

# **UNIVERSITE DE NANTES -FACULTE DE PHARMACIE-ANNEE 2003**

**NOM : BOURET, BENEDICTE**

**DIRECTEUR DE LA THESE : Mme GRIMAUD NICOLE**

**TITRE DE LA THESE :**

**LES INHIBITEURS SPECIFIQUES DE LA CYCLOOXYGENASE 2 : UTILISATIONS CLINIQUES  
ET PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES**

**RESUME DE LA THESE :**

La cyclooxygénase est une enzyme importante de l'organisme. Elle permet la synthèse de prostaglandines à partir de l'acide arachidonique. La cyclooxygénase existe en fait sous deux isoformes. La cyclooxygénase 1 dite constitutive est présente physiologiquement dans la plupart des tissus alors que la cyclooxygénase 2 dite inducible n'est en général exprimée que dans des situations inflammatoires.

Depuis plusieurs années, on sait que les AINS sont efficaces du fait de leur action inhibitrice de la cyclooxygénase 2 alors que leurs effets indésirables gastriques sont dus à l'inhibition de la cyclooxygénase 1. L'intérêt des coxibs, inhibiteurs spécifiques de la cyclooxygénase 2, repose donc sur une amélioration de la toxicité gastrique tout en conservant une efficacité clinique comparable à celle des AINS. Cette nouvelle classe thérapeutique, généralement bien tolérée, est aujourd'hui utilisée dans le traitement symptomatique de l'arthrose et de la polyarthrite rhumatoïde.

La cyclooxygénase 2 intervient dans de nombreux processus biologiques, notamment la tumorigenèse et la maladie d'Alzheimer. Les données actuelles révèlent ainsi que les coxibs pourraient constituer une alternative thérapeutique intéressante dans ces pathologies mais des recherches complémentaires sont nécessaires pour le confirmer.

**MOTS CLES : CYCLOOXYGENASES 1 ET 2, PROSTAGLANDINE, INFLAMMATION,  
INHIBITION SPECIFIQUE, COXIBS, PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES.**

A Monsieur JUGE,  
qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury.

A Madame GRIMAUD,  
pour avoir accepté de juger mon travail.  
Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance pour votre disponibilité et votre  
aide à l'élaboration de cette thèse.

A Monsieur DUMAS PILHOU,  
pour avoir accepté d'être membre de mon jury.

A mes parents,  
pour m'avoir permis de faire ces études .  
pour leur soutien et leur présence durant toutes ces années.  
Soyez sûrs de mon éternelle affection.

A Sébastien,  
pour m'avoir soutenue, supportée et aidée tout au long de mes études.

A François,  
pour avoir toujours été à mes côtés.

A ma famille et à tous mes amis,  
pour tous ces bons moments passés ensemble et ceux à venir.

# **SOMMAIRE**

INTRODUCTION	7
1 <sup>ère</sup> partie : LES PROSTAGLANDINES ET LES CYCLOOXYGENASES	
A - Les Prostaglandines	10
I. Définition	10
II. Nomenclature	10
III. Synthèse	13
IV. Récepteurs des prostaglandines	16
V. Rôle des prostaglandines	16
B - Les Cyclooxygénases	19
I. Historique de la découverte des cyclooxygénases	19
II. Approche génétique	20
III. Structure	23
IV. Localisation	28
V. Régulation de l'expression	29
VI. Substrats des cyclooxygénases	30
VII. Rôle des cyclooxygénases	30
VIII. Cyclooxygénases et AINS	59

## 2<sup>ème</sup> partie : LES COXIBS

A - Molécules sur le marché	70
I. Le Célécoxib	70
II. Le Rofécoxib	90
B - Limites des coxibs	103
I. Aspect gastro-intestinal	103
II. Aspect rénal	103
III. Aspect cardiovasculaire	104
IV. Autres aspects métaboliques	105
V. Efficacité des coxibs par rapport aux AINS	105
VI. Aspect économique	106
C – Les nouvelles molécules	108
I. Le Parécoxib	108
II. Le Valdécoxib	112
III. L' Etoricoxib	115

### 3<sup>ème</sup> partie : LES PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES DES COXIBS

A- Coxibs et cancer	121
I. Rôle des prostaglandines dans le processus cancéreux	121
II. Rôle de la cyclooxygénase 2 dans le processus cancéreux	122
III. Coxibs et traitement anticancéreux	125
IV. AINS et traitement anticancéreux	129
V. Utilisation possible des coxibs dans différents cancers	130
B - Coxibs et maladie d'Alzheimer	137
I. Physiopathologie de la maladie d'Alzheimer	137
II. Composante inflammatoire de la maladie d'Alzheimer	138
III. AINS et maladie d'Alzheimer	139
IV. Mécanisme d'action des AINS sur la maladie d'Alzheimer	141
V. Limites concernant l'utilisation des coxibs dans la maladie d'Alzheimer	144
C - Autres voies de recherche	147
I. Coxibs et athéromatose	147
II. Coxibs et asthme induit par l'aspirine	149

CONCLUSION	151
ANNEXES	154
LISTE DES FIGURES	163
LISTE DES TABLEAUX	166
LISTE DES ABREVIATIONS	168
BIBLIOGRAPHIE	170
TABLE DES MATIERES	184

# **INTRODUCTION**

Les AINS (anti-inflammatoires non stéroïdiens) représentent une des classes thérapeutiques les plus prescrites au monde. Leurs propriétés à la fois antalgiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires expliquent leur large utilisation. Cependant, leur bénéfice thérapeutique est limité par leurs effets indésirables, principalement digestifs (ulcères, perforations, hémorragies) et potentiellement graves.

Jusqu'à récemment, les connaissances sur le mécanisme d'action des AINS ne permettaient pas de dissocier leurs effets anti-inflammatoires de leurs effets secondaires. Sir Vane en 1971, démontrait en effet que les AINS inhibaient la synthèse de prostaglandines en bloquant une enzyme, la cyclooxygénase. Or les prostaglandines sont non seulement des médiateurs importants de l'inflammation mais possèdent également de nombreuses fonctions physiologiques. L'inhibition de production des prostaglandines par les AINS permettait donc d'expliquer leurs effets thérapeutiques et la plupart de leurs effets indésirables.

Au début des années 90, des travaux révèlent que la cyclooxygénase existe en réalité sous deux isoformes : la cyclooxygénase 1 dite constitutionnelle et la cyclooxygénase 2 dite inductible. Ces deux isoenzymes sont très proches structurellement mais exercent des fonctions différentes. En effet, la cyclooxygénase 1 semble avoir un rôle physiologique alors que la cyclooxygénase 2 semble plutôt intervenir dans la réaction inflammatoire. C'est donc à partir de ces résultats qu'a été posée l'hypothèse selon laquelle un médicament capable d'inhiber la cyclooxygénase 2 tout en préservant la cyclooxygénase 1 posséderait la même efficacité que les AINS classiques mais sans avoir les effets indésirables digestifs. L'industrie pharmaceutique a donc développé ces dernières années de nouveaux médicaments inhibiteurs spécifiques de la cyclooxygénase 2, les coxibs.

Dans un premier temps, nous allons donc étudier les prostaglandines et les cyclooxygénases, en particulier les similitudes et les différences existant entre la cyclooxygénase 1 et la cyclooxygénase 2.

Ensuite, nous nous intéresserons aux coxibs. Nous développerons en particulier les molécules actuellement disponibles, le célécoxib et le rofécoxib mais également celles en cours de développement, comme par exemple le parécoxib, le valdécoxib et l'étoricoxib.

Enfin, nous présenterons les perspectives thérapeutiques offertes par les coxibs, notamment dans le traitement de la pathologie cancéreuse ou la maladie d'Alzheimer.

**1<sup>ère</sup> partie :**

**LES PROSTAGLANDINES**

**ET**

**LES CYCLOOXYGENASES**

## A - Les Prostaglandines

### I. Définition [30,85]

La découverte des prostaglandines (PG) date des années trente. Ces molécules appartiennent à un groupe de composés biologiques dont le squelette comprend vingt atomes de carbone, d'où le nom d'eicosanoïdes (eicosa = 20).

Les prostaglandines sont synthétisées dans la plupart des tissus humains. Elles sont rapidement excrétées de leur cellule d'origine et agissent via des récepteurs membranaires spécifiques sur les cellules voisines. Ce sont donc des hormones paracrines. A cause de leur instabilité chimique, elles sont ensuite rapidement dégradées en produits inactifs.

Les prostaglandines sont des médiateurs biologiques très importants. Elles interviennent dans de nombreux métabolismes et de façon très diverse. Elles jouent notamment un rôle primordial dans l'inflammation.

### II. Nomenclature [109]

L'acide prostanoïque (cf. figure 1), squelette carboné virtuel, sert de base à la nomenclature.

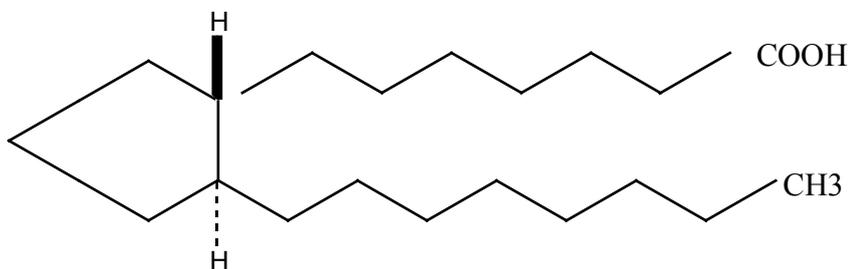


Figure 1 : Acide prostanoïque [109]

Les prostaglandines sont tout d'abord définies selon leurs caractéristiques chimiques. On obtient alors plusieurs séries (A, B, C, D, E...) (cf. figure 2).

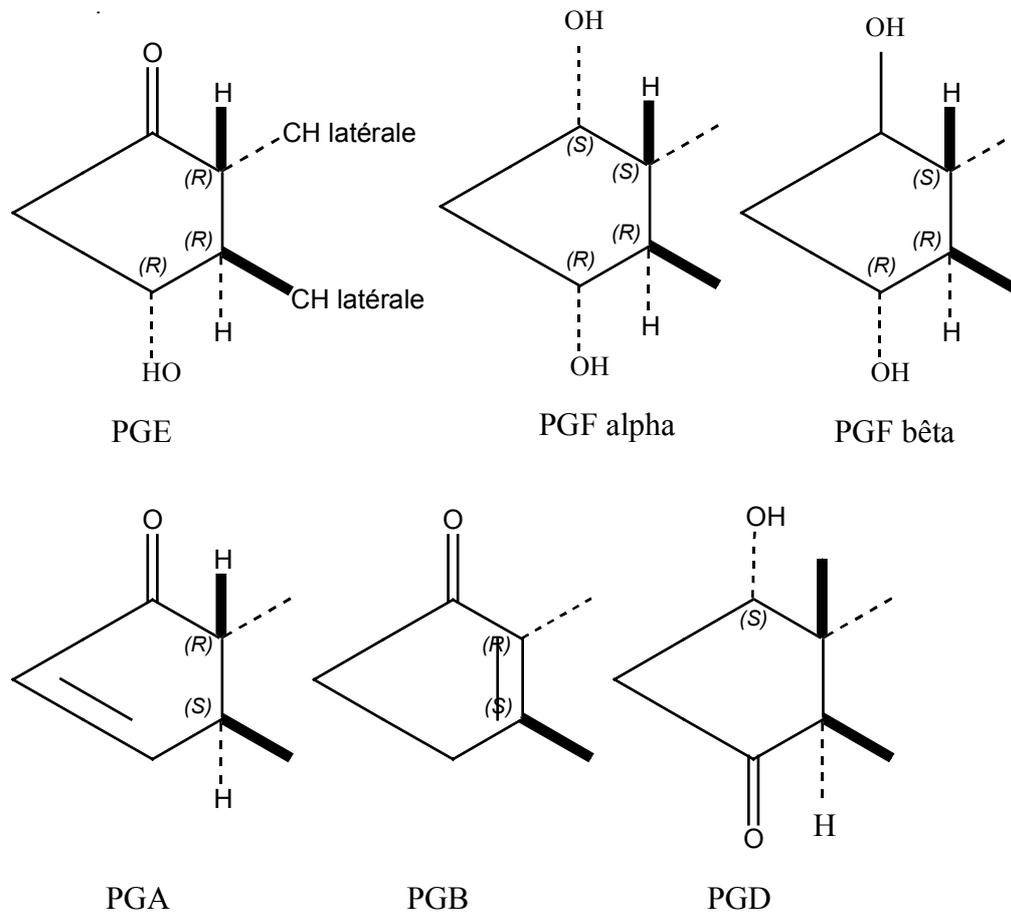


Figure 2 : Structure des prostaglandines [109]

Ensuite, les classes (1, 2, 3), indiquent le nombre de double liaison des chaînes latérales. Il y a donc trois classes pour chaque série de prostaglandines (cf figure 3).

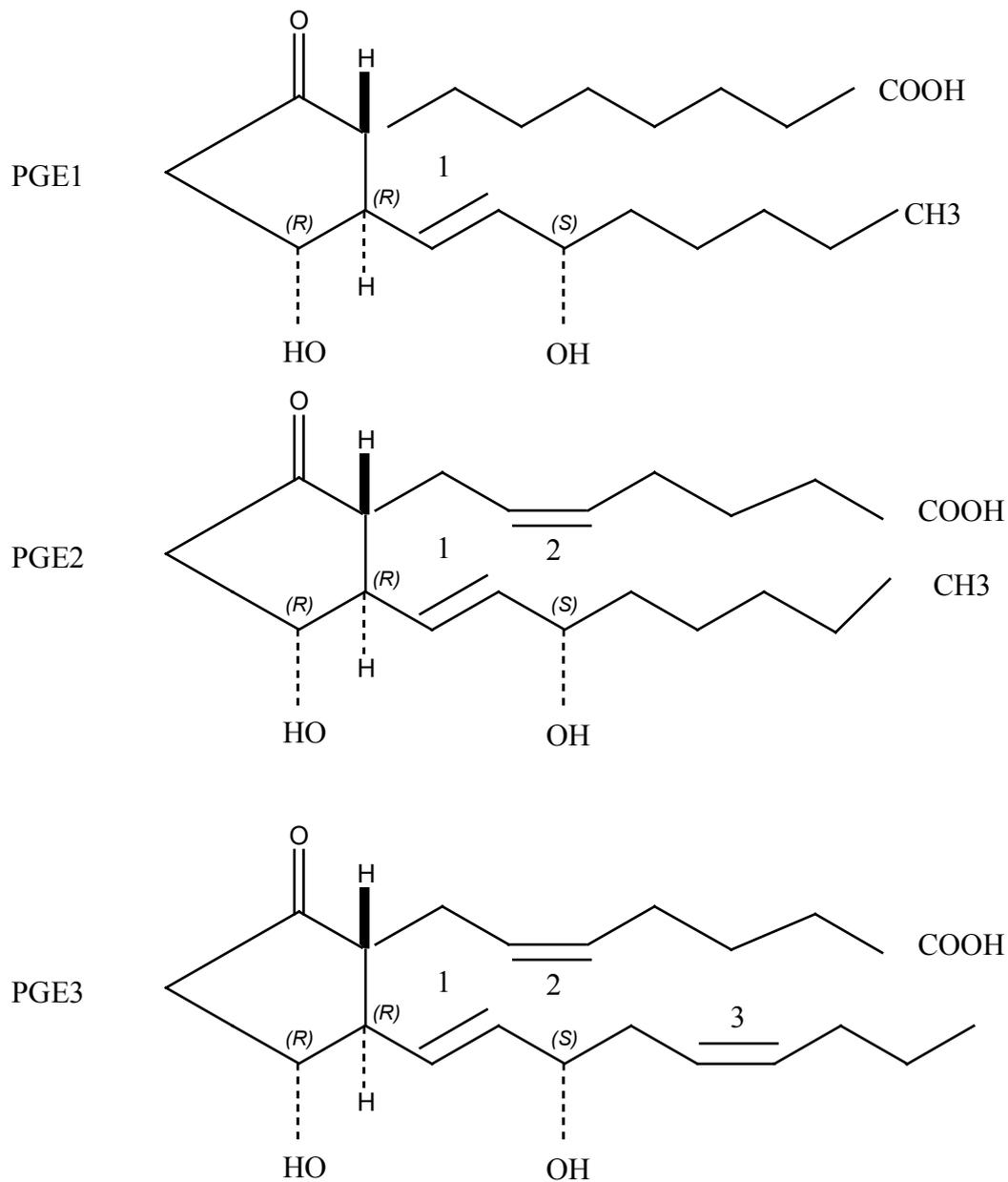


Figure 3 : Série des prostaglandines [109]

Le thromboxane A<sub>2</sub>, le thromboxane B<sub>2</sub>, la 6-cétoprostaglandine F<sub>1</sub> et la prostacycline (PGI<sub>2</sub>) sont à part des prostaglandines. En effet, ils possèdent des structures et des fonctions particulières.

### III. Synthèse [30, 85]

L'acide arachidonique ou acide eicosa – 5, 8, 11, 14 – tétraénoïque est le précurseur des prostaglandines. C'est un acide gras polyinsaturé essentiel, composé de vingt atomes de carbone. Cet élément constitutif majeur des membranes lipidiques provient de l'élongation et de la désaturation de l'acide linoléique ingéré (cf figure 4).

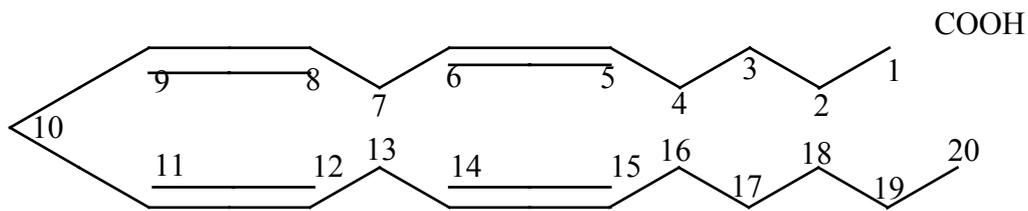


Figure 4 : Formule de l'acide arachidonique [85]

L'hydrolyse des phospholipides membranaires par les phospholipases A2 libèrent l'acide arachidonique (AA). Il s'agit de la première étape de la synthèse des prostaglandines. Ensuite, l'acide arachidonique peut être oxydé par trois voies métaboliques différentes :

- la voie du cytochrome P450
- la voie des lipoxygénases
- la voie des cyclooxygénases

Le cytochrome P450 convertit l'acide arachidonique en acide époxyarachidonique.

Les lipoxygénases introduisent une molécule d'oxygène dans l'acide arachidonique, produisant ainsi une série d'hydroperoxydes, de leucotriènes et de lipoxines.

Les cyclooxygénases oxydent l'acide arachidonique en prostaglandine G2 (PGG2). Cette molécule instable et intermédiaire est rapidement transformée en prostaglandine H2 (PGH2) grâce à l'action peroxydasiqne des cyclooxygénases. La PGH2 est le précurseur commun de tous les prostanoïdes et selon les types cellulaires, sera métabolisé par des enzymes

différentes. Par exemple, dans les plaquettes, la PGH2 sera convertie en thromboxane A2 par la thromboxane synthase. De même, dans les cellules endothéliales, PGE2 et PGI2 seront produites à partir de PGH2 par leurs synthases respectives (cf figure 5).

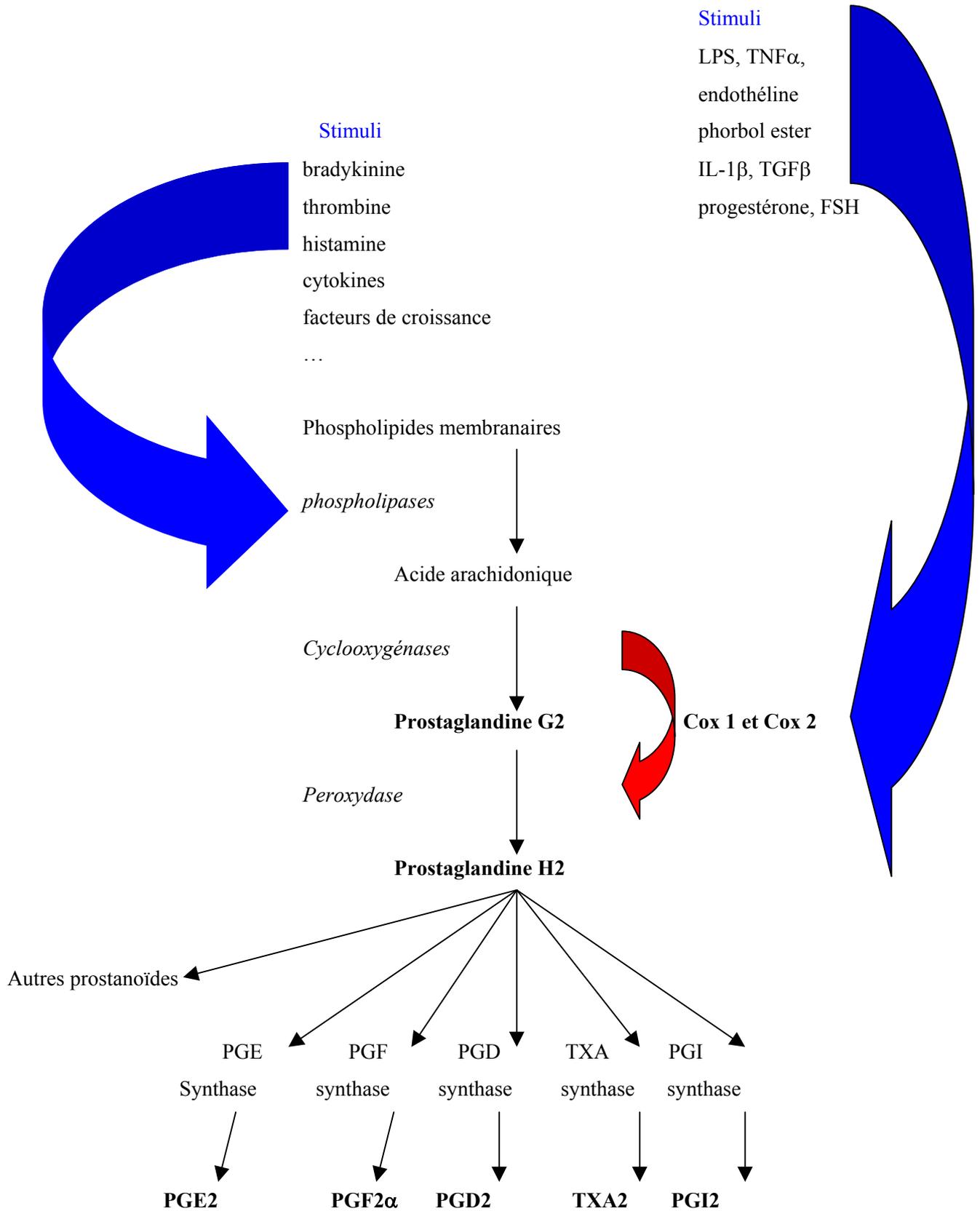


Figure 5 : Cyclooxygénases et synthèse des prostaglandines [29]

#### IV. Récepteurs des prostaglandines [63]

Les récepteurs sont classés selon leur spécificité vis à vis des prostaglandines mais aussi selon différents critères :

- sélectivité des agonistes et antagonistes
- affinité de liaison spécifique
- mécanisme de transduction intracellulaire
- structure moléculaire

Par le mécanisme de transduction intracellulaire, on peut encore différencier les récepteurs selon qu'ils soient couplés à une protéine G, liés à un canal ionique ou qu'ils aient une activité tyrosine kinase intrinsèque.

La dénomination des récepteurs est simple : la première lettre désigne la prostaglandine ayant la plus grande affinité et spécificité pour le récepteur désigné par une seconde lettre P. Le chiffre indique le sous-type ; par exemple, le récepteur EP1 pour la prostaglandine PGE2.

#### V. Rôle des prostaglandines [8, 25, 41, 57]

Les prostaglandines possèdent des propriétés différentes selon le tissu où elles sont synthétisées. Elles interviennent dans l'agrégation plaquettaire, l'ovulation, le déclenchement du travail, le métabolisme osseux, le développement et la croissance des neurones, la réparation tissulaire, la fonction rénale, le tonus vasculaire sanguin, les réponses immunitaires ou encore la protection de la muqueuse gastrique.

Le thromboxane A2 intervient dans l'agrégation plaquettaire alors que la prostacycline (PGI2) produite par les cellules endothéliales inhibe cette même agrégation plaquettaire.

Les prostaglandines, PGF2 $\alpha$ , PGD2, TXA4 ou PGG2 possèdent des propriétés bronchoconstrictrices alors que les PGE2 et PGI2 sont bronchodilatatrices, ce qui suggère un rôle dans la fonction respiratoire.

La PGD2 intervient dans la régulation du sommeil.

La PGE2 est l'un des principaux médiateurs de l'inflammation et de la douleur. En effet, elle intervient dans l'inflammation aigue, dans la douleur inflammatoire et également dans le développement de l'inflammation chronique. La PGE2 joue aussi un rôle important dans la protection de la muqueuse gastrique, dans le maintien de l'homéostasie rénale, dans le phénomène de la fièvre.

La PGF2 $\alpha$  intervient dans les fonctions utérines et ovariennes et notamment dans les contractions de l'utérus.

La PGJ2 est impliquée dans le phénomène de développement cancéreux (cf. Tableau 1).

Tissu ou fonction (métabolites Principaux)	Effets des prostanoïdes synthétisés majoritairement par la cox 1 (métabolites principaux)	Effets des prostanoïdes synthétisés majoritairement par la cox 2 (métabolites principaux)
Estomac (PGE2, PGE1)	Secrétion de mucus, de bicarbonates Maintien du flux sanguin sous-muqueux (vasodilatation) Réépithélialisation	En cas d' inflammation, d' infection, d' ulcération ou d' adénocarcinomes Secrétion de KCl Cicatrisation
Tonus vasculaire et hémostasie Plaquettes (TXB2) Endothélium	Agrégation plaquettaire et vasoconstriction Vasodilatation	
Rein (PGE2, PGI2) Synthèse des PG en cas de diminution du débit rénal Insuffisance cardiaque, rénale ou cirrhose hépatique	Vaisseaux rénaux/glomérules Maintien du débit sanguin rénal (vasodilatation)	Macula densa/cellules interstitielles Production de rénine Rétrocontrôle tubuloglomérulaire (réabsorption sodée)
Système nerveux central (PGE2, PGD2) Cellules endothéliales Neurones Cellules microgliales (en cas de stimulation par le LPS ou IL-1)	Expresion ubiquitaire, prédominant dans le cerveau antérieur Fonctions complexes d' intégration (modulation du système nerveux autonome et sensoriel en particulier)	Cortex, hippocampe, hypothalamus Maintien du débit sanguin cérébral Fièvre (synthèse de PGE2 dans les vaisseaux perfusant l' hypothalamus si stimulation par LPS ou IL-1) Développement, maturation et adaptation cérébrale à l' environnement Neurotransmission Mémorisation Apoptose neuronale en cas d' activité synaptique médiée par N-méthyl-D-aspartate Défense et plasticité cérébrale Fièvre Moelle épinière (neurones sensoriels ou cellules non neuronales) Transmission nociceptive
Inflammation, arthrite (chondrocyte, synoviocyte)		Activité pro-inflammatoire Activité proalgésiante (sensibilisation des récepteurs périphériques)
Os	A l' état basal, résorption et formation osseuse	En cas de lésion osseuse : remodelage
Utérus, ovaires (PGE2, PGF2 $\alpha$ )	Préimplantation de l' embryon dans l' endomètre Maintien de la perméabilité du canal artériel	Ovulation (rupture du follicule) Nidation Contractions utérines (PGF2 $\alpha$ )
Cancer (PGJ2)		Favorise la transformation des cellules épithéliales précancéreuses en cellules malignes Effet anti-apoptique

Tableau 1 : Principales fonctions des prostaglandines produites par Cox 1 et Cox 2 [8]

## B - Les Cyclooxygénases

### I. Historique de la découverte des cyclooxygénases [57, 72, 117]

En 1971, Vane suggéra que les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) exerçaient leurs effets anti-inflammatoires et analgésiques mais également leurs effets indésirables en inhibant une enzyme, la cyclooxygénase.

Cette enzyme clé dans la synthèse des prostaglandines a été pour la première fois isolée en 1976 par Miyamoto et son équipe à partir de glandes vésiculeuses bovines.

Jusqu'au milieu des années quatre-vingts, on pensait que la formation des prostaglandines était uniquement limitée par la disponibilité en substrat, l'acide arachidonique. Cependant, les recherches de Needleman et Isakson sur des fibroblastes humains montrèrent que la synthèse de la cyclooxygénase était stimulée par l'interleukine 1 (IL-1), une cytokine. Ces résultats suggérèrent donc que l'interleukine 1 intervenait dans la régulation de la cyclooxygénase et donc que la synthèse des prostaglandines ne dépendait pas uniquement du substrat.

En 1990, ces mêmes chercheurs mirent en évidence qu'une endotoxine, le lipopolysaccharide bactérien (LPS) provoquait sur des monocytes une augmentation de l'activité de la cyclooxygénase sans affecter celles de la phospholipase A2 ou de la 5-lipooxygénase (enzymes du catabolisme de l'acide arachidonique). De plus, un glucocorticoïde, la dexaméthasone bloquait complètement l'augmentation de production de prostaglandines et l'expression de cyclooxygénases quand elles étaient stimulées par des cytokines ou l'endotoxine. Toutefois, la dexaméthasone n'avait aucun effet sur la production basale de prostaglandines. On en a alors déduit que le LPS et la dexaméthasone agissaient sur la production de prostaglandines via la régulation de la cyclooxygénase.

Needleman et Isakson [72] montrèrent également que l'administration de dexaméthasone inhibait l'induction de cyclooxygénase dans des macrophages péritonéaux murins après l'administration de LPS. De plus, l'ablation de la surrénale, qui diminue le taux de glucocorticoïdes endogènes, provoquait une augmentation de l'expression de la cyclooxygénase dans les macrophages péritonéaux. Ces résultats suggérèrent donc que l'expression de la cyclooxygénase était régulée par les taux de glucocorticoïdes endogènes.

L'ensemble de cette étude a permis d'émettre l'hypothèse que la cyclooxygénase est une enzyme inductible dans certaines situations. Son expression est augmentée par des stimuli

inflammatoires comme les cytokines ou inhibée par les glucocorticoïdes. Cependant, à l'époque de cette découverte, on pensait que la forme connue de la cyclooxygénase ne pouvait pas être régulée. Needleman et Isakson proposèrent alors l'existence d'une seconde isoenzyme de la cyclooxygénase. Ceci fut confirmé en 1991, avec le clonage moléculaire de cette deuxième isoforme, appelée cyclooxygénase 2. Dès lors, on a pu distinguer la cyclooxygénase 1, isoenzyme constitutive de la cyclooxygénase 2 dite inductible.

## II. Approche génétique

### 1. Structure des gènes [31, 117]

Le gène de la cyclooxygénase 1 humaine est situé sur le chromosome 9, il est constitué de onze exons et dix introns. Quant à celui de la cyclooxygénase 2, situé sur le chromosome 1, il est fait de dix exons et neuf introns. On peut observer que le gène de la cyclooxygénase 2 ne fait que 8,3 kb alors que celui de la cyclooxygénase 1 pèse 22,5 kb. Cette différence est due à des introns plus petits en ce qui concerne le gène de la cyclooxygénase 2. En effet, la plupart des exons sont similaires entre les deux gènes ; à l'exception de l'exon 2 qui est absent sur le gène de la cyclooxygénase 2. En réalité, les exons 1 et 2 de la cyclooxygénase 1 contenant le site de traduction et le peptide signal sont condensés en un seul exon dans la cyclooxygénase 2. Malgré cette différence, les arrangements d'introns et d'exons sont identiques pour les deux gènes.

Il peut être intéressant de noter que le gène codant pour l'une des phospholipases A2 (PLA2G4) est situé à proximité du gène codant pour la cyclooxygénase 2 sur le chromosome 1 (cf figure 6) .

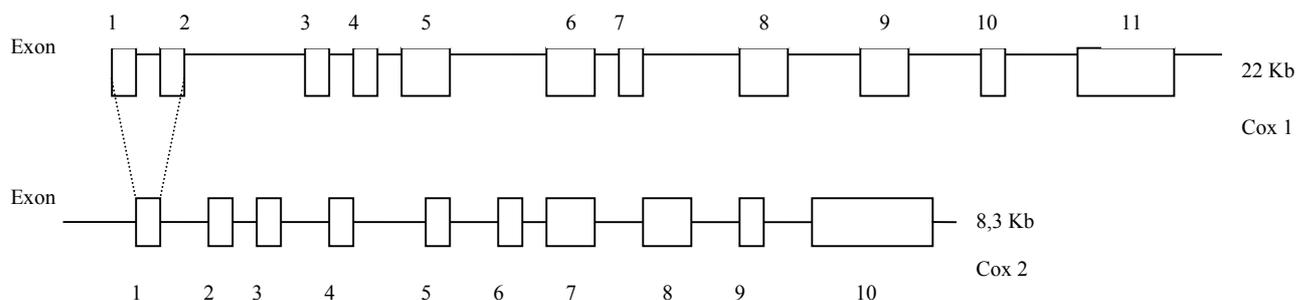


Figure 6 : Structures des gènes humains de la Cox 1 et de la Cox 2 [117]

## 2. Régulation des gènes

### 2.1. Cyclooxygénase 1 [25, 58, 98]

Les éléments intervenant dans la régulation de l'expression du gène de la cyclooxygénase 1 sont moins connus, même si certaines études ont permis d'observer l'induction de la cyclooxygénase dans certaines circonstances. De plus, le gène de la cyclooxygénase 1 est presque toujours exprimé dans tous les tissus normaux ; son expression n'est ni diminuée par les glucocorticoïdes, ni augmentée par l'inflammation ou un autre stimulus. En fait, le gène de la cyclooxygénase 1 est en permanence transcrit en petite quantité dans beaucoup de tissus.

### 2.2. Cyclooxygénase 2 [8, 32, 98, 117]

Les régions 5' du gène régulant l'expression de la cyclooxygénase 1 et de la cyclooxygénase 2 révèlent peu d'homologie. Le gène de la cyclooxygénase 2, à la différence de celui de la cyclooxygénase 1, possède un site promoteur contenant une TATA box. Sont également présents dans cette région du gène de la cyclooxygénase 2 des éléments transcriptionnels comme par exemple le facteur nucléaire kappa (NF kB) ou le facteur nucléaire de l'interleukine 6 (NF IL6). Ces éléments sont activables par les facteurs de croissance et les cytokines pro-inflammatoires; ce qui explique qu'ils soient hautement régulés lors de la réaction inflammatoire. Cette rapide stimulation du gène de la cyclooxygénase 2 s'observe dans des cellules comme les synoviocytes, les macrophages, les cellules endothéliales ou encore les chondrocytes.

## 3. ARNm des cyclooxygénases [25, 98, 117]

La cyclooxygénase 1 et la cyclooxygénase 2 montrent également de grandes différences au niveau de l'épissage, de la stabilité et de la transcription de l'ARNm. On peut tout d'abord noter une différence au niveau de la taille : 2,8 kb pour la cyclooxygénase 1 et 4,5 kb pour la cyclooxygénase 2 (cf figure 7).

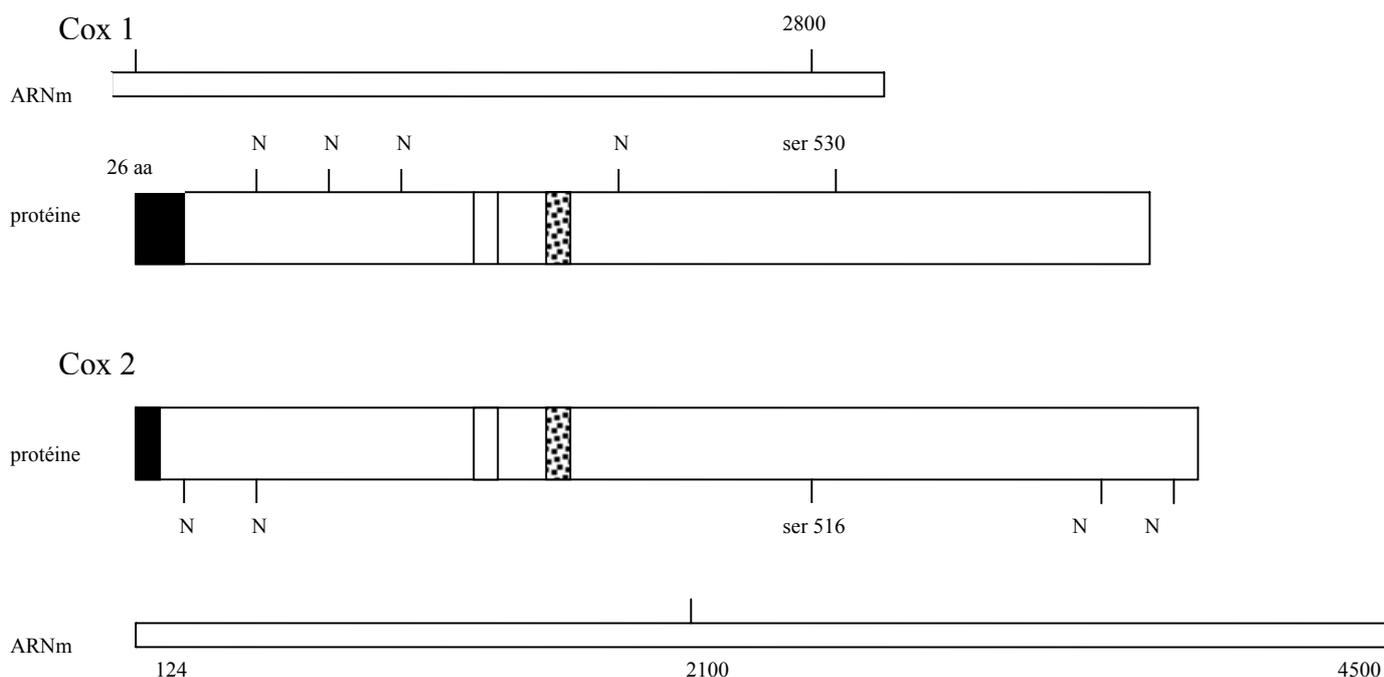


Figure 7 : ARNm et structure protéique de la Cox 1 et de la Cox 2 [117]

De plus, la région 3' non traduite de l'ARNm de la cyclooxygénase 2 possède trois signaux de polyadénylation ainsi que dix-sept copies d'une séquence Shaw-Kamen « AUUA » instable. Ce type d'instabilité est retrouvé pour les gènes transcrits immédiatement ou rapidement. Ces régions labiles caractéristiques permettent une rapide dégradation du message et ainsi une diminution de l'expression du gène en l'absence d'une stimulation continue. La régulation de l'ARNm de la cyclooxygénase 2 apparaît donc comme étant un mécanisme important par lequel des médiateurs physiologiques comme notamment les corticostéroïdes agissent sur la régulation de la production des prostaglandines.

En résumé, les gènes de la cyclooxygénase 1 et de la cyclooxygénase 2 sont régulés par deux systèmes indépendants et différents même si les réactions enzymatiques qu'elles catalysent sont identiques. En effet, la cyclooxygénase 1 délivre un message stable, continuellement transcrit. Par contre, le gène de la cyclooxygénase 2 est un gène de production immédiate, rapidement induit lors de processus inflammatoires.

### III. Structure

#### 1. Structure générale de la cyclooxygénase [31, 80]

La cristallographie aux rayons X a permis, en 1994, de déterminer la structure tridimensionnelle de la cyclooxygénase 1 ovine. C'est une protéine glycosylée, dimérique, dont chaque sous-unité a une masse de 70 kDa et contient six cents acides aminés. Les contacts entre les deux monomères sont étendus. Le dimère est ellipsoïdale, avec pour dimensions : 99 x 65 x 55 Å. On y observe de nombreuses formations hélicoïdales (environ 40 %) mais peu de feuilletts β.

La structure tertiaire peut être divisée en trois parties distinctes :

- les résidus 34 à 72 forment un domaine compact contenant trois ponts disulfures internes. Ce domaine est lié à la partie principale de l'enzyme par un autre pont disulfure. Sa conformation est très proche de celle de l'EGF (Epidermal Growth Factor).
- les résidus 73 à 116 correspondent à une spirale d'hélices α : A, B, C et D. Ces hélices amphiphiles forment le motif de liaison de l'enzyme à la membrane cellulaire.
- L'hélice D du motif de liaison fait la transition avec la troisième partie de l'enzyme. Il s'agit du domaine catalytique représenté par les résidus 117 à 587. Ce domaine catalytique est une structure globulaire contenant les sites actifs de cyclooxygénation et de peroxydation qui sont bien distincts spatialement.

Le site actif cyclooxygénase est un long et étroit canal hydrophobe s'étendant de la surface externe du site de liaison membranaire à travers les hélices A, B et C jusqu'au centre du monomère.

Dans ce site, trois acides aminés jouent un rôle primordial : la tyrosine 385 (Tyr 385), l'arginine 120 (Arg 120) et la sérine 530 (Ser 530). La tyrosine 385 située au sommet du site actif intervient dans le transfert d'électrons nécessaire à la peroxydation. L'arginine 120 permet de fournir un ligand au groupe carboxylique du substrat (l'acide arachidonique par

exemple). La sérine 530, située à côté de la tyrosine 385, peut être acétylée par l'aspirine. Cette acétylation irréversible bloque l'accès à la partie supérieure du canal.

Le site actif peroxydase possède un hème. Celui-ci permet le transfert d'électrons nécessaire à la réduction du substrat hydroperoxydé.

L'utilisation de détergents et l'échec du clivage protéolytique pour extraire l'enzyme de la membrane ont permis de suggérer que cette enzyme n'est pas simplement attachée à la membrane par un point d'attache flexible. La structure aux rayons X à quant à elle offre l'explication des interactions existant entre l'enzyme et la membrane. En effet, les hélices A, B, C et le début de l'hélice D, qui sont amphiphiles, sont situées, avec leurs surfaces hydrophobes face à la bicouche lipidique. Elles forment ainsi une large pièce hydrophobe à l'extérieur de la protéine et cette pièce permet la fixation du dimère dans la membrane. Cependant, la surface de fixation n'est pas suffisamment profonde pour s'étendre au-delà d'un feuillet de la bicouche lipidique : la cyclooxygénase est donc une protéine membranaire monotopique.

## 2. Interaction moléculaire avec l'acide arachidonique [4, 39, 85]

Cette liaison à la membrane permet à l'enzyme de glisser à la surface des membranes cellulaires et d'« aspirer » l'acide arachidonique libéré par dégradation de la bicouche adjacente afin de l'amener au site catalytique.

Au niveau de ce site, l'acide arachidonique subit successivement l'activité cyclooxygénase et peroxydase de l'enzyme :

- l'activité cyclooxygénase correspond à l'incorporation de deux molécules d'oxygène avec cyclisation et à l'addition d'un groupement 15-hydroperoxyde aboutissant à la synthèse de prostaglandine G.
- l'activité peroxydase consiste en la réduction de l'hydroperoxyde en 15 conduisant à la formation de prostaglandine H. C'est à partir de cette prostaglandine H que les prostaglandines seront ensuite synthétisées.

### 3. Mécanisme d'action des AINS [9]

La plupart des AINS agissent par inhibition compétitive de l'acide arachidonique au niveau du site de liaison de la cyclooxygénase. En effet, la structure cristallographique de la cyclooxygénase 1 liée au flurbiprofen a permis de montrer que le groupement carboxylique de ce dernier forme une liaison avec l'arginine 120 de la cyclooxygénase. Cette liaison empêche alors l'acide arachidonique de pénétrer dans le canal de l'enzyme et d'atteindre son site actif.

### 4. Différences de structure entre cyclooxygénase 1 et cyclooxygénase 2 [4, 9, 31, 52, 98]

Comme la cyclooxygénase 1, la structure de la cyclooxygénase 2 a été identifiée. Il s'agit également d'une protéine membranaire glycosylée dimérique. Son poids moléculaire est de 72 kDa et elle contient 604 acides aminés. La cyclooxygénase 2 présente une homologie de séquence en acides aminés de plus de 60 % avec la cyclooxygénase 1. De plus, les régions qui semblent importantes pour les fonctions enzymatiques, c'est-à-dire les régions de cyclooxygénation et de peroxydation sont identiques.

On observe cependant quelques différences significatives :

- la partie carboxyterminale de la cyclooxygénase 2 a une séquence spécifique de 18 acides aminés qui est absente chez la cyclooxygénase 1 et qui permet de distinguer la cyclooxygénase 1 de la cyclooxygénase 2 sur le plan immunitaire.
- La partie Nterminale de la cyclooxygénase 1 possède un résidu de 8 acides aminés que l'on ne retrouve pas dans la structure de la cyclooxygénase 2.
- Le peptide signal de la cyclooxygénase 1 est plus long de 7 acides aminés comparativement à celui de la cyclooxygénase 2.
- La cyclooxygénase 2 possède, après l'isoleucine 106, une proline qui se situe à la jonction de la membrane avec les hélices C et D. Cet acide aminé supplémentaire cause une perturbation minimale au niveau local mais n'affecte pas la structure d'ensemble de l'enzyme.

- Le canal central est un peu plus large pour la cyclooxygénase 2 par rapport à celui de la cyclooxygénase 1. En effet, son volume est environ 17 % plus important.
- Une différence importante existe au niveau du site actif de l'enzyme : la substitution d'un acide aminé en position 523. L'isoleucine que l'on retrouve à cet endroit chez la cyclooxygénase 1 est remplacé par une valine chez la cyclooxygénase 2. Or, l'isoleucine est à une position clé car elle restreint l'accès à une poche latérale localisée à l'intérieur du canal hydrophobe. Ainsi, de petites molécules comme les AINS conventionnels peuvent se lier à la cyclooxygénase 1 alors que des inhibiteurs spécifiques de la cyclooxygénase 2, plus larges, ne peuvent pas. Cette hypothèse a été testée en modifiant le gène d'une cyclooxygénase 2 pour qu'il puisse exprimer une cyclooxygénase 2 possédant une isoleucine à la place de la valine en position 523. In vitro, la cyclooxygénase 2 modifiée génétiquement a présenté les mêmes caractéristiques d'inhibition que la cyclooxygénase 1.

En fait, l'acide aminé valine possède un groupement méthylène en moins par rapport à l'isoleucine, ce qui permet l'accès à la poche.

- la cyclooxygénase 1 et la cyclooxygénase 2 possèdent également une flexibilité différente aboutissant à une conformation différente du canal. Cette modification est due à la substitution en position 513 de l'arginine chez la cyclooxygénase 2 par de l'histidine chez la cyclooxygénase 1. On observe aussi une substitution de la valine 434 de la cyclooxygénase 2 par l'isoleucine chez la cyclooxygénase 1 qui contribue à cette différence de flexibilité. Comme la structure de la cyclooxygénase 2 est moins rigide, les substrats et inhibiteurs atteignent plus facilement le site de liaison (cf tableau 2).

	Cyclooxygénase 1	Cyclooxygénase 2
Forme	constitutive	inductible
Localisation	ubiquiste	Rein (macula densa, anse de Henlé) Sites inflammatoires Cancers épithéliaux
Site catalytique	isoleucine	valine
Localisation du gène	Chromosome 9	Chromosome 1
Composition du gène	11 exons et 10 introns	10 exons et 9 introns
Taille du gène	22 kilobases	8,3 kilobases
Taille de l' ARNm	2,8 kilobases	4,5 kilobases
Poids de la protéine	72 kDa	72-74 kDa
Nombre de bandes électrophorétiques	1	2
Particularité de l' ARNm		17 copies de séquence AUUUA, boîte TATA

Tableau 2 : Similitudes et différences des cyclooxygénases [31]

Ainsi, la cyclooxygénase 1 et la cyclooxygénase 2 possèdent une structure générale très proche. La principale différence entre les deux consiste en la présence d'un site de liaison plus large pour la cyclooxygénase 2, qui résulte de la substitution de l'isoleucine par une valine au niveau du site actif de l'enzyme. La suppression d'un groupement méthylène à cette position 523 chez la cyclooxygénase 2 permet donc l'accès à une poche latérale supplémentaire. Cette différence structurale permet d'expliquer la possibilité de concevoir des médicaments inhibant spécifiquement la cyclooxygénase 2 sans inhiber la cyclooxygénase 1 (cf figure 8).

