

UNIVERSITE PARIS DESCARTES

FACULTE DE SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES
THESE DE DOCTORAT

École Doctorale « Médicament, Toxicologie, Chimie et Environnement »

Spécialité : Pharmacologie

Présentée par

Mr Haymen Kamal GIRGIS

Pour l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PARIS DESCARTES

**ANTI-INFLAMMATOIRES NON STEROÏDIENS : UNE VIEILLE CLASSE
INNOVANTE POUR LE TRAITEMENT DU TRAUMATISME CRANIEN ?**

Soutenue publiquement le 26 novembre 2012

Devant le jury composé du :

Professeur Christine MARIE

Rapporteur

Professeur Luc-Marie JOLY

Rapporteur

Professeur Jean-François MATHE

Examineur

Professeur Michel PLOTKINE

Examineur

Docteur Jean-Marie STUTZMANN

Examineur

Professeur Catherine MARCHAND-LEROUX

Directrice de recherche

À

l'Ame de mon Père

*à qui j'ai promis de faire un doctorat si j'obtiens la bourse
qui m'a permis de venir en France.*

ma Mère

*pour son amour infini, son soutien, ses encouragements,
ses prières et ses sacrifices sans limites.*

mon Frère, sa famille et son petit ange

pour leur amour et leur soutien.

mon Oncle

*qui m'a encouragé à être médecin et à partir de l'Égypte
pour suivre une carrière internationale.*

ma Cousine et sa petite famille

pour leur amour et leur soutien.

Monsieur le Docteur Christian MÉSENGE

*qui m'a envoyé au laboratoire, pour ses amitiés, son aide,
son soutien, ses conseils et ses encouragements.*

Remerciements

La réalisation des études du troisième cycle exige l'obtention d'un financement.

Je tiens à remercier les organisations qui ont financé mes travaux de recherche et ma vie étudiante en France :

- *l'Académie Nationale de Médecine*

qui a financé mon année de Master 2 Recherche (2007-2008).



- *l'Union des Blessés de la Face et de la Tête / Fondation des « Gueules Cassées »*

qui a financé mes trois années et demie de Doctorat d'Université (2008-2009, 2009-2010, 2010-2011, 2011-2012).



- 16 rue Bonaparte, 75006 PARIS.

- 20 rue d'Aguesseau, 75008 PARIS.

Remerciements

Le Doctorat d'Université est un apprentissage qui ne peut pas être enrichissant sans analyse, critique et évaluation.

Je tiens à adresser mes remerciements les plus sincères aux membres honorables du jury :

Madame le Professeur Christine MARIE et Monsieur le Professeur Luc-Marie JOLY

*qui m'ont fait l'honneur d'être les rapporteurs de cette thèse,
pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail.*

*Madame le Professeur Catherine MARCHAND-LEROUX,
Messieurs les Professeurs Jean-François MATHE et
Michel PLOTKINE, ainsi que Monsieur le Docteur
Jean-Marie STUTZMANN*

*pour avoir accepté de siéger dans ce jury en tant qu'examineurs,
qu'ils trouvent ici le témoignage de ma reconnaissance pour avoir contribué
à l'aboutissement de cette thèse.*

Témoignages

Si le Doctorat d'Université est une expérience personnelle, la recherche est le fruit d'un travail d'équipe. Je tiens à remercier toutes les personnes qui, chacune à sa façon, m'ont aidé tout au long de ce parcours.

J'exprime ainsi mes remerciements sincères à :

Madame le Professeur Catherine MARCHAND-LEROUX

qui m'a accueilli pour une première fois dans son équipe en mai 2006,

qui m'a proposé d'appuyer ma demande de bourse auprès de l'Académie Nationale de Médecine par sa signature d'un exemplaire du dossier qu'elle a envoyé à titre personnel,

qui m'a accepté dans son équipe pour une deuxième fois afin d'effectuer l'année de Master 2 en 2007-2008,

qui m'a soutenu pour les demandes de bourse de thèse auprès de la Fondation des Gueules Cassées,

qui m'a accepté en doctorat en tant que directrice du laboratoire et directrice de Thèse,

qui m'a encouragé et permis de suivre au cours de ma thèse une formation professionnelle qualifiante d'Attaché de Recherche Clinique,

pour l'autonomie et la confiance qu'elle m'a accordées dans la réalisation de ce travail,

pour le grand soutien qu'elle m'a offert au niveau administratif, que ce soit pour la préfecture de police ou pour l'école doctorale,

pour ses corrections de mes demandes de bourses, de mes rapports annuels d'activité, de mon mémoire de Master ou de Thèse, de mon article, et de mes communications orales ou affichées.

Monsieur le Docteur Bruno palmier

qui a accepté de travailler avec moi aussi bien pour le Master que pour la Thèse,

qui m'a installé les postes d'anesthésie et de trauma,

qui m'a co-encadré et co-dirigé pendant toutes ces années de travail,

qui s'est porté garant pour moi quand j'ai souhaité louer une chambre,

pour la source terrestre d'où j'ai toujours tiré l'énergie nécessaire pour avancer,

pour les heures, parfois super nocturnes, de discussions sur le projet, la planification des expérimentations et l'interprétation des résultats,

pour ses corrections de mes demandes de bourses, de mes rapports annuels d'activité, de mon article et de mon mémoire de Master ou de Thèse,

pour tout ce qu'il m'a appris en biochimie, en biologie cellulaire et moléculaire, en pharmacologie, en politique, en histoire, en littérature, voire en astronomie où les trous noirs se croisent avec la notion de l'infini en mathématiques !!,

pour les moments super agréables que j'ai passés au sein de sa famille,

pour ses amitiés, sa générosité, sa patience, sa disponibilité, sa motivation, son soutien, ses encouragements, ses critiques, ses réflexions, sa bonne humeur ainsi que ses exceptionnelles qualités humaines et scientifiques que mes modestes compétences linguistiques ne peuvent pas décrire,

qu'il accepte mon profond respect et ma reconnaissance éternelle.

Monsieur le Professeur Michel PLOTKINE

qui m'a gracieusement accueilli dans son laboratoire pour une première fois en mai 2006 en tant que stagiaire et pour une deuxième fois en septembre 2007 en tant qu'étudiant en Master,

qui m'a accepté comme doctorant,

pour l'intérêt qu'il a montré à mes travaux,

pour son œil critique de l'extérieur qui pointait toujours les points faibles de notre démarche,

pour ses conseils précieux qui nous ont toujours mis sur la bonne voie.

Madame Nicole CROCI

qui a réalisé le modèle du traumatisme crânien et effectué les prélèvements pendant mon année de Master,

qui m'a appris le modèle du traumatisme crânien par percussion mécanique,

qui m'a aidé dans l'administration des traitements et les prélèvements quand le nombre d'animaux à gérer était assez important,

pour ses conseils à propos de la manipulation des animaux et l'expérimentation animale,

pour son aide dans l'évaluation du déficit moteur par actimétrie,

pour son «speedy» prélèvement indispensable pour le dosage des prostaglandines,

pour m'avoir donné l'occasion de faire des dégustations gourmandes de la cuisine française,

pour ses amitiés, sa gentillesse et sa bonne humeur.

Monsieur Mathieu SOUSTRAT

qui a participé à la mise en place au laboratoire du score neurologique coté sur 8 points chez la souris,

pour son évaluation du déficit neurologique comme un deuxième investigateur,

pour son aide avec les injections intraveineuses chez la souris dans l'évaluation de l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique,

pour ses conseils à propos de la manipulation des animaux et leur comportement,

pour les efforts déployés afin que je surmonte ma zoophobie vis-à-vis des chiens !!,

pour ses amitiés, sa gentillesse et sa bonne humeur.

Si la Thèse est une formation professionnelle, elle représente également une expérience particulière de la vie quotidienne.

J'exprime ainsi mes remerciements à :

l'ensemble de professeurs, maîtres de conférences, ingénieurs, techniciens et jeunes chercheurs du laboratoire de Pharmacologie de la Circulation Cérébrale (Équipe d'Accueil 4475 ou 2510, ça dépend de l'époque !!), que j'ai eu le plaisir de côtoyer pendant mes parcours du Master 2 et du Doctorat

pour tout ce qui a été éternellement gravé dans ma mémoire comme souvenirs.

Mesdames les Docteurs Marianne HADDAD et Xiaoru CHEN

qui m'ont bien accueilli et intégré dans la communauté étudiante dès que je suis arrivé au laboratoire le 2 mai 2006 pour effectuer un stage de 3 mois,

pour un entourage qui m'a fait rêver un jour de le retrouver,

pour leur gentillesse, leurs conseils, leurs amitiés, leur encouragement et leur soutien,

pour les bons moments de vépres ou de ping-pong (respectivement !!) que nous avons partagés ensemble,

pour les beaux souvenirs que je garderai toujours dans mon coeur,

qu'elles acceptent mes amitiés les plus sincères.

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|--|-----------|
| RESUME..... | I |
| PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS | II |
| LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX..... | IV |
| LISTE DES ABREVIATIONS | XI |
| INTRODUCTION | 1 |
| RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES | 2 |
| <u>Premier Chapitre : Traumatisme Crânien</u> | 2 |
| I. Définition | 2 |
| II. Historique | 2 |
| II.1. Traumatisme crânien et l'Égypte pharaonique | 2 |
| II.2. Traumatisme crânien et l'école de médecine d'Alexandrie | 5 |
| III. Aspects cliniques | 6 |
| III.1. Épidémiologie | 6 |
| III.2. Étiologies et facteurs de risque | 8 |
| III.3. Physiopathologie | 8 |
| III.3.1. Lésions primaires | 9 |
| III.3.1.1. Mécanismes lésionnels du traumatisme crânien..... | 9 |
| III.3.1.2. Commotion cérébrale..... | 10 |
| III.3.1.3. Lésions primaires focales | 10 |
| III.3.1.4. Lésions axonales diffuses | 12 |
| III.3.2. Lésions secondaires | 13 |
| III.3.2.1. Facteurs d'agression cérébrale secondaire d'origine systémique..... | 14 |
| III.3.2.2. Facteurs d'agression cérébrale secondaire d'origine centrale | 15 |
| III.3.2.3. Mort cellulaire | 17 |
| III.3.2.4. Œdème cérébral..... | 18 |
| III.3.2.5. Hypertension intracrânienne | 19 |
| III.3.2.6. Hydrocéphalie..... | 19 |
| III.3.2.7. Ischémie cérébrale..... | 20 |
| III.3.2.8. Vasospasme cérébral | 20 |
| III.3.2.9. Atrophie cérébrale..... | 20 |
| III.4. Séquelles post-traumatiques | 21 |
| III.4.1. Dysfonctionnements cognitifs | 21 |
| III.4.1.1. Ralentissement cognitif et trouble de l'attention | 21 |
| III.4.1.2. Troubles de la mémoire | 21 |
| III.4.1.3. Troubles dysexécutifs | 21 |
| III.4.2. Dysfonctionnements moteurs | 22 |
| III.4.2.1. Ralentissement locomoteur | 22 |
| III.4.2.2. Fatigue | 22 |

| | |
|---|-----------|
| III.4.3. Dysfonctionnements sensoriels..... | 22 |
| III.4.3.1. Déficit olfactif..... | 22 |
| III.4.3.2. Déficit visuel..... | 23 |
| III.4.3.3. Déficit gustatif..... | 23 |
| III.4.4. Troubles psychologiques..... | 23 |
| III.4.4.1. Troubles du comportement..... | 23 |
| III.4.4.2. Dépression majeure..... | 24 |
| III.4.4.3. Troubles de l'émotion..... | 24 |
| III.4.4.4. Troubles obsessionnels compulsifs..... | 25 |
| III.4.5. Troubles neurologiques..... | 25 |
| III.4.5.1. Douleurs et maux de tête..... | 25 |
| III.4.5.2. Troubles de sommeil..... | 25 |
| III.4.5.3. Risque épileptique..... | 25 |
| III.4.5.4. Troubles neuro-endocriniens..... | 26 |
| III.4.5.5. Risque de maladies neurodégénératives..... | 26 |
| III.5. Évaluation et monitoring..... | 27 |
| III.5.1. Bilan clinique et examen neurologique..... | 27 |
| III.5.1.1. Échelle de coma de Glasgow..... | 27 |
| III.5.1.2. Échelle étendue de coma de Glasgow..... | 28 |
| III.5.1.3. Échelle de devenir de Glasgow..... | 28 |
| III.5.1.4. Échelle étendue de devenir de Glasgow..... | 29 |
| III.5.1.5. Échelle de devenir neurologique pour le traumatisme crânien..... | 29 |
| III.5.2. Évaluation par imagerie..... | 31 |
| III.5.2.1. Tomodensitométrie cérébrale..... | 31 |
| III.5.2.2. Imagerie par résonance magnétique..... | 31 |
| III.5.2.3. Monitoring de la pression intracrânienne..... | 31 |
| III.5.2.4. Doppler transcrânien..... | 32 |
| III.5.2.5. Tomographie d'émission monophotonique ou par émission de positons..... | 32 |
| III.6. Prise en charge..... | 32 |
| III.6.1. Prise en charge préhospitalière..... | 33 |
| III.6.1.1. Rôle du Service d'aide médicale urgente (SAMU)..... | 33 |
| III.6.1.2. Prise en charge respiratoire..... | 33 |
| III.6.1.3. Prise en charge hémodynamique..... | 34 |
| III.6.1.4. Sédation préhospitalière..... | 34 |
| III.6.2. Prise en charge en neurochirurgie et en réanimation..... | 35 |
| III.6.3. Rééducation et réhabilitation..... | 35 |
| III.6.4. Prise en charge chez l'enfant..... | 35 |
| IV. Modèles expérimentaux..... | 36 |
| IV.1. Modèles <i>in vitro</i>..... | 36 |
| IV.1.1. Modèle par lacération..... | 37 |
| IV.1.2. Modèle par compression..... | 37 |
| IV.1.3. Modèle par pression hydrostatique..... | 37 |
| IV.1.4. Modèle par accélération..... | 37 |
| IV.1.5. Modèle hydrodynamique..... | 37 |
| IV.1.6. Modèle par étirement..... | 38 |
| IV.2. Modèles <i>in vivo</i>..... | 38 |
| IV.2.1. Modèles à crâne ouvert..... | 39 |
| IV.2.1.1. Percussion de fluide..... | 39 |
| IV.2.1.2. Impact cortical contrôlé..... | 39 |
| IV.2.2. Modèles à crâne fermé..... | 40 |
| IV.2.2.1. Lâcher de poids (percussion mécanique)..... | 40 |
| IV.2.2.2. Impact d'accélération linéaire..... | 41 |
| IV.2.2.3. Inertie d'accélération/décélération rotationnelle..... | 41 |
| V. Essais cliniques..... | 42 |
| V.1. Causes d'échec..... | 42 |
| V.2. Essais actuellement en cours..... | 44 |

| | |
|--|-----------|
| <u>Deuxième Chapitre : Cyclo-oxygénases et Prostaglandines</u> | 45 |
| I. Acides gras et synthèse des prostaglandines | 45 |
| II. Métabolisation de l'acide arachidonique | 46 |
| II.1. Voie des mono-oxygénases à cytochromes P450 | 47 |
| II.1.1. Activité oxydase de type « lipoxygénase-like » | 48 |
| II.1.2. Activité ω -hydroxylase | 48 |
| II.1.3. Activité époxygénase | 48 |
| II.2. Voie des lipoxygénases | 49 |
| II.3. Voie des cyclo-oxygénases | 53 |
| II.3.1. Historique..... | 53 |
| II.3.2. Description moléculaire et sites actifs | 54 |
| II.3.3. Expression et localisation..... | 56 |
| II.3.4. Réactions catalytiques | 57 |
| II.3.4.1. Réaction cyclo-oxygénase..... | 58 |
| II.3.4.2. Réaction peroxydase | 59 |
| II.3.5. Cascade cyclo-oxygénase / prostanoïdes | 59 |
| II.3.5.1. Voie de PGE ₂ synthase | 60 |
| II.3.5.2. Voie de PGF _{2α} synthase | 61 |
| II.3.5.3. Voie de PGI ₂ synthase..... | 61 |
| II.3.5.4. Voie de PGD ₂ synthase | 62 |
| II.3.5.5. Voie de TXA ₂ synthase | 63 |
| II.3.6. Cyclo-oxygénases et traumatisme crânien..... | 64 |
| <u>Troisième Chapitre : Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens</u> | 71 |
| I. Historique | 71 |
| II. Cibles et mécanismes d'action | 71 |
| II.1. Inhibition des cyclo-oxygénases | 71 |
| II.2. Effets anti-inflammatoires COX-indépendants | 73 |
| III. Classifications | 75 |
| III.1. Classification chimique | 75 |
| III.2. Classification selon le mode d'inhibition de l'activité COX | 76 |
| III.3. Classification selon la sélectivité pour COX-1 et COX-2..... | 76 |
| IV. Effets indésirables | 78 |
| V. Anti-inflammatoires non stéroïdiens utilisés dans ce travail | 79 |
| V.1. Nimésulide | 79 |
| V.2. Méloxicam | 80 |
| V.3. Indométacine | 81 |
| BUT DU TRAVAIL | 82 |
| MATERIELS ET METHODES | 83 |
| I. Modèles expérimentaux | 83 |
| I.1. Modèle du traumatisme crânien par percussion mécanique chez la souris | 83 |
| I.2. Modèle d'inflammation induite par le lipopolysaccharide | 84 |
| I.3. Protocoles des traitements..... | 84 |
| I.4. Euthanasie et prélèvements | 85 |

| | |
|--|------------|
| II. Dosages biochimiques | 85 |
| II.1. Dosages des protéines..... | 85 |
| II.1.1. Méthode de Bradford | 85 |
| II.1.2. Méthode à l'acide bicinchoninique | 86 |
| II.2. Dosage immuno-enzymatique de l'interleukine-1β | 86 |
| II.3. Dosage immuno-enzymatique de 6-kéto prostaglandine F1alpha | 88 |
| II.4. Radio-immuno-analyse de prostaglandine E..... | 89 |
| III. Études immuno-chimiques | 91 |
| III.1. Immunoblot des cyclo-oxygénases de type 1 et 2 | 91 |
| III.2. Immunoblot de l'hémoglobine | 92 |
| IV. Évaluation de l'œdème cérébral | 93 |
| V. Évaluation du déficit neurologique | 93 |
| V.1. Sortie du cercle | 93 |
| V.2. Critères choisis dans la grille d'évaluation d'Irwin | 95 |
| VI. Analyse statistique | 96 |
| | |
| RESULTATS ET DISCUSSIONS | 97 |
| | |
| <u>Première Partie</u> : Caractérisation du modèle | 97 |
| I. Évolution du déficit neurologique | 97 |
| II. Évolution de l'œdème cérébral..... | 99 |
| DISCUSSION | 100 |
| | |
| <u>Deuxième Partie</u> : Évolution de l'expression protéique et de l'activité <i>in vivo</i> de cyclo-oxygénase de type 2..... | 102 |
| I. Évolution de l'expression protéique de cyclo-oxygénase de type 2..... | 102 |
| II. Évolution de la production de PGE | 104 |
| III. Évolution de la production de 6-kéto PGF _{1α} | 105 |
| IV. Effets des inhibiteurs de COX-2 sur la synthèse de 6-kéto PGF _{1α} 6 heures après le traumatisme crânien..... | 106 |
| IV.1. Effet du nimésulide | 106 |
| IV.2. Effet du méloxicam..... | 107 |
| V. Effet de l'inhibition de COX-2 par le méloxicam sur le taux basal de 6-kéto PGF _{1α} 6 heures après son administration chez les souris naïves..... | 108 |
| DISCUSSION | 109 |
| | |
| <u>Troisième Partie</u> : Implication de cyclo-oxygénase de type 2 dans les conséquences post-traumatiques | 112 |
| I. Effets du nimésulide sur les conséquences post-traumatiques..... | 112 |
| I.1. Effet sur l'œdème cérébral | 112 |
| I.2. Effet sur le déficit neurologique | 113 |
| I.3. Effet sur la perte de poids corporel..... | 114 |
| I.4. Effet sur la température corporelle | 115 |

