

II. Différents types de photosensibilisation chez les ruminants

A. Photosensibilisation due à la synthèse aberrante de pigments

Ce premier type de photosensibilisation est lié à la formation de pigments photosensibilisants de manière endogène : les porphyrines. L'accumulation de ces pigments résulte d'un déficit enzymatique lors de la synthèse de l'hème. Ce déficit est génétique, et a été décrit chez les bovins, les porcs, les chats et chez l'homme (BRENNER et BLOOMER, 1979 ; FRENAY, 1989 ; TENNANT, 1998). Aucun cas n'a été décrit chez les petits ruminants. Chez les bovins, on distingue deux types de porphyrines : la porphyrie érythropoïétique congénitale bovine (PECB) et la protoporphyrine bovine (PPB) (Figure 6).

1. La porphyrie érythropoïétique congénitale bovine

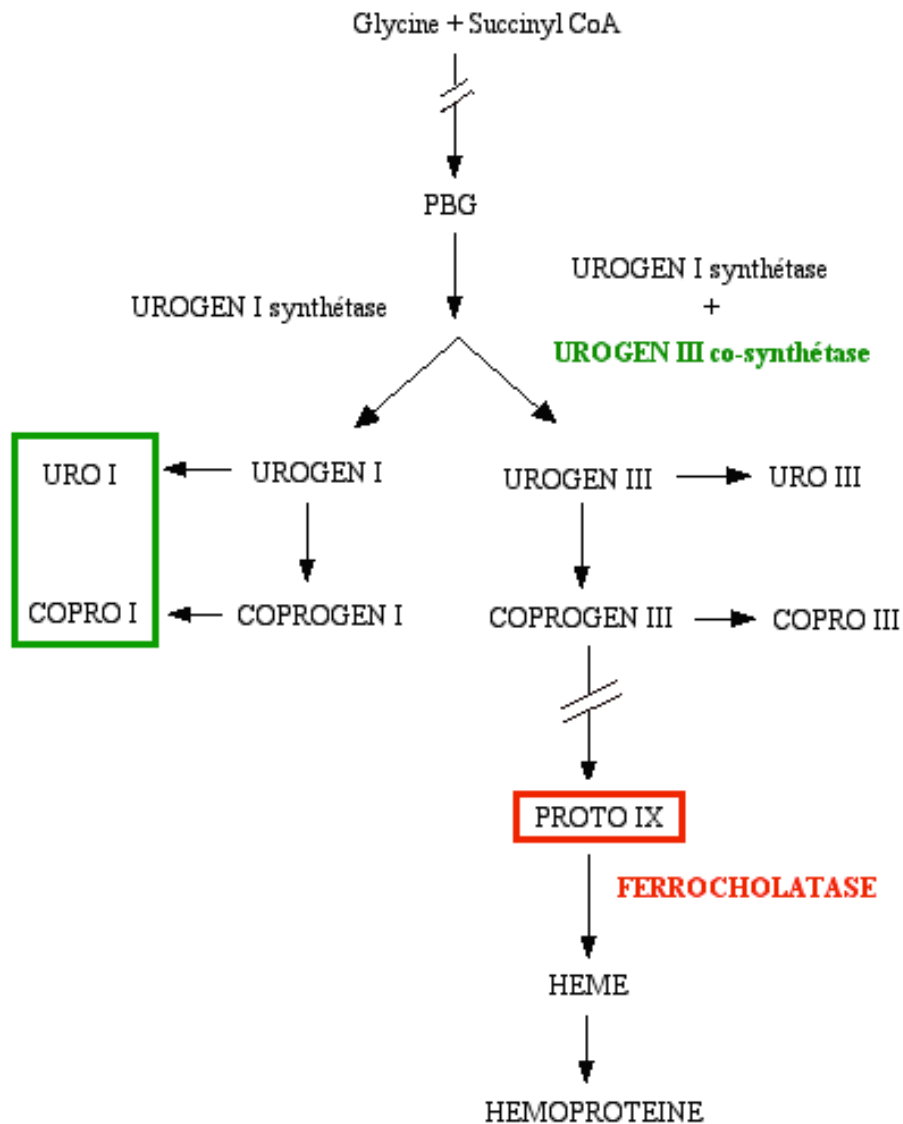
Cette porphyrie est similaire à la porphyrie érythropoïétique humaine (aussi appelée porphyrie de Gunther). Elle fut décrite au départ en Afrique du Sud puis au Royaume-Uni, au Danemark, en Allemagne, au Canada et aux USA. Les races concernées sont entre autres les races Shorthorn, Holstein, Ayrshire, Hereford et Danoise noire et blanche (SCOTT *et al.*, 1979 ; FRANCO *et al.*, 1992 ; TENNANT, 1998 ; HUXLEY *et al.*, 2011).

