



Année : 2021

ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE
PHARMACIE
RABAT



Thèse N° : 89

DÉMARCHE DIAGNOSTIQUE DES MÉTHÉMOGLOBINÉMIES

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le: / / 2021

PAR :
Monsieur Achraf CHERRAT

Né le 26 Octobre 1995 à Tanger

Pour l'Obtention du Diplôme de
Docteur en Médecine

Mots Clés : Méthémoglobine - Cytochrome b5 réductase - Méthémoglobinémie
acquise - Cyanose - Bleu de méthylène

Membres du Jury :

Madame Souad BENKIRANE
Professeur d'Hématologie Biologique
Monsieur Azlarab MASRAR
Professeur d'Hématologie Biologique
Monsieur Abdallah DAMI
Professeur de biochimie chimie
Monsieur Anass JEAIDI
Professeur d'Hématologie Biologique

Présidente
Rapporteur
Juge
Juge

سُبْحَانَكَ يَا عَزِيزُ

سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ
أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ



UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE RABAT

DOYENS HONORAIRES :

1962 - 1969: Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 - 1974: Professeur Abdellatif BERBICH
1974 - 1981: Professeur Bachir LAZRAK
1981 - 1989: Professeur Taieb CHKILI
1989 - 1997: Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 - 2003: Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 - 2013: Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

ADMINISTRATION :

Doyen :

Professeur Mohamed ADNAOUI

Vice-Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines

Professeur Brahim LEKEHAL

Vice-Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération

Professeur Taoufiq DAKKA

Vice-Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie

Professeur Younes RAHALI

Secrétaire Général

Mr. Mohamed KARRA

*Enseignants Militaires

1. ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS ET PHARMACIENS

PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
Pr. SETTAF Abdellatif

Médecine Interne - [Clinique Royale](#)
Anesthésie -Réanimation
Pathologie Chirurgicale

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne –[Doyen de la EMPR](#)
Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. TAZI Saoud Anas

Gynécologie -Obstétrique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENSOUDA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZAD Rachid

Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique [Méd. Chef Maternité](#)

des Orangers

Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida

Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie- [Dir. du Centre National PV](#)

Rabat

Pr. TAOUFIK Jamal

Chimie thérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUDA Adil
Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale [Doyen de EMPT](#)
Anesthésie Réanimation
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Anatomie
Microbiologie

Mars 1994

Pr. BENJAARFAR Noureddine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques [Doyen](#)

de la FMFA

Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. RHRAB Brahim

Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale - [Directeur du CHUIS](#)
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Chirurgie Générale
Gynécologie –Obstétrique

*Enseignants Militaires

Pr. SENOUCI Karima

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*

Pr. BENTAHILA Abdelali

Pr. BERRADA Mohamed Saleh

Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae

Pr. LAKHDAR Amina

Pr. MOUANE Nezha

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane

Pr. AMRAOUI Mohamed

Pr. BAIDADA Abdelaziz

Pr. BARGACH Samir

Pr. EL MESNAOUI Abbes

Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila

ANDALOUSSI Ahmed

Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia

Pr. SEFIANI Abdelaziz

Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Décembre 1996

Pr. BELKACEM Rachid

Pr. BOULANOUAR Abdelkrim

Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan

Pr. GAOUZI Ahmed

Pr. OUZEDDOUN Naima

Pr. ZBIR EL Mehdi*

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan

Pr. BIROUK Nazha

Pr. FELLAT Nadia

Pr. KADDOURI Nouredine

Pr. KOUTANI Abdellatif

Pr. LAHLOU Mohamed Khalid

Pr. MAHRAOUI CHAFIQ

Pr. TOUFIQ Jallal

Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Novembre 1998

Pr. BENOMAR ALI

Pr. BOUGTAB Abdesslam

Pr. ER RIHANI Hassan

Pr. BENKIRANE Majid*

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*

Pr. AIT OUAMAR Hassan

Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr Sououd

Pr. BOURKADI Jamal-Eddine

Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer

Pr. ECHARRAB El Mahjoub

Pr. EL FTOUH Mustapha

Dermatologie

Urologie [Inspecteur du SSM](#)

Pédiatrie

Traumatologie - Orthopédie

Ophtalmologie

Gynécologie Obstétrique

Pédiatrie

Réanimation Médicale

Chirurgie Générale

Gynécologie Obstétrique

Gynécologie Obstétrique

Chirurgie Générale

Oto-Rhino-Laryngologie Pr. IBEN ATTYA

Urologie

Ophtalmologie

Génétique

Réanimation Médicale

Chirurgie Pédiatrie

Ophtalmologie

Chirurgie Générale

Pédiatrie

Néphrologie

Cardiologie [Directeur HMI Mohammed V](#)

Gynécologie-Obstétrique

Neurologie

Cardiologie

Chirurgie Pédiatrique

Urologie

Chirurgie Générale

Pédiatrie

Psychiatrie [Directeur Hôp.Ar-razi Salé](#)

Gynécologie Obstétrique

Neurologie [Doyen de la FM Abulcassis](#)

Chirurgie Générale

Oncologie Médicale

Hématologie

Pneumo-phtisiologie

Pédiatrie

Pédiatrie

Pneumo-phtisiologie

Chirurgie Générale

Chirurgie Générale

Pneumo-phtisiologie

*Enseignants Militaires

Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae

Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik

Rabat

Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said

(Cheikh Khalifa)

Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim

Acad. Est.

Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBAH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Décembre 2002

Pr. AMEUR Ahmed*
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*

*Enseignants Militaires

Neurochirurgie
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Neurologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie - **Directeur Hôp. Cheikh Zaid**
Urologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Pédiatrie

Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique **Directeur Hôp. Des Enfants**

Chirurgie Générale
Pédiatrie - **Directeur Hôp. Univ. International**

Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale **Directeur Hôpital Ibn Sina**
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique **V-D chargé Aff**

Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie

Pr. BAMOU Youssef*
 Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
 Pr. BENZEKRI Laila
 Pr. BENZZOUBEIR Nadia
 Pr. BERNOUSSI Zakiya
 Pr. CHOHO Abdelkrim*
 Pr. CHKIRATE Bouchra
 Pr. EL ALAMI EL Fellous Sidi Zouhair
 Pr. FILALI ADIB Abdelhai
 Pr. HAJJI Zakia
 Pr. KRIOUILE Yamina
 Pr. OUJILAL Abdelilah
 Pr. RAISS Mohamed
 Pr. SIAH Samir*
 Pr. THIMOU Amal
 Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
 Pr. AMRANI Mariam
 Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 Pr. BENKIRANE Ahmed*
 Pr. BOULAADAS Malik
 Pr. BOURAZZA Ahmed*
 Pr. CHAGAR Belkacem*
 Pr. CHERRADI Nadia
 Pr. EL FENNI Jamal*
 Pr. EL HANCHI ZAKI
 Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 Pr. HACHI Hafid
 Pr. JABOUIRIK Fatima
 Pr. KHARMAZ Mohamed
 Pr. MOUGHIL Said
 Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
 Pr. TARIB Abdelilah*
 Pr. TIJAMI Fouad
 Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
 Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
 Pr. ALLALI Fadoua
 Pr. AMAZOUZI Abdellah
 Pr. BAHIRI Rachid
 Pr. BARKAT Amina
 Pr. BENYASS Aatif*
 Pr. DOUDOUH Abderrahim*
 Pr. HAJJI Leila
 Pr. HESSISSEN Leila
 Pr. JIDAL Mohamed*
 Pr. LAAROUSSI Mohamed

*Enseignants Militaires

Biochimie-Chimie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Dermatologie
 Gastro-Entérologie
 Anatomie Pathologique
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Gynécologie Obstétrique
 Ophtalmologie
 Pédiatrie
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Chirurgie Générale
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale

Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gastro-Entérologie
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie
 Traumatologie Orthopédie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Ophtalmologie
 Pharmacie Clinique
 Chirurgie Générale
 Cardiologie

Chirurgie Réparatrice et Plastique
 Chirurgie Générale
 Rhumatologie
 Ophtalmologie
 Rhumatologie **Directeur Hôp. Al Ayachi Salé**
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Biophysique
 Cardiologie (mise en disponibilité)
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie Cardio-vasculaire

Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

AVRIL 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*

Ibn Sina Marr.

Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saida*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHERKAOUI Naoual*
Pr. EL BEKKALI Youssef*
Pr. EL ABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GHARIB Nouredine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LOUZI Lhoussain*

*Enseignants Militaires

Parasitologie
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

Rhumatologie
Hématologie
O.R.L
Chirurgie – Pédiatrique
Chirurgie Cardio - Vasculaire. **Directeur Hôpital**

Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Médecine Interne
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie - Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Pneumo - Phtisiologie
Biochimie
Pneumo - Phtisiologie

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Anesthésie réanimation
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie cardio-vasculaire
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Microbiologie

Pr. MADANI Naoufel
 Pr. MARC Karima
 Pr. MASRAR Azlarab
 Pr. OUZZIF Ez zohra*
 Pr. SEFFAR Myriame
 Pr. SEKHSOKH Yessine*
 Pr. SIFAT Hassan*
 Pr. TACHFOUTI Samira
 Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
 Pr. TANANE Mansour*
 Pr. TLIGUI Houssain
 Pr. TOUATI Zakia

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
 Pr. AGADR Aomar*
 Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
 Pr. AKHADDAR Ali*
 Pr. ALLALI Nazik
 Pr. AMINE Bouchra
 Pr. ARKHA Yassir
 Pr. BELYAMANI Lahcen*
 Pr. BJIJOU Younes
 Pr. BOUHSAIN Sanae*
 Pr. BOUI Mohammed*
 Pr. BOUNAIM Ahmed*
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
 Pr. CHTATA Hassan Toufik*
 Pr. DOGHMI Kamal*
 Pr. EL MALKI Hadj Omar
 Pr. EL OUENNASS Mostapha*
 Pr. ENNIBI Khalid*
 Pr. FATHI Khalid
 Pr. HASSIKOU Hasna*
 Pr. KABBAJ Nawal
 Pr. KABIRI Meryem
 Pr. KARBOUBI Lamya
 Pr. LAMSAOURI Jamal*
 Pr. MARMADE Lahcen
 Pr. MESKINI Toufik
 Pr. MESSAOUDI Nezha*
 Pr. MSSROURI Rahal
 Pr. NASSAR Ittimade
 Pr. OUKERRAJ Latifa
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani*

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
 Pr. AMEZIANE Taoufiq*
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. CHADLI Mariama*

*Enseignants Militaires

Réanimation médicale
 Pneumo phtisiologie
 Hématologie biologique
 Biochimie-chimie
 Microbiologie
 Microbiologie
 Radiothérapie
 Ophtalmologie
 Chirurgie générale
 Traumatologie-orthopédie
 Parasitologie
 Cardiologie

Médecine interne
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale
 Neuro-chirurgie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Neuro-chirurgie **Directeur Hôp.des Spécialités**
 Anesthésie Réanimation
 Anatomie
 Biochimie-chimie
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Traumatologie-orthopédie
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Hématologie clinique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Médecine interne
 Gynécologie obstétrique
 Rhumatologie
 Gastro-entérologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Chimie Thérapeutique
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Pédiatrie
 Hématologie biologique
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Cardiologie
 Pneumo-Phtisiologie

Anesthésie réanimation
 Médecine Interne **Directeur ERSSM**
 Physiologie
 Microbiologie

Pr. CHEMSI Mohamed*
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. DARBI Abdellatif*
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. EL SAYEGH Hachem
 Pr. ERRABIH Ikram
 Pr. LAMALMI Najat
 Pr. MOSADIK Ahlam
 Pr. MOUJAHID Mountassir*
 Pr. ZOUAIDIA Fouad

Decembre 2010

Pr. ZNATI Kaoutar

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
 Pr. ABOUELALAA Khalil*
 Pr. BENCHEBBA Driss*
 Pr. DRISSI Mohamed*
 Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
 Pr. EL OUAZZANI Hanane*
 Pr. ER-RAJI Mounir
 Pr. JAHID Ahmed

Février 2013

Pr. AHID Samir
 Pr. AIT EL CADI Mina
 Pr. AMRANI HANCHI Laila
 Pr. AMOR Mourad
 Pr. AWAB Almahdi
 Pr. BELAYACHI Jihane
 Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
 Pr. BENCHEKROUN Laila
 Pr. BENKIRANE Souad
 Pr. BENSGHIR Mustapha*
 Pr. BENYAHIA Mohammed*
 Pr. BOUATIA Mustapha
 Pr. BOUABID Ahmed Salim*
 Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
 Pr. CHAIB Ali*
 Pr. DENDANE Tarek
 Pr. DINI Nouzha*
 Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI
 Mohamed Ali
 Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
 Pr. ELFATEMI NIZARE
 Pr. EL GUERROUJ Hasnae
 Pr. EL HARTI Jaouad
 Pr. EL JAOUDI Rachid*

*Enseignants Militaires

Médecine Aéronautique
 Biochimie- Chimie
 Radiologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie Plastique et Réparatrice
 Urologie
 Gastro-Entérologie
 Anatomie Pathologique
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie Générale
 Anatomie Pathologique

Anatomie Pathologique

Chirurgie pédiatrique
 Anesthésie Réanimation
 Traumatologie-orthopédie
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie Générale
 Pneumophtisiologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie Pathologique

Pharmacologie
 Toxicologie
 Gastro-Entérologie
 Anesthésie-Réanimation
 Anesthésie-Réanimation
 Réanimation Médicale
 Anesthésie-Réanimation
 Biochimie-Chimie
 Hématologie
 Anesthésie Réanimation
 Néphrologie
 Chimie Analytique et Bromatologie
 Traumatologie orthopédie
 Anatomie
 Cardiologie
 Réanimation Médicale
 Pédiatrie
 Anesthésie Réanimation

Radiologie
 Neuro-chirurgie
 Médecine Nucléaire
 Chimie Thérapeutique
 Toxicologie

Pr. EL KABABRI Maria
 Pr. EL KHANNOUSSI Basma
 Pr. EL KHLOUFI Samir
 Pr. EL KORAICHI Alae
 Pr. EN-NOUALI Hassane*
 Pr. ERRGUIG Laila
 Pr. FIKRI Meryem
 Pr. GHFIR Imade
 Pr. IMANE Zineb
 Pr. IRAQI Hind
 Pr. KABBAJ Hakima
 Pr. KADIRI Mohamed*
 Pr. LATIB Rachida
 Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
 Pr. MEDDAH Bouchra
 Pr. MELHAOUI Adyl
 Pr. MRABTI Hind
 Pr. NEJJARI Rachid
 Pr. OUBEJJA Houda
 Pr. OUKABLI Mohamed*
 Pr. RAHALI Younes
 Pr. RATBI Ilham
 Pr. RAHMANI Mounia
 Pr. REDA Karim*
 Pr. REGRAGUI Wafa
 Pr. RKAIN Hanan
 Pr. ROSTOM Samira
 Pr. ROUAS Lamiaa
 Pr. ROUIBAA Fedoua*
 Pr. SALIHOUN Mouna
 Pr. SAYAH Rochde
 Pr. SEDDIK Hassan*
 Pr. ZERHOUNI Hicham
 Pr. ZINE Ali*

AVRIL 2013

Pr. EL KHATIB MOHAMED KARIM*

MARS 2014

Pr. ACHIR Abdellah
 Pr. BENCHAKROUN Mohammed*
 Pr. BOUCHIKH Mohammed
 Pr. EL KABBAJ Driss*
 Pr. EL MACHTANI IDRISSE Samira*
 Pr. HARDIZI Houyam
 Pr. HASSANI Amale*
 Pr. HERRAK Laila
 Pr. JEAIDI Anass*
 Pr. KOUACH Jaouad*
 Pr. MAKRAM Sanaa*
 Pr. RHISSASSI Mohamed Jaafar

*Enseignants Militaires

Pédiatrie
 Anatomie Pathologique
 Anatomie
 Anesthésie Réanimation
 Radiologie
 Physiologie
 Radiologie
 Médecine Nucléaire
 Pédiatrie
 Endocrinologie et maladies métaboliques
 Microbiologie
 Psychiatrie
 Radiologie
 Médecine Interne
 Pharmacologie
 Neuro-chirurgie
 Oncologie Médicale
 Pharmacognosie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie Pathologique
 Pharmacie Galénique **Vice-Doyen à la Pharmacie**
 Génétique
 Neurologie
 Ophtalmologie
 Neurologie
 Physiologie
 Rhumatologie
 Anatomie Pathologique
 Gastro-Entérologie
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Traumatologie Orthopédie

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale

Chirurgie Thoracique
 Traumatologie- Orthopédie
 Chirurgie Thoracique
 Néphrologie
 Biochimie-Chimie
 Histologie- Embryologie-Cytogénétique
 Pédiatrie
 Pneumologie
 Hématologie Biologique
 Gynécologie-Obstétrique
 Pharmacologie
 CCV

Pr. SEKKACH Youssef*
Pr. TAZI MOUKHA Zakia

DECEMBRE 2014

Pr. ABILKACEM Rachid*
Pr. AIT BOUGHIMA Fadila
Pr. BEKKALI Hicham*
Pr. BENAZZOU Salma
Pr. BOUABDELLAH Mounya
Pr. BOUCHRIK Mourad*
Pr. DERRAJI Soufiane*
Pr. EL AYOUBI EL IDRISSE Ali
Pr. EL GHADBANE Abdedaim Hatim*
Pr. EL MARJANY Mohammed*
Pr. FEJJAL Nawfal
Pr. JAHIDI Mohamed*
Pr. LAKHAL Zouhair*
Pr. OUDGHIRI NEZHA
Pr. RAMI Mohamed
Pr. SABIR Maria
Pr. SBAI IDRISSE Karim*

AOUT 2015

Pr. MEZIANE Meryem
Pr. TAHIRI Latifa

PROFESSEURS AGREGES :

JANVIER 2016

Pr. BENKABBOU Amine
Pr. EL ASRI Fouad*
Pr. ERRAMI Nouredine*
Pr. NITASSI Sophia

JUIN 2017

Pr. ABI Rachid*
Pr. ASFALOU Ilyasse*
Pr. BOUAITI El Arbi*
Pr. BOUTAYEB Saber
Pr. EL GHISSASSI Ibrahim
Pr. HAFIDI Jawad
Pr. MAJBAR Mohammed Anas
Pr. OURAINI Saloua*
Pr. RAZINE Rachid
Pr. SOUADKA Amine
Pr. ZRARA Abdelhamid*

MAI 2018

Pr. AMMOURI Wafa
Pr. BENTALHA Aziza
Pr. EL AHMADI Brahim
Pr. EL HARRECH Youness*
Pr. EL KACEMI Hanan
Pr. EL MAJJAOUI Sanaa
Pr. FATIHI Jamal*

*Enseignants Militaires

Médecine Interne
Génécologie-Obstétrique

Pédiatrie
Médecine Légale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Maxillo-Faciale
Biochimie-Chimie
Parasitologie
Pharmacie Clinique
Anatomie
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Chirurgie Réparatrice et Plastique
O.R.L
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Psychiatrie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.

Dermatologie
Rhumatologie

Chirurgie Générale
Ophtalmologie
O.R.L
O.R.L

Microbiologie
Cardiologie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Oncologie Médicale
Oncologie Médicale
Anatomie
Chirurgie Générale
O.R.L
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Chirurgie Générale
Immunologie

Médecine interne
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Urologie
Radiothérapie
Radiothérapie
Médecine Interne

Pr. GHANNAM Abdel-Ilah
Pr. JROUNDI Imane
Pr. MOATASSIM BILLAH Nabil
Pr. TADILI Sidi Jawad
Pr. TANZ Rachid*

NOVEMBRE 2018

Pr. AMELLAL Mina
Pr. SOULY Karim
Pr. TAHRI Rajae

NOVEMBRE 2019

Pr. AATIF Taoufiq*
Pr. ACHBOUK Abdelhafid*
Pr. ANDALOUSSI SAGHIR Khalid
Pr. BABA HABIB Moulay Abdellah*
Pr. BASSIR RIDA ALLAH
Pr. BOUATTAR TARIK
Pr. BOUFETTAL MONSEF
Pr. BOUCHENTOUF Sidi Mohammed*
Pr. BOUZELMAT HICHAM*
Pr. BOUKHRIS JALAL*
Pr. CHAFRY BOUCHAIB*
Pr. CHAHDI HAFSA*
Pr. CHERIF EL ASRI ABAD*
Pr. DAMIRI AMAL*
Pr. DOGHMI NAWFAL*
Pr. ELALAOUI SIDI-YASSIR
Pr. EL ANNAZ HICHAM*
Pr. EL HASSANI MOULAY EL MEHDI*
Pr. EL HJOUJI ABDERRAHMAN*
Pr. EL KAOUI HAKIM*
Pr. EL WALI ABDERRAHMAN*
Pr. EN-NAFAA ISSAM*
Pr. HAMAMA JALAL*
Pr. HEMMAOUI BOUCHAIB*
Pr. HJIRA NAOUFAL*
Pr. JIRA MOHAMED*
Pr. JNIE NE ASMAA
Pr. LARAQUI HICHAM*
Pr. MAHFOUD TARIK*
Pr. MEZIANE MOHAMMED*
Pr. MOUTAKI ALLAH YOUNES*
Pr. MOUZARI YASSINE*
Pr. NAOUI HAFIDA*
Pr. OBTEL MAJDOULINE
Pr. OURRAI ABDELHAKIM*
Pr. SAOUAB RACHIDA*
Pr. SBITTI YASSIR*
Pr. ZADDOUG OMAR*
Pr. ZIDOUH SAAD*

*Enseignants Militaires

Anesthésie-Réanimation
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Oncologie Médicale

Anatomie
Microbiologie
Histologie-Embryologie-Cytogénétique

Néphrologie
Chirurgie réparatrice et plastique
Radiothérapie
Gynécologie-Obstétrique
Anatomie
Néphrologie
Anatomie
Chirurgie-Générale
Cardiologie
Traumatologie-Orthopédie
Traumatologie-Orthopédie
Anatomie pathologique
Neuro-chirurgie
Anatomie Pathologique
Anesthésie-Réanimation
Pharmacie-Galénique
Virologie
Gynécologie-Obstétrique
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Radiologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
O.R.L
Dermatologie
Médecine interne
Physiologie
Chirurgie-Générale
Oncologie Médicale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Parasitologie-Mycologie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Pédiatrie
Radiologie
Oncologie Médicale
Traumatologie-Orthopédie
Anesthésie-Réanimation

2. ENSEIGNANTS-CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie-chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BARKIYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie Vice-Doyen chargé de la Rech. et de la Coop.
Pr. FAOUZI Moulay El Abbas	Pharmacologie
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire/Biotechnologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Mohammed	Chimie Organique
Pr. RIDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie

PROFESSEURS HABILITES :

Pr. BENZEID Hanane	Chimie
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie-chimie
Pr. DOUKKALI Anass	Chimie Analytique
Pr. EL JASTIMI Jamila	Chimie
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Histologie-Embryologie
Pr. LYAHYAI Jaber	Génétique
Pr. OUADGHIRI Mouna	Microbiologie et Biologie
Pr. RAMLI Youssef	Chimie
Pr. SERRAGUI Samira	Pharmacologie
Pr. TAZI Ahnini	Génétique
Pr. YAGOUBI Maamar	Eau, Environnement

Mise à jour le 05/03/2021

KHALED Abdellah

Chef du Service des Ressources Humaines

FMPR

*Enseignants Militaires

DEDICACES

*A mes chers parents Monsieur CHERRAT Ahmed
et Madame CHERRAT Latifa*

Vous étiez toujours une source de soutien et de motivation. Ma réussite dans la vie n'est que le résultat de vos encouragements et de vos sacrifices. Grâce à votre compréhension, votre amour et votre confiance en moi j'ai pu accomplir énormément d'objectifs dans ma vie dont la réussite de mes études n'est qu'un exemple.

Qu'Allah le tout puissant vous accorde une longue vie pleine de bonheur et vous comble de santé

A mes chères sœurs Loubna et Lamia et mon cher frère Sami

*Votre affection et votre soutien moral est essentiel pour ma réussite. Qu'Allah
vous procure le bonheur et vous aide à réaliser tous vos rêves.*

A la mémoire de mon grand père

*Ton visage gai et souriant, tes histoires et tes encouragements resteront pour
toujours gravés dans mon cœur*

Que ton âme repose en paix

A chaque membre de ma grande famille

Je vous dédie ce travail et je vous remercie pour tous vos encouragements

A mes chers amis

Je vous dédie ce travail en témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de réussite.

A toute personne ayant contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail, que ce travail soit le fruit de votre soutien

REMERCIEMENTS

A Notre maitre, Présidente de thèse
Madame Le Professeur BENKIRANE Souad
Hématologie Biologique Hôpital Ibn Sina-Rabat

Je suis très touchée par l'honneur que vous m'avez fait en acceptant de me confier ce travail. Vous m'avez éblouie par votre sérieux, votre sympathie, votre modestie, votre honnêteté et toutes vos qualités humaines. Je vous remercie infiniment pour avoir consacré à ce travail une partie de votre temps précieux et de m'avoir guidé avec rigueur et bienveillance.

*A Mon directeur de thèse,
Monsieur Le Professeur MASRAR Azlarab,
Hématologie Biologique Hôpital Ibn Sina-Rabat*

Je suis très touchée par l'honneur que vous m'avez fait en acceptant de me confier ce travail. Vous m'avez éblouie par votre sérieux, votre sympathie, votre modestie, votre honnêteté et toutes vos qualités humaines. Je vous remercie infiniment pour avoir consacré à ce travail une partie de votre temps précieux et de m'avoir guidé avec rigueur et bienveillance.

À notre maitre, Juge de thèse
Monsieur Le Professeur DAMI Abdallah
Hématologie Biologique C.T.S- H.M.I.M.V-RABAT

*Vous nous faites l'honneur d'accepter avec une très grande amabilité de siéger
parmi notre jury de thèse.*

*Veillez accepter ce travail maitre, en gage de notre grand respect et notre
profonde reconnaissance.*

A notre maitre, Juge de thèse
Monsieur Le Professeur JEALDI Anass
Hématologie Biologique C.T.S- H.M.I.M.V-RABAT

Nous avons été très sensibles à l'amabilité de votre accueil et l'intérêt que vous avez accordé à ce travail en acceptant de le juger.

Que votre bonté, votre amour pour les enfants du service, et votre dévouement professionnel soient pour nous l'idéal à atteindre.

Veillez trouver ici, cher maître, le témoignage de notre reconnaissance et de notre grande estime.

Puisse Dieu le tout puissant vous accorder bonne santé, prospérité et bonheur

*LISTE DES
ABREVIATIONS*

Aa	: Acide aminé
AHA	: Anémie hémolytique auto-immune
Ala	: Alanine
Arg	: Arginine
cb5r	: Cytochrome b5 réductase
CDO	: Courbe de dissociation de l'oxygène
COHb	: Carboxyhémoglobine
Cys	: Cystéine
DDS	: 4-4' diaminodiphnylsulfone
FAD	: Flavine adénine dinucléotide
G6PD	: Glucose-6-phosphate-déshydrogénase
Gln	: Glutamine
Gly	: Glycine
GSH	: Glutathion réduit
GSSG	: Glutathion oxydé
Hb	: Hémoglobine
HbA	: Hémoglobine adulte
HbF	: Hémoglobine fœtale
HbM	: hémoglobine M

HbO₂	: Oxyhémoglobine
HHb	: Désoxyhémoglobine
His	: Histidine
KCN	: Cyanure de potassium
MCR	: Méthémoglobinémie congénitale récessive
MetHb	: Méthémoglobine
NAD	: Nicotinamide adénine dinucléotide
NADP	: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
Ncb5or	: NAD(P)H cytochrome b5 oxydoréductase
P50	: Pression partielle d'oxygène pour laquelle la saturation de l'hémoglobine en oxygène est de 50%
SaO₂	: Saturation artérielle en oxygène
SOD	: Superoxyde dismutase
SpO₂	: saturation pulsée de l'hémoglobine en O ₂
SulfHb	: Sulfhémoglobine
tHb	: Concentration totale en hémoglobine
Tyr	: Tyrosine

*LISTE DES
ILLUSTRATIONS*

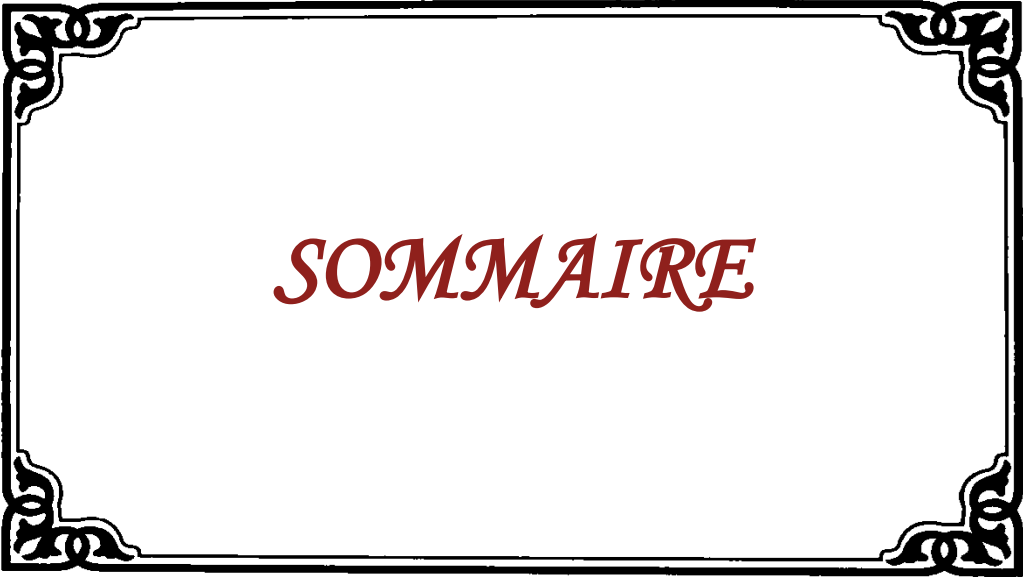
Liste des figures

Figure 1: Schéma simplifié d'un tétramère d'hémoglobine et ses différentes zones de contact.	6
Figure 2: Schéma d'une molécule d'hémoglobine adulte A	7
Figure 3: Schéma de l'hème avec l'oxyhémoglobine et la désoxyhémoglobine	9
Figure 4: Séquence primaire en acides aminés des chaînes α et β de globine	10
Figure 5: Schéma de la structure tertiaire d'une sous unité de l'hémoglobine	11
Figure 6: Schéma de la structure en hélices des chaînes de la globine humaine avec les numéros d'ordre des acides aminés correspondants	12
Figure 7: Les 8 étapes de la biosynthèse de l'hème.....	15
Figure 8: Les gènes de globine α et β	17
Figure 9: Fixation de l'oxygène sur l'hème (a) structure de l'hème dans une sous-unité de α l'Hb (b) modification de la géométrie de l'hème lors de la fixation de l'oxygène.....	20
Figure 10: Changement de la structure quaternaire de l'hémoglobine lors du passage de la forme désoxygénée à la forme oxygénée.....	21
Figure 11: Courbe de dissociation de l'oxygène.....	22
Figure 12: Effet de la variation du pH et du PCO ₂ sur la courbe de dissociation de l'oxygène	23
Figure 13: Les différents états du fer selon le type d'hémoglobine.....	28
Figure 14: Les réactions aboutissant à la formation de MetHb dans le globule rouge	30
Figure 15: Déplacement de la courbe de dissociation de l'oxygène vers la gauche en cas de méthémoglobinémie	35
Figure 16: Les pics d'absorption de la méthémoglobine	37
Figure 17: Les spectres d'absorption pour 4 états de ligands d'hémoglobine humaine adulte[21]	39
Figure 18: Les principales voies de réduction de la méthémoglobine	42
Figure 19: Réduction de la méthémoglobine par la voie NADH dépendante.....	43

Figure 20: A. diagramme schématique de domaines individuels dans le Ncb5or humain B. alignement séquentiel de Ncb5or humain (bas) et Cyb5A humain (haut) montrant les segments hélicoïdaux.	45
Figure 21 : Schéma montrant le transfert d'électrons et de protons par le complexe CYB5R.	48
Figure 22: Structure cristallographique par rayons X du cytochrome b5 réductase	50
Figure 23: Alignement de plusieurs séquences de la structure primaire de CYB5R	51
Figure 24: Effet du déficit en G6PD sur la production du NADP dans la voie du phosphate pentose.....	54
Figure 25: Réduction de la méthémoglobine par la voie NADPH dépendante	55
Figure 26: Réduction de la méthémoglobine par la voie du glutathion	56
Figure 27 : Réduction de la méthémoglobine par la voie de l'acide ascorbique	57
Figure 28: Schéma regroupant les différentes voies de réduction de la méthémoglobine	58
Figure 29: Les causes possibles impliquées dans la MCR type II	68
Figure 30: séquence d'acide aminé du Cb5R avec l'emplacement des mutations.....	74
Figure 31: Le mécanisme antimicrobien du DDS	86
Figure 32 : Les effets hématologiques secondaires aux métabolites hydroxylés du dapson[36]	89
Figure 33 : Le mécanisme d'action toxique des dérivés aminés et nitrés aromatiques	92
Figure 34 : Image comparative entre la couleur du sang veineux contenant la MetHb et celui d'un patient normal	104
Figure 35 : Orientation clinique devant une cyanose dans un contexte de MetHb.....	110
Figure 36: les spectres d'absorption de la sulfhémoglobine	112
Figure 37: courbe de dissociation de l'oxygène avec l'effet des différents facteurs.....	114
Figure 38: courbes d'absorption molaire des dérivés purifiés de l'hémoglobine.	117
Figure 39: SaO ₂ et FO ₂ Hb par rapport à la MetHb fractionnelle (FMetHb) à une fraction d'oxygène inspirée (FiO ₂)=1.0.....	119
Figure 40: comparaison du spectre d'absorbance de la MetHb purifiée avec 2 variantes de l'HbM: M Saskatoon et M Hyde Park	127
Figure 41 : les approches thérapeutiques devant une suspicion de MetHb.....	144

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les différentes variantes de l'hémoglobine M, de l'hémoglobine fœtale M et les anomalies structurales des globines correspondantes	60
Tableau 2 : Les mutations naturelles du gène CyB5R humain et le type de MCR associé	75
Tableau 3 : Les substances pouvant induire une méthémoglobinémie	81
Tableau 4 : Les agents chimiques capables d'induire une méthémoglobinémie	83
Tableau 5 : L'incidence de certaines substances responsables de méthémoglobinémie	84
Tableau 6 : Les symptômes cliniques en fonction du taux de MetHb dans le sang	103
Tableau 7 : les caractéristiques de la CO-oxymétrie	121
Tableau 8 : les méthodes analytiques utilisées pour mesurer la saturation de l'oxygène	123
Tableau 9 : description chimique du bleu de méthylène	134
Tableau 10 : les orientations thérapeutiques devant les différentes présentations de la méthémoglobinémie	137



SOMMAIRE

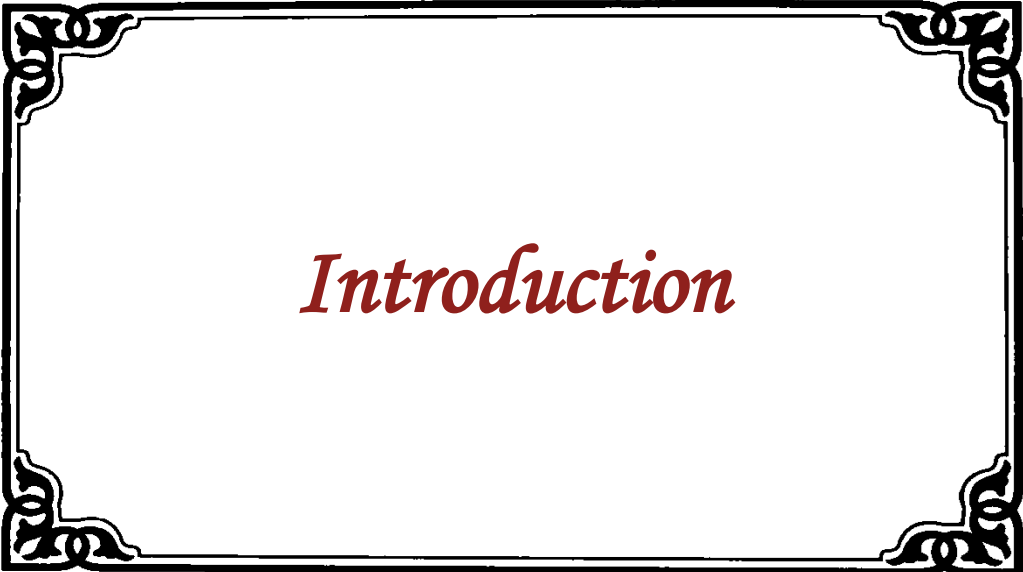
<i>Introduction</i>	1
<i>Première partie : rappel structural et physiologique</i>	4
<i>I. Rappel sur les hémoglobines humaines normales</i>	5
1. Structure de la molécule d'hémoglobine	5
1.1. Structure de l'hème	7
1.2. Structure de la globine	9
1.3. Liaisons hème-globine	12
2. Biosynthèse de l'hémoglobine humaine	13
2.1. Biosynthèse de l'hème	13
2.2. Biosynthèse des chaînes de globine	16
2.2.1. Les gènes de globine	16
2.2.2. La régulation des gènes de globine	18
3. Evolution ontogénique des hémoglobines	18
<i>II. Fonctions de la molécule de l'hémoglobine</i>	19
1. Le transport de l'oxygène	19
1.1. Courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine	21
1.2. Régulation de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène	22
1.2.1. La température	22
1.2.2. Effet de Bohr	23
1.2.3. Le rôle du 2-3 diphosphoglycérate (2-3 DPG)	24
2. Transport du gaz carbonique (CO ₂) et équilibre carbonates-bicarbonates	25
3. Autres fonctions	25
<i>Deuxième partie : La physiopathologie de la méthémoglobinémie</i>	26
<i>I. Définitions</i>	27
<i>II. Formation de la méthémoglobine</i>	29
1. Le potentiel d'oxydoréduction	33
2. Les propriétés physicochimiques des méthémoglobines	34

3. Propriétés spectrales et mesures	36
4. Méthémoglobinémie et transport d'oxygène.....	39
III. Mécanismes physiologiques de réduction de la méthémoglobine.....	40
1. La réduction endogène directe	41
1.1. La voie NADH-cytochrome b5 réductase.....	42
1.1.1. Le cytochrome b5.....	43
1.1.2. La cytochrome b5-réductase	45
1.1.2.1. La structure tridimensionnelle du cytochrome b5 réductase	48
1.1.2.2. Le gène du cytochrome b5 réductase	50
1.1.2.3. Rôles biologiques de la NADH-cytochrome b5 réductase :.....	51
1.2. Le système de réduction NADPH réductase.....	52
1.2.1. La glucose-6-phosphate-déshydrogénase.....	53
1.2.2. La riboflavine	55
2. Les voies accessoires de réduction de la méthémoglobine	56
2.1. La réduction par le glutathion	56
2.2. La réduction par l'acide ascorbique.....	57
IV. Les différents types de méthémoglobinémie.....	59
1. L'hémoglobinoses M	59
1.1. Historique et Définitions.....	59
1.2. Propriétés spectrales.....	60
1.3. Propriétés fonctionnelles.....	61
2. Les méthémoglobinémies congénitales récessives.....	63
2.1. Généralités	64
2.1.1. Historique	64
2.1.2. Définitions.....	66
2.1.2.1. MCR type I	66
2.1.2.2. MCR type II.....	67
2.2. Etude génétique.....	69
2.2.1. Le gène CYB5R3	69

2.2.2. Acides ribonucléiques messagers (ARNm) de la cytochrome b5 réductase	70
2.2.3. Les variantes naturelles du gène CYB5R3.....	70
2.3. La méthémoglobinémie par déficit en cytochrome b5	77
3. La méthémoglobinémie acquise	77
3.1. Classification des agents méthémoglobinisants :.....	78
3.1.1. Classification selon l'origine de l'intoxication :	78
3.1.2. Classification selon la nature chimique	79
3.1.2.1. Composés minéraux	79
3.1.2.2. Composés organiques	79
3.1.3. Classification selon le mode d'action.....	80
3.2. Les principaux agents méthémoglobinisants	81
3.2.1. Les nitrites/nitrates, la nitroglycérine et l'oxyde nitrique	85
3.2.2. La dapsonne.....	86
3.2.2.1. Définition et application	86
3.2.2.2. Les effets indésirables	88
3.2.2.3. Les mécanismes responsables de méthémoglobinémie.....	89
3.2.3. Le nitrobenzène	91
3.2.4. Les anesthésiques locaux	93
3.2.4.1. La lidocaïne	93
3.2.4.2. La benzocaïne	94
3.3. Les facteurs prédisposant	96
3.3.1. L'administration concomitante de plus d'un médicament oxydant	96
3.3.2. La dose administrée.....	97
3.3.3. La durée du traitement.....	97
3.3.4. La voie d'administration et la surface du corps	98
3.3.5. L'âge.....	98
3.3.6. Le terrain	98
3.3.7. Les facteurs héréditaires	99
3.3.8. Le régime alimentaire et l'eau	99

<i>Troisième partie : la méthémoglobinémie du diagnostic à la thérapeutique</i>	<i>101</i>
<i>I. Diagnostic de la méthémoglobinémie</i>	<i>102</i>
1. Présentation clinique	102
2. Le diagnostic différentiel.....	108
3. Confirmation du diagnostic	113
3.1. Les mesures de l'état d'oxygénation en laboratoire	113
3.2. Les méthodes spectrophotométriques d'analyse	116
3.2.1. L'oxymétrie de pouls	117
3.2.2. La CO-oxymétrie.....	119
3.3. Les méthodes non spectrophotométriques d'analyse.....	122
4. Le diagnostic de la méthémoglobinémie proprement-dit.....	124
4.1. Test de la couleur du sang.....	124
4.2. La gazométrie artérielle	124
4.3. Les méthodes de spectrophotométrie	125
4.4. Le test au cyanure de potassium	131
4.5. La mesure de l'activité du cytochrome b5 réductase.....	131
4.6. L'électrophorèse	131
5. Le diagnostic prénatal	132
<i>II. La prise en charge thérapeutique</i>	<i>132</i>
1. Le traitement par le bleu de méthylène	133
1.1. Mécanisme d'action	133
1.2. Posologie.....	135
1.3. Les effets indésirables.....	137
1.4. Les interactions médicamenteuses	139
2. Les autres moyens thérapeutiques	140
2.1. L'acide ascorbique	140
2.2. La riboflavine.....	141
2.3. La cimétidine	141
2.4. La N-acétylcystéine	142

2.5. Thérapies diverses.....	142
3. Recommandations pour la prévention de la méthémoglobinémie	142
<i>Conclusion</i>	<i>145</i>
<i>Résumés</i>	<i>148</i>
<i>Les références bibliographiques</i>	<i>152</i>



Introduction

L'hémoglobine (Hb) est une métalloprotéine contenant du fer qui joue un rôle essentiel dans le transport de l'oxygène des poumons vers les tissus de l'organisme et du dioxyde de carbone des tissus vers les poumons.

Les hémoglobinopathies constituent actuellement un majeur problème de la santé publique. On recense aujourd'hui 1700 variants décrits dans les bases de données internationales en ligne (HbVAR). En effet, on estime que 5,2 % de la population présente un variant cliniquement significatif. Parmi ces variants instables, l'hémoglobine M était l'une des premières hémoglobinopathies à être décrites. Elle est le résultat de mutations touchant le plus souvent des acides aminés qui se trouvent à des positions importantes dans la poche de l'hème entraînant l'oxydation de l'atome de fer en Fe³⁺.

L'hémoglobine, dans le globule rouge ou dans le plasma, a la particularité de s'auto-oxyder ou de s'oxyder sous l'action de différents agents chimiques ou physiques endogènes ou exogènes formant la méthémoglobine.

L'oxydation de l'hémoglobine est un processus normal, quotidien et nécessaire vu qu'il s'agit de la première étape du catabolisme physiologique de l'hémoglobine dans le plasma. En revanche, dans le globule rouge circulant, le phénomène est à l'origine de la formation des méthémoglobines incapables d'assurer la fonction de transport de l'oxygène. Le globule rouge possède de nombreux systèmes enzymatiques ou chimiques, antioxydants ou réducteurs, capables de réguler l'oxydation du globule rouge permettant de maintenir un taux de méthémoglobinémie à une valeur voisine de 1 % chez l'adulte.

Toute perturbation de ces systèmes réducteurs du globule rouge, d'origine héréditaire suite à une anomalie structurale de l'hémoglobine ou un déficit enzymatique ou d'origine acquis sous l'effet de substances toxiques ou médicamenteuses agissant sur l'hémoglobine par des mécanismes diverses, peut entraîner une méthémoglobinémie significative capable d'induire des manifestations cliniques diverses et dont le maître symptôme est la cyanose.

Les objectifs recherchés à travers de ce travail sont notamment de :

- Rappeler les aspects structuraux et physiologiques de l'hémoglobine normale.
- Rapporter les principaux systèmes réducteurs de la méthémoglobine tout en analysant ses propriétés physicochimiques et spectrales.
- Connaître les diverses étiologies de la méthémoglobinémie et les principaux facteurs de risque.
- Rapporter les principaux aspects diagnostiques et thérapeutiques de la méthémoglobinémie décrits en littérature scientifique en soulignant l'intérêt de chaque méthode de diagnostic.

*Première partie :
Aspects structuraux
et physiologiques*

I. Rappel sur les hémoglobines humaines normales

1. Structure de la molécule d'hémoglobine

La structure spatiale de l'hémoglobine a été découverte grâce à la diffraction par Rayons X dans les années 1960[1].

Chaque molécule d'hémoglobine est un hétérotétramère constitué de quatre sous unités de globine identiques par paires, il s'agit donc d'une protéine globulaire avec deux monomères α longs de 141 acides aminés et deux monomères β possédant 146 résidus d'acides aminés. Au sein de chaque globine, on trouve une molécule d'hème qui est définie comme étant une ferroporphyrine de type IX. Elle est constituée d'un noyau porphyrique et d'un atome de fer central sous forme réduite (Fe^{2+}) seule forme capable de fixer l'oxygène. La forme oxydée (Fe^{3+}) est impropre au transport de l'oxygène et correspond à la méthémoglobine[2]. L'hème est logé dans une crevasse hydrophobe afin d'éviter l'oxydation de la molécule de fer.

L'hémoglobine possède donc une structure primaire définie par la séquence en acides aminés des chaînes de globine, une structure secondaire (alternance d'hélices α et non α), une structure tertiaire permettant de délimiter une poche à hème grâce à l'arrangement tridimensionnel du monomère de globine qui la définit. Chaque chaîne de globine est repliée en huit hélices α numérotées de A à H avec l'hème qui siège entre les hélices E et F.

Enfin, la molécule d'hémoglobine possède une structure quaternaire définie par les interactions entre les monomères au sein du tétramère. Les chaînes α et β sont associées entre elles par des liaisons fortes ($\alpha 1\beta 1$ et $\alpha 2\beta 1$) qui jouent un rôle essentiel dans la stabilité et des liaisons faibles ($\alpha 1\beta 2$ et $\alpha 2\beta 1$) qui permettent d'assurer un processus de transition allostérique.

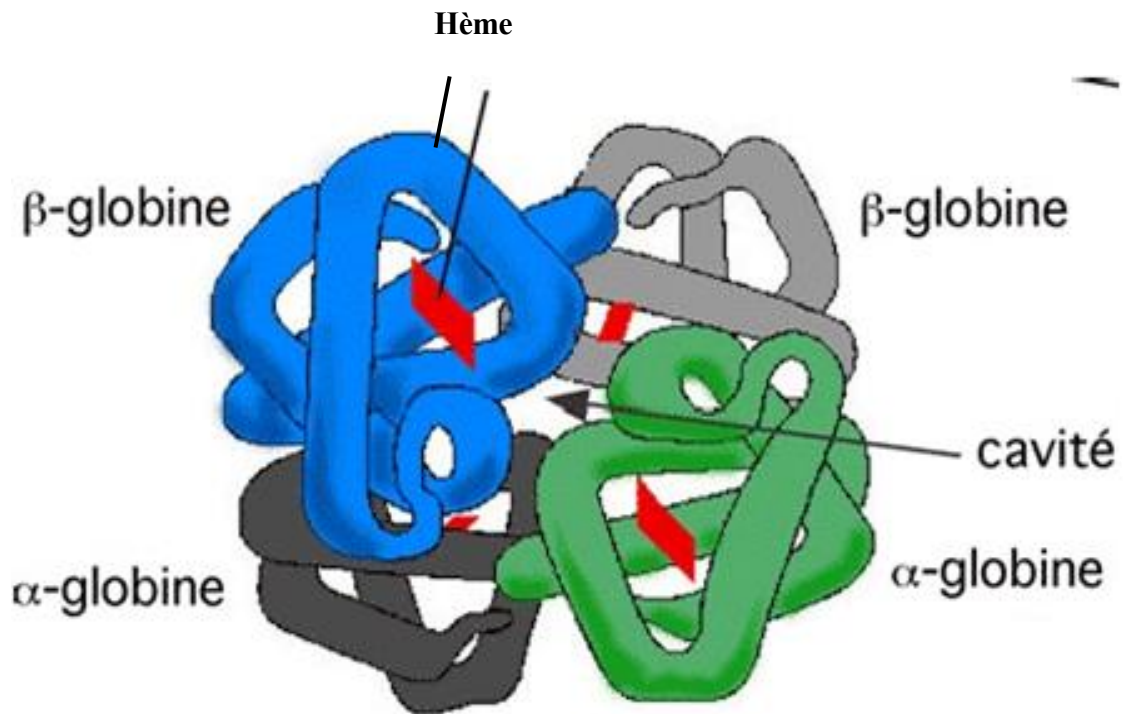


Figure 1: Schéma simplifié d'un tétramère d'hémoglobine et ses différentes zones de contact

<http://pages.usherbrooke.ca/bcm-514-bl/2d.html>.

La molécule d'hémoglobine existe en réalité sous deux formes en équilibre. Au cours de la fixation ou libération d'oxygène, les sous-unités de l'hémoglobine subissent des mouvements faisant intervenir les liaisons faibles : elles se contractent à l'état oxygéné et se dilatent à l'état désoxygéné.

La forme T "tendue" correspond à la forme oxygénée plus compacte avec une affinité plus faible pour l'oxygène en comparaison avec la forme R "relâchée" qui désigne la forme désoxygénée et qui est caractérisée par une plus forte affinité pour l'O₂.

