation des xénobiotiques, ici dans le cas du métabolisme cutané des hydrocarbures polycycliques aromatiques, le cytochrome P450 métabolise ces hydrocarbures en dérivés toxiques et carcinogènes.

Néanmoins cette phase I cytochrome P450 dépendante est nécessaire pour la conjugaison et l'élimination ultérieure des hydrocarbures lors de la phase II.

Le cytochrome P450 cutané pris isolément n'a pas un rôle bénéfique lors de la métabolisation des hydrocarbures polycycliques aromatiques, mais il est une étape obligatoire et nécessaire.

Les dérivés imidazolés et phénoliques possèdent un potentiel anticarcinogène certain et de nombreuses études sont faites pour développer ces propriétés et essayer de les rendre utilisables en thérapeutique.

4.2 Le cytochrome P450 aux poumons (13)(23).

4.2.1 Evaluation et causes du risque toxique pulmonaire.

Le poumon est un organe responsable de tous les échanges gazeux nécessaires au métabolisme oxydatif des mammifères.

Sa structure est faite de telle façon que sa très large surface (environ la taille d'un court de tennis) est exposée à l'air extérieur par son épithélium et cela nécessite un très large réseau capillaire pour transporter les gaz à partir du lieu de diffusion et pour les ramener à ce même lieu.

Les exigences de protection d'une telle surface aussi vaste font que le poumon a de nombreux types de cellules avec des fonctions spécifiques: quarante types cellulaires sont identifiables. Quelques unes de ces cellules comme les cellules épithéliales, alvéolaires et endothéliales sont plus sensibles et vulnérables car elles sont le premier site ou du moins le site le plus important exposé aux toxiques de l'air ou du flux sanguin.

La vulnérabilité sélective des cellules pulmonaires dépend aussi de la voie d'administration du toxique.

que, des différences de structure biochimique ou de sa voie de métabolisation. Le mécanisme d'évacuation des toxiques des autres tissus peut avoir une énorme influence sur la dose délivrée aux cellules particulières du poumon; suivant le type de cellules pulmonaires atteintes en premier par le toxique, les conséquences pourront être différentes: par exemple une prolifération cellulaire ou bien un oedème au niveau des alvéoles.

4.2.2 Bioactivation des molécules chimiques.

Beaucoup de molécules sont métabolisées au niveau du poumon modifiant ainsi leur activité thérapeutique, toxicologique ou pharmacologique. Le poumon métabolise les molécules chimiques par un grand nombre de voies incluant les réactions d'oxydation, de réduction et de conjugaison.

Suivant les enzymes présentes dans une cellule ou un organe particulier, on peut envisager le type de métabolisme susceptible de s'y réaliser; en connaissant les enzymes on connaîtra aussi leur substrat, c'est à dire les molécules chimiques susceptibles d'être métabolisées. On pourra savoir dans quel sens s'oriente le métabolisme: vers une augmentation ou une diminution de toxicité.

Ainsi le fait que la plus grande partie du cytochrome P450 pulmonaire soit concentrée dans les cellules épithéliales non ciliées des bronchioles (cellules CLARA) permet de mieux comprendre la susceptibilité de ce type de cellules vis à vis des toxiques pulmonaires tels que le naphtalène et le 3-méthylfurane, molécules rendues toxiques par le cytochrome P450 nécessaire à leur métabolisme. La raison de cette haute concentration en cytochrome P450 dans les cellules CLARA n'est toutefois pas clairement expliquée mais peut être reliée à une fonction physiologique, normale de ces cellules:elles ont une activité oxydative marquée qui nécessite donc des oxydants comme le sont les cytochromes P450, ce qui expliquerait leur présence en grande quantité.

Le cytochrome P450 est trouvé aussi dans les cellules alvéolaires de type II, dans les cellules épithéliales des bronches et de la trachée et dans les macrophages des alvéoles pulmonaires.

Dans le poumon de lapin, il existe au moins deux isoenzymes du cytochrome P450 avec des spécificités de substrat extrêmement marquées; ainsi une molécule chimique sera rendue toxique par activation métabolique due à une isoenzyme précise de cytochrome P450 et aucune autre.

Ces isoenzymes ont une spécificité cellulaire à l'intérieur du poumon. Le toxique obtenu exercera donc son action au niveau de ce type de cellule donné. Cela explique la spécificité cellulaire de quelques toxiques du poumon.

4.2.3 Classement de quelques molécules chimiques causant des pathologies pulmonaires.

4.2.3.1 Molécules actives sur les cellules de l'épithélium alvéolaire.

- L'ozone (O_3): antiseptique entraînant une toux, un oedème pulmonaire voire un coma s'il est inhalé.
- Le paraquat: désherbant organique.

4.2.3.2 Molécules actives sur les cellules de l'endothélium pulmonaire.

- L'oxygène: à forte dose.
- Les alcaloïdes dérivés de la pyrrolizidine: risque d'encombrement bronchique ou d'apnée.

4.2.3.3 Molécules actives sur les cellules non ciliées de l'épithélium des bronchioles (cellules CLARA).

- Bromobenzène (C_6H_5Br): solvant, additif d'huile moteur.
- Naphtalène ($C_{10}H_8$): insecticide, vermicide, lubrifiant moteur.
- Tétrachlorure de carbone (CCl_4).

4.2.4 Conclusion et perspectives.

Le cytochrome P450 pulmonaire oxyde de nombreuses molécules en métabolites toxiques; ceci correspond à la phase I de métabolisation et d'élimination des molécules chimiques. Puis ces métabolites toxiques, mais plus faciles à conjuguer donc à éliminer, réagissent directement avec le glutathion et la glutathion-S-transférase qui forment un système de protection clé au niveau du poumon et font partie de la phase II de détoxification, c'est à dire la conjugaison. Le glutathion est un composé cellulaire nucléophile majeur qui protège la cellule pulmonaire contre les radicaux libres, les dérivés électrophiles réactifs et les dérivés à oxygène réactif.

Donc pris dans l'ensemble du processus d'élimination des molécules (phase I + phase II), le cytochrome a bien un

rôle détoxifiant en étant facilitateur de la conjugaison; mais pris seul, pour sa seule action oxydative, il a un rôle toxique au niveau pulmonaire.

La détoxification passe donc d'abord par une augmentation de toxicité obligatoire.

Le rôle toxique du cytochrome P450 sera augmenté si le glutathion est altéré par des toxiques tels que le paraquat (désherbant) qui est aussi un substrat du cytochrome P450.

Dans l'avenir, il reste à comprendre en particulier l'action, le statut du glutathion au niveau des différents types de cellules du poumon ainsi que sa réponse vis à vis des toxiques chimiques.

4.3 Le cytochrome P450 des macrophages.

4.3.1 Mise en évidence de la présence de cytochrome P450 dans les macrophages (26).

De récentes études ont montré que des monocytes sanguins, dérivés de macrophages humains, sont capables de métaboliser l'éthanol en acétate à un taux considérable. Cette oxydation métabolique est inhibée de manière marquée pour le monoxyde de carbone (CO) et par le SKF-525A qui sont deux inhibiteurs de cytochrome P450.

Donc, l'oxydation de l'éthanol par les macrophages est probablement cytochrome P450 dépendante; ceci amène à penser que d'autres réactions cytochrome P450 dépendantes, telles que la métabolisation oxydative de certaines drogues, peuvent exister au niveau des macrophages.

Les macrophages sont, en effet, capables de métaboliser des drogues in vitro lorsqu'ils sont présents aux mêmes concentrations que celles rencontrées dans le plasma des individus ayant servi à l'expérimentation.

4.3.2 Effets du cytochrome P450 des macrophages sur les molécules toxiques (26).

La toxicité de certaines drogues pourrait être due au moins partiellement, à leur métabolisme cytochrome P450

dépendant au niveau des macrophages.

Les dommages sont causés par la libération, par ce métabolisme, de molécules toxiques qui perturbent les cellules hématopoïétiques environnantes.

Mais ce métabolisme des drogues au niveau des macrophages peut aussi être bénéfique: la phénitoïne (antiépileptique) et la chlorpromazine (neuroleptique tricyclique) sont toxiques pour les cellules K562 (cellules humaines d'une lignée érythroleucémique) ; après interaction avec des macrophages d'origine humaine, les solutions de sel sodique de phénitoïne et de chlorhydrate de chlorpromazine montrent une toxicité réduite vis à vis de ces cellules K562.

Cet abaissement de cytotoxicité étant partiellement supprimé en présence de tétrahydrofurane, inhibiteur connu du cytochrome P450, cela prouverait encore que le métabolisme des drogues au niveau des macrophages est cytochrome P450 dépendant. Donc comme au niveau du foie, selon la molécule concernée et selon le niveau d'action, le métabolisme cytochrome P450 dépendant pourrait être "toxifiant" ou "détoxifiant".

Les métabolites obtenus après action des macrophages ne sont pas encore identifiés; au niveau du foie à partir de la phénitoïne on obtient la 5-(4-hydroxyphényl)-5-phénylhydantoïne et à partir de la chlorpromazine on obtient la

7-hydroxychlorpromazine via donc un mécanisme cytochrome P450 dépendant.

On peut s'attendre à trouver les mêmes métabolites ou des métabolites voisins dans les macrophages si le mécanisme cytochrome P450 dépendant est confirmé.

4.3.3 Conclusion (26).

Ces expériences sur les macrophages permettent de suggérer que quelques accidents sanguins pourraient être dûs au métabolisme de certaines drogues par les macrophages et à la libération consécutive d'une génération de petites molécules cytotoxiques telles l'oxygène réactif et les sulfoxydes (qui causent des dommages aux cellules hématopoïétiques voisines).

Si des réactions cytochrome P450 dépendantes, activant des précarcinogènes en carcinogènes, se passent dans les macrophages, ceux-ci jouent alors un rôle dans la genèse des leucémies et des carcinômes, car les macrophages étant largement distribués dans le corps humain, il peut se produire des dommages dans d'autres tissus.

Donc les macrophages seraient doublement responsables par transformation de précarcinogènes et exposition de ces carcinogènes aux cellules environnantes.

Récemment on a découvert une activité aryl hydrocarbon hydroxylase cytochrome P450 dépendante (cf induction enzymatique) dans les monocytes de porcs, de rats et dans les macrophages de souris, ce qui confirme l'existence du cytochrome P450 dans les macrophages des mammifères.

Dans l'avenir, on étudiera les macrophages des patients ayant un traitement comportant des médicaments à effets secondaires hématologiques; on saura ainsi si ces effets secondaires risquent réellement de se développer.

4.4 Le cytochrome P450 au cerveau (16).

On a récemment étudié la distribution locorégionale et subcellulaire du cytochrome P450 du cerveau.

4.4.1 Distribution subcellulaire.

Le cytochrome P450 se trouve a des taux très élevés dans les fractions mitochondriales du cerveau. Chez le singe, les taux sont quatre fois plus élevés dans les mitochondries que dans les microsomes du cerveau. Chez le rat les taux sont seulement trois fois plus élevés.

Parallèlement l'aryl hydrocarbon hydroxylase, enzyme couplée à un cytochrome P450, a aussi une activité mitochondriale 4 à 5 fois supérieure à celle microsomale.

4.4.2 Distribution locorégionale.

L' activité aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH) est supérieure au niveau du bulbe olfactif, que ce soit aux microsomes ou aux mitochondries, par rapport aux autres parties du cerveau.

Ceci se vérifie chez le singe et le rat.

