

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université ABDERRAHMANE MIRA-Béjaïa
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention d'un Diplôme d'Études supérieurs
En Biologie Moléculaire et cellulaire

Option : Biochimie

Thème

Inhibition de la cyclooxygénase-2

Présenté par :

M^{elle} : ABOUD Samira.

M^{elle} : MENDIL Karima.

Membre de jury :

Président : M^r AMIR N.

Promoteur : M^r BRIBI N.

Examineur : M^r BOUGUEZZA Y.

Promotion 2011-2012



Remerciements

- *Avant tout, nous tenons à remercier **DIEU** pour tout ce qu'il nous a donné.*

- *Nous tenons à remercier vivement notre promoteur Mr BRIBI d'avoir accepté de nous encadrer, ainsi pour ses conseils, sa gentillesse, sa disponibilité tout au long de notre travail.*

- *Nous tenons également à remercier M^r AMIR, d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire, ainsi que M^r BOUGUEZZA, pour avoir accepté d'examiner et de juger notre travail.*

- *Nous exprimons également notre gratitude à tous les professeurs et enseignants qui ont collaboré à notre formation depuis notre premier cycle d'étude jusqu'à la fin de notre cycle universitaire.*

- *Enfin nous remercions également tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents qui m'ont permis de réussir dans mes études

Ames chers grands parents

A mes cher frères : Lamine et Daoud

A la mémoire de mon oncle Madjid

A ma tante et mes oncles

*A mes cousins et cousines en particulier
Ziha et Souhila*

*A mes copines : Nadia, Kahina , Hana
et Nesrine*

A mon binôme Karima

A. Samira



Dédicace

Je tiens à dédier ce modeste travail à : Ceux qui j'ai tant aimés avec beaucoup d'affection et je suis très fière de les avoir et tous les mots du monde ne peuvent exprimer l'amour et le respect que je leur porte :

Mes très chers parents et ma grand mère.

Mes chers frères : Naim et Abdenour.

Ma chère sœur : Fazîa.

A tous mes cousins et cousines en particulier (Soria, Meriem, Amel, Lynda, Aicha, Kenza, F, M, M, N et I).

A toutes mes amies (Samia, Karima, Lynda et Katiba).

A mes copines de chambre (Rym, Radia et Sabrina).

A celle avec qui j'ai partagé ce travail Samira et sa famille.

M. Karima

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....	1
I-L'inflammation.....	3
I-1- Les cellules de l'inflammation.....	4
I-1-1- Les lymphocytes	4
I-1-2- Les macrophages.....	4
I-1-3- Les plaquettes.....	4
I-1-4- Les mastocytes	4
I-1-5- Les neutrophiles	5
I-2- Les médiateurs de l'inflammation	5
I-2-1- Les médiateurs lipidiques.....	5
I-2-2- Les médiateurs peptidiques	6
I-2-2-1- Les cytokines.....	6
I-2-3- Les médiateurs enzymatiques du plasma.....	8
I-2-3-1- Système de complément.....	8
I-2-3-2- Système des Kinines	8
I-2-3-3- Système de coagulation.....	9
I-2-3-4- Système de fibrinolytique	9
I-3- Mécanisme de la réaction inflammatoire.....	9
I-3-1- La phase vasculaire	9
I-3-2- La phase cellulaire	13

I-3-3- La phase de résolution	14
II- La cyclooxygénase	15
II-1-Structure chimique de la cyclooxygénase	15
II-2 Structure du gène de la cyclooxygénase	16
II-3-Régulation de l'expression du gène de la cyclooxygénase -2	16
II-4-Le facteur de transcription NF- κ B.....	19
II-4-1-Mécanisme d'activation du facteur NF- κ B.....	20
II-5-Site actif des cyclooxygénases	22
II-6-Rôle de la cyclooxygénase dans le métabolisme de l'acide	
arachidonique.....	23
II-7- inhibiteurs de la cyclooxygénase.....	26
II-7-1- Inhibiteurs non sélectifs.....	27
II-7-1-1-Mécanisme d'action sur la cyclooxygénase	28
II-7-2- inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase-2	28
II-7-3- inhibiteurs préférentiels de la cyclooxygénase-2.....	29
II-8- Les anti-inflammatoires d'origine naturels	30
II-8-1-Activité anti-inflammatoire des flavonoïdes	30
II-8-2- Activité anti-inflammatoire des alcaloïdes	31
Conclusion.....	32

Glossaire

Références bibliographiques

Liste des abréviations

AA	Acide Arachidonique
AINS	Anti-inflammatoire non stéroïdien
BAFF	Facteur d'activation des cellules B
COX	Cyclooxygénase-1,2
CPA	Cellules présentatrices d'antigène
EGF	Facteur de Croissance épidermique
EP	Récepteur de prostaglandine E 1, 2, 3, 4
FP	Récepteur de prostaglandine F
Glu	Glucine
ICOX	Inhibiteur de la cyclooxygénase
ICOXIB	Inhibiteur sélectif de la cyclooxygénase-2
IFN	Interféron- α , β , γ
IKK	I- κ B Kinases α , β , γ
I- κ B	Inhibiteurs-Kappa β
Ile	Isoleucine
IRAK	Kinase associée au récepteur d'IL-1
JAK	Janus Kinase
LB	Lymphocyte B
LPS	Lipopolysaccharides
LT	Lymphocyte T
LTH	Lymphocyte T Auxiliaire
MAPK	Protéine Kinase Activé par un mitogène
MBD	Domaine de membrane voisine

MyD88	Facteur Différentiation Myéloïde 88
NEMO	Essentiel Modulateur NF-κB
NF-κB	Facteur nucléaire Kappa B
NO	Monooxyde d'azote
PAF	Facteur d'activation plaquettaire
PGs	Prostaglandines D2, E2, F2α,
PGI ₂	Prostacycline
PLA ₂	phospholipase A ₂
PMNs	Polymorphonucléaires neutrophiles
PNN	Polynucléaire neutrophile
PPAR	Récepteur Activé par la prolifération de peroxyosome
Ser	Serine
TLRs	Récepteurs Toll-like
TNF-α	Facteur nécrose tumorale alpha
TNFR	Récepteur de TNF
TP	Récepteur de thromboxane
TRAF-6	facteur 6 associée au récepteur de TNF
TXA ₂	Thromboxane A ₂ ,
TXB ₂	Thromboxane B ₂
Tyr	Tyrosine
Val	Valine

Liste des figures

Figure N°1 : Schéma illustrant la réaction inflammatoire	3
Figure N°2 : Schéma représentant les médiateurs lipidiques dérivés de l'acide arachidonique lors de la réaction inflammatoire	6
Figure N°3 : Les cytokines anti et pro-inflammatoires	7
Figure N°4 : Schéma représentant l'initiation de la réaction inflammatoire	10
Figure N°5 : Schéma représentant la boucle positive de la production des cytokines pro-inflammatoire	11
Figure N°6 : Schéma représentant les conséquences de l'activation de la voie alterne du complément	12
Figure N°7 : Schéma représentant la migration trans-endothéliales des leucocytes	13
Figure N°8 : Schéma représentant la boucle négative de la production les cytokines inflammatoire	14
Figure N°9 : Model à 3D de la cyclooxygénase	16
Figure N°10 : Structure du gène humain de la COX-1 et de la COX-2	17
Figure N°11 : Représentation schématique du promoteur de la cyclooxygénase-2 chez l'homme	18
Figure N°12 : Schéma représentant les voies de l'expression du gène de la cyclooxygénase- 2	19
Figure N°13 : Représentation schématique des deux voies d'activation du NF-κB	21
Figure N°14 : Structure comparée des sites actifs de la COX-1 et COX-2	22
Figure N°15 : Schéma représentant la cascade d'activation de l'acide arachidonique	24
Figure N°16 : Cycle d'activation de la peroxydase et de la cyclooxygénase	24
Figure N°17 : Schéma générale représentant les voies d'action des métabolites de l'acide arachidonique	25
Figure N°18 : Effet de l'inhibition de la COX-1 et la COX-2	26
Figure N°19 : Structure chimique des différentes AINS	27

Figure N°20 : Mécanisme d'action des AINS	28
Figure N°21 : Structures chimiques des inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase-2...	29
Figure N°22 : Structure chimique des inhibiteurs préférentiels de la cyclooxygénase-2	29
Figure N°23 : Structure chimique des flavonoïdes de <i>C. tayuya</i>	30

Liste des tableaux

Tableau I : Principales différences entre la COX-1 et la COX-2	17
Tableau II : Activité anti-inflammatoire des alcaloïdes	31

Introduction

Introduction

L'inflammation, est un mécanisme indispensable pour l'intégrité de l'organisme, cependant elle se trouve impliquée dans différentes pathologies. Elle est déclenchée par des facteurs endogènes ou exogènes. Ceux-ci incluent plusieurs types de blessures ; mécanique, physique, biologique et immunologique. La réponse inflammatoire est essentiellement une réponse protectrice, elle constitue un processus qui vise le retour du tissu endommagé à son état normal.

Les traitements médicamenteux anti-inflammatoires les plus répandus sont les anti-inflammatoires synthétiques (Anti-inflammatoires non stéroïdiens). En 1971, Vane démontre que l'action des AINS dépend de l'inhibition de la synthèse de prostaglandines en bloquant l'enzyme la cyclooxygénase. Au début des années 90, des travaux révèlent que la cyclooxygénase existe en deux isoformes ; la cyclooxygénase-1 (constitutionnelle) et la cyclooxygénase-2 (inductible). Ces deux isoformes sont très proches structuralement 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 (William, 2000). Pourquoi la cyclooxygénase-2 intervient dans ce processus plutôt que la cyclooxygénase-1 ? A partir de ce concept, l'inhibiteur sélectif de la cyclooxygénase-2 est né. Ces AINS ardemment attendus ont atteint le marché, qui a allégé les symptômes de la maladie inflammatoire sans endommager l'estomac.

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) représentent une classe thérapeutique les plus prescrite au monde ; leurs propriétés à la fois analgésiques et anti-inflammatoires expliquent leurs larges utilisations. Cependant, leur bénéfice thérapeutique est limitée par leurs effets indésirables qui peuvent conduire à d'autres complications plus graves. Jusqu'à récemment, les connaissances sur le mécanisme d'action des AINS ne permettaient pas de dissocier leurs effets secondaires.

Actuellement, la recherche des substances d'origine végétale douées d'activité anti-inflammatoire s'avère très utile pour l'amélioration de la santé humaine tout en évitant les effets indésirables des AINS.

Dans notre travail, nous nous sommes intéressés aux principales différences structurales et rôles des deux isoenzymes de la cyclooxygénase, ainsi que la régulation transcriptionnelle du gène de la COX-2 par le facteur NF- κ B. A cet effet, nous avons étudié l'inhibition de la cyclooxygénase-2 par les anti-inflammatoires ainsi que par les extraits de quelques plantes médicinales et leurs effets sur les médiateurs de l'inflammation tels que les prostaglandines et le facteur de transcription NF- κ B.

I-L'inflammation

La réaction inflammatoire est définie comme étant un processus biologique de défense contre toute agression menaçant l'organisme, par une série de réaction non spécifique. Elle se déroule en trois phase ; la réaction vasculaire, l'infiltration cellulaire et la fibrose. Ces agressions sont d'origine soit exogène causée par des agents physiques (chaleur, piqure d'insecte, radiations, etc.), des agents chimiques (acides, substances minérales diverses, etc.) et des agents biologiques (microorganismes pathogènes) ou endogène (lésions, troubles métaboliques) (Bletry, 2002). Elle est caractérisée par quatre signaux cardinaux (gonflement, douleur, rougeur, chaleur) ; ces symptômes étaient dus à l'infiltration des tissus blessés par l'œdème et à la vasodilatation des capillaires (figure1) (Borel *et al*, 1997 ; Muster, 2005).

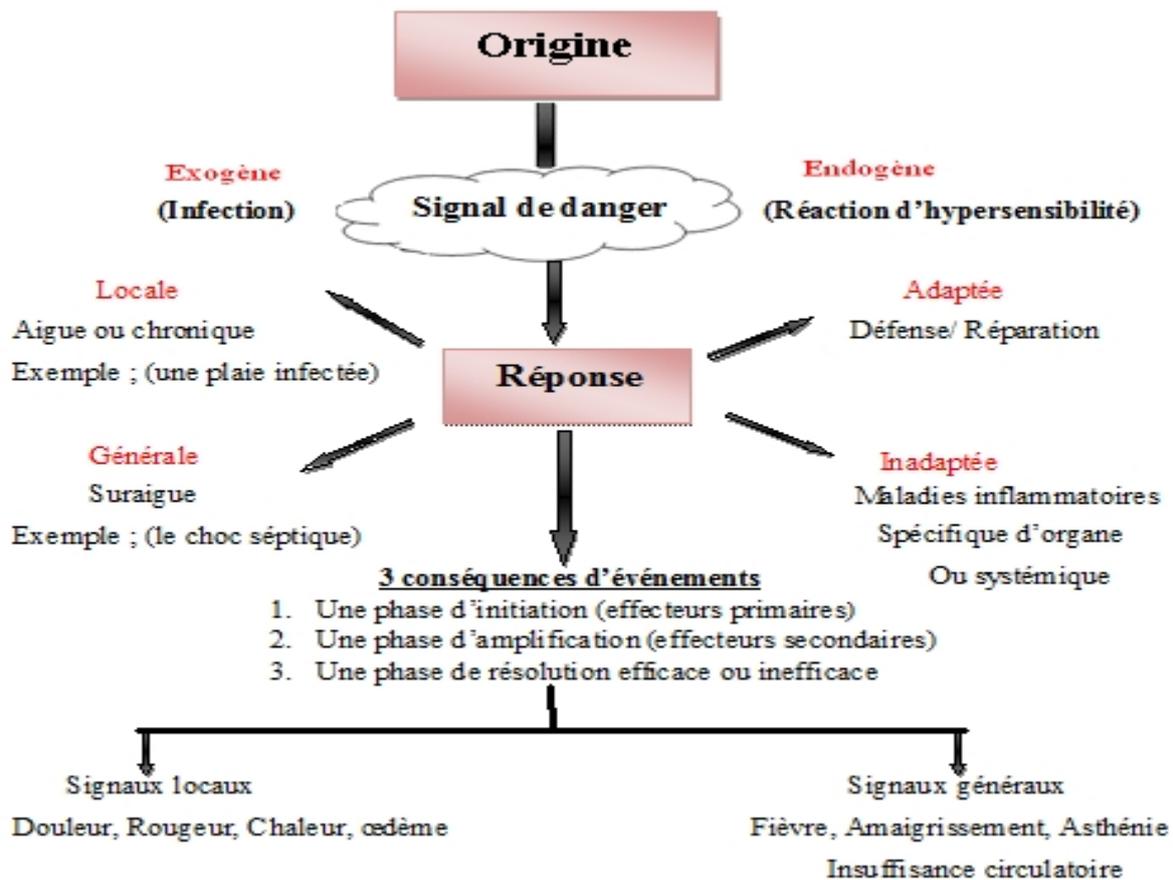


Figure 1 : Schéma illustrant la réaction inflammatoire (Zerbato, 2009).

