

## LES METHEMOglobINISANTS

1. **Définition de la MetHb** : c'est une hémoglobine non fonctionnelle où le fer passe de l'état ferreux ( $Fe^{2+}$ ) à l'état ferrique ( $Fe^{3+}$ ) qui est incapable de fixer l'oxygène ( $O_2$ )

### 2. Propriétés physico-chimiques de la MetHb :

- Propriétés spectrales : elle absorbe dans le visible ce qui permet son dosage.
- Elle est attaquée par les acides et bases fortes (dégradée en acides amines)
- La MetHb se combine avec :
  - CN<sup>-</sup> : Cyanméthémoglobine
  - H<sub>2</sub>S : Sulfméthémoglobine
  - F<sup>-</sup> : Fluorométhémoglobine
  - NO<sub>2</sub> : Nitrosométhémoglobine

3. **Formation physiologique de la MetHb**: elle se forme de manière permanente à l'intérieur des GR. Cette oxydation est due au métabolisme normal (physiologique) et le taux de la MetHb reste normalement **inférieur à 2%** car elle est rapidement réduite par la méthémoglobine réductase I.

**Taux normaux (physiologiques)** : Adulte **0,5-0,8%** NN **1,5%** Prématuré **2%**

### 4. Agents méthémoglobinisants :

#### Classification :

#### *\*Selon la nature chimique*

#### 1. Composés minéraux (action directe): nitrites ( $NO_2^-$ ), chlorates, $KMnO_4$

	Nitrite	Chlorates	$KMnO_4$
<b>Origine</b>	<b>Origine endogène</b> : synthétisé par l'organisme à partir de l'acide aminé « arginine » <b>Origine exogène</b> : eau de boissons, denrées animales, végétaux, engrais. NB: les nitrites résultent de la réduction des nitrates par les bactéries.	( $NaClO_3$ ) : Herbicide $KClO_3$ : dans les solutions buvables, colorants, explosifs, têtes d'allumette.	Antiseptique dermatologique
<b>Doses toxiques</b>	Concentration maximale admise dans l'eau potable) = <b>45 mg/l</b>	L'ingestion de moins de 20 allumettes (sommets colorés) n'est pas dangereuse pour un enfant. La <b>dose létale</b> du ( $NaClO_3$ )= 15 g, ( $KClO_3$ )=7 g	/
<b>Toxicité</b>	<b>MÉTÉMoglobinémie</b> <b>Dangereuse pour les jeunes enfants.</b>	<b>Causticité digestive</b> : NVD et douleurs épigastriques <b>MÉTÉMoglobinémie</b> intense avec hémolyse et <b>tubulopathie anurique</b>	<b>Causticité digestive</b> @N,V et douleurs buccopharyngées. <b>MÉTÉMoglobinémie</b> <i>Intense avec hémolyse.</i>

2. **Composés organiques (action indirecte)**: Dérivés nitrés et aminés aromatiques, bleu de méthylène (BM ; qui est MetHbsant et aussi l'antidote de metHb), antilepreux (dapsone), Primaquine, Benzocaine, Popper's.

**\*Selon le mode d'action**

**-Méthémoglobinisants directs** : potentiel redox élevé, agissent directement sur l'Hb avec formation de superoxyde et de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Exemple : *couple ferricyanure-ferrocyanure, hydrazines, nitrites, chlorates.*

**Méthémoglobinisants indirects** : transformés métaboliquement en un agent qui lui est directement actif sur l'Hb : exemple nitrobenzène (pas MethHbsant) transformé en métabolites (MethHbsants).

**5. Mécanisme d'action des méthémoglobinisants :**

**Fe<sup>2+</sup> établit 6 liaisons de coordination :**

- 4 avec N tétrapyrrole
- 1 avec histidine de globine
- 1 avec l'O<sub>2</sub>

**Fe<sup>3+</sup> établit 6 liaisons de coordination :**

- 4 avec N tétrapyrrole
- 1 avec histidine de globine
- 1 avec H<sub>2</sub>O ⇒ donc la liaison avec l'O<sub>2</sub> devient impossible

