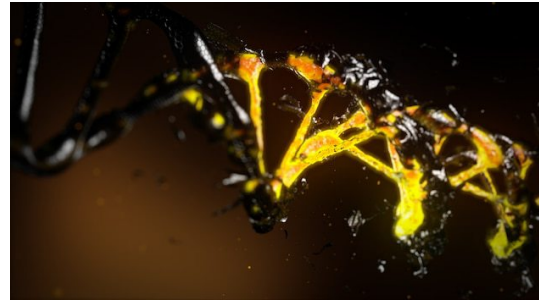


TD génotoxicologie

1.0



Dr Soraya Bendimerad

Maître Assistante Classe B

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

FACULTE SNV/STU

UNIVERSITE ABOU BAKER BELKAID TLEMCEN

TD GENOTOXICOLOGIE/L3 GENETIQUE

sorayabenmokhtar@yahoo.fr

Table des matières



Objectifs	3
I - chapitre1. TD1 Notions sur la toxicologie	4
1. NOTIONS SUR LA TOXICOLOGIE	4
2. XÉNOBIOTIQUES	5
3. ÉVALUATION DE LA TOXICITÉ	6
3.1. TOXICITÉ AIGUË	6
3.2. TOXICITÉ SUBAIGUË	6
3.3. TOXICITÉ CHRONIQUE	6
3.4. TEST DE AMES	6
4. TOXICOCINETIQUE	7
4.1. 1.ABSORPTION	7
4.2. 2.DISTRIBUTION	7
4.3. 3.MÉTABOLISME (BIO-TRANSFORMATION)	7
4.4. 4- BIO-ACTIVATION	8
4.5. 5- FIXATION ET STOCKAGE	8
4.6. 6-ELIMINATION	8
5. TOXICO-DYNAMIQUE	8
6. exemples de composés génotxiques	8
II - Exercice :	10
III - Exercice	11
IV - Exercice	12
Solutions des exercices	14
Abréviations	17
Bibliographie	18
Crédits des ressources	19

Objectifs

- La génotoxicologie met en œuvre les interactions de l'ADN avec divers agents génotoxiques.
 - les lésions induites sur l'ADN.
 - les mécanismes de restaurations de l'intégrité du génome.
 - les notions de biosécurité au laboratoire

chapitre1. TD1 Notions sur la toxicologie



La toxicologie se préoccupe des effets indésirables de substances ou de facteurs environnementaux sur les organismes vivants et cible à caractériser les causes d'en concevoir la dangerosité, d'élucider les mécanismes toxiques et de développer des mesures de protection.

1. NOTIONS SUR LA TOXICOLOGIE

Histoire de la toxicologie

Étymologiquement, le terme toxicologie vient du grec et désigne Toxikon (poison) et logos (étude). Le domaine d'application dans la guérison date des périodes primitives.

À l'antiquité vers 1500 ans avant J.C de vieux documents de médecine égyptiens (Papyrus Ebers) mentionne l'effet toxique de (Crocus Sativus).

Socrate (470-399 avant J.C) a été condamné à boire (Conium maculatum) jusqu'à ce que mort s'ensuive.

L'homme est continuellement exposé aux substances toxiques exogènes (xénobiotiques) qui peuvent diffuser au niveau cutané, inhalées ou ingérées, il est aussi exposé à ses propres toxiques endogènes (stress oxydatif) dont la toxicité peut se manifester rapidement suscitant la létalité, l'altération irréversible ou réversible d'une activité métabolique.

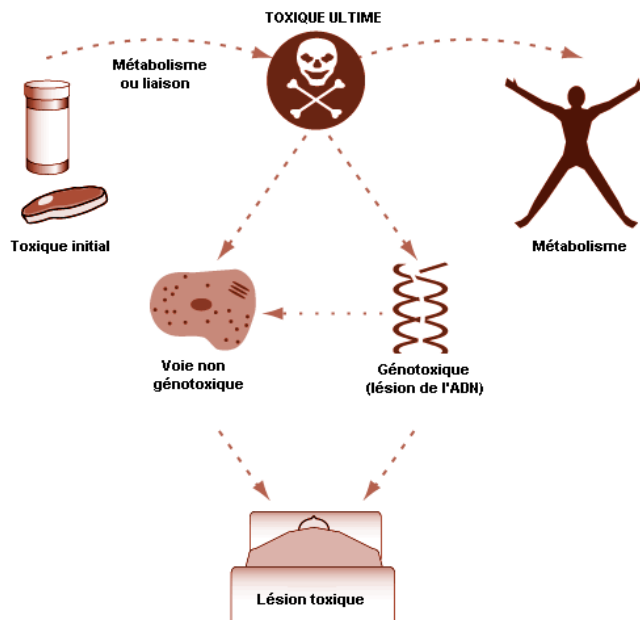


figure 1. exposition alimentaire aux produits génotoxiques

2. XÉNOBIOTIQUES

Remarque

Les xénobiotiques peuvent être de différentes origines, bactériens, végétaux, viraux, animaux

