



BU bibliothèque Lyon 1

<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1
FACULTE DE PHARMACIE
INSTITUT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

2018

THESE n°53

THESE

pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement le 12 juin 2018 par

M. BOUVARD Jérémy

Né le 31 juillet 1992

A Lyon 9è

**LE SYNDROME D'INTOXICATION FONGIQUE ACROMELALGIEN : NOUVELLES AVANCEES
SCIENTIFIQUES ET CREATION DE FICHES DE RECONNAISSANCES DES CHAMPIGNONS IMPLIQUES**

JURY

M. Didier BLAHA, Maitre de conférences des universités

Mme Veronica RODRIGUEZ NAVA, Maitre de conférences des universités

Mme Caroline PALIARD, Docteur en Pharmacie, expert en Mycologie

M. Alexandre PONCHON, Docteur en Pharmacie

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

- Président de l'Université M. Frédéric FLEURY
- Présidence du Conseil Académique M. Hamda BEN HADID
- Vice-Président du Conseil d'Administration M. Didier REVEL
- Vice-Président de la Commission Recherche M. Fabrice VALLEE
- Vice-Président de la Formation et de la Vie Universitaire M. Philippe CHEVALIER

Composantes de l'Université Claude Bernard Lyon 1

SANTE

- UFR de Médecine Lyon Est Directeur : M. Gilles RODE
- UFR de Médecine Lyon Sud
Charles Mérieux Directeur : Mme Carole BURILLON
- Institut des Sciences Pharmaceutiques et
Biologiques Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA
- UFR d'Odontologie Directeur : M. Denis BOURGEOIS
- Institut des Techniques de
Réadaptation Directeur : M. Yves MATILLON
- Département de formation et centre de
Recherche en Biologie Humaine Directeur : Anne-Marie SCHOTT

SCIENCES ET TECHNOLOGIES

- Faculté des Sciences et Technologies Directeur : M. Fabien DE MARCHI
- UFR de Sciences et Techniques des
Activités Physiques et Sportives (STAPS) Directeur : M. Yannick VANPOULLE
- Ecole Polytechnique Universitaire de Lyon
(ex ISTIL) Directeur : M. Pascal FOURNIER
- I.U.T. LYON 1 Directeur : M. Christophe VITON
- Institut des Sciences Financières et
d'Assurance (ISFA) Directeur : M. Nicolas LEBOISNE
- ESPE Directeur : M. Alain MOUGNIOTTE

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

ISPB -Faculté de Pharmacie Lyon

LISTE DES DEPARTEMENTS PEDAGOGIQUES

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUE ET PHARMACIE GALENIQUE

- **CHIMIE ANALYTIQUE, GENERALE, PHYSIQUE ET MINERALE**

Monsieur Raphaël TERREUX (Pr)
Madame Julie-Anne CHEMELLE (MCU)
Madame Anne DENUZIERE (MCU)
Monsieur Lars-Petter JORDHEIM (MCU-HDR)
Madame Christelle MACHON (MCU)

- **PHARMACIE GALENIQUE -COSMETOLOGIE**

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (Pr)
Madame Stéphanie BRIANCON (Pr)
Madame Françoise FALSON (Pr)
Monsieur Hatem FESSI (Pr)
Monsieur Fabrice PIROT (PU - PH)
Monsieur Eyad AL MOUAZEN (MCU)
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
Madame Ghania HAMDI-DEGOBERT (MCU-HDR)
Monsieur Plamen KIRILOV (MCU)
Madame Giovanna LOLLO (MCU)
Monsieur Damien SALMON (AHU)

- **BIOPHYSIQUE**

Madame Laurence HEINRICH (MCU)
Monsieur David KRYZA (MCU – PH - HDR)
Madame Sophie LANCELOT (MCU - PH)
Monsieur Cyril PAILLER-MATTEI (MCU-HDR)
Madame Elise LEVIGOUREUX (AHU)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE PHARMACEUTIQUE DE SANTE PUBLIQUE

- **DROIT DE LA SANTE**

Monsieur François LOCHER (PU – PH)
Madame Valérie SIRANYAN (MCU - HDR)

- **ECONOMIE DE LA SANTE**

Madame Nora FERDJAOUI MOUMJID (MCU - HDR)
Madame Carole SIANI (MCU – HDR)
Monsieur Hans-Martin SPÄTH (MCU)

- **INFORMATION ET DOCUMENTATION**

Monsieur Pascal BADOR (MCU - HDR)

- **HYGIENE, NUTRITION, HYDROLOGIE ET ENVIRONNEMENT**

Madame Joëlle GOUDABLE (PU – PH)

- **INGENIERIE APPLIQUEE A LA SANTE ET DISPOSITIFS MEDICAUX**

Monsieur Gilles AULAGNER (PU – PH)
Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)

- **QUALITOLOGIE – MANAGEMENT DE LA QUALITE**

Madame Alexandra CLAYER-MONTEMBAULT (MCU)
Monsieur Vincent GROS (MCU-PAST)
Madame Audrey JANOLY-DUMENIL (MCU-PH)
Madame Pascale PREYNAT (MCU PAST)

- **MATHEMATIQUES – STATISTIQUES**

Madame Claire BARDEL-DANJEAN (MCU-PH)
Madame Marie-Aimée DRONNE (MCU)
Madame Marie-Paule GUSTIN (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE SCIENCES DU MEDICAMENT

- **CHIMIE ORGANIQUE**

Monsieur Pascal NEBOIS (Pr)
Madame Nadia WALCHSHOFER (Pr)
Monsieur Zouhair BOUAZIZ (MCU - HDR)
Madame Christelle MARMINON (MCU)
Madame Sylvie RADIX (MCU -HDR)
Monsieur Luc ROCHEBLAVE (MCU - HDR)

- **CHIMIE THERAPEUTIQUE**

Monsieur Marc LEBORGNE (Pr)
Monsieur Thierry LOMBERGET (Pr)
Monsieur Laurent ETTOUATI (MCU - HDR)
Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)

- **BOTANIQUE ET PHARMACOGNOSIE**

Madame Marie-Geneviève DIJOUX-FRANCA (Pr)
Madame Marie-Emmanuelle HAY DE BETTIGNIES (MCU)

Madame Isabelle KERZAON (MCU)
Monsieur Serge MICHALET (MCU)

- **PHARMACIE CLINIQUE, PHARMACOCINETIQUE ET EVALUATION DU MEDICAMENT**

Madame Roselyne BOULIEU (PU – PH)
Madame Catherine RIOUFOL (PU- PH)
Madame Magali BOLON-LARGER (MCU - PH)
Madame Christelle CHAUDRAY-MOUCHOUX (MCU-PH)
Madame Céline PRUNET-SPANO (MCU)
Madame Florence RANCHON (MCU)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE PHARMACOLOGIE, PHYSIOLOGIE ET TOXICOLOGIE

- **TOXICOLOGIE**

Monsieur Jérôme GUITTON (PU – PH)
Madame Léa PAYEN (PU-PH)
Monsieur Bruno FOUILLET (MCU)
Monsieur Sylvain GOUTELLE (MCU-PH)

- **PHYSIOLOGIE**

Monsieur Christian BARRES (Pr)
Madame Kiao Ling LIU (MCU)
Monsieur Ming LO (MCU - HDR)

- **PHARMACOLOGIE**

Monsieur Michel TOD (PU – PH)
Monsieur Luc ZIMMER (PU – PH)
Monsieur Roger BESANCON (MCU)
Monsieur Laurent BOURGUIGNON (MCU-PH)
Madame Evelyne CHANUT (MCU)
Monsieur Nicola KUCZEWSKI (MCU)
Madame Dominique MARCEL CHATELAIN (MCU-HDR)

- **COMMUNICATION**

Monsieur Ronald GUILLOUX (MCU)

- **ENSEIGNANTS ASSOCIES TEMPORAIRES**

Monsieur Olivier CATALA (Pr-PAST)
Madame Corinne FEUTRIER (MCU-PAST)
Madame Mélanie THUDEROZ (MCU-PAST)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES A

- **IMMUNOLOGIE**

Monsieur Guillaume MONNERET (PU-PH)
Madame Cécile BALTER-VEYSSEYRE (MCU - HDR)
Madame Morgane GOSSEZ (AHU)
Monsieur Sébastien VIEL (AHU)

- **HEMATOLOGIE ET CYTOLOGIE**

Madame Christine VINCIGUERRA (PU - PH)
Madame Brigitte DURAND (MCU - PH)
Monsieur Yohann JOURDY (AHU)

- **MICROBIOLOGIE ET MYCOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE AUX BIOTECHNOLOGIE INDUSTRIELLES**

Monsieur Patrick BOIRON (Pr)
Monsieur Jean FRENEY (PU – PH)
Monsieur Frédéric LAURENT (PU-PH-HDR)
Madame Florence MORFIN (PU – PH)
Monsieur Didier BLAHA (MCU)
Madame Ghislaine DESCOURS (MCU-PH)
Madame Anne DOLEANS JORDHEIM (MCU-PH)
Madame Emilie FROBERT (MCU - PH)
Madame Véronica RODRIGUEZ-NAVA (MCU-HDR)

- **PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE MEDICALE**

Monsieur Philippe LAWTON (Pr)
Madame Nathalie ALLIOLI (MCU)
Madame Samira AZZOUZ-MAACHE (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES B

- **BIOCHIMIE – BIOLOGIE MOLECULAIRE - BIOTECHNOLOGIE**

Madame Pascale COHEN (Pr)
Madame Caroline MOYRET-LALLE (Pr)
Monsieur Alain PUISIEUX (PU - PH)
Madame Emilie BLOND (MCU-PH)
Monsieur Karim CHIKH (MCU - PH)
Madame Carole FERRARO-PEYRET (MCU - PH-HDR)
Monsieur Boyan GRIGOROV (MCU)
Monsieur Hubert LINCET (MCU-HDR)
Monsieur Olivier MEURETTE (MCU)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Madame Stéphanie SENTIS (MCU)

Monsieur Anthony FOURIER (AHU)

- **BIOLOGIE CELLULAIRE**

Madame Bénédicte COUPAT-GOUTALAND (MCU)

Monsieur Michel PELANDAKIS (MCU - HDR)

- **INSTITUT DE PHARMACIE INDUSTRIELLE DE LYON**

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (Pr)

Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)

Monsieur Philippe LAWTON (Pr)

Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)

Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)

Madame Alexandra MONTEMBault (MCU)

Madame Angélique MULARONI (MCU)

Madame Valérie VOIRON (MCU - PAST)

- **Assistants hospitalo-universitaires sur plusieurs départements pédagogiques**

Monsieur Alexandre JANIN

- **Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)**

Monsieur Karim MILADI (85ème section)

Monsieur Antoine ZILLER (87ème section)

Pr : Professeur

PU-PH : Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

MCU : Maître de Conférences des Universités

MCU-PH : Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier

HDR : Habilitation à Diriger des Recherches

AHU : Assistant Hospitalier Universitaire

PAST : Personnel Associé Temps Partiel

REMERCIEMENTS

A Monsieur Didier BLAHA, d'avoir accepté de diriger ma thèse, et de présider mon jury.
Merci de votre gentillesse, votre accessibilité, votre soutien et de m'avoir accompagné tout au long de ce travail.

A Madame Veronica RODRIGUEZ NAVA, d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

A Madame Caroline PALIARD, d'avoir également dirigé ma thèse, et de faire partie de mon jury.
Merci de votre soutien, vos conseils, votre expertise et de votre aide durant tout ce travail.

A Monsieur Alexandre PONCHON, d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse. Au plaisir de se retrouver autour d'une bière avec la famille VPI.

A mes parents, à mon frère. Merci de m'avoir toujours soutenu, toujours encouragé, écouté et aidé dans mes choix. D'être toujours là pour moi, de m'accompagner et d'avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Je vous remercie du fond du cœur, je vous aime, je vous dois tout.

A toute ma famille. À papy Deryck, qui me regarde de là-haut. Merci à vous tous de m'avoir toujours soutenu et encouragé. Je vous aime.

A Laure, mon étoile à l'infini.

A tous mes amis pharma, tous mes amis, pour leur soutien, tous ces moments et qui sont toujours là. Je souhaite qu'il y ait encore pleins de bons moments avec vous.

A mon burô de l'AAEPL, aux anciens de l'Amicale, à la famille VPI, pour tous ces moments de vie associative qui m'ont aidé à devenir ce que je suis. Merci à toutes les personnes qui ont rendu ces choses possibles et qui sont maintenant des amis.

A Catherine, merci pour votre aide, votre soutien, vos conseils, votre écoute durant toutes ces années et d'avoir cru en moi. Vous m'avez tout appris sur l'imprimerie. Et merci d'avoir imprimé ma thèse.

A Nadira, pour tes conseils.

Aux différentes pharmacies dans lesquelles j'ai travaillé. Aux pharmacies Kleber, Vitton, des Terreaux, Labbe-Dutilleul, Victor Hugo, Fillol, et vos équipes. Merci de m'avoir appris tout ce que je sais. Merci pour ces bons moments de rire, de détente, de travail.

A Saint François Longchamp pour cette belle expérience, toutes ces belles personnes que j'ai rencontrées. J'espère vous revoir. A Corinne, pour votre écoute, votre confiance, votre soutien. Merci pour tout.

A toutes les personnes que j'ai croisées tout au long de ma vie, qui sont dans mon cœur et qui ont fait de moi ce que je suis.

Tables des matières

REMERCIEMENTS	8
TABLES DES MATIERES	10
LISTE DES ABREVIATIONS	12
TABLE DES FIGURES.....	14
TABLE DES TABLEAUX.....	15
INTRODUCTION.....	16
PARTIE 1 : NOUVELLES AVANCEES SUR LE SYNDROME ACROMELALGIEN.....	19
1.1 RAPPELS SUR LES DIFFERENTS SYNDROMES D'INTOXICATION PAR LES MACROMYCETES	19
1.1.1 Les syndromes d'incubation longue	20
1.1.1.1 Le syndrome phalloïdien	20
1.1.1.2 Le syndrome gyromitrien	22
1.1.1.3 Le syndrome orellanien	23
1.1.1.4 Le syndrome proximien	24
1.1.1.5 La rhabdomyolyse	24
1.1.1.6 Atteinte du système nerveux central	25
1.1.2 Les syndromes d'incubation courte	26
1.1.2.1 Le syndrome muscarinique	26
1.1.2.2 Le syndrome panthérinien	26
1.1.2.3 Le syndrome coprinien	27
1.1.2.4 Le syndrome narcotinique	27
1.1.2.5 Le syndrome résinoïdien	28
1.2 LE SYNDROME ACROMELALGIEN.....	30
1.2.1 Cas d'intoxications et découverte du syndrome.....	30
1.2.2 Les circonstances de découverte	31
1.2.3 Erythrealgie : Clinique, description et définition	33
1.2.4 Les toxines de <i>Clitocybe acromelalga</i>	37
1.2.4.1 Les acides acroméliques	37
1.2.4.2 Les acides L-stizolobique et L-stizolobinique : précurseurs des acides acroméliques.....	40
1.2.4.3 Les composés : β -cyano-L-alanine et N-(γ -L-glutamyl)- β -cyano-L-alanine.....	43
1.2.4.4 Le toxique acide 4-aminopyridine-2,3-dicarboxylique	44
1.2.4.5 La clithionéine	44
1.2.4.6 La clitidine et la clitidine 5' mononucléotide.....	44
1.2.4.7 Les composés 3-(2-carboxy-4-pyrrolyl)-L-alanine et 3-(2-oxo-5-pyridyl)-L-alanine	45
1.2.4.8 Des aminoacides de type opine.....	46
1.2.5 Mécanisme d'action des toxines	47
1.2.5.1 Le système glutamate [35][36][37]	48
1.2.5.2 Les acides acroméliques : mécanismes d'action	52
1.2.5.3 Les acides acroméliques : une phase précoce et une phase tardive.....	63
1.2.5.4 Action par la voie Tryptophane- Niacine	70
1.2.6 Traitement de l'intoxication par <i>Clitocybe acromelalga</i>	71
1.2.6.1 Traitement actuel	71
1.2.6.2 Traitement potentiel : l'acide nicotinique	72
1.2.6.3 Mécanisme d'action de l'acide nicotinique : théories [49][51]	73

1.2.6.4	Traitement d'une intoxication par <i>Clitocybe acromelalga</i> par de l'acide nicotinique évalué par Imagerie par Résonance Magnétique [52]	75
1.2.7	<i>Un kanoïde synthétique comme agent anti allodynique pour la douleur neuropathique : PSPA-1.</i>	77
1.2.7.1	Etude et observations des effets de PSPA-1 sur la douleur neuropathique.....	77
1.2.7.2	Mécanisme anti allodynique de PSPA-1 [53].....	81
PARTIE 2 : DESCRIPTION DE CHAMPIGNONS		85
2.1	DESCRIPTION DES CHAMPIGNONS RESPONSABLES DU SYNDROME ACROMELALGIEN	87
2.1.1	<i>Description de Paralepistopsis acromelalga ou Clitocybe acromelalga [10].....</i>	87
2.1.2	<i>Description de Paralepistopsis amoenolens ou Clitocybe amoenolens [2][11][57].....</i>	88
2.2	DESCRIPTION DES CHAMPIGNONS A RISQUE DE CONFUSION.....	90
2.2.1	<i>Description de Lepista inversa [2][12][55][56]</i>	90
2.2.2	<i>Description de Clitocybe gibba [2][5][13][55][56].....</i>	91
2.3	METHODOLOGIE ET CREATION DES FICHES D'IDENTIFICATION DES CHAMPIGNONS POUR LE SITE INTERNET.....	92
CONCLUSIONS		102
ANNEXES		104
BIBLIOGRAPHIE		111

Liste des abréviations

ADP : Adénosine DiPhosphate

ALAT : Alanine AminoTransférase

AMPA : Acide 2-amino-3-(5-méthyl-3-hydroxy-1,2-oxazol-4-yl)propanoïque ou Acide alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique

ARN : Acide Ribonucléique

ASAT : Aspartate AminoTransférase

ATP : Adénosine TriPhosphate

CGRP : Calcitonin Gene-Related Peptide pour peptide relié au gène calcitonine

DADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

DL 50 : Dose Létale médiane : dose entraînant la mort chez 50% des animaux ou personnes

DOPA : 3,4-dihydroxyphénylalanine (L-DOPA : Lévodopa)

EAAT : Excitatory Amino Acid Transporter

fg/souris : dose de X femtogrammes/souris

GABA : Acide γ -aminobutyrique

GluR : Récepteur au glutamate

IC 95 : Intervalle de Confiance à 95%

iGluR : Récepteur ionotropique au glutamate

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

ISPB : Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

IV : Intraveineuse

KA : Récepteur au Kaïnate

mGluR : Récepteur métabotropique au glutamate

mM : millimolaire soit mmol/L

NAD : Nicotinamide Adénine Dinucleotide

NMDA : Acide N-Méthyl-D-Aspartique

NO : Oxyde nitrique ou Monoxyde d'azote

NOS ou nNOS : Oxyde Nitrique Synthase

NR : Récepteur au NMDA

pg/souris : dose de X pictogramme/souris

PGD2 : Prostaglandine D2

PKC : Protéine Kinase C

POPA : l'acide (2S, 3R, 4R) -3-carboxyméthyl-4-phénoxy-pyrrolidine-2-carboxylique

PSPA-1 : l'acide (2S, 3R, 4R) -3-carboxyméthyl-4-phénylthio-pyrrolidine-2-carboxylique

PSPA-4 : L'acide (2S,3R,4R)-3-carboxyméthyl-4-(4-méthylphénylthio)pyrrolidine-2-carboxylique

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

SNC : Système Nerveux Central

SOD : SuperOxyde Dismutase

TEP : Tomographie par Emission de Positons

Table des figures

Figure 1 : Classification des syndromes d'intoxication en fonction des délais d'apparition des symptômes [1].....	20
Figure 2 : Erythème violacé des 2 pieds chez une fille atteinte d'érythermalgie primaire [8]	34
Figure 3 : Structure chimique des Kanoïdes [16]	38
Figure 4 : Biogenèse des acides Kainique et domoïque [18].....	38
Figure 5 : Schéma de biosynthèse potentiel des acides acroméliques [24].....	41
Figure 6 : Structure chimique des précurseurs des acides acroméliques [25].....	42
Figure 7 : Structure chimique des composés β -cyano-L-alanine et N-(γ -L-glutamyl)- β -cyano-L-alanine [14]	43
Figure 8 : Structure chimique de l'acide 4-aminopyridine-2,3-dicarboxylique [28]	44
Figure 9 : Structure chimique de la clithionéine [29]	44
Figure 10 : Structure chimique de la clitidine et de son dérivé d'acide phosphorique [32]	45
Figure 11 : Schéma de biosynthèse probable des acides acroméliques et de leurs intermédiaires [33]	46
Figure 12 : Structure chimiques des aminoacides opine [34]	47
Figure 13 : Les différents récepteurs du système glutamate [37]	50
Figure 14 : Structure chimique de l'analogue (5b) de l'acide acromélique A [41].....	56
Figure 15 : Effet de l'acide acromélique et son analogue sur l'allodynie [41]	57
Figure 16 : Structure chimique de l'acide acromélique comparée à son analogue TEP [42].....	58
Figure 17 : Blocage de l'allodynie induite par l'acide acromélique par le traceur TEP [42].....	59
Figure 18 : Structure chimique des analogues PSPA-1 et PSPA-4 de l'acide acromélique A [44]	62
Figure 19 : Blocage de l'allodynie induite par l'acide acromélique A [45]	65
Figure 20 : Graphiques représentant l'intensité d'activité des cellules exprimant la NADPH diaphorase, et le nombre de ces cellules actives [45].....	66
Figure 21 : Graphiques représentant l'intensité d'activité, et le nombre de cellules microgliales actives [45]	66
Figure 22 : Blocage de l'allodynie induite par l'inhibiteur LAA [45]	67
Figure 23 : Structure chimique de l'acide nicotinique	72

Figure 24 : IRM des pieds avant traitement (A, B, C) et après le début du traitement à 1 mois (D, E, F) [52]	76
Figure 25 : Structures chimiques de l'acide acromélique et de ses analogues [53]	78
Figure 26 : Mesure de l'allodynie induite par l'acide acromélique et ses analogues pendant 50 minutes.....	78
Figure 27 : Mesure de l'allodynie induite par l'acide acromélique et ses analogues pendant 5 semaines.....	79
Figure 28 : Effet de PSPA-1 sur l'allodynie induite par l'acide acromélique A	80
Figure 29 : Effets de PSPA-1 sur la douleur neuropathique induite par la section du nerf spinal en L5 : mesure du seuil de retrait de la patte.....	80
Figure 30 : Effets de PSPA-1 sur l'activité de NADPH-diaphorase dans la moelle épinière	82
Figure 31 : Effets de PSPA-1 sur l'allodynie induite par le NMDA.....	83
Figure 32 : Les principales parties d'un champignon type [9].....	86
Figure 33 : Photographie de <i>Paralepistopsis acromelalga</i> (syn <i>Clitocybe acromelalga</i>) [10]	87
Figure 34 : Photographie de <i>Paralepistopsis amoenolens</i> [11]	88
Figure 35 : Photographie de <i>Lepista inversa</i> [12].....	90
Figure 36 : Photographie de <i>Clitocybe gibba</i> [13]	91
Figure 37 : Modèle de fiche d'identité	94

Table des tableaux

Tableau 1 : d'après « Erythermalgie soudaine : chercher le champignon » [6].....	35
--	----

INTRODUCTION

Les macromycètes, plus communément appelés champignons, ont toujours suscité un intérêt, surtout en gastronomie. De nombreux amateurs sont adeptes de ces organismes, puisque beaucoup d'espèces sont comestibles. Mais nous en connaissons également un certain nombre qui sont toxiques pouvant provoquer des syndromes d'intoxication parfois mortels. De plus, étant donné la grande diversité du règne fongique et de son évolution perpétuelle, il y a de nombreuses espèces encore méconnues notamment sur le plan de leur toxicité et du syndrome d'intoxication potentiellement associé.

C'est ainsi qu'une majeure partie de la population pousse les portes de nos officines afin de demander conseil au pharmacien pour identifier leur récolte et ainsi éviter ces intoxications qui sont de plus en plus nombreuses. Il est à noter que cette demande se fait principalement dans les officines de campagne, ou en périphérie des villes, en raison de la proximité avec les principaux lieux de cueillette, (bois, lisières de forêts...).

L'objet de ce travail s'est concentré sur le syndrome d'intoxication acroméalgien causé par l'ingestion d'un champignon que l'on retrouve presque exclusivement dans la région Haute Savoie en France. Il s'agit du *Clitocybe amoenolens*, cousin du *Clitocybe acromelalga* qui lui se retrouve au Japon et qui cause les mêmes symptômes. Il y a actuellement peu d'études et de données sur ces intoxications dont les principaux symptômes sont des rougeurs, des œdèmes et des douleurs aux extrémités, dans les membres inférieurs et supérieurs. Le seul traitement actuel reste symptomatique avec des bains d'eau glacée, car la plupart des traitements antalgiques sont inefficaces.

Ainsi ce travail va permettre de rassembler les dernières données sur le sujet, ainsi que les dernières avancées sur les traitements potentiels.

Dans une première partie, après avoir rappelé les différents syndromes d'intoxication par les champignons, nous allons décrire le syndrome acroméalgien, et sa clinique. Certains syndromes évoqués sont apparus il y a peu, ainsi peu de cas ont été rapportés et ils sont donc moins connus.

Ensuite, cette étude a porté sur les toxines, leurs mécanismes et leurs cibles d'action. Des études ont permis la synthèse d'analogues de ces toxines permettant d'identifier un peu plus le mécanisme d'action, afin de trouver des traitements appropriés.

Comme indiqué précédemment, la population se tourne vers le pharmacien pour identifier les champignons. En tant que professionnel de santé de premier recours et premier secours, le pharmacien se doit d'être compétent, d'actualiser ses connaissances sur

le sujet, pour conseiller au mieux ses patients. De plus, avec les nouvelles technologies, et les différentes méthodes d'identification, nous sommes amenés à découvrir et identifier de plus en plus d'espèces. Ainsi les bases de données sont remises à jour régulièrement et le nombre d'espèces identifiées est en augmentation.

Du fait de son évolution rapide, la mycologie se doit d'être une science qui se remet en question et qui nécessite une formation continue. C'est ainsi que la faculté de Pharmacie de Lyon : ISPB Lyon 1, et ses enseignants chercheurs ont créé un site internet : <http://macromycetes.univ-lyon1.fr> : les macromycètes dans tous les états, afin de former les étudiants en pharmacie à la mycologie en plus de leur formation initiale. Ce site a aussi pour but d'aider les professionnels de santé, les amateurs en mycologie afin de permettre une identification la plus juste et la plus précise possible tout en étant abordable par tous, et ce dans le but d'éviter les sources de confusion. Il regroupe différentes fiches d'identification avec une collection de photos, ainsi que des vidéos. C'est pourquoi dans une seconde partie, il s'agissait de décrire les espèces fongiques responsables du syndrome acromélagien ou celles qui peuvent être sources de confusion menant à cette intoxication alimentaire puis il s'agissait d'actualiser ce site en réalisant des fiches d'identification sur ces mêmes champignons et sur d'autres espèces de Clitocybe.

Partie 1 : Nouvelles avancées sur le syndrome acromélagien

1.1 Rappels sur les différents syndromes d'intoxication par les macromycètes

Les champignons supérieurs ont un grand intérêt en gastronomie. Beaucoup d'espèces sont comestibles mais malheureusement, beaucoup sont toxiques et responsables d'intoxications. On parle alors d'intoxication alimentaire menant parfois à des hospitalisations. Ces intoxications sont principalement dues à une méconnaissance ou une confusion entre les espèces. En toute logique, le nombre de cas augmente de septembre à novembre, correspondant à la période de cueillette de ces organismes. De plus, il est à noter que ces intoxications concernent souvent des cas collectifs.

A ce jour, 12 syndromes ont été décrits et leur classification se fait en premier lieu sur le temps d'incubation. Nous pouvons en citer quelques-uns : les syndromes narcotiniens, coprinien, paxillien, panthérinien, muscarinique, gastro-intestinal, phalloïdien, gyromitrien et proximien. Depuis quelques années, de nouveaux syndromes ont été découverts, à savoir une insuffisance rénale causée par l'ingestion d'*Amanita proxima*, une rhabdomyolyse avec *Tricholoma equestre*, une atteinte neurologique centrale due à *Hapalopilus rutilans*, et enfin *Clitocybe amoenolens* qui lui, est responsable d'une érythermalgie [1] et qui fait donc l'objet de ce travail.

Comme le montre la figure 1, nous distinguons deux grandes catégories d'intoxications, classées en fonction du délai d'apparition des symptômes. Ainsi, il y a les syndromes dont le délai d'apparition est inférieur à 6 heures après ingestion et ceux dont les symptômes apparaissent au-delà de 6 heures après l'ingestion des champignons.

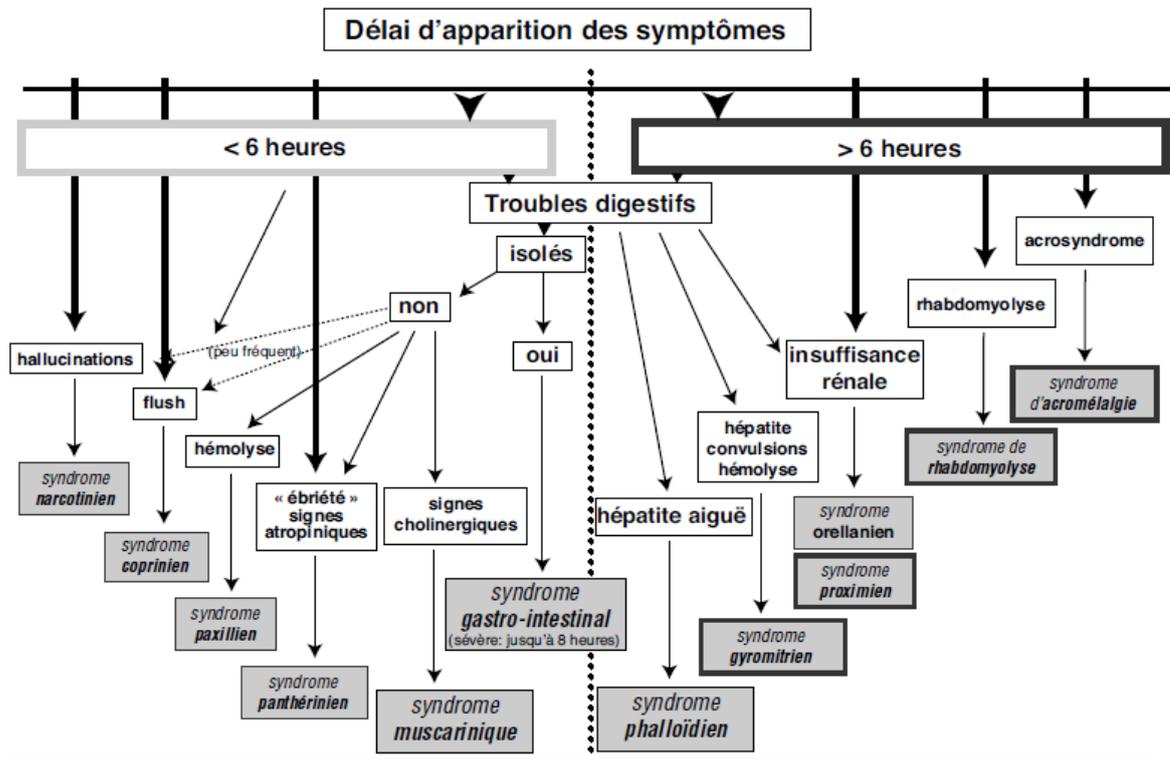


Figure 1 : Classification des syndromes d'intoxication en fonction des délais d'apparition des symptômes [1]

En général, les intoxications à incubation longue sont souvent graves et nécessitent une hospitalisation, alors que celles à incubation courte sont dans la plupart des cas, de bon pronostic. Mais attention ce n'est pas toujours le cas. En effet, lors de l'ingestion d'espèces de champignons appartenant aux deux catégories, les symptômes de l'une peut masquer les effets de l'autre. Nous allons donc brièvement énoncer ces syndromes en rappelant leurs principales caractéristiques.