I-1- Les cellules de l'inflammation

L'inflammation met en jeu de façon complexe de nombreuses cellules tel que les lymphocytes et les cellules phagocytaires (polynucléaires, principalement les neutrophiles), les monocytes et les macrophages (Sauvesie, 2004).

I-1-1- Les lymphocytes

Les lymphocytes sont dérivés de cellules souches de la moelle osseuse (Roitt *et al*, 2002). Ils existent deux types principaux, les lymphocytes B (LB), qui une fois activés se différencient en plasmocytes sécrétant les anticorps, et les lymphocytes T (LT) inclus les cellules T auxiliaires (cellule TH), qui sécrètent les cytokines (Janeway *et al*, 2003 ; Kindt *et al*, 2007).

I-1-2- Les macrophages

Les macrophages sont des cellules de grande taille (75µm), se forment dans la moelle osseuse (Cassier, 2004). Elles jouent un rôle important dans l'immunité et la réaction inflammatoire menant à la production d'un certain nombre de médiateurs comprenant des cytokines ; l'interleukine-1 (IL-1), IL-6 et le Facteur de Nécrose Tumorale (TNF- α), agissant sur les lymphocytes T (réponse cellulaire par cytotoxicité), des prostaglandines (PGs), des chimiokines et des facteurs de croissances (Quintela *et al*, 2003 ; Mindrescu *et al*, 2005).

I-1-3- Les plaquettes

Les plaquettes ont des fonctions immunitaires importantes, principalement liées à la réaction inflammatoire, en plus du rôle principale qu'elles jouent dans l'hémostase. En effet, les plaquettes libèrent des médiateurs chimiques à effet vasoactif et perméabilisant ainsi que des substances activant le complément, constituant le lieu de stockage de la sérotonine (Regnault, 2002 ; Roitt *et al*, 2003).

I-1-4- Les mastocytes

Les mastocytes interviennent dans la réaction inflammatoire, en particulier dans des réactions d'hypersensibilité immédiate. Elles possèdent un grand nombre de granules cytoplasmiques qui contiennent de l'histamine et autres médiateurs de la réaction inflammatoire tel que ; les cytokines (IL-4 et TNF- α), qui interviennent dans la réaction immunitaire ainsi que des prostaglandines et des leucotriènes notamment responsables de la

broncho constriction, de la sécrétion de mucus et de l'œdème) (Regnault, 2002 ; Kindt *et al*, 2007).

I-1-5-Les neutrophiles

Les neutrophiles sont produits par l'hématopoïèse dans la moelle osseuse, ils sont libérés dans le sang. Ces cellules sont habituellement les premières à arriver au niveau du site d'inflammation (Kindt *et al*, 2007). Les neutrophiles ont un rôle essentiel dans la protection de l'organisme contre une infection aigüe. Ils synthétisent et expriment des récepteurs qui leurs permettent d'adhérer à la paroi des vaisseaux sanguins (Chapel *et al*, 1999).

I-2-Les médiateurs de l'inflammation

La description des cellules intervenant au cours de l'inflammation laisse imaginer le nombre important de médiateurs intervenants dans les différentes étapes de l'inflammation. Ces médiateurs peuvent être décrits sous la forme d'une part des médiateurs lipidiques et d'autre part des médiateurs peptidiques) (De Franco *et al*, 2009).

I-2-1- Les médiateurs lipidiques

Les lipides bioactifs constituent d'importants seconds messagers des réactions immunitaire et inflammatoire produits à partir d'acides gras issus de l'hydrolyse des phospholipides membranaires (figure 2). Les eicosanoïdes sont issus du métabolisme de l'acide arachidonique (AA) par la cyclooxygénase-2, parmi les plus importants eicosanoïdes produits par les neutrophiles, citant les prostanoïdes, les prostaglandines (PGE₂), la thromboxane (TXA₂) et la prostacycline (PGI₂). Chacun de ces médiateurs à des récepteurs spécifiques qui transmettent leur signal aux cellules cibles et qui jouent un rôle très important. Les prostaglandines règlent de nombreux processus dans le corps, tel que ; la modulation des réponses immunitaires et inflammatoires. Les prostacyclines sont des médiateurs de l'augmentation de la perméabilité vasculaire et du gonflement (œdème) (De Franco *et al*, 2009 ; Nakano *et al*, 2007).

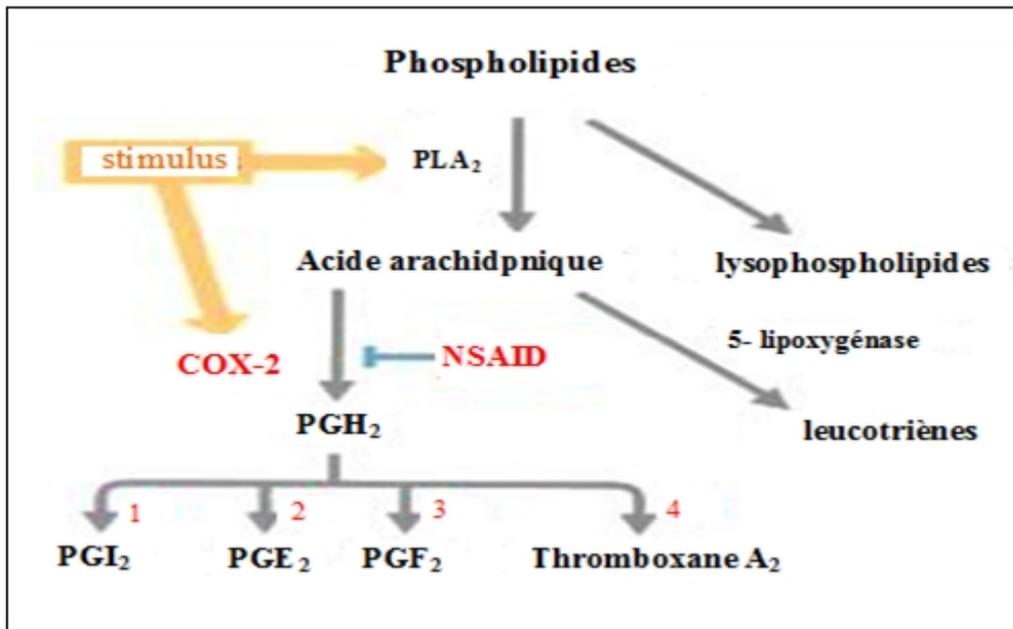


Figure 2 : Schéma représentant les médiateurs lipidiques dérivés de l'acide arachidonique lors de la réaction inflammatoire (De Franco *et al*, 2009).

I-2-2- Les médiateurs peptidiques

La majorité des médiateurs peptidiques produits et sécrétés par les neutrophiles font partis de la grande famille des cytokines (Sauvesie, 2004).

I-2-2-1- Les cytokines

Les médiateurs peptidiques font partis de la grande famille des cytokines. Ils sont des polypeptides souvent glycosylés, produits par différentes catégories de cellules immunitaires, principalement les lymphocytes T et les cellules présentatrices de l'antigène (CPA). Les lymphocytes T auxiliaires (LTH) sont les principales cellules productrices de cytokines. Les cytokines constituent une famille hétérogène de molécules qui peut cependant être divisés en deux grands groupes ; les cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoire (voire figure 3). Le premier groupe rassemble principalement les cytokines responsables de la réponse inflammatoire dont les interleukines (IL-6 et IL-12), le facteur de nécrose tumorale (TNF- α) et les interférons, principalement l'IFN- γ . Le second groupe rassemble les cytokines régulant cette réponse en inhibant la production et l'action des cytokines pro- inflammatoires. Il réunit l'IL-10, l'antagoniste du récepteur de l'IL-1 (IL-1Ra), l'IL-4, l'IL-13 et le TGF- β (Facteur de croissance β transformé) (Bachoual et Boczkowski, 2005).

Les cytokines agissent sur les cellules productrices elles mêmes, le médiateur sécrété agit sur les cellules voisines ou le médiateur transporté par le sang agit à distance (Regnault, 2002).

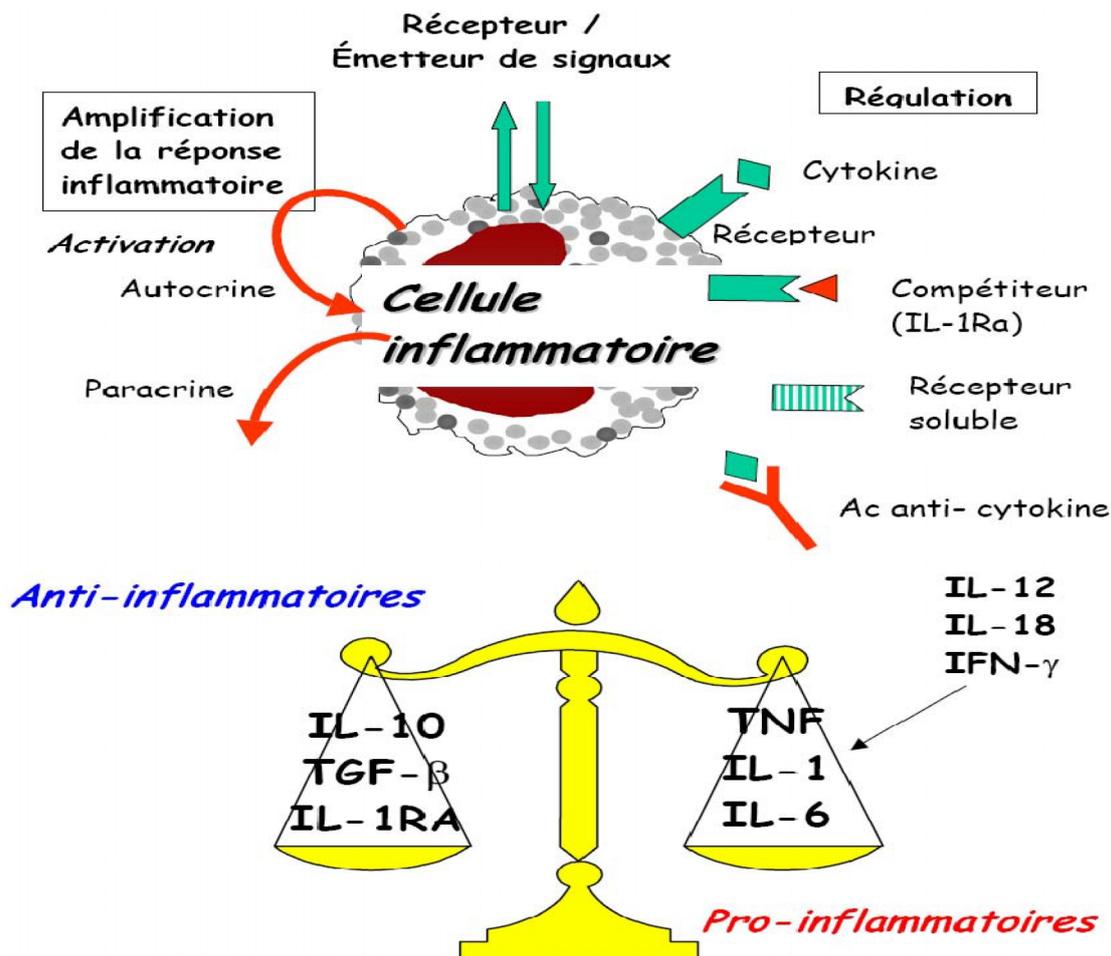


Figure 3 : Les cytokines anti et pro-inflammatoires (Zerbato, 2010).

Les chimiokines comme l'IL-8, sont des cytokines chimio-attractantes qui recrutent les leucocytes au niveau du site de l'inflammation. Elles sont produites par divers types cellulaires dont les monocytes, les neutrophiles, les myoblastes, les cellules endothéliales et les cellules épithéliales. Elles sont réparties en plusieurs classes selon la position de leurs cystéines ; les chimiokines C-X-C (un acide aminé X entre deux cystéines), les chimiokines C-C (deux cystéines adjacentes), les chimiokines C et le groupe C-X3-C (Nguyen, 2006).

Le Facteur de Nécrose Tumorale (TNF- α) est un médiateur majeur de l'inflammation. Il stimule une cascade d'autres cytokines, des chimiokines, de facteurs de croissance et

d'adhésives endothéliales, qui recrutent et activent une série de cellules au niveau du tissu lésé. L'action de TNF- α dans une maladie tumorale, est de détruire sélectivement les vaisseaux sanguins néoformés. Cette cytokine pro-inflammatoire est produite par les cellules tumorales et/ou libérée dans le stroma et son expression est associée à celle de l'IL-1, (Nguyen, 2006). Leurs contrôles par les anti- cytokines (IL1- RA, récepteur soluble et membranaire pour l'IL-1, récepteur soluble pour le TNF- α) et les cytokines anti-inflammatoires (IL-4, IL-3, IL-10) sont impératifs (Sauvesie, 2004).

I-2-3-Les médiateurs enzymatiques du plasma

Le plasma contient quatre systèmes producteurs de médiateurs ; le système des Kinines, le système de coagulation sanguine, le système de fibrinolytique et le système de complément. Lors d'une lésion tissulaire, ces quatre systèmes sont activés pour former un réseau de systèmes interactifs qui génèrent de nombreux médiateurs de l'inflammation (Goldsby *et al*, 2003)

I-2-3-1-Système du complément

Le complément est un ensemble de protéines capable d'interagir en cascade d'une manière strictement déterminée et qui participe de plusieurs manières aux fonctions effectrices de l'immunité et de l'inflammation (cytolyse, opsonisation et inflammation). La reconnaissance et à la destruction des microbes se fait par deux voies distinctes ; la voie classique et la voie alterne (Cassier, 2004).

