



Bases moléculaires de la susceptibilité aux xénobiotiques : aspects métaboliques

**Philippe H. Beaune
Marie-Anne Lorient**

P.H. Beaune, M.-A. Lorient: Inserm U. 490, Laboratoire de toxicologie moléculaire, Université René-Descartes, Centre universitaire des Saints-Pères, 45, rue des Saints-Pères, 75270 Paris Cedex 06, France.

► La susceptibilité individuelle aux xénobiotiques (polluants, médicaments, composés alimentaires...) auxquels nous sommes nécessairement exposés, dépend, entre autres, de leur métabolisme et donc de l'expression des enzymes du métabolisme des xénobiotiques. Pour chacun d'entre nous, cette expression est très variable en fonction de facteurs génétiques, environnementaux et physiopathologiques, rendant compte ainsi de la grande diversité de la réponse pharmacologique ou toxique. ◀

Dans cette revue, nous n'évoquerons que les aspects métaboliques de la susceptibilité aux xénobiotiques, et la variabilité d'éventuelles cibles, bien qu'importante, ne sera pas abordée ici. D'autres articles de ce numéro décrivent ces aspects.

Les xénobiotiques et leur métabolisme

Les xénobiotiques sont des molécules de faible masse moléculaire étrangères à l'organisme. Il s'agit par exemple des médicaments, des polluants de l'eau ou de l'atmosphère, des additifs alimentaires mais également de certains composés naturels des aliments. Les êtres vivants sont donc obligatoirement exposés à ces composés et doivent être capables de faire face à certaines de leurs propriétés potentiellement délétères, telles que l'hydrophobie, qui ne permet pas

leur élimination de l'organisme ou leur réactivité chimique avec certains constituants cellulaires. Compte tenu de la grande diversité et de la nature imprévisible de la structure chimique de ces xénobiotiques, les êtres vivants doivent disposer d'un arsenal diversifié d'enzymes (et d'isoenzymes) pouvant effectuer un large spectre de réactions chimiques sur des substrats ayant des structures très diverses. Ces enzymes du métabolisme des xénobiotiques (EMX) ont été classés selon le schéma de la *figure 1*. Les xénobiotiques pénètrent facilement dans la cellule s'ils sont hydrophobes, mais ils peuvent également en être expulsés via des pompes telles la Pgp (P-glycoprotéine), produit du gène *mdr* (*multi drug resistance*). Les xénobiotiques sont alors pris en charge par des enzymes de phase I, dits de fonctionnalisation, dont les plus importants sont les cytochromes P450 (CYP) qui catalysent une réaction de monoxygénation [1]. Les enzymes

TIRÉS À PART

P.H. Beaune.