Plusieurs études d'héritabilité de cette affection ont mis en évidence qu'elle est liée à un unique gène Mendélien, et que la transmission se fait de manière récessive (JORGENSEN, 1961 ; WASS et HOYT, 1965 a).

Les animaux homozygotes, donc malades, souffrent d'un défaut d'activité d'une enzyme : l'uroporphyrinogène III co-synthétase (en vert sur la figure 6). Ce défaut d'activité a pour conséquence l'accumulation d'uroporphyrinogène I et de coproporphyrinogène I. Ces deux isomères de type I sont alors oxydés en porphyrines : uroporphyrine I et coproporphyrine I (encadrées en vert sur la figure 6). Ces porphyrines libres s'accumulent, elles vont passer dans la circulation générale et se disséminer dans l'organisme. Une partie va être éliminée par voie fécale (principalement la coproporphyrine I), ou par voie urinaire (principalement l'uroporphyrine I) (FRANCO *et al.*, 1992 ; TENNANT, 1998). Une autre partie va se déposer dans tous les tissus, avec une forte affinité pour les dents, les os et la peau. C'est cette accumulation de porphyrines dans les tissus qui est à l'origine des signes cliniques. En effet, les porphyrines donnent une coloration brunâtre aux dents et aux os, à l'urine lors d'excrétion massive (SCOTT *et al.*, 1979 ; FRENAY, 1989 ; FRANCO *et al.*,

1992 ; TENNANT, 1998 ; HUXLEY *et al.*, 2011). Le fort taux en porphyrine dans le sang est aussi à l'origine de l'anémie observée chez les animaux atteints. L'anémie est généralement macrocytaire et normochrome, donc assimilée à une anémie hémolytique (SCOTT, 1988 ; FRANCO *et al.*, 1992).

Figure 6 : Schéma de synthèse de l'hème et enzymes en cause lors de porphyries congénitales bovines (adapté de SCOTT, 1988)



PBG : porphobilinogène
 UROGEN : uroporphyrinogène
 URO : uroporphyrine
 COPROGEN : coproporphyrinogène
 COPRO : coproporphyrine
 PROTO : protoporphyrine

Vert : enzyme déficitaire lors de PECB et agents photosensibilisants encadrés

Rouge : enzyme déficitaire lors de PPB et agents photosensibilisants encadrés

2. La protoporphyrine bovine

La protoporphyrine bovine est une maladie congénitale qui fut rapportée pour la première fois aux Etats-Unis en 1977, et par la suite en France et en Australie. (ARMSTRONG *et al.*, 2002) La maladie n'a été décrite que pour la race Blonde d'Aquitaine et pour la race Limousine (SCHELCHER *et al.*, 1991 ; ARMSTRONG *et al.*, 2002 ; PENCE et LIGGETT, 2002).

Il semblerait que cette affection soit transmise de manière récessive ; contrairement à la protoporphyrine humaine qui se transmet selon un mode dominant, avec une pénétrance pouvant néanmoins être variable selon les individus (BRENNER et BLOOMER, 1979).

La ferrochelatase est une enzyme présente dans les mitochondries des hépatocytes, des fibroblastes, des érythroblastes et des lymphocytes. Elle participe à la réaction finale de synthèse de l'hème : l'incorporation du fer dans la protoporphyrine IX (en rouge sur la figure 6) (SCHELCHER *et al.*, 1991).

