

# Toxicité de l'herbicide paraquat : mécanismes moléculaires impliqués dans la dégénérescence neuronale parkinsonienne et potentiel thérapeutique d'une molécule anti-inflammatoire

Période : avril 2014 à août 2014

Agnès PETIT-PAITEL | paitel@ipmc.cnrs.fr

CNRS – Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire – UMR7275 – Valbonne – France

Mots-clés :  $\alpha$ -synucléine, dopamine, fibrose pulmonaire, intoxication, herbicide, maladie de Parkinson, neurodégénérescence, neurotoxine, paraquat

Le paraquat est un des herbicides<sup>(1)</sup> les plus employés au monde. Bien que très toxique, il est encore utilisé par les agriculteurs d'une centaine de pays à cause de son faible coût et de sa facilité d'utilisation. En Europe, son utilisation est interdite depuis 2007.

L'intoxication aiguë par le paraquat cause une fibrose pulmonaire<sup>(2)</sup> généralement fatale (1).

Bien qu'il n'existe pas de preuve formelle de la neurotoxicité<sup>(3)</sup> du paraquat chez l'homme, des études menées sur des rongeurs suggèrent qu'il causerait des lésions cérébrales semblables à celles de la maladie de Parkinson (MP). Le paraquat, comme d'autres pesticides, est donc suspecté de favoriser l'apparition de MP chez les agriculteurs (2).

Les mécanismes de toxicité du paraquat sont basés sur sa capacité à induire dans les tissus biologiques un stress oxydant<sup>(4)</sup> aboutissant à la mort neuronale (3). Lors d'une intoxication par voie respiratoire, le paraquat pourrait pénétrer dans le cerveau par l'épithélium olfactif<sup>(5)</sup>, où il entraînerait l'agrégation intraneuronale de la protéine  $\alpha$ -synucléine (syn) puis favoriserait la mort des neurones dopaminergiques de la substance noire qui projettent leurs axones dans le striatum<sup>(6)</sup> et la survenue de symptômes parkinsoniens (4). Dans le premier article, les auteurs suggèrent l'existence d'un réseau entre neurones dopaminergiques olfactifs et striataux dont le dysfonctionnement, favorisé par l'exposition au paraquat, pourrait induire l'apparition de la MP (5).

Aucune des différentes thérapeutiques anti-oxydantes ou chélatrices<sup>(7)</sup> testées à ce jour ne s'est révélée efficace contre l'intoxication au paraquat (6).

Dans le second article, les auteurs décrivent les altérations périphériques et centrales provoquées chez le rat par le paraquat et évaluent le potentiel thérapeutique d'un traitement préventif par un inhibiteur sélectif du récepteur aux chimiokines CXCR2<sup>(8,9)</sup> (7).

## L'exposition de souris transgéniques, exprimant de manière conditionnelle l' $\alpha$ -synucléine, à une neurotoxine environnementale suggère l'existence d'un réseau fonctionnel entre les systèmes dopaminergiques olfactifs et striataux dans les premiers stades de la maladie de Parkinson

Nuber S, Tadros D, Fields J, Overk CR, Eittle B, Kosberg K, Mante M, Rockenstein E, Trejo M, Masliah E. Environmental neurotoxic challenge of conditional alpha-synuclein transgenic mice predicts a dopaminergic olfactory-striatal interplay in early PD. *Acta Neuropathol* 2014;127:477-94.

### Résumé

La MP est caractérisée par des déficits moteurs dus à la mort des neurones de la substance noire<sup>(10)</sup> qui projettent leurs axones vers le striatum, l'ensemble formant la voie nigro-striée. Les déficits olfactifs font partie des premiers symptômes de la MP (8) mais

leurs causes ne sont pas encore clairement expliquées. Les neurones dopaminergiques du bulbe olfactif sont les premiers neurones à présenter des inclusions intracellulaires de syn (synucléinopathie) (9).