Regroupent des molécules naturelles ou synthétiques étrangères de toute molécule du métabolisme de l'organisme dont leur degré de toxicité dépend de la dose et de la durée d'exposition.

Cf. "xénobiotique et toxicocinétique"

3. ÉVALUATION DE LA TOXICITÉ

3.1. TOXICITÉ AIGUË

Attention

Généralement l'intoxication aiguë entraîne la destruction irréversible du carrefour du métabolisme qui est le foie.

Se manifeste par des symptômes cliniques qui apparaissent après une seule exposition et menant à la mort.

mesurée in vivo chez les animaux, elle correspond à la dose unique létale DL 50 qui entraîne la létalité de 50% des animaux expérimentaux dans un intervalle de 24 heures à 14 jours. 1*

3.2. TOXICITÉ SUBAIGUË

Remarque

Le dixième de vie pour les rats correspond à 90 jours et pour un homme centenaire est de 10 ans

Appelée aussi subchronique, la période d'exposition pouvant atteindre un dixième de la durée de vie moyenne et ceci par rapport à des doses répétées aux toxiques. Mesurée chez les animaux (rats expérimentaux) se focalise sur la reconnaissance des principaux sites et les mécanismes d'action du toxique. 1*

3.3. TOXICITÉ CHRONIQUE

Attention

La toxicité chronique peut engendrer des mutations transmissibles.

Exposition durant la vie entière au toxique. Les essais in vivo se font sur des animaux rats dont on administre des Cs de molécules commercialisées à grandes échelles et qui sont suspectes d'être mutagènes et cancérogènes.

Cs : concentration seuil à laquelle aucun effet toxique n'est attribué. 1*

3.4. TEST DE AMES

Conseil

Les tests in vitro se réalisent sur paillasse, les bactéries utilisées sont des salmonelles ou des bactéries coliformes

In vitro, les essais ciblent la capacité de composés chimiques à induire les mutations.

La mise en culture des souches particulières de bactéries, levures ...etc dans des milieux contenant le toxique et l'extrait du foie des rats afin d'élucider l'aspect génotoxique. 2*

4. TOXICOCINETIQUE

4.1. 1.ABSORPTION

Remarque

Chaque intoxication est précédée d'exposition au toxique

L'absorption du toxique^{3*}

- tube digestif : ingestion
- voies pulmonaires : inhalation
- voies cutanée : lésion de la couche cornée.

plus les toxiques sont liposolubles plus ils diffusent facilement à travers la bicouche phospholipidique

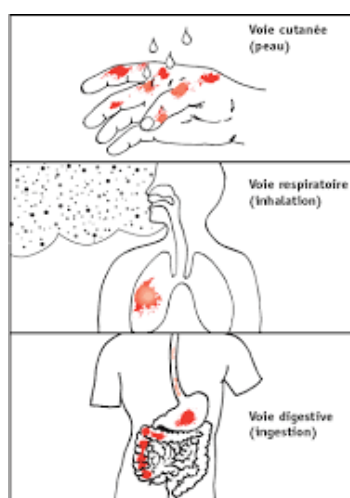


Figure 3. Les différentes voies d'exposition au toxique

4.2. 2.DISTRIBUTION

Dépend de l'affinité du toxique pour un organe.^{3*}

exemple :

- Le méthyl mercure lipophile diffuse la barrière hémato-encéphalique
- Les dérivés inorganiques du mercure se distribuent au niveau rénal.

4.3. 3.MÉTABOLISME (BIO-TRANSFORMATION)

S'effectue en 2 phases :^{4*}

PHASE 1 :

- Oxydation : au niveau du réticulum endoplasmique, mitochondrie via des enzymes cytochrome P450 oxydase, mono-oxydases....
- Réduction : au niveau des microsomes par des déshydrogénases
- Hydrolyse : coupure de liaison du toxiques.

