

## Méthémoglobinisants

### I-Méthémoglobine :

**Méthémoglobine** = une forme oxydée d'hémoglobine dont le  $Fe^{2+}$  est oxydé en  $Fe^{3+}$  en impropre à la fixation et au transport de  $O_2$  = **Hb non fonctionnelle**

$Fe^{3+}$  présente 6 liaisons de coordination :

- 4 avec les atomes d'azote de la porphyrine ;
- Une liaison avec une histidine de la globine ;
- Une liaison avec un  $H_2O$

### I-1-Caractéristiques spectrales :

**MétHb(méthémoglobine)** : 2 max d'absorption  $\lambda = 500 / 632$  nm. (**pour le dosage et le diagnostic des méthémoglobinémies**).

$HbO_2$  : 2 max d'absorption  $\lambda = 540 / 577$  nm

- ❑  $Fe^{3+}$  / **MétHb** peut également se combiner de manière **réversible** avec une variété de substances chimiques: **cyanure**, les **sulfures**, les **peroxydes**, les **fluorures** et les **azides**.
- ❑ **Cyanure + MetHb** est exploitée de deux manières :
  - formation de cyanométhémoglobine : max d'absorption à  $\lambda = 541$  nm.
  - Dans le traitement de l'intoxication au cyanure, le nitrate de sodium est administré pour former de la méthémoglobine, qui se lie ensuite au cyanure libre, épargnant d'autres enzymes respiratoires cellulaires critiques telles que la cytochrome oxydase (approche utilisée aux USA)

### I-2-Systèmes de réduction de la méthémoglobine :

- Réduction enzymatique** nécessitant les cofacteurs **NAD (diaphorase I)** ou **NADP (diaphorase II)**, produits de la glycolyse érythrocytaire
- Réduction chimique** par le **glutathion réduit** ou l'**acide ascorbique**

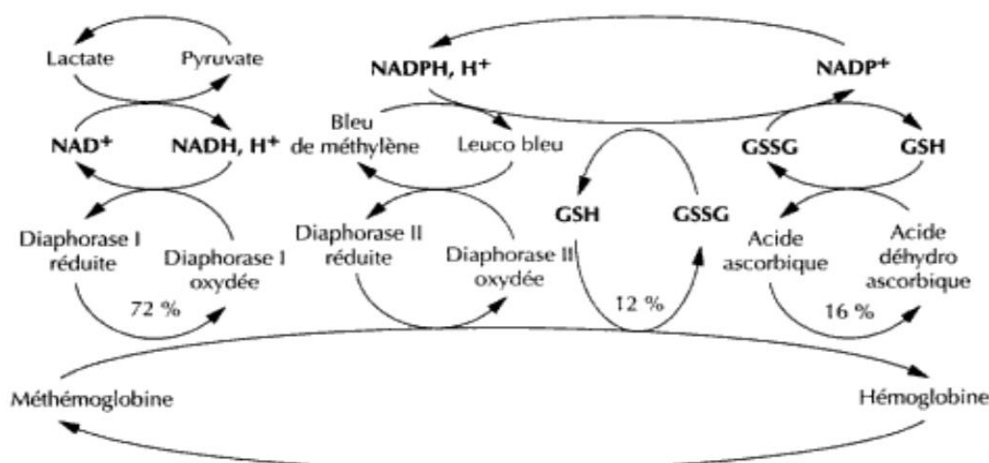


Figure 9. Catabolisme de la méthémoglobine : bilan général

## Méthémoglobinisants

### a) Voie NADH, H<sup>+</sup> dépendante :

voie MetHb-reductase-NADH-dépendante = diaphorase I.