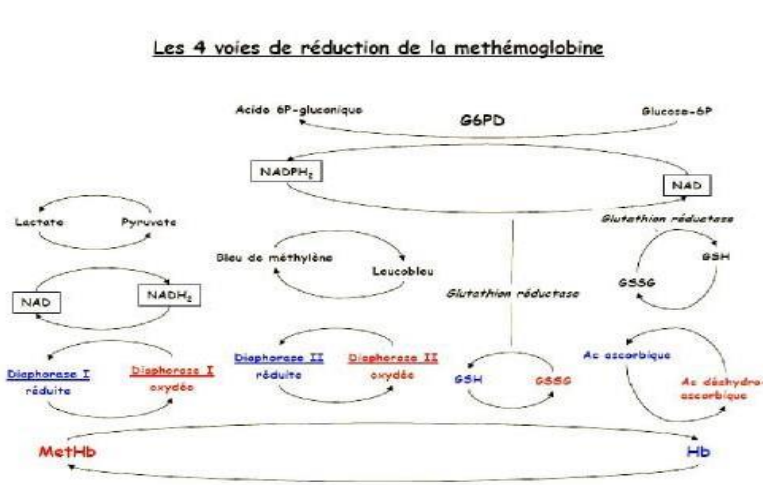
**Conséquences de l'oxydation :**

- Oxydation de l'Hb ⇒ formation de MetHb
- Peroxydation lipidique par les ERO ⇒ lyse membranaire
- Dénaturation et précipitation de l'Hb : ⇒ formation de Corps de Heinz, liaison covalente avec les molécules de la membrane, lyse cellulaire et **HYPOXIE.**

**Conséquences de la présence de méthémoglobine dans le sang :**

- La MetHb est un pigment : coloration brun chocolat du sang
- Lorsque la MetHb est libre dans le plasma à la suite d'une hémolyse, elle perd facilement son hème (oxydée) qui se fixe sur l'albumine pour donner la méthémalbumine, cette dernière donne une coloration brunâtre au plasma.

**6. Mécanismes de réduction de la MetHb :**



**Couleur bleu : forme réduite, couleur rouge : forme oxydée.**

<b>Voie de détoxification</b>		VOIE NADH-dépendante	VOIE NADPH-dépendante	Voie du GLUTATHION	Voie de l'acide ascorbique
<b>Voie métabolique d'intervention</b>		glycolyse anaérobie (voie d'Embden Meyerhof)	glycolyse aérobie (voie Dickens-Horecker ou voie des pentoses)	Voie des pentoses	Voie des pentoses
<b>Importance</b>		<b>PRINCIAPLE</b> Réduit 2/3 metHb	<b>ACCESOIRE</b> Rendement faible	<b>SECONDAIRE</b> réduction de 10 à 15 % de MethHb	<b>SECONDAIRE</b> insuffisante, fonctionne si MethHb <15%
<b>Système de réduction</b>	<b>Fonctionnalités</b>	Ne nécessite pas de transporteur d'e-	Nécessite un transporteur d'e- (BM)	\	GSH réagit avec la vitC qui à réduit metHb.
	<b>Enzyme</b>	Diaphorase I	Diaphorase II	Gluthation reductase	Gluthation reductase
	<b>Cofacteur</b>	NADH, H+	NADPH, H+	NADPH, H+	NADPH, H+
<b>Facteurs influençant</b>		Réduit 10 à 50% de metHb en dehors de toute intox	inutile en cas de déficit héréditaire du G6PD ou de NADPH, H+ déshydrogénase.	inutile en cas de déficit héréditaire en G6PD ou en NADPH, H+ déshydrogénase Nécessite la présence de GSH	

## 7. Facteurs influençant la formation de la MetHb

- ☉ **Alcool** : stimule l'oxydation de l'Hb, la voie NADH,H+ est détournée. Il peut libérer certains MetHbsants de leurs sites de stockage graisseux (par dissolution des graisses), entraîne la formation de RL et ERO
- ☉ **Hb fœtale** : plus sensible a l'oxydation, activité enzymatique réduite de la diaphorase (NN et prématuré)
- ☉ **Terrains digestifs** : gastrectomie, gastrite, diarrhée, constipation : forte sensibilité aux MetHbsants
- ☉ **Déficit en G6PD** : diminution des trois voies de réduction
- ☉ **IH et IR**

## 8. Symptomatologie des intoxications :

Au fur et à mesure que le taux de la MetHb augmente, les téguments minces de la peau et des muqueuses prennent une coloration ardoisée (cyanose).

La nature et l'intensité des symptômes observés sont en relation avec le taux de MetHb **par rapport à l'HB totale** :

- **MetHb > 10% de l'Hb totale** : Cyanose, coloration grise ardoisée qui débute aux extrémités des doigts (ongles bleutés) puis envahis la face (nez, joues ...), lèvres, toutes les muqueuses.
- **MetHb > 20% de l'Hb totale** : Fatigue, céphalées, vertiges, tachycardie, polypnée, sang brun chocolat.
- **MetHb > 60% de l'Hb totale** : Atteinte SNC : lésions neurologiques, troubles de la conscience, collapsus, dépression respiratoire, arrêt cardiaque.
- **MetHb > 70% de l'Hb totale** : Mort du sujet.