1.1.1 Les syndromes d'incubation longue

1.1.1.1 Le syndrome phalloïdien

Ce syndrome est principalement causé par les macromycètes suivants : Amanites, Lépiotes, et les Galères. Nous pouvons ainsi citer l'Amanite phalloïde, l'Amanite vireuse, l'Amanite printanière, ainsi que la Galère marginée, et la Lépiote brun-rose [2]. Ces espèces contiennent des amatoxines, des phallotoxines, responsables d'hépatite toxique.

Le mécanisme d'action de ces dernières se fait par une action cytotoxique sur les cellules à grand pouvoir de synthèse protéique. Ceci étant dû à l'inhibition de l'ARN (acide ribonucléique) polymérase II, bloquant l'ARN messager et donc la transmission du signal pour synthétiser les protéines. Ainsi les cellules humaines qui sont principalement atteintes sont les cellules hépatiques, digestives et rénales.

Cette intoxication peut se découper en plusieurs phases : Tout d'abord, une phase de latence qui correspond à l'incubation et dure en moyenne 10h, mais pouvant aller de 6h à 24h. Ensuite, il y a la phase gastro-intestinale avec des vomissements et des diarrhées. Il faut donc faire attention à la déshydratation du patient. Puis vient la phase d'atteinte hépatique qui survient environ 36h après l'ingestion, entraînant une augmentation des enzymes hépatiques (ASAT, ALAT). Dans les formes graves, nous pouvons voir apparaître, à partir du 4^{ème} jour, une encéphalopathie hépatique ainsi qu'une insuffisance rénale aiguë organique. Le pronostic est plus grave chez les sujets jeunes voire très jeunes, et est fonction des taux du facteur V, ainsi que de l'insuffisance rénale et de l'encéphalopathie qui en résultent [1].

Le traitement d'une intoxication phalloïdienne est avant tout symptomatique. Il consiste à réhydrater le sujet et corriger les troubles électrolytiques. Il ne faut pas stopper la diarrhée qui est riche en toxines afin de permettre à l'organisme de l'éliminer. Il existe des traitements spécifiques qui ont prouvé leurs efficacités [3]. Notamment l'administration précoce de bêta lactamines ; la benzylpénicilline (pénicilline G), ou encore la ceftazidime, serait le traitement le plus utilisé suite à un empoisonnement aux amatoxines. La pénicilline G a une action antagoniste des toxines phalloïdiennes en se fixant sur un transporteur présent sur la membrane sinusoidale des hépatocytes, ce qui amène une diminution de la pénétration cellulaire des toxines. L'administration du traitement pourra se faire dans les trois premiers jours suivant l'ingestion. La silymarine, un composé du Chardon-Marie, est une molécule qui est constituée de quatre flavonoïdes : l'isosilybine, la silichristine, la silydianine et la silybine. Ce dernier étant un puissant antioxydant, qui agit en faisant diminuer la capture des amatoxines par les cellules hépatocytaires, puis en stimulant l'activité de la SOD (super oxyde dismutase) faisant augmenter le taux de glutathion. Le glutathion étant un antioxydant majeur de l'organisme. La silymarine compenserait l'inhibition de l'ARN polymérase II induite par les amatoxines en augmentant l'activité de l'ARN polymérase I [3].

L'intoxication aux amatoxines cause une nécrose hépatique. Nous retrouvons aussi cela dans l'intoxication au paracétamol. L'antidote, que l'on donne dans ce cas, est la N-acétylcystéine. Il s'agit d'un fluidifiant, expectorant, que l'on utilise également lors d'un surdosage au paracétamol. Du fait de la ressemblance entre les deux intoxications, la N-acétylcystéine est aussi utilisée dans la prise en charge des intoxications phalloïdiennes, grâce à son effet hépato protecteur remplaçant le rôle du glutathion [3]. La polymyxine B serait utilisable, et très prometteur, en tant qu'antidote lors de l'ingestion d'*Amanita phalloides*. Cet antibiotique antagonise la liaison des amatoxines à l'ARN polymérase II [3][58].

Tous ces traitements hépato protecteurs ont montré leur efficacité s'ils sont administrés rapidement après l'ingestion de ces espèces responsables de ce syndrome. En dernier recours, le seul traitement reste la transplantation hépatique.

1.1.1.2 Le syndrome gyromitrien

L'espèce en cause dans cette intoxication est la *Gyromitra esculenta* appartenant au genre gyromitre. Elle est souvent appelée « fausse morille » et est ramassée à la même période, au printemps. Longtemps consommée, sa toxicité a été découverte dans les années 1967 [4], et ce à partir de la purification de la toxine : la gyromitrine, purification à partir de l'acide helvétique, qui lui a été isolé en 1885. Avant, elle était considérée comme comestible si elle était bien cuite et si l'eau de cuisson était rejetée. Mais cette comestibilité a toujours été remise en question, puisque de nombreux cas d'intoxications ont été rapportés, en Allemagne, en Amérique du Nord, et même en Normandie dans les années 1960.

La gyromitrine, toxine responsable de ce syndrome est une toxine thermolabile, c'est à dire qui est détruite ou qui perd ses propriétés sous une température élevée. Or même cuit, ce champignon causait des accidents mortels, sa commercialisation est désormais interdite en France suite à un décret de 1991. Cette toxine agit en inhibant le système GABAergique menant à une diminution du taux de GABA (acide γ -aminobutyrique). Il s'agit du principal acide aminé inhibiteur du système nerveux central dont la diminution peut provoquer des convulsions. Elle aurait, de plus, une action au niveau hépatique.

Là aussi, les troubles apparaissent après une durée d'incubation allant de 6 à 24h, avec également des vomissements et de la diarrhée. Mais ce qui permet de le distinguer d'un

syndrome phalloïdien est la présence de fièvre, ce qui est assez rare dans les intoxications par les champignons. Cela peut d'ailleurs amener à des erreurs de diagnostic, de type gastroentérites virales et peut entraîner une sous-estimation du nombre de ces intoxications. Des céphalées sont aussi observées, ainsi que des troubles d'origine neurologiques tels que des convulsions pouvant amener au coma en cas d'intoxication sévère.

Le traitement est principalement symptomatique avec correction des troubles hydro électrolytiques. Le traitement des convulsions se fait par perfusion IV (intraveineuse) de vitamine B6, aussi appelée pyridoxine. En effet, la gyromitrine antagonise l'action de la pyridoxine, ce qui a pour conséquence un défaut de synthèse de GABA.

1.1.1.3 Le syndrome orellanien

Les macromycètes responsables de cette intoxication à incubation longue appartiennent au genre *Cortinarius*. Nous pouvons citer les espèces principales : *Cortinarius orellanus*, *Cortinarius speciosissimus*, *Cortinarius orellanoides*. La plupart des dermocybes (sous-classe des Cortinaires) sont aussi connus pour contenir la même toxine.

La toxine qui les compose et qui cause ce syndrome est l'orellanine, une toxine, qui est métabolisée et transformée en orellinine dans le corps humain, cette dernière agissant sur les cellules de l'épithélium du tube proximal. Le tube contourné proximal constitue la première partie du système tubulaire du néphron, qui est l'unité fonctionnelle rénale.

Le syndrome orellanien est difficile à diagnostiquer du fait de sa période d'incubation très longue allant de 36h à 17 jours. Des troubles digestifs non spécifiques peuvent apparaître de manière plus précoce, au bout de 24h. Lors de cette intoxication, ce sont les cellules rénales qui sont ciblées provoquant une insuffisance rénale qui peut soit guérir spontanément (si les doses ingérées étaient très faibles), soit évoluer vers une insuffisance rénale chronique. Il est démontré aussi un effet cumulatif qui peut donc entraîner une insuffisance rénale chronique après plusieurs années de consommation de faibles quantités. Là encore, le traitement repose sur un traitement symptomatique, avec simplement une épuration extra-rénale pour traiter cette insuffisance rénale, mais si celle-ci devient trop sévère, il faudra alors envisager une transplantation [1].

1.1.1.4 Le syndrome proximien

Le champignon responsable de cette intoxication se nomme : *Amanita proxima*, aussi nommée Amanite à volve rousse. Elle est généralement consommée par confusion avec *Amanita ovoidea*, car ces deux amanites poussent dans les mêmes milieux. Les troubles digestifs apparaissent entre 8 et 14h après ingestion provoquant en quelques jours une hépatite cytolytique et une néphropathie tubulaire, souvent de bon pronostic. La guérison survient généralement sans séquelles au bout de trois semaines.

1.1.1.5 La rhabdomyolyse

Peu de cas ont été décrits pour le syndrome de rhabdomyolyse, une dizaine dans la région Gironde en France, mais plusieurs cas mortels dans la fin des années 90/ début 2000. Deux cas ont été rapportés en Pologne en 2002 [1].

L'intoxication se fait après ingestion d'un champignon qui a longtemps été déclaré comme comestible : *Tricholoma auratum*, mais qui se fait toujours suite à une consommation excessive. Nous pouvons aussi citer *Tricholoma equestre*, surnommé le bidaou comme champignon impliqué dans le syndrome. Lui aussi considéré comme étant comestible, il provoque également une destruction du système musculaire [2]. Les publications officielles regroupent les intoxications au Tricholome équestre et les associent aux espèces *Tricholoma auratum*, *Tricholoma flavovirens* et *Tricholoma equestre*. *Tricholoma flavovirens* étant une ancienne appellation de *Tricholoma equestre*. Entre *Tricholoma auratum* et *Tricholoma equestre*, il n'y a pas de grandes différences significatives tant au niveau macroscopique que microscopique, c'est pour cela que certains auteurs considèrent qu'il s'agit de la même espèce, alors que d'autres estiment que ce sont deux espèces distinctes [4]. Il est important de noter que dans la plupart des ouvrages, les 2 sont décrits avec une chair jaune alors que les anciens disent souvent que *Tricholoma equestre* serait le seul à avoir une chair blanche. Au niveau des symptômes, nous observons une fatigue musculaire après 24 à 72 heures et des myalgies, c'est-à-dire des douleurs musculaires, principalement au niveau des jambes, accompagnées de fortes sueurs, qui peuvent se compliquer d'une arythmie cardiaque menant au décès. Cette rhabdomyolyse survient en général dans les trois à cinq jours après la consommation des tricholomes équestres.

À l'heure actuelle, aucune toxine n'a encore été détectée provoquant ce syndrome. En juin 2004, un arrêté paru au Journal Officiel interdit la mise sur le marché de *Tricholoma equestre* [4].

En Asie, une autre espèce de macromycète, provoque ce syndrome rhabdomyolytique. Il s'agit de *Russula subnigricans* [5]. Elle est souvent confondue avec *Russula nigricans*, qui est habituellement consommée en Asie. Dans la fin des années 1990, et le début des années 2000, des cas d'intoxication par confusion avec *Russula nigricans* ont été recensés avec pour symptômes des signes digestifs tels que nausées, vomissements, diarrhées, mais d'autres personnes ont aussi développé une rhabdomyolyse [5].

1.1.1.6 Atteinte du système nerveux central

Le syndrome d'encéphalopathie est aussi un syndrome découvert il y a encore peu de temps suite à une confusion, le champignon recherché était *Fistulina hepatica*, la Langue-de-bœuf. *Hapalopilus rutilans* (Polypore rutilant), aussi appelé *Phaeolus nidulans*, ou encore *Hapalopilus nidulans*, est à l'origine de cette atteinte, provoquant des troubles digestifs, et colorant les urines en violet. En plus de l'atteinte neurologique, survenant trois à quatre jours après ingestion, qui se caractérise par des vertiges, des troubles de la vision, ainsi qu'une difficulté à coordonner les mouvements (ataxie), nous notons également une atteinte au niveau du foie et des reins. Ces symptômes se manifestent au bout d'une douzaine d'heures après consommation du champignon. La toxine mise en cause est l'acide polyporique, une grosse molécule de type terphénylquinone qui réagit en violet au contact des solutions basiques (comme la potasse) et qui, éliminée par les reins, se retrouve en forte concentration dans l'urine [1][2].

Nous avons abordé les syndromes d'intoxication d'incubation longue dont les symptômes n'apparaissent pas avant 6h après consommation du champignon, et nous l'avons vu rapidement, ce sont principalement le foie, et les reins qui en sont atteints nécessitant une hospitalisation. Nous allons dès à présent évoquer les syndromes d'intoxication d'incubation courte.

1.1.2 Les syndromes d'incubation courte

L'incubation de ces syndromes est généralement inférieure à 6h. Ils sont responsables de la plus grande partie des intoxications par les champignons. En général, les intoxications par les champignons dont le délai d'incubation est court, sont sans grande gravité et les symptômes disparaissent spontanément en quelques heures mais nécessitent tout de même une surveillance et quelques traitements selon les cas.

1.1.2.1 Le syndrome muscarinique

Le syndrome muscarinique porte aussi le nom de syndrome sudorien ou cholinergique. Il est responsable du plus grand nombre d'intoxications nécessitant une hospitalisation en réanimation. Il tient son nom de la muscarine, toxine responsable de cette intoxication. La muscarine a une action sur le système parasympathique agissant sur les récepteurs muscariniques provoquant rapidement, au bout de 30 min à 2h, des troubles digestifs tels que nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales. Ces troubles s'accompagnent de sueurs, d'hypersécrétions salivaires et bronchiques avec une bradycardie entraînant souvent une hypotension.

Ce sont les Clitocybes (*C. dealbata*, *C. rivulosa*, *C. cerussata*) et les Inocybes (*I. patouillardii*, *I. fastigiata*, *I. geophylla*) qui provoquent principalement ce syndrome. *Amanita muscaria* ne provoque pas ce syndrome mais un syndrome panthérimien comme détaillé ci-après.

En ce qui concerne le traitement, celui-ci est symptomatique avec une bonne hydratation pour compenser les pertes en électrolytes, et si besoin, en cas de symptômes graves, une administration en IV d'atropine peut être envisagée [1][2][5].

1.1.2.2 Le syndrome panthérimien

Il est causé par l'Amanite tue-mouches (*Amanita muscaria*) et l'Amanite panthère (*Amanita pantherina*). Les toxines qui les composent et qui sont responsables de ce syndrome sont des isoxazoles. Ils ont principalement des effets centraux, de type hallucinations, convulsions, agitation, délires. Ceci s'accompagne souvent de troubles digestifs : nausées, vomissements, ainsi qu'une tachycardie. Les convulsions peuvent être

traitées par administration de benzodiazépines, mais l'évolution est souvent spontanée, et une surveillance est simplement requise. Peu dangereux à faible dose, il peut se révéler problématique chez des sujets atteints de problèmes cardiovasculaires. Intoxication rare, il est à noter que ces effets centraux sont parfois recherchés pour des fins récréatives, la consommation est alors volontaire, et de ce fait, tend à augmenter [1][2][5].

1.1.2.3 Le syndrome coprinien

Le *Coprinus atramentarius* est l'espèce qui cause ce type de syndrome. Le Coprin noir d'encre, de son nom français, possède une toxine, la coprine, qui agit par action inhibitrice sur l'aldéhyde déshydrogénase. L'alcool étant métabolisé par cette enzyme, il ne sera donc pas dégradé si le patient a ingéré des coprins dans les 12h qui précèdent la consommation d'alcool ou si la consommation de champignon fait suite à une consommation d'alcool, ceci parfois quelques heures après. Cela se traduit cliniquement par un effet antabuse, avec des nausées, des bouffées vasomotrices, des bouffées de chaleur, des sueurs et une tachycardie, qui apparaissent très rapidement en moins de 30 minutes à 2 heures. Mais cela est le plus souvent sans gravité et ne nécessite pas de traitement puisque l'évolution est le plus souvent favorable [1][2][5].

1.1.2.4 Le syndrome narcotinique

Nous dénombrons plus d'une centaine d'espèces responsables de ce type d'intoxication, répartie dans le monde, mais en France, nous pouvons citer essentiellement les psilocybes (*P. semilanceata*, *P. bohemica*, *P. cyanescens*) et les panéoles (*Panaeolus subalteatus*). La toxine qui provoque ce syndrome agit au niveau du système sérotoninergique. Il s'agit de la psilocine, dérivé de la psilocybine. C'est une toxine hallucinogène. Les symptômes apparaissent rapidement en moins d'une heure. L'effet dure en moyenne 4 heures et disparaît entre 12 et 48 heures. Nous retrouvons des effets centraux avec des hallucinations visuelles, une perception dans le temps et l'espace modifiée avec des troubles de l'humeur pouvant être une euphorie, ou à l'inverse un état anxieux. Parfois tout cela s'accompagne de nausées, d'une tachycardie et d'une vasodilatation périphérique, accompagnée de sueurs. Cela peut se compliquer d'un coma

précédé de convulsions en cas de forte dose ingérée. Le traitement repose sur de la surveillance, et l'administration d'un sédatif si l'anxiété est trop importante, mais l'évolution se fait spontanément dans la plus grande part des cas. Généralement, avec les champignons hallucinogènes, l'ingestion est volontaire, et ce dans un but récréatif, souvent accompagnés de substances telles que l'alcool ou d'autres substances illicites [1][2][5].

1.1.2.5 Le syndrome résinoidien

Aussi appelé syndrome gastro intestinal, car les symptômes sont de type gastroentérite avec des nausées et des vomissements, accompagnés de diarrhées qui surgissent dans les 30 minutes après l'ingestion, et pouvant aller jusqu'à 2 heures après le repas. Ces symptômes régressent de manière spontanée en quelques heures, mais cela dépend de l'état physiopathologique (enfant, personne âgée ou avec des antécédents cardiaque ou rénaux) ainsi que de l'intensité des symptômes. Ils dépendent aussi du type de consommation, les enfants ou cueilleurs, qui se lèchent les doigts, sont susceptibles d'ingérer des toxines non cuites qui même à très faibles doses peuvent donner des symptômes parfois importants. Les champignons comme l'Agaric jaunissante (*Agaricus xanthodermus*), la Clavaire dorée (*Ramaria aurantiaca*), la Russule émétique (*Russula emetica*), l'Hypholome en touffe (*Hypholoma fasciculare*), sont responsables de troubles bénins alors que les espèces telles que le Clitocybe de l'olivier (*Omphalotus olearius*), l'Entolome livide (*Entoloma lividum*), le Bolet satan (*Boletus satanas*), et le Tricholome tigré (*Tricholoma pardinum*) provoquent des gastroentérites plus graves.

Pour ce syndrome, les toxines ne sont pas réellement identifiées. Ainsi le traitement est purement symptomatique. En premier lieu, il s'agit de réhydrater, puis d'administrer éventuellement un antispasmodique et un antiémétique si les symptômes le nécessitent. Comme dit précédemment, certaines espèces sont responsables de troubles plus graves. L'ingestion du Bolet satan provoque des diarrhées profuses accompagnées de fièvre, ainsi qu'une hypertension artérielle transitoire. Une intoxication par l'Entolome livide peut amener à une cytolyse hépatique qui reste généralement modérée [1][2][5].

Parmi les syndromes d'incubation courte, nous pouvons citer enfin le syndrome paxillien. Il est à priori causé par la Paxille enroulée, de son nom scientifique *Paxillus*

involutus, qui mal cuite provoque un syndrome digestif tel que nous l'avons vu précédemment. Ce champignon consommé jusque dans les années soixante est encore parfois consommé aujourd'hui par les anciens. Mais il a été rapporté une anémie hémolytique lors de l'ingestion de cette espèce, mettant ainsi ce syndrome à part parmi ceux qui ont une incubation à durée courte. Il est à noter que les récentes recherches en biologie moléculaire ont mis en évidence l'existence de plusieurs espèces autrefois regroupées sous le nom de *Paxillus involutus* qui se révèle être ce que l'on appelle aujourd'hui une espèce collective. Cependant, les connaissances ne sont pas assez précises pour déterminer si les intoxications relevées depuis les années cinquante étaient rattachées à une ou plusieurs de ces espèces.

De manière générale, il faut être attentif à toute survenue de troubles digestifs suite à la consommation de champignons. La majeure partie d'entre eux causent des symptômes tels que nausées, vomissements, diarrhées etc... Ainsi, le diagnostic peut être confus car de tels symptômes peuvent aussi survenir après un repas de champignons totalement comestibles mais en trop grande quantité, ou encore suite à la consommation de champignons contaminés par un micro-organisme après macération dans un sac plastique ou sur maturation. D'où l'importance lors des cueillettes, d'utiliser des paniers en bois afin de laisser l'air circuler et de ne pas garder les champignons au-delà de 3 jours, même au frigo.

Pour conclure cette première partie, nous venons de rappeler brièvement les différents syndromes d'intoxication par les champignons supérieurs. Ils sont classés en fonction du délai de latence. Toute intoxication survenant au-delà de 6 heures après l'ingestion, doit être considérée et traitée comme étant grave et nécessite l'hospitalisation de la personne atteinte ainsi que la surveillance étroite des personnes ayant également mangé les champignons dont il est question. Si les symptômes digestifs apparaissent après une période courte (moins de 6 heures), en l'absence de signes muscarinique, atropinique, un simple traitement symptomatique est suffisant. Mais si les troubles persistent, il faut penser à une intoxication plus grave voire mixte avec deux espèces de champignons, l'une provoquant un syndrome d'intoxication d'incubation courte, et l'autre amenant à une intoxication d'incubation longue.

En revanche, nous ne connaissons pas encore toutes les espèces toxiques, et nous serons amenés à en découvrir davantage car la consommation de champignons sauvages ne cesse de croître. Il est donc important que les pharmaciens et les mycologues puissent répondre aux attentes des consommateurs sur l'innocuité des champignons recueillis. D'ailleurs des réseaux de mycovigilance commencent à être mis en place pour améliorer le suivi de ces intoxications.

1.2 Le syndrome acroméalgien

1.2.1 Cas d'intoxications et découverte du syndrome

En 1996, en Savoie, dans la vallée de la Maurienne, un amateur de champignons donne sa récolte à deux familles de la région pensant qu'il s'agissait d'une récolte de *Lepista inversa*, champignon connu pour être comestible. Dans la première famille, l'homme âgé d'une quarantaine d'années, après ingestion, a déclaré des fourmillements, des picotements et des sensations de piqûres au niveau des orteils et des doigts. Les symptômes ont disparu au bout de trois semaines en étant traités seulement par de l'eau glacée sous forme de bain. La femme, elle, a ingéré les champignons durant trois repas consécutifs, donc à une dose plus élevée. Elle a également présenté des fourmillements du même type que son mari. Mais, elle a eu en plus, des crises douloureuses durant deux heures en moyenne, de type brûlures, ou décharges électriques dans les mains et les pieds, accompagnées d'une chaleur locale, visible sur la peau qui devenait violette caractérisant la présence d'un érythème local. Hors de ces crises, la peau était normale. Il n'y avait aucun signe digestif de type diarrhée ou vomissement. Alors que souvent, lors d'une intoxication alimentaire par les champignons, ces signes sont souvent présents. Ces crises apparaissent le plus souvent la nuit, en position allongée, entraînant des insomnies et une asthénie. Il n'y avait pas d'autres aspects cliniques et la biologie était normale, tout comme le bilan neurologique. Là aussi, les traitements pour la douleur n'étaient pas efficaces, et seuls des bains d'eau glacée avaient un petit effet. La guérison est obtenue au bout de trois mois. Pour le fils de trois ans, qui a consommé les champignons sur deux repas consécutifs, de même, il a ressenti des fourmillements et de l'engourdissement, avec des crises nocturnes. Là également, l'enfant présentait un érythème local. Ses symptômes ont régressé également grâce aux bains d'eau glacée au bout de deux

mois environ. La fille qui est allaitée n'a pas présentée de symptômes [6][7]. Nous pouvons dès lors supposer qu'il n'y a pas eu de passage de la toxine dans le lait maternel.

Dans la deuxième famille, composée d'un couple de trentenaires, la femme, elle, a présenté un engourdissement, au niveau des membres inférieurs principalement. La douleur se faisait également sentir au toucher. Le père de famille a ressenti des picotements et des douleurs aux mains et surtout aux pieds. Cela se déclenchait le soir en position couchée. Il ressentait aussi une sensation de brûlures qui évoluait par pics. Les bains d'eau glacée permettaient de soulager les symptômes, alors que la chaleur, les mouvements, le contact, les aggravaient. Lors des crises, des œdèmes et des rougeurs apparaissent. La famille ne présentait pas, là non plus, de signe digestif, que ce soit vomissement ou diarrhée. Des médicaments ont été administrés mais ils n'ont montré aucune efficacité : buprénorphine, carbamazépine, clonazépam, dextropropoxyphène, dihydroergocryptine, méthysergide, nicergoline et prazosine [6]. Les bains d'eau glacée restaient le meilleur traitement mais certains médicaments ont tout de même montré une efficacité dans ce cas. Une amélioration partielle de la douleur est observée avec une dose de 2g/jour d'acide acétylsalicylique, de la clomipramine à 75 mg/jour en IV, et de la morphine à 120 mg/jour. Il est à noter que six mois après le début des symptômes, le patient ressentait encore des sensations de brûlures en cas de contact et une gêne se faisaient encore sentir quatre ans après l'ingestion. Pour le patient de ce second cas, un électromyogramme a été fait suite à l'ingestion. Un électromyogramme permet de mesurer l'activité du muscle que l'on souhaite évaluer, en stimulant les nerfs en regard du muscle en question. Le résultat a permis de définir une polyneuropathie périphérique avec une vitesse de conduction sensitive diminuée ainsi que des atteintes des neurones entraînant ainsi des réponses motrices en dessous de la normale.

1.2.2 Les circonstances de découverte

Il faut savoir qu'avant ces cas, le syndrome d'intoxication érythromélagien, ou acromélagien, n'était pas connu, et de ce fait, une intoxication alimentaire par un champignon avait été écartée. Mais la notion de repas commun, et la durée d'incubation presque identique dans les deux cas ont fait soupçonner une intoxication alimentaire. En

revanche, l'absence de signe digestif avait entraîné le rejet du diagnostic d'une toxi-infection alimentaire collective.

Nous savons que l'espèce *Lepista inversa* est une espèce comestible. Les deux familles pensaient manger ce champignon. Or tous les individus ayant consommé ledit champignon ont déclaré les symptômes. Le rapprochement avec une étiologie mycologique s'est fait grâce une infirmière qui s'est rappelé d'un cas similaire en 1979. Une dame d'une soixantaine d'années avec sa fille d'une trentaine d'années habitant dans la même région et pas très loin de là où les dernières intoxications ont été recensées, avaient aussi déclaré ces symptômes. A savoir, des fourmillements, des brûlures dans les membres avec des troubles vasomoteurs. Ces symptômes se déclaraient également sous forme de crises aiguës, sans trouble digestif. De même, un électromyogramme avait été effectué et montrait des vitesses de conduction motrice et sensorielles normales mais des potentiels en faveur d'une polyneuropathie sensitive toxique. De plus, un mycologue, à qui les cas de 1996 avaient été racontés, avait lu un article concernant un cas similaire japonais dont l'espèce en cause est *Clitocybe acromelalga*. Cette espèce, aussi appelée champignon aux brûlures, ou champignon vénéneux du bambou, provoque des douleurs de type paresthésie et brûlures dans les doigts de pieds et des mains. Ces douleurs sont accompagnées d'œdèmes et sont soulagées par le froid, tout comme l'espèce consommée et qui a été prise pour *Lepista inversa*. Suite à cela, une cueillette a été effectuée à proximité du lieu de ramassage initial des champignons qui avaient causé l'intoxication chez les deux familles. Il s'est avéré que l'espèce retrouvée, n'était pas *Lepista inversa*, elle s'en rapprochait fortement, de par sa forme, sa couleur, mais il s'agissait en réalité de *Clitocybe amoenolens*. Cette espèce de clitocybe avait été décrite au Maroc suite à une intoxication mais cela n'avait pas donné lieu à une notification, du fait de la méconnaissance de ce syndrome [6][7]. Il s'agit ici des cas d'intoxication qui se sont produits en France avec *Clitocybe amoenolens*, mais la littérature rapporte principalement les cas et les études sur *Clitocybe acromelalga*, le champignon japonais qui induit les mêmes symptômes. Etant donné la similitude des symptômes entre les deux espèces, il faut s'attendre à ce que les deux espèces soient très proches en termes de morphologie, de composition et d'effets. Dès lors, nous pouvons supposer que les toxines entre les deux Clitocybes soient semblables, ainsi dans la suite de ce travail, nous présentons les résultats avec l'hypothèse que tout ou partie de ceux-ci sont transposables à l'espèce

Française. Pour confirmer cela, il faudrait extraire les composants du champignon français afin de valider les hypothèses de similitude avec le champignon japonais.

1.2.3 Erythermalgie : Clinique, description et définition

Avant tout, nous définissons l'érythromélagie comme un syndrome évoluant par crises paroxystiques, c'est-à-dire avec des pics d'une grande intensité et des rémissions temporaires. Les symptômes étant caractérisés par une triade : rougeur, chaleur locale, et douleurs aux extrémités. Ces douleurs sont localisées dans les membres et préférentiellement dans les membres inférieurs. Ce syndrome a été décrit par Mitchell en 1878. En 1938, on lui préfère le terme érythermalgie exprimant un peu mieux le fait des rougeurs et que la chaleur soient locales [6][8]. Les crises sont aggravées par la chaleur, ainsi le froid, donc des bains d'eau glacée est une bonne thérapeutique et, est pour le moment, la seule reconnue.

Il existe des érythermalgies de forme primaire et de forme secondaire. La forme primaire est une maladie génétique qui se transmet selon un modèle autosomique dominant, alors que les formes secondaires sont associées aux syndromes myéloprolifératifs, au lupus systémique, à d'autres pathologies auto-immunes, ou encore imputées à des médicaments, ou à l'ingestion de champignons comme nous venons de le voir.



Figure 2 : Erythème violacé des 2 pieds chez une fille atteinte d'érythermalgie primaire [8]

La figure 2 montre un érythème sur les membres inférieurs d'une jeune fille atteinte de cette forme primaire. Nous pouvons voir que le pied présente un gonflement, et une rougeur assez importante. Il s'agit d'un cas d'érythermalgie primaire mais les symptômes de la forme toxique sont similaires.

Il est bien sûr à noter que les répercussions sur la vie sociale sont importantes, car pendant les crises, il est impossible de se chausser, le patient a des difficultés à marcher etc... De plus, les traitements symptomatiques sont peu efficaces. Cela amène un changement dans la vie sociale, avec un impact psychologique assez fort.

Dans la forme primaire, donc la forme génétique, il a été mis en évidence un gène codant pour la sous-unité alpha du canal sodique qui se retrouve principalement au niveau des neurones sensoriels et sympathiques. Une mutation de ce gène provoque une hyper excitabilité des fibres C nociceptives. Ces fibres étant impliquées dans la douleur et la vasodilatation [8]. Il s'agit du gène *scn9A* situé sur le chromosome 2.

Lazareth en 1988 [59] définit le diagnostic de l'érythermalgie selon plusieurs critères en différenciant les critères majeurs des critères mineurs. Pour que le diagnostic soit posé, il faut la présence de trois critères majeurs et de deux critères mineurs associés [6]. Ces critères sont regroupés dans le tableau 1 suivant.

Critères de diagnostic des érythermalgies	
Les critères majeurs :	<ul style="list-style-type: none"> - Evolution de l'affection par crises paroxystiques - Douleurs typiques : brulures, morsures, broiements - Rougeur des zones concernées lors des crises
Les critères mineurs :	<ul style="list-style-type: none"> - Déclenchement des crises par la chaleur ou l'exercice - Soulagement des douleurs par le froid, le repos, ou l'élévation du membre atteint - Augmentation de la chaleur locale pendant la crise - Sensibilité des douleurs à l'acide acétylsalicylique (Aspirine®)
Erythermalgie = 3 critères majeurs + 2 critères mineurs	

Tableau 1 : d'après « Erythermalgie soudaine : chercher le champignon » [6]

Dans sa forme toxique, c'est-à-dire secondaire, l'érythermalgie apparaît environ 24 heures après l'ingestion du champignon. Il fait donc partie des syndromes d'intoxication d'incubation longue, au-delà de 6 heures, si nous reprenons la classification que nous venons de détailler.