4.4.3 Conclusion.

On l'a vu précédemment les hydrocarbures polycycliques aromatiques sont métabolisés par le cytochrome P450 et l'AHH en dérivés toxiques. Donc une activité AHH augmentée, comme c'est le cas au niveau du bulbe olfactif, peut rendre cette partie du cerveau plus sensible aux effets cytotoxique des hydrocarbures polycycliques aromatiques.

Cela peut aider à mieux comprendre les maladies idiopathiques neurovégétatives chez les primates supérieurs.

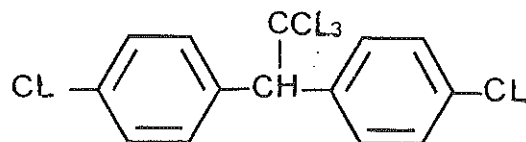
V ROLE DU CYTOCHROME P450
DANS LA TOXICITE DE
DIFFERENTES MOLECULES
CHIMIQUES

5.1 Détoxification du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT).

5.1.1 Le DDT:présentation et toxicologie(12).

C'est un insecticide de la famille des organochlorés et plus particulièrement un dérivé du chlorobenzène. C'est un poison nerveux pour l'insecte, agissant par contact et ingestion. Pour l'homme, il n'est toxique que par ingestion. Il existe sous 3 formes: poudre, émulsion aqueuse ou solution.

Chez l'homme, la dose mortelle est de 10 à 20 grammes. L'intoxication, après une phase de début marquée par des troubles digestifs, des vomissements et de la diarrhée, se manifeste par des signes nerveux prépondérants: céphalées, tremblements, convulsions généralisées, coma. La mort survient à la suite d'un collapsus ou d'une apnée. Une atteinte des reins, du foie ou des troubles du rythme cardiaque existent parfois et interdisent l'emploi de sympathomimétiques. Le traitement consiste en un lavage d'estomac et une purge à l'aide de sulfate de soude ou de magnésium; les purgatifs huileux, le lait, les graisses alimentaires sont contre-indiqués, car ils favorisent l'absorption du produit. De plus des prescriptions symptomatiques complètent le traitement.



5.1.2 Mécanisme d'action du DDT (22).

Le mécanisme d'action de détoxification du DDT au niveau de l'hépatocyte de rat est le suivant:

- une première réaction consiste en une déchloration (perte d'un chlore)réductive aboutissant au dichlorodiphényldichloroéthane (DDD),
- une autre voie est une déhydrochlorination (perte de HCL)aboutissant à du dichlorodiphényléthylène (DDE),
- enfin,une chaîne métabolique assez longue transforme le DDE en un composé soluble éliminable dans les urines.

Bien que toutes les enzymes impliquées à des stades variables de la détoxification ne soient pas connues,il est pratiquement admis que ces réactions sont régulées par un système enzymatique contenant un cytochrome P450.

Le DDD est formé dans le foie par au moins deux voies: une thermosensible et l'autre thermorésistante.La voie thermosensible est une voie enzymatique plus rapide que l'autre.

5.1.3 Conditions optimales de détoxification (observées sur l'hépatocyte de rat) (22).

- La concentration en DDT:c'est lorsque le DDT est à 50mg/kg de poids que la déchloration réductive est la plus importante.Avec des doses plus fortes,on observe une réduction inférieure.

- Le Ph:la déchloration réductive exige un Ph égal à 7,8. Cette activité est très faible en dehors de cette valeur.

- La température:elle est optimale à 50°C.

Toutes ces conditions sont uniquement valables pour l'hépatocyte de rat.D'importantes variations existent dans les différentes espèces animales.

L'activité des enzymes est maximale dans des conditions bien précises n'admettant que peu de variations:ceci explique de nombreux dérèglements possibles et aussi les difficultés auxquelles on se heurte pour mettre en évidence l'action du cytochrome P450, en particulier chez l'homme où toutes les enzymes fonctionnent à 37°C (et non pas à 50°C).

5.1.4 Action des inducteurs et des inhibiteurs de cytochrome P450 (22).

5.1.4.1 Les inducteurs in vivo.

Le phénobarbital et le 3-méthylchlolanthrène n'augmentent pas l'activité réductase (la déchloration réductive) de manière significative; par contre, le DDT agit comme auto-inducteur.

5.1.4.2 Les inhibiteurs in vivo.

Les inhibiteurs spécifiques de la synthèse de RNA (acide désoxyribonucléique), que sont l'amanitine et l'ACTH, n'ont pas d'effet sur la transformation du DDT en DDD. Mais il a été prouvé que cette activité réductase est régulée par la synthèse de novo de la protéine enzymatique plutôt que par l'activation de l'enzyme.

On peut rapprocher ceci du mécanisme de l'induction du cytochrome P450 vu avant: il y a synthèse d'apoprotéine P450 de novo plutôt qu'une stabilisation d'enzyme ou une activation d'enzyme latente. Ceci aussi permet de penser que l'activité réductase, qui enlève le chlore du DDT, est cytochrome P450 dépendante.

5.1.4.3 Les inhibiteurs in vitro.

La benzoflavone, la métyrapone réduisent l'activité réductase respectivement de 52% et 56%. Ces inhibiteurs in vitro peuvent affecter le système P450 soit par interaction spécifique avec l'hème ou la protéine du cytochrome p450 soit en servant de substrat compétitif (interaction P450-inhibiteur), le DDT se fixant préférentiellement sur ces inhibiteurs plutôt que sur le cytochrome P450.

5.1.5 Conclusion (22).

Une augmentation ou une baisse du métabolisme hépatique du DDT chez le rat traité in vivo avec des inducteurs ou des inhibiteurs ainsi que la découverte de la nécessité absolue de NADPH (coenzyme transporteur d'hydrogène nécessaire à l'action du cytochrome P450) suggèrent fortement un rôle du cytochrome P450 dans la déchloration du DDT en DDD bien que le mécanisme ne soit pas totalement connu. Baker et Van-Dyke (22) ont suggéré, en raison de la similitude structurale entre le DDT, le CCl_4 (tétrachlorure de carbone) et l'halothane, que le DDT est déchloré de manière réductive en DDD en passant par un radical libre intermédiaire dans une voie similaire à celle observée dans la formation du CF_3CHCl à partir de l'halothane (anesthésiant). Le radical libre intermédiaire perdrait alors un hydrogène pour former le DDD.

Il est important de signaler qu'ici le cytochrome P450 aurait une action réductrice par transfert d'électrons et ceci en absence d'oxygène; c'est le même type d'action pour le CCl_4 réduit en CCl_2 (carbène) et pour les dérivés nitrés tels que les nitro-arènes réduits en nitroso-arènes.

Au contraire, dans un plus grand nombre de cas, le cytochrome P450 a une activité monooxygénase donc oxydante. Ici le cytochrome aurait réellement une action détoxifiante: le DDD obtenu étant moins toxique que le DDT de départ tout en permettant de se rapprocher de composés plus facilement éliminables dans les urines.

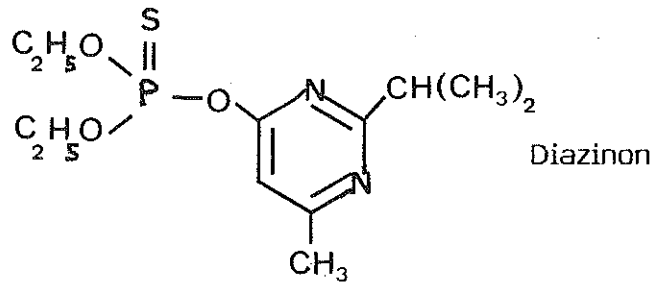
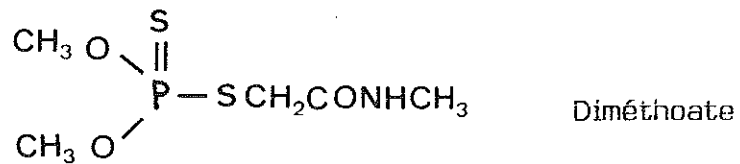
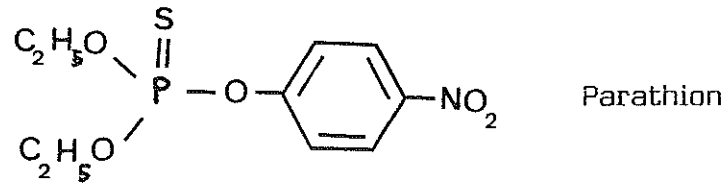
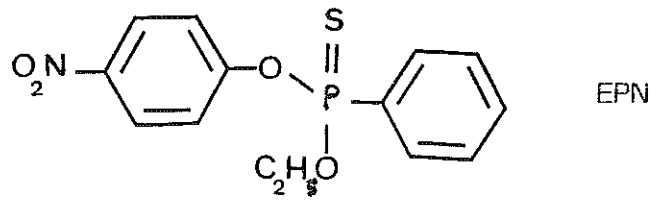
5.2 Détoxification des insecticides organophosphorés.

5.2.1 Mode d'action et effets des insecticides organophosphorés (11).

Beaucoup d'insecticides organophosphorés ne sont pas directement actifs, ils doivent subir une activation métabolique par une monooxygénase à cytochrome P450.

Les organophosphorés exercent leur action insecticide par effet anticholinestérasique; les molécules possédant un groupement thionosulfure doivent subir une désulfuration pour être actives. L'activité anticholinestérasique se traduit par une accumulation d'acétylcholine dans tout le système nerveux: système nerveux central, système nerveux parasympathique et plaques motrices (jonctions neuromusculaires). En effet, les récepteurs cholinestérasiques vont être bloqués par l'insecticide, entraînant une augmentation du taux d'acétylcholine libre. Pratiquement, l'activité anticholinestérasique se fait par phosphorylation au niveau des récepteurs à acétylcholine, ce qui empêche la consommation et la dégradation de l'acétylcholine. Chez l'homme la dose létale d'insecticide organophosphoré est très faible: un gramme environ.

Les effets toxiques aigus sont d'abord de type parasympatomimétiques (action muscarinique) puis surtout de



Quelques molécules d'organophosphorés : figure n° 8

type parasympholytique (action nicotinique); ce sont ces derniers effets les plus dangereux. Il existe un antidote: le contrathion.

5.2.2 Action du disulfure de carbone (11).

On a prouvé récemment que le disulfure de carbone (CS_2) inhibe spécifiquement les monooxygénases contenant un cytochrome P450 microsomal et ceci même à dose faible; à des doses plus élevées, le disulfure de carbone perturbe les différents métabolismes de la cellule hépatique et il ne pourrait donc pas être utilisé pour les expérimentations animales ni éventuellement en thérapeutique. Les dithiocarbamates, précurseurs de CS_2 , ont les mêmes propriétés que le CS_2 à condition d'être administrés par voie orale car ils ont besoin de l'acidité de l'estomac pour se transformer en CS_2 qui est la seule forme active. A faible dose, le disulfure de carbone n'a aucun effet sur les autres enzymes microsomaux: les monooxygénases à flavine, les glucuronyltransférases, les glutathion-S-transférases, les estérases et les transporteurs d'électrons.

Le disulfure de carbone modifie l'activité anticholinestérasique des organophosphorés qui nécessitent un cytochrome P450 pour être activés, mais il n'y a pas d'effet sur l'activité cholinestérasique vraie du cerveau ni sur

l'activité pseudocholinestérasique plasmatique et hépatique. Il n'interfère donc pas avec les autres métabolismes physiologiques, ceci toujours à faible dose. Ainsi le disulfure de carbone pourrait servir à diminuer la toxicité des organophosphorés nécessitant un cytochrome P450 pour être actifs, en inhibant ce dernier, et ceci à des doses ne perturbant pas les autres mécanismes physiologiques et n'entraînant pas d'hépatotoxicité. Cependant, on ne peut généraliser car, si on administre à une souris une dose de disulfure de carbone suivie une heure après par une dose subléthale d'organophosphoré, on peut effectivement obtenir une baisse de toxicité ou au contraire une augmentation de toxicité de l'organophosphoré. La toxicité varie selon le type même d'organophosphoré employé (cf figure n°9).