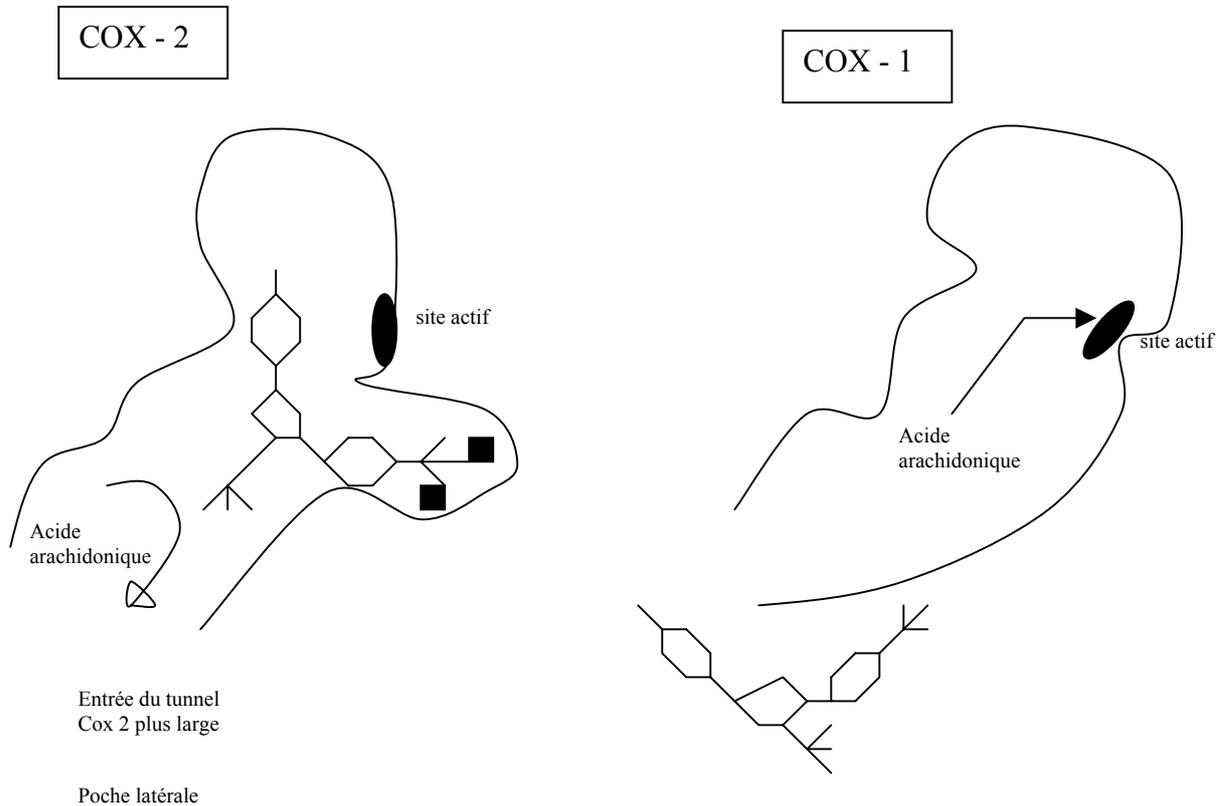


Figure 8 : Différences de structure entre la Cox 1 et la Cox 2 [6]

#### IV. Localisation [4, 8, 9]

##### 1. Cyclooxygénase 1

Au niveau cellulaire, la cyclooxygénase 1 est essentiellement située dans le réticulum endoplasmique mais aussi en quantité moindre dans la membrane nucléaire. Son ARNm a été retrouvé dans la plupart des tissus, notamment l'estomac, le colon, le rein, le cœur, le cerveau, le foie et la rate. Cette enzyme est également présente dans les plaquettes.

##### 2. Cyclooxygénase 2

Comme la cyclooxygénase 1, on retrouve la cyclooxygénase 2 dans le réticulum endoplasmique. Par contre, cette isoenzyme est beaucoup plus exprimée au niveau de la membrane nucléaire. La cyclooxygénase 2 est également présente dans les monocytes-

macrophages, les synoviocytes, le chondrocyte articulaire, le fibroblaste dermique, la cellule endothéliale, l'ostéoblaste, la cellule mésangiale rénale, la cellule épithéliale, le lymphocyte T, le polynucléaire. On la retrouve dans certains neurones, les cellules ovariennes de la granulosa et certaines cellules utérines. La cyclooxygénase 2 est également exprimée à l'état basal dans le pancréas et la prostate. On a aussi montré la présence de cyclooxygénase 2 dans le cartilage et dans le tissu synovial provenant de malades souffrant d'arthrose ainsi que dans la synoviale de personnes atteintes de polyarthrite rhumatoïde.

## V. Régulation de l'expression [8, 25, 119]

### 1. Cyclooxygénase 1

L'une des plus grandes différences existant entre les deux cyclooxygénases concerne leur inductibilité. En effet, la cyclooxygénase 1 est exprimée de manière constitutive et peu d'éléments interviennent dans sa régulation. Des études ont montré cependant que le taux de cyclooxygénase 1 pouvait être multiplié par deux par rapport à son taux basal après stimulation par des phorbols esters ou des cytokines. De plus, les glucocorticoïdes provoquent peu ou pas d'inhibition directe sur l'activité de la cyclooxygénase 1.

### 2. Cyclooxygénase 2

A l'inverse, le gène de la cyclooxygénase 2 possède dans sa région promotrice des éléments de réponse à des facteurs de transcription activables par les facteurs de croissance (EGF, TGF- $\beta$ ), les phorbols esters, l'AMPc, le LPS bactérien ou encore les cytokines pro-inflammatoires comme par exemple l'IL-1, l'IL-6, l'IL-2 et le TNF- $\alpha$ . Sous l'action de ces stimuli, la cyclooxygénase 2 est inductible en 1 à 3 heures et elle peut alors atteindre un taux d'expression dans les cellules 10 à 1000 fois supérieur au niveau d'expression de la cyclooxygénase 1. Il existe également des cytokines anti-inflammatoires qui peuvent inhiber la production de la cyclooxygénase 2 ; il s'agit notamment de l'IL-4, l'IL-10 ou encore l'IL-13. De même, les glucocorticoïdes entraînent une réduction de la transcription du gène de la cyclooxygénase 2 et un blocage de la traduction de la protéine inductible.

## VI. Substrats des cyclooxygénases [8, 25, 58]

Une autre des différences majeures entre la cyclooxygénase 1 et la cyclooxygénase 2 concerne leur aptitude à utiliser des pools de substrats différents. Ainsi, la cyclooxygénase 2 a pour substrat non seulement l'acide arachidonique mais également d'autres acides gras en C20. De plus, l'acide arachidonique utilisé par la cyclooxygénase 2 peut être d'origine endogène ou exogène.

Par contre, la cyclooxygénase 1 ne peut utiliser comme substrat que de l'acide arachidonique et celui-ci doit être d'origine exogène ; il s'agit donc d'acide arachidonique synthétisé par les phospholipases A2 des cellules voisines.

## VII. Rôle des cyclooxygénases

### 1. Cyclooxygénase 1

#### 1.1. Homéostasie vasculaire – Synthèse du thromboxane A2 [25, 75]

La cyclooxygénase 1 est la seule isoenzyme présente dans les plaquettes. Elle y exerce une de ses principales fonctions puisqu'elle fournit des précurseurs nécessaires à la synthèse du thromboxane A2, acteur de l'agrégation plaquettaire.

#### 1.2. Utérus [25, 58]

Après la fécondation et durant la période de pré-implantation, la cyclooxygénase 1 et les récepteurs spécifiques de la PGE2 (EP1, EP3 et EP4) interviennent dans la préparation de la muqueuse du myomètre à l'interaction avec l'embryon et donc permettent l'implantation de ce dernier.

#### 1.3. Système nerveux central [75]

La cyclooxygénase 1 est exprimée de façon constitutionnelle au niveau du système nerveux central et pourrait donc avoir un rôle physiologique à ce niveau.

## 1.4. Douleur [4]

### a. Physiologie de la douleur

La douleur résulte de processus physiologiques complexes déclenchés lorsque des terminaisons nerveuses périphériques libres réagissent à des stimuli nociceptifs (brûlures, piqûres, pincements, compressions). Il n'existe apparemment pas de structures histologiques identifiées comme nocicepteurs, spécialisées dans la perception des stimuli. Ceux-ci sont captés dans les arborisations terminales des fibres A  $\delta$  et C innervant les tissus cutanés et musculaires, ainsi que les parois des viscères. Les fibres A  $\delta$  et C se différencient par leur diamètre, leur vitesse de conduction ainsi que par leur constitution. Leurs terminaisons sont sensibilisées par les premières ondes d'un stimulus nociceptif qui abaissent leur seuil d'activation : c'est le phénomène de l'hyperalgie ou hyperalgésie favorisé par certains médiateurs endogènes (exemple : kinines, prostaglandines, sérotonine, histamine) libérées dans le voisinage des tissus agressés ou lésés. Les prostaglandines en l'occurrence sensibiliseraient les terminaisons nerveuses libres à l'action algésique de la bradykinine.

Les fibres A  $\delta$  et C, dont les corps cellulaires se trouvent dans les ganglions spinaux se chargent de la propagation des messages nociceptifs vers un premier centre d'intégration et de relais : la corne dorsale de la moëlle épinière. Ensuite, les prolongements axoniques des neurones de celle-ci remontent vers l'encéphale et parviennent dans certaines régions du cerveau (thalamus, hypothalamus, système limbique, cortex). C'est là que s'effectuent l'appréciation du caractère douloureux du message, son intégration et l'élaboration de diverses manifestations comportementales et émotionnelles.

### b. Cyclooxygénase 1 et douleur

Les mécanismes de la douleur restent cependant encore mal connus et il existe peu de modèles expérimentaux permettant de dissocier douleur et inflammation. Toutefois, on sait que les récepteurs nociceptifs périphériques ont leur sensibilité augmentée en présence de prostaglandines. De plus, ces prostaglandines agissent au niveau du système nerveux central en facilitant la transmission du message douloureux le long de la moëlle épinière. En fonction du modèle utilisé, on retrouve soit la cyclooxygénase 1, soit la cyclooxygénase 2 comme étant à l'origine des prostaglandines impliquées dans la douleur. Ainsi, la cyclooxygénase 1

intervient dans le modèle d'inflammation induite par injection d'acide arachidonique dans l'oreille ou dans la réaction passive d'Arthus<sup>1</sup>. La cyclooxygénase 2 quant à elle joue un rôle dans la réaction suivant l'injection de carragénine dans la patte de rongeur ou dans le modèle utilisant la poche à air avec injection de carragénine.

### 1.5. Estomac [58, 98]

Dans l'estomac, la cyclooxygénase 1 permet la synthèse de prostaglandines cytoprotectrices. Ces prostaglandines limitent également l'acidité gastrique et exercent une action vasodilatatrice directe sur la muqueuse gastrique.

### 1.6. Inflammation [114]

#### a. La réaction inflammatoire [87]

##### ➤ La réaction inflammatoire aigue

Une définition de la réponse inflammatoire aigue a été proposée par Sir John Scott Burdon Sanderson en 1882 : « le processus inflammatoire est une succession de changements qui surviennent dans un tissu vivant lorsque celui-ci a été atteint, à condition que l'atteinte n'ait pas entraîné d'emblée la mort du tissu ».

Cette définition permet d'insister sur le fait que la réaction inflammatoire est un processus évolutif et non statique.

Le processus inflammatoire peut être divisé en plusieurs étapes : modification des vaisseaux et du flux sanguin, augmentation de la perméabilité vasculaire, formation de l'exsudat, infiltration des tissus par les leucocytes et phagocytose.

##### ✓ Modification des vaisseaux et du flux sanguin

Après l'arrivée de l'agent agresseur, les artères, puis les veines et enfin les veinules se dilatent et le flux sanguin s'accélère dans ces mêmes vaisseaux.

---

<sup>1</sup> Réaction passive d'Arthus : il s'agit d'une manifestation locale d'hypersensibilité. Si l'on répète tous les six jours, au même endroit, chez le lapin, une injection sous-cutanée de sérum de cheval, on voit apparaître quelques

#### ✓ Augmentation de la perméabilité vasculaire

Il existe une perméabilité vasculaire physiologique et l'endothélium agit comme un filtre permettant les échanges au niveau des artérioles, veinules et capillaires. Lors de la réaction inflammatoire, il se produit une augmentation de cette perméabilité vasculaire qui peut se faire sous l'influence de nombreux médiateurs chimiques. Ceux-ci provoquent une dilatation des artérioles et induisent en même temps une fuite vasculaire brève qui a trois caractéristiques : elle se produit très rapidement, elle dure peu et elle touche principalement les veinules. Ces médiateurs entraînent une contraction des cellules endothéliales veineuses permettant une fuite vasculaire dans le territoire veineux seul alors que les cellules endothéliales des artérioles et des capillaires, ne se contractant pas, ne permettent pas de passage de liquide plasmatique.

#### ✓ Formation de l'exsudat

Lors de la formation des lésions endothéliales responsables de l'augmentation de la perméabilité vasculaire, le plasma sort du vaisseau, la concentration protéique augmente dans l'espace endommagé extravasculaire, formant un exsudat.

Ce processus a plusieurs conséquences. Tout d'abord, l'augmentation de la quantité de protéines dans l'espace extravasculaire fait baisser la pression osmotique vasculaire physiologique et permet ainsi la sortie de liquide à l'extérieur, aggravant la fuite. Ensuite, la stagnation de sang dans la microcirculation augmente encore la pression intravasculaire, stimulant de nouveau la fuite du plasma. Cependant, il existe des mécanismes de contrôle. Un thrombus se forme rapidement et l'augmentation de la pression extravasculaire inhibe les échanges quand elle atteint le niveau de la pression intravasculaire.

#### ✓ Infiltration des leucocytes

Les leucocytes viennent du sang, adhèrent tout d'abord aux parois des veinules, puis traversent l'endothélium des veinules et migrent vers l'aire où se trouve l'agent agresseur. Ce processus de migration est appelé chimiotactisme.

---

heures après la quatrième injection qui joue le rôle d'injection déchainante, une réaction locale oedémateuse et erythémateuse qui évolue vers la nécrose et l'élimination lors des injections suivantes.

Dans les premières heures de la réaction inflammatoire aigue, l'infiltration cellulaire prédominante est celle des neutrophiles. Ensuite, le principal type cellulaire qui intervient dans l'infiltration est le macrophage.

✓ La phagocytose

La phagocytose consiste en l'ingestion et la digestion des particules. Les cellules capables de phagocyter sont essentiellement les polynucléaires neutrophiles et les macrophages.

➤ Les médiateurs de l'inflammation

On peut distinguer les médiateurs en deux groupes : ceux d'origine plasmatique et ceux d'origine cellulaire.

✓ Médiateurs d'origine plasmatique

- Système des kinines

L'activation du facteur XII (facteur Hageman) stimule la coagulation, le système fibrinolytique et la prékallikréine. Celle-ci, une fois activée, forme la kallikréine qui coupe le kininogène pour produire une kinine, appelée bradykinine, peptide de 9 acides aminés. Celui-ci est alors rapidement détruit par des enzymes, dont l'enzyme de conversion et donne des peptides inactifs.

La bradykinine est un médiateur puissant de la réaction inflammatoire. Elle contracte certains muscles lisses in vitro, dilate certains vaisseaux in vivo, provoque la douleur, augmente la perméabilité vasculaire aux sites d'injection. Enfin, c'est un puissant stimulateur de la phospholipase A2.

- Système du complément

Le complément est un système appartenant aux globulines sériques. Son activation contribue à la réaction inflammatoire par la production de fragments actifs sur différentes étapes de celle-ci, comme l'augmentation de la perméabilité vasculaire, le chimiotactisme des leucocytes.

- Système de la coagulation

Les fibrinopeptides, obtenus à partir du fibrinogène sous l'action de la thrombine ainsi que les produits de dégradation de la fibrine augmentent la perméabilité vasculaire et le chimiotactisme des neutrophiles.

- Protéines de la phase aigue

Elles sont synthétisées au niveau du foie lors du processus d'inflammation aigue. Ce sont des glycoprotéines comme par exemple la protéine C-réactive, l' $\alpha$ 1 antitrypsine ou le fibrinogène.

✓ Médiateurs d'origine cellulaire

Ils sont de deux types : les médiateurs préformés et les médiateurs formés de novo lors de l'activation des cellules.

- Médiateurs préformés

Ils existent dans les cellules souvent sous forme de granules plus ou moins bien constitués. Il s'agit des amines vasoactives comme l'histamine et la sérotonine, des composants du lysosol et des granules des cellules leucocytaires.

- Les amines vasoactives

L'histamine et la sérotonine participent à la réaction inflammatoire en produisant une contraction vasculaire et une augmentation de la perméabilité vasculaire, mais elles n'agissent pas sur le chimiotactisme des leucocytes.

- Les composants lysosomiaux et granulaires

Parmi ces composants, on peut citer l'interleukine 1 (IL-1) et le TNF (Tumor Necrosis Factor). L'IL-1 participe à toutes les étapes de la réaction inflammatoire : elle augmente la synthèse de prostacycline, de PAF-acéther par l'endothélium, participe à la vasodilatation, au chimiotactisme.

- Médiateurs formés de novo

Lors de toute réaction inflammatoire, une série de médiateurs d'origine plasmatique ou cellulaire est formée. Ils convergent tous vers l'activation d'une enzyme membranaire, la

phospholipase A2, conduisant à la synthèse de novo de médiateurs lipidiques pharmacologiquement actifs. Ces médiateurs sont les prostaglandines, les leucotriènes et d'autres dérivés de la voie lipo-oxygénase, ainsi que le PAF-acéther. Ces médiateurs, une fois formés, sortent de la cellule et vont propager la réaction par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques sur la surface des cellules voisines. L'occupation de ces récepteurs conduit à une émission de signaux transmembranaires qui vont, entre autre, activer la phospholipase A2 de ces cellules et reformer de nouveaux médiateurs. Il s'agit donc de médiateurs locaux. Ils sont formés par toutes les cellules participant à la réaction inflammatoire et leur identité est fonction de l'équipement enzymatique présent dans les cellules. Toutes les prostaglandines participent à certaines étapes de la réaction inflammatoire et surtout à la perméabilité vasculaire. Les leucotriènes sont plutôt impliqués dans le chimiotactisme des leucocytes (cf figure 9).

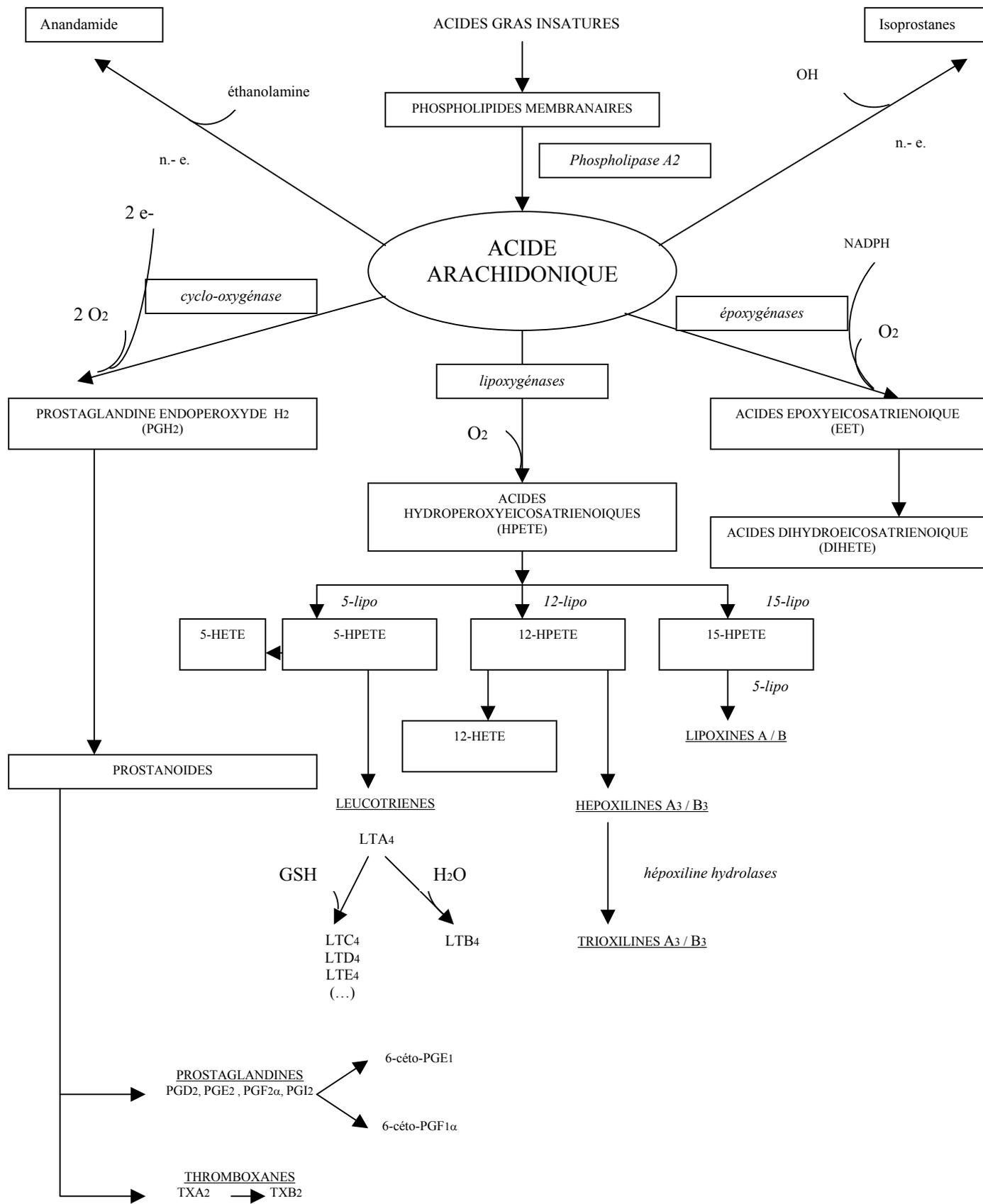


Figure 9 : Prostaglandines et substances apparentées formées à partir de l'acide arachidonique par voie enzymatique et non enzymatique [87]

➤ Réaction inflammatoire chronique

Normalement, une réaction inflammatoire aiguë doit se terminer avec la réparation du tissu blessé et la disparition de l'agent agresseur. Mais dans certaines conditions, le stimulus ne peut disparaître et l'organisme entre dans une nouvelle phase conduisant à l'inflammation chronique. Celle-ci peut survenir dans deux circonstances :

- transformation d'une inflammation aiguë en inflammation chronique.
- l'inflammation est chronique d'emblée, sans passage par une forme aiguë.

L'inflammation chronique met en jeu trois populations cellulaires principales: les macrophages, les lymphocytes T et les lymphocytes B. Ces trois types cellulaires interagissent entre eux par l'intermédiaire de cytokines.

Les cellules qui sont atteintes sont des cellules d'origine mésenchymateuse, les chondrocytes, les synoviocytes, les ostéoblastes, les ostéoclastes et les fibroblastes.

✓ Cytokines intervenant dans la réaction inflammatoire chronique

Les cytokines sont synthétisées par des cellules activées qui jouent un rôle dans la régulation de la réponse inflammatoire. Elles agissent au niveau local, soit de manière autocrine, soit de manière paracrine.

L'IL-1 dont la source principale est le macrophage joue un rôle primordial dans l'inflammation chronique. En effet, elle active les lymphocytes T et induit leur sécrétion de cytokines.

L'IL-6, formée par les macrophages, active les lymphocytes B et provoque la prolifération et/ou la différenciation de ces lymphocytes. Elle peut aussi induire la prolifération des lymphocytes T et réactiver directement les macrophages.

Le TNF active les macrophages et donc stimule la production d'IL-1, d'IL-6.

D'autres cytokines sont impliquées dans l'inflammation chronique comme l'IL-3, l'IL-4, l'interféron  $\gamma$ .

✓ Tissus mésenchymateux : cellules et médiateurs participant à la destruction

Les cellules participant à la réaction immuno-cellulaire et à la destruction cellulaire sont surtout d'origine mésenchymateuse : il s'agit des chondrocytes, synoviocytes, ostéoblastes, ostéoclastes et fibroblastes.

L'IL-1 stimule les cellules synoviales, les cellules endothéliales et les fibroblastes en augmentant l'activité phospholipase A2 et la formation des médiateurs lipidiques de l'inflammation. L'IL-1 possède également des propriétés cataboliques. En effet, elle augmente la libération par les chondrocytes d'une métalloprotéinase qui dégrade le protéoglycane du cartilage, elle stimule la synthèse de collagénase par les cellules synoviales et fibroblastiques et elle induit la déminéralisation osseuse par activation des ostéoclastes.

#### b. Cyclooxygénase 1 et inflammation

Plusieurs constatations suggèrent que la cyclooxygénase 1 intervient dans le phénomène de l'inflammation.

Tout d'abord, la cyclooxygénase 1 est exprimée dans certains sites inflammatoires comme par exemple, les articulations des patients souffrant de polyarthrite rhumatoïde ou d'arthrose, principalement au niveau de la paroi synoviale.

De plus, l'enzyme contribue de façon importante à la synthèse de prostaglandines au niveau du site inflammatoire. Ainsi, il a été démontré que la cyclooxygénase 1 est la principale source de prostaglandines en cas de bursite.

De même, plusieurs composés connus comme étant sélectifs de l'inhibition de la cyclooxygénase 2 (exemple : nimésulide, étodolac) réduisent l'inflammation de la patte du rat à des doses qui inhibent la cyclooxygénase 1. Ce résultat montre donc que la diminution de l'inflammation est plus due à une inhibition de la cyclooxygénase 1 que de la cyclooxygénase 2.

Des études sur des souris ayant des modifications sur le gène de la cyclooxygénase 1 ou de la cyclooxygénase 2 mettent également en évidence le rôle des prostaglandines synthétisées à partir de la cyclooxygénase 1 dans la réponse inflammatoire. En effet, les souris déficientes

en gène de la cyclooxygénase 2 ont une réaction inflammatoire de même intensité que celle des souris non modifiées génétiquement. Par contre, les souris déficientes en gène de la cyclooxygénase 1 ont une réaction inflammatoire diminuée par rapport à celle des souris de contrôle.

### 1.7. Rein [25, 51, 75]

Dans le rein de l'homme adulte, la cyclooxygénase 1 est présente dans les cellules du canal collecteur, dans les glomérules, dans les cellules des muscles lisses ainsi que dans les cellules endothéliales des veines, artères et également dans les cellules interstitielles de la médullaire et du cortex rénal.

Au niveau fœtal, on retrouve aussi la cyclooxygénase 1 dans les cellules du canal collecteur, les cellules endothéliales des artères, artérioles et veines, les cellules des muscles lisses. Dans le rein fœtal, la cyclooxygénase 1 est également exprimée dans les podocytes qui sont des cellules épithéliales glomérulaires (cf figure 10).



Figure 10 : Schéma du rein [22]

Dans des conditions physiologiques, les prostaglandines interviennent peu dans le fonctionnement rénal. Par contre, en situation d'hypoperfusion, elles permettent le maintien de la filtration glomérulaire. L'hypoperfusion rénale se rencontre lors de pathologies telles l'insuffisance cardiaque, les troubles vasculaires, le choc septique, l'hépatite grave ou lors de pathologies rénales préexistantes. En cas d'hypoperfusion, on observe au niveau rénal, une synthèse d'angiotensine 1 à partir de l'angiotensinogène sous l'action de la rénine. Cette angiotensine 1 va subir l'action de l'enzyme de conversion et donner l'angiotensine 2. Celle-ci va entraîner une vasoconstriction et donc permettre le maintien de la pression sanguine. En parallèle à la libération d'angiotensine, la prostaglandine E2 est synthétisée à partir de la cyclooxygénase 1. Cette prostaglandine E2 exerce une action vasodilatatrice et agit sur la production de rénine et le transport hydrosodé, permettant ainsi le maintien de la filtration glomérulaire.

Au niveau fœtal, la cyclooxygénase 1 intervient dans le développement de l'angiogenèse glomérulaire via la prostaglandine E2. De plus, pendant cette phase fœtale, les cellules épithéliales glomérulaires expriment un facteur de croissance vasculaire endothélial, le VEGF et il a été démontré que dans des ostéoblastes du rat, ce VEGF est induit par la prostaglandine E2. On peut également remarquer que dans le rein de l'homme adulte, la cyclooxygénase 1 a disparue des podocytes; ce qui confirme son intervention dans le processus de développement. Enfin, les prostaglandines responsables du contrôle de la fonction rénale fœtale et du maintien de la perméabilité du canal artériel<sup>2</sup> dépendent de l'activité de la cyclooxygénase 1.

## 2. Cyclooxygénase 2

### 2.1. Fonction nerveuse

La cyclooxygénase 2 est exprimée à l'état basal dans le cerveau et exerce différentes fonctions au niveau cérébral.

---

<sup>2</sup> Durant la vie fœtale, avant que les poumons ne commencent à fonctionner, la plus grande partie du sang de l'artère pulmonaire passe par le canal artériel pour gagner l'aorte juste au dessous de l'origine de l'artère sous clavière gauche. Normalement, le canal se ferme peu après la naissance.

## a. Fièvre [9, 25, 58]

### ➤ Physiopathologie de la fièvre

La thermorégulation dépend d'un organe de contrôle, l'hypothalamus antérieur au niveau de l'aire préoptique. Pourvue de cellules thermosensibles, cette zone hypothalamique reçoit par voie nerveuse et sanguine des informations relatives aux variations de température du milieu ambiant. Ce centre de régulation, une fois informé, va mettre en œuvre les systèmes effecteurs périphériques aptes à corriger ces variations. Le facteur initial, déclenchant la production de pyrogènes endogènes (exemple : cytokines) par les leucocytes est soit un agent pathogène (bactérie, virus, champignon) infectant l'organisme, soit un corps étranger (allergène, greffe) ou encore des cellules cancéreuses.

En cas d'infection, les leucocytes (monocytes et neutrophiles) se chargent de phagocyter l'agent pathogène. Le processus de phagocytose est accompagné d'une activation cellulaire des leucocytes qui, via la transcription nucléaire (ARNm) et la traduction ribosomale, synthétisent et libèrent des cytokines. Les principales cytokines pyrogènes sont l'IL-1, le TNF- $\alpha$ . Elles induisent la fièvre en stimulant la synthèse de prostaglandine E2. D'autres cytokines sont aussi des pyrogènes endogènes bien qu'elles ne paraissent pas déclencher la réponse fébrile en augmentant la production de prostaglandine E2. Ce sont l'IL-6, l'interféron  $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) ou l'IFN- $\beta$ . La présence ou l'absence d'une production de prostaglandine E2 par les diverses cytokines pyrogènes peuvent expliquer pourquoi les inhibiteurs de cyclooxygénase ne sont pas antipyrétiques dans tous les cas.

On peut donc prétendre que quelque soit l'origine, infectieuse ou immunologique, la fièvre est déclenchée par une cytokine. Parvenue dans l'hypothalamus antérieur, et plus précisément au voisinage de l'aire préoptique, cette cytokine interfère avec la thermorégulation. Dans cette étape endogène qui permet au pyrogène de moduler la réactivité des cellules neuronales hypothalamiques, on suppose qu'il existe des relais ou messagers neuronaux ou cellulaires de différente nature : les monoamines d'une part (sérotonine, noradrénaline), les prostaglandines du groupe E d'autre part.

### ➤ Fièvre et cyclooxygénase 2

La cyclooxygénase 2 intervient dans le mécanisme de la fièvre. En effet, l'injection intrapéritonéale de lipopolysaccharide (LPS) chez le rat provoque une inflammation locale et stimule des cytokines comme l'IL-1 $\beta$ . Celles-ci vont induire une réponse de la cyclooxygénase 2 située dans les cellules endothéliales cérébrales et ainsi entraîner la synthèse de prostaglandine E2. Cette dernière agit ensuite au niveau de l'aire préoptique sur des neurones sensibles et provoque alors l'accès fiévreux..

#### b. Inflammation lors d'infection bactérienne [25, 58]

Un autre mécanisme inflammatoire se produisant au niveau cérébral fait intervenir les cellules microgliales. Ces cellules vont stimuler la cyclooxygénase 2 uniquement lorsqu'elles subissent une exposition directe au LPS et non pas en présence de cytokines comme les autres cellules inflammatoires. Or le LPS n'est présent que lors d'infection bactérienne cérébrale. Ainsi la cyclooxygénase 2 permet la synthèse de prostaglandines, après stimulation par les cellules microgliales, uniquement lors d'infection bactérienne cérébrale.

#### c. Développement neurologique [9, 25, 58, 59]

La cyclooxygénase 2 joue également un rôle central dans le développement neuronal et l'adaptation. En effet, l'enzyme est présente au niveau de l'hippocampe et du cortex cérébral, zones gouvernant la mémoire et la connaissance. En fait, c'est lors des dernières étapes de la maturation cérébrale, correspondant à l'adaptation environnementale, que la cyclooxygénase 2 devient active.

#### d. Perte de connexions neuronales [25, 59]

La cyclooxygénase 2 est aussi un important modulateur de la réponse neuronale durant la vie adulte. En effet, plusieurs types de stimuli, comme la douleur ou certains phénomènes stressants provoquent une augmentation de l'expression de la cyclooxygénase 2 au niveau cérébral. Cette induction a lieu au niveau des arborisations dendritiques postsynaptiques de neurones excitateurs spécifiques. Actuellement, le rôle de la cyclooxygénase 2 dans ces sites n'est pas réellement connu. Cependant, l'association entre l'induction de cyclooxygénase 2 et la dégénération neuronale faisant suite à ces stimuli laisse supposer que la cyclooxygénase 2 intervient plus dans la perte de connexions neuronales que dans leur formation.

## 2.2 Estomac

La cyclooxygénase 2 est exprimée de façon constitutive dans les cellules épithéliales de la muqueuse gastrique. Elle joue un rôle très important au niveau du tractus gastro-intestinal: de l'estomac jusqu'au colon. En effet, elle intervient dans la protection et le maintien de l'intégrité de cette muqueuse gastrique.

### a. Cytoprotection gastrique [113, 114]

Même si la cyclooxygénase 2 est présente en petite quantité dans un estomac sain, elle peut être rapidement induite en cas d'irritation de la muqueuse. En effet, Davies et son équipe ont mis en évidence l'augmentation de l'expression de la cyclooxygénase 2 dans l'estomac d'un rat une heure après lui avoir administré de l'aspirine ou de l'indométhacine. Ils ont également observé que l'administration concomitante de prostaglandines prévient cette augmentation de la cyclooxygénase 2, d'où l'hypothèse que l'augmentation de l'expression de la cyclooxygénase 2 est déclenchée par une diminution du taux de prostaglandines mucosales. De plus, une étude a montré une augmentation de la quantité de la cyclooxygénase 2 dans l'estomac d'un rat quarante minutes après l'administration orale d'acide. Ainsi, la cyclooxygénase 2 joue un rôle important dans la cytoprotection adaptée gastrique. Ce terme de cytoprotection adaptée fait référence à la réponse de l'estomac face à une agression par une substance irritante.

### b. Diminution de l'infection [9, 25, 59]

Une étude *in vitro* utilisant des cellules épithéliales intestinales a mis en évidence l'augmentation de l'expression de la cyclooxygénase 2 dans ces cellules lorsqu'elles sont exposées à *Salmonella* et *Escherichia coli* [59]. Cette observation suggère donc qu'en réponse à une infection, il y a une induction de la cyclooxygénase 2. En effet, la cyclooxygénase 2 stimule la production de prostaglandines. Ces prostaglandines, en particulier la prostaglandine E2, augmente la sécrétion de chlorures et le flux liquidien à partir du mucus gastrique, ce qui chasse les bactéries de l'intestin.

#### c. Cicatrisation après ulcère [4, 113]

La cyclooxygénase 2 joue également un rôle important dans la cicatrisation de l'ulcère gastrique. On sait en effet depuis plusieurs années que les AINS interfèrent avec cette cicatrisation tandis que l'administration de prostaglandines l'accélèrent. Des études chez le rat montrent une surexpression de la cyclooxygénase 2 et de son ARNm au pourtour d'un ulcère évolutif; en parallèle, on observe aussi une augmentation de la synthèse de prostaglandines. Lorsque l'on administre à ces rats porteurs d'un ulcère gastrique, un inhibiteur sélectif de la cyclooxygénase, il y a une diminution de la synthèse de prostaglandines mucoales et on retarde la cicatrisation de l'ulcère [113].

#### d. Helicobacter pylori [4, 37]

La colonisation de l'estomac par Helicobacter pylori provoque des gastrites chroniques ainsi que des ulcères. Des études mettent en évidence qu'H. pylori provoque l'augmentation de la production de prostaglandines (prostaglandine E2) dans des cellules in vitro, ainsi qu'in vivo. Cette synthèse de prostaglandines est induite par la cyclooxygénase 2. En effet, il a été montré que la gastrite à H. pylori s'accompagne d'une surexpression de la cyclooxygénase 2 dans la muqueuse gastrique. De plus, l'augmentation du taux de la cyclooxygénase 2 chez des patients infectés par H. pylori est en corrélation avec le degré d'atteinte de la gastrite. En effet, l'éradication de la bactérie diminue l'expression de la cyclooxygénase 2 proportionnellement à la réduction de l'inflammation de la muqueuse.

#### e. Entérocologie inflammatoire [37, 40]

Une étude menée par Hendel et Nielsen a pour objectif d'évaluer le rôle de la cyclooxygénase 2 dans l'entérocologie inflammatoire [40]. Pour ce faire, 44 personnes ont été admises : 22 avec une inflammation ulcéreuse du colon, 11 atteints de la maladie de Crohn et 11 volontaires sains. Une biopsie de la muqueuse intestinale est réalisée sur chaque patient et le taux d'ARNm de la cyclooxygénase 1 et de la cyclooxygénase 2 est détecté en utilisant la technique de PCR.

L'ARNm de la cyclooxygénase 1 est retrouvé dans 12 biopsies (5 en cas d'inflammation du colon, 2 lors de la maladie de Crohn et 5 chez les volontaires sains).

L'ARNm de la cyclooxygénase 2 est présent dans 9 biopsies (8 lors d'inflammation du colon et 1 lors de la maladie de Crohn).

Lorsque l'on compare les biopsies des patients ayant une pathologie active avec celles du groupe composé des patients ayant une maladie au repos et des volontaires sains, on remarque aucune différence au niveau de l'ARNm de la cyclooxygénase 1, alors qu'une différence significative apparaît au niveau de l'ARNm de la cyclooxygénase 2 .

Il existe donc une relation entre l'activité endoscopique et la présence de l'ARNm de la cyclooxygénase 2. Cette étude montre donc que la cyclooxygénase 2 est impliquée dans la phase aigue des maladies inflammatoires chroniques intestinales.

Alors que cette étude met en évidence une surexpression de la cyclooxygénase 2 au cours des entérocopathies inflammatoires, une autre observation permet de constater que son inhibition spécifique peut aggraver les lésions. En effet, sur un modèle expérimental d'inflammation du colon, une semaine de traitement avec le L-745,337 (inhibiteur sélectif de la cyclooxygénase 2), provoque une exacerbation de l'inflammation tandis que des perforations du colon apparaissent chez la majorité des rats après deux semaines de traitement (cf tableau 3).

Conditions	Prostaglandines dérivant de la cyclooxygénase 1	Prostaglandines dérivant de la cyclooxygénase 2
Etat normal	Stimulent la sécretion de mucus et de bicarbonates Régulent le flux sanguin	
Inflammation	Stimulent la sécretion de mucus et de bicarbonates Régulent le flux sanguin	Adaptent la cytoprotection (résistance aux dommages induits par des irritants)
Ulcère		Interviennent dans la prolifération cellulaire, angiogenèse, la maturation du tissu

Tableau 3 : Rôles des prostaglandines dérivées de la Cox 1 et de la Cox 2 au niveau stomacal

[113]

### 2.3. Reproduction [9, 25, 58, 75]

La cyclooxygénase 2 joue de nombreux rôles dans le phénomène de la reproduction, notamment lors de l'ovulation, l'implantation ou encore l'embryogenèse.

L'expression de la cyclooxygénase 2 augmente de façon significative au milieu du cycle, suite au pic de LH (hormone lutéinisante). Cette induction de la cyclooxygénase 2 peut être stimulée par la LH, la FSH (hormone folliculo-stimulante), le TGF $\alpha$  ou l'IL-1. Dans l'ovaire, la cyclooxygénase 2 est alors responsable de la synthèse de prostaglandines qui entraînent la rupture du follicule puis l'ovulation.

Après la fécondation, l'expression de la cyclooxygénase 2 augmente dans l'utérus, au niveau du site d'implantation des blastocystes. On observe alors une synthèse de prostaglandines qui via les récepteurs EP2 vont agir dans les premières étapes de la réaction d'attachement de l'embryon à l'utérus.

Des études sur des souris déficientes en cyclooxygénase 2 ont mis en évidence le défaut de développement de certains organes chez ces souris, ce qui souligne par ailleurs le rôle de la cyclooxygénase 2 au cours de l'embryogenèse.

Les tissus utérins et fœtaux élaborent des quantités croissantes de prostaglandines depuis la moitié de la gestation jusqu'au terme. Cependant, c'est dans les jours qui précèdent l'accouchement que les concentrations de prostaglandines augmentent considérablement. L'augmentation exponentielle de la cyclooxygénase 2 à l'approche du terme suggère que cette isoenzyme est impliquée dans l'initiation de l'accouchement. En fait, des études chez la souris ont mis en évidence que les contractions utérines sont dues à une libération de PGF $2\alpha$  à partir des tissus fœtaux. Ces PGF $2\alpha$  induisent la lutéolyse, ce qui diminue le taux de progestérone maternelle et permet le développement de récepteurs à l'ocytocine au niveau du myomètre. On observe alors une augmentation de la réponse du myomètre à l'ocytocine et donc la parturition.

### 2.4. Système vasculaire [3, 37, 114]

Chez la souris, la cyclooxygénase 2 est exprimée de façon physiologique au niveau de la macula densa du rein. Ce tissu joue un rôle important dans les interactions entre la libération de rénine, la réabsorption au niveau du tube proximal et le volume circulatoire.

Une étude a mis en évidence l'induction de la cyclooxygénase 2 dans la macula densa d'un rat après une restriction sodique. Cela suggère donc le rôle de la cyclooxygénase 2 dans la

régulation du sodium, le volume circulatoire et le maintien de la pression sanguine. Ce constat a été confirmé par une observation montrant, chez la souris, que l'augmentation de rénine au niveau rénal en réponse à une restriction sodique nécessite l'induction de la cyclooxygénase 2.

Cependant, la régulation de la pression sanguine par la cyclooxygénase 2 n'est pas seulement limitée par les effets de cette enzyme sur le rein. En effet, chez l'homme, la cyclooxygénase 2 est la principale enzyme qui intervient dans la synthèse de la prostacycline ; celle-ci jouant un rôle clé dans la régulation de la vasodilatation et l'inhibition de l'agrégation plaquettaire.

Ainsi, une inhibition de la cyclooxygénase 2 entraîne une inhibition de la prostacycline (vasodilatatrice), et la perte d'inhibition du thromboxane, qui est vasoconstricteur et agrégant plaquettaire. Il s'en suit alors une augmentation du risque de thrombose, surtout chez les patients souffrant d'athérosclérose, ou alors une exacerbation de l'hypertension artérielle chez les personnes prédisposées.

## 2.5. Os [25, 58]

Le rôle des prostaglandines dans le métabolisme osseux est assez complexe. En effet, les prostaglandines interviennent à la fois dans la résorption osseuse et dans la synthèse osseuse.

Ainsi les prostaglandines stimulent la différenciation des précurseurs des ostéoclastes (cellules responsables de la résorption) mais aussi celle des précurseurs des ostéoblastes (cellules intervenant dans la formation osseuse). Des études ont mis en évidence que les prostaglandines activent la résorption osseuse *in vitro* et la croissance osseuse *in vivo*.

L'induction de la cyclooxygénase 2 apparaît comme étant essentielle dans le remodelage osseux. En effet, il a été montré que des cytokines associées au phénomène de l'inflammation, IL-1 $\beta$  et IL-6, induisent la cyclooxygénase 2 dans des cultures de cellules de moëlle osseuse. On observe alors une synthèse de prostaglandines qui stimulent le catabolisme des ostéoclastes et l'anabolisme des ostéoblastes. D'autres facteurs peuvent induire la cyclooxygénase 2 au niveau osseux, et donc agir sur l'activité des ostéoclastes et des ostéoblastes. Il s'agit par exemple de l'hormone parathyroïde qui influence beaucoup le métabolisme du calcium. Les cytokines IL-4 et IL-13, quant à elles, semblent inhiber la résorption osseuse en agissant sur la synthèse des prostaglandines dans les ostéoblastes, via la cyclooxygénase 2.

## 2.6. Douleur [25, 120]

Les blessures tissulaires locales et les maladies inflammatoires sont associées à une augmentation des prostaglandines, et les récepteurs de la douleur sont connus comme pouvant être stimulés par de faibles taux de prostaglandines. Ainsi, l'action des cyclooxygénases au niveau du site de la blessure ou de l'inflammation est hyperalgésique et l'action analgésique des AINS au niveau local s'explique aisément par ce mécanisme. De plus, les prostaglandines facilitent la transmission du message douloureux le long de la moëlle épinière jusqu'au cerveau et donc les AINS peuvent également agir au niveau central.

La cyclooxygénase 2 est induite à la fois au niveau local et central. Afin de savoir comment la cyclooxygénase 2 intervient dans la réception ou la transmission de la douleur, les premières études ont utilisées des AINS inhibiteurs spécifiques de la cyclooxygénase 2. L'injection intrathécal de deux substances, un inhibiteur spécifique de la cyclooxygénase 2 (NS-398) et un inhibiteur non spécifique (l'indométhacine), supprime la réponse douloureuse provoquée par le formaldéhyde (qui est caractéristique d'une réponse centrale). Par contre, aucun des deux supprime la douleur provoquée par une température élevée (caractéristique d'une réponse locale). Au contraire, une autre étude utilisant l'administration systématique de méloxicam (AINS inhibant plus spécifiquement la cyclooxygénase 2 que la cyclooxygénase 1) montre la suppression de la douleur inflammatoire au niveau local sans affecter la transmission du message douloureux au niveau central. Même si ces deux études ne permettent pas de réelles comparaisons, elles mettent toutefois en évidence que la cyclooxygénase 2 intervient dans le phénomène douloureux au niveau local et au niveau central.

Les prostaglandines dérivant de la cyclooxygénase 2, en particulier la PGE<sub>2</sub>, jouent un rôle important dans l'initiation de l'inflammation et de la douleur. Une étude de 1997 a évalué le rôle de la PGE<sub>2</sub> synthétisée sous l'action de la cyclooxygénase 2, sur une douleur préétablie chez un animal. L'inflammation et l'hyperalgésie avaient au préalable été induites par l'injection de carragénine dans la patte du rat. Ensuite, les scientifiques ont étudié les effets d'un traitement thérapeutique avec trois produits différents : un inhibiteur spécifique de la cyclooxygénase 2, un AINS et un antigène anti-PGE<sub>2</sub> ; ces composés étant administrés une à trois heures après l'injection de carragénine. Les trois paramètres évalués lors de cette étude étaient l'inhibition de la douleur, la modification de l'œdème de la patte et du taux de prostaglandines. Les résultats ont montré que l'inhibition de la cyclooxygénase 2 provoque une rapide régression de la douleur préétablie et diminue significativement la quantité de

prostaglandines au niveau du site inflammatoire. De plus, l'administration de l'antigène anti-PGE2 inhibe totalement l'hyperalgésie inflammatoire. Cette étude suggère donc que la production continue de prostaglandine E2 par la cyclooxygénase 2 est un élément indispensable pour maintenir le phénomène douloureux au niveau du site inflammatoire.

## 2.7. Alzheimer [8, 9, 59, 75]

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative qui conduit certaines personnes âgées à la démence. Cette pathologie entraîne des pertes importantes au niveau cognitif, comportemental ou fonctionnel, c'est-à-dire des déficits dans les activités de tous les jours. La maladie d'Alzheimer se caractérise au niveau physiopathologique par une perte des projections neuronales cholinergiques au niveau de l'hippocampe et de certaines régions du cortex. Une des manifestations histologiques d'Alzheimer, est la formation de plaques, qui contiennent des dépôts de protéines  $\beta$  - amyloïde. Cette substance et ses précurseurs sont élaborés lors d'un phénomène inflammatoire dans lequel interviennent les cellules microgliales. Or, l'expression de la cyclooxygénase 2 est induite dans ces cellules et pourrait ainsi participer à l'inflammation cérébrale caractéristique de la maladie d'Alzheimer. De plus, une étude portant sur des cerveaux de personnes souffrant de cette pathologie a montré une augmentation de la cyclooxygénase 2 au niveau des plaques de protéines  $\beta$  - amyloïde, dans la région de l'hippocampe. Des données biologiques montrant le rôle proapoptique neuronal de la cyclooxygénase 2 ainsi que son effet générateur de radicaux libres neurotoxiques suggèrent que cette isoenzyme pourrait également être impliquée dans l'induction de la mort neuronale.

## 2.8. Cancer

### a. Cancer rectocolique et polypose familiale [25, 30, 75, 117]

Le processus tumoral est très complexe car il résulte de nombreuses altérations génétiques entraînant le dérèglement des signaux de transduction, des mécanismes du cycle cellulaire et, ou de la différenciation cellulaire. Le caractère malin ne se développe cependant pas comme une anomalie génétique. Par exemple, sur des modèles de cancers rectocoliques spontanés, on observe une mutation du gène APC (gène antitumoral) sans transformation des

cellules épithéliales intestinales alors qu'une mutation du p53, un gène suppresseur potentiel de tumeur, peut aboutir à un phénotype malin.