Les premiers symptômes : sensations de fourmillements puis de brulure et douleur, évoluant par crises, que l'on peut définir comme paroxystiques avec apparition de rougeurs et d'œdèmes. Ces rougeurs disparaissent sous la pression des doigts pour réapparaître ensuite. La chaleur, le contact aggravent ces symptômes, qui se déclarent principalement la nuit. Les symptômes se produisent au niveau des extrémités des membres, donc localement au

niveau des doigts et des orteils et peuvent durer plusieurs semaines, voire des mois, se prolongeant jusqu'à 1 ou 2 ans après l'ingestion avec des sensations de picotements et de fourmillements. Les symptômes régressent ensuite spontanément et sont le plus souvent décrits sans séquelle.

A la différence des autres syndromes d'intoxication mycologique, ce syndrome ne présente pas d'atteinte du rein ou du foie, ni de trouble digestif. Ces douleurs dans les membres seraient dues à une atteinte des fibres non myélinisées du système nerveux, par les acides acroméliques, des toxines contenues dans le champignon responsable : *Clitocybe amoenolens*. Cela se confirme à l'examen électromyogramme par des lésions des axones neuronaux.

Les acides acroméliques sont des aminoacides excitateurs qui ciblent le système du glutamate. Ce sont des analogues de l'acide Kainique, et font donc partie de la famille des kanoïdes. L'acide acromélique présente plusieurs isomères, dont l'acide acromélique A et l'acide acromélique B. L'isomère A ayant montré l'activité neuro excitatrice la plus puissante. A ce jour, le seul traitement efficace consiste à faire des bains d'eau glacée. Et parfois les symptômes seraient soulagés par de l'acide acétylsalicylique, et quelques antalgiques mais avec une efficacité partielle.

En France, ce syndrome est causé par le *Clitocybe amoenolens*, présent en Savoie et Haute-Savoie. Il est retrouvé aussi en Italie. Au Japon, il s'agit de *Clitocybe acromelalga*, qui est responsable de ces symptômes caractéristiques.

Ainsi devant l'apparition soudaine d'un syndrome érythermalgique, à l'interrogatoire, la question d'une éventuelle consommation de champignon datant de 48 heures environ doit être posée, et en particulier la consommation des champignons cités précédemment. Nous verrons ci-après que les mécanismes responsables des formes, primaire et secondaire, sont différents. L'action du gène *scn9A*, ne pourrait pas être transposée sur le mécanisme d'action des toxines de *Clitocybe amoenolens*, puisque celui-ci code pour un canal sodique, alors que les toxines agissent sur les récepteurs du glutamate. Nous verrons dans la suite de ce travail, que ces récepteurs ionotropiques font intervenir eux des canaux calciques.

1.2.4 Les toxines de *Clitocybe acromelalga*

Les principaux effets du *Clitocybe acromelalga* sont dus aux acides acroméliques mais ce ne sont pas les seuls composés produits par ce champignon. D'autres constituants pourraient avoir des effets toxiques. Nous manquons encore de données pour connaître toutes les actions de toutes les toxines de ce champignon. De plus, les études scientifiques ont surtout porté sur les acides acroméliques qui sont les principales toxines, causant le syndrome acroméalgien.

La thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie de Karen ALLARDIN, soutenue à Grenoble en 2001, dont le titre est : Un clitocybe peu connu en France responsable d'un syndrome acroméalgique [14] énumère les différentes toxines. Nous allons simplement les rappeler, puisqu'il est préférable de se concentrer sur les mécanismes d'action. De plus, les recherches plus récentes n'ont pas amené à la découverte de nouvelles toxines. Les japonais qui ont étudié les molécules causant ces effets toxiques ont montré l'existence des acides acroméliques qui sont 5 isomères, nommés de A à E, des acides stizolobiques, de β -cyano-L-alanine, de la clithioneine, qui est une bêtaïne non toxique et de la clitidine, qui est un nucléoside pyridine toxique. Il y a également d'autres composés que nous allons aussi décrire.

1.2.4.1 Les acides acroméliques

Les acides acroméliques sont des aminoacides qui ont des effets neurotoxiques, et sont à ce jour les molécules responsables de l'intoxication. Ils ont une structure apparentée à l'acide Kainique et l'acide domoïque [15].

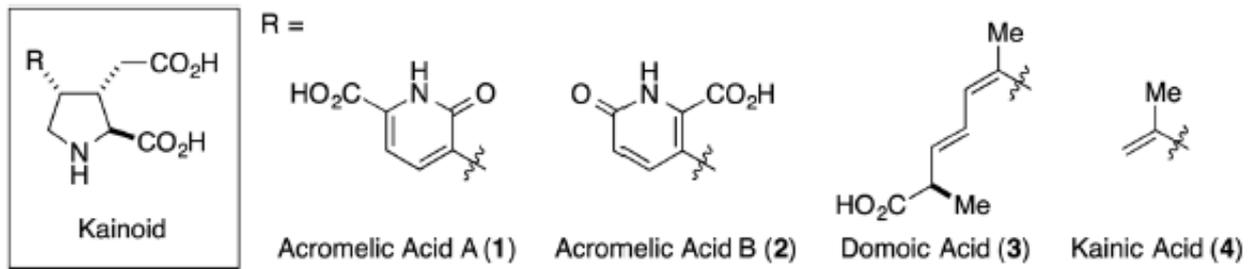


Figure 3 : Structure chimique des Kanoïdes [16]

La figure 3 confirme que les acides acroméliques font partie de la famille des Kanoïdes. Ils contiennent dans leur structure de base un cycle pyrrolidine, également appelé azolidine ou tétrahydropyrrole. De plus, ce sont des acides dicarboxyliques. L'acide Kaïnique et ses dérivés présentent tous une 3-carboxyméthyl-proline et une chaîne latérale en C4 [17]. Ce qui différencie les Kanoïdes entre eux, c'est le groupe fonctionnel (R). Les groupes fonctionnels des acides acroméliques, Kaïnique et domoïque sont représentés sur la figure 3. Les acides acroméliques A et B sont tous deux isomères, ils ont la même formule brute. Les méthodes spectrales ont permis de déterminer les structures chimiques de ces composés et ont ainsi démontré la présence d'un fragment de l'acide glutamique [15][18].

En ce qui concerne la synthèse de l'acide Kaïnique et de l'acide domoïque, elle se fait par condensation d'une unité isoprène avec l'acide glutamique suivi par une cyclisation pour former un cycle pyrrolidine. L'origine de la partie aromatique provient de la DOPA (3,4-dihydroxyphénylalanine) [18]. La figure 4 montre ainsi cette réaction de condensation pour donner les acides Kaïnique et domoïque.

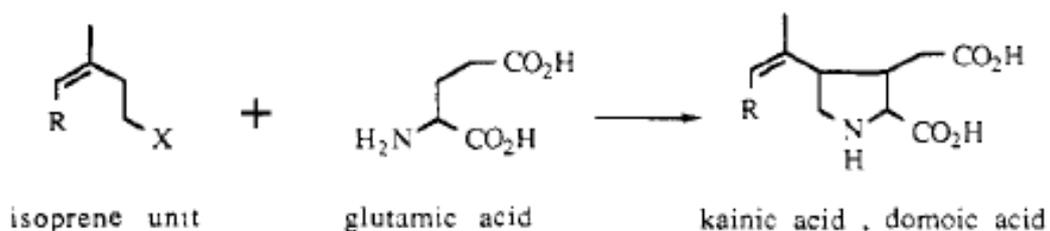


Figure 4 : Biogénèse des acides Kaïnique et domoïque [18]

Par conséquent, les acides acroméliques agissent sur le système nerveux central, par stimulation du système glutamate, sur les récepteurs ionotropiques de celui-ci. Il s'agit donc d'agonistes. Ils ont un effet excitateur, puisque l'acide glutamique est le principal neurotransmetteur excitateur de l'organisme. Ils ont un effet dépolarisant 100 fois plus puissant que l'acide Kainique et 10 fois plus puissant que l'acide domoïque. Cet effet a été mesuré dans la jonction musculaire d'une écrevisse. De plus, l'acide acromélique A montre une puissance supérieure par rapport à l'ensemble des apparentés au glutamate [19].

Il faut savoir que l'acide glutamique est impliqué dans les fonctions cérébrales telles que la mémoire, l'apprentissage et la transmission de la douleur. Il provoque une dépolarisation des neurones centraux menant à une mort neuronale spécifique dans le cerveau. Il joue un rôle important dans les lésions cérébrales ischémiques. Dans les maladies neurodégénératives telles que la maladie de Huntington et la maladie d'Alzheimer, il semble qu'un déséquilibre de la fonction glutamatergique soit à l'origine des troubles [19]. Les acides acroméliques contenus dans *Clitocybe acromelalga* présentent plusieurs isomères. Il y en a 5, de A à E. Les acides acroméliques A et B ont été isolés pour la première fois en 1983 à partir du champignon japonais. L'acide acromélique C, lui, a été isolé en 1990 et les isomères D et E en 1992 [36]. L'acide acromélique C se rapproche plus de l'acide acromélique A d'un point de vue de la structure stéréochimique du cycle pyrrolidine. L'injection intrapéritonéal d'acide acromélique C à la dose de 10 mg/kg chez une souris provoque une extension tonique de ses pattes postérieures, une convulsion épileptique et ensuite la mort. Les acides acroméliques A et B ont provoqués les mêmes symptômes mais à des doses létales respectives de 7 et 8 mg/kg [20]. Ce qui prouve que les acides acroméliques A et B sont les plus actifs, et que l'acide acromélique A est le plus puissant. Il agit avec la concentration la plus faible.

Les *Clitocybe acromelalga* et *Clitocybe amoenolens* appartiennent au même genre et sont très proches phylogénétiquement. Il est donc intéressant de rechercher si les acides acroméliques identifiés dans l'espèce japonaise se retrouvent également dans l'espèce française. Une méthode de spectrométrie de masse par chromatographie a été réalisée afin de permettre l'identification et la quantification de l'acide acromélique A dans les champignons, puisque celui-ci est le plus actif. Ce qui suppose qu'il est présent dans les deux espèces. Cela a permis de déterminer une concentration d'acide acromélique A de 325 ng/mg chez *Clitocybe amoenolens*, et de 283 ng/mg chez *Clitocybe acromelalga* [21]. Donc

l'espèce française contient une concentration plus élevée d'acide acromélique A que l'espèce japonaise. Mais il faut garder à l'esprit que les concentrations peuvent varier suivant la pureté de l'extraction et si celle-ci a été effectuée à partir de champignons frais ou congelés.

Le *Clitocybe acromelalga* contient les 5 acides acroméliques. L'étude a permis de déterminer la présence des acides acroméliques B et C chez *Clitocybe amoenolens* en plus de l'acide acromélique A. Les méthodes spectrales ont été soumises aux 3 champignons ressemblant à *Clitocybe amoenolens* : *C. gilva*, *C. gibba*, et *L. inversa*. On note l'absence d'acide acromélique chez ces espèces. Cela permettrait d'écarter ces champignons en cas d'intoxication. Cette méthode spectrale pourrait être utilisée dans les études de toxicologie et d'intoxication pour affirmer l'imputabilité des acides acroméliques dans le syndrome d'intoxication érythermalgique. D'autant plus que cette méthode nécessite seulement quelques milligrammes de champignons et pourrait être utile dans l'analyse d'autres espèces rares [21].

Les scientifiques travaillent sur des analogues de Kanoïdes et des acides acroméliques synthétiques ainsi que sur des méthodes de synthèse simplifiées, ce qui pourrait être utile dans les études biologiques afin d'affiner les données et les connaissances sur ces composés et sur le syndrome d'intoxication [16][19][22][23].

1.2.4.2 Les acides L-stizolobique et L-stizolobinique : précurseurs des acides acroméliques

Les recherches sur les différents composés toxiques de *Clitocybe acromelalga* ont permis d'isoler d'autres composés [24][25][26].

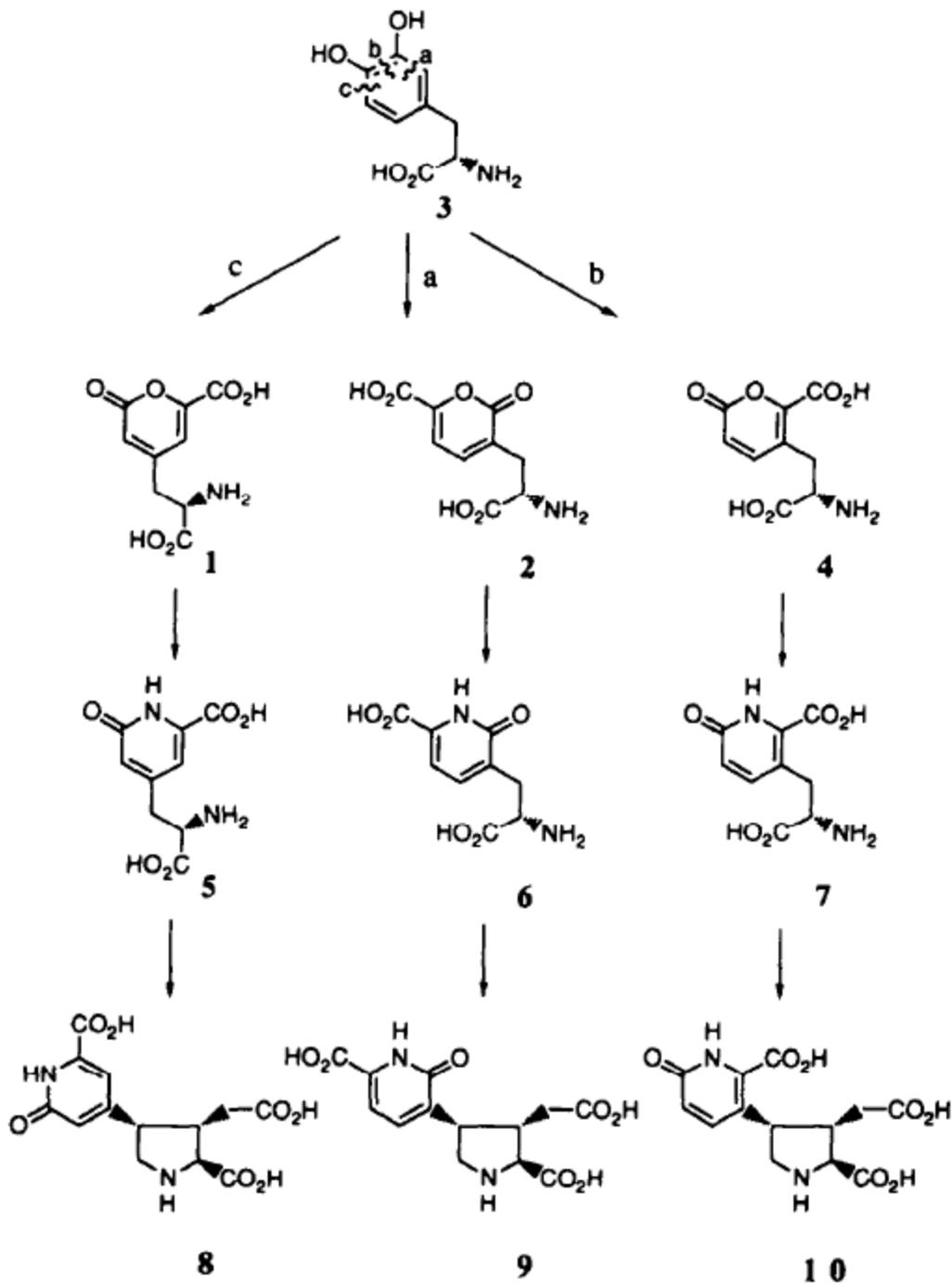


Figure 5 : Schéma de biosynthèse potentiel des acides acroméliques [24]

Sur la figure 5, les composés (9) et (10) sont respectivement les acides acroméliques A et B. Ce sont des composés avec une fonction pyrrolidine. Les composés pyridone (6) et (7) se condensent chacun avec l'acide glutamique suivi d'une cyclisation puis une décarboxylation pour former les acides acroméliques. Les composés (6) et (7) pourraient provenir des composés pyrone (2) et (4) qui eux-mêmes proviennent de la L-DOPA : le composé (3). Mais

cela reste une hypothèse de travail à démontrer [24]. La purification des différents composés a permis d'isoler l'acide L-stizolobique et l'acide L-stizolobinique qui sont respectivement les composés (1) et (2) de la figure 5. Ils peuvent être considérés comme les précurseurs de synthèse des acides acroméliques A et B. La présence de ces précurseurs avec les acides acroméliques chez *Clitocybe acromelalga*, suggèrent que les acides acroméliques seraient bien des dérivés de la L-DOPA : 3-(3, 4-dihydroxyphenyl)-L-alanine et de l'acide glutamique.

Dans le champignon, il aurait été retrouvé d'autres précurseurs de ces acides acroméliques, qui sont représentés sur la figure 6. Ce sont les acides acromélobique et acromélobinique [25]. L'oxygène O du cycle des acides stizolobique et stizolobinique est ici remplacé par un atome d'azote N.

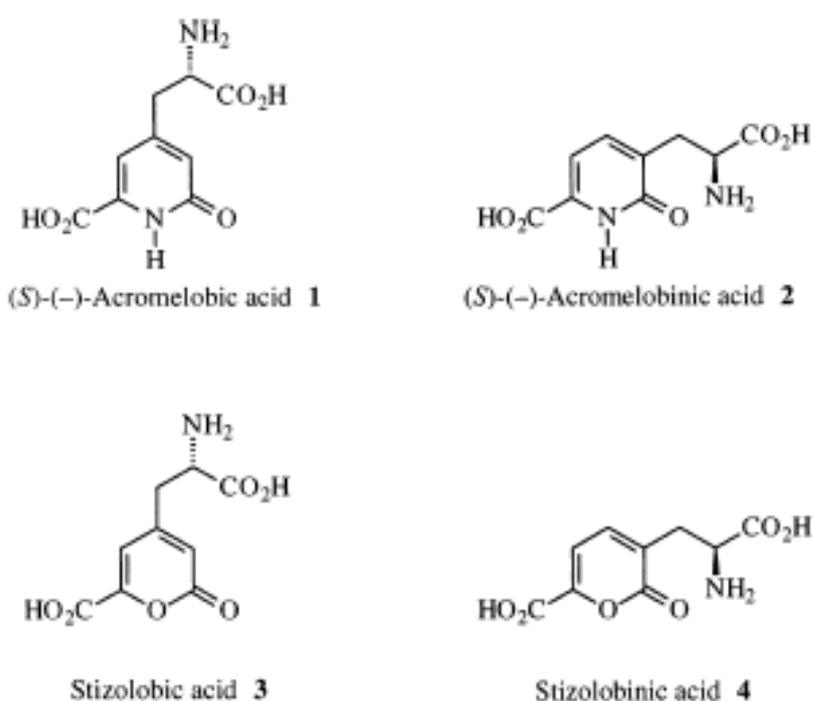


Figure 6 : Structure chimique des précurseurs des acides acroméliques [25]

L'acide acromélobique est la molécule de 3-(6-carboxy-2-oxo-4-pyridyl)-L-alanine. Et l'acide acromélobinique est la molécule de 3-(6-carboxy-2-oxo-3-pyridyl)-L-alanine. Ce sont les composés (5) et (6) sur la figure 5. Dans les études, ils ont montré une faible activité dépolarisante dans les préparations de moelle épinière de rats. Leur activité est encore à l'étude. Ils sembleraient être des précurseurs clés des divers acides acroméliques.

Cependant les autres acides acroméliques dérivés d'intermédiaires pourraient être seulement des produits de dérivation dans la voie de biosynthèse de l'acide acromélique.

1.2.4.3 Les composés : β -cyano-L-alanine et N-(γ -L-glutamyl)- β -cyano-L-alanine

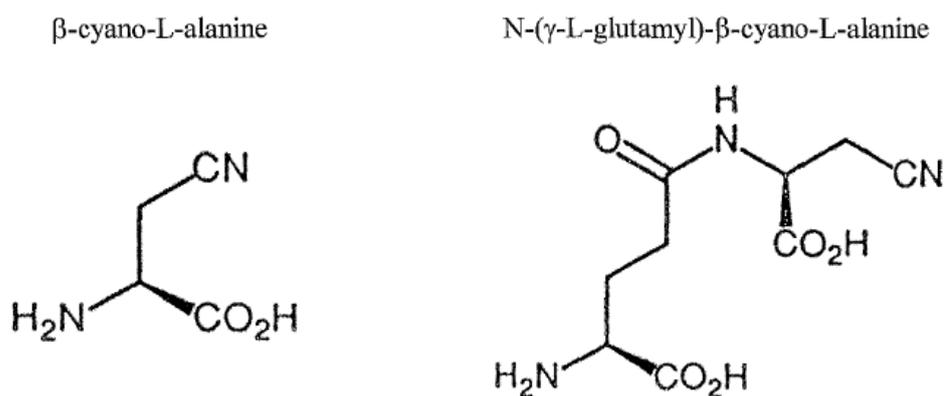


Figure 7 : Structure chimique des composés β -cyano-L-alanine et N-(γ -L-glutamyl)- β -cyano-L-alanine [14]

La β -cyano-L-alanine et le peptide N-(γ -L-glutamyl)- β -cyano-L-alanine, dont les structures chimiques sont représentées ci-dessus, dans la figure 7, ont aussi été isolés du champignon *Clitocybe acromelalga*. Il s'agit de composés cyanogéniques, dont l'un s'est condensé avec un fragment d'acide glutamique. Le *Clitocybe acromelalga* est le premier organisme non chlorophyllien chez lequel on retrouve le composé β -cyano-L-alanine. Ce cyano acide aminé est connu pour produire une hyperactivité, des tremblements et une rigidité. Ces symptômes sont irréversibles [27].

1.2.4.4 Le toxique acide 4-aminopyridine-2,3-dicarboxylique

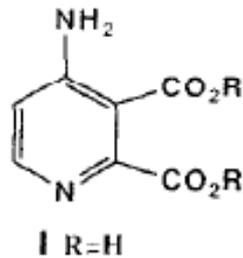


Figure 8 : Structure chimique de l'acide 4-aminopyridine-2,3-dicarboxylique [28]

Un nouveau dérivé pyridine, l'acide 4-aminopyridine-2,3-dicarboxylique représenté sur la figure 8, a lui aussi été isolé de *Clitocybe acromelalga* en 1989. Il n'a pas montré d'activité mais l'acide pyridine-2,3-dicarboxylique, lui, est connu pour produire des lésions touchant les axones, similaires à celles observées dans la maladie d'Huntington [28].

1.2.4.5 La clithionéine

Un acide aminé bêtaïne, la clithionéine, a été retrouvé dans le champignon. Il s'agit d'un composé qui a été reconnu comme n'ayant pas de toxicité [29][30]. La structure chimique de ce composé est représentée dans la figure 9.

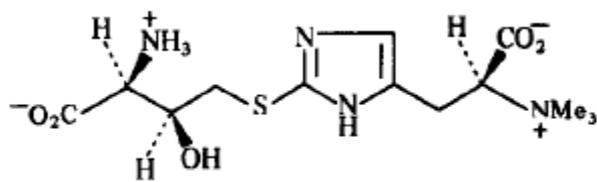


Figure 9 : Structure chimique de la clithionéine [29]

1.2.4.6 La clitidine et la clitidine 5' mononucléotide

Deux autres composés de *Clitocybe acromelalga* ont été isolés. Il s'agit de la clitidine et de la clitidine 5' mononucléotide. Comme les acides acroméliques, ils contiennent un cycle pyridine. C'est ce qui pourrait leur conférer une activité. En effet, la clitidine est considéré comme toxique. La clitidine est le premier exemple de nucléoside pyridine trouvé

à l'état naturel. Sa toxicité a été évaluée par injection intrapéritonéale chez la souris à la dose de 50 mg/kg [30][31].

L'extraction du composé a aussi conduit à l'isolement d'un dérivé d'acide phosphorique, dont les deux structures sont visibles sur la figure 10.

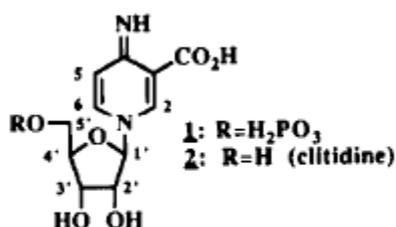


Figure 10 : Structure chimique de la clitidine et de son dérivé d'acide phosphorique [32]

La structure de la clitidine a été déduite du dérivé d'acide phosphorique à partir des données spectrales par résonance magnétique nucléaire, et cette métabolisation, à partir du dérivé d'acide phosphorique pourrait s'effectuer dans le champignon. Le nucléotide pyridine est très rare et cette présence naturelle inattendue suggère une relation biosynthétique avec le NAD : nicotinamide adénine dinucléotide. Les chercheurs ont rapporté la synthèse enzymatique de la clitidine à partir du NAD. Il s'est avéré que la clitidine 5'-mononucléotide s'est aussi montré toxique puisque son injection intrapéritonéale chez la souris a révélé une activité similaire à celle de la clitidine, soit 50 mg/kg [32].

1.2.4.7 Les composés 3-(2-carboxy-4-pyrrolyl)-L-alanine et 3-(2-oxo-5-pyridyl)-L-alanine

D'autres aminoacides, les L-3-(2-carboxy-4-pyrrolyl)-L-alanine (1) et 3-(2-oxo-5-pyridyl)-L-alanine (2), ont été isolés de *Clitocybe acromelalga*.

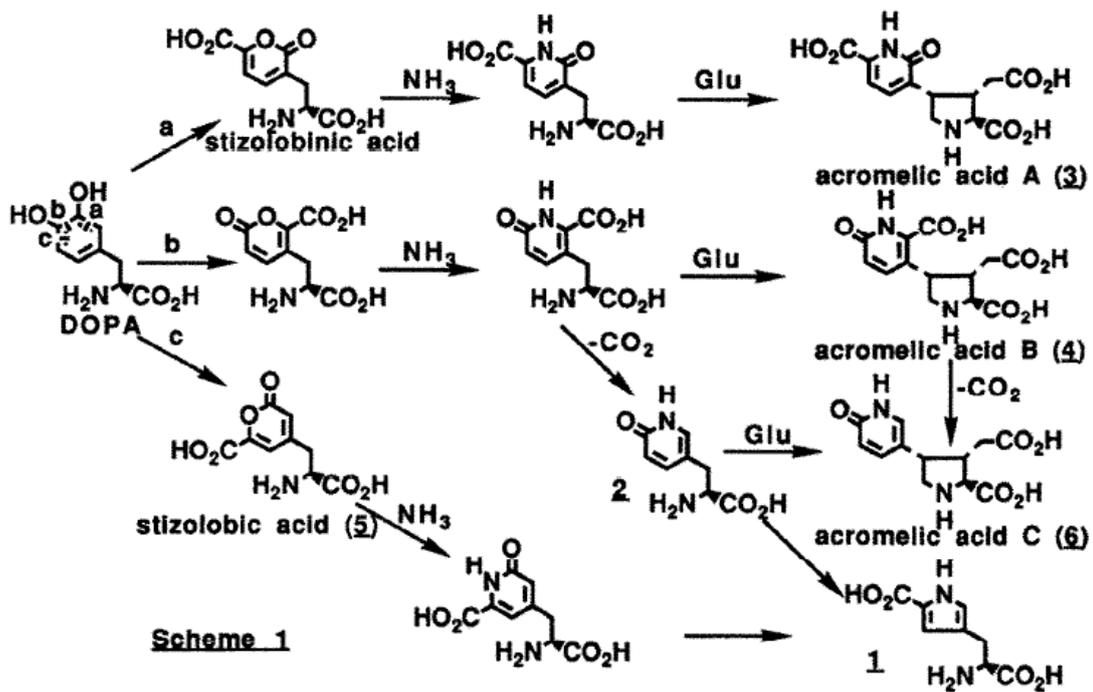


Figure 11 : Schéma de biosynthèse probable des acides acroméliques et de leurs intermédiaires [33]

Le composé (1) dérive du composé (2), ou bien provient de l'acide stizolobique (5). Comme le montre la figure 11, l'acide acromélique C dérive, lui, de la condensation du composé (2) avec l'acide glutamique. Tous les composés de la famille des acides acroméliques obtenus à partir du champignon dérivent de la DOPA, comme le rappelle cette figure.

1.2.4.8 Des aminoacides de type opine

D'autres acides aminés ont été détectés sur les chromatographies avec un comportement différent des acides acroméliques déjà isolés en 1996. Il s'agit des acides aminés de type opine : valinopine (1), épileucinopine (2), isoleucinopine (3), et phénylalaninopine (4).

La figure 12 représente les structures chimiques de ces quatre composés.

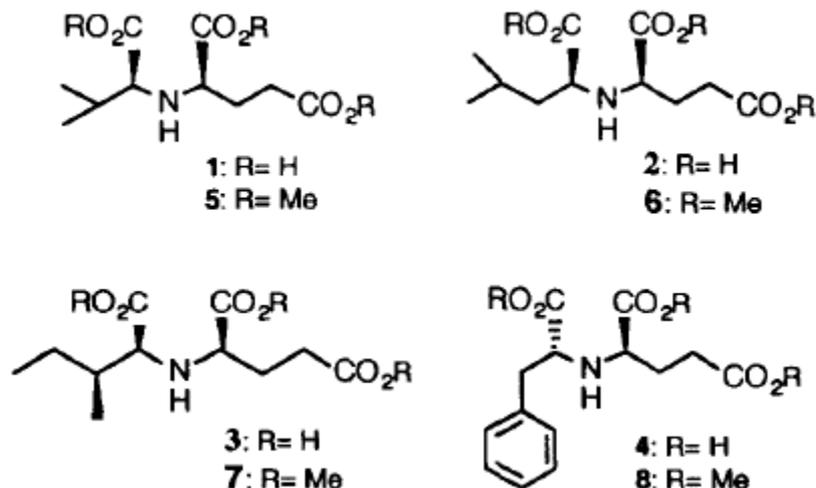


Figure 12 : Structure chimiques des aminoacides opine [34]

Ce sont aussi des dérivés de l'acide glutamique puisqu'ils contiennent tous le squelette de l'acide glutamique. Étant des dérivés du glutamate, ils devraient induire une excitation au niveau des neurones, mais lorsque c'est évalué chez le rat, aucune action ni excitatrice ni inhibitrice n'a été observée à la concentration de 1 μ M [34].

Tous ces composés ont été isolés de *Clitocybe acromelalga*. Les acides acroméliques A, B et C ont aussi été retrouvés chez *Clitocybe amoenolens*. Il faudrait ainsi élargir les études et isoler les différents composés de l'espèce française afin de les comparer avec ceux de l'espèce japonaise. L'intoxication mycologique serait due aux acides acroméliques mais toutes les toxines citées sont susceptibles d'induire un effet. Ces toxines pourraient peut-être exercer un effet synergique. Là aussi, après extraction des composés de *Clitocybe amoenolens*, des études biologiques seraient nécessaires pour comprendre le mécanisme d'action du syndrome acromélagien.

1.2.5 Mécanisme d'action des toxines

Les études ont été faites soit sur *Clitocybe acromelalga*, soit sur *Clitocybe amoenolens*, mais étant donné leurs caractéristiques communes et les effets similaires qu'ils induisent, nous pourrions considérer que les résultats des études peuvent être assimilés aux deux espèces. En effet, les principaux effets sont dus aux acides acroméliques. Ce sont des

analogues structuraux du glutamate qui agissent sur le système nerveux via les voies du glutamate. Nous allons donc préciser le fonctionnement du système glutamate ci-après.

1.2.5.1 Le système glutamate [35][36][37]

- Le glutamate [35][36][37]

Le glutamate, est le principal neurotransmetteur excitateur du système nerveux central (SNC) des mammifères. Les récepteurs du glutamate (GluR) sont classés en deux grandes catégories : les récepteurs ionotropes (iGluR) et les récepteurs métabotropiques (mGluR).

- Les récepteurs ionotropiques sont des canaux ioniques ligand-dépendants et induisent ainsi une réponse excitatrice rapide. Ils ouvrent, suite à la liaison de leur ligand, un canal ionique, qui permet la transmission du signal électrique via les mouvements des ions qui induisent des changements de polarisation de la membrane. Ils sont divisés en 3 groupes :

- Les récepteurs de l'AMPA (alpha-amino-3-hydroxy-5-méthylisooazol-4-propionate)
- Les récepteurs Kainate
- Les récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate)

Les deux premiers types de récepteurs sont appelés « récepteurs de type non-NMDA » :

- Les récepteurs de l'AMPA sont eux-mêmes divisés en 4 sous types de récepteurs : iGluR 1 à iGluR 4.
- Les récepteurs Kainate comprennent 5 sous types de récepteurs : iGluR 5, iGluR 6, iGluR 7, KA1 et KA2, qui présentent une forte affinité et expriment une activité agoniste complète lors de la liaison avec l'acide Kainique.