-**Principale voie** de réduction de **metHb physiologique** (60%)

-Liée à **glycolyse anaérobie** (voie d'Embden Meyerhoff)

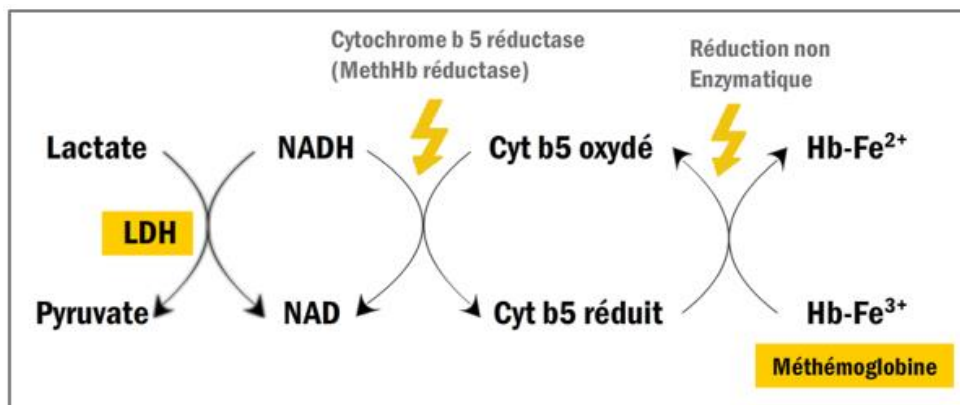
-**Enzyme : Diaphorase I** = métHb réductase I = cytochrome b5 réductase

flavoprotéines dont le rôle est de réduire une hémoprotéine (cyt b5). Pour cela, l'enzyme utilise les électrons du NADH réduit pour réduire cyt b5, qui réduit à son tour le fer ferrique de la méthémoglobine.

-**Cofacteur : NADH, H<sup>+</sup>** (réduit)

-Ne nécessite pas d'accepteur d'électron exogène : voie fonctionnelle

- Sujets déficients en cette voie présentent de 10 – 50% de leur Hb sous forme de metHb



### b) Voie NADPH, H<sup>+</sup> dépendante :

voie **NADPH réductase** ou **diaphorase II**

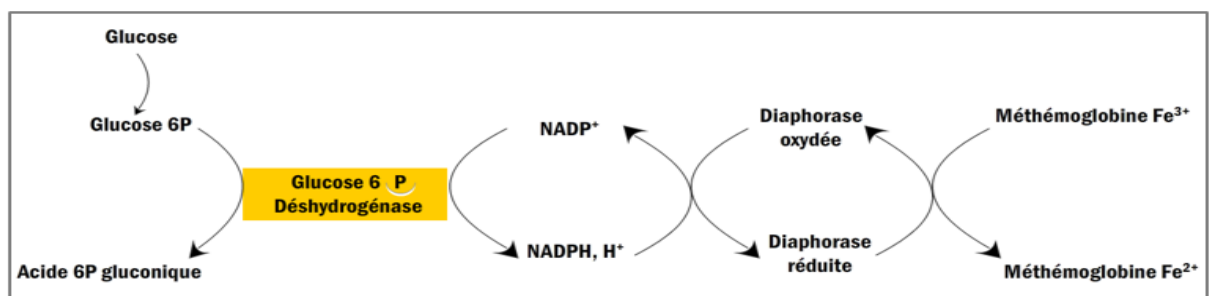
-**Voie accessoire**, à rendement physiologique faible, n'entrant en action que s'il y a une déficience en anaérobie (voie potentielle=voie Dickens-Honecker)..

-**Enzyme : Diaphorase II** (métHb réductase II)

-**Cofacteur : NADPH, H<sup>+</sup>** fourni par la voie accessoire de la dégradation du glucose ou shunt des pentoses (la G6PD, glucose-6-phosphate-déshydrogénase, est une enzyme clé de cette voie)

-Nécessite l'apport exogène d'un **accepteur d'électron** (substance réductrice) qui n'est pas présent dans l'organisme dans des conditions physiologiques. : **Bleu de méthylène réduit** ou **vitamine C**