Certaines observations suggèrent que l'activité cyclooxygénase a des effets sur la formation tumorale de l'intestin. En effet, plusieurs études épidémiologiques suggèrent que la prise d'AINS réduit l'incidence du cancer rectocolique ou la mortalité due à cette maladie. Par ailleurs, des essais cliniques réalisés chez des patients souffrant de polypose familiale montrent qu'un traitement par le sulindac réduit le nombre et le volume des adénomes, du moins pendant la durée du traitement. Enfin, des travaux sur des modèles expérimentaux de polypose familiale (souris Min ou souris APC $\Delta$ 716 mutées sur le gène suppresseur de tumeur APC) ou de tumeurs induites par des carcinogènes chimiques (azoxyméthane, diméthylhydrazine) montrent un effet préventif des AINS classiques sur le nombre et le volume des lésions cancéreuses. Dans les modèles animaux comme chez l'homme, la plupart des lignées cancéreuses colorectales présentent une expression accrue de la cyclooxygénase 2 et une production exagérée de prostaglandines, alors que la muqueuse saine en est incapable. Plusieurs études ont permis de démontrer l'implication probable de la cyclooxygénase 2 dans la carcinogenèse :

Tout d'abord, elle induit une résistance à l'apoptose et augmente le potentiel invasif des cellules tumorales. La cyclooxygénase 2 stimule également la croissance de ces cellules. En effet, une observation portant sur quatorze carcinomes du colon humain, a mis en évidence que douze d'entre eux surexpriment l'ARNm de la cyclooxygénase 2 et parmi quatorze adénomes observés, 43% ont un taux d'ARNm augmenté. On constate donc que l'adénome exprime moins fortement la cyclooxygénase 2, ce qui est compréhensible puisque l'adénome est le précurseur du carcinome. Le fait que le taux d'ARNm de la cyclooxygénase 2 soit plus important dans l'adénome que dans la muqueuse normale adjacente indique que l'augmentation de l'expression de l'isoenzyme est en corrélation avec le processus de transformation cellulaire. On peut alors penser que l'augmentation de taux de la cyclooxygénase 2 pourrait être un marqueur de développement tumoral de l'épithélium intestinal.

D'autre part, des travaux sur des cultures cellulaires ont montré que l'expression de la cyclooxygénase 2 contribue significativement à augmenter l'adhésion des cellules tumorales épithéliales à la matrice extracellulaire.

Enfin, la cyclooxygénase 2 semble jouer un rôle dans la régulation de l'angiogenèse associée aux tumeurs. En effet, la cyclooxygénase 2 est exprimée dans les néovaisseaux tumoraux ou même au sein des vaisseaux non tumoraux adjacents en cas de cancer du colon alors que cette

isoenzyme ne semble pas être exprimée dans les vaisseaux sanguins indemnes de toute pathologie.

#### b. Cancers épitheliaux [31, 75]

L'inflammation chronique est un élément important dans l'initiation tumorale et le développement des cancers épitheliaux.

La cyclooxygénase 2 est absente ou faiblement exprimée dans la plupart des épithéliums humains normaux. Par contre elle est exprimée dans les lésions préneoplasiques et au niveau des vaisseaux sanguins adjacents aux lésions proliférantes, notamment dans les lésions d'hyperplasie, de métaplasie et de dysplasie oesophagienne, dans le carcinome in situ de vessie, la kératose actinique, la leucoplasie buccale ou encore certains cancers du sein. Ces lésions précancéreuses ou cancéreuses évoluent le plus souvent vers le cancer. La cyclooxygénase 2 semble donc jouer un rôle dans le développement de ces lésions et dans le processus invasif conduisant au cancer. D'ailleurs, l'isoenzyme est surexprimée dans de nombreuses lignées cellulaires tumorales et on la retrouve dans la plupart des cancers épitheliaux humains (tête et cou, bronches, colon, œsophage, vessie, prostate, col utérin, pancréas, sein, estomac). Des études ont révélé que la cyclooxygénase 2 favorise l'invasion tumorale, inhibe le processus apoptique et en son absence, la croissance tumorale est ralentie ou absente.

#### c. Cancer gastrique [74]

L'étude suivante a pour but de déterminer les taux d'ARNm de la cyclooxygénase 2 ainsi que la localisation de l'enzyme dans un carcinome gastrique à différents stades d'évolution afin de connaître la relation existant entre l'expression de la cyclooxygénase 2 et les caractéristiques clinicopathologiques de ces tumeurs.

Entre janvier 1998 et janvier 1999, 33 patients souffrant d'un carcinome gastrique ont été inclus dans l'étude. Des échantillons ont été prélevés sur les 33 tumeurs gastriques ainsi que sur la muqueuse gastrique normale. Sur les prélèvements, les scientifiques ont utilisé la technique de PCR ainsi que l'analyse immunohistochimique à l'aide d'un antigène de la cyclooxygénase 2 .

Les ARNm de la cyclooxygénase 1 et de la cyclooxygénase 2 sont détectés dans tous les tissus, cancéreux ou non. Cependant, les échantillons provenant des carcinomes gastriques

expriment plus la cyclooxygénase 2 que ceux prélevés sur la muqueuse non cancéreuse. De plus, le taux de cyclooxygénase 2 en cas de carcinome est significativement plus élevé quand l'invasion est importante.

La technique immunohistochimique révèle que la cyclooxygénase 2 est présente dans le cytoplasme des cellules tumorales mais pas dans le stroma adjacent. Dans la muqueuse non cancéreuse, aucune immunoréactivité de la cyclooxygénase 2 est observée (cf figure 11).

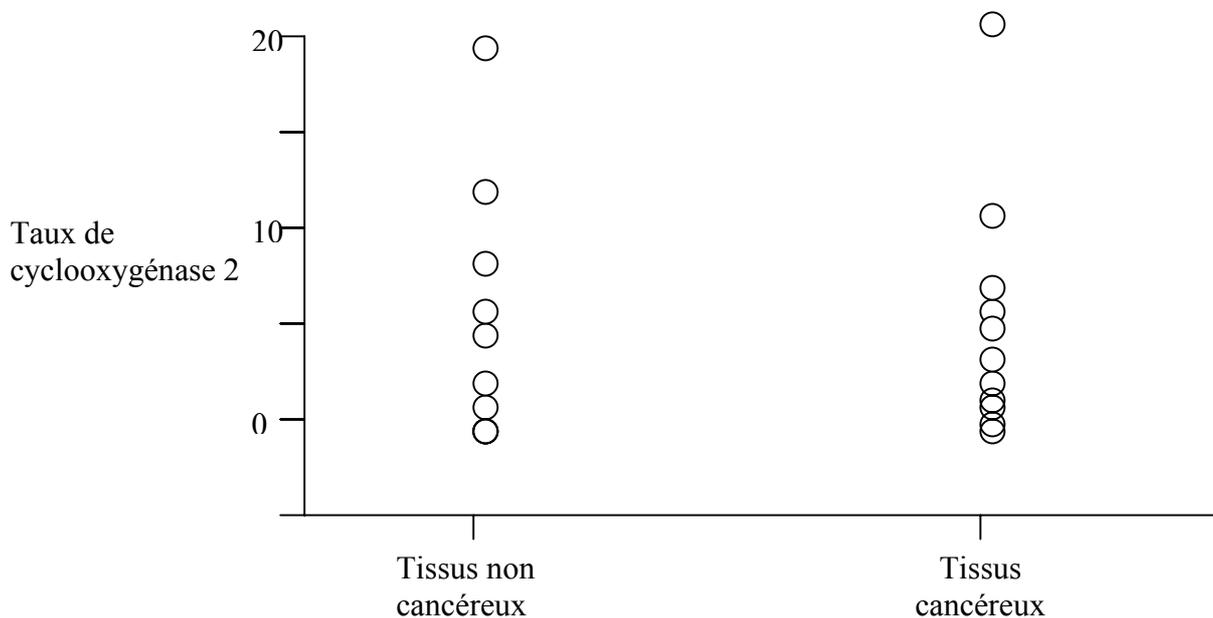


Figure 11 a) : Taux de cyclooxygénase 2 dans des tissus gastriques cancéreux et non cancéreux [74]

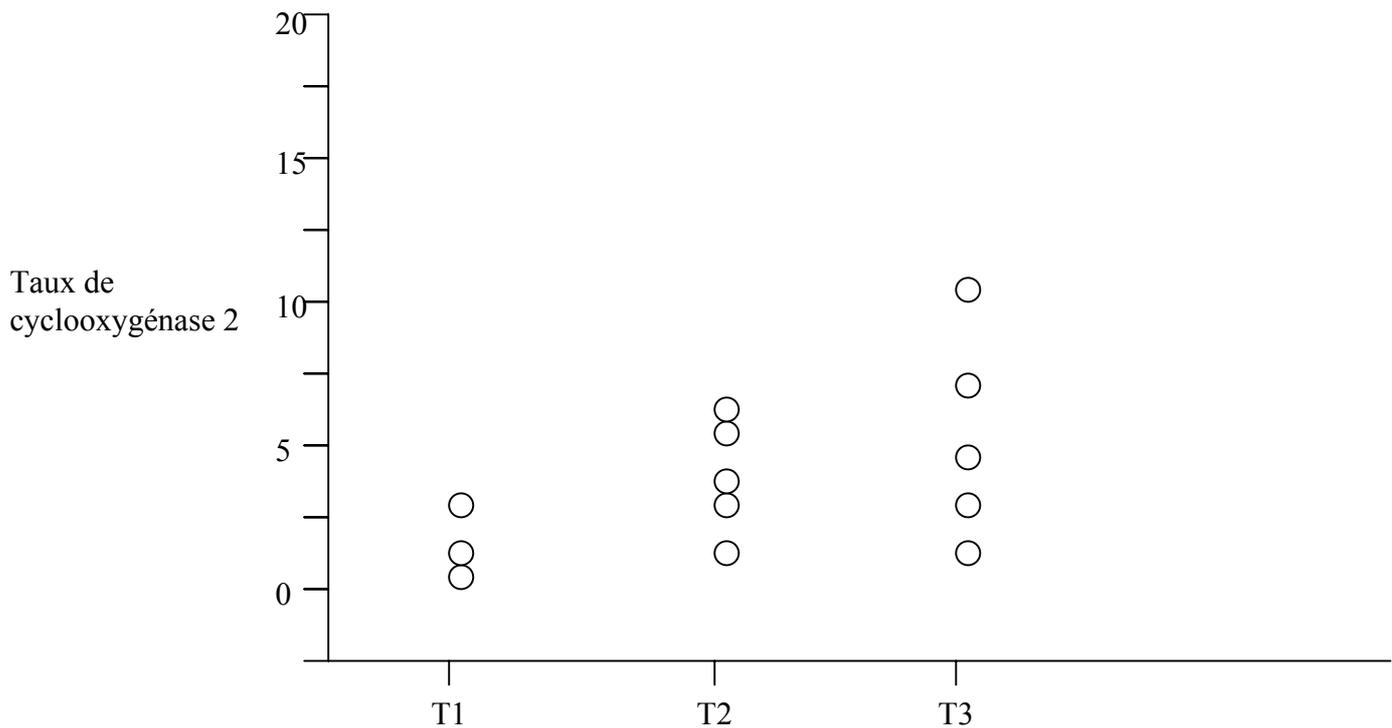


Figure 11 b) : Taux de cyclooxygénase 2 en fonction du développement du cancer gastrique [74]

Ainsi, l'ARNm de la cyclooxygénase 2 et la protéine sont tous deux surexprimés dans les tissus de carcinome gastrique et l'augmentation du taux de cyclooxygénase 2 est en corrélation avec l'importance de l'invasion tumorale. Ces résultats suggèrent donc que la cyclooxygénase 2 est impliquée dans le développement du cancer gastrique.

#### d. AINS et cancer [8]

Le mode d'action des AINS ne s'exerce pas seulement en bloquant la synthèse des prostaglandines. Les AINS peuvent en effet affecter le cycle cellulaire des cellules mammaires qui n'expriment pas les cyclooxygénases et ne produisent donc pas de prostaglandines. Ce mode d'action indépendant des cyclooxygénases pourrait expliquer que les AINS, tels le sulindac et l'aspirine qui inhibent peu ou pas la cyclooxygénase 2, présentent aussi une activité antiproliférative. Les AINS pourraient induire l'apoptose cellulaire tumorale par des mécanismes indépendants de p53 et partiellement indépendants d' APC.

Les AINS semblent enfin jouer un rôle dans la surveillance immune antitumorale. La prostaglandine E2, qui est exprimée en grande quantité dans le cancer colique, a la propriété d'inhiber l'expression par les cellules néoplasiques des molécules HLA de classe II, qui permettent aux leucocytes de les reconnaître et de les détruire. En induisant l'expression de ces molécules de reconnaissance, les AINS favoriseraient l'immunité antitumorale.

## 2.9. Inflammation [9, 25, 98]

Dans les années 80, on a découvert que l'expression du gène de la cyclooxygénase 2 augmentait lors du phénomène inflammatoire. Des expériences *in vivo* et *in vitro* ont alors démontré l'implication de la cyclooxygénase 2 et des prostaglandines dans l'inflammation.

Un des tests consiste à reproduire une inflammation aigue et douloureuse, en injectant une substance irritante, la carragénine, dans la patte d'un rat [98]. Au niveau de la patte, se développe un œdème, ainsi qu'une hyperalgésie. Pour mesurer cette activité, la patte de l'animal est soumise à un stimulus douloureux et on mesure sa tolérance à la douleur. Chez le rat à qui on a injecté la carragénine, la résistance à la douleur est significativement moins importante que chez le rat ayant reçu un placebo. Ceci indique donc la sensibilité à la douleur en réponse à l'inflammation.

D'autre part, quand l'animal reçoit des antigènes monoclonaux spécifiques de la prostaglandine E2, la tolérance à la douleur au niveau de la patte ayant reçue l'injection de carragénine augmente significativement. Cette constatation montre donc que la prostaglandine E2 est réellement impliquée dans l'hyperalgésie. De plus, quand on administre à l'animal un AINS comme le naproxène, on observe le même phénomène, c'est à dire une augmentation du seuil de la douleur. On peut donc conclure que le naproxène atténue la douleur en interférant avec la production de prostaglandine E2, celle-ci étant principalement synthétisée à partir de la cyclooxygénase 2 au niveau de la patte inflammatoire.

Une autre observation sur ce modèle expérimental suggère également que la prostaglandine E2 est impliquée dans la cascade du phénomène inflammatoire. En effet, l'injection de carragénine induit aussi un œdème, ce qui provoque une augmentation de volume de la patte. Quand on administre au rat soit de l'indométhacine (AINS), soit un antigène monoclonal de la prostaglandine E2, le volume de la patte diminue de manière importante. Or, les AINS ou l'antigène agissent via la cyclooxygénase 2 sur la prostaglandine E2. Donc, la prostaglandine E2 intervient non seulement dans la douleur inflammatoire mais aussi dans le processus conduisant à la formation de l'œdème (cf figure 12).

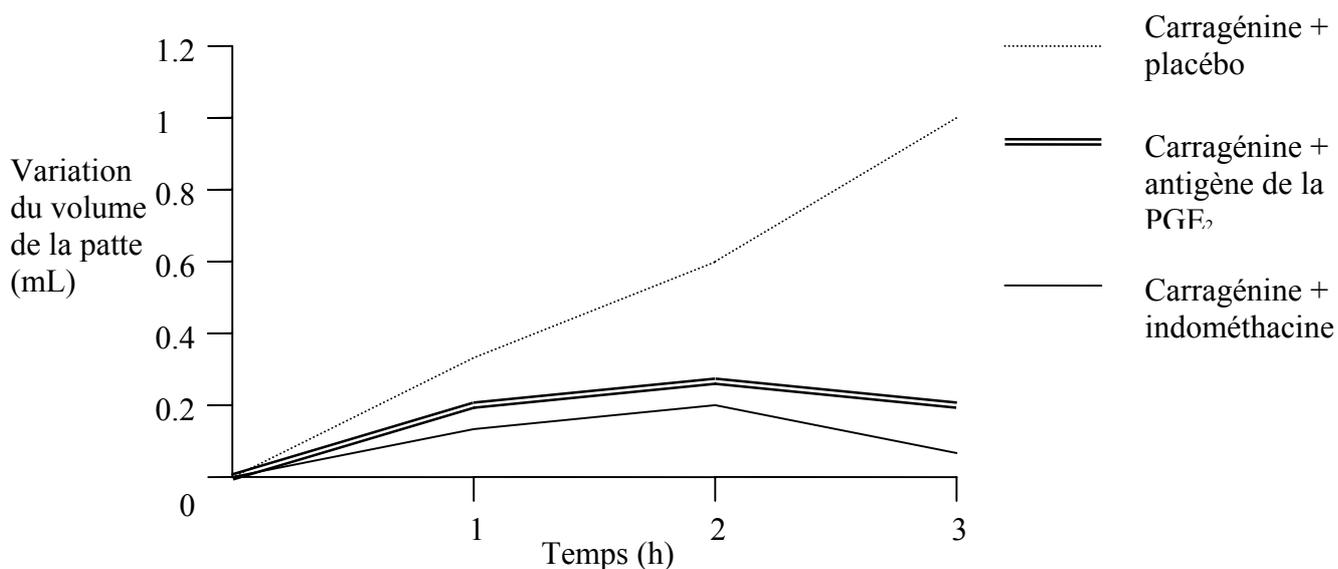


Figure 12 : Variation du volume de la patte selon la substance injectée, en fonction du temps [98]

Cette étude prouve donc le rôle de la cyclooxygénase 2 ainsi que des prostaglandines synthétisées à partir de la cyclooxygénase 2, en particulier la prostaglandine E2 dans l'inflammation et la douleur.

Dans la plupart des tissus, la quantité de cyclooxygénase 2 est normalement indétectable. Mais son expression peut augmenter de façon considérable après stimulation par des cytokines inflammatoires comme l'IL-1, le TNF- $\alpha$ , par des endotoxines comme le LPS ou encore des facteurs de croissance (TGF- $\beta$ , EGF, PDGF et FGF). D'autre part, des études ont montré que les glucocorticoïdes ainsi que des cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-4 ou l'IL-13, diminuent l'expression de la cyclooxygénase 2. De plus, la quantité de cyclooxygénase 2 est très importante dans le cartilage des articulations des patients souffrant d'arthrose. De même, l'induction de la cyclooxygénase 2 a également été observée dans le liquide synovial de patients atteints de polyarthrite rhumatoïde. L'ensemble de ces observations suggère donc que la cyclooxygénase 2 joue un rôle très important dans le phénomène inflammatoire. En fait, l'augmentation du taux de cyclooxygénase 2 conduit à une conversion plus importante de l'acide arachidonique en prostaglandine H2. Celle-ci, sous l'action d'isomérases ou d'enzymes synthétases, permet alors l'obtention d'autres prostaglandines responsables de la plupart des manifestations de l'inflammation comme la

douleur ou la fièvre. Par exemple, la prostaglandine E2 augmente le débit sanguin, la perméabilité capillaire et le phénomène oedémateux. De même, la prostaglandine E2 et la prostaglandine F2 induisent une douleur intense et la fièvre.

En conclusion, même s'il est évident que la cyclooxygénase 2 joue un rôle fondamental dans le phénomène inflammatoire, des études ont montré l'implication de la cyclooxygénase 1 dans ce même phénomène. Ainsi, sur une souris transgénique avec une délétion de l'enzyme cyclooxygénase 2, on a observé une réponse inflammatoire avec uniquement la présence de la cyclooxygénase 1. Une autre étude utilisant un modèle expérimental d'animal avec une inflammation du colon, a mis en évidence que cette inflammation continuait d'augmenter après l'inhibition sélective de la cyclooxygénase 2. De plus, des travaux suggèrent que la cyclooxygénase 2 intervient dans la cicatrisation des derniers stades du processus inflammatoire. La contribution des deux isoenzymes, cyclooxygénase 1 et cyclooxygénase 2, est donc nécessaire dans l'inflammation.

#### 2.10. Rein [33, 51]

Dans le rein de l'homme adulte, la cyclooxygénase 2 est présente dans les glomérules, les podocytes, les parties médullaires ainsi que les cellules des muscles lisses. L'isoenzyme est aussi exprimée dans la macula densa.

Au niveau fœtal, on retrouve la cyclooxygénase 2 dans les cellules endothéliales et muscles lisses des artères et veines, dans l'appareil juxtaglomérulaire et également dans les podocytes. Chez l'adulte, la localisation de la cyclooxygénase 2 au niveau du tissu vasculaire et des podocytes suggère son rôle dans la régulation de l'hémodynamique rénale. De plus, comme elle est exprimée dans la macula densa et les cellules interstitielles médullaires, l'isoenzyme semble intervenir dans l'équilibre hydrosodique.

Par rapport à la cyclooxygénase 1, la cyclooxygénase 2 intervient plus tard dans le développement glomérulaire fœtal. En fait, on ne détecte que de faibles quantités de cyclooxygénase 2 dans les podocytes de l'appareil juxtaglomérulaire, ce qui signifie que l'expression de la cyclooxygénase 2 ne devient plus importante qu'après la vascularisation du glomérule. Ceci suggère donc que la cyclooxygénase 2 intervient surtout dans la régulation de la fonction rénale au niveau fœtal.

## 2.11. Maladies neurologiques [8]

Les cyclooxygénases sont impliquées dans une grande variété de maladies neurologiques.

En effet, l'expression de la cyclooxygénase 2 est induite lors d'une migraine accompagnée de déficits neurologiques. De plus, la cyclooxygénase 2 semble intervenir dans certains types de maladies neurologiques traumatiques ou inflammatoires, qu'elles soient périphériques, médullaires ou centrales comme la sclérose en plaque. On peut également remarquer que dans l'encéphalopathie du virus de l'immunodéficience acquise (VIH), il existe une augmentation du taux des prostaglandines E2, F2 et du thromboxane B2 dans le liquide céphalorachidien, corrélé par ailleurs à l'altération neurologique.

Les cyclooxygénases pourraient enfin participer à la physiopathologie de la maladie de Parkinson en induisant la production de radicaux libres toxiques pour les neurones dopaminergiques. In vitro, l'activité hydroperoxydasique des cyclooxygénases peut en effet catalyser l'oxydation de la dopamine en dopamine quinones, cette réaction pouvant être inhibée par l'indométacine. Cependant, le rôle de la cyclooxygénase 2 dans cette maladie n'a pas été encore étudié.

## 2.12. Consommation alcoolique [8]

De façon plus anecdotique, l'administration aiguë ou chronique d'alcool tout comme le sevrage d'alcool induit l'expression de la cyclooxygénase 2 dans différentes zones cérébrales, en particulier corticales chez le rat. De plus, cette surexpression est accompagnée d'une hyperexcitabilité des récepteurs NMDA, suggérant le rôle de la cyclooxygénase 2 dans certains effets aigus et chroniques de la consommation alcoolique.

## VIII. Cyclooxygénases et AINS

### 1. Historique [32, 75]

L'aspirine, découverte il y a 100 ans, a donné naissance à une des classes thérapeutiques les plus prescrites, les antiinflammatoires non stéroïdiens (AINS), utilisés pour

leurs propriétés anti-inflammatoires, antalgiques et antipyrétiques. On considère qu' environ 1% de la population américaine utilise des AINS chaque jour et 40% de ces patients ont plus de 60 ans. A travers le monde, 30 millions de personnes consomment chaque jour ces médicaments. Cependant, le bénéfice thérapeutique des AINS est limité par leurs effets secondaires, qui sont surtout d'ordre digestifs et rénaux (insuffisance rénale aigue) mais également cutanés (syndrome de Lyell) , respiratoires (asthme), hépatiques, neurologiques ou encore cardio-vasculaires. Même si les effets indésirables sévères sont rares en terme de fréquence, du fait de l'importance des prescriptions se pose un réel problème de santé publique. Des études évaluent le risque lié à l'utilisation des AINS à 260000 hospitalisations et 26000 décès par an dans le monde. La plupart des décès sont dus à des hémorragies digestives. En fait, le risque de complications digestives graves (hémorragies digestives ou perforations) est multiplié par 4 ou 6 au cours d'un traitement par AINS. Ce risque existe en cas de prise unique ou continue et diminue rapidement quand le traitement est interrompu. Au delà de deux mois après la prise d'AINS, ce risque n'est pas différent de celui existant avant la prise d'AINS. Les facteurs de risque identifiés sont l'âge ( > 65 ans ), les antécédents de maladie ulcéreuse. La dose et le type d'AINS sont aussi des facteurs possibles d'hémorragie et de perforations.

Jusqu'à récemment les connaissances sur le mécanisme d'action des AINS ne permettaient pas de dissocier les effets anti-inflammatoires des effets indésirables digestifs et rénaux. En 1971, Vane a démontré que les AINS inhibaient la production des prostaglandines en bloquant la cyclooxygénase. Or, cette inhibition des prostaglandines explique non seulement les effets thérapeutiques des AINS mais également leurs effets indésirables. La découverte de deux isoenzymes de la cyclooxygénase, une forme constitutionnelle (cyclooxygénase 1) et une forme inductible (cyclooxygénase 2) éclaire d' un jour nouveau la relation existant entre l'activité thérapeutique et les effets secondaires des AINS. En effet, l'inhibition sélective de la formation inductible (cyclooxygénase 2) doit permettre de conserver l'activité anti-inflammatoire sans avoir les effets indésirables liés à l'inhibition de la forme constitutionnelle (cyclooxygénase 1). L'intérêt pharmacologique à développer des inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2 repose donc sur l'hypothèse qu'ils ont moins d'effets secondaires car ils n' inhibent pas ou peu la cyclooxygénase 1.

## 2. Méthodes d'étude [32, 34]

De nombreuses études s'intéressent à la sélectivité d'inhibition de la cyclooxygénase 2 des AINS. Cependant, pour pouvoir effectuer de réelles comparaisons, il est nécessaire de prêter attention aux techniques utilisées. Le ratio  $COX\ 2/COX\ 1$  est fréquemment utilisé pour le classement des anti-inflammatoires. Il correspond au rapport :

$$CI_{50}\ COX\ 2 / CI_{50}\ COX\ 1$$

La  $CI_{50}$  (concentration inhibitrice 50%) correspond à la concentration de produit nécessaire pour inhiber 50% de l'activité enzymatique.

Une molécule est dite sélective de la cyclooxygénase 1 quand le ratio  $COX\ 2/COX\ 1$  est supérieur à 1 et elle est sélective de la cyclooxygénase 2 quand il est inférieur à 1.

Dans des études *in vitro*, des différences de ratio peuvent apparaître pour une même molécule selon le type de tissu cible utilisé, la période d'incubation ou la technique de mesure. En effet, certaines études classent les AINS en fonction de leur ratio  $COX\ 2/COX\ 1$  à partir de résultats obtenus sur des cellules de sang humain, alors que d'autres utilisent des cellules gastriques ou des cellules cos (cellules de singe). Des techniques différentes entraînent également des résultats différents de ratios. Par exemple, Patrignani et son équipe de chercheurs ne mettent pas les cellules en incubation alors que dans les études de Young et ses collaborateurs, il y a une incubation de quatre heures trente minutes. De plus, ces deux chercheurs utilisent deux techniques différentes pour mesurer la cyclooxygénase 2. Patrignani ajoute une substance, le lipopolysaccharide et mesure la prostaglandine E2 alors que Young s'intéresse au thromboxane. Ainsi, lorsque l'on compare les ratios  $COX\ 2/COX\ 1$  obtenus à partir de ces deux études, on observe des résultats très différents, pour une même molécule expérimentée.

D'autres facteurs peuvent également faire varier les résultats entre les études, notamment les facteurs pharmacocinétiques comme la clairance, la demi-vie, la liaison aux protéines, la liposolubilité ou le pKa.

*In vivo*, la mesure du taux de prostaglandine E2 dans la muqueuse gastrique est un indicateur de l'activité de la cyclooxygénase 1 et l'œdème à la carragénine est un témoin de l'activité de la cyclooxygénase 2.

*In vitro*, chez l'homme, on mesure l'activité de la cyclooxygénase 1 à partir de la synthèse de thromboxane A2 par les plaquettes ou l'excrétion urinaire de son principal métabolite. Pour

mesurer l'activité enzymatique de la cyclooxygénase 2, on utilise la synthèse de prostaglandine E2 par des macrophages en réponse au lipopolysaccharide.

### 3. Sélectivité des AINS [19]

Bien que les AINS classique inhibent les deux cyclooxygénases, certains semblent agir préférentiellement sur l'une ou l'autre des deux isoformes. L'étude suivante, utilisant 25 anti-inflammatoires et analgésiques, a pour but de comparer les effets sur la muqueuse gastro-intestinale humaine ; celle-ci étant capable de générer des prostaglandines rendant compte de l'activité cyclooxygénase totale (cyclooxygénase 1 et cyclooxygénase 2 ).

Tout d'abord, les méthodes détectant l'inhibition de la cyclooxygénase 1 et de la cyclooxygénase 2 ont mesuré l'effet des différentes molécules. Ensuite, les effets de celles-ci sur l'estomac ont été étudiés en mesurant les taux de production de prostaglandines in vitro, à partir des biopsies de muqueuses gastriques. Enfin, l'activité des anti-inflammatoires sur les cyclooxygénases et leur capacité à inhiber les prostaglandines gastriques ont été comparées.

#### 3.1. Méthodes utilisées

L'échantillon est composé de dix femmes et six hommes, âgés de 23 à 46 ans, non fumeurs, sans antécédents de problème gastrique, séronégatifs à l'infection par *Helicobacter pylori* et n'ayant pris aucun AINS dans les deux semaines précédentes. Aucune autre médication n'est autorisée durant les dix jours de l'étude.

La synthèse du thromboxane B2 par les plaquettes permet de mesurer l'activité de la cyclooxygénase 1. Le thromboxane B2 est utilisé comme marqueur du thromboxane A2 car c'est un métabolite de ce dernier stable et facilement mesurable. Pour mesurer l'activité de la cyclooxygénase 2, on s'intéresse à la production de prostaglandine E2 par les monocytes après stimulation par le lipopolysaccharide (LPS).

Une endoscopie gastrique est effectuée pour chaque volontaire afin de vérifier l'absence de lésions gastroduodénales préexistantes. Ensuite, 24 biopsies de la muqueuse sont réalisées et placées dans un milieu d'incubation. Ces 24 biopsies sont soumises à l'action de quatre molécules, à six concentrations différentes pour chaque molécule. La synthèse des prostaglandines est donc mesurée cinq fois pour chacune des six concentrations, avec à chaque série de cinq tests, une biopsie d'une personne différente. On établit ensuite pour chaque produit, une courbe dose-réponse en faisant correspondre chaque concentration de

produit avec la moyenne de pourcentage d'inhibition du thromboxane B2, des prostaglandines E2 induites par le LPS et des prostaglandines E2 gastriques, ceci pour chaque groupe de cinq sujets. Enfin, les  $CI_{50}$  sont calculées pour chaque produit étudié et pour chaque test.

### 3.2. Résultats (cf tableau 4)

Aux concentrations étudiées, toutes les molécules inhibent la cyclooxygénase 1, sauf l'acide salicylique et le salsalate. Le kétoprofène est la molécule la plus inhibitrice de la cyclooxygénase 1 puisqu'il a la  $CI_{50}$  la plus basse. On peut observer une variation d'un facteur 1000 entre tous les produits expérimentés.

En ce qui concerne la cyclooxygénase 2, le diclofénac est le plus inhibiteur. Lorsque l'on compare le paracétamol et l'aspirine, on remarque qu'ils ont le même potentiel d'inhibition de la cyclooxygénase 2 mais que l'aspirine inhibe 10 fois plus la cyclooxygénase 1. Entre les 25 molécules étudiées, il existe une variation d'environ 4000 pour l'inhibition de la cyclooxygénase 2.

Lorsqu'on effectue les ratios, on observe une variation d'un facteur 10 000 pour la sélectivité. Il y a peu d'AINS sélectifs ; les plus sélectifs étant le salicylate de valéryle et la dexaméthasone. L'étodolac, l'acide méfénamique et le diclofénac sont également des molécules sélectives de la cyclooxygénase 2. Au moment de l'étude, deux molécules expérimentales, le NS-398 et le nimésulide ont aussi montré une grande sélectivité.

Quand on compare les effets sur la muqueuse gastrique, on remarque une variation de 300 sur les 25 antiinflammatoires et analgésiques étudiés ; du fait que l'aspirine est la molécule la plus inhibitrice des cyclooxygénases gastriques et que les quatre salicylates, le paracétamol ainsi que la dexaméthasone ont peu d'effets mesurables sur les cyclooxygénases gastriques.

On peut enfin remarquer que la  $CI_{50}$  pour la muqueuse gastrique est corrélée significativement à la  $CI_{50}$  de la cyclooxygénase 1 sanguine et également au degré de sélectivité pour la cyclooxygénase 1 sanguine. Cependant, il n'y a pas de relations significative avec la  $CI_{50}$  de la cyclooxygénase 2.

Molécule	Cyclooxygénase 1 sanguine (rang)	Cyclooxygénase 2 sanguine (rang)	Muqueuse gastrique (rang)
Kétoprofène	0,11 (1)	0,88 (8)	0,08 (2)
Indométacine	0,21 (2)	0,37 (7)	0,85 (11)
Diclofénac	0,26 (3)	0,01 (1)	0,23 (4)
Kétorolac	0,27 (4)	0,18 (6)	0,33(6)
Flurbiprofène	0,41 (5)	4,23 (13)	0,23 (5)
Tolmétine	1,08 (6)	2,25 (11)	3,50 (16)
Acide méfénamique	1,94 (7)	0,16 (4)	0,70 (10)
Piroxicam	2,68 (8)	2,11 (10)	0,87 (12)
Fénoprofène	2,73 (9)	14,03 (17)	0,17 (3)
Aspirine	4,45 (10)	13,88 (16)	0,03 (1)
Ibuprofène	5,90 (11)	9,90 (14)	0,70 (9)
Nimésulide	10,48 (12)	0,18 (5)	1,49 (13)
Oxaprosine	14,58 (13)	36,67 (23)	2,62 (14)
Etodolac	19,58 (14)	2,47 (12)	3,20 (15)
NS-398	21,93 (15)	0,92 (9)	100,00 (18)
6-MNA	31,01 (16)	19,84 (19)	0,48 (7)
Naproxène	32,01 (17)	28,19 (22)	0,52 (8)
Salicylate de valéryle	32,64 (18)	0,04 (2)	>100,00 (21)
Nabumétone	33,57 (19)	20,83 (20)	20,09 (17)
Sulindac	41,26 (20)	24,94 (21)	>100,00 (19)
Paracétamol	42,23 (21)	10,69 (15)	>100,00 (23)
Dexaméthasone	59,95 (22)	0,13 (3)	>100,00 (25)
Subsalicylate de bismuth	75,24 (23)	37,50 (24)	>100,00 (22)
Acide salicylique	>100,00 (24)	14,08 (18)	>100,00 (20)
Salsalate	>100,00 (25)	39,90 (25)	>100,00 (24)

6-MNA=acide 6-méthoxynaphtaleneacétique (métabolite actif de la namubétone)

Tableau 4 a) : Concentrations en médicament ( $CI_{50}$ ) inhibant 50% de l'activité de la Cox dans le sang et dans la muqueuse gastrique (en  $\mu\text{M}$ ) [19]

Rang	Molécule	Ratio
1	Flurbiprofène	10,27
2	Kétoprofène	8,16
3	Fénoprofène	5,14
4	Aspirine	3,12
5	Oxaprosine	2,52
6	Tolmétine	2,09
7	Indométacine	1,78
8	Ibuprofène	1,69
9	Naproxène	0,88
10	Piroxicam	0,79
11	Kétorolac	0,68
12	6-MNA	0,64
13	Nabumétone	0,62
14	Sulindac	0,61
15	Subsalicylate de bismuth	0,50
16	Salsalate	0,29
17	Paracétamol	0,25
18	Acide salicylique	0,13
19	Etodolac	0,12
20	Acide méfénamique	0,08
21	Diclofénac	0,05
22	NS-398	0,042
23	Nimésulide	0,017
24	Dexaméthasone	0,002
25	Salicylate de valéryle	0,001

Remarque : pour l'acide salicylique et le salsalate, leurs  $CI_{50}$  COX-1 étant supérieurs à  $100\mu\text{M}$ , une valeur de  $100\mu\text{M}$  fut utilisée pour calculer leurs ratios. Ainsi, ces ratios représentent les maxima possibles.

Tableau 4 b) : Ratios  $CI_{50}$  Cox 2 /  $CI_{50}$  Cox 1 dans le sang [19]

#### 4. Classification des AINS [4, 8]

Un nouveau classement des AINS a été établi en fonction de leur capacité à inhiber plus ou moins la cyclooxygénase 2. Certains AINS, connus avant la découverte de la cyclooxygénase 2, ont ainsi montré une inhibition préférentielle de la cyclooxygénase 2 dans certains modèles in vitro. C'est le cas du nimésulide (Nexen\*) et du meloxicam (Mobic\*). En effet, des études ont montré pour ce dernier une faible ulcérogénicité endoscopique chez l'animal, une diminution de l'activité anti-agrégante chez l'homme et pour une faible posologie, (7.5 mg/24h), une meilleure tolérance digestive. Cependant, la différence de concentration d'inhibition entre la cyclooxygénase 1 et la cyclooxygénase 2 étant faible, la sélectivité de la cyclooxygénase 2 peut ne plus exister à des doses plus importantes.

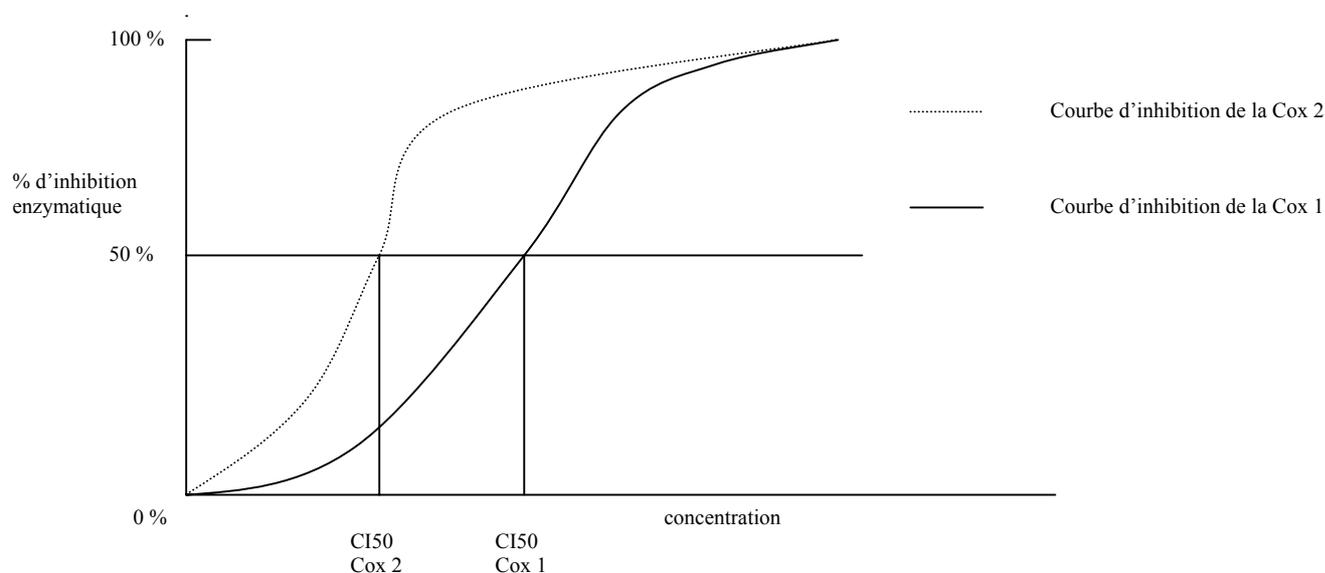


Figure 13 : Exemple théorique d'un inhibiteur préférentiel de la cox 2 sur un test in vitro sans inhibition préférentielle in vivo [4]

Cette figure (cf figure 13) est un exemple théorique d'un inhibiteur préférentiel de la cyclooxygénase 2 sur un test in vitro sans inhibition préférentielle in vivo. Le schéma représente les courbes d'inhibition de la cyclooxygénase 2 et de la cyclooxygénase 1 pour un médicament X réalisés sur un test in vitro. L'inhibition est préférentielle envers la

cyclooxygénase 2. Les études cliniques par la suite vont définir la concentration plasmatique nécessaire pour avoir une efficacité anti-inflammatoire. Cette figure montre donc que cette concentration peut correspondre à une valeur qui inhibe à la fois la cyclooxygénase 2 et la cyclooxygénase 1.

Après la découverte de la cyclooxygénase 2, des inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2 ont été produits, sachant que cette sélectivité s'observe même à de faibles concentrations.

On a ainsi classé en quatre groupes les AINS, selon leur activité vis à vis de la cyclooxygénase 1 et de la cyclooxygénase 2, en se basant sur des critères enzymatiques, pharmacologiques et cliniques :

- les inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 1

ils sont utilisés pour inhiber l'agrégation plaquettaire.

Exemple : l'aspirine à faible dose

- les inhibiteurs non sélectifs des cyclooxygénases

ce groupe correspond à la majorité des AINS classiques.

Ces AINS donnés en continu chez des patients souffrant de polyarthrite rhumatoïde par exemple, provoquent dans près de 20% des cas un ulcère et entraînent un saignement digestif dans 1 à 4% des cas par an.

- les inhibiteurs préférentiels de la cyclooxygénase 2

exemple : le méloxicam, le nimésulide

la tolérance digestive est améliorée par rapport aux AINS classiques. Cependant, le risque d'effet indésirable digestif grave comme par exemple l'ulcère perforant, existe, en particulier à forte dose.

- les inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2

il s'agit du célécoxib (Célébrex\*) et du rofécoxib (Vioxx\*).

**2<sup>ème</sup> partie :**

**LES COXIBS**

Les différences de régulation de la cyclooxygénase 1 et de la cyclooxygénase 2 ont abouti à l'hypothèse selon laquelle les effets anti-inflammatoires et analgésiques des AINS sont en rapport avec l'inhibition de la cyclooxygénase 2 alors que les effets indésirables, notamment gastriques, sont en rapport avec la cyclooxygénase 1.

Un inhibiteur spécifique de la cyclooxygénase 2 devrait donc permettre d'avoir la même efficacité que les AINS sans en avoir les inconvénients .

C'est pourquoi, très vite après la découverte de la cyclooxygénase 2 , des inhibiteurs sélectifs (ou spécifiques) de la cyclooxygénase 2 ont été produits. Il s'agit notamment du Célécoxib et du Rofécoxib (cf figure 14).

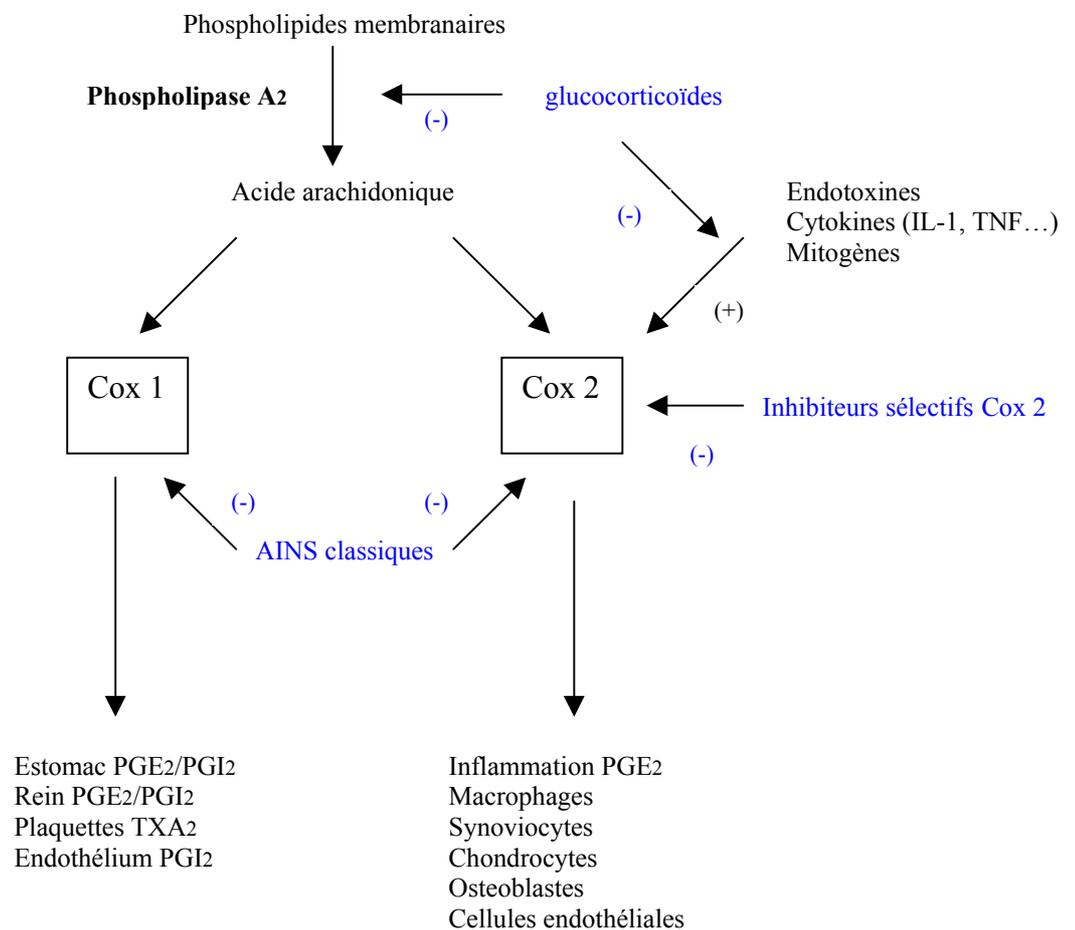


Figure 14 : Hypothèse à l'origine des inhibiteurs spécifiques de la cyclooxygénase 2 [4]

## A - Molécules sur le marché

### I. Le Célécoxib

#### 1. Propriétés physico-chimiques et pharmacologiques

##### 1.1. Description de la molécule [36, 82]

➤ nom chimique :

4-(5-(4-méthylphényl)-3-(trifluorométhyl)-1h-pyrazol-1-yl)benzènesulfonamide

➤ dénomination commune internationale :

célécoxib

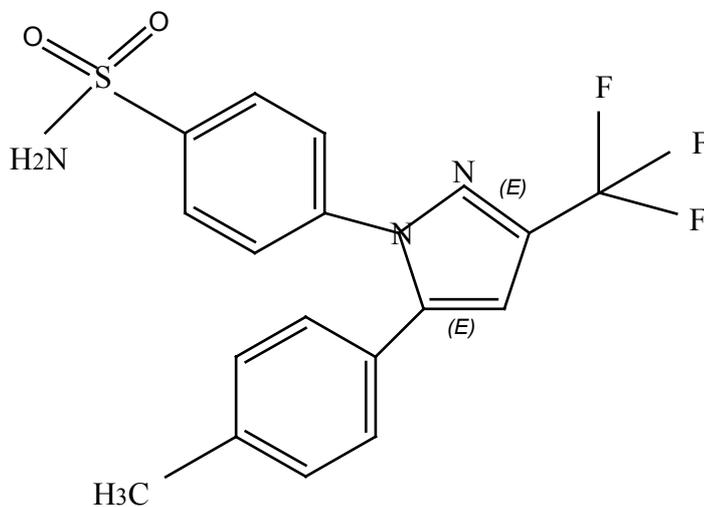
➤ noms commerciaux :

Célébrex\* , Célébra\* ( laboratoires Searl , Pfizer , Yamanouchi )

➤ formule brute :

$C_{17}H_{14}F_3N_3O_2S$

➤ formule semi-développée :



➤ masse moléculaire :

381,37 g/mol

➤ caractéristiques chimiques :

solide de couleur jaune pâle

## 1.2. Synthèse [36]

Le célécoxib est synthétisé à partir d'une phénone (cf Annexes 1).

## 1.3. Propriétés pharmacocinétiques [12 , 17 , 89]

### a. Absorption

Le célécoxib est bien absorbé par la muqueuse digestive et atteint des concentrations plasmatiques maximales après deux à trois heures. En effet, l'administration d'une dose unique de 200mg chez des volontaires sains permet d'obtenir une concentration plasmatique maximale de 705µg/l (Cmax) au bout de 2,8 heures (tmax).

L'état d'équilibre est atteint en moins de cinq jours de traitement.

La prise du célécoxib avec de la nourriture ne modifie pas de façon significative les propriétés pharmacocinétiques.

### b. Distribution

Aux concentrations plasmatiques thérapeutiques, la liaison du célécoxib aux protéines plasmatiques est d'environ 97%.

Le volume de distribution apparent est d'environ 400 litres à l'état stable ; ce qui suggère une distribution tissulaire importante.

### c. Métabolisme

Le célécoxib est métabolisé dans le foie par hydroxylation, oxydation et partiellement glucuronidation. La métabolisation de phase 1 se fait essentiellement par le cytochrome P450 2C9.

Trois métabolites, inactifs sur la cyclooxygénase 2, ont été identifiés dans le plasma humain.

### d. Elimination

Après l'administration orale d'une dose unique de célécoxib de 300mg chez des volontaires, 27,1% de la dose administrée est retrouvée dans les urines et 57,6% dans les fèces. Une petite quantité de célécoxib sous forme inchangée (2,6%) est présente dans les fèces.

La demi-vie d'élimination est d'environ 11 heures et la clairance plasmatique est estimée à 27,7 l/h .

### e. Populations spécifiques

#### ➤ enfant

La pharmacocinétique du célécoxib n'a pas été étudiée chez les enfants.

#### ➤ sexe et âge

La concentration plasmatique du célécoxib est augmentée d'environ 100% chez les femmes âgées de plus de 65 ans. Il est donc prudent de réduire la dose de moitié dans ce sous-groupe.

#### ➤ population noire

Des études ont montré que la concentration plasmatique de célécoxib est significativement augmentée dans les populations noires par rapport aux caucasiens. De plus, cette différence d'exposition entre groupes ethniques peut être plus marquée chez les sujets âgés.

➤ métaboliseurs lents

La métabolisation du célécoxib se fait essentiellement par le cytochrome CYP450 2C9. Or il existe un polymorphisme génétique de cette enzyme. Dans la population générale, moins de 1% des sujets sont des métaboliseurs lents et possèdent une enzyme dont l'activité est diminuée. Les concentrations plasmatiques du célécoxib sont donc probablement fortement augmentées chez ces patients.