Les récepteurs NMDA sont plus nombreux et sont divisés en sous types : NR1, 2A-D, 3A-C.

- Les récepteurs métabotropiques mGluR sont des récepteurs couplés aux protéines G. Ils produisent ainsi une transduction du signal plus lente à travers les systèmes de seconds messagers. Aujourd'hui, huit sous-types, mGluR1 à mGluR8, ont été identifiés. Ils sont regroupés en trois groupes sur la base du second messenger, de sa pharmacologie et de sa biologie moléculaire impliqués :
- Groupe I : sous-types mGluR1,5 ;
- Groupe II : sous-types mGluR2,3 ;
- Groupe III : sous-types mGluR4,6-8.

La terminaison du signal excitateur et donc l'élimination du glutamate de la fente synaptique est réalisée via la médiation des transporteurs d'acides aminés excitateurs (EAAT). Aujourd'hui, cinq sous-types d'EAAT ont été identifiés dont EAAT1 à 4 qui sont présents dans le Système Nerveux Central, alors que EAAT5 est exclusivement dans la rétine. Les transporteurs EAAT1 à 3 présentent une grande capacité de transport de l'acide glutamique à travers la membrane, tandis que EAAT4 et EAAT5 fonctionnent principalement sous forme de canaux chlore [36].

Les récepteurs NMDA sont liés à un canal ionique perméable au calcium (Ca^{2+}), au sodium (Na^+) et au potassium (K^+). Ils sont magnésium (Mg^{2+}) voltages dépendants. Les récepteurs NMDA agissent en tant que médiateur des potentiels post-synaptiques excitateurs lents. L'activation de ces récepteurs entraîne l'activation de la protéine kinase C (PKC) ainsi que la production d'oxyde nitrique (NO) via l'activation de Ca^{2+} / calmoduline de l'oxyde nitrique synthase (NOS). Les récepteurs AMPA et Kainate sont eux couplés à des canaux ioniques perméables au (Na^+) et au (K^+), et, dans certaines configurations (ceux qui ne possèdent pas la sous-unité iGluR2), au (Ca^{2+}) [37]. Ces différents récepteurs du glutamate sont schématisés sur la figure 13 suivante.

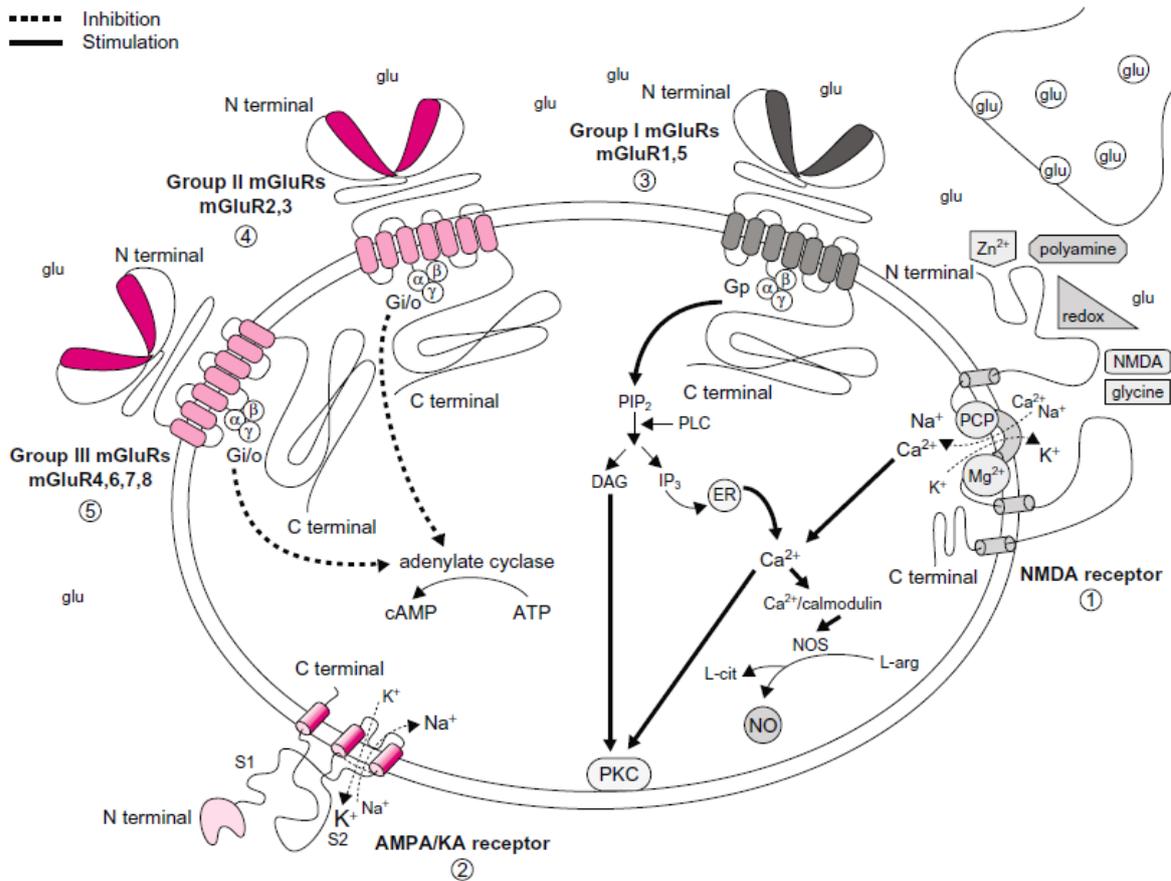


Figure 13 : Les différents récepteurs du système glutamate [37]

Le glutamate est présent dans tout le cerveau, la moelle épinière et les terminaisons nerveuses périphériques (chez les animaux et les humains). Il est libéré en réponse à une stimulation nociceptive (électrique ou chimique) et aux lésions tissulaires ou nerveuses. Il induit une dépolarisation neuronale, un engorgement et une neurotoxicité. La stimulation électrique des fibres afférentes primaires induit également la libération de glutamate et d'aspartate dans la moelle épinière du rat. Le NMDA, lui, active les neurones afférents primaires chez le rat également [37].

Le système glutamate est impliqué dans des processus neurophysiologiques importants tels que la mémoire, l'apprentissage, le contrôle des fonctions motrices ainsi que la plasticité et le développement des neurones. Une signalisation excessive de glutamate est neurotoxique et pourra entraîner la mort neuronale, mais les actions du glutamate semblent être plus complexes. L'étude du rôle d'un sous-type de récepteur du glutamate spécifique dans les processus neurologiques, ainsi que dans les états physiopathologiques, et le

développement de ligands sélectifs de ces sous-types sont essentiels pour comprendre davantage le mécanisme d'action de ce système glutamate.

- L'acide Kaïnique

Les récepteurs Kaïnate sont présents dans le système nerveux central, et seraient présents à la fois au niveau pré-synaptique, et au niveau post-synaptique. Ainsi ces récepteurs pré- et post-synaptiques régulent spécifiquement la transmission et l'excitabilité. Une stimulation trop importante du système glutamate entraîne des troubles neurologiques tels que, la sclérose latérale amyotrophique, l'épilepsie ou peut entraîner un accident vasculaire cérébral.

L'acide Kaïnique est une neurotoxine puissante qui endommage les neurones et induit une dégénérescence temps-dépendante. Il produit une neurodégénérescence mais il produit aussi des changements au niveau vasculaire. Il peut, par exemple induire une hypertrophie des cellules gliales, un détachement des péricytes (les cellules qui composent la paroi de l'endothélium des vaisseaux, des capillaires sanguins), et pour finir une dysfonction endothéliale [35]. Ceci pourrait expliquer les phénomènes vasculaires observés dans l'érythermalgie, à savoir l'inflammation et la rougeur locale, au moment des crises.

L'acide Kaïnique, l'acide domoïque, sont des analogues de structure du glutamate. Ces toxines ont été retrouvées dans des algues marines telles que *Digenia simplex*, *Nitzschia pungens* [38].

L'acide Kaïnique et l'acide domoïque induisent la formation de corps de Charnoly en particulier dans les neurones et les cellules de Purkinje. Les corps de Charnoly sont des débris de membranes mitochondriales, et leur formation est accélérée par le stress oxydatif que les neurotoxines induisent. Cette formation des corps de Charnoly est une phase réversible et transitoire entre la dégénérescence mitochondriale et l'apoptose. L'apoptose est la mort cellulaire programmée, un processus par lequel, les cellules déclenchent leur autodestruction en réponse à un signal.

Les métallothionéines sont des protéines qui participent à la détoxification des organes et des cellules. Elles recyclent les mitochondries de ces corps de Charnoly. Dans les maladies neurodégénératives telles que la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer, ces corps de Charnoly sont les précurseurs précoces des corps de Lewy (maladie de Parkinson) et des

plaques amyloïdes (maladie d'Alzheimer). Il est bien sûr question ici de maladies neurodégénératives avec formation de corps de Charnoly induits par les acides domoïque et Kainique, mais nous l'avons vu, ces deux neurotoxines, avec l'acide acromélique sont des analogues structuraux du glutamate. Ainsi l'acide acromélique pourrait également induire la formation de ces corps de Charnoly. Le Zinc physiologique, cation divalent, inhibe la formation des corps de Charnoly en induisant les métallothionéines, car ces protéines ont la capacité de fixer avec forte affinité les ions métalliques. Par conséquent, une supplémentation en Zinc pourrait apporter une neuro-protection par induction des métallothionéines et ainsi inhiber la formation des corps de Charnoly. Des agents thérapeutiques visant à augmenter ces métallothionéines pourraient faciliter le développement de nouveaux agents thérapeutiques pour le traitement de maladies neurodégénératives progressives telles que la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer [38]. Il faudrait, à l'aide de recherches et d'études, déterminer si ces métallothionéines pourraient avoir un effet bénéfique dans le traitement des symptômes du syndrome acromelalgien.

1.2.5.2 Les acides acroméliques : mécanismes d'action

Les différentes études sur les animaux amènent à des observations sur les effets de ces acides acroméliques. Il est souvent question d'allodynie induite. L'allodynie est définie par la survenue d'une douleur déclenchée par un stimulus qui normalement ne provoque aucune douleur.

- Observations des effets des acides acroméliques

Dans une étude, des doses croissantes de *Clitocybe ameonolens* ont été administrées de manière randomisée, c'est à dire aléatoire, chez des rats. Sur 4 rats, 2 ayant reçu les doses les plus élevées ont eu une perte de poids corporel, avec des signes d'érythèmes au niveau des pattes, ainsi qu'une diminution de la motricité. L'examen des nerfs sciatiques a révélé une dégénérescence des fibres des neurones et une diminution de la densité des axones qui permettent la conduction du signal électrique entre les neurones. Des vacuoles contenant des débris de myéline ont été observées dans les cellules de Schwann ainsi que des macrophages [39]. Les cellules de Schwann, qui sont des cellules gliales, n'existent qu'au

niveau du système nerveux périphérique et assurent la myélinisation. Cette étude révèle que les effets causés par *Clitocybe ameonolens* sont dose-dépendants puisque les rats ayant reçu les doses les plus faibles n'ont eu aucun dommage. Ces dommages semblent de plus, localisés au niveau du système nerveux périphérique. Les acides acroméliques provoquent aussi une série de symptômes comportementaux anormaux, tels qu'une extension tonique initiale marquée des membres postérieurs, suivie souvent de graves crises tonico-cloniques, une paraplégie flasque transitoire, et de graves paraplégies spastiques chez le rat [46].

- Action sur le système Glutamate, potentiellement ciblée sur les récepteurs AMPA

Les acides acroméliques sont des Kanoïdes apparentés au glutamate, et par conséquent, nous déduisons qu'ils exercent une activité grâce aux récepteurs du glutamate. L'acide acromélique à la concentration de 1 mM déplace 60% de la liaison spécifique du glutamate marqué sur un motoneurone de la blatte. Il produit une dépolarisation lente, prolongée et dose dépendante de la membrane du corps cellulaire. Il a aussi provoqué une augmentation de la conductance membranaire [40]. Il y a donc bien une action sur les récepteurs du glutamate. Sur des neurones rachidiens de rats, l'acide acromélique dépolarise les cellules de manière dose dépendante et à des doses plus faibles que l'acide Kaïnique et l'acide domoïque. Cela confirme la puissance du composé. De plus, la dépolarisation n'est pas affectée par les antagonistes de la classe des récepteurs NMDA [40]. Ce qui supposerait qu'il n'y ait pas ou peu d'action sur les récepteurs NMDA. Une action sur ces récepteurs n'est pas écartée. L'acide acromélique potentialise les réponses au glutamate, tout en réduisant les réponses au quisqualate, qui est un agoniste des récepteurs AMPA, sur une jonction neuromusculaire de l'écrevisse *Procambarus clarkii* [40]. Il y aurait potentiellement une action ciblée sur les récepteurs AMPA. Mais le profil pharmacologique ne correspond pas bien à celui trouvé chez les mammifères, avec les différents sous types de récepteurs de glutamate. Une partie des récepteurs du glutamate dans le cerveau des mammifères appartiennent au type NMDA. Dans le système nerveux des insectes, la blatte en l'occurrence, le glutamate est incapable de déplacer une quantité importante de glutamate des sites de liaison. Le glutamate produit lui-même une réponse biphasique, une réponse hyperpolarisante transitoire initiale suivie d'une dépolarisation plus lente. L'acide acromélique semble agir sur un site distinct du canal chlorure déclenché par le glutamate [40].

Il a été montré que les Kanoïdes se lient et activent les récepteurs Kainate et AMPA mais pas les récepteurs NMDA parmi les récepteurs ionotropiques du glutamate [41][42]. L'acide acromélique, tout comme l'acide Kainique provoque une forte dépolarisation des neurones mais ses effets *in vivo* sur l'induction d'effets pathologiques sont différents de ceux de l'acide Kainique suggérant qu'il y a 2 sous types de récepteurs Kanoïdes distincts pour les acides acromélique et Kainique. Par conséquent, le récepteur réel de l'acide acromélique et sa voie de signalisation sont encore à déterminer.

L'administration d'AMPA et NMDA, chacun agoniste spécifique pour les récepteurs à l'AMPA et le NMDA, provoque l'allodynie chez la souris. L'acide acromélique A, isolé de *Clitocybe acromelalga*, induit également l'allodynie chez la souris par administration intrathécale. Cela correspond à une injection intrarachidienne ou injection spinale.

L'acide acromélique A possède une affinité plus élevée pour le récepteur AMPA que le récepteur Kainate et son comportement *in vivo* ainsi que les effets pathologiques sont différents de ceux de l'acide Kainique. L'acide Kainique, lui, induit une dépolarisation et des changements comportementaux assez différents de ceux induits par l'acide acromélique. Il induit également des lésions histologiques dans les cellules CA1 et pyramidales de l'hippocampe, mais pas dans la moelle épinière [46].

L'injection continue d'acide acromélique A provoque une paraparésie spastique dose dépendante accompagnée d'une dégénérescence sélective des interneurons des lames II - IV de la moelle épinière, contrastant avec des lésions neuronales non sélectives induites par l'acide Kainique et l'AMPA. Cette dégénérescence sélective des interneurons dans les lames II-IV, qui se situent dans la corne dorsale de la moelle épinière, avec une augmentation du calcium intracellulaire se fait dans les lames profondes plutôt que dans les lames superficielles de la moelle épinière [46]. Ces changements comportementaux et morphologiques ont été améliorés par la perfusion d'un antagoniste des récepteurs non NMDA (AMPA/Kainate) mais pas par un antagoniste des récepteurs NMDA. L'acide acromélique A provoquerait donc les douleurs via les récepteurs AMPA, et des études montrent l'existence d'un récepteur spécifique de l'acide acromélique A, distinct du récepteur ionotrope AMPA du glutamate déjà connu [42].

Mais une action sur les récepteurs NMDA ne doit pas être écartée, car le mécanisme d'action des acides acroméliques semble complexe et ne semble pas être ciblé seulement

sur les récepteurs AMPA. Les acides acroméliques sont des analogues de structure du glutamate et peuvent avoir des récepteurs multiples.

Les symptômes et les effets observés causés par les acides acroméliques de *Clitocybe acromelalga* et *Clitocybe amoenolens* se rapprochent de ceux des pathologies neuropathiques. Identifier un récepteur impliqué dans l'induction de l'allodynie, peut fournir une nouvelle cible visant à développer des médicaments analgésiques dans le traitement des douleurs neuropathiques. Pour rappel, l'allodynie est la survenue d'une douleur déclenchée par un stimulus qui normalement ne provoque aucune douleur, ce qui est retrouvé dans les douleurs périphériques entraînées par la consommation de ces champignons.

L'effet de l'acide acromélique A peut être évalué uniquement par des études pharmacologiques comportementales chez l'animal. Il convient de souligner que l'acide acromélique A exerce son effet à des doses extrêmement faibles (1 à 10 fg / souris), suggérant un niveau bas d'expression du récepteur responsable. Il n'existe actuellement aucune information sur le type de cellules exprimant le récepteur qui est activé par l'acide acromélique A pour induire l'allodynie. Ainsi, la détermination des tissus cibles et du type de cellules dans lesquelles l'acide acromélique A exerce son effet *in vivo* est la première étape pour identifier le récepteur.

Les dommages neuronaux induits par les Kanoïdes partagent plusieurs points communs avec les graves lésions neuronales, qui ont lieu lorsque les récepteurs du glutamate sont trop activés. Ainsi la détermination du mécanisme moléculaire toxique de l'acide acromélique et les fonctions des récepteurs associés, contribuerait au développement des études sur les maladies neuronales [41].

- Des analogues pour étudier la cible des acides acroméliques

Afin d'étudier les effets de l'acide acromélique sur les récepteurs des Kanoïdes, des analogues ont été synthétisés avec des structures simplifiées et ont été utilisés comme sonde biochimique. L'analogue (5b), dont la formule est représentée sur la figure 14, a exercé une activité biologique équivalente à l'acide acromélique A naturel, ce qui suggère que les 2 composés se lient éventuellement sur une même cible.

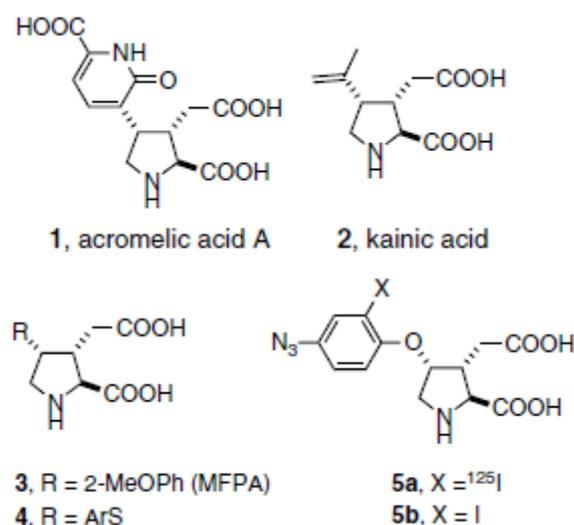


Figure 14 : Structure chimique de l'analogue (5b) de l'acide acromélique A [41]

L'analogue utilisé présente une fonction azoture, ayant ainsi une structure simplifiée mais possédant des activités biologiques similaires à l'acide acromélique A. L'analogue est utilisé pour identifier les récepteurs de l'acide acromélique, par technique d'étiquetage par photo affinité, mais aussi pour étudier la voie de signalisation du récepteur. Pour créer une sonde de photo activité, il faut une unité photo-activable, soit un groupe azoture, soit un marqueur fluorescent. La fonction azoture est de formule HN₃, et se trouve particulièrement réactive. La structure moléculaire de l'acide acromélique rend le marquage par photo affinité difficile car sa fonction acide pyrrolidine dicarboxylique est essentielle à l'activité Kanoïde, donc il n'est pas vraiment possible de la modifier.

Il est à noter que l'acide acromélique induit une allodynie, alors que l'acide Kainique n'induit pas d'allodynie. Pour rappel, l'allodynie est la survenue d'une douleur déclenchée par un stimulus qui normalement ne provoque aucune douleur. Cela suggère l'existence d'une voie de signalisation différente et qui est possiblement médiée par un nouveau récepteur spécifiquement activé par l'acide acromélique. L'analogue (5a) a été construit sur la base des analogues (3) et (4). L'analogue (5b), le composé non radioactif, a induit l'allodynie avec la même puissance que l'acide acromélique, comme peut le montrer la figure 15. Il faut donc supposer que l'acide acromélique et le composé synthétisé partagent l'un des récepteurs cibles.

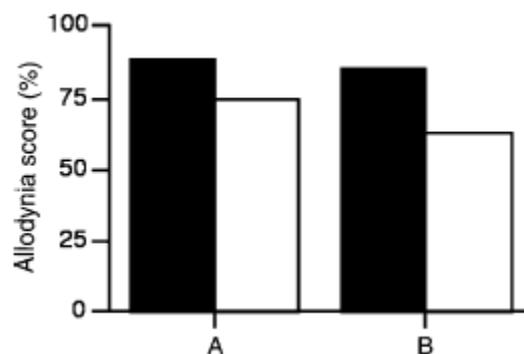


Figure 15 : Effet de l'acide acromélique et son analogue sur l'allodynie [41]

(A) correspond à l'acide acromélique. (B) correspond à l'analogue utilisé. Les barres pleines sont les doses des composés administrés à la concentration de 1 fg/kg, et les barres creuses à la dose de 10 fg/kg. On mesure le pourcentage d'induction de douleur.

En dépit des différences de structure et de position du noyau phényle entre le composé analogue et l'acide acromélique, l'induction de l'allodynie semble très similaire. Cette préservation d'activité est intrigante. Il faut supposer que le cycle phényle ou le substituant hydrophobe en C4 du cycle pyrrolidine joue un rôle essentiel dans la liaison spécifique bien qu'aucune information sur l'interaction entre l'acide acromélique et son récepteur n'existe. L'analogue pourra être utilisable comme sonde biochimique avec des activités biologiques comparables à l'acide acromélique naturel. Il est utilisable non seulement comme sonde pour le marquage de photo affinité mais aussi comme outil biochimique pour étudier la voie de signalisation du récepteur de l'acide acromélique. La simplicité de synthèse permettrait des modifications structurelles diverses pour de plus amples recherches sur les activités des Kanoïdes [41].

D'autres analogues ont été synthétisés. Un traceur, analogue de l'acide acromélique est utilisé comme outil pour étudier le mode d'action de l'acide acromélique A dans l'induction de l'allodynie. La technique utilisée pour synthétiser ce traceur utilise la tomographie par émission de positons (TEP). La TEP permet l'analyse cinétique *in vivo* de substances biologiquement actives avec une sensibilité ultra-élevée.

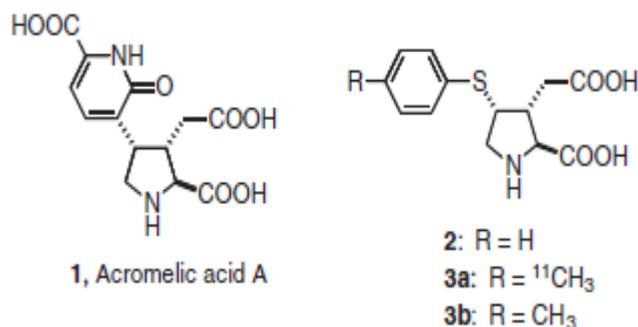


Figure 16 : Structure chimique de l'acide acromélique comparée à son analogue TEP [42]

L'analogue (2) avec un groupe phénylthio au lieu d'un groupe pyridone en C-4 du squelette de la pyrrolidine représenté sur la figure 16, supprime l'allodynie induite par l'acide acromélique A. L'allodynie induite par l'acide acromélique A est bloquée de façon dose dépendante avec une valeur DL50 de 2,19 fg/souris lorsque l'analogue (2) a été injecté simultanément avec l'acide acromélique A (à la dose de 1 fg/souris). L'effet de l'analogue est spécifique à l'allodynie sans affecter les propriétés thermiques, la nociception mécanique, ou encore les phénomènes inflammatoires. Cela suggère que l'analogue et l'acide acromélique A partagent le récepteur avec la même affinité. Un autre analogue (3) a été créé pour être utilisé en tant que traceur TEP. Comme pour l'analogue (2), l'analogue (3) n'induit pas l'allodynie. La réponse allodynique des souris aux stimuli a ensuite été évaluée lorsque l'analogue (3) a été injecté simultanément avec l'acide acromélique A (1 fg/souris). Comme le montre la figure 17, le composé (3) a bloqué l'allodynie induite par l'acide acromélique A de manière dose dépendante avec une puissance équivalente à l'analogue (2), concluant sur la validité de la conception de l'analogue (3) comme traceur TEP.

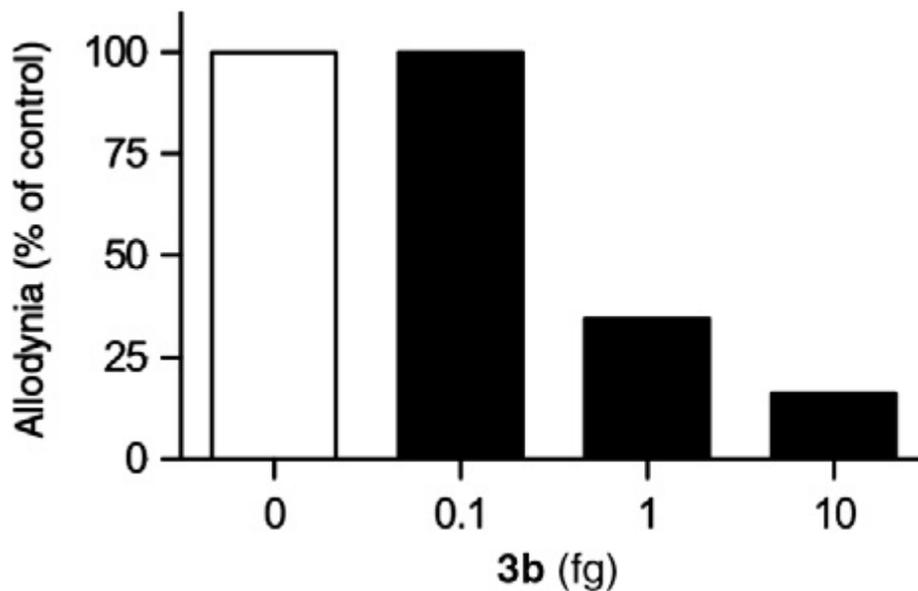


Figure 17 : Blocage de l'allodynie induite par l'acide acromélique par le traceur TEP [42]

Le traceur est utilisable comme sonde pour explorer le site d'action de l'acide acromélique A *in vivo*, et ainsi pourquoi pas, identifier son récepteur cible impliqué dans l'induction de l'allodynie. Des études sont en cours en utilisant le traceur afin d'élucider le mécanisme moléculaire de cette allodynie contre laquelle les anti-inflammatoires, les opioïdes ne sont pas efficaces [42]. Cela pourrait permettre d'étendre ces études à l'érythermalgie due à *Clitocybe acromelalga* et ainsi découvrir le mécanisme d'action des toxines pour en trouver un traitement efficace.

- Localisation des cibles des acides acroméliques

L'action de l'acide acromélique sur les afférences primaires des tissus somatiques reste encore inconnue. L'acide acromélique A possède une puissante action excitatrice sur les fibres musculaires afférentes non myélinisées (mécanosensibles) dans le muscle squelettique du rat. Ce sont les fibres C, qui sont sensibles à la fois à la température et à la douleur. Une injection d'acide acromélique A à la concentration de 10^{-10} M induit une excitation des fibres non myélinisées plus forte qu'aux concentrations de 10^{-12} M ou 10^{-8} M. Il existe des fibres sensibles à l'acide acromélique et des fibres non sensibles. La réponse des fibres sensibles est significativement plus élevée lorsque l'acide acromélique est à la concentration de 10^{-10} M et 10^{-8} M que celle à 10^{-12} M. Les réponses aux stimulations

mécaniques et thermiques ne diffèrent pas entre les fibres sensibles et les fibres non sensibles à l'acide acromélique A [43].

L'acide acromélique A en injection par voie intrathécale, produit une lésion sélective des interneurons inhibiteurs de la moelle épinière au niveau lombaire du rat [39][43], ce qui suggère que cette intoxication aux champignons est d'origine périphérique. L'allodynie induite apparaît 5 min après l'injection et se prolonge sur une longue durée. Cette allodynie est bloquée seulement par les antagonistes du récepteur NMDA et la toxine Joro, qui est un antagoniste du récepteur AMPA perméable au calcium (Ca^{2+}), mais pas par d'autres antagonistes communs aux récepteurs AMPA et Kainate. Il y aurait donc bien une action sur les récepteurs NMDA, en plus d'une action ciblée sur un récepteur de type AMPA. La réponse des fibres sensibles à l'acide acromélique A, analysée avec d'autres stimuli lorsqu'il est à la concentration de 10^{-10}M , montre que la réponse à l'excitation induite n'est pas significativement différente entre les fibres thermo sensibles et insensibles.

L'étude de Taguchi T, Tomotoshi K, Mizumura K. 2009 [43] a démontré l'action excitatrice puissante de l'acide acromélique A sur les afférences musculaires amyéliniques. La moitié des fibres C mécaniquement sensibles présentes dans le muscle squelettique présentaient une sensibilité à l'acide acromélique A. Les réponses mécaniques et thermiques des fibres C musculaires n'étaient pas significativement différentes entre les fibres sensibles et les fibres insensibles à l'acide acromélique, suggérant que la sensibilité à l'acide acromélique n'était pas déterminée par la sensibilité mécanique ou thermique. Des récepteurs pourraient être présents indépendamment de la présence ou de l'absence de mécanorécepteurs ou de canaux ioniques transducteurs de chaleur.

Les mécanismes de l'intoxication aux clitocybes sont encore inconnus. L'ingestion de quelques champignons semble suffire à développer les symptômes. La concentration d'acide acromélique A a été estimée à $283 \mu\text{g} / \text{g}$ chez *Clitocybe acromelalga*. Bien qu'il n'y ait pas de rapports détaillés sur la quantité, un champignon de 10 g serait suffisant pour induire l'empoisonnement. Mais selon les études, les résultats divergent en ce qui concerne les concentrations de toxine nécessaire pour induire une excitation neuronale. Cela peut être dû aux rats utilisés, aux espèces, au stade d'évolution et de développement des rats. La moitié des afférences musculaires amyélinisées mécano-sensibles sont sensibles à l'acide acromélique. Un résultat similaire pourrait être attendu aussi dans la peau. Dans le tissu cutané, l'excitation forte et durable des fibres C pourrait provoquer une inflammation

neurogène par la libération de puissants neuropeptides vasodilatateurs et pro-inflammatoires tels que la substance P et le peptide lié au gène de la calcitonine (CGRP). Il est possible que l'excitation forte et durable des fibres C induite par l'acide acromélique A provoque une inflammation neurogène, ce qui expliquerait les symptômes semblables à l'érythermalgie dans la périphérie du corps, et en particulier au niveau des membres supérieurs et inférieurs.

Les récepteurs Kainate se retrouvent également dans les afférences périphériques. Mais les effets excitateurs de l'acide acromélique et de l'acide Kainique sont différents. L'acide Kainique ne provoque pas de douleur/allodynie, ni de rougeur. L'administration des acides acroméliques A et B provoque des lésions limitées aux neurones spinaux inférieurs alors que l'administration d'acide Kainique entraîne des lésions neuronales sélectives dans le système limbique (thalamus, hypothalamus, hippocampe) [43][46].

L'allodynie induite par l'acide acromélique A est bloquée par les antagonistes des récepteurs NMDA, et par la toxine Joro qui est un antagoniste des récepteurs AMPA Ca⁺⁺. Il y a des preuves que des récepteurs NMDA existent dans les afférences musculaires. Donc l'action pourrait s'effectuer via les récepteurs NMDA et AMPA périphériques mais les antagonistes communs aux récepteurs AMPA/Kainate n'ont aucun effet sur l'allodynie. Cela suggère que l'acide acromélique serait stéréospécifique [43].