| | |
|---|------------|
| II. Effets du méloxicam sur les conséquences post-traumatiques..... | 116 |
| II.1. Effet sur l'œdème cérébral..... | 116 |
| II.2. Effet sur le déficit neurologique | 117 |
| II.3. Effet sur la perte de poids corporel | 118 |
| II.4. Effet sur la température corporelle..... | 119 |
| DISCUSSION | 120 |
| | |
| <u>Quatrième Partie</u> : Implication des cyclo-oxygénases dans les conséquences post-traumatiques | 122 |
| I. Effets de l'indométacine sur la 6-kéto prostaglandine F_{1α} | 122 |
| I.1. Sur sa synthèse 6 heures après le traumatisme crânien | 122 |
| I.2. Sur son taux basal 6 heures après l'administration du médicament chez les souris naïves..... | 124 |
| II. Effet de l'indométacine sur l'œdème cérébral..... | 125 |
| III. Effet de l'indométacine sur le déficit neurologique | 126 |
| IV. Effet propre de l'indométacine sur le score neurologique..... | 127 |
| V. Effet de l'indométacine sur la perte de poids corporel..... | 128 |
| VI. Effet de l'indométacine sur la température corporelle | 129 |
| VII. Effet de l'indométacine sur l'expression protéique des cyclo-oxygénases | 130 |
| VII.1. Évolution de l'expression protéique de cyclo-oxygénase de type 1..... | 130 |
| VII.2. Effet de l'indométacine sur l'expression de cyclo-oxygénase de type 1 | 132 |
| VII.3. Effet de l'indométacine sur l'expression de cyclo-oxygénase de type 2.... | 133 |
| VIII. Effet de l'indométacine sur le contenu cérébral en interleukine-1β | 134 |
| VIII.1. Évolution de l'interleukine-1β | 134 |
| VIII.2. Effet de l'indométacine sur l'interleukine-1β | 135 |
| IX. Effet de l'indométacine sur l'hémorragie intracérébrale | 136 |
| DISCUSSION | 137 |
| | |
| <u>Cinquième Partie</u> : Implication de cyclo-oxygénase de type 1 dans les conséquences post-traumatiques | 141 |
| I. Effet du valeroyl salicylate sur le déficit neurologique | 141 |
| I.1. Dose de 20 mg/kg | 141 |
| I.1.1. Effet sur le déficit neurologique | 141 |
| I.1.2. Effet sur la perte de poids corporel | 143 |
| I.1.3. Effet sur la température corporelle | 144 |
| I.2. Dose de 50 mg/kg | 145 |
| I.2.1. Effet sur le déficit neurologique | 145 |
| I.2.2. Effet sur la perte de poids corporel | 146 |
| I.2.3. Effet sur la température corporelle | 147 |
| II. Doses/Effets du valeroyl salicylate sur la synthèse de 6-kéto PGF_{1α} 6 heures après le traumatisme crânien | 148 |
| DISCUSSION | 151 |

| | |
|---|------------|
| Sixième Partie : Effets de l'inhibition non sélective des cyclo-oxygénases par le méloxicam..... | 153 |
| I. Effets du méloxicam sur la 6-kéto prostaglandine F_{1α}..... | 153 |
| I.1. Sur sa synthèse 6 heures après le traumatisme crânien | 153 |
| I.2. Sur son taux basal 6 heures après l'administration du médicament chez les souris naïves | 155 |
| II. Effets du méloxicam sur les conséquences post-traumatiques..... | 156 |
| II.1. Effet sur l'œdème cérébral | 156 |
| II.2. Effet sur le déficit neurologique | 157 |
| II.3. Effet sur la perte de poids corporel | 158 |
| II.4. Effet sur la température corporelle..... | 159 |
| DISCUSSION | 160 |
| | |
| CONCLUSION ET PERSPECTIVES | 162 |
| | |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | 165 |

RESUME

En raison de la complexité de sa pathogenèse, le traumatisme crânien (TC) entraîne de nombreuses lésions cérébrales pour lesquelles il n'existe aucun traitement neuroprotecteur. Il est aujourd'hui clairement établi que la neuro-inflammation est fortement impliquée dans les conséquences post-traumatiques. Cette neuro-inflammation se manifeste entre autres par l'induction de la cyclo-oxygénase de type 2 (COX-2). Bien que plusieurs données soient en faveur d'un rôle délétère de cette enzyme au cours de ce processus dévastateur, l'implication de la COX-2 dans les lésions induites par le TC reste encore controversée.

Dans un modèle du TC par percussion mécanique chez la souris, nous avons mis en évidence une augmentation précoce et transitoire du contenu cérébral en COX-2 à 6 et 12 heures après le trauma. Cette induction protéique était à l'origine d'une production accrue de la prostacycline. Cependant, l'inhibition préférentielle de COX-2 était sans effet sur l'œdème cérébral et le déficit neurologique, deux indicateurs de pertinence clinique. Ces données montrent que la COX-2 ne peut pas constituer à elle seule une cible intéressante pour le traitement des conséquences post-traumatiques malgré son induction et son activité après le trauma.

Par ailleurs, nous avons montré un effet bénéfique induit par l'indométacine au niveau fonctionnel, ce qui est en faveur d'un rôle délétère des COXs dans le déficit neurologique post-traumatique. Cet effet bénéfique peut impliquer uniquement la COX-1 ou en association avec la COX-2. Ces données constituent un argument supplémentaire qui s'ajoute à plusieurs preuves récentes fournies par la littérature en faveur d'un rôle délétère de COX-1 dans la neuro-inflammation. Malheureusement, ce rôle ne pourra pas être confirmé dans notre modèle car les inhibiteurs sélectifs de COX-1 disponibles à ce jour sont inexploitablement dans nos conditions expérimentales.

Ce travail constitue une nouvelle piste pour évaluer l'intérêt de l'inhibition des COXs au cours de la phase précoce de la prise en charge du patient traumatisé crânien. La bonne tolérance de l'usage à court terme des inhibiteurs de COX, leur disponibilité sur le marché, leur prix abordable, leur simplicité d'administration, leurs caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacodynamiques bien connus sont des facteurs suscitant un intérêt croissant d'élargir le spectre de leurs utilisations en clinique et de la mise en place de nouveaux essais thérapeutiques dans les années à venir.

Mots-clés : traumatisme crânien ; cyclo-oxygénases ; déficit neurologique ; œdème cérébral.

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS RELATIVES A CE TRAVAIL

❖ Publications

Girgis H, Palmier B, Croci N, Soustrat M, Plotkine M, Marchand-Leroux C. Effects of selective and non-selective cyclooxygenase inhibition against neurological deficit and brain œdema following closed head injury in mice. [sous press « Journal of Brain Research »].

❖ Communications orales

Girgis H, Palmier B, Croci N, Soustrat M, Plotkine M, Marchand-Leroux C. Effects of selective and non-selective cyclooxygenase inhibition against neurological deficit and brain œdema following closed head injury in mice. *Colloque annuel de la Société Cerveau et Maladies Cérébrovasculaires (SCMC)*, UFR de Sciences pharmaceutiques et biologiques, université Paris Descartes, Paris le 20 janvier 2012, France.

❖ Communications affichées

Marchand-Leroux C, **Girgis H**, Palmier B, Croci N, Soustrat M, Plotkine M. Indomethacin promotes neurological recovery independently of cerebral œdema after closed head injury in mice. *The 2011 National Neurotrauma Symposium*, Fort Lauderdale, July 10-13, Florida, USA.

Girgis H, Palmier B, Croci N, Soustrat M, Plotkine M, Marchand-Leroux C. Selective cyclooxygenase type 1 inhibition promotes neurological recovery independently of cerebral œdema after closed head injury in mice. In: Abstracts of the 15th Annual Meeting of the French Society of Pharmacology and Therapeutics, the 78th Annual Meeting of the Society of Physiology, the 32nd Pharmacovigilance Meeting, the 12th APNET Seminar and the 9th CHU CIC Meeting. March 22-24, 2011. Grenoble, France. *Fundam Clin Pharmacol* 2011; 25 Suppl 1: 1-125.

Girgis H, Lerouet D, Lechaftois M, Popescu I, Palmier B, Croci N, Coqueran B, Plotkine M, Margail I, Marchand-Leroux C. Effect of a cyclooxygenase type 2 inhibitor nimesulide in traumatic brain injury and cerebral ischemia in mice. *Young Researchers in Life Sciences (YRLS) Congress*, the 7th-9th of June 2010, Institut Pasteur, Paris, France.

Girgis H, Lerouet D, Lechaftois M, Popescu I, Palmier B, Croci N, Coqueran B, Plotkine M, Margaille I, Marchand-Leroux C. Effets de l'inhibition de la cyclooxygénase de type 2 par le nimésulide après un traumatisme crânien et une ischémie cérébrale chez la souris. *1^{ère} journée IFR IMTCE*, 8 avril 2010, Université Paris Descartes, Paris, France.

Girgis H, Lerouet D, Lechaftois M, Popescu I, Palmier B, Croci N, Coqueran B, Plotkine M, Margaille I, Marchand-Leroux C. Effects of cyclooxygenase type 2 inhibition in traumatic brain injury and cerebral ischemia in mice. In: Abstracts of the 14th Annual Meeting of French Society of Pharmacology and Therapeutics, 77th Annual Meeting of Society of Physiology, 31st Pharmacovigilance Meeting, 11th APNET Seminar and 8th CHU CIC Meeting. March 23-25, 2010. Bordeaux, France. *Fundam Clin Pharmacol* 2010; 24 Suppl 1: 1-106.

PUBLICATIONS NON RELATIVES A CE TRAVAIL

Girgis H, Ghribi O, Mésenge C. Déterminants environnementaux et représentations de la maladie d'Alzheimer. In: Conscience et représentation de la santé mentale et neurologique. Mésenge C, Palazzolo J, eds. *Mon Petit Éditeur*, Paris: 2011, pp. 231-241.

Beray-Berthat V, Delifer C, Besson VC, **Girgis H**, Coqueran B, Plotkine M, Marchand-Leroux C, Margaille I. Long-term histological and behavioural characterisation of a collagenase-induced model of intracerebral haemorrhage in rats. *J Neurosci Methods* 2010; 191: 180-190.

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

| | |
|--|----|
| <u>Figure 1</u> : | 3 |
| Photo de <i>James Breasted</i> en train de traduire le papyrus d' <i>Edwin Smith</i> dans son bureau | |
| <u>Figure 2</u> : | 4 |
| Photo du papyrus d' <i>Edwin Smith</i> | |
| <u>Figure 3</u> : | 9 |
| Cascades physiopathologiques post-traumatiques et l'évolution de la réponse lésionnelle dans le temps | |
| <u>Figure 4</u> : | 13 |
| Cascades physiopathologiques post-traumatiques aboutissant à la mort cellulaire et aux lésions secondaires | |
| <u>Tableau I</u> : | 28 |
| Échelle de coma de Glasgow sur 15 points | |
| <u>Tableau II</u> : | 29 |
| Échelle de devenir de Glasgow sur 5 points | |
| <u>Tableau III</u> : | 29 |
| Échelle étendue de devenir de Glasgow sur 8 points | |
| <u>Tableau IV</u> : | 30 |
| Échelle de devenir neurologique pour le traumatisme crânien sur 62 points | |
| <u>Figure 5</u> : | 45 |
| Synthèse des prostaglandines E par les cyclo-oxygénases à partir des acides gras | |
| <u>Figure 6</u> : | 47 |
| Voies principales de la métabolisation de l'acide arachidonique | |
| <u>Figure 7</u> : | 49 |
| Voies de la métabolisation de l'acide arachidonique par les mono-oxygénases à cytochromes P450 | |

| | |
|--|-------|
| Figure 8 : | 52 |
| Schéma simplifié de la voie de métabolisation de l'acide arachidonique par la 5S-lipoxygénase et de la formation des lipoxines par la 15S-lipoxygénase | |
| Figure 9 : | 54 |
| Modèle tridimensionnel de la structure de cyclo-oxygénase | |
| Figure 10 : | 55 |
| Schéma montrant les différences majeures dans la structure entre les isoformes 1 et 2 de la cyclo-oxygénase | |
| Figure 11 : | 57 |
| Schéma montrant deux différents sites catalytiques d'un monomère de cyclo-oxygénase dans la lumière du réticulum endoplasmique | |
| Figure 12 : | 58 |
| Schéma de l'hypothèse des réactions cyclo-oxygénase et peroxydase de l'acide arachidonique catalysées par l'enzyme cyclo-oxygénase | |
| Figure 13 : | 59 |
| Schéma simplifié de la voie de métabolisation de prostaglandine H ₂ et la formation des prostanoides | |
| Tableau V : | 60 |
| Caractéristiques des trois isoformes de la prostaglandine E synthase | |
| Tableau VI : | 64 |
| Différents récepteurs de prostaglandines et les effets biologiques de leurs stimulations | |
| Tableau VII : | 66-70 |
| Implication de la cyclo-oxygénase dans les conséquences post-traumatiques évaluées <i>in vivo</i> chez l'Animal | |
| Figure 14 : | 72 |
| Représentation schématique de l'inhibition des cyclo-oxygénases par un anti-inflammatoire non stéroïdien non sélectif | |
| Figure 15 : | 73 |
| Représentation schématique de l'inhibition de la cyclo-oxygénase de type 2 par un coxib, l'isoforme de type 1 reste accessible à l'acide arachidonique | |

| | |
|--|----|
| Figure 16 : | 74 |
| Représentation schématique de l'inhibition irréversible de la cyclo-oxygénase par l'acide acétylsalicylique empêchant l'acide arachidonique d'avoir accès au site catalytique de cyclo-oxygénation de l'enzyme | |
| Tableau VIII : | 75 |
| Classification chimique simplifiée et non exhaustive des anti-inflammatoires non stéroïdiens | |
| Tableau IX : | 76 |
| Classification des anti-inflammatoires non stéroïdiens selon leur mode d'inhibition enzymatique de cyclo-oxygénase | |
| Tableau X : | 77 |
| Classification des anti-inflammatoires non stéroïdiens selon leur sélectivité inhibitrice envers les isoformes de type 1 et 2 de la cyclo-oxygénase | |
| Tableau XI : | 77 |
| Ratio IC_{50} COX-1/ IC_{50} COX-2 de l'indométacine, du nimésulide, et du méloxicam calculés <i>in vitro</i> sur des systèmes cellulaires divers et dans des conditions expérimentales différentes | |
| Figure 17 : | 79 |
| Structure chimique du nimésulide [<i>N</i> -(4-nitro-2-phenoxyphenyl)-methanesulfonamide] | |
| Figure 18 : | 80 |
| Structure chimique du méloxicam [4-hydroxy-2-méthyl- <i>N</i> -(5-méthyl-2-thiazolyl)-2 <i>H</i> -1,2-benzothiazine-3-carboxamide-1,1-dioxide] | |
| Figure 19 : | 81 |
| Structure chimique de l'indométacine [acide 1-(4-chlorobenzoyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1- <i>H</i> -indole-3-acétique] | |
| Figure 20 : | 94 |
| Dispositif du test de la sortie du cercle | |
| Tableau XII : | 94 |
| Cotation du test de la sortie du cercle sur 3 points | |
| Tableau XIII : | 95 |
| Cotation des critères choisis dans la grille d'évaluation d'Irwin sur 5 points | |

| | |
|--|-----|
| <u>Figure 21 et Tableau XIV :</u> | 98 |
| Évolution du déficit neurologique après le traumatisme crânien | |
| <u>Figure 22 et Tableau XV :</u> | 99 |
| Évolution de l'œdème cérébral après le traumatisme crânien | |
| <u>Figure 23A :</u> | 102 |
| Immunodétection de cyclo-oxygénase de type 2 sur des extraits de cerveaux de souris après un traumatisme crânien | |
| <u>Figure 23B et Tableau XVI :</u> | 103 |
| Évolution de cyclo-oxygénase de type 2 après le traumatisme crânien | |
| <u>Figure 24 et Tableau XVII :</u> | 104 |
| Évolution de prostaglandine E après le traumatisme crânien | |
| <u>Figure 25 et Tableau XVIII :</u> | 105 |
| Évolution de 6-kéto prostaglandine $F_{1\alpha}$ après le traumatisme crânien | |
| <u>Figure 26 et Tableau XIX :</u> | 106 |
| Effet du nimésulide sur la 6-kéto prostaglandine $F_{1\alpha}$ 6 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 27 et Tableau XX :</u> | 107 |
| Effet du méloxicam sur la 6-kéto prostaglandine $F_{1\alpha}$ 6 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 28 et Tableau XXI :</u> | 108 |
| Effet du méloxicam sur le taux basal de 6-kéto prostaglandine $F_{1\alpha}$ 6 heures post-Traitement | |
| <u>Figure 29 et Tableau XXII :</u> | 112 |
| Effet du nimésulide sur l'œdème cérébral à 6 et 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 30 et Tableau XXIII :</u> | 113 |
| Effet du nimésulide sur le déficit neurologique à 6 et 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 31 et Tableau XXIV :</u> | 114 |
| Effet du nimésulide sur la perte de poids à 6 et 24 heures post-Trauma | |

| | |
|---|-----|
| <u>Figure 32 et Tableau XXV :</u> | 115 |
| Effet du nimésulide sur la température corporelle à 6 et 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 33 et Tableau XXVI :</u> | 116 |
| Effet du méloxicam sur l'œdème cérébral à 6 et 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 34 et Tableau XXVII :</u> | 117 |
| Effet du méloxicam sur le déficit neurologique à 6 et 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 35 et Tableau XXVIII :</u> | 118 |
| Effet du méloxicam sur la perte de poids à 6 et 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 36 et Tableau XXIX :</u> | 119 |
| Effet du méloxicam sur la température corporelle à 6 et 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 37 et Tableau XXX :</u> | 123 |
| Doses/Effets de l'indométacine sur la 6-kéto prostaglandine F _{1α} 6 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 38 et Tableau XXXI :</u> | 124 |
| Effet de l'indométacine sur le taux basal de 6-kéto prostaglandine F _{1α} 6 heures post-Traitement | |
| <u>Figure 39 et Tableau XXXII :</u> | 125 |
| Effet de l'indométacine sur l'œdème cérébral à 6 et 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 40 et Tableau XXXIII :</u> | 126 |
| Effet de l'indométacine sur le déficit neurologique à 6 et 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 41 et Tableau XXXIV :</u> | 127 |
| Effet propre de l'indométacine sur le déficit neurologique à 6 et 24 heures post-Traitement | |
| <u>Figure 42 et Tableau XXXV :</u> | 128 |
| Effet de l'indométacine sur la perte de poids à 6 et 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 43 et Tableau XXXVI :</u> | 129 |
| Effet de l'indométacine sur la température corporelle à 6 et 24 heures post-Trauma | |