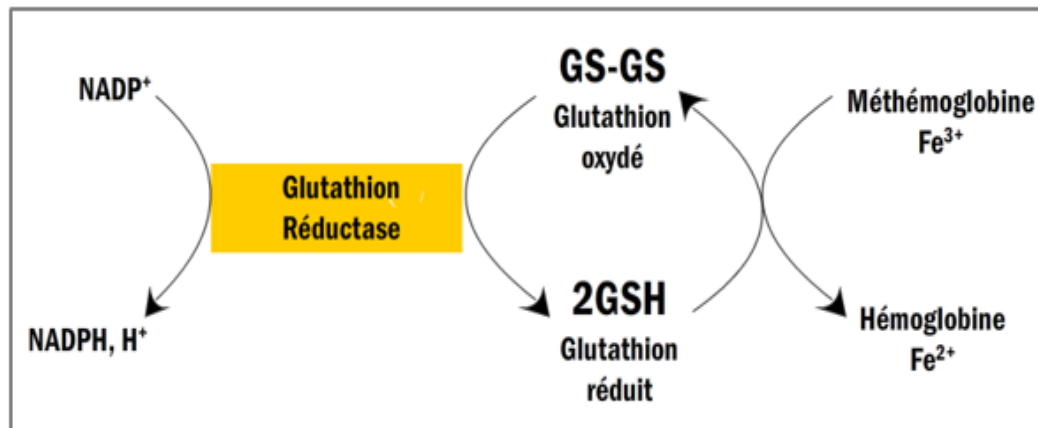
-Inutile en cas de déficit héréditaire en G6PD ou NADPH2 réductase



## Méthémoglobinisants

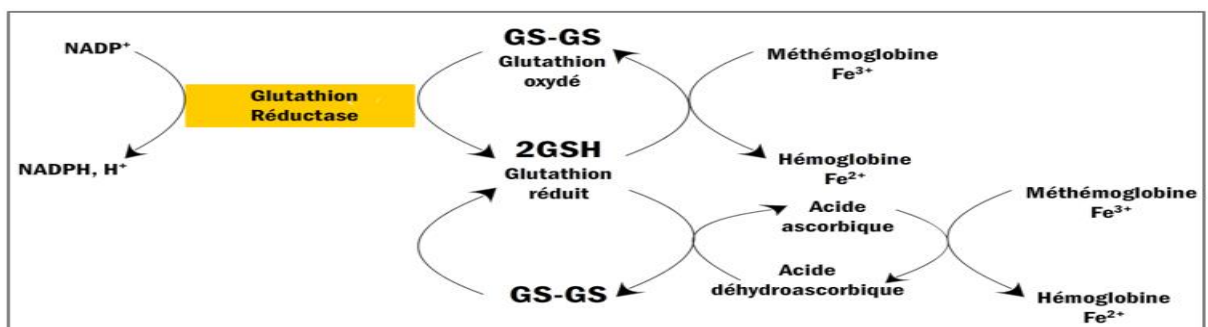
### c) Voie du glutathion :

- Voie **secondaire** (10-15% de la metHb physiologique), lente et insuffisante en cas d'intoxication
- Liée à la glycolyse **aérobie** (shunt des pentoses)
- Enzyme : **glutathion réductase**
- Cofacteur : **NADPH, H<sup>+</sup>**



### d) Voie de l'acide ascorbique :

- Voie **secondaire** (moins de 15% de la métHb physiologique), très lente et insuffisante en cas d'intoxication
- Lié à la **glycolyse aérobie** (shunt des pentoses)
- acide ascorbique : réducteur très efficace de la métHb par cession directe d'un électron ; L'acide déhydroascorbique obtenu est réduit par le glutathion
- glutathion qui permet la réduction de l'acide ascorbique, et ce dernier réduit à son tour le fer ferrique en fer ferreux



## Méthémoglobinisants

### I-3-Facteurs favorisant la formation de la méthémoglobine :

Formation de la méthémoglobine peut être favorisée:

#### A- Age :Chez les nouveau-nés /nourrissons car ils sont plus sensibles:

- Majeure partie de leur Hb est S/F de HbF qui est deux fois plus oxydable que l'HbA .
- Déficit enzymatique en diaphorèse au niveau du globule rouge qui persiste jusqu'à 3 à 4 mois, ce qui explique la fréquence des intoxications accidentelles chez eux.