Les auteurs étudient la contribution de la synucléinopathie<sup>(11)</sup> olfactive dans la progression de la MP, ainsi que l'influence du paraquat. Ils montrent que la surexpression d'une forme mutée d' $\alpha$ -synucléine humaine (A30P syn, responsable d'une forme héréditaire de la maladie) sélectivement dans les neurones olfactifs de souris suffit à provoquer un comportement hyperactif provoqué par l'élévation du taux de dopamine<sup>(12)</sup> dans le striatum. Un traitement de 6 semaines à de faibles doses de paraquat (5 mg/kg), par voie intrapéritonéale<sup>(13)</sup>, s'oppose au phénotype hyperactif des souris A30P syn. De manière intéressante, le paraquat n'induirait la mort des neurones dopaminergiques olfactifs que chez les souris surexprimant l'A30P syn, suggérant ainsi qu'elle augmenterait la sensibilité des neurones au paraquat. Les auteurs montrent que le paraquat induirait l'augmentation

de l'activité d'une protéase<sup>(14)</sup> appelée calpaïne aboutissant à la fois à l'inhibition de l'autophagie<sup>(15)</sup> et à l'augmentation des niveaux de la forme tronquée de syn (CT syn). Ces deux phénomènes favoriseraient l'accumulation de la forme entière insoluble et l'agrégation de la forme tronquée CT syn dans les neurones olfactifs.

Globalement, les auteurs proposent un modèle selon lequel de faibles doses de paraquat induiraient l'accumulation et l'agrégation de syn dans les neurones olfactifs, provoquant l'augmentation indirecte du taux de dopamine dans le striatum, qui à son tour favoriserait l'accumulation de syn dans les neurones dopaminergiques de la voie nigro-striée et la mort neuronale, faisant ainsi progresser la maladie.

#### Commentaire

Le paraquat engendrerait, en présence de syn, une cascade pathologique aboutissant à la mort des neurones dopaminergiques olfactifs qui pourrait influencer la mort neuronale dans le striatum. On peut toutefois regretter que les auteurs aient choisi une voie d'administration intrapéritonéale pour le paraquat, la voie respiratoire ou intranasale semblant plus pertinente. Des études récentes suggèrent que la syn se comporterait chez les patients atteints de la MP selon un mécanisme proche de celui de la protéine prion (10). La syn anormale aurait ainsi la possibilité de s'agréger mais aussi de se propager de neurones en neurones. Bien que ce mécanisme soit évoqué dans la discussion de l'article, il est dommage que n'ait pas été explorée la possibilité de la propagation de l'agrégation de la syn des neurones dopaminergiques olfactifs aux neurones de la voie nigro-striée.

### L'inhibition pharmacologique des récepteurs aux chimiokines CXCR2 module l'intoxication au paraquat de rats

Costa KM, Maciel IS, Kist LW, Campos MM, Bogo MR. Pharmacological inhibition of CXCR2 chemokine receptor modulates paraquat-induced intoxication in rats. *PLoS ONE* 2014;9(8): e105740.

#### Résumé

Lors d'une intoxication, le paraquat se concentre dans les poumons, provoquant une fibrose tissulaire et une infiltration massive de leucocytes<sup>(16)</sup> (11). Les leucocytes seraient recrutés en réponse à l'inflammation locale provoquée par l'augmentation du taux d'interleukine-8 (IL-8), qui se lie au récepteur CXCR2 présent à la surface des leucocytes sanguins et permet leur migration (12). Les auteurs ont évalué sur un modèle de rat les altérations tissulaires et fonctionnelles induites par le paraquat en périphérie et dans le système nerveux central. Ils ont également étudié les effets d'un traitement avec l'antagoniste sélectif du récepteur CXCR2 (SB225002) sur ces paramètres. Les animaux intoxiqués ont reçu des injections répétées de paraquat dans le péritoine (ip) (dose totale 50 mg/kg, correspondant à une intoxication aigüe) et les animaux témoins une solution saline. Des groupes séparés d'animaux ont été traités avec le