➤ insuffisance hépatique

Comparés aux sujets avec une fonction hépatique normale, les patients avec une insuffisance hépatique légère, présentent une augmentation moyenne de 53% pour la Cmax et de 26% de l'ASC (aire sous la courbe) pour le célécoxib. Chez les sujets avec une insuffisance hépatique modérée, les augmentations correspondantes sont respectivement de 41 et 146%. La dose de célécoxib doit donc être réduite de moitié chez les patients avec une insuffisance légère à modérée et le médicament est contre-indiqué chez les sujets avec une insuffisance hépatique sévère.

➤ insuffisance rénale

Il y a peu de données précises sur l'utilisation du célécoxib dans l'insuffisance rénale. Même si la pharmacocinétique du célécoxib ne devrait pas être modifiée de façon notable en cas d'insuffisance rénale, la prudence est recommandée. L'insuffisance rénale sévère constitue donc une contre-indication.

#### 1.4. Propriétés pharmacologiques [12, 17, 36]

Dans des études in vitro sur des enzymes humaines recombinantes, le célécoxib a montré une sélectivité 375 fois plus importante pour la cyclooxygénase 2 que pour la cyclooxygénase 1. En effet, les concentrations nécessaires pour inhiber 50 % de l'activité enzymatique (CI50) étaient respectivement de 15 $\mu$ mol/l et 0,04 $\mu$ mol/l pour la cyclooxygénase 1 et la cyclooxygénase 2 [17].

Sa sélectivité a également été démontré dans le modèle sur sang humain total. Ex vivo, les activités de la cyclooxygénase 1 et de la cyclooxygénase 2 sont déterminées par les valeurs de thromboxane B2, TxB2, et de prostaglandine PGE2 stimulée par le lipopolysaccharide (LPS).

Dans une étude randomisée en double aveugle, 37 volontaires ont reçu une unique prise orale de célécoxib à 100, 400 ou 800mg, ou 800mg d'ibuprofène ou un placebo [17]. Chez les sujets ayant reçu les 800mg d'ibuprofène ou le célécoxib à tous les dosages, on observe une inhibition significative de la PGE<sub>2</sub>. Le célécoxib inhibe peu le TxB<sub>2</sub> par rapport au placebo sauf à la dose suprathérapeutique de 800mg. A l'inverse, l'ibuprofène inhibe à plus de 95% le TxB<sub>2</sub> (cf figure 15).

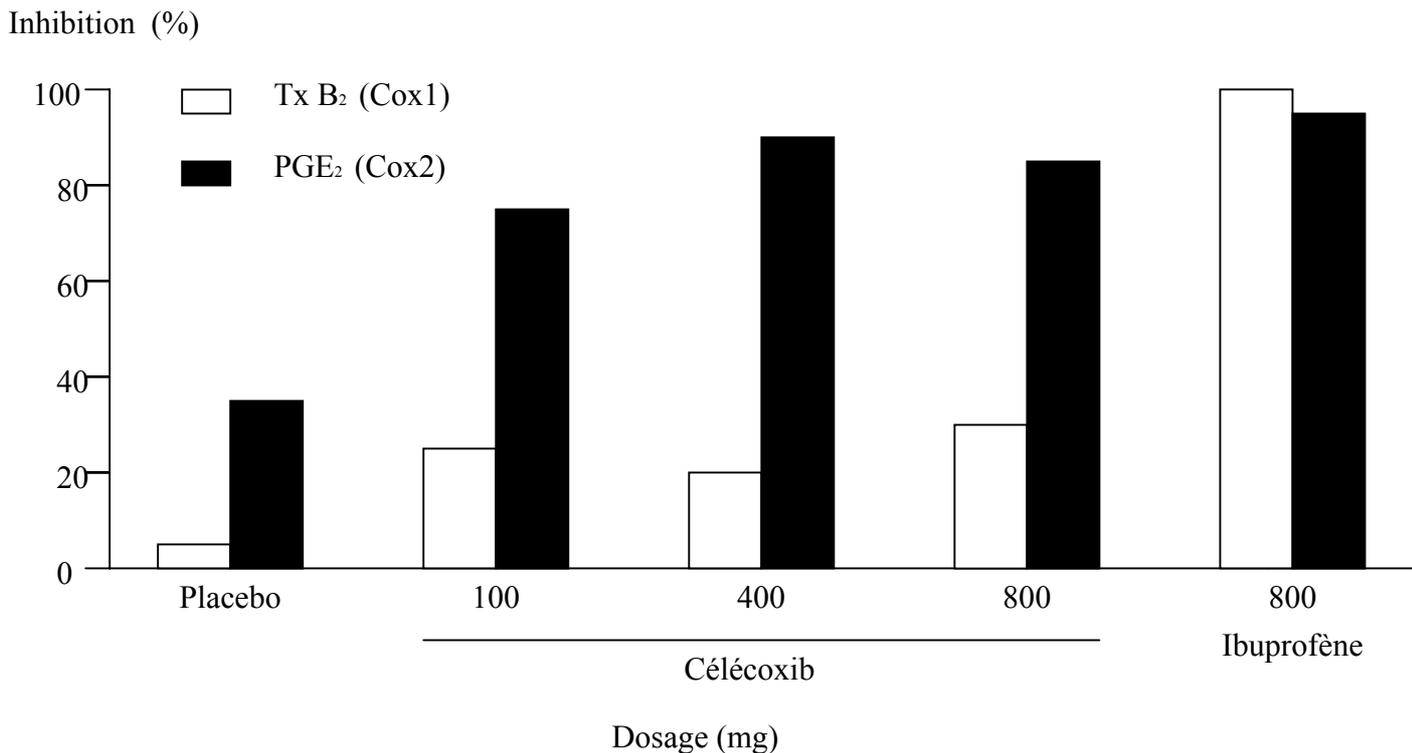


Figure 15 : Effets du célécoxib et de l'ibuprofène sur l'activité de la Cox 1 et de la Cox 2 sur un modèle de sang humain [17]

Dans un certain nombre de modèles in vivo, le célécoxib a démontré une activité anti-inflammatoire intéressante après administration orale. Dans l'œdème de la patte du rat à la carragénine, il diminue l'inflammation aiguë avec une DE50 de 7,1mg/kg et il réduit l'inflammation chronique dans le modèle de l'arthrite à adjuvant avec une DE50 de 0,37mg/kg/jour [36].

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus avec les AINS classiques. Cependant, contrairement à ces derniers, le célécoxib n'a pas engendré une toxicité gastro-intestinale

aigue chez le rat pour des doses allant jusqu' à 200mg/kg, ni de toxicité chronique lors de l'administration de 600mg/kg/jour pendant dix jours.

Dans une étude chez des sujets sains recevant 600mg 2 fois par jour (soit 3 fois la plus forte dose recommandée), le célécoxib n'a eu aucun effet sur l'agrégation plaquettaire et le temps de saignement comparativement au placebo. A l'inverse, l'ibuprofène à la dose de 800mg, l'aspirine 650mg (administrée 2 fois par jour pendant 5 jours) et le naproxène 500mg (administré 2 fois par jour pendant 7 jours) ont inhibé de façon significative l'agrégation plaquettaire. De plus, le naproxène a fortement augmenté le temps de saignement [17].

## 2. Etudes cliniques

### 2.1. Etude CLASS [6, 13, 68, 96]

L'étude CLASS (Célécoxib Longterm Arthritis Safety Study) a été menée de septembre 1998 à mars 2000 aux USA et au Canada, à la demande de la FDA.

C'est une étude prospective randomisée en double aveugle, dont l'objectif est d'évaluer l'incidence des événements gastro-intestinaux cliniquement significatifs chez plus de 8000 patients atteints de polyarthrite rhumatoïde et d'arthrose. Les sujets sont traités soit par du célécoxib 400mg 2 fois par jour (soit le double de la posologie maximum recommandée par l'AMM et quatre fois la dose usuelle), soit par l'ibuprofène 800mg 3 fois par jour ou le diclofénac 75mg 2 fois par jour.

#### a. Protocole

Sur les 8059 sujets randomisés, 91 reçoivent un placebo. Sur les 7968 patients recevant une molécule étudiée, 3987 sont traités par le célécoxib et 3981 par les AINS (ibuprofène ou diclofénac) .

Dans cette étude, le maintien d'une dose d'aspirine efficace contre l'agrégation plaquettaire est autorisée. Dans chacun des sous-groupes, environ 20% des patients reçoivent donc de l'aspirine à la posologie de 325mg.

Un total de 4573 patients, soit environ 57%, sont traités pendant plus de 6 mois.

Les principaux critères de jugement sont l'existence d'un ulcère symptomatique et la survenue de complications de l'ulcère (saignement, perforation et obstruction) sur une période

de 6 mois de traitement puis au bout des treize mois de l'étude. D'autres effets indésirables survenant pendant l'étude sont également pris en compte.

## b. Résultats

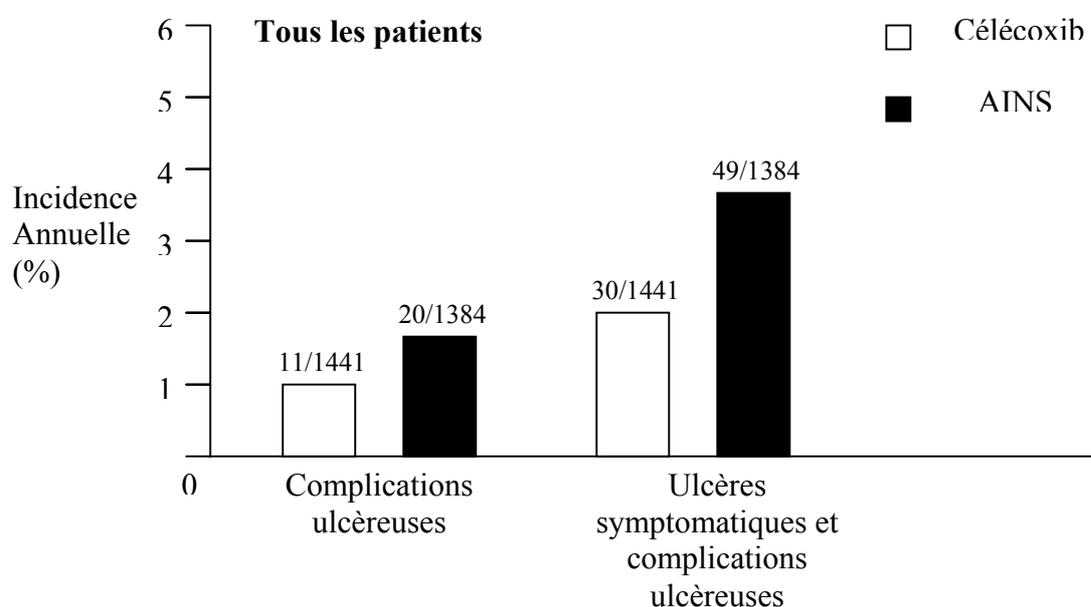
### ➤ toxicité gastro-intestinale

Au bout de six mois d'étude, l'incidence de complications gastro-intestinales et d'ulcères symptomatiques observés avec le célécoxib et avec les autres AINS sont respectivement de 0,76 vs 1,45% ( $p=0,09$ ) et de 2,08% vs 3,54% ( $p=0,02$ ).

Si l'on isole le sous-groupe ne prenant pas d'aspirine, les résultats sont modifiés. Les incidences passent alors, avec le célécoxib, à 0,44% pour les complications gastro-intestinales et 1,4% pour les ulcères symptomatiques. En ce qui concerne les autres AINS, pour ce même sous-groupe, l'incidence de complications gastro-intestinales est de 1,27% et celle d'ulcères symptomatiques de 2,91%. On peut remarquer que le taux des complications liées aux ulcères pour le célécoxib (0,44%) se rapproche, dans ces conditions, du bruit de fond de la population non soumise à ces médicaments.

A propos du sous-groupe prenant de l'aspirine, on observe dans tous les cas une augmentation de l'incidence des complications gastro-intestinales et des ulcères symptomatiques et il n'existe pas de différence statistique significative entre le célécoxib et les autres AINS.

A la fin des treize mois d'étude, sur l'ensemble des sujets, on observe une réelle diminution des ulcères symptomatiques avec le célécoxib en comparant avec les autres AINS. Par contre, la réduction des complications gastro-intestinales est moins significative. Ceci peut être dû à la prise concomitante d'aspirine (cf figure 16).



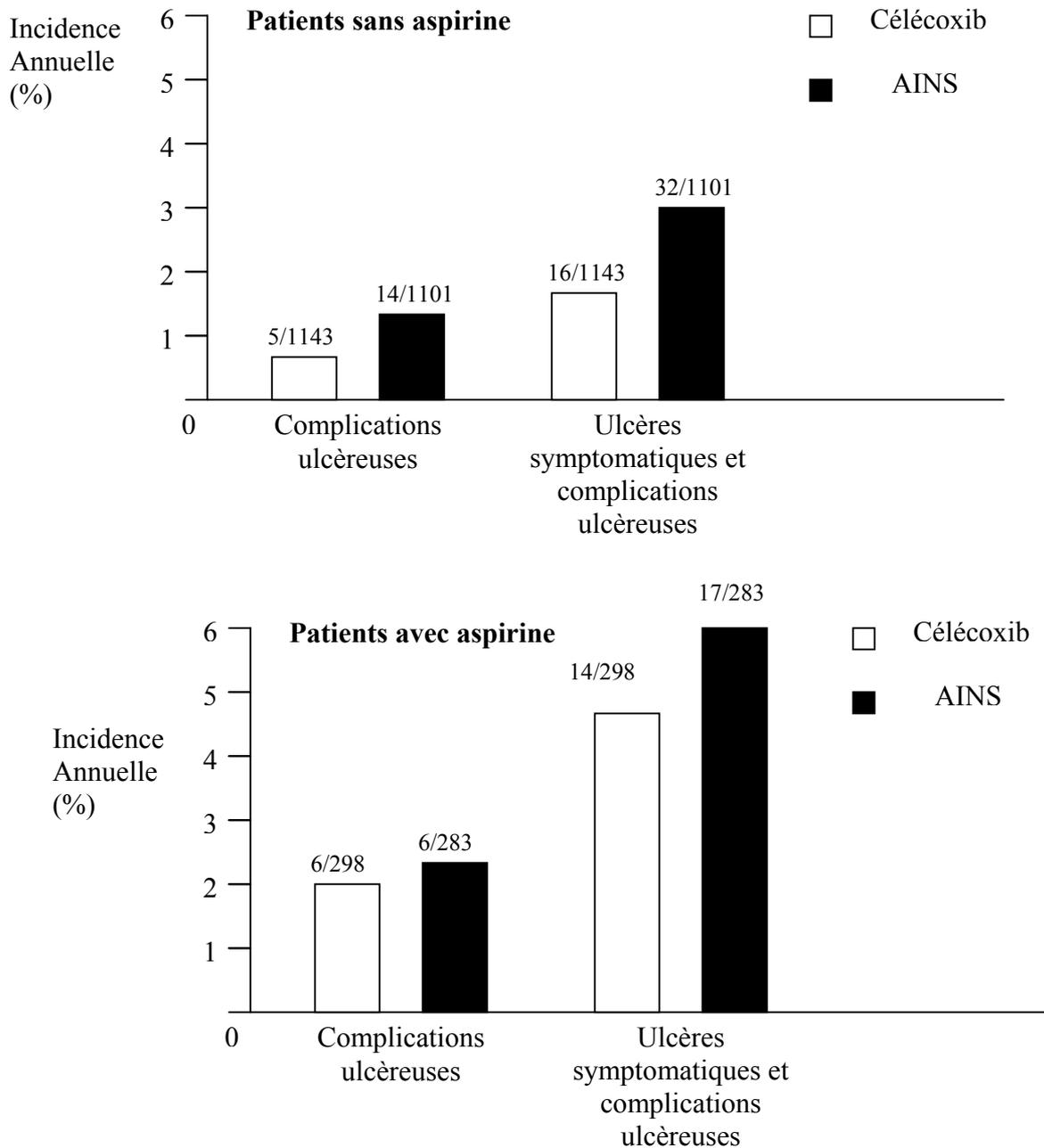


Figure 16 : Incidence annuelle des complications d'ulcère et des ulcères symptomatiques sous célécoxib et sous AINS classiques[96]

➤ autres effets indésirables

En ce qui concerne les autres effets indésirables de l'étude, il ressort essentiellement une incidence significativement moindre de la cytolyse hépatique ( $p < 0,01$ ), une diminution de

la toxicité rénale ( $p=0,03$ ) et une réduction de l'effet sur la pression artérielle avec le célécoxib. Par contre, l'hypothèse que les anti-cox 2 pourraient augmenter les accidents thrombo-emboliques, fondée sur une inhibition de la prostacycline vasculaire sans inhibition concomitante de la thromboxane plaquettaire, n'a pas été confirmée par cette étude.

### c. Conclusion

Cette étude suggère donc que le célécoxib à des doses deux fois supérieures à celles recommandées, est associé à une incidence plus faible d'ulcères symptomatiques et de complications gastro-intestinales par rapport aux autres AINS. Par contre, ce bénéfice obtenu avec le célécoxib ne semble pas persister quand le médicament est associé à de l'aspirine, à faible dose et à visée anti-agrégant plaquettaire.

## 2.2. Autres études

### a. Douleur dentaire [35]

Une étude de phase II a évalué l'efficacité du célécoxib dans le traitement de la douleur modérée à sévère suivant l'extraction d'une ou plusieurs molaires. Deux cents patients ont été randomisés (cinquante par groupe) pour recevoir soit une dose de 100mg de célécoxib (dose présumée efficace selon le modèle à l'adjuvant), soit 400mg de célécoxib (quatre fois la dose thérapeutique attendue), soit 650mg d'aspirine ou un placebo.

Après l'administration de ces médicaments dans les six heures suivant l'intervention, les sujets ont été suivis durant huit heures et différentes mesures d'analgésie ont été analysées.

Une des principales mesures a été la demande d'une médication analgésique supplémentaire. Dans le protocole de l'étude, les sujets ne devaient pas demander d'analgésique supplémentaire avant une heure. Passé ce délai, la plupart des patients ayant reçu le placebo l'ont demandé. Pour le groupe sous aspirine, la demande a été formulée trois heures après, quatre heures après pour ceux sous célécoxib 100mg et cinq heures après pour les sujets ayant reçus 400mg.

On observe donc que le célécoxib, à la dose de 100 ou 400mg, a une efficacité analgésique supérieure à celles du placebo ou de l'aspirine. De plus, les 100mg de célécoxib sont aussi efficaces que la dose de 400mg. Au bout de huit heures, plus de 40% des sujets ayant reçu le

célécoxib avaient obtenu un soulagement suffisant pour ne pas avoir besoin d'analgésique supplémentaire.

#### b. Efficacité dans l'arthrose [54, 82]

➤ Dans cette étude de phase II randomisée en double aveugle, 293 patients avec une arthrose du genou ont été suivis pendant deux semaines [54]. Les sujets ont reçu soit un placebo, soit le célécoxib à différents dosages : 40mg, 100mg, ou 200mg ; chacune des doses étant administrées deux fois par jour.

Pour analyser l'efficacité du célécoxib, divers critères ont été retenus : l'évaluation globale du médecin et du patient, l'index de sévérité arthrosique, l'évaluation de la douleur par le patient sur une échelle visuelle et la classification de la capacité fonctionnelle.

Les résultats de l'échelle analogue visuelle montre une diminution significative de la douleur arthrosique sous célécoxib par rapport au placebo ( $p \leq 0,048$ ). Dans l'évaluation globale de l'arthrose par le patient, l'amélioration sous célécoxib est significative statistiquement ( $p \leq 0,011$ ) (cf figure 17).

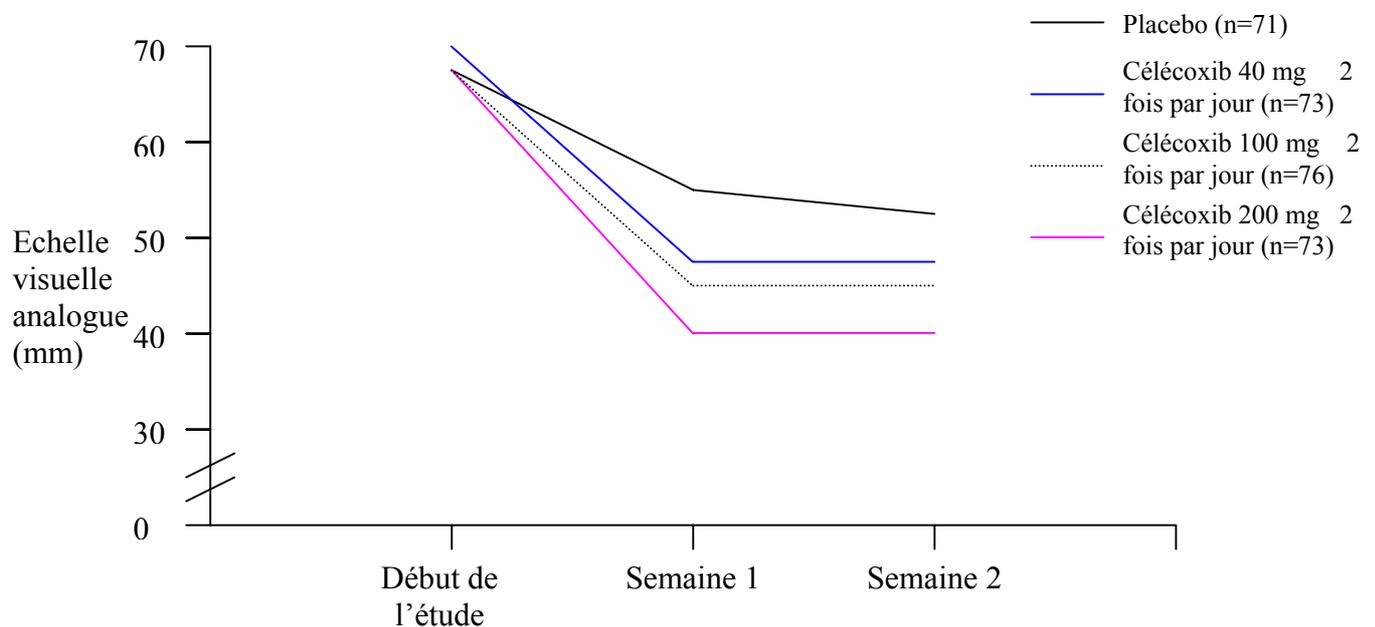


Figure 17 a): valeurs moyennes de l'évaluation de la douleur arthrosique par le patient sur l'échelle analogue visuelle. [54]

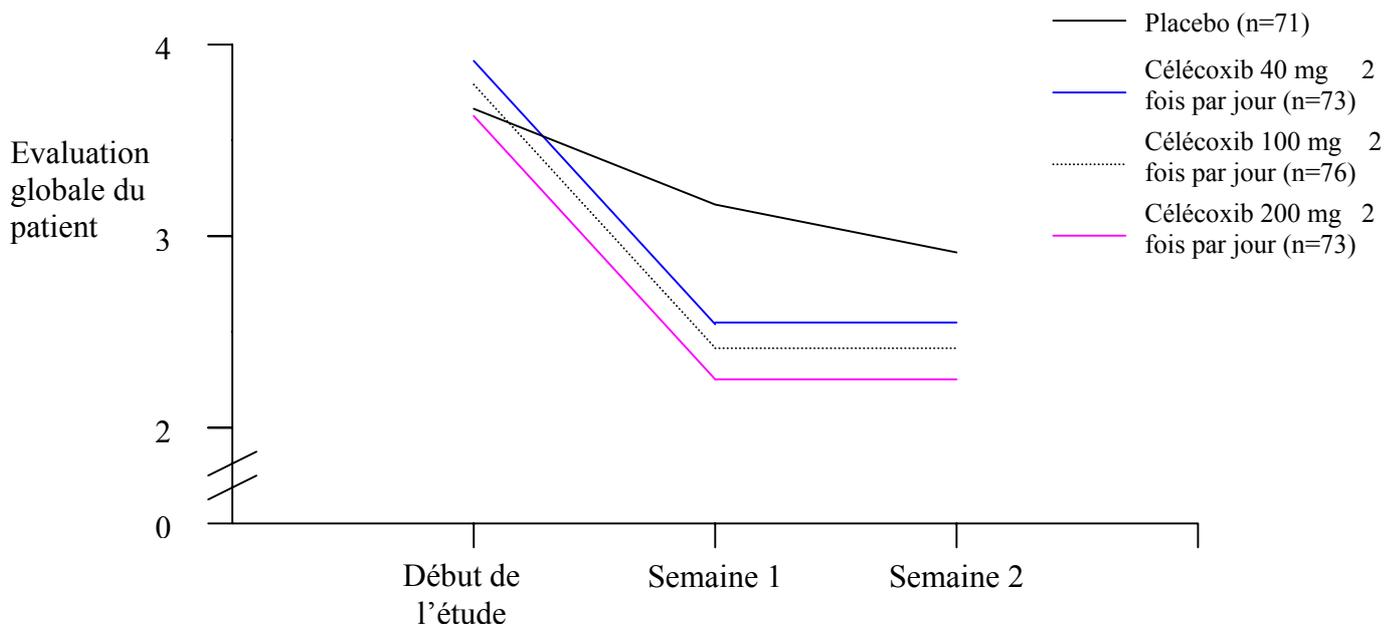


Figure 17 b) : valeurs moyennes de l'évaluation globale du patient dans l'étude sur l'arthrose. [54]

➤ Une étude randomisée, en double aveugle, a été menée pendant douze semaines sur 1003 patients souffrant d'arthrose du genou [82]. Les sujets ont reçu soit le célécoxib aux dosages de 100mg ou 200mg, soit le naproxène à 500mg ou un placebo. Dans cette étude, l'évaluation se fait selon l'indice WOMAC. Les résultats révèlent une diminution de la douleur arthrosique et une amélioration fonctionnelle plus importantes pour les patients sous célécoxib et naproxène que pour ceux ayant reçu le placebo.

➤ Une autre étude, randomisée et en double aveugle, a démontré l'efficacité du célécoxib sur 1061 sujets avec une arthrose symptomatique de la hanche [82]. Cette étude a duré douze semaines et les patients ont reçu soit du célécoxib à la dose de 50, 100 ou 200mg, soit 500mg de naproxène ou un placebo. On a ainsi observé que le célécoxib à la dose de 100 ou 200mg est aussi efficace que le naproxène et plus que le placebo à la 2<sup>ème</sup>, 6<sup>ème</sup> et 12<sup>ème</sup> semaine. Par contre, la dose de 50mg de célécoxib donne de meilleurs résultats que le placebo mais moins que les autres dosages.

### c. Efficacité dans la polyarthrite rhumatoïde [27, 97]

➤ Une étude randomisée, en double aveugle, a analysé l'efficacité du célécoxib comparativement à un placebo et au naproxène dans la polyarthrite rhumatoïde en poussée [97]. Cette étude, menée sur douze semaines, a réuni 1149 sujets. Les patients ont reçu soit du célécoxib 100mg deux fois par jour ou 200mg deux fois par jour ou 400mg deux fois par jour, soit du naproxène 500mg deux fois par jour, soit un placebo. Les résultats montrent que le célécoxib et le naproxène sont plus efficaces que le placebo en ce qui concerne la réduction du nombre d'articulations douloureuses et la réduction du nombre d'articulations tuméfiées. De plus, l'efficacité est significative dès la 2<sup>ème</sup> semaine de traitement pour les groupes traités par le célécoxib 200 et 400mg deux fois par jour et par le naproxène. On n'observe pas de différence significative entre les groupes ayant reçu le célécoxib et celui ayant reçu le naproxène (cf figure 18).

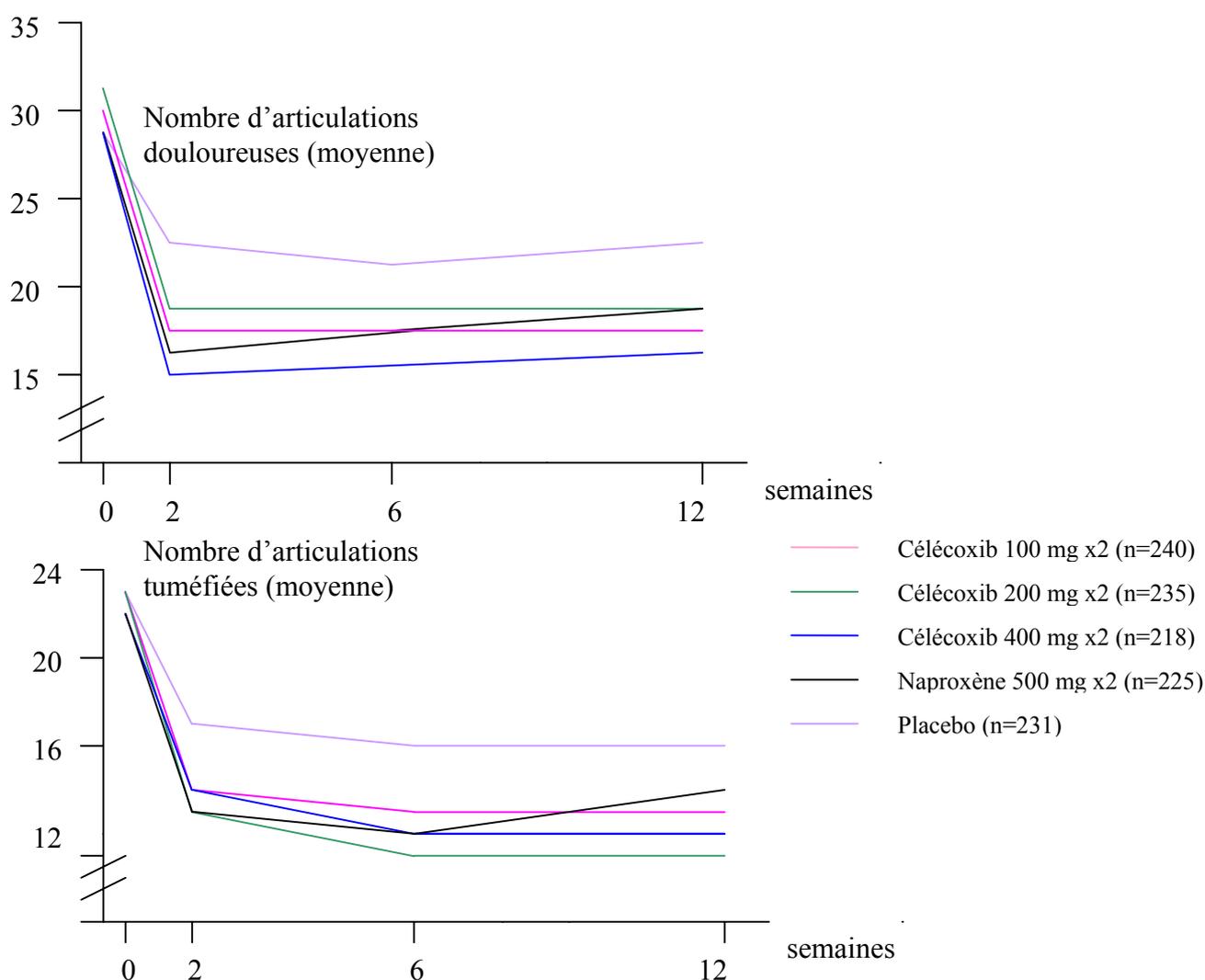


Figure 18 : Célécoxib versus naproxène et placebo dans la polyarthrite rhumatoïde [97]

➤ Dans une étude randomisée en double aveugle, l'efficacité du célécoxib à la dose de 200mg deux fois par jour a été comparée à celle du diclofénac (75mg deux fois par jour) dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde au long cours, ici 24 semaines [27]. 655 malades ont été inclus dans cette étude et l'efficacité a été jugée selon l'opinion globale du malade et du médecin, le nombre d'articulations gonflées et douloureuses.

Au bout des 24 semaines, on observe une réduction similaire pour les deux molécules en ce qui concerne le nombre d'articulations douloureuses et tuméfiées. De plus, l'opinion globale des sujets et des médecins sur les deux traitements est identique (cf figure 19).

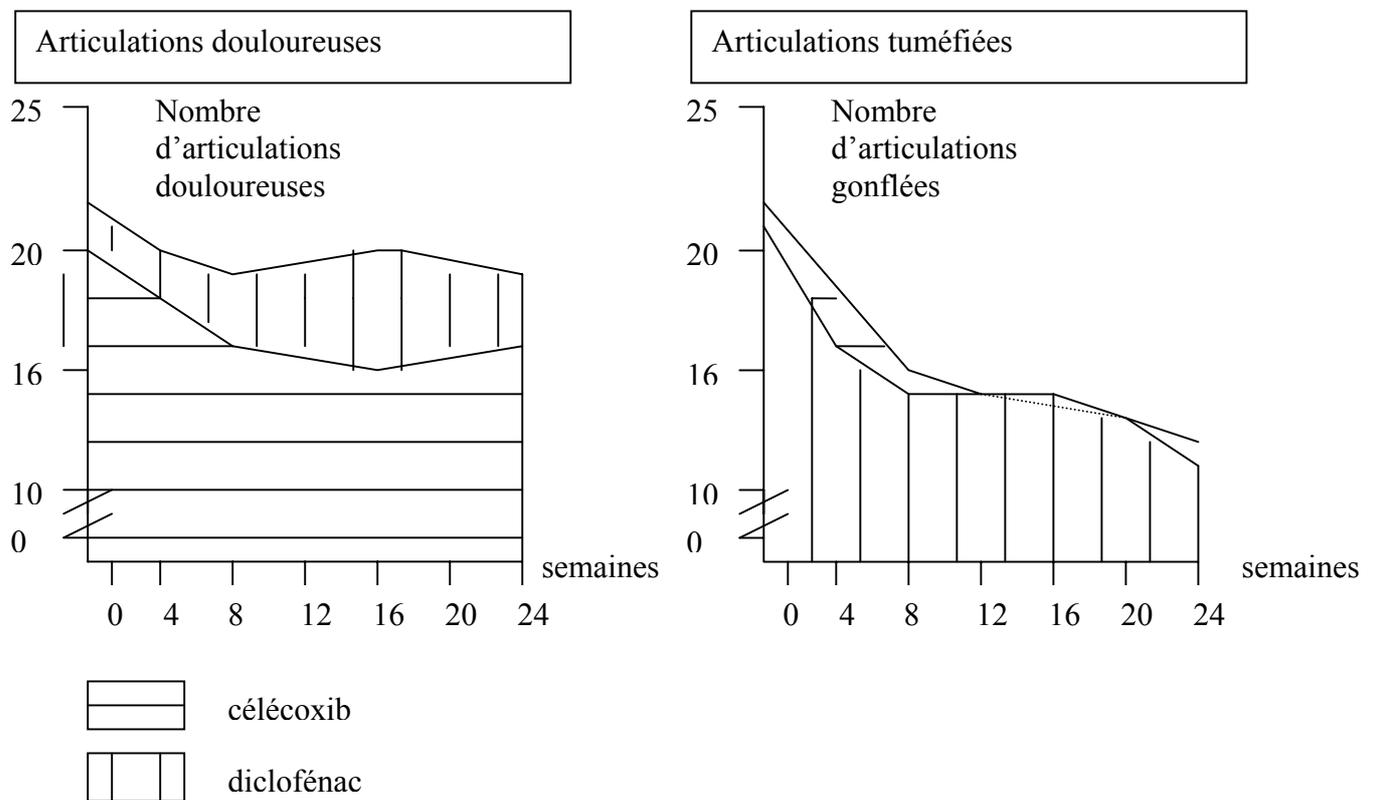


Figure 19 : Célécoxib versus diclofénac dans la polyarthrite rhumatoïde [27]

#### d. Plaquettes [35 , 82]

➤ Dans les plaquettes, les cyclooxygénases interviennent dans la formation du thromboxane A2 qui est responsable de l'agrégation plaquettaire. La seule isoforme présente dans les plaquettes est la cyclooxygénase 1. Comme le célécoxib est un inhibiteur spécifique de la cyclooxygénase 2 in vitro, on a supposé qu'il n'interagit pas avec la fonction plaquettaire. Une étude pour comparer les effets du célécoxib, du naproxène et d'un placebo sur l'agrégation plaquettaire et le temps de saignement a été menée sur 24 volontaires sains (femmes et hommes) pendant 10 jours [35]. Dans cette étude randomisée en double aveugle, les sujets ont reçu soit du célécoxib à la dose de 600mg, soit 500mg de naproxène ou un placebo.

Les résultats de cette étude montrent que le naproxène réduit significativement l'agrégation plaquettaire ( $p \leq 0,001$ ) et que cet effet est présent durant toute l'étude. A l'inverse, le placebo et le célécoxib n'agissent pas du tout sur l'agrégation plaquettaire.

Au bout de 10 jours d'étude, le temps de saignement n'a pas été modifié chez les sujets ayant reçu le célécoxib. Par contre, le naproxène a provoqué une importante augmentation du temps de saignement (cf figure 20).

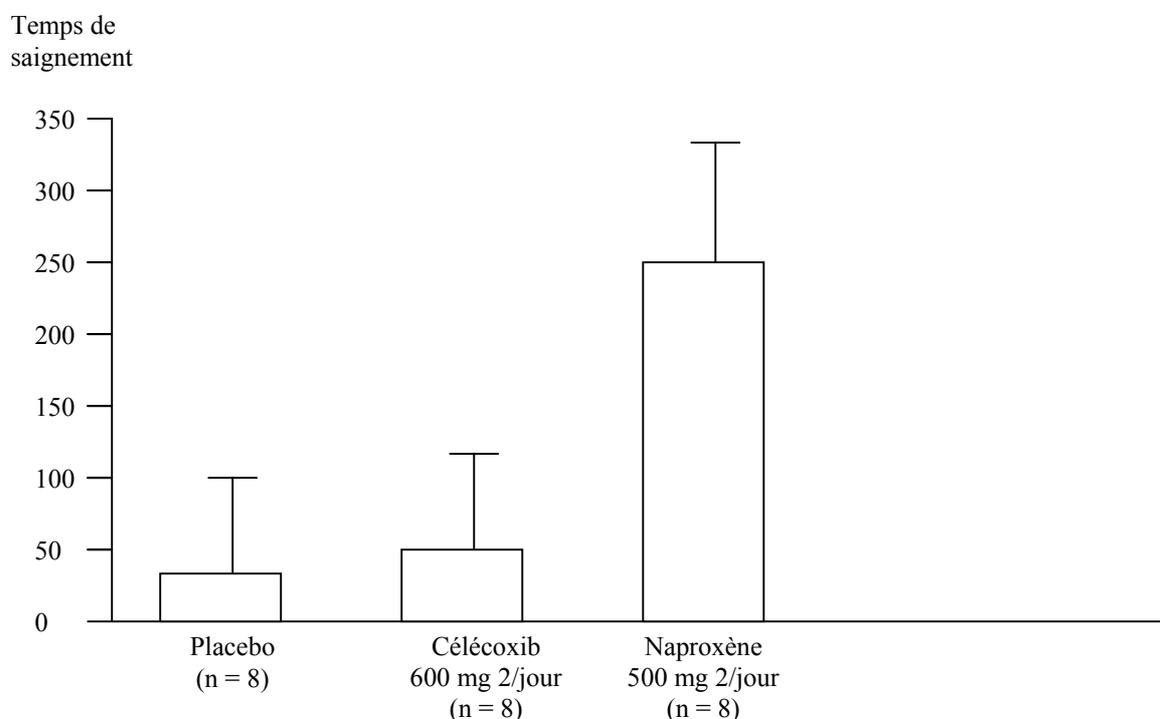


Figure 20 : Temps de saignement observé après l'administration de 600mg de célécoxib, 500mg de naproxène ou un placebo [35]

#### e. Douleur et qualité de vie [82]

➤ Une étude internationale menée pendant 24 semaines dans 21 pays et portant sur 655 patients a montré que le célécoxib (200mg) est aussi efficace que le diclofénac (75mg) pour traiter les douleurs et les symptômes liés à la polyarthrite rhumatoïde. De plus, le célécoxib a engendré moins de douleurs gastro-intestinales (36% versus 48%) et quatre fois moins d'ulcères que le diclofénac.

➤ Dans un étude de phase III sur douze semaines comparant le célécoxib au naproxène chez des sujets atteints de polyarthrite rhumatoïde ou d'arthrose, le célécoxib a démontré une efficacité comparable à celle du naproxène mais une meilleure tolérance gastro-intestinale.

En effet, sur les 1149 patients souffrant de polyarthrite rhumatoïde active, le célécoxib à la dose de 100, 200 ou 400mg a diminué de la même façon que le naproxène les douleurs articulaires. De plus, la tolérance gastro-intestinale du célécoxib est nettement supérieure à celle du naproxène et statistiquement équivalente à celle du placebo.

➤ Une étude multicentrique, en double aveugle a été effectuée pendant douze semaines sur 1148 patients souffrant d'une polyarthrite rhumatoïde symptomatique. Les patients ont reçu soit du célécoxib (100,200 ou 400mg), du naproxène (500mg) ou un placebo. Une réelle amélioration dans les activités de la vie quotidienne a été observée dans le groupe ayant reçu 200 ou 400mg de célécoxib, comparé au placebo, à la 2<sup>ème</sup>, 6<sup>ème</sup> et 12<sup>ème</sup> semaine d'étude. Une meilleure qualité de vie a également été montrée pour les sujets sous célécoxib 200mg par rapport à ceux sous naproxène ou placebo.

#### f. Rein [89]

Une analyse de 50 études cliniques incluant plus de 13000 sujets a montré que les répercussions rénales étaient légèrement plus fréquentes sous célécoxib que sous placebo et comparables à celles observées sous les AINS classiques.

Une autre étude réalisée chez des sujets âgés n'ayant pas de pathologie particulière a mis en évidence que la filtration glomérulaire diminuait moins sous célécoxib (400mg deux fois par jour) que sous naproxène (500mg deux fois par jour).

### g. Efficacité dans la spondylarthrite ankylosante [24]

Une étude randomisée en double aveugle, menée sur six semaines, a comparé l'efficacité du célécoxib à celle du kétoprofène sur la spondylarthrite ankylosante. Les sujets ont reçu soit du célécoxib à la dose de 100mg deux fois par jour, soit du kétoprofène 100mg deux fois par jour, soit un placebo.

La douleur a été évaluée selon l'échelle visuelle analogue (EVA) et le retentissement fonctionnel selon l'index « Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index » (BASFI). Dans les groupes ayant reçu le célécoxib ou le kétoprofène, on a observé une réduction significative de la douleur et du handicap. Le célécoxib a montré une supériorité d'action par rapport au kétoprofène, mais cette différence n'est toutefois pas significative (cf Tableau 5).

Traitement	n	Variation par rapport à l'entrée	
		Douleur (EVA :0-100)	Handicap (EVA :0-100)
Placebo	76	-13 ± 29	+1 ± 18
Kétoprofène	90	-21 ± 26	-6 ± 21
Célécoxib	80	-27 ± 30	-12 ± 22

Tableau 5 : Célécoxib versus kétoprofène et placebo dans la spondylarthrite ankylosante [24]

### 3. Indications

Le célécoxib est utilisé pour soulager les symptômes dans le traitement de l'arthrose ou de la polyarthrite rhumatoïde.

Dans l'arthrose, la dose journalière usuelle recommandée est de 200mg répartie en une ou deux prises et si besoin de 200mg deux fois par jour.

Dans la polyarthrite rhumatoïde, il est recommandé de prendre 200 à 400mg en deux prises.

#### 4. Effets secondaires [11, 12, 84]

Douze études contrôlées portant sur le célécoxib versus placebo et/ou un AINS de référence, ont permis de mettre en évidence les principaux effets indésirables survenant chez les patients sous célécoxib.

Sur l'ensemble des sujets ( $\cong 7400$ ), 7,1% des patients ont arrêté le traitement à cause des effets indésirables versus 6,1% sous placebo.

Parmi les effets secondaires les plus fréquents ( $\geq 1\%$ ), on peut noter des troubles généraux comme un œdème périphérique, des étourdissements, de l'insomnie ou des troubles gastro-intestinaux comme des douleurs abdominales, de la diarrhée, de la dyspepsie, des flatulences. Des effets d'ordre respiratoire (pharyngite, rhinite, sinusite, infections des voies aériennes supérieures) ou cutanés (éruption) sont également souvent cités.

Les effets secondaires peu fréquents représentent 1 à 0,1%. Il s'agit d'anémie, d'hypertension, de palpitations, d'anomalies de la fonction rénale (augmentation de la créatinine, de l'urée sanguine, hyperkaliémie), d'anomalies hépatiques (augmentation des transaminases). On peut aussi noter comme troubles peu fréquents des effets gastro-intestinaux (constipation, éructations, gastrite, stomatite, vomissements), respiratoires (toux, dyspnée) ou cutanés (urticaire). Sont également rapportés des cas d'anxiété, de dépression, vision floue, hypertonie, paresthésie ou encore des crampes des membres inférieurs, des acouphènes, des infections de l'appareil urinaire, une fatigue.

Il existe également des effets secondaires qui apparaissent plus rarement ( $< 0,1\%$ ) comme une leucopénie, une thrombocytopénie, des ulcérations duodénales, gastriques ou oesophagiennes, des dysphagies, perforations intestinales, oesophagites ou méléna. Des cas d'ataxie, d'alopécie, de photosensibilité ou d'altération du goût ont également été mis en évidence.

Après la commercialisation du célécoxib, la pharmacovigilance a permis de découvrir des céphalées, des nausées et arthralgies faisant suite au traitement. De très rares cas isolés ( $< 1/10000$ ) ont aussi été révélés comme des réactions allergiques graves avec choc anaphylactique ou œdème de Quincke, des pancytopénies, insuffisance cardiaque, infarctus du myocarde, hémorragie gastro-intestinale, hépatite, insuffisance rénale aiguë, bronchospasme, confusion mentale, syndrome de Stevens-Johnson, erythème polymorphe, ou encore nécrolyse épidermique.

	Célécoxib 200-400mg par jour	Placebo	Naproxène 1000mg par jour	Ibuprofène 2400mg par jour	Diclofénac 150mg par jour
Nombre de patients	4146	1864	1366	387	345
Evènements gastro-intestinaux					
Douleurs abdominales	4,1%	2,8%	7,7%	9,0%	9,0%
Diarrhées	5,6%	3,8%	5,3%	9,3%	5,8%
Dyspepsies	8,8%	6,2%	12,2%	10,9%	12,8%
Flatulences	2,2%	1,0%	3,6%	4,1%	3,5%
Nausées	3,5%	4,2%	6,0%	3,4%	6,7%
Evènements neurologiques et/ou psychiques					
Céphalées	15,8%	20,2%	14,5%	15,5%	15,4%
Insomnie	2,3%	2,3%	2,9%	1,3%	1,4%
Evènements cutanés					
Rash	2,2%	2,1%	2,1%	1,3%	1,2%

Tableau 6 : Principaux évènements indésirables notifiés lors d'essais comparatifs entre le célécoxib, un placebo, le naproxène, l'ibuprofène et le diclofénac [84]

## 5. Contre-indications, mises en garde, précautions d'emploi [11, 12, 84, 89]

### 5.1. Contre-indications

Le célécoxib est contre-indiqué chez les sujets ayant une hypersensibilité connue à ce médicament ou aux sulfamides.

De même, il ne doit pas être prescrit chez des patients aux antécédents allergiques avec les AINS, chez les personnes ayant un ulcère gastro-intestinal actif ou une hémorragie gastro-intestinale, chez ceux ayant une altération sévère de la fonction hépatique ou rénale (clairance de la créatinine < 30ml/min) ou encore chez les malades avec une insuffisance cardiaque congestive grave.

Il est également contre-indiqué chez l'enfant et l'adolescent, ainsi que chez la femme pendant la grossesse ou au cours de l'allaitement.

## 5.2. Mises en garde et précautions d'emploi

➤ Des perforations gastro-intestinales hautes, des ulcères et des hémorragies ont été observés chez des patients sous célécoxib. Il faudra donc utiliser avec prudence ce médicament chez des sujets ayant des antécédents de pathologie gastro-intestinale, tels que les ulcères ou les atteintes inflammatoires.

➤ Le célécoxib inhibe la synthèse des prostaglandines et peut donc entraîner une rétention hydrique et des oedèmes. Il doit alors être administré avec précaution chez les patients présentant des antécédents d'insuffisance cardiaque, d'hypertension artérielle ou ayant des oedèmes pré-existants.

➤ Chez le sujet âgé, du fait d'une altération de la fonction rénale ou hépatique, ou d'un dysfonctionnement cardiaque, le célécoxib doit être utilisé à la dose minimale efficace et une surveillance médicale appropriée doit être assurée.

## 6. Interactions médicamenteuses [84, 89]

### 6.1. Interactions pharmacodynamiques

Une augmentation de la toxicité rénale de la ciclosporine ou du tacrolimus est possible en cas d'administration concomittante avec des AINS. On peut donc supposer que le célécoxib pourrait accroître le risque de néphrotoxicité de ces médicaments.

### 6.2. Interactions pharmacocinétiques

Dans le foie, le célécoxib est métabolisé par l'isoenzyme CYP2C9 du cytochrome P450. La warfarine est également un substrat de cette isoenzyme. Des hémorragies associées à un allongement du taux de prothrombine ont été observées chez des patients recevant du célécoxib et de la warfarine, surtout chez des sujets âgés. L'activité anti-coagulante devra donc être surveillée chez les patients prenant de la warfarine ou des médicaments de la famille des coumariniques (AVK), en particulier dans les premiers jours de traitement par le célécoxib ou lors d'un changement de posologie.