Les animaux homozygotes présentent une activité de l'enzyme ferrochelatase fortement altérée, environ 10% de l'activité d'un animal sain. L'activité de cette enzyme chez les animaux hétérozygotes est d'environ 50% (BRENNER et BLOOMER, 1979 ; SCOTT *et al.*, 1979). Ce défaut marqué d'activité entraîne une accumulation de protoporphyrine dans les érythrocytes (encadrée en rouge sur la figure 6). Une fois que les érythrocytes sont saturés, la protoporphyrine traverse la membrane et se lie à l'albumine et à l'hémopexine dans la circulation. Là, une partie de ces protéines va être prise en charge par les hépatocytes et aboutir à l'excrétion fécale des protoporphyrines. Le reste des protoporphyrines, toujours liées à leurs protéines de transport, va atteindre la peau et avoir le rôle d'agent photosensibilisant en cas d'exposition solaire (SCHELCHER *et al.*, 1991).

B. Photosensibilisation primaire

Ce type de photosensibilisation concerne les substances phototoxiques provenant soit directement du milieu extérieur, soit sous forme de leur précurseur. Elles rejoignent leur site d'action, la peau, de façon normale (c'est-à-dire hors de tout processus pathologique) et lors d'exposition à la lumière vont engendrer uniquement des lésions cutanées de photosensibilisation. L'arrivée de la substance au niveau de la peau s'effectue de deux manières :

- tout d'abord par absorption directe à travers la peau lors d'exposition directe à une substance toxique de façon topique,
- ou bien via la circulation sanguine suite à une exposition orale ou bien parentérale.

Ce type de photosensibilisation regroupe en majorité des agents d'origine végétale, liés à une ingestion. On détaillera notamment l'hypericine, la fagopyrine et les furocoumarines.

Cependant d'autres substances peuvent provenir de médicaments, notamment la phénothiazine pour laquelle des cas de photosensibilisation ont été décrits (ROWE, 1989 ; PLUMLEE, 1995). D'autres substances chimiques peuvent provoquer une photosensibilisation, mais elles n'ont été décrites que lors de conditions expérimentales (le rose Bengale par exemple (ROWE, 1989)).

Les substances causant une photosensibilisation dite primaire sont des substances qui vont directement produire les lésions lors d'exposition à la lumière. L'atteinte reste uniquement cutanée, et il n'y a notamment aucune atteinte hépatique contrairement à la photosensibilisation hépatogène.

1. Hypéricine

L'ingestion de millepertuis (*Hypericum perforatum*) est connue depuis longtemps pour engendrer une photosensibilisation d'après ARAYA et FORD (1981) : HENRY décrivait un cas dès 1913 en Europe et la substance photosensibilisante fut découverte par HORSLEY en 1934, qui réussit à reproduire une photosensibilisation en administrant par voie orale un pigment rouge extrait de la plante. Ce pigment fut ensuite décrit et nommé hypéricine en 1941 par PACE et MACKINNEY. Plus récemment, ARAYA et FORD en 1981, ont démontré que l'hypéricine causait une atteinte de type I, sans atteinte hépatique.

Photo 1 : *Hypericum perforatum* L. (Source : Southcampus)



Plusieurs espèces du genre *Hypericum* ont déjà été incriminées lors de photosensibilisation : *Hypericum crispum* présente sur le pourtour méditerranéen et *Hypericum triquetifolium* présente en Grèce et en Israël (FRENAY, 1989). Cependant, l'espèce la plus importante est *Hypericum perforatum*, le millepertuis (Photo 1). Cette plante est présente dans toute l'Europe, en Afrique du Nord, en Chine, en Amérique du Nord, en Asie, en Australie et en Nouvelle-Zélande.

H. perforatum est une plante herbacée vivace, mesurant de 30 à 80cm de haut, avec une tige dressée ramifiée. Ses feuilles sont ovales et opposées, et par transparence on note la présence de poches à huile qui contiennent la substance active. Les fleurs sont jaune vif, présentes de juin à septembre. En France, cette plante pousse le plus souvent sur des zones non cultivées ou surpâturées. Elle pousse aussi bien en groupe de plants, que de façon isolée et mélangée à d'autres plantes. Il est cependant rare de la trouver au-dessus de 1600 m d'altitude.

Les cas de toxicité ont plutôt été rapportés chez de jeunes animaux. L'apparition des symptômes a lieu entre 2 et 21 jours après l'ingestion. ARAYA et FORD, lors d'une étude en 1981, ont démontré que la toxicité de la plante été conservée lorsqu'elle est sèche. Cependant la quantité d'hypericine contenue dans la plante semble réduite de 80%.