I-2-3-2- Système des Kinines

La Kinine est un peptide basique puissamment vasoactif qui augmente la perméabilité vasculaire et la vasodilatation. Le système des Kinines est une cascade enzymatique qui commence lorsque le facteur de Hageman (facteur de coagulation), est activé à la suite d'une lésion tissulaire qui active à son tour la prékallikréne pour former la kallikréne qui agit directement sur le système de complément (Goldsby *et al*, 2003).

I-2-3-3-Système de coagulation

Ce système est une autre cascade enzymatique déclenchée par une lésion des vaisseaux sanguins produit de grande quantité de thrombine qui agit sur le fibrinogène pour former des fibrinopeptides et caillot de fibrine. Les fibrinopeptides agissent comme médiateurs de

l'inflammation en induisant une perméabilité vasculaire et une chimiotaxie pour les neutrophiles (Goldsby *et al*, 2003).

I-2-3-4-Système de fibrinolytique

L'élimination du caillot de fibrine du tissu lésé est réalisée par ce système. Le produit final de cette voie est la plasmine formé par conversion du plasminogène. La plasmine est une enzyme puissante, elle dissocie les caillots de fibrine en produits de dégradation chimiotactiques pour les neutrophiles et active la voie classique du complément (Goldsby *et al*, 2003).

I-3-Mécanisme de la réaction inflammatoire

La réponse inflammatoire passe par trois phases ; l'initiation qui fait suite à un signal de danger d'origine exogène ou endogène et qui met en jeu des effecteurs primaires, une phase d'amplification, avec la mobilisation et l'activation d'effecteurs secondaires, et une phase de résolution et de réparation qui tend à restaurer l'intégrité du tissu agressé (Blétry *et al*, 2002). La nature du développement de chacune de ces trois phases et la nature des effecteurs primaires et secondaires impliqués, conditionnent le profil d'expression clinique et biologique de la réponse inflammatoire (aigue ou chronique, locale ou systémique, protectrice ou délétère) (Zerbato, 2009).

I-3-1-La phase vasculaire

La phase vasculaire est immédiate de l'ordre de la minute, elle est mise en jeu après pénétration du microorganisme dans un tissu (figure 4). Leurs présences est détectée et reconnue par les récepteurs appelé Toll-like récepteur (TLRs) et par les détecteurs intracellulaires de peptidoglycanes de deux types de cellules immunitaires ; les macrophages et les mastocytes (Weill et Batteau, 2003 ; Velard, 2009).

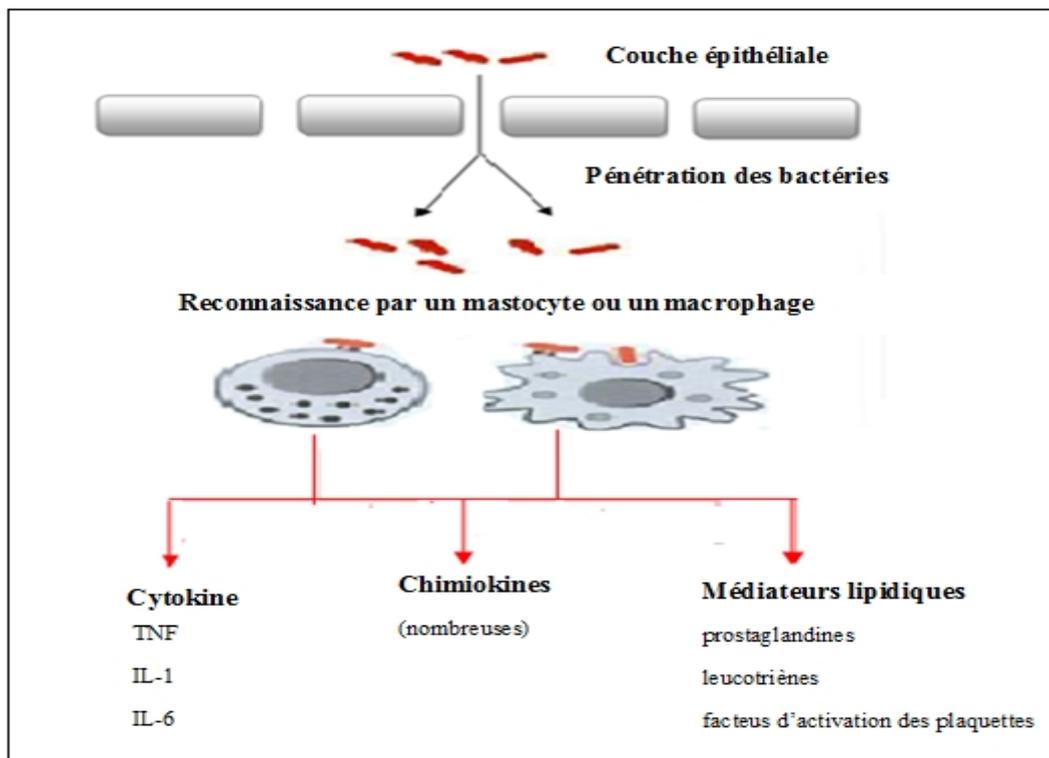


Figure 4 : Schéma représentant l'initiation de la réaction inflammatoire (De Franco *et al*, 2009).

Les récepteurs TLRs activent un facteur de transcription le NF- κ B (facteur nucléaire κ B), qui stimule la production des médiateurs peptidiques, tel que les cytokines et les chimiokines. La stimulation du macrophage par le lipopolysaccharide (LPS) induit la production de TNF- α et l'IL-1 qui agissent sur les cellules voisines pour les induire la production aussi le TNF- α et l'IL-1, ces derniers agissent aussi en retour sur les cellules qui les produisent, ce qui constitue une boucle de rétrocontrôle positif (figure 5) (De Franco *et al*, 2009 ; Janeway *et al*, 2009).

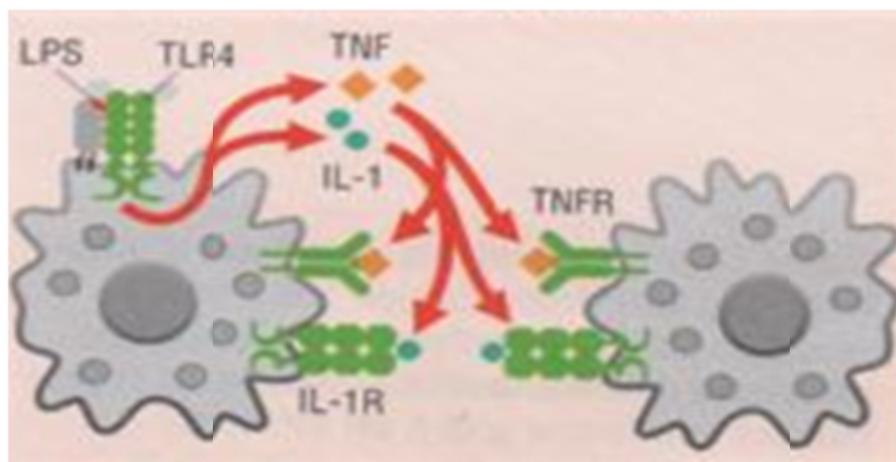


Figure 5 : Schéma représentant la boucle positive de la production des cytokines pro-inflammatoires (De Franco *et al.*, 2009).

La libération de ces médiateurs induit une vasodilatation des vaisseaux sanguins avec une augmentation du débit local, une modification de la perméabilité vasculaire et une augmentation des fenêtrures intracellulaires, ce qui permet l'extravasation des protéines plasmatiques et des cellules vers les tissus. Parmi les protéines attirées vers les tissus lésés, les protéines du complément (Weill et Batteux, 2003 ; De Franco *et al.*, 2009).

L'activation de ce système par la voie classique (complexe antigène/ anticorps) ou par la voie alterne (endotoxine bactérienne) se traduit par la formation de nombreux produits de coupure du complément qui servent d'importants médiateurs de l'inflammation (Weill et Batteux, 2003 ; Goldsby *et al.*, 2003).

Les conséquences de l'activation de la voie alterne du complément sont ; l'opsonisation, le C3b peut interagir avec les surfaces bactériennes et ainsi recouvrir les microorganismes, ceci facilite la phagocytose par les macrophages qui possèdent des récepteurs aux protéines du complément (figure 6). Chimiotactisme, le C3a et le C5a qui sont des anaphylatoxines activent les processus pro-inflammatoires comme l'augmentation de la perméabilité capillaire ou le chimiotactisme. Leur liaison aux récepteurs de membrane des mastocytes tissulaires induit une dégranulation avec libération d'histamine. La cytolyse, le complexe C5b-C9 ou complexe d'attaque membranaire s'insère dans la membrane plasmique des cellules cibles afin de former des pores, ce qui entraîne une fuite du contenu cytoplasmique et l'éclatement de la cellule (Goldsby *et al.*, 2003 ; Klein, 2009).

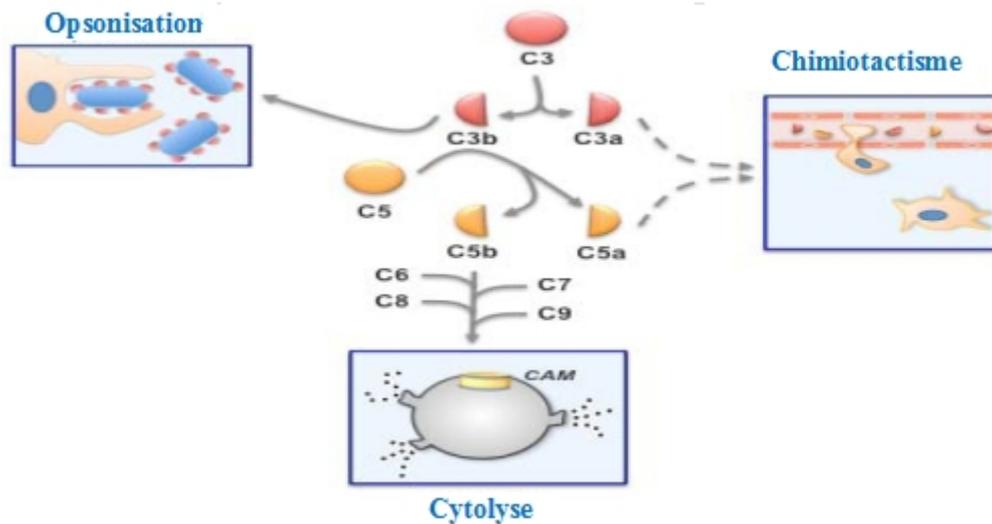


Figure 6 : Schéma représentant les conséquences de l'activation de la voie alterne du complément (Klein, 2009).

L'activation des cellules endothéliales, déclenche deux cascades protéolytiques ; la cascade des kinines et la cascade de coagulation, ce qui entraîne l'activation des plaquettes. La production de la bradykinine, qui est un nanopeptide, elle augmente puissamment la perméabilité vasculaire par la cascade des kinines. Tandis que la cascade de coagulation conduit à la formation des caillots qui vont limiter la propagation des microorganismes depuis le foyer infectieux (Weill et Batteux, 2003 ; De Franco *et al*, 2009).

A la suite de perturbations membranaires, les phospholipides de la membrane de divers types cellulaires (par exemples, les macrophages, les monocytes, etc.) sont dégradés en acide arachidonique et en facteur d'activation des plaquettes (PAF). Ce facteur a de nombreux effets inflammatoires, y compris le chimiotactisme des éosinophiles et la dégranulation des neutrophiles. Le métabolisme de l'acide arachidonique (AA) par la voie de la cyclooxygénase produit des prostaglandines et des thromboxanes. Les prostaglandines ont plusieurs effets physiologiques, tel que l'augmentation de la perméabilité et la dilatation cellulaire et une induction de chimiotaxie des neutrophiles. Les thromboxanes provoquent l'agrégation plaquettaire et la constriction des vaisseaux sanguins. Les dérivés de la voie de dégradation de la AA par la 5-lipooxygénase donne les leucotriènes, qui ont une forte activité chimiotactique et chimiocinétiq sur les polynucléaires neutrophiles (Weill et Batteux, 2003 ; Kindt *et al*, 2008).

I-3-2- La phase cellulaire

Le contrôle d'une infection dans un tissu nécessite le recrutement des cellules immunitaires, qui dépend à la fois de la vitesse de leurs diapédèse et la nature des concentrations des facteurs du chimiotactisme. L'activation des cellules recrutées entraîne la production des chimiokines et de cytokines comme L'IL-1, L'IL-6 et le TNF- α , ce qui favorise l'entretien et l'amplification de la réaction inflammatoire (Giraudet *et al*, 1984).

Quant les leucocytes du sang rencontrent les molécules d'adhésions tel que la P sélectine, la E sélectine et la L sélectine présentées par les cellules endothéliales, ils interagissent avec elle par l'intermédiaire de glycoprotéines (figure 7). Les sélectines se lient à leur ligands avec une affinité modérée et un taux de dissociation élevé. Dans le sang les leucocytes ralentés roulent à la surface de l'endothélium en formant des interactions successives avec des molécules de sélectine c'est la première étape de recrutement des leucocytes. Dans la seconde étape, les leucocytes expriment autre molécules d'adhésions tel que les intégrines, qui sont à l'état inactive. Les chimiokines stimulent l'augmentation de l'affinité des intégrines des leucocytes pour présentés leurs ligands sur l'endothélium. L'IL-1 induit une augmentation de l'expression de l'ICAM-1 et du VCAM qui se fixent aux intégrines, et induit l'adhérence des leucocytes à l'endothélium qui est irréversible. Dans l'étape finale, les leucocytes trouvent une jonction intercellulaire dans l'endothélium et migrent hors du sang entre deux cellules endothéliales (migration trans-endothéliale ou diapédèse) (Paparella *et al*,2002 ; Benihoud et Bobé, 2005).