**B-Sujets déficients en G6PD** : Synthèse de NADPH,H<sup>+</sup> diminuée ; Glutathion réduit diminué ,Déficit de la réduction de l'acide déhydroascorbique =Déficit des trois voies secondaires et accessoire de réduction

#### C-Etats pathologiques :

- **Terrains digestifs** :Gastroectomie, gastrite, diarrhée, constipation → plus forte sensibilité à l'action des méthémoglobinisants
- **Insuffisance rénale ou hépatique**
- **Insuffisance cardiaque et pulmonaire (dapsone) , leucémie**

**E-Alcoolisme** : l'alcool provoque l'oxydation de l'hémoglobine et inhibe la voie NADH<sub>2</sub> dépendante. **L'alcool peut libérer certains méthHbinisants de leur stock graisseux .**

**F-Tabagisme** : méthHbémie est légèrement plus élevé chez le fumeur

#### I-4-Origine:

**A-Physiologique** :Des traces de méthémoglobine sont présentent dans le sang normal, à la suite de l'action des agents oxydants produit au cours du métabolisme en particulier H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

##### Valeur normale:

- 0,5-0,8% : adulte
- 1,5% : nouveau né
- 2% : prématuré

#### B-Non physiologique:

- Elle peut être d'origine constitutionnelle par :
  - Anomalie de structure de l'hémoglobine =Hémoglobinose M : maladie de transmission autosomique dominante ; mutations sur la chaîne alpha ou bêta de la globine L'Hb M est sensible à l'oxydation ( ne nécessite pas TRT)
  - Déficit enzymatique en NADH-cytochrome b5-reductase : c'est la méthémoglobinémie héréditaire récessive de type I( bien tolérée) ou II (fatale) : maladie de transmission autosomique récessive
- Elle est **le plus souvent acquise**, induite par de nombreux agents toxiques oxydants.

## Méthémoglobinisants

### II-Méthémoglobinisants:

**Méthémoglobinisant** =poison de l'hémoglobine

#### II-1-Classification des Méthémoglobinisants :

##### Selon la nature chimique:

- Composés organiques
- Composés minéraux

##### Selon le mécanisme d'action:

- Action directe: par la molécule mère
- Action indirecte: par l'intermédiaire des métabolites

##### Selon l'origine :

- Médicamenteuse
- Environnementale

#### a) Composés minéraux :

##### Nitrites et nitrates :

Nitrates :indirectement Méthémoglobinisants

Nitrites:

- Biosynthèse endogène à partir de l'arginine
- réduction des nitrates par les bactéries intestinales
- Sources exogènes : Engrais de contamination des minéraux, eaux polluées, charcuterie, fabrication des colorants azoïques, poppers (première cause de méthémoglobinémie acquise) ==Formation de métHb et de nitrosohémoglobine

**DL par voie orale : 100 mg/kg - homme**

##### Chlorates :

- Chlorate de sodium ( $\text{NaClO}_3$ ) : herbicide
- Chlorate de potassium ( $\text{KClO}_3$ ) : colorants, tête d'allumette, explosifs, teintures et herbicides

Méthémoglobinémie intense avec hémolyse

Causticité digestive, atteinte rénale et nécrose hépatique

	Dose létale adulte	Dose létale enfant
Chlorate de sodum	7 g	
Chlorate de potassium	10-15 g	1 g

##### Permanganate de potassium $\text{KMnO}_4$ :

antiseptique en dermatologie

-Méthémoglobinémie intense avec hémolyse

-Causticité digestive

**DL : 10-20 g / homme**

##### Ferricyanure de potassium :

-Intoxication peu fréquente

-N'est actif que sur le lysat d'hématie vu qu'il ne pénètre pas à l'intérieur des hématies

## Méthémoglobinisants

### b) Composés organiques :

#### ❑ Dérivés aminés et nitrés aromatiques :

Dérivés aminés = dérivés de l'aniline

#### Origine :

- ❑ Médicaments (phénacétine, benzocaïne ...)
- ❑ Industrie (aniline → colorants, toluidine ...)
- ❑ Produits ménagers (trichlorocarbanilide ...)