PHASE 2 :(conjugaison)

- La conjugaison du toxique avec une métabolite endogène.
- Le conjugué devient plus hydrosoluble et plus facilement excrétable.

4.4. 4- BIO-ACTIVATION

Attention

On passe d'un toxique OFF a un toxique ON.

Après métabolisme certaines molécules stables peuvent se convertir en métabolites réactif qui se fixent ou se stockent dans des organes cibles suscitant les endommagements irréversibles.

4.5. 5- FIXATION ET STOCKAGE

Elle implique :

Liaison covalente (irréversible) : intoxication aiguë

Liaison non covalente (réversible) ; l'intoxication dépend de la posologie du toxique.

Le tissu adipeux est un site de stockage pour les métabolites lipophiles.

L'os est un site majeur du stockage pour le plomb et le fluor.

4.6. 6-ELIMINATION

Excrétion urinaire : après filtration rénale si le toxique a un coefficient de partition LIPIDE/EAU bas il s'élimine facilement

Excrétion biliaire : excrétion des dérivés conjugués fortement polaires(ionisés)

Exhalation pulmonaire :excrétion des gaz

Excrétion par les glandes : sébacées, sudoripares , salivaires, lacrymales,...

5. TOXICO-DYNAMIQUE

Remarque

La toxico-dynamique dépend du toxique et de la dose du toxique.^{5*}

Se manifeste par différents symptômes après métabolisme du xénobiotique.

Les vomissements, les tachycardies, bradycardies, les vertiges , les mydriases....

6. exemples de composés génotoxiques

Les composés amines aromatiques hétérocycliques qui apparaissent lors de préparation des grillades, rôtis, chauffage d'aliments riches en protéines, ils se transforment en N-acétoxyarylamine réactive qui réagit ensuite avec des centres nucléophiles de l'ADN et sont cancérigènes vis à vis du colon.^{6*}

L'aniline utilisé dans la fabrication des colorants, les biocides, les produits pharmaceutiques produit des métabolites génotoxiques responsables de cancer de la vessie.^{7*}

l'acide okadaïque(AO) augmente l'accessibilité à l'ADN par modification de la texture de chromatine via une hyper phosphorylation des H1 et H3. Ces effets sont plus souvent reliés à l'apoptose.^{8*}

le mercure(Hg), utilisé dans les produits électroniques, produits de lessive, les amalgames dentaires, antiseptiques. le Hg a comme organe cibles reins et le SNC ou les réactions avec les groupes sulfhydriles et les acides nucléiques(ADN,ARN) induisent une perturbation de la synthèse protéique, de structure membranaire et de la mort cellulaire.^{9*}

Exercice :



II

toxicologie

L'atropine est un composé azoté tertiaire est utilisé comme antidote lors des intoxications par le parathion (E605), il agit comme anticholinergique, broncholytique, agent antiparkinsonien et comme mydriatique. On signale une intoxication létale à partir d'une ingestion d'environ 100mg d'atropine soit 10 à 20 baies de belladone (chez l'adulte), et 3 à 5 baies chez l'enfant. La dose létale de 10-20mg/kg adulte et 1 à 10mg/kg enfant. Pour des doses de 0.5 à 1.0 mg on observe une légère bradycardie, une sécheresse endobuccale, et cutané, une dilatation minimale des pupilles. A partir de 5mg les signes s'aggrave-t-on assistent ainsi à une tachycardie, une mydriase, hyperthermie, un péristaltisme intestinale, des céphalées.....la mort survient à la suite d'une dépression respiratoire.

Question

[solution n°1 p.14]

1. Que pourriez-vous déduire de L'intervalle de la DL50 de l'atropine.
2. Que signifie CS et LOEL.
3. Qu'elles sont les sites de bio-transformation des xénobiotiques ?

Exercice



La dose létale 50 (ou DL50) aussi appelée concentration létale 50 (CL50) est un indicateur de la toxicité d'une substance chimique. Cet indicateur donne la concentration à laquelle la substance testée tue à plus ou moins court terme 50% de la population animale testée. Si cet indicateur n'est pas directement extrapolable à l'Homme, il permet d'avoir néanmoins une bonne idée de la toxicité d'une substance chimique. Quelques exemples :