L'atome de fer dans la forme relâchée n'est pas placé exactement dans le plan de l'hème et se trouve par conséquent dans un site plus proche de l'histidine proximale, la cavité centrale est plus petite ce qui augmente l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène. La stabilisation d'une forme ou d'autre dépend essentiellement de certains paramètres physiologiques.

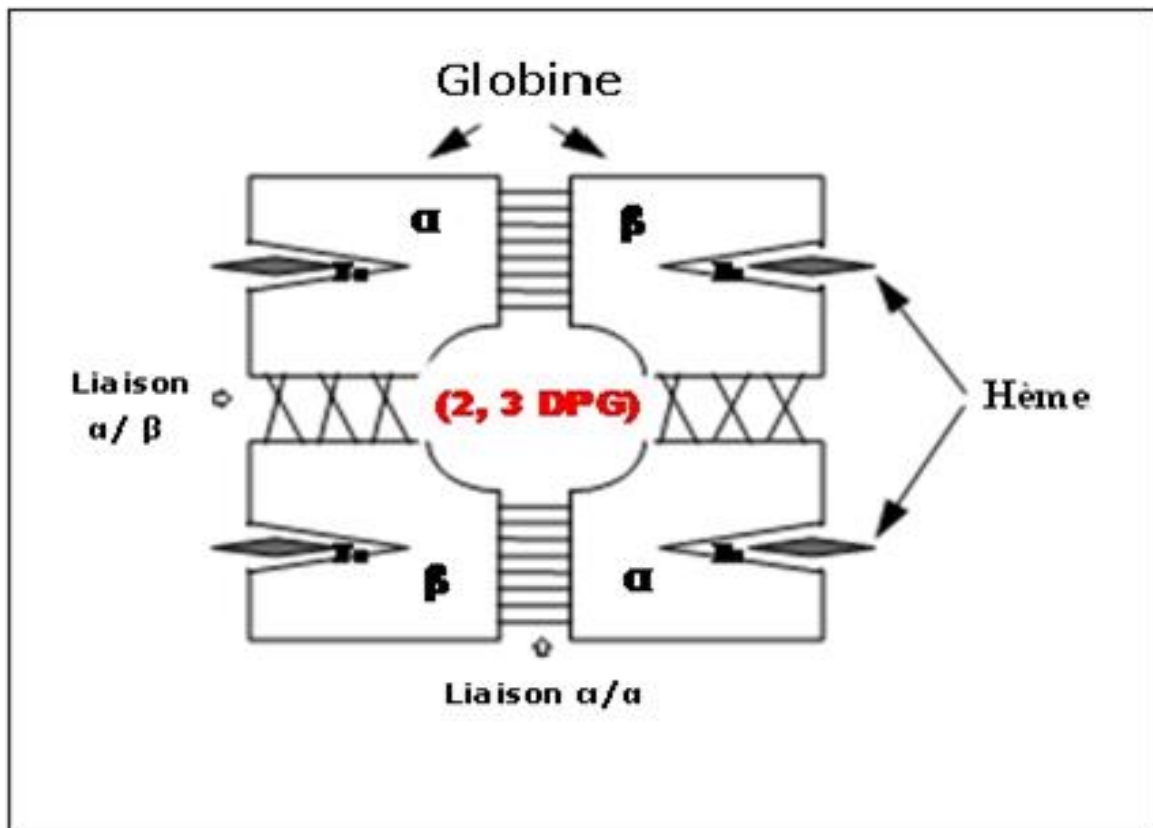


Figure 2: Schéma d'une molécule d'hémoglobine adulte A

1.1. Structure de l'hème

La molécule d'hème est une molécule plane, ou légèrement bombée selon le groupe, liée à sa sixième valence de coordination et dont la structure est constituée d'une protoporphyrine centrée d'un atome de fer et formée de quatre cycles pyrroliques unis par l'intermédiaire de ponts méthylènes (-CH=). Ces cycles sont substitués par des groupes vinyle, méthyle et propionate[3].

Que la molécule d'hémoglobine soit oxygénée (oxyhémoglobine) ou désoxygénée (désoxyhémoglobine), le fer reste sous sa forme réduite (Fe^{2+}).

L'atome de fer présente dans l'oxyhémoglobine comporte 6 liaisons de coordination dont 4 d'entre elles ont un rôle dans la structure de l'hème, la cinquième ancre l'hème à la globine au niveau de l'histidine proximale F8 et la dernière, appelée "ligand", assure la fixation de l' O_2 . Ce

ligand est en rapport avec l'histidine E7 (histidine dite « distale »). Dans la désoxyhémoglobine, où aucun ligand n'occupe la face distale de l'hème, le fer est pentacoordinné. Le volume de cet atome augmente suite à une distribution différente des électrons dans les couches périphériques[3].

Les mécanismes responsables des modifications de la configuration protéique qui accompagne la fixation d'O₂ sont également en rapport avec les changements de taille antérieurement décrits. Schématiquement, on peut résumer le rôle de la protéine entourant l'hème à[3] :

- (i) Un positionnement optimal de la molécule d'O₂,
- (ii) Une protection contre l'oxydation,
- (iii) Une modulation de la fonction oxyphorique.

La fixation d'une molécule d'O₂ sur une sous-unité modifie la poche de l'hème. Cette modification aura des répercussions sur les contacts entre les sous-unités ainsi que l'extrémité C-terminale de la chaîne β . Un mouvement de glissement et de rotation se produit ainsi au niveau de l'interface $\alpha 1\beta 2$ [3].

La conformation T (ou Tense) correspond à la forme désoxygénée et la conformation R (Relaxed) à la forme oxygénée. Une expulsion du 2,3-DPG de la cavité centrale accompagne la transition de la configuration désoxygénée à la configuration oxygénée[3].

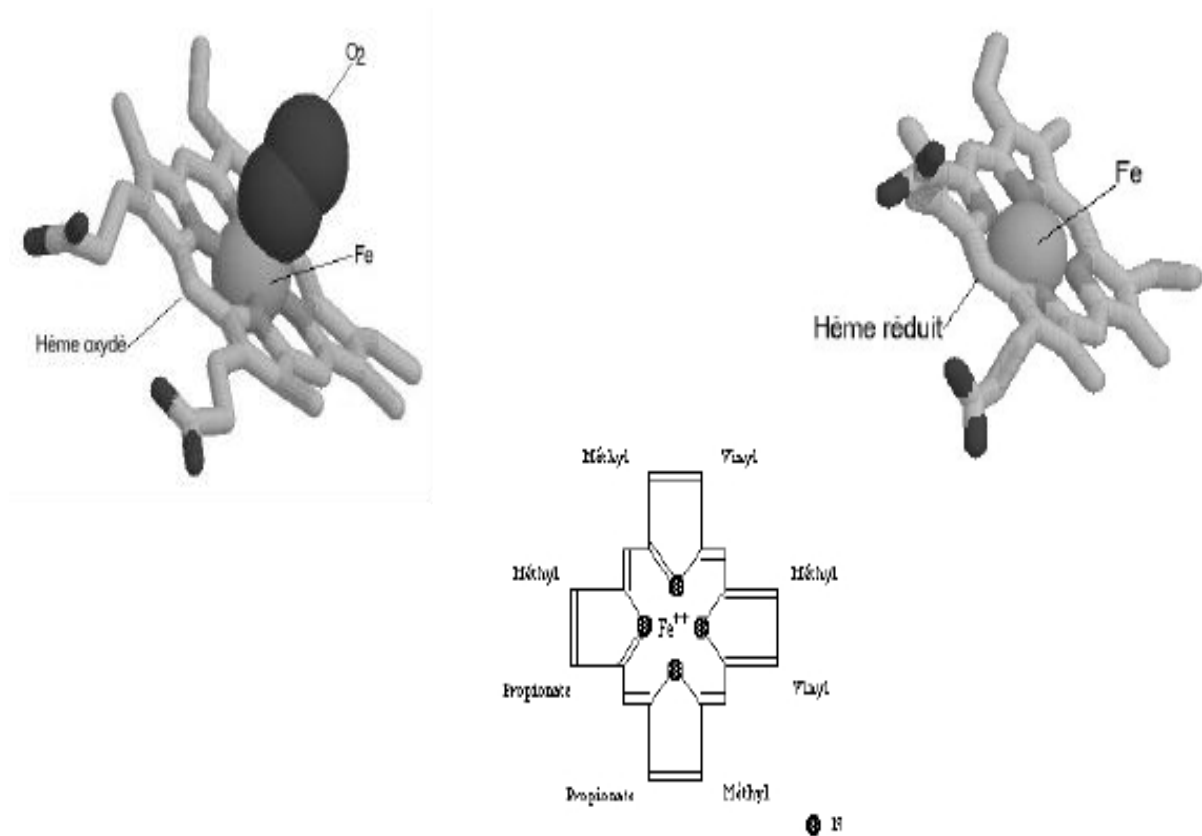


Figure 3: Schéma de l'hème avec l'oxyhémoglobine et la désoxyhémoglobine

[url :www.inrp.fr/Acces/biotic/gpe/dossiers/drepanocytose/](http://www.inrp.fr/Acces/biotic/gpe/dossiers/drepanocytose/)

1.2. Structure de la globine

La globine est formée par un ensemble de 4 chaînes polypeptidiques avec pour chaque molécule d'hémoglobine, 4 chaînes semblables deux à deux et appelées α et β pour l'hémoglobine A que l'on prendra pour type de description.

La globine de l'Hb A = $\alpha_2\beta_2$: chaque chaîne est un polypeptide, C'est-à-dire qu'elle est constituée d'acides aminés (146 pour la chaîne β et 141 pour la chaîne α) réunis par des liaisons peptidiques.

La chaîne α apparaît très tôt dans la vie embryonnaire et reste identique pour toutes les hémoglobines après les premières étapes de l'embryogenèse.

Une variation dans les chaînes non α se voit entre l'hémoglobine fœtale ($\alpha 2 \gamma 2$), l'hémoglobine adulte mineure A2 ($\alpha 2 \delta 2$) et l'hémoglobine adulte majeure A ($\alpha 2 \beta 2$). Les chaînes polypeptidiques forment pour chacune un long ruban d'acides aminés dans leurs structures primaires. Les chaînes non α présentent énormément de similitudes et sont constituées de 146 acides aminés :

- La chaîne δ ne diffère que par 10 aa de la chaîne β ;
- La chaîne γ ne diffère que par 39 acides aminés de la chaîne β ;
- A l'inverse de la chaîne β , l'isoleucine est un constituant de la chaîne γ contient;
- Les gènes γ sont dupliqués et codent aussi bien pour l'Alanine 136 que pour la Glycine 136 ;
- On remarque en plus un polymorphisme assez fréquent lié à la substitution de la Thréonine par l'isoleucine en position 75 de la chaîne A γ

Chaîne α : V-L-S-P-A-D-K-T-N-V-K-A-A-W-G-K-V-G-A-H-A-G-E-Y-G-AE-A-L-E-R-M-F-L-S-F-P-T-T-K-T-Y-F-P-H-F-D-L-S-H-G-S-A-Q-V-K-G-HG-K-K-V-A-D-A-L-T-N-A-V-A-H-F-D-O-M-P-N-A-L-S-A-L-S-D-L-H-A-HK-L-R-V-D-P-V-N-F-K-L-L-S-H-C-L-L-V-T-L-A-A-H-L-P-A-E-F-T-P-A-VH-A-S-L-D-K-F-L-A-S-V-S-T-V-L-T-S-K-Y-R

Chaîne β : V-H-L-T-P-E-E-K-S-A-V-T-A-L-W-G-K-V-N-V-D-E-V-G-G-E-AL-G-R-L-L-V-V-Y-P-W-T-Q-R-F-F-E-S-F-G-D-L-S-T-P-D-A-V-M-G-N-P-KV-K-A-H-G-K-K-V-L-G-A-F-S-D-G-L-A-H-L-D-N-L-K-G-T-F-A-T-L-S-E-LH-C-D-K-L-H-V-D-P-E-N-F-R-L-L-G-N-V-L-V-C-V-L-A-H-H-F-G-K-E-F-TP-P-V-Q-A-A-Y-Q-K-V-V-A-G-V-A-N-A-L-A-H-K-Y-H

Figure 4: Séquence primaire en acides aminés des chaînes α et β de globine

Une structure secondaire en hélice est réalisée grâce à l'enroulement de la chaîne formée sur elle-même en spirale. En fait l'hélice est discontinue, l'ensemble de la chaîne formant huit

segments hélicoïdaux, désignés par une lettre d'A à H, séparés par de courts segments non hélicoïdaux au niveau desquels se font des courbures pour donner à chaque chaîne sa forme définitive.

Les résidus sont numérotés en fonction de leurs positions à l'intérieur de chacun de ces segments. L'histidine liée au fer de l'hème constitue constamment le 8ème résidu de l'hélice F (F8). Les résidus, His F8 pour la 8ème position sur l'hélice F de la chaîne de globine ou l'His E7 pour la 7ème position de l'hélice E ont une même fonction quel que soit la chaîne de globine.

La stabilité de la molécule en structure tertiaire est assurée par des liaisons de différentes natures entre les acides aminés, ces derniers sont mis en contact par les courbures de la molécule. Tandis que les chaînes latérales de résidus hydrophiles tapissent la surface externe de la sous-unité facilitant les interactions avec le milieu aqueux ambiant, les régions internes sont par contre occupées principalement par des résidus hydrophobes qui stabilisent l'édifice moléculaire grâce à des échanges entre eux d'un très grand nombre de liaisons de faible énergie.

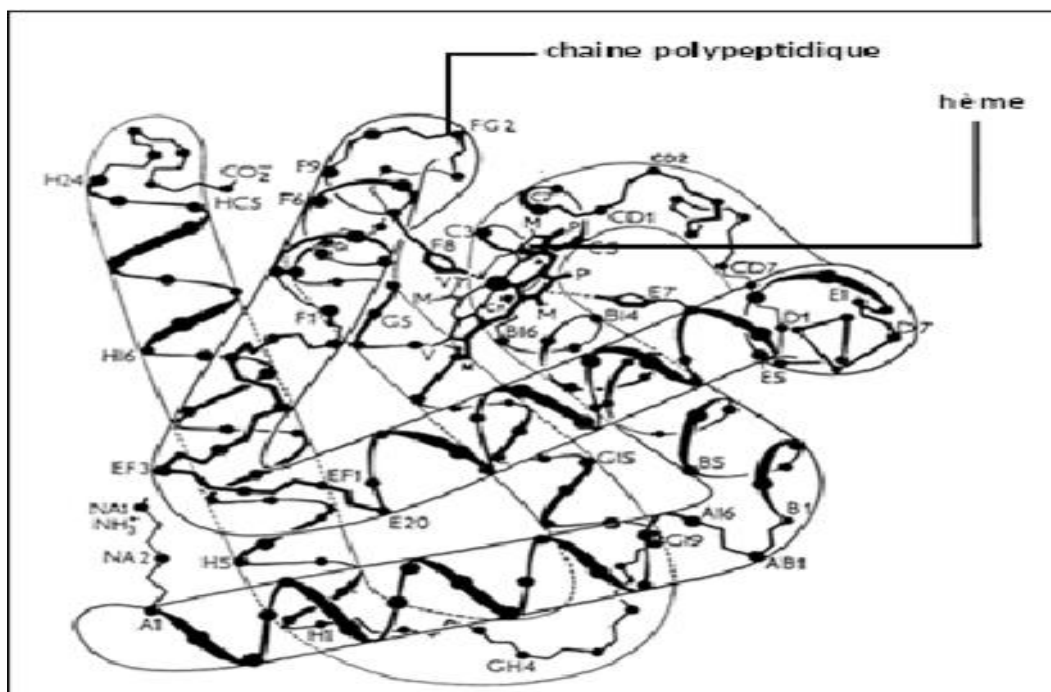


Figure 5: Schéma de la structure tertiaire d'une sous unité de l'hémoglobine

Enfin, deux chaînes β et de deux chaînes α se réunissent pour former une molécule symétrique globulaire qui constitue la structure quaternaire de l'hémoglobine. Dans cette structure tétramérique, les dimères sont disposés de telle manière à ce que la sous-unité $\alpha 1$ soit au contact de la sous-unité $\beta 2$ et $\alpha 2$ au contact de $\beta 1$. De plus, des rapports très intriqués sont assurés par cette disposition entre les chaînes latérales de résidus appartenant aux sous-unités non homologues, mais avec un très petit nombre de contacts entre les sous-unités identiques.

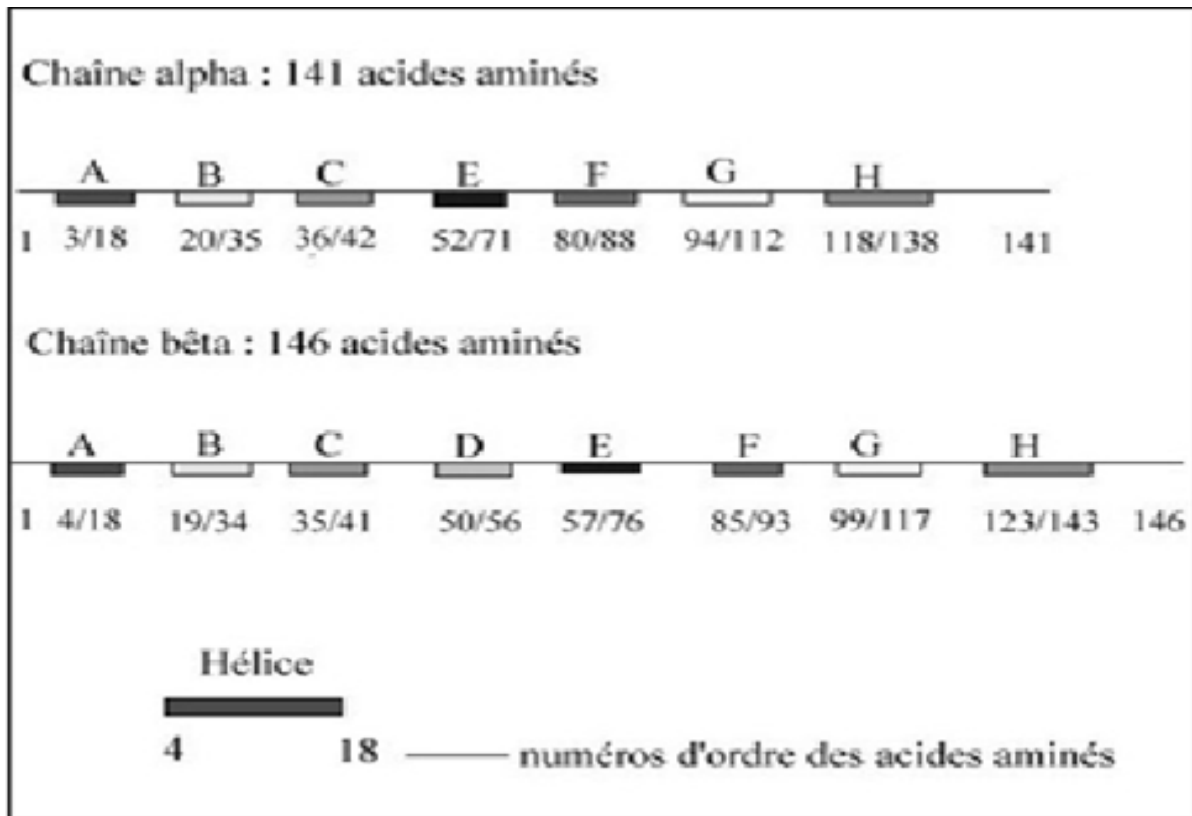


Figure 6: Schéma de la structure en hélices des chaînes de la globine humaine avec les numéros d'ordre des acides aminés correspondants

[url :www.inrp.fr/Acces/biotic/gpe/dossiers /drepanocytose](http://www.inrp.fr/Acces/biotic/gpe/dossiers/drepanocytose)

1.3. Liaisons hème-globine

La molécule de l'hème loge dans un repli superficiel appelé « poche de l'hème » fourni par la structure tertiaire de chaque chaîne de globine.

La fixation est assurée à la fois par des liaisons qui sont échangées entre les chaînes latérales d'acide propionique de l'hème et de la globine, et par l'atome du fer qui possède deux valences libres : l'une le fixe directement à la globine sur un résidu histidine dit « proximal », l'autre intervenant sur la face opposée de la molécule de l'hème fixe une molécule d'oxygène et par son intermédiaire assure un arrimage supplémentaire sur un autre résidu histidine dit « distal » de la globine.[4]

2. Biosynthèse de l'hémoglobine humaine

Les précurseurs des hématies sont les seuls à posséder un équipement nucléaire complet indispensable pour la biosynthèse de l'Hb. En effet, l'érythrocyte est dépourvue de tout équipement informationnel ou enzymatique nécessaire à la synthèse des protéines vu l'absence du noyau. L'hémoglobine contenue dans les globules rouges a donc été synthétisée au cours des étapes de l'érythropoïèse qui ont conduit à la formation de l'hématie mature.

La biosynthèse de l'hémoglobine débute au stade de proérythroblaste pour se terminer au stade du réticulocyte.

2.1. Biosynthèse de l'hème

La biosynthèse de l'hème comporte 8 étapes enzymatiques dont cinq étapes ont lieu dans la mitochondrie et trois étapes sont cytosoliques[5]

• Etape 1 :

La première enzyme de la voie de biosynthèse de l'hème est l'ALAS (acide Δ aminolévulinique synthase). L'isoforme 1 ALAS1 dont le gène est porté par le chromosome 3 est ubiquitaire tandis que la deuxième isoforme ALAS2 est impliquée dans la synthèse de l'hème au cours de l'érythropoïèse avec son gène porté par le 41 chromosome X.[6]

L'ALAS catalyse une réaction entre une glycine et un succinyl coenzyme A produit par le cycle de Krebs pour former l'acide Δ -aminolévulinique (ALA). Cette réaction nécessite un cofacteur, le phosphate de pyridoxal qui est un dérivé de la vitamine B6[7].

• Etapes 2 à 7 :

Les molécules d'ALA sortent de la mitochondrie pour rejoindre le cytosol, par un mécanisme encore inconnu.

La deuxième réaction de cette voie de biosynthèse correspond à une condensation de deux molécules d'ALA qui est catalysée par l'ALAD (acide Δ -aminolévulinique déhydratase) pour former un monopyrrole le PBG (porphobilinogène).[7]

La PBGD (PBG déaminase) ou HMBS (hydroxyméthylbilane synthase) catalyse au cours de la troisième étape la condensation de quatre molécules de PBG pour former l'hydroxyméthylbilane (HMB) qui correspond à un tétrapyrrole linéaire instable.

L'UROS (uroporphyrinogène III synthase) est la quatrième enzyme impliquée, elle catalyse la cyclisation et l'isomérisation de l'HMB pour former l'uroporphyrinogène III. Une cyclisation spontanée de HMB aussi a lieu. Elle aboutit à la production de l'isomère I de l'uroporphyrinogène.[7]

Au cours de la cinquième étape, quatre chaînes carboxyliques de l'uroporphyrinogène III et de l'uroporphyrinogène I sont décarboxylées par l'UROD (uroporphyrinogène III décarboxylase) pour produire le coproporphyrinogène III et le coproporphyrinogène I. Le coproporphyrinogène III à la différence de son isomère I est reconnu par les récepteurs mitochondriaux pour rentrer dans l'espace intermembranaire de la mitochondrie.[7]

La sixième étape est catalysée par la coproporphyrinogène III oxydase (CPO) qui effectue une double décarboxylation : d'abord le coproporphyrinogène III en hardéroporphyrinogène ensuite ce dernier en protoporphyrinogène IX.

La protoporphyrinogène oxydase (PPOX) assure l'avant dernière étape de la biosynthèse de l'hème, elle est ancrée à la membrane interne de la mitochondrie. Il s'agit de l'oxydation du protoporphyrinogène IX en protoporphyrine IX (PPIX)[7].

• Etape 8 :

L'insertion d'un atome de fer ferreux Fe (II) dans la PPIX par la ferrochélatase (FECH) est la dernière étape permettant de produire la molécule d'hème.

0,34 % de la masse de l'hémoglobine correspond au fer, soit au total 3 grammes de fer, ainsi 75 % de l'ensemble du capital martial de l'organisme est stocké dans l'Hb circulante[7].

La régulation de la synthèse est assurée par le produit final : l'hème libre exerce une rétro-inhibition de sa synthèse lorsqu'il se trouve en excès par rapport aux chaînes de globine[7].

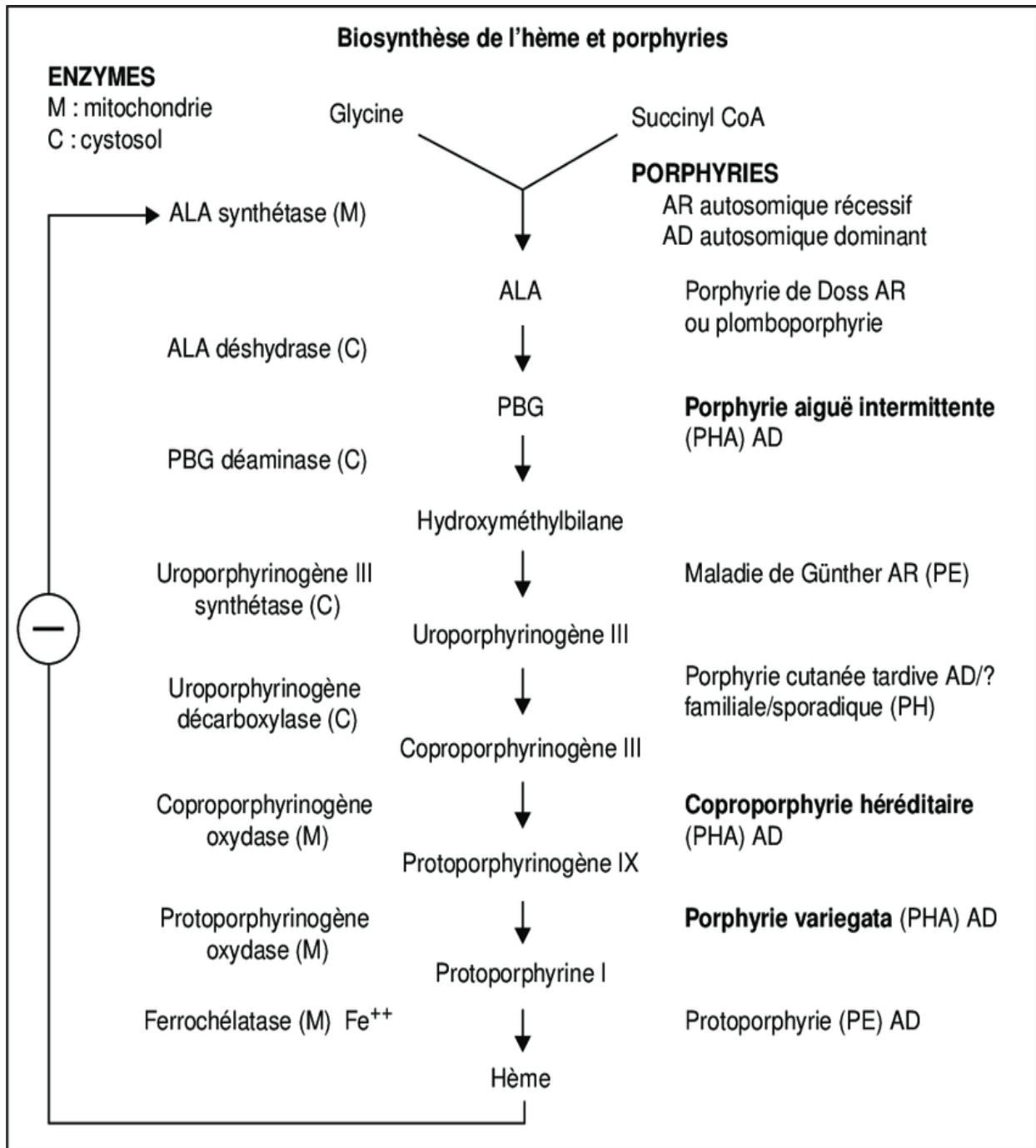


Figure 7: Les 8 étapes de la biosynthèse de l'hème.[8]

2.2. Biosynthèse des chaînes de globine [9]

Elle s'effectue selon le schéma général de la synthèse des protéines, après transcription de l'ADN en ARN messager et maturation de ce dernier, il sera traduit par les ribosomes dans le cytoplasme après sa migration dans ce dernier en protéines en passant par les trois étapes classiques d'initiation, élongation et terminaison, avec intervention de facteurs divers.

Elle est induite par l'hème : tout déficit en fer et par conséquent en hème sera responsable d'un arrêt de sa synthèse.

La coordination de la biosynthèse des différents types de chaînes est un mécanisme complexe, encore mal élucidé et primordial afin d'obtenir une production égale des sous unités α et non α .

Le gène $\alpha 2$ est $\alpha 3$ fois plus exprimé que le gène $\alpha 1$. De plus, les ARNm alpha sont produits avec un excès de 40 pour cent par rapport aux ARNm beta, mais la vitesse de traduction en protéine de l'ARNm beta étant plus rapide que celle de l'ARNm alpha, la synthèse des deux sous unités est finalement équilibrée.

2.2.1. Les gènes de globine

Des études génétiques ont montrés que les mutants de la chaîne α s'agrégeaient de façon indépendante de ceux des chaînes β ou δ , ce qui indiquait une localisation de ces gènes sur des chromosomes différents. Par ailleurs, des renseignements précieux sur l'organisation séquentielle des gènes de globine sur le chromosome ont été apportés par certaines hémoglobines anormales tel que Hb Lepore, provenant de gènes de fusion (ex.: $\delta\beta$)[3].

Les techniques de fusion cellulaire et d'hybridation ont permis de préciser exactement la localisation chromosomique de ces gènes. Les gènes de la famille β sont situés sur le chromosome 11 dans la région 11 p 125 p128 tandis que ceux de la famille α sont situés sur le chromosome 16 dans la région distale entre 16 p 12 et 16 p ter[3].

La cartographie détaillée de ces deux groupes de gènes est actuellement connue. La famille β comporte cinq gènes fonctionnels (ϵ , $G\gamma$, $A\gamma$, β et δ) alors que la famille α ne comporte que trois gènes fonctionnels (ζ , $\alpha 2$ et $\alpha 1$). De plus, il existe des séquences assez similaires à

celles des gènes mais ne codant pour aucune chaîne polypeptidique et de ce fait appelées pseudo-gènes ($\psi\zeta$, $\psi\alpha_1$, $\psi\alpha_2$ et $\psi\beta$). Il existe également un gène θ qui pourrait être actif dans les tissus érythroïdes primitifs embryonnaires en 3' de la famille des gènes α . L'ordre séquentiel des gènes, de 5' en 3', sur le chromosome est le même que celui de leur expression au cours du développement[3].

L'environnement et les séquences nucléotidiques des gènes de globine sont actuellement établis. Les gènes de globine comportent trois zones codantes (ou exons) séparées par deux zones non-codantes (introns ou IVS) ainsi que des zones non codantes situées en 3' et 5' du gène appelées « flanking regions ». Les introns (IVS) débutent classiquement par une séquence GT et se terminent par une séquence AG (loi de Chambon)[3].

La taille des introns se diffèrent de façon considérable entre les gènes α , β et ζ . Au niveau 5' de la région transcrite du gène se trouve un promoteur. Cette zone est impliquée dans la fixation de l'ARN polymérase et comporte 3 séquences : la première est située à une trentaine de nucléotides du site codant pour la coiffe, il s'agit de la séquence ATA, la deuxième séquence "CCAAT..." est localisée entre les nucléotides -70 à -80, alors que la troisième séquence "CACC" qui est la plus variable est située entre les nucléotides - 80 et -100. Le gène γ possède entre les séquences -170 et -190 une région de séquence GATA fixant des facteurs de régulation érythroïde spécifique[3].

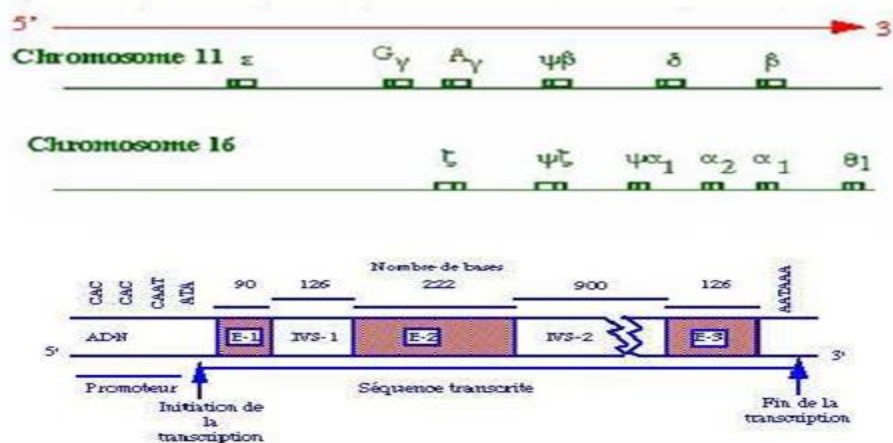


Figure 8: Les gènes de globine α et β

[url: rbc.gs-im3.fr](http://url:rbc.gs-im3.fr)

2.2.2. La régulation des gènes de globine

La spécificité tissulaire et la spécificité du stade de développement (embryon, fœtus, adulte) est nécessaire pour la régulation des gènes de globine avec une coordination permettant d'aboutir à une synthèse équivalente des gènes de la famille β et de la famille α [7].

Il existe des séquences régulatrices qui modulent le niveau d'expression du gène en l'activant (enhancers) ou en l'inhibant (silencers). Des séquences de spécificité tissulaire du génome des gènes de type β situées en 5' du gène ϵ sur le locus β permettent d'exprimer de manière efficace l'ensemble des gènes β en respectant les étapes de l'ontogénèse, appelés HS (Séquence Hypersensible) ou LCR (locus Control Region) et sont également présents sur le locus α en 5' du gène ζ MCS-R (Multispecies conserved Sequence). [10]

La régulation équilibrée des 2 loci est mise en évidence par la présence d'une thalassémie induite en cas de déséquilibre. Il existe une protéine chaperonne codée par le gène AHSP (Alpha Hemoglobin Stabilizing Factor) de spécificité érythroïde qui assure la stœchiométrie finale en se liant aux chaînes α néosynthétisées et en les accompagnants jusqu'à leur association aux chaînes β pour former un tétramère d'hémoglobine[10].

3. Evolution ontogénique des hémoglobines

L'évolution ontogénique correspond à une variété d'hémoglobines (Hb) qui se succèdent et se chevauchent au cours de la vie.

La différence entre ces variantes d'hémoglobines réside dans la nature des sous-unités qui les constituent. L'évolution ontogénique de l'homme comprend 2 « switch » ou commutations ; la première commutation coïncide avec le passage de la vie embryonnaire à la vie fœtale, la deuxième au moment du passage de la vie fœtale à la vie adulte. Grâce au profil d'expression des différentes hémoglobines, on arrive à comprendre pourquoi les anomalies des chaînes α s'accompagne d'une manifestation clinique précoce dès la période néonatale, voire anténatale alors que les anomalies de la chaîne β s'expriment à partir de 3-4 mois de vie et sont parfois de diagnostic difficile en période néonatale.[11], [12]

II. Fonctions de la molécule de l'hémoglobine

L'atome de fer établit 4 liaisons covalentes avec le noyau tétrapyrrolique de l'hème, une 5ème liaison avec l'histidine F8 « histidine proximale » de la globine ce qui permet de lier l'hème à la globine. Il reste un site de coordination libre qui est le site de fixation de l'O₂, situé juste en face de l'histidine E7 « histidine distale ». Ainsi, chaque molécule d'hémoglobine fixe 4 molécules d'oxygène et constitue l'oxyhémoglobine.

L'hémoglobine possède une fonction de transporteur d'oxygène, les globules rouges qui contiennent 33% d'hémoglobine sont à l'origine de ce pouvoir oxyphorique du sang. Le transport de dioxygène se fait des échangeurs respirateurs vers les tissus, l'hémoglobine doit donc pouvoir libérer rapidement son oxygène afin d'établir un gradient de PO₂ suffisant entre le sang artériel et la mitochondrie où cet oxygène sera utilisé pour le métabolisme cellulaire.

L'hémoglobine a également un rôle de transporteur de CO₂ de façon plus accessoire par un mécanisme de carbamylation (les groupements NH₂ terminaux des chaînes de globine vont réagir avec le CO₂).

Enfin d'une certaine manière, l'hémoglobine va jouer un rôle de tampon de pH dans les érythrocytes.

1. Le transport de l'oxygène [2], [11], [15], [16]

Les hémoglobines ont pour fonction principale le transport de l'oxygène des poumons vers les tissus. Une molécule d'oxygène se fixe par atome de fer et 1 g d'hémoglobine peut transporter au maximum 1.34 ml d'oxygène lorsque la saturation est totale, soit environ 20 ml d'oxygène pour 100 ml de Sang. Après avoir lâché l'O₂ dans les tissus, l'Hb transporte le CO₂ des tissus vers les poumons. En outre l'hémoglobine joue un rôle essentiel dans le maintien du pH intra-érythrocytaire.

Pour accomplir cette fonction principale, la structure de l'hémoglobine est capable de se modifier au cours de la fixation et de la libération de l'oxygène. Il existe ainsi 2 formes de l'hémoglobine en équilibre : la forme R ou relaxée, à haute affinité pour l'oxygène, et la forme T ou tendue, à affinité plus faible.

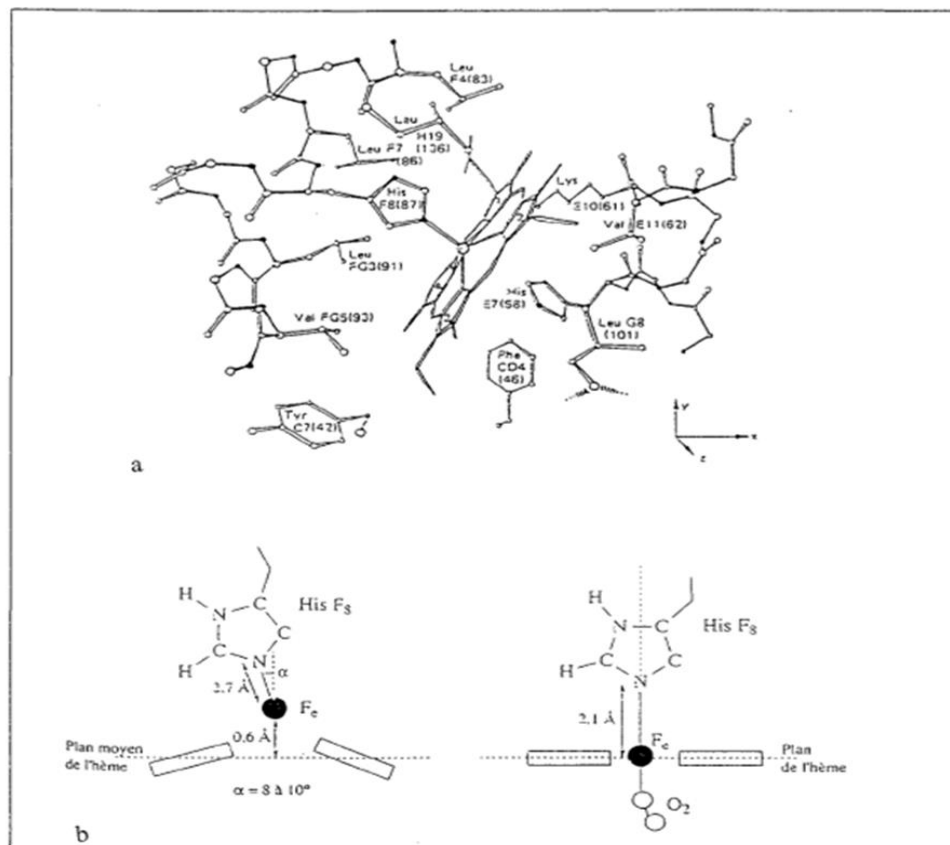


Figure 9: Fixation de l'oxygène sur l'hème (a) structure de l'hème dans une sous-unité de α l'Hb (b) modification de la géométrie de l'hème lors de la fixation de l'oxygène. [17]

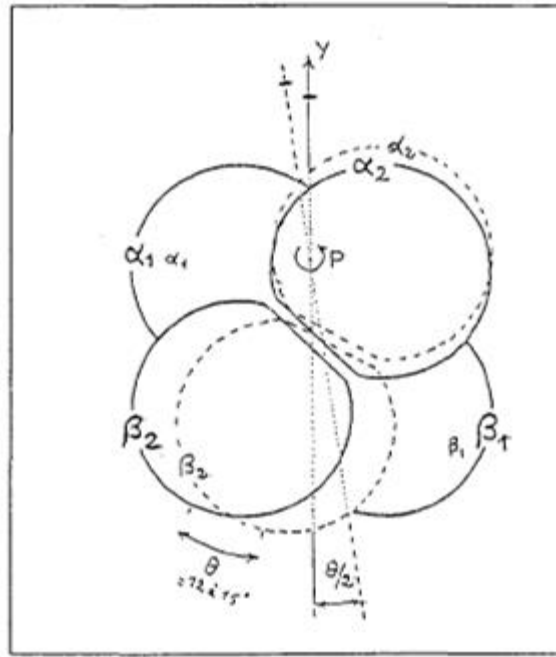


Figure 10: Changement de la structure quaternaire de l'hémoglobine lors du passage de la forme oxygénée à la forme désoxygénée. [17]

1.1. Courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine

Les "CDO" sont utilisées pour définir l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène et évaluer la capacité de transport du dioxygène par l'Hb. Les premières courbes de dissociation sont publiées par "Bohr" en 1904. Cette courbe d'allure sigmoïde démontre que l'affinité de l'hémoglobine pour le dioxygène est d'autant plus faible que la PO_2 est faible, ainsi au niveau des poumons elle fixera aisément des molécules d' O_2 pour les libérer dans les tissus où la PO_2 est faible. Si le globule rouge est déjà oxygéné la fixation de l' O_2 est meilleure et à l'inverse si l'érythrocyte est peu oxygéné l'oxygène se libère plus facilement[7].

Ce phénomène témoigne d'un effet de coopérativité dans la fixation de l'oxygène, cette courbe sigmoïde implique qu'au fur et à mesure de l'oxygénation la fixation se fait plus facilement. Cela résulte d'une interaction entre les quatre molécules d'hème. L'oxygénation d'une sous-unité du tétramère entraîne l'augmentation de l'affinité pour l'oxygène des autres sous-unités encore désoxygénées[7].

La courbe de dissociation de l'oxygène va permettre de définir l'affinité de l'hémoglobine pour l'O₂ en mesurant la pression de demi-saturation ou P50 qui correspond à une saturation de l'hémoglobine de 50 %[11].

Une P50 normale chez l'homme correspond à une valeur de PO₂ de 26 ± 2 mmHg. La valeur de ce paramètre varie à un sens inverse par rapport à l'affinité: si l'hémoglobine présente une affinité augmentée pour l'oxygène, sa P50 sera diminuée (déplacement de la courbe de dissociation vers la gauche) et inversement en cas de diminution de l'affinité[7].

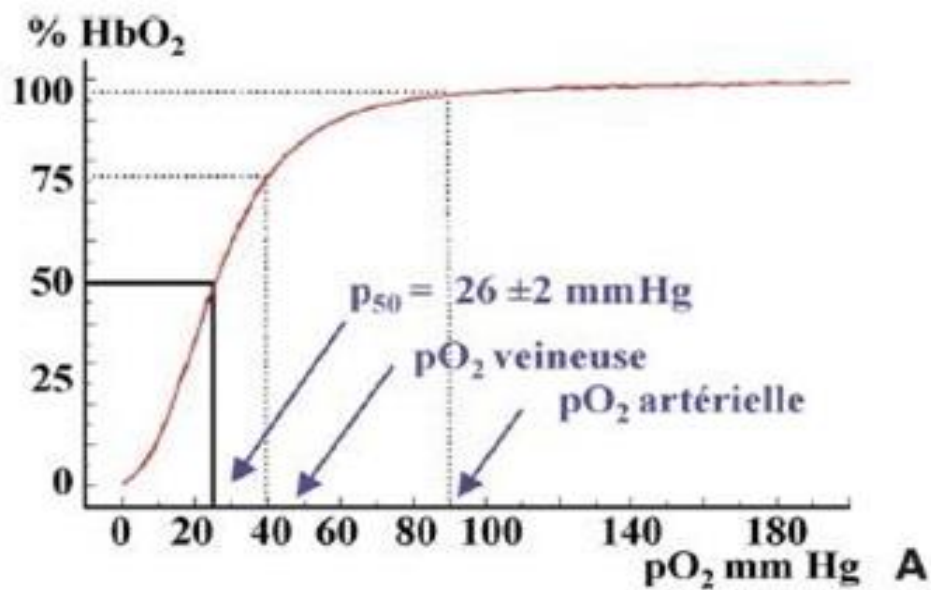


Figure 11: Courbe de dissociation de l'oxygène

<http://www.em-consulte.com/article/35749/hemoglobines-structure-et-fonction>

1.2. Régulation de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène

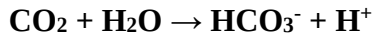
De nombreux facteurs contribuent physiologiquement à diminuer l'affinité de l'hémoglobine et assurent ainsi l'efficacité de la fonction oxyphorique.

1.2.1. La température

La courbe de dissociation de l'oxygène est déviée vers la droite chaque fois que la température s'élève. La fièvre s'accompagne alors par une meilleure libération aux tissus[7].

1.2.2. Effet de Bohr

Le CO₂ diminue l'affinité de l'hémoglobine pour l'O₂ en diminuant le pH. L'ionisation des chaînes de globines augmente ainsi que l'énergie et le nombre des liaisons salines, une fois le milieu devient acide, assurant une stabilité à la forme T caractérisé par sa faible affinité pour l'O₂. Le CO₂ libéré des tissus va pénétrer le globule rouge et subir la réaction suivante sous l'action de l'anhydrase carbonique[7] :



Les ions H⁺ sont pris en charge par l'hémoglobine qui joue son rôle de tampon en les fixant, ce qui a pour effet de stabiliser la forme désoxygénée. Une augmentation de la PCO₂ est donc responsable d'une augmentation de la P50 soit une diminution de l'affinité de l'hémoglobine pour l'O₂[7].

La fixation de l'oxygène sur l'hémoglobine entraîne une rupture des différents ponts salins ce qui permet d'expliquer l'effet Bohr. Or, en milieu acide concentré en ions H⁺, les ponts salins ont tendance à se refermer, donc inhibent ou diminuent la fixation de l'O₂.

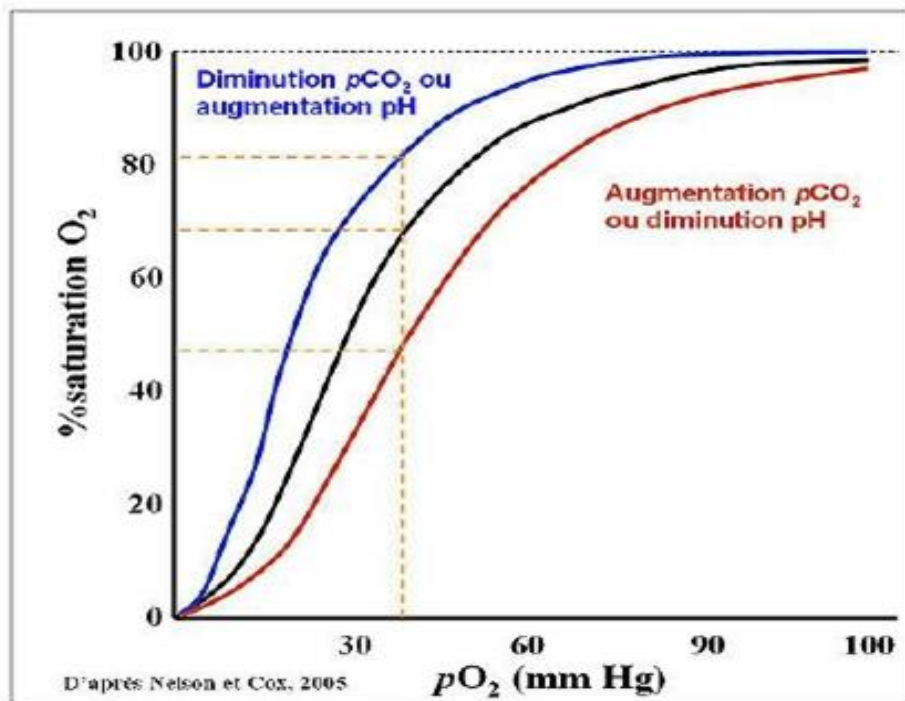


Figure 12: Effet de la variation du pH et du PCO₂ sur la courbe de dissociation de l'oxygène[18]

1.2.3. Le rôle du 2-3 diphosphoglycérate (2-3 DPG)

Le 2-3 diphosphoglycérate (2-3 DPG) est un phosphate organique, intermédiaire du métabolisme du glucose, présent en concentration élevée dans les érythrocytes. Cette molécule va se loger au cœur du tétramère d'hémoglobine et établir des liaisons ioniques avec des radicaux des sous-unités β de l'hémoglobine. Son encombrement stérique est tel qu'elle peut uniquement se loger au sein de la forme T de l'hémoglobine et stabiliser cette forme. Le 2-3 DPG a donc pour effet d'augmenter la P50 et de diminuer l'affinité de l'hémoglobine pour l'O₂[7].

Il est connu que l'affinité de l'hémoglobine A pour l'oxygène est inférieure à celle de l'hémoglobine F. Par conséquent, un gradient naturel du dioxygène peut être installé du sang maternel vers le sang fœtal. Cette différence d'affinité entre ces deux hémoglobines est liée au fait que l'hémoglobine fœtale est beaucoup moins sensible au 2-3 DPG que l'hémoglobine adulte[19].

L'augmentation du 2-3 DPG entraîne une diminution de l'affinité de l'hémoglobine A1 pour l'oxygène, donc l'augmentation de la quantité délivrée aux tissus ; elle s'observe :

- En cas d'hypoxie quelle qu'en soit la cause (séjour en altitude, insuffisance respiratoire, anémie),
- Dans les déficits en pyruvate kinase, il y a blocage de la glycolyse et accumulation des métabolites en amont notamment du 2-3 DPG.

La diminution du 2-3 DPG entraîne une augmentation de l'affinité de l'hémoglobine pour l'O₂, donc la diminution de la quantité libérée aux tissus.