Pour résumer, les acides acroméliques auraient une action sur le système nerveux périphérique au niveau des interneurons des lames II-IV de la corne dorsale de la moelle épinière au niveau lombaire. Cette action se ferait sur les afférences musculaires amyéliniques.

Les toxines agissent via le système du glutamate en ciblant des récepteurs qui ne sont pas encore réellement identifiés. Cette action serait ciblée sur des récepteurs de type NMDA et un type de récepteur AMPA spécifique. Des analogues avec des structures simplifiées utilisés comme sonde ou traceur sont à l'étude pour étudier le mécanisme précis de ces acides acroméliques.

Une étude s'est penchée sur ce site AMPA, que pourrait cibler les acides acroméliques de *Clitocybe acromelalga*, en synthétisant un analogue de l'acide acromélique A. Mais il s'agit d'un analogue et il ne reflète pas exactement le mécanisme potentiel de notre toxine. Les structures de ces composés sont représentées dans la figure 18.

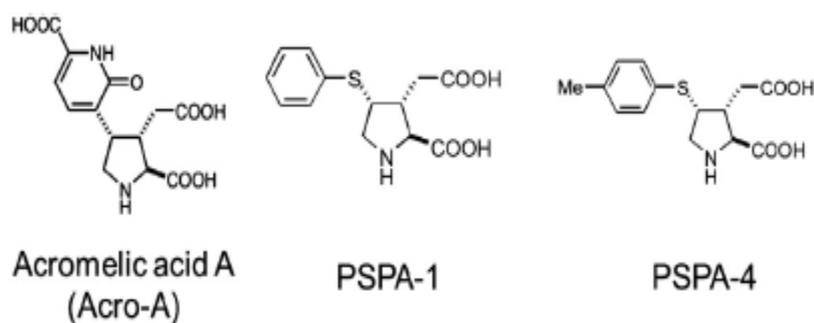


Figure 18 : Structure chimique des analogues PSPA-1 et PSPA-4 de l'acide acromélique A [44]

L'analogue PSPA-4, acide (2S,3R,4R)-3-carboxyméthyl-4-(4-méthylphénylthio)pyrrolidine-2-carboxylique, inhibe l'allodynie induite par l'acide acromélique A de manière dose-dépendante de 1 à 10 femtogrammes/souris, mais le PSPA-4 lui-même induit une allodynie de 10 à 100 picogrammes/souris.

PSPA-4 était spécifiquement lié au cerveau (l'hippocampe, le putamen caudé, et le cortex cérébral) et à la moelle épinière du rat, et la liaison était significativement déplacée par l'acide Kaïnique, mais pas par l'AMPA ni par les antagonistes des récepteurs NMDA, AMPA/Kaïnate. Un site de liaison unique aurait été identifié dans le mésencéphale et la moelle épinière [44].

Le Kaïnate marqué, lui, était spécifiquement lié au cerveau du rat et à la corne dorsale de la moelle épinière, et la liaison était significativement déplacée par l'analogue PSPA-4. L'allodynie induite par l'analogue était bloquée par l'antagoniste commun aux récepteurs AMPA/Kaïnate : GYKI53655, mais pas par les antagonistes spécifiques des récepteurs Kaïnate : NS102 et UBP296. L'analogue PSPA-4 a augmenté la concentration de Ca²⁺ intracellulaire de façon plus importante que le Kaïnate (27,9% des neurones ganglionnaires de racines dorsales de la préparation, contre 10,9%). Les neurones des ganglions des racines dorsales expriment pour la plupart des sous-unités du récepteur Kaïnate, principalement GluK1, mais n'expriment pas les récepteurs AMPA.

Cela suggère que PSPA-4 agit via un site de liaison différent des antagonistes connus du Kaïnate, mais il semble qu'il ne soit pas encore identifié. La liaison de PSPA-4 a été significativement réduite par l'acide Kaïnique dans le cerveau et la moelle épinière. Dans la moelle épinière, la liaison de PSPA-4 était significativement déplacée par l'AMPA, pas par l'antagoniste des récepteurs AMPA : NBQX. Cela suggère que l'action se fait via un récepteur

non NMDA, mais qui est spécifique, et qui aurait des propriétés communes avec les récepteurs AMPA et Kainate.

GYKI53655, un antagoniste commun aux récepteurs Kainate GLUK2/3 et GLUK3 est testé pour vérifier l'action sur des récepteurs Kainate et cibler un peu plus le type de récepteur qui pourrait être impliqué. Il inhibe l'allodynie induite par PSPA-4, mais celle-ci n'est pas bloquée par l'antagoniste de GLUK1 (UBP296) et l'antagoniste commun aux récepteurs GluK1 et GluK2 (NS102). Par manque d'antagoniste sélectif des récepteurs GluK3, il n'a pas été possible de déterminer si ce récepteur était impliqué dans l'allodynie induite par PSPA-4.

Puisque GYKI53655 était beaucoup plus efficace sur les récepteurs GluK1 que GluK2 / GluK3 et GluK3, il est aussi possible que GYKI53655 ait inhibé l'allodynie induite par PSPA-4 via les récepteurs AMPA ou des récepteurs non identifiés dans la moelle épinière.

Cela s'applique au PSPA-4, et pourrait être transposé aux acides acroméliques, mais les récepteurs restent encore inconnus.

1.2.5.3 Les acides acroméliques : une phase précoce et une phase tardive

Une étude a montré qu'il y aurait deux phases à l'allodynie induite par l'acide acromélique A. Une phase précoce et une phase tardive. Les mécanismes mis en jeu semblent différents entre les deux phases.

L'administration d'acide acromélique A provoque chez les souris une allodynie tactile qui se traduit par l'activation des récepteurs NMDA du glutamate et par la voie neuronale de l'oxyde nitrique synthase (nNOS) [45]. Nous l'avons vu, il pourrait aussi exercer une action via un récepteur de type AMPA, qui lui est spécifique mais qui n'est pas encore identifié. L'activation des récepteurs NMDA, de la voie nNOS, et des cellules gliales (astrocytes et cellules microgliales) joue un rôle dans le maintien de la douleur neuropathique. Les cellules gliales sont les cellules environnantes des neurones et participent à leur bon fonctionnement.

Afin de déterminer les mécanismes mis en jeu dans les deux phases, différents composés ont été administrés. Ce sont des ligands $\alpha 2\delta$ des récepteurs des canaux calciques Ca^{2+} (prégabaline et gabapentine, L-leucine, L-isoleucine), des antagonistes des récepteurs NMDA (MK-801) et AMPA (STX), des inhibiteurs de la voie nNOS (L-NAME), et de la Ca^{2+} /calmoduline Kinase II (KN-93 et KN-92).

Ils ont été injectés simultanément avec l'acide acromélique A, et tous ont bloqué l'allodynie en phase précoce, soit 5 minutes après l'injection, cependant ils ne l'ont pas bloquée quand ils sont administrés en phase tardive, soit 7 jours après l'injection d'acide acromélique A [45].

Afin de bloquer l'activation des cellules gliales, un inhibiteur astrocytaire, le L- α -amino adipate (LAA) ou un inhibiteur de la microglie, la minocycline, ont été administrés et l'allodynie a été évaluée au jour 7. Les activations de la voie nNOS et des cellules gliales ont été ensuite évaluées à 1 heure, et 1 semaine après une injection d'acide acromélique A. L'activité de nNOS augmentait 1 heure après l'injection, mais n'a pas augmenté en phase tardive, 7 jours après l'injection. A l'inverse, l'activation des cellules gliales s'est observée une semaine après l'injection et a été inhibée par le traitement à la minocycline. Cette étude prouve que l'activation du récepteur NMDA n'est impliquée que dans la phase précoce, alors que les astrocytes sont activés lors de la phase tardive.

Le glutamate active les récepteurs AMPA alors que les récepteurs NMDA restent silencieux. En revanche dans un contexte d'inflammation et de lésion nerveuse, la quantité de neurotransmetteurs augmente, augmentant ainsi le potentiel de membrane et cela suffit à la dépolarisation des récepteurs NMDA. Le résultat est une libération de calcium intracellulaire qui conduit à l'activation des enzymes dépendantes, telles que la Ca²⁺/calmoduline kinase II, la phospholipase A₂, l'oxyde nitrique synthase, la prostaglandine E₂ et la voie de l'oxyde nitrique NO. Après une inflammation ou une lésion nerveuse, les cellules gliales sont donc activées, libérant des cytokines pour moduler l'activité neuronale et la plasticité synaptique.

L'allodynie induite par l'acide acromélique A dans la phase précoce paraît similaire à celle de la phase tardive, par l'intensité, et par les symptômes, mais les mécanismes semblent être différents.

- En phase précoce

Après administration simultanée de prégabaline, de gabapentine, de L-leucine, et de L-isoleucine, qui sont des ligands $\alpha 2\delta$ des canaux Ca²⁺, avec de l'acide acromélique A, l'allodynie induite a été bloquée de manière dose dépendante. Cela suggère que la stimulation par l'acide acromélique A est liée aux fibres nerveuses afférentes dans la corne dorsale spinale. L'antagoniste MK-801 du récepteur NMDA, et l'antagoniste JSTX du

récepteur AMPA inhibent la phase précoce de l'allodynie induite par l'acide acromélique A. L-NAME, l'inhibiteur de la nNOS, et KN-93, l'inhibiteur de la Ca²⁺/calmoduline kinase II bloquent l'allodynie induite de manière dose dépendante. Ce blocage de l'allodynie induite est visible sur les graphiques de la figure 19. Cela démontre que les récepteurs NMDA sont impliqués dans la phase précoce de l'allodynie induite par l'acide acromélique A. En effet l'activation des voies nNOS et Ca²⁺/calmoduline kinase II sont consécutives à la libération de Ca²⁺ intracellulaire engendrée par l'activation des récepteurs NMDA et que celles-ci sont bloquées en phase précoce.

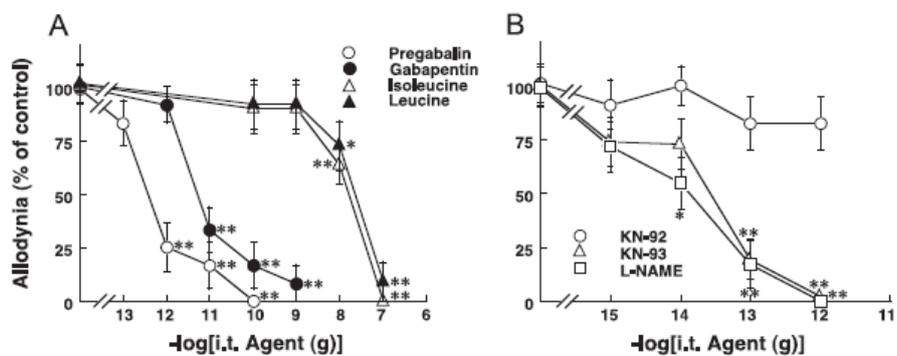


Figure 19 : Blocage de l'allodynie induite par l'acide acromélique A [45]

- En phase tardive

Comme l'allodynie induite par l'acide acromélique A est similaire et de même intensité dans les deux phases, précoce et tardive, l'expérience avec les mêmes ligands et antagonistes est répétée en phase tardive soit une semaine après l'injection du toxique, une fois que la douleur est installée. Mais aucun n'a bloqué la douleur dans cette phase. Ce qui confirme que le mécanisme de l'allodynie dans les deux phases est différent.

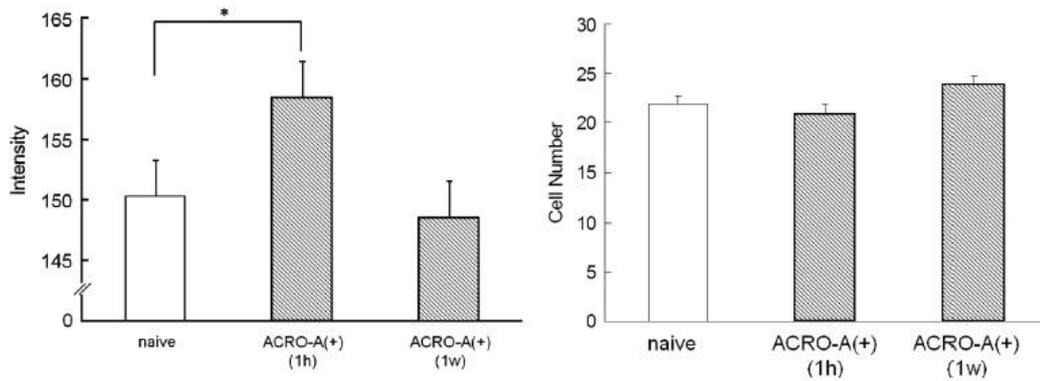


Figure 20 : Graphiques représentant l'intensité d'activité des cellules exprimant la NADPH diaphorase, et le nombre de ces cellules actives [45]

Ici l'activité des cellules neuronales positives à la NADPH diaphorase modélise l'activité de l'oxyde nitrique synthase dans ce modèle. D'après la figure 20, nous pouvons voir qu'1 heure après l'injection d'acide acromélique, l'intensité de l'activité de la NADPH diaphorase est augmentée et se trouve être à la normale une semaine après l'injection. En revanche, le nombre de cellules neuronales positives à la NADPH diaphorase ne semble pas évoluer que ce soit en phase précoce ou tardive. Ce qui confirme que l'acide acromélique A active la voie nNOS en phase précoce mais pas en phase tardive.

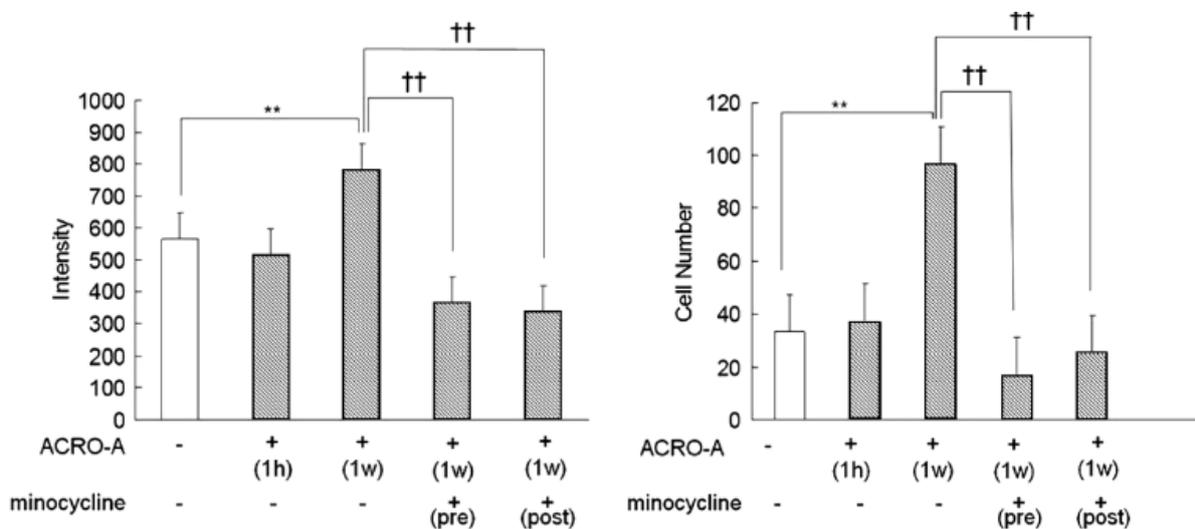


Figure 21 : Graphiques représentant l'intensité d'activité, et le nombre de cellules microgliales actives [45]

La minocycline est un inhibiteur de l'activation des cellules microgliales. Dans la figure 21, l'activité de ces cellules a été mesurée grâce à l'immunomarquage de Iba1, un

marqueur de ces cellules. Afin de vérifier que ces cellules sont activées dans la phase tardive de l'allodynie, la toxine est administrée et l'intensité du marqueur est mesurée. 1 heure après l'injection, que ce soit pour l'intensité d'activité ou le nombre de cellules actives, il n'y a pas de changement par rapport à l'état naïf. En revanche, en phase tardive, soit une semaine après l'injection, l'intensité du marqueur, témoin de l'activité des cellules microgliales est augmentée, de même que le nombre de cellules l'exprimant. Cela prouve que ces cellules sont activées en phase tardive. La minocycline, administrée en phase tardive, que ce soit en pré traitement ou en post traitement, bloque bien l'activation des cellules microgliales.

Les astrocytes sont également impliqués dans l'induction et le maintien de la douleur neuropathique. Le L- α -amino adipate (LAA) est un inhibiteur spécifique de l'activation de ces cellules, qui seraient activées aussi en phase tardive par la toxine du *Clitocybe acromelalga*. Lorsque cet inhibiteur est injecté au jour 7, une fois la douleur installée, il diminue significativement la douleur comme le montre la figure 22. Ceci est repérable par la courbe des triangles noirs pleins.

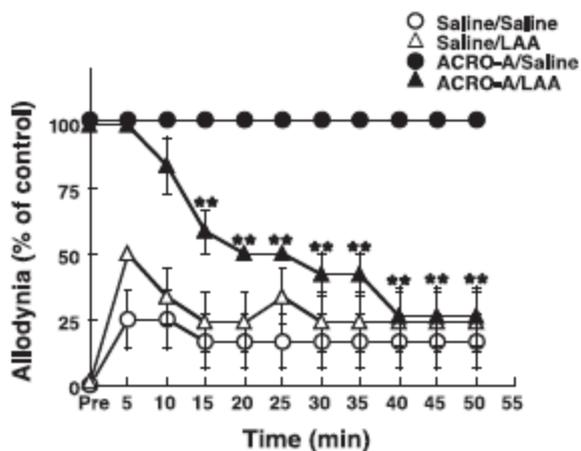


Figure 22 : Blocage de l'allodynie induite par l'inhibiteur LAA [45]

Il a été prouvé que les agonistes des récepteurs du glutamate bloquaient l'allodynie induite par l'acide acromélique A en phase précoce mais non dans la phase tardive, alors que l'acide acromélique A induit la douleur avec une intensité similaire entre les deux phases. Ce qui suggère qu'il y ait plusieurs mécanismes différents suivant la phase. La libération des neurotransmetteurs est influencée par l'afflux de calcium à travers les canaux calciques

voltage dépendant. Les $\alpha 2\delta$ sont une famille de canaux calciques voltage dépendant et sont porteurs d'une sous unité glycosylphosphatidylinositol, et sont la cible d'analgésiques neuropathiques : gabapentine et prégabaline. La gabapentine cible les récepteurs $\alpha 2\delta$ -1 et la prégabaline cible les récepteurs $\alpha 2\delta$ -2. Ces analgésiques réduisent l'afflux de calcium via ces canaux calciques présynaptiques et donc réduisent la libération des neurotransmetteurs comme le glutamate, le GABA, la noradrénaline, la substance P, et CGRP. Une grande concentration et une activité plus importante de ces récepteurs $\alpha 2\delta$ -1 a été retrouvée dans le cerveau, la moelle épinière, dans la corne dorsale des ganglions spinaux et dans les muscles squelettiques des rats. Cette augmentation de récepteurs est cohérente avec le modèle d'allodynie tactile. Les L-Leucine et L-isoleucine, gabapentine et prégabaline se fixent de manière spécifique sur les sous unités $\alpha 2\delta$ -1 et $\alpha 2\delta$ -2. Dans cette étude, ces 4 molécules ont bloqué l'allodynie induite. Leur puissance d'inhibition suit l'ordre suivant Prégabaline > Gabapentine > L-isoleucine > L-Leucine. Cette étude confirmerait que l'acide acromélique A stimule la libération de glutamate dans les centres terminaux des fibres afférentes primaires [45].

- Autres essais d'identification des différences entre les phases
 - La migration des récepteurs AMPA

De nombreuses études ont prouvé que les récepteurs AMPA sont très mobiles. Ils se déplacent rapidement entre la membrane postsynaptique et les compartiments intracellulaires par exocytose et endocytose. Ils peuvent aussi migrer latéralement. Ces mouvements modifient le nombre de récepteurs AMPA et pourrait participer à la plasticité synaptique sous différentes conditions cellulaires. Dans la moelle épinière, le mouvement des récepteurs AMPA a été suggéré comme l'un des mécanismes clés dans la sensibilisation centrale, une forme spécifique de plasticité sous-jacente à l'induction et au maintien de la douleur. Une inflammation périphérique altère le mouvement des récepteurs AMPA et augmente la perméabilité au Ca^{2+} de ces récepteurs AMPA dans les synapses des neurones de la corne dorsale de la moelle épinière.

Il a été démontré que JSTX, un antagoniste des récepteurs AMPA perméable au Ca^{2+} , bloque l'allodynie induite pendant la phase précoce. Mais il n'a montré aucune efficacité sur la phase tardive. La phase tardive de l'allodynie n'implique donc pas le trafic des récepteurs AMPA de la moelle épinière [45][46].

- La microglie spinale

Dans cette étude [45], il est prouvé que la microglie spinale n'est pas activée par l'acide acromélique A dans la phase précoce mais l'est dans la phase tardive, c'est-à-dire, une semaine après l'injection. L'activation de la microglie par l'acide acromélique A a été bloquée par l'administration de minocycline, avant et après administration du toxique. Donc cela suggère que l'acide acromélique A active indirectement la microglie spinale. De plus, l'activation de la microglie pourrait ne pas participer au mécanisme de l'allodynie induite car la minocycline n'a pas d'effet sur l'allodynie [45], elle inhibe seulement l'activation des cellules microgliales. L'allodynie tactile, elle, a été atténuée par administration de LAA, alors que la minocycline n'a pas eu d'effet. Cela indique que l'activation astrocytaire contribue au mécanisme de l'allodynie pendant la phase tardive. Dans cette étude, il est démontré que l'activation des récepteurs NMDA est impliquée dans la phase précoce. Le monoxyde d'azote NO, a été proposé pour son rôle de messenger rétrograde qui faciliterait la transmission et la libération des neurotransmetteurs par les fibres afférentes primaires de la corne dorsale de la moelle épinière.

La phase tardive de l'allodynie n'est pas affectée par les ligands $\alpha_2\delta$ des canaux calciques, les antagonistes des récepteurs NMDA, les inhibiteurs de la voie nNOS, ainsi que les inhibiteurs de la CaMKII. Des voies de signalisation intracellulaire pourraient se produire lors du passage de la phase précoce à la phase tardive [45]. Après l'administration systémique ou l'administration d'une forte dose d'acide acromélique A chez le rat, on a constaté une dégénérescence importante des interneurons dans la substance grise avec une réaction gliale sélective au niveau de la moelle lombo-sacrée. Bien que certains récepteurs du Kaïnate aient une perméabilité significative au Ca^{2+} , il est possible que la majorité des récepteurs non-NMDA perméables au Ca^{2+} soient des récepteurs AMPA situés dans la lamina I et la lamina II, une région fortement innervée par les nocicepteurs [46].

Mieux comprendre les mécanismes cellulaires sous-jacents aux états de la douleur neuropathique permettrait le développement de nouvelles thérapies pour cibler spécifiquement les mécanismes de la douleur.

1.2.5.4 Action par la voie Tryptophane- Niacine

Le *Clitocybe acromelalga* contient de la clitidine. La clitidine ressemble au mononucléotide d'acide nicotinique. Il contient également un autre composé qui aurait une action, il s'agit de l'acide 4-aminopyridine-2,3-dicarboxylique, qui lui, ressemble fortement à l'acide quinolinique (acide pyridine-2,3-dicarboxylique) [48]. Pour rappel, l'acide pyridine-2,3-dicarboxylique induit des lésions au niveau des axones comme celles observées dans la maladie de Huntington [28]. L'acide nicotinique, aussi nommé niacine, et l'acide quinolinique sont tous les deux des intermédiaires de synthèse importants de la voie tryptophane-niacine, qui est aussi la voie de la kynurénine. Chez des modèles de rats qui sont déficients en niacine, à qui il a été administré de la nourriture contenant *Clitocybe acromelalga*, il est observé 24 heures après, une perte d'appétit de moitié avec une perte de poids. Un symptôme de type érythérmalgique est apparu au 3^e jour, la reprise de poids au 6^{ème} jour et la reprise d'appétit au 7^{ème} [47].

Pour étudier le métabolisme du tryptophane en niacine, une alimentation sans niacine et une quantité de tryptophane limitée mais contenant des fragments de *Clitocybe acromelalga* a été administrée dans un groupe de rats. Un autre groupe de rat sans *Clitocybe acromelalga* a permis de comparer les résultats.

Les intermédiaires de synthèse de la voie tryptophane-niacine ont été dosés dans les urines et ils se trouvent augmentés dans le groupe de rats ayant reçu le champignon dans leur alimentation. Ces intermédiaires étant l'acide anthranilique, l'acide kynurénique, l'acide xanthurénique, l'acide 3-hydroxyanthranilique, l'acide quinolinoïque, le nicotinamide, le N1-méthylnicotinamide, le N1-méthyl-2-pyridone-5-carboxamide et le N1-méthyl-4-pyridone-3-carboxamide. De plus les quantités de tryptophane et de cofacteur NAD au jour 1, sont aussi plus élevées dans le groupe ayant ingéré le champignon toxique.

L'ingestion de *Clitocybe acromelalga* semblerait augmenter la conversion du tryptophane en niacine [48].

1.2.6 Traitement de l'intoxication par *Clitocybe acromelalga*

1.2.6.1 Traitement actuel

Nous l'avons vu, ce syndrome d'intoxication ne présente pas de signe digestif, et fait partie des syndromes d'intoxication avec une longue durée d'incubation, les symptômes apparaissant au bout de 24 heures. Donc une épuration digestive s'avère être inefficace du fait de cette apparition tardive. Ainsi l'emploi de charbon actif, de vomitif ou toutes formes de traitements pour une épuration digestive comme le lavage gastrique apparaît inutile.

A l'heure actuelle, la prise en charge de cette intoxication n'est que symptomatique, et consiste à traiter et soulager la douleur causée par les toxines de *Clitocybe acromelalga*.

Dans l'érythermalgie due au *Clitocybe acromelalga*, le seul traitement efficace jusqu'à présent consistait à faire des bains d'eau glacée. Mais les crises pouvant durer plus d'une dizaine par jour, les bains répétés entraînaient des effets sur la peau de type engelures, crevasses, macérations, amenant à des surinfections bactériennes ou mycosiques qui nécessitaient des cures d'antibiothérapies ou d'antifongiques accompagnées de soins locaux.

Les analgésiques classiques de première intention ne suffisaient pas toujours pour soulager ces douleurs. Différents traitements ont été testés mais ont montré soit une inefficacité soit une efficacité partielle et temporaire. L'acide acétylsalicylique faisant partie de ces médicaments.

Un patient de 73 ans atteint d'érythermalgie causée par l'ingestion du champignon, dont les bains d'eau glacée ne suffisaient plus, a dû être hospitalisé. Il a été traité avec de l'acide acétylsalicylique à la dose de 200 mg/jour, ce qui a réduit les douleurs mais les symptômes ont persisté durant 1 mois après son entrée à l'hôpital, avec pour séquelles quelques engourdissements dans les extrémités [49].

Bien que l'intoxication par *C. acromelalga* ait été traitée empiriquement par différents traitements comme l'hydrate d'adénosine triphosphate disodique par voie intraveineuse, la prostaglandine E1 intraveineuse, la cépharanthine intraveineuse, ou encore la dialyse au Japon, aucune preuve clinique à l'appui de ces traitements n'a été rapportée [52].

1.2.6.2 Traitement potentiel : l'acide nicotinique

Plusieurs études rapportent que l'acide nicotinique serait un traitement prometteur dans le traitement de l'érythermalgie due à *Clitocybe acromelalga*, même si les mécanismes d'action sont encore très peu connus [50].

L'acide nicotinique, avec le nicotinamide, soit la forme amide de l'acide nicotinique, composent la vitamine B3, aussi appelée vitamine PP. L'acide nicotinique est aussi défini sous le nom de niacine. Sa structure est représentée sur la figure 23. Cette vitamine B3 est nécessaire pour le métabolisme des glucides, des lipides et des protéines. Il faut savoir qu'une carence cause la pellagre, une maladie due à la malnutrition (c'est pourquoi elle est parfois appelée vitamine PP pour Pellagre Preventive).

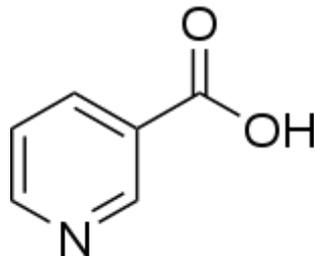


Figure 23 : Structure chimique de l'acide nicotinique

Le cas d'une dame de 80 ans a été rapporté. Après avoir été traitée par voie orale pendant 4 jours par de l'acide acétylsalicylique (200 mg/jour), de la prégabaline (150 mg/jour), de la mécobalamine (1500 µg/jour), et du tocophérol nicotinate (600 mg/jour), qui se sont tous montrés inefficaces, a reçu, 4 jours après son admission, par voie intraveineuse, de l'acide nicotinique à 20 mg/jour en perfusion de 1 heure/jour, posologie progressivement augmentée à 100 mg/jour pendant 7 jours. Le traitement a été pris en relais par voie orale par de l'amide d'acide nicotinique dosé à 100 mg/jour, progressivement diminué puis arrêté après 3 mois de traitement. Une nette amélioration des symptômes a été observée. La rougeur des extrémités a disparu le lendemain du début de la perfusion, la douleur, elle au bout de 3 jours, puis le gonflement qui a disparu au bout de 7 jours. Sa douleur a été évaluée avec une échelle visuelle analogique (EVA) graduée de 0 à 100 mm. Initialement le score de

la douleur était à 100 mm, pour diminuer à 80 mm le lendemain, à 30 mm le jour 2, et 0 mm le 3^e jour [49].

1.2.6.3 Mécanisme d'action de l'acide nicotinique : théories [49][51]

La physiopathologie de l'érythralgie n'est pas encore très claire. Les toxines provoquent une neuropathie des petites fibres par dérégulation du flux sanguin, qui se traduit par une ischémie micro vasculaire. Les neurones sensoriels stimulés pourraient initier leur action via le CGRP, peptide relié au gène de la calcitonine qui est un médiateur de la douleur, et qui à son tour dérégule le tonus vasculaire, contribuant à l'ischémie neuropathique. Ce dysfonctionnement neurovasculaire se manifeste comme un stress oxydatif dans les nerfs périphériques et le vasa nervorum. Ce sont les artéioles qui vascularisent la paroi des grosses artères [51].

L'acide nicotinique atténue la douleur, tout d'abord par son effet vasodilatateur, mais aussi par différents mécanismes :

Il provoque l'induction de la prostaglandine D2 (PGD2) au niveau de la peau, et ainsi, l'augmentation de son métabolite pourrait réguler négativement la sortie de CGRP, pour stopper l'inflammation neurogène et normaliser le tonus vasculaire.

Clitocybe acromelalga contient de la clitidine, nucléoside toxique, qui augmente la conversion du tryptophane en niacine. L'administration d'acide nicotinique faciliterait la conversion du tryptophane en sérotonine, grâce au rétrocontrôle négatif sur la voie kynurénine détournant ainsi plus de tryptophane en sérotonine, permettant de soulager les symptômes de l'intoxication. Mais le métabolisme de la voie du tryptophane en niacine est complexe [49][51].

De plus l'acide nicotinique contrecarre le stress oxydatif en régulant le vasa nervorum, et permet de maintenir un métabolisme énergétique mitochondrial adéquat en augmentant la disponibilité du substrat du complexe I. Il s'est avéré que l'acide nicotinique stimule les récepteurs GABA, sans s'y lier, créant un effet benzodiazépine-like. Le GABA étant le neurotransmetteur inhibiteur le plus important dans l'organisme. Et nous le savons, les acides acroméliques exercent leur action via la voie du glutamate principalement. En raison de l'inhibition de l'ADP ribosylation, l'acide nicotinique inhibe l'induction de l'oxyde

nitrique synthase médiée par les cytokines, entraînant une diminution de l'inflammation. Cela permettrait d'atténuer la réponse à la douleur. Kamerath et De Luigi avaient rapporté l'effet analgésique bénéfique de la niacine dans les douleurs suite à des plaies du crâne chez les vétérans de guerre.