Le pigment toxique, l'hypericine, peut être extrait des poches à huile présentes au niveau des feuilles et de la tige de la plante. C'est un pigment qui est fluorescent de couleur rouge en milieu acide et vert en milieu alcalin. Il possède une bande d'absorption comprise entre 540 et 590 nm avec des pics à 540 nm et à 590 nm.

2. Fagopyrine

Le sarrasin, *Fagopyrum esculentum*, contient une substance dérivée de l'hypericine : la fagopyrine. Celle-ci est également responsable de photosensibilisation primaire lors d'ingestion. (SCOTT, 1988 ; ROWE ,1989 ; PLUMLEE, 1995)

Photo 2 : *Fagopyrum esculentum* Moench (Source : Southcampus)



Deux espèces de sarrasins sont présentes en Amérique du Nord, *F. esculentum* et *F. tataricum*. Ce sont des plantes herbacées annuelles, avec une tige dressée et feuilles opposées, poussant de 60 cm à 80 cm de haut (Photo 2). Lorsqu'elles ne sont pas cultivées comme céréale pour la farine, elles poussent généralement sur des sols peu entretenus, le long des barrières et en bordure de champs. *F. esculentum* se caractérise par ses fleurs blanches à rosées réunies en grappe pédiculées, ses feuilles triangulaires et ses fruits bruns et trigones qui contiennent un albumen farineux (FRENAY, 1989).

La phototoxicité se manifeste après ingestion de la plante fraîche, des fleurs, des graines ou de la paille. La fagopyrine est une substance fluorescente rouge, dérivée de la naphthodianthrone. Elle présente une bande d'absorption lumineuse entre 580 nm et 600 nm, avec un maximum à 590 nm.

Chez les ruminants, les animaux les plus sensibles à la fagopyrine sont les petits ruminants. Les bovins ont besoin d'ingérer une grande quantité de sarrasin pendant plusieurs jours avant l'exposition au soleil pour présenter des symptômes (FRENAY, 1989).

3. Furocoumarines

Les furocoumarines sont issues de la fusion d'un cycle furane avec un noyau coumarine. Ce squelette général est appelé psoralène. Elles sont synthétisées par certains types de plantes, notamment la famille des Ombellifères, des Rutacées, des Légumineuses, des Moracées, des Amaryllis et des Orchidacées (CASTEEL *et al.*, 1988 ; FRENAY, 1989 ; ROWE, 1989). On en retrouve ainsi dans le céleri, certaines carottes, *Ammi majus*, *Cymopterus watsonii*... Les furocoumarines sont nombreuses, on distingue ainsi le bergaptène ou bien la xanthotoxine. Certaines sont produites spontanément par la plante, et d'autres semblent synthétisées comme mécanisme de défense, notamment contre un champignon : *Sclerotinia sclerotiorum* (FRENAY, 1989 ; ROWE, 1989 ; PLUMLEE, 1995). Elles possèdent une bande d'absorption comprise entre 330 nm et 440 nm avec un maximum autour de 340-360 nm (FRENAY, 1989).

Photo 3 : *Ammi majus* (Source : tela-botanica)



Ammi majus est une plante avec des fleurs en ombrelles, regroupés en de nombreux rayons. Les feuilles sont très découpées et divisées, de couleur vert clair et au lobe lancéolé (Photo 3). La toxicité est liée à la présence de furocoumarines (notamment le bergaptène et la xanthotoxine) dans la plante, avec une forte concentration dans les graines et les racines (DOLLAHITE *et al.*, 1978 ; FRENAY, 1989). Des cas de photosensibilisation de bovins et d'ovins liés à l'ingestion d'*A. majus* ont été rapportés en Israël et aux Etats-Unis (FRENAY, 1989). Il semblerait même que la photosensibilisation puisse avoir lieu lors d'exposition cutanée chez les ovins et chez l'Homme (DOLLAHITE *et al.*, 1978).