Elle s'observe dans les conditions suivantes :

- L'acidose ; la glycolyse est dans ce cas ralentie, donc la synthèse du 2-3 DPG. Pour une acidose peu marquée, le déficit en 2-3 DPG est compensé par l'effet de Bohr. En revanche, si l'acidose est grave, la diminution du 2-3 DPG l'emporte sur l'effet Bohr.
- En cours de conservation du sang, la glycolyse est très ralentie par le pH acide (6,5) de la solution conservatrice. Le taux de 2-3 DPG diminue et devient pratiquement nul après 10 jours.

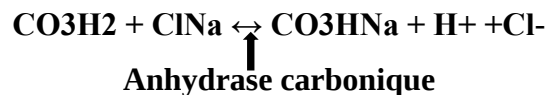
Après transfusion de ce sang, la reprise de la glycolyse restaure lentement le taux de 2-3 DPG et, en 24 heures chez l'homme normal, 5% seulement est récupéré; cette récupération est encore plus lente chez certains individus.

2. Transport du gaz carbonique (CO₂) et équilibre carbonates-bicarbonates

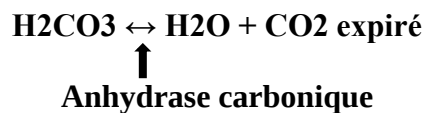
Aux tissus, le CO₂ pénètre dans le sang par diffusion. (25%) reste dans le plasma, dissout surtout combiné et 75% passe dans le globule rouge. La carbohémo-globine se forme lorsqu'une petite partie du CO₂ se fixe sur la globine, sur l'extrémité N terminale des 4 chaînes de globine alors que la plus grande partie se transforme en acide carbonique sous l'influence de l'anhydrase carbonique (AC) présente dans le globule rouge selon la réaction suivante :



Cet acide carbonique se transforme en bicarbonate qui passe dans le plasma :



Les ions Cl⁻ et H⁺ restent dans le globule rouge, Cl⁻ se fixe à K⁺ et H⁺ sur la globine. Aux poumons, se produisent les phénomènes inverses : les bicarbonates pénètrent dans les globules rouges pour donner de l'acide carbonique, qui se décompose en dioxyde de carbone et en eau sous l'effet de l'anhydrase carbonique.



3. Autres fonctions

L'hémoglobine a un rôle dans l'équilibre acido-basique : par fixation du dioxyde de carbone et par l'action de l'hémoglobine qui se comporte comme un acide faible en liaison avec une base forte formant ainsi un système tampon.

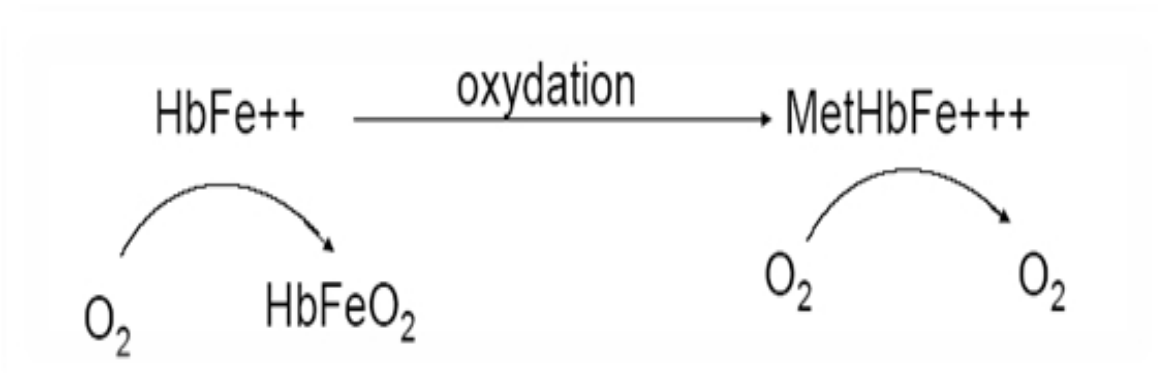
L'hémoglobine a une peroxydase incomplète dont l'activité est augmentée par l'haptoglobine. Son rôle physiologique est inconnu, mais possède un intérêt pratique, car cette propriété est appliquée à la recherche de l'hémoglobine par la Benzidine. L'hémoglobine possède également une action catalytique dont le rôle physiologique est inconnu.

*Deuxième partie :
La physiopathologie de la
méthémoglobinémie*

I. Définitions

La méthémoglobinémie est caractérisée par des niveaux élevés de méthémoglobines dans le sang, de couleur brun chocolat mais qui à travers la peau, donne une coloration bleue, conduisant au terme de cyanose.

Elle se produit lorsque la portion de fer de l'hémoglobine est oxydée de l'état ferreux (Fe^{2+}) à l'état ferrique (Fe^{3+}), formant la méthémoglobine.



Ce changement rend l'hémoglobine incapable de transporter l'oxygène et déplace la courbe de dissociation de l'oxygène vers la gauche entraînant une réduction de la livraison d'oxygène augmentant ainsi le risque d'hypoxie tissulaire[20].

La méthémoglobine se forme normalement dans l'organisme en réponse au stress oxydatif à un taux de 3% par jour[20].

Cette action est généralement contrecarrée rapidement par de multiples mécanismes de protection qui maintiennent les niveaux de méthémoglobines en dessous de 1%[20].

Le principal système de contre-régulation enzymatique est la voie du NADH cytochrome b5-MetHb réductase.

Les niveaux de méthémoglobine atteindraient 20 % sans réduction continue par la cytochrome b5-réductase bien que les individus ne deviendraient symptomatiques que lorsque le niveau de méthémoglobine dépasse 20 à 25 %. Quand 70% de l'hémoglobine totale est convertie en MetHb, l'effondrement vasculaire, le coma et la mort peuvent résulter.

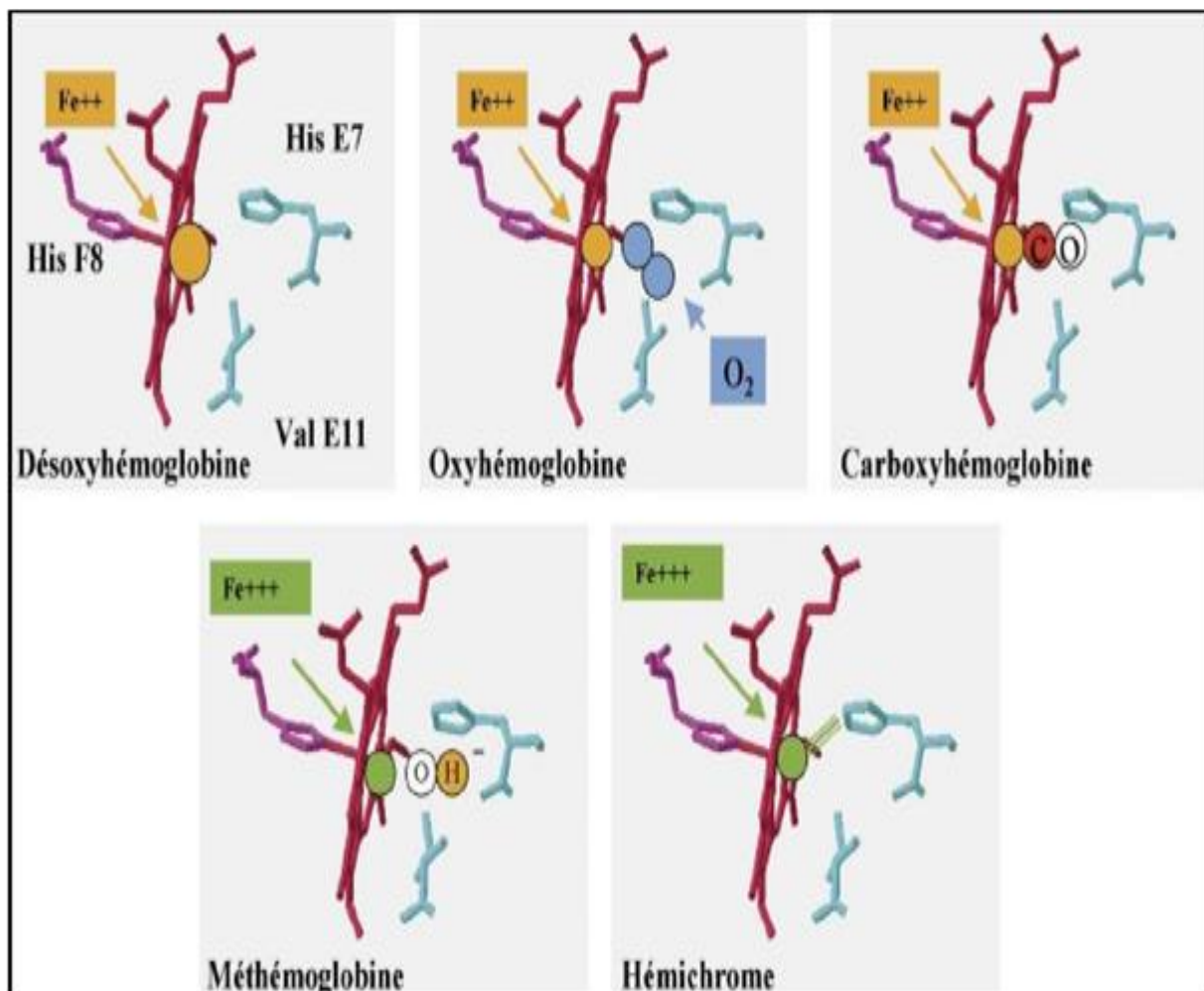


Figure 13: Les différents états du fer selon le type d'hémoglobine

<http://www.em-consulte.com/article/35749/hemoglobines-structure-et-fonction>

II. Formation de la méthémoglobine

La désoxyhémoglobine, précédemment appelée « hémoglobine réduite » et dans une certaine mesure l'oxyhémoglobine, sont des formes réduites de l'hémoglobine. En revanche, la méthémoglobine est la forme oxydée[21].

« Weiss » a émis l'hypothèse que le fer hémique dans l'oxyhémoglobine est à l'état ferrique. « Wittenberg et al » ont fourni des preuves solides à l'appui de cette hypothèse[21].

Dans l'oxyhémoglobine, il y a un transfert partiel d'un électron vers l'oxygène pour former le superoxo-ferrihème ($\text{Fe}^{3+}\text{O}_2^-$). Lors de la dissociation de l'oxyhémoglobine, cet électron est récupéré par le fer. L'échec de la récupération de cet électron entraînera la formation de méthémoglobine et d'anion superoxyde[21].

Dans des conditions physiologiques, l'environnement hydrophobe de la molécule de l'hème empêche la dissociation de deux espèces opposées. Cela facilite la récupération électronique par le fer. Cependant, une petite portion d'hémoglobine est oxydée durant le processus d' "oxygénation-désoxygénation", estimé à 3 % de l'hémoglobine totale chaque jour. Ceci a été mesuré par la réapparition de la méthémoglobine après une réduction complète de la méthémoglobine circulante chez les patients dépourvus de méthémoglobine réductase[21].

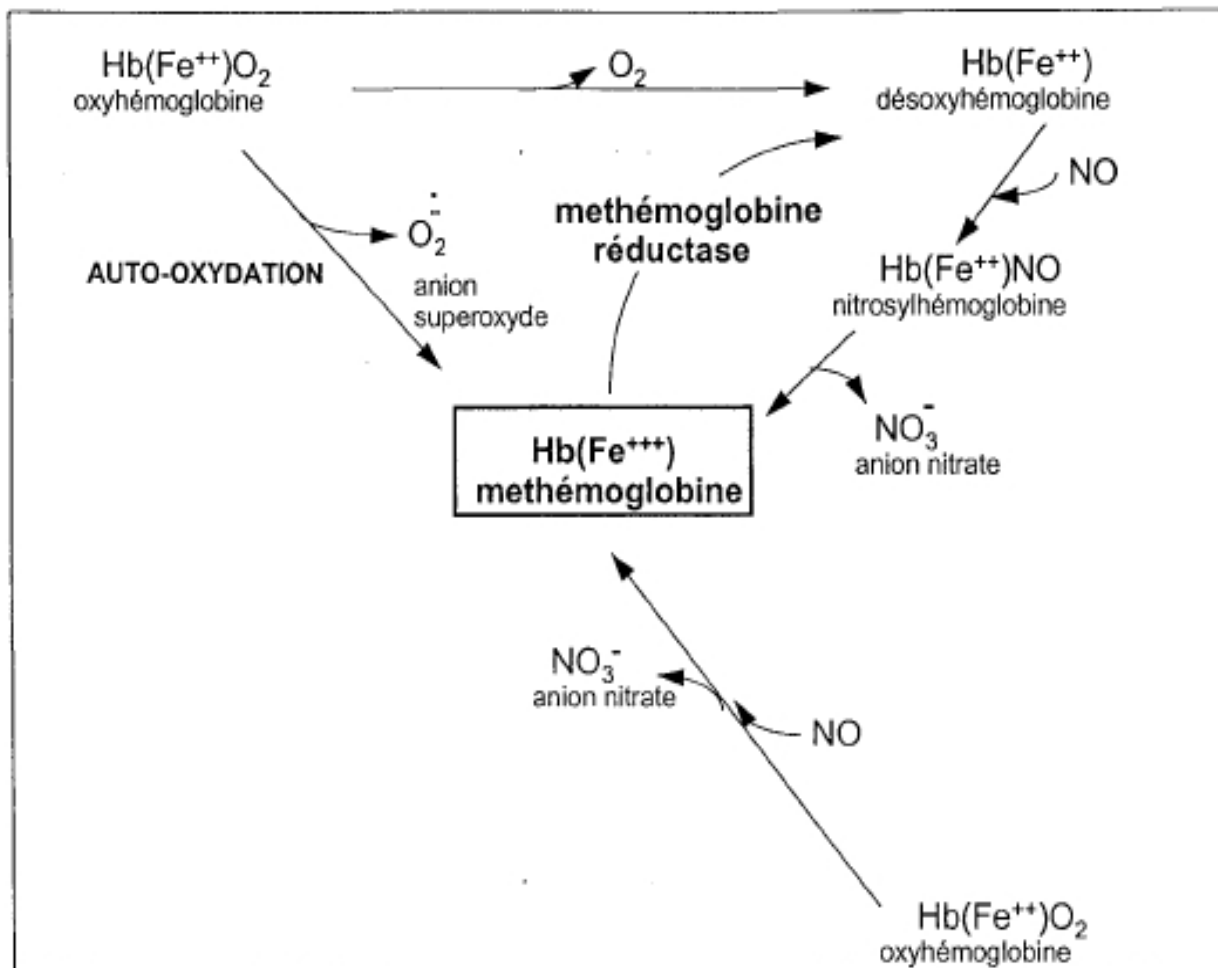


Figure 14: Les réactions aboutissant à la formation de MetHb dans le globule rouge[22]

La lente oxydation du fer hémique *in vivo* est analogue à la lente oxydation spontanée de l'hémoglobine *in vitro* en présence d'oxygène (auto-oxydation)[21].

Cependant, dans une situation *in vivo*, d'autres oxydants sont probablement responsables. Par exemple, les leucocytes sont une source d'agents oxydants. « Vaidya et coll. » ont démontré que 79 % des patients leucémiques, quel que soit le type de cellule, présentaient des taux accrus de méthémoglobine[21]. Cela pourrait être dû en partie à la présence d'hémoglobine fœtale, qui est oxydée plus rapidement que l'hémoglobine A, ou à la diminution de la capacité de réduction des globules rouges. Toutefois, l'incubation de globules rouges normaux avec des cellules leucémiques a entraîné une augmentation de la formation de méthémoglobine. De plus,

« Weiss » a signalé que la formation de la méthémoglobine dans les globules rouges incubés avec des globules blancs était directement proportionnelle au nombre de granulocytes et au temps d'incubation[21].

L'addition de catalase et de superoxyde dismutase (les SOD étant à la fois des métalloprotéines et des oxydoréductases qui catalysent la dismutation des anions superoxyde O_2^- en oxygène O_2 et peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , interviennent dans l'explosion oxydative et sont également une composante essentielle du mécanisme d'élimination des radicaux libres) a significativement réduit la formation de méthémoglobine, ce qui indique la participation de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène dans ce processus[21].

Bien que les mécanismes moléculaires de l'oxydation de l'hémoglobine ne soient pas bien compris, de nombreuses informations sont disponibles :

- L'auto-oxydation sous basse pression est plus rapide que sous pression atmosphérique de l'oxygène[21].

- Les phosphates organiques tels que le 2,3-diphosphoglycérate (2,3-DPG), qui déplacent l'équilibre conformationnel moléculaire vers la conformation T (désoxyhémoglobine), augmentent le taux de l'auto-oxydation[21].

- L'hémoglobine Little Rock β 143 H21 HIS→GLN qui a une affinité élevée en oxygène, a un taux d'auto-oxydation plus lent que l'hémoglobine A[21].

Ces résultats suggèrent que les facteurs qui favorisent la désoxygénation de l'hémoglobine favorisent l'auto-oxydation ; cependant, l'hémoglobine complètement désoxygénée ne s'auto-oxyde pas. Il semble que, bien que la présence d'oxygène soit nécessaire à l'auto-oxydation, de petites quantités d'oxygène ont un effet oxydant plus important que de grandes quantités d'oxygène. Par conséquent, l'augmentation des niveaux de méthémoglobine dans le sang des résidents de haute altitude pourrait être due à une faible pression atmosphérique d'oxygène[21].

Sur la base de ces résultats, on a émis l'hypothèse que le taux d'auto-oxydation devrait diminuer sous une pression d'oxygène très élevée. Ceci n'a pas été corroboré par des résultats expérimentaux, mais il a été démontré qu'au fur à mesure que la pression barométrique augmente à environ 0,8 atmosphère, le taux d'auto-oxydation diminue[21].

Une augmentation supplémentaire de la pression (jusqu'à 8 atmosphères) accélère le taux d'auto-oxydation. Bien que les phosphates organiques augmentent le taux d'auto-oxydation à basse pression d'oxygène, ils n'ont aucun effet à haute pression d'oxygène[21].

Il a été conclu de ce travail, qu'à basse pression d'oxygène lorsque la dissociation hémoglobine-oxygène est favorisée, le taux d'oxydation est régi par le taux de transition vers la conformation T, alors qu'à haute pression d'oxygène lorsque la conformation R prévaut, l'hémoglobine est probablement oxydée directement dans la conformation R[21].

Outre l'oxygène, de nombreux médicaments et produits chimiques ont la propension à oxyder le fer hémique. Heureusement, dans la plupart des cas, l'ampleur de la formation de méthémoglobine ne cause habituellement aucun problème clinique. Ceci n'élimine pas le fait que la méthémoglobinémie peut être parfois de nature mortelle si elle n'est pas diagnostiquée et traitée immédiatement. « Wallace et Caughey » ont pu décrire comment un électron est transféré au dioxygène lié à partir d'une source externe, par exemple, les médicaments[21].

La disponibilité de l'électron externe en conjonction avec un électron du fer hémique conduit à une réduction de deux électrons du dioxygène lié au peroxyde. La réduction des deux électrons du dioxygène lié à l'hémoglobine par l'action d'un donneur d'électrons externe est une hypothèse qui peut expliquer aussi l'oxydation rapide du fer hémique dans la maladie de l'hémoglobinoase M[21]. Ainsi, dans la plupart des hémoglobines M dans lesquelles la tyrosine remplace l'histidine, le résidu phénol de la tyrosine agit comme un donneur externe d'électrons menant à la réduction de deux électrons du dioxygène lié. Cette réaction provoquerait la formation de peroxyde au lieu de superoxyde[21].

Théoriquement, tous les médicaments qui ne sont qu'un seul donneur d'électrons peuvent contribuer à la réduction de deux électrons du dioxygène lié et par conséquent à la formation de la méthémoglobine[21].

La génération de peroxyde peut également expliquer les lésions des globules rouges et l'hémolyse qui accompagnent l'exposition à certains médicaments.

1. Le potentiel d'oxydoréduction

Pour comprendre la toxicité oxydative et ses complications potentielles, il faut d'abord examiner certaines propriétés biochimiques :

- L'oxydation implique l'extraction d'électrons à partir d'un substrat.
- La réduction implique le transfert d'électrons vers un substrat.
- Une substance a été oxydée si elle perd un électron, et si elle gagne un électron, elle a été réduite.

Les réactions d'oxydation et de réduction sont appelées réactions « redox » puisqu'elles se produisent toujours ensemble : pour qu'une substance soit réduite, une autre doit être oxydée[23].

Les molécules hautement réactives et instables, présentant un potentiel redox, sont souvent appelées « radicaux libres ». Ces radicaux libres peuvent oxyder les enzymes cellulaires inhibant leur fonction. Ces réactions peuvent à leur tour conduire à la formation de radicaux libres[23].

Certaines réactions provoquent la formation de liaisons covalentes entre l'agent oxydant et les protéines membranaires cellulaires. Cette liaison covalente peut causer une perturbation de l'intégrité de la membrane cellulaire et enzymatique. Non vérifié, le processus conduit finalement à la lyse cellulaire et à la mort[23].

Lorsque l'oxydation se produit dans la partie hémique de l'hémoglobine, la méthémoglobine se forme.

Inévitablement, l'oxydation se produit également ailleurs dans la cellule et peut causer des dommages à d'autres enzymes cellulaires et organelles.

Alors que certains agents peuvent être spécifiques en réaction avec l'hémoglobine, la plupart ne le sont pas et la méthémoglobinémie est généralement accompagnée d'un certain degré d'hémolyse. En outre, si ces réactions oxydatives se produisent en dehors de l'espace vasculaire, des lésions cellulaires peuvent également se produire dans d'autres organes, comme les poumons ou le foie[23].

Les globules rouges sont particulièrement sensibles au stress oxydant. Ils transportent de l'oxygène en haute concentration et sont donc continuellement exposés aux radicaux libres d'oxygène. Le sang sert de milieu de transport pour les agents xénobiotiques oxydants après absorption de l'intestin, exposant les globules rouges à une oxydation potentielle supplémentaire[23].

L'érythrocyte possède plusieurs systèmes enzymatiques permettant sa protection contre les réactions d'oxydation et la lutte contre ces processus. Cependant, contrairement aux autres cellules, les hématies n'ont pas de noyau et ne peuvent pas synthétiser de nouvelles protéines. Les enzymes qui assurent normalement la détoxification des agents oxydants se dégradent avec le temps. Par conséquent, les cellules plus âgées sont plus susceptibles à l'oxydation, car elles ne peuvent plus détoxifier les médicaments aussi bien que les cellules plus jeunes[23]. De plus, les hématies manquent également de mitochondries et sont moins efficaces que les autres cellules pour générer de l'énergie et des cofacteurs nécessaires à la désintoxication chimique[23].

Ces propriétés expliquent pourquoi la toxicité du sang, qui se manifeste par l'hémolyse et la méthémoglobinémie, se produit plus fréquemment que la toxicité oxydative dans d'autres tissus[23].

Grâce aux systèmes enzymatiques réducteurs que possède le globule rouge tels que la cytochrome b5 réductase, la catalase, la superoxyde-dismutase et le glutathion peroxydase, l'érythrocyte arrive à contrebalancer d'une manière efficace plusieurs facteurs qui favorisent l'oxydation à citer la désoxygénation partielle, le pH, les phosphates, les chlorures $[Cl^-]$ et la température[23].

2. Les propriétés physicochimiques des méthémoglobines

Les molécules d'hémoglobine contiennent du fer à l'intérieur de la structure porphyrine de l'hème. Le fer dans l'hémoglobine se trouve normalement à l'état Fe^{2+} . La portion de fer de l'hémoglobine peut être oxydée à l'état Fe^{3+} pour former la méthémoglobine. Une fois que la méthémoglobine est formée, la molécule perd sa capacité de transporter de l'oxygène moléculaire[23].

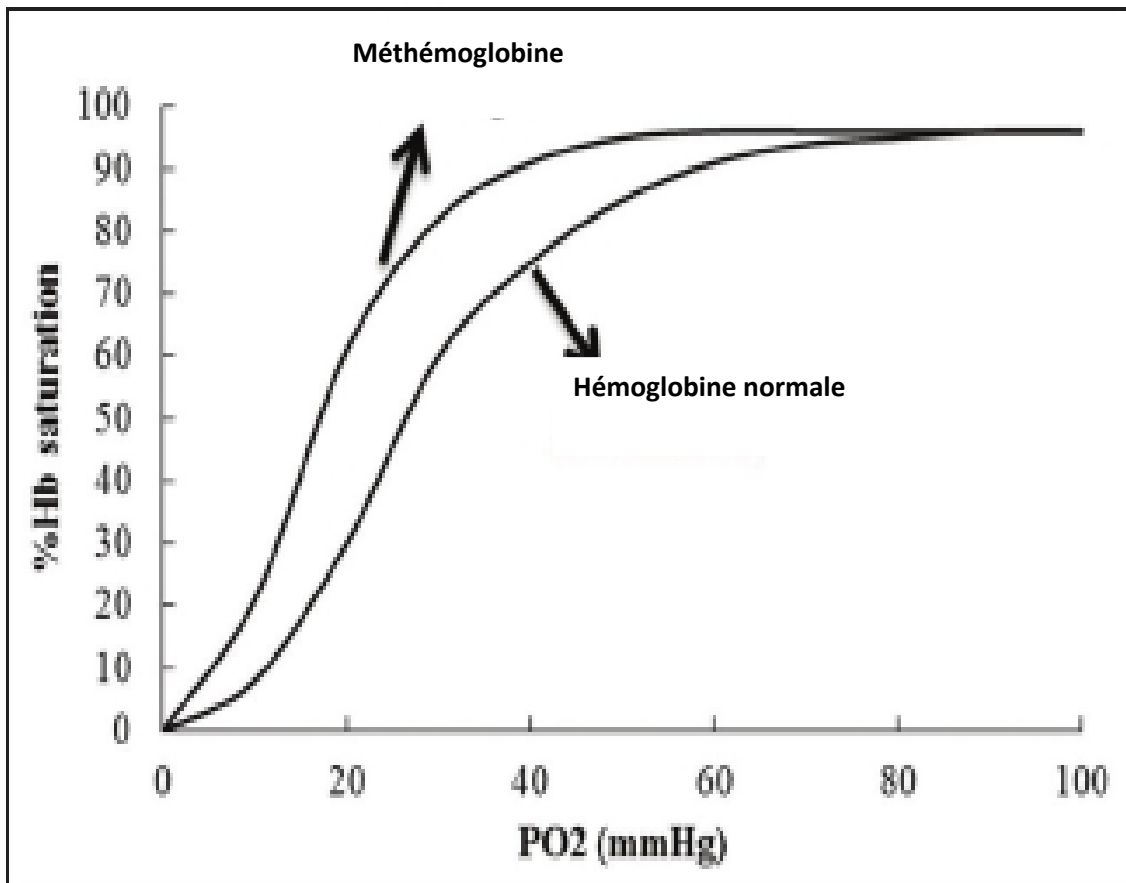


Figure 15: Déplacement de la courbe de dissociation de l'oxygène vers la gauche en cas de méthémoglobinémie[24]

Comme les globules rouges sont baignés d'oxygène, une certaine quantité de MetHb se produit continuellement de façon physiologique. Plusieurs systèmes de réduction endogènes existent pour maintenir les méthémoglobines à l'état réduit, et chez les individus normaux, seulement 1% de l'hémoglobine totale est une méthémoglobine à un moment donné[23].

Etant donné que l'hémoglobine oxydée est incapable de transporter de l'oxygène (ou du dioxyde de carbone), l'excès de méthémoglobines conduit à la cyanose, à une altération de la respiration aérobie, à une acidose métabolique, et dans les cas graves, à la mort[23].

L'hémoglobine est une molécule tétramérique, et l'oxydation complète à une méthémoglobine représenterait une perte de 4 électrons. Toutefois, dans des conditions de stress

oxydatif, l'oxydation partielle des sous-unités individuelles prédomine et, à ce titre, il peut exister 8 dimères différents (4 sous-unités à l'hémoglobine ($\alpha_2\beta_2$) et 2 valences de fer (Fe^{2+} et Fe^{3+}); ainsi, 8 états différents)[23].

Les parties non oxydées de ces formes hybrides de valence ont une forte affinité pour l'oxygène et déplacent la courbe de dissociation de l'oxygène vers la gauche. En d'autres termes, tout oxygène transporté par les sous-unités d'hémoglobine non oxydée est maintenu sur des tissus plus serrés et mal libérés[23].

Cette propriété est importante sur le plan clinique. Par exemple, un patient ayant 35 % de MetHb a une capacité théorique de transport d'oxygène de 65 % de son hémoglobine. Cependant, ce n'est pas le cas sur le plan fonctionnel puisque les changements allostériques de la molécule d'hémoglobine provoquent une liaison plus étroite de l'oxygène dans les molécules d'hémoglobine partiellement oxydées. Cette affinité accrue provoque un déplacement gauche de la courbe de saturation hémoglobine-oxygène[23].

L'oxydation entraîne également une charge positive nette de la molécule de méthémoglobine par rapport à l'hémoglobine normale.

La méthémoglobine a une affinité élevée pour les anions négatifs tels que le cyanure, le fluorure ou le chlorure (CN^- , F^- et Cl^-) par rapport aux ligands de liaison non chargés (CO_2 , CO , et O_2) d'hémoglobine normale[23]. Le potentiel d'oxydoréduction du couple méthémoglobine-hémoglobine se situe à + 0,14 V.

3. Propriétés spectrales et mesures

La méthémoglobine prend un aspect brun dans les solutions diluées à pH acide et brun rougeâtre si le pH est alcalin. Ses spectres d'absorption varient entre 700 et 500 nm avec un pic d'absorption entre 630 et 631 nm caractéristique qui disparaît avec l'addition de cyanure de potassium (KCN)[21].

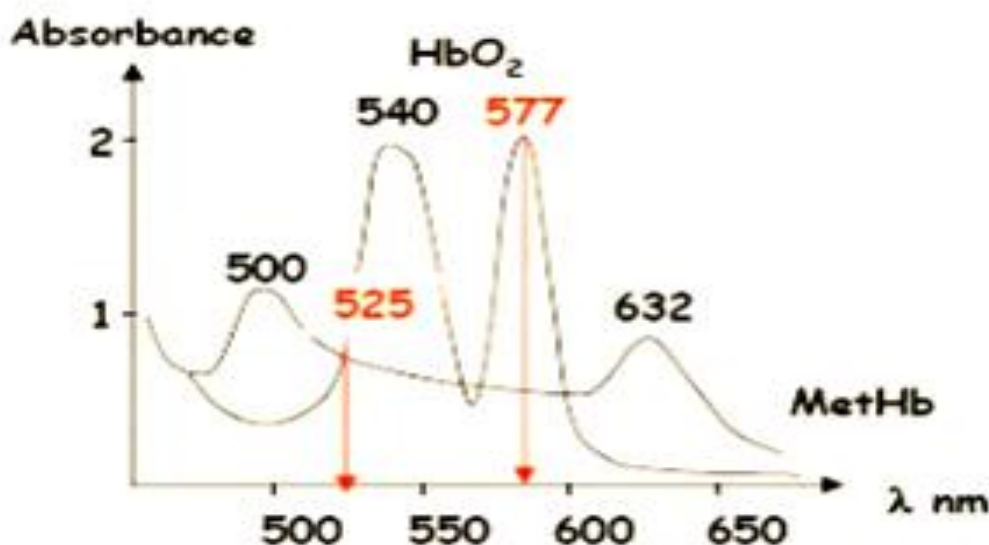


Figure 16: Les pics d'absorption de la méthémoglobine[25]

Certaines méthémoglobines anormales, telles que les hémoglobines M, ont des spectres d'absorption différents et par conséquent leurs formes cyanhémoglobines M présentent elles aussi des spectres d'absorption différents de ceux de la cyanméthémoglobine normale[21].

La technique d'Evelyn et de Malloy, basée sur l'altération spectrale de la méthémoglobine par le KCN, ne peut être donc utilisée pour quantifier ces méthémoglobines anormales. Plusieurs méthodes de spectrophotométrie ont été décrites pour la détermination de la méthémoglobine dans le sang[21].

Etant donné que la méthémoglobine en solution légèrement acide a un pic d'absorption à 630 à 631 nm et que l'absorption de l'oxyhémoglobine à cette longueur d'onde est négligeable, la concentration de méthémoglobine peut être mesurée par la méthode d'Evelyn et de Malloy[21].

Une modification de cette méthode a été décrite par « Dubowski » dans laquelle l'échantillon est divisé en deux fractions : l'absorption d'une fraction est mesurée à 631 nm avant et après l'addition de KCN, qui convertit la méthémoglobine en cyanméthémoglobine. La différence entre les deux mesures indique la quantité de méthémoglobine[21].

La seconde fraction est complètement convertie en méthémoglobine par addition de ferricyanure de potassium.

L'absorption est ensuite mesurée avant et après l'addition de KCN et le pourcentage de méthémoglobine est déterminé selon la formule suivante[21] :

$$\text{Pourcentage de la MetHb} = 100 (A-A1)/B-B1$$

A = absorption de la première fraction à 631 nm

A1 = absorption de la première fraction à 631 nm après l'addition de KCN

B = absorption de la seconde fraction après l'addition de ferricyanure de potassium

B1 = absorption de la seconde fraction après l'addition de KCN

« Rodkey et al » ont décrit une méthode qui utilise des absorptions dans la bande de Soret (400 à 420 nm)[21].

Etant donné que le coefficient d'extinction de tous les dérivés de l'hémoglobine est important dans cette région, de petits échantillons peuvent être mesurés[21].

Cette méthode est particulièrement adaptée aux nouveau-nés et aux nourrissons. Les méthodes ci-dessus sont satisfaisantes pour la détermination de la méthémoglobine dans la plupart des échantillons de sang. Cependant, lorsqu'il existe plus de deux protéines hémiques, comme dans la méthémoglobinémie associée à la sulfhémoglobinémie, la concentration de méthémoglobine doit être mesurée à l'aide d'une analyse de la longueur d'onde multiple, la CO-oxymétrie[21].

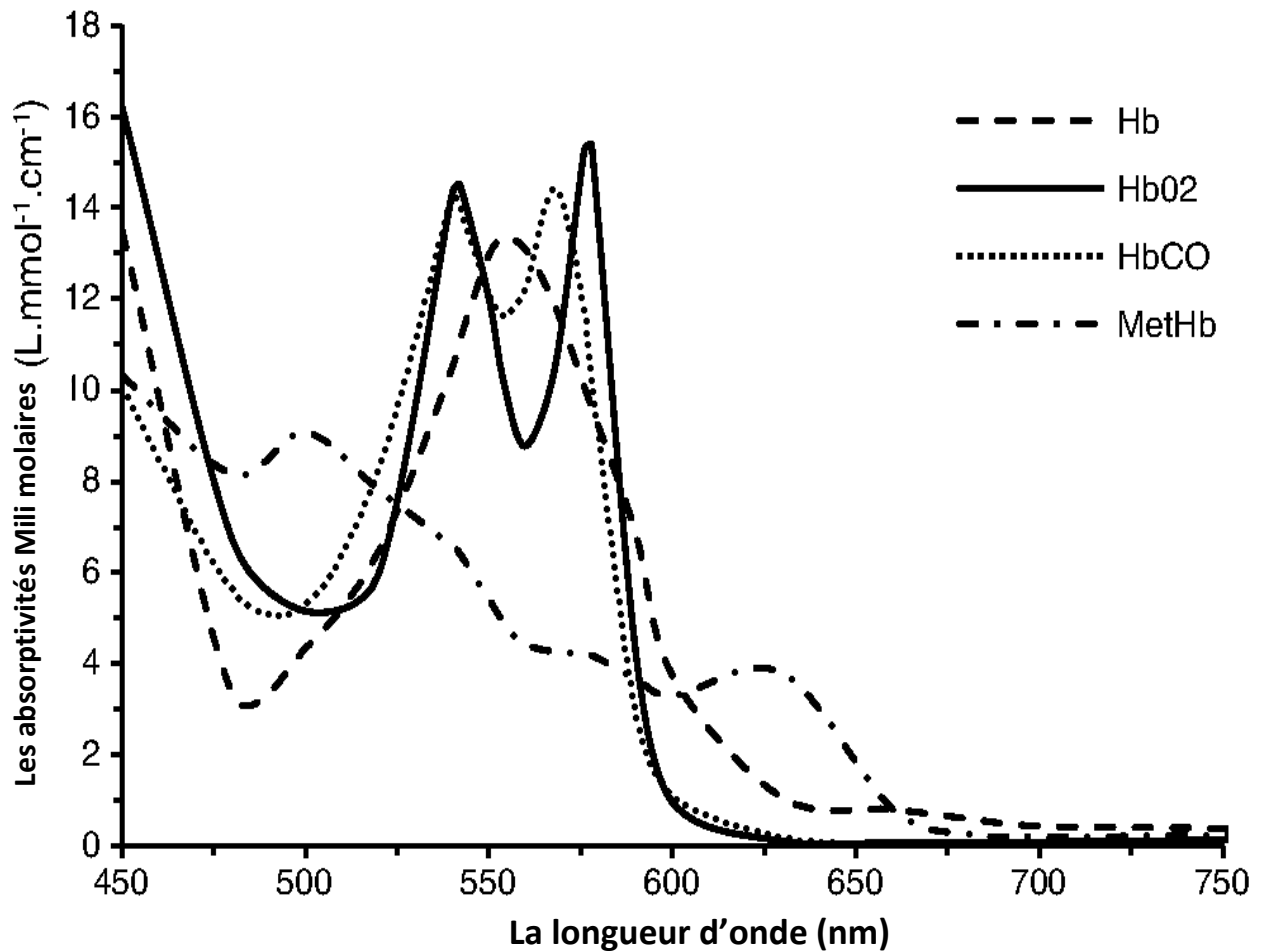


Figure 17: Les spectres d'absorption pour 4 états de ligands d'hémoglobine humaine adulte[21]

4. Méthémoglobinémie et transport d'oxygène

Le transport d'oxygène est perturbé par l'oxydation du fer de l'hème en divers manières : la plus évidente correspond à l'occupation d'une molécule H₂O du site du ligand.

L'oxydation des quatre sous-unités d'un seul tétramère d'hémoglobine l'exclue directement de sa fonction oxyphorique. La capacité du transport de l'oxygène dans le sang est en fait inférieure au niveau estimé pour le taux de méthémoglobine en cas de tétramères hybrides, avec des sous-unités oxydées et non oxydées, ceci s'explique par le fait qu'une sous unité oxydée possède une configuration spatiale de type R relâchée, et se comporte donc comme ayant fixé l'O₂.

Par conséquent, la transition vers la structure oxygénée est facilitée pour tout tétramère qui contient une sous-unité méthémoglobinisée en accord avec le modèle allostérique. Cette molécule se comporte donc comme une hémoglobine hyper affine pour l'oxygène. Sa courbe d'oxygénation est déplacée vers la gauche.

Les érythrocytes d'un sujet avec une méthémoglobinémie comportent de façon simultanée 8 types de molécules avec toutes les formes hybrides résultant d'une distribution statistique des sous-unités dans les tétramères.

La focalisation isoélectrique permet de mettre en évidence certains de ces hybrides tels que les hybrides de valence $\alpha_2 \beta_3^{2+}$ et $\alpha_2 \beta_2 \beta_3^{2+}$ qui focalisent respectivement à un point isoélectrique de 7,10 et 7,07 alors que la focalisation de la méthémoglobine est à 7,20 et de l'hémoglobine A à 6,96.

Les images électrophorétiques observées sont donc loin de refléter la complexité de la réalité intra-érythrocytaire.

L'hétérogénéité cellulaire intervient également dans le sang contenant la méthémoglobine. D'ailleurs les possibilités de réduction enzymatique d'un globule rouge changent considérablement avec l'âge du patient : immaturité du système enzymatique chez le nouveau-né et l'âge du globule : perte progressive de l'activité enzymatique.

III. Mécanismes physiologiques de réduction de la méthémoglobine

D'un point de vue physiologique, la formation de la méthémoglobine est une réaction irréversible en raison de la lenteur de la réaction inverse. Cependant, en présence d'agents réducteurs, la méthémoglobine peut être rapidement réduite en hémoglobine[21].

Les érythrocytes ont plusieurs systèmes réducteurs qui sont si efficaces que, dans des conditions physiologiques normales, le niveau de méthémoglobine reste inférieur à 1%. Lorsque le taux de méthémoglobine atteint environ 1,5 g/dl, une cyanose clinique apparaît. Il s'agit toutefois d'un niveau approximatif. L'apparition de la cyanose dépend également d'autres facteurs, tels que le taux d'hémoglobine dans le sang, la saturation en oxygène de l'hémoglobine, la pigmentation de la peau, l'intensité et la qualité de la lumière incidente sous laquelle le patient est examiné[21].

1. La réduction endogène directe

Même en absence du stress oxydatif exogène, l'oxydation endogène de l'oxygène moléculaire transformerait finalement suffisamment d'hémoglobine en méthémoglobine pour altérer la respiration cellulaire[23].

Pour lutter contre ce processus, il existe plusieurs systèmes enzymatiques dans le globule rouge qui inhibent l'oxydation ou réduisent la MetHb en hémoglobine :

- Le système de réduction NADH cytochrome-b5-réductase est le système prédominant et représente environ 99 % de la réduction quotidienne des méthémoglobines[23].

- Le système de réduction NADPH-méthémoglobine-réductase à la différence de la voie principale NADH dépendante, n'exerce qu'un rôle physiologique mineur dans la réduction de la MetHb puisque cette dernière réaction requiert la présence d'un accepteur intermédiaire d'électrons qui n'existe pas dans l'organisme[23].

- L'acide ascorbique et le glutathion sont responsables de petites quantités de réduction.

Parmi les autres agents réducteurs endogènes, on mentionne : la flavine réduite, la cystéamine et la cystéine réduite sur les molécules protéiques.[23]

Le taux de reconversion du MetHb en hémoglobine chez les individus normaux est d'environ 15 % par heure. Cela suppose qu'il n'y ait pas de production de méthémoglobine en cours[23].

Il s'agit d'une réaction cinétique de premier ordre. Par exemple, un sujet ayant 40 % de méthémoglobine devrait avoir un niveau de 34 % une heure plus tard[23].

Dans des circonstances normales, les enzymes/molécules impliquées dans les voies accessoires jouent un rôle mineur dans la réduction. Toutefois, les patients atteints de méthémoglobinémie à la suite d'une déficience congénitale complète en cytochrome-b5 réductase peuvent maintenir des niveaux de MetHb inférieurs à 50%, et parfois aussi bas que 10%, suggérant que ces voies secondaires peuvent réduire des quantités significatives de MetHb lorsque la voie réductase du cytochrome-b5 est dépassée[23].

1.1. La voie NADH-cytochrome b5 réductase

La voie du NADH-cytochrome b5-réductase constitue le principal système réducteur des globules rouges dans les conditions physiologiques.

On attribue à « Warburg » la découverte de l'activité de réduction de la méthémoglobine dans les globules rouges. « Petraghiani » a pu montrer par la suite que le cytochrome b5 et la cytochrome b5-réductase du foie du porc pouvaient réduire la méthémoglobine du cheval en présence du NADH. En outre, le taux de réduction de la méthémoglobine était le même que celui du cytochrome b5. Cependant, « Scott et al » ont été les premiers à isoler et à caractériser partiellement deux réductases de méthémoglobine à partir d'érythrocytes normaux, établissant ainsi la présence de systèmes réducteurs pour maximiser la réduction de la méthémoglobine[21].

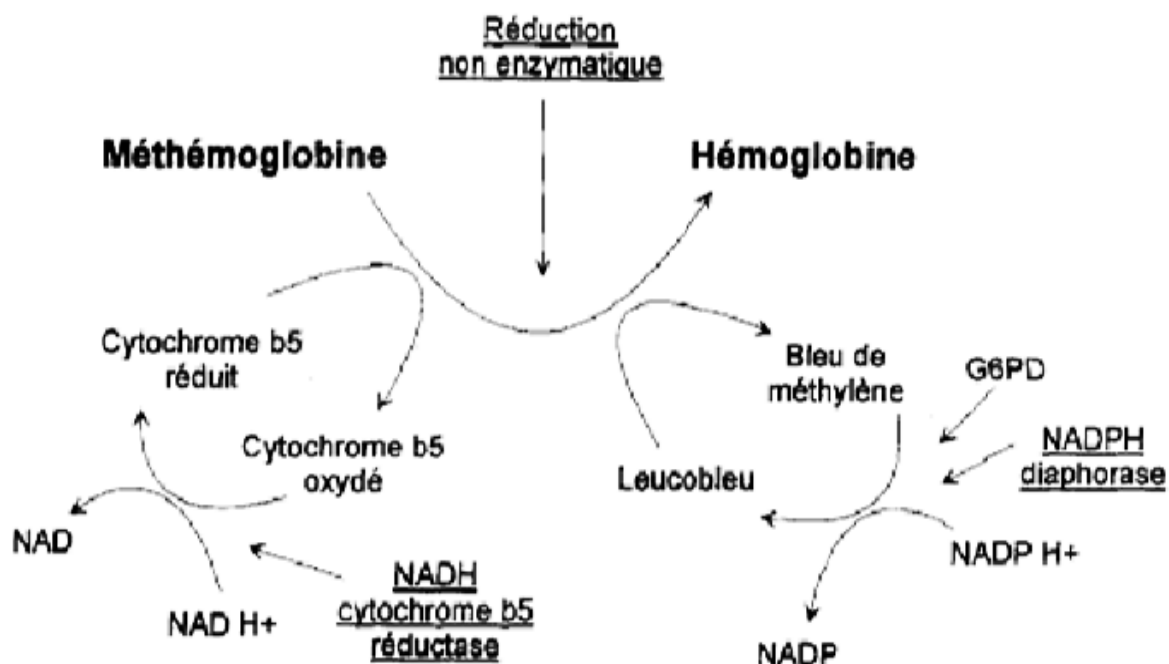


Figure 18: Les principales voies de réduction de la méthémoglobine[26]

L'un de ces deux systèmes était celui de l'enzyme dépendante de la NADH.

La réduction de la méthémoglobine in vitro par la méthémoglobine réductase NADH dépendante est très lente et nécessite la présence d'un composé intermédiaire tel que le

ferrocyanure de potassium. L'implication d'un second composé dans la réaction de réduction de la méthémoglobine a été suggérée par les travaux de « Kanazawa et al. ». Une stimulation marquée de la réduction de la méthémoglobine par l'ajout du cytochrome b5 suggère que cette protéine est l'intermédiaire physiologique entre la réductase, la NADH et la méthémoglobine. La réductase dépendante de la NADH est donc dérivée de la cytochrome b5-réductase liée à la membrane des précurseurs des érythrocytes[21].

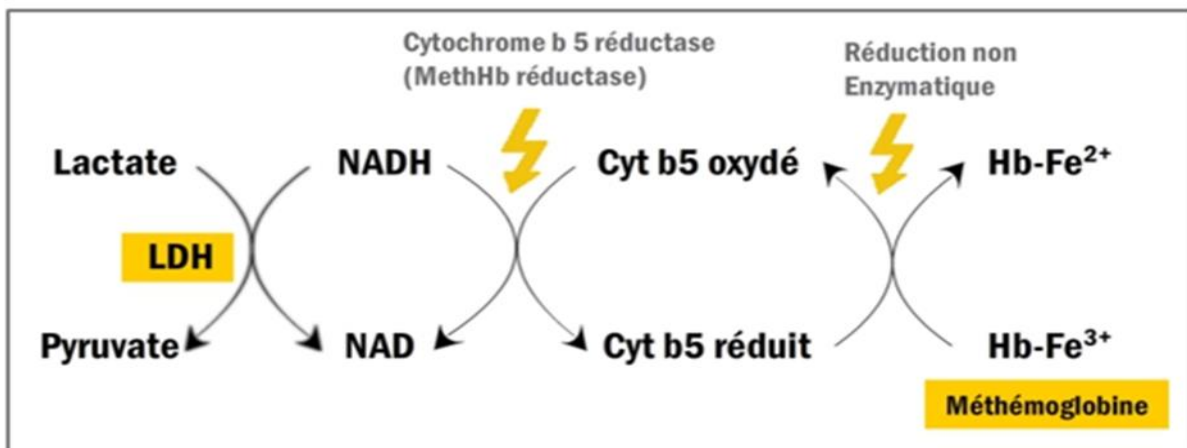


Figure 19: Réduction de la méthémoglobine par la voie NADH dépendante[27]

1.1.1. Le cytochrome b5

Le Cytochrome b5 appartient à une famille d'hémo protéines destinées au transport d'électrons et qui sont omniprésentes dans les champignons, les bactéries phototrophiques, les plantes et les animaux. Le terme cytochrome incorpore le mot grec « cyto » signifiant récipient creux et « chrome » pour indiquer une protéine colorée dans la cellule[28].

La famille du cytochrome b5 comprend deux isoformes chez les vertébrés, l'une ancrée à la membrane du réticulum endoplasmique (Cyb5A) et l'autre ancrée à la membrane mitochondriale externe (Cyb5B). L'ancrage membranaire dans Cyb5A et Cyb5B est réalisé par un domaine C-terminal hydrophobe. Les domaines de liaison de l'hème polaire de Cyb5A et Cyb5B ont des plis pratiquement identiques avec des éléments de structure secondaires apparaissant dans l'ordre : $\beta 1-\alpha 1-\beta 4-\beta 3-\alpha 2-\alpha 3-\beta 5-\alpha 4-\alpha 5-\beta 2-\alpha 6$ [29].

La structure a été décrite comme comprenant deux noyaux hydrophobes séparés par une feuille à cinq brins. Toutes les protéines du cytochrome b5 contiennent un hème redox actif qui est ligaturé par les chaînes latérales de l'imidazolyl de deux résidus d'histidine. L'hème se lie dans le noyau hydrophobe 1 (2-5) et est pris en sandwich entre deux motifs hélice-boucle-hélice. Les ligands hémiques résident dans les boucles de ces motifs, l'un entre les hélices $\alpha 2$ et $\alpha 3$ et l'autre entre les hélices $\alpha 4$ et $\alpha 5$ [29].

Le noyau hydrophobe 2 contient l'hélice $\alpha 1$, qui est située près du polypeptide N terminus ainsi que de l'hélice C-terminale $\alpha 6$. Des variations assez importantes sur ce pli classique ont été observées dans une variété de membres de la superfamille b5, y compris les domaines b5 de la sulfite-oxydase et du cytochrome b2. L'homologie des séquences d'acides aminés des noyaux b5 est très élevée chez les orthologues des vertébrés de Cyb5A, chez les membres de la famille Cyb5B (données non présentées) et chez les orthologues de Ncb5or[29].

En revanche, les noyaux b5 du Cyb5A humain et du Ncb5or humain ne partagent que 31% d'identité et 52% de similitude. De plus, le ligand d'hème His112 dans Ncb5or est déplacé par un résidu par rapport au résidu d'histidine correspondant dans Cyb5A. Cela suggère une divergence importante des propriétés structurales et fonctionnelles de ces deux membres de la superfamille du cytochrome b5[29].