La vasodilatation induite par l'acide nicotinique peut contribuer à l'amélioration des symptômes. Une récupération spontanée dans les cas bénins est possible mais une administration en intraveineuse d'acide nicotinique à forte dose peut être efficace pour traiter une intoxication par *Clitocybe acromelalga*. Les données sont encore trop peu fournies pour s'assurer de l'efficacité et de la sécurité de l'acide nicotinique en tant que traitement de l'érythermalgie causée par l'ingestion du macromycète japonais [49]. Par conséquent, il est nécessaire d'explorer les effets analgésiques de l'acide nicotinique par des essais cliniques contrôlés, en association avec d'autres molécules ou non, sur différents types de douleur, voire même envisager cet effet analgésique sur d'autres troubles. Car l'utilisation simultanée d'acide nicotinique et d'oxycodone chez des patients atteints d'arthrite sévère, se serait avérée plus efficace que de l'oxycodone seule.

L'acide nicotinique a des effets pléiotropes et a été utilisé pour de nombreuses maladies (par exemple carence en niacine, stomatite, éruption de photosensibilité, syndrome labyrinthique, maladie de Raynaud, gelure, acouphène et myélo-opto-neuropathie subaiguë) [52].

En revanche les effets indésirables de l'acide nicotinique sont fréquents et ressentis par beaucoup de patients. Ils peuvent être atténués avec une prise au cours du repas le repas ou une augmentation progressive de posologie. Les formes à libération prolongée ont plus de risque de développer une atteinte hépatique par rapport aux formes à libération immédiate pour des doses comparables. Les effets indésirables que nous retrouvons principalement sont les bouffées de chaleur, démangeaisons notamment au niveau du visage et du cou, de par l'effet vasodilatateur, ou encore éruption et sécheresse de la peau, maux de tête avec nausées et parfois vomissements [52].

1.2.6.4 Traitement d'une intoxication par *Clitocybe acromelalga* par de l'acide nicotinique évalué par Imagerie par Résonance Magnétique [52]

Une patiente de 59 ans a reçu un traitement à base d'acide nicotinique suite à l'intoxication par *Clitocybe acromelalga* et l'évolution de l'érythromalgie a été suivie par radiologie. La patiente a reçu de l'acide nicotinique par voie IV pendant 1h/jour, à la dose initiale de 20 mg/jour avec une augmentation progressive de 20mg/j pendant 5 jours jusqu'à atteindre 100 mg/jour, traitement qui a été maintenu à 100 mg/jour pendant 7 jours, puis diminué progressivement de 20 mg/jour pendant 5 jours. Cela a duré au total 17 jours. Le traitement IV a été poursuivi par voie orale avec de la vitamine B3 (au début 100 mg/jour avec diminution par 20 mg jusqu'à l'arrêt après 2 mois de traitement). Elle a présenté une rougeur de la peau et une sensation de démangeaison quand l'acide nicotinique a été administré à la dose de 80 mg/jour par voie IV. Ces effets indésirables ont été atténués lorsque l'acide nicotinique était injecté en deux administrations par jour. Aucun effet indésirable n'a été rapporté avec le traitement par voie orale. Une amélioration symptomatique rapide a été observée après le traitement. La rougeur aux extrémités a disparu deux jours après le début de l'administration d'acide nicotinique par voie intraveineuse, le gonflement a été réduit après 7 jours et la sensation de brûlure/douleur aiguë a disparu presque complètement au bout de 10 jours. Elle pouvait marcher indépendamment après 11 jours de traitement. Une échelle visuelle analogique est utilisée pour évaluer la douleur (1-100 mm). Initialement le score était à 90 mm. Il a diminué à 60 mm 5 jours après le début du traitement, jusqu'à atteindre 10 mm au 19^e jour quand la patiente est sortie. Ses symptômes se sont résolus 1 mois après le traitement.

L'IRM initial de ses pieds présentait un épaississement sous cutané prédominant au niveau des orteils, les images : A, B, C, sur la figure 24. L'examen IRM à 1 mois a confirmé cette amélioration des œdèmes sous cutanés (images : D, E, F).

L'épaississement sous-cutané évident à l'IRM indiquait une érythromalgie induite par l'empoisonnement par *C. acromelalga* avec un œdème inflammatoire sous-cutané. La durée typique de l'œdème sans traitement est de plus d'un mois. L'amélioration observée à l'IRM après traitement à l'acide nicotinique indique que la vasodilatation adéquate induite par l'acide nicotinique a contribué à la résolution des symptômes. L'acide nicotinique a donc été associé à l'amélioration des œdèmes causés par l'intoxication à *C. acromelalga*.

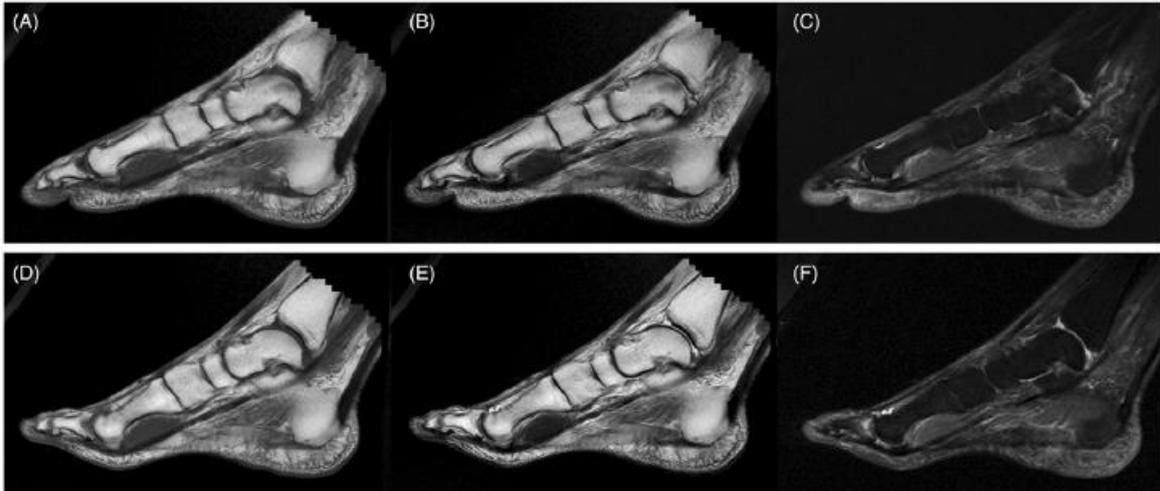


Figure 24 : IRM des pieds avant traitement (A, B, C) et après le début du traitement à 1 mois (D, E, F) [52]

Les images A et D sont des images sagittales de pondération en T1, et les images B et E sont pondérées en T2. C et F sont des images d'inversion récupération T1.

Ces images expriment les résultats de l'IRM. Les premières images pondérées T1 et T2 des pieds de la patiente ont révélé un œdème sous-cutané. L'image d'inversion récupération présentait un signal élevé pour le tissu sous-cutané. Aucune anomalie n'est observée dans les muscles et les os, suggérant que le rougissement et l'inflammation de l'érythromélgie associée à l'intoxication par *C. acromelalga* sont le reflet d'un œdème inflammatoire sous-cutané, et donc l'intoxication implique un tissu sous cutané.

Après traitement à l'acide nicotinique, cet œdème inflammatoire au niveau des orteils a nettement diminué voire même disparu au bout des 28 jours de traitement, comme peuvent le montrer les images D, E et F. Les symptômes ont disparu, à commencer par l'amélioration de la rougeur puis la réduction de l'œdème, suivie par le soulagement de la douleur, et finalement la patiente s'est rétablie sans séquelles en quelques semaines.

Par conséquent, l'acide nicotinique pourrait être une option de traitement pour l'intoxication à *C. acromelalga*. Son efficacité engendre une amélioration de la mauvaise distribution du flux sanguin local provoquée par *C. acromelalga* qui provoque un déséquilibre artérioveineux. Cela suggère qu'une vasodilatation adéquate induite par l'acide nicotinique contribue à l'amélioration des symptômes. Ce cas suggère que l'administration d'une dose élevée d'acide nicotinique par voie intraveineuse peut être efficace dans le

traitement de l'érythromélgie associée à l'empoisonnement à *C. acromelalga*. L'évaluation IRM du traitement à l'acide nicotinique dans l'intoxication à *C. acromelalga* a indiqué que l'érythromélgie associée à *C. acromelalga* impliquait un œdème inflammatoire sous-cutané. Cependant, les mécanismes précis sous-jacents aux effets thérapeutiques restent peu clairs.

Les traitements de l'intoxication à *C. acromelalga* ne doivent pas être établis sur la base d'un seul cas. Cependant, ce sont les premiers résultats positifs faisant état d'une amélioration de l'état du patient sous traitement, tous les autres essais précédents étant restés infructueux. L'état de cette patiente pourrait bien sûr s'être amélioré sans le traitement à l'acide nicotinique, bien qu'il y ait eu un soulagement rapide des symptômes par rapport à l'évolution clinique naturelle. D'autres études portant sur les caractéristiques cliniques, pharmacologiques, radiologiques et moléculaires de l'intoxication à *Clitocybe acromelalga* et des thérapies potentielles sont nécessaires pour clarifier l'efficacité et l'innocuité de ce traitement et explorer le potentiel thérapeutique de l'acide nicotinique.

1.2.7 Un kanoïde synthétique comme agent anti allodynique pour la douleur neuropathique : PSPA-1

1.2.7.1 Etude et observations des effets de PSPA-1 sur la douleur neuropathique

Afin de mieux comprendre le mécanisme de l'acide acromélique qui provoque une allodynie, une étude a été réalisée où des analogues chimiques de l'acide acromélique A avec des structures simplifiées ont été synthétisés : l'acide (2S, 3R, 4R) -3-carboxyméthyl-4-phénoxy-pyrrolidine-2-carboxylique (POPA-2) et l'acide (2S, 3R, 4R) -3-carboxyméthyl-4-phénylthio-pyrrolidine-2-carboxylique (PSPA-1), et leur capacité à induire l'allodynie chez les souris est étudiée. La figure 25 montre la structure chimique de ces analogues de l'acide acromélique A.

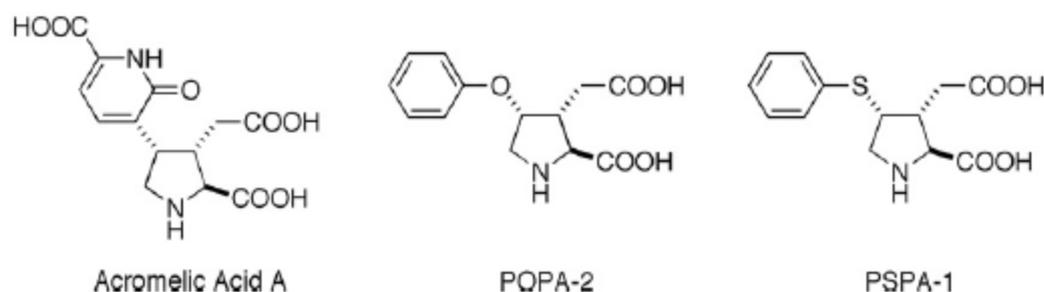


Figure 25 : Structures chimiques de l'acide acromélique et de ses analogues [53]

Les douleurs neuropathiques sont mal soulagées par les analgésiques conventionnels. Et les résultats montrent que PSPA-1 pourrait représenter une nouvelle classe d'agent anti douleur dans les douleurs neuropathiques. Alors que POPA-2 induit l'allodynie à des doses extrêmement faibles (de 1 à 100 fg/souris) comme l'acide acromélique, l'analogue PSPA-1, lui n'a pas induit l'allodynie, mais a inhibé celle induite par la toxine avec un ID 50 (IC 95%) de 2,19 fg/souris (0,04-31,8 fg / souris). De plus, PSPA-1 calme la douleur induite par la section en L5 de la moelle épinière 7 jours après la lésion en L5 et de manière dose dépendante de 1 à 100 fg/souris. Mais, il n'a aucun effet sur la nociception thermique ou mécanique, ni même sur la douleur inflammatoire.

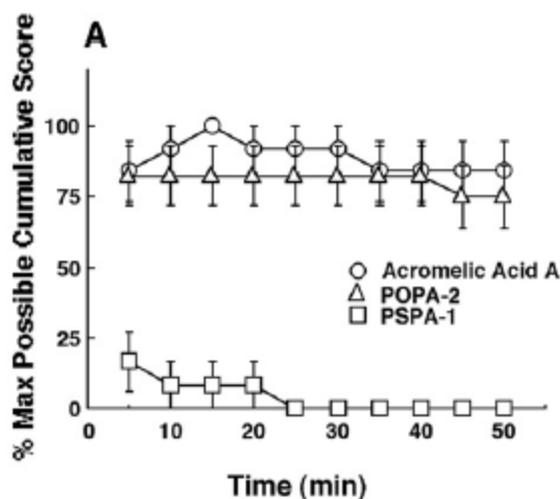


Figure 26 : Mesure de l'allodynie induite par l'acide acromélique et ses analogues pendant 50 minutes

Les résultats des scores sont exprimés sur la figure 26. Ils sont exprimés en pourcentage par rapport au score maximal de l'allodynie induite.

Comme l'acide acromélique A, l'analogue POPA-2 (à 1 fg/souris) induit une allodynie 5 minutes après l'injection et comme peut le montrer la figure 26, l'effet se prolonge durant 50 min. L'effet a perduré pendant 3 semaines, les réponses à l'allodynie étant au-delà de 50 % des scores maximaux.

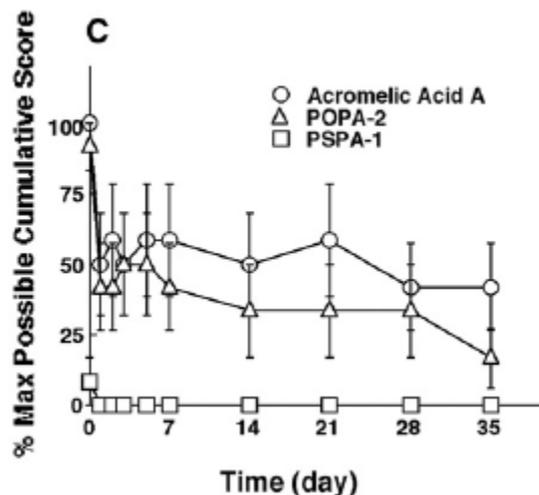


Figure 27 : Mesure de l'allodynie induite par l'acide acromélique et ses analogues pendant 5 semaines

Comme le montre les figures 26 et 27, PSPA-1 n'a pas induit d'allodynie malgré des injections avec des dosages allant de 1 à 100 fg/souris.

PSPA-1 est alors injecté avec l'acide acromélique (1 fg/souris) de façon simultanée, et l'allodynie est évaluée 15 minutes après l'injection. Nous voyons sur la figure 28, que l'allodynie induite a été bloquée et ce, de façon dose dépendante avec une DL50 de 2,19 fg/souris (0,04 à 31,8 fg/souris).

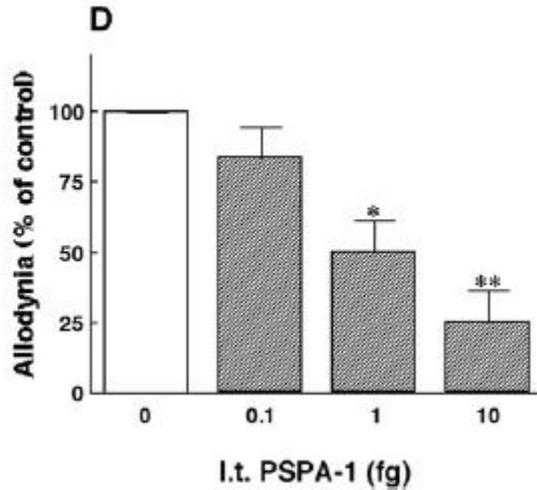


Figure 28 : Effet de PSPA-1 sur l'allodynie induite par l'acide acromélique A

PSPA-1 inhibe cette allodynie induite par l'acide acromélique A comme le montre la figure 28.

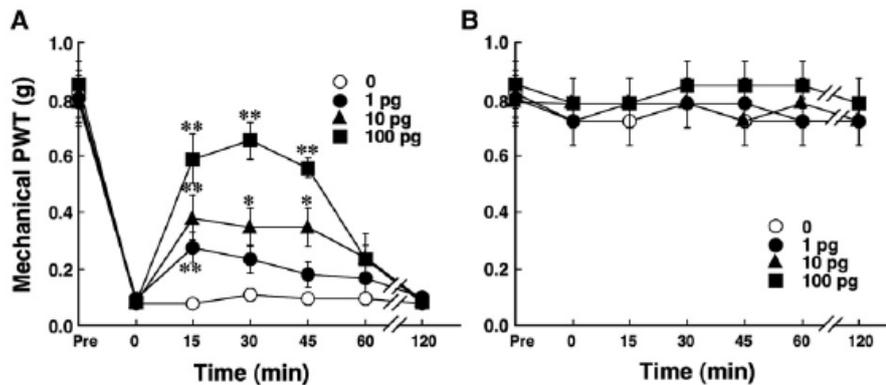


Figure 29 : Effets de PSPA-1 sur la douleur neuropathique induite par la section du nerf spinal en L5 : mesure du seuil de retrait de la patte

Après avoir montré que PSPA-1 bloquait l'allodynie induite par l'acide acromélique A, le blocage de l'allodynie par l'analogue sur un modèle de douleur neuropathique est étudié. Ce modèle a été reproduit par la section d'un nerf.

Les doses de PSPA-1 ont été injectées 7 jours après la section du nerf lorsque la douleur neuropathique est installée. Les délais de retrait de la patte suite à une stimulation mécanique sont mesurés (en A du coté lésé et en B du coté non lésé). C'est-à-dire que le réflexe de retrait de la patte par rapport à la stimulation est évalué, ce qui correspond à une

estimation du seuil de résistance à la douleur. Le délai de retrait de la patte a aussi été mesuré avant l'injection de PSPA-1. Les résultats de cette étude sont illustrés sur la figure 29. Alors que le PSPA-1 n'a pas modifié le délai de retrait de la patte du côté non lésé à des doses de 1 à 100 pg / souris (figure B), l'administration de PSPA-1 a augmenté le délai mécanique de retrait de manière dose-dépendante du côté lésé 15 minutes après l'injection de l'analogue de 1, 10 et 100 pg / souris de PSPA-1 (figure A).

L'effet anti-allodynique du PSPA-1 sur la douleur neuropathique était rapide, mais transitoire, et la durée de l'effet analgésique significatif était également dépendante de la dose. L'analogue PSPA-1 pourrait être un bon antalgique, ou en tout cas un modèle pour synthétiser un antalgique, puisqu'il a une action sur la douleur neuropathique et sur la douleur induite par la toxine de *Clitocybe acromelalga*.

1.2.7.2 Mécanisme anti allodynique de PSPA-1 [53]

- Action de PSPA-1 sur la voie nNOS

Différentes études rapportent le rôle de l'oxyde nitrique, NO, d'origine neurologique dans la sensibilisation centrale de la moelle épinière et comme étant le premier point de traitement de la douleur. De plus le NO produit par la nNOS suite à l'activation des récepteurs NMDA du glutamate est impliqué dans le maintien de la douleur neuropathique. L'activité de nNOS est dépendante du cofacteur NADPH et peut être détectée et mesurée histochimiquement par la NADPH diaphorase. Pour étudier cela, l'acide Kaïnique est injecté et l'activité de la NADPH diaphorase dans la moelle épinière est mesurée.

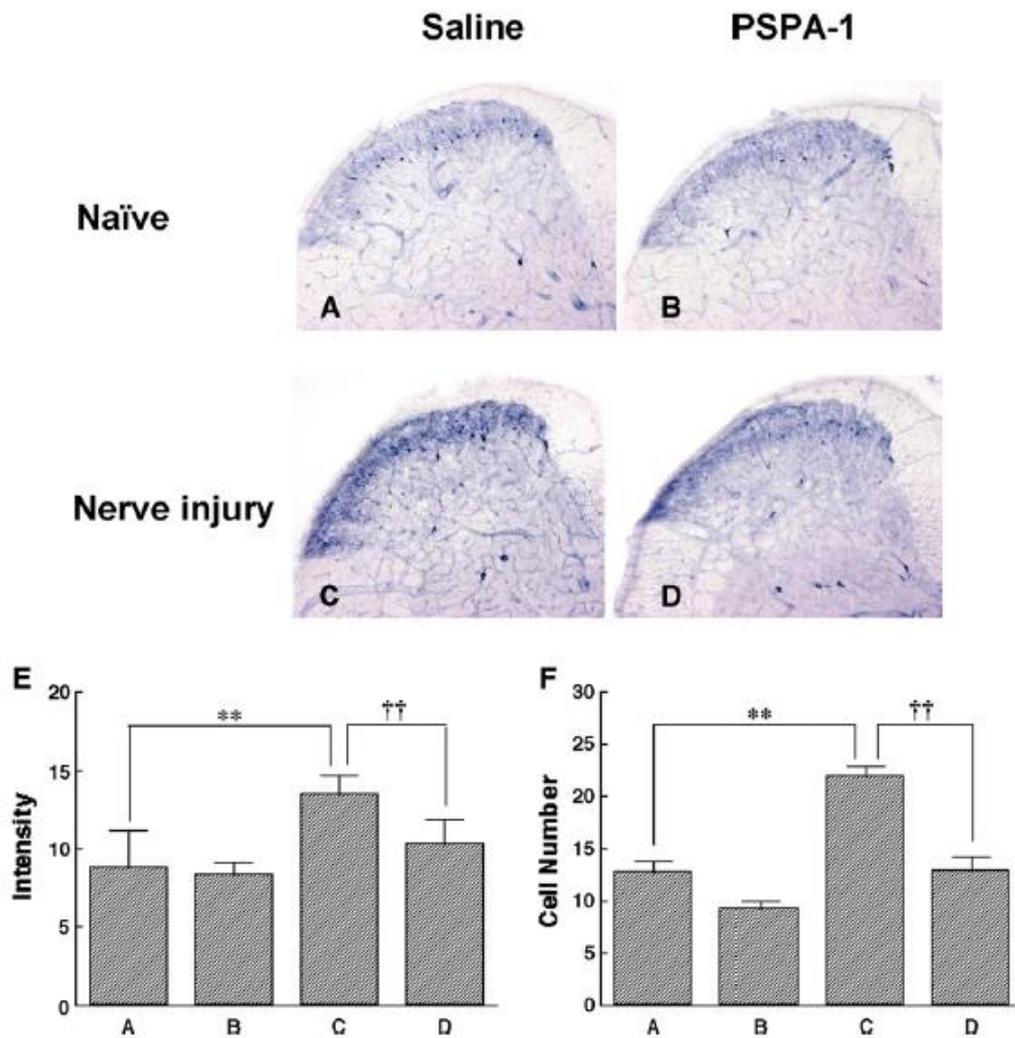


Figure 30 : Effets de PSPA-1 sur l'activité de NADPH-diaphorase dans la moelle épinière

Sur la figure 30, les images (A), (B), (C) et (D) représentent des coupes transversales de la moelle épinière de souris en L5. (A) et (B) sont des coupes de moelle de souris saines, alors que (C) et (D) sont des coupes de moelle épinière de souris modèles de douleurs neuropathiques. Il est injecté à ces souris soit une solution physiologique, soit une solution de PSPA-1 (100 pg/souris). Les coupes ont été préparées 15 minutes après. Le graphique (E) représente l'intensité de coloration de la NADPH-diaphorase dans la couche superficielle de la corne dorsale de la moelle épinière, alors que le graphique (F) lui, représente le nombre de neurones NADPH-diaphorase positifs.

Indépendamment de l'injection de PSPA-1, les neurones NADPH diaphorase actifs étaient peu distribués et les fibres nerveuses peu colorées dans la couche superficielle de la corne

dorsale des souris naives, c'est-à-dire des souris à qui il n'a pas été provoqué de douleur (A et B). Le nombre de neurones réactifs à la NADPH diaphorase et l'intensité de coloration des cellules ont augmenté dans la couche superficielle de la corne dorsale des souris atteintes de douleur neuropathique. Cette augmentation est réduite par l'injection de PSPA-1. Ces changements ont été quantifiés en mesurant l'intensité et en déterminant le nombre de cellules NADPH diaphorase positives. Cela suggère que l'augmentation de la production de NO dans la couche superficielle de la moelle épinière suite à la section du nerf spinal L5 a été atténuée par l'administration de PSPA-1.

- Actions sur les récepteurs NMDA du glutamate

Le NMDA induit une allodynie. Afin de déterminer de l'éventuelle implication des récepteurs NMDA du glutamate dans l'effet anti allodynie du PSPA-1, il faut examiner l'effet de PSPA-1 sur l'allodynie induite par le NMDA.

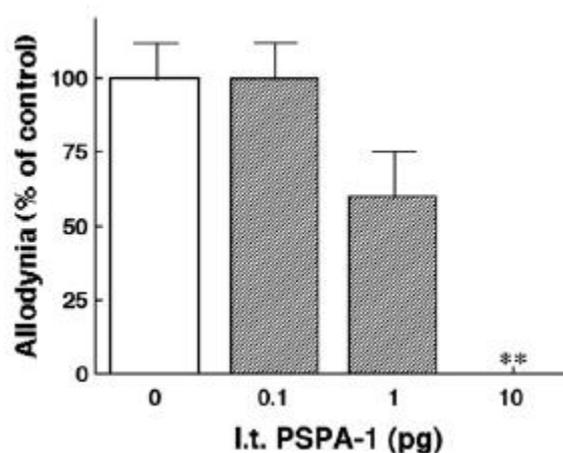


Figure 31 : Effets de PSPA-1 sur l'allodynie induite par le NMDA

PSPA-1 inhibe l'allodynie induite par le NMDA de manière dose dépendante (ID 50 de 0,66 pg/souris), ce qui est traduit par le graphique de la figure 31.

Les acides pyrrolidinecarboxyliques substitués par une fonction phénoxy comme POPA-2 induisent une allodynie alors que ceux substitués par une fonction phénylesulfanyle comme PSPA-1 ne l'induisent pas mais au contraire certains inhibent l'allodynie induite par l'acide acromélique. La différence dans l'arrangement spatial du noyau phényle et du fragment glutamate entre POPA-2 et PSPA-1 qui proviendrait de la différence des rayons de covalence

des atomes d'oxygène et de soufre peut être à l'origine de ces effets opposés observés [53].

L'induction de l'allodynie par l'acide acromélique A et son blocage par l'injection de PSPA-1 à des doses extrêmement faibles (2,19 fg/souris) suggère que des sites d'action communs entre les deux molécules existent au moins dans la moelle épinière.

Dans l'étude [53], l'augmentation de l'intensité de la coloration NADPH-diaphorase et le nombre de neurones NADPH diaphorase-positifs chez les souris modèles de douleur neuropathique ont été significativement atténués par PSPA-1. L'histochemie de la NADPH-diaphorase permet d'évaluer l'activité de la nNOS. Par déduction, l'activité de la nNOS dans la couche superficielle de la corne dorsale augmente après section du nerf en L5, témoignant de l'intensité de la douleur. Cette augmentation d'activité était réduite de manière concomitante avec le soulagement de la douleur neuropathique sous l'effet de PSPA-1. La nNOS est une enzyme constitutive dont l'activité dépend de l'augmentation du taux de calcium intracellulaire et de la formation de complexes Ca^{2+} / calmoduline suite à l'activation du récepteur NMDA.

L'allodynie induite par le NMDA a été bloquée par le PSPA-1 d'une manière dose dépendante suggérant que l'action anti-allodynique de PSPA-1 était liée à la voie NMDA-NO dans la moelle épinière. PSPA-1 agit donc comme un antagoniste de l'acide acromélique A et possède un effet anti-allodynique sur la douleur neuropathique. Il peut être utile comme outil pour identifier le récepteur de notre toxique, ainsi que pour le développement d'une nouvelle molécule dans le traitement de la douleur neuropathique.

Quelques hypothèses de traitements contre les douleurs neuropathiques qu'il pourrait être utile de tester dans ce syndrome d'intoxication.

La gabapentine et la prégabaline se sont avérées efficaces dans le traitement de la douleur neuropathique puisqu'elles exercent des effets analgésiques en se liant à la sous-unité $\alpha\delta$ des canaux Ca^{2+} voltage-dépendants.

Le glutamate interagit également avec le système opioïde, et la coadministration intrathécale ou systémique d'antagonistes du récepteur du glutamate avec les opioïdes peut améliorer l'analgésie tout en réduisant le développement de la tolérance et de la dépendance aux opioïdes [37]

Des études de traitements ont été publiées concernant des patients avec des érythermalgies primaires. Les mécanismes ne sont pas tout à fait les mêmes entre la forme primitive et la forme toxique mais nous pouvons partir de ces recherches afin d'étudier la transposition à la forme toxique causée par notre champignon.

Dans un cas de l'érythermalgie primitive, un traitement par acide acétylsalicylique à 500 mg/j pendant 15 jours n'a pas montré d'amélioration. Une administration de bêtabloquant permet de diminuer les crises quotidiennes, mais les crises reviennent et persistent malgré le doublement de la dose de bêtabloquant avec adjonction de morphine. Par la suite, des injections de marcaine et d'oxcarbazépine ont été administrées progressivement jusqu'à la dose de 1200 mg/j, et ont montré une efficacité avec une diminution significative du nombre et de l'intensité des crises de douleurs [8].

Un autre cas d'érythermalgie primaire a été traité par oxcarbazépine. Le cas rapporte une érythermalgie primaire chez un adolescent qui en est atteint depuis son jeune âge, et dont différents traitements se sont montrés inefficaces. Ce sont des traitements qui ont aussi montré une inefficacité dans la forme secondaire : bêta bloquants, acide acétylsalicylique, paracétamol, indométacine. Seuls les bains d'eau glacée permettaient de contrôler les crises.

Suite à un traitement antidépresseur, le patient présente des crises d'épilepsie qui sont traitées par l'oxcarbazépine. L'oxcarbazépine est un antiépileptique de nouvelle génération. Les crises se sont atténuées tout comme les crises de douleurs érythermalgiques, à la dose de 900 mg/jour, avec une posologie initiale de 300 mg/jour [54].

Partie 2 : Description de champignons

Les recherches récentes en biologie moléculaire ont permis de remanier par bien des aspects la classification du monde fongique. Au sein de l'ordre des tricholomatales, la famille des tricholomataceae et plus particulièrement les genres clitocybes ont été extrêmement concernés. Ainsi, plusieurs nouveaux genres ont été créés : ampulloclitocybe et paralepistopsis par exemple. Le genre ampulloclitocybe a été rattaché aux hygrophoraceae

(au sein des tricholomatales) tandis que le genre *paralepistopsis* est pour l'instant rattaché aux agaricales bien que les auteurs soient loin d'être tous d'accord.

En effet, ces rattachements sont liés aux arbres phylogénétiques et la stabilité des noms dépend de la solidité de l'arbre phylogénétique auquel ils sont rattachés.

Afin de refléter au mieux ces changements récents, il nous faudra, dans le site web, rattacher une même fiche à plusieurs noms (l'ancien et le nouveau) et probablement créer de nouveaux champs dans les fiches pour refléter les changements. Il n'y a, par exemple pas de champ famille aujourd'hui, seuls les champs ordre et genre avaient semblé pertinents à une période où la stabilité semblait meilleure et où les espèces ne passaient pas d'une famille à l'autre.

En annexe 1, nous retrouvons la classification classique des Basidiomycètes, suivi d'une image représentant les évolutions des classifications en 2012, et pour finir, nous avons les différentes familles que regroupent le genre Tricholomatales.

Nous venons de rappeler les genres et familles auxquels appartiennent les champignons que nous allons traiter. Nous allons ensuite les décrire.

Tout d'abord, voici une image, dans la figure 32 reprenant les différents termes de description des macromycètes.