| | |
|--|-----|
| <u>Figure 44A :</u> | 130 |
| Immunodétection de COX-1 sur des extraits de cerveaux de souris après un traumatisme crânien | |
| <u>Figure 44B et Tableau XXXVII :</u> | 131 |
| Évolution de cyclo-oxygénase de type 1 après le traumatisme crânien | |
| <u>Figure 45 et Tableau XXXVIII :</u> | 132 |
| Effet de l'indométacine sur l'expression protéique de cyclo-oxygénase de type 1 6 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 46 et Tableau XXXIX :</u> | 133 |
| Effet de l'indométacine sur l'expression protéique de cyclo-oxygénase de type 2 6 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 47 et Tableau XXXX :</u> | 134 |
| Évolution de l'interleukine-1 β après le traumatisme crânien | |
| <u>Figure 48 et Tableau XXXXI :</u> | 135 |
| Effet de l'indométacine sur l'interleukine-1 β 6 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 49 et Tableau XXXXII :</u> | 136 |
| Effet de l'indométacine sur l'hémoglobine extravasée 6 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 50 et Tableau XXXXIII :</u> | 142 |
| Effet du valeroyl salicylate sur le déficit neurologique à 6 et 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 51 et Tableau XXXXIV :</u> | 143 |
| Effet du valeroyl salicylate sur la perte de poids à 6 et 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 52 et Tableau XXXXV :</u> | 144 |
| Effet du valeroyl salicylate sur la température corporelle à 6 et 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 53 et Tableau XXXXVI :</u> | 145 |
| Effet du valeroyl salicylate sur le déficit neurologique à 6 et 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 54 et Tableau XXXXVII :</u> | 146 |
| Effet du valeroyl salicylate sur la perte de poids à 6 et 24 heures post-Trauma | |

| | |
|---|-----|
| <u>Figure 55 et Tableau XXXXVIII :</u> | 147 |
| Effet du valeroyl salicylate sur la température corporelle à 6 et 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 56A et Tableau XXXXIX :</u> | 149 |
| Doses/Effets du valeroyl salicylate sur la 6-kéto prostaglandine $F_{1\alpha}$ 6 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 56B :</u> | 150 |
| Étude de corrélation entre la dose du valeroyl salicylate et le taux cérébral de 6-kéto prostaglandine $F_{1\alpha}$ 6 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 57 et Tableau XXXXX :</u> | 154 |
| Doses/Effets du méloxicam sur la 6-kéto prostaglandine $F_{1\alpha}$ 6 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 58 et Tableau XXXXXI :</u> | 155 |
| Effet du méloxicam sur le taux basal de 6-kéto prostaglandine $F_{1\alpha}$ 6 heures post-Traitement | |
| <u>Figure 59 et Tableau XXXXXII :</u> | 156 |
| Effets du méloxicam et de l'indométacine sur l'œdème cérébral 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 60 et Tableau XXXXXIII :</u> | 157 |
| Effets du méloxicam et de l'indométacine sur le déficit neurologique à 6 et 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 61 et Tableau XXXXXIV :</u> | 158 |
| Effets du méloxicam et de l'indométacine sur la perte de poids à 6 et 24 heures post-Trauma | |
| <u>Figure 62 et Tableau XXXXXV :</u> | 159 |
| Effets du méloxicam et de l'indométacine sur la température corporelle à 6 et 24 heures post-Trauma | |

LISTE DES ABREVIATIONS

| | |
|-------------------------|---|
| AA | Acide arachidonique |
| AA[•] | Radical arachidonyl |
| ADN | Acide désoxyribonucléique |
| Ala | Alanine |
| ANSM | Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé |
| AINS | Anti-inflammatoire non stéroïdien |
| AMPA | Acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole propionique |
| AMPc | Adénosine monophosphate cyclique |
| ANAES | Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé |
| ANOVA | Analyse de variance |
| Arg | Arginine |
| ARN | Acide ribonucléique |
| ARNm | Acide ribonucléique messenger |
| ATP | Adénosine triphosphate |
| BCA | Acide bicinchoninique |
| BHE | Barrière hémato-encéphalique |
| BSA | Albumine sérique bovine |
| Ca²⁺ | Cation calcique |
| cm | Centimètre |
| CO₂ | Dioxyde de carbone |
| COX | Cyclo-oxygénase |
| cPGES | Forme cytosolique de la prostaglandine E ₂ synthase |
| cPLA₂ | Forme cytosolique des phospholipases A ₂ |

| | |
|--|---|
| Ci | Curie |
| Cu⁺ | Cations cuivreux |
| °C | Degré centigrade |
| Cu²⁺ | Cations cuivriques |
| Cx | Site d'activité cyclo-oxygénase |
| CYP450 | Cytochromes P450 |
| CysLTs | Leucotriènes cystéinés |
| DAG | Diacylglycérol |
| DP | Récepteur à la prostaglandine D ₂ |
| DSC | Débit sanguin cérébral |
| ECF | Enhanced Chimiofluorescence |
| ECL | Enhanced Chemiluminescence |
| EDTA | Acide éthylène-diamine-tétra-acétique |
| EET | Acide époxy-eicosatriénoïque |
| EGF | Epidermal Growth Factor-like |
| EIA | Enzyme Immunoassay |
| ELISA | Enzyme-linked Immunosorbent Assay |
| EP | Récepteur à la prostaglandine E ₂ |
| esm | Écart standard à la moyenne |
| Fe³⁺ | Cation ferrique |
| (Fe⁴⁺=O)[•] | Cation radical oxoferryl |
| FLAP | Five-Lipoxygenase Activating Protein |
| FP | Récepteur à la prostaglandine F _{2α} |

| | |
|-----------------------------------|---|
| GCS | Glasgow Coma Scale |
| Glu | Acide glutamique |
| HEPES | Acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique |
| HETE | Acide hydroxy-eicosatétraénoïque |
| HIC | Hypertension intracrânienne |
| His | Histidine |
| HpETE | Acide hydroperoxy-eicosatétraénoïque |
| H₂O₂ | Peroxyde d'hydrogène |
| IC | Concentration de la molécule inhibant de 50% l'activité enzymatique |
| IκB | Protéine inhibitrice κB |
| IL | Interleukine |
| Ile | Isoleucine |
| IP | Récepteur à la prostaglandine I ₂ |
| IP₃ | Inositol-trisphosphate |
| IRM | Imagerie par résonance magnétique |
| K⁺ | Cation potassique |
| kb | Kilobase |
| kDa | Kilodalton |
| LCR | Liquide céphalo-rachidien |
| Leu | Leucine |
| LOX | Lipoxygénase |
| LPS | Lipopolysaccharide |
| LT | Leucotriène |
| LX | Lipoxine |

| | |
|----------------------------------|--|
| MBD | Domaine de liaison à la membrane plasmique |
| µg | Microgramme |
| mg | Milligramme |
| mL | Millilitre |
| µL | Microlitre |
| µm | Micromètre |
| mm | Millimètre |
| mmol | Millimole |
| mM | Millimolaire |
| mPGES | Forme microsomale (membranaire) de la prostaglandine E ₂ synthase |
| Na⁺ | Cation sodique |
| NaCl | Chlorure de sodium |
| NaN₃ | Azide de sodium |
| nCi | Nanocurie |
| NF-κB | Facteur de transcription nucléaire κB |
| ng | Nanogramme |
| nm | Nanomètre |
| NMDA | N-méthyl-D-aspartate |
| NO | Monoxyde d'azote |
| O₂ | Molécule d'oxygène |
| O₂⁻ | Anion superoxyde |
| ONOO⁻ | Anions peroxydinitrite |

| | |
|-------------------------|---|
| Pa | Pression dans le sang artériel |
| PBS | Tampon phosphate |
| pg | Picogramme |
| PG | Prostaglandine |
| PGDS | Prostaglandine D ₂ synthase |
| PGES | Prostaglandine E ₂ synthase |
| PGFS | Prostaglandine F _{2α} synthase |
| PGG₂' | Radical prostaglandyl G ₂ |
| PGIS | Prostaglandine I ₂ synthase |
| pH | Potentiel hydrogène |
| PIC | Pression intracrânienne |
| POX | Peroxydase |
| PPAR | Récepteur activé par les proliférateurs des peroxysomes |
| PVDF | Polyvinylidène difluoride |
| Px | Site d'activité peroxydase |
| | |
| REn | Réducteur endogène |
| RLs | Radicaux libres |
| | |
| SAMU | Service d'aide médicale urgente |
| SDS | Dodécylsulfate de sodium |
| Ser | Sérine |
| Sp | Saturation artérielle |

| | |
|--------------------------------|---|
| TC | Traumatisme crânien |
| Tel | Extrémité terminale |
| TNF-α | Facteur de nécrose tumorale α |
| TP | Récepteur au Thromboxane |
| TTBS | Tampon salin contenant de Tween [®] 20 |
| Tyr | Tyrosine |
| Tyr-O\cdot | Radical tyrosyl |
| Tyr-OH | Site actif du tyrosine |
| TXA₂ | Thromboxane A ₂ |
| t_{1/2} | Demi-vie d'élimination d'une molécule |
| UA | Unité arbitraire |
| Val | Valine |

INTRODUCTION

Paradoxalement au caractère évitable de ses causes, le traumatisme crânien (TC) est connu à l'échelle internationale comme un véritable malheur qualifié d'épidémie silencieuse. Malgré une amélioration relative du pronostic de ses victimes grâce aux progrès effectués dans leur prise en charge initiale, le TC entraîne de nombreuses lésions fatales ou handicapantes pour lesquelles il n'existe aucun traitement neuroprotecteur. Afin de faire face au lourd fardeau, à la fois personnel, social et économique du TC, les efforts menés par les chercheurs se concentrent sur la découverte de nouvelles cibles thérapeutiques.

De nombreuses années de recherche scientifique ont réussi à partiellement déceler les mécanismes physiopathologiques déclenchés par l'événement traumatique. Parmi ces mécanismes, la neuro-inflammation est l'une des cascades délétères jouant un rôle important dans l'aggravation des lésions consécutives au TC, et conduisant aux séquelles secondaires précoces ou différées. Cette neuro-inflammation se manifeste entre autres par l'infiltration du parenchyme cérébral par les cellules polynucléaires neutrophiles et les macrophages, l'activation microgiale, la production de cytokines pro-inflammatoires, l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique et la formation de l'œdème cérébral. Plusieurs données bibliographiques suggèrent également l'induction de la cyclo-oxygénase de type 2 au cours de ce processus dévastateur. Or, l'implication de ce membre de la famille des cyclo-oxygénases dans la neuro-inflammation post-traumatique reste toujours controversée.

C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés au rôle de cette enzyme, faisant partie des médiateurs de la neuro-inflammation, dans les conséquences biochimiques, métaboliques et fonctionnelles du TC réalisé expérimentalement chez la souris.

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

PREMIER CHAPITRE : TRAUMATISME CRANIEN

I. Définition

Le traumatisme crânien est une agression cérébrale suite à une force physique externe « le trauma » qui provoque un dysfonctionnement du cerveau. Les conséquences de cette agression mécanique sont à l'origine d'un tableau clinique assez hétérogène comprenant une altération de l'état de conscience voire un coma, une confusion, une diminution transitoire ou permanente des capacités cognitives et/ou sensori-motrices, des convulsions, et éventuellement des troubles comportementaux et/ou émotionnels (Abelson-Mitchell, 2008; Silver *et al.*, 2009).

II. Historique

II.1. Traumatisme crânien et l'Égypte pharaonique

Aux bords du Nil portant l'argile noire à la vallée et au delta, l'histoire était témoin d'une des plus anciennes civilisations connues par l'humanité. En effet, les pharaons ont laissé au monde entier un riche patrimoine dans tous les domaines des connaissances. L'Égypte antique faisant connaître au monde la science de la Chimie, fut appelée en copte à travers le temps : « *Kemet* », « *Kimi* » ou « *Chimi* », ce qui signifie "la terre noire". Ce n'est pas donc étonnant qu'on ait choisi à l'époque le nom de son pays d'origine pour désigner ce type du savoir. Ainsi, l'appellation « Chimie » se prononce soit par un « *k* » soit par un « *ch* » dans toutes les langues, et cela n'est pas le fait du hasard. De même, plusieurs traces archéologiques montrent que la médecine dispose d'une longue histoire montant jusqu'à 4 000 ans avant Jésus-Christ. Ces traces existent sous forme de papyrus^[1]. Ces derniers contiennent des données constituant la base de plusieurs notions médicales et actes chirurgicaux qui sont toujours agréés et pratiqués par la communauté scientifique à l'échelle mondiale. Au cours de ce chapitre, nous nous sommes plus particulièrement intéressés au papyrus découvert par *Edwin Smith* (Atta, 1999; Feldman & Goodrich, 1999; Stiefel *et al.*, 2006; Kshetry *et al.*, 2007).

^[1] Le papyrus est une sorte de papier fabriquée à partir de la tige d'une plante qui pousse aux bords du Nil. Ce papier fut utilisé par les anciens Égyptiens pour l'écriture et la peinture.

Né au Connecticut dans le nord-est des États-Unis en 1822, *Edwin Smith* a étudié le hiéroglyphe à Paris et à Londres. Vers 1858, il est allé en Égypte où il a vécu pendant une vingtaine d'années à Louxor. Différemment décrit dans la littérature comme un aventurier, un prêteur sur gages, un faussaire d'antiquités ou un pionnier en Égyptologie, *Edwin Smith* est devenu un personnage légendaire. En 1862, il a acquis le papyrus dans des circonstances controversées. Tandis que certains croient qu'il l'a acheté légitimement d'un homme d'affaires égyptien nommé *Mustafa Agha*, d'autres prétendent qu'il l'a illégalement cherché auprès des pilleurs de tombeaux pharaoniques. Peu importe la manière d'acquisition du manuscrit, *Smith* a reconnu son importance, et a fait des efforts pour une première traduction. Le papyrus est resté dans sa possession jusqu'à son décès en 1906. Après sa mort, sa fille a offert le papyrus à la Société d'histoire à New York « New York Historical Society ». Aucune nouvelle enquête n'a été faite jusqu'au moment où la société d'histoire a confié le papyrus à un égyptologue de l'université de Chicago appelé *James Henry Breasted* [Figure 1]. En 1930, cet historien a publié dans un texte à deux volumes la transcription du manuscrit, sa traduction en anglais, accompagnées d'une introduction et d'un commentaire.



Figure 1 : Photo de *James Breasted* en train de traduire le papyrus d'*Edwin Smith* dans son bureau (d'après Stiefel et al., 2006)

Exposé actuellement à la Société d'histoire à New York, le papyrus déroulé est de 4,68 mètres de longueur et de 32,5 à 33 centimètres de hauteur [Figure 2]. Il est constitué de 21,5 colonnes dont 17 sont en *recto* et 4,5 en *verso* en écriture horizontale. Selon *Breasted*, le papyrus d'*Edwin Smith* datant du 17^e siècle avant Jésus-Christ et dont l'auteur est inconnu, est présumé être un duplicata d'un plus ancien document rédigé entre 3 000 et 2 500 ans avant Jésus-Christ par *Imhotep* ^[2]. Celui-ci vécut au 30^e siècle avant Jésus-Christ, et fut un personnage emblématique de l'Égypte antique avec de multiples facettes : premier magistrat, architecte, médecin et philosophe.

^[2] Le nom d'*Imhotep* signifie "celui qui vient en paix".

L'organisation systématique ainsi que rationnelle adoptée dans l'élaboration du document est absolument sans précédent. Cette méthodologie à base scientifique fait de ce papyrus selon les experts du domaine, le premier manuel de chirurgie de toute l'histoire humaine, faisant témoin d'une connaissance médicale extraordinairement avancée chez les Égyptiens de l'époque pharaonique.

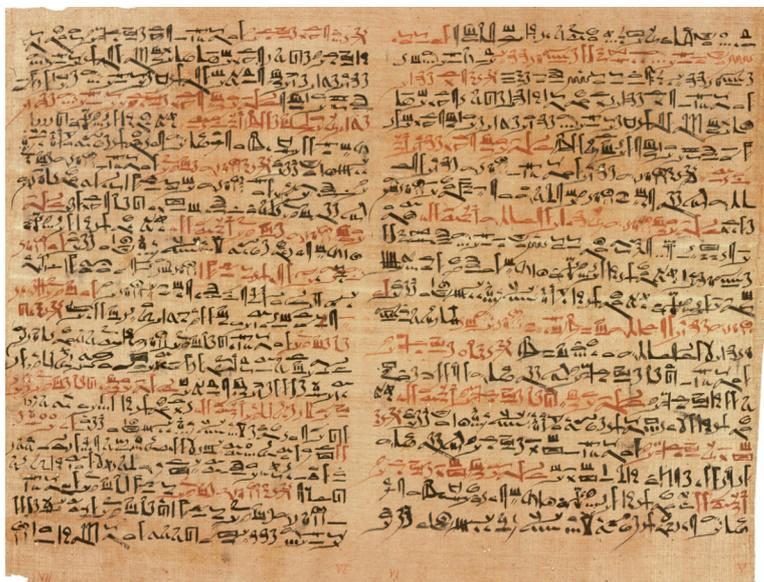


Figure 2 : Photo du papyrus d'Edwin Smith (d'après Stiefel et al., 2006)

Dans le texte, l'auteur fit une présentation élégante de 27 cas cliniques de trauma crânien et de 21 cas de différentes lésions traumatiques touchant le cou, la clavicule, la cage thoracique, l'épaule, le bras, et la colonne lombaire. La présentation de chaque cas contient un titre, un examen clinique, un diagnostic, un traitement recommandé, et un glossaire pour l'explication du vocabulaire incompréhensible à l'époque où ce manuscrit fut transcrit. Les cas furent illustrés de manière que le lecteur soit bien orienté dans sa recherche de signes révélateurs donnant une idée sur le pronostic et l'intervention à réaliser. À titre d'exemple, le traitement des plaies au cuir chevelu est réalisé par sutures et par les bandelettes utilisées pour l'embaumement des momies. Une posture assise est préconisée pour les fractures d'os temporal. Le bandage de fractures composées du crâne doit être évité^[3]. Une raideur de la nuque associée à une fracture ne peut pas être traitée^[4]. D'autre part, le portrait de ces cas cliniques reflète également une forte habilité à décrire de manière très synthétique les données issues de l'examen clinique par inspection et palpation. Dans le cas numéro 8, l'auteur trace l'image d'un patient ayant reçu un coup sur la tête en disant : "*Il marche en traînant le pied*"^[5].