Aucune de ces cytochromes ne réagit directement avec l'oxygène, leurs rôles dans la respiration ont été élucidés par le chimiste allemand « Otto Warburg ».

Les variantes membranaires du cytochrome b5 sont localisées dans les mitochondries et les microsomes alors que la forme hydrosoluble du cytochrome b5 est présente dans les bactéries et les érythrocytes[28].

Il existe deux isomères du cytochrome b5, qui diffèrent par une rotation de 180 du groupe hémique[28].

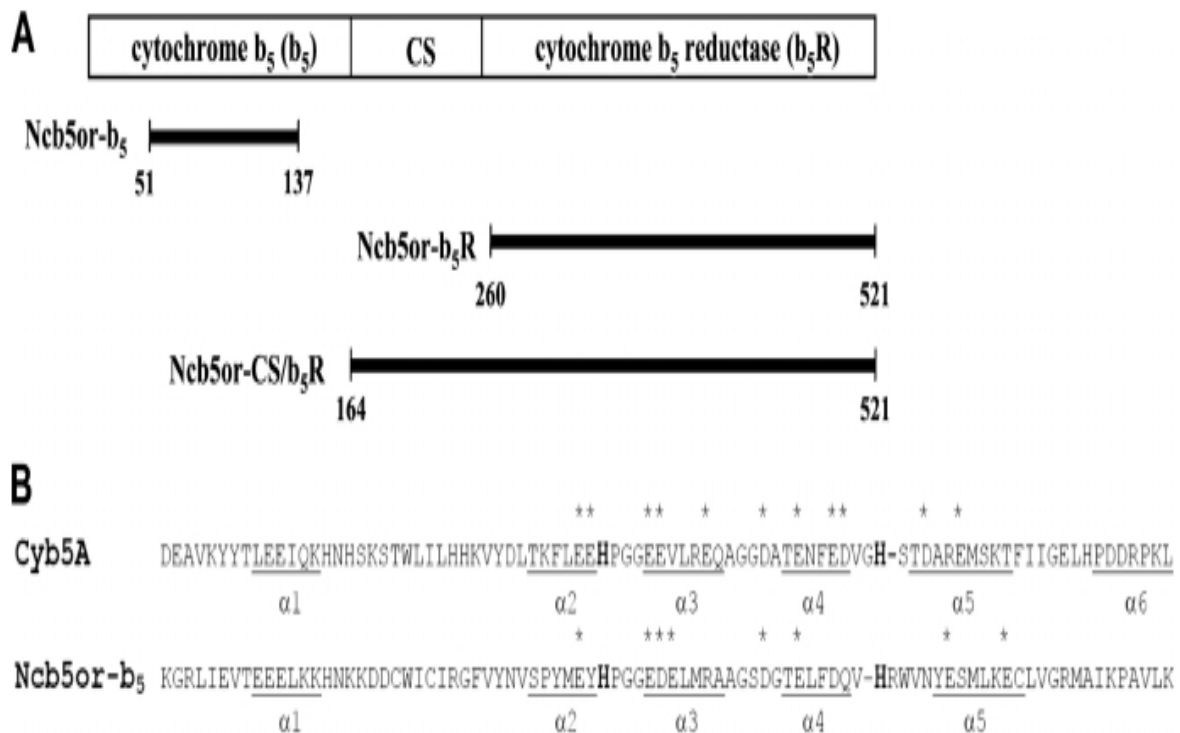


Figure 20: A. diagramme schématique de domaines individuels dans le Ncb5or humain B. alignement séquentiel de Ncb5or humain (bas) et Cyb5A humain (haut) montrant les segments hélicoïdaux.[29]

(*) Les domaines du cytochrome b_5 et de la cytochrome b_5 réductase se trouvent respectivement au terminus N et C.

1.1.2. La cytochrome b_5 -réductase

La cytochrome b_5 réductase fait partie de la famille des enzymes de l'oxydoréductase de la transhydrogénase de la flavoprotéine et est présente à une concentration relativement élevée dans les tissus hépatiques. Cette protéine catalyse la réduction d'un seul électron du ferricytochrome b_5 en ferrocyclochrome b_5 en utilisant des électrons de NADH le donneur physiologique préféré d'électrons de type pyridine grâce à son domaine FAD[30].

La structure tridimensionnelle de la protéine révèle deux régions distinctes hautement conservées appelées les domaines FAD et NADH. L'enzyme se compose de deux lobes fonctionnels liés par une région charnière flexible, ce qui est important pour maintenir l'architecture protéique critique requise pour l'activité enzymatique. L'un des lobes fonctionnels

lie le groupe prothétique FAD tandis que l'autre est associé au substrat de réduction physiologique NADH. Le domaine FAD possède une grande fente dans laquelle le groupe prothétique FAD est situé, et le domaine NADH fournit une position appropriée pour la coenzyme NADH. Le N-terminus du domaine NADH joue un rôle de connexion de charnière entre les deux domaines[30].

La cyb5r existe sous deux formes :

L'isoforme dominante est une variante à membrane microsomique amphipathique composée d'un petit domaine d'ancrage à membrane hydrophobe d'environ 3 kD et d'un domaine catalytique hydrophile plus grand d'environ 31 kD. L'isoforme amphipathique est incrustée dans la membrane plasmique et dans les membranes du réticulum endoplasmique, des mitochondries, de l'appareil de Golgi, des peroxysomes, du noyau, du réticulum sarcoplasmique et des synapses neuronales, et il a été démontré qu'elle est un composant critique du système de transport d'électrons microsomaux[30].

Cette protéine, ainsi que la forme liée à la membrane du cytochrome b5 (cyb5r), est impliquée dans diverses fonctions métaboliques, y compris le métabolisme et la détoxification des xénobiotiques (Rhoads et al., 2011 ; Abouraya et al., 2011)[30]; la bioactivation des médicaments cancérogènes (Sangeetha et al., 2012)[30]; la bioactivation des médicaments anticancéreux ; élongation et désaturation des acides gras ; anabolisme du cholestérol ; réduction de la méthémoglobine ; et la signalisation redox dans les neurones (Mirzaei, 2010)[30].

En revanche, l'isoforme soluble du cyb5r existe principalement dans les érythrocytes circulants des mammifères et est importante pour la réduction de la méthémoglobine en hémoglobine, ce qui permet de réguler efficacement la concentration de méthémoglobine dans ces cellules. À mesure que les érythrocytes se développent, la dégradation nucléaire limite leurs capacités à synthétiser de nouvelles protéines. Par conséquent, tout changement dans la demi-vie protéique se manifesterait principalement dans les érythrocytes et une accumulation de méthémoglobine se produirait[30].

La déficience fonctionnelle des isoformes protéiques du cyb5r est connue sous le nom de maladie congénitale récessive de la méthémoglobinémie, la première maladie à être directement associée à une déficience enzymatique. Les patients sont particulièrement exposés à la

méthémoglobinémie toxique résultant de l'ingestion de médicaments oxydants (Percy et al, 2005b)[30].

La cyb5r est un membre de la superfamille de la NAD(P) H-ferrédoxine réductase (FNR), initialement appelée NADH diaphorase (Scott et Griffith, 1959); on a déterminé plus tard que cette protéine comprend[30] :

- La dinucléotide-cytochrome b5 réductase de dihydronicotinamide-adénine-dinucléotide-cytochrome b5 réductase réduite,
- La NADH-ferricyanide réductase,
- La NADH-ferricytochrome b5 oxydoréductase,
- La NADH 5 α -réductase,
- La NADH-déshydrogénase et
- La NADH-méthémoglobine réductase.

L'alignement des séquences a permis d'identifier des structures moléculaires significativement similaires et des homologies fortes entre cyb5r et les autres enzymes de la superfamille FNR tel que la NADPH-cytochrome P450 réductase[30].

La dénomination "oxydoréductase dépendante de la NADH" s'applique à chaque enzyme qui transfère des électrons de la partie pyridine à un accepteur. Une grande partie de notre connaissance de la cinétique enzymatique et du mécanisme de transfert d'électrons provient d'études de la structure cristalline et de la mutagenèse dirigée par le site. Bien que cyb5r transfère des électrons à une variété de molécules accepteuses d'électrons telles que le ferricyanide, le déhydroascorbate et les quinones, l'atome ferrique du cofacteur hémique dans cyb5r est le substrat le plus naturel pour la réduction[30].

Un complexe fonctionnel entre cyb5r et cyb5 chez les humains a été vérifié. Les interactions électrostatiques entre les résidus de lysyle (K42, K126, K163 et K164) dans la cyb5r et les groupes carboxyle (E47, E48, E52, E60 et D64) du cyb5 conviennent au transfert d'électrons (Shirabe et al.1998)[30]. Le transfert d'électrons est effectué selon les principes thermodynamiques expérimentalement proposés pour les niveaux d'énergie. Les différences de

potentiel redox entre les complexes FAD et NAD sont d'environ -60 mV ; Par conséquent, cyb5r peut participer à un ou deux transferts d'électrons vers un nouvel accepteur d'électrons et les électrons peuvent ainsi se déplacer efficacement à travers le gradient électrochimique (Iyanagi et al.1984)[30].

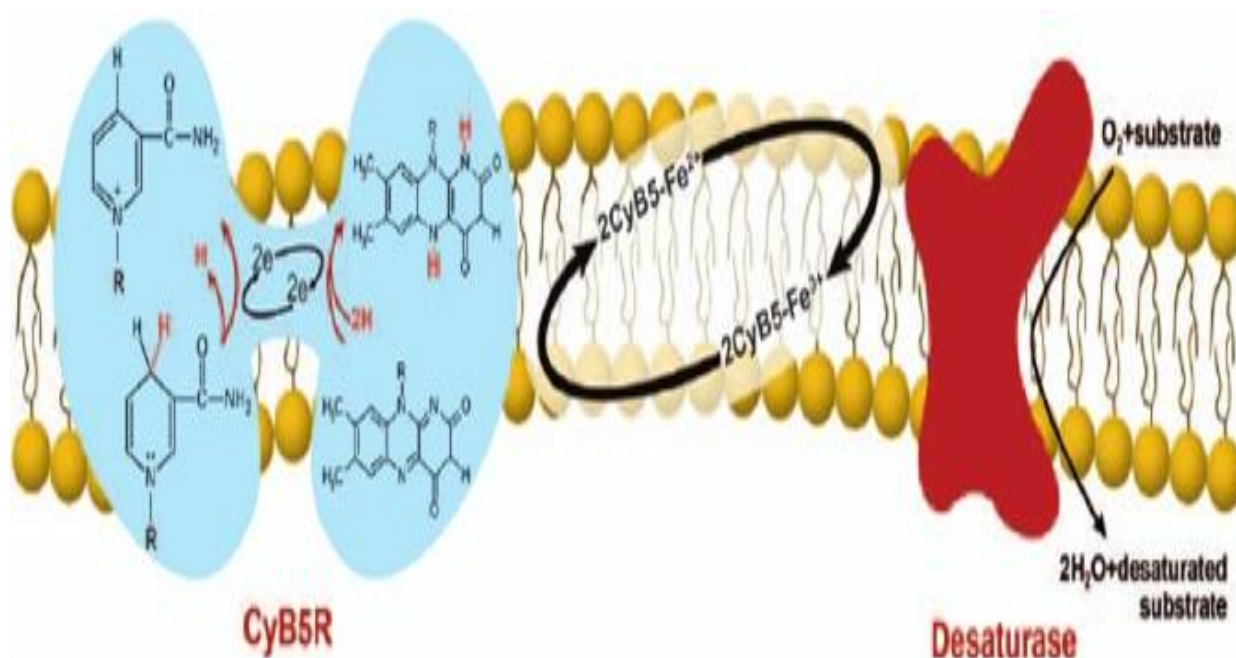


Figure 21 : Schéma montrant le transfert d'électrons et de protons par le complexe CYB5R[30]

(*) L'anneau isoalloxazine de FAD reçoit deux électrons de NADH par un mécanisme de transfert d'hydrure. Un changement conformationnel dans le lobe de la flavine de l'enzyme le rend idéal pour atteindre le groupe de l'hème dans CyB5.

1.1.2.1. La structure tridimensionnelle du cytochrome b5 réductase

La structure tridimensionnelle (3D) de cyb5r a été résolue et affinée à l'aide de la cristallographie par rayons X.[28]

La cytochrome b5-réductase soluble du rat a été la première à être résolue à l'état natif et complexée avec NAD⁺ et a montré une homologie séquentielle de 95% avec l'enzyme humaine. Ainsi, le modèle hétérologue du rat a pu être utilisé pour prévoir comment les variantes humaines d'origine naturelle peuvent agir sur la fonction du cyb5r.[28]

Cette structure a fourni des informations importantes concernant la fonction de l'enzyme et son rôle dans le transport électronique du NADH vers les autres complexes enzymatiques. La première structure radiologique réussie a été fournie par « Miki et al, 1987 ». Actuellement, il existe cinq structures 3D de CyB5R.[30]

La carte de diffraction du cyb5r soluble révèle deux domaines distincts :

- Le domaine de liaison N-terminal FAD (de I34 à R143), qui contient un site de liaison pour le groupe prothétique FAD,
- Le domaine NADH (résidus K173 à F301).

Ces domaines sont séparés par une grande fente inter domaine (G144-V172) connue sous le nom de région charnière (Bando et al, 2004, Kim et al, 2007).[30]

Les trois feuilles β antiparallèles dans la région charnière permettent de maintenir les deux lobes à proximité immédiate avec l'orientation conformationnelle correcte. Cette orientation semble être critique pour le transfert d'électrons de NADH à FAD.[30]

Le domaine FAD se compose de six feuilles β antiparallèles et d'hélice α avec l'ordre $5\beta/1\alpha/1\beta$. Le domaine de la NADH forme une structure $\alpha/\beta/\alpha$ comprenant 5 brins β et 4 hélices α (Nishida et al, 1995)[30].

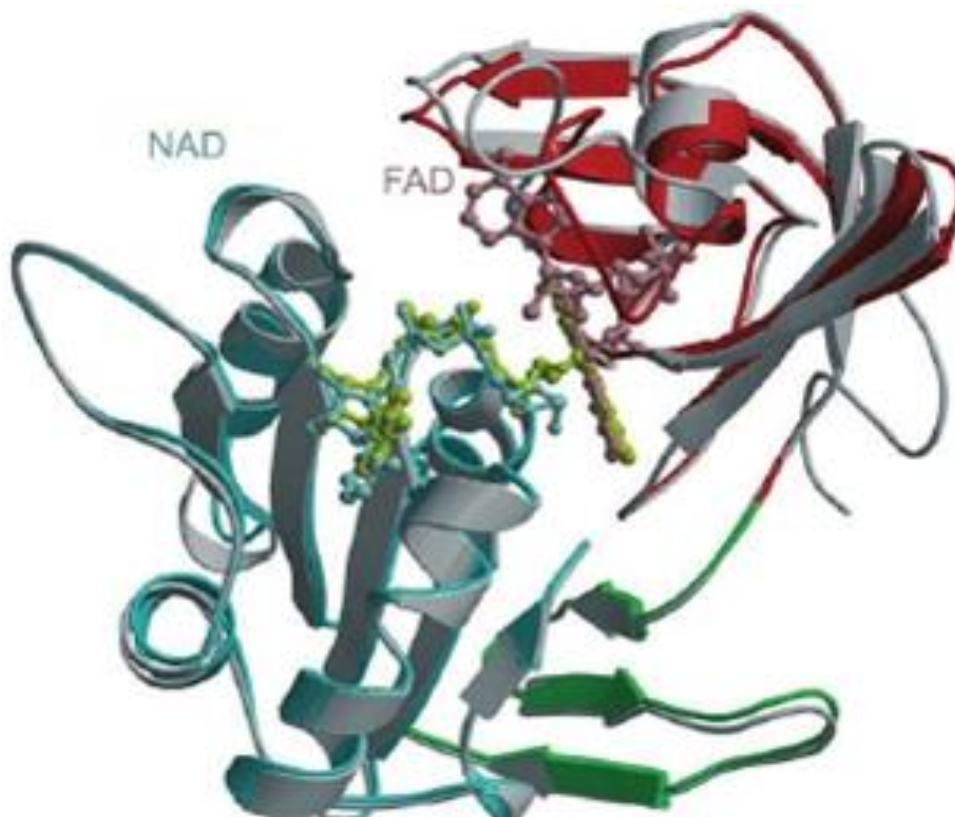


Figure 22: Structure cristallographique par rayons X du cytochrome b5 réductase[28]

(*)Un diagramme en ruban de la structure du domaine de la diaphorase cb5r de rat complexée avec NAD⁺ est représenté montrant les éléments structuraux qui composent les lobes de liaison FAD et NADH et la région de la "charnière" de connexion. Le groupe prothétique FAD et le NAD⁺ lié sont représentés en "stick" avec les atomes individuels colorés selon le schéma de coloration standard Corey, Pauling, Koltun (CPK).

1.1.2.2. Le gène du cytochrome b5 réductase

La cytochrome b5-réductase est codée par le gène CYB5R3 (auparavant connu sous le nom DIA1). Il est situé sur le chromosome 22q 13-qter (Fisher et al 1977) et a une longueur de 32 kb. Le gène CYB5R3 est composé de neuf exons et la séquence nucléotidique complète a été rapportée par « Tomatsu et al (1989) ». Les formes solubles et membranaires de la cytochrome b5-réductase sont produites à partir du même gène CYB5R3. La forme soluble est traduite à partir de la transcription qui ne contient pas l'exon 1[28].

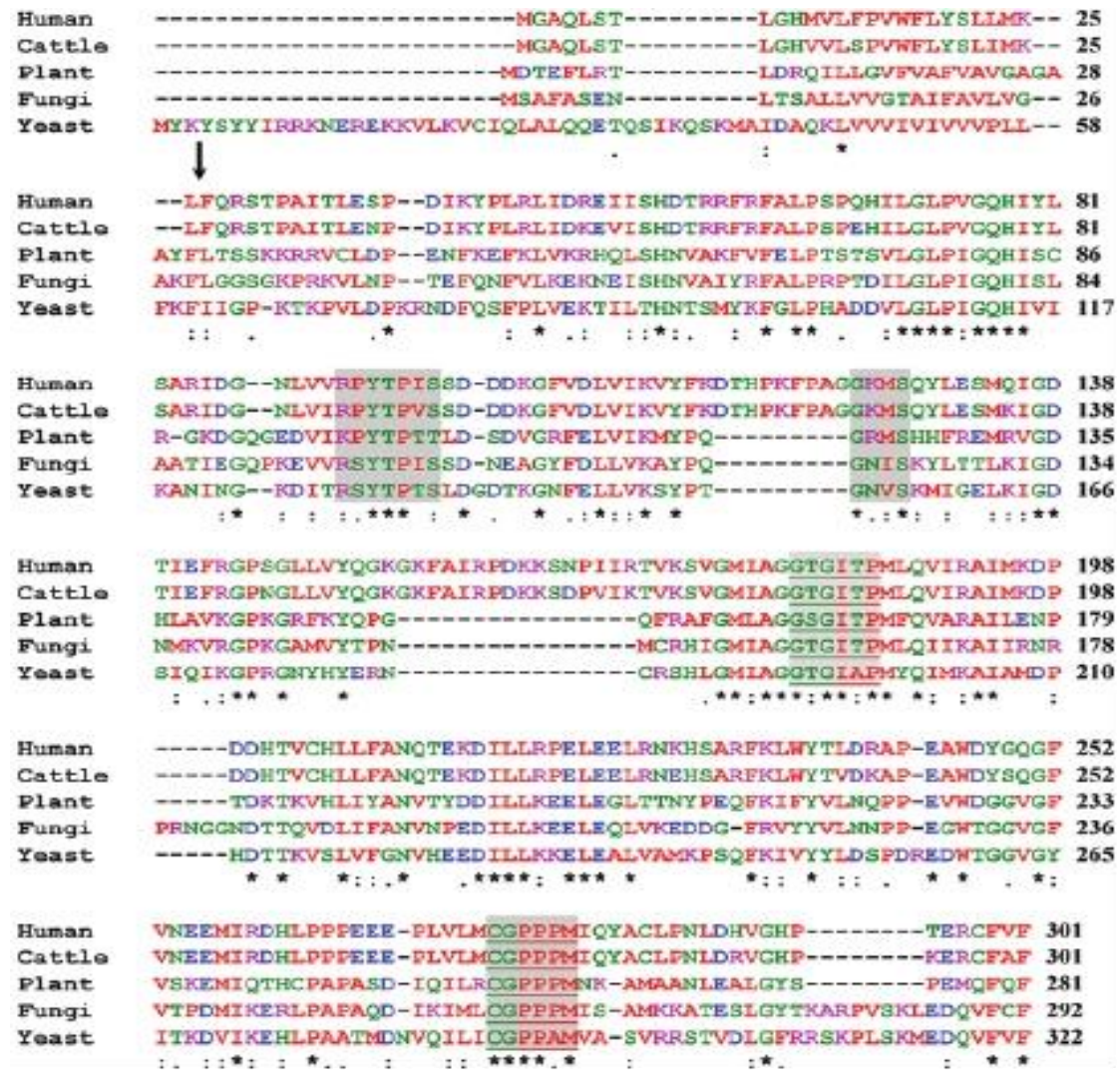


Figure 23: Alignement de plusieurs séquences de la structure primaire de CYB5R[30]

1.1.2.3. Rôles biologiques de la NADH-cytochrome b5 réductase :

Il s'agit d'une flavoprotéine qui assure le transfert de deux électrons du NADH par l'intermédiaire du groupe prosthétique de l'enzyme le FAD à 2 molécules de cytochrome b5 qui constitue son substrat naturel.[31]

Le cytochrome b5 réduit ensuite directement plusieurs accepteurs d'électrons, dont la méthémoglobine par réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} .[31]

La cytochrome b5-réductase des mammifères existe sous deux formes, l'une membranaire ubiquitaire, l'autre soluble érythrocytaire. Au niveau structurel, les deux formes du cytochrome b5 réductase ont en commun le domaine catalytique hydrophile de la molécule qui comporte 275 résidus amines. La protéine membranaire comporte en plus une séquence supplémentaire N terminale de 25 résidus amines qui constitue le domaine membranaire hydrophobe de la molécule, et qui permet son ancrage aux phospholipides de la membrane cellulaire.[31]

Dans l'érythrocyte, la forme soluble est majoritaire à 65-80 % et assure la réduction de la méthémoglobine ; la fraction membranaire, minoritaire, intervient dans le recyclage de la vitamine E.[31]

Dans les autres tissus de l'organisme, l'enzyme est majoritairement sous sa forme membranaire microsomale. Elle est localisée sur la face externe du réticulum endoplasmique et fait partie d'un complexe intervenant dans la désaturation des acides gras et dans la synthèse des lipides notamment cérébraux, et du cholestérol. L'enzyme est également présente dans l'appareil de Golgi, dans la membrane externe des mitochondries et des peroxysomes. La forme soluble, minoritaire, joue un rôle mal connu[31].

On peut donc supposer que l'atteinte cérébrale de la méthémoglobinémie héréditaire récessive type II est la conséquence d'une perturbation du métabolisme des acides gras, mais à l'heure actuelle on ne dispose malheureusement d'aucune étude biochimique et neuropathologique précise du cerveau des enfants atteints de cette affection[31].

1.2. Le système de réduction NADPH réductase

Il s'agit d'un système de réduction auxiliaire non essentiel dans les conditions physiologiques.

La méthémoglobine dans les globules rouges normaux et dans les globules rouges des patients atteints d'un déficit en NADH cytochrome b5 réductase est rapidement réduite par le bleu de méthylène (chlorure de tétraméthylthionine). Ceci suggère la présence d'un système de réduction de la méthémoglobine autre que le système de la méthémoglobine réductase dépendant du NADH[21].

Ce système dépend en fait de la présence du NADPH. Le bleu de méthylène, après acceptation d'un électron du NADPH, est réduit à sa leucoforme et transfère l'électron à la méthémoglobine. Cette réaction se produit à la fois en intracellulaire et en intercellulaire ; l'addition du bleu de méthylène à un mélange de cellules normales et déficientes en cytochrome b5 réductase réduit la méthémoglobine dans les deux types de cellules[21].

La présence de ce système enzymatique n'est normalement pas cruciale afin de réduire la méthémoglobine. Dans les conditions physiologiques, il est responsable de la réduction d'environ 5% de la méthémoglobine[21].

Un cas signalé ne présentant pas cette enzyme n'a pas montré de quantités excessives de méthémoglobine. Cependant, ce système enzymatique prend de l'importance chez les patients déficients en réductase dépendante de la NADH[21].

L'administration de bleu de méthylène à ces patients accélère considérablement la réduction de la méthémoglobine.

1.2.1. La glucose-6-phosphate-déshydrogénase

La glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) est une enzyme qui possède une action oxydoréductase catalysant la réaction :



Cette enzyme est la première enzyme de la voie des pentoses phosphates. Elle contrôle le flux et catalyse l'oxydation du glucose-6-phosphate en 6-phosphoglucono-δ-lactone avec une réduction concomitante d'une molécule de NADP⁺ en NADPH dont elle constitue l'une des sources importantes.

Un déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase est appelé favisme. Un déficit en production de NADPH aura des conséquences sur la résistance de la cellule au stress oxydatif et la capacité de régénération du glutathion.

Étant donné que le donneur d'électrons est le NADPH et que sa génération dépend d'un shunt d'hexose monophosphate normal, la présence de niveaux normaux de G6PD est importante. Les patients qui n'ont pas de G6PD n'ont pas de réduction accélérée de la méthémoglobine en présence de bleu de méthylène[21].

En fait, l'administration de bleu de méthylène peut être préjudiciable. « Yubisui et al » ont identifié ce système réducteur comme étant la NADPH-flavine réductase[21].

La réduction de la méthémoglobine dans ce système se fait de la manière suivante : la flavine est réduite par l'enzyme en présence de NADPH et la flavine réduite réduit à son tour la méthémoglobine de façon non enzymatique. « Matsuki et al » ont montré que la riboflavine accélère la réduction de la méthémoglobine dans les globules rouges méthémoglobinémiques normaux et congénitaux[21].

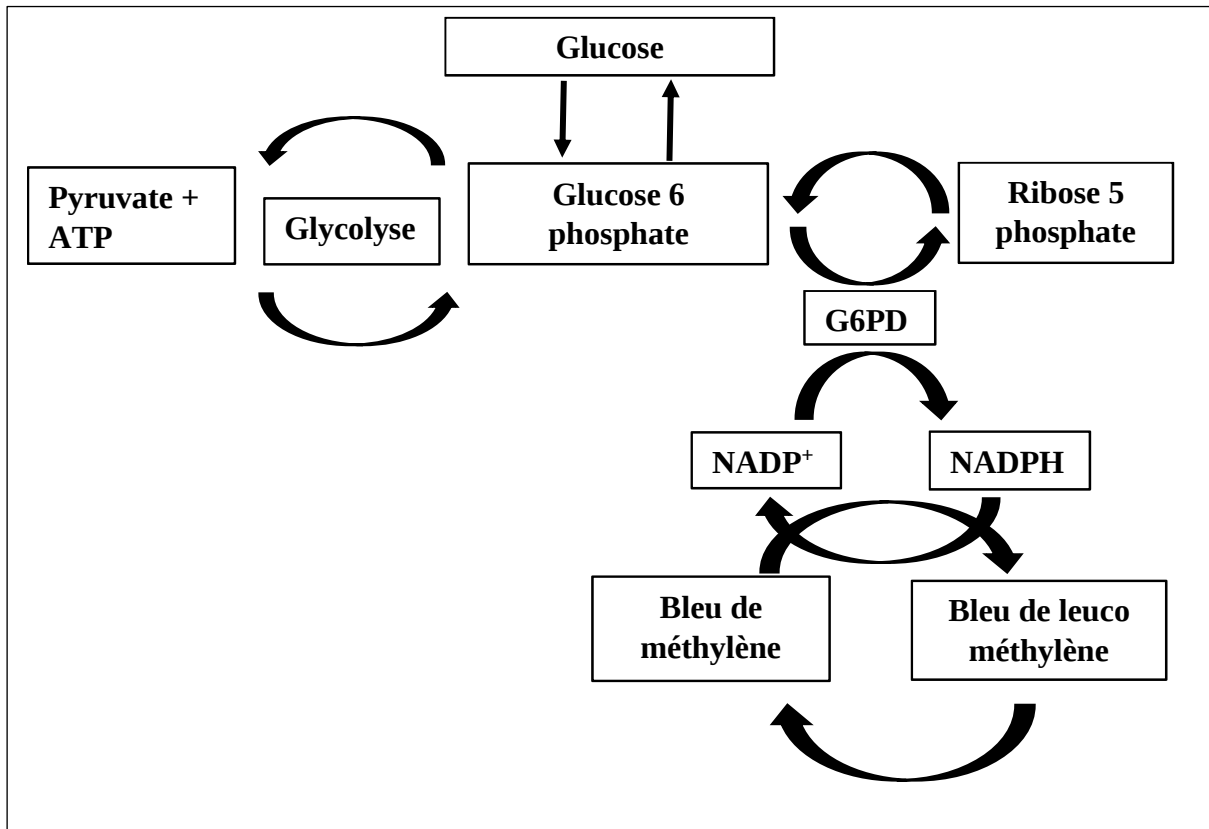


Figure 24: Effet du déficit en G6PD sur la production du NADP dans la voie du phosphate pentose.[24]

1.2.2. La riboflavine

« Hirano et al » ont traité avec succès un patient présentant une déficience congénitale en méthémoglobine-réductase avec la riboflavine. L'administration de riboflavine n'a pas causé d'effets secondaires importants et a été efficace[21].

La riboflavine (7,8-diméthyl-10-ribityl-isoalloxazine) est la combinaison d'un ribose et d'une flavine qui est un hétérocycle associé à 3 noyaux. Sur le plan métabolique, la flavine adénine dinucléotide FAD et la flavine mononucléotide FMN sont les 2 dérivés les plus essentiels en tant que coenzymes : La FAD et la FMN se comportent comme porteurs de protons dans les réactions redox des mécanismes énergétiques. La riboflavine est aussi impliquée dans le métabolisme de la niacine et de la vitamine B6, le cycle des folates et dans la reméthylation de l'homocystéine en méthionine. Un supplément de riboflavine améliorerait la concentration d'hémoglobine. Le FMN et le FAD sont hydrolysés au niveau de l'intestin grêle selon un mécanisme de transport actif sodium-dépendant.

La riboflavine d'origine animale ou végétale possède une bonne biodisponibilité permettant une absorption de 95 % jusqu'à 25 mg/j avec un transport qui se fait dans le plasma lié aux immunoglobines et à l'albumine. Il se fait aussi via les érythrocytes. Si on retrouve le FAD et le FMN dans tous les tissus, le stockage est essentiellement hépatique. En excédent, la riboflavine est éliminée dans l'urine.

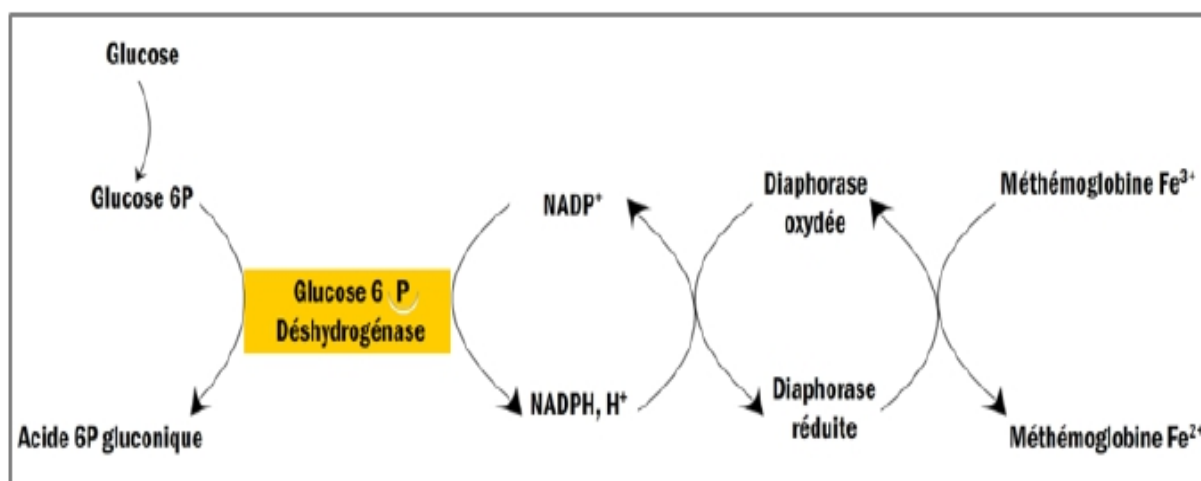


Figure 25: Réduction de la méthémoglobine par la voie NADPH dépendante[27]

2. Les voies accessoires de réduction de la méthémoglobine

2.1. La réduction par le glutathion

Le glutathion (GSH) réduit directement la méthémoglobine sans la présence d'un système enzymatique. C'est une voie secondaire qui permet la réduction de 10 à 15 % de la méthémoglobine physiologique. Elle est lente et liée à la voie des pentoses[27].

L'enzyme clé est la Glutathion réductase, le cofacteur de cette enzyme est la NADPH (glycolyse aérobie) : le glutathion oxydé (GSSG) doit être donc réduit de façon enzymatique par la glutathion réductase, qui nécessite le NADPH[21].

Physiologiquement, la réduction de la méthémoglobine par une réduction de glutathion n'est probablement pas un facteur important puisque les patients atteints d'un déficit en glutathion synthétase n'accumulent pas de méthémoglobine. En plus, la carence en glucose-6phosphate déshydrogénase ne provoque pas une méthémoglobinémie à moins que les patients ne subissent un défi oxydatif. D'ailleurs, l'importance du glutathion réduit réside dans le traitement des agents oxydants plus que la réduction de la méthémoglobine[21].

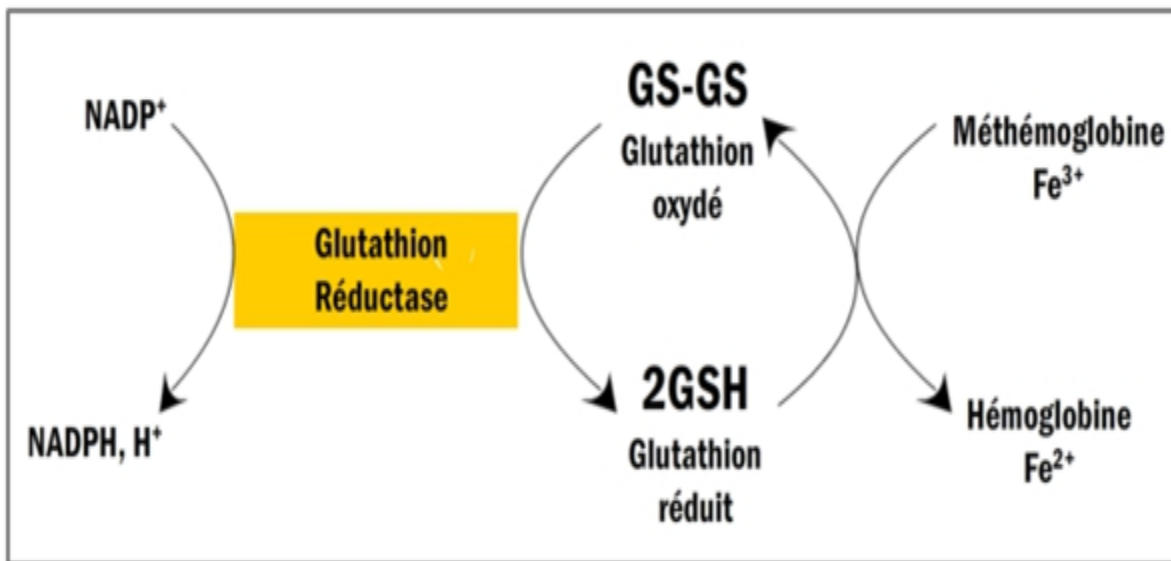


Figure 26: Réduction de la méthémoglobine par la voie du glutathion[27]

2.2. La réduction par l'acide ascorbique

L'acide ascorbique réduit également la méthémoglobine, mais ne constitue pas dans les conditions physiologiques, un agent réducteur crucial.

La méthémoglobinémie n'est pas donc caractéristique d'une carence sévère en acide ascorbique. Cette voie permet la réduction de moins de 15% de la méthémoglobine physiologique, elle est lente et insuffisante en présence d'une intoxication[27].

La réduction par l'acide ascorbique est liée à la voie des pentoses, le cofacteur est la NADP. C'est le glutathion qui permet la réduction de l'acide ascorbique, qui à son tour réduit la MetHb[27].

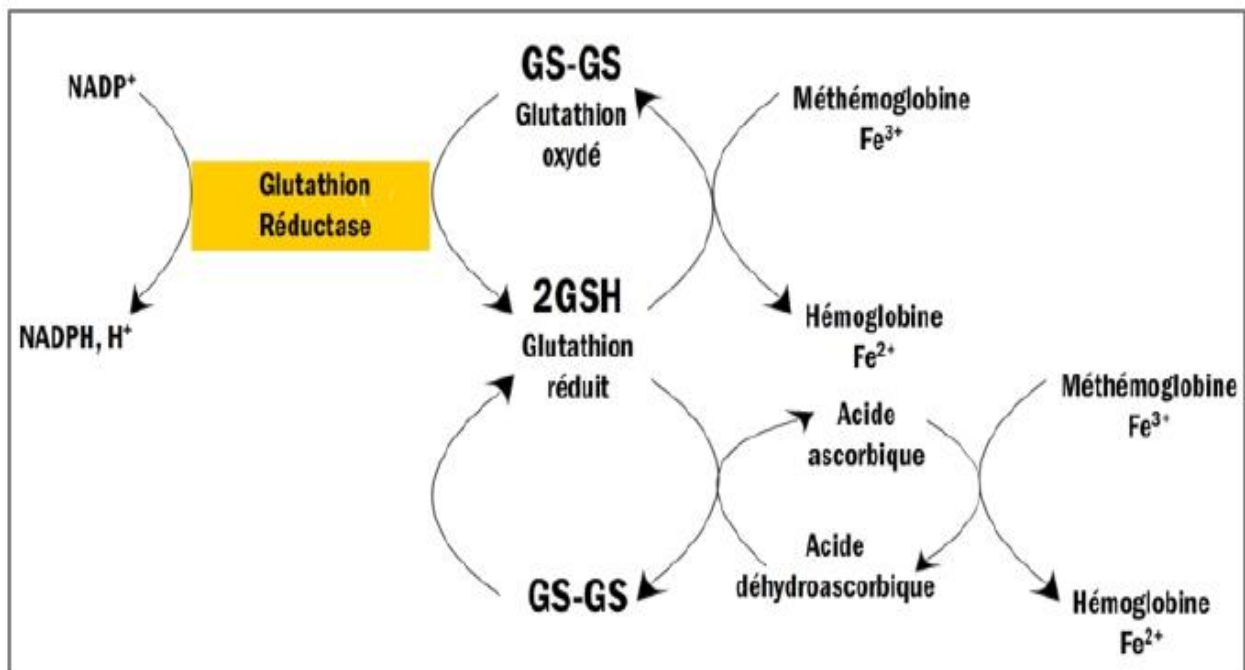


Figure 27 : Réduction de la méthémoglobine par la voie de l'acide ascorbique[27]

Les 4 voies de réduction de la méthémoglobine

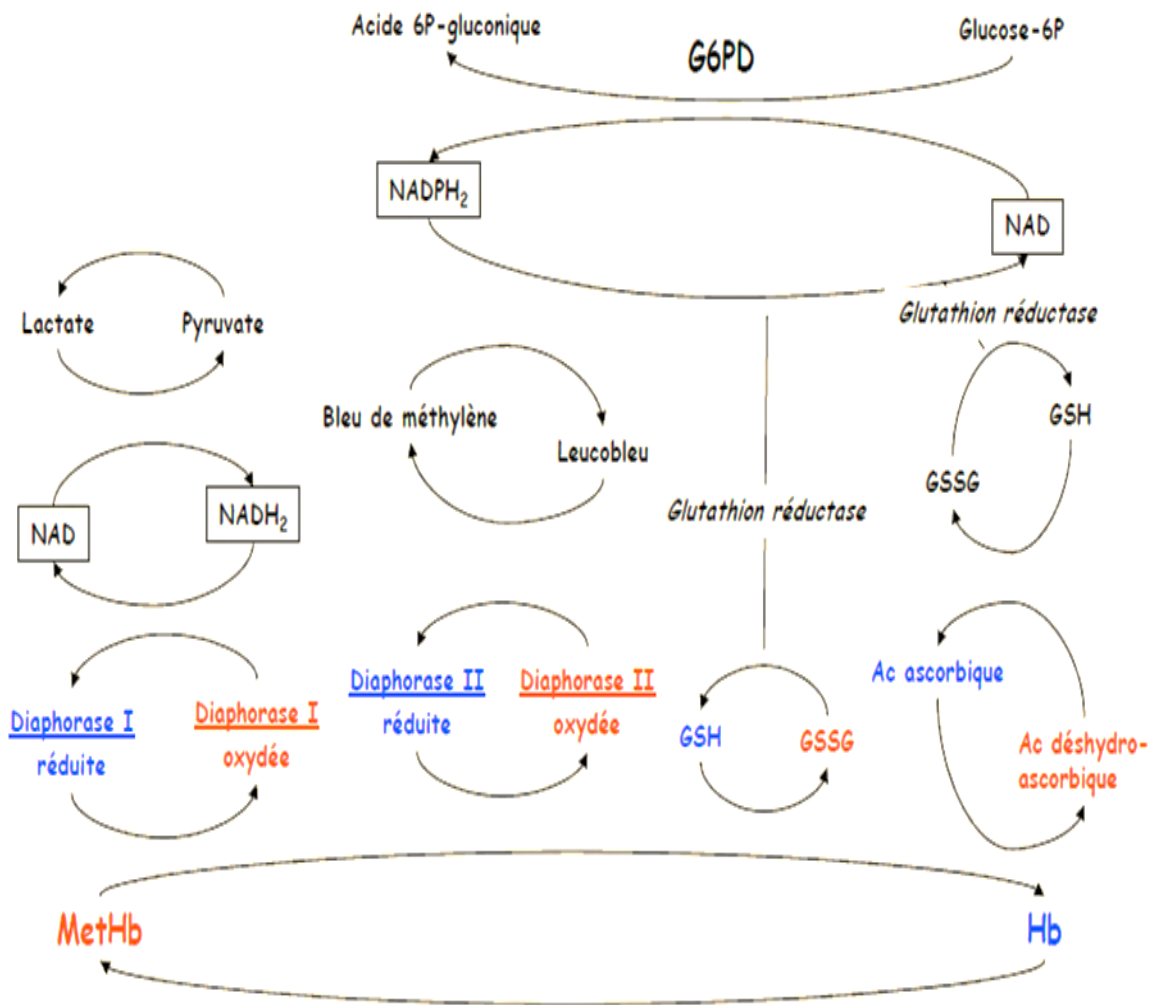


Figure 28: Schéma regroupant les différentes voies de réduction de la méthémoglobine

IV. Les différents types de méthémoglobinémie

1. L'hémoglobinosose M

1.1. Historique et Définitions

Les hémoglobines M, autrefois appelées méthémoglobinémies congénitales dominantes, sont des hémoglobines ubiquitaires, connues de longue date, notamment au Japon où l'on rapporte depuis plusieurs siècles une maladie grave à sang noir endémique dans la région d'Iwate. Les hémoglobines M furent ainsi les premières hémoglobines anormales à décrire[31].

En 1948, « Horlein et Weber » ont étudié un patient porteur de ce type de méthémoglobinémie et ont montré qu'il s'agissait d'une affection à transmission autosomique dominante, provoquée par une anomalie de la globine conduisant à une oxydation quasi permanente de la sous-unité anormale.

Ces anomalies sont liées à des mutations ponctuelles entraînant la substitution d'un acide aminé sur l'une des chaînes α ou β de la globine, créant un environnement anormal pour le fer ferreux, qui est rapidement oxydé dans ce cas.

Des travaux réalisés par « Gerald et Efron » sur des malades occidentaux et par « Hayashi et al. » sur des patients japonais ont permis de différencier cinq anomalies structurales responsables d'hémoglobine M qui entraînent par conséquence une oxydation quasi permanente de la sous-unité correspondante et entravent, de façon variable selon le type, la fixation et le transport de l'oxygène. Quatre d'entre eux correspondent à la substitution de l'histidine distale (E7) ou de l'histidine proximale (F8) de la chaîne alpha ou de la chaîne bêta de l'hémoglobine par une tyrosine. L'hémoglobine M Milwaukee reste une exception où la valine est remplacée par un acide glutamique[21].

Dans les quatre premières variantes, la fraction phénolique de la tyrosine forme un lien avec le fer ferreux le stabilisant sous forme ferrique. Dans l'hémoglobine Milwaukee, le groupe carboxylique de l'acide glutamique forme un lien avec le fer et le stabilise sous forme oxydée dans un mode similaire[21].

L'hémoglobine M se transmet sur un mode dominant, avec un taux relativement élevé de neomutations. Ces mêmes hémoglobines ont été largement décrites sous différents noms dans des régions éloignées, confirmant une distribution omniprésente.

Plus récemment le même type d'anomalie a été retrouvé pour des hémoglobines fœtales anormales, à l'origine d'une cyanose néonatale disparaissant parallèlement au remplacement de l'HbF par l'HbA.

Tableau 1 : Les différentes variantes de l'hémoglobine M, de l'hémoglobine fœtale M et les anomalies structurales des globines correspondantes

HbM Boston	$\alpha 58\text{His} \rightarrow \text{Tyr}$
HbM Iwate	$\alpha 87\text{His} \rightarrow \text{Tyr}$
HbM Saskatoon	$\beta 63\text{His} \rightarrow \text{Tyr}$
HbM Hyde Park	$\beta 92\text{His} \rightarrow \text{Tyr}$
HbM Milwaukee	$\beta 67\text{Val} \rightarrow \text{Glu}$
HbF-M Osaka	G gamma $63\text{His} \rightarrow \text{Tyr}$
HbF-M Fort-Ripley	G gamma $92\text{His} \rightarrow \text{Tyr}$

1.2. Propriétés spectrales

L'hémoglobine M se distingue des autres variantes d'hémoglobines, également capables d'induire une cyanose, par des caractéristiques spectrales particulières.

Dans les hémoglobines M, la sixième valence du fer oxydé n'est pas occupée par une molécule d'eau, comme dans la méthémoglobine habituelle, mais par l'hydroxyle du groupe phénol de la tyrosine nouvellement introduite. Ainsi, il se forme un phénolate stable qui est très difficile à réduire par des mécanismes enzymatiques physiologiques. La sous-unité anormale est essentiellement sous forme oxydée alors que les autres sous-unités restent sous forme

réduite. Dans le cas de l'hémoglobine M Milwaukee, le glutamate situé à un tour de spire de l'histidine proximale entraînerait les mêmes perturbations.

Les spectres de l'hémoglobine M oxydée sont légèrement différents les uns des autres en raison des changements de l'environnement hémique spécifique à chaque cas. La principale caractéristique de ces hémoglobines est la capacité de se déplacer vers une longueur d'onde plus courte (entre 600 et 625 nm) que le maximum observé à 630 nm dans la méthémoglobine normale.

Dans certains cas, il est difficile de mettre en évidence ces anomalies sur un hémolysat oxygéné vu que seules les sous-unités anormales sont concernées. D'ailleurs le spectre résulte de l'addition des propriétés des sous-unités mutées à celles des constituants normaux, ainsi l'anomalie peut se traduire par une simple surélévation à la base du pic de l'oxyhémoglobine. Ces anomalies sont mieux détectées sur un hémolysat complètement oxydé par le ferricyanure de potassium, où une surface plane (voire un pic) est principalement observée pour remplacer la diminution normalement observée entre 600 et 630 nm.

L'augmentation de l'oxydabilité des sous-unités anormales n'est pas une caractéristique propre uniquement aux hémoglobines M puisqu'elle est également retrouvée avec dans d'autres hémoglobines anormales quoiqu'elle soit plus exceptionnelle. Toutefois, les dérivés obtenus sont particuliers : une méthémoglobine normale sur spectrophotométrie qui peut être réduite par le système enzymatique, ou des hémichromes et des dérivés oxydés instables, à l'origine de la formation de corps de Heinz et de l'apparition d'épisode d'hémolyse.

1.3. Propriétés fonctionnelles

L'homologie structurale entre les sous-unités α et β de l'hémoglobine suggère que les propriétés fonctionnelles restent similaires si le même type de substitution est retrouvé au niveau des résidus homologues, l'histidine proximale F8 ou distale F7. En fait, les propriétés de fixation de l'oxygène dépendent à la fois de la sous-unité affectée et de la localisation sur l'une ou l'autre des deux histidines.

Les propriétés fonctionnelles ne sont probablement pas les mêmes *in vitro*, sur l'hémolysat où l'hémoglobine M purifiée, et *in vivo* au sein de l'érythrocyte. Les deux mutants

de la chaîne α (M Boston et M Iwate) ont des fractions purifiées qui se caractérisent par une faible affinité pour l'oxygène et un effet Bohr pratiquement nul.

En revanche, pour les hémoglobines M Saskatoon et M Hyde Park qui présentent une mutation de la chaîne β , la situation est différente puisque ces hémoglobines ont une P50 quasi normale avec un effet Bohr présent, bien que l'hémoglobine M Milwaukee se distingue par sa faible affinité pour l'oxygène.

Etant donné qu'uniquement les deux sous-unités non mutées restent fonctionnelles, la coopérativité est forcément réduite ($n = 1,1$ à $1,3$).

A l'exception de l'hémoglobine M Saskatoon, le reste des hémoglobines M ont été cristallisées et grâce à une diffraction des rayons X la structure spatiale a pu être déterminée. Sous leur forme oxydée, les mutants de la chaîne alpha sont structurellement bloqués par des phénates en configuration T sans oxygène, plutôt que sous forme R: cela explique leur faible affinité pour l'oxygène.

Dans un tétramère, hybride de valence, la structure de type T de la sous-unité anormale se répercute sur les sous-unités normales diminuant ainsi leurs affinité pour l'oxygène.

La transition entre les formes T et R reste possible pour l'hémoglobine M Hyde Park puisque la liaison du noyau phénolique au fer de l'hème est beaucoup moins forte comparant aux mutants de la chaîne α . Une perte spontanée de 20 à 30 % de l'hème des chaînes anormales survient chez cette hémoglobine qui se comporte alors comme un variant instable.