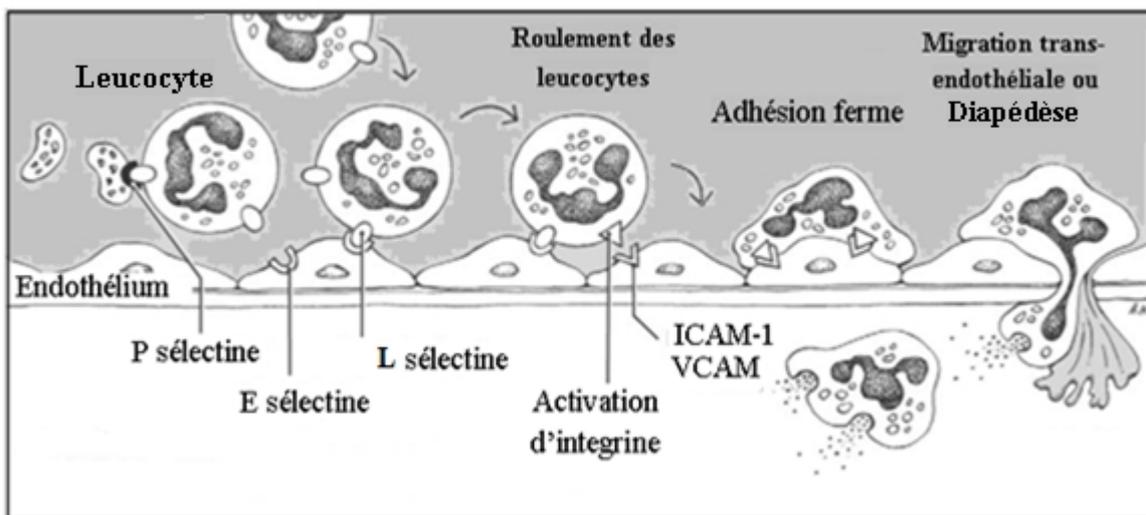


Figure 7: Schéma représentant la migration trans-endothéliales des leucocytes (Paparella *et al*,2002).

I-3-3- La phase de résolution

Le retour à l'équilibre tissulaire implique l'élimination de tous les éléments inducteurs de l'inflammation et des produits résultant de la dégradation du tissu altéré par les cellules phagocytaires. L'entrée en apoptose des des polymorphonucléaires (PMNs) et leur phagocytose par les macrophages entraîne une diminution de la production des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8). Le TNF- α induit la protéolyse suivie de largage du domaine extracellulaire des récepteurs du TNF- α . Ces domaines comportent alors des inhibiteurs en liant le TNF- α et en l'empêchant de ce lié au récepteur présent sur les cellules des macrophages voisines. L'IL-1 induit la production de l'IL-1ra qui est à la fois son analogue et son antagoniste au niveau de son récepteur (figure 8) (De Franco, 2009 ; Velard, 2009).

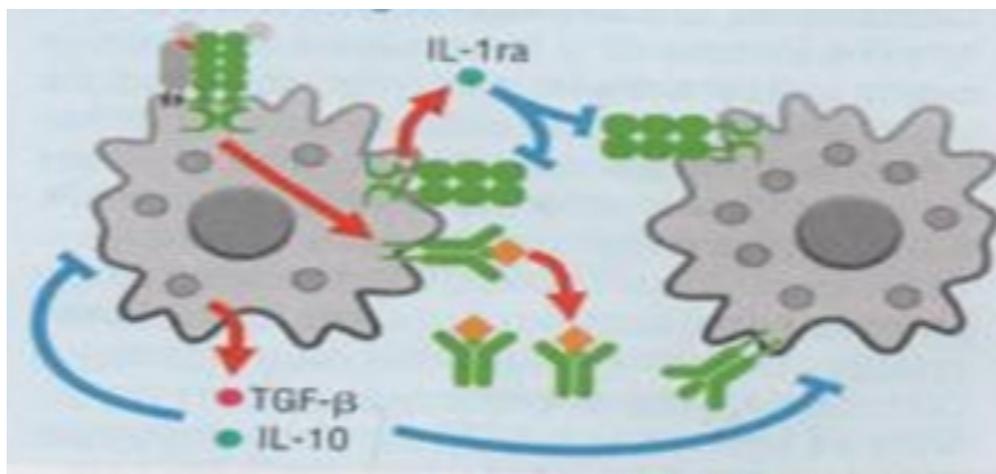


Figure 8 : Schéma représentant la boucle négative de la production des cytokines inflammatoires (De Franco *et al*, 2009).

La désactivation de la réponse inflammatoire implique également une succession de mécanismes immunosuppresseurs agissant notamment sur la paroi vasculaire, nécessitant la participation de cytokines, de chimiokines et de facteurs de croissance. Parallèlement, les macrophages produisent des cytokines anti-inflammatoires comme le TGF- β et l'IL-10 en réponse à la reconnaissance des PMNs apoptotiques (notamment via CD36), ainsi que des facteurs de croissance qui permettent la prolifération des fibroblastes. Ces derniers synthétisent les protéines matricielles qui vont permettre la réparation des tissus lésés (De Franco, 2009 ; Velard, 2009).

Chapitre I

La réaction inflammatoire

Chapitre II

Inhibition de la cyclooxygénase-2

II- La cyclooxygénase

La cyclooxygénase est une enzyme importante de l'organisme, impliquée dans la synthèse des prostanoides à partir de l'acide arachidonique. Il existe deux isoformes de cette enzyme ; la cyclooxygénase-1 (COX-1) et la cyclooxygénase-2 (COX-2), dont leurs régulations et expressions se font de façon indépendante. La COX-1 est présente de façon constitutive dans la plupart des tissus et participe notamment à la protection de la muqueuse gastro-intestinale par la synthèse de prostaglandine E2 (PGE2), à l'activité plaquettaire et à la régulation de flux sanguin local par la synthèse de thromboxane A2 (TXA2) ou de prostacycline (PGI2). La COX-2 est induite par certains stimuli, dont les cytokines pro-inflammatoires et elle participe dans plusieurs processus pathologique tels que les cancers et l'inflammation (Chioleron *et al*, 2000).

II-1-Structure chimique des cyclooxygénases

Les structures primaires de la COX-1 et de la COX-2 de nombreuses espèces sont connues. Les deux isoformes contiennent des peptides signaux de longueurs variables. La COX-1 contient 576 acides aminés, alors que la forme mature de la COX-2 contient 587 acides aminés. Les deux enzymes présentent un poids moléculaire de 71 KDa. La structure tridimensionnelle à été attribuée au milieu des années 90 aussi bien pour la COX-1 que pour la COX-2. Ces enzymes sont organisées en homodimères qui sont globalement identiques. Chaque monomère se compose de trois domaines structuraux ; un domaine de 50 acides aminés avec un facteur de croissance (EGF) à l'extrémité N-terminal, un domaine de membrane voisine (MBD) d'environ 50 acides aminés, et un domaine catalytique globulaire à l'extrémité C-terminal (figure 9) (William *et al*, 2000 ; Beziere, 2008).

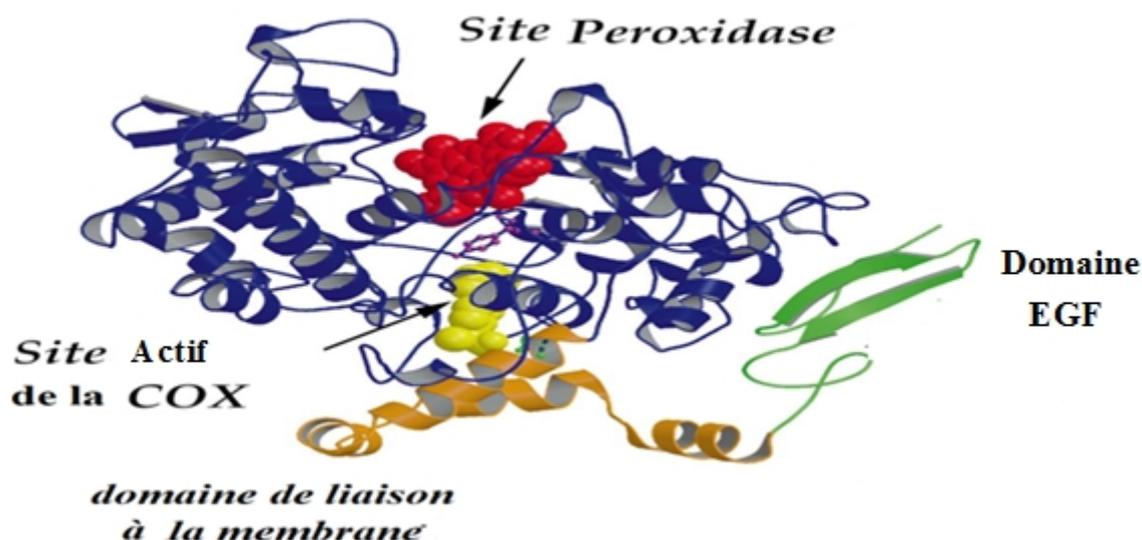


Figure 9 : Model à 3D de la cyclooxygénase, comportant un noyau hème dans le site peroxydase, un site de la COX occupé ici par le flurbiprofène, un facteur de croissance épidermique EGF, domaine catalytique en bleu et un domaine de membrane voisine MBD (Garavito *et al*, 1999).

II-2 Structure du gène de la cyclooxygénase

Le gène de la COX-1 humain est situé sur le chromosome 9 ; il est constitué de 11 exons et 10 introns. Quant à celui de COX-2 est situé sur le chromosome 1, il est fait de 10 exons et 9 introns (figure 10). Le gène de la COX-2 ne fait que 8,3 Kb, alors que celui de la COX-1 ne fait que 22,5 Kb de longueur. Les différences entre la COX-1 et la COX-2 sont : le premier intron dans la COX-1 est perdu dans la COX-2 et les introns dans la COX-2 sont plus courts (Tanabe et Tohnai, 2002). Les principales différences entre les deux isoformes sont représentées dans le tableau I.

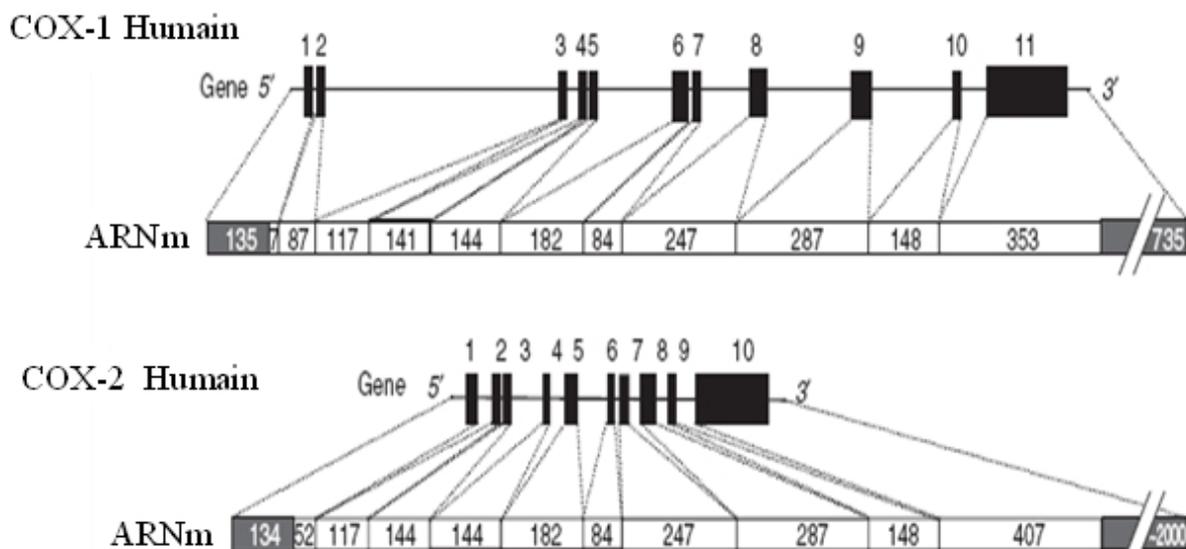


Figure 10 : Structure du gène humain de la COX-1 et de la COX-2 (Chandrasekharan et Simmons, 2004).

Tableau I : Principales différences entre la COX-1 et la COX-2 (Blain *et al*, 2000).

	COX-1	COX-2
Gène	22 kb, chromosome 9 ARNm 2,8 kb	8 kb, chromosome 1 ARNm 4,3 kb (instable)
Localisation	Réticulum endoplasmique (+++) Membrane nucléaire (+)	Réticulum endoplasmique(+) Membrane nucléaire (+++)
Substrats	Acide arachidonique (AA) AA exogène (synthétisé par PLA2 des cellules voisines).	AA et autres acides gras en C20. AA exogène et endogène
Expression	Constitutionnelle, ubiquitaire, à niveau constant.	Constitutionnelle (cerveau, prostate). Inductible en 1 à 3 heures dans tous les tissus par L'IL-1, IL-2, TNF- α ...etc. les facteurs de croissance (EGF, FSD) et le LPS bactérienne.

II-3-Régulation de l'expression du gène de la cyclooxygénase -2

De nombreuses études sur l'expression du gène de la cyclooxygénase-2 ont été rapportées avec divers tissus et cellules, et de nombreux facteurs ont été reconnus pour stimuler ce dernier (LPS, TNF, EGF...etc). Le gène de la cyclooxygénase-2 est inductible, avec un promoteur contenant la boîte TATA (Figure 11). Des zones de fixations pour des régulateurs transcriptionnels comme le NF- κ B, NF-IL6, un motif CRE et une E- box, un site AP2 et Sp1 (William *et al*, 2000 ; Tanabe et Tohnai, 2002).

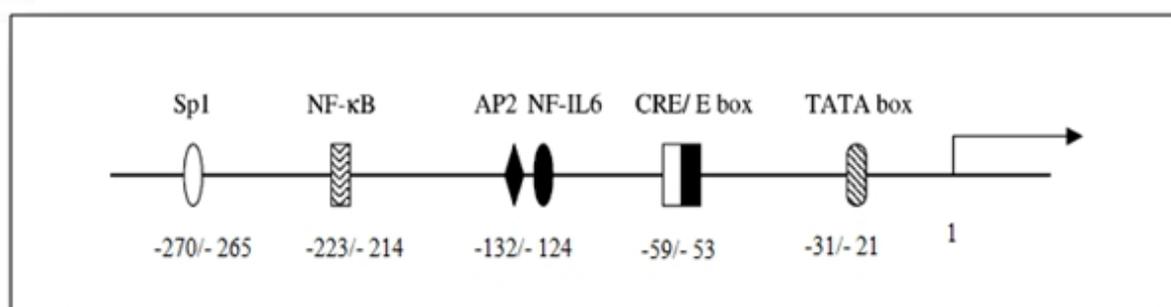


Figure 11 : Représentation schématique du promoteur de la cyclooxygénase-2 chez l'homme (Tanabe et Tohnai, 2002).