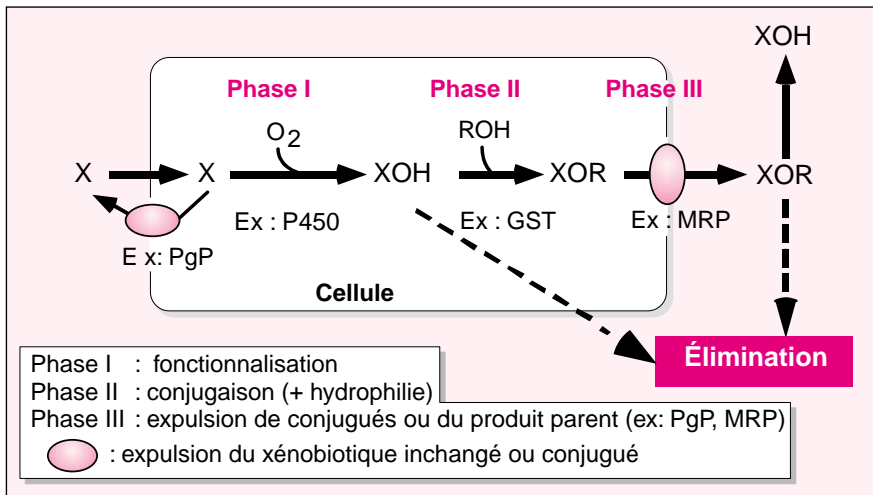


Figure 1. **Métabolisme des xénobiotiques.** Les xénobiotiques peuvent pénétrer dans la cellule car ils sont généralement hydrophobes. Ils peuvent en être expulsés par des protéines comme la PgP, produit du gène *mdr*. Ils peuvent ensuite être fonctionnalisés par des enzymes de phase I comme les monooxygénases à cytochromes P450 (CYP) puis/ou être conjugués par des enzymes de phase II. Les produits de ce métabolisme peuvent ensuite être éliminés de la cellule soit directement, soit par des protéines dites de phase III comme *mrp*. Les produits finaux sont ensuite éliminés dans la bile ou les urines. Bien que des enzymes du métabolisme des xénobiotiques se retrouvent dans tous les tissus, l'essentiel de ce processus se déroule dans les hépatocytes.

Tableau I. Caractéristiques des enzymes du métabolisme des xénobiotiques.

Tableau II. Quelques exemples d'inducteurs chez l'homme.

Inducteurs	Enzymes induits
Barbituriques	CYP (2B, 2C, 3A), UGT
Fumée et cigarette, dioxine	CYP (1A, 1B), UGT, GST
	AIDH...
Rifanopicine, carbamazépine	CYP 3 A
Stéroïdes	
Éthanol	CYP2E1

CYP: cytochromes P450.
 UGT: UDP glycosyl transférase.
 GST: glutatime-S-transférase.
 AIDH: aldéhyde déshydrogénase.

de phase II conjuguent les xénobiotiques, fonctionnalisés ou non, avec un groupement (glutathion, acide glucuronique, méthyl, acétyl...), dont le rôle est soit de neutraliser un groupement réactif (thiol, amine, aldéhyde), soit de rendre le xénobiotique hydrophile afin de faciliter son élimination par l'organisme. Enfin, si le métabolite obtenu est très hydrophile, il devra être transporté à travers la membrane cellulaire par des protéines de phase III, telles que le transporteur *mrp* (*multidrug related protein*). Cette famille de transporteurs comprend de nombreux membres, et s'accroît régulièrement [2, 3]. Le métabolite ainsi produit pourra soit être éliminé dans la bile ou les urines, soit, après transport dans le sang ou dans la bile, être métabolisé de nouveau dans d'autres tissus possédant un autre spectre d'EMX (phase IV) [4]. Cette classification est destinée à clarifier la compréhension du métabolisme complexe des xénobiotiques. Toutes les étapes ne sont pas obligatoires et le métabolisme de chaque composé est particulier.

De nombreux métabolites peuvent être produits ; ils peuvent être plus ou moins toxiques que le produit parent, ou, s'il s'agit d'un médicament, plus ou moins actifs. Les conséquences de ce métabolisme en termes de toxicologie sont résumées dans la figure 2. Certains métabolites sont plus actifs (pro-drogues), d'autres n'ont pas d'activité ou une activité différente. L'équilibre entre les métabolites toxiques et non toxiques, actifs et inactifs, dépend de la nature et de la quantité des EMX dont l'expression varie fortement en fonction de facteurs génétiques, environnementaux et physiopathologiques (figure 2).

Avant d'aborder ces variations, il est important de relever quelques propriétés particulières de ces enzymes, résumées dans le Tableau I. La spécificité relative et chevauchante (un CYP peut métaboliser plusieurs substrats, un substrat peut être métabolisé par plusieurs CYP) ainsi que la redondance (plusieurs enzymes, ou isoenzymes, peuvent prendre en charge le même substrat) sont particulièrement importantes, car elles peuvent rendre compte, par exemple, de la fréquence élevée des polymorphismes génétiques à l'origine d'un déficit enzymatique.