Cependant, une étude randomisée sur quinze jours, a été menée sur 24 jeunes adultes volontaires sains recevant de la warfarine (10mg/jour). Ils ont également reçus, en parallèle, du célécoxib (200mg) ou un placebo. On a alors observé que ni le placebo ni le célécoxib n'ont modifié la pharmacocinétique de la warfarine. En effet, le taux de prothrombine, les concentrations minimales et maximales ainsi que l'aire sous la courbe pour la warfarine à la fin des quinze jours d'étude, ont été respectivement pour le groupe ayant reçu en plus le célécoxib et celui ayant reçu le placebo 15,6 et 15,5 secondes, 84,2 et 81,7 ng/ml, 152 et 138 ng/ml et 2475 et 2485 ng/ml.h.

Le fluconazole est un inhibiteur puissant du CYP2C9. On a observé que l'administration de 200mg de célécoxib et de 200mg, une fois par jour, de fluconazole, a provoqué une augmentation moyenne du Cmax de 60% et de l'ASC de 130% du célécoxib. Il est donc recommandé de réduire de moitié la dose de célécoxib en cas de prescription conjointe avec le fluconazole.

Les inducteurs du CYP2C9 comme la rifampicine, la carbamazépine ou les barbituriques peuvent entraîner une réduction des concentrations plasmatiques du célécoxib.

Le célécoxib est un inhibiteur du CYP2D6 et peut donc augmenter les concentrations plasmatiques des médicaments substrats de cette enzyme comme le dextrométorphan, les antidépresseurs tricycliques, les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine, les neuroleptiques, les antiarythmiques.

Il n'y a pas d'interactions pharmacocinétiques significatives décrites avec le méthotrexate, très utilisé dans la polyarthrite rhumatoïde.

Une étude randomisée, en simple aveugle, portant sur quatorze patients souffrant de polyarthrite rhumatoïde traitée par du méthotrexate a été menée pendant trois mois. Elle a mis en évidence que le célécoxib, à la dose de 200mg, n'a aucun effet sur la pharmacocinétique du méthotrexate.

Chez le sujet sain, la prise de célécoxib à la dose de 200mg deux fois par jour et de lithium 450mg deux fois par jour provoque une augmentation de la Cmax de 16% et de 18% de l'ASC du lithium. Une surveillance régulière est donc nécessaire lors de l'introduction ou de l'arrêt du célécoxib.

## II. Le Rofécoxib

### 1. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques

#### 1.1. Description de la molécule [111]

➤ nom chimique :

4-[4-(méthylsulphonyl)phenyl]-3-phényl-2(5H)-furanone

➤ dénomination commune internationale :

rofécoxib

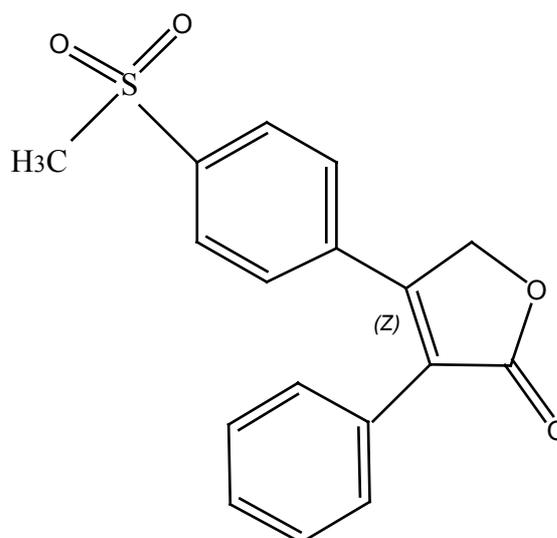
➤ nom commercial :

Vioxx\* (laboratoire Merck Sharp and Dohme)

➤ formule brute :

$C_{17}H_{14}O_4S$

➤ formule semi-développée :



➤ masse moléculaire :

314,36g/mol

➤ caractéristiques chimiques :

poudre de couleur blanche à blanc cassé à jaune

## 1.2. Synthèse [99]

La synthèse du rofécoxib peut se faire par différentes voies (cf Annexes 2).

## 1.3. Propriétés pharmacocinétiques [88, 110]

### a. Absorption

Le rofécoxib a une bonne disponibilité orale (93% environ) non modifiée par la prise concomitante d'aliments.

Le pic de concentration plasmatique maximale (C<sub>max</sub>) de 0,305µg/ml est atteint deux à quatre heures (T<sub>max</sub>) après la prise, chez l'adulte à jeûn.

Dans une étude effectuée chez douze sujets sains, la pharmacocinétique du rofécoxib est restée inchangée (maximum de variation : 30%) , que la molécule soit prise seule ou associée à un anti-acide à base d'hydroxyde de magnésium et d'aluminium ou à base de carbonate de calcium.

### b. Distribution

La liaison du rofécoxib aux protéines plasmatiques est proche de 85%.

Le volume de distribution à l'état d'équilibre (V<sub>d</sub>) chez l'homme est d'environ 100 litres (soit 1,5 l/kg de poids corporel).

Le rofécoxib traverse la barrière placentaire chez le lapin et le rat et la barrière hémato-encéphalique chez le rat.

### c. Métabolisme

Le rofécoxib est largement métabolisé par le foie avec seulement 1% de la dose administrée retrouvée sous forme inchangée dans les urines. La voie métabolique principale est une réduction hépatique en cis- et trans- dihydro rofécoxib (sous forme d'hydroxyacides) par les enzymes du cytochrome P450.

Six métabolites du rofécoxib ont été identifiés chez l'homme. Les principaux métabolites sont le cis- et le trans- dihydro rofécoxib, sous forme d'hydroxyacides et le 5-hydroxyglucuronide. Ils n'ont aucune activité mesurable d'inhibition de la cyclooxygénase ou seulement une faible activité en tant qu'inhibiteurs de la cyclooxygénase 2.

### d. Elimination

L'élimination du rofécoxib se fait presque complètement par excrétion rénale. En effet, après administration d'une dose orale de 125mg de rofécoxib radiomarqué à des sujets sains, 72% de la radioactivité a été retrouvée dans les urines et 14% dans les selles.

La demi-vie d'élimination est d'environ 17 heures, ce qui justifie la prise unique journalière.

La clairance plasmatique est estimée à environ 120ml/min pour une dose de 25mg.

### e. Populations spécifiques

#### ➤ sexe

Chez l'homme et la femme, les données pharmacocinétiques sont identiques.

#### ➤ âge

La pharmacocinétique du rofécoxib est comparable chez le sujet jeune et chez le sujet âgé (65 ans). L'exposition systémique est légèrement plus élevée (ASC  $\approx$  30% supérieure) chez le sujet âgé que chez le sujet jeune, la différence n'ayant cependant pas de signification clinique. Le taux et la rapidité d'absorption ne sont pas influencés par l'âge. Aucun ajustement posologique n'est nécessaire chez les patients âgés. Toutefois, une attention particulière sera portée chez le sujet âgé notamment lorsque la dose quotidienne est augmentée de 12,5 à 25mg.

➤ insuffisance rénale

Une dose unique de 50mg de rofécoxib administrée chez des patients en insuffisance rénale terminale sous hémodialyse n'a pas provoqué de différences pharmacocinétiques par rapport à un sujet sain.

Cependant, le rofécoxib est contre-indiqué en cas de clairance de la créatinine inférieure à 30ml/min.

Aucune adaptation de la posologie n'est nécessaire chez les patients ayant une clairance de la créatinine de 30 à 80ml/min.

➤ insuffisance hépatique

Les patients avec une insuffisance hépatique légère ayant reçu une dose unique de 25mg de rofécoxib ont eu une ASC moyenne similaire à celle des sujets sains ayant reçu la même dose. Les patients avec une insuffisance hépatique modérée ont eu une ASC moyenne d'environ 69% supérieure à celle des sujets sains. La dose de 12,5mg par jour ne sera donc pas dépassée chez ces patients et une surveillance médicale appropriée sera maintenue.

Le rofécoxib est contre-indiqué en cas d'insuffisance hépatique sévère.

➤ Enfant

La pharmacocinétique du rofécoxib n'a pas été étudié chez l'enfant.

#### 1.4. Propriétés pharmacologiques [88, 110]

➤ Dans une étude en double aveugle, sur des sujets sains, les effets d'une dose unique de rofécoxib et d'indométacine, versus placebo, ont été mesurés sur l'activité des cyclooxygénases 1 et 2 [110]. Lors de l'exposition du sang total au lipopolysaccharide, le rofécoxib et l'indométacine ont tous deux inhiber la production de PGE2 dépendant de la cyclooxygénase 2. A des doses de 1000mg (soit 80 fois supérieures aux doses initiales recommandées dans l'arthrose), le rofécoxib n'a pas inhibé la production de TXB2 dépendant de la cyclooxygénase 1. A l'inverse, l'indométacine a inhibé la cyclooxygénase 1 de façon dose-dépendante. Ces résultats montrent donc que le rofécoxib n'inhibe pas la cyclooxygénase 1 de façon significative même à des doses très supérieures à celles recommandées.

➤ Les effets du rofécoxib sur la synthèse de prostaglandines au niveau de la muqueuse gastrique ont été étudiés dans une étude, sur des sujets sains [110]. Des biopsies de la muqueuse gastrique ont été incubées in vitro avec soit du rofécoxib (0,33 , 1 ou 3,3 $\mu$ M) ou de l'indométacine (10 $\mu$ M). Les résultats ont montré que la synthèse de prostaglandines gastriques a été réduite de 14% dans les biopsies traitées par le rofécoxib alors qu'une inhibition de 91% a été observée dans les tissus traités par l'indométacine.

➤ Une autre étude a évalué les effets du rofécoxib sur les fonctions plaquettaires (agrégation et temps de saignement) dans lesquelles la cyclooxygénase 1 est impliquée [110]. Les sujets ont reçu soit du rofécoxib à la dose de 12,5 ou 25mg, une fois par jour ; soit du diclofénac (50mg trois fois par jour) ; soit de l'ibuprofène (800mg trois fois par jour) ou un placebo. Au bout de six jours d'étude, l'agrégation plaquettaire dans le groupe traité par le rofécoxib n'a pas été significativement différente de celle du groupe avec le placebo. Le diclofénac et l'ibuprofène ont par contre inhibé significativement l'agrégation plaquettaire. En ce qui concerne le temps de saignement, aucun changement n'a été observé avec chacune des doses de rofécoxib comparées au placebo. L'ibuprofène a provoqué un allongement significatif du temps de saignement par rapport au placebo.

## 2. Etudes cliniques

### 2.1. Etude VIGOR [2, 6, 68]

L'étude VIGOR (Vioxx Gastrointestinal Outcomes Research) est une étude randomisée en double aveugle menée au niveau international. Elle inclut 8076 malades tous atteints de polyarthrite rhumatoïde et âgés de plus de cinquante ans (ou plus de quarante ans en cas de prise de corticoïdes). Cette étude s'intéresse à l'incidence des effets indésirables gastroduodénaux et à leurs complications suite à l'administration de 50mg de rofécoxib (soit le double de la posologie recommandée par l' AMM) ou de naproxène 1000mg par jour.

### a. Protocole

L'étude VIGOR, menée sur douze mois, s'est intéressée à deux critères principaux : la survenue d'ulcère symptomatique et d'effets gastro-intestinaux plus compliqués comme la perforation, l'obstruction ou l'hémorragie digestive. Les autres effets indésirables qui se sont produits lors de l'étude ont cependant été également pris en compte.

On peut remarquer que dans cette étude, l'utilisation d'aspirine, de ticlopidine ou de tout traitement anticoagulant est un critère d'exclusion.

### b. Résultats

Sur les 8076 sujets, 30% ont arrêtés prématurément leur traitement ; la moitié à cause des effets secondaires et 6% pour inefficacité. Ces données sont similaires dans les deux groupes.

#### ➤ toxicité gastro-intestinale

Les résultats montrent que, de manière générale, les effets secondaires digestifs sont moins fréquents avec le rofécoxib par rapport au naproxène (3,5% versus 4,9%).

En effet, la survenue d'ulcère symptomatique sous rofécoxib est moins importante que sous naproxène, 2,1% versus 4,5% ( $p=0,001$ ). De même, les effets gastro-intestinaux compliqués sont moins nombreux chez les sujets traités avec le rofécoxib par rapport à ceux traités avec le naproxène, 0,6% versus 1,4% ( $p=0,005$ ).

#### ➤ toxicité cardiovasculaire

La survenue d'infarctus du myocarde est plus importante dans le groupe ayant reçu le rofécoxib (0,4%) que dans celui traité par le naproxène (0,1%). Ce résultat est attribué à l'absence d'effet anti-agrégant plaquettaire du coxib mais aussi à l'effet cardioprotecteur du naproxène. Toutefois, la mortalité suite à un événement cardiovasculaire est identique dans les deux groupes (0,5%).

### c. Conclusion

L' étude VIGOR montre donc que l'incidence d'effets indésirables gastroduodénaux est moins importante avec le rofécoxib par rapport à un AINS classique.

Cependant, cette étude révèle aussi une élévation du risque cardiovasculaire sous rofécoxib. Des analyses complémentaires sont donc nécessaires pour confirmer cette constatation.

## 2.2. Autres études

### a. Effet cardiovasculaire [50]

Une étude a regroupé les résultats de 23 autres portant sur le rofécoxib et menées sur plus de 28000 patients [50]. Les sujets ont reçu soit un placebo, soit du rofécoxib ou un AINS classique (diclofénac, ibuprofène, nabumétone ou naproxène). La fréquence des effets thrombotiques cardiovasculaires a été analysée en tenant compte des décès, des infarctus non fatals et des accidents cardiovasculaires non fatals.

Les résultats montrent que le risque relatif de l'ensemble de ces pathologies est de 0,84 quand on compare le rofécoxib au placebo, de 0,79 quand on compare le rofécoxib aux AINS classiques sans le naproxène et de 1,69 quand on compare le rofécoxib au naproxène.

Cette étude montre donc qu'il n'existe pas d'augmentation du risque cardiovasculaire sous rofécoxib par rapport au placebo ou aux AINS, naproxène excepté. La différence observée entre le naproxène et le rofécoxib peut être due à l'effet anti-agrégant plaquettaire du naproxène.

### b. Efficacité dans l'arthrose [10, 110]

➤ Une étude randomisée en double aveugle a été menée sur 784 adultes souffrant d'arthrose du genou ou de la hanche sur une période d'un an [10]. Dans cette étude, l'efficacité du rofécoxib a été comparée à celle du diclofénac. Les sujets ont reçu soit du rofécoxib à la dose de 12,5mg ou 25mg par jour, soit du diclofénac, 50mg trois fois par jour. L'indice WOMAC et l'échelle visuelle analogique ont été utilisées pour évaluer l'efficacité des médicaments.

Les résultats montrent que le rofécoxib à 12,5mg ou 25mg permet une diminution significative de l'intensité de la douleur. Cette amélioration est comparable à celle observée

sous diclofénac. De plus, les autres paramètres de l'indice WOMAC comme par exemple la mobilité ou la raideur, évoluent également de façon favorable et comparable que les sujets soient traités par du rofécoxib ou du diclofénac.

Cette étude montre donc que le rofécoxib à 12,5mg ou 25mg possède une efficacité comparable à celle du diclofénac (50mg trois fois par jour) dans le traitement de l'arthrose du genou ou de la hanche (cf figure 21).

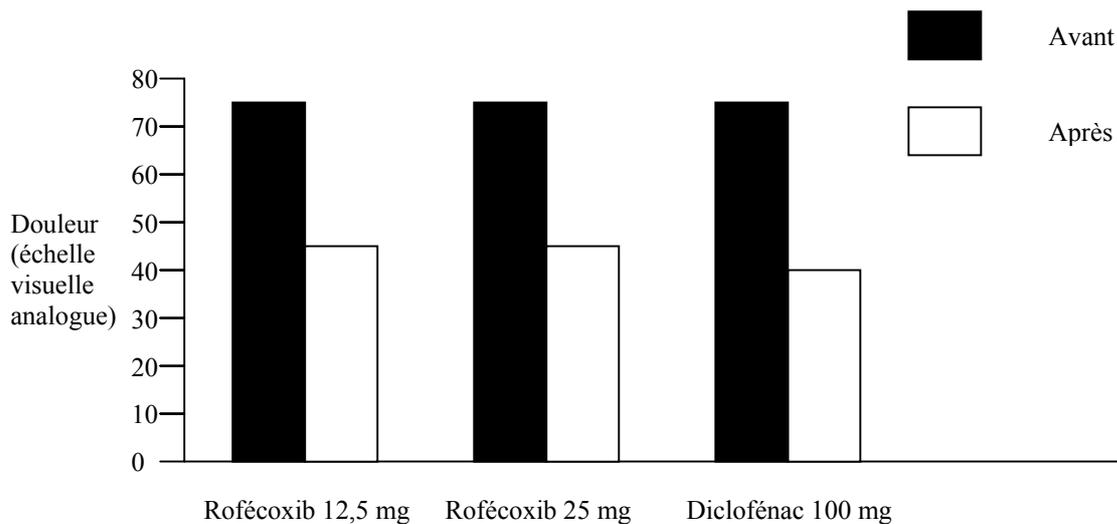


Figure 21 : Rofécoxib versus diclofénac dans l'arthrose du genou ou de la hanche [6]

➤ Deux études randomisées, en double aveugle, ont comparé le rofécoxib 12,5mg par jour et 25mg par jour à l'ibuprofène 2400mg par jour et à un placebo [110]. Ces études d'une durée de six semaines, ont inclus 1545 patients souffrant d'une arthrose du genou ou de la hanche.

Les résultats de ces études révèlent que le rofécoxib a amélioré significativement les symptômes de l'arthrose, par rapport au placebo. De plus, l'efficacité obtenue avec le rofécoxib est comparable à celle obtenue avec l'ibuprofène à fortes doses.

### c. Efficacité dans la polyarthrite rhumatoïde [90]

Une étude multicentrique en double aveugle a comparé l'efficacité du rofécoxib face à un placebo dans la polyarthrite rhumatoïde en poussée. Les sujets ont reçu le rofécoxib à

différents dosages : 5, 25 ou 50mg par jour ou le placebo. Les résultats ont été évalués à deux, quatre et huit semaines de traitement.

Après huit semaines de traitement, on constate 14,3% d'arrêt dans le groupe placebo pour inefficacité contre 10,1% dans le groupe rofécoxib 5mg, 6,4% dans le groupe rofécoxib 25mg et 6,8% dans le groupe rofécoxib 50mg. De plus, il existe une différence significative en faveur du rofécoxib aux dosages de 25 et 50mg en ce qui concerne l'opinion globale du patient, la douleur mesurée par l'échelle visuelle analogue et le retentissement fonctionnel. On n'observe cependant pas de différence significative entre les deux dosages.

#### d. Efficacité dans la douleur dentaire [99]

L'efficacité analgésique du rofécoxib (50mg) a été comparée à celle de l'ibuprofène (400mg) et d'un placebo, dans une étude en double aveugle. 104 patients avec une douleur modérée à sévère suivant l'extraction d'une molaire ont été inclus dans cette étude. Le rofécoxib, l'ibuprofène et le placebo ont été administrés dans les six heures suivant l'intervention. Il n'y a pas eu de différence d'efficacité analgésique du rofécoxib comparé à l'ibuprofène. De plus, ces deux molécules ont montré une meilleure activité analgésique par rapport au placebo.

#### e. Efficacité dans la douleur aigue [68]

Une étude en double aveugle a évalué l'efficacité du rofécoxib par rapport au naproxène et à un placebo dans le traitement de la douleur aigue après une intervention chirurgicale orthopédique.

Les résultats montrent que le rofécoxib à la dose de 50mg est plus efficace que le placebo et qu'il a une efficacité comparable à celle du naproxène sur la douleur.

#### f. Activité antipyrétique [99]

Dans une étude randomisée en double aveugle, l'activité antipyrétique du rofécoxib (12,5 ou 25mg) a été comparée à celle de l'ibuprofène (400mg) ou d'un placebo. Cette étude a inclus 93 patients souffrant d'une infection respiratoire accompagnée de fièvre. Le rofécoxib a montré une activité antipyrétique significative par rapport au placebo et comparable à celle de l'ibuprofène.

### 3. Indications [110]

Le rofécoxib est utilisé dans le soulagement des symptômes dans le traitement de l'arthrose et de la polyarthrite rhumatoïde.

La dose de départ recommandée chez l'adulte est de 12,5mg par jour en prise unique. Cette dose peut être augmentée, 25mg par jour, pour obtenir une amélioration supplémentaire.

### 4. Effets secondaires [88, 110]

La tolérance du rofécoxib a été évaluée dans des essais cliniques chez 5400 patients, dont environ 800 traités pendant un an ou plus. Les effets indésirables les plus souvent cités (survenus dans 1 à 10% des cas) sont les œdèmes, les étourdissements, l'hypertension artérielle, des troubles digestifs (brûlures d'estomac, diarrhée, nausées, dyspepsie), les céphalées, le prurit. Des augmentations des transaminases hépatiques ont été rapportées chez environ 1% des sujets.

D'autres effets secondaires, mais avec une fréquence moindre, ont été observés sous rofécoxib : l'asthénie, la douleur thoracique, des troubles digestifs (constipation, ulcération buccale, vomissements, reflux acide), une élévation des phosphatases alcalines, les acouphènes, la prise de poids, les crampes musculaires, l'insomnie, la somnolence, les vertiges, la dépression, l'élévation de l'urée sanguine et de la créatinine sérique, la protéinurie, le rash cutané et la dermatite atopique.

De rares cas d'ulcères gastro-intestinaux, de perforations gastro-intestinales et d'hémorragie ainsi que des gastrites ont également été relevés, surtout chez des personnes âgées.

Enfin des cas isolés ont été répertoriés comme par exemple des réactions d'hypersensibilité avec œdème de Quincke, des réactions anaphylactiques, une thrombocytopénie, une insuffisance cardiaque congestive, une hépatotoxicité pouvant entraîner une hépatite, une paresthésie, un bronchospasme, une atteinte rénale, des hallucinations, des réactions cutanées sévères dont le syndrome de Stevens-Johnson.

## 5. Contre-indications, mises en garde et précautions d'emploi [83, 88, 110]

### 5.1. Contre-indications

Le rofécoxib est contre-indiqué chez les patients aux antécédents allergiques aux AINS, chez les sujets ayant une ulcération gastro-duodénale en évolution ou un saignement gastro-intestinale, chez ceux ayant une altération modérée à sévère de la fonction hépatique, chez ceux avec une clairance de la créatinine inférieure à 30ml/min ou encore chez les malades avec une insuffisance cardiaque congestive sévère.

Il est également contre-indiqué chez l'enfant, l'adolescent, la femme enceinte et au cours de l'allaitement.

### 5.2. Mises en garde, précautions d'emploi

Chez les patients souffrant d'une hypoperfusion rénale, en particulier chez ceux avec une insuffisance rénale, une insuffisance cardiaque non compensée ou une cirrhose, il faut utiliser le rofécoxib avec prudence. En effet une altération de la fonction rénale est possible.

En cas d'antécédents d'insuffisance cardiaque, d'hypertension ou d'oedèmes préexistants, une surveillance particulière est nécessaire sous rofécoxib, du fait du risque de rétention hydro-sodée.

Enfin, chez les sujets âgés, il peut exister une altération de la fonction rénale, hépatique ou cardiaque. L'emploi du rofécoxib chez ces patients nécessite donc une surveillance médicale adéquate.

## 6. Interactions médicamenteuses [83, 110]

### 6.1. Interactions pharmacodynamiques

➤ Chez les patients ayant une hypertension artérielle légère à modérée, l'administration de 25mg par jour de rofécoxib avec un inhibiteur de l'enzyme de conversion, IEC, (bénazépril, 10 à 40mg par jour) pendant quatre semaines, a été associée à une diminution de l'effet anti-hypertenseur comparé à l'IEC seul. La co-administration d'un IEC et du rofécoxib, peut entraîner, chez certains patients avec une insuffisance rénale, une détérioration supplémentaire de la fonction rénale, habituellement réversible.

➤ La co-administration de ciclosporine ou de tacrolimus et d'AINS peut augmenter l'effet néphrotoxique des deux premiers. En cas d'utilisation concomitante du rofécoxib avec l'un de ces médicaments, la fonction rénale devra donc être surveillée.

➤ chez des sujets stabilisés traités au long cours par la warfarine, l'administration de 25mg par jour de rofécoxib s'est accompagnée d'une augmentation d'environ 8% du temps de Quick. Dans certains cas, la warfarine a été arrêtée et des mesures ont même été prises pour inverser l'effet anticoagulant. Par conséquent, le temps de Quick sera particulièrement surveillé chez les patients recevant de la warfarine ou un médicament similaire, surtout dans les premiers jours de traitement par le rofécoxib ou lors d'un changement de dosage.

## 6.2. Interactions pharmacocinétiques

➤ Dans une étude menée pendant dix jours, le rofécoxib à la posologie de 75mg par jour (soit trois à six fois la dose recommandée dans l'arthrose), a augmenté les concentrations plasmatiques du méthotrexate de 23% chez des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde et recevant 7,5 à 15mg par semaine de méthotrexate. Une surveillance est donc nécessaire quand le rofécoxib et le méthotrexate sont administrés en même temps.

➤ Le rofécoxib peut entraîner une légère inhibition du cytochrome CYP1A2. Une augmentation des concentrations des médicaments métabolisés par ce cytochrome est donc possible en cas d'administration concomitante avec le rofécoxib. Il s'agit par exemple de la théophylline, l'amitriptyline ou la tacrine.

➤ En l'absence d'inducteurs puissants du cytochrome P450, le métabolisme par ce cytochrome n'est pas la voie métabolique prédominante du rofécoxib. Par contre, on a observé que l'administration de rofécoxib et de rifampicine, puissant inducteur du cytochrome P450, a entraîné une diminution d'environ 50% des concentrations plasmatiques du rofécoxib.

➤ Aucune interaction n'a été relevée lorsque le rofécoxib a été administré en association avec l'aspirine à faibles doses (81 mg par jour), le kétoconazole, les contraceptifs oraux, la prednisone et la prednisolone, les anti-acides, la cimétidine ou encore la digoxine.

## B – Limites des coxibs

### I. Aspect gastro-intestinal [3, 37, 39, 56]

Les AINS classiques sont connus pour provoquer des effets indésirables au niveau gastro-intestinal, comme par exemple, des dyspepsies, des ulcères et même des saignements ou des perforations. Les coxibs apparaissent donc comme étant intéressants puisqu'ils permettent une diminution de ces effets indésirables.

Cependant certains scientifiques réfutent l'idée que les AINS provoquent des troubles gastro-intestinaux en inhibant la cyclooxygénase 1 et pensent qu'un autre mécanisme entre en jeu. Ils proposent en effet que les AINS aient une action locale et qu'ils agissent en diminuant la barrière hydrophobe du mucus gastro-intestinal en se liant aux phospholipides.

De plus, la cyclooxygénase 1 et la cyclooxygénase 2 ont toutes deux un rôle physiologique au niveau du tractus gastro-intestinal. En effet, la cyclooxygénase 1 intervient dans la régulation de la sécrétion d'acide et la protection de la muqueuse mais la cyclooxygénase 2 est également nécessaire au maintien de l'intégrité de la muqueuse gastro-intestinale.

Enfin, en cas d'infection par *Helicobacter pylori*, on observe une induction de la cyclooxygénase 2. Or, ce type d'infection conduit souvent à un ulcère gastrique et la cyclooxygénase 2 semble impliquée dans la cicatrisation de ces lésions. En effet, une augmentation de l'expression de la cyclooxygénase 2 a été montrée aux abords de l'ulcère. Les coxibs, en inhibant la cyclooxygénase 2, peuvent donc retarder cette cicatrisation.

### II. Aspect rénal [39, 78, 86, 91, 93, 106]

Les deux isoformes de la cyclooxygénase sont exprimées de manière physiologique au niveau rénal. La cyclooxygénase 2 intervient en particulier dans la régulation de la libération de la rénine et son expression est induite en cas de restriction sodique.

Une étude randomisée, en double aveugle, a comparé les effets rénaux du célécoxib (200mg deux fois par jour), du rofécoxib (25mg par jour), du naproxène (500mg deux fois par jour) et d'un placebo chez des sujets âgés ayant un régime sodique normal. Les résultats de l'étude montre que les deux coxibs et le naproxène ont produit un effet similaire sur l'excrétion urinaire sodique, la pression sanguine, le poids des sujets et la clairance de la créatinine. Lors de la prescription de coxib, il faut donc prendre les mêmes précautions rénales que lors de la prescription d'AINS classiques. D'ailleurs, des cas d'atteinte rénale chez des insuffisants rénaux chroniques sous célécoxib ou rofécoxib ont été rapportés.

### III. Aspect cardiovasculaire [3, 20, 39, 70]

Les coxibs ont un effet potentiel au niveau vasculaire. En effet, ils inhibent la synthèse de la prostacycline (PGI<sub>2</sub>) qui est vasodilatatrice mais n'ont aucun effet sur le thromboxane A<sub>2</sub>, vasoconstricteur et agrégant plaquettaire. Sous l'action des coxibs, il peut donc se produire un déséquilibre entre ces deux molécules et il existe alors une augmentation du risque de thrombose. D'ailleurs, deux cas de survenue de thrombose ont été révélés chez des patients avec un lupus érythémateux et sous célécoxib.

D'autre part, l'athérosclérose est un processus ayant des caractéristiques inflammatoires ; les coxibs peuvent donc avoir un éventuel effet anti-athérogène.

Les différentes études s'intéressant à l'aspect cardiovasculaire des coxibs révèlent des résultats différents. Ainsi, l'étude CLASS montre qu'il n'existe pas de différence entre le célécoxib et les autres AINS (ibuprofène ou diclofénac) au niveau cardiovasculaire et l'étude VIGOR indique une augmentation du risque cardiovasculaire sous rofécoxib par rapport au naproxène. En fait, dans cette étude VIGOR, il faut tenir compte des propriétés antithrombotiques du naproxène. D'autres études, quant à elles, montrent que le célécoxib et le rofécoxib ont des effets cardiovasculaires et dans deux études associant le rofécoxib à l'aspirine, aucune conséquence cardiovasculaire n'a été révélée.

Ainsi, on peut conclure que même si les coxibs ne semblent pas augmenter le risque cardiovasculaire, il faut les utiliser avec précaution chez les sujets à risque. De plus, les coxibs ne possèdent pas d'effets protecteurs au niveau cardiovasculaire comme l'aspirine qui agit via la cyclooxygénase 1 (cf figure 22).

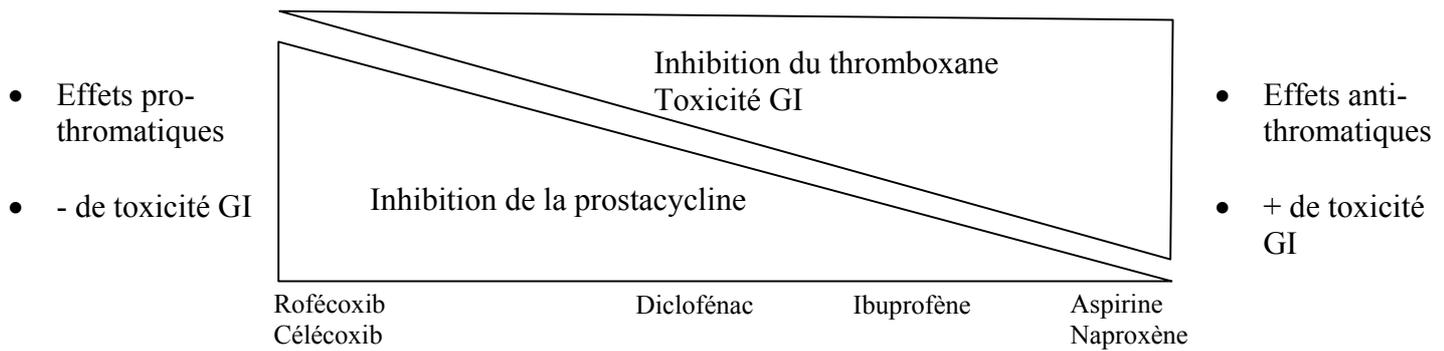


Figure 22 : Spectre de l'activité biologique de différents AINS [70]

#### IV. Autres aspects métaboliques [39, 81, 91]

Il a été démontré que la cyclooxygénase 2 joue un rôle important dans les différentes étapes conduisant de l'ovulation à l'accouchement. L'absence d'activité de la cyclooxygénase 2 peut donc entraîner des effets délétères importants ; c'est pourquoi les coxibs, comme les AINS, ne doivent pas être utilisés au cours de la grossesse.

La cyclooxygénase 2, par l'intermédiaire des prostaglandines, intervient dans le métabolisme osseux ; l'utilisation à long terme des coxibs peut donc avoir des retentissements à ce niveau.

#### V. Efficacité des coxibs par rapport aux AINS [3, 28, 112, 113]

De nombreuses études ont démontré que les coxibs ont une efficacité comparable à celle des AINS aussi bien dans le traitement de l'arthrose, de la polyarthrite rhumatoïde que dans la prise en charge de la douleur.

Cependant, on sait également que la cyclooxygénase 1 intervient dans le processus inflammatoire. Cela suppose donc que l'inhibition sélective de la cyclooxygénase 2 ne peut pas engendrer un effet anti-inflammatoire comparable à celui obtenu par l'inhibition concomitante de la cyclooxygénase 1 et de la cyclooxygénase 2.

De plus, dans une étude utilisant le modèle de la poche d'air à la carragénine, on a comparé les activités anti-inflammatoires de l'indométacine à celle du nimésulide et du célécoxib. On a alors observé que le célécoxib ne diminuait pas l'infiltration leucocytaire, à l'inverse des deux autres AINS. On peut alors en déduire que les effets des AINS ne sont pas uniquement en relation avec l'activité de la cyclooxygénase, ce qui sous-entend que les inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2 ne peuvent pas avoir une activité anti-inflammatoire aussi complète que les AINS classiques.

Enfin, le rôle de la cyclooxygénase 2 dans l'inflammation semble plus complexe. En effet, des travaux suggèrent que la cyclooxygénase 2 a des propriétés à la fois inflammatoires et anti-inflammatoires. Dans un modèle d'inflammation chez le rat, on a observé une augmentation rapide de l'expression de la cyclooxygénase 2 après l'injection de la carragénine. Cette réponse est donc conforme au fait que la cyclooxygénase 2 participe au phénomène inflammatoire. Mais ensuite un second pic de cyclooxygénase 2, plus important que le premier, a été observé 48 heures après, lors de la phase de résolution de l'inflammation. On peut alors émettre des réserves quant à l'utilisation des coxibs puisque bloquer l'action de la cyclooxygénase 2 diminue la première phase inflammatoire mais peut aussi augmenter l'inflammation dans un second temps.

## VI. Aspect économique [60, 64, 77, 79]

En 1991, 4,7 millions de canadiens ont été recensés comme souffrant d'arthrose ou de polyarthrite rhumatoïde, et ce chiffre doit atteindre 9,7 millions en 2031. Le coût qu'il représente va doubler dans les trente ans à venir. Ce phénomène est dû notamment au vieillissement de la population et est observable dans beaucoup de pays européens également. Les coûts directs engendrés par l'arthrose et la polyarthrite rhumatoïde sont donc considérables. Les médicaments (les AINS) et les hospitalisations représentent 80% de ces coûts directs et ont un impact financier considérable sur le système de santé.

De plus, on peut remarquer que la plupart des prescriptions d'AINS s'accompagne d'une médication anti-ulcéreuse, comme les inhibiteurs de pompe à protons par exemple. Cette coprescription représente alors un coût supplémentaire indirect très élevé.

On peut donc penser que les coxibs, puisqu'ils entraînent moins de troubles gastro-intestinaux et donc ne nécessitent pas de coprescription anti-ulcéreuse sont moins onéreux que les AINS

classiques. Cependant, une analyse au Canada a montré que les dépenses relatives aux médicaments avaient fortement augmenté depuis la commercialisation des coxibs. Ainsi, en 1999, le célécoxib était le 48<sup>ème</sup> médicament le plus prescrit au Canada mais il était à la 14<sup>ème</sup> position dans les dépenses médicamenteuses.

Chez les patients ayant un faible risque de complication ulcéreuse, les AINS semblent donc la prescription la moins onéreuse. Par contre, chez les sujets ayant un risque plus élevé ou des antécédents ulcéreux, les coxibs semblent plus appropriés.

Hors aspect économique, il existe des recommandations pour l'utilisation des coxibs :

Patients chez qui l' utilisation de coxibs est recommandée
Patients avec un risque important de complications d' ulcère gastro-intestinal : Age>65 ans Antécédents de maladie ulcéreuse Prise de glucocorticoïdes, anticoagulants ou aspirine Prise de doses importantes d' AINS
Patients avec de nombreuses pathologies ou de nombreux traitements médicamenteux
Patients alcooliques
Patients avec des troubles de la coagulation

Tableau 7 : Recommandations pour l'utilisation des coxibs [60]

## C – Les nouvelles molécules

De nouvelles molécules de coxibs sont actuellement en développement. Il s'agit essentiellement du parécoxib, du valdécoxib et de l'étoricoxib. Cette nouvelle génération de coxibs possède probablement une action inhibitrice de la cyclooxygénase 2 encore plus spécifique et montre des avantages pharmacologiques comme par exemple l'administration parentérale pour le parécoxib.

### I. Le Parécoxib

#### 1. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques

##### 1.1. Description de la molécule [100]

➤ nom chimique :

sel de N-[4-(5-méthyl-3-phénylisoxazol-4-yl)phénylsulfonyl]propionamide sodium

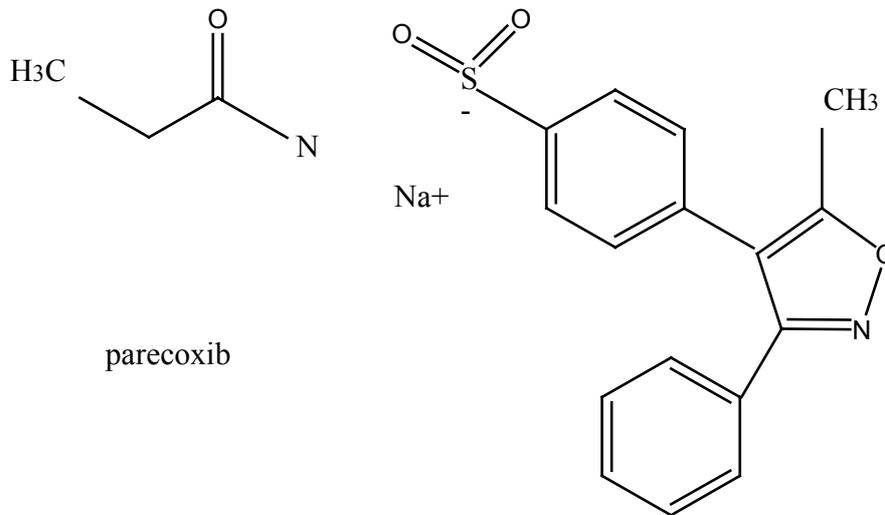
➤ dénomination commune internationale :

parécoxib

➤ formule brute :



➤ formule semi-développée :



➤ masse moléculaire :

392,41g/mol

### 1.2. Cinétique [68, 100]

Le parécoxib est administrable par voie parentérale et correspond à la prodrogue du valdécoxib. Les études pharmacocinétiques ont montré que le parécoxib est métabolisé en valdécoxib très rapidement après son injection intramusculaire ou intraveineuse.

### 1.3. Propriétés pharmacologiques [100]

Le parécoxib possède une activité anti-inflammatoire à la fois en phase aigüe et en phase chronique de l'inflammation. En effet, il réduit l'inflammation dans l'œdème de la patte du rat à la carragénine avec une dose de 0,3mg/kg et dans le modèle de l'arthrite à adjuvant avec une DE50 de 0,08mg/kg.

## 2. Etudes cliniques [5, 23, 104]

➤ Une étude randomisée, en double aveugle, a comparé l'efficacité analgésique et la tolérance du parécoxib à un placebo quand il est administré avant une opération chirurgicale [23]. Celle-ci consiste en l'extraction de trois

molaires chez des sujets en bonne santé. Une unique dose de parécoxib (20,40 ou 80mg) ou de placebo est administrée en intraveineuse 30 à 45 minutes avant le début de l'intervention.

Après l'intervention, les patients peuvent avoir recours à une médication analgésique supplémentaire s'ils le désirent.

L'évaluation de l'efficacité analgésique du traitement pré-opératoire est basée sur la proportion de sujets demandant une médication supplémentaire, sur la durée au bout de laquelle ils la demandent, sur l'intensité de la douleur ainsi que sur l'impression globale des patients sur la molécule étudiée.

La tolérance du parécoxib est également examinée par le suivi des effets indésirables.

Sur une période de 24 heures, 48% du groupe ayant reçu 40mg de parécoxib ont recours à une médication supplémentaire, 59% pour le groupe ayant reçu 80mg de parécoxib et 78% pour celui avec 20mg de parécoxib. A l'inverse, presque tous les sujets ayant reçu le placebo (93%) demandent une médication supplémentaire.

Le temps moyen de recours à cette médication est de 2heures 51minutes pour les patients sous placebo alors qu'il est de 6heures 17minutes pour le groupe ayant reçu 20mg de parécoxib et il dépasse les 24heures pour les groupes ayant reçu 40 et 80mg de parécoxib.

Une augmentation de la douleur est observée dans tous les groupes quatre heures après la fin de l'intervention, ce qui correspond à la fin des effets de l'anesthésique local utilisé. Cependant, tous les patients sous parécoxib expriment une douleur beaucoup moins intense que ceux sous placebo. De plus, les sujets ayant reçu 40mg de parécoxib ressentent une douleur moins importante que ceux ayant reçu 20mg de parécoxib. On n'observe pas de différence significative entre les groupes ayant reçu 40 ou 80mg de parécoxib.

92% des patients avec 40mg de parécoxib, 76% du groupe avec 20mg et 81% du groupe avec 80mg estiment avoir reçu un bon traitement analgésique alors qu'ils ne sont que 32% dans le groupe sous placebo.

Les effets indésirables survenant dans les trois jours suivant l'intervention sont plus fréquents dans le groupe ayant reçu le placebo. Il s'agit essentiellement de nausées, vomissements, maux de tête.

Cette étude montre donc que l'administration pré-opératoire du parécoxib est efficace pour diminuer la douleur qui suit l'intervention. Les doses de 20mg, 40mg ou 80mg ont une activité analgésique supérieure à celle du placebo. Il n'y a pas de différence significative entre le parécoxib à 40 ou 80mg ; par contre, à 20mg il semble moins efficace. De plus, le parécoxib est très bien toléré.

➤ Dans une étude randomisée en double aveugle, les effets gastro-intestinaux du parécoxib injecté en intra-veineuse sont comparés à ceux du kétorolac et d'un placebo également en intra-veineuse, chez des personnes âgées (65-75 ans), en bonne santé et n'ayant aucune lésion gastrique ou duodénale [104]. L'étude est menée sur sept jours et les sujets reçoivent soit 40mg de parécoxib deux fois par jour, soit 15mg de kétorolac quatre fois par jour ou un placebo. Cette étude évalue la survenue d'ulcères ou d'érosions au niveau gastro-intestinal.

A la fin de l'étude, l'endoscopie révèle que les sujets sous parécoxib ou placebo n'ont aucun ulcère gastrique ou duodénal alors que 23% des personnes ayant reçu le kétorolac ont un ulcère gastro-intestinal.

Près de 90% des patients sous kétorolac ont soit un ulcère soit une érosion au niveau stomacal. Pour le groupe sous parécoxib et celui sous placebo, l'incidence des érosions est respectivement de 14% et de 6% (cf figure 23).

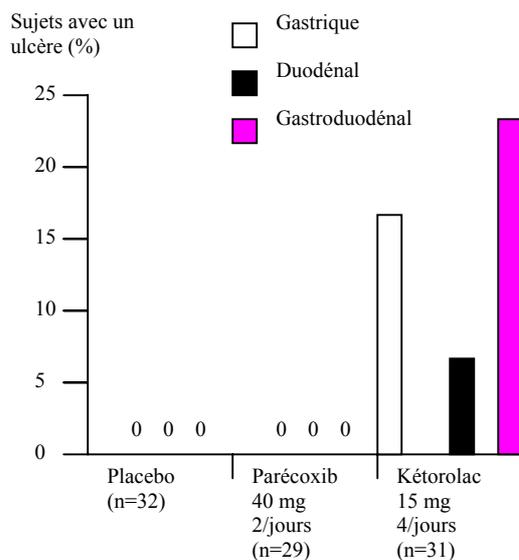


Figure 23 a) : Incidence d'ulcères gastro-intestinaux

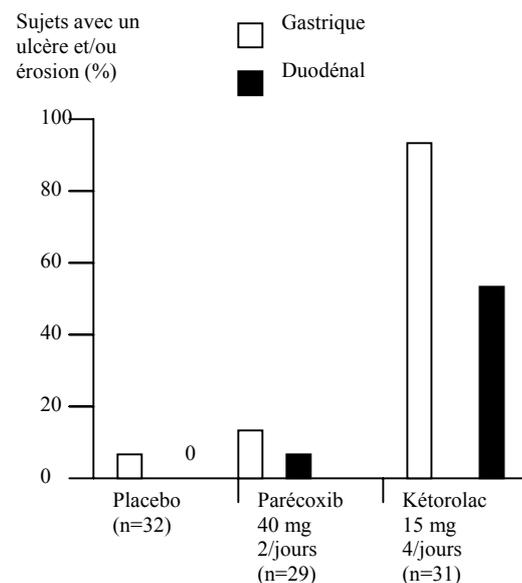


Figure 23 b) : Incidence d'ulcères gastro-intestinaux et/ou érosions [104]

Cette étude montre donc que le parécoxib est mieux toléré chez les personnes âgées avec une diminution du risque d'atteinte gastro-intestinale par rapport au kétorolac.

## II. Le Valdécoxib

### 1. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques

#### 1.1. Description de la molécule [100]

➤ nom chimique :

4-(5-méthyl-3-phénylisoxazol-4-yl) benzènesulfonamide

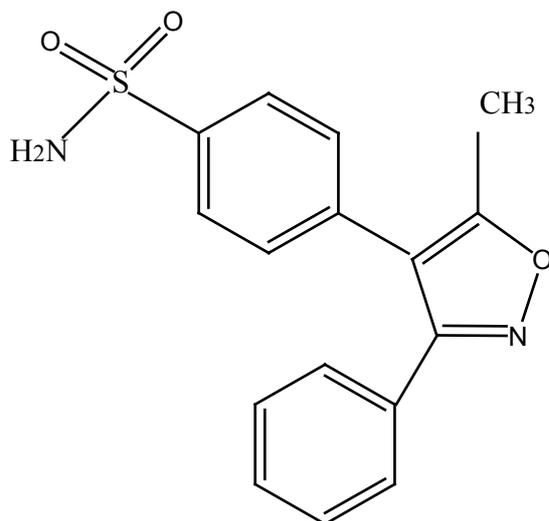
➤ dénomination commune internationale :

valdécoxib

➤ formule brute :



➤ formule semi-développée :



valdecoxib

➤ masse moléculaire :

314,37g/mol

## 1.2. Cinétique [68, 100]

Les études pharmacocinétiques montrent que le parécoxib est complètement et rapidement transformé en valdécoxib et une bioéquivalence existe entre l'administration parentérale du parécoxib et l'administration orale du valdécoxib.

## 1.3. Propriétés pharmacologiques [100]

Des études *in vitro* sur des enzymes humaines recombinantes montrent que le valdécoxib inhibe la cyclooxygénase 2 avec une  $CI_{50}$  de 140 $\mu$ mol/l. Le valdécoxib est donc un inhibiteur sélectif de la cyclooxygénase 2.

L'administration orale du valdécoxib montre une activité anti-inflammatoire comparable à celle du parécoxib administré par voie parentérale dans l'œdème de la patte du rat induit par la carragénine (DE50=10,2mg/kg) et dans l'arthrite à adjuvant (DE50=0,032mg/kg).

## 2. Etudes cliniques [53]

➤ Une étude randomisée, en double aveugle, a été menée durant douze semaines sur des sujets souffrant d'arthrose pour évaluer l'efficacité et les effets gastro-intestinaux du valdécoxib par rapport aux AINS classiques. Les patients ont reçu soit du valdécoxib (10 ou 20mg par jour), soit de l'ibuprofène 800mg trois fois par jour, soit du diclofénac 75mg deux fois par jour ou un placebo.

A la fin des douze semaines, une endoscopie gastro-intestinale est réalisée sur chaque personne. L'incidence d'ulcères gastro-duodénaux est de 5% chez les patients ayant reçu du valdécoxib 10mg, 4% chez ceux ayant reçu du valdécoxib 20mg, 7% dans le groupe placebo, 16% dans le groupe ibuprofène et 17% dans le groupe diclofénac (cf figure 24).