^[3] Selon nos connaissances actuelles, ceci est pour empêcher une infection anaérobie.

^[4] La rigidité de la nuque est en faveur d'une méningite. À une époque où la microbiologie était un domaine inconnu et les antibiotiques n'étaient pas encore découverts, aucun traitement n'aurait pu être effectué.

^[5] Le pied est devenu faible et le patient ne peut plus le soulever. Il marche en le traînant.

Ses ongles touchent le milieu de ses palmes^[6]. *Il saigne par les deux narines et les deux oreilles*^[7] *et il souffre au niveau du cou*^[8]. Il termine sa description par cette conclusion : *“C’est une atteinte qu’on ne peut pas traiter*^[9]”. Le cas numéro 6 est celui d’une plaie au niveau du scalp avec une fracture composée sous-jacente exposant l’encéphale. L’auteur dit : *“Si tu examines un homme avec une plaie béante dans sa tête, pénétrant jusqu’à l’os, exposant son cerveau, tu dois palper la blessure. Tu dois voir des plis donnant un aspect ressemblant à celui des impuretés montant à la surface quand le cuivre est fondu. À l’intérieur, tu sentiras sous tes doigts une palpitation comme celle ressentie en palpant l’endroit faible de la voûte d’un enfant avant qu’elle durcisse entièrement*^[10]. *En cas d’une déchirure, le fluide sortira de l’intérieur de la tête, et tu ne sentiras pas de palpitation”*. Ainsi, ces phrases fascinantes sont la trace écrite la plus ancienne pour une description du cerveau, de ses corrugations, de ses enveloppes, et du liquide céphalo-rachidien (LCR).

Certainement, le papyrus d’*Edwin Smith* représente la naissance du raisonnement analytique en médecine. De plus, il atteste que les premiers traits de l’histoire du trauma crânien étaient tracés depuis l’aube de l’humanité par les anciens Égyptiens.

II.2. Traumatisme crânien et l’école de médecine d’Alexandrie

La ville égyptienne d’Alexandrie a été fondée par *Alexandre le Grand*^[11] en 331 avant Jésus-Christ. Après sa création, l’école de médecine de cette ville qualifiée de la perle de la Méditerranée s’épanouit avec les travaux de ses pères grecques *Hérophile de Chalcédoine*^[12], et *Érasistrate de Céos*^[13] (Kshetry *et al.*, 2007). Malheureusement, la plupart des traces écrites issues de cette époque dorée ont été perdues. Les premières données trouvées appartenaient à un encyclopédiste romain qui s’appelle *Aulus Aurelius Cornelius Celsus*^[14]. Les experts du domaine suggèrent que celui-ci ne fut pas médecin et que ses écritures reflètent probablement les découvertes de l’école de médecine d’Alexandrie.

^[6] Les doigts sont en flexion ce qui signifie un déficit fonctionnel sous forme de spasticité.

^[7] Rhinorrhées et otorrhées sont des signes d’une fracture basilaire.

^[8] Cette souffrance peut se traduire par une méningite.

^[9] Le pronostic d’une fracture basilaire est tellement mauvais que le cas n’aurait pu à l’époque bénéficier d’aucun traitement.

^[10] Dans le crâne du nouveau-né, entre l’os frontal et les os pariétaux liés par les sutures sagittale et coronale, se trouve une membrane cartilagineuse appelée « fontanelle antérieure ». Ce cartilage est relativement souple et ne s’ossifie pas avant l’âge de 18 mois. Au cours de la palpation de la voûte crânienne à ce niveau, on peut sentir les battements cardiaques sous les doigts.

^[11] Appelé également *Alexandre III de Macédoine* (356-323 avant Jésus-Christ).

^[12] 335-280 avant Jésus-Christ.

^[13] 310-250 avant Jésus-Christ.

^[14] 25 avant Jésus-Christ-50 après Jésus-Christ.

Ces médecins alexandrins ont décrit les signes d'une hypertension intracrânienne (HIC) post-traumatique de manière impressionnante. *Celsus* dit : *“Ainsi, après un coup sur la tête nous devons tout d’abord savoir si le patient a eu des vomissements bilieux, s’il a eu une vision obscure, s’il est devenu muet, s’il a eu un saignement du nez ou des oreilles, s’il est tombé par terre, s’il a été couché et a perdu la sensation comme assommé ; ces signes n’arrivent qu’avec un os fracturé ; et quand ils sont présents, nous devons savoir que le traitement est nécessaire mais difficile. S’il y a aussi une stupeur, si l’esprit erre, si une paralysie ou un spasme suit, il est également possible que la membrane cérébrale soit lésée”*. Cette magnifique citation détaille avec beaucoup de précision les manifestations d'une HIC^[15], d'une fracture basilaire^[16], ou d'une commotion cérébrale^[17]. L'auteur souligne que ces conditions constituent absolument un état d'urgence, et qu'une intervention médicale dans ce cas est indispensable. Il suggère que la perte de connaissance suite au choc reflétant une atteinte cérébrale diffuse est possible, et qu'une lésion focale induisant un trouble moteur ou une aphasie peut aussi avoir lieu.

Ces observations constituant à l'heure actuelle la base du diagnostic clinique de ce type de lésions traduisent la forte contribution de l'école de médecine d'Alexandrie dans l'état actuel des connaissances sur le TC.

III. Aspects cliniques

III.1. Épidémiologie

Le traumatisme crânien est à l'origine d'un large éventail des déficiences physiques, psycho-sensorielles et cognitives (Masel & DeWitt, 2010). Ces séquelles prennent une dimension dramatique non seulement dans le retentissement familial qu'elles engendrent (Degeneffe & Olney, 2010), mais aussi dans le montant onéreux de leur prise en charge en termes de soins de santé. Chaque année, un pays comme les États-Unis d'Amérique perd 56,3 milliards de dollars à cause de cette épidémie silencieuse (Bramlett & Dietrich, 2004; Gean & Fischbein, 2010). En raison de ce coût socio-économique colossal accentué par la perte d'années de vie productive, le TC constitue un problème majeur de santé publique tant pour les pays industrialisés que pour les pays en voie de développement (Reilly, 2007; Hassan *et al.*, 2010).

[15] Vomissements bilieux projectiles, flou visuel, détérioration de l'état d'alerte et l'apparition des signes de localisation.

[16] Otorrhées et rhinorrhées.

[17] Perte de connaissance.

À l'heure actuelle, l'image traçant les aspects épidémiologiques du TC est très floue, et les données issues de différentes études descriptives sont difficiles à analyser. La difficulté de comparaison entre ces travaux est pour des raisons méthodologiques. Celles-ci sont liées à l'hétérogénéité des définitions des cas du TC, des critères de sa gravité et d'inclusion de ses victimes, ainsi que la façon de calcul des indicateurs épidémiologiques (Bruns & Hauser, 2003; Tagliaferri *et al.*, 2006; Reilly, 2007; Abelson-Mitchell, 2008).

Le TC est la première cause d'infirmité, de morbidité et de mortalité chez les adultes âgés de moins de 45 ans (Bruns & Hauser, 2003). Le taux d'incidence du TC est le nombre de nouveaux cas survenant pendant une période donnée, généralement une année, dans une population donnée. À l'échelle mondiale, ce taux annuel est compris entre 150 et 330 cas pour 100 000 habitants (Bruns & Hauser, 2003), avec une fourchette de 200 à 250 pour la moyenne (Tagliaferri *et al.*, 2006; Reilly, 2007). En France, environ 15 à 20 000 personnes par an sont victimes d'un TC (Belmont *et al.*, 2006). Ces chiffres sont probablement sous-estimés et ne reflètent pas l'ampleur réelle de cette épidémie. Tout d'abord, certaines études ne prennent pas en compte les cas de mortalité, les victimes qui n'ont obtenu aucune assistance médicale, et les patients qui étaient soignés aux urgences (Bruns & Hauser, 2003; Ashman *et al.*, 2006). De plus, des problèmes liés à la collecte des données ainsi qu'à la fiabilité des registres où les cas de décès préhospitaliers n'étaient pas recensés ont été signalés (Ashman *et al.*, 2006; Reilly, 2007). La prévalence du TC est le nombre de personnes traumatisées à un moment donné, dans une population donnée. On estime que 5,3 millions de personnes aux États-Unis (Bramlett & Dietrich, 2004), et 6,2 millions en Europe (Tagliaferri *et al.*, 2006) vivent avec leur handicap à cause de ce fléau social. Le taux de mortalité est le nombre des décès liés au TC pendant une période déterminée, généralement une année, dans une population donnée. En Europe, ce taux est de 15 pour 100 000 habitants (Tagliaferri *et al.*, 2006). Un deuxième indicateur de gravité est aussi décrit dans la littérature. C'est le taux de fatalité globale exprimant le pourcentage de la mortalité ayant lieu à l'intérieur et à l'extérieur de l'hôpital, parmi les patients traumatisés crâniens. Les études menées sur le vieux continent montrent qu'il est d'environ 11% (Tagliaferri *et al.*, 2006).

Malgré leur hétérogénéité, ces données épidémiologiques sur le TC ont fait l'objet d'une prise de conscience de la part des politiciens et des scientifiques vis-à-vis de cette problématique. Les premiers étaient appelés à la mise en place de mesures préventives appropriées, et les derniers à chercher de nouvelles stratégies thérapeutiques pour diminuer son énorme impact.

III.2. Étiologies et facteurs de risque

Les causes aboutissant au TC varient en fonction de l'âge (Ashman *et al.*, 2006; Tagliaferri *et al.*, 2006; Abelson-Mitchell, 2008; Gean & Fischbein, 2010; Hassan *et al.*, 2010). Les accidents de la circulation présentent la cause majeure pour la tranche comprise entre 15 et 70 ans. En dehors de cet intervalle, la chute est considérée comme l'étiologie principale du TC. La violence civile ou en cas de guerre, les activités professionnelles, récréatives, et sportives comme la boxe ou le rugby, peuvent également être à l'origine d'un TC, notamment pour les jeunes adultes.

Globalement, le trauma crânien est plus fréquent pendant les 30 premières années de la vie. Au cours de cette période, le risque du TC est de 2 à 5 fois supérieur chez l'homme que chez la femme (Belmont *et al.*, 2006; Abelson-Mitchell, 2008; Hassan *et al.*, 2010). L'abus d'alcool (Tagliaferri *et al.*, 2006; Rogers & Read, 2007), des drogues (Rogers & Read, 2007), les troubles d'équilibre ou de mobilité constituent aussi des facteurs de risque.

III.3. Physiopathologie

Le trauma crânien induit instantanément des dommages mécaniques du cerveau aux niveaux du parenchyme, des vaisseaux, et des méninges. Cette agression physique aboutit à la formation immédiate et directe des lésions encéphaliques dites primaires, dont la gravité dépend de la sévérité du trauma et des régions anatomiques lésées [Figure 3]. Hormis certains hématomes justifiant d'une évacuation chirurgicale en urgence, les lésions primaires sont irréversibles, et ne peuvent pas jusqu'à présent bénéficier de stratégie réparatrice (Werner & Engelhard, 2007; Gean & Fischbein, 2010). Dans ce cas, la prévention de la survenue de l'incident traumatique sera toujours un meilleur choix stratégique que de chercher à en traiter les dégâts. Or, plusieurs années de recherche dans le domaine ont changé notre vision sur la physiopathologie du TC. À l'heure actuelle, ce dernier est qualifié par les scientifiques de processus dynamique, et non simplement d'un événement traumatique dont les conséquences engendrées sont figées dans le temps (Masel & DeWitt, 2010).

Une fois induites, les lésions primaires évolueront vers d'autres atteintes dites secondaires, à cause des mécanismes physiopathologiques non mécaniques qui ne sont pas encore entièrement élucidés, et sous l'effet de différents facteurs d'agression cérébrale d'origine systémique [Figure 3]. Ce type de lésions sera généré dans les heures, les jours, les semaines, les mois voire les années qui suivent les atteintes initiales. Le délai d'installation de cette agression cérébrale différée donne la possibilité d'intervention au niveau thérapeutique. Ainsi, l'identification conduisant éventuellement à la prévention potentielle de ce processus d'auto-aggravation constitue actuellement l'axe principal de recherche sur le TC à l'échelle internationale.

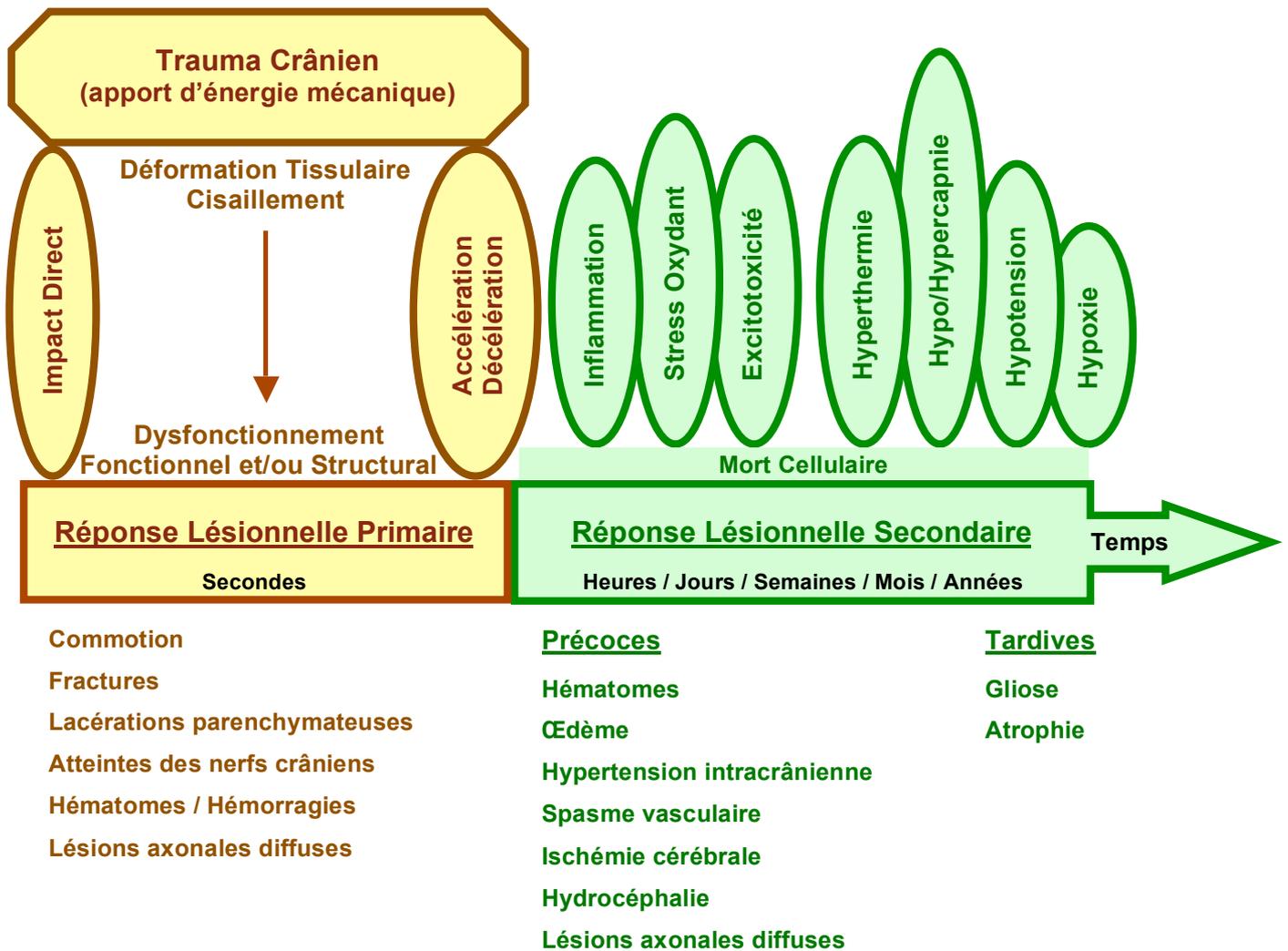


Figure 3 : Cascades physiopathologiques post-traumatiques et l'évolution de la réponse lésionnelle dans le temps

III.3.1. Lésions primaires

Les lésions primaires sont la conséquence de la destruction mécanique de vaisseaux sanguins, de membranes et d'organelles cellulaires suite aux déformations tissulaires au moment de l'impact, dépassant leur point maximal de tolérance^[18]. En fonction du mécanisme lésionnel du TC, les lésions primaires peuvent être focales ou diffuses.

III.3.1.1. Mécanismes lésionnels du traumatisme crânien

Schématiquement, deux mécanismes lésionnels directement liés à l'étiologie du TC sont décrits : le contact par choc et l'effet d'inertie (LaPlaca *et al.*, 2007).

^[18] Le point maximal de tolérance tissulaire est le seuil au-delà duquel un dommage structural et/ou un dysfonctionnement du tissu peut(ven)t avoir lieu (LaPlaca *et al.*, 2007).

Le phénomène de contact par choc ou impact direct est le plus fréquent. Il est observé quand la tête heurte ou est heurtée par un objet. Dans ces cas, les lésions sont essentiellement focales. Elles peuvent toucher le cuir chevelu sous forme des plaies du scalp, le squelette osseux du crâne sous forme de fractures, le cerveau et ses enveloppes sous forme de lacérations parenchymateuses, de contusions et d'hématomes. L'énergie apportée par le choc et transmise au crâne sous-jacent peut également engendrer des lésions axonales diffuses en secouant ou vibrant le cerveau.

Les dégâts cérébraux peuvent être liés à un impact indirect par l'effet d'inertie observé chaque fois que la tête est mise très brusquement en mouvement « accélération », et/ou quand elle est très soudainement arrêtée dans son mouvement « décélération ». Ce mécanisme lésionnel peut avoir lieu au cours des accidents de la voie publique. La différence d'inertie entre les différentes structures cranio-cérébrales est responsable de l'apparition de lésions diffuses touchant les axones. L'effet d'accélération/décélération peut être linéaire ou rotatoire. La combinaison de ces deux axes de contrainte est fréquente en clinique, et représente un phénomène d'accélération/décélération angulaire dont les conséquences sont plus graves.

III.3.1.2. Commotion cérébrale

La commotion cérébrale est le tableau le plus banal et le moins grave du TC. Il s'agit d'un dysfonctionnement temporaire du cerveau accompagné ou non d'une perte immédiate et transitoire de connaissance (Roth & Farls, 2000). Le réveil caractérisé par une amnésie lacunaire rétrograde survient spontanément au cours d'une période qui ne dépasse pas souvent les six premières heures après le choc en fonction de la gravité du traumatisme. Pourtant, une surveillance médicale ou neurochirurgicale s'impose pour dépister les possibles complications secondaires, notamment de types hémorragiques. Bien que la perturbation cérébrale de ce genre de lésion primaire soit pour la plupart des cas complètement réversible, les patients doivent être également suivis à long terme pour la survenue potentielle du syndrome post-commotionnel. Celui-ci peut se présenter par une irritabilité, une labilité émotionnelle, une somnolence, un manque de concentration, des maux de tête ou encore des troubles transitoires de la mémoire.