- 1- relever du tableau les substances hautement toxiques ? Justifier
- 2- A quelle masse correspond la DL50 du paracétamol et de l'amatoxine pour un homme de 72 kg ?
- 3- Déterminer la masse de nicotine m_0 que représente la DL50 pour une personne de masse 60 kg.
- 4-Déterminer la masse de caféine m_0 que représente la DL50 pour une personne de masse 75 kg.
- 5-Déterminer la concentration en masse t_0 en caféine d'une solution de volume $V_0 = 250\text{mL}$ contenant cette masse m_0 de caféine.
- 6- La concentration en masse en caféine dans une canette de boisson énergisante de volume $V_B = 250\text{mL}$ est $t_B = 0,32 \text{ g/L}$. Combien de canettes de cette boisson faudrait-il boire pour absorber la masse m_0 de caféine ?

poisons	concentrations
paracetamol	150mg/kg
toxine botulique	0,00003 $\mu\text{g}/\text{kg}$
colchicine	0,26mg/kg
ricin	0,02 $\mu\text{g}/\text{kg}$
toxine du tetanos	0,0001 $\mu\text{g}/\text{kg}$
nicotine	1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$
chlorure de sodium	3g/kg
amatoxine	0,0013mg/kg
cafeine	192mg/kg
A-solanine	42mg/kg

tableau 1

Exercice



IV

Exercice : La DL50

A quoi correspond la DL50

- Dose létale suscitant la mort de 50% de rats expérimentaux pendant une durée de temps prolongée
- dose létale induisant la mort de 50% d'animaux expérimentaux dans un intervalle [24-14]jours
- concentration qui provoque la toxicité chronique
- la dose qui permet la mort de tout les animaux

Exercice : La bio-transformation

La bio-transformation correspond a :

- La bio-activation
- le métabolisme
- se fait sans enzymes
- n'a pas besoin d'ATP

Exercice : excrétion

les métabolites excrétées par voie urinaire sont :

- lipophile
- hydrophile

Exercice : toxique

Les toxiques ont tous des antidotes

- oui
- non

Exercice : exposition aux toxiques

la toxicité est

- dose dependante

- ne dépend pas du temps d'exposition
- peut être aiguë, subaiguë, chronique
- la concentration seuil du toxique provoque des altérations métaboliques irréversibles

Exercice : LA TOXICODYNAMIQUE

La toxicodynamique :

- se déroule en 2 étapes
- correspond aux différents signes cliniques qui apparaissent après digestion ou inhalation du toxique
- renseigne sur le type d'intoxication
- correspond au métabolisme du toxique

Exercice : LOEL

LOEL

- La concentration plus élevée qui génère une toxicité
- Low Observed Effect letal
- La concentration basse générant un effet létal
- La concentration qui provoque un effet toxique

Exercice

Le métabolisme des xénobiotiques se fait dans [] via deux étapes dont la première est appelée [] et la deuxième [] . Le métabolite issu du métabolisme peut être [] .

Solutions des exercices



> Solution n°1

Exercice p. 10

1. La DL50 dépend de l'âge du poids, de la disparité sexuelle, polymorphisme.
2. Cs concentration seuil
2. LOEL : low observed effet letal
3. Réticulum endoplasmique, mitochondrie

> Solution n°2

Exercice p. 11

La dose létale 50 (ou DL50) aussi appelée concentration létale 50 (CL50) est un indicateur de la toxicité d'une substance chimique. Cet indicateur donne la concentration à laquelle la substance testée tue à plus ou moins court terme 50% de la population animale testée. Si cet indicateur n'est pas directement extrapolable à l'Homme, il permet d'avoir néanmoins une bonne idée de la toxicité d'une substance chimique. Quelques exemples :

- 1- relever du tableau les substances hautement toxiques ? Justifier
- 2- A quelle masse correspond la DL50 du paracétamol et de l'amatoxine pour un homme de 72 kg ?
- 3- Déterminer la masse de nicotine m_0 que représente la DL50 pour une personne de masse 60 kg.
- 4- Déterminer la masse de caféine m_0 que représente la DL50 pour une personne de masse 75 kg.
- 5- Déterminer la concentration en masse t_0 en caféine d'une solution de volume $V_0 = 250\text{mL}$ contenant cette masse m_0 de caféine.
- 6- La concentration en masse en caféine dans une canette de boisson énergisante de volume $V_B = 250\text{mL}$ est $t_B = 0,32 \text{ g/L}$. Combien de canettes de cette boisson faudrait-il boire pour absorber la masse m_0 de caféine ?