SB225002, administré 30 min avant chaque injection de paraquat. Au 15<sup>e</sup> jour, les animaux ont été euthanasiés et les poumons, le sang, le striatum ont été prélevés et analysés. Le paraquat induit une diminution du poids corporel, une hypothermie<sup>(17)</sup>, une augmentation de la perception de la douleur, des perturbations locomotrices ainsi qu'une migration de leucocytes dans le sang et les poumons. Au niveau cérébral, il provoque une augmentation des marqueurs de l'inflammation dans le striatum. Le SB225002 permet le maintien partiel des paramètres physiologiques, une modération des altérations comportementales et une réduction de l'inflammation cérébrale. Les auteurs suggèrent donc que le blocage du CXCR2 par le SB225002 pourrait limiter les dommages périphériques et centraux induits par le paraquat.

#### Commentaire

Le lavage gastrique, la dialyse et les perfusions sanguines sont les seules armes thérapeutiques pour tenter de lutter contre l'empoisonnement au paraquat. L'utilisation de molécules anti-oxydantes a également été testée, sans succès. Ici, les auteurs évaluent l'intérêt thérapeutique d'une molécule inhibant la migration leucocytaire dans les poumons. Les résultats sont encourageants puisque le SB225002 permet, chez le rat intoxiqué, une amélioration des symptômes induits par le paraquat. Du point de vue expérimental, il aurait été plus pertinent de tester le SB225002 post-intoxication plutôt qu'en traitement préventif. Aucune donnée quant à la survie à court et long terme des animaux n'est donnée. Enfin, aucune explication mécanistique n'est apportée pour expliquer les améliorations apportées par le SB225002 au niveau central.

## CONCLUSION GÉNÉRALE

Bien que la dangerosité du paraquat soit connue et que son utilisation en Europe soit interdite depuis quelques années, il reste un des herbicides les plus employés au monde et cause chaque année de nombreux décès par empoisonnement accidentel ou volontaire (6). Le premier article présenté tente de démontrer comment le paraquat influencerait le développement de la MP chez les personnes exposées. Grâce un modèle de souris transgéniques exprimant une forme mutée de la protéine  $\alpha$ -synucléine (syn) dans le bulbe olfactif, les auteurs suggèrent l'existence d'un réseau fonctionnel liant l'accumulation de syn dans les neurones dopaminergiques olfactifs, qui est un signe précoce de la MP, à la mort de neurones dopaminergiques, responsables des déficits moteurs classiques de la maladie. Les auteurs du second article s'intéressent au rôle de l'inflammation et de l'infiltration des neutrophiles après empoisonnement de rats au paraquat, et utilisent le composé SB225002, bloquant du récepteur à la chimiokine IL-8 CXCR2, comme une nouvelle voie thérapeutique envisageable. Toutefois, des études complémentaires visant à étudier les effets curatifs de ce composé administré après empoisonnement au paraquat seraient nécessaires.

## GENERAL CONCLUSION

*Although the danger of paraquat is known and its use has been banned in Europe for several years, it remains one of the most widely used herbicides in the world and causes many deaths each year by accidental or intentional poisoning. In the first paper the authors study how paraquat exposure could influence the development of PD. Using a model of transgenic mice expressing a mutated human alpha-synuclein in the olfactory bulb, the authors suggest the existence of a functional network linking the death of olfactory dopaminergic neurons, which is an early sign of PD, to the death of nigral dopaminergic neurons, responsible for the conventional motor deficits of the disease. The second article focuses on the role of inflammation and neutrophil infiltration after paraquat poisoning in rats, and draws attention to the SB225002 compound, a blocker of the CXCR2 chemokine IL-8 receptor, as a putative new therapeutic option. However, further studies to investigate the therapeutic effects of this compound administered after paraquat poisoning are necessary.*