III.3.1.3. Lésions primaires focales

Les lésions primaires focales se caractérisent par une destruction locale du tissu cérébral. Elles sont dues le plus souvent à un choc appliqué au niveau du crâne, entraînant des dommages directs au point de l'impact « lésions de coup » et/ou à son côté opposé à cause de la collision du cerveau contre la paroi osseuse à l'intérieur de la boîte crânienne « lésions de contrecoup ». La gravité de ces lésions dépend du site de l'impact, de la vitesse de percussion, de la consistance de l'agent traumatisant, et de la flexibilité du crâne déterminant la survenue ou non d'une fracture.

Des fractures simples ou composées du crâne peuvent avoir lieu quand la tension induite par le trauma dépasse la tolérance de la matière osseuse (Roth & Farls, 2000). Ce type de lésion associé ou non à une lacération parenchymateuse sous-jacente est particulièrement de mauvais pronostic quand il touche la base du crâne. D'une part, les fractures basilaires au niveau de la fosse cérébrale antérieure sont souvent associées à une rhinorrhée ^[19] de LCR, une épistaxis ^[20], une ecchymose péri-orbitale palpébrale ainsi qu'une atteinte des nerfs crâniens olfactifs et/ou optiques. D'autre part, une otorrhée et/ou une otorragie ^[21] ainsi qu'une lésion du nerf facial et/ou auditif peuvent être liées à une fracture du rocher ou de la base postérieure du crâne. Une atteinte des nerfs crâniens peut aussi résulter d'une altération du débit sanguin cérébral (DSC).

Le cerveau est doté d'un réseau vasculaire complexe constitué de vaisseaux fragiles intercalés entre les différents types de cellules cérébrales. Par conséquent, les atteintes cérébro-vasculaires post-traumatiques occupent une place assez importante parmi les lésions primaires (Roth & Farls, 2000; Bigler, 2001). L'agression vasculaire peut commencer par une simple séparation entre les couches interne « intima » et moyenne « média » de la paroi vasculaire, créant un espace que le sang peut occuper en constituant un hématome intramural. Celui-ci peut pénétrer la média et perforer la couche externe de la paroi vasculaire, l'adventice, formant un pseudo anévrisme. Une lacération d'une artère qui s'ouvre vers une veine adjacente communiquant les deux systèmes et créant une fistule artério-veineuse peut avoir lieu. Enfin, si le trauma crânien est plus violent, il peut provoquer d'emblée une rupture vasculaire induisant de différents types d'hémorragie intracrânienne classifiés selon leurs localisations (Roth & Farls, 2000; Gean & Fischbein, 2010). L'hématome extra-dural (épidural) est un épanchement de sang entre la dure-mère et l'os du crâne. Il est trouvé chez 2 à 6% des patients traumatisés crâniens en association pour la plupart des cas à une fracture du crâne en regard. Il est le plus souvent constitué par le saignement d'une artère méningée lésée suite à une fracture de l'os temporal, et plus rarement, d'une veine ou d'un sinus veineux. Les victimes de ce genre d'hématome se présentent classiquement par une perte de connaissance immédiate après le choc. Celle-ci serait suivie par une période lucide qui précède une détérioration neurologique rapide avec l'accumulation de sang. L'hématome sous-dural se forme entre l'arachnoïde et la dure-mère, et s'étend le plus souvent sur la grande convexité de la boîte crânienne. Il est dû à des lésions de petites veines qui traversent l'espace sous-dural. Il est trouvé chez 26 à 63% des patients traumatisés crâniens. D'un point de vue clinique,

^[19] Une rhinorrhée est un écoulement du nez vers l'extérieur.

^[20] Une épistaxis est une hémorragie extériorisée par les fosses nasales.

^[21] Une otorrhée et une otorragie signifient un écoulement de LCR et de sang respectivement par le conduit auditif externe.

l'hématome sous-dural peut se présenter de façon aiguë, sous-aiguë, ou chronique ^[22]. L'hémorragie méningée (sous-arachnoïdienne) correspond à la diffusion de sang dans les espaces sous-arachnoïdiens compris entre l'arachnoïde et la pie-mère, surtout au niveau des citernes de la base du crâne. Ce type d'hémorragie est fréquemment trouvé dans le cadre d'un TC modéré ou grave. La contusion cérébrale (contusion hémorragique, hématome parenchymateux ou intracérébral) est une hémorragie au sein du tissu cérébral. Présente dans 15% des cas du TC, elle témoigne d'une atteinte du parenchyme cérébral formée le plus souvent par choc direct de l'encéphale contre des zones saillantes de la structure osseuse de la boîte crânienne. Ainsi, l'hématome intracérébral se forme le plus souvent au niveau de lobes frontaux et temporaux en association pour la plupart des cas à des lésions de contrecoup. Le tableau clinique de ces hématomes dépend de leur localisation et de leur taille. D'une part, la raideur nucale et les convulsions sont des signes d'un syndrome méningé qui peut être en faveur d'une hémorragie sous-arachnoïdienne. D'autre part, en exerçant un effet de masse aboutissant à une HIC, ces lésions hémorragiques peuvent se présenter par des céphalées ou par des troubles neurologiques sous formes d'altération de l'état d'alerte, de confusion, et d'agitation psychomotrice. En cas de déplacement des structures cérébrales sous forme d'engagements, ce type de lésion sera indirectement révélé par les signes de localisation selon les régions touchées du cerveau. Par ailleurs, si les hématomes sont généralement la conséquence du choc, de petites zones d'hémorragies dispersées à travers l'encéphale peuvent avoir lieu au cours de lésion cérébrale diffuse, et sont connues en imagerie sous le terme de pétéchies multiples.

III.3.1.4. Lésions axonales diffuses

Les lésions axonales diffuses résultent de la torsion, la compression, l'étirement voire la rupture des axones de la matière blanche et des vaisseaux. Puisqu'elles sont la conséquence d'une violente accélération et/ou décélération du cerveau lors d'un accident de la voie publique, ces lésions émergent surtout dans les zones de juxtaposition de tissus à densité et inertie différentes. De manière multifocale plutôt que diffuse, elles touchent la profondeur de la substance blanche située entre les jonctions cortico-sous-corticale et ponto-mésencéphalique.

L'atteinte cérébrale diffuse est le mécanisme lésionnel prédominant chez les patients traumatisés crâniens hospitalisés (Meythaler *et al.*, 2001). Ce type de pathologie est microscopique sans lésion apparente à l'imagerie médicale par tomodensitométrie ou par résonance magnétique au moment du trauma. Ayant un mauvais pronostic, les victimes d'une lésion axonale diffuse sévère se trouvent dans un coma immédiat durant des semaines et parfois des mois, ou bien dans un coma sans résolution.

^[22] Aiguë (pendant les premières 48 heures), sous-aiguë (entre 2 et 14 jours), et chronique (au-delà de 14 jours) post-TC.

La lésion axonale diffuse n'est pas simplement considérée comme une lésion primaire, elle constitue également une des lésions secondaires qui ne sont pas les conséquences directes de l'événement traumatique (Büki & Povlishock, 2006). En effet, une atteinte de la membrane plasmique et du cytosquelette axonal peut immédiatement avoir lieu après le TC. Cette agression conduit à la désorganisation de l'axone et à l'augmentation de la perméabilité de sa membrane, ralentissant le transport des neurotransmetteurs et donc du signal le long de leur trajet axonal. Les dommages structurels et fonctionnels de cette lésion dite primaire continuent malheureusement à évoluer dans le temps. Une aggravation de la lésion axonale diffuse est la conséquence de l'afflux de calcium vers l'intérieur de l'axone, activant les protéases comme la calpaine et la caspase. Ces enzymes catalysent la protéolyse du cytosquelette ainsi que de la membrane plasmique altérant le transport axonal et conduisant au gonflement voire la rupture d'axones.

III.3.2. Lésions secondaires

Les lésions secondaires résultent de l'aggravation précoce aussi bien que tardive des lésions primaires par des facteurs d'agression cérébrale secondaire d'origine centrale ou systémique [Figure 3]. Ce processus d'auto-aggravation aboutit à l'enchaînement de plusieurs cascades physiopathologiques délétères parmi lesquelles une ischémie cérébrale vient en amont [Figure 4].

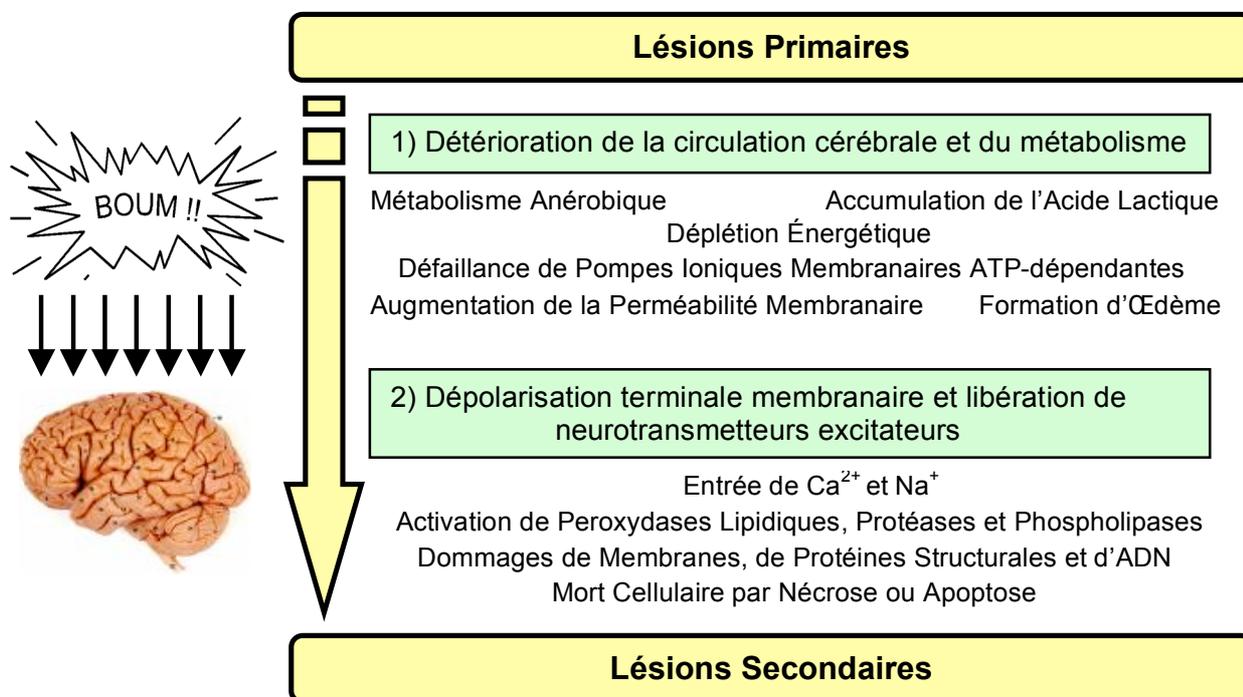


Figure 4 : Cascades physiopathologiques post-traumatiques aboutissant à la mort cellulaire et aux lésions secondaires (d'après Werner & Engelhard, 2007)

Abréviations : ADN acide désoxyribonucléique ; ATP adénosine triphosphate ; Ca^{2+} cation calcique ; Na^{+} cation sodique.

III.3.2.1. Facteurs d'agression cérébrale secondaire d'origine systémique

La période post-traumatique précoce est caractérisée par une inadéquation entre l'apport énergétique dédié au cerveau et son métabolisme, engendrant le plus souvent une souffrance cellulaire de type ischémique. Cet apport restreint en oxygène et en glucose comme sources d'énergie peut être dû à une hypotension réduisant le DSC (Chesnut *et al.*, 1993a,b). La présence d'une hypoxémie peut être également responsable d'une baisse du contenu artériel en oxygène et d'un défaut de son apport au tissu cérébral (Chesnut *et al.*, 1993a). Les études ont montré que ces deux facteurs de lésion cérébrale secondaire étaient fréquemment présents après un TC grave, et que leur existence de manière indépendante aggravait les conséquences du TC en termes de mortalité et de morbidité.

Les variations de PaCO₂^[23] sont responsables de modifications de pH extracellulaire influençant le diamètre des vaisseaux. L'hyperventilation induit une hypocapnie et une alcalose tissulaire aboutissant à une vasoconstriction artériolaire. Cette dernière entraîne une baisse du volume sanguin cérébral, et par conséquent, de la pression intracrânienne (PIC). Néanmoins, cette vasoconstriction cérébrale présente un risque ischémique par la réduction du DSC. À l'inverse, une détresse respiratoire responsable d'une hypoventilation conduit à une hypercapnie. Cette acidose respiratoire due à la rétention de CO₂ et la formation de l'acide carbonique provoque une vasodilatation des artères cérébrales augmentant le volume sanguin cérébral et ainsi la PIC. Suite au TC, l'autorégulation du DSC vis-à-vis des altérations des gaz sanguins au niveau artériel est perdue (Werner & Engelhard, 2007). Cette perte qui n'est pas corrélée à la gravité du TC aggrave l'état d'ischémie post-traumatique.

Une anémie préexistante ou qui est la conséquence d'une hémorragie traumatique, extra- ou intracrânienne, peut diminuer l'apport cérébral en oxygène à cause de la chute du taux sanguin de l'hémoglobine. Ce manque d'oxygène entraîne une vasodilatation et une tachycardie adaptatives qui augmentent le volume sanguin cérébral et la PIC.

Une hyperthermie entraîne une augmentation du métabolisme et de la consommation cérébrale en oxygène. Elle reflète un état d'hypercatabolisme caractérisé par une mobilisation des réserves et une augmentation de la dépense énergétique. Cette perturbation au niveau du métabolisme est localement provoquée par la cascade inflammatoire du trauma crânien, ou systémiquement induite par la libération post-traumatique massive d'hormones de stress comme les catécholamines et les glucocorticoïdes. Dans le cadre d'un dysfonctionnement cérébral global, cette hyperthermie peut être également la conséquence d'une dérégulation du centre thermique au niveau de l'hypothalamus.

^[23] La PaCO₂ est la pression du dioxyde de carbone (gaz carbonique) dissout dans le sang artériel. Sa valeur normale, appelée normocapnie, est comprise entre 35 et 45 mm Hg.

III.3.2.2. Facteurs d'agression cérébrale secondaire d'origine centrale

Les lésions primaires du TC sont caractérisées par une perte cellulaire non spécifique et des dommages sous-létaux. Ces derniers activent un ensemble de cascades physiopathologiques délétères constituant des facteurs d'atteinte tardive en induisant une réponse lésionnelle secondaire (LaPlaca *et al.*, 2007). Avec l'implication de plusieurs acteurs, ces cascades sont très complexes et semblent être étroitement liées. Plusieurs années de recherches expérimentales et cliniques ont pu partiellement révéler les mécanismes contrôlant ce processus d'agression secondaire afin de développer des stratégies thérapeutiques ciblées [Figure 3]. Parmi ces mécanismes, le stress oxydant, l'excitotoxicité et l'inflammation se présentent comme une triade infernale qui aboutit éventuellement à une mort neuronale différée (Vink & Nimmo, 2009).

Un stress oxydant et nitrosant en rapport avec une production excessive de radicaux libres (RLs) est un des mécanismes physiopathologiques les plus décrits dans la littérature sur le TC. Les RLs sont des espèces chimiques hautement réactives car leur couche électronique périphérique contient un électron célibataire très instable. À l'état physiologique, les RLs sont produits en faible quantité lors de la respiration et du métabolisme cellulaires. Cette formation permanente de RLs est anodine tant que leur quantité est bien contrôlée par des systèmes anti-oxydants endogènes. Au cours de certaines pathologies, la production de RLs est anormalement accentuée par : 1) les cellules inflammatoires comme les macrophages et les polymorphonucléaires neutrophiles, 2) les mitochondries, 3) la métabolisation de l'acide arachidonique libéré par la phospholipase A₂, 4) l'activation de la xanthine oxydase, et 5) l'activité des synthèses du monoxyde d'azote (NO) exerçant un stress nitrosant puissant *via* les anions peroxydite (ONOO⁻) issus de sa réaction rapide avec l'anion superoxyde (O₂⁻) en milieu intracellulaire (Lewén *et al.*, 2000). Devant cette libération excessive de RLs, la capacité anti-oxydante de défense intrinsèque se trouve dépassée ou parfois inhibée. Ce déséquilibre intracellulaire entre la genèse et la dégradation de RLs aboutit au stress oxydant. Celui-ci entraîne des dégâts importants sous forme de peroxydation des lipides membranaires, d'oxydation des protéines enzymatiques ainsi que structurales, et de cassures des acides nucléiques aboutissant à la mort cellulaire. Les RLs sont largement impliqués dans la pathogenèse des dommages microvasculaires, de l'œdème cérébral, et de l'ischémie engendrés par le TC. Ainsi, plusieurs anti-oxydants se sont révélés neuroprotecteurs dans des modèles expérimentaux de TC, ce qui confirme le rôle délétère de ce processus dans les conséquences post-traumatiques (Hall *et al.*, 2010).

Une excitotoxicité liée à des désordres calciques joue un rôle crucial dans la pathogenèse de TC. Plusieurs études expérimentales et cliniques ont montré que le TC entraîne une augmentation précoce et progressive des concentrations extracellulaires en acides aminés excitateurs (Spaethling *et al.*, 2007; Park *et al.*, 2008). Dans les conditions pathologiques, le glutamate est massivement libéré par les terminaisons présynaptiques pour activer trois types de récepteurs : 1) AMPA (acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole propionique), 2) NMDA (N-méthyl-D-aspartate), et 3) métabotropiques au glutamate. L'activation de ces récepteurs entraîne simultanément l'entrée d'ions sodiques (Na^+) dans la cellule et la sortie d'ions potassiques (K^+) conduisant à une dépolarisation membranaire. Celle-ci favorise l'ouverture de canaux calciques voltage-dépendants, et donc, l'influx de calcium (Ca^{2+}). D'une part, ce passage intracellulaire de Na^+ et de Ca^{2+} entraîne une entrée massive d'eau dans la cellule par diffusion selon le gradient osmotique. À cet œdème osmotique s'ajoutera un œdème cytotoxique après l'entrée de Ca^{2+} à cause de l'action délétère de certaines enzymes dont l'activation est dépendante de ce cation, notamment : 1) la protéine kinase C, 2) la phospholipase A_2 , 3) les NO synthases neuronales et endothéliales, 4) la xanthine oxydase, 5) les caspases, ainsi que 6) les endonucléases. L'ensemble de ces événements conduit à la mort cellulaire par une atteinte secondaire des constituants essentiels de la cellule.