Si on fait la même expérience en remplaçant le disulfure de carbone par un inducteur de cytochrome P450 tel le phénobarbital, le tolbutamide ou le 3-méthylcholanthrène, on obtient les résultats inverses (cf figure n°9).

Pour avoir un abaissement de la toxicité d'un organophosphoré, il faudra le concours, selon la molécule même d'insecticide, d'un inducteur enzymatique ou au contraire d'un inhibiteur enzymatique de type CS_2 (cf figure n°9). Ceci s'explique difficilement. L'hypothèse la plus probable

est la suivante: la voie de métabolisation diffère qualitativement et/ou quantitativement d'un organophosphoré à l'autre. Les organophosphorés ne seraient pas métabolisés selon le même mode: ainsi pour certains le fait d'inhiber la monooxygénase à cytochrome P450 pourrait empêcher l'activation de la molécule, mais diminuerait aussi la détoxification ultérieure de celle-ci d'où une persistance de la molécule dans l'organisme (exemple du parathion); ceci en supposant que l'élimination et la détoxification sont plus fortement diminuées que l'activation métabolique.

La molécule toxique est toujours plus ou moins métabolisée soit par le cytochrome P450, qui n'est jamais totalement inhibé dans tous les organes où il est présent, soit par une autre voie d'oxydation (qui reste à définir). C'est cette faible proportion activée qui est responsable de la toxicité (son élimination étant retardée).

On peut formuler une deuxième hypothèse pour expliquer l'abaissement de toxicité constaté sur certaines molécules (diazinon, diméthoate) en présence de disulfure de carbone. Le disulfure de carbone est lui-même métabolisé par un cytochrome P450; il peut ainsi exister une compétition entre l'organophosphoré et le disulfure de carbone vis à vis du même cytochrome P450. Si le disulfure de carbone est métabolisé préférentiellement, l'organophosphoré n'est pas activé et sa toxicité est donc moindre. Le disulfure de carbone agit ici comme un inhibiteur compétitif.

	DISULFURE DE CARBONE (inhibiteur enzymatique)	PHENOBARBITAL (inducteur enzymatique)
INSECTICIDES ORGANOPHOS- PHOPHORES		
PARATHION	↗	↘
ETHYLNITROPHE- NYLPHENYLPHOS- PHONOTHIOATE (EPN)	↗	↘
DIAZINON	↘	non significatif
DIMETHOATE	↘	↗

↗ : augmentation de l'activité de l'organophosphoré

↘ : diminution de l'activité de l'organophosphoré

Incidence du disulfure de carbone et du phénobarbital
sur l'activité de divers insecticides organophosphorés:

figure n°9

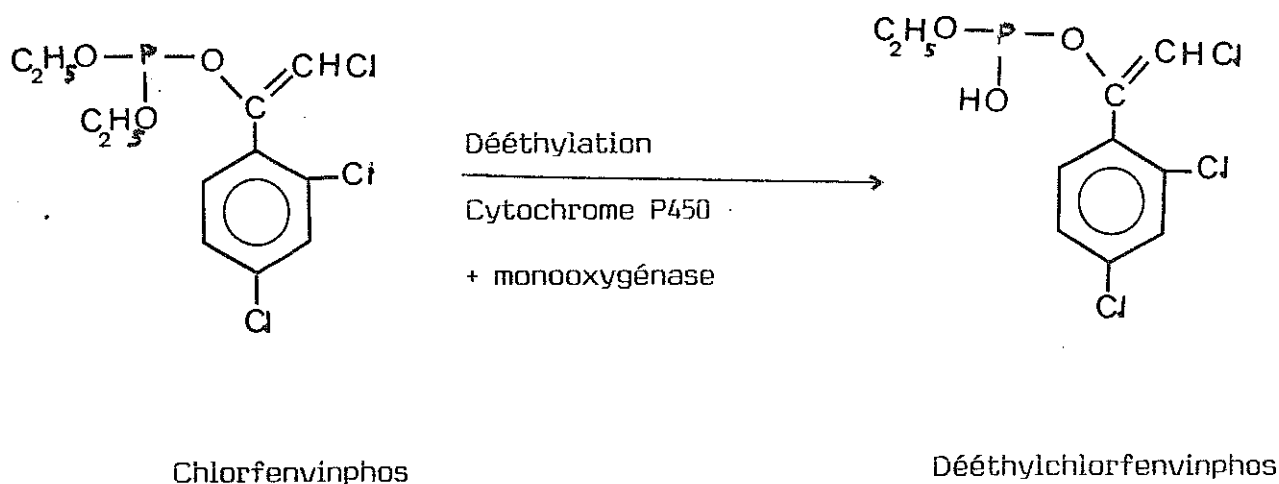
Dans le cas du parathion et de l'éthylnitrophénylphénylphosphonothioate (EPN), l'augmentation de toxicité par le disulfure de carbone serait due à une inhibition de la production de p-nitrophénol (NADPH dépendant); le p-nitrophénol étant une des molécules de détoxification de l'EPN et du parathion formée par l'intermédiaire d'une monooxygénase à cytochrome P450 qui est donc inhibée ici par le disulfure de carbone.

Cet exemple corrobore la première hypothèse qui expliquait l'augmentation de toxicité de certains organophosphorés en présence de disulfure de carbone.

5.2.3 Exemple de détoxification d'un organophosphoré: le chlorfenvinphos (11).

Le chlorfenvinphos est actif directement, il n'a pas besoin d'être métabolisé par un cytochrome P450.

Mais lors de sa détoxification, la réaction la plus importante est catalysée par une monooxygénase microsomale hépatique à cytochrome P450; elle permet d'aboutir à un phosphodiester qui n'a plus d'action anticholinestérasique donc qui n'est pas toxique.



Cette réaction de dééthylation a été mise en évidence chez le rat, la souris, le lapin et le chien. C'est la première réaction d'une chaîne aboutissant à la glucuroconjugaison des métabolites, mais dès cette première réaction la toxicité est éliminée.

5.2.4 Conclusion.

On a vu par ailleurs (cf 3.3 Induction: bénéfique ou non) que l'induction du cytochrome P450 ne peut être définie comme universellement bénéfique ou négative.

Cette affirmation est largement confirmée par le métabolisme cytochrome P450 dépendant des organophosphorés, où au sein d'une même famille de molécules, les conséquences d'une exposition à un cytochrome P450 sont différentes voire opposées.

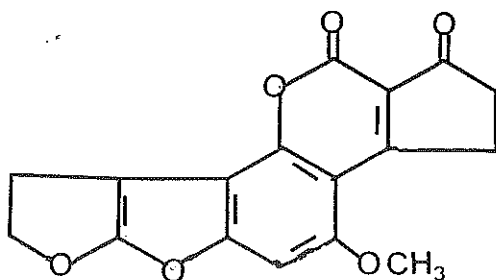
5.3 Détoxification de l'aflatoxine β 1.

5.3.1 Toxicité de l'aflatoxine β 1 (8).

L'aflatoxine β 1 (AF β 1) est un agent hépatotoxique et hépatocarcinogène produit par *Aspergillus flavus* (champignon moisissure): l'AF β 1 est donc responsable de mycotoxicoses.

Chez l'homme, les mycotoxicoses sont rares mais graves, elles peuvent induire un hépatocarcinôme primitif puis un cancer du foie dû à une consommation d'arachides contaminés par *Aspergillus flavus*. La susceptibilité varie selon des facteurs génétiques, raciaux et alimentaires (une forte proportion de protéines dans l'alimentation diminue les risques).

Les mycotoxicoses humaines sont aussi responsables du syndrome de Reye qui comprend fièvres, convulsions, vomissements, oedème cérébral, troubles respiratoires, hypoglycémies et dégénérescence graisseuse du foie et du rein, tout cela étant dû à une consommation de riz contaminé par *Aspergillus Flavus* (phénomène observé surtout en Australie et Thaïlande).



5.3.2 Métabolisme de l'aflatoxine β 1 (8).

L'aflatoxine β 1 est inactive par elle-même, elle nécessite une activation par un cytochrome P450 pour donner des métabolites toxiques, carcinogènes et mutagènes.

Le principal métabolite impliqué dans les carcinômes est l'oxyde-2,3 d'aflatoxine β 1; il se lie de manière prépondérante à la guanine (N-7) de l'acide désoxyribonucléique (DNA), cette liaison détruisant le groupement imidazole de cette guanine et conduisant à la formation d'un dérivé formyl in vivo plus stable et plus persistant.

Le début d'un processus de cancérisation est souvent caractérisé par la formation d'une liaison covalente (donc solide) entre le carcinogène et un acide nucléique (DNA ou RNA) ce qui perturbe les synthèses protéiques ultérieures. Ceci peut expliquer la propagation cellulaire anarchique et rapide dans les cancers.

La formation de l'oxyde-2,3 d'aflatoxine β 1 n'est pas la seule voie de biotransformation de l'AF β 1 catalysée par les microsomes hépatiques, d'autres métabolites sont également synthétisés par l'intermédiaire d'un cytochrome P450: ce sont des dérivés hydroxylés de l'AF β 1, on trouve ainsi les aflatoxines M1, P1, Q1 (AFM1, AFP1, AFQ1). Tous ces métabo-

lites primaires d'AFB₁ conservent la double liaison entre les carbones C1 et C2 (C1=C2), d'où la formation éventuelle d'époxydes (composés très réactifs et carcinogènes). Les aflatoxines M₁, P₁, Q₁, qui sont donc des dérivés primaires d'hydroxylation de AFB₁, sont moins toxiques que AFB₁; la toxicité du produit ultime de leur dégradation est toujours inférieure à celle de AFB₁. Il existe un très faible taux de formation in vivo, d'époxydes (oxyde entre C1 et C2

$\begin{array}{c} \text{O} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C} - \text{C} \end{array}$) qui eux sont très toxiques et ceci à partir de AFM₁, AFP₁, AFQ₁.

La toxicité de l'aflatoxine B₁ vient donc en majorité de la formation de l'oxyde-2,3 d'AFB₁; la formation d'AFM₁, d'AFP₁, d'AFQ₁ semble être plutôt une voie de détoxification (malgré la très faible formation d'époxydes toxiques à partir de AFM₁, AFP₁, AFQ₁). Ce métabolisme de l'aflatoxine B₁ a été établi à l'aide d'expériences *in vivo* et *in vitro* sur les rongeurs.

5.3.3 Effets bénéfiques des inducteurs enzymatiques (8).

5.3.3.1 Le β naphthoflavone (hydrocarbure polycyclique aromatique).

L'aflatoxine B₁-4-hydroxylase, enzyme dépendante d'un cytochrome P450, est responsable de la conversion de

l'aflatoxine β 1 en aflatoxine M1, métabolite de détoxification de AFB1 (malgré quelques liaisons toxiques AFM1-DNA in vivo).

L'aflatoxine β 1-4-hydroxylase est inductible par les carbures polycycliques aromatiques tels que le tétrachloro-dibenzo-p-dioxine (TCDD) et le β naphthoflavone, tous deux inducteurs enzymatiques des cytochromes P450.

Cette induction aboutissant à AFM1 est donc bénéfique, elle a un effet anticarcinogène par augmentation de la détoxification de AFB1: Nixon et ses collaborateurs (8) ont trouvé jusqu'à 80% de diminution dans l'incidence des hépatocarcinômes chez la truite traitée par le β naphthoflavone, ainsi qu'une diminution de 50% des liaisons toxiques AFB1-DNA.