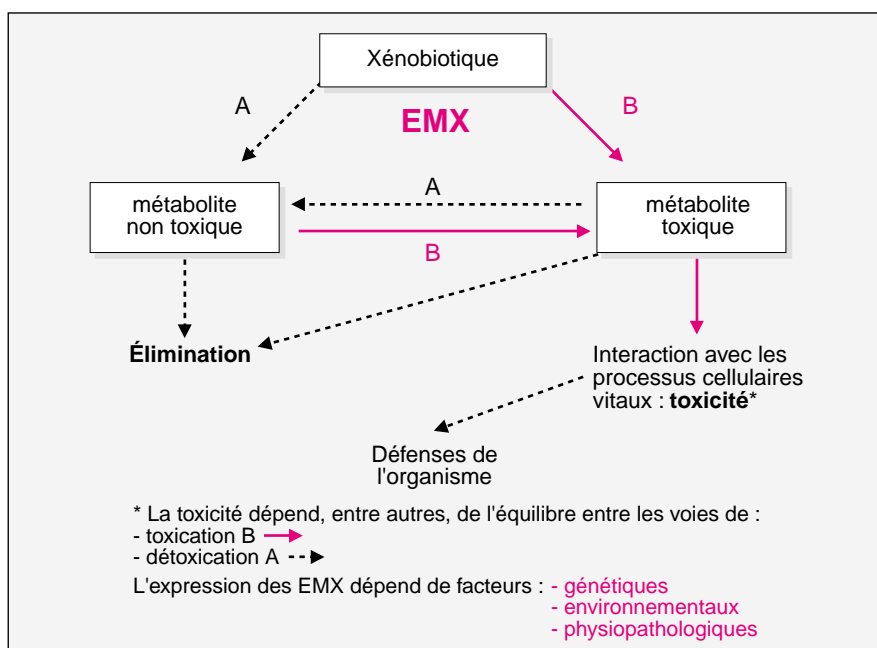


Figure 2. **Équilibre toxication/détoxication.** Les xénobiotiques sont transformés en métabolites plus ou moins toxiques (plus ou moins actifs sur le plan pharmacologique). L'équilibre entre ces voies de toxication et de détoxication dépend de la nature et de la quantité des enzymes du métabolisme des xénobiotiques (EMX). Cette expression est très variable, en fonction de facteurs génétiques, environnementaux et physiopathologiques qui vont intervenir dans la susceptibilité individuelle aux xénobiotiques.

Variabilité d'expression des enzymes du métabolisme des xénobiotiques

Polymorphismes génétiques

Le polymorphisme génétique d'acétylation est connu depuis les années 1950 (métabolisme de l'isoniazide, [5]), mais les plus grands progrès dans ce domaine ont été réalisés au cours des années 1970, lorsque le polymorphisme du métabolisme de la débrisoquine, puis le gène responsable (*CYP2D6*) ainsi que les anomalies moléculaires le concernant, ont été mis en évidence [6, 7]. Par la suite, de nombreux autres polymorphismes génétiques d'EMX ont été découverts, touchant aussi bien des enzymes de phase I (CYP) que des enzymes de phase II (UGT, GST, EH, sulfo- et méthyltransférases...). Ces polymorphismes possèdent plusieurs caractéristiques : ils touchent de nombreux enzymes, la fréquence des allèles déficients est souvent élevée

(quelquefois > 50%), enfin les délétions et les duplications de gènes sont fréquentes [8-10].

Variations environnementales des EMX

L'expression des EMX peut également varier en fonction de l'environnement. En effet, ces enzymes sont fréquemment inductibles et répressibles [11]. Le *Tableau II* indique les principaux inducteurs et leurs cibles parmi les EMX. Le taux de cette induction peut être élevé (jusqu'à 50 fois), elle peut affecter plusieurs enzymes (CYP, GST, UGT, etc.), et être elle-même sous la dépendance de facteurs génétiques (ainsi pour l'induction par la dioxine et les hydrocarbures aromatiques polycycliques des gènes comme le *CYP1A1*, des inducteurs faibles et forts ont été décrits, la nature de l'induction étant génétiquement déterminée [12, 13]). Enfin, ces enzymes peuvent être réprimées.

Ces enzymes sont également sensibles à l'inhibition par des xénobiotiques, qui peuvent bloquer leur acti-

tivité enzymatique de façon réversible ou irréversible. De nombreux médicaments, mais également des substances de l'environnement sont capables d'interférer avec l'enzyme et de moduler ainsi le métabolisme d'autres xénobiotiques.

Ainsi chez un même individu, la capacité métabolique peut être largement modulée aussi bien quantitativement que qualitativement, par des composés endo- ou xénobiotiques.