## Lexique

- (1) Herbicide: Substance active de la famille des pesticides, ayant la capacité de tuer des végétaux.
- (2) Fibrose pulmonaire: Lésion des poumons caractérisée par la présence d'un excès de tissu conjonctif fibreux.
- (3) Neurotoxicité: Toxicité au niveau des neurones.
- (4) Stress oxydant: Le stress oxydant est caractérisé au niveau cellulaire par la production de radicaux libres.
- (5) Epithélium olfactif: Muqueuse de la cavité nasale composé de quatre types cellulaires, dont des neurones olfactifs dont les projections remontent jusqu'au bulbe olfactif cérébral.
- (6) Striatum: Structure cérébrale située sous le cortex, impliquée dans l'exécution des mouvements et le contrôle de la douleur.
- (7) Chélation: Approche médicale visant à désintoxiquer l'organisme des substances nuisibles. C'est un procédé par lequel une substance organique (l'agent chélateur) se lie à des minéraux ou des métaux ionisés (chargés électriquement), comme le fer, le calcium, le plomb, le cuivre, etc. Le complexe qui en résulte étant stable, inactif, non toxique et soluble, peut facilement être éliminé par voie urinaire.
- (8) Chimiokine: Protéine soluble de la famille des cytokines qui attire les cellules immunes vers le lieu de l'inflammation.
- (9) CXCR2: Récepteur transmembranaire de l'interleukine-8, exprimé à la surface de certains leucocytes, les neutrophiles, permettant leur migration vers un site inflammatoire.
- (10) Substance noire: Petite zone du cerveau dont les neurones sécrètent la dopamine, un neurotransmetteur (substance permettant aux messages de circuler entre les neurones) permettant de réguler les mouvements.
- (11) Synucléinopathie: Maladie neurodégénérative caractérisée par l'accumulation d'agrégats de protéine  $\alpha$ -synucléine dans les neurones ou les cellules gliales. La maladie de Parkinson, la démence à corps de Lewy et l'atrophie multisystématisée sont des synucléinopathies.
- (12) Dopamine: Neurotransmetteur (composé chimique assurant la transmission des messages entre neurones) impliqué dans la sensation de plaisir, l'addiction, le contrôle de la motricité volontaire et les apprentissages. Dans la maladie de Parkinson, sa diminution au niveau du striatum engendre les symptômes de la maladie.
- (13) Injection intrapéritonéale: Injection d'une substance dans le péritoine, permettant une action rapide.
- (14) Protéase: Enzyme qui coupe les liaisons peptidiques d'une protéine.
- (15) Autophagie: Mécanisme cellulaire consistant en la dégradation partielle du contenu du cytoplasme de la cellule en utilisant ses propres organelles de dégradation (lysosomes). L'autophagie permet entre autres à la cellule de se débarrasser des protéines dénaturées.
- (16) Leucocytes: Egalement appelés globules blancs. Cellules sanguines du système immunitaire, comprenant les granulocytes (dont les neutrophiles), les lymphocytes et les monocytes.
- (17) Hypothermie: Baisse de la température normale du corps.