Cymopterus watsonii appartient aussi à la famille des Ombellifères (Photo 4) et provoque une photosensibilisation lors d'ingestion. Elle a été mise en cause aux Etats-Unis chez les ovins et quelques bovins. Elle contient les mêmes furocoumarines que celles présentes dans *A. majus* : bergaptène et xanthoxine. Ces substances sont présentes dans toute la plante et dans les graines.

Photo 4 : *Cymopterus watsonii* (Source : tela-botanica)



Heracleum mantegazzianum, Ombellifère d'origine asiatique, contient aussi des furocoumarines. Celles-ci peuvent engendrer des accidents de photosensibilisation, chez les ovins et les caprins, lors de contact cutané (ANDREWS *et al.*, 1985) (Photo 5).

Photo 5 : *Heracleum mantegazzianum* (Source : tela-botanica)

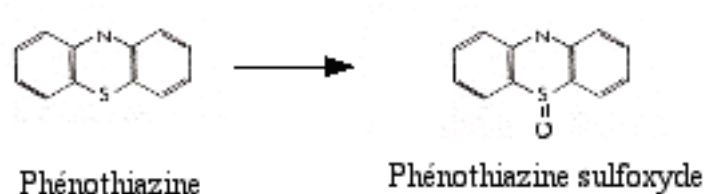


Cooperia pedunculata est une plante présente au Texas et dans une partie du Mexique. Elle présente un bulbe souterrain de 2 à 3 cm de diamètre, d'où naît au printemps une fleur blanche au bout d'un long pédoncule (13 à 23 cm). Les feuilles sont lisses et linéaires, de 15 à 30 cm de long et larges d'environ 1 cm. L'agent toxique est encore inconnu mais les symptômes sont similaires à une photosensibilisation causée par les furocoumarines (notamment la présence d'une opacité cornéenne). L'agent pourrait être produit par la plante en réponse à une atteinte microbienne (CASTEEL *et al.*, 1988 ; FRENAY, 1989).

4. Médicament

Certains médicaments ont aussi été incriminés lors d'accident de photosensibilisation. La molécule la plus connue est la phénothiazine, un anthelminthique. La substance photosensible est en fait un métabolite de la phénothiazine, issu de la fermentation ruminale : le sulfoxyde de phénothiazine (Figure 7). Des accidents sont rapportés chez tous les ruminants, cependant ils sont plus fréquents chez les bovins que chez les petits ruminants (ovins, caprins). Cette tolérance provient de la plus forte capacité du foie à transformer le sulfoxyde de phénothiazine en une substance non photosensible, la leukophénothiazone. Le sulfoxyde de phénothiazine possède un pic d'absorption autour de 360 nm (CLARE, 1974 ; ROWE, 1989 ; PLUMLEE, 1995).

Figure 7 : Structures de la phénothiazine et de son métabolite actif



D'autres médicaments ont aussi été incriminés lors d'accidents de photosensibilisation : les tétracyclines, certains sulfonamides... (FRENAY, 1989)

La photosensibilisation primaire est, comme évoqué précédemment, majoritairement liée à l'ingestion de plante contenant une substance photosensible. La plupart sont présentes sur le continent américain, mais quelques-unes peuvent être présentes en Europe (le millepertuis et le sarrasin par exemple). Une autre source de photosensibilisation primaire est l'administration de médicament. Le plus connu, la phénothiazine, n'est plus utilisé de nos jours, d'autres médicaments sont suspectés : les tétracyclines, la perméthrine ou certains sulfonamides.

Les différentes plantes et médicaments pouvant provoquer une photosensibilisation primaire sont présentées dans le tableau 2 avec la substance photosensible lorsqu'elle est connue.

Tableau 2 : Plantes et médicaments pouvant provoquer une photosensibilisation primaire et la substance photosensibilisante associée

	Nom	Substance photosensibilisante
Plante	Millepertuis <i>(Hypericum perforatum, H. crispum, H. triquetifolium)</i>	Hypéricine
	Sarrasin <i>(Fagopyrum esculentum, F. tataricum)</i>	Fagopyrine
	<i>Amni majus</i>	Furocoumarines
	<i>Cymopterus watsonii</i>	
	<i>Heracleum mantegazzianum</i>	
	<i>Cooperia pedunculata</i>	
Médicament	Phénothiazine	Sulfoxide de phénothiazine
	Tétracycline	?
	Sulfonamide	?