L'inflammation est une réaction défensive menée par le système immunitaire de l'organisme afin de le protéger contre un stimulus nuisible d'origine biologique ^[24], physique ^[25], ou chimique ^[26], qui n'aboutit pas d'emblée à une mort cellulaire. Faisant l'objet d'un intérêt croissant comme en témoigne l'abondante littérature dans le domaine, il est cliniquement et expérimentalement établi qu'une réponse inflammatoire se développe après le traumatisme crânien tant au niveau systémique (Lu *et al.*, 2009) qu'au niveau cérébral (Schmidt *et al.*, 2005; Cederberg & Siesjö, 2010). L'initiation suivie du contrôle de la neuro-inflammation post-traumatique est un processus complexe et multifactoriel impliquant plusieurs cellules et molécules. La compréhension de différentes cascades neuro-inflammatoires, l'identification de leurs médiateurs, et l'étude du rôle de chacun de ces acteurs permettront de découvrir de nouvelles cibles thérapeutiques pour le traitement de TC. Ainsi, plusieurs travaux de recherche montrent que cette réponse accompagnée de la formation d'un œdème est caractérisée par l'infiltration des cellules sanguines ainsi que par l'activation microgliale et astrocytaire. Locales ou périphériques, ces cellules immunitaires ont une double fonction. La première est une activité phagocytaire qui est nécessaire au nettoyage préalable aux processus de réparation et/ou de cicatrisation. La deuxième est la sécrétion des chimiokines ainsi que des cytokines

^[24] Infection par bactérie, virus, prions, ... etc.

^[25] Températures extrêmes (chaud et froid), rayons ionisantes, force mécanique, ... etc.

^[26] Acides et bases forts.

telles que l'interleukine- (IL-) 1β ainsi que le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α) (Morganti-Kossmann *et al.*, 2007). Ces protéines induisent l'expression de molécules d'adhésion et d'enzymes pro-inflammatoires, notamment l'isoforme inductible de la NO synthase et la cyclo-oxygénase de type 2. Le contrôle de ces acteurs s'est révélé neuroprotecteur dans des modèles expérimentaux du TC, ce qui confirme le rôle délétère de la neuro-inflammation dans les conséquences post-traumatiques.

III.3.2.3. Mort cellulaire

L'ensemble des cascades décrites précédemment conduit à des altérations structurales et fonctionnelles qui participent à la mort cellulaire aussi bien en phase précoce que tardive. Au moins, deux types de mort cellulaire peuvent avoir lieu après le TC : la nécrose et l'apoptose (Werner & Engelhard, 2007).

D'une part, la nécrose fait suite à un endommagement tissulaire important d'origine mécanique ou ischémique, résultant d'une production massive d'acide aminé excitateur et d'une défaillance métabolique [Figure 4]. Ce dernier favorise l'entrée des ions calciques et sodiques qui stimulent les phospholipases, les protéases et les peroxydases lipidiques. L'activation de ces enzymes lytiques induit une atteinte des organelles cytoplasmiques, une lyse membranaire, un gonflement cellulaire œdémateux, une hydrolyse aléatoire de l'acide désoxyribonucléique (ADN), et une stimulation de l'inflammation pour éliminer les cellules nécrotiques et former une cicatrice gliale (Wang *et al.*, 2009).

D'autre part, l'apoptose ou la mort programmée est le processus par lequel les cellules déclenchent leur auto-destruction en réponse à un signal. À l'état physiologique, elle est en équilibre constant avec la prolifération cellulaire. Les neurones subissant une mort cellulaire programmée de type apoptotique sont morphologiquement intacts au moins au cours de la phase post-traumatique précoce. Plus tardivement, la translocation ou l'externalisation de la phosphatidylsérine^[27] et l'implication possible des caspases déclenchent une désintégration progressive de la membrane cellulaire, un rétrécissement nucléaire et cellulaire, une apparition de corps apoptotiques, une condensation de la chromatine ainsi qu'une fragmentation de l'ADN (Werner & Engelhard, 2007; Wang *et al.*, 2009). Celle-ci est réalisée de façon très caractéristique produisant des fragments dont les tailles sont des multiples de 180 paires de bases. Ces fragments d'ADN ont une distribution dite « en échelle » lorsque qu'ils sont séparés selon leur taille par électrophorèse. Ce nombre constant de paires de bases correspond à l'espacement entre deux nucléosomes consécutifs. Contrairement à la nécrose, l'apoptose est adénosine-5'-triphosphate ATP-dépendante et ne provoque pas d'inflammation.

^[27] La phosphatidylsérine est un phospholipide normalement constitutif du feuillet interne de la cellule. Son externalisation permettra la phagocytose de la cellule par les macrophages.

III.3.2.4. Œdème cérébral

L'œdème cérébral occupe une place assez particulière parmi toutes les lésions post-traumatiques puisqu'il joue un rôle crucial dans la mortalité et la morbidité liées au TC. Par définition, l'œdème cérébral correspond à l'accumulation anormale de fluide et d'électrolytes dans l'espace extravasculaire aux niveaux de la cellule et/ou du parenchyme. Ce processus peut aboutir à un gonflement cellulaire et/ou cérébral ayant comme résultats un dysfonctionnement du cerveau qui peut être associé à une HIC avec toutes ses conséquences délétères. Sur la base des mécanismes pathogéniques, on distingue deux types essentiels d'œdèmes : l'œdème cérébral d'origine vasogénique et l'œdème cérébral à base cytotoxique (Unterberg *et al.*, 2004; Donkin & Vink, 2010).

L'œdème cérébral vasogénique résulte d'un mouvement anormal de l'eau enrichie de plasma du compartiment intravasculaire vers l'espace extracellulaire selon un gradient osmotique. Ce dernier est dû à l'accumulation progressive des composantes sanguines dans le parenchyme cérébral à cause d'une perméabilité accrue de la barrière hémato-encéphalique (BHE). Ce dysfonctionnement post-traumatique de la BHE peut être la conséquence d'une rupture mécanique et/ou d'une ouverture physiopathologique. Au cours du TC, le choc représentant un apport énergétique entraîne des lésions structurales de l'endothélium capillaire et de leur membrane basale constituant la BHE. À cette rupture s'ajoute une désintégration plus tardive de la paroi vasculaire sous l'effet de différents médiateurs tels que les RLs, les éicosanoïdes, les métalloprotéases matricielles, et les molécules d'adhésion. L'altération de l'endothélium aux niveaux des cellules, de la membrane basale et des protéines de jonctions intercellulaires serrées induit une perméabilité anormale de la BHE. Ce type d'œdème est associé à une augmentation du contenu cérébral en eau, et par conséquent, à une HIC lorsque les mécanismes de compensation du cerveau sont dépassés.

L'œdème cérébral cytotoxique « œdème cellulaire » est dû à une augmentation de la perméabilité de la membrane cellulaire pour les ions sodiques et potassiques, à cause d'un dysfonctionnement des pompes membranaires lié à une déplétion énergétique. La défaillance des pompes ioniques aboutit à l'existence d'un gradient osmotique modifié au profit d'une osmolarité intracellulaire exagérée. Ainsi, une augmentation du contenu intracellulaire en eau touchant les neurones, les astrocytes et les microglies peut avoir lieu sans que la perméabilité vasculaire soit altérée. Bien que ce simple passage de l'eau de l'espace extracellulaire vers l'intérieur de la cellule n'ait aucun effet sur la PIC, le gonflement de la cellule et l'altération de son contenu ionique qui en résultent perturbent gravement sa fonction.

III.3.2.5. Hypertension intracrânienne

La boîte crânienne est une enceinte close et inextensible. Le volume de l'encéphale est compris entre 1 000 et 1 400 mL chez l'adulte. Ce volume est réparti de la manière suivante : 80% pour le tissu cérébral, 10 à 15% pour le LCR, et 5 à 10% représentant le volume sanguin cérébral. La PIC qui repose sur la constance des volumes de ces trois compartiments est de 10 à 15 mmHg chez l'adolescent et l'adulte, de 3 à 7 mmHg chez l'enfant, et de 1,5 à 6 mmHg chez le nourrisson. L'HIC est la conséquence d'une augmentation non compensée du volume d'un ou de plusieurs compartiments intracrâniens. Chez l'adulte, il s'agit cliniquement d'une HIC quand la PIC est supérieure à 15 mmHg.

L'HIC est parmi les complications les plus fréquentes et les plus menaçantes du TC, rencontrées jusqu'à une semaine après la lésion initiale (Stocchetti *et al.*, 2007). Cette HIC post-traumatique peut avoir comme étiologies : l'œdème cérébral, l'hématome épidual, sous-dural, ou parenchymateux, une hydrocéphalie obstructive, une hypoventilation induisant une hypercapnie et une vasodilatation cérébrale, ainsi qu'une augmentation de la pression intrathoracique ou intra-abdominale^[28] empêchant le retour veineux de la région céphalique (Rangel-Castilla *et al.*, 2008). Les mécanismes d'autorégulation visent à compenser une chute de la pression de perfusion cérébrale en conséquence de l'HIC. Parmi ces mécanismes, une augmentation de la pression artérielle systolique^[29] induit un accroissement du volume sanguin cérébral. Ce dernier entraînera en retour une augmentation de la PIC dans un véritable cercle vicieux qui aggrave l'HIC. Celle-ci est un facteur majeur d'aggravation des lésions par ischémie secondaire, et de compression du tronc cérébral^[30] menaçant les fonctions vitales. Ainsi, la sévérité de l'HIC est directement corrélée à un mauvais pronostic (Geeraerts & Menon, 2010).

III.3.2.6. Hydrocéphalie

Une hydrocéphalie post-traumatique peut avoir lieu si les voies d'écoulement du LCR sont bloquées par un hématome ou un caillot sanguin d'une hémorragie méningée. Cet obstacle rendant la circulation du LCR plus difficile entraîne une dilatation du système ventriculaire. Elle s'accompagne d'une HIC et représente une urgence médicale par risque majeur d'engagement cérébral, imposant la pose d'une dérivation ventriculaire en urgence.

^[28] Suite à une ventilation mécanique ou à une mauvaise posture.

^[29] Réflexe de Cushing (hypertension artérielle systolique, bradycardie, et respirations irrégulières rapides.

^[30] La compression du tronc cérébral dans le cadre d'une HIC est une sorte d'engagement cérébral. Ce dernier est une hernie du parenchyme cérébral à travers les orifices intracrâniens sous l'effet des gradients de pression. La souffrance cérébrale induite par ces engagements est fonctionnelle et plus tardivement ischémique à cause de la compression.

III.3.2.7. Ischémie cérébrale

Une ischémie cérébrale focale ou globale peut avoir lieu de manière précoce ou tardive après le trauma (Werner & Engelhard, 2007). Ce phénomène secondaire aggravant les dommages immédiats induits par le choc traumatique initial [Figure 4] est multicausal. Tout d'abord, une augmentation post-traumatique du métabolisme du cerveau peut relativement induire un état d'ischémie à cause des besoins accrus d'énergie dépassant ses ressources. Par ailleurs, une diminution réelle du DSC^[31] conduisant à une privation en oxygène et en glucose ainsi qu'à un déficit d'élimination des métabolites accompagne très souvent la lésion traumatique. Cette diminution peut être le résultat d'une perte de l'autorégulation cérébrovasculaire selon la pression de perfusion cérébrale et/ou de la réactivité de vaisseaux cérébraux aux altérations de gaz sanguins au niveau artériel. L'HIC diminuant le DSC et le vasospasme cérébrovasculaire peuvent constituer des facteurs de risque ischémique s'ils sont graves et incontrôlés.

III.3.2.8. Vasospasme cérébral

Une ischémie consécutive à un vasospasme cérébral est une agression secondaire observée dans plus d'un tiers des patients traumatisés crâniens (Werner & Engelhard, 2007). Ce vasospasme est le plus souvent en lien avec une hémorragie méningée post-traumatique. Ce genre de lésion apparaît entre 2 et 15 jours après le trauma produisant une perturbation hémodynamique significative chez 50% des patients. Le stress oxydant, les prostaglandines, le NO, la guanosine monophosphate cyclique, l'endothéline^[32] ainsi que les canaux potassiques peuvent être impliqués dans la pathogenèse de cette atteinte cérébrovasculaire.

III.3.2.9. Atrophie cérébrale

Une atrophie cérébrale diffuse peut avoir lieu à partir de trois mois suivant un TC sévère (Tomaiuolo *et al.*, 2012). Ce dernier est le plus souvent de type lésion cérébrale diffuse sans aucune atteinte macroscopique au moment de l'impact. L'atrophie peut impliquer l'hippocampe, le corps calleux, et le fornix. L'atteinte de ces régions est associée à un déficit cognitif se manifestant surtout au niveau de la mémoire verbale et spatiale. L'étendue de cette atrophie pour certaines zones touchées du cerveau^[33] peut continuer à évoluer sur plusieurs années après le trauma crânien initial.

^[31] Inférieur à 15 mL/100g/minute.

^[32] L'endothéline est un puissant vasoconstricteur. Ce peptide agissant sur les cellules musculaires lisses est sécrété par l'endothélium vasculaire et les cellules gliales.

^[33] Le corps calleux.

III.4. Séquelles post-traumatiques

En fonction de la sévérité du trauma et les régions du cerveau lésées, le TC entraîne des séquelles sensorielles, motrices, cognitives, comportementales et émotionnelles (Ashman *et al.*, 2006; Belmont *et al.*, 2006; Silver *et al.*, 2009). Ces complications détectées à court et/ou à long terme sont extrêmement variables dans leur aspect, leur gravité, et leur durée de persistance (Huang *et al.*, 2010). La prévention de leur survenue constitue le but de la prise en charge de toute victime ayant survécu à un TC. D'une part, ces séquelles limitent la réintégration du patient dans son milieu social et professionnel. D'autre part, les coûts de leur prise en charge, de leur handicap aboutissant à une perte de productivité, et de la rééducation du patient traumatisé accentuent leur impact sur la société. À ces conséquences liées ou associées au TC, s'ajoute le risque de développer certaines pathologies neurologiques.

III.4.1. Dysfonctionnements cognitifs

Les différents types de dysfonctionnements cognitifs signalés chez les victimes de TC sont largement dominés par les troubles de la mémoire, des fonctions exécutives, et de l'attention (Belmont *et al.*, 2006).

III.4.1.1. Ralentissement cognitif et trouble de l'attention

Les déficits spécifiques de fonctions attentionnelles peuvent se manifester par une difficulté à maintenir suffisamment l'attention (concentration) et/ou un ralentissement du traitement de l'information. Ce genre de déficit aura surtout un impact sur la performance académique ou professionnelle du patient traumatisé crânien.

III.4.1.2. Troubles de la mémoire

Les troubles de la mémoire concernant le stockage de nouvelles informations et leur récupération sont des séquelles cognitives majeures du TC. Bien que la mémoire à court terme capable de retenir un nombre d'éléments pendant un temps très court soit relativement conservée, la capacité du patient à sauvegarder plusieurs éléments de manière simultanée ^[34] est limitée. Quant à la mémoire à long terme, elle est plus fréquemment touchée.

III.4.1.3. Troubles dysexécutifs

Des troubles dysexécutifs post-traumatiques se caractérisent par une incapacité à concevoir un projet, à planifier une activité, et à l'exécuter. L'adaptation et l'ajustement des comportements dans les situations nouvelles sont également réduits. Le patient souffrant de ces troubles peut être indifférent, apragmatique ^[35], et doit être stimulé, ou inversement, il peut avoir un caractère impulsif dans le choix et la prise de ses décisions.

^[34] Appelée la mémoire de travail.

^[35] Apragmatique signifie que le patient ne peut pas prendre d'initiative.

III.4.2. Dysfonctionnements moteurs

III.4.2.1. Ralentissement locomoteur

Ce type d'atteinte motrice est le plus fréquent. Il se présente comme une diminution de la vitesse de la performance motrice.

III.4.2.2. Fatigue

La fatigue est une plainte fréquente touchant, en fonction des études, de 43 à 73% des patients traumatisés crâniens (Ashman *et al.*, 2006; Belmont *et al.*, 2006). Elle est ressentie comme l'un des symptômes les plus invalidants quel que soit le niveau de gravité du traumatisme. La fatigue est le sentiment subjectif et non spécifique d'une capacité diminuée pour une activité physique et/ou mentale. Elle est donc considérée comme un dysfonctionnement moteur et/ou cognitif. Ses origines sont multifactorielles. Elle peut être liée aux troubles attentionnels, et dans ce cas, elle serait due à l'effort supplémentaire fourni par les patients traumatisés crâniens pour maintenir une performance normale dans la vie quotidienne en présence de leurs déficits. L'état de déséquilibre endocrinien dû à une hypopituitarisme, les troubles du sommeil, et la dépression peuvent être également à l'origine de la fatigue post-traumatique. Bien que celle-ci représente un frein à la rééducation et un fardeau lors de la prise du travail, elle ne dispose pas d'une prise en charge spécifique.

III.4.3. Dysfonctionnements sensoriels

III.4.3.1. Déficit olfactif

Bien que l'olfaction ne soit pas systématiquement évaluée après un TC, l'anosmie post-traumatique est considérée comme déficit sensoriel prédominant (Fortin *et al.*, 2010). Souvent inaperçu, ce déficit est le résultat d'une atteinte des centres corticaux, des bulbes olfactifs, ou très fréquemment de ses filets nerveux (Reiter *et al.*, 2004). L'atteinte de ces derniers est le plus souvent la conséquence d'une agression cérébrale par accélération et/ou décélération lors d'un accident de la voie publique. Le cisaillement de ces fibres aboutit à une hyposmie^[36] voire une anosmie^[37] qui peuvent être irréversibles. Associée le plus souvent à une lésion frontale, l'incidence de ces troubles n'est pas forcément corrélée avec le degré de la gravité du TC (Fortin *et al.*, 2010). À part son impact négatif sur la qualité de vie, ce type de déficit peut aussi constituer un risque mettant en jeu la sécurité du patient traumatisé crânien.

^[36] Hyposmie signifie la diminution de l'odorat.

^[37] Anosmie signifie la perte totale de l'odorat.

III.4.3.2. Déficit visuel

Le TC peut être à l'origine d'un dysfonctionnement oculomoteur, ainsi que d'une atteinte de l'acuité et/ou du champs visuels (Cockerham *et al.*, 2009). Ce déficit sensoriel peut être dû à des dommages post-traumatiques du globe oculaire, de l'orbite, du centre visuel du cortex occipital, de ses radiations optiques, du nerf optique (II), oculomoteur (III), trochléaire (IV), et/ou abducens (VI). Ce type de séquelles est extrêmement invalidant car il est le plus souvent irréversible, et peut ainsi constituer un obstacle majeur pour la rééducation après le TC.

III.4.3.3. Déficit gustatif

Les troubles post-traumatiques de la gustation sont qualitatifs^[38] ou quantitatifs^[39]. Souvent inaperçue, l'incidence réelle de ce genre de déficit chez les patients traumatisés crâniens reste inconnue (Reiter *et al.*, 2004). Ce manque de données au niveau clinique est dû à l'absence de moyens de détection qui sont faciles, rapides, et reproductibles. Le déficit gustatif peut être la conséquence d'une contusion cérébrale, ou des lésions impliquant la langue, le palais, le nerf facial (VII), et/ou le nerf glossopharyngien (IX).