Les cascades de signalisation intracellulaire impliquées dans l'expression de la COX-2 suivant des stimulus pro-inflammatoires mènent principalement à l'activation du gène NF- κ B et/ ou des MAP- kinase. La voie de signalisation de NF- κ B, stimulé par le TNF- α , IL-1, etc., est impliquée différemment dans l'expression de la cyclooxygénase-2. Chacun de ces effecteurs comme les LPS, peut activer cette voie. Lors d'un choc septique, le récepteur TLR4 des LPS est fortement impliqué. L'activation de celui ci induit le recrutement d'une molécule d'adaptateur, le facteur de différenciation Myéloïde 88 (M_YD88). Le M_YD88 recrute et active à tour de rôle une kinase qui est l'IRAK (Kinase associé au récepteur d'IL-1), qui interagit en suite avec une autre molécule adaptatrice appelée TRAF-6 (Facteur -6 associé au récepteur de TNF) (figure 12). Ce dernier induit le NIK, qui active le IKK qui phosphoryle directement le complexe IKB et lance la dégradation ubiquitine – protéosome, libère et active le NF- κ B (Tanabe et Tohnai, 2002).

La cascade MAPK (protéine Kinase activé par mitogène) est l'une des voies de signalisation les plus importantes impliqué dans l'expression de la COX-2. La famille des MAPK est constituée au moins de trois sous groupes différents qui comprennent l'ERK des JNKs/SAPKs qui sont activés en réponse aux cytokines pro-inflammatoires choc

thermiques...etc, et les groupes P38 MAPK, stimulées par les radiations UV, les chocs osmotiques et d'autres. Une fois activé, le MAPK peut phosphoryler et activé des facteurs de transcription qui régulent l'expression du gène de la COX-2 (Tanabe et Tohnai, 2002).

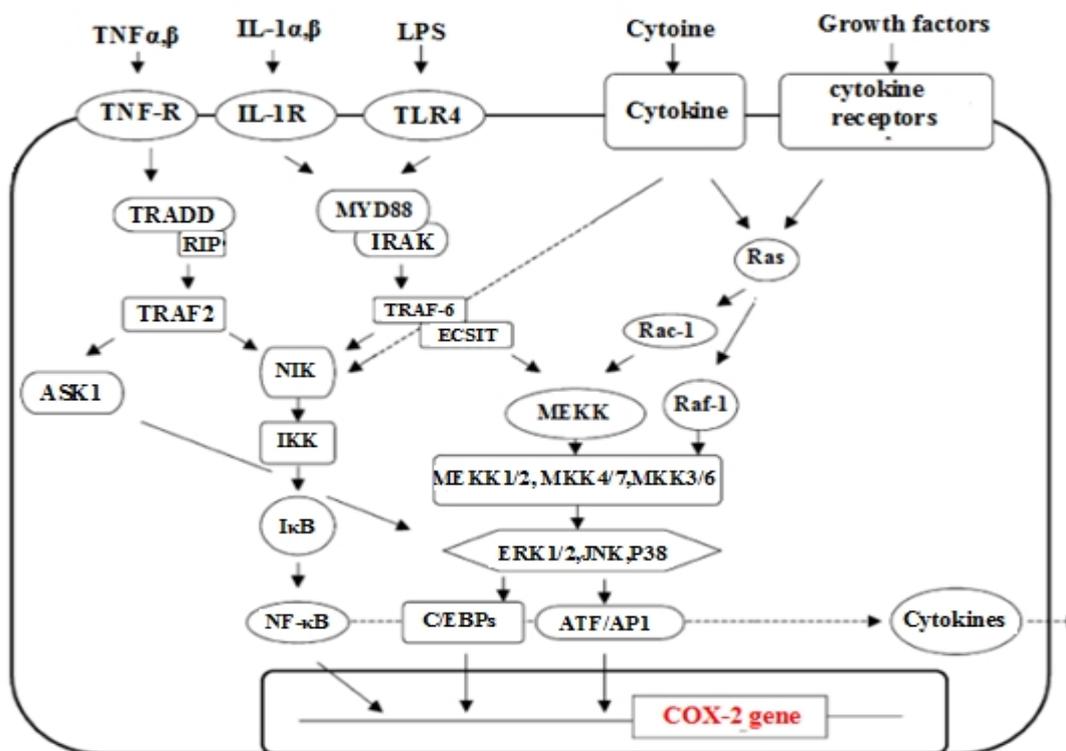


Figure 12 : Schéma représentant les voies de l'expression du gène de la cyclooxygénase- 2

(Tanabe et Tohnai, 2002).

II-4-Le facteur de transcription NF- κ B

Le NF- κ B est un facteur de transcription spécifique, présent dans les cellules sous formes homo ou hétérodimériques. Il a été décrit pour la première fois en 1986 et identifié comme un régulateur de l'expression des gènes des chaînes Kappa des immunoglobulines dans les lymphocytes B matures. Par la suite il a été démontré que le NF- κ B était ubiquitaire et inductible (Li *et al*, 1994 ; Nishikori, 2005). Il est bien connu pour sa participation dans la réaction inflammatoire et immunitaire (Greten et Karin, 2004). IL joue également un rôle important à différents niveau cellulaires, depuis l'embryogenèse jusqu'à l'apoptose. Des dérégulations de l'activité de NF- κ B sont impliquées dans différentes maladies telles que l'asthme et la polyarthrite rhumatoïde (Chable, 2004).

II-4-1-Mécanisme d'activation du facteur NF- κ B

Le facteur nucléaire NF- κ B joue un rôle crucial dans le déclenchement, l'amplification et la résolution de l'inflammation. La réponse aux stimuli pro-inflammatoires, tels que les cytokines (l'IL-1b ou TNF- α) qui commandent l'expression des médiateurs de l'inflammation tels que les IL-1b, IL-6, IL-8, INF- α (Sebban et Courtois, 2006).

Deux voies importantes mènent à la translocation des dimères de NF- κ B à partir du cytoplasme et le noyau (figure13); la voie NF- κ B classique faisant intervenir un hétérodimère p50-p65, qui sont maintenus à l'état inactive par une famille d'inhibiteurs, appelé inhibiteurs de NF- κ B (I- κ B). Elle est déclenchée par des cytokines pro-inflammatoires et les modèles moléculaires pathogènes qui engagent différents récepteurs de TNF (TNFR) ou récepteur d'interleukine-1 (IL-1R) (De Franco *et al*, 2009 ; Fang et Greten, 2011). La liaison de TNF à son récepteur recrute des composantes TRAF du signal, qui à leur tour activent le complexe kinase I- κ B. Ce complexe est composé de deux sous-unités catalytiques d'IKK α (IKK1) et d'IKK β (IKK2) aussi bien que la sous-unités régulatrices IKK γ ou NEMO qui sert d'adaptateur entre les sous-unités kinases (Bonizzi et Karin 2004 ; De Franco *et al*, 2009).

Par l'intermédiaire de diverses molécules d'adaptateurs déjà cité précédemment dans la régulation de l'expression de la COX-2, le NF- κ B libère plus généralement le dimère de p50-RelA, qui peut accéder au noyau, se lier à l'ADN et activer la transcription (Bonizzi et Karin, 2004 ; Fang et Greten, 2011). Une nouvelle voie alternative pour l'activation de NF- κ B qui est déclenché par différentes membres de superfamille de TNF tel que le BAFF. Cette voie dépend d'IKK α et indépendante d'IKK β et d'IKK γ (Bonizzi et Karin, 2004). Des homodimères d'IKK α sont phosphorylés à deux emplacements pour p100 et p52, à la région C-terminal ressemblant à I- κ B de p100. L'ubiquitinylation et l'élimination de la région ressemblant à I- κ B libère un complexe p52-RelB qui entre dans le noyau et active la transcription de gène cible (De Franco *et al*, 2009 ; Fang et Greten, 2011).

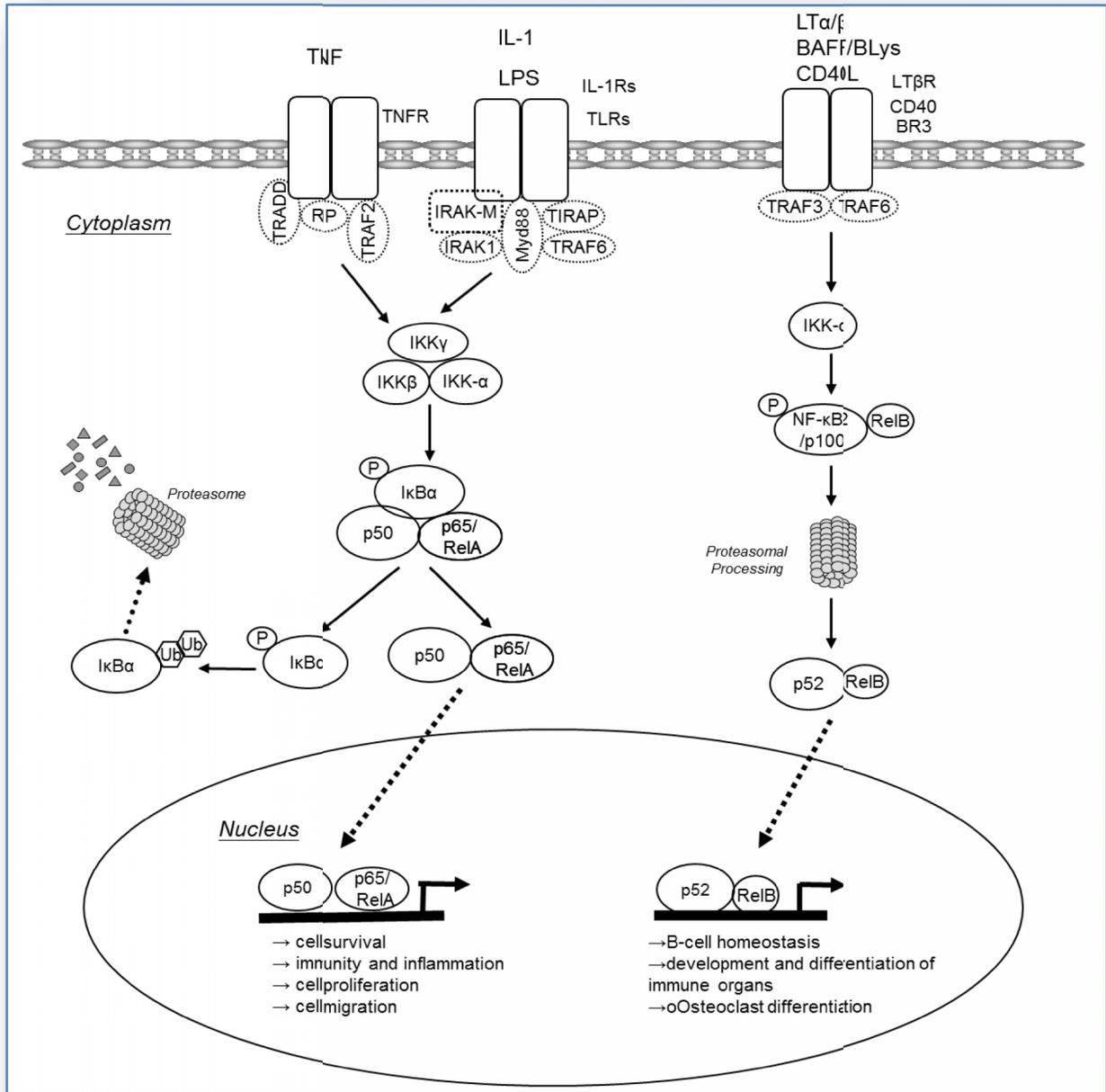


Figure 13 : Représentation schématique des deux voies d'activation du NF-κB (Fang et Greten, 2011).

II-5-Site actif des cyclooxygénases

La structure tridimensionnelle des COXs a permis de montrer qu'il s'agit des protéines membranaires monotopiques, présentes sous la forme d'homodimères glycosylés. Cette localisation permet le passage direct de l'acide arachidonique libéré à partir des membranes vers l'emplacement actif de la COX. Le domaine enzymatique globulaire comprenant un site dioxygénase et un site peroxydase. Les interactions spatiales entre le domaine enzymatique et le motif de liaison à la membrane permettent d'éliminer un long canal hydrophobe dans lequel est métabolisé l'acide arachidonique (Jouzeau *et al*, 2004 ; Botting, 2006).

Les deux sites actifs des isoenzymes de la cyclooxygénase sont différents pour plusieurs acides aminés (figure 14), l'Arg120 ou l'Arg106, située à l'entrée du site actif et maintenue sous une forme protonée (NH_3^+) grâce à un pont salin avec un Glu524 ou Glu510, qui est le site de fixation des dérivés carboxyliques (COO^-). La Tyr385 ou Tyr371, située au sommet du site actif, qui est l'acide aminé catalytique nécessaire à l'insertion d'une première molécule d'oxygène sur l'acide arachidonique. La Ser 530 ou Ser 516, située au milieu du site actif, mais à proximité de l'acide aminé catalytique, qui est le site d'acétylation par l'aspirine. Cette comparaison a également montré que le site actif de COX-2 est plus large (+25%) et plus volumineux (+17%) que celui de COX-1. Elle possède une poche latérale supplémentaire par rapport à celui de COX-1. Cette différence étant due à la substitution d'un acide aminé très volumineux de la COX-1 (Ileu523) par un acide aminé peu volumineux (Val509) dans la COX-2, et possède une voute apicale plus flexible que celle de la COX-1. La COX-2 est plus flexible que COX-1, car elle peut exister sous plusieurs conformations (Jouzeau *et al*, 2004).

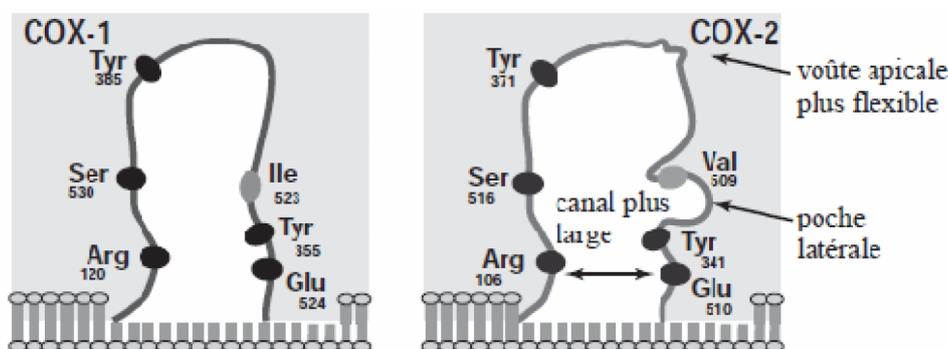


Figure14 : Structure comparée des sites actifs de la COX-1 et COX-2 (Jouzeau *et al*, 2004).