Certains végétaux de la famille des crucifères, tels le chou et le chou-fleur ont ces mêmes propriétés anticarcinogènes: cela est dû à la présence de flavones et d'indoles chez ces végétaux. Ces groupements indoles et flavones se trouvent aussi au niveau du β naphthoflavone. Ces groupements seraient donc responsables des propriétés anticarcinogènes du β naphthoflavone et de certains crucifères. Les végétaux de la famille des crucifères sont actuellement étudiés pour une éventuelle application alimentaire dans la prévention des carcinômes dus à l'AFB1 dans les régions du monde où la contamination par l'AFB1 est forte et où on observe un nombre élevé de maladies hépatiques et de cancers.

Il est possible que le β naphtoflavone soit actif sur d'autres stades du processus carcinogène et inhibe ou retarde l'expression des cellules cancéreuses déjà formées mais encore latentes.

Il est aussi possible qu'à hautes doses le β naphtoflavone induise les enzymes de phase II de détoxification (glucuronyltransférases et glutathion-S-transférases:enzymes de conjugaison)augmentant ainsi l'élimination de AFB1.

Le taux d'induction varie suivant le phénotype de l'individu (cf 3.induction enzymatique:inductibilité de AHH et risque cancéreux)et ainsi fait varier le taux de détoxification .

5.3.3.2 Le phénobarbital.

C'est un inducteur de cytochrome P450;il induit la métabolisation,cytochrome P450 dépendante;de l'aflatoxine β 1 en oxyde-2,3 d'AFB1 toxique et en hydroxyles d'aflatoxines (AFP1,AFQ1,mais pas AFM1)moins toxiques.

Certains de ces métabolites sont aussi de bons substrats pour les glucuronyltransférases (enzymes de phase II de détoxification)qui sont aussi induites par le phénobarbital:on a ainsi une détoxification accélérée à deux niveaux différents (hydroxylation et conjugaison par les transférases).

Donc un traitement par le phénobarbital, préalable à l'ingestion d'AFB₁, augmente l'activation métabolique d'AFB₁ (formation d'oxyde-2,3 d'AFB₁ toxique) et accélère l'élimination d'AFB₁ par des voies de détoxification utilisant le cytochrome P450 (hydroxylation) et les enzymes conjuguantes (transférases).

Malgré l'activation métabolique toxique d'AFB₁, le phénobarbital inhibe la toxicité et l'effet carcinogène de l'aflatoxine B₁ car la détoxification par hydroxylation et par conjugaison est nettement supérieure à l'activation métabolique toxique.

5.3.3.3 Conclusion.

Les hépatocarcinômes dus à l'aflatoxine peuvent être fortement réduits soit par diminution de l'activation toxique d'AFB₁, soit par augmentation de la détoxification d'AFB₁.

D'autres facteurs, nutritionnels (exemple des crucifères), génétiques (type d'inductibilité), environnementaux, pourront aussi empêcher ces hépatocarcinômes par inhibition ou retardement de l'expression des cellules cancéreuses initiales formées lors de l'activation, par le cytochrome P450, de l'aflatoxine B₁.

Le cytochrome P450 a ici un double rôle, il augmente la toxicité par bioactivation métabolique (par oxydation) et il détoxifie par hydroxylation. Les facteurs extérieurs orientent plus ou moins vers l'une ou l'autre voie.

Les propriétés anticarcinogènes des crucifères pourront peut-être dans l'avenir prévenir des propriétés toxiques de l'aflatoxine β_1 surtout dans les pays pauvres où l'incidence des cancers hépatiques dûs à l'aflatoxine β_1 est très forte.

5.4 Détoxification et hépatotoxicité du disulfure de carbone (CS₂).

5.4.1 Rôles du disulfure de carbone (12).

Le disulfure de carbone est utilisé dans l'agriculture comme antiparasitaire et dans l'industrie de la rayonne, des colles et du caoutchouc. C'est un solvant des graisses se fixant surtout sur le système nerveux.

5.4.2 Syndrome des intoxications aiguës et chroniques (12).

Le disulfure de carbone est rarement la cause d'intoxications car on l'utilise en circuit fermé pour limiter le risque de maladies professionnelles.

5.4.2.1 L'intoxication aiguë

L'individu atteint est agité, a des vertiges, une démarche titubante, des céphalées et parfois des hallucinations et des délires. Il s'y associe des nausées, des irritations oculaires et un coma peut survenir.

Cette intoxication peut survenir par ingestion ou par projection sur la peau (risque de brûlures).

5.4.2.2 L'intoxication chronique.

Le sujet touché ressent des paresthésies des extrémités, une asthénie, une perte de mémoire, un changement de caractère, une vision trouble avec névrite optique possible.

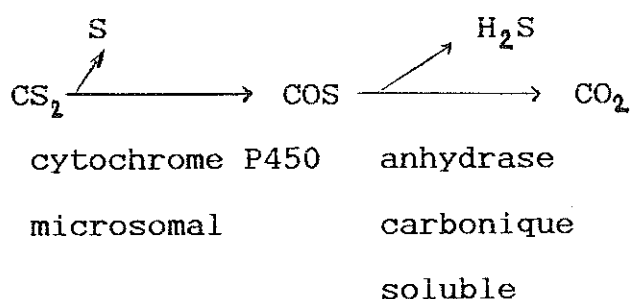
L'intoxication chronique se fait toujours par des vapeurs; pour éviter cela il faut que la concentration de disulfure de carbone dans l'air ne dépasse pas 20%. Le danger réel commence à 100% OU 200%. Il n'existe pas d'antidote et le lait est totalement contre-indiqué après une ingestion accidentelle car il favorise l'absorption du toxique.

Le traitement des intoxications se fait principalement par oxygénothérapie et administration de sédatifs nerveux.

5.4.3 Mécanisme de détoxification du disulfure de carbone (20).

Il a été étudié chez le rat in vivo et in vitro. Le disulfure de carbone subit une désulfuration séquentielle dans le foie pour donner du dioxyde de carbone (CO_2): la désulfuration initiale est catalysée par un système enzymatique microsomal ayant un cytochrome P450. Il y a libération d'un atome de soufre électrophile et d'un carbonylsulfure

(COS). La seconde désulfuration est catalysée par une anhydrase carbonique soluble qui peut être inhibée par l'acétazolamide (DIAMOX*), le résultat étant la libération de dioxyde de carbone (CO₂) et de sulfure d'hydrogène (H₂S). Mais il est possible qu'il existe d'autres intermédiaires entre le CS₂ et COS (cf hépatotoxicité et induction enzymatique).



Ceci ne représente alors que le mécanisme simplifié.

La cinétique du métabolisme de CS₂ en COS par les microsomes de foie de rat est compatible avec l'existence d'au moins deux formes de cytochromes P450:

- une forme de faible affinité pour le substrat mais de grande capacité (low affinity, high capacity: LA/HC),
- une forme de grande affinité pour le substrat mais de faible capacité (high affinity, low capacity: HA/LC).

La forme HA/LC est la plus sensible à l'induction enzymatique par administration d'alcools in vivo (tels l'éthanol ou l'isopropanol); c'est aussi la forme la plus sensible à l'inhibition.

5.4.4 Hépatotoxicité et induction enzymatique (20).

L'hépatotoxicité du disulfure de carbone est due à la libération de l'atome de soufre pendant la première désulfuration qui aboutit à COS. Cette réaction consomme du cytochrome P450. L'atome de soufre libéré est électrophile et réactif, il peut donc réaliser une liaison covalente, solide, avec les macromolécules des cellules hépatiques; c'est une étape décisive dans le processus toxique hépatique.

L'administration d'isopropanol 18 heures avant l'ingestion de disulfure de carbone augmente significativement le métabolisme in vitro du CS₂ en COS. L'hépatotoxicité est ainsi accentuée mais il n'y a pas d'augmentation du taux sanguin des enzymes hépatiques, en particulier le taux de glutamate pyruvate transaminase (GPT=TGP=alanine aminotransférase=ALAT) reste stable. L'hépatotoxicité est augmentée par l'isopropanol, qui a ici un rôle d'inducteur sur le cytochrome P450, plus particulièrement sur la forme HA/LC du cytochrome P450.

Les deux paramètres d'évaluation de l'hépatotoxicité que sont le taux de transaminases et le taux de destruction du cytochrome P450, ne sont ici pas liés: on a une augmentation de la destruction du cytochrome P450 au départ de

l'effet toxique (libération du soufre électrophile) en l'absence d'une altération de membrane de l'hépatocyte car les transaminases ne sont pas élevées. Les transaminases ne sont donc pas toujours suffisantes pour évaluer une hépatotoxicité. Le taux de cytochrome P450 permet une évaluation plus précoce d'un risque toxique hépatique. On en est informé lorsque les atomes de soufre électrophiles sont libérés, avant même qu'il y ait des liaisons covalentes, donc encore bien avant qu'il y ait destruction de la membrane des hépatocytes.

L'administration simultanée, in vivo, chez le rat, d'isopropanol (à une concentration suffisante pour être métabolisée par le foie) et de disulfure de carbone diminue significativement l'hépatotoxicité du disulfure de carbone; ceci est établi par le taux de glutamate pyruvate transaminase plasmatique particulièrement faible et par le taux de destruction de cytochrome P450 normal. L'isopropanol jouerait, en apparence, le rôle d'inhibiteur enzymatique. On observe encore une dissociation des paramètres d'hépatotoxicité: à un taux de cytochrome P450 normal correspond un taux de transaminases effondré.

Pour expliquer cette différence d'hépatotoxicité en présence d'un même alcool mais avec un protocole d'administration différent, on a formulé deux hypothèses: les deux partent du principe que le métabolisme du disulfure de carbone comporterait des intermédiaires chimiques avant l'obtention de COS.

-Hypothèse n°1: il existe deux composés intermédiaires possibles formés à partir du disulfure de carbone (avant COS), chacun d'eux étant responsable d'une réponse toxique différente (abaissement ou augmentation de toxicité). Les protocoles expérimentaux (administration simultanée ou non du disulfure de carbone et de l'isopropanol) induisent la formation de l'un ou l'autre.

-Hypothèse n°2: les deux réactifs intermédiaires sont formés séquentiellement à partir d'un métabolite intermédiaire initial commun avec synthèse de l'un ou l'autre suivant le taux de formation de ce même intermédiaire initial commun.

Dans ces deux hypothèses, on ne connaît pas la nature des réactifs intermédiaires, mais ils seraient formés à partir d'un cytochrome P450. Une isoenzyme du cytochrome P450 permettrait la formation de l'un de ces deux réactifs intermédiaires. La deuxième isoenzyme permettrait la forma-

tion de l'autre. On a justement vu précédemment qu'il y avait au moins deux isoenzymes du cytochrome P450 pour le métabolisme du disulfure de carbone. Les deux réactifs intermédiaires moduleraient la toxicité en favorisant ou non la libération de soufre électrophile à partir de leur molécule.

Le disulfure de carbone est un inhibiteur du cytochrome P450 (cf 5.2 Détoxification des insecticides organophosphorés). Donc le disulfure de carbone peut inhiber son propre métabolisme qui dépend d'un cytochrome P450 pour le passage du CS_2 en COS, ceci en supposant que le disulfure de carbone inhibe toutes les isoenzymes existant pour son propre métabolisme. De là, on peut envisager une troisième hypothèse plus simple que les précédentes: si on donne l'isopropanol avant le disulfure de carbone, l'effet inducteur de l'alcool l'emporte sur l'effet inhibiteur du disulfure de carbone; si on donne le disulfure de carbone et l'isopropanol simultanément, il se produit le contraire. Ce phénomène pourrait être dû à l'existence d'un nombre limité de récepteurs pour l'inducteur ou l'inhibiteur dans le système enzymatique cytochrome P450 dépendant qui métabolise le disulfure de carbone.