#### Mécanisme d'action toxique :

**Bioactivation (oxydation hépatique)**

**Agent méthémoglobinisant = phénylhydroxylamine (hydroxyaniline)**

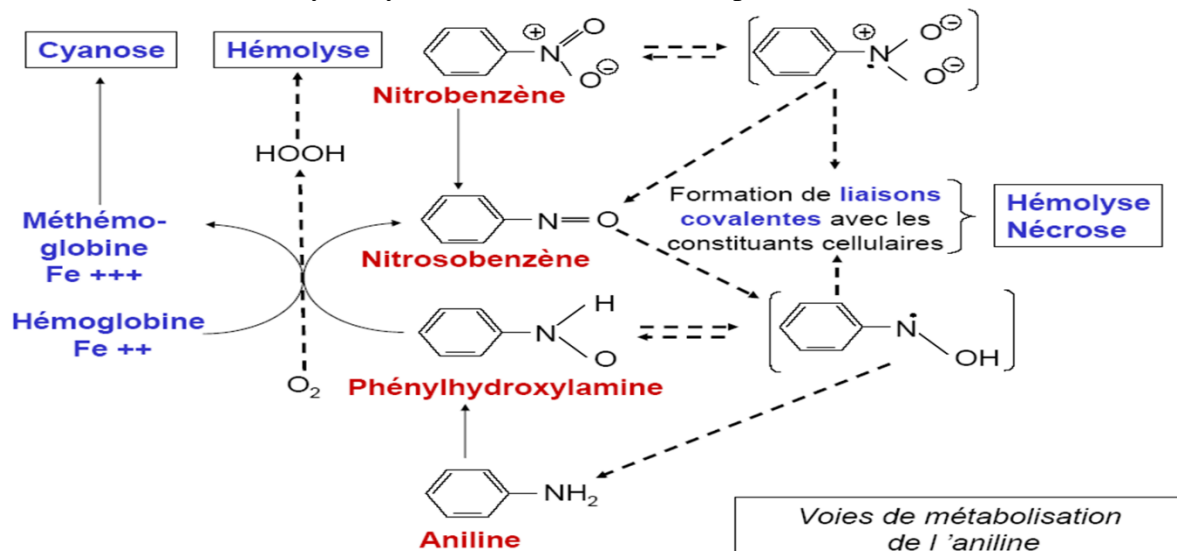
#### Dérivés nitrés =

- ❑ **Nitrobenzène** : synthèse organique, peintures, vernis
- ❑ **Dinitrobenzène** : colorants, explosifs ...
- ❑ **Nitrophénols** : synthèse colorants
- ❑ **Dérivés nitrés du toluène** : explosif, peintures
- ❑ **Trinitroglycérine** : explosif ET vasodilatateur coronarien

-Méthémoglobinisants, hémolysants à forte dose, hépatotoxiques, irritants

#### Mécanisme d'action toxique :

formation de métabolites hydroxylés (intermédiaires électrophiles)



#### Autres=

- **-Naphtalène** : Insecticide (boule de naphtaline) : DL enfant : 2 boules
- **-Paradichlorobenzène** : Antimites, désodorisant
- **Résorcine** : Tannage (méthémoglobinisant et hémolysant)
- **Sulfones** : Dapsone, antibiotique antilépreux et infections et dermatoses inflammatoires.
- **Sulfamides** : à très forte dose
- **Primaquine** : antipaludéen  
déficit en G6PD : ⇒ MetHb forte + hémolyse
- **Bleu de méthylène** : antidote MetHb=méthémoglobinisant si surdosage ou déficit G6PD