Patients (%)

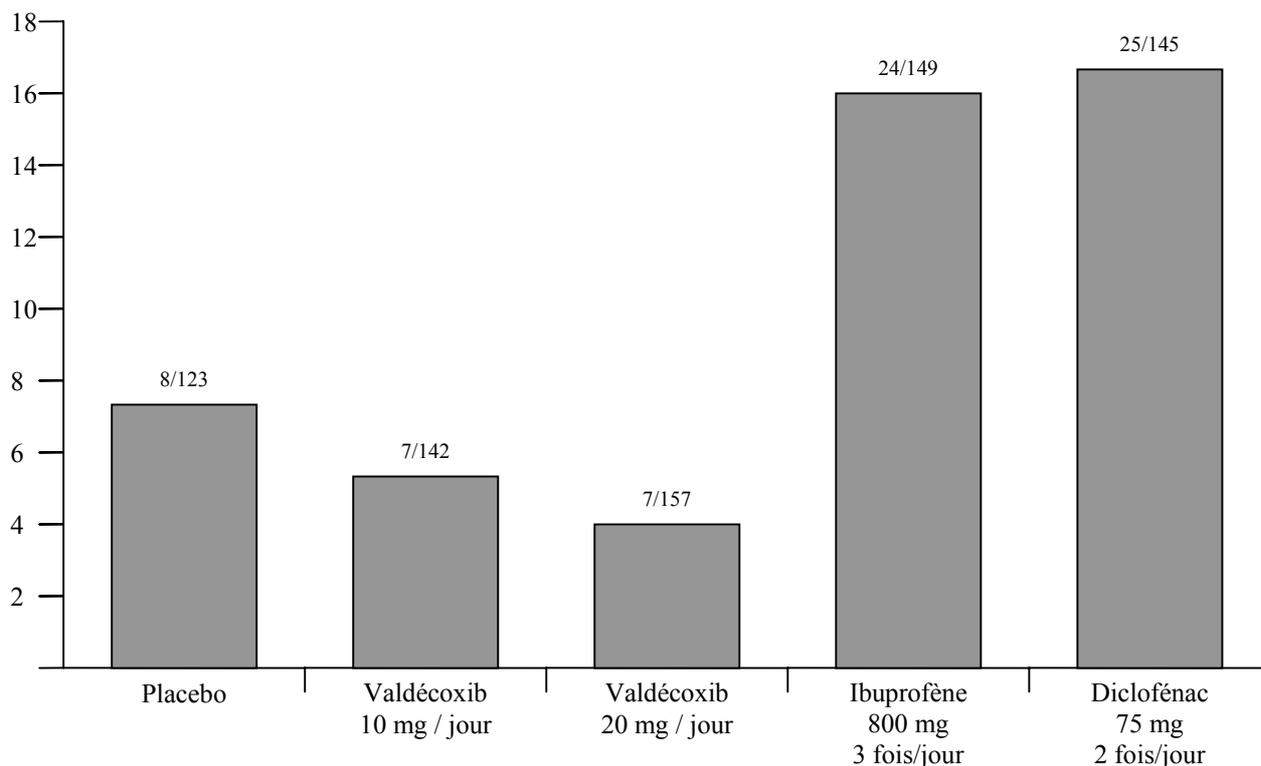


Figure 24 : Incidence d'ulcères gastro-duodénaux [53]

Aux doses de 10 et 20mg, le valdécoxib est aussi efficace que l'ibuprofène ou le diclofénac dans le traitement des signes et symptômes de l'arthrose.

L'incidence des effets gastro-intestinaux rapportés sous valdécoxib 10mg (30%) est comparable à celle du groupe sous placebo (28%). Par contre, les sujets ayant reçu du valdécoxib 20mg, de l'ibuprofène ou le diclofénac ont une incidence d'effets gastro-intestinaux plus importante, respectivement de 39%, 40% et 45%.

Ainsi, le valdécoxib à la dose de 10 ou 20mg, est associé à un risque moins important d'effets gastro-intestinaux à type d'ulcère par exemple, que des AINS classiques comme l'ibuprofène ou le diclofénac. De plus, les effets indésirables sous valdécoxib sont également moins fréquents. Enfin, on peut remarquer que le valdécoxib possède une efficacité comparable à celle de l'ibuprofène ou du diclofénac dans le traitement de l'arthrose.

➤ Dans une étude randomisée en double aveugle, les effets du valdécoxib sur la fonction plaquettaire sont comparés à ceux du naproxène, du diclofénac et d'un placebo. Des volontaires en bonne santé reçoivent donc soit du valdécoxib 40mg deux fois par jour, soit du naproxène 500mg deux fois par jour, soit du diclofénac 75mg deux fois

par jour ou un placebo. L'étude est réalisée sur sept jours et demi. Le naproxène et le diclofénac sont donnés à doses usuelles alors que la dose de valdécoxib est supratherapeutique.

Pour évaluer les effets des différentes molécules sur la fonction plaquettaire, l'agrégation plaquettaire, la concentration sérique en thromboxane B2 (TXB2) et le temps de saignement sont étudiés.

Cette étude montre que le valdécoxib, à une dose supérieure à la normale, n'a aucun effet sur l'agrégation plaquettaire, le temps de saignement ou le TXB2. A l'inverse, le diclofénac et le naproxène, à dose usuelle, réduisent de façon significative l'agrégation plaquettaire. De plus, le temps de saignement sous naproxène est beaucoup plus important comparé à celui sous valdécoxib ou placebo. Dans cette étude, le diclofénac n'a aucun effet sur le temps de saignement. La concentration en TXB2 est comparable dans le groupe sous valdécoxib ou placebo. Par contre, dans le groupe sous naproxène, la concentration en TXB2 est significativement diminuée mais cette diminution est moins marquée pour les patients ayant reçu le diclofénac. Cette constatation indique donc que le valdécoxib n'agit pas sur la cyclooxygénase 1.

On peut donc conclure que le valdécoxib à dose supratherapeutique n'interfère pas avec la fonction plaquettaire chez des sujets sains, à l'inverse des AINS utilisés à doses usuelles comme le naproxène ou le diclofénac. L'emploi du valdécoxib est donc potentiellement plus sûr que celui des AINS, en particulier chez les sujets avec un risque élevé de saignement comme par exemple, ceux sous anticoagulants ou avec une ulcération gastro-intestinale.

### III. L'Etoricoxib

#### 1. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques

##### 1.1. Description de la molécule [55, 101]

➤ nom chimique :

5-chloro-6'-méthyl-3-[4-(méthylsulfonyl)phényl]-2,3'-bipyridine

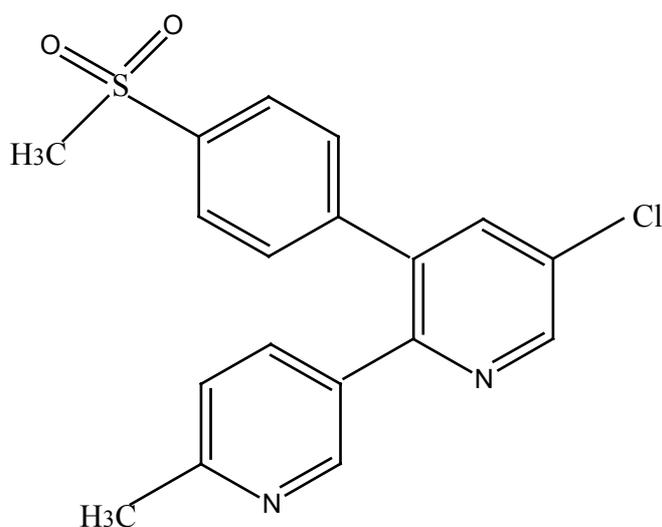
étoricoxib

➤ dénomination commune internationale :

➤ formule brute :



➤ formule semi- développée :



etoricoxib

➤ masse moléculaire :

358,85g/mol

## 1.2. Cinétique [101]

Une étude menée sur 24 sujets en bonne santé a permis d'évaluer la pharmacocinétique de l'étoricoxib. Les patients ont reçu un traitement de neuf jours de différents dosages (25, 50, 100 ou 150mg). La C<sub>max</sub> observée a variée de 1,5 à 8,2 μmol/l et la T<sub>max</sub> a été de 12heures.

D'autres études ont montré que la prise d'anti-acides (10ml de carbonate de calcium 2500mg ou 20ml de Maalox\*) n'affecte pas la pharmacocinétique de 120mg d'étoricoxib et que la pharmacocinétique de la prednisone ou de la prednisolone n'est pas modifiée par la prise d'étoricoxib.

### 1.3. Propriétés pharmacologiques [101]

In vitro, l'activité inhibitrice de l'étoricoxib vis à vis des cyclooxygénases 1 et 2 a été évaluée dans le modèle sur sang humain total. Les  $CI_{50}$  sont respectivement de 116 $\mu$ mol/l et 1,1 $\mu$ mol/l pour la cyclooxygénase 1 et la cyclooxygénase 2. L'étoricoxib est donc un inhibiteur sélectif de la cyclooxygénase 2.

L'activité anti-inflammatoire de l'étoricoxib a été démontrée dans de nombreuses études in vivo comme par exemple l'œdème de la patte du rat induit par la carragénine ou le modèle de l'arthrite à adjuvant.

### 2. Etudes cliniques [55, 68, 101]

➤ Dans une étude de phase III, en double aveugle et randomisée, l'efficacité et la tolérance de l'étoricoxib ont été comparées à celles d'un placebo et du naproxène [55]. Les sujets souffrant d'arthrose du genou ou de la hanche, ont été suivis pendant douze semaines et ont reçu soit 60mg par jour d'étoricoxib, soit du naproxène 500mg deux fois par jour, soit un placebo. L'efficacité des différentes molécules a été évaluée grâce à l'indice WOMAC et ses différents paramètres. La tolérance des médicaments a été mesurée par rapport aux effets indésirables survenus durant l'étude.

Au bout de douze semaines, l'étoricoxib dosé à 60mg par jour et le naproxène 500mg par jour ont montré une réelle efficacité dans le traitement des signes et symptômes liés à l'arthrose. Les résultats observés sous étoricoxib et sous naproxène sont comparables mais supérieurs à ceux observés sous placebo.

L'incidence des effets indésirables gastro-intestinaux, comme la nausée ou la dyspepsie, est similaire dans les groupes ayant reçu le placebo ou l'étoricoxib mais plus importante dans le groupe sous naproxène. Cependant, de manière générale, l'étoricoxib et le naproxène ont été bien tolérés.

D'après cette étude, l'étoricoxib peut donc constituer une nouvelle alternative thérapeutique dans le traitement de l'arthrose.

➤ Une étude randomisée en double aveugle a comparé l'efficacité de l'étoricoxib à celle de l'ibuprofène en cas de douleur dentaire aiguë après

l'extraction de molaires [101]. Les sujets ont reçu soit 400mg d'ibuprofène, soit de l'étoricoxib à différents dosages (60,120,180,240mg). L'étoricoxib a été bien toléré à toutes les doses testées. L'étoricoxib et l'ibuprofène ont soulagé significativement la douleur dentaire chez toutes les personnes de l'étude. Au vu des résultats, la dose minimum efficace recommandée d'étoricoxib est de 120mg.

	Célécoxib	Rofécoxib	Parécoxib	Valdécoxib	Etoricoxib
Nom commercial	Célébrex*	Vioxx*			
Indications	Traitement symptomatique de l'arthrose et de la polyarthrite rhumatoïde (PR)	Traitement symptomatique de l'arthrose et de la polyarthrite rhumatoïde			
Administration	Orale	Orale	Intra-veineuse Intra-musculaire	Orale	Orale
Dose	Arthrose : 200 mg en 1 à 2 prises PR : 200 à 400 mg en 2 prises	12,5 à 25 mg en 1 prise		10 mg 1 fois par jour ou 20 mg 2 fois par jour (dysménorrhées)	
Inhibition cox2/cox1	7 fois	35 fois	30 fois	30 fois	106 fois
Métabolisme	hépatique	hépatique		hépatique	
Excrétion	hépatique et rénale	rénale	rénale	hépatique	
Contre-indications	Allergies aux sulfamides	aucune	aucune	aucune	
Interactions médicamenteuses	Warfarine Inhibiteurs du cytochrome P450	Warfarine Métotrexate		Warfarine Lithium	
Effets indésirables les plus fréquents	Dyspepsies Rash cutanés Oedèmes HTA	Oedèmes HTA Dyspepsies		Dyspepsies Nausées	

Tableau 8 : Caractéristiques des coxibs [68]

**3<sup>ème</sup> partie :**

**LES PERSPECTIVES  
THERAPEUTIQUES DES  
COXIBS**

## A- Coxibs et cancer

### I. Rôle des prostaglandines dans le processus cancéreux [21, 30, 105]

Dans de nombreux tissus néoplasiques, il existe une synthèse accrue de prostaglandines. Celles-ci sont étroitement impliquées dans la tumorigenèse après activation de leurs récepteurs spécifiques. Elles interviennent dans la tolérance immunitaire ; elles participent à la synthèse des acides nucléiques, à la transformation, à la division et à la prolifération cellulaire. Elles inhibent l'apoptose des cellules cancéreuses.

#### 1. Effets immunosuppresseurs

Les prostaglandines possèdent de nombreux effets immunosuppresseurs. Par exemple, la prostaglandine PGE<sub>2</sub> diminue l'activité cytotoxique des cellules NK (natural killer), inhibe le développement des lymphocytes T et des lymphocytes B et diminue la production de cytokines comme le TNF $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha).

Des études ont montré qu'un inhibiteur de prostaglandines empêche la synthèse d'interleukine IL-10 par des lymphocytes et que les prostaglandines interfèrent également avec le processus antigénique des cellules dendritiques.

Le fait que les prostaglandines puissent inhiber le système immunitaire permet donc aux tumeurs de se développer sans aucune surveillance immunitaire et contribue ainsi à la tumorigenèse.

#### 2. Effets mitogènes

Les prostaglandines interviennent également dans la tumorigenèse en stimulant la croissance cellulaire. Il a été démontré que les prostaglandines PGE<sub>2</sub> et PGF<sub>2</sub> $\alpha$  peuvent être mitogènes dans des fibroblastes en présence de facteur de croissance. De plus, la prolifération de cellules épithéliales mammaires peut être stimulée par les prostaglandines PGE<sub>1</sub> et PGE<sub>2</sub>, toujours en présence de facteur de croissance. Enfin, en cas de cancer du sein, les

prostaglandines agissent sur la croissance cellulaire en stimulant le gène aromatase, le cytochrome CYP19 et en augmentant la production oestrogénique.

### 3. Inhibition de l'apoptose

Le fait de prolonger la survie de cellules anormales favorise l'accumulation des modifications génétiques dues au processus tumoral. Des études ont révélé que la prostaglandine PGE2 inhibe l'apoptose cellulaire et que l'inhibition de la PGE2 par le célécoxib est associée à une augmentation de l'apoptose in vivo.

## II. Rôle de la cyclooxygénase 2 dans le processus cancéreux

### 1. Cyclooxygénase 2 et synthèse de substances carcinogènes [21, 31]

De nombreuses substances ont un potentiel carcinogénique. Certaines agissent directement, d'autres après oxydation du procarcinogène en carcinogène. Ces réactions d'oxydation peuvent être exécutées par le cytochrome P450 dans le foie ou par d'autres monooxydases dans les tissus extrahépatiques. La cyclooxygénase, par son activité peroxydasique, peut participer à l'oxydation d'amines aromatiques, d'amines hétérocycliques ou d'hydrocarbures polycycliques aromatiques. Par exemple, les cyclooxygénases catalysent la conversion du B(a)P-7,8-dihydrodiol en B(a)P-diolepoxide qui va se lier à l'ADN. Cette molécule forme alors des adduits le long des exons du gène p53 le fragilisant et favorisant ainsi l'apparition de mutations du gène. D'autres molécules, comme par exemple la benzidine, sont aussi oxydées par l'activité peroxydasique de la cyclooxygénase. La benzidine oxydée peut former des adduits avec les protéines et l'ADN.

La formation d'adduits entre les composants cellulaires et les métabolites réactifs dépend de la capacité d'oxydation du composé initial et de la capacité de détoxification des produits oxydés après conjugaison avec le glutathion et l'acide glucuronique. Les défauts de réaction de conjugaison prédisposent donc à la formation d'adduits avec l'ADN.

Ainsi, l'augmentation de l'activité de la cyclooxygénase qui transforme les procarcinogènes en carcinogènes favorise les mutations de l'ADN et la tumorigenèse.

## 2. Présence de la cyclooxygénase au niveau précancéreux et cancéreux [31, 59, 117]

L'expression de la cyclooxygénase 2 est quasi nulle dans la plupart des épithéliums humains normaux mais cette enzyme est surexprimée au niveau de nombreuses lésions prénéoplasiques. C'est le cas par exemple, des adénomes du colon, des lésions d'hyperplasie, de métaplasie et de dysplasie oesophagienne, du carcinome in situ de la vessie, de la kératose actinique, de la leucoplasie buccale ou encore de certains cancers du sein. Ces lésions sont des lésions précancéreuses ou cancéreuses évoluant dans leur grande majorité vers le cancer invasif. La cyclooxygénase 2, que l'on retrouve à chaque fois dans ces pathologies, est donc probablement en partie responsable du développement du cancer succédant à ces lésions.

Une étude s'est intéressée aux taux d'ARNm de la cyclooxygénase 2 contenus au niveau de carcinomes et d'adénomes colorectaux. On a observé que l'ARNm de la cyclooxygénase 2 est en quantité plus importante dans le carcinome que dans l'adénome. Sachant que l'adénome est le stade précurseur du carcinome, l'augmentation d'expression de la cyclooxygénase 2 entre les deux n'est pas surprenante. Ainsi, le fait que le taux d'ARNm de la cyclooxygénase 2 dans l'adénome soit également plus important que celui mesuré dans la muqueuse normale corrobore l'idée que la cyclooxygénase 2 est impliquée dans la tumorigenèse. On peut alors supposer dans ce cas que la cyclooxygénase 2 peut être un marqueur du développement tumoral.

De nombreuses études ont mis en évidence que la cyclooxygénase 2 est souvent surexprimée au niveau des cellules néoplasiques, que ce soit dans les modèles cellulaires, tissulaires animaux ou humains. On a ainsi décrit une expression accrue de la cyclooxygénase 2 dans la plupart des cancers épithéliaux humains (tête et cou, bronches, colon, œsophage, vessie, prostate, col utérin, pancréas, sein, estomac). Une étude portant sur des tumeurs du colon chez le rat a révélé une augmentation du taux d'ARNm de la cyclooxygénase 2 dans tous les cas (six rats faisant partie de l'expérience) et une augmentation de la quantité de la cyclooxygénase 2 dans cinq cas sur six. A l'inverse, les taux de cyclooxygénase 1 et de son ARNm étaient identiques dans les cellules tumorales et dans les cellules de la muqueuse intestinale normale. Le rôle exact de la cyclooxygénase 1 dans la tumorigenèse, s'il existe, reste donc encore à évaluer précisément.

Etats pré-malins et malins avec une surexpression de la cyclooxygénase 2
Adénomes colorectaux et cancer
Cancer du sein
Cancer de l'estomac
Cancer des poumons
Cancer pancréatique
Cancer de la prostate
Cancer de la vessie
Cancer cutané
Leucoplasie orale
Syndrome de Barrett
Cancer du foie

Tableau 9 : surexpression de la cyclooxygénase 2 dans certaines conditions précancéreuses et cancéreuses [21]

### 3. Angiogenèse [21]

La cyclooxygénase 2 est impliquée dans l'angiogenèse qui intervient lors du processus tumoral. En effet, la croissance de la tumeur dépend de l'apport sanguin supplémentaire. Celui-ci se fait grâce à la sécrétion de facteurs angiogéniques comme par exemple le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire. Dans les cellules cancéreuses du colon, on a montré que la surexpression de la cyclooxygénase 2 est corrélée à l'augmentation de production de facteurs de croissance vasculaires ainsi qu'à la formation d'un réseau capillaire. Des études ont révélé que l'inhibition pharmacologique de la cyclooxygénase 2 conduit à la diminution de synthèse de facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire, ce qui contribue à diminuer la progression de la tumeur.

Ainsi la cyclooxygénase 2 intervient dans le développement de capillaires sanguins au niveau tumoral et participe de ce fait à la tumorigenèse.

#### 4. Potentiel métastatique [21, 58]

La cyclooxygénase 2 intervient également dans la tumorigenèse en agissant sur le pouvoir invasif des cellules. Des travaux ont montré que la surexpression de la cyclooxygénase 2 dans des cellules épithéliales intestinales du rat augmente l'adhésion des cellules à la matrice extracellulaire. De plus, il a été démontré que la cyclooxygénase 2 est nécessaire à la migration d'un certain type cellulaire (NIH 3T3) dans un processus apparemment régulé par un signal extracellulaire.

### III. Coxibs et traitement anticancéreux

#### 1. Utilisation des coxibs dans la prévention cancéreuse [47, 105]

Une étude en double aveugle a évalué le potentiel préventif du célécoxib vis à vis du cancer du colon induit chez des rats. Ceux-ci ont été répartis en deux groupes : un groupe recevant de l'azoxyméthane, une substance carcinogène et un groupe recevant une solution saline. Ensuite, chaque groupe a été divisé en deux : un groupe placebo ayant un régime alimentaire normal et un groupe recevant en plus 1500ppm de célécoxib. Deux semaines après le début de l'étude, les rats ont eu une injection sous-cutanée d'azoxyméthane (15mg/kg) ou de solution saline, une fois par semaine pendant deux semaines. L'étude s'est prolongée cinquante semaines après le traitement carcinogène et durant toute cette période, les rats ont suivi le régime alimentaire instauré au départ (avec ou sans célécoxib).

Incidence (% d'animaux avec une tumeur)				
Adénocarcinomes				
groupe	total	adénomes	Non-invasif	invasif
Avec l'azoxyméthane				
Régime normal	85	9	41	76
Célécoxib	6	0	3	3
Avec solution saline				
Régime normal	0	0	0	0
Célécoxib	0	0	0	0

Nombre de tumeurs par animal				
Adénocarcinomes				
groupe	total	adénomes	Non-invasif	invasif
Avec l'azoxyméthane				
Régime normal	1,91±1,38	0,09±0,28	0,59±0,77	1,26±1,01
Célécoxib	0,06±0,23	0	0,03±0,16	0,03±0,16
Avec solution saline				
Régime normal	0	0	0	0
Célécoxib	0	0	0	0

Tableau 10 : effets du célécoxib sur l'incidence et le nombre de tumeurs induites chez le rat [47]

Le tableau 10 résume l'incidence des tumeurs du colon induits par l'azoxyméthane (pourcentage de rats avec une tumeur) ainsi que le nombre de tumeurs par animal. Toutes les tumeurs sont classées en adénomes ou adénocarcinomes. Ces derniers sont ensuite différenciés en carcinomes invasifs ou non, selon l'importance de l'invasion. Les résultats montrent que chez les rats ayant reçu l'injection de solution saline, il n'y a pas de développement tumoral, qu'ils aient eu en plus du célécoxib ou non.

Chez les rats ayant reçu l'injection d'azoxyméthane, aucun des animaux sous célécoxib n'a développé un adénome du colon alors que 9% des rats sans célécoxib ont un adénome du colon. De plus, le célécoxib inhibe l'incidence de l'adénocarcinome invasif ou non, respectivement de 96% et 93%. Le célécoxib inhibe également le nombre de tumeurs par animal, soit une diminution de 95% du nombre d'adénocarcinomes non invasifs et une diminution de 98% du nombre d'adénocarcinomes invasifs.

L'étude révèle enfin que le volume de la tumeur cancéreuse est significativement réduit chez les rats ayant reçu le célécoxib par rapport à autres.

On peut donc dire que l'administration du célécoxib diminue l'incidence, le nombre de tumeurs ainsi que leur volume lorsqu'elles sont induites chez des rats par l'azoxyméthane. Cette étude démontre de plus que le célécoxib a un effet inhibiteur aussi bien à la phase d'initiation que durant la phase de promotion et de progression de la carcinogenèse. Enfin, ce degré d'inhibition est plus important avec le célécoxib qu'avec d'autres AINS (aspirine, ibuprofène ou piroxicam par exemple) utilisés dans des protocoles similaires.

Ainsi, puisque la cyclooxygénase 2 intervient à différents stades du processus cancéreux, les coxibs peuvent inhiber le développement de la pathologie par différentes voies. Ils peuvent donc par exemple induire l'apoptose ou empêcher la synthèse de substances carcinogènes qui entraîne des mutations génétiques. Ils peuvent également ralentir le développement tumoral en agissant sur l'invasion cellulaire et la croissance métastatique.

## 2. Utilisation des coxibs dans le traitement anticancéreux [8, 45, 66, 105]

De nombreux cancers expriment des quantités importantes de prostaglandines et il a été démontré que cette accumulation de prostaglandines est associée à une augmentation de l'expression de la cyclooxygénase 2 mais pas de la cyclooxygénase 1. On sait que les prostaglandines interviennent dans la tumorigenèse en agissant au niveau immunitaire, sur la prolifération cellulaire ou encore l'apoptose des cellules cancéreuses. Les coxibs, en inhibant la cyclooxygénase 2, vont donc inhiber la synthèse de prostaglandines et ainsi avoir une action inhibitrice sur leurs différents effets.

De plus, la cyclooxygénase 2 intervient directement dans le processus tumoral et à différents stades de ce processus. Les inhibiteurs de la cyclooxygénase 2 peuvent donc agir en réduisant la croissance des tumeurs, en diminuant leur adhésion à la matrice extracellulaire ou en inhibant l'angiogenèse.

Tout ceci a été démontré dans une étude utilisant deux modèles animaux avec un cancer du poumon et un cancer du colon [66]. Dans les deux cas, il y a eu un développement de tumeurs primaires ainsi que de métastases pulmonaires. L'administration de célécoxib a permis d'inhiber la croissance des tumeurs ainsi que le nombre et la taille des métastases pulmonaires. L'efficacité du coxib pour bloquer la croissance des cellules tumorales ainsi que son potentiel antimétastatique a donc été confirmée. De plus, le célécoxib a inhibé le développement de néovaisseaux au niveau de la tumeur, prouvant ainsi son pouvoir antiangiogénique.

Lors de travaux récents pour comprendre le mécanisme par lequel les coxibs agissent sur l'apoptose, des scientifiques se sont intéressés à l'effet du célécoxib sur le calcium intracellulaire, sachant que celui-ci joue un rôle très important dans l'apoptose [45]. Ils se sont alors aperçus que le célécoxib intervenait sur la concentration intracellulaire en calcium en inhibant les  $Ca^{++}$ -ATPases du réticulum endoplasmique. De plus, cette activité inhibitrice est spécifique du célécoxib puisqu'elle n'est pas observée avec l'aspirine, l'ibuprofène, le naproxène ou même le rofécoxib. Ces travaux proposent donc un nouveau mécanisme d'action des coxibs, en particulier du célécoxib, mais nécessitent d'être approfondis.

### 3. Avantages de l'utilisation des coxibs dans le traitement anticancéreux

#### 3.1. Toxicité gastrique moindre [47, 66]

Dans plusieurs études s'intéressant à l'activité anticancéreuses des coxibs, on a pu remarquer que leur utilisation s'accompagnait d'aucune toxicité gastro-intestinale.

#### 3.2. Activité analgésique [102]

En plus de leur action préventive ou curative sur la pathologie cancéreuse, les coxibs sont également intéressants pour leur pouvoir analgésique. Des travaux sont en cours pour évaluer leur efficacité sur le traitement de la douleur cancéreuse.

### 3.3. Augmentation de l'efficacité des autres traitements [48]

Une étude a montré que le rofécoxib est très efficace dans le traitement d'un sarcome chez une souris quand il est combiné à une radiothérapie. En effet, il potentialise la réponse tumorale aux rayonnements et plusieurs mécanismes sont possibles pour l'expliquer.

Tout d'abord, le sarcome exprime la cyclooxygénase et de nombreuses prostaglandines. Le rofécoxib diminue la synthèse des prostaglandines, or les prostaglandines sont connues comme étant des agents radioprotecteurs. Ainsi, en inhibant les prostaglandines, le rofécoxib entraîne une diminution de la radioprotection et la tumeur est donc plus sensible à la radiothérapie.

D'autre part, les prostaglandines stimulent l'angiogenèse, ce qui permet la croissance tumorale. Le rofécoxib inhibe cette néovascularisation et ralentit donc cette croissance. Des travaux ont révélés que l'association d'une radiothérapie avec un composé antiangiogénique comme l'angiostatine a permis d'obtenir un résultat plus intéressant. Toutefois, il n'a pas été encore démontré que l'inhibition de l'angiogenèse par les coxibs améliore la radiothérapie.

Enfin, les prostaglandines sont des substances immunosuppressives. Leur inhibition par un coxib peut donc augmenter la réponse immunitaire antitumorale et potentialiser la radiothérapie.

Ainsi, même s'il est nécessaire d'explorer un peu plus les mécanismes, les coxibs semblent être intéressants pour augmenter l'efficacité de la radiothérapie sur le cancer.

## IV. AINS et traitement anticancéreux [8, 94]

Les AINS, tels que l'indométacine, le sulindac ou le piroxicam ont montré leur capacité à réduire le risque de développement d'une tumeur colique après induction par différents carcinogènes chez des rats. De plus, de nombreuses études chez l'homme ont montré que la prise régulière d'aspirine ou d'autres AINS diminue le risque de cancer colique et entraîne la régression des adénomes existants chez les patients ayant une polypose familiale. Plusieurs mécanismes potentiels sont proposés pour expliquer l'effet anticancéreux des AINS.

Tout d'abord, on sait que l'expression de la cyclooxygénase 2 est accrue dans de nombreux cancers et que cette surexpression est associée à une augmentation des quantités de

prostaglandines. Or il a été démontré que la cyclooxygénase 2 ainsi que les prostaglandines participent à la tumorigenèse à différents stades du développement. Les AINS, en inhibant la cyclooxygénase 2 et donc la production de prostaglandines, inhibent donc également ces différentes étapes du processus tumoral.

Cependant, cette inhibition de la carcinogenèse par les AINS via l'inhibition de la cyclooxygénase 2 peut être due à des mécanismes ne faisant pas intervenir les prostaglandines. En effet, la diminution de l'expression de la cyclooxygénase 2 sous l'action des AINS conduit à une diminution de production de prostaglandines et donc la quantité d'acide arachidonique, précurseur des prostaglandines, augmente. Cette augmentation du pool d'acide arachidonique peut alors être utilisée à la synthèse d'autres métabolites, notamment des métabolites qui retardent la division cellulaire.

Les AINS peuvent aussi agir sur la carcinogenèse par des mécanismes qui ne font pas intervenir les cyclooxygénases. En effet, les AINS peuvent affecter le cycle cellulaire des cellules mammaires qui n'expriment pas la cyclooxygénase 2. Ce mode d'action indépendant de la cyclooxygénase pourrait donc expliquer que les AINS comme le sulindac ou l'aspirine qui inhibent peu ou pas la cyclooxygénase 2 présentent aussi une action antiproliférative.

## V. Utilisation possible des coxibs dans différents cancers

### 1. Cancer colorectal [21, 105, 117]

Le cancer colorectal est un important problème de santé publique et dans la majorité des cas, les sujets n'ont aucune prédisposition pour la maladie. Dans de nombreuses études réalisées chez l'homme, il a été démontré une surexpression de la cyclooxygénase 2 au niveau des adénomes et des cancers colorectaux, alors qu'elle est absente dans la muqueuse saine.

A partir d'un modèle animal, des chercheurs ont montré qu'il existait une relation entre l'augmentation d'expression de la cyclooxygénase 2 et l'incidence de tumeurs gastro-intestinales. Ainsi la suppression d'un allèle du gène de la cyclooxygénase 2 a réduit le nombre de polypes intestinaux de 66% et la suppression des deux allèles a provoqué une diminution de 86%.

Chez des rats traités par de l'azoxyméthane (substance carcinogène), l'administration orale de célécoxib a supprimé la formation de tumeurs colorectales dans plus de 90% des cas alors que

l'administration d'inhibiteurs non sélectifs de la cyclooxygénase a diminué le nombre de tumeurs de 40 à 65%.

De nombreuses études sont actuellement en cours pour évaluer l'efficacité des coxibs sur la prévention ou le traitement des cancers colorectaux. Leurs résultats permettront de déterminer si les coxibs peuvent constituer une nouvelle approche thérapeutique dans le traitement des adénomes colorectaux ou dans la prévention du cancer du colon.

La polypose adénomateuse familiale est une maladie héréditaire rare qui représente environ 1% des carcinomes colorectaux chaque année. A transmission autosomique dominante, elle est caractérisée par le développement de nombreux polypes sur le colon. Ces polypes apparaissent vers la puberté et peuvent se transformer en cancer.

Une étude récente, randomisée et en double aveugle a été menée sur 77 patients souffrant de polypose adénomateuse familiale [21]. Les sujets ont reçu un placebo ou du célécoxib (100 ou 400mg deux fois par jour) pendant six mois. A la fin de l'étude, on a évalué le nombre d'adénomes colorectaux. Dans le groupe placebo, on a observé une diminution de 4,5%, dans le groupe ayant reçu 100mg de célécoxib une diminution de 11,9% et dans le groupe ayant reçu 400mg de célécoxib une diminution de 28%. La différence observée entre le groupe sous placebo et le groupe avec 400mg de célécoxib deux fois par jour est statistiquement significative. Cette étude sur l'homme a confirmé de nombreux résultats obtenus par l'utilisation des coxibs sur des tumeurs intestinales chez l'animal. La FDA (Food and Drug Administration) a donc récemment approuvé l'utilisation du célécoxib dans le traitement de la polypose adénomateuse familiale (cf figure 25).

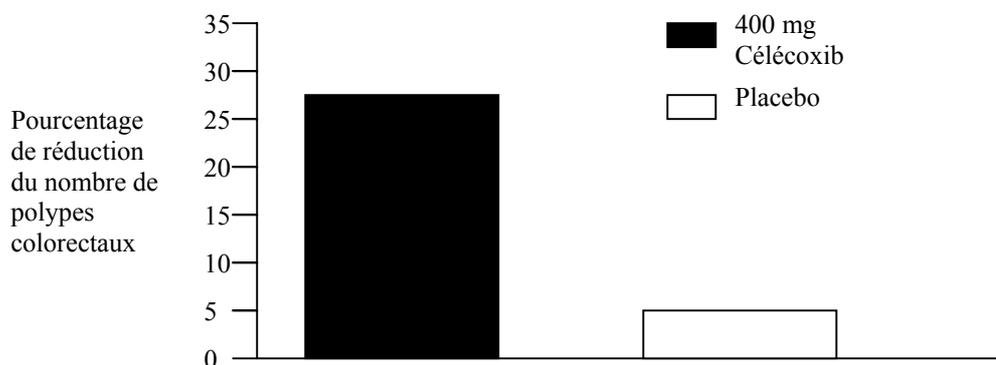


Figure 25 : Pourcentage de réduction du nombre de polypes colorectaux chez les patients sous célécoxib [21]

## 2. Cancer de la peau [105, 107]

Aujourd'hui, on sait que l'exposition solaire trop importante est la principale cause de développement de cancer de la peau. Découvert à un stade trop avancé, il peut être mortel.

Les UVB sont considérés comme la principale substance carcinogène et interviennent à différentes étapes de la carcinogenèse (initiation, promotion et invasion). Les UVA interviennent également car ils sont capables d'engendrer des réactions d'oxydation.

Les UV sont à l'origine de différents mécanismes conduisant au développement cancéreux comme le dérèglement des signaux cellulaires de transduction ou l'augmentation de l'expression de la cyclooxygénase 2. En effet, à l'état basal, la cyclooxygénase 1 est présente dans les kératinocytes mais pas la cyclooxygénase 2. Des recherches ont révélé que la cyclooxygénase 2 peut être exprimée au niveau épidermique en réponse à des agents tumoraux. De plus, l'induction de la cyclooxygénase 2 au niveau de l'épiderme provoque une différenciation anormale des cellules épidermiques ainsi qu'une augmentation de leur prolifération.

Les prostaglandines sont également impliquées dans le processus tumoral cutané. En effet, des taux importants de prostaglandine PGE2 sont observés dans de nombreux carcinomes cutanés et il semblerait que la quantité de PGE2 soit corrélée au potentiel invasif et métastatique du cancer.

D'autres travaux *in vitro* ont mis en évidence que des cellules cutanées cancéreuses surexprimant la cyclooxygénase 2 étaient résistantes à l'apoptose et que sur des cultures de kératinocytes humains, l'activité de la cyclooxygénase 2 induite par les UVB était inhibée par le célécoxib.

Le rôle exact de la cyclooxygénase 2 dans la carcinogenèse cutanée reste encore à définir mais plusieurs études *in vivo* chez l'homme sont actuellement en cours pour évaluer l'efficacité des coxibs sur les cancers de la peau.

## 3. Cancer du poumon [49, 105]

Des études *in vitro* montrent que plus de 30% des tumeurs cancéreuses pulmonaires possèdent une mutation au niveau de l'oncogène K-ras et que celle-ci est associée à une expression de la cyclooxygénase 2 dans les cellules cancéreuses. De plus, des travaux révèlent que les AINS bloquent la croissance des cellules cancéreuses qui expriment la mutation du gène K-ras. De même, les inhibiteurs de cyclooxygénases inhibent la croissance de cellules

humaines de cancer du poumon in vitro et sur des modèles animaux. On peut donc émettre l'hypothèse que les dérivés du métabolisme de l'acide arachidonique interviennent dans le processus tumoral au niveau du poumon.

Une étude s'est intéressée aux effets du célécoxib sur un cancer du poumon induit chez des souris [105]. Des cellules cancéreuses ont été injectées aux animaux qui ont ensuite suivi un régime alimentaire normal ou un régime supplémenté en célécoxib. Au bout de trente jours, le célécoxib a provoqué une diminution dose-dépendante du volume de la tumeur primaire et aux plus hautes doses, il a réduit la taille et le nombre de métastases pulmonaires.

Des études épidémiologiques révèlent que les AINS, y compris l'aspirine, diminuent le risque de cancer du poumon. De plus, des recherches effectuées sur des adénomes et des adénocarcinomes pulmonaires montrent une augmentation de l'expression de la cyclooxygénase 2 à ce niveau.

Ainsi, la cyclooxygénase 2 peut constituer une nouvelle cible thérapeutique dans le traitement et la prévention du cancer du poumon, chez les fumeurs ou non fumeurs. Une étude est actuellement réalisée aux USA pour évaluer l'efficacité des inhibiteurs de la cyclooxygénase 2 chez des fumeurs à haut risque cancérigène.

#### 4. Cancer de la prostate [105]

In vitro, des études ont révélé que l'inhibition sélective de la cyclooxygénase 2 induisait l'apoptose sur des cellules cancéreuses prostatiques. Une autre étude s'est intéressée à l'effet du rofécoxib sur une lignée de cellules prostatiques cancéreuses et sur une lignée de cellules prostatiques normales. On a alors observé une diminution de la prolifération au niveau de la première lignée mais aucun effet sur la seconde.

In vivo, des analyses immunohistochimiques ont permis d'évaluer l'expression de la cyclooxygénase 1 et de la cyclooxygénase 2 dans des tumeurs prostatiques. Aucune différence significative dans l'expression de la cyclooxygénase 1 n'a été observée entre le tissu normal et le tissu cancéreux. Par contre, l'expression de la cyclooxygénase 2 était beaucoup plus importante dans le tissu cancéreux par rapport au tissu normal. De plus, la cyclooxygénase 2 était présente en quantité beaucoup plus importante au niveau des lésions précurseurs du cancer prostatique.

Ces différents travaux permettent donc d'envisager un rôle potentiel des coxibs dans la prévention et le traitement du cancer de la prostate. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour établir par quels mécanismes ils agissent.

## 5. Cancer du sein [105]

Les prostaglandines sont impliquées dans le développement du cancer du sein. En effet, des cultures de lignées cellulaires cancéreuses mammaires ainsi que des études sur des modèles révèlent une augmentation de l'expression des prostaglandines ainsi que de la cyclooxygénase 2 par rapport aux tissus normaux. De plus, l'addition d'hormones à des cultures de cellules cancéreuses mammaires d'origine humaine ou animale induit une expression de prostaglandines.

Un ensemble d'études s'est intéressé au rôle des prostaglandines dans la prolifération, la migration, le pouvoir invasif et angiogénique d'une lignée cellulaire tumorale mammaire d'origine animale. Les résultats ont d'abord montré une expression importante de la cyclooxygénase 2 et de son ARNm ainsi que des taux élevés de prostaglandine PGE2. De plus, l'addition d'un inhibiteur sélectif de la cyclooxygénase 2 au milieu de culture a inhibé la migration ainsi que l'angiogénèse alors qu'un inhibiteur sélectif de la cyclooxygénase 1 n'a eu aucun effet.

Le mécanisme par lequel les prostaglandines interviennent dans le cancer du sein n'est pas clairement établi mais il semblerait qu'il fasse intervenir le récepteur de la PGE2. En effet, des travaux ont mis en évidence que les cancers du sein à un stade avancé et métastatique exprimaient souvent une mutation au niveau du gène de ce récepteur.

Dans une étude, une tumeur mammaire a été induite chez le rat par l'injection de diméthylbenzanthracène (substance carcinogène) pour évaluer l'effet préventif du célécoxib. Les animaux ont reçu un régime alimentaire normal ou un régime supplémenté en ibuprofène ou en célécoxib durant une semaine avant l'injection unique de substance carcinogène. L'ibuprofène et le célécoxib ont tous deux permis une diminution significative de l'incidence tumorale. Cependant, la réduction observée dans le groupe ayant reçu le célécoxib est plus importante que celle du groupe sous ibuprofène.

D'autres travaux ont démontré que le célécoxib a également un effet curatif sur une tumeur mammaire induite par la même substance carcinogène chez le rat.

Chez la femme, la cyclooxygénase 2 est surexprimée dans plus de 56% des cancers du sein. Il est intéressant de noter que la cyclooxygénase 2 est plus présente au stade primaire du carcinome qu'au stade métastatique. La cyclooxygénase 2 semble donc jouer un rôle plus important au début de la carcinogénèse.

Plusieurs études sont en cours pour déterminer l'efficacité du célécoxib au stade précancéreux mais également au stade invasif du cancer du sein.

## 6. Cancer gastrique [44, 74, 105]

Plusieurs études suggèrent que l'infection à *Helicobacter pylori* prédispose au cancer gastrique. Des chercheurs se sont intéressés à la relation possible entre l'expression de la cyclooxygénase 2 et une mutation sur le gène p53. Sur 39 patients souffrant d'un cancer de l'estomac, 19 (soit 49%) ont une augmentation de l'expression de la cyclooxygénase 2 ainsi que la mutation du gène p53. De plus, chez ces patients, la pathologie est plus agressive avec une invasion lymphatique plus importante et des métastases plus nombreuses. La mutation du gène p53 semble donc provoquer une augmentation de l'expression de la cyclooxygénase 2 dans le carcinome gastrique.

D'autres études révèlent qu'il existe une corrélation entre l'expression de la cyclooxygénase 2 et l'importance de l'invasion tumorale.

Ainsi, les inhibiteurs de la cyclooxygénase 2 pourraient avoir une action préventive chez les patients souffrant d'une infection à *Helicobacter pylori* mais des études supplémentaires sont nécessaires.

## 7. Cancer de la vessie [105]

Des études récentes sur des animaux ont révélé que les inhibiteurs spécifiques ou non de la cyclooxygénase 2 réduisaient l'incidence du cancer de la vessie induit par des substances carcinogènes. D'autres travaux sur des animaux ont révélé quant à eux que l'expression de la cyclooxygénase 1 était identique dans les tissus normaux et cancéreux de la vessie mais que la cyclooxygénase 2 n'était exprimée que dans le carcinome.

Des chercheurs ont montré que le célécoxib pouvait inhiber le cancer de la vessie induit chimiquement chez des rats. En effet, les rats ayant reçu du N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine ont développé un cancer de la vessie contrairement aux rats ayant reçu un placebo. Cependant, les animaux traités sept jours avant le début des douze injections hebdomadaires de la substance carcinogène ont observé une diminution de 75% de l'incidence de cancer par rapport à ceux n'ayant pas eu de traitement supplémentaire. Il n'y a pas eu de diminution dans le développement des lésions prénéoplasiques, ce qui laisse supposer que la cyclooxygénase 2 n'agit pas au début de la carcinogenèse mais plutôt dans les différents stades de développement.

Chez l'homme, la cyclooxygénase 2 est exprimée dans les cellules cancéreuses mais pas dans le tissu normal de la vessie.

Des études sont réalisées pour connaître l'efficacité du célécoxib sur le cancer de la vessie.

#### 8. Cancer de l'œsophage [44, 105]

Des travaux ont montré que l'aspirine retarde la croissance cellulaire d'une culture de cellules cancéreuses de l'œsophage et que cette inhibition est dose et temps dépendante.

In vitro, le rofécoxib induit l'apoptose sur plusieurs lignées cellulaires d'adénocarcinomes œsophagiques. De plus, il a été démontré qu'il existe une relation entre l'apoptose et l'importance de l'expression de la cyclooxygénase 2.

In vivo, des biopsies ont été réalisées sur des patients souffrant du syndrome de Barrett et sur des sujets sains. On a observé une augmentation de 41% de l'expression de la cyclooxygénase 2 en cas de syndrome de Barrett et par contre, la cyclooxygénase 2 était absente au niveau des tissus sains adjacents.

Une étude est actuellement réalisée pour déterminer l'efficacité et la tolérance du célécoxib dans le traitement du syndrome de Barrett.

#### 9. Cancer pancréatique [105]

Sur une culture de cellules cancéreuses pancréatiques, des inhibiteurs non spécifiques de la cyclooxygénase 2 ainsi que le rofécoxib ont réduit la prolifération cellulaire de manière dose-dépendante.

Chez l'homme, des prélèvements de tissus cancéreux pancréatiques révèlent une expression importante de la cyclooxygénase 2 comparés à des prélèvements issus des tissus pancréatiques adjacents normaux.

Des études sont nécessaires pour évaluer l'intérêt des coxibs dans le traitement du cancer pancréatique.

## B - Coxibs et maladie d'Alzheimer

### I. Physiopathologie de la maladie d'Alzheimer [59]

La maladie d'Alzheimer touche plus de 12 millions de personnes dans le monde et constitue un problème de santé publique majeur. En effet, l'avancée en âge représente le principal facteur de risque de cette maladie et l'augmentation de son incidence devient préoccupante dans les pays industrialisés.

La maladie d'Alzheimer est une pathologie cérébrale neurodégénérative, caractérisée par un déclin progressif de l'ensemble des fonctions cognitives. Elle conduit à terme à une perte totale de l'autonomie des sujets atteints.

Elle est caractérisée par 3 types de lésions situées au niveau de l'hippocampe, l'amygdale et du cortex cérébral associatif :

Les dégénérescences neurofibrillaires

Les plaques séniles neuritiques

La réduction synaptique

- les dégénérescences neurofibrillaires :

Ce sont des enchevêtrements fibrillaires au niveau neuronal constitués de filaments en double hélice. Ils sont essentiellement constitués de la protéine tau anormalement phosphorylée et dont les propriétés fonctionnelles sont altérées.

- les plaques séniles neuritiques :

Elles sont constituées d'un peptide  $\beta$ -amyloïde caractérisé par sa conformation plissée en feuillets  $\beta$  et issu du catabolisme d'un précurseur protéique, l'APP (Amyloïd Protein Precursor).

- la réduction synaptique :

Elle semble liée aux dégénérescences neurofibrillaires et à l'activation astrogliale au sein des plaques neuritiques.

## II. Composante inflammatoire de la maladie d'Alzheimer [18, 26, 38, 61, 69, 76]

Plusieurs études révèlent que la maladie d'Alzheimer est une pathologie dégénérative chronique à composante inflammatoire, ceci étant prouvée par la présence de cellules inflammatoires chez les sujets atteints.

Ainsi, les cellules microgliales que l'on trouve au niveau des plaques séniles neuritiques d'un sujet souffrant de la maladie d'Alzheimer sont activées contrairement à celles situées dans les plaques séniles de sujets normaux. Or, une fois activées, ces cellules microgliales synthétisent des molécules inflammatoires comme par exemple, les protéines du complément, certaines cytokines, des protéines de la phase aigue de l'inflammation ou encore des prostaglandines. Toutes ces molécules sont trouvées en concentration élevée dans le cerveau des patients souffrant de la maladie d'Alzheimer et pourraient donc jouer un rôle neurotoxique.

### 1. Les protéines du complément

Le système du complément semble pouvoir être activé directement par le peptide  $\beta$ -amyloïde. Une fois activés, les fragments du complément interagissent avec les récepteurs situés à la surface des cellules microgliales et induisent la formation de substances toxiques pour le neurone. De plus, les protéines qui régulent l'activité du complément comme le C1 inhibiteur, la vitronectine ou la protectine sont également présentes en grande quantité dans le cerveau des malades et jouent probablement un rôle important dans la physiopathologie de la maladie.

### 2. Les cytokines et les protéines de la phase aigue de l'inflammation

Les cytokines pro-inflammatoires comme le  $\text{TNF}\alpha$ , l' $\text{IL-1}\alpha$  et l' $\text{IL-6}$  sont présentes au niveau des plaques séniles et leur concentration est élevée dans le cerveau et le liquide céphalo-rachidien des patients atteints de la maladie d'Alzheimer. L' $\text{IL-6}$ , synthétisée par les

astrocytes activés, semble stimuler la synthèse du précurseur amyloïde tandis que le TGF $\beta$  favorise plutôt son dépôt sous forme de protéine  $\beta$ -amyloïde.

Le TNF $\alpha$  serait responsable de la démyélinisation.

L'IL-1 $\beta$  serait capable de favoriser la transformation des plaques diffuses en plaques matures.

L'IL-6 est également un inducteur puissant de la synthèse des protéines de la phase aigüe de l'inflammation comme l' $\alpha$ 1-antichymotrypsine ou la protéine C réactive qui sont trouvées en grande quantité dans le cerveau des malades. L' $\alpha$ 1-antichymotrypsine semble permettre la synthèse de la protéine  $\beta$ -amyloïde à partir de son précurseur mais également, en raison de ses propriétés inhibitrices de protéases, inhiber la dégradation de la substance amyloïde.