Lorsque l'on traite des rats préalablement avec de l'isopropanol, l'augmentation de toxicité est encore plus marquée si on utilise des doses faibles de disulfure de carbone (de l'ordre de 1mg/kg). On a un effet interactif fort malgré un faible taux de disulfure de carbone. De récents rapports médicaux (20) sur les maladies professionnelles vont également dans ce sens: il y a une augmentation de l'incidence des dysfonctionnements hépatiques chez les personnels exposés, dans leur travail, à la fois à des faibles doses de disulfure de carbone et à une variété d'autres solvants organiques.

5.4.5 Conclusion.

Lors du métabolisme du disulfure de carbone, le cytochrome P450 permet la libération d'un atome de soufre électrophile responsable de l'hépatotoxicité par liaison covalente avec les macromolécules hépatiques.

Le cytochrome P450 pris isolément a un rôle toxifiant dans le métabolisme du disulfure de carbone, même s'il peut être modulé. Il entraîne aussi sa propre destruction. Mais l'étape cytochrome P450 dépendante est nécessaire pour obtenir le dioxyde de carbone qui est alors éliminé, permettant ainsi la détoxification de l'organisme.

Le métabolisme complet du disulfure de carbone n'est pourtant pas encore totalement expliqué. On sait seulement que l'effet toxique n'est pas dose dépendant.

5.5 Détoxification de la caféine:effets de l'induction enzymatique.

5.5.1 Toxicité de la caféine (12)(29).

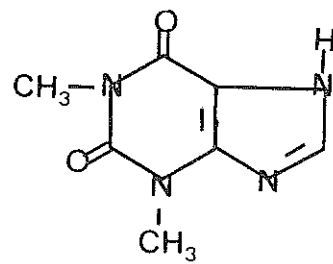
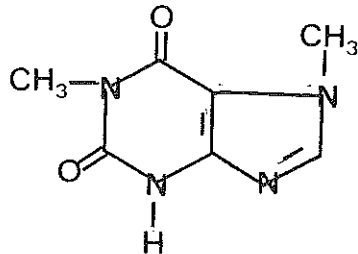
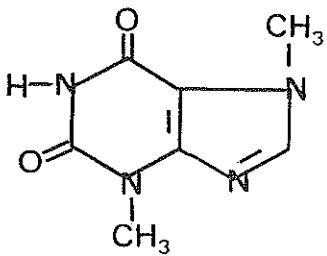
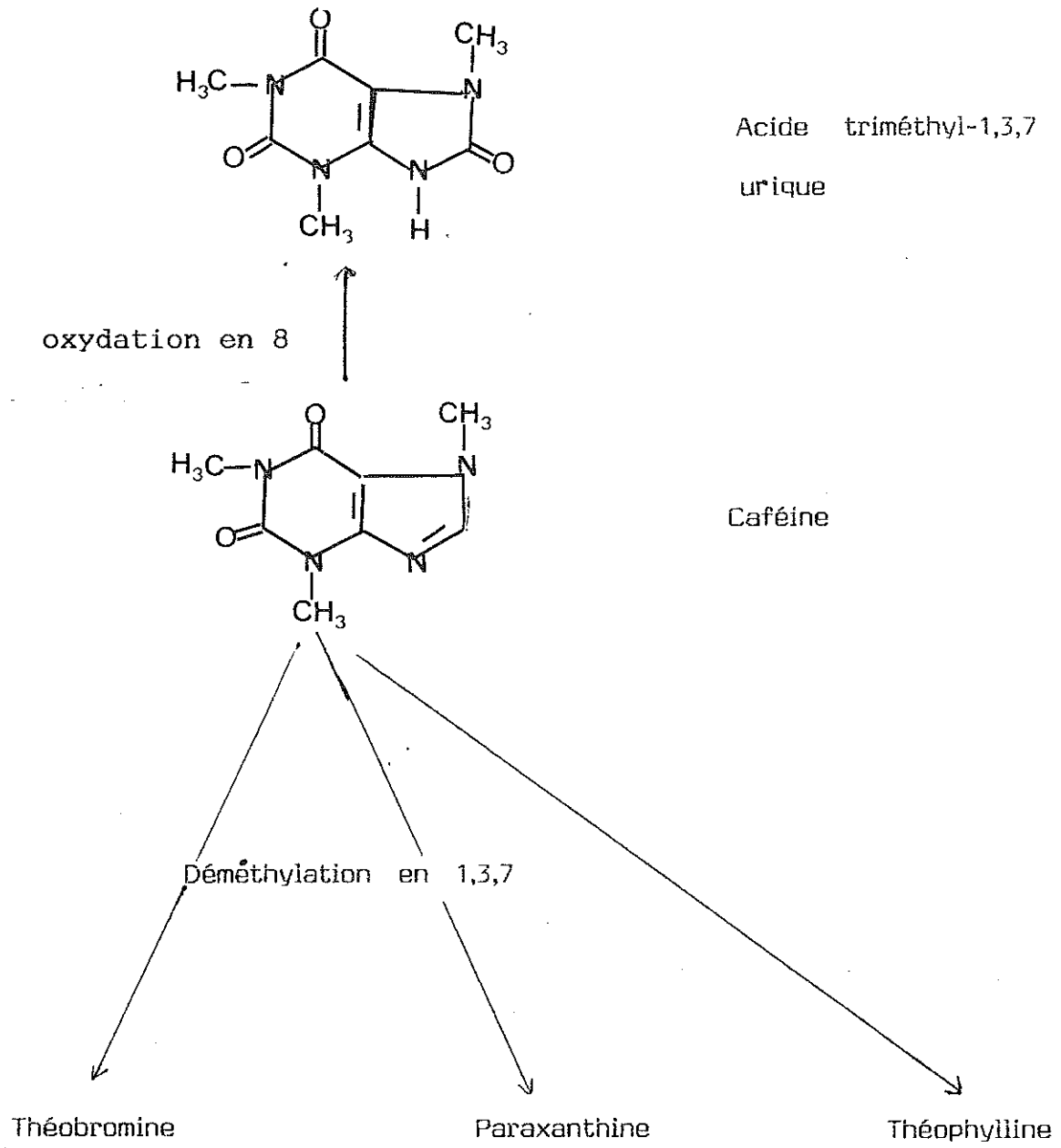
La caféine est toxique à haute dose.Elle entraîne une série de symptômes caractéristiques de l'intoxication aiguë. Le syndrome de l'intoxication aiguë comporte:

- des troubles neuropsychiques:céphalées,agitation maniaque,insomnie,anxiété,convulsions,vertiges.
- des nausées,des vomissements (centraux).
- des troubles sensoriels:éblouissements,tintements de cloches.
- une tachycardie,une hypertension artérielle,une hyperpnée.
- une polyurie entraînant une déshydratation importante accompagnée d'une soif profonde (symptôme de l'intoxication établie).

L'intoxication chronique est considérée comme une manie et donc traitée comme telle par sevrage.

5.5.2 Tératogénicité de la caféine (12)(29).

La caféine à haute dose est aussi tératogène.Elle entraîne chez le fœtus des malformations des membres (doigts manquants)et du palais (fentes palatines).



Métabolisme de la caféine : figure n°10.

Elle peut entraîner également des hématomes sous-cutanés à la face et aux extrémités.

Ces effets ont été mis en évidence chez la souris.

5.5.3 Métabolisme de la caféine (29).

Il est cytochrome P450 dépendant et consiste en une déméthylation ou en une oxydation (cf figure n°10).

Ce n'est pas un métabolite mais la caféine elle-même qui est toxique, car une métabolisation accélérée de la caféine s'accompagne d'une baisse concomitante de la toxicité. On a aussi montré que les dérivés déméthylés étaient inactifs.

5.5.4 Réduction de la tératogénicité par le β naphtoflavone (29).

5.5.4.1 Le β naphtoflavone et le récepteur Ah

Le β naphtoflavone est un hydrocarbure aromatique halogéné, inducteur de cytochrome P450. Il est du même type que le 3-méthylchlolanthrène (cf 3.5 classement des inducteurs).

L'influence du β naphtoflavone sur la tératogénicité de la caféine est étudiée sur des souris en gestation.

Elles ont un récepteur Ah (aromatic hydrocarbon) qui est une protéine soluble cytosolique ou nucléaire (cf induction:3.4 le mécanisme). Sur ce récepteur Ah viennent se fixer les inducteurs de type 3-méthylchlolanthrène que sont les hydrocarbures aromatiques polycycliques ou le β naphthoflavone. Ce récepteur Ah détermine deux phénotypes différents chez la souris. Il peut être défectueux, c'est à dire à faible affinité pour les inducteurs, il ne permet pas l'induction des enzymes du système cytochrome P450 microsomal, ceci chez la souris à phénotype "sensible" (cf 3.6.2 inductibilité de l'AHH et risque cancéreux). Ces souris à phénotype "sensible" ont donc un cytochrome P450 non inductible: c'est le cytochrome P₄450.

Ce récepteur Ah peut avoir une haute affinité, pour les inducteurs; il permet ainsi l'induction du système enzymatique microsomal cytochrome P450 dépendant et en particulier il permet la métabolisation des hydrocarbures polycycliques aromatiques (PAH_s) par l'aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH): dans ce cas les souris ont un phénotype "résistant".

C'est sur ces dernières que l'on étudie l'effet du β naphthoflavone sur la tératogénicité de la caféine.

5.5.4.2 Effets de l'induction par le β naphtoflavone.

Le β naphtoflavone induit le métabolisme cytochrome P450 dépendant de la caféine.

On donne des doses de 20 ou 80mg/kg de β naphtoflavone à des souris à phénotype "résistant", par voie intrapéritonéale, le 9ème et le 10ème jour de la gestation. Puis on donne aux souris des doses de 175mg/kg de caféine le 11ème et le 12ème jour de la gestation. La caféine seule est tératogène à cette dose. On sacrifie les souris le 18ème jour: l'étude du squelette et des tissus des embryons de souris ne décèle aucune anomalie.

Une expérience similaire, mais sans administration préalable de β naphtoflavone, entraîne la mort des souris ou des effets tératogènes sur les embryons.

Le β naphtoflavone a donc un rôle protecteur en accélérant le métabolisme, la détoxification de la caféine. Lewitt et ses collaborateurs (29) ont fait une expérience similaire en prenant le 3-méthylchlolanthrène, inducteur enzymatique de même type que le β naphtoflavone et en utilisant la théophylline, molécule de la même famille que la caféine mais ayant un groupement méthyle en moins (cf 5.5.3

métabolisme de la caféine). Ils sont arrivés aux mêmes conclusions: les inducteurs enzymatiques de type 3-méthyl-chlolanthrène ont un rôle favorable dans la métabolisation des xanthines telles la caféine, la théophylline, la théobromine. Toujours selon Lewitt, les huiles de céréales protégeraient les souris des convulsions induites par la caféine,

Shum et ses collaborateurs (29) supposent que le taux d'inductibilité des enzymes de métabolisation des drogues varie suivant l'époque de l'année.

Terada et Nishimura (29) ont expliqué que l'ingestion quotidienne et répétée de caféine peut induire une tolérance; on a donc une baisse des effets de la molécule et en particulier une baisse des effets tératogènes. Mais ceci n'est pas valable pour de très hautes doses de caféine; de plus ces effets tératogènes ne sont jamais complètement éliminés.