C. Photosensibilisation d'origine hépatique

Ce type de photosensibilisation est le type le plus important ; ainsi il est à l'origine d'environ 80% des cas de photosensibilisation chez les ruminants (ROWE, 1989). La photosensibilisation survient suite à une atteinte du système hépato-biliaire. Une substance photosensible issue de la dégradation de la chlorophylle s'accumule alors dans l'organisme, provoquant les lésions lors d'exposition à la lumière.

L'atteinte hépato-biliaire peut avoir diverses origines, le point essentiel est qu'elle entraîne une diminution de l'excrétion biliaire de la phylloérythrine.

1. La phylloérythrine : substance photosensible

La phylloérythrine est une substance issue de la dégradation de la chlorophylle lors des fermentations ruminales. Sa concentration plasmatique dépend du taux de chlorophylle dans les aliments et du degré de fermentation digestive des micro-organismes (GALITZER et OEHME, 1978 ; FRENAY, 1989). Lorsque la fonction biliaire est physiologique, la phylloérythrine absorbée par le tractus digestif est ensuite excrétée via la bile (ROWE, 1989).

Le passage vers la bile se fait par l'intermédiaire d'un transporteur appelé ABCG2. Ce transporteur est exprimé dans les hépatocytes et permet le passage de différents xénobiotiques et métabolites à travers l'espace canaliculaire vers la bile. Ainsi une atteinte primaire des hépatocytes entraîne une diminution du nombre de transporteurs ABCG2, d'où une baisse d'excrétion de phylloérythrine dans la bile et une augmentation de la concentration plasmatique. Par conséquent, une atteinte hépatique sans atteinte directe du système biliaire peut provoquer une photosensibilisation (ROBEY *et al.*, 2006).

La photosensibilisation apparaît lorsque la concentration en phylloérythrine dans le plasma dépasse un seuil. Dans des conditions physiologiques, la concentration en phylloérythrine plasmatique est inférieure à 0,05 µg/mL. Les signes cliniques de photosensibilisation apparaissent lorsque la concentration plasmatique atteint 0,3µg/mL selon SCHEIE *et al.* (2003 a). La détection de la phylloérythrine au niveau cutané n'est possible que 3 jours après la détection plasmatique (SCHEIE *et al.*, 2003 a). La phylloérythrine peut être identifiée dans le sérum par des techniques de chromatographie et de spectroscopie : elle émet un pic caractéristique à 644 nm (CAMPBELL *et al.*, 2010). Dans les études de SCHEIE *et al.* en 2003 (SCHEIE *et al.*, 2003 a et b), le spectre obtenu pour la phylloérythrine présentait un deuxième pic d'émission entre 706 et 711 nm. Selon CAMPBELL *et al.* (2010) ce deuxième pic est un artefact lié à la mauvaise solubilité et à l'agrégation de la phylloérythrine et des autres protéines sériques dans la solution de méthanol.

SCHEIE *et al.* ont étudié en 2002 le mécanisme de pénétration cellulaire ainsi que la localisation de la phylloérythrine une fois celle-ci dans la cellule. Selon leur résultat, la phylloérythrine pénètre les cellules de façon passive. En effet, la pénétration intracellulaire est toujours présente à 0°C, or un transport actif est normalement inhibé à cette température. Les résultats permettent d'autre part de localiser la phylloérythrine principalement dans l'appareil de Golgi et dans la mitochondrie.

2. Origine de l'accumulation de phylloérythrine

L'augmentation de la concentration plasmatique de phylloérythrine résulte d'une atteinte du système hépatique et/ou du système biliaire (Figure 8). Cette atteinte peut avoir de nombreuses origines : l'intoxication végétale est en général la plus fréquente. Cependant d'autres origines sont possibles, une origine fongique, une origine congénitale, une origine infectieuse ou bien une intoxication au cuivre.

Lors d'intoxication végétale, plusieurs mécanismes d'atteinte du système hépatobiliaire ont été mis en évidence. Cependant, dans le cas de certaines plantes, le mécanisme précis, ou la substance toxique, reste jusqu'à présent inconnu.

Figure 8 : Mécanismes d'absorption et d'élimination de la phylloérythrine, modalités d'accumulation lors de photosensibilisation hépatique