Variations physiopathologiques

Le foie est l'organe principal du métabolisme des xénobiotiques, et aucun autre organe n'est aussi efficace sur le plan quantitatif. Cependant, dans d'autres tissus, le métabolisme peut jouer un rôle capital dans l'élimination des xénobiotiques et la production *in situ* de métabolites réactifs susceptibles d'être toxiques.

– Les organes directement exposés aux xénobiotiques, tels que les voies respiratoires pour les xénobiotiques inhalés, l'intestin pour les xénobiotiques ingérés, ou la peau, sont responsables de l'effet de « premier passage » et sont des cibles privilégiées pour les xénobiotiques qui les atteignent en premier.

– Les organes « extra-hépatiques » expriment presque tous des EMX mais en quantité et de qualité différente de ceux qui sont exprimés dans le foie. En outre, les EMX peuvent de nouveau métaboliser des molécules produites dans le foie et distribuées aux autres tissus par le sang ou la bile (intestin, côlon). Dans ces tissus, les EMX peuvent ainsi produire des métabolites dont la production *in situ*, à proximité de cibles comme l'ADN, peut expliquer la toxicité spécifique dans certains organes.

La capacité métabolique, très variable d'un tissu à l'autre, explique, dans une certaine mesure, la susceptibilité spécifique de certains tissus en cas d'exposition à un xénobiotique. On peut ainsi évoquer l'exemple du cancer du côlon et de la vessie et le rôle des polymorphismes génétiques [14], de la toxicité pulmonaire de l'ipoméanol et de la toxicité rénale du trichloréthylène.

Certaines maladies et/ou circonstances physiologiques jouent également un rôle dans l'expression des EMX :

– au cours du développement, les EMX sont exprimées différemment que chez l'adulte ;
 – le jeûne et le diabète augmentent l'expression du CYP2E1 et du CYP3A4 ;
 – les maladies hépatiques modifient le métabolisme des EMX.
 Ces facteurs modifient donc largement l'expression qualitative et quantitative des EMX, d'un individu à l'autre et chez un même individu, avec pour conséquence une susceptibilité différente aux xénobiotiques (toxicité et activité pharmacologique) selon les individus et selon les circonstances pour un même individu.

Conséquences pharmacologiques et toxicologiques

Les conséquences pharmacologiques et toxicologiques de ces variations peuvent être de nature diverse :
 – augmentation de la toxicité
 • voie métabolique de détoxification déficiente (inhibition, déficit génétique)

- augmentation de la production d'un métabolite toxique (induction, duplication du gène)
 - inefficacité médicamenteuse
 - vitesse d'élimination accrue (duplication d'un gène, induction)
 - pas de production d'un métabolite actif (déficit génétique ou inhibition, en cas de pro-drogue)
 - effet thérapeutique accru (surdosage)
 - mauvaise élimination du médicament parent
 - surproduction du métabolite actif.
- L'ensemble de ces effets ont été observés et nous allons les illustrer par deux exemples, l'un concernant un médicament, l'autre la fumée de tabac.

La thio-purine-méthyl-transférase (TPMT)

Cette enzyme transforme la 6-mercaptopurine (6MP) active en 6-méthylmercaptopurine (6MMP) inactive. La 6MP, médicament utilisé dans les leucémies de l'enfant, est le métabolite actif de l'azathioprine, un

immunosuppresseur largement utilisé. En cas de déficit génétique en TPMT (la fréquence est de 0,3% d'homozygotes déficients et 10% d'hétérozygotes dans la population [15]), la 6MP et ses dérivés nucléotidiques s'accumulent et risquent de provoquer une toxicité médullaire (systématique et rapide à dose usuelle chez les déficients homozygotes). Par ailleurs, chez les homozygotes rapides, l'activité de la TPMT est aussi variable et la 6MP est moins active (on note moins de rémissions dans le traitement de la leucémie chez ces individus) chez les sujets ayant une forte activité TPMT [15, 16]. Pour ce médicament à fenêtre thérapeutique étroite, il est donc clair que les variations du métabolisme ont des conséquences importantes sur son efficacité et sa toxicité. De nombreux autres exemples pourraient être cités, qui confirment l'importance du métabolisme pour certains médicaments [17].