## Méthémoglobinisants

### II-2- Mécanisme d'action toxique :

#### a) Effets des méthémoglobinisants :

- Formation de métHb par oxydation de l'Hb
- Lyse membranaire par peroxydation lipidique
- Formation de corps de Heinz suite à la dénaturation et précipitation de l'Hb  
→ **Hémolyse souvent associée à une méthémoglobinurie**
- Libération de la métHb dans le plasma suite à l'hémolyse → fixation de l'hème sur l'albumine  
→ méthémalbumine → **Coloration brun chocolat du sang**

#### b) Effets de l'oxydation du fer de l'hémoglobine :

- Liaison du  $Fe^{3+}$  à  $H_2O$  → liaison impossible avec l' $O_2$
- Augmentation de l'affinité de l'Hb pour l' $O_2$  (déplacement de la courbe de dissociation à gauche) → libération difficile de l' $O_2$  au niveau des tissus  
→ **Hypoxie tissulaire = asphyxiant chimique**

### III- Symptomatologie :

#### Diagnostic : doit être rapide

- Anamnèse,
- Cyanose,
- Aspect brun chocolat et épais du sang
- Saturation en  $O_2$  diminuée
- Si on fait barboter de l' $O_2$  dans le sang, celui-ci garde sa couleur (Si pas de source d' $O_2$ , prélèvement de 1 ml de sang dans une seringue de 10 ml. On remplit le reste avec de l'air. On obture et secoue énergiquement pendant 1 minute. Si le sang garde la couleur brun chocolat, il existe une méthémoglobinémie)
- Taux de méthémoglobinémie

#### ☐ Nature et intensité des symptômes fonction du taux de métHb :

Taux	Symptômes
15-20 %	Cyanose perceptible (extrémité des doigts puis face, muqueuses)
20-45 %	Dyspnée, asthénie, vertige, céphalées, polypnée, tachycardie Sang brun chocolat
45-50 %	Dépression du SNC : lésions neurologiques, troubles de la conscience, dépression respiratoire
55-70 %	Coma, convulsions, insuffisance cardiaque et troubles du rythme
> 70 %	Mort

## Méthémoglobinisants

### IV-Traitement de l'intoxication :

#### a) Traitement symptomatique

- Oxygénothérapie normobare (saturation de l'Hb fonctionnelle) mais peu efficace
- Oxygénothérapie hyperbare exceptionnelle
- Convulsions → BZD
- Hypotension → remplissage vasculaire
- Contrôle des voies aériennes

#### b) Traitement évacuateur :

- Projection : décontamination cutanée avec eau + savon
- Ingestion : lavage gastrique, à discuter

#### c) Traitement épurateur :

Si pronostic vital engagé et échec du BM :

- Exsanguino-transfusion si métHb 60-70 %, hémolyse associée ou sulfHb associée
- Epuración extrarénale

#### d) Traitement Antidotal :

##### ❑ Bleu de méthylène réduit (leucobleu) IV:

guérir le mal par le mal → Réduction de la métHb par la diaphorase II

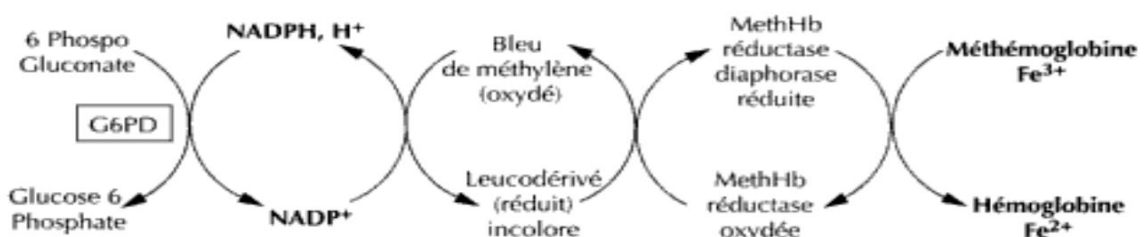


Figure 10. Mécanisme d'action du bleu de méthylène dans le traitement des méthémoglobinémies toxiques