Les propriétés fonctionnelles des érythrocytes contenant l'hémoglobine M sont assez complexes. Dans presque tous les cas, cette hémoglobine est à l'origine d'un déplacement vers la droite de la courbe de fixation de l'oxygène, cela diffère de ce qui est observé dans les méthémoglobinémies classiques où la courbe d'affinité pour l'oxygène est déplacée vers la gauche : une hémoglobine M est donc moins invalidante sur le plan oxyphorique.

Dans le cas des hémoglobines Saskatoon et Milwaukee, à l'intérieur du globule rouge, une fraction importante de la chaîne anormale (pouvant aller jusqu'à 50 %) reste sous forme réduite apte au transport de l'oxygène. Les chaînes anormales des hémoglobines M Boston et Iwate sont par contre en permanence sous forme oxydée.

Dans tous les cas, il existe un pourcentage élevé de molécules hybrides relativement stables.

Dans les conditions physiologiques, le fer hémique oxydé dans ces variantes ne semble pas être propice au processus de réduction des cellules rouges. Cependant, « Nagai et Al » ont été en mesure de réduire la méthémoglobine M Milwaukee et la méthémoglobine M Saskatoon par la NADH-cytochrome b5 réductase humaine hautement purifiée[21].

En fait, le taux de réduction de méthémoglobine M Saskatoon, qui pouvait également être réduite par le système de réduction NADPH-flavine, était le même que celui de méthémoglobine A dans des conditions anaérobies. Le taux de réduction de la méthémoglobine Milwaukee était beaucoup plus lent[21].

« Nagai et Yoneyama » ont démontré que l'utilisation de la ferrédoxine et du système de réduction de la ferrédoxine NADP, les méthémoglobines M avec des chaînes anormales sont propices à la réduction mais vu que les sous-unités anormales sont oxydées plus rapidement que les sous unités normales dans les mêmes conditions physiologiques, mais en contraste avec un faible taux de réduction, cela peut aboutir dans certains cas à ce qui semble être une oxydation irréversible du fer hémique[21].

2. Les méthémoglobinémies congénitales récessives

Il y a environ 60 ans, « Quentin Gibson » a rapporté le premier trouble héréditaire impliquant une enzyme lorsqu'il déduisit que la méthémoglobinémie familiale était causée par une lésion enzymatique associée à la voie de la glycolyse dans les globules rouges. Ce trouble, aujourd'hui connu sous le nom de méthémoglobinémie congénitale récessive (MCR), est causé par une déficience en NADH-cytochrome b5-réductase (cb5r)[28].

Deux formes cliniques distinctes ont été reconnues :

- Le type I érythrocytaire et
- Le type II généralisé, toutes les deux caractérisées par une cyanose dès la naissance, mais dans le type II la cyanose s'accompagne d'une déficience neurologique et d'une réduction de l'espérance de vie.

Outre les méthémoglobinémies types I et II, deux autres types de méthémoglobinémie ont également été décrits. La méthémoglobinémie type III était le terme utilisé pour désigner un phénotype de cyanose sans présentation de troubles neurologiques et avec un déficit en cb5R au niveau des leucocytes, des plaquettes et des érythrocytes. Cependant, cette distinction n'étant pas prise en compte dans des rapports ultérieurs d'autres variantes du gène CYB5R3, le terme de méthémoglobinémie type III est rarement utilisé. Une autre présentation encore plus rare est la méthémoglobinémie type IV secondaire à des mutations du gène CYB5A (18q23) codant le cytochrome b5 et qui se manifeste par une cyanose chronique.[32]

La cytochrome b5 réductase est codée par le gène CYB5R3 avec plus de 40 mutations décrites, dont certaines sont communes aux deux types des MCR. Parmi les 43 mutations d'exon, 26 ont été associées au type I, 14 au type II et 3 mutations étaient communes aux deux types ; pour ces 3 mutations, le type de maladie dépendait de mutations supplémentaires ou de l'homozygotie de la mutation. La plupart des sept mutations introniques sont associées au type II[30].

Actuellement, la description des variantes de séquence de cb5r dans la littérature est déroutante, en raison de l'utilisation de deux conventions qui diffèrent par une position de codon[28].

2.1. Généralités

2.1.1. Historique

La méthémoglobinémie congénitale récessive, bien qu'elle ne soit pas classée comme une erreur innée du métabolisme, a été le premier trouble héréditaire impliquant une déficience enzymatique à être identifié. L'affection a été signalée il y a près de 60 ans (Gibson, 1948) dans une famille décrite pour la première fois en 1943 (Deny et al, 1943) qui présentait une cyanose. « Gibson » a pu définir la voie normale de la réduction de la méthémoglobine et a identifié le site des lésions enzymatiques dans la méthémoglobinémie héréditaire (Gibson, 1948)[28].

À l'époque, la plupart des expériences de « Quentin Gibson » au département de biochimie portaient sur l'utilisation de manomètres. Grâce à une pompe volumétrique à gaz de Van Slyke et un photomètre photoélectrique, précisément l'instrumentation nécessaire,

« Gibson » a pu établir une différence grossière entre la capacité d'oxygène et l'hémoglobine totale dans le sang de Russell[28].

« Gibson » a entrepris d'étudier le mécanisme de la maladie, conscient que le bleu de méthylène a un effet puissant sur l'accélération de la réduction de la méthémoglobine in vivo, il a pu confirmer que le bleu de méthylène était effectivement efficace sur un échantillon obtenu de la famille. Une phase initiale d'absorption d'oxygène très rapide a été suivie d'une absorption d'oxygène plus lente interprétée par « Gibson » comme étant une réduction de la méthémoglobine sous l'effet du bleu de méthylène remplaçant un transporteur respiratoire manquant. Cela indique qu'au moins une partie des enzymes actives dans les cellules sanguines normales sont également actives dans les cellules des patients[28].

D'autres expériences ont montré qu'en absence de bleu de méthylène, les cellules des patients étaient peu ou pas réduites.

Lorsque le glucose est utilisé comme substrat, la réduction de la méthémoglobine se produit rapidement dans les cellules du patient et dans les cellules normales, mais avec le lactate comme substrat, on observe une réduction rapide dans les cellules normales alors qu'aucune réduction n'est évidente dans les cellules du patient. Ainsi, il semble qu'un facteur lié d'une certaine façon à la voie glycolytique soit absent des cellules des patients[28].

« Gibson » rappelle ensuite un rapport de « Green » (1940) décrivant un schéma en 3 étapes menant à l'absorption d'oxygène dans lequel le substrat et l'enzyme se combinent pour réduire une coenzyme (NADH) ou (NADP). Le NADH réduit un facteur coenzymatique intermédiaire, qui à son tour réduit le cytochrome oxydase. « Gibson » a conclu, par analogie, que l'hémoglobine pouvait être considérée comme une oxydase (ainsi qu'un transporteur d'oxygène) et que ses résultats pouvaient être expliqués par un défaut dans l'activité du facteur coenzymatique. Cependant, ceci n'explique pas le fait que le glucose soit un substrat efficace pour la réduction de la méthémoglobine en présence de bleu de méthylène dans les cellules des patients, et que le lactate ne l'est pas. C'est « Dickens et al (1938) » qui ont prouvé que le glucose subit graduellement une oxydation dans la voie du phosphate de pentose en plus de sa glycolyse par la voie anaérobie. Alors que les enzymes de la voie anaérobie d'Emden Meyerhof nécessitent le NAD, celles de la voie du phosphate de pentose nécessitent le NADP.

Ainsi, les résultats pourraient être expliqués si les cellules des patients étaient déficientes seulement dans ce que « Gibson » appelait le facteur coenzymatique 1, c'est-à-dire le facteur associé à la NAD[28].

Des travaux supplémentaires ont été nécessaires pour concevoir un essai et réaliser des expériences de contrôle, par exemple pour éliminer la possibilité d'une réaction directe entre le NADPH et la méthémoglobine. L'article fondateur de « Gibson » publié en 1948 (Gibson, 1948), et de « Percy et al » (2002) ont rapporté les mutations du cytochrome b5-réductase responsable de la méthémoglobinémie congénitale dans la famille Martin[28].

2.1.2. Définitions

2.1.2.1. MCR type I

Le type I correspond à une manifestation bénigne de la méthémoglobinémie où le tableau clinique se résume à une cyanose chronique bien tolérée, particulièrement marquée au niveau des doigts, des orteils et des lèvres. Dans cette forme, le déficit enzymatique est strictement érythrocytaire avec un degré de méthémoglobinémie variable, pouvant atteindre 20 à 40 %[31].

Chez les sujets porteurs hétérozygotes avec un déficit en cytochrome b5 réductase, le taux de méthémoglobine reste dans la limite de la normale ou légèrement augmenté, mais avec une activité enzymatique réduite de 50%. L'enzyme est produite à la vitesse normale, mais avec un petit nombre de substitutions d'acides aminés. Ces substitutions provoquent une instabilité protéique telle que le taux d'enzymes érythrocytaires solubles est affecté. La protection contre les effets de la méthémoglobinémie est suffisamment assurée par l'activité de l'allèle normal[30].

Les sujets atteints de la MCR type I ; les porteurs hétérozygotes inclus ; sont plus exposés aux risque d'une méthémoglobinémie acquise en raison de leur hypersensibilité aux agents toxiques méthémoglobinisants[31].

2.1.2.2. MCR type II

Il s'agit d'une manifestation plus sévère de la méthémoglobinémie qui s'associe dans ce type de déficit à un tableau neurologique : une encéphalopathie d'installation progressive avec athétose bilatérale et un retard mental profond.

Les malades présentent un déficit enzymatique généralisé de la cytochrome b5 réductase, affectant à la fois les globules rouges et tous les autres tissus (cerveau, foie, muscles, leucocytes, plaquettes)[31]. Dans ce type de maladie, les substitutions d'acides aminés se produisent souvent dans les domaines catalytiques, et les mutations peuvent causer des arrêts prématurés, des mutations de changement de cadre, l'omission de grands segments de protéines ou des épissures manquantes[30].

À la naissance, rien ne distingue les deux formes, mais des signes cliniques non spécifiques apparaissent dans les jours qui suivent (cris incessants, troubles de la déglutition...). Les manifestations neurologiques telles que l'absence d'éveil psychomoteur ou les troubles du tonus deviennent patents chez le nourrisson à partir de 3 mois, tandis que le tableau typique s'installe de façon progressive entre l'âge de 3 à 9 mois. Dans la MCR type II, la cyanose et la méthémoglobinémie passent en arrière-plan face à la sévérité du tableau neurologique où l'atteinte cérébrale semble être la conséquence d'une perturbation du métabolisme des acides gras insaturés[31].

La démyélinisation des neurones comme cause de la MCR type II est une hypothèse largement acceptée puisque le CYB5R3 participe à la fois à la désaturation, l'allongement des acides gras, et la biosynthèse du cholestérol. Ainsi, une carence en CYB5R3 entraînerait un métabolisme lipidique anormal et probablement des dommages neuronaux concomitants par démyélinisation. La preuve que le CYB5R3 joue un rôle dans le métabolisme des lipides est tirée de plusieurs études portant sur l'isoforme microsomale du cytochrome b5A (CYB5A). Le CYB5R3 catalyse le transfert des électrons du NADH vers divers substrats, le CYB5A étant le plus visible. À son tour, le CYB5A peut transférer des électrons à plusieurs accepteurs de différentes voies métaboliques, comme la biosynthèse du cholestérol, l'élongation et la désaturation des acides gras et le métabolisme dirigé par le P450. L'inhibition chimique du CYB5R3 induit par conséquent la diminution des taux réduits de CYB5A, des intermédiaires du cholestérol et des lipides désaturés[33].

Il a également été démontré que le CYB5R3 joue un rôle dans l'hydroxylation des hormones stéroïdes et des médicaments xénobiotiques par le CYP-450, contribuant ainsi au maintien de la stabilité génomique en favorisant la détoxification des xénobiotiques par le système P450 chez la souris et en prévenant la cancérogénèse hépatique induite par la diéthylnitrosamine[33].

Le CYB5R3 joue un rôle clé dans le maintien d'un métabolisme aérobie efficace et son activité dans le système redox des PM (PMRS), un système antioxydant majeur contre les agressions extracellulaires, confère une protection contre le stress oxydatif sous restriction calorique. De plus, il a été prouvé que le CYB5R3 joue un rôle clair dans l'homéostasie mitochondriale chez les fibroblastes provenant de patients atteints de MCR type II. Ces auteurs suggèrent que la résistance au stress oxydatif, l'amélioration des activités de la chaîne mitochondriale de transport d'électrons mitochondriaux, le taux de consommation d'oxygène et la production d'ATP étaient probablement dus à la capacité du CYB5R3 à moduler le rapport NAD^+/NADH et à maintenir les niveaux de NAD^+ cytosoliques[33].

Les enfants atteignent rarement l'âge de 10 ans. En raison de sa gravité, seule la MCR de type II justifie un diagnostic prénatal[28].

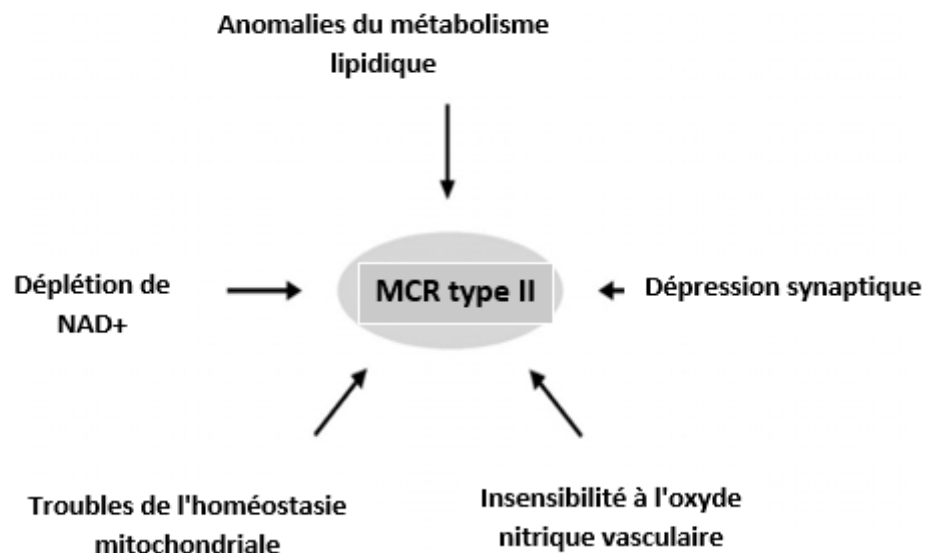


Figure 29: Les causes possibles impliquées dans la MCR type II[33]

2.2. Etude génétique

2.2.1. Le gène CYB5R3

Chez l'homme, le gène de la cytochrome b5-réductase est localisé sur le bras long du chromosome 22 (locus D12S1331 ; q13.31-qter).[31]

Il a été cloné et séquencé, s'étend sur 31 kilobases et comporte 12 exons, neuf décrits initialement et trois récemment identifiés. La partie 5' du gène en amont de l'exon 1 présente les caractéristiques d'un promoteur à transcription ubiquitaire.[31]

La maladie se transmet sur le mode autosomique récessif et résulte de mutations ponctuelles dans le gène de l'enzyme, intéressant les exons 2 à 9.[31]

La première mutation a été identifiée en 1990 et plusieurs sont actuellement connues, certaines homozygotes chez des patients de familles consanguines, d'autres hétérozygotes chez des patients nés de parents non consanguins. Il s'agit principalement de mutations de faux sens. D'autres mutations sont également identifiées comme les délétions, les erreurs d'épissage ou les mutations non-sens mais en moindre degré[31].

L'identification de ces mutations permet d'expliquer au niveau moléculaire l'hétérogénéité clinique de la méthémoglobinémie héréditaire récessive. En effet, les mutations détectées dans le type I bénin siègent dans la partie 5' du gène (exons 1, 9, 5) qui correspondent au domaine de fixation du cofacteur FAD dans la partie NH₂-terminale de la protéine. La stabilité de l'enzyme est assurée par ce domaine ; toute une anomalie survenant à ce niveau se traduit par une instabilité, qui n'affectera que les globules rouges où une synthèse de novo ne peut se produire[31].

En revanche, le type II, manifestement plus sévère, est dû à des mutations qui touchent la partie 3' du gène (exons 5 à 9), correspondant au domaine de fixation du donneur d'électrons NADH dans la partie COOH-terminale de la protéine : une anomalie à ce niveau modifierait le site actif de l'enzyme et empêcherait son fonctionnement dans tous les tissus de l'organisme[31].

Ce modèle s'appliquerait surtout aux formes homozygotes des mutations. Pour les mutations hétérozygotes composites, on peut supposer que la combinaison variable des deux mutations rendrait compte de la symptomatologie tantôt du type I, tantôt du type II[31].

2.2.2. Acides ribonucléiques messagers (ARNm) de la cytochrome b5 réductase

La taille de l'ARNm mature produit par le gène de la cytochrome b5 réductase est d'environ 2,0 kb aussi bien chez l'homme que chez le rat. Chez ces deux espèces, la caractérisation récente des extrémités 5' de transcrits érythroïdes et non érythroïdes spécifiques aux tissus a aidé à expliquer les mécanismes moléculaires sous-jacents aux formes solubles et membranaires de l'enzyme.

Chez le rat, quatre acides désoxyribonucléiques complémentaires (ADNc) différents (ARNm-L, -R, -X, -Y) ont été isolés : ils se différencient par leur premier exon (exon-1L, -1R, -1X et -1Y) qui est spécifique au tissu. Il a ainsi été observé que l'ARNm-R est spécifique des tissus érythroïdes où il est fortement exprimé, et que les ARNm-L, -X et -Y sont ubiquitaires et exprimés à des taux variables.

Ces résultats suggèrent donc que le gène de la cytochrome b5 réductase du rat possède quatre régions promotrices (Pr-L, -R, -X et -Y), dont l'une est spécifique à l'érythrocyte (Pr-R). De plus, la régulation traductionnelle par utilisation des différents AUG initiateurs a été démontrée pour les quatre transcrits de la cytochrome b5 réductase.

Chez l'homme, quatre formes différentes d'ADNc ont également été mises en évidence. La différence réside dans la présence d'un autre exon A, B ou C structurellement différent des exons 1 (exon-1L, -1R, -1X et -1Y) du rat sans qu'aucune de ces formes ne soit spécifique aux érythrocytes (Leroux, résultats personnels). D'ailleurs les mécanismes permettant la formation des deux formes érythrocytaires de l'enzyme ne sont pas encore connus.

2.2.3. Les variantes naturelles du gène CYB5R3

Plus de quarante mutations différentes ont été décrites pour la méthémoglobinémie congénitale récessive. La nomenclature des variantes séquentielles de la cytochrome b5-réductase dans la littérature est déroutante, en raison de l'utilisation de deux conventions qui

diffèrent par une position du codon[28].

A l'origine, les mutations ont été numérotées par les 300 acides aminés de la protéine plutôt que par la forme membranaire complète de 301 acides aminés du cytochrome b5 réductase. Par conséquent, la majorité des mutations ont été numérotées à l'aide de la séquence d'acides aminés la plus courte[28].

Le gène CYB5R3 ne semble pas contenir de points chauds mutationnels : par exemple, les mutations causant des changements dans les acides aminés uniques sont réparties dans toute la protéine. La majorité des mutations sont des erreurs de sens, mais plusieurs codons d'arrêt prématurés ou des mutations d'épissage exon-intron incorrectes ont également été décrites[28].

Les mutations couramment présentes chez les patients atteints de méthémoglobinémie congénitale type I sont les mutations de faux sens, tandis que les patients avec une MCR type II possèdent surtout des mutations causant une protéine tronquée. Toutefois, plusieurs mutations de faux sens, comme p.Ser128Pro (Kobayashi et al, 1990) et p.Cys204Arg (Vieira et al, 1995; Maran et al, 2005), ont été trouvés dans l'état homozygote dans la maladie de type II, indiquant l'importance de certains acides aminés individuels pour la fonction du cytochrome b5 réductase[28].

À cet égard, une observation frappante montre que différentes mutations d'un même acide aminé peuvent conduire aux deux formes de la maladie. Ainsi, un patient homozygote pour une mutation qui a remplacé Cys-204 par Tyr avait une maladie de type I (Wang et al, 2000) alors qu'un patient avec Cys-204 remplacé par Arg avait une MRC de type II (Maran et al, 2005)[28].

La mutation de faux sens p.Val253Met a été observée à la fois sous forme homozygote (Dekker et coll., 2001) et sous forme hétérozygote composée (Grabowska et coll., 2003); Percy et al, 2006a) associées au type I. Même si la position du Val-253 dans le cytochrome b5 réductase ne correspond pas à une région très conservée de l'enzyme avec peu d'impact sur son activité et sa thermostabilité, son affinité pour le NADH subit une réduction importante (Percy et al, 2006a)[28].

Dans un rapport de Kugler et coll. 2001, un patient souffrant d'amaurose et d'un retard sévère du développement neuropsychologique s'est avéré homozygote pour le p.Val253Met. Sur cette base, il a été diagnostiqué comme MRC de type II, bien qu'atypique, et constitue une exception aux cas homozygotes décrits par Dekker et al (2001)[28].

La mutation p.Arg160Ter, qui donne lieu à une protéine instable (Davis et al. 2004), a également été observée comme composé hétérozygote dans des familles ayant des MRC de type I (Percy et al. 2005) et de type II (Aalfs et al, 2000). Il a donc été proposé que le phénotype résultant puisse être lié à l'activité globale de la combinaison des deux protéines cb5r mutées et qu'une fois que l'activité résiduelle du cytochrome b5 réductase est inférieure à un seuil critique, le développement de la maladie de type II se produit[28].

Récemment, un système d'expression hétérologue a été mis au point en utilisant le domaine de la diaphorase soluble du cytochrome b5 réductase du « *Rattus Norvegicus* », ce qui a permis l'étude biochimique des variantes naturellement présentes du cb5r (Davis et Barber, 2004)[28].

Il existe 95% de similitude entre les séquences du cytochrome b5 réductase du rat et celui de l'humain, ce qui permet d'identifier toute variation non conservée d'acides aminés dans des régions fonctionnellement significatives de la protéine. La protéine du rat, qui est de couleur jaune à cause de l'incorporation de la flavine, est exprimée dans les cellules bactériennes (*E. coli* BL21 DE3) et purifié jusqu'à homogénéité par chromatographie par filtration sur gel. Par conséquent, l'activité enzymatique, la thermostabilité et l'affinité du NADH peuvent être évaluées, ce qui permet d'établir les effets des substitutions d'acides aminés sur la fonction du cytochrome b5 réductase[28].

Les observations fonctionnelles fournies par les variantes naturelles du cytochrome b5 réductase sont illustrées par deux mutations, p.Asp240Gly (Percy et al, 2005a) et p.Pro276Leu (Percy et al, 2006b). Les deux ont été préparés par le système d'expression hétérologue et leurs effets sur la fonction du cytochrome b5 réductase examinés :

- La variante p.Asp240Gly a conservé environ 94% de la thermostabilité normale de l'activité enzymatique. Bien que son affinité pour le NADH ait été sensiblement réduite, la

variante a été 125 fois plus efficace dans l'utilisation du NADPH. Ainsi, le changement d'affinité envers le substrat était suffisant pour causer la MRC de type I et a indiqué que l'acide aspartique à l'acide aminé 240 jouait un rôle clé dans la définition de la spécificité du substrat.

La modélisation de l'homologie a indiqué la présence d'un motif de séquence de six résidus entre les acides aminés 274 et 279, l'un des motifs de séquence conservés requis pour lier NADH/NAD⁺ au cytochrome b5 réductase.[28]

- Le Pro-276 se trouve en troisième position de ce motif et son remplacement par de la leucine a été rapporté chez un jeune enfant avec une MCR type I (Percy et al, 2006b).

La mutation p.Pro276Leu n'a eu aucun effet détectable sur les propriétés thermodynamiques et spectroscopiques du groupe flavine ni sur la structure protéique du cytochrome b5 réductase, il avait plutôt un impact significatif sur l'activité enzymatique et l'affinité du cytochrome b5 réductase pour le NADH.

La structure par rayons X du cytochrome b5 réductase révèle que le Pro-276 est important pour l'orientation du NADH (Bewley et al, 2001), et cela a été confirmé par des études d'expression de la variante de p.Pro276Leu naturelle (Percy et al, 2006b)[28].

En général, le système d'expression hétérologue fournit une approche précieuse pour définir les caractéristiques enzymatiques de la protéine mutée du cytochrome b5 réductase.

Une application plus poussée du système pour récapituler les protéines mutées du cytochrome b5 réductase trouvées dans l'état hétérozygote chez les patients peut fournir un aperçu des différents phénotypes des types I et II des méthémoglobinémies récessives congénitales.[28]



Domaine de liaison FAD

Domaine de liaison NADH

1 mgaqlstlgh mvlfpvwfly slmklfqgs tpaitlespd ik yplrlidr
 51 eiishdturf rfal pppqhi lg lpvgqhiy lsa ridgnlv v rpyt pissd
 101 ddkgfvdlvi kvyfkd thpk fpag gkmsqy le mqigdti efrg psgllv
 151 yqgkkgkfa i pdkksnpiir tvksvg miag gtgitpml qv iraimkdp dd
 201 htvchllfan qt ekdillprp eleelrnkhs arfklwyt ld rapeawdyg q
 251 gfvneemird hlpppeeepl vlmcgpppmi qy aclpnldh v ghptercfv
 301 f

Figure 30: séquence d'acide aminé du Cb5R avec l'emplacement des mutations[28]

- (A) Représentation linéaire de cb5r avec la région d'ancrage de la membrane marquée en noir, et les domaines de liaison FAD et NADH en bleu et rouge respectivement.
- (B) Séquence d'acides aminés de cb5r avec les domaines de liaison FAD et NADH indiqués respectivement en bleu et en rouge. Toutes les mutations dans les régions codantes du CYB5R3 sont mises en évidence en jaune à la position des acides aminés où elles se produisent.

Tableau 2 : Les mutations naturelles du gène CyB5R humain et le type de MCR associé[30]

No	<u>Mutations</u>	<u>Echange aminoacide</u>	<u>Position de la mutation</u>	<u>MRC</u>	<u>Références</u>
1	CAG →TAG	Q28 →@	Exon 2 Nu. 82	I	(Fermo et al., 2008)
2	TAC →TAA	Y43 →#	Exon 2 Nu. 129	II	(Manabe et al., 1996)
3	CGG →TGG	R46 →W	Exon 2 Nu. 136	I	(Fermo et al., 2008)
4	CGG →CAG	R50 →Q	Exon 2 Nu. 149	I	(Dekker et al., 2001)
5	AGC →AGG	S54 →R	Exon 3 Nu. 162	I	(Percy & Lappin, 2008)
6	CGG →CAG	R58 →Q	Exon 3 Nu. 173	I	(Shirabe et al., 1992)
7	CCG →CTG	P65 →L	Exon 3 Nu. 194	I	(Dekker et al., 2001)
8	GGC →GC ; Frame shifted ; 130 aminoacides moins que la protéine native	G72 →A	Exon 3 Nu. 215	II	(Hudspeth et al., 2010)
9	CTC →CCC	L73 →P	Exon 3 Nu. 218	I	(Wu et al. 1998)
10	GGC →AGC	G76 →S	Exon 3 Nu. 226	I	(Percy et al., 2006)
11	CAG →TAG	Q77 →@	Exon 4 Nu. 229	II	(Aalfs et al., 2000)
12	CGA →TGA	R84 →&	Exon 4 Nu. 250	II	(Higasa et al., 1998)
13	ATT →AGT	I85 →S	Exon 4 Nu. 254	I	(Percy & Aslan, 2008)
14	CCC →CAC	P96 →H	Exon 4 Nu. 287	II	(Manabe et al., 1996)
15	GTG →ATG	V106 →M	Exon 4 Nu. 316	I	(Shirabe et al., 1992)
16	ATG →GTG	M127 →V	Exon 5 Nu. 379	II	(Kugler et al., 2001)
17	TCT →CCT	S128 →P	Exon 5 Nu. 382	II	(Kobayashi et al., 1990)
18	GGC →GAC	G144 →D	Exon 5 Nu. 431	I	(Fermo et al., 2008)
19	CCC →TCC	P145 →S	Exon 5 Nu. 433	I	(Fermo et al., 2008)
20	CCC →CTC	P145 →L	Exon 5 Nu. 434	I	(Dekker et al., 2001)
21	CTG →CCG	L149 →P	Exon 5 Nu. 446	II	(Davis et al., 2004)
22	TTT →TGT	F157 →C	Exon 6 Nu. 470	I	(Lorenzo et al., 2011)
23	CGA →TGA	R160 →&	Exon 6 Nu. 478	I, II	(Davis et al., 2004)
24	GCG →ACG	A179 →T	Exon 6 Nu. 535	I	(Kugler et al., 2001)
25	GCG →GTG	A179 →V	Exon 6 Nu. 536	I	(Dekker et al., 2001)
26	TGC →CGC	C204 →R	Exon 7 Nu. 610	II	(Vieira et al., 1995)
27	TGC →TAC	C204 →Y	Exon 7 Nu. 611	I	(Wang et al., 2000)
28	GAG →AAG	E213 →K	Exon 8 Nu. 637	I	(Jenkins /Prchal, 1996)

29	ATC →ACC	I216 →T	Exon 8 Nu. 647	I	(Grabowska et al., 2003)
30	CTG →CCG	L217 →P	Exon 8 Nu. 650	I	(Nussenzweig et al., 2006)
31	CGA →TGA	R219 →&	Exon 8 Nu. 655	I, II	(Vieira et al., 1995)
32	TGG →TGA	W236 →&	Exon 8 Nu. 708	II	(Kedar et al., 2011)
33	CTG →CGG	L239 →R	Exon 8 Nu. 716	I	(Dekker et al., 2001)
34	GAC →GGC	D240 →G	Exon 8 Nu. 719	I	(Percy et al., 2005)
35	AGA →GGA	R241 →G	Exon 8 Nu. 721	II	(Toelle et al., 2004)
36	GTG →ATG	V253 →M	Exon 9 Nu. 757	I, II	(Dekker et al., 2001)
37	GAG →Del	E256 →Del	Exon 9 Nu. 766/768	I	(Percy et al., 2002)
38	CGG →TGG	R259 →W	Exon 9 Nu. 775	I	(Maran et al., 2005)
39	ATG →Del	M273 →Del	Exon 9 Nu. 817-819	II	(Vieira et al., 1995)
40	CCC →CTC	P276 →L	Exon 9 Nu. 827	I	(Percy et al., 2006)
41	GGC →GAC	G292 →D	Exon 9 Nu. 875	I	(Percy et al., 2002)
42	CAC →AA ; Frame shifted ; 46 aminoacides plus long que la protéine native	T295 →Del	Exon 9 Nu. 883-885	II	(Leroux et al., 2005)
43	TTC →Del	F299 →Del	Exon 9 Nu. 895-897	II	(Shirabe et al., 1994)
44	A →G	Perte d'Exon 5	Intron 4 Nu. 418-2	II	(Kugler et al., 2001)
45	G →A	Perte d'Exon 5	Intron 4 Nu. 418-1	I	(Dekker et al., 2001)
46	A →C	Perte d'Exon 6 (28 amino acides perdus)	Intron 5 Nu. 548-2	II	(Maran et al., 2005)
47	T →C	Erreur d'épissage de l'Exon 5	Intron 5 Nu. 547+2	II	(Fermo et al., 2008)
48	G →C	Perte d'Exon 5	Intron 5 Nu. 547+8	II	(Vieira et al., 1995)
49	G →A	Perte d'Exon 6	Intron 6 Nu. 631+1	I	(Maran et al., 2005)
50	G →T	Erreur d'épissage de l'Exon 9	Intron 8 Nu. 818-1	II	(Shirabe et al., 1995)

2.3. La méthémoglobinémie par déficit en cytochrome b5

La méthémoglobinémie héréditaire récessive par déficit en cytochrome b5 est tout à fait exceptionnelle puisqu'un seul cas a été rapporté en 1986. Le patient présentait une cyanose modérée et un pseudohermaphrodisme mâle sans encéphalopathie. Le taux de méthémoglobine était variable de 12 à 19 %, et l'activité de la cytochrome b5 réductase était normale. En revanche, dans les érythrocytes, la concentration de cytochrome b5 était réduite à 25 % de sa valeur normale. L'anomalie moléculaire affectait, à l'état homozygote, un site d'épissage du gène du cytochrome b5 avec une délétion de 16 kb, conduisant à la synthèse d'une protéine tronquée. L'anomalie fonctionnelle du cytochrome b5 explique facilement la cyanose, mais très probablement aussi le pseudohermaphrodisme, cette protéine participant à la 17- α -hydroxylation dans la stéroïdogénèse surrénale en tant que donneur d'électrons.[31]

3. La méthémoglobinémie acquise

La méthémoglobinémie peut être congénitale, secondaire soit à une insuffisance de la méthémoglobine réductase, soit à une anomalie structurelle de l'hémoglobine, ou bien acquise, habituellement secondaire à une exposition à des médicaments ou à des produits chimiques qui oxydent l'hémoglobine. Dans ce cas les systèmes enzymatiques sont intacts, mais saturés. Elle peut parfois être secondaire à des conditions pathologiques, telles que la septicémie, la crise des cellules drépanocytaires et les infections gastro-intestinales chez les enfants[34].

Les médicaments produisent rarement une méthémoglobinémie cliniquement significative lorsqu'ils sont administrés chez l'adulte sain à des doses thérapeutiques, tandis que les personnes atteintes d'une carence en méthémoglobine réductase ou possédant une hémoglobine anormale peuvent présenter des effets graves qui peuvent également se manifester en cas d'un surdosage[34]. L'administration de faibles doses sur des périodes prolongées peut entraîner une méthémoglobinémie chronique, tandis que l'administration de fortes doses peut entraîner un effet aigu.

Le risque de méthémoglobinémie associé à l'utilisation de substances oxydantes est augmenté chez :

- Les personnes ayant des problèmes de santé : une déficience génétique de G6PD ou de

méthémoglobine réductase, hémoglobine M, insuffisance rénale, anémie, infection par le VIH,

- Les nourrissons (moins de trois mois) en raison de la capacité enzymatique limitée,
- Les personnes âgées,

Le risque est accru en cas d'un surdosage, d'une thérapie prolongée ou d'une association de plus d'un oxydant et dépend également de l'activité des médicaments et leurs voie d'administration.[34]

La méthémoglobinémie peut ne pas se développer pendant plusieurs heures (p. ex. de 1 à 10h) après une exposition à certains agents oxydants. L'observation d'individus asymptomatiques pendant 24 heures peut être conseillée en cas d'exposition à certains médicaments oxydants qui nécessitent une transformation biochimique avant de causer la méthémoglobinémie[34].

3.1. Classification des agents méthémoglobinisants :

La méthémoglobine est formée par l'oxydation du fer ferreux (Fe^{2+}) de l'hémoglobine en forme ferrique (Fe^{3+}) par des produits chimiques ou des médicaments oxydants, cette réaction nuit à la capacité de l'hémoglobine à transporter de l'oxygène et du dioxyde de carbone, ce qui conduit à l'hypoxémie tissulaire et, dans les cas graves, à la mort. Ces agents méthémoglobinisants sont classés de différentes manières : par leur nature chimique, leur mode d'action, ou selon l'origine de l'intoxication.

3.1.1. Classification selon l'origine de l'intoxication :

L'intoxication peut être de source médicamenteuse comme les sulfamides, les anesthésiques, la primaquine, alimentaire : nitrates, nitrites ou professionnelle : aniline, toluidine, naphthalène.[25]

3.1.2. Classification selon la nature chimique

3.1.2.1. Composés minéraux

- Nitrites NO^{2-} : Agissent en tant que tels ou proviennent de la réduction des nitrates NO^{3-} par les bactéries de la flore intestinale.

Origine : engrais, eaux polluées, additifs alimentaires.

DL50 : 100 mg/kg pour l'homme[27].

- Chlorates : elles sont trouvées dans les allumettes, teintures et colorants, herbicides.

Le chlorate de sodium est un herbicide responsable d'intoxications suicidaires fréquentes. L'ion chlorate constitue un puissant oxydant capable d'induire une hémolyse massive et une méthémoglobinémie irréversible.

DL50 : 10-15 g pour l'homme. Les intoxications aiguës surviennent après une période de latence de plusieurs heures parfois[27].

Permanganate de potassium KMnO_4 :

DL50 : 10-20 g pour l'homme. Origine : antiseptique dermatologique[27].

3.1.2.2. Composés organiques

- Les dérivés aminés aromatiques : ceux sont des dérivés de l'aniline qui agissent après bio-activation par oxydation hépatique et proviennent de diverses sources telles que les médicaments (phénacétine, benzocaïne), les produits industriels (aniline, colorants, toluidine), des produits ménagers (trichlorocarbanilide). Le métabolite actif est la phénylhydroxylamine (hydroxyaniline) qui réagit avec l'hémoglobine et l'oxygène O_2 pour donner la méthémoglobine et produit le nitrosobenzène responsable à son tour d'une méthémoglobinémie.[27]

- Dérivés nitrés du toluène : proviennent de l'industrie des explosifs et des teintures.

- Trinitroglycérine : c'est un explosif, vasodilatateur coronarien.

- Autres dérivés organiques : Naphtalène insecticide obtenu par synthèse organique, P-dichlorobenzène : désodorisant et antimitose, sulfones : anti lépreux, sulfamides[27].

3.1.3. Classification selon le mode d'action

La classification des agents méthémoglobinisants selon leur mécanisme d'action permet de distinguer 3 groupes :

- Le premier groupe comporte des produits avec un potentiel d'oxydoréduction plus élevé leur permettant d'agir directement sur l'hémoglobine.

Un exemple classique est celui du couple ferricyanure-ferrocyanure, capable de transformer l'hémoglobine en méthémoglobine. Cette propriété est d'ailleurs utilisée en laboratoire pour les transformations stœchiométriques.

On peut citer parmi ce groupe d'autres substances tels que les dérivés de l'hydrazine, les chlorates, les quinones.

- Le second groupe est constitué d'agents réducteurs agissant sur l'oxygène pour former des ions superoxydes ($O_2^{\cdot-}$) ou des peroxydes (H_2O_2) qui vont dans un deuxième temps oxyder l'hémoglobine[34].

Dans cette catégorie se classent le glutathion et les nitrites. Ces derniers sont capables de former des anions superoxydes suite à une réaction autocatalytique.

- Le troisième groupe comporte des substances comme l'aniline, les arylamides, la dapson, la phénacétine, ou la sulfanilamide. Ces agents afin d'assurer leurs effets toxiques nécessitent une transformation métabolique préalable en un métabolite directement actif sur l'hémoglobine.

L'aniline en est un exemple : ce dernier ne possède aucune action directe sur l'hémoglobine mais devient capable, après sa transformation dans les microsomes hépatiques en phénylhydroxylamine et sa libération sous cette forme dans la circulation, d'oxyder l'hémoglobine en méthémoglobine et se transformer en nitrosobenzène qui sous l'action d'une enzyme érythrocytaire, la NADPH-méthémoglobine réductase, est de nouveau transformé en phénylhydroxylamine[34]. Ce mécanisme d'action assure ainsi une intégration de cette molécule dans une chaîne d'oxydoréduction qui sera à l'origine d'un grand nombre de molécules de méthémoglobine.

3.2. Les principaux agents méthémoglobinisants

La méthémoglobinémie peut survenir à la suite d'une surdose ou d'une intoxication médicamenteuse, mais elle peut aussi survenir à des doses normales, en particulier chez les personnes présentant des déficiences partielles du cytochrome b5 réductase. Divers médicaments sont capables d'induire la méthémoglobinémie après inhalation, absorption cutanée ou ingestion. Les signes et symptômes de la méthémoglobinémie peuvent être retardés de plusieurs heures pour certains médicaments ne produisant pas directement de méthémoglobinémie, mais nécessitant une transformation biochimique en métabolites toxiques qui causent la méthémoglobinémie[34].

Au fil des ans, de nombreux cas rapportés ont établi que l'ingestion ou l'exposition à la peau et aux muqueuses peut entraîner une réaction indésirable qui provoque la méthémoglobinémie. La plupart des médicaments oxydent directement l'hémoglobine en méthémoglobine, tandis que d'autres oxydent indirectement l'hémoglobine en méthémoglobine en réduisant l'oxygène libre à un radical libre de superoxyde[34].

Tableau 3 : Les substances pouvant induire une méthémoglobinémie[34]

Groupe médical	Substances
<u>Analgésiques</u>	Acétaminophène-Phénacétine-Antipyrine (Antipyrine et Benzocaïne) (Auralgan®). Agonistes opiacés : Fentanyl voie urinaire analgésique : Phenazopyridine Celecoxib
<u>Anticonvulsivants</u>	Phénobarbital, Phénytoïne, Valproate de sodium
<u>Médicaments anti-infectieux :</u>	
Antimicrobiens	Sulfamide: Cotrimoxazole (Sulfamethoxazole-Trimethoprim)-Sulfanilamide-Sulfapyridine-Sulfathiazole
	Dapsone Nitrofurantoïne Clofazimine
	Phenazopyridine hydrochlorate
Antipaludique	Chloroquine-Primaquine Phosphate-Quinine

Antituberculeux	Acide para-aminosalicylique, rifampicine
Hormones	Flutamide
Psychothérapeutique	Phenelzine; Pipérazine; Trazodone
<u>Vasodilatateurs</u>	
Dérivés de nitrate	Nitroglycérine ; Dénitrate d'Isosorbide ; Nitrate d'argent ; Nitrate de Sodium ; Sel de Nitrate ; Tétranitrate d'érythrityle
Dérivés de nitrite	Nitroprussiate de sodium, nitrite de sodium, nitrite d'amyle, oxyde nitrique
<u>Divers</u>	
Vitamines	Ménadione (vitamine K3)
Anesthésique topique	Benzocaïne, chlorhydrate de Lidocaïne, chlorhydrate de prilocaïne
Anesthésique locale	Benzocaïne, Prilocaïne, Procaïne, Lidocaïne, cétacaïne
Anti-infectieux topique	Fuchsine-phéniquée en solution, cétrimide, Triclocarban (TCC)
Autres topiques	Hydroquinone, permanganate de potassium
<u>Autres</u>	Bleu de méthylène, chlorhydrate de metoclopramide

Les agents oxydants accélèrent de 100 à 1 000 fois l'oxydation de l'hémoglobine et finissent par dépasser la capacité de réduction des systèmes endogènes ; ceci peut résulter par plusieurs médicaments, suite à une intoxication par des pesticides, des herbicides ou des engrais, des fumées des automobiles et des produits chimiques industriels.[34]

Tableau 4 : Les agents chimiques capables d'induire une méthémoglobinémie

Acétanilide	Les sels de Chromates	Nitrates	Naphtalène
Alloxane	Diméthylsulfoxyde	Nitrates de sodium	Nitrophénol
Aniline	Dinitrophénol	Nitrites	Nitrobenzène
Aminophénol	Phénol (hydroxybenzène)	Nitrites d'isobutyle	Nitroéthane
Trihydrure d'arsenic	Fumé	Nitrites de butyle	Paraquat
Les dérivés du Benzène	Gaz d'échappement automobile		Toluidine
Sel de cuivre bivalent	Brûlage de bois et du plastique		Trinitrotoluène (TNT)
Chlorate			

Tableau 5 : L'incidence de certaines substances responsables de méthémoglobinémie[34]

Groupe médical	Rarement	Peu commun	Commun
Analgésiques et antipyrétiques	Acétaminophène		Phénazopyridine
	Fentanyl		Phénacétine
Anticonvulsifs	Phénobarbital		
Agents anti-infectieux	Chloroquine	Sulfamides	Dapsone
	Nitrofurantoïne		Primaquine
Anesthésiques locaux ou topiques	Lidocaïne	Tétracaïne	Benzocaïne
		Cétacaïne	Prilocaine
		Améthocaine	
Vasodilatateurs		Dérivés de nitrates	Dérivés de nitrites
Autres		Bleu de méthylène	
		Metoclopramide	

La classification de ces agents méthémoglobinisants est également possible en se basant sur l'intensité de leur effet toxique. Pour les produits dont le mécanisme d'action est direct, on peut citer selon un ordre décroissant du plus méthémoglobinisant au moins : le p-dinitrobenzène, l'o-dinitrobenzène, les nitrites, les chlorites et enfin les chlorates. Pour les substances qui agissent via une réaction métabolique, le même type de classement donne : l'alpha-naphthol,

p-nitroaniline, m-nitroaniline, o-nitroaniline, aniline, m-nitrotoluène = o-nitrotoluène.

Les phénomènes oxydatifs peuvent être provoqués non seulement par l'action des agents oxydants mais également par des radicaux libres libérés par les leucocytes, ceci peut expliquer l'association dans certains cas d'une méthémoglobinémie significativement augmentée avec une leucémie.

Actuellement, les principaux agents impliqués dans la survenue d'une méthémoglobinémie acquise sont les nitrites, les nitrates, les chlorates, des anesthésiques locaux comme la benzocaïne et la lidocaïne ainsi que des sulfamides comme la dapsone.

3.2.1. Les nitrites/nitrates, la nitroglycérine et l'oxyde nitrique

L'exposition aux nitrites et aux nitrates peut se produire dans plusieurs milieux. Le nitrate d'argent peut être utilisé pour le traitement des brûlures tandis que le nitrite de sodium est utilisé dans le traitement de la toxicité causée par le cyanure. Le nitrate d'amyle ("Popper") et le nitrite d'iso butyle sont des vasodilatateurs puissants qui peuvent être utilisés comme drogues ou aphrodisiaques[35].

Les nitrites, utilisés comme engrais sont à l'origine d'intoxications en milieu agricole ; on les retrouve dans les eaux souillées, l'alimentation contenus dans certains légumes (exemples : carottes, épinards) et sont transformés par la flore intestinale en nitrites, surtout en cas d'infection. La plupart des cas de méthémoglobinémie induite par le nitrate sont signalés chez les jeunes enfants nourris avec de l'eau de puits contaminée par le nitrate. Dans l'intestin, les bactéries convertissent les nitrates alimentaires en nitrites, qui, dans le cadre d'un mécanisme immature de réduction de la méthémoglobine, prédispose cette population de patients au risque de méthémoglobinémie[35].

L'oxyde nitrique (NO) est utilisé comme agent vasodilatateur inhalé qui est sélectif pour la vascularisation pulmonaire. Chez les enfants atteints de cardiopathie congénitale sous-jacente traités par inhalation de NO, on a trouvé une augmentation statistiquement significative, liée à la dose, des fractions de méthémoglobine, mais cette augmentation ne semble pas cliniquement significative puisque la fraction de méthémoglobine la plus élevée mesurée était de 3,9 % et qu'il n'y a pas eu d'augmentation significative de la mortalité[35].

3.2.2. La dapstone

3.2.2.1. Définition et application

La dapstone (4,4'-diamino-diphénylsulfone, DDS) est une amine aromatique qui appartient à la famille des sulfones, qui comprend également le diadiphénylsulfone, la dianiline sulfonyle et le disulfone. Le sulfone est une base très faible de Lewis sans ion hydrogène (H^+) facilement dissociable, qui possède une structure simple: un groupe sulfonyle (un atome de soufre lié à deux atomes d'oxygène par des liaisons doubles) lié à deux atomes de carbone, comme illustré[36].

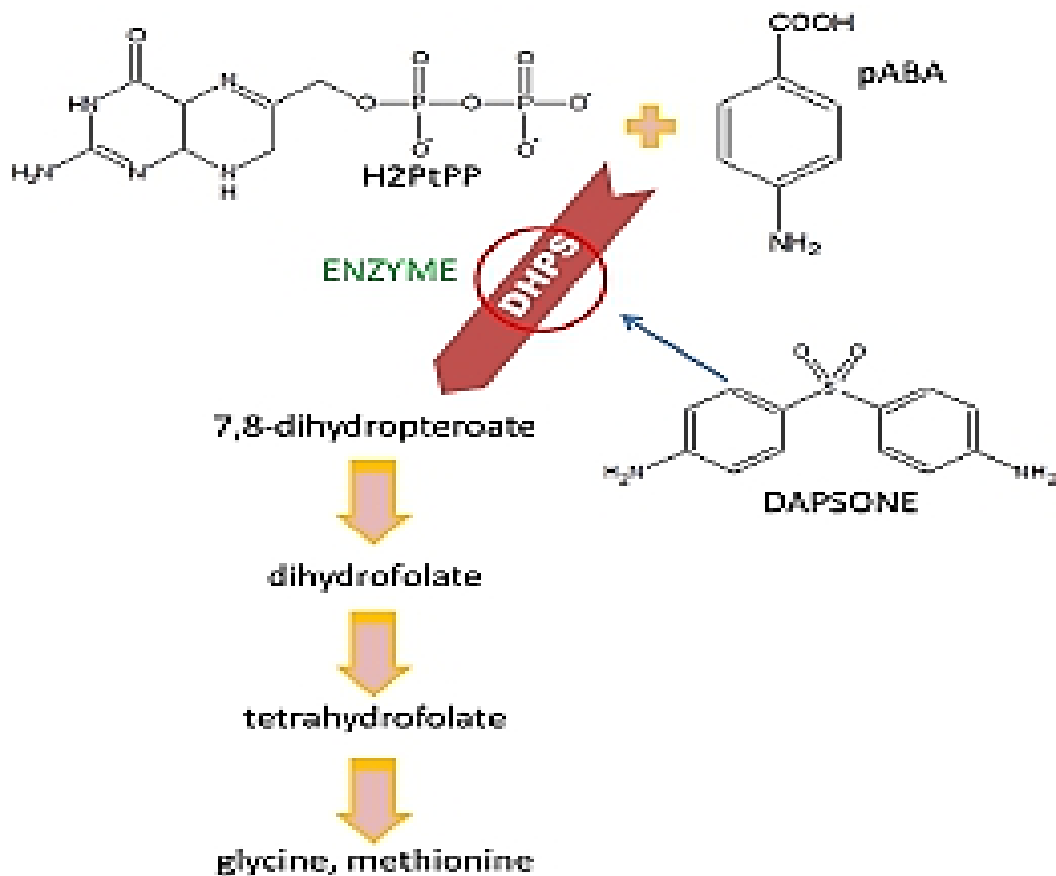


Figure 31: Le mécanisme antimicrobien du DDS[36]

H₂PtPP: 6-hydroxymethyl-7,8-dihydropterin-pyrophosphate;

DHPS: 6-hydroxymethyl-7,8-dihydropteroate synthase.