Le tabac et le cancer du poumon

Le tabac est le facteur de risque essentiel du cancer du poumon. De nombreux composés de la fumée de tabac sont potentiellement cancérogènes. Parmi ceux-ci, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont les plus étudiés et semblent jouer un rôle majeur. L'exemple le mieux connu est celui du benzo(a)pyrène. Son métabolisme et ses conséquences pour le cancer du poumon sont résumés dans la figure 3. Plusieurs enzymes participent à ce métabolisme et de nombreuses études épidémiologiques ont tenté de montrer leur rôle comme facteur de risque dans le cancer du poumon (pour revue, voir 18).

Le CYP 1A1 : les polymorphismes génétiques connus pour cette enzyme n'ont pas de conséquence clairement définie sur son activité ; cependant, Kawajiri *et al.* ont montré qu'un polymorphisme pouvait être un facteur de risque pour le cancer du poumon [19]. Cette enzyme est inductible et cette inductibilité est sous contrôle génétique. Les individus dont le taux d'induction pour cette enzyme est fort, ont un risque plus élevé de développer un cancer du poumon (I. Stücker, communication personnelle). Époxyde hydrolase (EH) : les données obtenues concernant cette enzyme ne

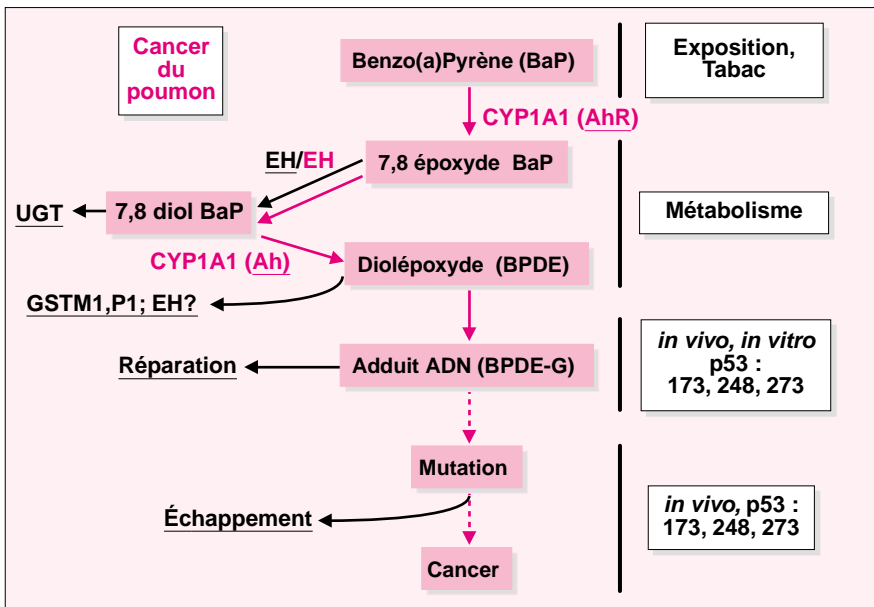


Figure 3. Schéma métabolique de benzo(a)pyrène et déclenchement du cancer du poumon à partir de ce précancérogène. CYP1A1 : cytochrome P4501A1 ; AhR : récepteur Ah responsable de l'induction du CYP1A1 par la dioxine ou le benzo(a)pyrène ; UGT : UDP glycosyl transférase ; GST : glutathion-S-transférase ; EH = époxyde hydrolase. Les adduits à l'ADN ont été retrouvés in vivo chez les fumeurs et les adduits à l'ADN dus au BPDE dans le gène de p53 ont été mis en évidence in vitro ; les mutations de p53 ont été retrouvées dans les tumeurs du poumon [21].

sont pas suffisantes et sont souvent contradictoires [20].

Glutathion-S-transférases (GST): ces enzymes se comportent comme des enzymes de détoxication. Leur déficit (surtout dans le cas de GSTP1 et de GSTM1) augmente le risque (risque relatif de l'ordre de 1,5) de développer un cancer du poumon. Ces résultats ont été confirmés par plusieurs groupes au cours de larges enquêtes épidémiologiques [17]. Lorsqu'il est associé à une forte inductibilité du CYP 1A1, le déficit en GSTM1 augmente notablement le risque de cancer du poumon chez les fumeurs, comme le montre une étude française cas/témoin (OR = 7,9, I. Stücker, communication personnelle).