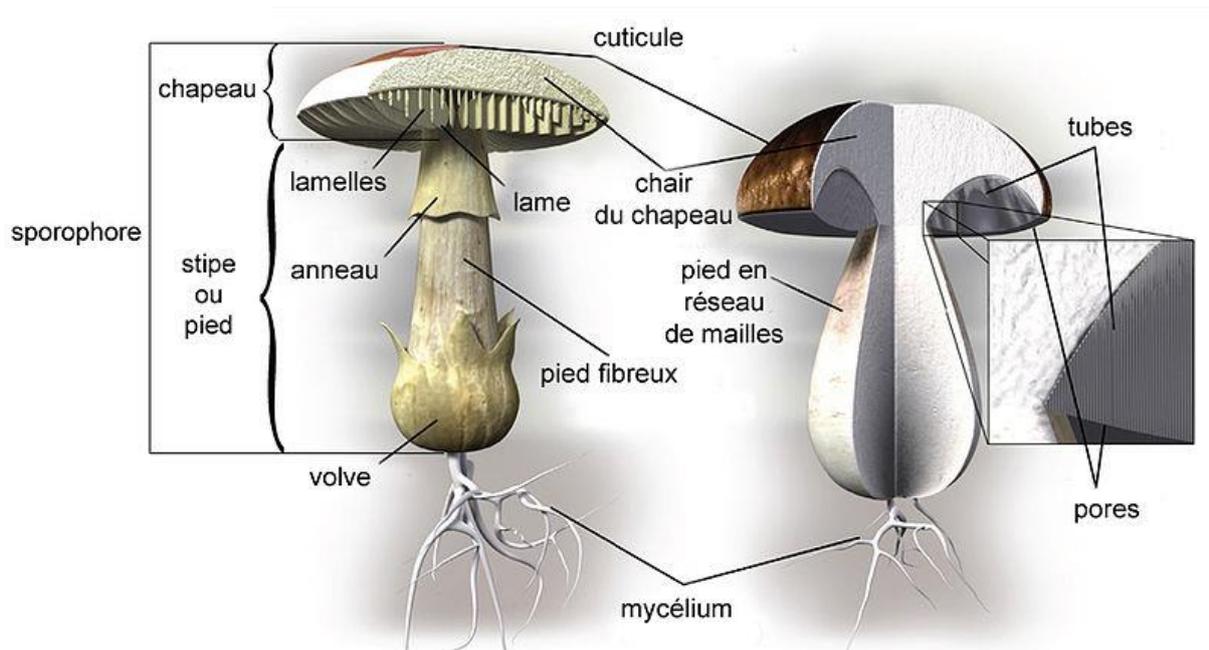


Figure 32 : Les principales parties d'un champignon type [9]

2.1 Description des champignons responsables du syndrome acromelalgien

2.1.1 Description de *Paralepistopsis acromelalga* ou *Clitocybe acromelalga* [10]



Figure 33 : Photographie de *Paralepistopsis acromelalga* (syn *Clitocybe acromelalga*) [10]

La figure 33 est une photographie de *Paralepistopsis acromelalga* (ex *Clitocybe acromelalga*). Nous pouvons voir sa disposition, ses couleurs, et sa forme. De son nom latin *Clitocybe acromelalga*, ou encore *Paralepistopsis acromelalga*, il est appelé Poison des Sasa, mais aussi Champignon aux brûlures. Il appartient à l'ordre des *Agaricales*, et à un nouveau genre *paralepistopsis*. Ce genre est caractérisé par une chair fibreuse de texture élastique et cartilagineuse avec des lames adnées à décurrentes. Les spores sont souvent blanches ou alors très pâles. Ici, les spores sont blanches. Son chapeau est en forme d'entonnoir avec une large dépression centrale mais peu profonde. Sa chair est mince, de couleur jaunâtre, de texture fibreuse dans le pied, avec une odeur fruitée plutôt agréable, et une saveur fongique de Shiitake. Le Shiitake est un champignon comestible. Son hyménophore, la partie charnue du champignon là où les spores sont produites, possède des lames très serrées et décurrentes, minces. Il est de couleur blanchâtre à crème. Le pied est cylindrique, fibreux, et la base est bien enfoncée dans la litière. Il ne possède pas d'anneau, ni de volve.

Il pousse à l'automne, surtout dans les terrains terricoles, souvent en cercles et principalement dans les buissons ou les bosquets sous les bambous. Il se retrouve quasi exclusivement au Japon, principalement dans les districts de Tohoku, Hokuriku, Kinki, et Sanin sur l'île de Honshu. Son cousin français, qui lui se retrouve en Haute Savoie, le *Clitocybe amoenolens*, provoquerait les mêmes symptômes, et lui peut être confondu avec *Lepista inversa*, un champignon retrouvé aussi en Haute Savoie, et qui est comestible. Le *Clitocybe acromelalga* est donc considéré comme toxique.

2.1.2 Description de *Paralepistopsis amoenolens* ou *Clitocybe amoenolens* [2][11][57]



Figure 34 : Photographie de *Paralepistopsis amoenolens* [11]

La figure 34 représente une photographie de *Clitocybe amoenolens* nommé officiellement aujourd'hui *Paralepistopsis amoenolens*. Le champignon responsable du syndrome acromélagien en France. Comme son cousin Japonais, le *Clitocybe amoenolens* appartient lui aussi à l'ordre des *Agaricales* et au genre *Clitocybe*. Il se nomme *Clitocybe* à bonne odeur de par son odeur aromatique. Il y a beaucoup de ressemblances avec le

Clitocybe acromelalga. Ses spores sont aussi de couleur blanche. En revanche, son chapeau est rarement creux en entonnoir. Il est d'abord hémisphérique puis convexe. Son revêtement est légèrement visqueux quand le temps est humide. Sa chair est plutôt épaisse, de texture élastique dans le chapeau, alors qu'elle est fibreuse dans le pied. Elle dégage une odeur aromatique forte agréable ressemblant au jasmin qui semble rappeler l'odeur de deux champignons : *Tricholoma caligatum* et *Inocybe bongardi*, une odeur de flore d'oranger ou comme l'*Inocybe* à odeur de poire, une odeur de poire, comme son nom l'indique.

L'hyménophore, la partie qui porte les lames productrices des spores est de couleur blanchâtre. Les lames sont quant à elles, moyennement serrées, décurrentes. Le pied est cylindrique, atténué en haut ou en bas, et un peu renflé à la base. Sa base est enfouie dans la litière avec un mycélium blanc, cotonneux. Un bon moyen de le reconnaître est d'effectuer le test à la potasse (KOH). Il donne une réaction jaunâtre sur le revêtement pileux, qui correspond au tissu recouvrant le chapeau du champignon. Comme la plupart des *Clitocybes*, il ne porte pas d'anneau ni de volve.

Le *Clitocybe amoenolens* se retrouve dans la région de Haute Savoie en France. Nous pouvons le voir sur des sols calcaires, sous les conifères de type Epicéa, Mélèze. Il a aussi été retrouvé à Bressans et dans les Abruzzes en Italie [6]. De par sa forme et sa couleur, il peut être confondu avec *Lepista inversa*, *Lepista gilva*, et *Clitocybe gibba*. Il est considéré comme toxique, et cause ce que l'on appelle une érythermalgie, ou érythromélgie, ou encore acromélgie.

C'est la seule espèce française connue à ce jour, responsable de ce syndrome. Seulement 7 cas ont été répertoriés dans le pays, surtout dans la région Haute Savoie, et nous avons encore peu de données à son sujet. C'est pourquoi ce travail lui est consacré. Nous savons qu'il provoque les mêmes symptômes que son cousin japonais *Clitocybe acromelalga*. Ils peuvent être confondus avec *Lepista inversa* et *Clitocybe gibba*, d'où leur présentation.

2.2 Description des champignons à risque de confusion

2.2.1 Description de *Lepista inversa* [2][12][55][56]



Figure 35 : Photographie de *Lepista inversa* [12]

Cette figure 35 montre une photographie de *Lepista inversa*, le champignon qui a été la source de confusion avec *Clitocybe amoenolens*. Le *Lepista inversa* faisait aussi partie du genre *clitocybe*. C'est pour cela qu'il se nomme également *Clitocybe inversé*, *Clitocybe inversé des conifères*, ou encore *Lepista flaccida*. Comme les *Clitocybes*, le *Lepista inversa* possède des spores de couleur blanche à crème. Une différence que l'on peut noter avec le *Clitocybe amoenolens* est que son chapeau est déprimé puis creux en entonnoir avec un revêtement lisse. Il se craquelle au sec. La chair de ce macromycète est de couleur crème à concolore sous le revêtement, de texture flasque et élastique avec une petite saveur acidulée mais n'a pas d'odeur fongique particulière, voire peu prononcée. Tout comme pour les *clitocybes*, ici, les lames sont décurrentes, très serrées et minces. Cependant, comme

pour les *Lepista*, elles sont faciles à détacher de la chair, du pied et du chapeau. Elles sont plutôt de couleur blanchâtre, mais quand elles vieillissent, elles deviennent un peu plus roussâtres. Le pied, lui est pale, plein et fibreux avec une base blanche, cotonneuse, et agglomérant le tapis des feuilles. Il ne possède ni de volve, ni de voile. Il pousse sous les feuillus, surtout sous les conifères, en cercle ou en rond de sorcière, préférant le tapis des feuilles ou des aiguilles bien humides. Nous pouvons le cueillir à partir du mois de septembre jusqu'au mois de décembre, voire même jusqu'en janvier si les conditions sont bonnes pour lui permettre sa croissance. Il est comestible mais possède une saveur astringente, c'est-à-dire qui provoque un assèchement de la bouche par liaison aux protéines salivaires. Par contre, nous l'avons vu, il est source de confusion avec *Clitocybe gibba*, non toxique, ou avec les champignons dits tortionnaires qui eux sont toxiques : *Clitocybe acromelalga* et *Clitocybe amoenolens*. Si l'odeur est fortement aromatique, avec une odeur de poire ou de jasmin, il pourrait s'agir de *Clitocybe amoenolens*. De ce fait, pour éviter tout risque, il convient de ne plus consommer *Lepista inversa*.

2.2.2 Description de *Clitocybe gibba* [2][5][13][55][56]



Figure 36 : Photographie de *Clitocybe gibba* [13]

Le *Clitocybe gibba*, ou encore Clitocybe en entonnoir, est aussi appelé *Clitocybe infundibuliformis*. La chair de ce clitocybe est mince, plus épaisse au centre du chapeau, de couleur blanche. Elle possède une odeur cyanique nette, un peu comme de l'amande amère, ou de flouve, une plante odorante. C'est une odeur qui ressemble à *Marasmius oreades*, avec une saveur assez douce. Comme le montre la figure 36, le chapeau, lui, est mince, tenace à l'état jeune, qui s'aplati ensuite en entonnoir, d'où son nom, avec très souvent un mamelon central. La marge quant à elle, est mince et enroulée chez les jeunes exemplaires, puis s'étale au fur et à mesure de la croissance. Il comporte des lames fortement décurrentes, assez serrées et blanches. Le pied est cylindrique, renfle à la base. A l'intérieur, il est plein et spongieux. Sa base est parfois pourvue d'un feutrage mycélien blanc. Comme les autres clitocybes, il ne possède ni de volve, ni d'anneau. Nous le retrouvons surtout sur des sols acides, sous les feuillus, mais rarement sous les conifères. Il se réparti en troupe, en ligne ou alors ce que l'on appelle en rond de sorcières. Il se cueille de l'été à la fin de l'automne, et se trouve être comestible. Mais il peut être confondu avec le Clitocybe côtelé, qui lui est un peu plus brun, ou avec le Clitocybe inversé des feuillus.

L'étymologie gibba vient du latin gibbus qui veut dire bosse. Il rappelle la petite bosse centrale (ou papille) qui permet de différencier cette espèce des autres petites espèces infundibuliformes. Il est conseillé d'écarter les sujets de couleur très claire afin d'éviter la confusion avec les clitocybes blancs toxiques tels que *Clitocybe amoenolens*, qui a son odeur caractéristique fruitée. Il faut noter que la potasse ne donne aucune réaction. C'est un moyen de le différencier avec *Clitocybe amoenolens*, qui lui donne une réaction jaune au niveau du tissu recouvrant le chapeau.

2.3 Méthodologie et création des fiches d'identification des champignons pour le site internet

Comme il a été énoncé en introduction, il est important pour le pharmacien d'avoir des connaissances à jour concernant la mycologie afin de répondre aux attentes des patients. Il doit se former de façon continue, car cette science est en évolution permanente et les données ainsi que les connaissances s'actualisent au fur et à mesure des recherches scientifiques. C'est ainsi que la faculté de Pharmacie de Lyon a créé le site internet : « Les macromycètes dans tous les états ». Ce site a pour but de compléter les cours théoriques

et pratiques des étudiants permettant d'avoir une formation plus complète. Il contient des vidéos explicatives, des photos et des fiches d'identification. Cela permet aux étudiants de compléter leurs connaissances, aux pharmaciens de les actualiser et d'aider les patients lors de conseils. Il permet aussi aux amateurs de les aider dans leur cueillette afin de mieux identifier une espèce et d'éviter toute confusion. Ainsi ce site est actualisé régulièrement grâce aux thèses des étudiants. Les données sont donc mises à jour rendant le site fiable de par les vérifications des professeurs et chercheurs qui travaillent en collaboration avec les étudiants.

Le site possède un onglet « Fiches d'identités » où les fiches de chaque champignon sont classées soit par indice de comestibilité (comestibles, comestibles mais sous conditions, mauvais mais pas toxiques, toxiques puis mortelles), soit par ordre alphabétique.

Chaque année, courant l'automne, un groupe d'étudiants et des professeurs de l'ISPB font une sortie au cours de laquelle est organisée des séances de ramassage de champignons. Durant cette sortie, des photos sont effectuées afin d'alimenter les fiches qui sont ensuite créées par les étudiants. Lors de la création des fiches pour ce travail, ce sont des photos de ces excursions qui sont utilisées.

Pour créer ces fiches d'identification, nous partons sur la base d'un fichier Word qui sert de modèle pour toutes les fiches d'identification de champignons qui seront ensuite mises en ligne. Il faudra surement ajouter un champ famille sur cette fiche, comme cité précédemment. La figure 37 représente ce modèle de fiche. Ces fiches sont généralement complétées par des étudiants dans le cadre de leur thèse et parfois mise en ligne par leur soin.

Pour compléter ces fiches, l'utilisation de quatre ouvrages de référence reconnus dans la littérature en mycologie sont principalement utilisés, mais d'autres références bibliographiques sont parfois nécessaires :

- Le guide des champignons : France et Europe de G. Eyssartier, P. Roux. 2011 [2]
- Guide des champignons de France et d'Europe de R. Courtecuisse, B. Duhem 2011 [5]
- Champignons de France et d'Europe occidentale de M. Bon. 2012 [55]
- Le guide des champignons en 900 photos et fiches de D. Borgarino, C. Hurtado. 2005 [56]

Agaricus bitorquis / Agaric des trottoirs, Psalliotte des trottoirs

Couleur de fiche : verte
 Icône Comestibilité : Comestible
 Icône sporée : brune

- **Ordre** : Agaricales
- **Genre** : Agaricus
- **Caractéristiques du genre** : Chair fibreuse. Lames libres. Pied facilement séparables du chapeau. Sporée noire. Présence d'un voile partiel.
- **Sporée** : Brun noirâtre

Chapeau :

(15 à 20 mots), on décrira la couleur, la taille, les ornements éventuelles, le touché

Exemple : De 6 à 12 cm de diamètre. Convexe, aplani au centre, lisse ou ± craquelé par temps sec. Charnu. Blanc à ocre pâle.

Marge enroulée.

Chair-Odeur-Saveur

(5 ou 6 mots) on décrira la texture, la couleur de la chair. Puis son odeur et sa saveur.

Exemple : Chair blanche très ferme voire dure. Rosissant légèrement et lentement à la coupe. Saveur douce et odeur fongique agréable.

Hyménium :

Exemple : Lames libres, rose, pâle, puis brun noirâtre, arête pâle. Spores elliptiques.

|

Pied :

On décrira d'abord la texture, la couleur, la présence ou non d'un bulbe ou réseau « racinaire »

Exemple : Blanchâtre, cylindro-atténué. Très ferme.

Anneau :

Si non : « sans ». Si oui, on décrira d'abord la texture puis la couleur.

Exemple : Anneau double membraneux très caractéristique, partie supérieure remontante, partie inférieure engainante.

Volve :

Si non : « sans ». Si oui, on décrira d'abord la texture, l'amplitude puis la couleur.

Exemple : Sans.

Habitat : (pictogramme : *Exemple* : pré) On décrira le pictogramme selon la charte graphique

Exemple : Terrains vagues, cailloux. Au bord des routes et des chemins sur des sols très durs. Capable de percer le bitume.

Période de cueillette : JFMAMJJASOND

Confusions :

Attentions devront apparaître ici les noms latins uniquement

Espèce comestible

Espèce toxique

Comestibilité :

Exemple : Mauvais comestible

Syndrome associé :

Pour les fiches orange et rouges uniquement

Conduite à tenir :

Remarques :

On conservera dans ce cadre uniquement les remarques autres : comestible très jeune/ ou comestible bien cuit/ ou toxicité acquise, ou alors des infos complémentaires concernant la variabilité, peut être des élément de recette ou des truc et astuces comme les réactions chimique vraiment typique, ou un test microscopique infaillible.

Exemple : L'Agaric des trottoirs se reconnaît bien à sa chair ferme, à son anneau double et à sa préférence pour les sols durs et tassés. Il est considéré comme comestible mais à éviter (risques de pollution aggravés par son habitat et de toxicité à long terme).

Figure 37 : Modèle de fiche d'identité

En plus de créer des fiches d'identification, ce travail permet d'ajouter du vocabulaire au glossaire du site internet. En effet, sur chaque fiche de présentation, des mots sont soulignés. Ce sont des mots dont le sens peut ne pas être compris par tous et qui peuvent demander une définition. Ainsi chaque mot souligné renvoie au glossaire à sa définition correspondante via un lien directement en cliquant sur le mot en question. La liste des nouveaux mots à ajouter au glossaire sont regroupés dans l'annexe 2.

Les fiches réalisées au cours de ce travail concernent les champignons suivants :

Ampulloclitocybe clavipes [2][5][55][56]

Clitocybe acromelalga [10]

Clitocybe amoenolens [2][57]

Clitocybe gibba [2][5][13][55][56]

Clitocybe odora [2][5][55][56]

Lepista inversa [2][55][56]

Ces fiches sont à la suite dans cette thèse. Elles seront ensuite mises en ligne par les enseignants en collaboration étroite avec le service ICAP de l'université car cette année, le site est en cours de migration et l'outil informatique qui permettait la mise en ligne a été changé, impliquant de grosses interventions des services informatiques. En annexe 3, un exemple de fiche selon les codes est déjà en ligne sur le site internet.

Une charte graphique (annexe 4) permet de définir un code couleur de la fiche selon la toxicité ou non du macromycète, avec des pictogrammes spécifiques selon la comestibilité, l'habitat, la couleur de la sporée. Tout est ainsi défini dans les fiches d'identification. De plus, ces fiches sont accompagnées de photos qui sont sélectionnées. Sur certaines, un encadré rouge permet de cibler une partie du champignon qu'il est intéressant de montrer.

Ampulloclitocybe clavipes / Clitocybe à pied en massue (ex *Clitocybe clavipes*)

<p>Couleur de fiche : Jaune Icône Comestibilité : Comestible sous condition Icône sporée : Blanche</p>

- Ordre : Tricholomatales
- Genre : (ex *Clitocybe*) *hygrophoraceae*, *Ampulloclitocybe*
- Caractéristiques du genre : Chair fibreuse, molle, à texture élastique. Lames largement adnées à décurrentes. Sporée blanche à pâle.
- Sporée : Blanche

Chapeau : Gris cendré jaunâtre à brun ochracé, parfois avec des reflets verts, plus foncé au centre, de 3 à 10 cm de diamètre. Convexe, puis aplani à peu déprimé, mou, spongieux au centre, pouvant former un mamelon avec un revêtement mat. Profil clitocyboïde.

Chair-Odeur-Saveur : Chair blanche, molle, hygrophane. Odeur cyanique à épicée. Saveur douce.

Hyménium : Lames blanches puis crème jaunâtres, décurrentes, larges, épaisses et molles.

Pied : Crème à plus ou moins concolore au chapeau, clavé dit à pied en massue. Base molle, spongieuse et incurvée.

Anneau : Sans.

Volve : Sans.

Habitat : (Pictogramme : feuillu, conifère) : souvent dans les bois pierreux et secs.

Période de cueillette : JFMAMJJASOND

Confusions :

▲ ! *Clitocybe nebularis* / Clitocybe nébuleux

Comestibilité : Comestible sous condition

Syndrome associé : **Coprinién** : aussi appelé antabuse. Il survient lors de la consommation d'une boisson alcoolisée avant, pendant ou après le repas constitué du champignon, de plusieurs heures avant selon la quantité d'alcool consommée à 72 heures après.

Conduite à tenir :

Surveillance biologique (paramètres hémodynamiques, ECG). Traitement symptomatique.

Prévention : Abstention d'alcool dans les jours suivant l'intoxication (environ 10 jours) car toute nouvelle prise d'alcool (sous toutes ses formes, même à faible degré) relance le syndrome.

<p>Remarques : Longtemps classé parmi les Clitocybes, il a été reclassé depuis peu parmi les Ampulloclitocybes qui font partie de la famille des hygrophoracées.</p>

<p>Avec son chapeau grisâtre et sa consistance molle et ouateuse, le Clitocybe à pied en massue est facile à reconnaître. Cependant, il a probablement été souvent confondu avec <i>Clitocybe nebularis</i>, dont il reste le principal risque de confusion. Sa texture molle doit être le critère de différenciation, avec le pied incurvé à la base.</p>
--

Clitocybe acromelalga - *Paralepistopsis acromelalga*

<p>Couleur de fiche : Orange Icône Comestibilité : Toxique Icône sporée : Blanche</p>
--

- Ordre : Agaricales
- Genre : *Clitocybe*
- Caractéristiques du genre : Chapeau souvent en entonnoir. Chair blanche ou de la couleur du chapeau, odeur souvent caractéristique. Lames largement adnées à décourantes. Sporée blanche à pâle.
- Sporée : Blanche

Chapeau : Jaune, orange à rouge brique, de 3 à 10 cm de diamètre. En entonnoir à dépression centrale. Glabre et lisse. Marge enroulée qui devient lisse à maturité. Hygrophane.

Chair-Odeur-Saveur : Chair mince, fibreuse dans le pied. Odeur fruitée. Saveur fongique de Shiitake.

Hyménium : Lames serrées voir très serrées, décourantes, et inégaies. Arête concolore.

Pied : Cylindrique, fibreux, revêtement lisse avec parfois des fibrilles. Base pruineuse bien enfoncée dans la litière.

Anneau : Sans.

Volve : Sans.

Habitat : (Pictogramme : feuillus, pré) : Terricole ou sous les bambous. Cespiteux ou disposé en cercle.

Période de cueillette : JFMAMJJASOND

Confusions :

Comestibilité : Toxique.

Syndrome associé :

Acromélagien : atteinte des fibres non myélinisées du système nerveux périphérique par les acides acroméliques. Douleur, rougeur et œdèmes dans les membres après 24h.

Conduite à tenir :

Hospitalisation. Antalgiques. Bains d'eau glacée.

<p>Remarques : Ne se retrouve qu'au Japon. Surnommé Poison des Sasa ou champignon aux brûlures. L'acide nicotinique est à l'étude comme traitement contre ce syndrome.</p>

Clitocybe amoenolens - *Paralepistopsis amoenolens* / Clitocybe à bonne odeur

Couleur de fiche : Orange Icône Comestibilité : Toxique Icône sporée : Blanche

- Ordre : Agaricales
- Genre : *Tricholomataceae*. *Clitocybe*
- Caractéristiques du genre : Chapeau souvent en entonnoir. Chair blanche ou de la couleur du chapeau, odeur caractéristique. Lames largement adnées à décurrentes. Sporée blanche à pâle.
- Sporée : Blanche

Chapeau : De couleur beige crème à ochracé, avec un centre plus sombre, de 3 à 9 cm de diamètre. Mamelonné ou un peu creusé, mais jamais en entonnoir, lisse. Marge enroulée. Non hygrophane. Réaction jaunâtre à KOH sur le revêtement piléique.

Chair-Odeur-Saveur : Chair blanche. Odeur forte aromatique, comme la fleur d'oranger, le jasmin ou encore la poire. Saveur fongique douce légèrement farineuse.

Hyménium : Lames très décurrentes, peu serrées, étroites. Crème à beige roussâtre.

Pied : Blanc à crème rosé puis roux. Subcylindrique, un peu renflé à la base, pruineux au sommet. La base est profondément enfouie dans la litière, à mycélium blanc, cotonneux, agglomérant les aiguilles.

Anneau : Sans.

Volve : Sans.

Habitat : (Pictogramme : conifère) : Sous conifères : Mélèze, épicéa. Surtout sur sol calcaire.

Période de cueillette : JFMAMJJASOND

Confusions :

- ! *Lepista inversa* / Clitocybe inversé des conifères
- ! *Clitocybe gibba* / Clitocybe en entonnoir
- ! *Lepista gilva* / Clitocybe inversé des feuillus

Comestibilité : Toxique.

Syndrome associé :

Acromélagien : atteinte des fibres non myélinisées du système nerveux périphérique par les acides acroméliques. Douleur, rougeur et œdèmes dans les membres.

Conduite à tenir :

Hospitalisation. Antalgiques. Bains d'eau glacée.

Remarques : Le nom valide actuel de *Clitocybe amoenolens* (Malencon) est *Paralepistopsis amoenolens*.

Il n'a été identifié formellement que dans le Sud-Est de la France en Savoie et en Italie, mais peu de personnes consommait *C. Gibba* et il est possible que sa répartition soit sous-estimée.

L'acide nicotinique est à l'étude comme traitement contre ce syndrome.

Clitocybe gibba – *Clitocybe infundibuliformis* / Clitocybe en entonnoir

Couleur de fiche : Vert Icône Comestibilité : Comestible Icône sporée : Blanche
--

- Ordre : Tricholomatales
- Genre : *Tricholomataceae*. *Clitocybe*
- Caractéristiques du genre : Chapeau souvent en entonnoir. Chair blanche ou de la couleur du chapeau, odeur caractéristique. Lames largement adnées à décourantes. Sporée blanche à pâle.
- Sporée : Blanche

Chapeau : De couleur crème à beige ochracé, parfois mêlé de rose, de 3 à 8 cm de diamètre. Mamelonné au début puis vite en entonnoir, flexueux, d'aspect mat, velouté. Marge mince puis s'étalant. Cuticule glabre et souple au toucher.

Chair-Odeur-Saveur : Chair blanche, molle, mince, plus épaisse au centre du chapeau. Odeur cyanique (amande amère), de flouve, comme *Marasmius oreades*. Saveur douce.

Hyménium : Lames blanchâtres fortement décourantes, assez serrées.

Pied : Cylindrique, renflé à la base, grêle. Spongieux intérieurement. Blanc avec de fines fibrilles longitudinales. Base pourvue d'un feutrage mycélien blanc agglomérant.

Anneau : Sans.

Volve : Sans.

Habitat : (Pictogramme : feuillu, conifère) : Acidophile, sous feuillus et sous conifères. En troupes, en lignes ou en rond de sorcières.

Période de cueillette : JFMAMJJASOND : de l'été à la fin de l'automne.

Confusions :

- ! *Clitocybe costata* / Clitocybe côtelé (comestible sans intérêt)
- ! *Lepista flaccida* / Clitocybe inversé des feuillus
- ▲ ! *Clitocybe amoenolens* / Clitocybe à bonne odeur
- ▲ ! *Clitocybe dealbata* / *Clitocybe rivulosa* / Clitocybe blanchi

Comestibilité : Comestible moyen, sans intérêt.

Remarques : Etymologie Gibba vient du latin gibbus = bosse (prononcer 'guib-ba' comme "guitare". Il rappelle la petite bosse centrale (papille) qui permet de différencier cette espèce des autres petites espèces infundibuliformes, (mais *C. bresadolana* est, lui aussi, parfois mamelonné).

Avis aux mycophages, Il convient d'écartier les exemplaires de couleur très claire, pour éviter la confusion avec les clitocybes blancs toxiques.

Potasse : sans action

Clitocybe acromelalga ne se retrouve qu'au Japon. Attention avec *Clitocybe amoenolens* présentant une forte odeur aromatique fruitée (poire, jasmin) qui est toxique et comme *Clitocybe acromelalga*, déclenche le syndrome acromélagien.

Clitocybe odora / Clitocybe odorant – Clitocybe anisé

Couleur de fiche : Vert
 Icône Comestibilité : Excellent comestible
 Icône sporée : Blanche

- Ordre : Tricholomatales
- Genre : Tricholomataceae. *Clitocybe*
- Caractéristiques du genre : Chapeau souvent en entonnoir. Chair blanche ou de la couleur du chapeau, odeur de farine, d'anis ou de terre. Lames largement adnées à décurrentes. Sporée blanche à pâle.
- Sporée : Blanche

Chapeau : Vert pâle à vert bleu plus ou moins pâissant, de 3 à 9 cm de diamètre. Vite plat, peu déprimé, d'aspect mat. Revêtement pruineux.

Chair-Odeur-Saveur : Chair blanchâtre à bleuâtre. Odeur et saveur fortes d'anis.

Hyménium : Lames adnées ou légèrement décurrentes, moyennement serrées, blanches, crème à verdâtres ou bleuâtres.

Pied : Blanc à verdâtre, voire bleuté. Cotonneux à la base.

Anneau : Sans.

Volve : Sans.

Habitat : (Pictogramme : feuillu, conifère) : Solitaire, grégaire parfois cespiteux. Sur terrains à tendance calcaire.

Période de cueillette : JFMAMJJ**ASOND**

Confusions :

▲ ! *Clitocybe fragrans* / *Clitocybe suaveolens* / Clitocybe anisé strié

Comestibilité : Très bon comestible, mais souvent trop parfumé.

Remarques : Facile à reconnaître, c'est le seul en Europe à présenter cette teinte verte bleutée avec une forte odeur d'anis. Très parfumé, il est parfois utilisé en petite quantité pour agrémenter un plat, confectionner des desserts, des glaces.

Attention à ne pas confondre avec d'autres clitocybes toxiques de couleur pâle et à odeur d'anis souvent méconnus.

Paralepista inversa – *Lepista flaccida* / Clitocybe inversé – Clitocybe inversé
des conifères

Couleur de fiche : Vert
 Icône Comestibilité : Bon comestible
 Icône sporée : Blanche

- Ordre : Tricholomatales
- Genre : *Tricholomataceae*. *Clitocybe/Lepista*
- Caractéristiques du genre : Silhouette de Clitocybe ou de Tricholome. Lames souvent séparables de la chair du chapeau. Sporée blanche ou rose pâle.
- Sporée : Blanche

Chapeau : De couleur orangée brunâtre, allant de 3 à 10 cm de diamètre. Vite creux en entonnoir, assez charnu, avec un revêtement lisse, luisant, il se craquèle au sec, et la marge est longtemps enroulée.

Chair-Odeur-Saveur : Chair élastique, pâle, concolore en surface. Odeur fongique banale. Saveur douce acidulée.

Hyménium : Lames serrées, très décurrentes, facilement séparables de la chair, crème à beige roussâtre.

Pied : Plus pâle que le chapeau, lisse, base feutrée, cotonneuse, agglomérant le tapis des feuilles.

Anneau : Sans.

Volve : Sans.

Habitat : (Pictogramme : conifère, feuillus) : en cercle, en rond de sorcières, préférant le tapis des feuilles et des aiguilles bien humides.

Période de cueillette : JFMAMJJASOND : peut se retrouver au mois d'aout, et jusqu'en janvier-février si les conditions ne sont pas trop dures.

Confusions :

● ! *Clitocybe gibba* / Clitocybe en entonnoir

▲ ! *Clitocybe amoenolens* / Clitocybe à bonne odeur

▲ ! *Clitocybe acromelalga* / Clitocybe acromelalga

Comestibilité : Bon comestible

Remarques :

Lepista en grec : lepi-zô = peler. Chapeau nu, ayant l'aspect pelé

Comestible, mais de qualité gustative moyenne, et peut provoquer certains troubles digestifs chez des personnes fragilisées.

Clitocybe acromelalga ne se retrouve qu'au Japon. Attention avec *Clitocybe amoenolens* présentant une forte odeur aromatique (poire, jasmin) qui est toxique et comme *Clitocybe acromelalga*, déclenche le syndrome acromélagien.