La dapsons est sous forme d'une poudre cristalline blanche et inodore qui s'assombrit en cas d'exposition à la lumière, mais reste chimiquement inchangée. Il est peu soluble dans l'eau mais facilement soluble dans l'alcool. En outre, la dapsons présente une similitude chimique avec les sulfamides, où la présence du groupe sulfonyl est essentielle à leur activité pharmacologique mais peut aussi être responsable de sa toxicité[36].

La dapsons a été synthétisée il y a un siècle (1908) et a été utilisée depuis comme un antibiotique chez les humains et les animaux pour prévenir et traiter plusieurs maladies. En effet, le DDS est un sulfone synthétique possédant une activité bactéricide et bactériostatique contre le *Mycobacterium leprae* et *M. ulcerans*, en concentrations élevées ($\geq 8 \text{ mg mL}^{-1}$), il est également efficace contre le *M. tuberculosis*, y compris les souches multirésistantes (MDR), *M. intracellulare*, *M. kansasii*, et le *M. fortuitum*. La dapsons, en association avec la pyriméthamine, a été utilisée pour la prophylaxie du paludisme chez les souches de *Plasmodium falciparum* et de *P. vivax*, résistantes à la chloroquine, montrant une activité contre toutes les phases de multiplication du cycle biologique du plasmodium. Des combinaisons, comme le chlorproguanil-dapsons et l'artesunate-dapsons-chlorproguanil, peuvent être utilisées dans le traitement et la prophylaxie du paludisme causé par *P. falciparum*. Il s'agit également d'un médicament couramment utilisé comme agent de seconde ligne derrière le sulfaméthoxazole-triméthoprim (SMX-TMP) pour la prophylaxie et le traitement de la pneumonie à *Pneumocystis jirovecii* chez les patients atteints du VIH et de l'encéphalite à *Toxoplasma gondii* ou le sarcome de Kaposi chez les patients atteints du syndrome d'immunodéficience acquise (sida)[36].

En plus de l'utilisation du dapsons comme agent antimicrobien, ce médicament peut également être utilisé comme un agent anti-inflammatoire. Comme cette activité n'est pas liée à son action antibactérienne, elle peut donc être utilisée dans des maladies inflammatoires non infectieuses comme la dermatite herpétiforme, la dermatite à IgA, la polyarthrite rhumatoïde, l'acné conglobata, l'urticaire chronique, la vascularite, le lupus érythémateux systémique bulleux des leucocytes et les morsures d'araignées. Par conséquent, la dapsons seule ou avec des corticostéroïdes systémiques concomitants peut également être utilisée comme traitement efficace dans d'autres conditions dermatologiques, comme le pemphigoïde à membrane

muqueuse, le pemphigus vulgaris, le pemphigoïde bulleux, le pyoderma gangrenosum (PG), la dermatose pustuleuse sous-cornéenne (SPD) et la maladie de Behcet[36].

3.2.2.2. Les effets indésirables

Des réactions indésirables liées à l'utilisation de dapsons ont été rapportées tels que des symptômes digestifs : nausées, vomissements et stomatite, des cas d'hépatite toxique, d'ictère cholestatique..., ainsi que des réactions de photosensibilité cutanée, de psychose ou d'un syndrome connu sous le nom de "syndrome sulfone" qui peut se manifester par une fièvre, un malaise, une dermatite exfoliante ou une éruption morbilliforme, une dysfonction hépatique, une lymphadénopathie, une méthémoglobinémie, une anémie hémolytique et une lymphocytose avec lymphocytes atypiques[36].

La dose recommandée de dapsons est de 50 à 100 mg par jour (la dose ne doit pas dépasser 300 mg par jour)[36].

Les effets indésirables les plus fréquemment causés par la dapsons sont la production de la méthémoglobinémie et l'hémolyse, et qui sont le résultat de l'administration du médicament à long terme à des doses standard (100 mg par jour). Les effets hémotoxiques du DDS augmentent en fonction de la dose, surtout chez les nourrissons et les patients âgés. Après le début du traitement par DDS à une dose supérieure à 300 mg par jour, le patient devrait présenter des symptômes d'anémie hémolytique comme effet secondaire dose dépendant et qui se produit habituellement en 3-4 semaines; le mécanisme est encore inconnu, mais il est associé à une réduction de la durée de vie des globules rouges[36].

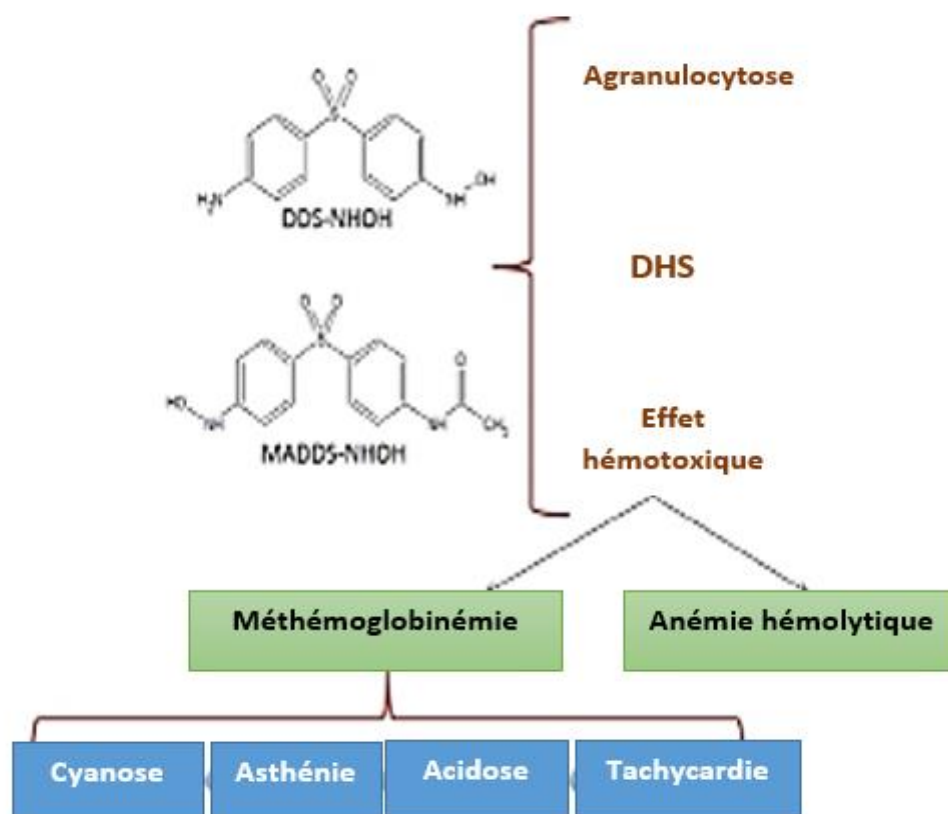


Figure 32 : Les effets hématologiques secondaires aux métabolites hydroxylés du dapsons[36]

DDS : 4,4'-diamino-diphenylsulfone;

DDS-NHOH: dapsone hydroxylamine;

MADDS-NHOH: mono acetyldapsone hydroxylamine.

3.2.2.3. Les mécanismes responsables de méthémoglobinémie

Les métabolites (N-hydroxy, DDS-NHOH et MADDS-NHOH) sont considérés comme étant les métabolites hémolytiques prédominants à l'origine de réactions hémotoxiques, principalement la méthémoglobinémie qui survient lorsque la concentration de méthémoglobine (MetHb) dans les érythrocytes est supérieure à 1%, ce qui entraîne une anémie

fonctionnelle et une hypoxie cellulaire avec des symptômes de cyanose à des niveaux d'environ 15%. Des maux de tête, une fatigue, une tachycardie, et des étourdissements sont vécus chez 30-40% des patients. Des concentrations d'environ 60% peuvent causer une hypoxie conduisant à l'acidose, la paralysie, les arythmies, le coma et les convulsions, conduisant finalement à la mort lorsque les concentrations atteignent des niveaux de 70 à 80%, en raison de l'incapacité de l'hémoglobine anormale à transporter de l'oxygène ou du CO₂. [36]

L'augmentation graduelle de la dose de dapsons (25-150 mg par jour pendant trois jours) chez les patients avec un taux normal de G6PD peut entraîner un degré d'anémie hémolytique avec les symptômes associés, la dapsons est donc contre-indiquée chez les patients à faible taux de glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD)[36].

Le principal problème clinique associé à l'utilisation du DDS est la diminution de la durée de vie des érythrocytes humains. Cet effet peut être responsable de l'anémie, causant ainsi une morbidité et une mortalité accrues associées à la formation de métabolites d'hydroxylamine toxiques (DDSNHOH et MADDS-NHOH) capables tous les deux de produire des niveaux élevés de méthémoglobines, bien que des études montrent que le (MADDS-NHOH) était significativement plus puissant que (DDS-NHOH) lorsqu'ils étaient incubés avec des érythrocytes normaux ou déficients en G6PD[36]. Les études évaluant les dommages causés par le DDS et ses métabolites confirment l'augmentation significative de la formation de MetHb, dose dépendante, secondaire à une production accrue des dérivés réactifs de l'oxygène suite à une réduction de l'activité des enzymes impliquées dans les systèmes de défense antioxydants. Le mécanisme probable de ce processus est que l'hémoglobine subit l'oxydation de ces composés, conduisant à la formation de MetHb avec un composé dérivé du DDS appelé nitrosobenzène, réduit par l'enzyme NADPH-méthémoglobine réductase. Le G6PD fournit des électrons pour la NADPH-méthémoglobine réductase, convertissant l'hémoglobine Fe³⁺ en hémoglobine Fe²⁺, réduisant ainsi le MetHb[36]. Par conséquent, les cellules déficientes en G6PD montrent une plus grande sensibilité aux dommages oxydatifs puisqu'elles sont incapables de réduire le NADP⁺ au NADPH. Le G6PD catalyse la réaction d'oxydation du G6P en 6-phosphogluconolactone dans une réaction qui utilise spécifiquement le NADP⁺ comme coenzyme, qui, après réduction, est converti en NADPH. Le cofacteur NADPH est

extrêmement réducteur; par conséquent, il est important que les érythrocytes maintiennent la forme réduite du glutathion GSH, puisqu'il est nécessaire de fournir l'activité glutathion réductase, qui convertit le GSH oxydé (GSSG) en GSH réduit. Comme les érythrocytes n'ont pas de mitochondries ou d'organelles, la seule source de NADPH est l'action catalytique du G6PD par la voie pentose-phosphate, qui favorise la capacité de défense antioxydant des érythrocytes par l'action du GSH, qui est capable de détoxifier le peroxyde ainsi que de garder les résidus cystéines de l'hémoglobine et d'autres protéines des cellules rouges dans l'état réduit[36].

3.2.3. Le nitrobenzène

Le nitrobenzène est un hydrocarbure aromatique nitré, employé comme matière première pour la préparation de l'aniline, précurseur de diisocyanates (monomères de résines polyuréthanes) et de colorants azoïques, et pour la fabrication d'explosifs. Le nitrobenzène possède une agréable odeur d'amandes, perçue à faible concentration : il est donc parfois employé pour masquer les odeurs déplaisantes, notamment celles des peintures. Par le passé, il a été utilisé comme parfum de produits d'entretien ou d'insecticides des ménagers et a, de ce fait, été responsable d'assez nombreuses intoxications, accidentelles ou suicidaires, parfois mortelles.[37]

La toxicité aiguë du nitrobenzène est élevée : elle se traduit par une dépression du système nerveux central et une méthémoglobinémie. C'est, en effet, l'un des plus puissants agents méthémoglobinisants connus : chez l'adulte, l'ingestion de 20 ml suffit à provoquer une intense méthémoglobinémie. Après absorption, possible par toutes les voies, le nitrobenzène est biotransformé selon deux voies : par oxydation hépatique en p-nitrophénol catalysée par le CYP2E1 ou par réduction au niveau des globules rouges et du foie par une glutathion-réductase avec formation de nitrosobenzène, phénylhydroxylamine et aniline. Le nitrosobenzène et la phénylhydroxylamine constituent un système redox qui oxyde l'hémoglobine en méthémoglobine (MetHb), en quantité débordant les capacités du système réducteur physiologique. Par conséquent, l'ingestion de nitrobenzène, même en faible quantité, provoque une méthémoglobinémie sévère pouvant engager le pronostic vital.[37]

La demi-vie du nitrobenzène est prolongée de l'ordre d'une semaine ce qui peut être à l'origine d'une évolution parfois traînante de la méthémoglobinémie, qui ne doit pas être interprétée comme un échec thérapeutique, mais comme une particularité toxicocinétique propre à ce composé et qui est responsable de la poursuite de la production de la MetHb. D'ailleurs, le nitrobenzène est aussi caractérisé par ses phénomènes de stockage et relargage : il s'agit d'une substance très lipophile qui s'accumule dans le système nerveux central et le tissu adipeux, d'où il est progressivement libéré[37].

En raison de ses propriétés exceptionnelles, l'intoxication au nitrobenzène peut être facilement méconnue, et peut être donc une source d'errance diagnostique retardant l'administration rapide de l'antidote permettant seul d'éviter une méthémoglobinémie sévère[37].

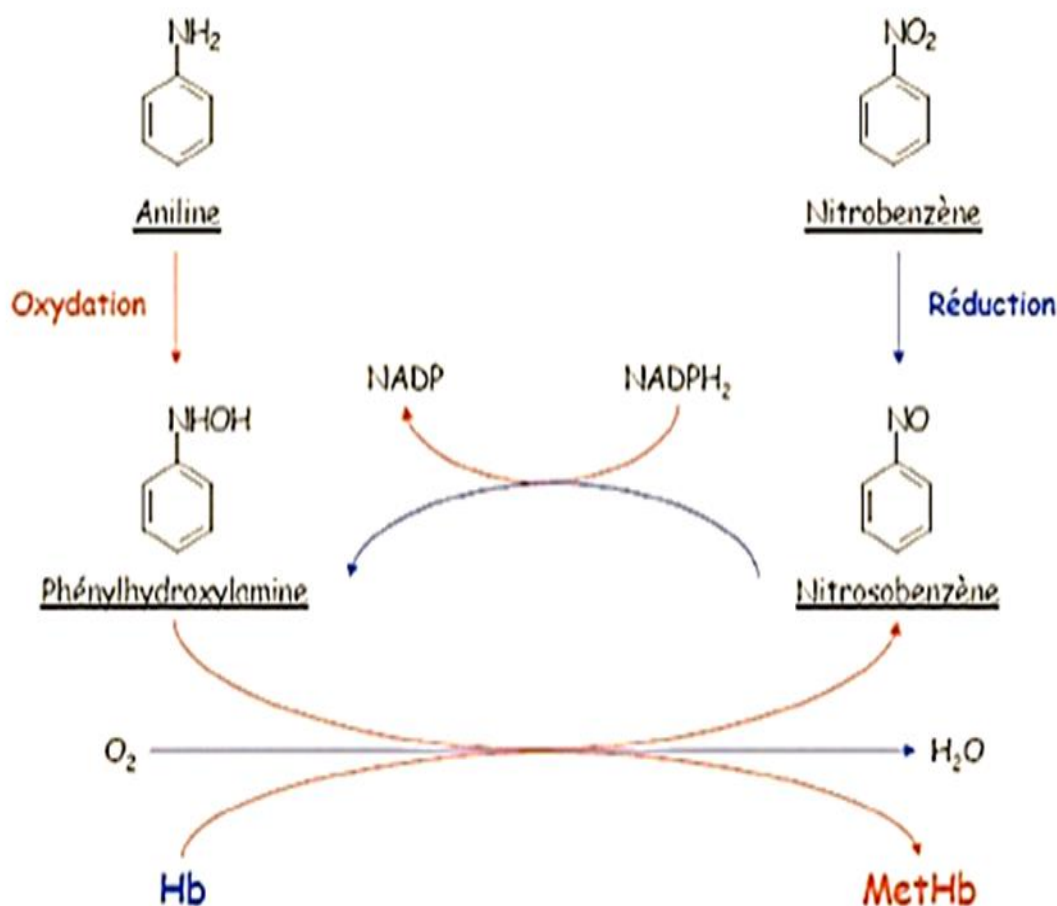


Figure 33 : Le mécanisme d'action toxique des dérivés aminés et nitrés aromatiques

3.2.4. Les anesthésiques locaux

Les anesthésiques locaux comme la benzocaïne, la prilocaïne, la lidocaïne et la tétracaïne sont utilisés pour l'intubation endotrachéale, l'échocardiographie transœsophagienne, l'œsophagogastroduodéoscopie, le traitement de la douleur des dents chez les nourrissons et dans diverses crèmes topiques anesthésiques[35]. Les anesthésiques topiques pénètrent rapidement dans la circulation sanguine à travers les surfaces muqueuses et fonctionnent en bloquant les canaux sodium dépendant sur les neurones. Ils sont généralement classés en deux groupes en fonction de leur structure chimique : esters et amides. Les anesthésiques topiques les plus couramment utilisés durant l'endoscopie aux États-Unis sont la benzocaïne (ester) et la lidocaïne (amide)[38]. Ces agents oxydent indirectement l'hémoglobine en méthémoglobine après leur première hydrolyse en métabolites d'amine correspondants. Cetacaine® (benzocaïne 14%/ tétracaïne 2%), EMLA® (lidocaïne 2,5%/prilocaïne 2,5%) et Hurricaine® (benzocaïne 20%) sont d'autres préparations fréquemment rencontrées qui ont été signalées pour causer la méthémoglobinémie[35].

3.2.4.1. La lidocaïne

Il y a relativement peu de cas de méthémoglobinémie rapportés avec l'utilisation de lidocaïne, ce qui est surprenant étant donné qu'elle est largement utilisée, aussi bien chez des patients adultes, qu'en pédiatrie et gynécologie. La lidocaïne est un médicament à base d'amino-amide généralement injecté en sous-cutané ou appliqué topiquement pour des procédures telles que l'œsophagogastroduodéoscopie et la bronchoscopie. La majorité des cas rapportés de méthémoglobinémie induite par la lidocaïne ont été associés à des procédures des voies aériennes supérieures ou gastro-intestinales supérieures. Dans ces cas, l'absorption s'est produite par les muqueuses[39].

La lidocaïne est métabolisée par l'enzyme du cytochrome P-450 3A4 dans le foie. Elle possède une demi-vie d'environ 96 minutes, qui est parmi les plus basses de tous les anesthésiques locaux. Lorsqu'elle est utilisée seule, la dose maximale recommandée est de 4 à 5 mg/kg, soit 300 mg au total. Si elle est utilisée en association avec l'adrénaline, une dose pouvant atteindre 7 mg/kg, soit 500 mg au total, est tolérable. Actuellement, peu d'estimations de l'incidence de la méthémoglobinémie induite par la lidocaïne existent[39]. Dans une étude

de 2009 portant sur des anesthésiques injectés localement à des doses cliniquement significatives et sans utilisation concomitante d'autres oxydants, la lidocaïne était responsable de 3 des 242 cas examinés de méthémoglobinémie, soit une incidence de 1 %.[39]

Certaines conditions peuvent prédisposer un patient à développer une méthémoglobinémie spécifiquement causée par la lidocaïne. Comparativement à d'autres médicaments de base, le chlorhydrate de bupivacaïne a été montré comme ayant le plus grand effet de déplacer la lidocaïne de son état protéinique et d'augmenter sa concentration dans le sang, ce mélange de chlorhydrate de bupivacaïne et de lidocaïne est d'ailleurs utilisé pour diverses interventions[39]. Dans cette mesure, la toxicité peut augmenter en cas d'une diminution globale des concentrations de protéines plasmatiques, c'est le cas des patients souffrants de malnutrition sévère ou des patients cirrhotiques. On peut noter aussi que les β -bloqueurs altèrent la clairance de la lidocaïne par inhibition directe ou par l'inhibition du flux sanguin hépatique. Les patients présentant des comorbidités préexistantes : une insuffisance hépatique ou une carence en G6PD comme décrit précédemment demeurent à risque accru. Les études n'ont pas rapporté par contre de dose minimale à laquelle la lidocaïne constitue un risque de méthémoglobinémie[39].

3.2.4.2. La benzocaïne

La benzocaïne a fait ses débuts en usage clinique en 1900. Elle est utilisée uniquement comme anesthésique topique. La benzocaïne est l'anesthésique local le plus souvent impliqué dans la survenue de la méthémoglobinémie[40].

Le métabolisme de la benzocaïne en éthanol et en acide para-amino-benzoïque est assuré par la pseudo-cholinestérase plasmatique. Des études sur des animaux montrent des différences dans le métabolisme de la benzocaïne qui peut parfois entraîner la production d'un métabolite toxique (un dérivé N-hydroxyle contenant de l'aniline) capable d'induire la méthémoglobinémie. Des différences de métabolisme semblables peuvent exister notamment chez les humains, justifiant pourquoi seules quelques personnes exposées à la benzocaïne développent une méthémoglobinémie[38]. « Guertler et coll. » ont démontré qu'un spray de 20 % de benzocaïne pendant 2 secondes provoque une augmentation statistiquement significative des concentrations sériques de méthémoglobine à 20, 40 et 60 minutes après l'application de

base (0,8 % vs 0,9 %, P, 0,05) chez un groupe de volontaires normaux et chez ceux qui subissent une endoscopie gastro-intestinale supérieure[38].

La dose d'anesthésie administrée peut également jouer un rôle important dans la pathogenèse : une quantité excessive de médicament peut entraîner une production accrue de métabolites toxiques par exemple une dose de 15 mg/kg chez les nourrissons ou de 150 à 300 mg de benzocaïne a été mise en cause. De nombreux rapports ont décrit l'association entre des doses trop élevées de benzocaïne, en raison d'un nombre excessif de pulvérisations ou d'une durée accrue de celles-ci, et la survenue d'une méthémoglobinémie. Deux principales formulations non mesurées de pulvérisations de benzocaïne sont largement utilisées : 14 % de benzocaïne Cetacaïne® [qui contient du butamben et de la tétracaïne]; et 20% de benzocaïne (Hurricane spray et autres formulations). Jusqu'à 35 % de la benzocaïne topique, appliquée sur les muqueuses, peut être absorbée par voie systémique. Les zones enflammées des muqueuses absorbent la benzocaïne à un taux plus élevé (ISMP, 2002)[38].

L'un des problèmes associés à l'administration de sprays topiques à la benzocaïne est d'estimer la quantité d'anesthésiant local qui a été administrée (Wong et Wilson, 2005). Les instructions d'utilisation indiquent que les médecins doivent respecter le temps d'application qui devrait être limité à 1s (Srikanth, Kahlstrom, Fox et Fox, 2005) et éviter les pulvérisations multiples. De plus, la présence d'un traumatisme muqueux, soit à partir de tubes préexistants, soit en raison de l'endoscopie elle-même, peut entraîner une absorption accrue du médicament[40].

La « FDA » (Food and Drug Administration) a proposé plusieurs considérations pour le clinicien qui utilise des sprays à la benzocaïne pour l'anesthésie pharyngée [40]:

- Le clinicien doit savoir que les pulvérisations de benzocaïne peuvent entraîner des niveaux dangereux de méthémoglobinémie.
- Des montants minimaux devraient être administrés. Il est important de suivre les lignes directrices du fabricant en matière de dosage.
- Tous les patients qui reçoivent de la benzocaïne doivent être surveillés pour déceler les signes et les symptômes de la méthémoglobinémie.

- Pour le diagnostic, la CO-oxymétrie est nécessaire pour détecter la méthémoglobinémie. L'apparition de sang couleur chocolat est un signe tardif. Les patients soupçonnés de méthémoglobinémie doivent être traités rapidement.

- Des agents de remplacement devraient être envisagés pour les patients à risque de méthémoglobinémie, notamment : les patients qui fument, les asthmatiques, les patients atteints de bronchite, l'emphysème, les patients âgés, les enfants de moins de 4 mois, les patients atteints de maladies cardiaques, les patients atteints d'une maladie héréditaire comme le déficit en G6PD, l'hémoglobine M, la déficience en réductase NADH-MetHb et de la déficience en pyruvate-kinase (FDA, 2006).[40]

3.3. Les facteurs prédisposant

3.3.1. L'administration concomitante de plus d'un médicament oxydant

L'administration de plus d'un médicament oxydant, en particulier lorsque les deux médicaments sont de puissants oxydants, peut augmenter la formation de métabolites toxiques ou accélérer l'oxydation de l'hémoglobine, encore plus si les médicaments ne nécessitent pas de transformation biochimique. On cite comme exemples : L'administration de Primaquine aux patients infectés par le VIH dans les 24 heures suivant la dernière dose de Dapsone capable de produire une méthémoglobinémie cliniquement significative. Emla Cream (Prilocaine et Lidocaïne) ou Aurlgan (Antipyrine et Benzocaïne) induisent une méthémoglobinémie chez le nourrisson en moins de 3 mois d'application. La méthémoglobinémie a été également signalée chez le nourrisson après 36 heures d'administration d'une crème anesthésique topique contenant 5% de benzocaïne et 2% de résorcinol utilisée normalement pour traiter l'éruption cutanée induite par les couches. La benzocaïne contenue dans des produits en vente libre avec des suppositoires vaginaux de nitrate de miconazole a provoqué une méthémoglobinémie clinique significative chez les femmes. [34]

L'administration concomitante d'un médicament oxydant avec des inducteurs du cytochrome P-450 qui augmentent l'activité enzymatique du cytochrome p-450 par liaison allostérique tels que les antihistaminiques, les contraceptifs oraux, des coenzymes comme les vitamines, ou des cofacteurs comme le magnésium, le zinc..., peut augmenter la formation de métabolites toxiques qui oxydent l'hémoglobine[34].

En outre, l'administration concomitante de médicaments oxydants avec des médicaments de base qui entraînent une augmentation du PH de l'intestin peut favoriser la croissance d'organismes gram négatifs qui convertissent les nitrates en nitrites (essentiellement chez le nourrisson). [34]

3.3.2. La dose administrée

Une dose élevée d'agent oxydant peut produire une méthémoglobinémie supérieure à la valeur recommandée.

Le bleu de méthylène peut produire une méthémoglobinémie si utilisée à grande dose (jusqu'à environ 7% de l'hémoglobine totale). L'administration périnatale de doses plus élevées de bleu de méthylène (4 mg/kg) administrées par voie amniotique a été signalée pour induire la méthémoglobinémie et l'hémolyse chez les nourrissons non déficients en G6PD ; une forte dose allant jusqu'à 15 mg/kg peut provoquer une hémolyse ; la dose totale ne doit pas dépasser 7 mg/kg[34].

Le métoclopramide peut provoquer une méthémoglobinémie chez le nourrisson après 1 mg/kg/6h en 36 heures. La prilocaïne à partir de doses de 6-24 mg/kg ou plus provoque une méthémoglobinémie, mais les anesthésiques locaux peuvent produire une méthémoglobinémie à des doses habituelles. Pour l'Isosorbide Mononitrate on estime qu'il faudrait des doses équivalentes à 2 mg/kg pour générer une méthémoglobinémie de 10 % ou plus.[34]

3.3.3. La durée du traitement

L'administration chronique ou intermittente de médicaments oxydants peut produire une méthémoglobinémie. On cite comme exemples : la méthémoglobinémie rapportée chez des patientes atteintes de phéochromocytome qui ont reçu 20 mg de métoclopramide trois fois par jour pendant cinq mois ou chez des patients sous cotriamoxazol (triméthoprime/sulfaméthoxazole) à long terme à une dose de 500 mg.[34]

3.3.4. La voie d'administration et la surface du corps

Une substance oxydante appliquée sur une grande surface corporelle peut produire une méthémoglobinémie plus rapidement en comparaison à une petite surface, notamment si elle est appliquée sur la peau ouverte ou chez un nourrisson. [34]

3.3.5. L'âge

Les enfants, en particulier les nourrissons de moins de trois mois, constituent la catégorie la plus vulnérable en raison de leur capacité enzymatique limitée ce qui rend certains médicaments encore plus susceptibles d'induire la méthémoglobinémie. Ainsi, en cas d'administration de médicaments oxydants chez le nourrisson, le niveau d'hémoglobine doit être surveillé. Les nourrissons et les prématurés sont particulièrement sensibles au développement de la méthémoglobinémie en raison de leur activité du cytochrome b5-réductase qui est normalement 50 à 60% moins que l'activité adulte. Bien que les taux du cytochrome b5 réductase atteignent ceux d'un adulte dans les mois qui suivent la naissance, les jeunes nourrissons restent exceptionnellement vulnérables à la méthémoglobinémie toxique après avoir été exposés à un certain nombre de médicaments, de pommades locales et de colorants utilisés dans les couches, qui sont par ailleurs relativement inoffensifs[34]. Les personnes âgées sont exposées à un risque accru de développer une méthémoglobinémie si le médicament utilisé dépasse la dose thérapeutique, par exemple : le Flutamide 250 mg 3/jours utilisé pour une durée de 2 mois peut causer une méthémoglobinémie chez les patients âgés. La méthémoglobinémie a également été signalée chez les patients âgés atteints de d'insuffisance cardiaque congestive après avoir reçu 60 mg de dinitrate d'isosorbide par jour.[34]

3.3.6. Le terrain

Les patients atteints d'insuffisance cardiaque, pulmonaire, de cirrhose du foie, d'une atteinte hématologique, d'infection par le VIH ou d'insuffisance rénale sont plus susceptibles de développer des symptômes de méthémoglobinémie[34] :

- Les patients atteints d'insuffisance rénale subissant une hémodialyse sont plus sensibles au développement de la méthémoglobinémie, qui s'est produite avec une concentration de 21 mg/l de nitrate-azote dans le liquide de dialyse. On recommande ainsi une norme de 2 ppm de nitrate dans le liquide de dialyse.

- Dans la cirrhose hépatique, les globules rouges subissent déjà un stress oxydatif sévère, en particulier chez les patients où des complications hémorragiques sont apparues.

- La primaquine et la dapsons, seules ou combinées, produisent une méthémoglobinémie chez le patient infecté par le VIH, cliniquement significative, particulièrement lorsque la primaquine est administrée dans les 24 heures suivant la dernière dose de dapsons.

- Une méthémoglobine, de 28 % à 70 %, a été signalée chez des jeunes brûlés, souffrants de septicémie, recevant un traitement au nitrate d'argent.

3.3.7. Les facteurs héréditaires

Il existe trois types de méthémoglobinémie héréditaire. Deux sont héritées comme traits récessifs autosomiques : la déficience en cytochrome b5 réductase et la déficience en cytochrome b5. Le dernier type est à transmission autosomique dominante, entraînant une mutation dans la molécule de globine responsable de l'hémoglobine M. Les patients atteints d'une déficience en méthémoglobine réductase ou d'une hémoglobine anormale manifestent la méthémoglobinémie souvent après avoir été exposés à un médicament oxydant: les patients atteints d'une déficience génétique sont généralement asymptomatiques et l'état peut ne pas avoir d'importance clinique jusqu'à ce que le patient soit exposé à un médicament oxydant ou à un produit chimique à des doses qui n'ont aucun effet sur les personnes normales[34].

La chloroquine ainsi que d'autres antipaludéens peuvent provoquer une méthémoglobinémie chez les sujets présentant une insuffisance enzymatique, à des doses qui n'ont aucun effet sur les personnes normales. Les patients atteints d'une carence en glucose 6 phosphates déshydrogénase (G-6-PD) peuvent également développer une méthémoglobinémie après l'administration de bleu de méthylène. La rasburicase utilisée dans la prévention du syndrome de lyse tumorale est aussi contre-indiquée chez les patients déficients en G6PD en raison du risque d'anémie hémolytique aiguë (AHA) et probablement de méthémoglobinémie.[34]

3.3.8. Le régime alimentaire et l'eau

Des taux élevés de nitrates et de nitrites dans certains légumes (par exemple, les carottes, les betteraves, le radis) ont été rapportés, ceci dépend de certains facteurs comme l'utilisation

d'engrais, la méthode d'entreposage, la contamination bactérienne et la méthode de préparation (enlèvement des tiges, pelage, blanchissage). Bien que les effets nocifs sur la santé des nitrates et des nitrites alimentaires soient incertains, la consommation de jus de légumes crus faits maison ou de produits conçus industriellement à petite échelle (p. ex. l'utilisation de jus de betterave pour améliorer la performance sportive) peut entraîner des niveaux excessivement élevés d'apport en nitrites, une production accrue d'oxyde nitrique et donc un risque accru de méthémoglobinémie[34].

Les aliments riches en agents de conservation des nitrates (en particulier dans les viandes) peuvent induire une méthémoglobinémie chez les nourrissons et les personnes atteintes d'une carence héréditaire en méthémoglobine réductase liée à la NADH, tandis que les aliments riches en agents de conservation des nitrites (en particulier dans les viandes) peuvent induire une méthémoglobinémie à la fois chez les personnes normales et chez les personnes atteintes d'une affection héréditaire[34].

Dans le milieu rural, les nourrissons peuvent être atteints de méthémoglobinémie secondaire à l'utilisation d'eaux de puits pouvant contenir une forte teneur en azote, surtout si l'eau contaminée est inclus dans la préparation du lait artificiel ou d'autres aliments pour le nourrisson.[34]

*Troisième partie :
la méthémoglobinémie du
diagnostic à la thérapeutique*

I. Diagnostic de la méthémoglobinémie

1. Présentation clinique

La présentation clinique d'un patient atteint de méthémoglobinémie est le résultat de la présence de la molécule anormale de méthémoglobine et de son incapacité à transporter l'oxygène vers les tissus. Initialement, le tableau clinique est souvent vague et non spécifique, mais au fur et à mesure que les niveaux de méthémoglobines augmentent, la symptomatologie s'intensifie aussi.[41]

Le taux physiologique de méthémoglobine dans le sang est compris entre 0 et 2 %. Des taux de méthémoglobine entre 10 % et 20 % sont bien tolérés, mais des niveaux supérieurs à ceux-ci sont souvent associés à l'apparition de symptômes, ainsi des taux de méthémoglobine de 10 % à 20 % produisent habituellement une cyanose. Des taux de 20 % à 50 % entraîneront des symptômes tels que la détresse respiratoire, étourdissements, céphalées et fatigue. Les troubles de conscience se développent à des niveaux approchant les 50% et le décès peut survenir à partir d'un taux de 70%.[41] Les symptômes dépendent également de la rapidité de la formation de la méthémoglobine et son mode évolutif : aigu ou chronique. Par conséquent, des patients atteints d'une méthémoglobinémie d'évolution chronique peuvent rester asymptomatiques, alors que d'autres patients qui, sous l'effet de certains médicaments ou des toxines à pouvoir oxydatif, développent brusquement les mêmes taux de méthémoglobines mais avec une présentation clinique plus sévère.

La méthémoglobinémie survient lorsque la formation de méthémoglobine, par auto-oxydation de l'hémoglobine ou par un mécanisme induit par un xénobiotique (certains agents oxydants peuvent multiplier la formation des méthémoglobines par 1 000), se produit à un rythme plus rapide que la capacité de la cytochrome-b5 réductase et d'autres voies non enzymatiques de réduction peuvent la ramener à la désoxyhémoglobine. Alors qu'une concentration absolue de 5 g/dl de désoxyhémoglobine doit être présente pour que la cyanose se produise, seulement 1,5 g/dl de méthémoglobine doit être présent pour développer la cyanose (approximativement égale à 10-15% de méthémoglobine chez un patient avec des niveaux normaux d'hémoglobine). En plus d'une diminution de la teneur en oxygène du sang artériel,

un déplacement à gauche de la courbe de dissociation de l'oxygène s'observe au fur et à mesure que les fractions de méthémoglobine augmentent de plus de 10%, conduisant à une diminution de la charge en oxygène au niveau des tissus.[35]

Cliniquement, la cyanose de la peau et de la muqueuse peut également développer une teinte brune au fur et à mesure que la fraction de la méthémoglobine augmente. En effet, en raison de l'incapacité de lier l'oxygène, le sang reste brun, même après l'exposition à l'air ce qui est quasi pathognomonique de la méthémoglobinémie. [35]

Tableau 6 : Les symptômes cliniques en fonction du taux de MetHb dans le sang[39]

Concentration de la MetHb en g/dl	Le % de la MetHb	Les symptômes
< 1.5	<10	Aucun
1.5-3.0	10-20	Cyanose isolée
3.5-4.5	20-30	Anxiété Céphalées Tachycardie Sensation vertigineuse
4.5-7.5	30-50	Fatigue Confusion Tachypnée Accentuation de la tachycardie
7.5-10.5	50-70	Convulsions Arythmie Acidose Coma
> 10.5	>70	Décès

Les patients atteints de méthémoglobinémie acquise peuvent également présenter des symptômes toxiques liés aux produits chimiques auxquels ils ont été exposés. Il est donc essentiel de porter une attention particulière aux antécédents des patients, qui sont souvent assez révélateurs.

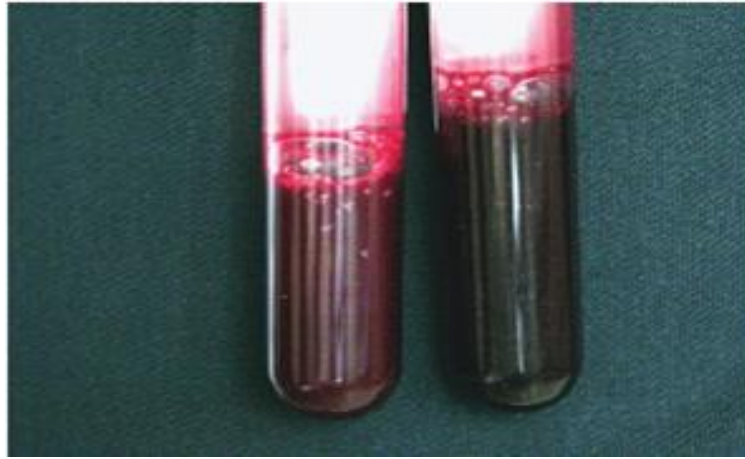


Figure 34 : Image comparative entre la couleur du sang veineux contenant la MetHb et celui d'un patient normal[42]

Il est important de noter que les patients atteints d'une anémie deviendront symptomatiques à des fractions de méthémoglobine moins importantes. Toute méthémoglobinémie doit être interprétée en tenant en compte le taux d'hémoglobine. Ainsi pour des intervalles normaux d'Hb entre 14.0-17.5 g/dl chez l'homme et 12.3-15.3 g/dl chez la femme, les taux de MetHb doivent être <0.14-0.153 g/dl et <0.123-0.153 g/dl respectivement [24]. Par exemple, à des fractions de méthémoglobine allant jusqu'à 15 %, un patient présentant des concentrations normales d'hémoglobine devrait présenter quelques symptômes en raison de la présence d'une hémoglobine fonctionnelle adéquate, tandis qu'un patient anémique présentant une fraction similaire pourrait être assez symptomatique. Comme les symptômes de la méthémoglobinémie résultent d'une diminution du transport de l'oxygène, tout patient présentant une condition préexistante qui affecte également l'apport d'oxygène développera des symptômes à des niveaux inférieurs de méthémoglobine. Les patients qui présentent donc d'autres hémoglobinopathies ou souffrant déjà de maladies cardiaques, de maladie pulmonaire obstructive chronique ou de pneumonie peuvent s'attendre à un tableau clinique plus bruyant.

Chez le jeune enfant, la gastro-entérite et la déshydratation peuvent également exposer à des risques de production de méthémoglobine à un taux plus élevé.[35]

Si la présence de l'anémie peut accélérer l'apparition de la symptomatologie en rapport avec la méthémoglobinémie, celle-ci peut également en être la cause. En effet, L'anémie hémolytique peut suivre une méthémoglobinémie induite par un médicament, en particulier après l'exposition à la dapsone, à la sulfasalazine ou la phénacétine. L'anémie est caractérisée par la formation des corps de Heinz (hémoglobine précipitée ou sous-unités de globine due à la dénaturation de l'hémoglobine dans les érythrocytes) et des globules rouges fragmentés[43]. L'anémie hémolytique associée à un jaunissement des muqueuses peut aussi être une caractéristique de l'hémoglobine M notamment l'hémoglobine M Saskatoon et l'hémoglobine M Hyde Park, des variantes anormales de l'hémoglobine associées à la méthémoglobinémie congénitale dominante et identifiées par l'endroit où elles ont été découvertes.[43]

Les méthémoglobinémies héréditaires dominantes ou hémoglobinoase M déterminent une cyanose isolée, cutanéomuqueuse, présente dès la naissance pour les mutations sur la chaîne α , d'apparition progressive et plus intense pour les mutations β . Elles sont le plus souvent parfaitement tolérées, d'ailleurs dans une hémoglobine instable, l'élévation du niveau de méthémoglobine est habituellement légère à modérée, le tableau clinique est plus marqué par les symptômes et les signes d'hémolyse. Le diagnostic prénatal n'est pas justifié. Récemment, le même type d'anomalies a été décrit pour des hémoglobines fœtales anormales [S] à l'origine d'une cyanose néonatale qui disparaît par la suite, après le remplacement de l'hémoglobine F par l'hémoglobine A. [21]

La forme autosomique de la méthémoglobinémie a été signalée pour la première fois en (1845), où on a observé un sujet qui présente une cyanose mais sans troubles cardiaques ou pulmonaires. En effet, la cyanose chez les personnes atteintes de méthémoglobinémie congénitale apparaît habituellement peu après la naissance. Chez les nourrissons atteints d'une cyanose persistante sans troubles cardiaques ou pulmonaires, le diagnostic de MRC doit être évoqué et recherché en mesurant la concentration de la méthémoglobine et en testant l'activité enzymatique du cb5r. [31]

Bien que les méthémoglobinémies congénitales récessives type I et type II se manifestent phénotypiquement sous forme de cyanose à la naissance, il est toujours difficile de distinguer les deux troubles jusqu'à ce que des différences dans le développement cognitif deviennent apparentes.

•MCR type I :

Il s'agit d'une affection bénigne à transmission récessive résultant d'un déficit purement érythrocytaire en cytochrome b5 réductase, et se traduisant par une cyanose quasiment isolée. Cette cyanose est le plus souvent visible dès la naissance ou dans les premiers jours, de couleur gris ardoise, surtout apparente aux lèvres, aux muqueuses, aux extrémités des doigts et des orteils. D'intensité variable, elle peut être plus modérée et passer longtemps inaperçue, parfois jusqu'à l'âge adulte. Elle peut varier avec la saison, la température, le régime alimentaire, les efforts physiques et la fatigue. Accompagnée parfois d'une tachycardie d'intensité modérée, d'un souffle systolique anorganique ou d'une polyglobulie modérée mais l'hippocratisme digital reste toujours un signe négatif. L'électrocardiogramme et l'échographie cardiaque sont normaux. Habituellement sans aucun retentissement sur l'activité des sujets, décrit ainsi par Jaffe comme des patients qui étaient plus bleus que malades, signifiant par-là que le préjudice est principalement esthétique. [31]

La méthémoglobinémie est dans ce cas compatible avec une vie normale jusqu'à un âge avancé, une activité sportive moyenne, et sans retentissement sur la grossesse. Toutefois, lorsque le taux de méthémoglobinémie dépasse 50 %, quelques signes fonctionnels peuvent apparaître : céphalées, palpitations, précordialgies, légère dyspnée d'effort et une intolérance à l'exercice prolongé. Ces sujets sont très sensibles à l'action des substances oxydantes méthémoglobinisantes, médicamenteuses ou toxiques, qui risquent d'augmenter d'avantage la fraction de méthémoglobine et donc d'aggraver leur affection, comme d'ailleurs pour les porteurs hétérozygotes. [31]

•La MCR type II :

Il s'agit d'une affection d'une haute gravité, dans laquelle la cyanose est à l'arrière-plan associée à une encéphalopathie progressive précoce et sévère. Le déficit enzymatique dans ce

type de méthémoglobinémie est généralisé, touchant à la fois les érythrocytes et les autres tissus: cerveau, foie, muscles, leucocytes, plaquettes, fibroblastes. [31]

Rien ne distingue les deux formes chez le nouveau-né, mais de façon progressive apparaissent des signes d'allure neurologiques : troubles du comportement (irritabilité, cris), une stagnation des acquisitions, des anomalies du tonus et des réflexes archaïques, un certain désintérêt pour l'entourage, des vomissements précoces et des difficultés alimentaires croissantes. Ces anomalies se précisent plus ou moins vite, parfois dans les premières semaines, parfois après un intervalle libre de quelques mois ou tout semble apparemment normal.[31]

Habituellement, vers six à neuf mois, le tableau complet est constitué. Il associe une arriération profonde avec un désintérêt pour le monde extérieur, et un syndrome athétosique majeur avec, sur un fond de grande hypotonie avec absence de tenue de la tête, la survenue spontanément ou à la moindre excitation de grands spasmes toniques avec une attitude en opisthotonos, et des mouvements involontaires de prono-supination, d'enroulement, de reptation prédominant aux extrémités. En dehors de ces renforcements toniques, certains enfants ont par périodes une activité de gesticulation involontaire presque incessante, touchant aussi le visage et la bouche. Les signes pyramidaux sont négatifs. Il existe constamment une microcéphalie, parfois très précoce voire néonatale. Un strabisme convergent est habituel. Il s'y associe une hypotrophie vite impressionnante, staturopondérale, en partie expliquée par les difficultés alimentaires constantes, les vomissements et les troubles de déglutition. Des convulsions sont possibles, en règle généralisées tardives et épisodiques. La mort survient à un âge variable, le plus souvent avant dix ans, souvent par fausse route. La cyanose est présente, mais parfois modérée, pouvant passer inaperçue dans ce contexte.[31]

La grande majorité des cas publiés concernant la méthémoglobinémie héréditaire récessive comportant une encéphalopathie correspondent à la description précédente et associent sans ambiguïté les divers symptômes, constituant finalement un syndrome d'une uniformité assez marquée. Toutefois, quelques rares observations se singularisent et correspondent plus probablement à des coïncidences fortuites, d'autant qu'il y manque le diagnostic enzymatique. Seule semble réellement particulière l'observation de Yawata et al, qui associe à la cyanose un retard mental modéré sans troubles moteurs, un nanisme et des

anomalies squelettiques ; l'activité de la cytochrome b5 réductase est diminuée notablement dans les érythrocytes, mais modérément dans les plaquettes, les lymphocytes et les fibroblastes. Il s'agit d'un nouveau variant du cytochrome b5 réductase (Kurashiki B.,) en rapport avec un nouveau génotype probable.[31]

2. Le diagnostic différentiel

Le diagnostic de la méthémoglobinémie peut être difficile en raison de ses symptômes non spécifiques. Cependant, de nombreuses caractéristiques uniques peuvent susciter la suspicion de méthémoglobinémie chez certains patients.