## 9. Traitement

**-Symptomatique :** Maintien des fonctions vitales (Oxygénothérapie et Anticonvulsivants)

**-Evacuateur**

\* **En cas de projection :** décontamination cutanée par lavage abondant à l'eau

\* **En cas d'ingestion :** lavage gastrique, purgatif et vomitif.

\* **En cas d'exposition aux poussières :** nettoyage des téguments, irrigation nasale.

**-Epurateur :** Exsanguino-transfusion : Si hémolyse associée ou si le traitement par BM est inefficace

**-Spécifique : antidotes**

### 1. Bleu de méthylène (BM)

Mode d'action : le BM sous forme réduite est un donneur d'électrons, il entraîne la réduction MetHb par la diaphorase II

Indications : en cas de MetHb > 40%

Contre-indications : déficit en G6PD, allergie au BM

Administration : par voie IV **lente** d'une solution à 1% (5 à 25ml)

Effets II (ou effets de surdosage) : Anxiété, tremblements, dyspnée, hypertension, MethHb, Cyanose.

### 2. Acide ascorbique (vitamine C) :

Mode d'action : réduction de la MetHb

Utilisation : moins actif que le BM mais non toxique

Indications : méthémoglobinémies légères

Administration : IV (solution de 1g) à répéter

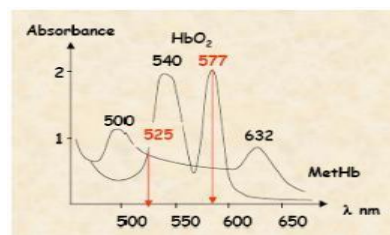
## 10. Analyse toxicologique

**Milieux :** prélèvement sanguin sous anticoagulant sauf le NaF (car la MethHb se fixe sur le Fluor)

### 1. Méthodes de spectrophotométrie dans le visible (techniques manuelles) :

- **Méthode de Kaplan :** basée sur le fait que la MetHb et l'HbO<sub>2</sub> ont 2 maximums d'absorption différents : HbO<sub>2</sub> à 540 et 577 et MetHb à 500 et 632

On mesure le rapport DO 577 nm / DO 525 nm qui donne le % de la MetHb car à la DO 525 nm l'HbO<sub>2</sub> et la MetHb absorbent de la même façon et à la DO 577 nm la différence est la plus grande



- **Méthode d'Evelyn-Malloy** : formation de cyanmethémoglobine
- **Limite de détection  $\geq 2\%$**

**1. Hémolyse avec une solution tampon puis centrifugation du sang :**  
élimination du stroma cellulaire

**2. Mesures des absorbances à 635 nm**

- Hémolysat : HbO<sub>2</sub> + Hb + MetHb + impuretés = absorbance **A<sub>1</sub>**
- Hémolysat + NaCN : MetHb  $\longrightarrow$  cyan MetHb (absorbance nulle à 635 nm)
- HbO<sub>2</sub> + Hb + impuretés  $\longrightarrow$  absorbance **A<sub>2</sub>**

$$\mathbf{A_1 - A_2 = \text{absorbance de la met Hb}}$$

- Dans un nouvel échantillon de l'hémolysat
- Hémolysat + ferricyanure K : transforme l'Hb totale en MetHb:

MetHb + impuretés  $\longrightarrow$  absorbance **A<sub>1</sub>'**

- Hémolysat + ferricyanure K + NaCN:

MetHb  $\longrightarrow$  cyanMetHb

Impuretés  $\longrightarrow$  absorbance **A<sub>2</sub>'**

**A<sub>1</sub>' - A<sub>2</sub>' = Qt de metHb après ferricyanure K**

**= Qt Hb totale contenue dans l'échantillon**

$$\mathbf{\text{Rapport : } (A_1 - A_2) / (A_1' - A_2') * 100 = \% \text{ Met Hb}}$$

La proportion de MetHb contenue ds le sang analysé

**2) Technique automatisée : CO-oxymètre :**

**Remarque :** L'interprétation du résultat doit tenir compte :

- du **traitement (antidote)** éventuellement mis en œuvre avant le prélèvement,
- du **conditionnement de l'échantillon** (certains bouchons relarguent des substances méthémoglobinisantes),
- de la **durée et des conditions de conservation de l'échantillon** (la méthémoglobine peut se former lors du vieillissement de l'échantillon),
- de **l'état de l'échantillon** à analyser (attention au sang putréfié).