Conclusions

ISPB - FACULTE DE PHARMACIE

THESE SOUTENUE PAR : M. BOUVARD Jérémy

La Mycologie est une science qui fait partie intégrante du cursus des pharmaciens. La Mycologie des macromycètes est même une discipline dont seul le pharmacien d'officine reste garant des connaissances. Actuellement, il y a de fortes attentes des consommateurs autour de cette discipline. Le pharmacien doit donc les orienter dans leur cueillette, les aider dans la reconnaissance des espèces ramassées et leur éviter une ingestion accidentelle d'une autre espèce pouvant conduire à une intoxication.

Les connaissances dans le domaine sont en constante évolution. Les nouvelles technologies, beaucoup plus précises qu'auparavant, permettent d'affiner les connaissances notamment en terme de classification et de mécanismes d'action des toxines. Ceci a conduit par exemple à la description de nouveaux syndromes d'intoxication suite à différents cas reconnus dans la littérature.

Le syndrome acromélagien fait partie de ces nouveaux syndromes d'intoxication par ingestion découvert il y a environ une vingtaine d'années (1996). Il est causé par l'ingestion de *Clitocybe acromelalga* qui est l'espèce que l'on retrouve au Japon, et de l'espèce française *Clitocybe amoenolens*. Le premier cas retrouvé en France date de 1979, mais il n'avait pas été associé au syndrome acromélagien à l'époque.

Ce syndrome est encore peu documenté à ce jour, du fait d'un très faible nombre de cas d'intoxication par ce champignon. Les connaissances actuelles sont encore vagues tant sur les toxines, que sur leurs mécanismes d'action ainsi que sur les traitements de cette intoxication. La toxicité est due à différentes toxines. Les principales étant les acides acroméliques A et B et font donc l'objet principal des différentes études de recherche, mais ce ne sont pas les seules et d'autres investigations sont en cours. Les mécanismes d'action des toxines ne sont pas encore réellement établis mais les études permettent d'en savoir davantage et tendent à prouver que les toxines agissent par différentes voies et à des phases différentes. Les récepteurs des toxines n'étant pas encore clairement identifiés de nombreuses études restent à entreprendre.

Les recherches actuelles portent principalement sur le *Clitocybe acromelalga*. Afin d'être sûr de pouvoir impliquer *Clitocybe amoenolens* (espèce Européenne) dans ce syndrome, il faut extraire les toxines de ce champignon et en étudier les modes d'action.

De plus, les molécules thérapeutiques potentielles, notamment l'acide nicotinique ne sont encore qu'au stade de recherche. Il pourrait cependant être un bon complément au seul traitement actuel sous forme de bains d'eau glacée pour traiter les symptômes de cette

intoxication. L'étude des toxines telles que les acides acroméliques peut amener à synthétiser des analogues qui pourraient servir de modèles d'étude afin de mieux connaître les mécanismes d'action, et même conduire à la synthèse de molécules thérapeutiques amenant à la découverte de nouveaux traitements.

Enfin, le site internet de la faculté de Pharmacie de Lyon sur les macromycètes : les macromycètes dans tous leurs états, est accessible et utilisable par tous. C'est un bon outil d'informations, complémentaire aux cours dispensés par les enseignants. Il permet aussi aux pharmaciens, mycologues, ou amateurs de champignons de mieux se documenter, d'orienter les conseils sur le bon usage des champignons et d'identifier les espèces ramassées et apportées à la pharmacie grâce à l'onglet « cinémathèque ».

Ce travail a permis d'actualiser les dernières données concernant ce syndrome d'intoxication. Il a aussi permis d'alimenter la base de données de ce site internet en y ajoutant des fiches d'indentification des champignons responsables ainsi que d'autres du même genre. Cela permettra aux pharmaciens d'avoir accès à des sources actuelles et fiables dans leurs conseils aux patients.

Chaque jour, des millions de patients poussent les portes des officines, et le pharmacien est le premier accès au système de soins. Avec des conseils gratuits, un avis de professionnel de santé, les patients ont confiance en leur pharmacien et son équipe. Ainsi, il est très important d'avoir des connaissances à jour concernant les différents syndromes d'intoxication par les macromycètes et les espèces responsables afin de répondre au mieux aux attentes des patients.

Le Président de la thèse,

Nom : *BLANCHARD*

Signature :



Vu et permis d'imprimer, Lyon, le

17 MAI 2018

Vu, la Directrice de l'Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Faculté de Pharmacie

Pour le Président de l'Université Claude Bernard Lyon 1,

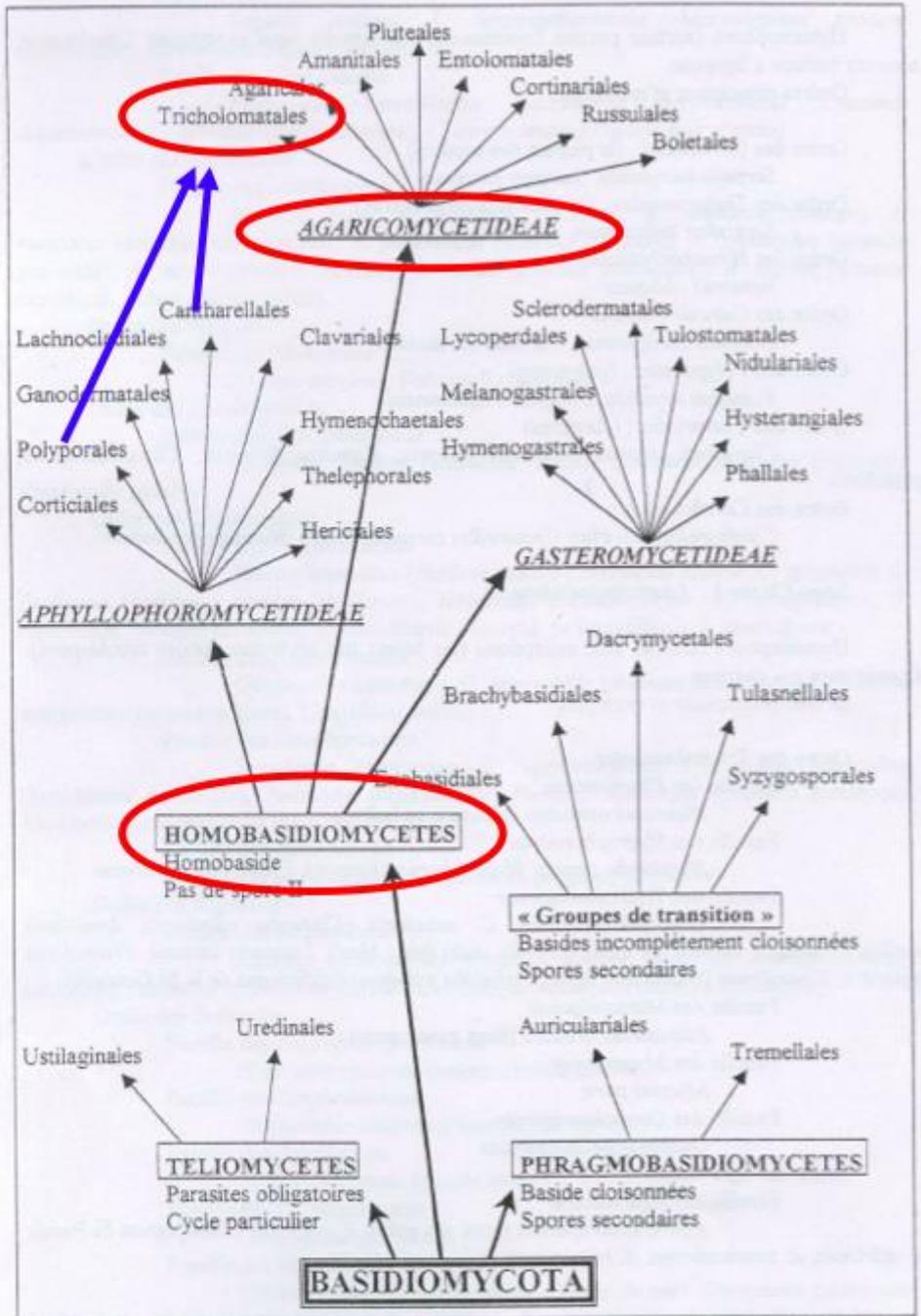


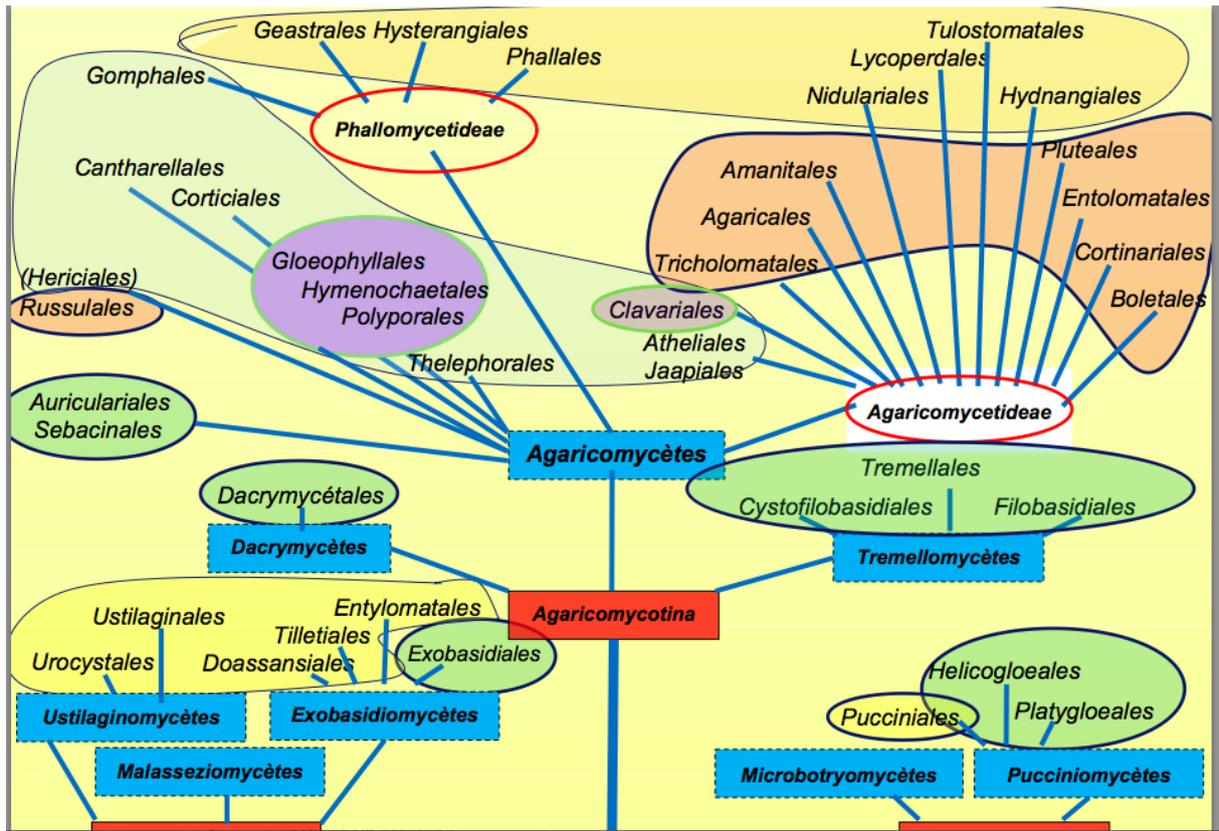
Professeure C. VINCIGUERRA

Annexes

Annexe 1 :

Tableau III : Arbre general des Basidiomycota.





COPYRIGHT Régis Courtecuisse

Les familles

- { *Pleurotaceae*
- { *Hygrophoraceae*
- Tricholomataceae*
- { *Marasmiaceae* (+ *Omphalotaceae*)
- { *Mycenaceae*
- { [*Dermolomataceae*]
- { *Physalacriaceae* [= *Xerulaceae*]
- { *Squamanitaceae* (= *Cystodermataceae*)

COPYRIGHT Régis Courtecuisse

Annexe 2 : Termes ajoutés au glossaire du site internet de l'ISPB

Termes	Définitions
Acidulé	Présente un léger gout acide
Charnu	Qui comporte beaucoup de chair, dont la chair est épaisse
Clitocyboïde	Dont la forme ressemble à un Clitocybe
Concolore	Qui est partout de la même couleur. Si le chapeau a la même couleur que le pied, on dit que le chapeau est concolore au pied
Cotonneux	Couvert d'un duvet ressemblant au coton
Cyanique	Odeur d'amande amère
Piléique	Revêtement appartenant au chapeau
Renflé	Qui présente un bombement, une courbure de surface
Spongieux	Qui s'imbibe d'eau comme l'éponge. Comme rempli de coton et rendant l'eau à la pression par temps humide
Subcylindrique	A peu près cylindrique

Le terme Ochracé existe déjà dans le glossaire, mais son orthographe sera à corriger. Pour rappel, la définition de Ochracé : teinté d'ocre, jaune.

Clitocybe dealbata



Clitocybe dealbata / *Clitocybe blanchi*



Sporée

Ordre :	Agaricales
Genre :	<i>Clitocybe</i>
Caractéristiques du genre :	Chair fibreuse à texture élastique cartilagineuse. Lames largement adnées à décurrentes.
Sporée :	Sporée blanche ou très pâle. Blanche.

Chapeau

De 2 à 4 cm de diamètre. Revêtement glacé, blanc satiné rosâtre. Plat, légèrement creux. [Marge](#) mince et retroussée.

Chair

Tendre à fibreuse. Blanche. Odeur forte et complexe de farine.

Hyménophore

Lames blanches à grisâtres. Peu [décurrentes](#).

Pied

Blanc. Court. Surface fibrilleuse roussissant progressivement de la base. Mycélium [agglomérant](#) à la base du pied.

Anneau

Sans.

Volve

Sans.

Habitat



Près, pelouses, bord des chemins herbeux.

Période de cueillette

J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

Automne, temps froid et humide.



[Accéder à la Macrothèque](#)

Hyménophore



Confusions

- *Clitopilus prunulus* / Clitopile petite prune ;
- *Tricholoma columbetta* / Tricholome colombette.

Comestibilité

Toxique.

Syndrome associé

Sudorien : 15 minutes à 3 heures après l'ingestion. Gastroentérites avec nausées, vomissements et diarrhées. Puis syndrome cholinergique : hypersécrétions généralisées (hypersialorrhées, sudation intense, encombrements bronchiques) ; bradycardie ; myosis ; paresthésies.

Conduite à tenir

Hospitalisation et traitement par atropine. 1 mg toutes les 10 minutes jusqu'à mydriase et arrêt des sécrétions (attention au surdosage).

Médias



Télécharger



Observer (Zoom)



Observer (360°)



Visionner

Chapeau



Remarques :

Se méfier des petits champignons entièrement blancs. Attention à la confusion avec le *Clitopilus prunulus* / *Clitopile* petite prune ou meunier. Plusieurs décès déjà décrits.



Annexe 4 : Charte graphique d'une fiche d'identité d'un macromycète

FICHE COMESTIBLE	
Fiche verte avec pictogramme vert	Fiche jaune avec pictogramme jaune
 Comestible  Bon comestible  Excellent comestible	<p>1- Comestible sous condition :</p>  Comestible  Bon comestible  Excellent comestible <p>2 - Comestible mais pas bon <u>ou</u> Mauvais mais pas bon</p> 
FICHE TOXIQUE	
 Toxique <u>ou</u>  Comestibilité inconnue	
FICHE MORTEL	
 Mortel	

SPOREE

Couleurs de sporée :



Blanche



Jaune



Rose



Brun
Tabac

Roux



Brune



Violacée



Noire

HABITAT



Feuilleu



Conifère



Pin -2 aiguilles



Pin -5 aiguilles



Pré



Champ cultivé

CALENDRIER

Un rectangle avec les 12 mois, les mois correspondant à la cueillette seront en vert foncé.

J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

PHOTOS

1- Photo verticale

Format : Largeur : 6.5 cm

Hauteur : 10 cm



2- Photo horizontale

Format : Hauteur : 6.5 cm

Largeur : 10 cm



3- Petite photo

Format : Hauteur : 4.5 cm

Largeur : 4.5 cm



Bibliographie

- [1] Flesch F, Saviuc P. Intoxications par les champignons : principaux syndromes et traitement. Dans : Encyclo Méd Chir, Médecine d'urgence [Article 25-030-B-40], 2004
- [2] Eyssartier G, Roux P. Le guide des champignons : France et Europe. Paris, France : Belin, 2011. 1120 p.
- [3] Masson C. Les Amanites toxiques : dernières avancées sur les syndromes et amélioration de la base de données du site internet de formation en mycologie de l'Université [Thèse d'exercice]. Lyon, France : Université Claude Bernard, Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques ; 2016
- [4] Roux A. Intoxications par les champignons réputés comestibles [Thèse d'exercice]. Grenoble, France : Université Joseph Fourier ; 2008
- [5] Courtecuisse R, Duhem B. Guide des champignons de France et d'Europe. Paris, France : Delachaux et Niestlé, 2011. 544 p.
- [6] Saviuc P.F, Danel V.C, Moreau P.A, Claustre A.M, Ducluzeau R, Carpentier P.H. Erythromalgie soudaine : cherchez le champignon. La revue de Médecine Interne. Avril 2002 ; 23(4) : 394-399
- [7] Saviuc P.F, Danel V.C, Moreau P.A, Guez D, Claustre A.M, Carpentier P.H, et al. Erythromelalgia and Mushroom Poisoning. Journal of Toxicology: Clinical Toxicology. 2001; 39(4): 403-407
- [8] Bouyahyaoui Y, Meziane M, Hanaae Z, Mikou O, Mernissi F-Z, Baba khouya A, et al. Erythromalgie primitive familiale: à propos d'un cas. Archives de pédiatrie. Avril 2013; 20(4): 369-371
- [9] Wikipédia. Chapeau (champignon). [En ligne]. 2009 [cité le 01 Déc 2017]. Disponible : [https://fr.wikipedia.org/wiki/Chapeau_\(champignon\)#/media/File:Sch%C3%A9ma_champignon.jpg](https://fr.wikipedia.org/wiki/Chapeau_(champignon)#/media/File:Sch%C3%A9ma_champignon.jpg)
- [10] MycoDB : Base de données mycologique. MycoDB : Fiche de *Paralepistopsis acromelalga*. [En ligne]. 2010 [cité le 04 Déc 2017]. Disponible : <http://www.mycodb.fr/fiche.php?genre=Paralepistopsis&espece=acromelalga>
- [11] Moingeon JM. Pharmanatur : mycologie, *Clitocybe amoenolens*. [En ligne]. 2000 [cité le 04 Déc 2017]. Disponible : <http://www.pharmanatur.com/Mycologie/Clitocybe%20amoenolens.htm>
- [12] Moingeon JM. Pharmanatur : Mycologie, *Lepista inversa*. [En ligne]. 2000 [cité le 04 Déc 2017]. Disponible : <http://www.pharmanatur.com/Lepista%20inversa.htm>

- [13] MycoDB : Base de données mycologique. MycoDB : Fiche de *Infundibulicybe gibba*. [En ligne]. 2010 [cité le 04 Déc 2017]. Disponible : <http://www.mycodb.fr/fiche.php?genre=Infundibulicybe&espece=gibba>
- [14] Allardin K. Un Clitocybe peu connu en France responsable d'un syndrome acromélagique [Thèse d'exercice]. Grenoble, France : Université Joseph Fourier ; 2001
- [15] Konno K, Shirahama H, Matsumoto T. Isolation and structure of acromelic acid A and B. New kanoids of *Clitocybe acromelalga*. Tetrahedron Letters. 1983; 24(9): 939-942
- [16] Inai M, Ouchi H, Asahina A, Asakawa T, Hamashima Y, Kan T. Pratical total syntheses of acromelic acids A and B. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 2016; 64(7): 723-732
- [17] S. Majik Mahesh, K. Mandrekar Vinod. Recent progress in syntheses and biological activities of kainic acid and its derivates. Current Organic Chemistry. Avril 2016; 20(8): 939-951
- [18] Konno K, Hashimoto K, Ohfuné Y, Shirahama H, Matsumoto T. Acromelic acids A and B. Potent neuroexcitatory amino acids isolated from *Clitocybe acromelalga*. Journal of the American Chemical Society. 1988; 110: 4807-4815
- [19] Hashimoto K, Horikawa M, Shirahama H. Simple analogs of acromelic acid, which are highly active agonists of kainite type neuroexcitant. Tetrahedron Letters. 1990; 31(48): 7047-7050
- [20] Fushiya S, Sato S, Kanazawa T, Kusano G, Nozoe S. Acromelic acid C. A new toxic constituent of *Clitocybe acromelalga*: an efficient isolation of acromelic acids. Tetrahedron Letters. 1990; 31(27): 3901-3904
- [21] Bessard J, Saviuc P, Chane-Yene y, Monnet S, Bessard G. Mass spectrometric determination of acromelic acid A from a new poisonous mushroom: *Clitocybe ameonolens*. Journal of Chromatography A. 2004; 1055: 99-107
- [22] Jack E. Baldwin, Andrew M. Fryer, Gareth J. Pritchard. Parallel synthesis of novel heteroaromatic acromelic acids analogues from kainic acid. Journal of Organic Chemistry. 2001; 66: 2588-2596
- [23] Fujii M, Yokoshima S, Fukuyama T. A unified strategy for kanoid synthesis. European Journal of Organic Chemistry. 2014: 4823-4836
- [24] Fushiya S, Sato S, Nozoe S. L-stizolobic acid and L-stizolobinic acid from *Clitocybe acromelalga*, precursors of acromelic acids. Phytochemistry. 1992; 31(7): 2337-2339
- [25] Adamczyk M, Akireddy S.R, Reddy R.E. Asymmetric synthesis of (S)-(-)-acromelobinic acid. Tetrahedron asymmetry. 2001; 12: 2385-2387

- [26] Yamano K, Shirahama H. New amino acids from *Clitocybe acromelalga*. Possible intermediates in the biogenesis of mushroom toxins, acromelic acids. *Tetrahedron*. 1993; 49(12): 2427-2436
- [27] Fushiya S, Sato S, Kusano G, Nozoe S. β -cyano-L-alanine and N-(γ -L-glutamyl)- β -cyano-L-alanine, neurotoxic constituents of *Clitocybe acromelalga*. *Phytochemistry*. 1993; 33(1): 53-55
- [28] Hirayama F, Konno K, Shirahama H, Matsumoto T. 4-aminopyridine-2,3-dicarboxylic acid from *Clitocybe acromelalga*. *Phytochemistry*. 1989; 28(4): 1133-1135
- [29] Konno K, Shirahama H, Matsumoto T. Clithioneine, an amino acid betaine from *Clitocybe acromelalga*. *Phytochemistry*. 1984; 23(5): 1003-1006
- [30] Konno K, Hayano K, Shirahama H, Saito H, Matsumoto T. Clitidine, a new toxic pyridine nucleoside from *Clitocybe acromelalga*. *Tetrahedron*. 1982; 38(22): 3281-3284
- [31] Konno K, Hayano K, Shirahama H, Saito H, Matsumoto T. Structure and synthesis of clitidine. A new pyridine nucleoside from *Clitocybe acromelalga*. *Tetrahedron letters*. 1977; 5: 481-482
- [32] Yamano K, Shirahama H. Clitidine 5'-mononucleotide, a toxic pyridine nucleotide from *Clitocybe acromelalga*. *Phytochemistry*. 1994; 35(4): 897-899
- [33] Yamano K, Shirahama H. New amino acids from the poisonous mushroom *Clitocybe acromelalga*. *Tetrahedron*. 1992; 48(8): 1457-1464
- [34] Fushiya S, Matsuda M, Yamada S, Nozoe S. New opine type amino acids from a poisonous mushroom, *Clitocybe acromelalga*. *Tetrahedron*. 1996; 52(3): 877-886
- [35] Sarkar S, Raymick J, et al. Neurovascular Pathways to Neurodegeneration Induced by Kainic Acid. Dans: Elisabeth Leone. Kainic Acid: Neurotoxic Properties, Biological Sources and Clinical Applications. UK: Nova Science Publisher; 2014. p. 1-27
- [36] Bunch L, Krogsgaard-Larsen P. Subtype selective kainic acid receptor agonists: discovery and approaches to rational design. *Medicinal Research Reviews*. Jan 2009; 29(1): 3-28
- [37] Fundytus M.E. Glutamate receptors and nociception. Implications for the drug treatment of pain. *CNS drugs*. 2001; 15(1): 29-58
- [38] Sharma S. Molecular pharmacology of environmental neurotoxins. Dans: Elisabeth Leone. Kainic Acid: Neurotoxic Properties, Biological Sources and Clinical Applications. UK: Nova Science Publisher; 2014. p. 47-93

- [39] Saviuc P, Dematteis M, Mezin P, Danel V, Mallaret M. Toxicity of the *Clitocybe amoenolens* mushroom in the rat. *Veterinary and Human Toxicology*. Août 2003; 45(4): 180-182
- [40] Satelle D.B, Sepulveda M-I, Shinozaki H, Ischida M. Actions of acromelic acid on nervous system L-glutamate receptors. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 1994; 25: 87-94
- [41] Furuta K, Xing Wang G, Minami T, Nishizawa M, Ito S, Suzuki M. A simple acromelic acid analog potentially useful for receptor photoaffinity labeling and biochemical studies. *Tetrahedron Letters*. 2004; 45: 3933-3936
- [42] Kanazawa M, Furuta K, Doi H, Mori T, Minami T, Ito S, et al. Synthesis of an acromelic acid A analog-based C-labeled PET tracer for exploration of the site of action of acromelic acid A in allodynia induction. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2011; 21: 2017-2020
- [43] Taguchi T, Tomotoshi K, Mizumura K. Excitatory actions of mushroom poison (acromelic acid) on unmyelinated muscular afferents in the rat. *Neuroscience Letters*. 2009; 456: 69-73
- [44] Miyazaki S, Minami T, Mizuma H, Kanazawa M, Doi H, Matsumura S, et al. The action site of the synthetic kainoid (2S,3R,4R)-3-carboxymethyl-4-(4-methylphenylthio)pyrrolidine-2-carboxylic acid (PSPA-4), an analogue of Japanese mushroom poison acromelic acid, for allodynia (tactile pain). *European Journal of Pharmacology*. 2013; 710: 120-127
- [45] Omoto H, Matsumura S, Kitano M, Miyazaki S, Minami T, Ito S. Comparison of mechanisms of allodynia induced by acromelic acid A between early and late phases. *European Journal of Pharmacology*. 2015; 760: 42-48
- [46] Minami T, Matsumura S, Nishizawa M, Sasaguri Y, Hamanaka N, Ito S. Acute and late effects on induction of allodynia by acromelic acid, a mushroom poison related structurally to kainic acid. *British Journal of Pharmacology*. 2004; 142: 679-688
- [47] Fukuwatari T, Sugimoto E, Yokoyama K, Shibata K. Establishment of animal model for elucidating the mechanism of intoxication by the poisonous mushroom *Clitocybe acromelalga*. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*. Juin 2001; 42(3): 185-189
- [48] Fukuwatari T, Sugimoto E, Shibata K. Effect of feeding with a poisonous mushroom *Clitocybe acromelalga* on the metabolism of tryptophan-niacin in rats. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*. Juin 2001; 42(3): 190-196
- [49] Nakajima N, Ueda M, Higashi N, Katayama Y. Erythromelalgia associated with *Clitocybe acromelalga* intoxication. *Clinical Toxicology*. 2013; 51(5): 451-454
- [50] Nakajima N, Ueda M, Higashi N, Katayama Y. Therapeutic potential of nicotinic acid in erythromelalgia associated with *Clitocybe acromelalga* intoxication. *Clinical Toxicology*. 2013; 51(8): 815-815

- [51] Senthilkumaran S, Menezes R.G, Nath Jena N, Thirumalaikolundusubramanian P. Nicotinic acid in erythromelalgia associated with *Clitocybe acromelalga* intoxication: Theories and therapy. *Clinical Toxicology*. 2013; 51(8): 814-814
- [52] Nakajima N, Ueda M. Nicotinic acid treatment for *Paralepistopsis acromelalga* intoxication: assessment using magnetic resonance imaging. *Clinical Toxicology*. 2016; 54(7): 597-600
- [53] Soen M, Minami T, Tatsumi S, Mabuchi T, Furuta K, Maeda M, et al. A synthetic kainoid, (2S,3R,4R)-3-carboxymethyl-4-(phenylthio)pyrrolidine-2-carboxylic acid (PSPA-1) serves as a novel anti-allodynic agent for neuropathic pain. *European Journal of Pharmacology*. 2007; 575: 75-81
- [54] Skali Dahbi S, Zouhair K, Moutawakil B, Hmamouchi B, Benchikhi H. Érythermalgie primitive: efficacité de l'oxcarbazépine. *Annales de dermatologie et de vénéréologie*. 2009; 136: 337-340
- [55] Bon M. Champignons de France et d'Europe occidentale. Paris, France : Flammarion, 2012. 368 p.
- [56] Borgarino D, Hurtado C. Le guide des champignons en 900 photos et fiches. Aix-en-Provence, France : Edisud, 2005. 450 p.
- [57] MycoDB : Base de données mycologique. MycoDB : Fiche de *Paralepistopsis amoenolens*. [En ligne]. 2007 [cité le 28 Mai 2018]. Disponible : <http://www.mycodb.fr/fiche.php?genre=Paralepistopsis&espece=amoenolens>
- [58] Garcia J, Costa VM, Carvalho ATP, Silvestre R, Duarte JA, Dourado DFAR, et al. A breakthrough on *Amanita phalloides* poisoning: an effective antidotal effect by polymyxin B. *Arch Toxicol*. Dec 2015; 89(12): 2305-2323
- [59] Lazareth I, Fiessenger JN, Priolet P. L'érythermalgie, un acrosyndrome rare. *Presse Méd*. 1988 ; 17 : 2235-9.

L'ISPB - Faculté de Pharmacie de Lyon et l'Université Claude Bernard Lyon 1 n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

L'ISPB - Faculté de Pharmacie de Lyon est engagé dans une démarche de lutte contre le plagiat. De ce fait, une sensibilisation des étudiants et encadrants des thèses a été réalisée avec notamment l'incitation à l'utilisation d'une méthode de recherche de similitudes.

BOUVARD Jérémy

LE SYNDROME D'INTOXICATION FONGIQUE ACROMELALGIEN : NOUVELLES AVANCEES SCIENTIFIQUES ET CREATION DE FICHES DE RECONNAISSANCES DES CHAMPIGNONS IMPLIQUES

Th. D. Pharm., Lyon 1, 2018, 116 p.

RESUME

La Mycologie évolue constamment et la découverte de nouvelles espèces et de nouveaux syndromes se fait maintenant grâce aux nouvelles technologies. Les intoxications par les champignons sont en recrudescence du fait d'une méconnaissance des champignons ramassés, d'une confusion avec d'autres espèces. Le pharmacien, garant de cette science, se doit d'être à jour de ses connaissances mycologiques pour assurer le bon usage des macromycètes.

Notre première partie présente un rappel sur les différents syndromes d'intoxication fongique qu'ils soient classés parmi les syndromes d'incubation courte ou d'incubation longue selon le délai d'apparition des symptômes après ingestion. La suite de ce travail se consacre principalement au syndrome acromélagien, récemment découvert (il y a une vingtaine d'années), en répertoriant les dernières avancées et données scientifiques, tant sur les mécanismes d'action que sur les traitements potentiels pour cette intoxication.

Le pharmacien suit une formation universitaire complète à laquelle s'ajoute une formation en mycologie. L'importance est de former en continue les futurs pharmaciens en leur apportant des données actuelles et mises à jour régulières. C'est l'intérêt du site de la faculté de pharmacie de Lyon avec le site internet : « Les macromycètes dans tous leurs états ». La deuxième partie de ce travail consiste à apporter de nouvelles fiches d'identification de champignons afin d'améliorer la base de données.

MOTS CLES

Syndrome Acromélagien
Acides acroméliques
Clitocybe amoenolens
Site internet

JURY

M. BLAHA Didier, Maître des Conférences des Universités
Mme RODRIGUEZ NAVA Veronica, Maître de Conférences des Universités
Mme PALIARD Caroline, Docteur en Pharmacie, Expert en mycologie
M. PONCHON Alexandre, Docteur en Pharmacie

DATE DE SOUTENANCE

Mardi 12 juin 2018

ADRESSE DE L'AUTEUR

120, avenue Jean Jaurès – 69150 Décines-Charpieu