II-6 Rôle de la cyclooxygénase-2 dans le métabolisme de l'acide arachidonique

La fonction principale de la COX-2 est la métabolisation de l'acide arachidonique en prostaglandine. Après hydrolyse par la phospholipase A2 (PLA2) des phospholipides membranaires pour libérer l'acide arachidonique (AA), la COX-2 va dans son site de cyclooxygénation, former la prostaglandine (PGG2), un intermédiaire peroxydé instable. Cette réaction d'oxydation est possible grâce à une tyrosine (Tyr385) présente à l'état radicalaire qui va arracher un proton à l'AA et ajouter deux molécules d'oxygène (Figure 15 et 16). La PGG2 va ensuite être réduit via Tyr385 et avec la participation de l'hème du sous-site catalytique voisine présentant une activité peroxydase, pour donner la prostaglandine (PGH2). La conversion de la PGH2 en prostanoides comme les prostaglandines primaires (PGD2, PGE2, PGF2 α), le thromboxane A2 (TXA2) ou la prostacycline (PGI2) dépend d'isomérases et de synthases qui sont exprimées sélectivement dans certains tissus ou certains types cellulaires (figure 15). Le type de composé produit dépend de plusieurs facteurs, le plus important étant le type de cellule ; par exemple, les cellules épithéliales produisent PGI2, alors que la COX-2 plaquettaire produit TXA2. Contrairement aux hormones, ces médiateurs sont produits par différents tissus et ont une fonction autocrine ainsi que paracrine passant par deux classes de récepteurs ; la famille des récepteurs nucléaires ; des récepteurs activés par la prolifération de peroxyosomes (PPAR a, b, et g), et des récepteurs cytoplasmiques tel que ; récepteur de prostaglandine E (EP1-2-3-4), récepteur de prostaglandine F (FP), récepteur de thromboxane (TP), qui sont spécifiques à certains prostanoides (figure 17) (Jouzeau *et al*, 2004 ; Botting, 2006 ; Beziere, 2008).

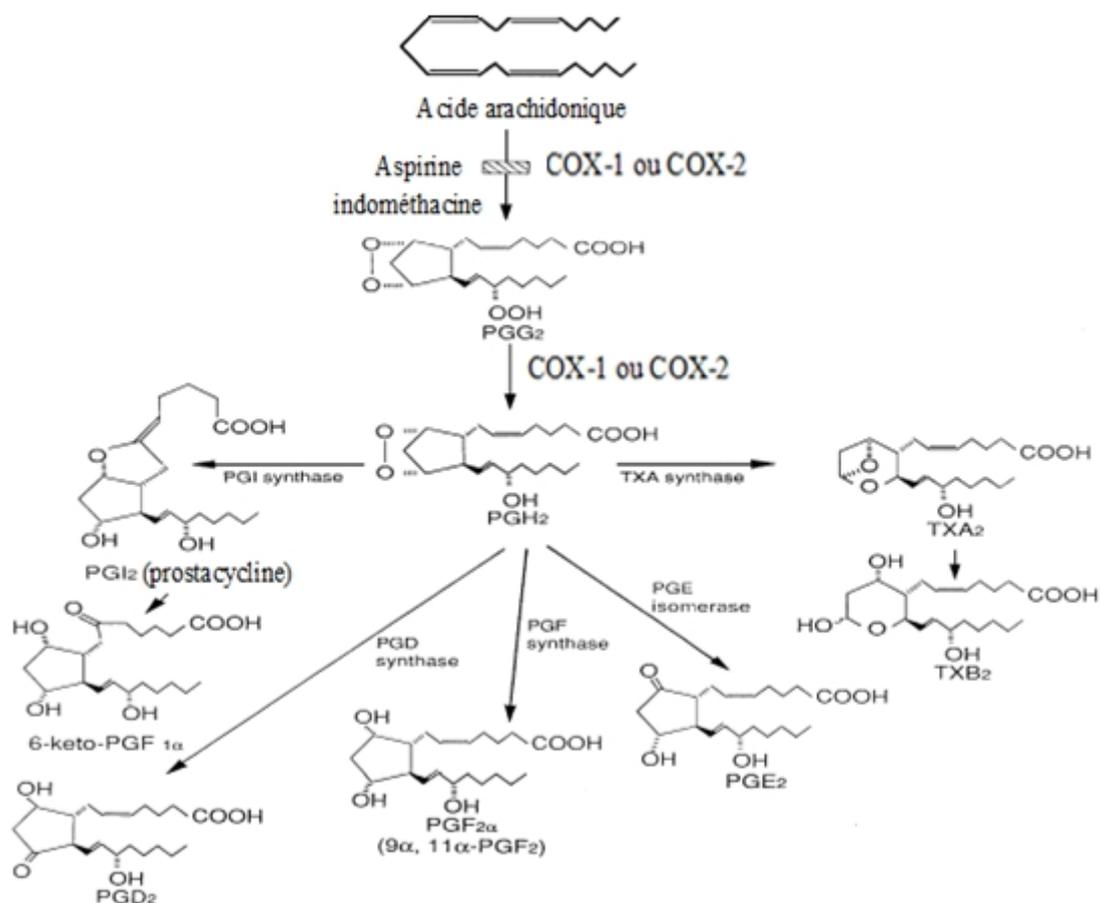


Figure 15 : Schéma représentant la cascade d'activation de l'acide arachidonique (Vane *et al*, 1998).

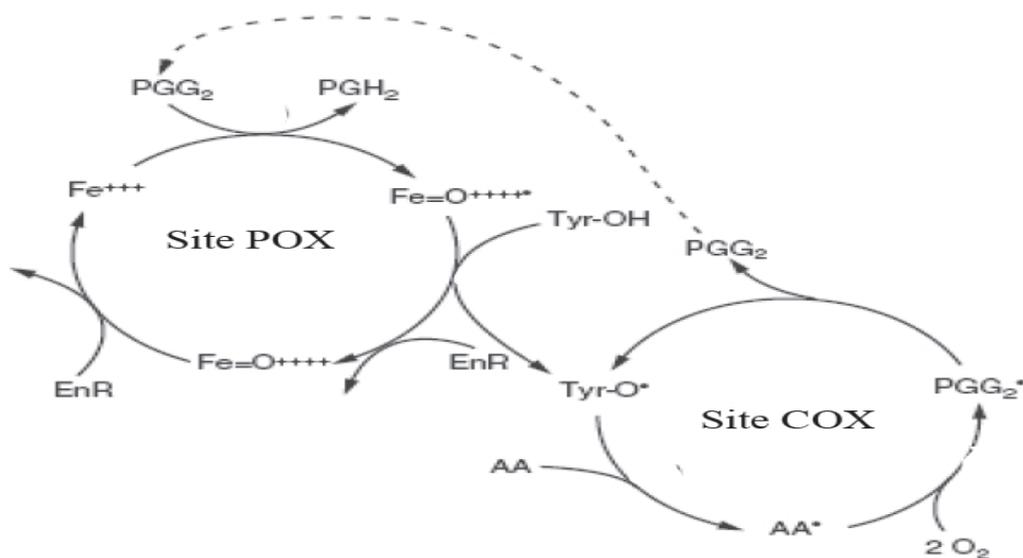


Figure 16 : Cycle d'activation de la peroxydase et de la cyclooxygénase (Chandrasekharan et Simmons, 2004).

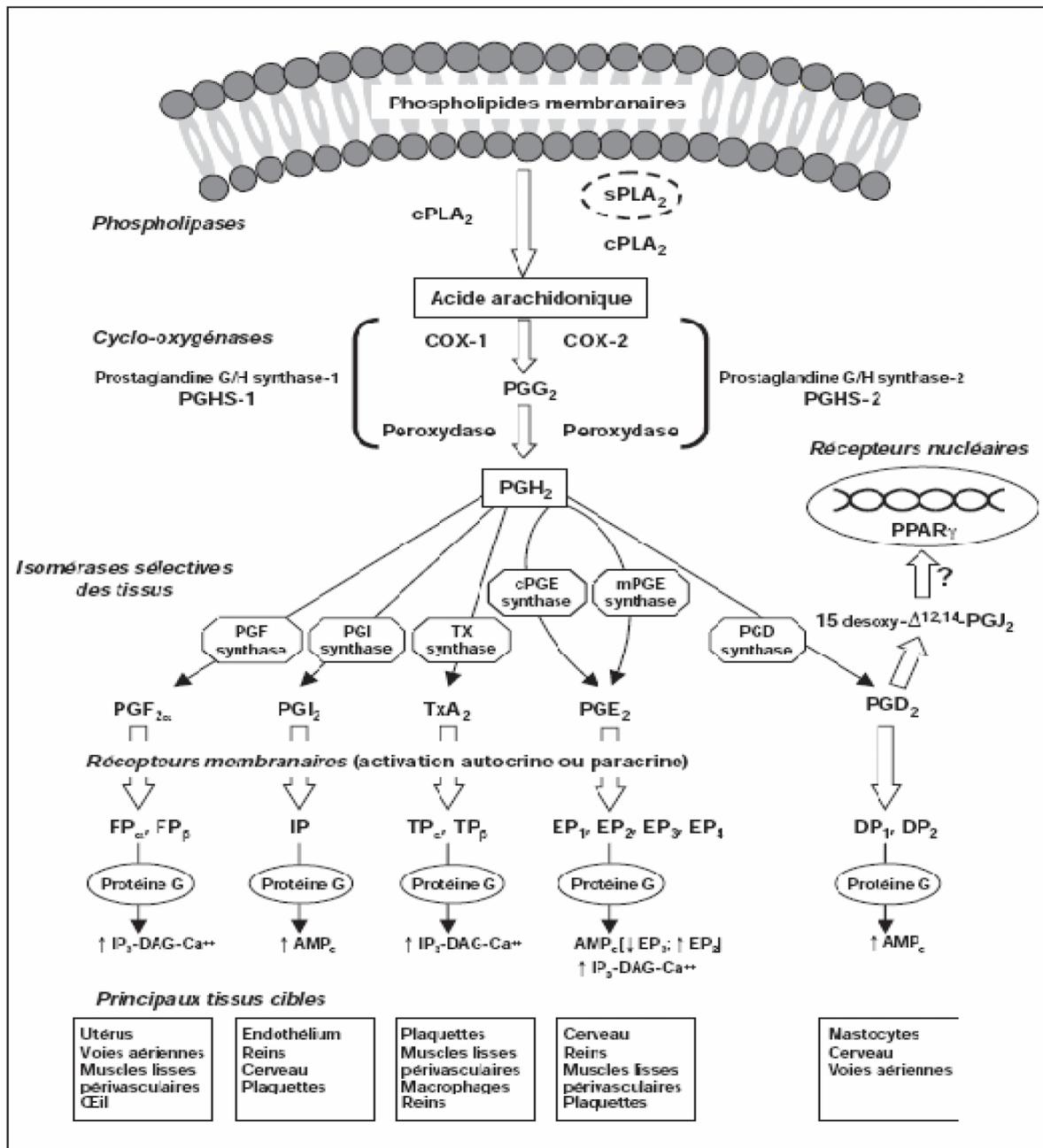


Figure 17 : Schéma générale représentant les voies d'action des métabolites de l'acide arachidonique (Jouzeau *et al*, 2004).

II -7- Les inhibiteurs des cyclooxygénases

L'inhibition de la production des prostanoides primaires par les inhibiteurs sélectifs et non sélectifs de cyclooxygénase, en bloquant l'accès de l'acide arachidonique au site actif des cyclooxygénases (COX), car les prostanoides produits par la COX-1 semblent jouer un rôle physiologique très important dans la protection de la muqueuse gastrique, l'agrégation plaquettaire et l'homéostasie vasculaire. Tandis que ceux produits par la COX-2 interviennent principalement dans la réponse inflammatoire et dans quelques processus associés à la prolifération cellulaire (rôle pathologique) (figure 18). Les inhibiteurs de la COX (ICOX) sont une famille de médicaments qui comprennent les anti-inflammatoires non stéroïdiens non sélectifs (AINS), qui ciblent à la fois la COX-1 et la COX-2, ainsi que les inhibiteurs sélectifs de la COX-2 (ICOXIB) qui ciblent préférentiellement la COX-2 (Blain *et al*, 2000).

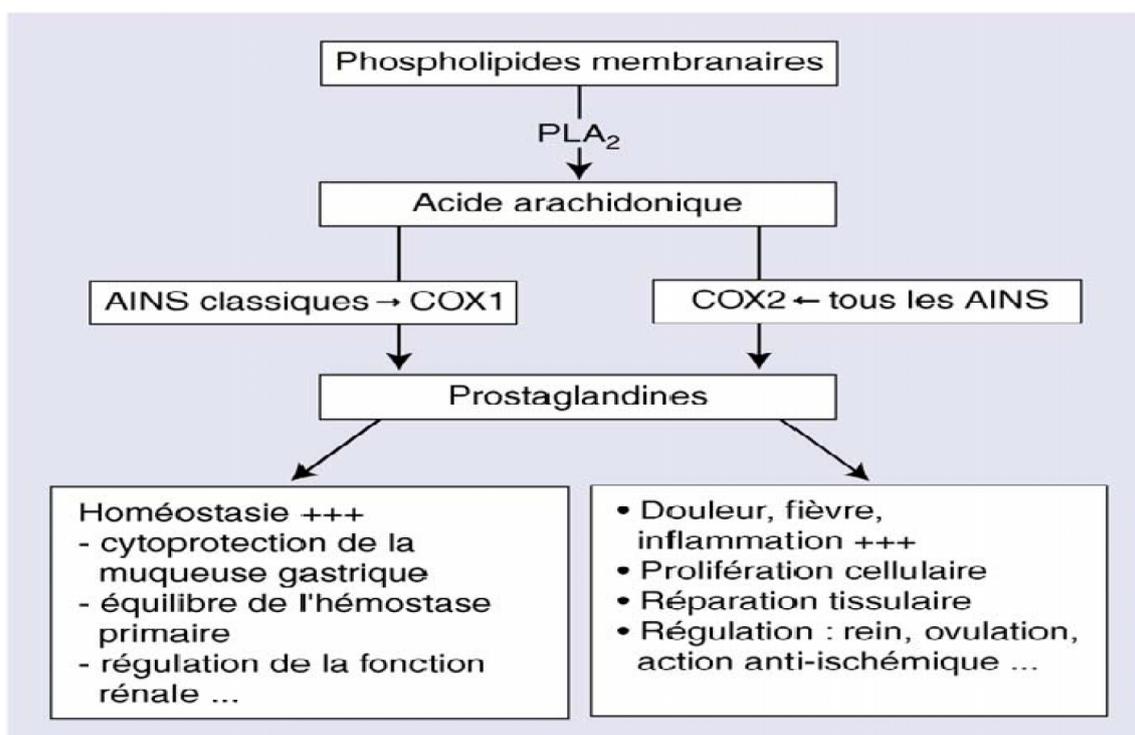


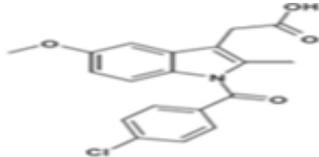
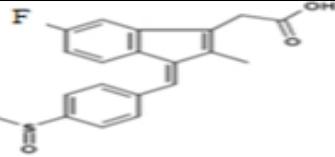
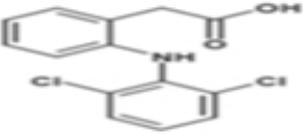
Figure 18 : Effet de l'inhibition de la COX-1 et la COX-2 (Bannwarth, 2005).