Les patients atteints d'une méthémoglobinémie présentent habituellement une cyanose. La cyanose est toutefois associée à de nombreuses autres conditions cliniques dont la plus courante est un dysfonctionnement cardiaque ou pulmonaire. Dans ces conditions, la cyanose est due à la présence de grandes quantités de désoxyhémoglobines circulantes. Le sang obtenu de patients avec une hémoglobine désoxygénée devient rouge vif en présence d'oxygène. Contrairement à la couleur rouge foncé du sang désoxygéné, le sang contenant une forte concentration de méthémoglobine est caractérisé par sa couleur brun chocolat qui ne change pas en cas d'exposition à l'oxygène, comme on le voit avec le sang non méthémoglobinémique. Ainsi par le biais de cette propriété, on peut réaliser un test facile au lit du malade qui consiste à appliquer une goutte de sang sur du papier filtre pour évaluer son changement de couleur après exposition à l'air : le sang riche en MetHb reste de couleur brun chocolat.[20]

Le diagnostic différentiel de la méthémoglobinémie chez les petits nourrissons comprend la cardiopathie congénitale cyanotique, en particulier lorsqu'il y a un shunting de droite à gauche. Les enfants atteints de cardiopathie congénitale cyanotique qui reçoivent de l'oxygénothérapie ont une faible pression partielle d'oxygène (PO₂) et une faible saturation en oxygène calculée (SaO₂), contrairement aux enfants atteints de méthémoglobinémie qui ont une forte pression partielle d'oxygène malgré la cyanose et une saturation normale en oxygène avec une cyanose qui ne répond pas à l'oxygénothérapie, un manque de résultats pulmonaires significatifs et des radiographies claires de la poitrine. Les nourrissons qui présentent un tableau de septicémie peuvent également présenter des symptômes semblables à ceux de la méthémoglobinémie, mais réagissent habituellement à l'oxygénothérapie. [43]

Les causes congénitales de la méthémoglobinémie sont plus susceptibles de se manifester dans les premières heures ou les premiers jours de la vie. La MetHb idiopathique associé à l'acidose survient dans ce groupe d'âge, de même que la MetHb causée par les nitrites d'eau de puits. Les nourrissons légèrement plus âgés (4 à 6 mois) peuvent développer une méthémoglobinémie dans le contexte de déshydratation sévère, de diarrhée et d'acidose métabolique. [23]

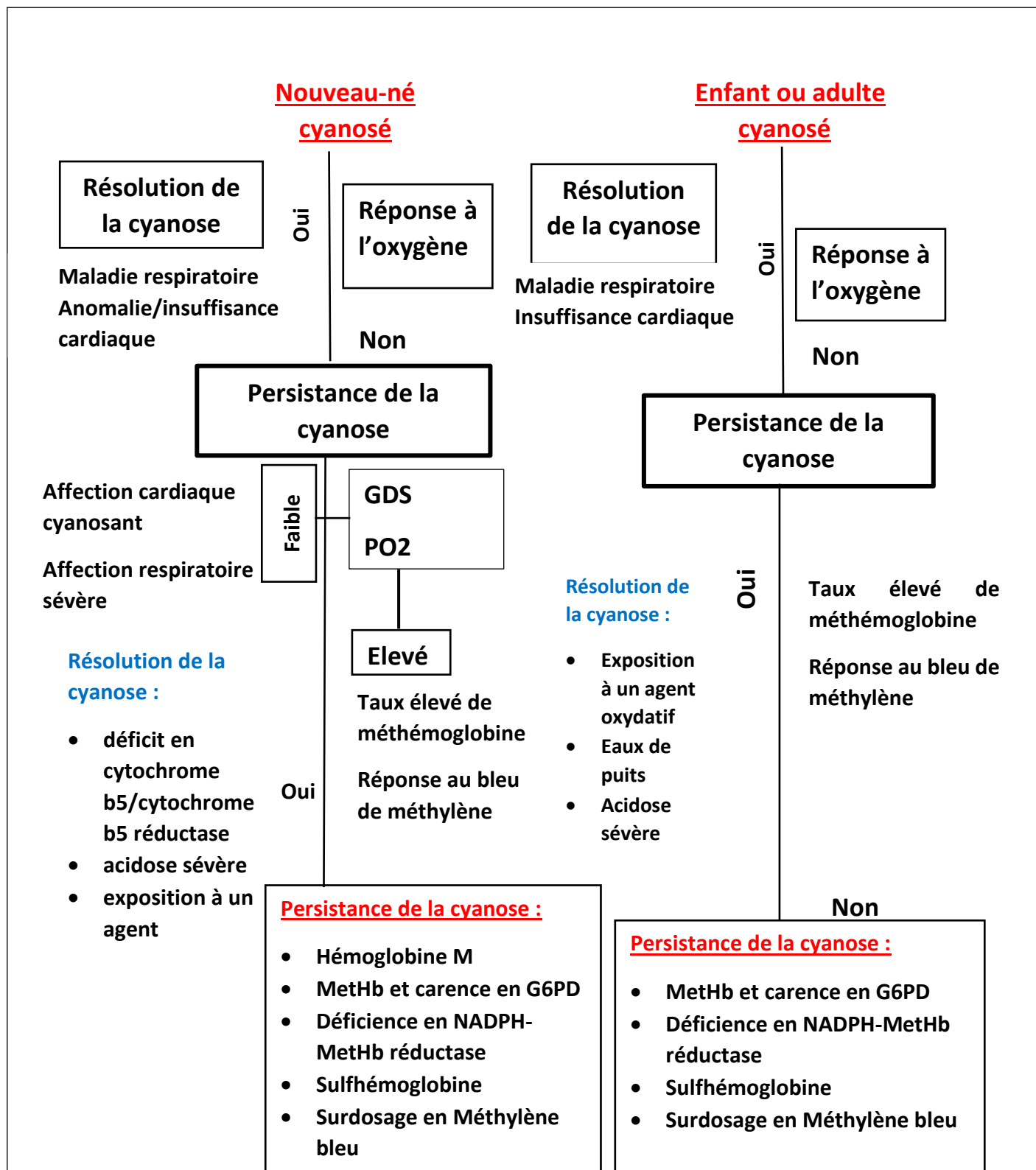


Figure 35 : Orientation clinique devant une cyanose dans un contexte de MetHb[23]

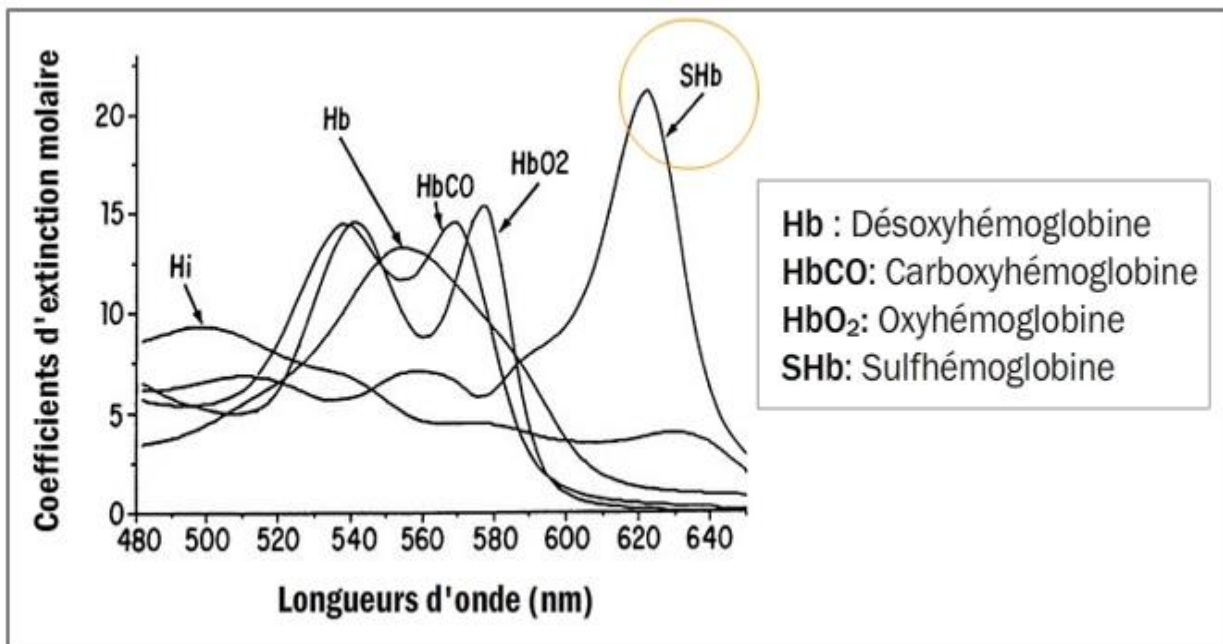
Sur ce point, la présence d'antécédents familiaux est généralement utile pour différencier la méthémoglobinémie due à une carence en cytochrome b5 réductase de l'hémoglobinose M. Une cyanose dans les générations successives suggère la présence d'hémoglobine M, par contre la présence de parents normaux, mais avec une affection dans la fratrie, implique la recherche d'une carence en NADH-cytochrome b5 réductase.[43]

La sulfhémoglobinémie est un diagnostic différentiel à considérer chez les enfants plus âgés et les adultes, mais qui reste beaucoup moins fréquent que la méthémoglobinémie. La sulfhémoglobinémie désigne l'incorporation d'une molécule de soufre dans la fraction hémique. La réaction exige que la fraction hémique soit d'abord oxydée en méthémoglobine, pour qu'une deuxième réaction se produise dans laquelle le soufre est lié de façon covalente à l'hème. Le glutathion endogène peut servir de donneur de soufre. La plupart des médicaments qui produisent la méthémoglobinémie peuvent aussi produire de la sulfhémoglobine, entraînant ainsi une confusion entre la sulfhémoglobinémie et la méthémoglobinémie. Cependant, la sulfhémoglobine ne peut être réduite à l'hémoglobine et les symptômes, qui ont tendance à être plus bénins que chez les patients atteints de MetHb, durent généralement de 1 à 6 mois selon le niveau de sulfhémoglobine. [23]

En cas de sulfhémoglobinémie, la couleur du sang reste inchangeable à l'exposition à l'air prenant une couleur brun chocolat semblable à la méthémoglobinémie. C'est le test de cyanure de potassium qui permet de distinguer la méthémoglobine de la sulfhémoglobine. Après l'addition de quelques gouttes de cyanure de potassium, le sang contenant la méthémoglobine devient rouge vif, mais la sulfhémoglobine reste brun foncé. Ceci est dû à la liaison de la méthémoglobine au cyanure, formant la cyanométhémoglobine, qui est de couleur rouge vif. La sulfhémoglobine, en revanche, est inerte et ne lie pas le cyanure. Toutefois, vu que la sulfhémoglobinémie est extrêmement rare, quand un échantillon de sang reste brunâtre après avoir été exposé à l'air, le diagnostic le plus probable à poser reste la méthémoglobinémie.[43]

Le diagnostic de la sulfhémoglobinémie est confirmé par la mise en évidence de niveaux élevés de sulfhémoglobine à l'aide de la spectrophotométrie qui trouve un spectre d'absorption de la sulfhémoglobine avec une très forte absorption dans le rouge autour de 620 nm qu'elle que soit l'état de son oxygénation ou en utilisant la chromatographie en gaz/spectrométrie de

masse. En outre, la sulfhémoglobinémie ne répond pas au bleu de méthylène ou à d'autres antidotes. Dans les cas graves, la transfusion d'échange peut être utile.



Une symptomatologie atypique peut accompagner la méthémoglobinémie induite par les agents oxydants, médicaments ou produits chimiques, qui peut être le résultat d'une toxicité propre de ses agents et distincte de la propriété induisant la MetHb. Par exemple : le paraquat qui est un herbicide capable d'induire une fibrose pulmonaire peut être à l'origine, en cas de surdose, d'une image potentiellement trompeuse de l'hypoxie, de l'essoufflement et de la cyanose. Les quinones comme la primaquine ou la chloroquine peuvent être cardiotoxiques. Enfin, par leur effet puissant de vasodilatation, les nitrates et les nitrites peuvent à leur tour entraîner une hypotension significative qui aggrave le tableau clinique en rapport avec la méthémoglobinémie.[23]

L'hémolyse qui résulte de l'action oxydative de ses substances suit fréquemment la méthémoglobinémie, bien que l'apparition de l'hémolyse soit généralement retardée de 12 à 24 heures après l'exposition au médicament. Certains médicaments, comme la dapsone et l'aniline,

produisent une méthémoglobinémie rebelle, dans laquelle les niveaux de MetHb augmentent de nouveau 4 à 12 heures après le succès du traitement au bleu de méthylène.[23] Lorsqu'il s'agit de la prise en charge d'un patient exposé à un agent spécifique, potentiellement pouvant induire une méthémoglobinémie, il est toujours recommandé de consulter le centre régional de lutte antipoison et un toxicologue clinique.[23]

3. Confirmation du diagnostic

3.1. Les mesures de l'état d'oxygénation en laboratoire :

L'oxygène se lie de façon coopérative à l'hémoglobine à l'état ferreux Fe^{2+} , comme le montre la courbe de dissociation de l'oxygène (CDO). La courbe de dissociation de l'oxygène relie la saturation en O_2 de l'hémoglobine à la tension d'oxygène. À des pressions partielles élevées d' O_2 , généralement dans les poumons, l' O_2 se lie à l'hémoglobine pour former de l'oxyhémoglobine (O_2Hb). Au fur et à mesure que les érythrocytes circulent dans les tissus, O_2Hb libère de l' O_2 en réponse à la diminution de la pression partielle de l' O_2 . La coopérativité de la liaison O_2 produit la forme sigmoïde de la courbe. La coopérativité renvoie à la caractéristique selon laquelle les chaînes d'hémoglobine restantes auront une plus grande affinité pour l' O_2 après qu'une des sous-unités ait déjà lié l' O_2 . Ainsi, lorsque l' O_2 se lie à la première sous-unité de la désoxyhémoglobine (HHb), l'affinité des sous-unités restantes pour l' O_2 augmente. L' O_2 est lié aux deuxième et troisième sous-unités, la liaison de l' O_2 est ainsi renforcée progressivement, de sorte qu'à une tension normale d' O_2 dans les alvéoles pulmonaires, l'hémoglobine est complètement saturée en O_2 . Le même processus fonctionne en sens inverse : une fois que l'hémoglobine complètement chargée libère une molécule d' O_2 , elle libère la suivante plus facilement. [44]

L'augmentation des fractions de MetHb et de COHb sont dangereuses pour deux raisons :

- La MetHb et la COHb inhibent le transport d' O_2 en bloquant les sites de liaison du fer hémique ; et
- Lorsqu'un ou plusieurs atomes de fer ont lié du monoxyde de carbone ou ont été oxydés, la conformation de l'hémoglobine est modifiée de façon à augmenter l'affinité O_2 des autres groupes d'hématomes, ce qui déplace la CDO vers la gauche et diminue la livraison d' O_2 dans les tissus.

Plusieurs autres conditions, telles que la température, le pH et la concentration de 2,3-diphosphoglycérate (DPG), peuvent modifier l'affinité oxygène-hémoglobine et déplacer la courbe de dissociation de l'oxygène. La PO_2 à 50% de saturation en oxygène est appelé P50. La P50 est inversement apparentée à l'affinité O_2 et utilisée comme indicateur de l'affinité O_2 de l'hémoglobine. La diminution du pH, l'augmentation de la concentration de DPG et l'augmentation de la température déplacent la CDO vers la droite, augmentant la P50, ce qui indique une diminution de l'affinité O_2 . [44]

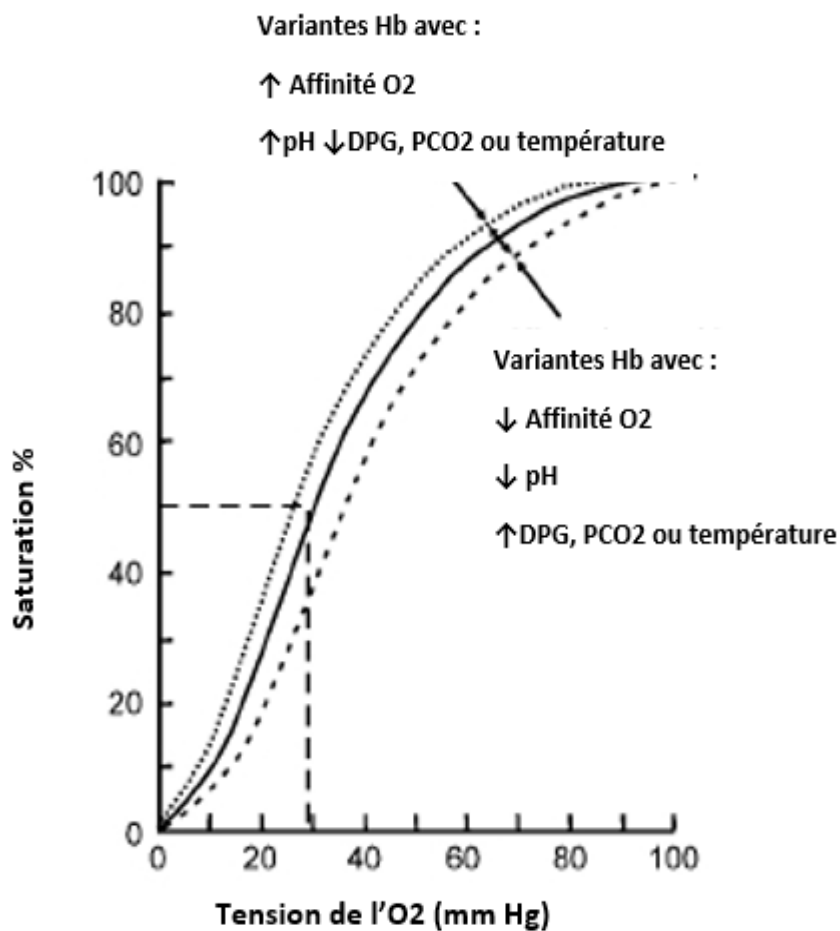


Figure 37: courbe de dissociation de l'oxygène avec l'effet des différents facteurs[44]

(*) Le pourcentage de saturation de l'hémoglobine en oxygène à différentes tensions oxygénées est représenté par les courbes sigmoïdiennes. Le P50, indiqué par les lignes en pointillés, est de 27 mm Hg dans les érythrocytes sains. [44]

Afin de déterminer l'état d'oxygénation du sang 3 approches analytiques distinctes sont possibles, souvent utilisés d'une manière interchangeable et considérés comme étant des mesures équivalentes chez les individus en bonne santé sans hémoglobinopathie et chez qui les valeurs des trois approches sont pratiquement identiques. Il est important de considérer la pertinence clinique de la saturation en oxygène par rapport à l'oxyhémoglobine fractionnelle dans le cas d'augmentation de COHb ou de MetHb. Les trois termes SO₂, FO₂Hb et saturation estimée en oxygène (O₂sat) ont des définitions distinctes établies par la « NCCLS » (National Committee for Clinical Laboratory Standards) qui a recommandé l'utilisation du terme "saturation en oxygène" pour indiquer la quantité d'hémoglobine capable de transporter du O₂ et le "O₂Hb fractionné" pour représenter la fraction d'hémoglobine oxygénée. Les termes "saturation fractionnelle" et "saturation fonctionnelle" désignent respectivement la FO₂Hb et la SO₂. Toutefois, ces derniers termes peuvent être trompeurs : la saturation fonctionnelle est redondante et la définition de saturation ne s'applique pas à la saturation fractionnelle FO₂Hb.[44]

La saturation est calculée à partir des paramètres mesurés selon les équations suivantes :

- i. La concentration totale en hémoglobine (tHb) :

$$tHb = cO_2Hb + cHHb + cMetHb + cCOHb + cSHb$$

La saturation en oxygène de l'hémoglobine (SO₂) :

$$SO_2 = \frac{cO_2Hb}{cO_2Hb + cHHb}$$

La saturation de l'hémoglobine en O₂ peut être mesurée par oxymétrie de pouls (souvent appelée SaO₂ ou SpO₂) ou par CO-oxymétrie.[44] Quelle que soit la méthode utilisée, la saturation en oxygène est une mesure de la fraction d'hémoglobine oxygénée par rapport à la quantité d'hémoglobine capable de transporter de l'O₂ :

$$\text{Oxyhémoglobine fractionnelle (FO}_2\text{Hb)} \quad FO_2Hb = \frac{cO_2HB}{ctHb} \times 100\%$$

L'oxyhémoglobine fractionnelle ne peut être mesurée que par un spectrophotomètre à plusieurs longueurs d'onde tel qu'un CO-oxymètre. La FO₂Hb représente la fraction d'oxyhémoglobine par rapport à l'hémoglobine totale (tHb) présente (y compris les

hémoglobines non oxygénées). La fraction de l'un des dérivés de l'hémoglobine peut être calculée de la même manière. Chez les individus sains, les SaO_2 et FO_2Hb sont approximativement égaux. En présence de fractions importantes d'hémoglobines anormales, les valeurs de FO_2Hb seront considérablement inférieures à la saturation déterminée par l'oxymétrie de pouls. Bien que le SaO_2 reste généralement dans les limites normales en cas d'intoxication au monoxyde de carbone ou de méthémoglobinémie, la capacité du sang en O_2 peut être fortement réduite, ce qui entraîne des conséquences fatales. La dernière approche pour évaluer la saturation en O_2 est la saturation estimée en oxygène calculée par les analyseurs de gaz sanguins à partir des valeurs de pH, de PO_2 et d'hémoglobine à l'aide d'équations empiriques.[44]

3.2. Les méthodes spectrophotométriques d'analyse :

Les molécules d'hémoglobine sont colorées et sont donc facilement mesurées par spectrophotométrie. La structure moléculaire modifiée de la portion hémique dans différents dérivés de l'hémoglobine donne lieu à des spectres d'absorbance uniques. Ces spectres d'absorbance caractéristiques permettent de déterminer la concentration de chaque dérivé d'hémoglobine présent dans le mélange. Les méthodes d'analyse de spectrophotométries reposent sur le principe que l'absorbance lumineuse est proportionnelle à la concentration du soluté. L'absorption est mesurée en transmettant la lumière d'une longueur d'onde spécifique à travers un milieu et en mesurant l'intensité de l'autre côté. L'absorbance est une propriété additive et il est nécessaire de mesurer l'absorbance à « n » longueurs d'onde pour obtenir la concentration de « n » analytes. [44]

L'oxymètre de pouls est une méthode de spectrophotométrie simple qui utilise seulement deux longueurs d'onde et mesure la contribution de seulement deux espèces d'hémoglobine, O_2Hb et HHb . Des photomètres plus complexes comme les CO-oxymètres sont disponibles pour mesurer l'absorbance à 128 longueurs d'onde et peuvent rapporter la ctHb et la SO_2 en plus des FHHb, FO_2Hb , FCOHb, FHbF, FMetHb et FSHb. [44]

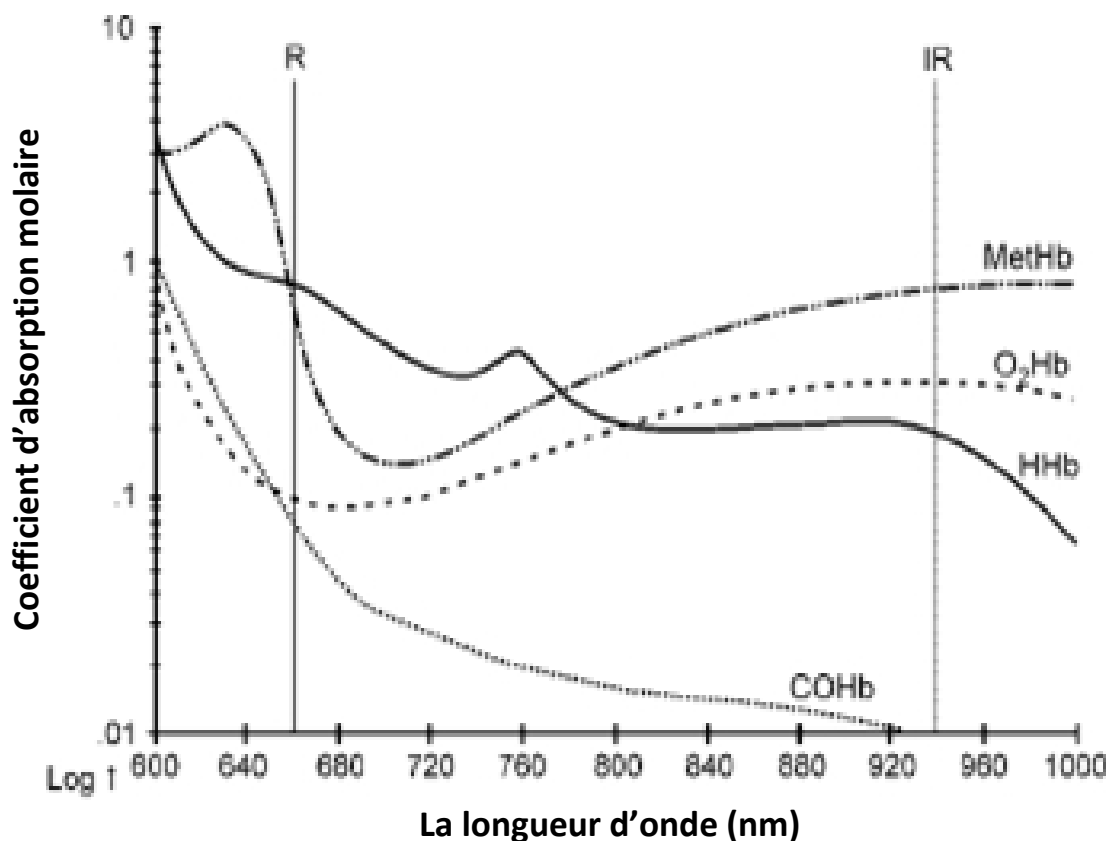


Figure 38: courbes d'absorption molaire des dérivés purifiés de l'hémoglobine.[44]

(*) La courbe montre la relation entre l'hémoglobine réduite HHb (ligne solide), l'oxyhémoglobine O₂Hb (ligne pointillée), la COHb (ligne pointillée) et la MetHb (ligne pointillée) à l'absorption de lumière. Les lignes verticales indiquent les longueurs d'onde de surveillance utilisées dans la plupart des oxymètres de pouls pour la lumière rouge (R) et l'infrarouge (IR) à 660- 940 nm.[44]

3.2.1. L'oxymétrie de pouls

Les oxymètres de pouls sont conçus pour mesurer la saturation en oxygène artériel (SaO₂) en mesurant un rapport de transmission de la lumière pulsatile à travers un lit vasculaire cutané (p. ex., les doigts ou le lobe d'oreille) à deux longueurs d'onde (généralement 660 et 940 nm). L'O₂Hb et l'HHb absorbent la lumière à 660 et 940 nm : il s'agit du rapport de l'absorbance aux deux longueurs d'onde pendant les phases statique et pulsatile à partir de laquelle un

oxymètre de pouls détermine la SaO_2 . Le rapport entre le signal rouge (660 nm) et l'infrarouge (940 nm) correspond à une saturation en oxygène à partir d'une courbe d'étalonnage programmée dans l'appareil. Les machines sont étalonnées à partir de données empiriques d'oxymétrie de pouls obtenues auprès d'individus sains après induction d'hypoxémie avec mesure par CO-oxymétrie simultanée de la saturation en oxygène artérielle. Par exemple, un rapport d'absorbance (A_{660}/A_{940}) de 0,43 correspond à une saturation en oxygène à 100 % et un rapport de 3,4 correspond à une saturation en oxygène à 0 % sur la plupart des oxymètres à pouls. En absence d'une hémoglobine anormale, un rapport d'absorbance de 1 correspond à une saturation en oxygène de 85%. [44]

La valeur de SO_2 mesurée par un oxymètre de pouls peut être cliniquement trompeuse en présence d'hémoglobines anormales comme la COHb et la MetHb. Une étude menée auprès de chiens atteints d'une méthémoglobinémie induite par la benzocaïne a examiné l'effet de l'augmentation de MetHb sur les valeurs d'oxymétrie de pouls. La comparaison de SaO_2 mesurée par l'oxymétrie de pouls et de FO_2Hb par la CO-oxymétrie en présence d'une augmentation de MetHb est présentée à la figure 40, et qui montre une nette différence entre la SaO_2 et la FO_2Hb au fur et à mesure que la fraction de méthémoglobine augmente. Comme prévu, la FO_2Hb signalé par la CO-oxymétrie diminue linéairement avec l'augmentation du MetHb. Lorsque la concentration de MetHb augmente au-dessus de 35%, le SaO_2 atteint un plateau de 84 - 86% de saturation. À ce stade, la lecture de l'oxymétrie pulsée est pratiquement indépendante de la concentration de la MetHb.[44]

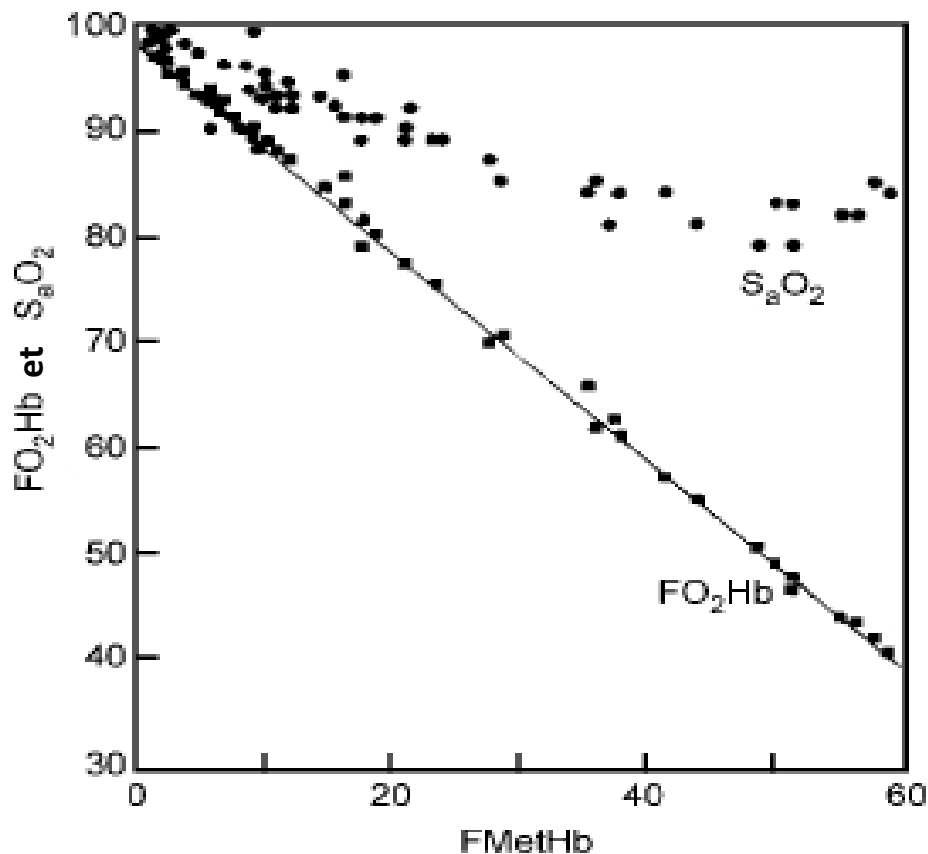


Figure 39: SaO2 et FO2Hb par rapport à la MetHb fractionnelle (FMetHb) à une fraction d'oxygène inspirée (FiO2)=1.0[44]

(*) La ligne correspond à l'équation $FO_2Hb = 100 - FMetHb$

3.2.2. La CO-oxymétrie

Les premiers CO-oxymètres réalisés ont été des spectrophotomètres simplifiés qui mesuraient l'absorbance de la lumière à quatre longueurs d'onde voir plus. Chaque longueur d'onde utilisée par le CO-oxymètre a été choisie pour répondre aux caractéristiques d'absorption spécifiques de chaque dérivé de l'hémoglobine. Au milieu des années 1980, les CO-oxymètres pouvaient mesurer les fractions de : HHb, O₂Hb, COHb, MetHb et SHb à l'aide de six longueurs d'onde. Les modèles actuels mesurent l'absorbance à 128 longueurs d'onde et sont appelés spectrophotomètres à ondes continues. La réduction ou l'élimination des substances interférentes est possible par le CO-oxymètre grâce à ses longueurs d'onde additionnelles

permettant ainsi d'améliorer la précision du spectre. La CO-oxymétrie permet également la détection d'autres dérivés.[44]

Une absorbance maximale de la lumière à 630 nm est utilisée pour caractériser la méthémoglobine. Sur la base d'un algorithme, les CO-oxymètres peuvent déceler les différentes fractions d'hémoglobines (O_2Hb , $MetHb$, $COHb$ et SHb) et/ou la SO_2 . L'hypothèse selon laquelle la FO_2Hb est équivalente à la SaO_2 ne tient pas en compte en cas d'augmentation des fractions : $COHb$ ou $MetHb$; par conséquent, il convient d'utiliser la CO-oxymétrie pour évaluer l'état de transport de l'oxygène par l'intermédiaire de FO_2Hb et des fractions d'hémoglobines anormales jusqu'à ce que la présence de ces hémoglobines soit exclue. De plus, il convient de souligner que ni la SaO_2 ni la FO_2Hb reflètent l'oxygène total lié à l'hémoglobine, car cela dépend de la PO_2 et de la concentration totale de l'hémoglobine.[44]

Tableau 7 : les caractéristiques de la CO-oxymétrie[25]

Caractéristiques

Paramètres mesurés/ Fourchettes de détection	tHb	5 - 20 g/dL
	HbO ₂	0 - 100%
	HbCO	0 - 100%
	MetHb	0 - 100%
	HHb	0 - 100%
Paramètres calculés	sO ₂	
	CtO ₂	
	CapO ₂	
	HbO ₂ en fonction de Hb foetale	
	HbCO en fonction de Hb foetale	
Correction en fonction de:		
HbF	oui	
Turbidimétrie	oui	
Détection de:		
Sulfhémoglobine	oui (indication si > 1,5)	
Volume spécimen	65 µl (seringue ou capillaire)	
Temps de mesure	58 secondes	
Cycle total	60 secondes	
Longueur d'onde	6	
Calibrage tHb	Tous les 30 jours	
Imprimante intégrée	oui	
Contrôle de qualité interne	oui	

3.3. Les méthodes non spectrophotométriques d'analyse

Les analyseurs de gaz sanguin sont composés d'une série d'électrodes qui fournissent des informations sur l'état acide/base (pH), la fonction respiratoire (P_{CO_2}) et l'oxygénation (P_{O_2}). Des électrodes à haute impédance mesurent les changements de tension pour déterminer le pH et la P_{CO_2} , tandis que la P_{O_2} est mesurée en tant que changement de courant à une électrode de Clark. La P_{O_2} désigne le gaz dissous dans le sang. La concentration d'oxygène dissous (cdO_2) est liée de façon linéaire à la pression partielle de l'oxygène dans le sang, selon la loi de Henry, où α_{O_2} , la constante de solubilité de l' O_2 , est $0.03 \text{ ml } O_2 \cdot L^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1}$. [44]

$$cdO_2 = \alpha_{O_2} \cdot P_{O_2}$$

La relation entre la SO_2 calculé et la P_{O_2} peut ne pas toujours être linéaire. La SO_2 est calculé à partir des valeurs du pH, de P_{O_2} et de la courbe standard de la dissociation de l'oxygène. Malheureusement, cette méthode de calcul du SO_2 suppose une courbe de dissociation de l'oxygène (CDO) normale. Chez les patients hospitalisés, l'hypothèse selon laquelle la CDO est normale est souvent erronée parce qu'elle repose sur un pH et une température normaux et l'absence d'une hémoglobinopathie héréditaire ou acquise. Salyer et al, a testé cette méthode chez 30 patients admis dans une unité de soins intensifs pédiatriques. [44] Le sang artériel a été analysé par un instrument à gaz sanguin et un CO-oxymètre. La comparaison du SO_2 , mesurée par CO-oxymétrie et calculée à partir d'un instrument à gaz sanguin, a révélé une corrélation élevée et une différence plus faible pour la SO_2 95% et une faible corrélation pour la SO_2 95%. Ce travail confirme que la SO_2 calculée n'est pas une mesure exacte de l'état d' O_2 chez les patients hospitalisés, en particulier à 95 % de SO_2 . Bien que la moyenne du SO_2 ne fût pas différente entre les deux méthodes, une variation pouvant atteindre jusqu'à 6% du SO_2 mesurée a été signalée dans les valeurs individuelles. Ce dernier point est frappant puisque les auteurs affirment qu'une différence de 2% serait cliniquement importante. [44]

Tableau 8 : les méthodes analytiques utilisées pour mesurer la saturation de l'oxygène.[44]

Le dispositif	L'échantillon	Les mesures	Les données rapportées	Les avantages	Les inconvénients	Les notes
Gazométrie artérielle	Sanguin	Pression partielle de l'oxygène dissous dans le sang total à une électrode	PO2 SO2 (O2Sat)	Permet également la mesure du pH et la PcO2	Invasive, la SO2 calculée peut être inexacte chez les patients hospitalisés ou en cas de présence de dysHb	Si la GDS et l'oxymètre de pouls sont incohérents une Hb anormale peut être présente
Oxymétrie de pouls	Transcutanée	Absorbance à deux longueurs d'onde (660 et 940 nm) dans le sang pulsatile	SO2	Surveillance non invasive et continue au lit des patients	Inexact en présence de substance interférente MetHb COHb SHb	Quand la MetHb dépasse 25% l'oxymètre de pouls montre une SaO2 entre 75-85%
CO-oxymétrie	Sanguin	Absorbance des dérivés Hb par de multiples longueurs d'onde lumineuses	SO2, FO2Hb, FHHb, FMetHb, FCOHb, FSHb, ctHb	Permet de mesurer la concentration de différentes variantes de l'Hb	Invasive, réalisé en laboratoire et certains appareils ne détectent pas la différence entre la SHb et la MetHb	la méthode la plus précise ; même en cas de COHb ou MetHb Peut être inexact dans les cas de HbM

4. Le diagnostic de la méthémoglobinémie proprement-dit

Lorsqu'un patient présente une cyanose évidente, une gazométrie sanguine artérielle et une lecture de l'oxymètre de pouls sont habituellement effectuées. Malheureusement, les résultats de ces tests peuvent être normaux ou presque normaux chez un patient atteint d'une méthémoglobinémie importante. L'élévation paradoxale du PO_2 malgré une cyanose clinique et une saturation normale en oxygène calculée constituent une caractéristique distinctive du MetHb lors d'une analyse artérielle des gaz sanguins. À moins que le clinicien ne connaisse l'effet de la MetHb sur ces tests, les résultats peuvent retarder le diagnostic.

4.1. Test de la couleur du sang

La première orientation de diagnostique à rechercher chez un patient cyanotique est de différencier la désoxyhémoglobine (HHb) de la méthémoglobine (MetHb). Le sang contenant de fortes concentrations de MetHb semble brun chocolat par opposition au rouge foncé/violet du sang désoxygéné. Un simple test, au lit du malade, consiste à placer une ou deux gouttes de sang du patient sur du papier filtre blanc. L'aspect brun chocolat de la méthémoglobine ne change pas avec le temps ; alors que la désoxyhémoglobine (HHb) apparaît rouge foncé/violet initialement mais s'éclaire après exposition à l'air. De plus, le fait de souffler doucement de l' O_2 supplémentaire sur le papier filtre accélère la réaction avec la désoxyhémoglobine mais n'affecte pas la MetHb.[44]

4.2. La gazométrie artérielle

Les analyseurs de gaz artériels sont basés sur l'électrochimie. Les sujets atteints de méthémoglobinémie peuvent avoir des niveaux de Po_2 normaux malgré la présence de MetHb qui menace leur vie. Les bicarbonates de sérum et la saturation en oxygène de l'hémoglobine sont ensuite calculés à partir des valeurs du pH et du Pco_2 à l'aide de l'équation de Henderson Hasselbach pour le bicarbonate de sérum et par la courbe standard de saturation en oxygène-hémoglobine pour la saturation en oxygène. Malheureusement, cette conversion repose sur l'hypothèse que l'hémoglobine normale est présente. La présence d'hémoglobines anormales incapables de transporter l'oxygène, mais qui n'interfèrent pas avec la diffusion de l'oxygène pulmonaire, entraîne une saturation en oxygène faussement élevée. C'est le cas de la

méthémoglobine, la sulfhémoglobine et la carboxyhémoglobine qui augmentent faussement la saturation calculée en oxygène.[44]

4.3. Les méthodes de spectrophotométrie

➤ Les techniques automatisées :

i. L'oxymétrie de pouls :

Connue également sous la saturation pulsée de l'hémoglobine en oxygène SpO_2 est une méthode non invasive dont le principe se base sur l'émission de deux lumières (rouge et infrarouge), à une longueur d'onde respectivement de 660 et 940 nm, puis la mesure de leur absorption par le flux pulsatile. La différence de l'absorption sera différente selon si la lumière rouge et infrarouge rencontrera de l'hémoglobine réduite (HHb) non oxygénée ou de l'oxyhémoglobine (O_2Hb).[23]

La méthémoglobine absorbe la lumière presque également à 660 et 940 nm. Bien que l'absorbance de la MetHb à 660 nm soit similaire à celle de la désoxyhémoglobine (HHb), son absorbance à 940 nm est nettement plus élevée que celle de HHb ou O_2Hb . Par conséquent, la MetHb contribuera aux absorbances perçues de HHb et d' O_2Hb dans un oxymètre à pouls. Cela augmente le numérateur et le dénominateur du rapport d'absorbance de 660 nm/940 nm, approchant l'unité. Comme mentionné ci-dessus, un rapport de 1,0 correspond à une saturation de 85% sur de nombreuses courbes d'étalonnage de l'oxymètre d'impulsion.[23]

Dans une étude, Barker et ses collègues ont utilisé des animaux pour démontrer que les mesures de l'oxymétrie de pouls, en présence d'une augmentation de COHb ou de MetHb, ne sont pas représentatives de la situation clinique[44]. Ces études montrent que, bien que le SaO_2 demeure généralement dans les limites normales dans les cas d'empoisonnement au monoxyde de carbone ou de méthémoglobinémie, la capacité d' O_2 peut être fortement réduite, ce qui entraîne des conséquences fatales. Des observations similaires ont été également décrites dans des rapports concernant des cas humains. La valeur cliniquement pertinente dans ces cas n'est pas la SaO_2 , mais les fractions FO_2Hb et les fractions de la COHb ou MetHb, qui ne peuvent être mesurées que par un CO-oxymètre. [44]

Les patients atteints de méthémoglobémie présentent souvent une cyanose qui est disproportionnée par rapport à la saturation en oxygène. Cette divergence résulte des effets uniques de la MetHb sur les évaluations d'oxygénation standard. Par conséquent, la présence de MetHb réduit la valeur de saturation mesurée déterminée par l'oxymétrie de pouls. Lorsque les niveaux de MetHb augmentent au-dessus de 30%, la saturation mesurée par l'oxymétrie de pouls plafonne autour de 85%, quelle que soit la teneur réelle en oxygène.[20] La valeur de saturation déterminée par l'oxymétrie de pouls est en grande partie insensible à l'oxygénation supplémentaire. En revanche, la saturation en oxygène signalée avec la gazométrie artérielle est calculée à partir de la pression partielle de l'oxygène dissous dans le sang. Cette valeur varie en fonction de la teneur en oxygène, de la ventilation, de la perfusion et de la capacité de diffusion, mais elle est indépendante du niveau de MetHb. Par conséquent, la saturation calculée à partir du gaz sanguin diffère souvent de la saturation mesurée à partir de l'oxymétrie de pouls, produisant un "écart de saturation" : un écart de 5% est anormal. À des niveaux de MetHb élevés, l'écart de saturation peut être supérieur à 15%.[20]

Pour les raisons précédentes, surtout en cas de présence d'hémoglobines anormales, seule la CO-oxymétrie à plusieurs longueurs d'onde peut donner des mesures précises de l'état réel du transport d'oxygène parce qu'elle évalue tous les types d'hémoglobine.

ii. La CO-oxymétrie :

Il s'agit d'une méthode invasive mais la plus précise permettant la mesure directe de l'absorbance de l'hémoglobine sous toutes ses formes (oxyhémoglobine, désoxyhémoglobine, carboxyhémoglobine, méthémoglobine et sulfhémoglobine) et qui sont éventuellement présentes en concentrations significatives dans l'échantillon sanguin ; en utilisant un CO-oxymètre qui permet un balayage à différentes longueurs d'ondes ; le taux de méthémoglobine est alors rendu en pourcentage par rapport à l'hémoglobine totale.[23]

Une absorbance maximale de la lumière à 630 nm est utilisée pour caractériser la méthémoglobine MetHb.

Dans certains modèles plus récents, on peut mesurer le pH sanguin, la PO_2 et la PCO_2 , la sulfhémoglobine ou la cyanométhémoglobine. La sulfhémoglobine a un pic d'absorbance élevé à 614 nm, qui chevauche avec la longueur d'onde à 630 nm et peut être rapportée comme

méthémoglobine sur des machines plus anciennes. Dans le cas des CO-oxymètres et d'analyseurs des gaz sanguins combinés, les valeurs de saturation en oxygène reflètent la contribution de tous les 4 types d'hémoglobine et seront fiables. Toutefois, ces machines ne sont pas universellement disponibles dans les laboratoires cliniques. Par conséquent, les cliniciens doivent connaître le type de machine utilisé dans leur laboratoire clinique pour interpréter correctement le résultat. L'interprétation des résultats d'un analyseur de gaz sanguin sans CO-oxymétrie peut conduire à un mauvais diagnostic, puisque la saturation en oxygène aura été calculée et non mesurée.[23]

La CO-oxymétrie peut être trompeuse dans le cas de variantes d'hémoglobines M. La mesure de l'absorbance à 500, 600 et 630 nm et le calcul des ratios A_{630}/A_{600} et A_{500}/A_{600} peut résoudre de tels problèmes. On peut notamment utiliser ces ratios pour distinguer entre les individus atteints de méthémoglobine acquise induite par un agent oxydant ou congénitale de ceux atteints d'une des variantes de l'hémoglobine M. Pour distinguer entre les différentes variantes de l'hémoglobine M, il faut effectuer une analyse spectroscopique, une analyse de séquence d'acides aminés ou une analyse de l'ADN de la globine.[44]

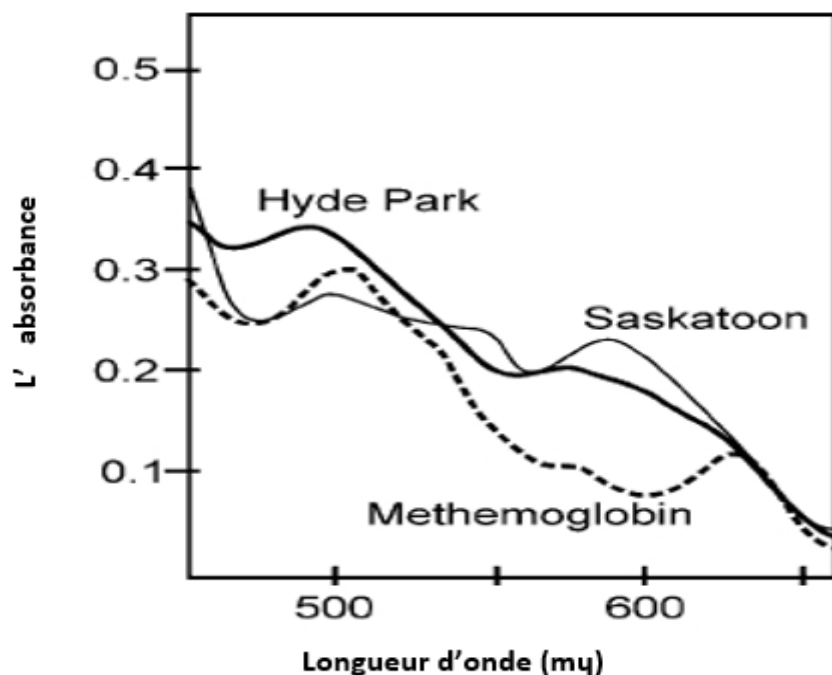


Figure 40: comparaison du spectre d'absorbance de la MetHb purifiée avec 2 variantes de l'HbM: M Saskatoon et M Hyde Park[44]

➤ Les techniques manuelles :

• **Méthode de Kaplan :**

Le principe de cette méthode se base sur le fait que la méthémoglobine et l'oxyhémoglobine ont 2 maximums d'absorption différents. On effectue donc 2 mesures :

DO 525 nm : à ce niveau les 2 types d'hémoglobines absorbent de la même façon

DO 577 nm : différence la plus grande

Le rapport : $\text{DO 577 nm} / \text{DO 525 nm}$ permet de déterminer le pourcentage de MetHb.

• **Méthode d'Evelyn-Malloy :**

Il s'agit d'une méthode souvent utilisée pour confirmer une méthémoglobinémie suspecte dont le principe repose sur le dosage de la méthémoglobinémie par mesure de l'absorption optique à 620 nm d'une dilution sanguine avant et après une transformation totale de l'hémoglobine en méthémoglobine et en cyanométhémoglobine, sachant que l'oxyhémoglobine et la cyanométhémoglobine n'absorbent que très peu la lumière à cette longueur d'onde. [20]

L'opération comporte d'une part un dosage de la méthémoglobine et d'autre part celui de l'hémoglobine totale. L'absorbance de l'hémolysat est mesurée à 630 nm avant et après addition de KCN qui permet de transformer toute la méthémoglobine présente dans un échantillon sanguin en cyanométhémoglobine. La quantité de méthémoglobine présente dans l'échantillon sanguin est proportionnelle à la différence d'absorption. Dans une autre partie de l'hémolysat de l'échantillon, une transformation totale de l'hémoglobine présente en méthémoglobine est possible par l'addition de ferricyanure de potassium. Le taux d'hémoglobine totale est estimé par mesure de l'absorbance avant et après addition de KCN. Le résultat est alors exprimé en pourcentage de méthémoglobine par rapport à l'hémoglobine totale de l'échantillon. Les valeurs normales sont inférieures à 2%.

Au moins 2 % de méthémoglobine doit être détectée par ces techniques avec une imprécision inférieure à 1 % sur le résultat dont l'interprétation doit tenir compte du traitement antidote éventuellement mis en œuvre avant le prélèvement, le conditionnement de

l'échantillon (la durée et les conditions de conservation de l'échantillon ; la méthémoglobine peut se former lors du vieillissement de l'échantillon), l'état de l'échantillon à analyser (faire attention au sang putréfié).

- Déterminer la quantité de la méthémoglobine[25] :

1. Hémolyse puis centrifugation sang : → élimination stroma cellulaire

2. Mesures absorbances à 635 nm

Hémolysat : $\text{HbO}_2 + \text{Hb} + \text{MetHb} + \text{impuretés}$
⇒ absorbance A_1

Hémolysat + NaCN : $\text{MetHb} \rightarrow \text{cyanMetHb}$ (absorbance nulle à 635 nm)

$\text{HbO}_2 + \text{Hb} + \text{impuretés}$
⇒ absorbance A_2

$A_1 - A_2 = \text{absorbance MetHb}$

- Déterminer la quantité de l'hémoglobine totale [25] :

Hémolysat + ferricyanure K : Hb totales oxydées en MetHb

MetHb + impuretés
⇒ absorbance A1'

Hémolysat + ferricyanure K + NaCN : MetHb → cyanMetHb

impuretés
⇒ absorbance A2'

$A1' - A2' = \text{absorbance MetHb après ferricyanure K}$ $= \text{absorbance Hb totales}$
--

<u>Rapport</u> : $(A1 - A2) / (A1' - A2') \times 100$ ⇒ % MetHb dans sang analysé
--

4.4. Le test au cyanure de potassium

Le test au cyanure de potassium permet de distinguer la sulfhémoglobine de la méthémoglobine qui réagit avec le cyanure pour former de la cyanométhémoglobine. La cyanométhémoglobine est de couleur rouge vif, par opposition au couleur brun chocolat de la MetHb. La sulfhémoglobine est similaire à la méthémoglobine mais reste inerte et ne lie pas le cyanure. Après l'addition de quelques gouttes de cyanure de potassium, la méthémoglobine devient de couleur rouge vif, mais la sulfhémoglobine reste de couleur brun foncé. Le réactif utilisé est connu sous le nom de réactif de Drabkin contenant du cyanure de potassium, ferricyanure de potassium et bicarbonate de sodium et peut être trouvé dans la plupart des laboratoires de chimie analytique. Des résultats quantitatifs sont disponibles en mesurant les changements d'absorbance à des longueurs d'onde sélectionnées.[44]

4.5. La mesure de l'activité du cytochrome b5 réductase

La cytochrome b5 réductase catalyse la réduction liée au NADH de plusieurs substrats, dont le ferricyanure. L'activité de cette enzyme est mesurée grâce à la spectrophotométrie par surveillance de l'oxydation du NADH (par réduction du ferricyanure) à 340 nm. Les concentrations chez les adultes en bonne santé varient de 10,1 à 19,4 U/g de l'Hb. L'activité chez les nouveau-nés (0 à 6 semaines) est habituellement de 60 % de celle chez les adultes ; pour atteindre ensuite les valeurs adultes à l'âge de 4 mois.[44]

La comparaison de l'activité dans les érythrocytes et dans un autre type cellulaire (lymphocytes, fibroblastes, lignées lymphoblastoïdes) permet de différencier le déficit type I, limité aux érythrocytes, du type II, généralisé à toutes les cellules.