5.5.5 Conclusion.

De nombreuses recherches et hypothèses sont donc faites sur la caféine et ses effets toxiques et tératogènes.

Mais avec la caféine, on démontre pour la première fois que la toxicité d'une molécule métabolisée par un cytochro-

me P450 dépend du phénotype de l'individu visé: les souris à phénotype "résistant", c'est à dire ayant un récepteur Ah inductible, pourront, en présence d'un inducteur enzymatique, avoir une diminution des effets toxiques et tératogènes dus à la caféine par accélération du métabolisme détoxifiant.

Le cytochrome P450 dans la phase I de métabolisation de la caféine a non seulement un rôle facilitateur de la conjugaison et de l'élimination (phase II), mais il diminue aussi la toxicité de la caféine. Donc son action est doublement bénéfique.

Contrairement à d'autres molécules, le métabolisme de la caféine ne passe pas par une augmentation de toxicité.

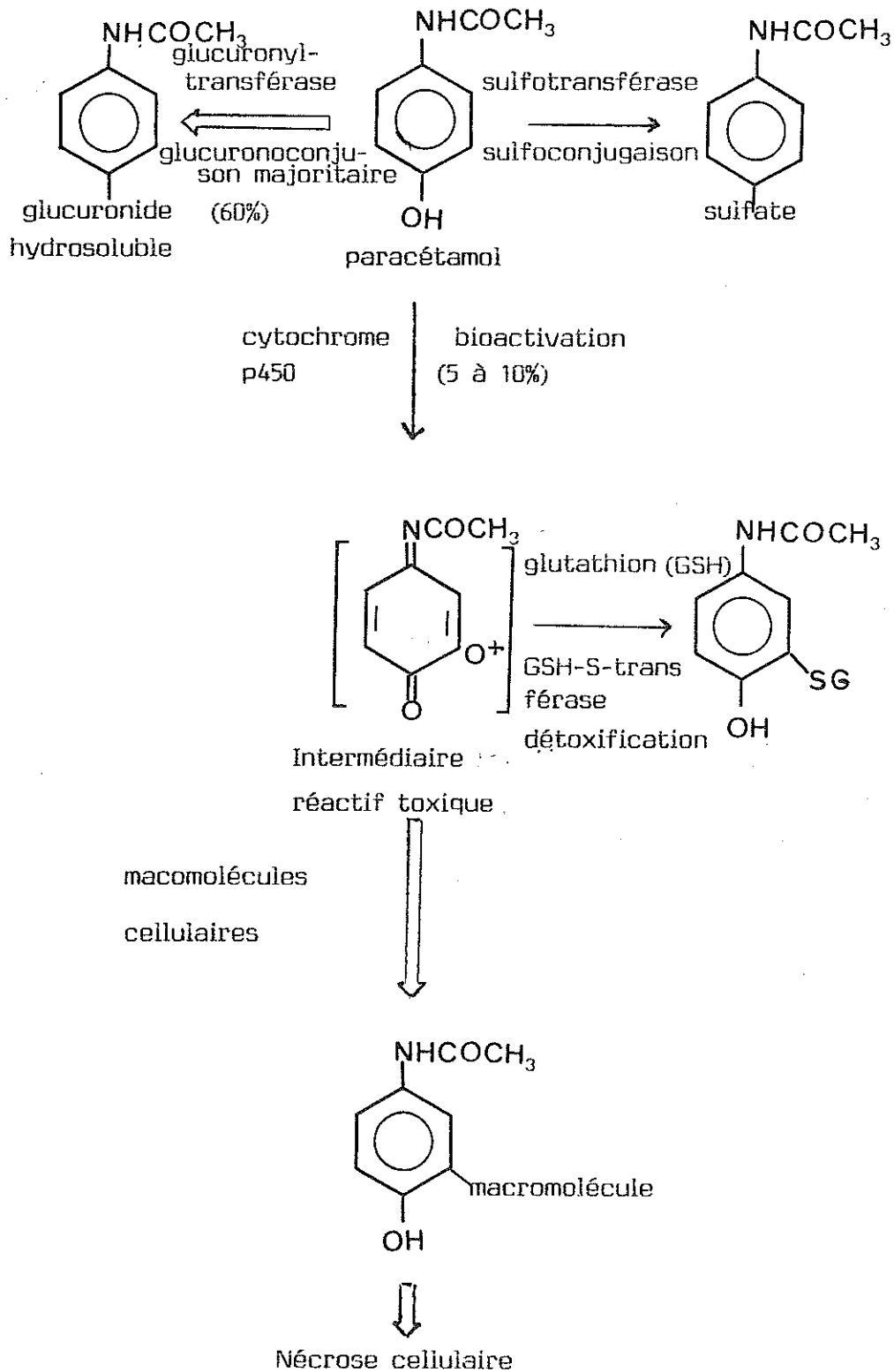
5.6 Détoxification du paracétamol (25)(26).

5.6.1 Métabolisme du paracétamol et mécanisme de l'hépatotoxicité.

L'acétaminophène ou N-acétyl-p-aminophénol ou paracétamol est un antipyrétique, antalgique largement utilisé (DAFALGAN*, DOLIPRANE*, EFFERALGAN*).

A haute dose, il peut causer des nécroses hépatiques ou des cytolyses hépatiques. Cette hépatotoxicité serait due à une bioactivation, catalysée par le cytochrome P450 d'une petite partie de l'acétaminophène (5 à 10%) en un toxique; on a alors un métabolite intermédiaire toxique et réactif, alors que 60% de l'acétaminophène est éliminé normalement (sans hépatotoxicité) par une voie de glucuronocouplage compétitive (cf figure n°44). La sulfoconjugaison ne représente qu'une faible partie.

Dans les conditions normales, l'intermédiaire toxique est éphémère, étant immédiatement détoxifié par une conjugaison enzymatique avec le glutathion réduit, hépatique (GSH), puis excrété sous forme de conjugué avec la cystéine ou avec l'N-acétylcystéine. L'hépatotoxicité n'a alors pas le temps de se produire, mais si le taux d'acétaminophène bioactivé est augmenté ou si la détoxification de l'intermédiaire réactif est réduite, alors le réactif intermédiaire



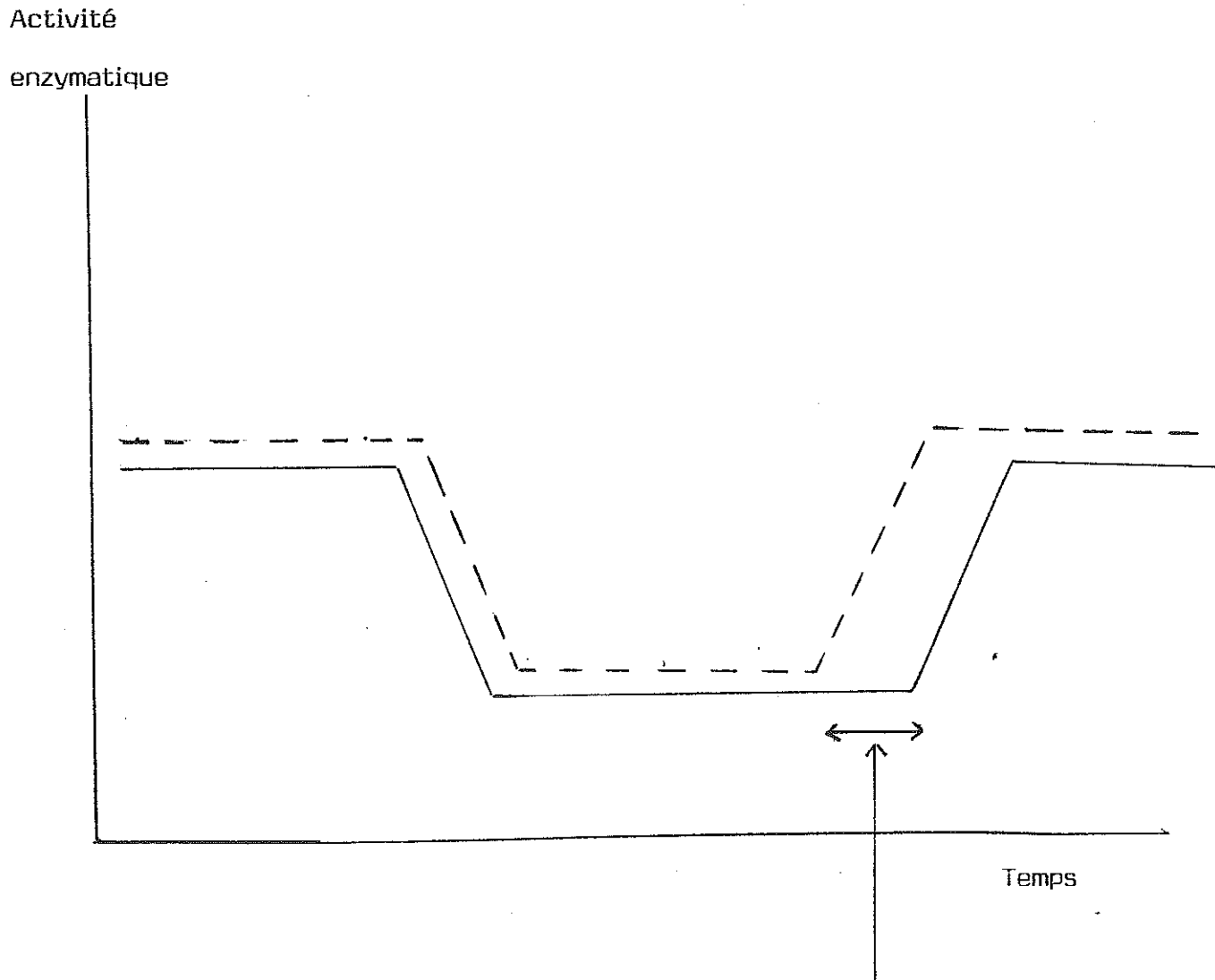
Les voies de métabolisation du paracétamol: figure n° 11

libre greffe des groupements aryls sur les macromolécules hépatiques provoquant le départ du processus de nécrose hépatocellulaire.

5.6.2 Potentialisation de l'hépatotoxicité par un inhibiteur: l'éther, mécanisme.

Le diéther est largement utilisé pour l'anesthésie des animaux de laboratoire. Un traitement préalable avec l'éther ou l'halothane (autre anesthésique) potentialise fortement l'hépatotoxicité du paracétamol donné ultérieurement (quelques heures après). L'éther peut initialement diminuer l'activité de la glucuroconjugaison non toxique (et de la voie mineure de sulfoconjugaison) et de la bioactivation par le cytochrome P450. Quand l'effet inhibiteur commence à se dissiper (au bout de 8 heures), seule la voie de bioactivation redevient totalement active. A ce moment là, on peut dire que l'hépatotoxicité du paracétamol est potentialisée par l'éther, mais seulement si l'acétaminophène est administré pendant cet intervalle de temps (le cytochrome P450 a retrouvé son activité et la glucuroconjugaison est toujours inhibée) (cf figure n°42).

Ainsi une faible réduction de la voie de glucuroconjugaison peut augmenter de façon importante la voie de bioactivation toxique qui est quantitativement mineure mais



Intervalle de temps où
l'administration d'acétaminophène
entraîne une hépatotoxicité
potentialisée par l'ether

- Bioactivation toxique du paracétamol par le cytochrome P450
- Détoxification du paracétamol par la glucuronyltransférase

Hypothèse biochimique de potentialisation de l'hépatotoxicité de l'acétaminophène par l'éther: figure n°12

critique du point de vue toxicologique.