II-7-1- Inhibiteurs non sélectifs

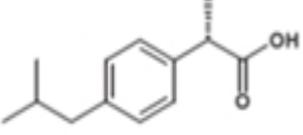
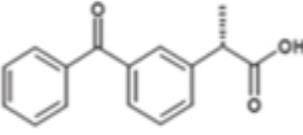
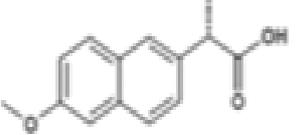
Les inhibiteurs de la cyclooxygénase présentent une solution intéressante pour le traitement de l'inflammation chronique, par la limitation de la quantité de médiateurs pro-inflammatoires produits. Ce sont les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) qui possèdent à la fois une activité anti-inflammatoire et analgésique, en inhibant la cyclooxygénase de façon non sélective. L'AINS le plus populaire est l'aspirine ou l'acide acétylsalicylique, un dérivé de salicylate (Jean, 2003 ; Botting, 2006).

Nombreuses molécules ont été synthétisées pour augmenter la spécificité par rapport à l'aspirine et de diminuer les effets secondaires, notamment gastriques. Ces composés sont généralement classés par familles chimiques ; les fénacs ayant une fonction acide (Diclofénac, Indométhacine, Sulindac,...etc), les profènes dont la particularité est de porter une fonction acide sur un carbone asymétrique (Ibuprofène, Kétoprofène, Naproxène,... etc), les oxicanes dérivés carboxamides du benzothiazine dioxyde (piroxicam, tenoxicam,...etc) et les acétylants de la Ser 530 ; aspirine, *o*-(acetoxyphenyl) hept-2-ynyl-sulfide et certains dérivés de l'acide salicylique (figure 19) (Blain *et al*, 2000 ; Béziere, 2008).

Les fénacs

		
Indométhacine	Sulindac	Diclofénac

Les profènes

		
Ibuprofène	Kétoprofène	Naproxène

Les oxicanes

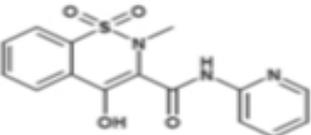
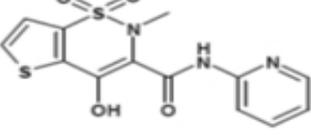
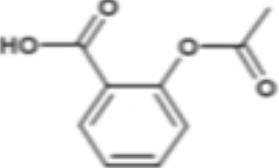
		
Piroxicam	Renoxicam	

Figure 19 : Structure chimique des différentes AINS (Beziere 2008)

II-7-1-1-Mécanisme d'inhibition des cyclooxygénases

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens non sélectifs pénètrent dans les canaux des deux isoenzymes de la cyclooxygénase. L'aspirine, bloque les deux isoenzymes en se liant à un résidu Arginine dans la moitié inférieure du canal par un pont hydrogène (figure 20). Ceci inhibe de manière réversible l'activité enzymatique en empêchant l'accès de l'acide arachidonique à son site d'action. L'aspirine permet aussi l'acétylation de la COX-1 et de la COX-2 au niveau de la Sérine 530 et agit par cette manière irréversible (Hinz et Brune, 2002 ; Neal, 2010).

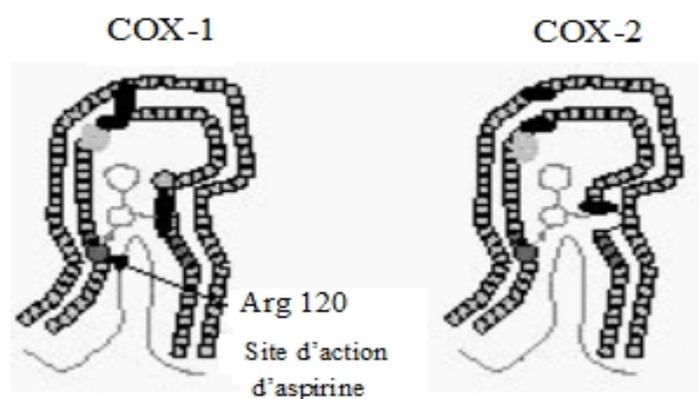


Figure 20 : Mécanisme d'action des AINS (Hawkey, 1999).

II-7-2- Inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase-2

Les inhibiteurs sélectifs de la COX-2 ont été présentés en 1999. Les premiers anti-inflammatoires non stéroïdiens à présentés en tant qu'inhibiteurs sélectifs de la COX-2 étaient Célécoxib, Rofécoxib, Valdecoxib et Etoricoxib (Figure 21). Au lieu du groupe carboxylique des acides anti-inflammatoires non stéroïdiens, la structure du Célécoxib contient un groupe de sulfonamide et celle du rofécoxib contient un méthylsulfone. Le Célécoxib, qui est commercialisé par Monsanto Searle en partenariat avec Pfizer aux États-Unis, au Brésil, au Mexique, en Argentine et en Suisse sous le nom de Celebrex[®] et le Rofécoxib, commercialisé par Merck Frosst au Royaume-Uni et depuis peu en France sous le nom de Vioxx[®]. Les premiers résultats concernant la tolérance digestive du Célécoxib et du Rofécoxib sont très encourageants. Les anneaux phényles sulfurés de ces drogues lient dans la poche latérale du canal catalytique de COX-2 mais agissent faiblement sur l'autre avec l'emplacement actif de la COX-1. Ainsi ils sont les inhibiteurs efficaces de la COX-2 et les inhibiteurs faibles de la COX-1 (Blain *et al*, 2000 ; Botting, 2006 ; Toitou, 2007).

Célécoxib (Celebrex®)	Réfécocixib (Vioxx®)	Valdecocixib (Bextra®)	Etoricoxib

Figure 21 : Structures chimiques des inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase-2 (Leblanc, 2002).

II-7-3- Inhibiteurs préférentiels de la cyclooxygénase-2

La première génération des inhibiteurs préférentiels de la COX-2 est venue des modèles animaux, tel que Nimesulide, Etodolac et Meloxicam (Figure 22), qui ont été identifiés dans les années 80, ils empêchent la COX-2 plutôt que la COX-1. La tolérance digestive est améliorée par rapport aux anti-inflammatoires classiques. Cependant, le risque d'effet indésirable digestif grave à type d'ulcère perforant ou de saignement n'est pas nul avec ces AINS, en particulier à posologie élevée. L'évolution postérieure de ces trois inhibitions a confirmé leur sélectivité pour la COX-2 contrairement aux AINS non sélectifs de la COX-1 (Vane *et al*, 1998 ; Botting, 2004).

Etodolac	Meloxicam	Nimesulide

Figure 22 : Structure chimique des inhibiteurs préférentiels de la cyclooxygénase-2 (Hawkey, 1999).

II-8- Les anti-inflammatoires d'origine naturelle

Les plantes médicinales sont très utilisées en médecine traditionnelle à travers le monde pour le soulagement des maladies inflammatoires tel que la polyarthrite rhumatoïde, l'asthme, la goutte, etc. L'activité anti-inflammatoire de ces dernières revient à leurs richesses en métabolites secondaires bioactifs tel que les polyphénols, les alcaloïdes et les huiles essentielles (Setty et Sigal, 2005). Des études menées *in vivo* et *in vitro* ont démontré l'effet anti-inflammatoire et le mécanisme d'action d'un grand nombre de principes actifs d'origine végétale qui peuvent agir à plusieurs niveaux de la réaction inflammatoire en inhibant le métabolisme de l'acide arachidonique, les voies de transductions du signal impliqué dans l'activation des cellules inflammatoires et du facteur nucléaire kappa- B (Kim *et al*, 2003).

II-8-1-Activité anti-inflammatoire des flavonoïdes

De nombreux travaux ont montré que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires. *Cayaponia Tayuya* est une plante lignifiée avec une grosse racine enflée qui a été traditionnellement utilisée comme agent anti-inflammatoire et anti-rhumatismale dans la médecine populaire du Brésil, du Pérou et de la Colombie. L'extrait de cette plante est composé d'un mélange de flavonoïdes (figure 23) (Aquila *et al*, 2009).

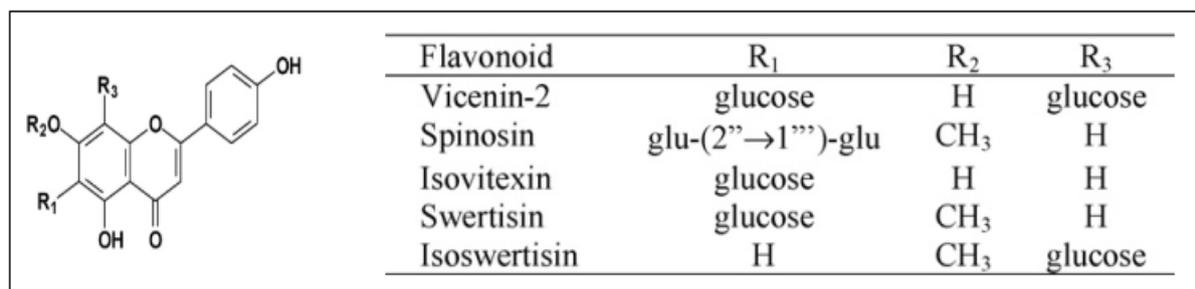


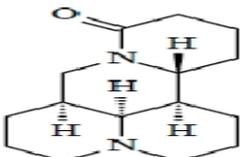
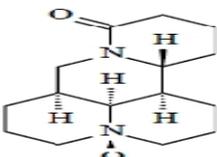
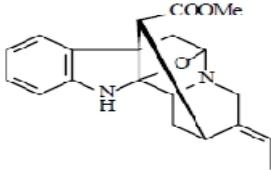
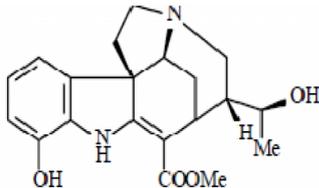
Figure 23 : Structure chimique des flavonoïdes de *C. tayuya* (Aquila *et al*, 2009).

Les effets des flavonoïdes de *C. tayuya* sur l'expression des enzymes pro-inflammatoires et des médiateurs peptidiques au niveau des macrophages RAW 264.7 stimulés par le LPS, ont été analysés à l'aide de la technique de Western blot. Les résultats de cette étude ont révélé que la fraction flavonoïdique n'a aucun effet sur la production de TNF- α , mais elle inhibe l'expression de la COX-2. Récemment, Khan et ces collaborateurs (2011), ont signalé l'effet anti-inflammatoire et analgésique de l'extrait brut d'*Areca catechu* (riche en flavonoïdes), qui a nettement réprimé le gène PGE2, donc le gène qui code pour la COX-2 qui intervient dans la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines

II-8-2- Activité anti-inflammatoire des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont une importante activité anti-inflammatoire (Tableau II). Le sophocaprine est un alcaloïde tétracyclique de quinolizidine qui inhibe l'expression de la COX-2 par l'inactivation du facteur NF- κ B. Les alcaloïdes phenanthroindolizidine, isolés à partir des feuilles de *Ficus septica*, ont été étudiés pour leurs effets anti-inflammatoires et les mécanismes de leur exploitation thérapeutique potentielle. Ils sont composés de Tylophorine, de Dehydrotylophori, et de Ficuseptine-A (Yang *et al*, 2006).

Tableau II : Activité anti-inflammatoire des alcaloïdes (Augusto *et al*, 2011).

Substance (source)	Essai	Organisme testé	Molarité
Matrine <i>(Sophora subprostrata)</i> 	Activité inhibitrice de la COX-1, <i>in vitro</i>	Rat	31,3 μ M
	Activité inhibitrice de la COX-2, <i>in vitro</i>	Rat	188,5 μ M
Matrine, oxy (<i>Sophora Subprostarata</i>) 	Activité inhibitrice de la COX-1, <i>in vitro</i>	Rat	197,8 μ M
	Activité inhibitrice de la COX-2, <i>in vitro</i>	Rat	385,1 μ M
Picrinine <i>(Alstonia scholaris)</i> 	Activité inhibitrice de la COX-2, <i>in vitro</i>	Rat	100 μ M
Scholaricine <i>(Alstonia scholaris)</i> 	Activité inhibitrice de la COX-1, <i>in vitro</i>	Souris	100 μ M
	Activité inhibitrice de la COX-2, <i>in vitro</i>	Souris	100 μ M

Conclusion

Conclusion

Au cours de ces dernières années, plusieurs recherches ont été réalisées pour apporter quelques éclaircissements sur la réaction inflammatoire tout en étudiant les cellules et les différents médiateurs de l'inflammation et pour objectif la recherche de nouvelles cibles thérapeutiques.

La cyclooxygénase-2 enzyme clé de la réaction inflammatoire inductible s'exprimée que dans des conditions pathologiques notamment au cour de l'inflammation et la cancérisation. Elle est stimuli par les facteurs pro-inflammatoires (le TNF- α , l'IL-1,...etc) et le facteur transcriptionnelle NF- κ B, pour la production d'autres médiateurs de l'inflammation tel que les PGA2, les TXA2 et les PGI2.