III.4.4. Troubles psychologiques

À cause de leur impact socio-économique et de leur mauvais pronostic, ces séquelles doivent occuper une place importante dans le plan de prise en charge des victimes du TC, élaboré à l'échelle nationale par les systèmes de soins de santé. Ces conséquences peuvent inclure des altérations du comportement, de l'humeur, et de l'émotion (Ashman *et al.*, 2006; Masel & DeWitt, 2010).

III.4.4.1. Troubles du comportement

Les victimes d'un TC peuvent développer plusieurs troubles comportementaux. Parmi ces troubles, on retrouve une apathie reflétant une passivité ou une indifférence à l'émotion et aux désirs, ou à l'inverse une agressivité pouvant atteindre une violence physique ou verbale avec une attitude hostile (Ashman *et al.*, 2006).

Par ailleurs, une étude récente a mis en évidence un comportement impulsif chez des patients recrutés de 5 mois à 2 ans après leur TC modéré ou sévère (Rochat *et al.*, 2010). Cette anomalie comportementale peut être à l'origine de l'irritabilité, de l'impatience, de la désinhibition, de l'agressivité, de faibles concentration et mémoire de travail, ainsi que de modestes capacités de jugement et de prise de décision. Selon les auteurs, l'impulsivité est un

^[38] Comme la dysgueusie qui signifie une modification de la gustation normale, et la paragueusie qui est une fausse impression gustative.

^[39] Sous formes d'hypoguesie qui signifie une diminution de la gustation, ou d'agueusie qui est une perte complète de la gustation.

terme complexe possédant quatre facettes : l'urgence^[40], l'absence de préméditation^[41], le manque de persévérance^[42], et la recherche de sensations^[43]. Par l'intermédiaire d'un questionnaire, tandis que les familles des victimes ont signalé chez leurs proches une augmentation des trois premiers paramètres et une diminution de la recherche de sensations, les patients traumatisés crâniens n'étaient pas conscients que d'une présence post-traumatique accrue d'urgence comme trait de personnalité.

III.4.4.2. Dépression majeure

De manière précoce ou tardive, la dépression majeure est le trouble d'humeur le plus fréquemment rencontré même suite à la forme la plus légère du TC (Rogers & Read, 2007; Silver *et al.*, 2009). En effet, la relation entre la dépression post-traumatique et le TC est réciproque. D'une part, l'handicap physique, cognitif, ou psychosocial gênant la vie quotidienne du patient, associé ou non à une absence de rééducation physico-socio-professionnelle peut précipiter ou exacerber les symptômes dépressifs. Par rapport à la population générale, le TC multiplie par 8 la prévalence de la dépression dépassant selon certaines études descriptives le taux de 40%. Ce risque est plus associé au chômage, à une basse classe socio-économique, à un niveau modeste d'études^[44], et à un antécédent prémorbide d'une maladie psychiatrique ou d'un abus d'alcool. D'autre part, la dépression induite par le TC peut favoriser les conséquences post-traumatiques de colère, d'agressivité, et de déficit cognitif. Elle est également caractérisée par une perception accrue de symptômes post-commotionnels^[45].

III.4.4.3. Troubles de l'émotion

Avec un taux de prévalence compris entre 4 et 44% selon les différentes études, certaines données montrent que les patients traumatisés crâniens sont plus susceptibles à avoir un trouble d'anxiété ou de panique (Rogers & Read, 2007). Ce genre de morbidité post-traumatique peut avoir une période de latence qui s'étend sur plusieurs années suivant l'incident initial.

^[40] L'urgence est la tendance d'éprouver une vive réaction dans des conditions des affects négatifs.

^[41] La préméditation est la tendance de penser et de réfléchir aux conséquences d'un acte avant de s'engager dans cet acte.

^[42] La persévérance est la capacité de se concentrer sur une tâche qui peut être ennuyeuse ou difficile.

^[43] La recherche de sensations est définie par l'intérêt de vivre de nouvelles expériences, de jouir de sensations qui sont inconnues, et de s'engager dans des activités physiques ou sociales excitantes. Ce trait de personnalité correspond au besoin éprouvé par un individu d'atteindre et de maintenir un niveau optimum de stimulation.

^[44] Inférieur à 12 ans.

^[45] Parmi les symptômes post-commotionnels, on peut mentionner les maux de tête, le vertige, et la vision floue.

Un état de stress post-traumatique peut avoir lieu chez 3 à 59% de personnes ayant survécu à un TC (Rogers & Read, 2007; Masel & DeWitt, 2010). Le patient atteint présente des syndromes divers comme celui de revivre constamment l'incident traumatique^[46], de se replier sur soi et d'éviter toute pensée, conversations ou situations associées au traumatisme^[47]. Ayant l'impression qu'un nouvel incident grave aura lieu à tout instant, le sujet reste en état d'alerte permanent^[48]. Comme la dépression, ce type de trouble est probablement la conséquence de l'incapacité du patient à faire face à son handicap post-lésionnel.

III.4.4.4. Troubles obsessionnels compulsifs

Les troubles obsessionnels compulsifs touchent entre 6 et 9% des personnes ayant subi un TC (Rogers & Read, 2007). Ces chiffres peuvent atteindre les 30% à 15 ans post-TC. Dans le cas d'absence de liens directs avec le TC, ce genre de séquelles peut refléter une réaction visant à compenser l'insuffisance mentale post-traumatique.

III.4.5. Troubles neurologiques

III.4.5.1. Douleurs et maux de tête

Les douleurs et les maux de tête sont les symptômes les plus fréquemment ressentis après un TC. Ces plaintes vagues peuvent favoriser le sentiment de la fatigue ainsi que les troubles de l'attention et de la concentration post-traumatiques.

III.4.5.2. Troubles de sommeil

Les troubles de sommeil sont très souvent signalés par les patients traumatisés crâniens (Masel & DeWitt, 2010). L'incidence de l'apnée obstructive du sommeil est augmentée. Celle-ci peut être associée à des altérations cognitives voire des arythmies cardiaques et une hypertension artérielle très sévère^[49]. Ces troubles peuvent mettre en jeu le pronostic vital.

III.4.5.3. Risque épileptique

Selon le degré de la gravité du TC et en comparaison avec la population générale, les patients traumatisés crâniens sont de 1,5 à 17 fois plus susceptibles de développer une épilepsie (Masel & DeWitt, 2010). L'épilepsie post-traumatique se définit par la survenue d'une ou plusieurs crises d'épilepsie après la première semaine suivant l'incident traumatique^[50]. De manière générale, le risque d'épilepsie est plus élevé dans le cas du TC à crâne ouvert

^[46] Syndrome de répétition ou de reviviscence.

^[47] Syndrome d'évitement.

^[48] Syndrome d'hypervigilance anxieuse.

^[49] La tension artérielle peut atteindre 300 mmHg.

^[50] Après le TC, la survenue précoce de convulsions est due plutôt à une irritation corticale ou à cause de la libération massive du glutamate.

indépendamment de la sévérité du TC. Pourtant, Ferguson et collaborateurs (2010) ont montré que l'incidence de cette maladie neurologique parmi les personnes hospitalisées après un TC était directement corrélée avec la gravité du traumatisme. Les auteurs ont également identifié la dépression, la survenue de crises épileptiques avant la sortie de l'hôpital, et la comorbidité ^[51] comme facteurs de risque.

III.4.5.4. Troubles neuro-endocriniens

En conséquence de l'induction d'une réponse hormonale complexe orchestrée par l'hypothalamus et l'hypophyse, le TC modéré ou sévère peut être associé à des troubles neuro-endocriniens qui sont dus à une hypopituitarisme post-traumatique aiguë ou chronique (Masel & DeWitt, 2010). Celle-ci peut être le résultat d'une atteinte structurale et/ou vasculaire qui ne peut même pas être exclue en cas de données normales d'imagerie. Ces troubles peuvent aboutir à un déficit en hormone de croissance, en gonadotrophines, et en hormones thyroïdiennes, dont la prévalence post-traumatique est de 20%, de 10 à 15%, et de 5% respectivement. Ces complications en particulier peuvent influencer l'évolution de la pathogenèse du TC et l'efficacité de sa prise en charge.

III.4.5.5. Risque de maladies neurodégénératives

Bien que l'étiologie exacte des maladies d'Alzheimer et de Parkinson soit toujours inconnue, plusieurs études ont suggéré que le TC pourrait constituer un facteur de risque pour ces deux formes de maladies neurodégénératives (Masel & DeWitt, 2010). Ce risque est directement proportionnel à la sévérité du trauma crânien. La rupture de la BHE, l'infiltration parenchymateuse de protéines plasmatiques, le stress oxydant, l'excitotoxicité, l'influx intracellulaire de calcium, le dysfonctionnement mitochondrial, la perturbation du transport axonal, l'atteinte du cytosquelette, et la mort neuronale par apoptose sont des mécanismes impliqués dans la pathogenèse du TC, qui peuvent être responsables du développement de ce type des séquelles.

L'encéphalite traumatique chronique est une atteinte détectée chez des personnes ayant subi un TC répété, comme les boxeurs et les joueurs de rugby (Masel & DeWitt, 2010). Elle commence insidieusement par des tremblements, une dysarthrie, ainsi qu'une détérioration aux niveaux de la concentration, de l'attention, de la mémoire, de la démarche, et de la coordination.

^[51] La présence d'au moins trois maladies chroniques, surtout d'un accident vasculaire cérébral, au moment de la sortie de l'hôpital.

III.5. Évaluation et monitoring

L'évaluation d'un sujet traumatisé crânien est l'étape primordiale avant toute intervention thérapeutique. Ainsi, un premier bilan lésionnel global doit être rapidement fait sur le lieu de l'accident pour déterminer les modalités prévisibles de la prise en charge du patient. Après le contrôle de fonctions vitales, ce bilan initial sera complété à l'hôpital par un examen clinique méticuleux, et par les données de l'imagerie médicale.

III.5.1. Bilan clinique et examen neurologique

L'examen clinique permet principalement de dépister toute lésion susceptible d'engager le pronostic vital du patient, comme la présence d'une hémorragie, et par conséquent, de les traiter en urgence. Un bilan complet est donc souvent nécessaire, faisant appel à différents spécialistes, parmi lesquels ceux de la chirurgie viscérale, orthopédique, maxillo-faciale et ophtalmologique.

Une fois le bilan général terminé et les urgences maîtrisées, l'évaluation neurologique de la victime par un neurochirurgien peut être effectuée. Elle débute par l'interrogatoire du patient, si son état le permet, ou par celui de son entourage, afin de reconstituer les circonstances de l'accident et avoir une idée sur le terrain médical ainsi que chirurgical du patient traumatisé. Un examen neurologique est ensuite réalisé pour juger son état de conscience et rechercher éventuellement des signes de localisation, comme une hémiparésie, une hémiparésie, une asymétrie du tonus musculaire, des réflexes ostéo-tendineux ou des pupilles, témoignant d'un trouble en relation avec une lésion focale du cerveau.

III.5.1.1. Échelle de coma de Glasgow

L'échelle de coma de Glasgow (GCS) « Glasgow Coma Scale » évalue le niveau de conscience du patient traumatisé crânien, et ainsi, la profondeur de son coma [Tableau I]. Initialement présenté par Teasdale et Jennett en 1974, ce score a été validé comme indicateur du pronostic chez les personnes ayant subi un TC (Teasdale & Jennett, 1974). Cotée entre 3 et 15 points, cette grille d'évaluation note la meilleure réponse possible à la stimulation. Cette échelle numérique permet non seulement de suivre l'évolution de l'état du patient traumatisé crânien, mais elle est également reconnue comme critère prédictif de mortalité. Pour les enfants de moins de 5 ans, il existe une adaptation pédiatrique du GCS permettant d'évaluer la gravité du TC même chez le nourrisson.

| Ouverture des yeux /4 | Réponse verbale /5 | Réponse Motrice /6 |
|-----------------------|----------------------|----------------------------|
| 1 - aucune | 1 - aucune | 1 - aucune |
| 2 - à la douleur | 2 - incompréhensible | 2 - extension à la douleur |
| 3 - sur demande | 3 - inappropriée | 3 - flexion à la douleur |
| 4 - spontanée | 4 - confuse | 4 - retrait en flexion |
| | 5 - appropriée | 5 - adaptée |
| | | 6 - sur demande |

Tableau I : Échelle de coma de Glasgow sur 15 points

Après la correction des fonctions vitales, le TC est considéré léger lorsque le GCS est supérieur ou égal à 13, modéré lorsque le score est compris entre 9 et 12, et grave quand le score est inférieur ou égal à 8 (Gean & Fischbein, 2010). Malgré la variabilité de données épidémiologiques, la gravité du TC évaluée par le GCS se répartit généralement de la manière suivante : pour 1 cas du TC grave, on trouve 1,5 cas du TC modéré, et 22 cas du TC léger (Tagliaferri *et al.*, 2006).

III.5.1.2. Échelle étendue de coma de Glasgow

L'échelle étendue de coma de Glasgow « Extended Glasgow Coma Scale » permet d'évaluer l'altération de l'état d'alerte grâce au GCS classique et à la durée de l'amnésie post-traumatique reflétant aussi la gravité du TC. Le temps écoulé entre la survenue du trauma et la récupération de la mémoire des événements (durée de l'amnésie) est exprimé en score allant de 7 (amnésie nulle) à 0 (amnésie de 31 à 90 jours). Une perte de mémoire de plus de 24 heures est considérée comme signe d'un TC sévère.

III.5.1.3. Échelle de devenir de Glasgow

L'échelle de devenir de Glasgow « Glasgow Outcome Scale » est une échelle de gravité de handicap post-traumatique et de devenir fonctionnel. Elle est très sommaire, très rapide, et simple à utiliser. Par conséquent, cette échelle est largement utilisée lors des essais cliniques pour évaluer l'efficacité d'une stratégie thérapeutique. Le degré de la gravité des séquelles est évalué 3 à 6 mois après le TC. On distingue 5 niveaux [Tableau II].

| Score /5 | État du patient |
|----------|--|
| 1 | bonne récupération |
| 2 | handicap modéré (sujet handicapé mais indépendant) |
| 3 | handicap sévère (sujet conscient mais dépendant) |
| 4 | état végétatif |
| 5 | décès |

Tableau II : Échelle de devenir de Glasgow sur 5 points

III.5.1.4. Échelle étendue de devenir de Glasgow

Malgré sa large utilisation, l'échelle de devenir de Glasgow reste relativement subjective laissant une place importante à l'estimation de l'examineur. Cette déficience limite son intérêt comme moyen d'évaluation fiable dans les études cliniques. Pour compenser cette insuffisance, Wilson et collaborateurs (1998) ont élaboré une extension de cette échelle permettant une appréciation de l'état de santé du patient selon 8 niveaux. Ces derniers constituent l'échelle étendue de devenir de Glasgow « Extended Glasgow Outcome Scale » [Tableau III].

| Score /8 | État du patient | | |
|----------|-----------------------------|-----------|---|
| 1 | rétablissement satisfaisant | supérieur | aucun trouble psychologique |
| 2 | | inférieur | des problèmes liés au TC nuisent aux activités quotidiennes |
| 3 | invalidité modérée | supérieur | sujet capable de travailler ou d'étudier à un niveau réduit |
| 4 | | inférieur | sujet incapable de travailler |
| 5 | invalidité grave | supérieur | sujet conscient dépendant n'ayant pas besoin fréquemment d'une aide |
| 6 | | inférieur | sujet conscient dépendant ayant besoin fréquemment d'une aide |
| 7 | | | état végétatif persistant |
| 8 | | | décès |

Tableau III : Échelle étendue de devenir de Glasgow sur 8 points

III.5.1.5. Échelle de devenir neurologique pour le traumatisme crânien

Cette nouvelle grille a été récemment proposée par Wilde et collaborateurs (2010) comme outil d'évaluation. En plus de l'état de conscience, de la réponse motrice, et de l'ouverture des yeux évalués par le GCS, l'échelle de devenir neurologique pour le traumatisme crânien « Neurological Outcome Scale for Traumatic Brain Injury » évalue également la coordination motrice, la paralysie faciale, le champ visuel, l'olfaction, l'audition, les troubles sensitifs, ainsi que les troubles de l'attention et de l'articulation, lorsque l'état du patient le

permet. Le score total est compris entre 0 et 62, sachant que, contrairement au GCS, plus le score est élevé, plus le TC est grave [Tableau IV]. Cette échelle couvrant un large spectre de déficit neurologique post-traumatique constitue un moyen fiable pour évaluer les patients traumatisés crâniens lors des essais cliniques.

| Critères évalués /62 | | |
|-------------------------------------|-----------------------|----|
| 1- État de conscience | a- niveau d'éveil | /3 |
| | b- réponse verbale | /2 |
| | c- réponse motrice | /2 |
| 2- Regard | | /2 |
| 3- Champ visuel | a- côté droit | /2 |
| | b- côté gauche | /2 |
| 4- État des pupilles | | /2 |
| 5- Audition | a- côté droit | /2 |
| | b- côté gauche | /2 |
| 6- Parésie faciale | a- côté droit | /3 |
| | b- côté gauche | /3 |
| 7- Motricité des membres supérieurs | a- côté droit | /4 |
| | b- côté gauche | /4 |
| 8- Motricité des membres inférieurs | a- côté droit | /4 |
| | b- côté gauche | /4 |
| 9- Troubles sensitifs | a- doigts main droite | /2 |
| | b- doigts main gauche | /2 |
| | c- orteils droits | /2 |
| | d- orteils gauches | /2 |
| 10- Qualité de la réponse verbale | | /3 |
| 11- Dysarthrie | | /2 |
| 12- Troubles de l'attention | | /2 |
| 13- Odorat | | /2 |
| 14- Ataxie de la démarche | | /2 |
| 15- Ataxie des membres | | /2 |

Tableau IV : Échelle de devenir neurologique pour le traumatisme crânien sur 62 points

III.5.2. Évaluation par imagerie

Parallèlement à l'examen neurologique, l'imagerie médicale a l'avantage de détecter les lésions cérébrales et de surveiller leur évolution anatomique. Les techniques d'imagerie sont des outils pour la prise de décision clinique, notamment en ce qui concerne la nécessité d'une intervention médicale ou chirurgicale ciblée. L'analyse de leurs données est également considérée comme un facteur prédictif du pronostic vital et fonctionnel des patients.

La radiographie du crâne est inutile dans le cas du TC grave car elle ne permet pas de prédire l'existence ou non d'une lésion cérébrale. D'autres types d'imagerie médicale peuvent être réalisés.

III.5.2.1. Tomodensitométrie cérébrale

En raison de sa disponibilité, sa rapidité, sa reproductibilité et son coût modéré, la tomodensitométrie « Computed Tomography Scan » ou le scanner du cerveau est l'examen de référence à effectuer en première intention après un TC sans injection de produit de contraste (Hassan *et al.*, 2010). Cette technique d'imagerie est indiquée en urgence en cas de GCS inférieur à 15, de présence d'une fracture du crâne, d'une crise convulsive, de signes cliniques évoquant une fracture basilaire, de signes neurologiques de localisation ou d'effet de masse, et en cas de céphalées persistantes (Lescot *et al.*, 2007). De plus, un bilan radiologique du rachis cervical par les clichés radiographiques standards ou le scanner est obligatoire dans le cas de tout TC sévère.