poisons	concentrations
paracetamol	150mg/kg
toxine botulique	0,00003 $\mu\text{g}/\text{kg}$
colchicine	0,26mg/kg
ricin	0,02 $\mu\text{g}/\text{kg}$
toxine du tetanos	0,0001 $\mu\text{g}/\text{kg}$
nicotine	1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$
chlorure de sodium	3g/kg
amatoxine	0,0013mg/kg
cafeine	192mg/kg
A-solanine	42mg/kg

tableau 1

1)240g, 2) 11.5g, 3)46 g/l, 4)0.08g,5) 144 cannettes

> **Solution n°3**

Exercice p. 12

Exercice : La DL50

A quoi correspond la DL50

- Dose létale suscitant la mort de 50% de rats expérimentaux pendant une durée de temps prolongée
- dose létale induisant la mort de 50% d'animaux expérimentaux dans un intervalle [24-14]jours
- concentration qui provoque la toxicité chronique
- la dose qui permet la mort de tout les animaux

Exercice : La bio-transformation

La bio-transformation correspond a :

- La bio-activation
- le métabolisme
- se fait sans enzymes
- n'a pas besoin d'ATP

Exercice : excrétion

les métabolites excrétées par voie urinaire sont :

- lipophile
- hydrophile

Exercice : toxique

Les toxiques ont tous des antidotes

- oui
- non

Exercice : exposition aux toxiques

la toxicité est

- dose dependante
- ne dépend pas du temps d'exposition
- peut être aiguë, subaiguë, chronique

- la concentration seuil du toxique provoque des altérations métaboliques irréversibles

Exercice : LA TOXICODYNAMIQUE

La toxicodynamique :

- se déroule en 2 étapes
- correspond aux différents signes cliniques qui apparaissent après digestion ou inhalation du toxique
- renseigne sur le type d'intoxication
- correspond au métabolisme du toxique

Exercice : LOEL

LOEL

- La concentration plus élevée qui génère une toxicité
- Low Observed Effect letal
- La concentration basse générant un effet léthal
- La concentration qui provoque un effet toxique

Exercice

Le métabolisme des xénobiotiques se fait dans le foie via deux étapes dont la première est appelée dégradation et la deuxième conjugaison. Le métabolite issu du métabolisme peut être plus actif.

Abréviations

ADN : Acide Desoxyribonucléique

ARN : Acide Ribo nucleique

BER : Base Excision REPAIR

Cs : Concentration seuil

DL50 : Dose Létale 50

DSB : Double Standard Break

LOEL : Low Observed Effect Létal

MMR : Methyl Mismatch Repair

NER : Nucleotid Excision Repair

NOEL : Non Observed Effect Létal

UV : Ultrat Violet

Bibliographie



Michel Schorderet et collaborateurs(1989) Toxicologie principes de base et récupération cliniques.p34-35

Riedl T, Hanaoka, F, Egly J.-M (2003). The comings and goings of nucleotide excision repair factors on damaged DNA. EMBO J. 22, 5293–5303.

Vilenchik M. M et Knudson A. G(2003). Endogenous DNA double-strand breaks: Production, fidelity of repair, and induction of cancer. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 100, 12871–12876.

Boland C. R et Goel A (2010). Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. Gastroenterology 138, 2073-2087.e3

lehniger principes de biochimie(1989). chapitre30 p913-944

guide pratique de toxicologie(2004)méthodologique des tests. p22

Rozman K, Klaassen CD(1996) Absorption, distribution and excretion of toxicants dans CD Klassen (rédacteur) casarett and Doull's Toxicology, the basis science of poisons, 5^e Edition. Mc Graw-Hill, New York p50-87.

Cadet J et Wagner J. R (2013). DNA base damage by reactive oxygen species, oxidizing agents, and UV radiation. Cold Spring Harb. Perspect. Biol 5.

Brodeur J et Tardif F(1998) Excretion dans wexler Encyclopedia of toxicologie.V2p 585-588. Academic Press, San Diego.

guide pratique de toxicologie(2004)Fondement de la toxicologie. p08-11

guide pratique de toxicologie(2004). p126

guide pratique de toxicologie(2004). composés aromatiques et nitrés. p124-125

Yatouji S, Liautaud-Rger F, Dufer J(2000). Nuclear chromatin texture and sensitivity to DNase I in human leukemic CEM cells incubated with nanomolar okadaic acid.Cell Prolif.33(1),51-62.

guide pratique de toxicologie(2004)métaux p170-171

Crédits des ressources



figure 1. exposition alimentaire aux produits génotoxiques p. 4
<http://creativecommons.org/licenses/publicdomain/1.0/fr/>