La réduction, 8 heures après l'introduction de l'éther, de l'activité in vitro de la glutathion-S-transférase ainsi que la diminution du contenu hépatique en glutathion (GSH) suggère que des mécanismes additionnels pourraient contribuer à potentialiser l'hépatotoxicité du paracétamol par l'éther: il pourrait s'agir d'une déplétion des réserves intracellulaires de glutathion (GSH) qui aboutirait à un affaiblissement de la détoxification de l'intermédiaire toxique dont la proportion est déjà augmentée par rapport à la normale.

Ces expériences ont été faites sur des souris mâles, *in vivo* et *in vitro*: on a mesuré l'activité in vitro des enzymes d'élimination, de bioactivation et de détoxification. On a mesuré in vivo, la concentration des produits de dégradation, dans le sang et les urines, de l'acétaminophène par chromatographie liquide haute performance (HPLC). On a mis en évidence, in vivo, les liaisons covalentes entre les macromolécules hépatiques et l'acétaminophène marqué par un isotope radioactif.

5.6.3 Conclusion.

Le cytochrome P450 catalyse une bioactivation toxique et il a ici un rôle néfaste.

Il y a une faible baisse du contenu hépatique en cytochrome P450 lorsque l'éther inhibe les voies de conjugaison et de la bioactivation du paracétamol; inversement, la concentration en cytochrome P450 augmente lorsque la voie de bioactivation fonctionne et lorsque la voie de conjugaison est encore inhibée.

Le cytochrome P450 est en effet nécessaire à l'activation métabolique, ce qui explique son augmentation au niveau hépatique (la synthèse hépatique est activée).

On a donc des variations quantitatives de cytochrome P450 dans le temps, mais il n'y a pas de variations dans l'activité enzymatique du cytochrome P450; or on a vu qu'il y avait une variation de la bioactivation cytochrome P450 dépendante dans le temps qui devrait logiquement s'accompagner d'une variation d'activité du cytochrome P450.

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce phénomène: il existe plusieurs isoenzymes du cytochrome P450 et l'activité que l'on mesure est globale; elle ne reflète donc pas l'activité de telle ou telle isoenzyme.

L'isoenzyme de la bioactivation métabolique du paracé-

tamol peut ainsi avoir une activité nulle alors qu'une autre isoenzyme responsable d'une autre métabolisation hépatique cytochrome P450 dépendante peut avoir une activité normale, tout cela n'entraînant aucune variation de l'activité enzymatique globale.

Une autre hypothèse est que l'activité du cytochrome P450 n'est pas limitante pour l'effet toxicologique, c'est à dire qu'une activité donnée, fixe peut moduler des réponses toxicologiques différentes si un autre facteur, qui lui est limitant, varie.

On peut ainsi avoir une variation de la bioactivation toxique et du taux d'intermédiaire toxique sans qu'il y ait variation de l'activité du cytochrome P450.

VI CONCLUSION

Les cytochromes P450 sont les oxydants les plus puissants de l'organisme. Ils participent au métabolisme de détoxification des xénobiotiques hydrophobes en les rendant plus hydrosolubles.

Paradoxalement les cytochromes P450 entraînent souvent une augmentation temporaire de la toxicité des xénobiotiques, particulièrement pour les hydrocarbures polycycliques, les pesticides et certains médicaments.

Cette étape cytochrome P450 dépendante est néanmoins nécessaire, mais elle peut être modulée par le phénomène important de l'induction, les inducteurs étant souvent ces mêmes hydrocarbures polycycliques ou ces pesticides.

Ainsi dans l'avenir il sera important de connaître l'environnement chimique dans lequel vivent les individus, pour suivre l'orientation que prendront leurs métabolismes cytochromes P450 dépendants, une fois qu'ils sont induits par tel ou tel xénobiotique.

Comme le dit Conney A.H (5) il y aura peut-être des médecins spécialistes du cytochrome P450, qui détermineraient pour chaque patient, selon l'environnement chimique où il vit, les isoenzymes de cytochromes P450 à induire pour une meilleure détoxification des xénobiotiques;

Peut-être pourrons nous aussi débarrasser l'organisme de molécules endogènes telles que le cholestérol en induisant une isoenzyme spécifique.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ADESNICK M., BAR NUM S., MASHIO F., ZUNICH M., LIPPMANN A. and BARD E.

Mechanism of induction of cytochrome P450 by phenobarbital.

J.Biol.Chem., 1981 , 256 , pp.10340-10345.

- 2 - BARON J., REDICK S.A. and GUENGERICH F.P.

Effects of 3- methylchlolanthrene, β Naphtoflavone and phenobarbital on the 3-methylchlolanthrene inducible isoenzyme of cytochrome P450 within centrilobular, mid zonal and peritoneal hepatocytes.

J.Biol.Chem., 1982 , 257 , pp.953-960.

- 3 - BICKERS Dr., DAS M. and MUKTAR M.

Pharmacological modification of epidermal detoxification systems.

Br.J.Of Derm., 1986 , 115 , suppl.n°31 , pp.9-16.

- 4 - BRECHE J.P.

Développement de dosages immunoenzymatiques utiles au suivi thérapeutique et à l'étude du métabolisme des médicaments.

Thèse bioch. pharmacol., NancyI , 1989 , n°2 , pp.162.

5 - CONNEY A.H.

Induction of microsomal cytochrome P450 enzymes.

Life science , 1986 , 39 , n°26 , pp.2493-2518.

6 - DENISON M.S. and WILKINSON C.F.

Identification of the Ah receptor in selected mammalian species and induction of aryl hydrocarbon hydroxylase.

Eur.J.Biochem., 1985 , 147 , pp.429-435.

7 - FOURNIER A.

L'induction des monooxygénases à cytochrome P450 par les agents chimiques.

Thèse Pharm., NANCY , 1984 , n°2 , pp.141.

8 - GURTOO H.L., KOSER P.C. and BANSAL S.K.

Inhibition of aflatoxine β 1-Hepatocarcinogenesis in rats by Naphtoflavone.

Carcinogenesis , 1985 , 6 , n°5 , pp.675-678.

9 - HUJAR SOU HAILI E.A., FARGETTON X., TOTIS M. and BATT A.M.

Inducing effect of Albendazole on rat liver drug metabolizing enzymes and metabolites pharmacocinetics.

Toxicology and applied pharmacology , 1988 , 92 , pp.141-149.

- 10 - HUI BON HOA G., CARMELO D.P. and GEZE H.
The formation of cytochrome P450 from cytochrome P420
is promoted by spermine.
Biochemistry , 1990 , 29 , pp.6810-6815.
- 11 - HUTSON D.H. and LOGAN C.S.
Detoxification of the organophosphorus insecticide
chlorfenvinphos by rat; rabbit and human liver enzymes.
Xenobiotica , 1986 , 16 , n°1 , pp.87-93.
- 12 - LAROUSSE MEDICAL.
1982.
- 13 - LAZARD D. , TAL N. and MENOCEM R.
Identification and biochemical analysis of novel olfac-
tory-specific cytochrome P450 IIA and UDP- glucuronyl-
transferase.
Biochemistry , 1990 , 29 , pp.7433-7440.
- 14 - MAGDALOU S., TOTIS M., BOITEUX ANTOINE A.F., FOURNEL
GICLEUX S. and SIEST G.
Effect of i-Benzylimidazole on cytochromes P450 induc-
tion and on the activities of epoxydes hydroxylases
and UDP-glucuronyltransferases in rat liver.
Bioch. pharmacol. , 1988 , 37 , n°17 , pp.3297-3304.

- 15 - OKEY A.B., ROBERTS E.A., HARPER P.A. and DENISON M.S.
Induction of drug-metabolizing enzymes: mechanism and
conséquences.
Clinical biochemistry , 1986 , 19 , pp.132-141.
- 16 - ORTIZ DE MONTELLANO P.
Cytochrome P450: structure, mechanism and biochemistry.
New York , 1986 , pp.556 , 24cm.
- 17 - PHAM M.A., MAGDALOU J., FOURNEL GICLEUX S., SIEST G.
and HAMMOCK B.D.
Characterisation of distincts forms of cytochromes
P450, epoxyde metabolizing enzymes and UDP glucuronyl-
transferases in rat skin.
Bioch. Pharmacol., 1989 , 38 , pp.2187-2194.
- 18 - RODDE D. -
Il était un foie et des médicaments.
Moniteur des pharmacies , 1988 , n°2 , pp.24-32.
- 19 - ROLIN S., SOUHAILI EL AMRI H., BATT A.M., LEVY M.,
BAGREL D and SIEST G.
Study of the in vitro bioactivation of albendazole in
human liver microsomes and hepatoma cell lines.
Cell.Biol.Toxicol., 1989 , 5 , pp.1-14.

- 20 - RUBIN R.S. and KROLL R.

Further evidence for a role of isosymes of P450 in the metabolism and toxicity of carbon disulfure (CS₂).
Advances in experimental medecin and biology , 1986 ,
197 , pp.237-242.

- 21 - SIEST G., BATT A.M., FOURNEL GICLEUX S., GALTEAU M.,
WELMAN BEDNAWSKA M., MINN A. and AMAR COSTESECC A.

Induction of plasma and tissue enzyme by drugs:signi-
ficance in toxicological studies.

Xenobiotica , 1988 , 18 , pp.21-34.

- 22 - SILINSKAS K.C and OKEY A.B.

Protection by 1,1,1-trichloro-2,2 bis(p-chlorophenyl-
ethane)(DDT)against mammary tumors and leukemia
during prolonged feeding of 7,12-dimethylbenz(a)anthra-
cene to female rats.

J.Natl.Cancer Inst., 1975 , 55 , pp.653-657.

- 23 - SMITH L.L, COHEN G.H. and ALDRIDGE W.N.

Morphological an biochemical correlates of chemical
induced injury in the lung.

Archives of Toxicology , 1986 , 58 , n°4 , pp.214-
218.

24 - TOTIS M.

Approches enzymatiques et immunologiques de la prévision de l'induction des enzymes du métabolisme des médicaments.

Thèse bioch. pharmacol., Nancy I , 1989 , n°13 , pp.160.

25 - Dictionnaire VIDAL.

1990 , 66ème édition.

26 - WELLS P.G.

Effects of diethyl ether on the bioactivation, detoxification and hepatotoxicity of acetaminophen in vitro and in vivo.

Advances in experimental medicine and biology , 1986 , 197 , pp.707-715.

27 - WICKRAMASINGHE S.N.

Evidence of drug metabolism by macrophages.

Clinical and laboratory haematology , 1987 , 9 , n°3 , pp.271-280.

28 - YASOSHIMA M. and MASUDA Y.

Effect of anticholinesterase action of several organophosphorus insecticides in mice.

Toxicology letters , 1986 , 32 , n°3 , pp179-184.

29 - YORK R.G., RANDALL S.L. and SCOTT W.S.

Reduction of caffeine teratogenicity in mice by inducing maternal drug metabolism with β Naphtoflavone;
Teratology , 1985 , 31 , n°2 , pp.217-225.

30 - ZAIDI S.S and BANERSEE B.D.

Enzymatic detoxification of dichlorodiphenyltrichloroethane to dichlorodiphenyldichloroethane.
Bull. of environmental contamination and toxicology,
1987 , 38 , n°3 , pp.449-455.