- Solution à 1% si métHbémie > 20%
- A utiliser prudemment car lui même méthémoglobinisant
- Coloration bleue-verte des urines
- Contre-indications : déficit en G6PD, allergie, IR sévère, déficit en NADPH réductase
- IV rapide ou surdosage : anxiété, tremblements, dyspnée, hypertension, cyanose
- Efficacité spectaculaire avec atténuation ou disparition de la cyanose en 30-60 min

**NB :** Certains méthémoglobinisants : benzocaïne et l'aniline, produisent une méthémoglobinémie rebond, avec augmentation du taux de méthémoglobine 4 à 12 heures après la réussite traitement IV bleu de méthylène → BM à 0,05% en perfusion continue dans le sérum physiologique pour éviter un phénomène de rebond

##### ❑ Acide ascorbique (Vitamine C)

- Moins actif que le BM mais non toxique
- Efficacité inconstante
- Action lente
- Indiqué dans les métHbémies légères



## Méthémoglobinisants

### V-Toxicologie analytique :

#### a) Intérêt du dosage de la méthémoglobine:

- Diagnostic
- Pronostic ;
- Evaluation de la nécessité d'un traitement par le BM.

#### b) Prélèvement :

- Prélèvement sanguin sous anticoagulant (tube hépariné)
- NaF à proscrire car formation in vitro de fluorométhHb → erreurs analytiques
- Dosages rapide (de préférence, instantané) car la méthb disparaît par conservation
- Conservation à température ambiante si analyse dans l'heure suivant le prélèvement, sinon +4°C

#### c) Méthodes spectrophotométriques

##### ☐ Méthode de Kaplan :

Méthb et HbO<sub>2</sub> présentent deux max d'absorption différents :

HbO<sub>2</sub> : 540-577 nm ; MétHb : 500 – 632 nm

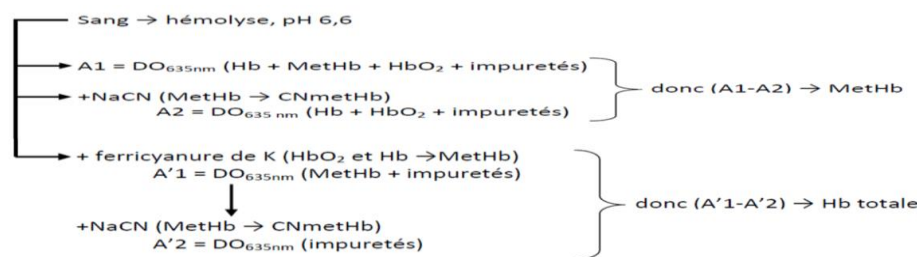
→ Deux mesures de DO : 525 nm où la méthb et HbO<sub>2</sub> =absorbent de la même façon.  
577nm où la différence plus grande.

→ rapport DO 577 nm/DO 525 nm → % métHb

Mais interférences en cas de présence d'autres espèces (sulfHb, nitrosoHB)

##### ☐ Méthode d'Evelyn-Malloy :

Mesure de l'absorption optique à 635 nm d'une dilution sanguine avant et après la transformation totale de Hb en métHb et cyanméthHb (cyanméthHb n'absorbe pas à 635 nm)



$$\text{Taux de métHb (\% Hb)} : [(A1-A2)/(A1'-A2')] \times 100$$

#### d) Technique automatisée :

##### ☐ Co-Oxymètre :

Appareil multi-longueurs d'onde permettant la mesure des 5 formes d'Hb (HbO<sub>2</sub>, déoxyhb, HbCO, MetHb, SulfHb)

- Mesure et la quantification de ces fractions reposent sur la spectrophotométrie d'absorption moléculaire
- Interprétation des résultats peut être délicate en raison des interférences

##### ☐ Méthode indirecte : Gaz du sang :

- SaO<sub>2</sub> diminuée
- PaO<sub>2</sub> normale, voire élevée
- Alcalose ventilatoire , Puis, secondairement une acidose métabolique avec hyperlactacidémie par activation de la glycolyse anaérobie.