Pour traité l'inflammation, des molécules synthétiques ont été mise au point tel que les AINS, qui inhibent la cyclooxygénase -2 d'une manière **sélectif**. Ces dernier ont beaucoup d'effets indésirables, principalement digestives (ulcères, hémorragie, ...etc). De ce fait, des recherches sont lancées pour trouver d'autres nouvelles molécules d'origine naturelles ayant un puissant effet anti-inflammatoire. Ce sont les plantes médicinales qui représentent une source inépuisable de ces molécules, il s'agit de métabolites secondaires qui sont subdiviser en plusieurs classes (les alcaloïdes, les flavonoïdes,...etc). Une variété de ces substances agissent en inhibant la COX-2, la dégradation ou inactivation de prostaglandine E2, ainsi que l'expression de facteur NF- κ B.

Glossaire

Fibrose : La fibrose correspond à la transformation d'un tissu de notre corps en tissu fibreux ayant les caractéristiques d'un tissu de soutien (tissu conjonctif). Elle est souvent rencontrée dans les tissus subissant une inflammation chronique (tuberculose pulmonaire, abcès chronique ou cicatrice d'une grosse blessure).

Polyarthrite rhumatoïde : C'est une maladie auto-immune caractérisée par un rhumatisme inflammatoire chronique évoluant par poussées et susceptible d'entraîner des déformations et des destructions articulaires et osseuses.

Angiogenèse : C'est le développement de nouveaux vaisseaux par prolifération à partir de vaisseaux sanguins existant (notamment au cours d'une cicatrisation ou du développement d'une tumeur cancéreuse).

Diapédèse : C'est la migration des éléments sanguins en particulier les globules blancs hors des capillaires.

L'hémostasie : C'est un processus physiologique permettant de maintenir certaines constantes du milieu de l'organisme (ensemble des liquides de l'organisme) nécessaire à son bon fonctionnement.

Œdème : Accumulation anormale de liquide interstitiel dans une partie de l'organisme ou des tissus, qui se traduit par un gonflement.

Agrégation plaquettaire : C'est un phénomène qui fait suite à l'adhésion des plaquettes entre elle et le collagène.

Références bibliographiques

Augusto S L., Josean F. T., Marcelo S. D. S., Margareth F., Petronio A. F., José M. B. F (2011) – Anti- inflammatory Activity of Alkaloids: An Update from 2000 to 2012. *Molecules*. 16: 8515-8534.

Aquila S., Giner R. M., Recio M. C., Spegazzini E. D, Ríos J. L (2009) - Anti-inflammatory activity of flavonoids from *Cayaponia tayuya* roots. *Journal of Ethnopharmacology*. 121: 333–337.

Bachoual J.& Boczkowski J (2005) - Rôle des cytokines dans l'inflammation bronchopulmonaire. *Ecm-pneumologie*. 2: 74-85.

Barne P. J. & Karin M (1997) - Nuclear factor- κ B A pivotal Transcription Factor in chronic Inflammation Discases. *The New England Journal of Medecine*. 336: 1066-1071.

Benihoud K. & Bobé P (2005) - Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. Immunité innée les premières défenses contre les infections. L'édition française : Patricia Fergelot. p22-39.

Bennwarth B (2005) - Traitements anti- inflammatoires. Place des AINS classiques et des Coxibs. *EMC. Medecine*. 2 : 524-532.

Beziere N (2008) - Optimisation du concept d'inhibition de cyclooxygénase dans le traitement du cancer de la prostate. Thèse doctorat de l'universite de Lille 2. 278 p.

Blain H., Jouzeau J.Y., Netter P., Jeandel C (2000) - Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase-2. *Revue Médecine Interne*. 21 : 978-88

Bletry O. & Kahn J- E (2002) - Immunopathologie et Réaction inflammatoire. 2^{ème} édition ; Masson, Paris. p 5.

Bonizzi G. & Karin M (2004) - The two NF- κ B activation pathways and their role in innate and adaptative. *Trends in Immunology*. 25: 281-287.

Borel M., Le Puech., Randoux., Gillery., Bellon., Monboisse (1997) - Biochimie Dynamique. Métabolisme des acides aminés. L'édition; Paris, Bruxelles. p 745- 850.

Botting R. M (2006) - Cyclooxygenase: Past, present and future. *Journal of Thermal Biology*. 31: 209-219.

Casier P (2004) - Agression et défense des organismes. De la défense immunitaire innée à la défense immunitaire acquise. Ellipses edition marketing S.A, Paris cedex. p 109-147.

Chandrasekhran N.V., Simmons D. L (2004) - The cyclooxygenases. *Genome Biology*. 5: 241-247.

Chapel H., Haeney M., Misbah S., Snowden. N (1999) - Immunologie Clinique. Mécanismes effecteurs non spécifique. 4^{ème} édition. p 19-23.

Chiolero A., Wurzner., Burnier M (2000) - Les inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase de type 2 : moins d'effets rénaux que les anti-inflammatoires non stéroïdiens classiques ? *Néphrologie*. 21: 425-430.

De Franco A. L., Ocksley R. M., Robertson M (2007) - Immunité : la réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires. Les molécules de signalisation et d'adhérence du système immunitaire. Edition de boek. p 22-50.

Fang H. Y. & Greten. F. L (2011) - Cell Autonomous and Non-Autonomous Functions of IKK and NF- κ B during the Pathogenesis of Gastrointestinal Tumors. *Cancers*. 3: 2214-2222.

Gao Y., Jiang W., Dong C., Li C., Fu., Min L., Tian J., Jin H., Shen J (2012) - Anti-inflammatory effects of sophocarpine in LPS-induced RAW 264.7 cells via NF- κ B and MAPKs signaling pathways. *Toxicology in Vitro*. 26: 1- 6.

Garavito R. M., David. L., Dewitt D (1999) - The cyclooxygénase isoforms: structural insights in to the conversion of arachidonic acid to prostaglandins. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1441: 278-287.

Garavito R. M., Michael G., Malkouski., Dewitt D. L (2002) - The Structures of Prostaglandin Endoperoxide H. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*. 69: 129-152

Giraudet P., Faure A., Frot J.C (1984) - La réaction inflammatoire. La phase d'amplification de la réaction inflammatoire. Vigot. p 51-57.

Goldsby R. A., Kindt T. J., Osbarne B. A (2003) - **Immunologie**. Réponse effectrice à médiation cellulaire. 4^{ème} édition; Dunod, Paris. p 351-393.

Greten F. R. & Karin M (2004) - The IKK/NF- κ B activation pathway-a target for prevention and treatment of cancer. *Cancer letter*. 206: 193-199.

Hawkey C. J (1999) - COX-2 inhibitors. University of Nottigham, Quen's Medical centre, Nottigham NG7 2UH, UK. *The lancet*. 353: 307-314.

Hinz B, & Brune K (2002) - Cyclooxygenase-2- 10 years later. *Journal of Pharmacol Exp There*. 300: 367-75.

Janeway C. A., Travers P., Walport M., Shlomchik M (2003) - Immunologie. Les composants du système immunitaires. Edition. De Boeck. p 3.

Janeway C. A., Travers P., Walport (2009) - Immunologie. Immunité innée. 3^{ème} édition. Bruxelles. p 39-88.

Jean C (2003) - Cyclooxygenase-2 biology. *Current Pharmaceutical Design*. 9: 2177-2190.

Jouzeau J. Y., Daouphars M., Benani A. & Netter P. (2004) -.Pharmacologie et Classification des inhibiteurs. *Gastroentterol Clin Biol*. 28: 7-17.

Khan S., Mehmood M. H., Akbar Ali A., Fahad Shabbir Ahmed F. S., Darc A., Gilani A. H (2011) - Studies on anti-inflammatory and analgesic activities of betel nut in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*. 135: 654–661.

Kim K. M., Kwon Y. G., Chung H. T., Yun Y. G., Pae H.O., Han J. A., Ha K. S., Kim T. W., Kim Y. M (2003) - Methanol extract of *Cordyceps pruinosa* inhibits *in vitro* and *in vivo* inflammatory mediators by suppressing NF- κ B activation. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 190: 1–8.

Kindt T. J., Goldsby R., Osborne B. A (2007) - Immunologie. Les cytokines. 6^{ème} édition; W. H. New York, p 305-329.

Klein J (2009) - Le récepteur B1 des kinines dans la fibrose rénal : des mécanismes au potentiel thérapeutique. Thèse Doctorat de l'Université de Toulouse. 138 p

Leblanc Y., Roy P., Wang Z., Li C. S., Chauret N., Nicoll-Griffith D. A., Silva J. M., Aubin Y., Yergey J. A., Chan C. C, Riendeau. D., Brideau. C., Gordon R., Xu. L., Webb J., Viscoc D. M., Prasita P (2002) - Discovery of a Potent and Selective COX-2 Inhibitor in the Alkoxy Lactone Series with Optimized Metabolic Profile. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 12: 3317–3320

Li C-C. H., Korner M., Douglas T., Ferris K., Chen E., Dai R-M., Materials L (1994) -. NF-KB/Rel family members are physically associated phosphoproteins. *Biochem*. 303: 499-506.

Mindrescu C., Le. J., Wisniewski G., Vilcek J (2005) - Up-regulation of cyclooxygenase-2 expression by TGS-6 protein in macrophage cell line. *Biochemical and Biophysical research communication*. 330: 737-745.

Muster D (2005) - Anti-inflammatory drugs. *Ecm- Stomatologie*. 1: 21-29

Nakano M., Denda N., Mastumoto., Kawamura M., Kawakubo Y., Hatanaka K., Hiramoto Y., Sato Y-I., Noshiro M., Harada Y (2007) - Interaction between cyclooxygenase (COX)-1- and COX-2-products modulates COX-2 expression in the late phase of acute inflammation. *European Journal of Pharmacology*. 559: 210-218.

Neal M (2010) - Pharmacologie médicale. Anti-inflammatoire non stéroïdien. Edition de boeck, Bruxelles. p70-71

Nguyen I (2006) - Identification et purification de trois protéines de la paroi de *Streptococcus infantarius* potentiellement impliquées dans l'inflammation et la cancérogenèse colorectales. Thèse de doctorat de l'université Louis Pasteur Strasbourg I Aspects Moléculaires et Cellulaires de la Biologie. 183p.

Nishikori M (2005) - Classical and alternative NF-kB activation pathways and their roles in lymphoid malignancies. *Journal Clinique. Exp. Hematopathol*. 45: 15-21.

Paparella D., Yau T. M., Young E (2002) - Cardiopulmonary bypass induced inflammation: pathophysiology and treatment. An update. *European Journal of Cardiothoracic Surgery*. 21: 232–244.

Quintela J.M. Q., Peinador C., Gonzalez L., Devesa I., M. Luisa Ferrandiz M. L., Alcaraz M. J., Riguera R (2003). 6-Dimethylamino 1H-Pyrazolo [3, 4-d] pyrimidine Derivatives as New Inhibitors of Inflammatory Mediators in Intact Cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 11: 863–868.

Regnault. J. P (2002) - Élément de microbiologie et d'immunologie. Organe et cellules immunitaire. Décarine éditeur Inc. Montréal, Québec. p 134-151.

Roitt I., Brostoff J., Male D (2002) - Immunologie. Introduction au système immunitaire Edition the boek. p 1-13.

Sauvezie B (2004) - Immunopathologie allergologie et réaction inflammatoire. La réaction inflammatoire. Ellipses edition marketing S. A. Paris cedex. p 228-240.

Sebban H. & Courtois G (2006) - NF-kB and inflammation in genetic disease. *Biochemical Pharmacology*. 72: 1153-1160.

Setty A. R. & Sigal L. H (2005). Herbal Medications Commonly used in the practice of rheumatology. Mechanisms of action, efficacy and side effects. *Seminars in Arthritis and Rhumatism*. 34: 773-784.

Tanabe T & Tohnai N (2002) - Cyclooxygenase isozymes and their gene structures and expression. *Prostaglandins & other Lipid Mediators*. 69: 95–114.

Toitou Y (2007). Pharmacologie. Médicament de l'inflammation et des réactions tissulaires Edition the boek. p 24-223.

Vane J. R., Bakheml., Botting R. M (1998) - Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu Revue. Pharmacol. Toxicol.* 38: 97-120.

Velard F (2009) - Etude de l'activation des polynucléaires neutrophiles humains en réponse aux particules d'hydroxyapatite et de sa modulation par le zinc : implications dans le contrôle de la réponse inflammatoire aigue. Thèse doctorat de l'université de Remis Champagne-Ardenne. U.F.R. D'odontologie. Discipline : Immunologie. 155p.

Weill B. & Batteau F (2003). Immunopathologie et réaction inflammatoire. Réaction inflammatoire. Edition de boeck. p 12-34.

William L., Smith., David., Dewitt., Garavito R. M (2000). Cyclooxygénases: Structural, Cellular, and Molecular Biology. *Annu. Revue. Biochem.* 69: 145–82.

Yang C. W., Chen W. L., Wu P. L., Tseng H.Y., Lee S. J (2006) - Anti-Inflammatory Mechanisms of Phenanthroindolizidine Alkaloids. *Molecules Pharmacol.* 69: 749–758.

Zerbato M (2009) - Intérêt du dosage par micro méthode de la protéine C réactive au cabinet de pédiatrie. Thèse doctorat en pharmacie, université de Nancy, France. 73p.

Résumé

La cyclooxygénase est une enzyme importante dans l'organisme. Elle permet la synthèse des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique. La voie de la cyclooxygénase est d'importance clinique particulière parce qu'elle est la cible principale pour les anti-inflammatoires non stéroïdiens qui sont utilisées généralement pour soulager l'inflammation, la fièvre et la douleur. Les anti-inflammatoires utilisés actuellement sont des inhibiteurs de la cyclooxygénase d'origine synthétique, ce qui génère des effets secondaires très variés, de ce fait, beaucoup d'études sont lancées afin de décrire et de caractériser de nouvelles molécules à effet anti-inflammatoire d'origine naturel, pouvant remplacer les molécules synthétiques.

Mots clés : Réaction inflammatoire, Cyclooxygénase 1 et 2, Inhibiteur de la cyclooxygénase.

ABSTRACT

The cyclooxygenase is an important enzyme of the organization. It allows the prostaglandin synthesis starting from the arachidonic acid. The cyclooxygenase pathway is of particular clinical importance because it is the major target for the anti-inflammatory drugs, which are generally used for relieving inflammation, pain and fever. Anti-inflammatory drugs currently used are inhibitors of the cyclooxygenase of synthetic origin, which causes many side effects, thus many studies are launched to describe and characterize new natural molecules which are replace the synthetically compounds.

Key words: Inflammatory reaction, Cyclooxygenase 1 and 2, Inhibitors of cyclooxygenase.