## Publications de référence

- (1) Dinis-Oliveira RJ, Duarte JA, Sanchez-Navarro A, *et al.* Paraquat poisonings: mechanisms of lung toxicity, clinical features, and treatment. *Crit Rev Toxicol* 2008;**38**:13-71.
- (2) Berry C, La Vecchia C, Nicotera P. Paraquat and Parkinson's disease. *Cell Death Differ* 2010;**17**:1115-25.
- (3) McCormack AL, Atienza JG, Johnston LC, *et al.* Role of oxidative stress in paraquat-induced dopaminergic cell degeneration. *J Neurochem* 2005;**93**:1030-7.
- (4) Prediger RD, Aguiar AS, Jr., Matheus FC, *et al.* Intranasal administration of neurotoxicants in animals: support for the olfactory vector hypothesis of Parkinson's disease. *Neurotox Res* 2012;**21**:90-116.
- (5) Nuber S, Tadros D, Fields J, *et al.* Environmental neurotoxic challenge of conditional alpha-synuclein transgenic mice predicts a dopaminergic olfactory-striatal interplay in early PD. *Acta Neuropathol* 2014;**127**:477-94.
- (6) Gawarammana IB, Buckley NA. Medical management of paraquat ingestion. *Br J Clin Pharmacol* 2011;**72**:745-57.
- (7) Costa KM, Maciel IS, Kist LW, *et al.* Pharmacological inhibition of CXCR2 chemokine receptors modulates paraquat-induced intoxication in rats. *PLoS One* 2014;**9**:e105740.
- (8) Doty RL. Olfactory dysfunction in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol* 2012;**8**:329-39.
- (9) Braak H, Del Tredici K, Rub U, *et al.* Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 2003;**24**:197-211.
- (10) Luk KC, Kehm V, Carroll J, *et al.* Pathological alpha-synuclein transmission initiates Parkinson-like neurodegeneration in nontransgenic mice. *Science* 2012;**338**:949-53.
- (11) Martin WJ 2<sup>nd</sup>, Howard DM. Paraquat-induced neutrophil alveolitis: reduction of the inflammatory response by pretreatment with endotoxin and hyperoxia. *Lung* 1986;**164**:107-20.
- (12) Bianchi M, Fantuzzi G, Bertini R, *et al.* The pneumotoxicant paraquat induces IL-8 mRNA in human mononuclear cells and pulmonary epithelial cells. *Cytokine* 1993;**5**:525-30.

*études suggérant qu'un excès de dopamine pourrait favoriser le stress oxydant et causer la mort des neurones dopaminergiques.*

**Martin CA, Barajas A, Lawless G, *et al.*** Synergistic effects on dopamine cell death in a *Drosophila* model of chronic toxin exposure. *Neurotoxicology* 2014;**44**:344-51

*La maladie de Parkinson idiopathique résulterait de la combinaison de plusieurs facteurs de risque, environnementaux et génétiques. Les auteurs présentent ici un modèle d'exposition chronique de drosophiles transgéniques à différentes combinaisons de pesticides. Le but est de tester les effets à long terme des pesticides, et d'étudier les mécanismes par lesquels le paraquat et d'autres pesticides peuvent interagir avec certaines susceptibilités génétiques.*

**Neuner J, Ovsepian SV, Dorostkar M, *et al.*** Pathological alpha-synuclein impairs adult-born granule cell development and functional integration in the olfactory bulb. *Nat Commun* 2014, **5**:3915.

*Cette étude très intéressante montre que la synucléine mutée (A30P syn) altérerait l'intégration et la survie des cellules granulaires néoformées du bulbe olfactif. Ceci apporte une indication mécanistique expliquant les déficits olfactifs précoces liés aux cas familiaux de MP.*

## Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :

n'avoir aucun conflit d'intérêts ;

avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

## Autres publications identifiées

**Baltazar T, Dinis-Oliveira RJ, Duarte JA, *et al.*** Paraquat research: do recent advances in limiting its toxicity make its use safer? *Br J Pharmacol* 2013, **168**:44-5.

*Cette revue fait le point sur les récentes avancées de la recherche permettant d'envisager de nouveaux traitements préventifs et thérapeutiques dans le but de rendre l'utilisation du paraquat plus sûre.*

**Izumi Y, Ezumi M, Takada-Takatori Y, *et al.*** Endogenous dopamine is involved in the herbicide paraquat-induced dopaminergic cell death. *Toxicol Sci* 2014, **139**:466-78.

*Cette étude intéressante montre que le paraquat induirait une élévation intracellulaire de dopamine qui participerait à la vulnérabilité des neurones dopaminergiques. Ces résultats sont en accord avec l'article de Nuber et coll.(5) ainsi qu'avec d'autres*