La présence de lymphocytes T dans le tissu cérébral des malades suggère la participation de l'immunité à médiation cellulaire. Cette hypothèse est confortée par l'augmentation de la réponse cytotoxique des cellules NK des patients vis à vis de l'IL-2 et des IFN $\beta$  et  $\gamma$ .

### III. AINS et maladie d'Alzheimer [8, 59]

Plusieurs études évoquent l'action protectrice des AINS envers la maladie d'Alzheimer.

Ainsi dans une étude regroupant 210 malades souffrant d'Alzheimer, ceux sous AINS ou aspirine (n=32) ont développé plus lentement la maladie que les patients n'ayant pas pris d'AINS (n=177) [8].

Une autre étude en double aveugle menée durant six mois a regroupé 44 patients souffrant d'une maladie d'Alzheimer légère à modérée [59]. Chez les patients sous indométacine (100-150mg par jour), on a pu remarquer un déclin des fonctions cognitives moindre que celui observé dans le groupe n'ayant pas reçu d'indométacine.

Il y a quelques années, une étude de grande ampleur a démontré que la diminution du risque relatif (RR) de la maladie d'Alzheimer était proportionnelle à la durée d'utilisation des AINS. En effet, chez les patients sous AINS, le RR de la maladie d'Alzheimer était de 0,65 en cas d'utilisation inférieure à deux ans et de 0,4 en cas d'utilisation des AINS sur une période supérieure à deux ans. En ce qui concerne les sujets sous aspirine, le RR de développer la maladie d'Alzheimer est inférieur à celui observé dans le groupe de référence mais n'est pas diminué par l'utilisation prolongée d'aspirine (cf figure 26).

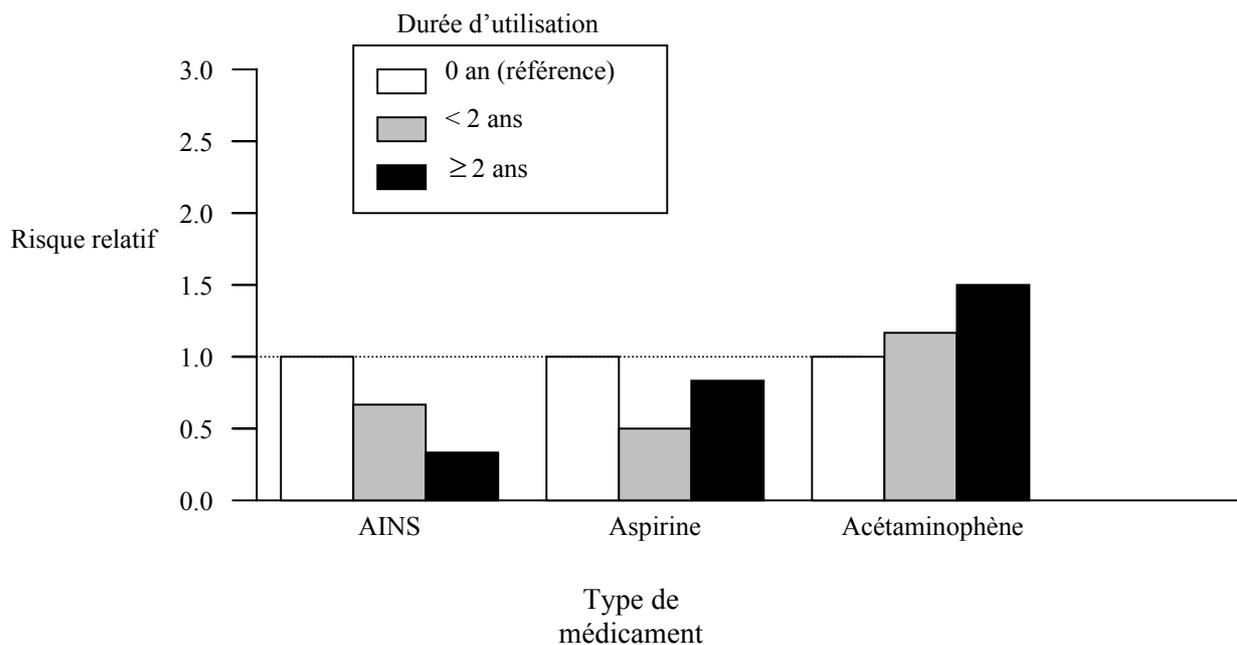


Figure 26 : Risque relatif de maladie d'Alzheimer selon le type de médicament et la durée d'utilisation [59]

Les AINS semblent donc réduire le risque de développer la maladie d'Alzheimer et cela de façon corrélée à leur durée de prescription. Ils semblent également retarder l'âge de début de la maladie dans les familles à risque et ralentir la dégradation cognitive. Or, ce risque relatif plus faible est observé lors d'un traitement par AINS classique à posologie anti-inflammatoire (inhibition des cyclooxygénases 1 et 2) alors que l'aspirine, à posologie anti-agrégante plaquettaire (inhibition sélective de la cyclooxygénase 1) n'a pas cette propriété ; suggérant l'intérêt de l'inhibition sélective de la cyclooxygénase 2 dans cette maladie.

D'autre part, même si une expression basale de la cyclooxygénase 2 est observée dans les neurones et les astrocytes, la cyclooxygénase 2 n'est exprimée dans les cellules microgliales qu'en cas d'activation par l'IL-1, le TNF $\alpha$ , le LPS ou le FGF $\beta$ . La cyclooxygénase 2, contrairement à la cyclooxygénase 1 est surexprimée dans les régions cérébrales affectées par la maladie d'Alzheimer et elle rend les neurones plus sensibles à la toxicité de la protéine  $\beta$ -amyloïde.

Ces résultats suggèrent donc que la production de prostaglandines par les cellules inflammatoires via la cyclooxygénase 2 pourraient participer au développement de la maladie d'Alzheimer.

#### IV. Mécanisme d'action des AINS sur la maladie d'Alzheimer

##### 1. Action au niveau des prostaglandines et du glutamate [73, 116]

L'altération d'un neurone induit la libération présynaptique de glutamate, l'activation des récepteurs NMDA puis l'activation des phospholipases A2 qui libèrent l'acide arachidonique. Celui-ci sert de substrat à la cyclooxygénase 2 qui le transforme en prostaglandines, notamment PGE2. Ces prostaglandines peuvent donc stimuler les astrocytes et les cellules microgliales qui produisent alors des substances potentiellement neurotoxiques. Les prostaglandines pourraient également inhiber la recapture du glutamate, ce qui pourrait conduire à la dégradation neuronale via les récepteurs NMDA.

L'ensemble de ce mécanisme permet donc de supposer que les AINS pourraient exercer leur action protectrice vis à vis de la maladie d'Alzheimer, d'une part en réduisant la production de prostaglandines et d'autre part en favorisant la recapture du glutamate, inhibant de ce fait la neurotoxicité médiée par l'activation des récepteurs NMDA.

##### 2. Action au niveau des radicaux libres [42]

De nombreux travaux révèlent un rôle possible des espèces radicalaires dans la dégénérescence neuronale de la maladie d'Alzheimer. Les radicaux libres sont essentiellement synthétisés par le métabolisme mitochondrial mais également lors de la transformation de l'acide arachidonique en prostaglandines par les cyclooxygénases. La cyclooxygénase 2 pourrait ainsi favoriser la mort neuronale en induisant la production radicalaire et les AINS pourraient agir à ce niveau en inhibant la réaction d'oxydation conduisant à la formation des radicaux libres.

##### 3. Action au niveau des cytokines [43, 95]

On a observé une augmentation de production de l'IL-1 $\beta$  dans le cerveau des malades souffrant de la maladie d'Alzheimer. Or l'IL-1 $\beta$  semble capable de diminuer l'activité des neurones de l'hippocampe mais aussi d'activer les astrocytes. De plus, la cyclooxygénase 2 qui est exprimée de façon constitutive au niveau neuronal, est aussi exprimée dans les

astrocytes stimulés par l'IL-1 $\beta$  et de façon dose dépendante. En plus d'inhiber l'activité de la cyclooxygénase 2 au niveau des astrocytes, les AINS pourraient donc avoir un effet inhibiteur direct sur certains effets de l'IL-1 $\beta$ . Cette hypothèse a été émise pour expliquer la capacité de l'indométacine à inhiber la synthèse de la protéine  $\beta$ -amyloïde à partir de son précurseur et sous l'effet de l'IL-1 $\beta$ .

Chez les sujets sains, les plaques séniles ne contiennent pas d'IL-6 alors que celle-ci est exprimée dans les plaques séniles au début de la maladie d'Alzheimer et également au niveau des plaques matures de la pathologie. Plusieurs études réalisées sur des souris transgéniques surexprimant l'IL-6, révèlent son rôle possible dans la neurodégénérescence. Or l'augmentation de production de l'IL-6 pourrait faire intervenir les prostaglandines puisque des études ont montré que la PGE2 synthétisée par des cellules microgliales est capable de stimuler la formation d'IL-6 par des neurones du cortex.

Les inhibiteurs des cyclooxygénases et en particulier de la cyclooxygénase 2 pourraient ainsi réduire la synthèse d'IL-6 et donc agir sur la neurodégénérescence observée dans la maladie d'Alzheimer.

#### 4. Action au niveau de l'apoptose [108]

Des travaux montrent qu'une crise épileptique provoquée chez le rat par l'injection d'une substance chimique entraîne l'expression de la cyclooxygénase 2 ainsi qu'une apoptose cellulaire au niveau de l'hippocampe. On peut alors supposer que l'expression de la cyclooxygénase 2 est associée à l'apoptose neuronale et donc que les inhibiteurs de cyclooxygénase 2 pourraient agir sur cette apoptose.

Cette observation qui révèle une activité pro-apoptique de la cyclooxygénase 2 contraste avec l'action anti-apoptique constatée dans les tissus cancéreux. En effet, il a été mis en évidence que dans de nombreux tissus cancéreux, la surexpression de la cyclooxygénase 2 est associée à une résistance à l'apoptose cellulaire. On peut alors émettre l'hypothèse que la cyclooxygénase 2 diminue l'apoptose en cas de prolifération cellulaire exagérée (pathologie cancéreuse) et l'augmente en présence d'une dégénérescence cellulaire accrue (maladie d'Alzheimer) (cf figure 27).

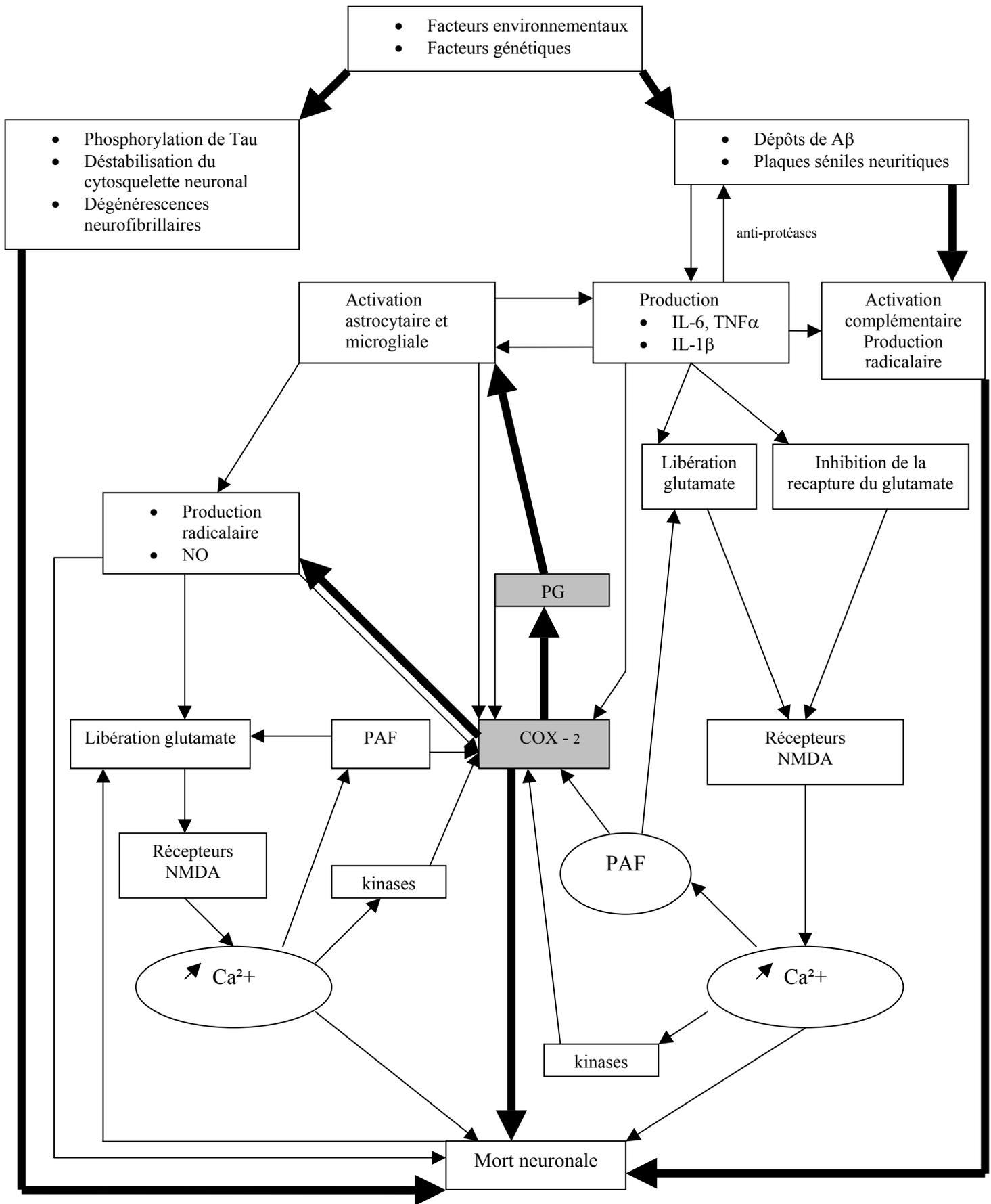


Figure 27 : Implication possible de la cyclooxygénase 2 (COX-2) dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer [108]

## V. Limites concernant l'utilisation des coxibs dans la maladie d'Alzheimer

### 1. Rôle physiologique de la cyclooxygénase 2 [1, 46, 108]

Même si les prostaglandines produites par la cyclooxygénase 2 dans les astrocytes et les cellules microgliales semblent jouer un rôle dans l'inflammation observée en cas de maladie d'Alzheimer, la cyclooxygénase 2 semble également très importante dans la physiologie cérébrale. En effet, à l'état basal elle est exprimée au niveau neuronal et permet la production de prostaglandines qui interviennent également dans la physiologie cérébrale. Ainsi, les prostaglandines obtenues à partir de la cyclooxygénase 2 semblent intervenir dans la nociception, le cycle veille-sommeil, la régulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire. De plus, elles participent à la régulation de la libération synaptique des neurotransmetteurs ou à la protection neuronale. En effet, il a été montré que la PGE2 et la prostacycline produites dans le cerveau en cas d'agression semblent capables de protéger les neurones contre l'hypoxie, le glutamate et certaines substances toxiques. De même, l'expression de la cyclooxygénase 2 augmente dans les neurones du cortex en cas d'ischémie-reperfusion ou d'inflammation périphérique par exemple.

D'autre part, la cyclooxygénase 2 semble jouer un rôle primordial dans le développement cortical. Contrairement à la cyclooxygénase 1 dont l'expression est faible chez l'animal nouveau-né et augmente pour atteindre un pic chez l'adulte, la cyclooxygénase 2 est exprimée en grande quantité dans le cerveau des animaux nouveaux-nés (en particulier, dans le néocortex, les structures limbiques et les microvaisseaux) pour ensuite diminuer au stade adulte.

### 2. La cyclooxygénase 2, à la fois neuroprotectrice et neurotoxique [14, 26, 62]

Alors que de nombreux travaux laissent supposer le rôle pathologique des prostaglandines inflammatoires produites au niveau des astrocytes et des cellules microgliales, un petit nombre de chercheurs démontrent l'idée inverse. En effet, ils ont mis en évidence une réduction de la production cérébrale des prostaglandines ainsi qu'une diminution de l'expression neuronale de la cyclooxygénase 2 dans les régions touchées par le processus neurodégénératif, notamment dans les grands neurones de l'hippocampe particulièrement atteints dans la maladie d'Alzheimer. On peut supposer que la diminution

d'expression de la cyclooxygénase 2 est la conséquence de la dégénérescence neuronale ; les neurones en nombre plus restreint exprimant moins de cyclooxygénase 2. Mais on peut également penser que cette diminution d'expression est la cause de la dégénérescence neuronale. En effet, la diminution d'activité neuronale de la cyclooxygénase 2 pourrait induire une moindre activité cellulaire et conduire finalement à l'apoptose cellulaire. Ces résultats permettent donc d'émettre l'hypothèse d'une double fonction de la cyclooxygénase 2. Elle joue un rôle physiologique et neuroprotecteur quand elle est produite à l'état basal par les neurones et les astrocytes et elle devient neurotoxique quand elle est synthétisée par les cellules microgliales activées, que l'on observe notamment dans la maladie d'Alzheimer.

Cette activité contradictoire de la cyclooxygénase 2 pourrait être expliquée en partie par la nature des prostaglandines qu'elle synthétise au niveau des cellules microgliales activées au cours de la maladie d'Alzheimer. En effet, les prostaglandines PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub> et PGF<sub>2</sub> $\alpha$  semblent avoir une action modulatrice sur la neurotransmission alors que la prostacycline semble faciliter la neurotransmission excitatrice au niveau de l'hippocampe.

Une autre explication possible est l'expression de récepteurs différents sur les cellules neuronales et astrocytaires normales par rapport aux cellules neuronales en voie de dégénérescence et aux cellules microgliales activées. En effet, une même prostaglandine, comme par exemple la PGE<sub>2</sub>, est capable d'induire une entrée de calcium intracellulaire via le récepteur EP<sub>1</sub>, une augmentation du taux intracellulaire d'AMPc via EP<sub>2</sub> ou une diminution du taux d'AMPc via EP<sub>3</sub>.

Enfin, la présence en grande quantité de substances capables de réguler l'activité de la cyclooxygénase 2 pourrait constituer un autre mécanisme possible pour expliquer la double fonction de la cyclooxygénase 2 dans la maladie d'Alzheimer. Ces substances sont surtout représentées par le NO (monoxyde d'azote) et l'IFN $\gamma$  qui peuvent être produits par les cellules microgliales. Cependant, le rôle de ces substances n'est pas encore clairement établi. Certains chercheurs pensent que le NO et l'IFN $\gamma$  inhibent la production de prostaglandines par la cyclooxygénase 2 et pourraient faciliter la neurotransmission toxique et entraîner la mort neuronale notamment. D'autres chercheurs proposent que des concentrations faibles de NO pourraient activer les cyclooxygénases alors que des concentrations élevées les inhiberaient.

### 3. Les AINS n'agissent que sur la composante inflammatoire [8, 16]

Si les AINS semblent réduire le risque de développer une maladie d'Alzheimer, probablement en jouant un rôle sur la composante inflammatoire de la pathologie, ils n'ont aucune efficacité sur le mécanisme causal de la neurodégénérescence. En effet, ils réduisent l'activation microgliale, sans pour autant réduire la formation des plaques séniles et des dégénérescences neurofibrillaires qui sont étroitement liées à l'apparition des troubles cognitifs. De plus, d'après une étude récente, les AINS agiraient sur la maladie d'Alzheimer par un mécanisme indépendant de la cyclooxygénase 2 mais qui reste encore à démontrer.

## C - Autres voies de recherche

### I. Coxibs et athéromatose

#### 1. Physiopathologie de l'athéromatose [67, 103, 115]

L'athéromatose est une affection caractérisée par l'accumulation de lipides dans les vaisseaux formant alors des plaques, appelées athéromes. Ceux-ci peuvent oblitérer les artères ou se rompre et provoquer alors un thrombus. L'athéromatose est considérée comme une maladie inflammatoire chronique faisant suite à divers facteurs de risques métaboliques, physiques ou environnementaux comme par exemple l'hypercholestérolémie, l'hypertension artérielle ou le tabac. Cette pathologie fait intervenir des mécanismes à la fois immunitaires et inflammatoires. En effet, des quantités importantes de macrophages, de protéines du complément, de protéine C réactive ainsi que de lymphocytes T activés sont retrouvées au niveau des athéromes. De plus, la rupture de la plaque d'athérome qui est l'événement déterminant dans les phénomènes ischémiques semble surtout corrélée à l'inflammation de cette plaque plutôt qu'à sa morphologie ou au degré de sténose du vaisseau.

Une hypothèse suggère que les macrophages activés digèrent les éléments constituant l'athérome permettant ainsi leur libération dans la lumière des vaisseaux. A partir de cette idée, on peut donc supposer qu'un traitement anti-inflammatoire peut réduire le risque ischémique.

#### 2. Rôles des cyclooxygénases dans l'athéromatose

##### 2.1. La cyclooxygénase 1 [71]

La cyclooxygénase 1 est présente au niveau plaquettaire où elle permet la synthèse du thromboxane, agent vasoconstricteur et agrégant plaquettaire.

## 2.2. La cyclooxygénase 2 [7, 67, 92]

Dans la plupart des études, la cyclooxygénase 2 ne semble pas exprimée par les artères saines mais uniquement par les artères athéromateuses. Elle est surtout présente au niveau des macrophages, des cellules musculaires lisses et des cellules endothéliales. Plusieurs stimuli peuvent induire son expression : des cytokines pro-inflammatoires (l'IL-1 $\beta$ , le TNF $\alpha$ , l'INF $\gamma$ ), le LPS ou des dérivés lipidiques comme le LDL oxydé. Une fois stimulée, la cyclooxygénase 2 va permettre la synthèse de prostaglandines, notamment la PGE2 qui vont favoriser l'apparition d'athérome. En effet, ces prostaglandines vont provoquer une augmentation de la perméabilité vasculaire, une augmentation du chimiotactisme et de la prolifération cellulaire, une augmentation de l'adhésion et de la diapédèse des monocytes. D'autre part, la cyclooxygénase 2, du fait de son activité peroxydasique, peut oxyder les lipides, entraînant alors des modifications du métabolisme lipidique favorisant la formation de l'athérome. Enfin, des travaux révèlent que la cyclooxygénase 2 participe à l'angiogenèse de la plaque d'athérome, permettant ainsi son expansion.

## 3. Utilisation possible des coxibs

### 3.1. Etudes [15, 71]

Des études réalisées chez des volontaires sains ont montré que l'utilisation à dose thérapeutique de coxibs (célécoxib et rofécoxib) pouvait réduire la synthèse de PGI2, prostaglandine anti-agrégante sans agir sur le thromboxane, agrégant plaquettaire. On peut donc supposer que le déséquilibre existant entre les deux molécules augmente le risque de thrombose. Ainsi, l'étude VIGOR a révélé que le risque d'évènements cardiovasculaires était beaucoup plus élevé avec le rofécoxib qu'avec le naproxène. Toutefois d'autres travaux montrent quant à eux que les coxibs n'ont aucune incidence sur le système cardiovasculaire. Une étude récente s'est intéressée aux effets du célécoxib chez des patients souffrant de pathologies coronariennes. Le LDL oxydé ainsi que la protéine C réactive, tous deux impliqués dans l'athéromatose ont été mesurés. Les résultats montrent une diminution des taux de la protéine C réactive et du LDL oxydé, ce qui suppose que les coxibs ont un effet bénéfique sur l'athéromatose. Cependant des travaux supplémentaires sont nécessaires pour conforter cette idée.

### 3.2. Limites [7, 103]

La cyclooxygénase 2 semble également avoir un rôle physiologique au niveau vasculaire. En effet, en cas d'agression, comme par exemple une hypoxie, la synthèse de cyclooxygénase 2 est induite au niveau des cellules endothéliales et permet alors la formation de prostacycline PGI<sub>2</sub>.

De plus, l'expression de la cyclooxygénase 2 par les cellules musculaires lisses est importante puisqu'elle réduit la prolifération de ces cellules et la libération des cytokines.

Ainsi, la cyclooxygénase 2 semble impliquée dans les phénomènes inflammatoires de la plaque d'athéromatose mais également avoir un rôle physiologique important. De nouvelles études sont donc nécessaires pour savoir si les coxibs peuvent être utilisés dans le traitement de l'athéromatose.

## II. Coxibs et asthme induit par l'aspirine [65, 118]

### 1. Physiopathologie

Dans la plupart des cas, l'aspirine est bien tolérée. Les sujets asthmatiques constituent cependant une exception. En effet, 10% des adultes asthmatiques présentent une hypersensibilité à l'acide acétylsalicylique, celle-ci étant plus fréquente chez les femmes et très rare chez les enfants. Cette réaction, appelée asthme induit par l'aspirine, peut également être due à d'autres AINS et se caractérise par des crises d'asthme nécessitant parfois des traitements médicaux d'urgence. Cette pathologie constitue donc un problème important pour soigner des maux aussi classiques que la douleur, la fièvre ou l'inflammation mais également les maladies rhumatismales chez les asthmatiques. Ces patients souffrant d'asthme induit par l'aspirine ont donc besoin d'une alternative thérapeutique aux AINS.

## 2. Mécanisme

Les cyclooxygénases semblent jouer un rôle important dans l'asthme induit par l'aspirine. En effet, durant cette réaction, on peut observer une diminution du taux de prostaglandines et une augmentation des leucotriènes. Au niveau des tissus respiratoires, la cyclooxygénase 1 est exprimée de façon constitutive et permet la synthèse de prostaglandines ayant une activité cytoprotectrice. Il s'agit notamment de la prostaglandine PGE2 qui réduit la synthèse des leucotriènes en inhibant la 5-lipooxygénase. Ainsi, l'aspirine et plus généralement les AINS, en bloquant la voie des cyclooxygénases et surtout la cyclooxygénase 1, vont dévier le métabolisme de l'acide arachidonique vers la voie des leucotriènes et ainsi favoriser l'asthme.

## 3. Etudes

Une étude en double aveugle a été menée sur 60 sujets asthmatiques. Ils ont reçu du célécoxib à la dose de 100, 200mg ou un placebo. Les résultats ont révélé que le célécoxib à chaque dose a été bien toléré par chaque sujet.

Une autre étude s'est intéressée aux effets du rofécoxib chez des sujets asthmatiques présentant une hypersensibilité à l'aspirine ou aux AINS. Elle a mis en évidence que le rofécoxib ne provoque pas de réaction chez ces patients.

## 4. Conclusion

Ainsi les coxibs apparaissent comme une alternative possible aux sujets souffrant d'asthme induit par l'aspirine. Ceci est très important car la plupart des asthmatiques ne savent pas s'ils sont sensibles à l'aspirine ou aux AINS. En effet, contrairement à l'hypersensibilité faisant intervenir les IgE et nécessitant une première exposition à l'allergène, les réactions respiratoires dues à l'aspirine ou aux AINS peuvent se produire dès la première exposition chez les sujets sensibles. Ainsi, de nombreux patients asthmatiques craignent de réagir avec les AINS et reçoivent une thérapie anti-inflammatoire inadaptée. Le célécoxib et le rofécoxib peuvent donc être donnés aux asthmatiques sans craindre de réaction d'hypersensibilité. Toutefois des études supplémentaires sont nécessaires pour le confirmer.

# CONCLUSION

La découverte des deux isoenzymes de la cyclooxygénase constitue une avancée majeure dans la compréhension des mécanismes d'action des AINS. L'inhibition de la cyclooxygénase 1, forme constitutive, est plutôt responsable de leurs effets indésirables gastriques alors que leurs propriétés anti-inflammatoires et analgésiques sont obtenues grâce à l'inhibition de la cyclooxygénase 2, forme inductible. Cette notion de sélectivité pour les isoenzymes de la cyclooxygénase a donc conduit au développement des inhibiteurs spécifiques de la cyclooxygénase 2, les coxibs.

L'intérêt des coxibs repose donc sur une diminution des effets secondaires digestifs tout en conservant une efficacité thérapeutique comparable à celle des AINS classiques.

Deux coxibs sont actuellement disponibles, le célécoxib et le rofécoxib. Ils sont utilisés dans le traitement symptomatique de l'arthrose et de la polyarthrite rhumatoïde. Ils ont ainsi démontré un rapport bénéfice / risque plus favorable que celui des AINS classiques dans ces deux indications du fait d'une meilleure tolérance digestive. D'autres coxibs sont également en cours de développement, notamment le parécoxib, l'étoricoxib et le valdécoxib.

Les coxibs semblent donc constituer un choix de première intention quand un traitement par AINS est nécessaire et ce, quelle que soit la population à traiter. En effet, la plupart des complications digestives graves surviennent chez des patients sans antécédents digestifs. Ne réserver ces molécules qu'aux sujets dits « à risque » ne serait donc pas éthiquement raisonnable.

Toutefois, aujourd'hui, quelques réserves sont émises quant à l'emploi des coxibs. Leur effet cardiovasculaire et leur potentiel néphrotoxique ont été récemment discutés. Il apparaît cependant dans les différentes études menées à ce sujet que les coxibs possèdent un risque cardiovasculaire et un risque rénal comparable à celui des AINS.

D'autre part, l'aspect économique est désormais très important et la prescription des coxibs est très onéreuse. Ainsi, même si certains suggèrent une large utilisation des coxibs à la place des AINS classiques, d'autres proposent de les réserver aux sujets aux antécédents ulcéreux ou ayant un risque plus élevé de complications digestives. Enfin, puisque la cyclooxygénase 2 intervient dans de nombreux processus physiologiques tels la grossesse, l'activité neuronale ou la cicatrisation de l'ulcère gastrique, des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer l'innocuité de la prescription au long cours de ces molécules.

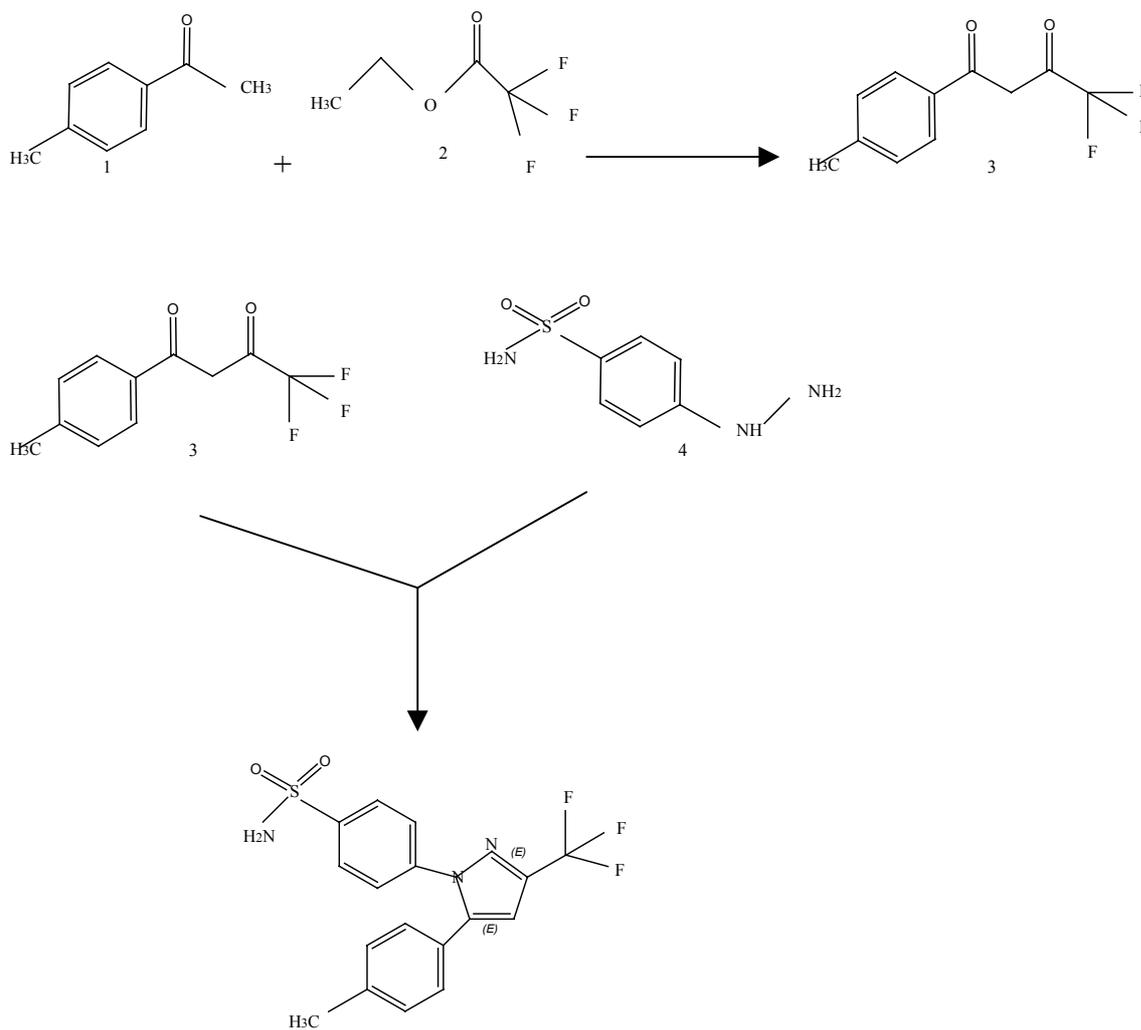
Actuellement il existe de nouvelles voies de recherche concernant les coxibs, notamment dans le domaine oncologique et neuronal. En effet, la cyclooxygénase 2 intervient dans le processus cancéreux et plusieurs travaux révèlent un intérêt potentiel des coxibs dans le traitement des pathologies cancéreuses. D'autre part, dans la maladie d'Alzheimer, il existe

des phénomènes inflammatoires qui sont en partie dépendants de la cyclooxygénase 2. Les coxibs pourraient donc avoir un effet bénéfique dans cette pathologie. Enfin, l'athéromatose et les maladies bronchopulmonaires pourraient constituer de nouvelles indications des coxibs. Aujourd'hui, le rôle exact de la cyclooxygénase 2 dans ces différentes pathologies reste encore à définir mais les coxibs peuvent constituer une alternative thérapeutique intéressante aux traitements existants.

# **ANNEXES**

## ANNEXES 1 :

La condensation du 4-méthylacetophénone (1) avec le trifluoroacétate d'éthyle (2) au moyen du méthanolate de sodium au reflux du méthanol donne le 4,4,4-trifluoro-1-(4-méthylphényl) butane-1,3-dione (3), qui est cyclisé avec le 4-hydrazinophénylsulfonamide (4) au reflux de l'éthanol (1-3).



## ANNEXES 2 :

a) La condensation de l'acide phénylacétique (1) avec du bromoacétate d'éthyle (2) au moyen de triéthylamine dans le THF conduit à l'acide 2-(phénylacétoxy)acétique éthyl ester (3) qui est cyclisé en hydroxyfuranone (4) au moyen de tertibutoxide de potassium dans le tertibutanol. La réaction de (4) avec l'anhydride triflique et le diisopropylethylamine dans le dichlorométhane donne le triflate correspondant (5) qui par réaction avec le bromure de lithium dans l'acétone à chaud conduit au bromofuranone (6). La condensation de (6) avec l'acide 4-(méthylsulfanyl)phénylboronique (7) au moyen du carbonate de sodium et de triphénylphosphine de palladium dans le toluène à chaud donne le 4-[4-(méthylsulfanyl)-phényl]-3-phénylfuran-2(5H)-one (8) qui est finalement oxydé avec l'oxone 2KHSO<sub>5</sub>.KHSO<sub>4</sub>.K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (schéma 1)

b) L'intermédiaire (8) peut également être obtenu par condensation du triflate (5) avec l'acide boronique (7) au moyen de carbonate de sodium et de triphénylphosphine de palladium dans le toluène à chaud. (schéma 1)

c) L'intermédiaire (8) peut également être synthétisé par la réaction du triflate (5) avec le chlorure de tétraméthylammonium donnant le chlorofuranone (9) qui est ensuite condensé avec l'acide boronique (7) comme précédemment. (schéma 1)

d) L'oxydation du 4-(méthylsulfonyl)acétophénone (10) avec l'acide monoperoxyphthalique (MMPP) dans le dichlorométhane/méthanol donne la sulfone (11) correspondante, qui est bromée avec Br<sub>2</sub>/AlCl<sub>3</sub> dans le chloroforme, conduisant au bromure de phénacyl (12) attendu. Finalement, ce composé est cyclocondensé avec l'acide phénylacétique (1) au moyen du 1,8-diarabicyclo-[5.4.0]undec-7-ène (DBU) et de la triéthylamine dans l'acétonitrile (2-4). (schéma 2)

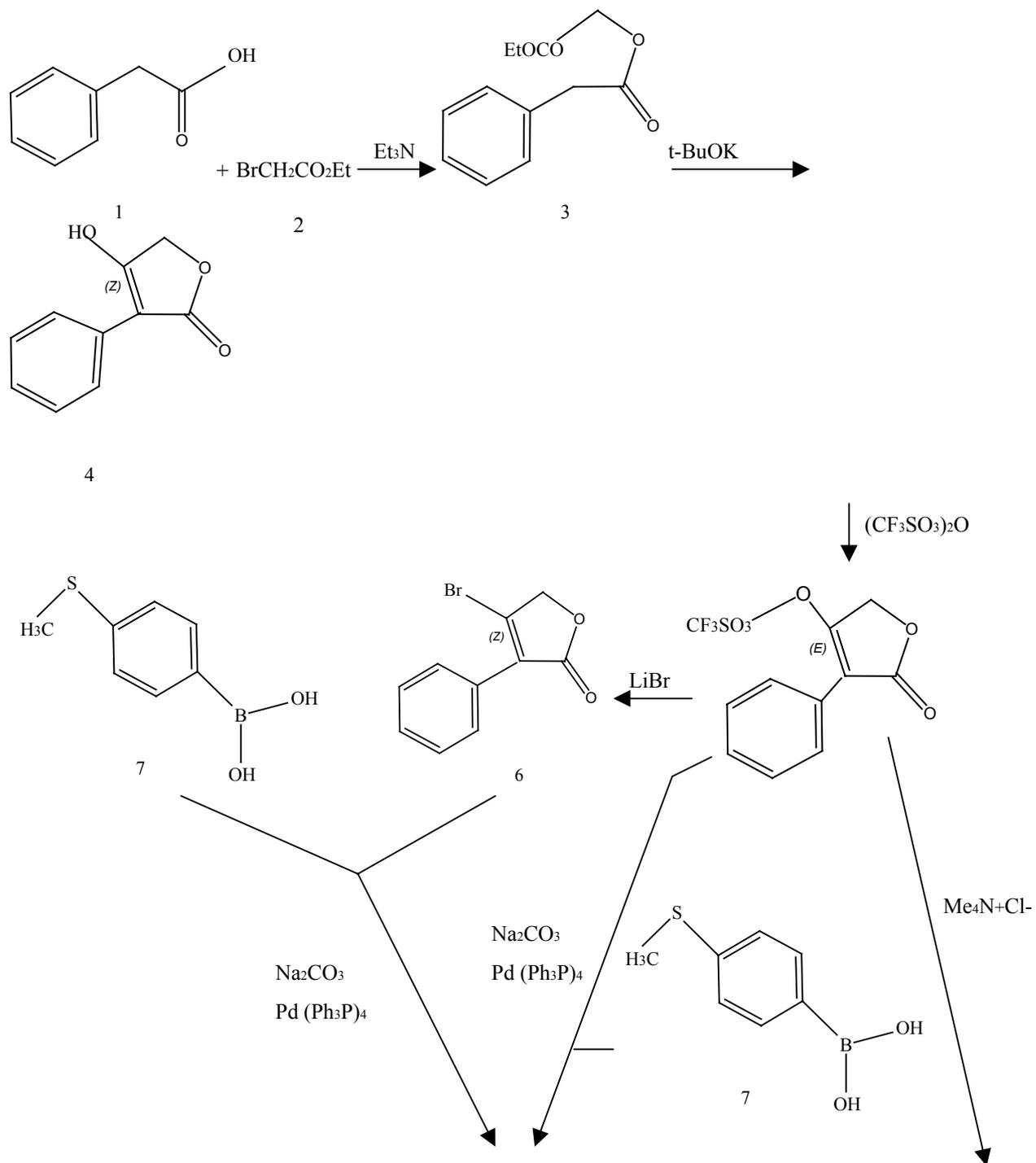
e) La réaction du [4-(méthylsulfonyl)phényl]phénylacétylène (13) avec de l'oxyde de carbone est catalysé par un catalyseur au ruthénium dans le THF à 100°C dans un autoclave en acier inoxydable à une pression de 100atm, et suivi d'une séparation par chromatographie sur colonne de silice pour éliminer le régioisomère non désiré (2,3). (schéma 2)

f) La réaction du 4-bromothioanisole (14) avec le furan-2(5H)-one (15) au moyen du tertibutyllithium/iodure de cuivre dans l'éther d'éthyle, suivie d'une silylation avec le chlorure de triméthylsilyle donne le 4-[4-(méthylsulfonyl)phényl]-2-(triméthylsilyloxy)-3,4-dihydrofuran (16), qui est désilylé avec de l'acétate de palladium dans l'acétonitrile pour donner le furanone (17).

L'iodination du (17) avec du diiodure dans la pyridine conduit à la 3-iodo-4-[4-(méthylsulfonyl)phényl]furan-2(5H)-one (18), qui est condensé avec l'acide phénylboronique (19) au moyen de la triphénylsine et un catalyseur au palladium au reflux du benzène, donnent le 4-[4-(méthylsulfonyl)phényl]-3-phénylfuran-2(5H)-one (8) déjà décrit dans le schéma 1. Finalement, ce composé est oxydé avec le sel de magnésium de l'acide monoperoxyphthalique dans le dichlorométhane/méthanol (2,3). (schéma 3)

g) La condensation de Friedel-Crafts du thioanisole (20) avec le chlorure d'acétylène (21) au moyen d'acide de Lewis  $AlCl_3$  dans le dichlorobenzène donne l'acétophénone (10) correspondant, qui est oxydé avec  $H_2O_2/NO_4NO_2$  à la kétosulfone (11). La bromation de (11) avec le dibromure dans l'acide acétique/48% d'acide bromhydrique donne le bromure de phénacyle (12). Celui-ci est condensé avec le sel de sodium de l'acide phénylacétique (23) dans la diméthylformamide (DMF), donnant l'ester de phénacyle (22). Finalement, ce composé est cyclisé au moyen de la diisopropylamine dans la DMF (5). (schéma 4)

Schéma 1



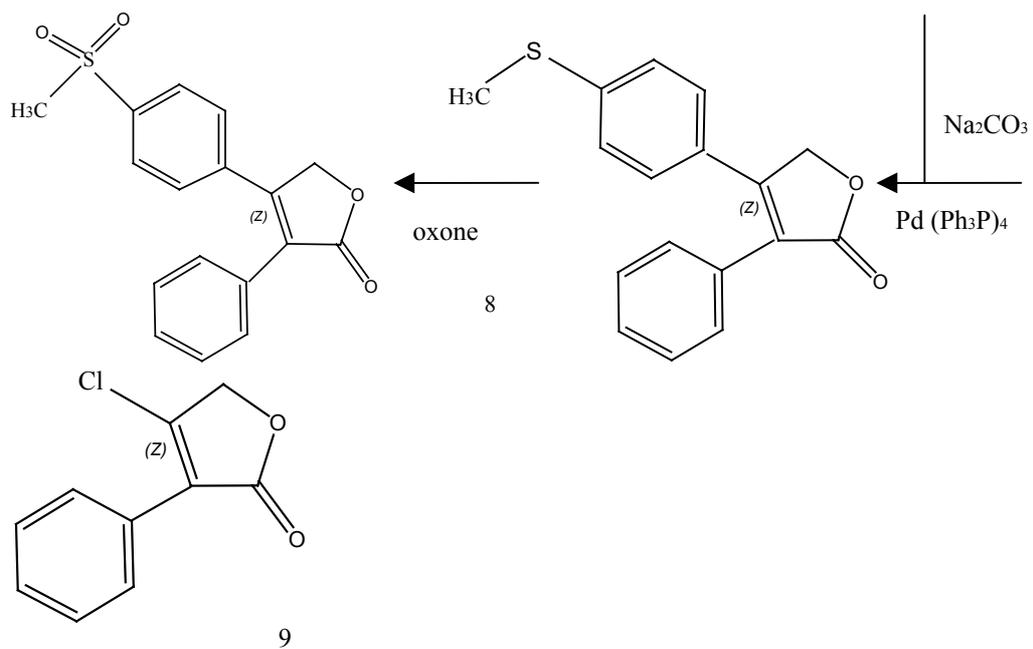
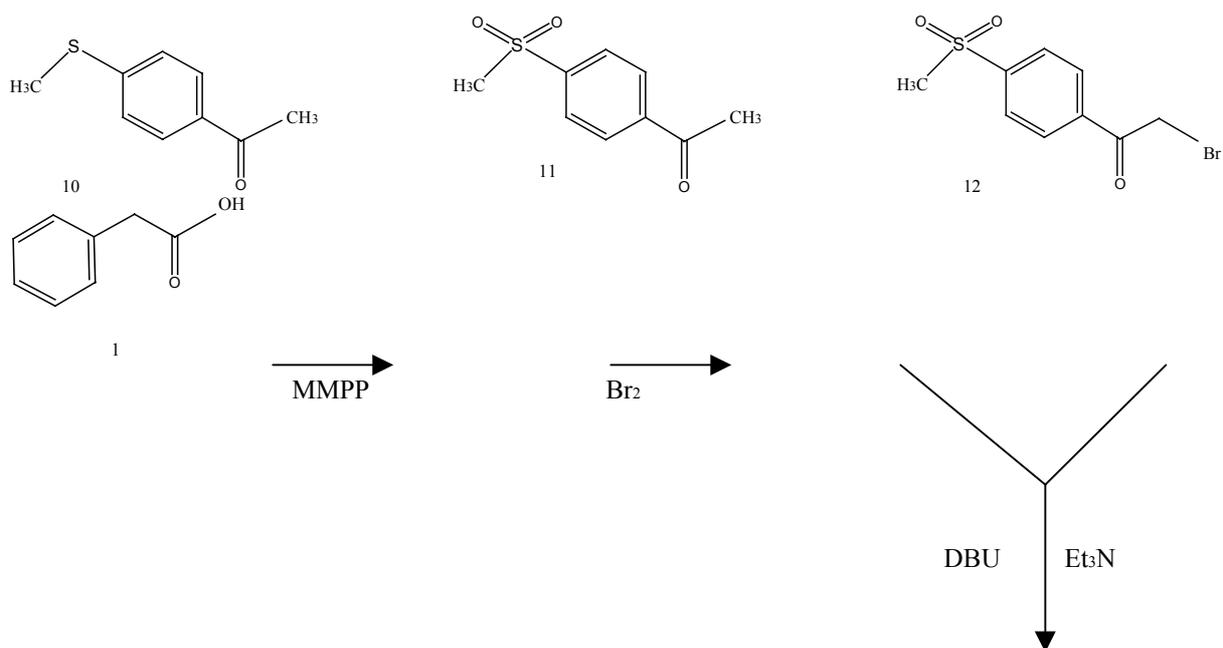


Schéma 2 :



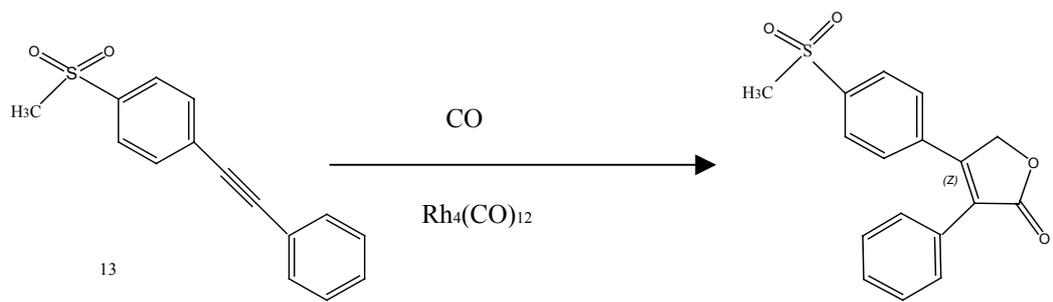
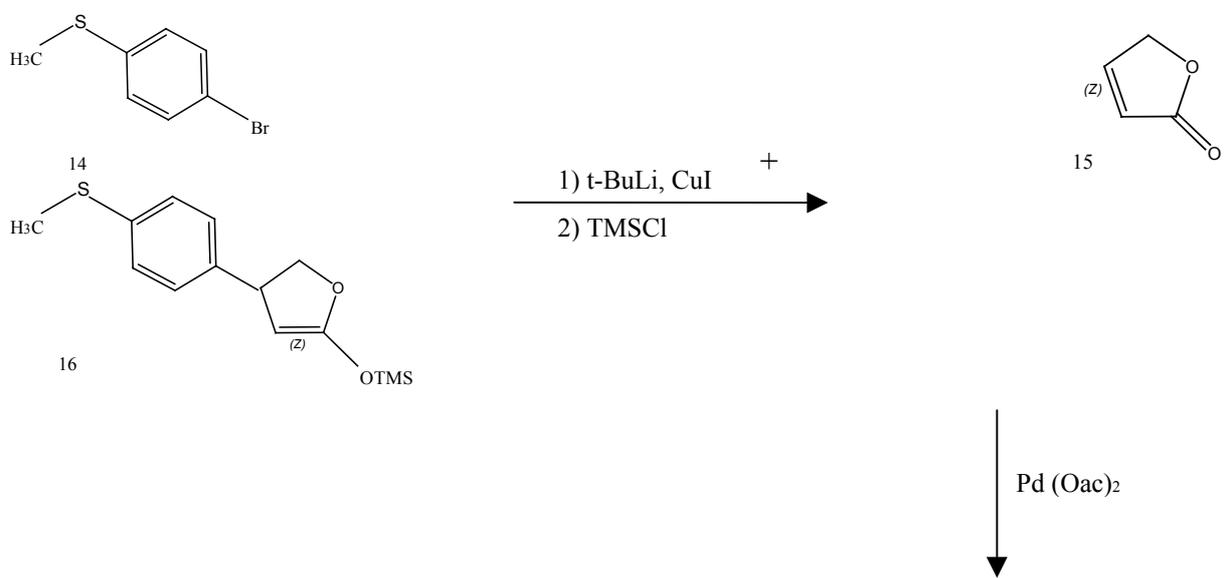