TABLE DES MATIERES

I	INTRODUCTION.....	p.14
II	GENERALITES SUR LE CYTO- CHROME P450.....	p.17
2.1	Définition du cytochrome P450 et rappels sur les systèmes de métabolisation.....	p.18
2.1.1	La phase I.....	p.19
2.1.2	La phase II.....	p.20
2.2	Répartition du cytochrome P450.....	p.20
2.3	Structure du cytochrome P450.....	p.21
2.3.1	L'hème.....	p.21
2.3.2	La protéine.....	p.21
2.4	Mode d'action du cytochrome P450 dans un système plurienzymatique d'oxydation à monooxygénase.....	p.23
2.5	Classement des cytochromes P450.....	p.26
III	L'INDUCTION.....	p.28
3.1	Introduction.....	p.29
3.2	Conditions d'études de l'induction enzyma- tique.....	p.30
3.3	Induction enzymatique: bénéfique ou non?.....	p.32
3.3.1	Efficacité altérée des agents thérapeutiques.....	p.32

3.3.2	Action de l'induction sur la toxicité des drogues et des molécules chimiques de l'environnement.....	p. 33
3.4	Mécanisme de l'induction des enzymes métabolisant les drogues.....	p. 35
3.5	Classement des inducteurs du cytochrome P450..	p.38
3.6	Exemples d'induction enzymatique.....	p. 40
3.6.1	Hépatotoxicité de l'acétaminophène (paracétamol) et du bromobenzène.....	p. 40
3.6.2	Inductibilité de l'aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH) et risque cancérigène.....	p. 42
3.6.2.1	Chez la souris.....	p. 42
3.6.2.2	Chez l'homme.....	p. 47
3.6.3	Aflatoxine β 1 et hépatocarcinôme.....	p. 49
3.6.4	Un exemple utilisé en thérapeutique....	p. 49
3.7	Conclusion et perspectives.....	p. 50

IV LE CYTOCHROME P450 DANS DIFFERENTS ORGANES.....

4.1	Le cytochrome P450 cutané.....	p.55
4.1.1	Le cytochrome P450 épidermique:son rôle...p.	55
4.1.2	Mécanisme de l'activation métabolique cancérigène par l'aryl hydrocarbon hydroxylase et le cytochrome P450 épidermique.....	p.56

4.1.3	Approche de la prévention des tumeurs cutanées malignes à l'aide d'anticarcinogènes..	p.58
4.1.3.1	Les dérivés phénoliques.....	p. 58
4.1.3.1.1	Les acides férulique ,chlorogénique,cafféique et ellagique.....	p. 58
4.1.3.1.2	Les flavonoïdes.....	p. 60
4.1.3.1.3	Conclusion.....	p. 61
4.1.3.2	Les dérivés imidazolés.....	p. 65
4.1.4	Conclusion.....	p. 67
4.2	Le cytochrome P450 au poumon.....	p. 69
4.2.1	Evaluation et causes du risque toxique pulmonaire.....	p. 69
4.2.2	Bioactivation des molécules chimiques..	p. 70
4.2.3	Classement de quelques molécules chimiques causant des pathologies pulmonaires...	p. 72
4.2.3.1	Molécules actives sur les cellules de l'épithélium alvéolaire.....	p. 72
4.2.3.2	Molécules actives sur les cellules de l'endothélium pulmonaire.....	p. 72
4.2.3.3	Molécules actives sur les cellules non ciliées de l'épithélium des bronchioles (cellules CLARA)..	p. 73

4.2.4	Conclusion et perspectives.....	p.73
4.3	Le cytochrome P450 des macrophages.....	p.73
4.3.1	Mise en évidence de la présence de cytochrome P450 dans les macrophages.....	p.75
4.3.2	Effets du cytochrome P450 des macrophages sur les molécules toxiques.....	p.75
4.3.3	Conclusion.....	p.77
4.4	Le cytochrome P450 au cerveau.....	p.79
4.4.1	Distribution subcellulaire.....	p.79
4.4.2	Distribution locorégionale.....	p.79
4.4.3	Conclusion.....	p.80

V RÔLE DU CYTOCHROME P450 DANS LA TOXICITÉ DE DIFFÉRENTES MOLECULES CHIMIQUES.....p.81

5.1	Détoxification du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT).....	p.82
5.1.1	Le DDT:présentation et toxicologie.....	p.82
5.1.2	Mécanisme d'action du DDT.....	p.83
5.1.3	Conditions optimales de détoxification (observé sur l'hépatocyte de rat).....	p.84
5.1.4	Action des inducteurs et des inhibiteurs de cytochrome P450.....	p.85

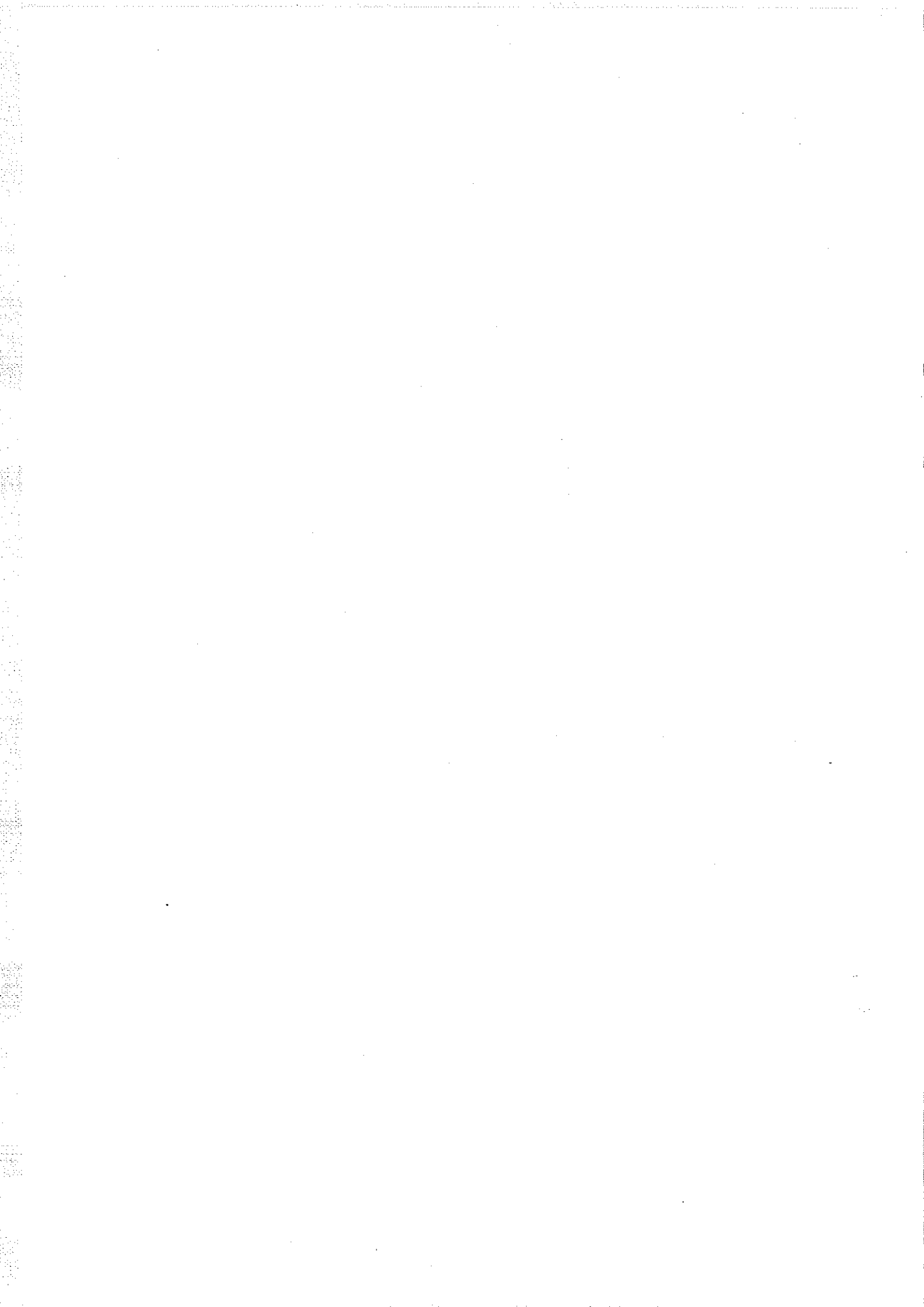
5.1.4.1	Les inducteurs in vivo.....	p.85
5.1.4.2	Les inhibiteurs in vivo.....	p.85
5.1.4.3	Les inhibiteurs in vitro.....	p.86
5.1.5	Conclusion.....	p.86
5.2	Détoxification des insecticides organophosphorés.....	p.88
5.2.1	Mode d'action et effets des insecticides organophosphorés.....	p.88
5.2.2	Action du disulfure de carbone.....	p.90
5.2.3	Exemple de détoxification d'un organophosphoré : le chlorfenvinphos.....	p.94
5.2.4	Conclusion.....	p.95
5.3	Détoxification de l'aflatoxine B ₁	p.96
5.3.1	Toxicité de l'aflatoxine B ₁	p.96
5.3.2	Métabolisme de l'aflatoxine B ₁	p.97
5.3.3	Effets bénéfiques des inducteurs enzymatiques.....	p.98
5.3.3.1	Le β naphthoflavone (hydrocarbure polycyclique aromatique).....	p.98
5.3.3.2	Le phénobarbital.....	p.100
5.3.3	Conclusion.....	p.101
5.4	Détoxification et hépatotoxicité du disulfure de carbone.....	p.103

5.4.1	Rôles du disulfure de carbone.....	p.103
5.4.2	Syndromes des intoxications aiguës et chroni- ques.....	p.103
5.4.2.1	L'intoxication aiguë	p.103
5.4.2.2	L'intoxication chronique.....	p.104
5.4.3	Mécanisme de détoxification du disulfure de carbone.....	p.104
5.4.4	Hépatotoxicité et induction enzymatique..	p.106
5.4.5	Conclusion.....	p.110
5.5	Détoxification de la caféine:effets de l'induc- tion enzymatique.....	p.111
5.5.1	Toxicité de la caféine.....	p.111
5.5.2	Tératogénicité de la caféine.....	p.111
5.5.3	Métabolisme de la caféine.....	p.113
5.5.4	Réduction de la tératogénicité par le β naphtoflavone.....	p.113
5.5.4.1	Le β naphtoflavone et le récep- teur Ah.....	p.113
5.5.4.2	Effets de l'induction par le β naphtoflavone.....	p.115
5.5.5	Conclusion.....	p.116
5.6	Détoxification du paracétamol.....	p.118
5.6.1	Métabolisme du paracétamol et mécanisme de l'hépatotoxicité.....	p.118

5.6.2 Potentialisation de l'hépatotoxicité par
un inhibiteur; l'éther, mécanisme.....p.120

5.6.3 Conclusion.....p.123

VI CONCLUSION.....p.125



PAULIAT (Thierry). – Cytochromes P450 : métabolisation de quelques xénobiotiques. – 143 f. ; ill. ; tab. ; 30 cm (Thèse : Pharm. ; Limoges ; 1990).

RESUME :

Les cytochromes P450 métabolisent les xénobiotiques hydrophobes pour faciliter leur élimination.

Mais paradoxalement ce métabolisme passe par une augmentation de toxicité temporaire.

Les phénomènes d'induction enzymatique viennent modifier ces métabolismes. Il est donc difficile de prévoir les conséquences d'une métabolisation par un cytochrome P450 si l'on ne connaît pas l'isoenzyme précise impliquée, le type précis de la molécule métabolisée, l'environnement chimique et le potentiel génétique de l'individu concerné.

MOTS CLÉS :

- Cytochrome P450
 - Détoxification
 - Drogues
-

JURY : Président : M. le Professeur J.L. BENEYTOUT
Juges : Mme A.M. DESMAISON, Maître de Conférences
M. L. MORELET, Pharmacien biologiste