D'autres enzymes ont été étudiées comme par exemple le CYP2D6, mais les résultats obtenus sont contradictoires selon les études. Lorsque le déficit génétique est déterminé par génotypage, le risque évalué n'est généralement pas plus élevé pour un groupe que pour un autre, tandis que lorsque l'analyse est faite par phénotypage, les résultats indiquent que les « métaboliseurs lents » sont protégés. L'hypothèse sur laquelle repose ces recherches concerne le métabolisme de la NNK (un composé de la fumée de tabac) par le CYP2D6. Cette enzyme serait capable de produire un métabolite réactif qui formerait des adduits à l'ADN; ceux-ci formeraient ensuite le point de départ d'un processus cancéreux, ce qui expliquerait que les métaboliseurs lents soient moins exposés à un métabolite toxique (voir article de Smith et Wolf dans [18]). Cependant, d'autres enzymes peuvent également métaboliser ce substrat et de nombreux autres composés de la fumée de tabac sont impliqués dans la cancérogénèse chimique pour le cancer du poumon. En particulier, de nombreux arguments sont en faveur du rôle du benzo(a)pyrène (BaP), comme l'indique la figure 3 [21]. La formation du diol-époxyde (BPDE), et son rôle dans la formation d'adduits ont été mis en évidence de façon définitive [22]. D'autres voies métaboliques de BaP existent et pourraient également produire des métabolites mutagènes. Le BPDE forme des adduits au niveau du gène p53 situées sur les mêmes codons que les mutations rencontrées dans les tumeurs pulmo-

naires chez l'homme [22]. Ainsi, l'ensemble du schéma postulé dans la figure 3 a été démontré expérimentalement et renforce les résultats obtenus lors des enquêtes épidémiologiques.

D'autres cancers, et même d'autres pathologies sont le résultat d'agressions chimiques. Dans certains cas, les variations génétiques ou environnementales du métabolisme modifient le risque en cas d'exposition [18, 23].

Conclusions et perspectives, dangers et espoirs

Les xénobiotiques de notre environnement peuvent avoir un rôle bénéfique (les médicaments par exemple) ou délétère (toxique environnemental, et paradoxalement les médicaments aussi...). Le métabolisme joue un rôle capital dans cet équilibre, car il varie énormément selon des facteurs génétiques ou environnementaux. La connaissance du métabolisme des composés chimiques auxquels nous sommes exposés, ainsi que celle des facteurs influant sur l'expression des enzymes du métabolisme des xénobiotiques devrait permettre:

- d'identifier les composés chimiques à risque et de contrôler ainsi notre exposition;
- d'identifier le risque des individus ou des populations exposées.

Cette connaissance sera bénéfique si elle autorise:

- une meilleure utilisation des médicaments (adaptation de la posologie, adaptation du traitement, diminution du risque toxique, augmentation de l'efficacité);
- une meilleure évaluation du risque d'exposition aux composés chimiques de l'environnement.

Le risque n'est cependant pas nul d'une utilisation pervertie de ces progrès, dans le but par exemple d'établir des discriminations lors d'un recrutement ou de la souscription d'une assurance ■

RÉFÉRENCES

1. Beaune PH. Les cytochromes P450 humains : applications en toxicologie. *Med Ther* 1999; 4: 18-38.

2. Stieger B, Meier PJ. Bile acid and xenobiotic transporters in liver. *Curr Opin Cell Biol* 1998; 10: 462-7.

3. Keppler D. Export pumps for glutathione S-conjugates. *Free Radic Biol Med* 1999; 27: 985-91.

4. Badawi AF, Stern SJ, Lang NP, Kadlubar FF. Cytochrome P-450 and acetyltransferase expression as biomarkers of carcinogen-DNA adduct levels and human cancer susceptibility. *Prog Clin Biol Res* 1996; 395: 109-40.

5. Evans DA, Manley KA, McKusik VA. Genetic control of isoniazid metabolism in man. *Br Med J* 1960; 2: 285-91.

6. Maghoub A, Idle JR, Dring LG, Lancaster R, Smith RL. Polymorphic hydroxylation of debrisoquine in man. *Lancet* 1977; 2: 584-6.