Schéma 3 :



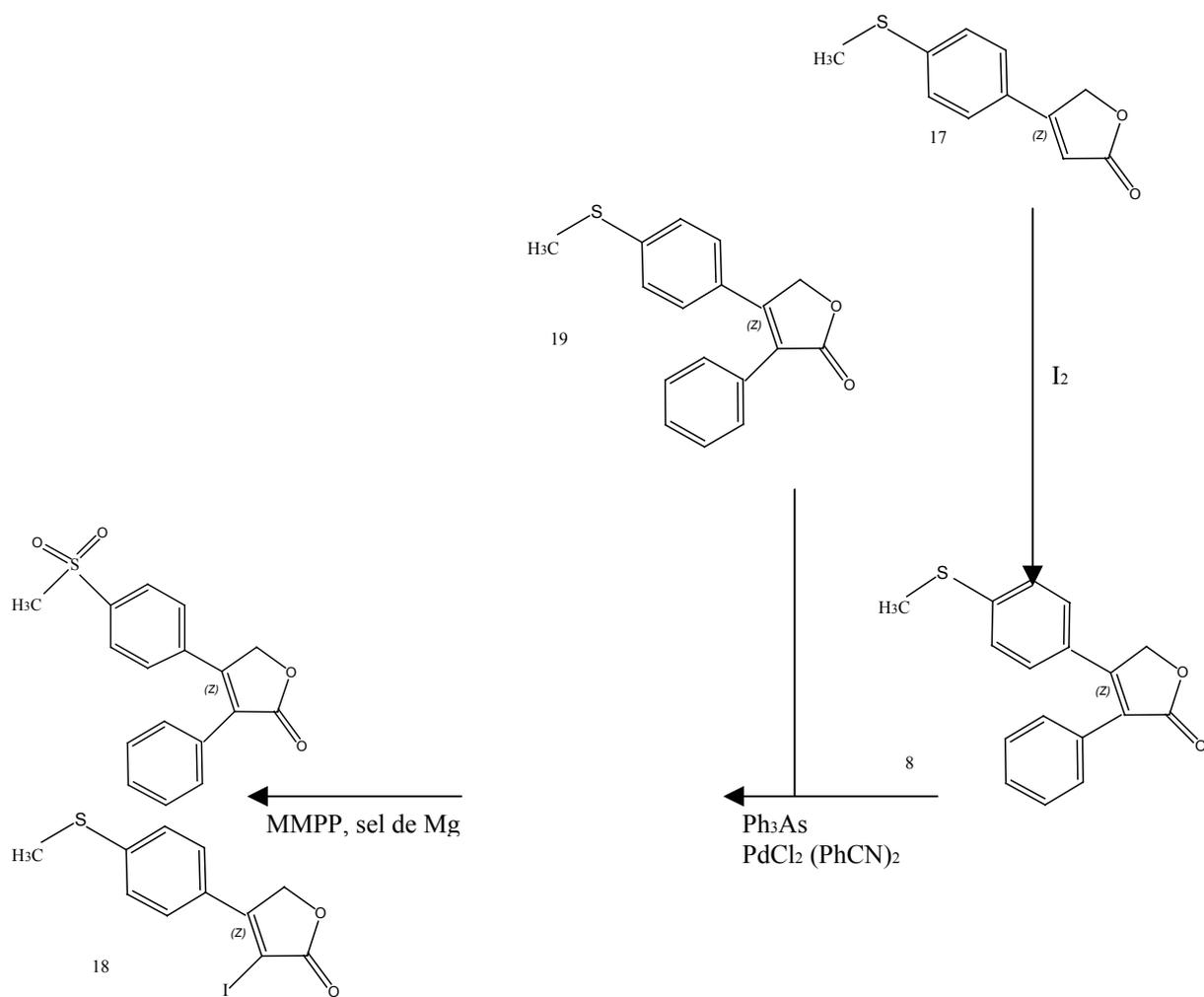
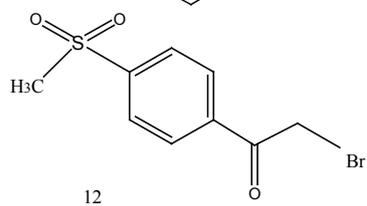
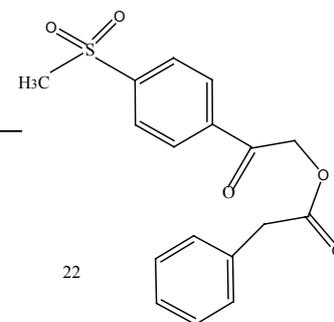
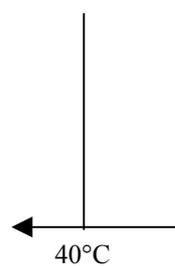
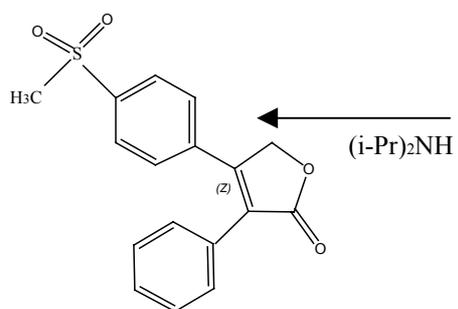
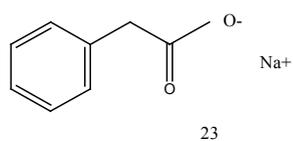
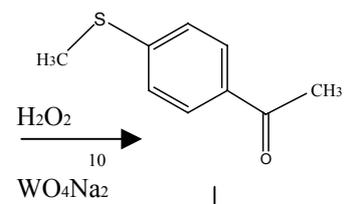
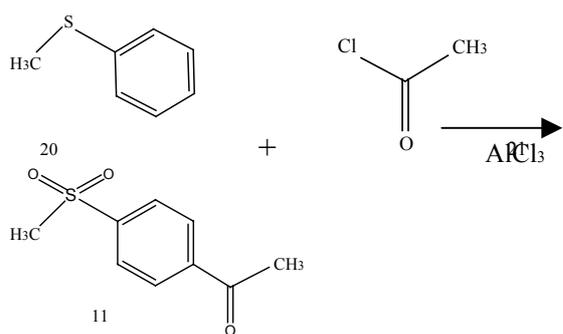


Schéma 4 :



# **LISTE DES FIGURES**

**Figure 1 :** Acide prostanoïque

**Figure 2 :** Structure des prostaglandines

**Figure 3 :** Séries des prostaglandines

**Figure 4 :** Formule de l'acide arachidonique

**Figure 5 :** Cyclooxygénases et synthèse des prostaglandines

**Figure 6 :** Structures des gènes humains de la Cox 1 et de la Cox 2

**Figure 7 :** ARNm et structure protéique de la Cox 1 et de la Cox 2

**Figure 8 :** Différences de structure entre la Cox 1 et la Cox 2

**Figure 9 :** Prostanoïdes et substances apparentées formées à partir de l'acide arachidonique par voie enzymatique et non enzymatique

**Figure 10 :** Schéma du rein

**Figure 11 a) :** Taux de cyclooxygénase 2 dans des tissus gastriques cancéreux et non cancéreux

**Figure 11 b) :** Taux de cyclooxygénase 2 en fonction du développement du cancer gastrique

**Figure 12 :** Variation du volume de la patte selon la substance injectée, en fonction du temps

**Figure 13 :** Exemple théorique d'un inhibiteur préférentiel de la cox 2 sur un test in vitro sans inhibition préférentielle in vivo

**Figure 14 :** Hypothèse à l'origine des inhibiteurs spécifiques de la cyclooxygénase 2

**Figure 15 :** Effets du célécoxib et de l'ibuprofène sur l'activité de la Cox 1 et de la Cox 2 sur un modèle de sang humain

**Figure 16 :** Incidence annuelle des complications d'ulcère et des ulcères symptomatiques sous célécoxib et sous AINS classiques

**Figure 17 a) :** valeurs moyennes de l'évaluation de la douleur arthrosique par le patient sur l'échelle analogue visuelle.

**Figure 17 b) :** valeurs moyennes de l'évaluation globale du patient dans l'étude sur l'arthrose.

**Figure 18 :** Célécoxib versus naproxène et placebo dans la polyarthrite rhumatoïde

**Figure 19 :** Célécoxib versus diclofénac dans la polyarthrite rhumatoïde

**Figure 20 :** Temps de saignement observé après l'administration de 600mg de célécoxib, 500mg de naproxène ou un placebo

**Figure 21 :** Rofécoxib versus diclofénac dans l'arthrose du genou ou de la hanche

**Figure 22 :** Spectre de l'activité biologique de différents AINS

**Figure 23 a) :** Incidence d'ulcères gastro-intestinaux

**Figure 23 b) :** Incidence d'ulcères gastro-intestinaux et/ou érosions

**Figure 24 :** Incidence d'ulcères gastro-duodénaux

**Figure 25 :** Pourcentage de réduction du nombre de polypes colorectaux chez les patients sous célécoxib

**Figure 26 :** Risque relatif de maladie d'Alzheimer selon le type de médicament et la durée d'utilisation

**Figure 27 :** Implication possible de la cyclooxygénase 2 (COX-2 ) dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer

# **LISTE DES TABLEAUX**

**Tableau 1 :** Principales fonctions des prostaglandines produites par Cox 1 et Cox 2

**Tableau 2 :** Similitudes et différences des cyclooxygénases

**Tableau 3 :** Rôles des prostaglandines dérivées de la Cox 1 et de la Cox 2 au niveau stomacal

**Tableau 4 a) :** Concentrations en médicament ( $CI_{50}$ ) inhibant 50% de l'activité de la Cox dans le sang et dans la muqueuse gastrique (en  $\mu\text{M}$ )

**Tableau 4 b) :** Ratios  $CI_{50}$  Cox 2 /  $CI_{50}$  Cox 1 dans le sang

**Tableau 5 :** Célécoxib versus kétoprofène et placebo dans la spondylarthrite ankylosante

**Tableau 6 :** Principaux événements indésirables notifiés lors d'essais comparatifs entre le célécoxib, un placebo, le naproxène, l'ibuprofène et le diclofénac

**Tableau 7 :** Recommandations pour l'utilisation des coxibs

**Tableau 8 :** Caractéristiques des coxibs

**Tableau 9 :** surexpression de la cyclooxygénase 2 dans certaines conditions précancéreuses et cancéreuses

**Tableau 10 :** effets du célécoxib sur l'incidence et le nombre de tumeurs induites chez le rat

# **LISTE DES ABREVIATIONS**

**AA** : acide arachidonique  
**AINS** : anti-inflammatoires non stéroïdiens  
**AMPe** : adénosine monophosphate cyclique  
**ARNm** : acide ribonucléique messenger  
**ASC** : aire sous la courbe  
**CI50** : concentration inhibitrice 50%  
**Cmax** : concentration plasmatique maximale  
**Cox 1** : cyclooxygénase 1  
**Cox 2** : cyclooxygénase 2  
**DE50** : dose efficace 50%  
**EGF** : epidermal growth factor  
**FGF** : fibroblast growth factor  
**FSH** : hormone folliculo-stimulante  
**HTA** : hypertension artérielle  
**IFN** : interféron  
**IL** : interleukine  
**kb** : kilobase  
**kDa** : kilodalton  
**LDL** : low density lipoprotein  
**LH** : hormone lutéinisante  
**LPS** : lipopolysaccharide  
**NK** : natural killer  
**NMDA** : N-méthyl-D-aspartate  
**NO** : monoxyde d'azote  
**PAF-acéther** : platelet activating factor acether  
**PCR** : polymerase chain reaction  
**PG** : prostaglandine  
**TGF** : tumor growth factor  
**TNF** : tumor necrosis factor  
**Tmax** : temps pour obtenir la Cmax  
**TX** : thromboxane  
**UV** : ultra-violet  
**VEGF** : vascular endothelial growth factor

# **BIBLIOGRAPHIE**

**1- Adams J, Collaco-Moraes Y, De Bellerocche J.**

Cyclooxygenase-2 induction in cerebral cortex: an intracellular response to synaptic excitation.

J Neurochem 1996 ; 66 : 6-13.

**2- Arotcarena Ramuntcho.**

Anti-cox 2 : moitié moins de toxicité digestive.

La revue du praticien, médecine générale 2001 ; 15(525) : 256-257.

**3- Bakowsky Volodko, Hanly John G.**

Cox-2 inhibition : Not too hot, not too cold, (perhaps) just right?

Journal of rheumatology 2000 ; 27(12) : 2734-2737.

**4- Bannwarth B.**

AINS inhibiteurs sélectifs de cox-2 : espoirs et incertitudes.

La presse médicale 1999 ; 28(22) : 1180-1187.

**5- Barton Scott F., Langeland Fred F., Snabes Michael C., Lecomte Diane, Kuss Michael E., Dhadda Shobha S., Hubbard Richard C.**

Efficacy and safety of intravenous parecoxib sodium in relieving acute postoperative pain following gynecologic laparotomy surgery.

Anesthesiology 2002 ; 97(2) : 306-314.

**6- Bertin P.**

Les inhibiteurs spécifiques de cyclooxygénase de type 2 : données actuelles.

Actualités pharmaceutiques 2002 ; 409 : 50-53.

**7- Bishop-Bailey David, Pepper John R., Larkin Simon W., Mitchell Jane A.**

Differential induction of cyclooxygenase 2 in human arterial and venous smooth muscle.

Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular biology 1998 ; 18 : 1655-1661.

**8- Blain H., Jouzeau J.Y., Netter P., Jeandel C.**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives.

La revue de médecine interne 2000 ; 21(11) : 978-988.

**9- Buttar Navtej S., Wang Kenneth K.**

The "Aspirin" of the new millenium : Cyclooxygenase 2 inhibitors.

Mayo Clinic Proceedings 2000 ; 75(10) : 1027-1038.

**10- Cannon Grant W., Caldwell Jacques R., Holt Peter, Mc Lean Barry, Seidenberg Beth, Bolognese James, Ehrich Elliot, Mukhopadhyay Suarabh, Daniels Brian.**

Rofecoxib, a specific inhibitor of cyclooxygenase 2, with clinical efficacy comparable with that of diclofenac sodium.

Arthritis and rheumatism 2000 ; 43(5) : 978-987.

**11- Célébrex\*, brochure médicale.**

Searle Pfizer 2000.

**12- Célébrex\***

Inpex 2000.

**13- Chagnon André.**

AINS cox 2 sélectifs : l'étude CLASS.

Concours médical 2000 ; 122(37) : 2598-2599.

**14- Chang JW, Coleman PD, O'Banion K.**

Prostaglandins G/H synthase 2 (cyclooxygenase 2) mRNA expression is decreased in Alzheimer's disease.

Neurobiol Aging 1996 ; 17 :801-808.

**15- Chenevard Remy, Hürlimann David, Bechir Markus, Enseleit Franck, Spieker Lukas, Hermann Matthias, Riesen Walter, Gay Steffen, Gay Renate E., Neidhart Michel, Michel Beat, Lüscher Thomas F., Noll georg, Ruschitzka Franck.**

Selective Cox 2 inhibition improves endothelial function in coronary artery disease.

Circulation 2003 ; 107(3) : 405-415.

**16- Citron Martin.**

Alzheimer's disease : treatments in discovery and development.

Nature neuroscience 2002 ; 5 : 1055-1057.

**17- Clemett Delyth, Goa Karen L.**

Celecoxib : a review of its use in osteoarthritis, rheumatoid arthritis and acute pain.

Drugs 2000 ; 59(4) : 957-980.

**18- Cochran FR, Vitek MP.**

Neuroinflammatory mechanisms in Alzheimer's disease : new opportunities for drug discovery.

Expert Opin Invest Drugs 1996 ; 5 : 449-455.

**19- Cryer B., Feldman M.**

Cyclooxygenase 1 and cyclooxygenase 2 selectivity of widely used nonsteroidal anti-inflammatory drugs.

Am j Med 1998 ; 104 : 413-421.

**20- Dalen James E.**

Selective cox 2 inhibitors, NSAIDs, Aspirin, and myocardial infarction.

Archives of internal medicine 2002 ; 162(10) : 1091-1092.

**21- Dang Chau T., Shapiro Charles L., Hudis Clifford A.**

Potential role of selective cox 2 inhibitors in cancer management.

Oncology 2002 ; 26(5 suppl 4) : 30-34.

**22- Schéma du rein**

Davidson médecine interne : 419.

**23- Desjardins Paul J., Grossman Evie H., Kuss Michael E., Talwalker Sheela, Dhadda Shobha, Baum douglas, Hubbard Richard C.**

The injectable cyclooxygenase 2 specific inhibitor parecoxib has analgesic efficacy when administered preoperatively.

Anesthesia and Analgesia 2001 ; 93(3) : 721-727.

**24- Dougados M., Behier JM., Jolchine I., Calin A., Van Der Heijde D., Olivieri I., Zeidler H., Herman H.**

Efficacy of celecoxib, a cyclooxygenase 2 specific inhibitor in the treatment of ankylosing spondylitis : a six week controlled study with comparison against placebo and against a conventional non steroidal antiinflammatory drug.

Arthritis Rheum 2001 ; 44 : 180-185.

**25- Dubois Raymond N., Abramson Steven B., Crofford Leslie, Gupta Rajnish A., Simon Lee S., Van De Putte Leo B. A., Lipsky Peter E.**

Cyclooxygenase in biology and disease.

FASEB Journal 1998 ; 12(12) : 1063-1073

**26- Eikelboom P., Veerhuis R.**

The role of complement and activated microglia in the pathogenesis of Alzheimer's disease.

Neurobiol Aging 1996 ; 17 : 673-680.

**27- Emery P., Zeidler H., Kvien TK., Guslandi M., Naudin R., Stead H., Verburg KM., Isakson PC., Hubbard RC., Geis GS.**

Celecoxib versus diclofenac in long term management of rheumatoid arthritis : randomised double-blind comparison.

Lancet 1999 ; 354 : 2106-2111.

**28- Emery Paul.**

Cyclooxygenase 2: a major therapeutic advance?

The american journal of medicine 2001 ; 110(1A) : 42S-45S.

**29- Eschwège P. et al.**

La cyclooxygénase 2 : nouvelle cible dans le traitement des cancers épithéliaux.

La presse médicale 2001 ; 30(10) : 505-507.

**30- Eschwège P., De Ledinghen V., Camilli T., Kulkarni S., Dalbagni G., Droupy S., Jardin A., Benoît G., Weksler B.B.**

Acide arachidonique et prostaglandines, inflammation et oncologie.

La presse médicale 2001 ; 30(10) : 508-510.

**31- Eschwège P., De Ledinghen V., Camilli T., Kulkarni S., Dalbagni G., Droupy S., Jardin A., Benoît G., Weksler B.B.**

Les cyclooxygénases.  
La presse médicale 2001 ; 30(10) : 511-514.

**32- Eschwège P., De Ledinghen V., Camilli T., Kulkarni S., Dalbagni G., Droupy S., Jardin A., Benoît G., Weksler B.B.**

Les inhibiteurs des cyclooxygénases.  
La presse médicale 2001 ; 30(10) : 515-517.

**33- Eras Jennifer, Perazella Mark A.**

NSAIDs and the kidney revisited: Are selective cyclooxygenase 2 inhibitors safe?  
The american journal of the medical sciences 2001 ; 321(3) : 181-190.

**34- Furst Daniel E.**

Pharmacology and efficacy of cyclooxygenase (cox) inhibitors.  
Am J Med 1999 ; 107(6A) : 18S-26S.

**35- Geis Steven G.**

Update on clinical developmemts with celecoxib, a new specific cox 2 inhibitor: what can we expect?  
The journal of rheumatology 1999 ; 26(56) : 31-36.

**36- Graul A., Martel AM., Castaner J.**

Celecoxib.  
Drugs of the future 1997 ; 22(7) : 711-714.

**37- Halter F., Tarnawski AS., Schmassmann A., Peskar BM.**

Cyclooxygenase 2 implications on maintenance of gastric mucosal integrity and ulcer healing: controversial issues and perspectives.  
Gut 2001 ; 49(3) : 443-451.

**38- Hampel H., Müller N.**

Inflammatory and immunological mechanisms in Alzheimer's disease.  
Drug N Perspect 1995 ; 8 : 599-608.

**39- Hawkey CJ.**

Cox 2 inhibitors.  
The Lancet 1999 ; 353(9149) : 307-314.

**40- Hendel J., Nielsen O.H.**

Expression of cyclooxygenase 2 mRNA in active inflammatory bowel disease.  
The american journal of gastroenterology 1997 ; 92 (7) : 1170-1173.

**41- Herschman Harvey R.**

Prostaglandin synthase 2.  
Biochimica et Biophysica 1996 ; 1299(1) : 125-140.

**42- Ho L., Pieroni C., Winger D., Purohit DP., Aisen PS., Pasinetti GM.**

Regional distribution of cyclooxygenase 2 in the hippocampal formation in Alzheimer's disease.  
J Neurosci Res 1999 ; 57 : 295-303.

**43- Hüll M., Fiebich L., Lieb K., Strauss S., Berger M., Volk B., Bauer J.**

Interleukin-6-associated inflammatory processes in Alzheimer's disease: new therapeutic options.  
Neurobiol Aging 1996 ; 17 : 795-800.

**44- Husain Syeda S., Szabo Imre L., Tarnawski Andrzej S.**

NSAID inhibition of GI cancer growth: clinical implications and molecular mechanisms of action.  
The american journal of gastroenterology 2002 ; 97(3) : 542-553.

**45- Johnson Amy J., Hsu Ao-Lin, Lin Ho-Pi, Song Xueqin, Chen Ching-Shih.**

The cyclooxygenase 2 inhibitor celecoxib perturbs intracellular calcium by inhibiting endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> ATPases: a plausible link with its anti-tumor effect and cardiovascular risks.  
Biochemical journal 2002 ; 366(3) : 831-837.

**46- Kaufmann WE., Worley PF., Taylor CV., Bremer M., Isakson PC.**

Cyclooxygenase 2 expression during rat neocortical development and in Rett syndrome.  
Brain Dev 1997 ; 19 : 25-34.

**47- Kawamori T., Rao CV., Seibert K., Reddy BS.**

Chemopreventive activity of celecoxib, a specific cyclooxygenase 2 inhibitor, against colon carcinogenesis.  
Cancer research 1998 ; 58(3) : 409-412.

**48- Kishi Kazushi, Petersen Sven, Petersen Cordula, Hunter Nancy, Manson Kathryn, Masferrer Jaime L., Tofilon Philip J., Milas Luka.**

Preferential enhancement of tumor radioresponse by a cyclooxygenase 2 inhibitor.  
Cancer research 2000 ; 60(5) : 1326-1331.

**49- Kisley Lori r., Baret Bradley S., Dwyer-Nield Lori D., Bauer Alison K., Thompson David C., Malkinson Alvin M.**

Celecoxib reduces pulmonary inflammation but not lung tumorigenesis in mice.  
Carcinogenesis 2002 ; 23(10) : 1653-1658.

**50- Konstam Marvin A., Weir Matthew R., Reicin Alise, Shapiro Deborah, Sperling Rhoda S., Barr Eliav, Gertz Barry J.**

Cardiovascular thrombotic events in controlled, clinical trials of rofecoxib.  
Circulation 2001 ; 104(19) : 2280-2288.

**51- Kömhoff Martin, Gröne Hermann-Josef, Klein Thomas, Seyberth Hannsjoerg W., Nüsing Rolf M.**

Localization of cyclooxygenase 1 and 2 in adult and fetal human kidney : implication for renal function.  
American journal of physiology 1997 ; 272(4) : 460-467.

**52- Kurumbail Ravi G., Stevens Anna M., Gierse James K., Mc Donald Joseph J., Stegeman Roderick A., Pak Jina Y., Gildehaus Daniel, Miyashiro Julie M., Penning Thomas D., Seibert Karen, Isakson Peter C., Stallings William C.**

Nature 1996 ; 384(6610) : 644-648.

**53- Leese Philip T., Talwalker Sheela, Kent Jeffrey D., Recker David P.**

Valdecoxib does not impair platelet function.  
The american journal of emergency medicine 2002 ; 20(4) : 275-281.

**54- Lefkowitz James B.**

Cyclooxygenase 2 specificity and its clinical implications.  
The american journal of medicine 1999 ; 106(5B) : 43S-50S.

**55- Leung Albert T., Malmstrom Kerstin, Gallacher Alberto E., Sarembock Brian, Poor Gyula, Beaulieu Andre, Castro Ricardo, Sanchez Matilde, De Tora Lisa M., Ng Jennifer.**

Efficacy and tolerability profile of etoricoxib in patients with osteoarthritis : a randomized, double-blind, placebo and active comparator controlled 12 week efficacy trial.  
Current medical research and opinion 2002 ; 18(2) : 49-58.

**56- Lichtenberger Lenard M.**

Where is the evidence that cyclooxygenase inhibition is the primary cause of nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID)- induced gastrointestinal injury?  
Biochemical pharmacology 2001 ; 61(6) : 631-637.

**57- Lipsky Peter E., Isakson Peter C.**

Outcome of specific cox 2 inhibition in rheumatoid arthritis.  
The journal of rheumatology 1997 ; 24(49) : 9-13.

**58- Lipsky Peter E.**

Specific cox 2 inhibitors in arthritis, oncology, and beyond : where is the science headed?  
The journal of rheumatology 1999 ; 26(56) : 25-30.

**59- Lipsky Peter E.**

The clinical potential of cyclooxygenase 2 specific inhibitors.  
The american journal of medicine 1999 ; 106 (5B) : 51S-57S.

**60- Lipsky Peter E.**

Recommendations for the clinical use of cyclooxygenase 2 specific inhibitors.  
The american journal of medicine 2001 ; 110(3A) : 3S-5S.

**61- Lue LF., Brachova L., Civin WH., Rogers J.,**

Inflammation, Ab deposition and neurofibrillary tangle formation as correlates of  
Alzheimer's disease neurodegeneration.  
J. Neuropathol. Exp. Neurol. 1996 ; 55 : 1083-1088.

**62- Luth HJ., Arendt T.**

Oxyde nitrique et maladie d'Alzheimer. Mise au point.  
Alzheimer actualités 1998 ; 132 : 6-11.

**63- Mamas S.**

Les récepteurs des prostanoides.  
Prostaglandines et thromboxanes 1997 ; 41-45.

**64- Marra Carlo A., Esdaile John M., Sun Huiying, Anis Aslam H.**

The cost of cox inhibitors: how selective should we be?  
The Journal of rheumatology 2000 ; 27(12) : 2731-2733.

**65- Martin-Garcia Cristina, Hinojosa Miguel, Berges Pilar, Camacho Encarnacion,  
Garcia-Rodriguez Rosa, Alfaya Teresa, Iscar Alberto.**

Safety of a cyclooxygenase 2 inhibitor in patients with aspirin-sensitive asthma.  
Chest 2002 ; 121 : 1812-1817.

**66- Masferrer Jaime L., Leahy Kathleen M., Koki Alane T., Zweifel Ben S., Settle  
Steven L., Woerner B. Mark, Edwards Dorothy A., Flickinger Amy G., Moore  
Rosalyn J., Seibert Karen.**

Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase 2 inhibitors.  
Cancer research 2000 ; 60(5) : 1306-1311.

**67- Mc Geer Patrick L., Mc Geer Edith G., Yasojima Koji.**

Expression of cox 1 and cox 2 in atherosclerotic plaques.  
Experimental gerontology 2002 ; 37(7) : 925-929.

**68- Mc Murray Robert W., Hardy Kenneth J.**

Cox 2 inhibitors: today and tomorrow.  
The american journal of the medical sciences 2002 ; 323(4) : 181-189.

**69- Mrak RE., Sheng JG., Griffin WS.**

Glial cytokines in Alzheimer's disease: review and pathogenic implications.  
Hum. Pathol. 1995 ; 26 : 816.

**70- Mukherjee Debabrata.**

Selective cyclooxygenase 2 inhibitors and potential risk of cardiovascular events.  
Biochemical pharmacology 2002 ; 63(5) : 817-821.

**71- Muscara Marcelo N., Vergnolle Nathalie, Lovren Fina, Triggle Christopher R., Elliott Susan N., Asfaha Samuel, Wallace John L.**

Selective cyclooxygenase 2 inhibition with celecoxib elevates blood pressure and promotes leukocyte adherence.  
British journal of pharmacology 2000 ; 129 : 1423-1430.

**72- Needleman Philip, Isakson Peter C.**

The discovery and function of cox 2.  
The journal of rheumatology 1997 ; 24(49) : 6-7.

**73- Nogawa S., Zhang F., Ross ME., Ladecola C.**

Cyclooxygenase 2 expression in neurons contributes to ischemic brain damage.  
J. Neuroscience 1997 ; 17 : 2746-2755.

**74- Ohno Ryo, Yoshinaga Keigo, Fujita Takeshi, Hasegawa Kumi, Iseki Hideaki, Tsunozaki Hidefumi, Ichikawa Wataru, Nihei Zenro, Sugihara Kenichi.**

Depth of invasion parallels increased cyclooxygenase 2 levels in patients with gastric carcinoma.  
Cancer 2001 ; 91(10) : 1876-1880.

**75- Pairet M., Netter P.**

Inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase de type 2 : intérêts et limites.  
Thérapie 1999 ; 54(4) : 433-445.

**76- Pasinetti GM.**

Inflammatory mechanisms in neurodegeneration and Alzheimer's disease : the role of the complement system.  
Neurobiol. Aging 1996 ; 17 : 707-716.

**77- Peloso Paul M., Scheiman James M.**

The economic implications of cyclooxygenase 2 specific inhibitors.  
The american journal of medicine 2001 ; 110(3A) : 50S-54S.

**78- Perazella Mark A., Eras Jennifer.**

Are selective cox 2 inhibitors nephrotoxic?  
American journal of kidney diseases 2000 ; 35(5) : 937-940.

**79- Peterson Walter L., Cryer Byron.**

Cox 1-sparing NSAIDS, is the enthusiasm justified?  
JAMA 1999 ; 282(20) : 1961-1963.

**80- Picot Daniel, Loll Patrick J., Garavito Michael.**

The X-ray crystal structure of the membrane protein prostaglandin H2 synthase 1.  
Nature 1994 ; 367(6460) : 243-249.

**81- Raisz Lawrence G.**

Potential impact of selective cyclooxygenase 2 inhibitors on bone metabolism in health and disease.  
The american journal of medicine 2001 ; 110(3A) : 43S-45S.

**82- Rédaction.**

Celecoxib.  
Drugs of the future 1999 ; 24(7) : 793-796.

**83- Rédaction.**

Rofécoxib, un antalgique AINS décevant.  
La revue prescrire 2000 ; 20(208) : 483-488.

**84- Rédaction.**

Célécoxib et arthrose ou polyarthrite rhumatoïde, aussi décevant que le rofécoxib.  
La revue prescrire 2000 ; 20(212) : 803-808.

**85- Robinson Dwight R.**

Regulation of prostaglandin synthesis by anti-inflammatory drugs.  
The journal of rheumatology 1997 ; 24(47) : 32-39.

**86- Rocha Jose L., Fernandez-Alonso Jorge.**

Acute tubulointerstitial nephritis associated with the selective cox 2 enzyme inhibitor, rofecoxib.  
The lancet 2001 ; 357(9272) : 1946-1947.

**87- Sany Jacques, Clot Jacques.**

La réponse inflammatoire.  
Immuno-rhumatologie 1989 ; 64-81.

**88- Scheen A.J.**

Le rofécoxib (Vioxx\*  
Revue médicale de Liège 2000 ; 55(7) : 751-753.

**89- Scheen A.J.**

Le célécoxib (Célébrex\*  
Revue médicale de Liège 2001 ; 56(1) : 53-55.

**90- Schnitzer T.J., Truitt K., Fleischmann R., Dalgin P., Block J., Zeng Q., Bolognese J., Seidenberg B., Ehrich E.W.**

The safety profile, tolerability, and effective dose range of rofecoxib in the treatment of rheumatoid arthritis.  
Clin. Ther. 1999 ; 21 : 1688-1702.

**91- Schnitzer T.J.**

Cyclooxygenase 2 specific inhibitors: are they safe?  
The american journal of medicine 2001 ; 110(1A) : 46S-49S.

**92- Schönbeck Uwe, Sukhova Galina K., Graber Pierre, Coulter Stephanie, Libby Peter.**

Augmented expression of cyclooxygenase 2 in human atherosclerotic lesions.  
The american journal of pathology 1999 ; 155 : 1281-1291.

**93- Schwartz J.I., Vandormael K., Malice M.P., Kalyani R.N., Lasseter K.C., Holmes G.B., Gertz B.J., Gottesdiener K.M., Laurenzi M., Redfern K.J., Brune K.**

Comparison of rofecoxib, celecoxib, and naproxen on renal function in elderly subjects receiving a normal salt diet.  
Clinical pharmacology and therapeutics 2002 ; 72(1) : 50-61.

**94- Shaheen Nicholas J., Straus Walter L., Sandler Robert S.**

Chemoprevention of gastrointestinal malignancies with nonsteroidal antiinflammatory drugs.  
Cancer 2002 ; 94(4) : 950-963.

**95- Sheng J.G., Ito K., Skinner D.S.**

In vivo and in vitro evidence supporting a role for the inflammatory cytokine interleukin 1 as a driving force in Alzheimer pathogenesis.  
Neurobiol Aging 1996 ; 17 : 761-766.

**96- Silverstein Fred E., Faich Gerald, Goldstein Jay L., Simon Lee S., Pincus Theodore, Whelton Andrew, Makuch Robert, Eisen Glenn, Agrawal Naurang M., Stenson William F., Burr Aimee M., Zhao William W., Kent Jeffrey D., Lefkowitz James B., Verburg Kenneth M., Geis Steven G.**

Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal antiinflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis.  
JAMA 2000 ; 284(10) : 1247-1254.

**97- Simon L.S., Weaver A.L., Graham D.Y., Kivitz A.J., Lipsky P.E., Hubbard R.C., Isakson P.C., Verburg K.M., Yu S.S., Zhao W.W., Geis S.G.**

Antiinflammatory and upper gastrointestinal effects of celecoxib in rheumatoid arthritis: a randomised controlled trial.  
JAMA 1999 ; 282 : 1921-1928.

**98- Simon Lee S.**

Role and regulation of cyclooxygenase 2 during inflammation.  
The american journal of medicine 1999 ; 106 (5B) : 37S-42S.

**99- Sorbera L.A., Leeson P.A., Castaner J.**

Rofecoxib.  
Drugs of the future 1998 ; 23(12) : 1287- 1296.

**100- Sorbera L.A., Leeson P.A., Castaner J.**

Valdecoxib and parecoxib sodium.  
Drugs of the future 2001 ; 26(2) : 133- 140.

**101- Sorbera L.A., Leeson P.A., Castaner J.**

Etoricoxib.  
Drugs of the future 2001 ; 26 (4) : 347-353.

**102- Staats P.S.**

Pain management and beyond: evolving concepts and treatments involving cox inhibition.  
Journal of pain and symptom management 2002 ; 24 (1) : S4-S9.

**103- Stemme V., Swedenborg J., Claesson H.E., Hansson G.K.**

Expression of cyclooxygenase 2 in human atherosclerotic carotid arteries.  
European journal of vascular and endovascular surgery 2000 ; 20(2) : 146-152.

**104- Stoltz Randall R., Harris Stuart I., Kuss Michael E., Le Comte Diane, Talwalker Sheela, Dhadda Shobha, Hubbard Richard C.**

Upper GI mucosal effects of parecoxib sodium in healthy elderly subjects.  
The american journal of gastroenterology 2002 ; 97(1) : 65-71.

**105- Stratton Suzanne, Alberts David S.**

Current application of selective cox 2 inhibitors in cancer prevention and treatment.  
Oncology 2002 ; 26(5) : 37-47.

**106- Swan Suzanne K., Rudy David W., Lasseter Kenneth C., Ryan Charles F., Buechel Kristin L., Lambrecht Laurence J., Pinto Manuel B., Dilzer Stacy C., Obrda Olga, Sundblad Kimberly J., Gumbs Carol P., Ebel David L., Quan Hui, Larson Patrick J., Schwartz Jules I., Musliner Thomas A., Gertz Barry J., Brater Craig, Yao Siu-Long.**

Effect of cyclooxygenase 2 inhibition on renal function in elderly persons receiving a low salt diet.  
Annals of internal medicine 2000 ; 133(1) : 1-9.

**107- Tiano Howard F., Loftin Charles D., Akunda Jackie, Lee Christopher A., Spalding Judson, Sessoms Alisha, Dunson David B., Rogan Eleanor G., Morham Scott G., Smart Robert C., Langenbach Robert.**

Deficiency of either cyclooxygenase 1 or 2 alters epidermal differentiation and reduces mouse skin tumorigenesis.  
Cancer research 2002 ; 62(12) : 3395-3401.

**108- Tocco G., Freire-Moar J., Schreiber S.S.**

Maturational regulation and regional induction of cyclooxygenase 2 in rat brain: implications for Alzheimer's disease.  
Exp. Neurol. 1997 ; 144 : 339-349.

**109- Vergne P., Bertin P., Bonnet C., Treves R., Rigaud M.**

Prostaglandines : nomenclature et biosynthèse.  
Rev.Rhum. 1996 ; 63(2bis) : 11S-14S.

**110- Vioxx\*.**

Monographie 2001, laboratoire MSD-Chibret.

**111- Vioxx\*.**

Brochure médicale 2001, laboratoire MSD-chibret.

**112- Wallace John L., Chapman Kevin, Mc Knight Webb.**

Limited antiinflammatory efficacy of cyclooxygenase 2 inhibition in carrageenan airpouch inflammation.  
British journal of pharmacology 1999 ; 126(5) : 1200-1204.

**113- Wallace John L.**

Selective cox 2 inhibitors: is the water becoming muddy?  
Trends in pharmacology sciences 1999 ; 20(1) : 4-6.

**114- Wallace John L.**

Distribution and expression of cyclooxygenase isoenzymes, their physiological roles, and the categorization of nonsteroidal antiinflammatory drugs.  
The american journal of medicine 1999 ; 107(6A) : 11S-17S.

**115- Wayne Alexander R.**

Inflammation and coronary artery disease.  
The new england journal of medicine 1994 ; 331 : 468-469.

**116- Weisman G.**

Prostaglandins as modulators rather than mediators of inflammation.  
J. lipid Mediat. 1993 ; 6 : 275-286.

**117- Williams Christopher S., Dubois Raymond N.**

Prostaglandin endoperoxide synthase: why two isoforms?  
American journal of physiology 1996 ; 270(3 part 1) : G393-G398.

**118- Woessner Katharine M., Simon Ronald A., Stevenson Donald D.**

The safety of celecoxib in patients with aspirin-sensitive asthma.  
Arthritis and rheumatism 2002 ; 46(8) : 2201-2206.

**119- Wu Kenneth Kun-Yu.**

Biochemical pharmacology of nonsteroidal antiinflammatory drugs.  
Biochemical pharmacology 1998 ; 55 : 543-547.

**120- Zhang Yan, Shaffer Alex, Portanova Joseph, Seibert Karen, Isakson Peter C.**

Inhibition of cyclooxygenase 2 rapidly reverses inflammatory hyperalgesia and prostaglandin E2 production.  
The journal of pharmacology and experimental therapeutics 1997 ; 283(3) : 1069-1075.

# **TABLE DES MATIERES**

## Table des matières

INTRODUCTION	7
--------------	---

### **1<sup>ère</sup> partie : LES PROSTAGLANDINES ET LES CYCLOOXYGENASES**

<b>A - Les Prostaglandines</b>	<b>10</b>
--------------------------------	-----------

I. Définition	10
---------------	----

II. Nomenclature	10
------------------	----

III. Synthèse	13
---------------	----

IV. Récepteurs des prostaglandines	16
------------------------------------	----

V. Rôle des prostaglandines	16
-----------------------------	----

<b>B - Les Cyclooxygénases</b>	<b>19</b>
--------------------------------	-----------

I. Historique de la découverte des cyclooxygénases	19
--	----

II. Approche génétique	20
------------------------	----

1. Structure des gènes	20
2. Régulation des gènes	21
2.1. Cyclooxygénase 1	21
2.2. Cyclooxygénase 2	21
3. ARNm des cyclooxygénases	21
III. Structure	23
1. Structure générale de la cyclooxygénase	23
2. Interaction moléculaire avec l'acide arachidonique	24
3. Mécanisme d'action des AINS	25
4. Différences de structure entre cyclooxygénase 1 et cyclooxygénase 2	25
IV. Localisation	28
1. Cyclooxygénase 1	28
2. Cyclooxygénase 2	28
V. Régulation de l'expression	29
1. Cyclooxygénase 1	29
2. Cyclooxygénase 2	29

VI. Substrats des cyclooxygénases	30
VII. Rôle des cyclooxygénases	30
1. Cyclooxygénase 1	30
1.1. Homéostasie vasculaire – Synthèse du thromboxane A2	30
1.2. Utérus	30
1.3. Système nerveux central	30
1.4. Douleur	31
a. Physiologie de la douleur	31
b. Cyclooxygénase 1 et douleur	31
1.5. Estomac	32
1.6. Inflammation	32
a. La réaction inflammatoire	32
b. Cyclooxygénase 1 et inflammation	39
1.7. Rein	40
2. Cyclooxygénase 2	42
2.1. Fonction nerveuse	42
a. Fièvre	43

b. Inflammation lors d'infection bactérienne	44
c. Développement neurologique	44
d. Perte de connexions neuronales	44
2.2. Estomac	45
a. Cytoprotection gastrique	45
b. Diminution de l'infection	45
c. Cicatrisation après ulcère	46
d. Helicobacter pylori	46
e. Entérocolopathie inflammatoire	46
2.3. Reproduction	48
2.4. Système vasculaire	48
2.5. Os	49
2.6. Douleur	50
2.7. Alzheimer	51
2.8. Cancer	51
a. Cancer rectocolique et polypose familiale	51

b. Cancers épithéliaux	53
c. Cancer gastrique	53
d. AINS et cancer	55
2.9. Inflammation	56
2.10. Rein	58
2.11. Maladies neurologiques	59
2.12. Consommation alcoolique	59
VIII. Cyclooxygénases et AINS	59
1. Historique	59
2. Méthodes d'étude	61
3. Sélectivité des AINS	62
3.1. Méthodes utilisées	62
3.2. Résultats	63
4. Classification des AINS	66

## **2<sup>ème</sup> partie : LES COXIBS**

<b>A - Molécules sur le marché</b>	<b>70</b>
I. Le Célécoxib	70
1. Propriétés physico-chimiques et pharmacologiques	70
1.1. Description de la molécule	70
1.2. Synthèse	71
1.3. Propriétés pharmacocinétiques	71
a. Absorption	71
b. Distribution	71
c. Métabolisme	72
d. Elimination	72
e. Populations spécifiques	72
1.4. Propriétés pharmacologiques	73
2. Etudes cliniques	75
2.1. Etude CLASS	75
a. Protocole	75

b. Résultats	76
c. Conclusion	78
2.2. Autres études	78
a. Douleur dentaire	78
b. Efficacité dans l'arthrose	79
c. Efficacité dans la polyarthrite rhumatoïde	81
d. Plaquettes	83
e. Douleur et qualité de vie	84
f. Rein	84
g. Efficacité dans la spondylarthrite ankylosante	85
3. Indications	85
4. Effets secondaires	86
5. Contre-indications, mises en garde, précautions d'emploi	87
5.1. Contre-indications	87
5.2. Mises en garde et précautions d'emploi	88
6. Interactions médicamenteuses	88
6.1. Interactions pharmacodynamiques	88

6.2. Interactions pharmacocinétiques	88
II. Le Rofécoxib	90
1. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques	90
1.1. Description de la molécule	90
1.2. Synthèse	91
1.3. Propriétés pharmacocinétiques	91
a. Absorption	91
b. Distribution	91
c. Métabolisme	92
d. Elimination	92
e. Populations spécifiques	92
1.4. Propriétés pharmacologiques	93
2. Etudes cliniques	94
2.1. Etude VIGOR	94
a. Protocole	95
b. Résultats	95

c. Conclusion	96
2.2. Autres études	96
a. Effet cardiovasculaire	96
b. Efficacité dans l'arthrose	96
c. Efficacité dans la polyarthrite rhumatoïde	97
d. Efficacité dans la douleur dentaire	98
e. Efficacité dans la douleur aiguë	98
f. Activité antipyrétique	98
3. Indications	99
4. Effets secondaires	99
5. Contre-indications, mises en garde et précautions d'emploi	100
5.1. Contre-indications	100
5.2. Mises en garde, précautions d'emploi	100
6. Interactions médicamenteuses	100
6.1. Interactions pharmacodynamiques	100
6.2. Interactions pharmacocinétiques	101

B - Limites des coxibs	103
I. Aspect gastro-intestinal	103
II. Aspect rénal	103
III. Aspect cardiovasculaire	104
IV. Autres aspects métaboliques	105
V. Efficacité des coxibs par rapport aux AINS	105
VI. Aspect économique	106
C – Les nouvelles molécules	108
I. Le Parécoxib	108
1. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques	108
1.1. Description de la molécule	108
1.2. Cinétique	109
1.3. Propriétés pharmacologiques	109
2. Etudes cliniques	109

II. Le Valdécoxib	112
1. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques	112
1.1. Description de la molécule	112
1.2. Cinétique	113
1.3. Propriétés pharmacologiques	113
2. Etudes cliniques	113
III. L' Etoricoxib	115
1. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques	115
1.1. Description de la molécule	115
1.2. Cinétique	116
1.3. Propriétés pharmacologiques	117
2. Etudes cliniques	117

### **3<sup>ème</sup> partie : LES PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES DES COXIBS**

A- Coxibs et cancer	121
I. Rôle des prostaglandines dans le processus cancéreux	121

1. Effets immunosuppresseurs	121
2. Effets mitogènes	121
3. Inhibition de l'apoptose	122
II. Rôle de la cyclooxygénase 2 dans le processus cancéreux	122
1. Cyclooxygénase 2 et synthèse de substances carcinogènes	122
2. Présence de la cyclooxygénase au niveau précancéreux et cancéreux	123
3. Angiogenèse	124
4. Potentiel métastatique	125
III. Coxibs et traitement anticancéreux	125
1. Utilisation des coxibs dans la prévention cancéreuse	125
2. Utilisation des coxibs dans le traitement anticancéreux	127
3. Avantages de l'utilisation des coxibs dans le traitement anticancéreux	128
3.1. Toxicité gastrique moindre	128
3.2. Activité analgésique	128
3.3. Augmentation de l'efficacité des autres traitements	129

IV. AINS et traitement anticancéreux	129
V. Utilisation possible des coxibs dans différents cancers	130
1. Cancer colorectal	130
2. Cancer de la peau	132
3. Cancer du poumon	132
4. Cancer de la prostate	133
5. Cancer du sein	134
6. Cancer gastrique	135
7. Cancer de la vessie	135
8. Cancer de l'œsophage	136
9. Cancer pancréatique	136
B - Coxibs et maladie d'Alzheimer	137
I. Physiopathologie de la maladie d'Alzheimer	137
II. Composante inflammatoire de la maladie d'Alzheimer	138
1. Les protéines du complément	138

2. Les cytokines et les protéines de la phase aigue de l'inflammation	138
III. AINS et maladie d'Alzheimer	139
IV. Mécanisme d'action des AINS sur la maladie d'Alzheimer	141
1. Action au niveau des prostaglandines et du glutamate	141
2. Action au niveau des radicaux libres	141
3. Action au niveau des cytokines	141
4. Action au niveau de l'apoptose	142
V. Limites concernant l'utilisation des coxibs dans la maladie d'Alzheimer	144
1. Rôle physiologique de la cyclooxygénase 2	144
2. La cyclooxygénase 2, à la fois neuroprotectrice et neurotoxique	144
3. Les AINS n'agissent que sur la composante inflammatoire	146
C - Autres voies de recherche	147
I. Coxibs et athéromatose	147
1. Physiopathologie de l'athéromatose	147
2. Rôles des cyclooxygénases dans l'athéromatose	147

2.1. La cyclooxygénase 1	147
2.2. La cyclooxygénase 2	148
3. Utilisation possible des coxibs	148
3.1. Etudes	148
3.2. Limites	149
II. Coxibs et asthme induit par l'aspirine	149
1. Physiopathologie	149
2. Mécanisme	150
3. Etudes	150
4. Conclusion	150
CONCLUSION	151
ANNEXES	154
LISTE DES FIGURES	163
LISTE DES TABLEAUX	166
LISTE DES ABREVIATIONS	168
BIBLIOGRAPHIE	170
TABLE DES MATIERES	184