4.6. L'électrophorèse

L'électrophorèse à l'acétate de cellulose est une procédure couramment utilisée dans l'évaluation des patients soupçonnés d'avoir des hémoglobines anormales. Certaines variantes de l'hémoglobine M peuvent être identifiées par leurs temps de migration relatifs dans diverses conditions.[44]

5. Le diagnostic prénatal

Les méthémoglobinémies congénitales récessives type II devraient être prévenues par un diagnostic anténatal en raison de leur gravité et leur taux de récurrence qui est de 25%. Le diagnostic prénatal est possible depuis 1981, par comparaison entre l'activité du cytochrome b5 réductase des cellules amniotiques prélevées par amniocentèse à la 16^{ème} semaine de grossesse, et celle de fibroblastes normaux. On préfère actuellement pour le diagnostic la biopsie de trophoblaste, plus précoce, dès la 1^{ère} et la 2^{ème} semaine d'aménorrhée. Ce diagnostic n'est justifié que pour la méthémoglobinémie héréditaire récessive de type II en raison de sa gravité.[31]

II. La prise en charge thérapeutique

Une fois reconnue et confirmée, la méthémoglobinémie qui met en jeu le pronostic vital doit être traitée rapidement. Cependant, certains patients peuvent ne pas avoir recours à un traitement impliquant un antidote, et s'améliorer uniquement grâce à des soins de soutien. De plus, les patients atteints de méthémoglobinémie congénitale chronique, comme les patients atteints de cardiopathie cyanotique, peuvent s'adapter à la cyanose chronique, de sorte que des niveaux très élevés de MetHb sont tolérés sans aucun symptôme manifeste. [23]

Après une exposition aiguë à un agent oxydant, le niveau d'action du traitement est considéré comme étant d'environ 20 % de MetHb chez les patients symptomatiques et de 30 % chez les patients asymptomatiques. Les patients qui présentent des symptômes ou des problèmes concomitants importants qui compromettent l'apport d'oxygène comme les cardiopathies, les maladies pulmonaires, l'intoxication au monoxyde de carbone ou l'anémie devraient être traités dès que le taux de méthémoglobinémie est compris entre 10 % et 30 %. Le traitement des patients atteints d'une cardiopathie ischémique ou ayant des antécédents de maladie vasculaire cérébrale doit être individualisé.[23] La présence de comorbidités et la gravité des symptômes doivent être toujours prises en compte avec le niveau de MetHb lors de la détermination du traitement. Par exemple, le traitement au bleu de méthylène a été efficace chez les patients atteints d'une méthémoglobinémie symptomatique de faible intensité, compliquée par la pneumonie et l'anémie. Cependant, l'effet paradoxal que le bleu de méthylène

peut causer en entraînant une méthémoglobinémie aussi élevée que 10% peut également être plus significatif chez les patients atteints de comorbidités qui entravent la livraison d'oxygène. Par conséquent, l'utilisation du bleu de méthylène doit être considérée avec soin et conseillée uniquement aux patients présentant des symptômes importants.

Comme les concentrations de MetHb sont généralement rapportées sous forme de pourcentage, la symptomatologie peut varier selon le niveau d'hémoglobine total. Ainsi, la reconnaissance précoce de la méthémoglobinémie est très importante car la sévérité des symptômes déterminera le choix thérapeutique de la méthémoglobinémie.[24] Toutefois, les patients peuvent dans certains cas avoir une présentation vague et non spécifique. Par conséquent, chaque patient devra recevoir une prise en charge initiale avec :

- Traitement symptomatique : qui se base sur l'oxygénothérapie et le maintien des fonctions vitales.

- Traitement évacuateur : qui se base sur la recherche de l'étiologie à l'origine de la méthémoglobinémie et l'élimination de l'agent inducteur. Par exemple : décontamination cutanée par lavage abondant à l'eau et au savon si projection, lavage gastrique purgatif et vomitif si ingestion et nettoyage des téguments, et une irrigation nasale si exposition aux poussières.

- Traitement spécifique : par le moyen d'antidotes. Le traitement de choix pour la méthémoglobine aigue sévère est le bleu de méthylène.

- Traitement épurateur : l'exsanguinotransfusion est recommandée si le patient ne présente aucune amélioration sous les autres moyens thérapeutiques.

1. Le traitement par le bleu de méthylène

Le bleu de méthylène constitue le traitement de choix pour la méthémoglobinémie aigue sévère acquise et congénitale.

1.1. Mécanisme d'action

Le bleu de méthylène agit comme un agent réducteur par le biais de la voie de la NADPH-méthémoglobine réductase. Le médicament est un colorant thiazine dont le composant actif est

le trihydrate de bleu de méthylène (3,7 bis (diméthylamino) de chlorure de phénazantionium trihydraté) aux propriétés oxydatives et réductrices antiseptiques dépendantes de la dose. Le bleu de méthylène, en faibles concentrations ; aux doses recommandées ; est réduit dans les globules rouges et probablement dans les tissus, au bleu de leucométhylène. La réaction implique la présence de la flavine réductase pour que le bleu de méthylène puisse agir comme un donneur d'électrons et la présence de NADPH comme accepteur des électrons. [24]

Tableau 9 : description chimique du bleu de méthylène

Le nom chimique	Bleu de méthylène
La formule moléculaire	C ₁₆ H ₁₈ ClN ₃ S
La masse moléculaire	319.85g/mol
La structure chimique	
Durée de demi-vie en cas d'administration par voie IV	5-6.5h
Durée de demi-vie dans le corps humain	10h

Le bleu de leucométhylène réagit spontanément avec des fortes concentrations de méthémoglobine dans le sang, réduisant rapidement la méthémoglobine en hémoglobine, même en présence d'oxygène. Le bleu de leucométhylène convertit également le fer ferrique à l'état ferreux, rétablit la capacité d'oxygénation de l'hémoglobine et se reconvertit de nouveau en bleu de méthylène, ce qui le rend recyclable pour le prochain cycle de réduction de la MetHb.[24] La cyanose se résout habituellement en 15 à 30 minutes et une réduction marquée de la méthémoglobinémie, habituellement de 50 %, est observée en 30 à 60 minutes. Son action rapide sur la méthémoglobine le rend essentiel pour la prise en charge de la méthémoglobinémie aigue.

La demi-vie apparente du bleu de méthylène dans le corps humain est d'environ 10 h, tandis que la biodisponibilité est d'environ 73 % pour 200 mg de bleu de méthylène administré par voie orale. De plus, la courbe « plasma-temps » montre qu'il est bien absorbé dans le tractus gastro-intestinal, avec une variation possible entre 53% et 97%[20], et atteint la concentration plasmatique maximale environ 1 à 2 h après une dose orale. Cependant, l'administration intraveineuse est préférable pour la méthémoglobinémie aiguë en raison de son action plus rapide. La demi-vie du bleu de méthylène administré par voie intraveineuse est estimée à environ 5 à 6,5 h. [24]

Dans le tissu corporel, le bleu de méthylène est rapidement converti en bleu de leucométhylène. Par conséquent, il est principalement excrété sous forme de bleu de leucométhylène dans l'urine qui finit par devenir vert ou bleu. L'excrétion peut se faire via la bile, responsable de selle de couleur bleu. Pour une dose orale, environ 75% de celle-ci est excrétée dans l'urine, principalement sous forme de bleu de leucométhylène et peu via la bile. Actuellement, Il n'est toujours pas conseillé de donner du bleu de méthylène à une femme enceinte ou allaitante vu qu'il n'y a pas assez d'essais cliniques sur ce point.[24]

1.2. Posologie

En général, un taux de méthémoglobine d'environ 25% à 30% constitue une indication pour le traitement au bleu de méthylène. Le bleu de méthylène est fourni comme solution à 1 % (10 mg/ml). Pour la méthémoglobinémie acquise, la dose est de 1 à 2 mg/kg (0,2 ml/kg de solution à 1 %) injectée par voie intraveineuse sur 5 à 10 minutes[24]. Le bleu de méthylène devrait réduire considérablement les concentrations de MetHb en moins d'une heure. Une dose de 1mg/kg peut être répétée si la méthémoglobinémie ne se résout pas dans les 30 minutes voir une heure [23]. La prise en charge de la méthémoglobinémie acquise devrait initialement cesser l'administration du médicament provoquant la méthémoglobinémie avant d'instaurer un traitement au bleu de méthylène afin d'empêcher la poursuite de la formation de MetHb et prévenir une interaction médicamenteuse soupçonnée ; par exemple avec l'aniline et la dapsons ; cela pourrait inclure le lavage gastrique, l'utilisation de cathartiques, ou même l'hémodialyse [21]. Vu que les inducteurs de la méthémoglobine proviennent de diverses sources, il est donc important de se bien renseigner sur l'exposition à des agents spécifiques.

Interroger soigneusement le patient au sujet de son eau potable surtout en milieu rural, de ses choix alimentaires, de sa consommation de drogues (en vente libre, prescrites et récréatives), de ses passe-temps et de sa profession peut révéler l'agent fautif. Étant donné que la méthémoglobine est naturellement réduite dans l'organisme, les concentrations de méthémoglobine devraient chuter de façon autonome lorsque l'agent incriminé est éliminé. Cependant, les symptômes autres que la cyanose mineure ou la présence d'un taux de MetHb supérieure à 30% nécessitent un traitement adéquat. Pour les patients symptomatiques, le traitement initial comprend également une oxygénothérapie à haut débit. En fonction de l'agent incriminé et de sa voie d'entrée, une décontamination de la peau ou du charbon actif peut être indiquée [41].

Dans le cas de méthémoglobinémie héréditaire, due à une carence en NADH cytochrome b5 réductase type I, l'état du patient est généralement bénin et ne nécessite aucun traitement spécifique. Toutefois, pour des raisons esthétiques, un traitement peut être nécessaire. Dans ce cas, l'administration de bleu de méthylène est recommandée, pour une dose de 50 à 250 mg par jour à vie, qui peut être administré par voie orale après la dose intraveineuse initiale. Cette quantité est généralement suffisante malgré une mauvaise absorption du bleu de méthylène par le tractus gastro-intestinal. [21]

En raison de la longue demi-vie des médicaments incitatifs et de la courte demi-vie du bleu de méthylène, les augmentations en rebond des niveaux de méthémoglobines peuvent se produire jusqu'à 12 heures après l'administration du bleu de méthylène. La surveillance post-thérapeutique en série des niveaux de MetHb avec le test d'Evelyn-Malloy trouve toute sa place. Cependant, la CO-oxymétrie reste inutile pour surveiller ces patients puisqu'elle ne permet pas de distinguer le MetHb du bleu de méthylène.[20]

Tableau 10 : les orientations thérapeutiques devant les différentes présentations de la méthémoglobinémie

Type de méthémoglobinémie	Indication thérapeutique
Méthémoglobinémie sévère	Prise en charge en urgence si pronostic vital mis en jeu
Méthémoglobinémie acquise aigue	Rechercher et éliminer l'agent en cause Prise en charge en urgence
Méthémoglobinémie chronique	Si asymptomatique et bien tolérée aucun traitement n'est nécessaire
Méthémoglobinémie chronique modérée	Traitement pour réduire la cyanose : Bleu de méthylène Acide ascorbique Oxygénothérapie

1.3. Les effets indésirables

Bien qu'il soit le traitement de choix de la méthémoglobinémie, le bleu de méthylène peut induire un effet paradoxal lorsqu'il est administré en fortes doses, en oxydant le fer ferreux de l'hémoglobine en fer ferrique, entraînant une augmentation de la MetHb jusqu'à 10% intensifiant ainsi la méthémoglobinémie toxique [20]. D'ailleurs, des doses cumulées de bleu de méthylène supérieures à 7 mg/kg peuvent causer des symptômes pénibles comme la dyspnée, des douleurs thoraciques, des tremblements, une cyanose et une anémie hémolytique.[21]

Les principales complications du bleu de méthylène ont été rapportées dans 2 groupes de patients :

- Les patients souffrants d'un déficit en G6PD :

Les patients souffrant d'une carence en glucose 6 phosphates déshydrogénase, la variante génétique la plus répandue dans le monde, et qui sont probablement plus susceptibles à la méthémoglobinémie acquise que le reste de la population, peuvent développer une anémie hémolytique avec formation de corps de Heinz suite à l'utilisation du bleu de méthylène. Paradoxalement, le bleu de méthylène est en fait un agent oxydant ; c'est le produit métabolique le bleu de leucométhylène qui est l'agent réducteur. De fortes doses du médicament (4 mg/kg) peuvent entraîner des concentrations proportionnellement plus élevées de l'agent oxydant, le bleu de méthylène, plutôt que de l'agent réducteur, le bleu de leucométhylène. Ainsi, le bleu de méthylène (1 à 2 mg/kg) peut induire à la fois une hémolyse et paradoxalement une méthémoglobinémie chez les patients souffrant d'une carence en G6PD.[43]

Une deuxième mise en garde concernant l'utilisation du bleu de méthylène chez les patients avec une déficience en G6PD est liée à l'inefficacité du médicament dans la réduction de la MetHb chez ces patients. La G6PD est responsable de la production de NADPH dans la voie de phosphate de pentose, qui est la seule source de NADPH dans le globule rouge [20]. Ainsi une personne déficiente en flavine réductase NADPH qui acquiert la méthémoglobinémie n'a pas de réponse au bleu de méthylène en raison de la quantité insuffisante de réductase capable de convertir le bleu de leucométhylène pour son effet thérapeutique. En plus, les médicaments destinés pour le traitement du déficit en G6PD en combinaison avec certains aliments peuvent accentuer le stress oxydatif en augmentant considérablement la présence des espèces réactives de l'oxygène ERO en raison de la capacité réduite pour produire assez de NADPH pour protéger les globules rouges. Il est donc impératif d'éliminer un déficit en G6PD avant d'instaurer un traitement au bleu de méthylène.[24]

- Les nourrissons :

Les nourrissons possèdent un système de réduction de méthémoglobine immature, et vu son pouvoir oxydatif, le bleu de méthylène doit être utilisé avec prudence. D'ailleurs, les nourrissons atteints de méthémoglobinémie résultant de la diarrhée ou de l'acidose peuvent s'améliorer uniquement avec une hydratation agressive et du bicarbonate pour corriger l'acidose. Il a été également signalé que l'administration périnatale de doses plus élevées de bleu

de méthylène (4 mg/kg) par voie amniotique provoquait une hémolyse et une méthémoglobinémie chez les nourrissons non déficients en G6PD.[23]

D'une manière générale, Le bleu de méthylène a plusieurs effets indésirables principalement dans la zone gastro-intestinale s'il est administré par voie orale. Le patient peut ressentir des nausées, des vomissements, de la diarrhée, des douleurs abdominales, une dysesthésie buccale, une salive bleue et des selles bleues. D'autres effets courants sont les maux de tête, la confusion mentale et la dyspnée. Les patients peuvent subir une transpiration excessive ou se présenter avec des urines bleues et en raison de son élimination principalement urinaire, il doit être utilisé avec prudence en cas d'insuffisance rénale [21], [24]. Au site de l'injection intraveineuse, on signale que le patient peut développer une éruption cutanée accompagnée de douleurs brûlantes, de nécrose, d'abcès, d'ulcération et de thrombophlébite. Une dose excessive de bleu de méthylène peut causer une décoloration de la peau bleue qui peut être confondue avec une cyanose ou une méthémoglobinémie. [24]

1.4. Les interactions médicamenteuses

Le bleu de méthylène a une certaine interaction médicamenteuse en particulier avec les agents sérotoninergiques ; le patient peut développer les signes et les symptômes du syndrome sérotoninergique tels que la dysfonction cognitive, l'hyperpyrexie, l'hyperreflexie, le clonus et l'incoordination. Par conséquent, l'administration d'un ou des deux médicaments devrait être arrêtée.[24]

Un autre composé, l'aniline, en particulier ses intermédiaires, peut bloquer l'entrée du bleu de méthylène dans les érythrocytes, ce qui le rend incapable de réduire le MetHb, entraînant ainsi une diminution de l'efficacité du bleu de méthylène en sa présence [24]. L'aniline avec d'autres médicaments, comme la dapsonne et la benzocaïne, sont capables de produire une méthémoglobinémie rebelle, dans laquelle les niveaux de méthémoglobine augmentent 4 à 12 heures après un traitement au bleu de méthylène réussi. Ceci peut être également le résultat d'une décontamination inadéquate [43].

La dapsonne est de plus en plus impliquée comme étant une cause fréquente de la méthémoglobinémie. En raison de la longue demi-vie du dapsonne et de ses métabolites uniques

induisant la méthémoglobine, la cimétidine peut être utilisée en association avec le bleu de méthylène pour bloquer la production des métabolites toxiques, limitant ainsi la durée de la méthémoglobinémie liée au dapson. Habituellement, 300 mg de cimétidine sont administrées par voie orale ou intraveineuse toutes les 6 à 8 heures. Il a été souligné dans la littérature que le charbon actif à doses multiples peut augmenter l'élimination du dapson et a été recommandé pour interrompre la circulation entérohépatique du dapson [41].

2. Les autres moyens thérapeutiques

La plupart des patients asymptomatiques sont traités uniquement avec de l'oxygénothérapie sans avoir recours au bleu de méthylène. De plus, si le patient ne présente aucune amélioration sous le bleu de méthylène ou s'il présente une contre-indication, d'autres traitements tels que l'exsanguinotransfusion et l'oxygénothérapie hyperbare peuvent être envisagées. C'est le cas des patients avec un déficit en G6PD, chez qui on peut avoir recours à l'acide ascorbique au lieu du bleu de méthylène inefficace voir à risque.

2.1. L'acide ascorbique

En plus de son utilisation chez les patients avec un déficit en G6PD, l'acide ascorbique est également utilisé en cas de méthémoglobinémie congénitale récessive type I pour des raisons cosmétiques ou en cas d'utilisation accidentelle de médicaments oxydants. La posologie recommandée de l'acide ascorbique dans ce cas est de 300 à 600 mg par voie orale par jour divisée en 3 ou 4 doses [43]. L'acide ascorbique reste moins actif, avec une action plus lente que le bleu de méthylène, mais son indication trouve sa place en cas de méthémoglobinémies légères. La dose recommandée est de 0,5 g en IV puis 1 g toutes les 3 heures jusqu'à disparition des symptômes.

Une autre indication de l'acide ascorbique est la méthémoglobinémie chronique avec une posologie quotidienne de 200-500 mg/j [24]. Toutefois, si le taux de méthémoglobine est très élevé (70 % ou plus) ou si le patient présente des symptômes cardiorespiratoires graves, un échange transfusionnel est envisageable. L'administration prolongée d'acide ascorbique, surtout en cas méthémoglobinémie chronique, peut également être une cause d'irritation de la vessie et peut apparemment provoquer une augmentation de l'excrétion d'oxalate, ce qui pourrait conduire à la formation de calculs vésicaux [21].

2.2. La riboflavine

En 1978, « Kaplan et Chirouze » ont rapporté l'efficacité de la riboflavine dans le traitement de la méthémoglobinémie congénitale[21]. « Hirano et al » ont montré que l'administration orale de la riboflavine à une dose de 60 à 120 mg/jour a entraîné une diminution graduelle mais significative de la méthémoglobine dans les globules rouges et une augmentation graduelle de la teneur en flavine des globules rouges[21]. En utilisant 10 à 30 mg de riboflavine par jour, ils ont maintenu le taux de méthémoglobine à environ 5 % (17,8 % avant le traitement). Aucune réaction indésirable à la riboflavine n'a été observée pendant les dix mois de traitement. Ils ont suggéré que la riboflavine pourrait être le médicament de choix dans le traitement de la méthémoglobinémie congénitale. Évidemment, la réduction de la méthémoglobine n'a aucun effet sur le retard mental chez les patients qui présentent une déficience systémique en NADH-cytochrome b5 réductase. A l'heure actuelle, aucun traitement n'est disponible pour la méthémoglobinémie due aux hémoglobines M en raison de leur anomalie moléculaire et l'inaccessibilité du fer hémique à la réduction dans des conditions physiologiques[21].

Plusieurs chercheurs ont récemment suggéré des alternatives au traitement au bleu de méthylène. Étant donné que la formation du MetHb peut être à la fois causée et inversée par divers agents, plusieurs antidotes potentiels pouvant être adaptés à des médicaments spécifiques sont disponibles. Sur ce point, il existe deux mécanismes d'action possibles : modifier le métabolisme de la toxine ou réduire directement la MetHb[23].

2.3. La cimétidine

La dapsonne est métabolisée par l'intermédiaire du CYP3A4 pour former plusieurs métabolites, dont la dapsonne hydroxylamine hautement réactive. Ce métabolite oxyde l'hémoglobine en MetHb et au cours de ce processus régénère la dapsonne, qui sera convertie de nouveau en hydroxylamine, ce qui induit ensuite d'autres MetHb d'où la nature cyclique de la méthémoglobinémie causée par la dapsonne. La cimétidine, un antagoniste des récepteurs H2, inhibe le CYP3A4 et devrait donc être considérée pour les patients atteints de méthémoglobinémie induite par la dapsonne. D'ailleurs une étude contrôlée chez des patients recevant un traitement au dapsonne à long terme pour la dermatite herpétiforme a démontré des

niveaux significativement plus faibles de MetHb chez les patients recevant la cimétidine par rapport aux patients témoins. Cependant, l'efficacité de la cimétidine dans le surdosage de la dapsone n'a pas été signalée.[23]

2.4. La N-acétylcystéine

Une autre alternative potentielle au bleu de méthylène est la N-acétylcystéine (NAC) dont une indication possible est son action antidote contre l'intoxication à l'acétaminophène. La cystéine est un composant du glutathion et contient un groupe sulfhydryle réduit, mais contrairement au glutathion, la NAC est perméable aux membranes cellulaires. Dans un contexte d'empoisonnement à l'acétaminophène, la N-acétylcystéine est censé agir à la fois comme précurseur de la synthèse du glutathion et comme donneur d'électrons, réduisant directement le métabolite réactif ou modifiant l'inflammation induite par l'oxydation [23].

Comme la synthèse du glutathion n'est pas dépendante du NADPH, il est possible que la NAC soit un antidote plus efficace et plus sûr contre la méthémoglobinémie chez les patients présentant une déficience en G6PD que le bleu de méthylène. Toutefois, ces études restent préliminaires et nécessitent d'autres recherches avant que la N-acétylcystéine puisse être recommandé comme antidote alternatif au bleu de méthylène [23].

2.5. Thérapies diverses

Pour les patients atteints de méthémoglobinémie grave chez qui le bleu de méthylène est contre-indiqué ou inefficace, une exsanguino-transfusion peut être nécessaire[43]. L'oxygène hyperbare peut être utilisé comme mesure temporisatrice, mais ne doit pas être considéré comme une thérapie définitive.

3. Recommandations pour la prévention de la méthémoglobinémie

Des antioxydants supplémentaires tels que l'acide ascorbique (vitamine C), la N-acétylcystéine et le tocophérol (vitamine E) ont été utilisés comme adjuvants ou comme substituts au bleu de méthylène. L'exsanguinotransfusion peut jouer un rôle dans la prise en charge de l'hémolyse sévère ou dans la déficience en G6PD associée à la méthémoglobinémie potentiellement mortelle où le bleu de méthylène est relativement contre-indiqué[34].

Voici quelques recommandations concernant l'utilisation de ses substances dans le contexte de méthémoglobinémie :

- L'administration concomitante, en dose recommandée pendant la durée indiquée, de l'acide ascorbique qui possède un effet antioxydant avec des médicaments oxydants qui subissent une circulation entérohépatique et qui produisent une méthémoglobinémie prolongée tels que la dapsons peut prévenir l'oxydation de l'hémoglobine[34].

- La N-acétylcystéine est un antidote qui agit à la fois comme précurseur de la synthèse du glutathion et comme donneur d'électrons, réduisant directement les métabolites toxiques ou modifiant l'inflammation induit par l'oxydation. La N-acétylcystéine peut être administrée par voie orale de façon hebdomadaire[34].

- Associer les inhibiteurs du cytochrome p-450 avec un médicament oxydant pour prévenir la formation de métabolites toxiques et éviter son administration concomitante avec les inducteurs du cytochrome p-450[34].

- Eviter l'association des substances oxydatives et des inducteurs enzymatiques dont l'association augmente le risque formation de métabolites toxiques.

- Une mesure de traitement parfois oubliée est le dextrose. La principale source de NADH dans le globule rouge est le catabolisme du sucre par la glycolyse. Pour que les enzymes endogènes réductrices soient efficaces, le glucose doit être en quantité suffisante. Le dextrose est également nécessaire pour former le NADPH via la voie des pentoses phosphate, qui est nécessaire pour que le bleu de méthylène soit efficace. Bien qu'il n'y ait pas de données précises sur le MetHb, des études montrent que des quantités de dextrose à des fins d'entretien devraient être fournies pour les patients normoglycémiques et que le traitement standard par le dextrose devrait être administré aux patients hypoglycémiques[23].

- Les sujets à risque doivent éviter les aliments riches en nitrites ou les légumes qui ont un grande teneur en nitrates surtout pour les nourrissons[34].

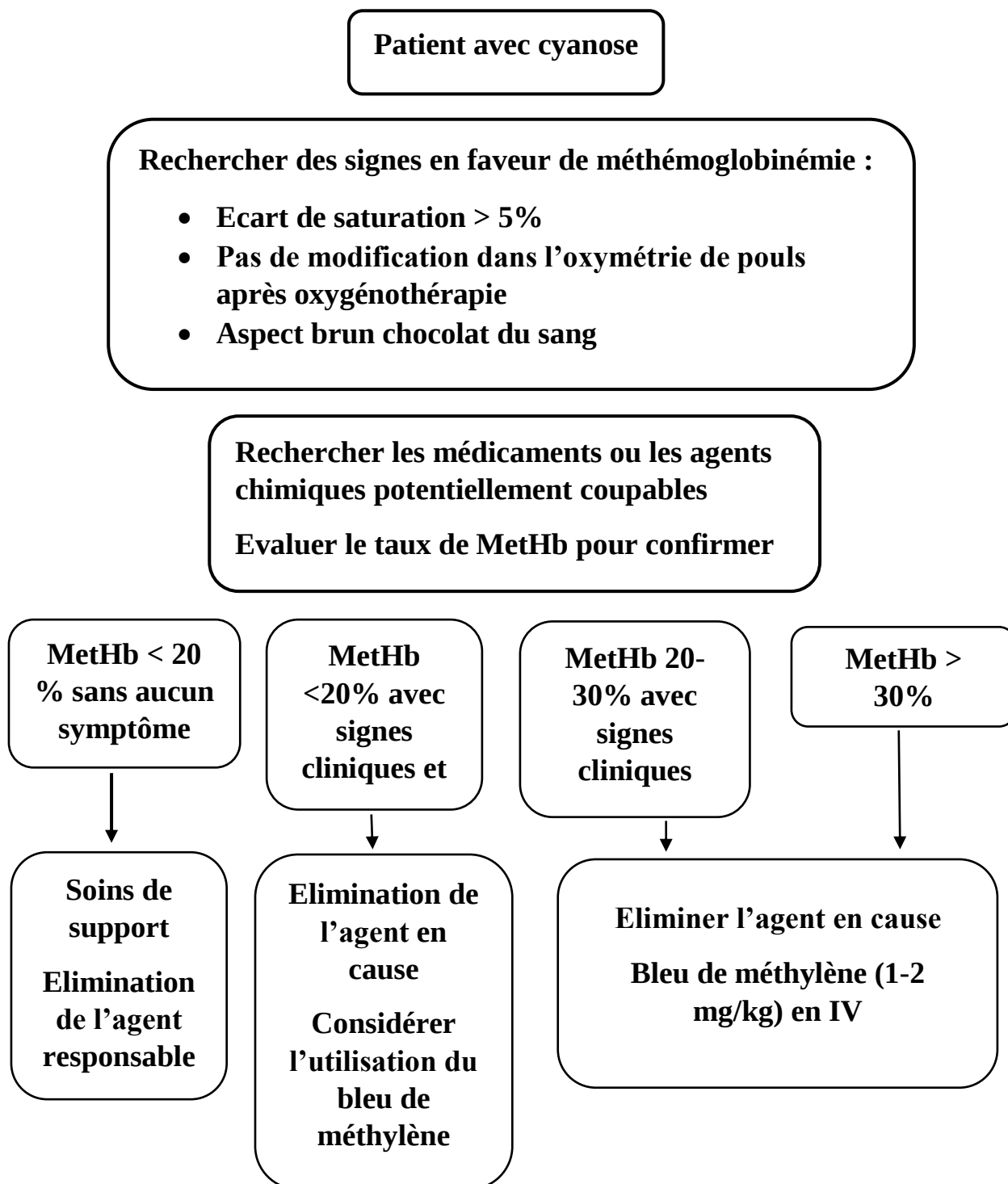
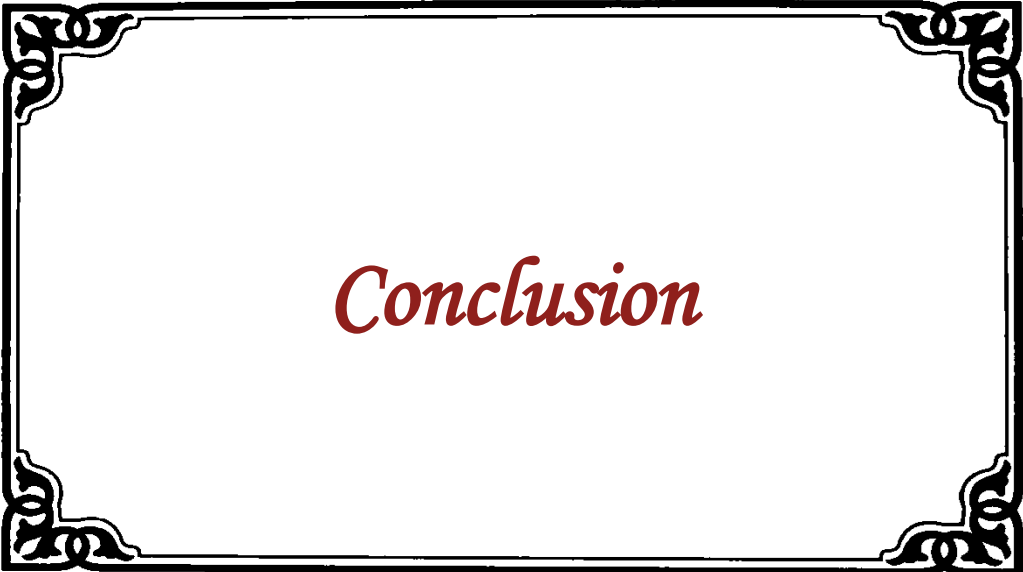


Figure 41 : les approches thérapeutiques devant une suspicion de MetHb[20]



Conclusion

Les globules rouges contiennent de l'hémoglobine qui transporte l'oxygène des poumons vers les tissus du corps. L'oxydation du fer ferreux Fe^{2+} de l'hémoglobine en fer ferrique Fe^{3+} est responsable de la formation d'une hémoglobine anormale : la méthémoglobine, entravant ainsi la capacité de l'hémoglobine à transporter l'oxygène et le dioxyde de carbone.

La méthémoglobine est normalement présente dans le corps humain en très petites quantités, asymptomatique et réduite au fur et à mesure de sa formation par divers systèmes de réduction dont le principal est celui du NADH-cytochrome b5 réductase. Toute augmentation au-delà des niveaux normaux de méthémoglobine est capable d'induire une méthémoglobinémie dont la symptomatologie reste diverse. L'intensité des signes cliniques est corrélée au niveau de MetHb dans le sang, ce dernier qui doit toujours être interprété en rapport avec le taux de l'hémoglobine dans le sang. Toute comorbidité affectant le transport d'oxygène associée même à un faible taux de MetHb est capable d'induire une symptomatologie sévère allant de l'hypoxie au coma voir le décès.

Bien que la méthémoglobinémie soit assez rare, il s'agit d'un diagnostic qui doit être évoqué devant toute cyanose ou hypoxie surtout si le patient ne présente aucun antécédent ou pathologie cardiorespiratoire. Le diagnostic peut être suspecté devant la présence de certaines caractéristiques uniques telles que la couleur chocolat-brun du sang, une mauvaise réponse à l'oxygénothérapie et la présence d'un écart de saturation.

La présence dans le sang de méthémoglobine en quantité supérieure à la normale relève de plusieurs étiologies acquises ou héréditaires. Des mutations ponctuelles sur les chaînes α ou β de la globine est responsable d'une méthémoglobinémie héréditaire à transmission autosomique dominante caractérisée par une hémoglobine anormale qui subit une oxydation quasi permanente. Les méthémoglobinémies héréditaires récessives sont dues à un déficit en NADH-cytochrome b5 réductase, et se présentent sous deux formes bien différentes selon que le déficit enzymatique est purement érythrocytaire (type I) ou généralisé dans tous les tissus (type II) ; cette dernière forme est d'une haute gravité et justifie un diagnostic prénatal. La méthémoglobinémie acquise est généralement secondaire à l'exposition à des médicaments ou des produits chimiques qui oxydent l'hémoglobine. Près de 90 composés ont été impliqués dans la production de méthémoglobinémie, les nitrates et les dérivés de l'aniline sont parmi les agents

les plus communs. Les médicaments produisent rarement une méthémoglobinémie cliniquement significative lorsqu'ils sont administrés à un adulte en bonne santé à des doses thérapeutiques, tandis que les personnes atteintes d'une carence en méthémoglobine réductase ou d'une hémoglobine anormale peuvent présenter des effets graves.

La prise en charge repose sur l'identification de la nature de la méthémoglobinémie, héréditaire ou acquise, la recherche et l'élimination des agents oxydants et un traitement par le bleu de méthylène qui devrait être envisagé dès que le taux de MetHb est élevé et de façon systématique chez tout patient présentant des symptômes importants ou des comorbidités qui compromettent l'apport d'oxygène tout en tenant en considération l'absence d'une déficience en G6PD.



Résumé

Titre : Démarche diagnostique des méthémoglobinémies

Auteur : Achraf CHERRAT

Mots clés : Méthémoglobine –cytochrome b5 réductase-méthémoglobinémie acquise-cyanose-bleu de méthylène.

La méthémoglobinémie est un désordre sanguin rare à évoquer devant une cyanose aiguë non améliorée sous oxygénothérapie surtout en présence d'un écart de saturation, caractérisé par l'augmentation de la proportion de l'hémoglobine dans sa forme oxydée : la «méthémoglobine» qui résulte de l'oxydation du fer de l'état ferreux à l'état ferrique. Dans le globule rouge, deux principaux systèmes enzymatiques permettent de réduire la méthémoglobine physiologiquement produite gardant un taux inférieur à 1%. Il s'agit du : NADH-cytochrome b5 réductase responsable de plus 95% de la réduction et de la méthémoglobine réductase NADPH-dépendante qui devient fonctionnelle en présence de composés oxydables. La perturbation de ces systèmes résulte d'un déficit enzymatique congénital, en NADH-cytochrome b5 réductase, transmis selon un mode autosomique récessif, de la présence d'une hémoglobine instable à transmission autosomique dominante l'Hb M ou de l'utilisation des médicaments ou des produits chimiques à pouvoir oxydant dépassant la capacité des systèmes réducteurs.

En dehors d'une comorbidité, le tableau clinique est variable mais corrélée au taux de la MetHb : la cyanose apparaît à partir d'un taux de 10% de MetHb. Ce dernier doit tenir en compte le taux initial de l'hémoglobine. La CO-oxymétrie, une méthode spectrophotométrique mesurant simultanément des absorbances à 6 longueurs d'ondes différentes, reste le meilleur moyen pour calculer la concentration de la méthémoglobine. Le traitement concerne surtout la méthémoglobinémie acquise qui fait appel au bleu de méthylène en absence d'une déficience en G6PD.

L'objectif de ce travail de thèse est d'établir des connaissances relatives aux systèmes réducteurs érythrocytaires permettant de contrôler la méthémoglobinémie, étudier les propriétés physicochimiques et spectrales de la méthémoglobine et son retentissement sur le transport de l'oxygène puis le but principal de ce travail est de rapporter les aspects cliniques et thérapeutiques de la méthémoglobinémie en soulignant les différents moyens du diagnostic et leurs limites.

Summary

Title: Diagnostic approach of methemoglobinemia

Author: Achraf CHERRAT

Keywords: Methemoglobin- Cytochrome b5 reductase- Acquired methemoglobinemia- Cyanosis- Methylen blue

Methemoglobinemia is a rare disorder of the blood evoked in front of a cyanosis that shows no improvement under additional oxygen therapy especially in the presence of a saturation gap and defined by an increase of the oxized form of the hemoglobin: «methemoglobin» which results from the oxidation of the iron from its ferrous to ferric form. In the red blood cells, two main enzymatic systems allow to reduce the physiologically produced methemoglobin thus keeping its rate less than 1%, mainly due to : NADH-cytochrome b5 reductase wich is responsible for more than 95% of the MetHb reduction and the methemoglobin reductase NADPH-dependent mostly functional in the presence of oxidable compounds. The disturbance of these systems is the result of an autosomal recessive disorder causing a congenital enzymatic deficit in NADH-cytochrome b5 reductase, an abnormal hemoglobin transmitted in a dominant mode «HbM» or secondary to the use of oxidizing drugs or chemicals thus exceeding the capacity of reducing systems.

In the absence of comorbidities, the clinical signs are correlated with MetHb levels, that should take into account the initial hemoglobin levels : thus the cyanosis appear at 10% of MetHb. CO-oxymetry, a spectrophotometric method able to mesure simultaneously absorbances at 6 different wavelengths, is considered to be the best methode to measure MetHb. The treatment is essential for acquired methemoglobinemia wich requires methylene blue in absence of G6PD deficiency.

The aim of this thesis is to establish knowledge about red cells reductive systems that are responsible for maintaining a normal level of methemoglobin in the blood, to study the physicochemical and spectral properties of methemoglobin and its impact on oxygen transport. The main goal of this work is to report the clinical and therapeutic aspects of methemoglobinemia by highlighting the different means of diagnosis and the limit of each one.

ملخص

العنوان: النهج التشخيصي للميتهيموغلوبينية

الكاتب: أشرف الشراط

الكلمات الأساسية: الميتهيموغلوبين / مختزل السيتوكروم b5 / الميتهيموغلوبينية المكتسبة / الزرقاء / أزرق الميثيلين

تعتبر الميتهيموغلوبينية اضطراباً دموياً نادراً يجب التفكير فيه أمام زرقاء لا تتحسن مع العلاج بالأكسجين خاصة في حالة وجود فارق في التشبع بالأكسجين، ينتج عن ارتفاع نسبة الهيموغلوبين المؤكسدة نتيجة أكسدة الحديد الموجود في الهيم من الحالة Fe^{2+} إلى نمط الحديد ثلاثي التكافؤ Fe^{3+} . تتوفر الكريات الحمراء على نظامين رئيسيين تتمكن من خلالها من حفظ نسبة الميتهيموغلوبين المنتج فيزيولوجياً في الجسم في نسبة مستقرة تقل عن 1% ويرجع الفضل بالأساس إلى الأنزيم NADH مختزل السيتوكروم b5 المسؤول عن أكثر من 95% من عملية الاختزال أما الأنزيم المعتمد على NADPH فيصبح أكثر فعالية في وجود مركبات قابلة للتأكسد.

إن ظهور الميتهيموغلوبينية ناتج عن اضطراب هذه الأنظمة نتيجة خلل وراثي يؤدي إلى نقص إنزيمي في NADH مختزل السيتوكروم b5 والذي ينتقل وراثياً في وضع متحدي أو بسبب وجود الهيموغلوبين M وهو نوع من الهيموغلوبين غير الفعال الناتج عن استبدال حمض أميني في جيب الهيم أو نتيجة استعمال مواد طبية أو كيميائية ذات قدرة على الأكسدة والتي تتجاوز قدرة الأنزيمات على اختزال الميتهيموغلوبين.

في غياب عوامل مرضية إضافية، فإن شدة الأعراض السريرية مرتبطة بنسبة MetHb في الدم مع مراعاة مستوى الهيموغلوبين المبدئي فالزرقاء مثلاً والتي تشكل أبرز عارض مرضي للميتهيموغلوبينية تظهر ابتداءً من معدل 10%. يعتبر مقياس التأكسج المشترك الذي يعتمد على القياس الطيفي لقياس الامتصاص عند أطوال موجية مختلفة بشكل متزامن الوسيلة الأمثل لقياس مستوى MetHb في الدم. ويشار إلى العلاج في حالة الميتهيموغلوبينية المكتسبة باللجوء إلى أزرق الميثيلين كمضاد سمي في غياب نقص أنزيم G6PD.

الهدف من هذه الأطروحة هو إنشاء قاعدة معرفية حول أنظمة الأكسدة والاختزال التي تتوفر عليها الكريات الحمراء والتي تمكنها من الحفاظ على المستوى الطبيعي للميتهيموغلوبين في الدم إضافة إلى دراسة خصائصها الفيزيائية، الكيميائية والطيفية وتأثيرها على أهم وظيفة للهيموغلوبين المتمثلة في نقل الأكسجين في الدم.

أما الهدف الرئيسي من هذا العمل هو التعريف بالجوانب السريرية والعلاجية للميتهيموغلوبينية مع تحديد مختلف وسائل التشخيص وحدود كل واحدة منها

*Les références
bibliographiques*

- [1]. Perutz MF, Rossmann MG, Cullis AF, Muirhead H, Will G, North ACT, « Structure of Hemoglobin: A Three-Dimensional Fourier Synthesis at 5.5. Resolution, Obtained by X-Ray Analysis. Nature », févr. 13, 1960.
- [2]. Marengo-Rowe AJ, « Structure-function relations of human hemoglobins », *Proc Bayl Univ Med Cent.*, juill. 2006.
- [3]. Terkia Medkour, « Modélisation Mathématique et Simulation Numérique de la Polymérisation de l'Hémoglobine Drépanocytaire », université Paris XII, 2008.
- [4]. M. CISSE Hamidou, « Evaluation de la mesure du taux d'hémoglobine par l'HemoCue® Hb 301 par rapport à l'automate d'hématologie ABX Micros ES60 au sein d'une cohorte à Kalifabougou. », UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO FACULTE DE PHARMACIE, bamako, 2018.
- [5]. Sadlon TJ, Dell'Oso T, Surinya KH, May BK., « Regulation of erythroid 5-aminolevulinate synthase expression during erythropoiesis. », oct. 31, 1999.
- [6]. Shemin, D., and Rittenberg, D., « The Utilization of Glycine for the Synthesis of a Porphyrin. », *J. Biol. Chem.*
- [7]. sarah RIO, « Etude des métabolismes du fer et de l'hème au cours de l'érythropoïèse normale et pathologique (anémie de Blackfan-Diamond) », université Pris Descartes, paris, 2016.
- [8]. B Vanderperren, Leila Tricot, et D Chauveau, « MANIFESTATIONS RÉNALES DES MALADIES HÉRÉDITAIRES DU MÉTABOLISME CHEZ L'ADULTE ».

- [9]. Beaumont C., « Mécanismes moléculaires de l'homéostasie du fer. », s.n. *Med Sci*. 2004. Vol. 20, pp. 68-72, paris.
- [10]. Grosveld F, van Assendelft GB, Greaves DR, Kollias G., « Position-independent, highlevel expression of the human β -globin gene in transgenic mice. », déc. 24, 1987.
- [11]. Wajcman H., « Hémoglobines : structure et fonction », *EMC- Hématologie*.
- [12]. Baudin B, « Les hémoglobines normales et pathologiques. », *Revue Francophone des Laboratoires* 2016, 2016.
- [13]. Claire FASQUEL, « Variants Instables et Hyperaffins de l'hémoglobine : étude rétrospective ; méthodes diagnostiques et impact clinique », Faculté de Pharmacie de Lille, 2018.
- [14]. Labie D, Elion J, « Bases moléculaires et physiopathologiques des maladies de l'hémoglobine », *EMC - Hématologie*, déc. 2005.
- [15]. Leblanc B., « Cours BCM-514. Biochimie des protéines », : <http://pages.usherbrooke.ca/bcm-514-bl/2d.html> .
- [16]. COUQUE N, DE MONTALEMBERT M., « Diagnostic d'une hémoglobinopathie », *Feuillets de Biologie* 2013; VOL LIV N° 311 :5-17.
- [17]. Heslot H., « l'ingénierie des protéines et ses applications ». , Ed. Lavoisier Tee & Doc, 1997.
- [18]. Nelson, D.L. and Cox, M.M, « Principles of Biochemistry », 2005.

- [19]. « OXYGÉNOTHÉRAPIE EN ANESTHÉSIE OBSTÉTRICALE. », *ResearchGate*.
<https://www.researchgate.net/publication/242365391>. .
- [20]. A. Skold, D. L. Cosco, et R. Klein, « Methemoglobinemia: Pathogenesis, Diagnosis, and Management », *Southern Medical Journal*, vol. 104, n° 11, p. 757-761, nov. 2011, doi: 10.1097/SMJ.0b013e318232139f.
- [21]. ALI MANSOURI,MD, « review: methemoglobinemia », *The American Journal of Medical Sciences*, mai 1985.
- [22]. Alexis Caron, « MISE EN EVIDENCE PAR ULTRASONOGRAPHIE DOPPLER PULSE ET ANALYSE DE L'EFFET VASOCONSTRICTEUR DE TROIS SOLUTIONS D'HEMOGLOBINE HUMAINE MODIFIEE CHIMIQUEMENT », INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE NANCY, 1999.
- [23]. R. O. Wright, W. J. Lewander, et A. D. Woolf, « Methemoglobinemia: Etiology, Pharmacology, and Clinical Management », *Annals of Emergency Medicine*, vol. 34, n° 5, p. 646-656, nov. 1999, doi: 10.1016/S0196-0644(99)70167-8.
- [24]. S. R. David et N. S. Sawal, « The Blood Blues: A Review on Methemoglobinemia », *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, vol. 9, n° 1, p. 6, 2018.
- [25]. ayoub BENSAXHRIA, « méthémoglobinisants », *analytical toxicology*.
<https://www.analyticaltoxicology.com/methemoglobinisants/>.
- [26]. Y.Le Cam and al, « Méthémoglobinémie par inhalation de poppers », *Réan urg*,1997.
- [27]. ayoub BENSAXHRIA, « sulfhémoglobine et méthémoglobine », *analytical toxicology*, avr. 2015. <https://www.analyticaltoxicology.com/methemoglobinemies-et-sulfhemoglobinemies/>.

- [28]. M. J. Percy et T. R. Lappin, « Recessive congenital methaemoglobinaemia: cytochrome b₅ reductase deficiency », *Br J Haematol*, vol. 0, n° 0, p. 080305033838221-???, mars 2008, doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07017.x.
- [29]. B. Deng *et al.*, « Study of the Individual Cytochrome b₅ and Cytochrome b₅ Reductase Domains of Ncb5or Reveals a Unique Heme Pocket and a Possible Role of the CS Domain », *J. Biol. Chem.*, vol. 285, n° 39, p. 30181-30191, sept. 2010, doi: 10.1074/jbc.M110.120329.
- [30]. F. Elahian, Z. Sepehrizadeh, B. Moghimi, et S. A. Mirzaei, « Human cytochrome b₅ reductase: structure, function, and potential applications », *Critical Reviews in Biotechnology*, vol. 34, n° 2, p. 134-143, juin 2014, doi: 10.3109/07388551.2012.732031.
- [31]. P. Beauvais, « Les méthémoglobinémies héréditaires », p. 6, 3 janvier2000.
- [32]. Pr Terry LAPPIN - Dr Melanie PERCY, « méthémoglobinémies héréditaires ». nov. 2008, [En ligne]. Disponible sur: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=GB&Expert=621.
- [33]. E. Siendones, M. Ballesteros, et P. Navas, « Cellular and Molecular Mechanisms of Recessive Hereditary Methaemoglobinaemia Type II », *JCM*, vol. 7, n° 10, p. 341, oct. 2018, doi: 10.3390/jcm7100341.
- [34]. M. Q. Alanazi, « Drugs may be Induced Methemoglobinemia », *J Hematol Thrombo Dis*, vol. 06, n° 01, 2017, doi: 10.4172/2329-8790.1000270.
- [35]. J. Canning et M. Levine, « Case Files of the Medical Toxicology Fellowship at Banner Good Samaritan Medical Center in Phoenix, AZ: Methemoglobinemia Following Dapsone Exposure », *J. Med. Toxicol.*, p. 8, 2011.

- [36]. F. R. Oliveira, M. C. Pessoa, R. F. V. Albuquerque, T. R. Schalcher, et M. C. Monteiro, « Clinical Applications and Methemoglobinemia Induced by Dapsone », *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2014, doi: 10.5935/0103-5053.20140168.
- [37]. F. Testud, C. Payen, R. Roche, et D. Charrier, « Méthémoglobinémie prolongée après ingestion accidentelle de nitrobenzène », p. 5.
- [38]. Srikanth Vallurupalli, « Methemoglobinemia due to topical pharyngeal anesthesia during endoscopic procedures », *Local and Regional Anesthesia*, Southern Illinois University College of Medicine, Springfield, IL, USA, nov. 29, 2010.
- [39]. M. Barash, K. Reich, et D. Rademaker, « Lidocaine-Induced Methemoglobinemia: A Clinical Reminder », *JAOA*, févr. 2015, doi: 10.7556/jaoa.2015.020.
- [40]. D. D. Moos et J. D. Cuddeford, « Methemoglobinemia and Benzocaine », vol. 30, n° 5, p. 4.
- [41]. N. E. Camp, « Methemoglobinemia », *Journal of Emergency Nursing*, vol. 33, n° 2, p. 172-174, avr. 2007, doi: 10.1016/j.jen.2006.11.007.
- [42]. Y. S. Hamirani, W. Franklin, R. G. Grifka, et R. F. Stainback, « Methemoglobinemia in a Young Man », p. 2.
- [43]. Habib Ur Rehman, « methemoglobinemia », p. 193-196, 2001.
- [44]. S. Haymond, R. Cariappa, C. S. Eby, et M. G. Scott, « Laboratory Assessment of Oxygenation in Methemoglobinemia », *Clinical Chemistry*, vol. 51, n° 2, p. 434-444, févr. 2005, doi: 10.1373/clinchem.2004.035154.

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

- *Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.*
- *Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.*
- *Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*
- *Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.*
- *Les médecins seront mes frères.*
- *Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*
- *Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.*
- *Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*
- *Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

قسم أبقراط

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضوا في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- أنا أكرس حياتي لخدمة الإنسانية.
 - وأن أحترم أساتذتي وأعترف لهم بالجميل الذي يستحقونه.
 - وأن أمارس مهنتي بوازع من ضميري وشرفي جاعلة صحة مريض هدي في الأول.
 - وأن لا أفشي الأسرار المعهودة إلي.
 - وأن أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب.
 - وأن أعتبر سائر الأطباء إخوة لي.
 - وأن أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي.
 - وأن أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها.
 - وأن لا أستعمل معلوماتي الطبية بطريق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد.
 - بكل هذا أتعهد عن كامل اختيار ومقسما بشرفي.
- والله على ما أقول شهيد.



المملكة المغربية
جامعة محمد الخامس بالرباط
كلية الطب والصيدلة
الرباط



رقم الأطروحة: 89

سنة : 2021

النهج التشخيصي للميتهيموغلوبينية

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم : / / 2021

من طرف:

السيد أشرف الشراط

المزداد في 26 أكتوبر 1995 بطنجة

لنيل شهادة

دكتور في الطب

الكلمات الأساسية: الميتهيموغلوبين / مختزل السيتوكروم b5 / الميتهيموغلوبينية المكتسبة / الزرقاء / أزرق الميثيلين

أعضاء لجنة التحكيم:

رئيسة

مشرف

عضو

عضو

السيدة سعاد بنكيران
أستاذة في علم الدم البيولوجي
السيد عز العرب مسرار
أستاذ في علم الدم البيولوجي
السيد عبد الله الدامي
أستاذ في الكيمياء الحيوية
السيد أناس الجعيدي
أستاذ في علم الدم البيولوجي