7. Gonzalez FJ, Skoda RC, Kimura S, et al. Characterization of the common genetic defect in humans deficient in debrisoquine metabolism. *Nature* 1989; 331: 442-6.

8. Ingelman-Sundberg M, Oscarson M, McLellan RA. Polymorphic human cytochrome P450 enzymes: an opportunity for individualized drug treatment. *Trends Pharmacol Sci* 1999; 20: 342-9.

9. Nebert DW, Ingelman-Sundberg M, Daly AK. Genetic epidemiology of environmental toxicity and cancer susceptibility: human allelic polymorphisms in drug-metabolizing enzyme genes, their functional importance, and nomenclature issues. *Drug Metab Rev* 1999; 31: 467-87.

10. Ingelman-Sundberg M. Duplication, multiduplication, and amplification of genes encoding drug-metabolizing enzymes: evolutionary, toxicological, and clinical pharmacological aspects. *Drug Metab Rev* 1999; 31: 449-59.

11. Ronis MJ, Ingelman-Sundberg M. Induction of human drug metabolizing enzymes: mechanisms and implication. In: *Handbook of drug metabolism*, Thomas F. Woolf, Marcel Dekker Eds, New York, 1999: 239-62.

12. Nebert DW, Roe AL, Dieter MZ, Solis WA, Yang Y, Dalton TP. Role of the aromatic hydrocarbon receptor and [Ah] gene battery in the oxidative stress response, cell cycle control, and apoptosis. *Biochem Pharmacol* 2000; 59: 65-85.

13. Whitlock JP Jr. Induction of cytochrome P4501A1. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1999; 39: 103-25.

14. Déloménie C, Grant DM, Krishnamoorthy R, Dupret JM. Les arylamine N-acétyltransférases : du polymorphisme génétique à la susceptibilité aux xénobiotiques. *Med Sci* 1998; 14: 27-36.

15. Krynetski EY, Evans WE. Pharmacogenetics as a molecular basis for individualized drug therapy: the thiopurine S-methyltransferase paradigm. *Pharm Res* 1999; 16: 342-9.

16. Yates CR, Krynetski EY, Loennechen T, et al. Molecular diagnosis of thiopurine S-methyltransferase deficiency: genetic basis for azathioprine and mercaptopurine intolerance. *Ann Int Med* 1997; 126: 608-14.

17. Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999; 286: 487-91.

18. Vineis P, Malars N, Lang M, *et al.* Metabolic polymorphisms and susceptibility to cancer. IARC scientific publication, 1999 n° 148.

19. Kawajiri K, Watanabe J, Eguchi H, Hayashi SI. Genetic polymorphism of drug-metabolizing enzymes and lung cancer susceptibility. *Pharmacogenetics* 1995; 5: S70-3.

20. Benhamou S, Reinikainen M, Bouchardy C, Dayer P, Hirvonen A. Association between lung cancer and microsomal epoxide hydrolase. *Cancer Res* 1998; 58: 5291-3.

21. Hecht SS. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 1194-210.

22. Denissenko MF, Pao A, Tang MS, Pfeifer GP. Preferential formation of Benzo(a)pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in p53. *Science* 1996; 274: 430-2.

23. Perera FP. Environment and cancer: who are susceptible? *Science* 1997; 278: 1068-73.

ms2000**Summary****Molecular basis of individual susceptibility to xenobiotics**

Living organisms are inevitably exposed to xenobiotics such as drugs, pollutants or dietary compounds. These compounds are metabolized in order to render them more hydrophilic or less chemically reactive. The toxicity and pharmacological activities of the resulting metabolites depend on the expression of xenobiotic metabolizing enzymes. The level of expression of these enzymes is extremely variable, and is under the control of environmental, genetic or patho-physiological factors. For example, (1) the variability of thiopurine methyl transferase explains the susceptibility to azathioprine and 6-mercaptopurine and (2) the variability in the metabolism of benzo(a)pyrene may be a risk factor in lung cancer among smokers. Therefore, differences in metabolism can explain, at least in part, individual susceptibilities to xenobiotics.