III.5.2.2. Imagerie par résonance magnétique

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) « Magnetic Resonance Imaging » offre une meilleure résolution pour les tissus mous par rapport au scanner, et par conséquent, un intérêt diagnostique et physiopathologique. Pourtant, l'IRM ne peut pas être effectuée en urgence ou de manière systématique chez le patient traumatisé crânien en raison des contraintes d'installation, de la longueur de sa procédure et de son coût relativement élevé.

III.5.2.3. Monitoring de la pression intracrânienne

Le monitoring de la PIC ne peut à elle seule améliorer le devenir des traumatismes crânio-cérébraux graves (Geeraerts & Menon, 2010). Pourtant, cet outil de surveillance doit être mis en place en cas de risque d'HIC, si les conditions qui y ont conduit sont traitables, et si une stratégie thérapeutique est associée à ce monitoring. Ce dernier nécessite l'implantation d'un capteur introduit par une petite trépanation^[52]. Le capteur est inséré dans le parenchyme cérébral, ou dans les ventricules pour le drainage éventuel du LCR. Ces deux sites de positionnement du capteur permettent de mesurer la PIC avec presque la même précision

^[52] La trépanation ou la craniotomie est une technique de perçage qui consiste à pratiquer un trou dans l'os du crâne en réalisant une découpe circulaire.

(Lescot *et al.*, 2011). Néanmoins, cette procédure de monitoring est associée à un risque d'échec de pose, de dysfonctionnement, d'infection, d'hémorragie, ou de déplacement.

III.5.2.4. Doppler transcrânien

Le Doppler transcrânien mesure la vitesse des éléments sanguins circulant dans les artères du polygone de Willis^[53] grâce à l'émission des ultrasons et l'utilisation de l'effet Doppler^[54]. Ce mode d'investigation fournit des informations directes sur le débit et la résistance de la circulation intracérébrale. Cette technique a l'avantage d'être non invasive et donc facile à apprendre et à utiliser.

III.5.2.5. Tomographie d'émission monophotonique ou par émission de positons

La tomographie par émission de positons et la tomographie d'émission monophotonique permettent de mesurer en trois dimensions l'activité métabolique du cerveau présentée par la consommation en glucose ou en oxygène. Cette sorte de scintigraphie cérébrale est basée sur les émissions produites par les positons issus de la désintégration d'un produit radioactif injecté au préalable.

III.6. Prise en charge

Selon son degré de gravité, le traumatisme crânien se présente par un large tableau clinique allant des symptômes et des signes pouvant passer complètement inaperçus, à des atteintes mettant en péril le pronostic vital du patient. Dans cette partie, la prise en charge du TC sévère sera brièvement décrite.

Tous les cas du TC grave sont des urgences médicochirurgicales (Lescot *et al.*, 2007). Leur prise en charge est un processus très complexe impliquant des services de soins préhospitaliers spécialisés, le transfert vers un centre hospitalier adapté où un traitement en phase aiguë est assuré, et une rééducation à long terme en cas d'infirmité ou des séquelles persistantes (Tagliaferri *et al.*, 2006).

^[53] Le polygone de Willis ou le cercle artériel situé à la base du cerveau est un système d'anastomoses artérielles entre les deux artères carotides internes d'une part, et le tronc basilaire d'autre part.

^[54] L'effet Doppler est le décalage de fréquence d'une onde acoustique ou électromagnétique entre les mesures prises aux moments de l'émission et de la réception lorsque la distance entre l'émetteur et le récepteur varie au cours du temps.

III.6.1. Prise en charge préhospitalière

Cette phase précoce de prise en charge a pour but de prévenir les agressions cérébrales secondaires d'origine systémique ayant lieu suite à une dysfonction circulatoire et/ou respiratoire. Ceci exige la restauration d'un état hémodynamique systémique adéquat, et d'une hématoxe correcte afin de garantir une perfusion cérébrale satisfaisante ainsi qu'un transport en oxygène adapté aux besoins.

En janvier 1999, un partenariat entre l'Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé (ANAES) et les sociétés savantes impliquées dans la neuroréanimation^[55], la neurochirurgie^[56], la neuroradiologie^[57], la pédiatrie^[58], et les urgences médicales^[59], a édité des recommandations^[60] pour améliorer la prise en charge précoce de patients traumatisés crâniens graves. Celle-ci repose sur :

III.6.1.1. Rôle du Service d'aide médicale urgente (SAMU)

Son rôle est d'assurer la coordination des intervenants ainsi qu'une écoute médicale permanente. Dans les meilleurs délais, le SAMU déclenche une réponse la plus adaptée à l'appel d'urgence, s'assure des disponibilités d'hospitalisation, organise le transport terrestre ou aérien, et veille à l'admission du patient.

III.6.1.2. Prise en charge respiratoire

La détresse respiratoire aiguë est très probable après un TC sévère. Tout d'abord, il existe des troubles de la déglutition liés au coma avec un risque d'inhalation du liquide gastrique, ou de sang venant de l'oropharynx. Une obstruction des voies aériennes supérieures est également fréquente. Celle-ci serait due à des troubles du tonus en rapport avec le coma, ou à un traumatisme facial associé. Faisant partie d'une dysfonction cérébrale post-traumatique, le centre respiratoire peut être aussi perturbé. Enfin, le TC grave est rarement isolé, et un traumatisme thoracique associé accentuera gravement l'hypoxémie.

^[55] La Société de réanimation de langue française ; la Société française d'anesthésie et de réanimation ; l'Association de neuro-anesthésie et de réanimation de langue française.

^[56] La Société française de neurochirurgie.

^[57] La Société française de neuroradiologie.

^[58] La Société française de pédiatrie.

^[59] L'association des SAMU (Service d'aide médicale urgente) de France ; la Société francophone d'urgences médicales.

^[60] Quelles sont les modalités de prise en charge des traumatismes crâniens graves en phase préhospitalière ? [What are the treatment modalities of severe head injuries in the prehospital phase?] "Prise en charge des traumatisés crâniens graves à la phase précoce : recommandations pour la pratique clinique". *Ann Fr Anesth Reanim* 1999; **18**: 36-46.

Pour tous ces arguments, une intubation orotrachéale est préconisée, notamment en cas de GCS inférieur ou égal à 8. Cette procédure d'urgence assurera la liberté des voies aériennes et la prévention de la pneumopathie d'inhalation (le Syndrome de Mendelson) ^[61]. Elle serait suivie de ventilation mécanique pour un contrôle de l'échange gazeux au niveau alvéolaire. La mobilisation cervicale pour l'intubation doit être limitée à cause du risque de lésion cervicale associée. La ventilation artificielle doit éventuellement maintenir la PaO₂ ^[62] supérieure à 60 mm Hg (SpO₂ ^[63] supérieure à 95%), et la PaCO₂ entre 35 et 40 mm Hg.

III.6.1.3. Prise en charge hémodynamique

Après un TC grave, il est indispensable de maintenir une tension artérielle stable pouvant assurer une perfusion cérébrale satisfaisante ainsi qu'un apport d'oxygène adéquat. Par conséquent, toute hypotension ^[64] doit être considérée *a priori* d'origine hypovolémique et donc traitée par remplissage vasculaire.

La perfusion de solutés hypotoniques ^[65] est contre-indiquée pour ne pas aggraver l'œdème cérébral. Seuls les solutés iso- ou hyperosmolaires trouvent leur place dans ce contexte. Le chlorure de sodium (NaCl) isotonique à 0,9% ^[66] est le soluté de remplissage de premier choix, associé si nécessaire aux macromolécules ou cristalloïdes en solution isotonique. Le volume du soluté doit être adapté pour maintenir la concentration d'hémoglobine supérieure à 10%. Si le taux d'hémoglobine est bas, une transfusion sanguine serait nécessaire. En présence de signes d'engagement cérébral ou d'HIC, la perfusion au mannitol à 20% est recommandée à la dose de 0,25 à 1 g/kg sur une période de 20 minutes. Les médicaments vaso-actifs sont utilisés en deuxième intention si la pression artérielle ne peut pas être maintenue malgré un remplissage vasculaire correcte.

III.6.1.4. Sédatation préhospitalière

Après le bilan clinique initial, une sédatation peut être envisagée. Celle-ci a pour objectifs d'assurer l'analgésie, de mieux supporter l'intubation, de limiter l'agitation, l'hypertonie et les manifestations végétatives. Le choix du sédatif se base sur ses caractéristiques pharmacologiques tout en évitant une chute de la pression artérielle.

^[61] Le Syndrome de Mendelson est une pneumopathie due à l'inhalation du liquide gastrique induisant une pneumonie chimique. Celle-ci est caractérisée par un syndrome de détresse respiratoire aiguë et des lésions bilatérales diffuses à la radiographie thoracique. Ces lésions alvéolaires sont prédominantes aux bases si inhalation debout, ou à l'apex des lobes inférieurs si inhalation couché. Une surinfection secondaire survient dans 20 à 30% des cas.

^[62] La PaO₂ est la pression de l'oxygène dissout dans le sang artériel (valeur normale : 80 - 100 mm Hg).

^[63] La SpO₂ est la saturation artérielle en oxygène, calculée par l'oxymétrie de pouls.

^[64] Une pression artérielle systolique inférieure à 90 mm Hg.

^[65] Comme le sérum glucosé et le Ringer lactate.

^[66] Aussi appelé le sérum salé.

Une fois ces mesures sont appliquées, l'acheminement de la victime d'un TC grave doit se faire vers une structure opérationnelle en permanence qui dispose d'un service de réanimation, d'un scanner, d'un avis neurochirurgical, et d'un laboratoire adapté.

III.6.2. Prise en charge en neurochirurgie et en réanimation

La prise en charge à l'hôpital s'inscrit en continuité avec les procédures préhospitalières visant à assurer le maintien d'une perfusion cérébrale adéquate, et d'une oxygénation tissulaire correcte. La température corporelle doit être également contrôlée à cause de la fréquence des épisodes d'hyperthermie chez les patients traumatisés crâniens. Ces épisodes doivent être traités par l'administration de paracétamol. En cas de persistance d'une élévation importante de la température, le recours aux techniques externes de refroidissement par l'utilisation de couvertures autorégulées peut être envisagé. Le contrôle des frissons par l'administration de myorelaxants est réalisé en cas de besoin. Dans le cas d'un trauma sévère, la prévention des convulsions par des anti-épileptiques est recommandée pendant la première semaine post-TC. Les mesures antipyrétiques peuvent être renforcées par la sédation hospitalière induisant une baisse de métabolisme. Dans le cas d'une HIC réfractaire, une forte sédation, une osmothérapie par le mannitol ou le soluté hypertonique, une hyperventilation, un coma barbiturique, ou une hypothermie peuvent être appliqués^[67] (Rangel-Castilla *et al.*, 2008). En cas d'échec, le recours à la chirurgie par une craniectomie décompressive, un drainage du LCR, ou l'évacuation d'un éventuel hématome sera nécessaire.

III.6.3. Rééducation et réhabilitation

Le TC est à l'origine de troubles moteurs, cognitifs et comportementaux empêchant le rescapé de reprendre la même vie qu'auparavant. Par conséquent, une prise en charge pluridisciplinaire individuelle et/ou en groupe est nécessaire pour la réinsertion sociale et professionnelle à terme du patient traumatisé crânien.

III.6.4. Prise en charge chez l'enfant

Chez l'enfant, la prise en charge doit tenir compte de certaines spécificités telles que la brutalité des dégradations, tant cérébrales que systémiques. Ces dernières sont surtout liées à une hypovolémie plus fréquente, même pour des pertes sanguines qui paraissent mineures, imposant le clampage rapide des vaisseaux et la suture en urgence des plaies qui saignent. Enfin, des difficultés pratiques concernant l'intubation trachéale et la mise en place d'un abord vasculaire doivent également être prises en considération.

^[67] Le traitement par les stéroïdes n'est pas recommandé par les auteurs (Rangel-Castilla *et al.*, 2008).

IV. Modèles expérimentaux

Le but de la modélisation de n'importe quel type de lésion est de créer un état mimant au plus près la situation rencontrée en clinique, afin d'étudier les mécanismes physiopathologiques mis en route, et de trouver les meilleures cibles thérapeutiques pour optimiser la prise en charge. Ainsi, des modèles expérimentaux ont été élaborés et validés sur une base de données scientifiques. Celles-ci ont été obtenues grâce aux observations cliniques biochimiques, et anatomo-pathologiques décrites après le TC chez l'Homme.

En raison de la complexité de sa pathologie, la diversité de ses mécanismes et l'hétérogénéité de ses conséquences, il est extrêmement difficile voire impossible d'envisager un modèle idéal pour le TC (Morganti-Kossmann *et al.*, 2010). Par conséquent, de nombreux modèles ont été conçus de manière que chacun mette en exergue certains aspects de lésions traumatiques (Flierl *et al.*, 2009). En effet, chaque modèle sera plus ou moins approprié pour répondre à une question spécifique. Cette réponse doit être reproductible, quantifiable, et cliniquement pertinente. L'intégration de données complémentaires obtenues sur une gamme de modèles permettrait la compréhension des événements physiopathologiques post-traumatiques. Ces derniers peuvent être expérimentalement générés par des modèles réalisés *in vitro* ou *in vivo*.

IV.1. Modèles *in vitro*

Bien que leur mécanisme lésionnel soit éloigné des conditions réelles du TC, ces modèles permettent d'identifier, aux niveaux cellulaires et moléculaires, certains mécanismes impliqués dans la mort cellulaire post-traumatique. Ils donnent la possibilité de séparer les différents composants de la cascade physiopathologique délétère du TC, ce qui permet d'étudier leurs rôles précis dans le complexe mécanistique déclenché par le trauma. Ils permettent également de supprimer l'implication de certaines variables, comme le débit sanguin cérébral et la température corporelle, pouvant biaiser les résultats si elles ne sont pas bien contrôlées. Enfin, ces modèles ont aussi l'avantage d'être moins coûteux et plus faciles à réaliser d'un point de vue technique (Morrison *et al.*, 1998). Par conséquent, ils constituent un outil idéal pour le dépistage pharmaceutique de nouvelles molécules (Wang & Ma, 2010).

Réalisés sur des lignées cellulaires immortelles, des cultures primaires de cellules, ou des cultures organotypiques de tissus, les modèles *in vitro* du TC varient selon le mécanisme lésionnel à l'origine du trauma (Morrison *et al.*, 1998; Spaethling *et al.*, 2007; Morganti-Kossmann *et al.*, 2010).

IV.1.1. Modèle par lacération

Le modèle *in vitro* du TC par lacération (transsection) consiste à racler les cellules d'une culture cellulaire à l'aide d'un ou plusieurs^[68] stylets en plastique, ou de faisceaux laser, déterminant la sévérité du modèle. Ainsi, ce modèle mime une lésion post-traumatique primaire sous forme d'une déchirure tissulaire (une lacération) induite par les bords coupants de fragments osseux d'une fracture composée.

IV.1.2. Modèle par compression

Initialement développé pour la moelle épinière, le modèle par compression consiste à lâcher un poids calibré d'une hauteur prédéterminée sur une culture organotypique de tissu. La sévérité du traumatisme peut être modifiée par le changement du poids et/ou de la hauteur. Bien que les forces de cisaillement ne puissent pas être mesurées, ce modèle est capable de générer certains aspects physiopathologiques post-traumatiques.

IV.1.3. Modèle par pression hydrostatique

Ce modèle utilise une chambre spécifique où les cellules subissent une augmentation de pression hydrostatique. L'intensité de la pression et la durée de son application déterminent la gravité des dommages engendrés.

Une deuxième variété du modèle est réalisée à l'aide d'un dispositif modifié de percussion de fluide. Celui-ci expose les cellules à une pulsation transitoire de fluide sous pression. Cependant, les faibles déformations tissulaires induites par le changement de pression hydrostatique limitent l'utilisation de ces modèles.

IV.1.4. Modèle par accélération

Afin de simuler les mécanismes lésionnels d'un TC par accélération et/ou décélération, un premier modèle par accélération a été mis au point. Les cellules subissent à l'aide d'un impacteur un minimum de trois accélérations successives. L'estimation de l'intensité de la déformation cellulaire en réponse à l'accélération n'est pas faisable avec cette technique.

IV.1.5. Modèle hydrodynamique

Un autre modèle a été développé pour l'étude des lésions induites par les forces de l'inertie. Placées sur un plateau tournant d'un viscosimètre, les cellules sont soumises à la rotation d'un deuxième plateau situé à une certaine distance du premier. La force hydrodynamique appliquée aux cellules est déterminée par la vitesse de rotation ainsi que la distance séparant les deux plateaux parallèles. Ce modèle permet de visualiser par un

^[68] Six stylets peuvent être utilisés au maximum.

microscope les cellules pendant leur déformation, qui peut être mesurée avec une faible précision. Comme pour les modèles hydrostatiques, les forces de cisaillement ne sont malheureusement pas comparables à celles ayant lieu *in vivo*.

IV.1.6. Modèle par étirement

Ce modèle est basé sur le principe de la déformation des cellules en réponse de l'étirement du support sur lequel elles sont adhérentes. Cette déformation cellulaire peut être indirectement estimée par la mesure des forces de cisaillement du support, qui est le plus souvent sous forme d'une membrane en silicone. Sous l'effet d'une pulsation de pression prédéterminée, le déplacement du centre de la membrane reflètera son degré d'étirement, et par conséquent, celui des cellules qui y sont attachées.

D'autres dispositifs plus sophistiqués permettant un étirement bi- voire tridimensionnel ont été développés et utilisés sur des coupes de tissu (Wang & Ma, 2010).

IV.2. Modèles *in vivo*

Les modèles du TC *in vivo* doivent reproduire de manière standardisée des critères de jugement de pertinence clinique pour l'ultime application chez l'Homme. Ces modèles ont été réalisés chez plusieurs espèces animales : primates, porcs, chiens, chats, lapins, rats et souris. Or, depuis les années 1990s, les rongeurs sont les animaux les plus utilisés dans la recherche préclinique sur le TC grâce à leur petite taille (Cernak, 2005; Morganti-Kossmann *et al.*, 2010). Celle-ci assure la facilité de leur hébergement, la simplicité de l'acte chirurgical, la possibilité de réaliser une batterie de tests comportementaux, et la faisabilité de travailler avec un grand effectif. La petite taille des rongeurs pose également moins de problèmes d'éthique pour la société, et de coût financier pour les unités de recherche. De plus, la souris prend l'avantage sur le rat grâce à la possibilité de produire des souches d'animaux transgéniques^[69]. Le patrimoine génétique de celles-ci ne contient pas, ou bien surexprime, un gène codant pour une protéine faisant l'objet d'étude. Complémentairement aux approches pharmacologique ou moléculaire, les souris transgéniques sont un outil intéressant pour évaluer la contribution d'un gène spécifique dans les dommages post-traumatiques et/ou le processus de réparation (Onyszchuk *et al.*, 2007). Malgré ces avantages, les rongeurs sont loin d'être considérés comme l'espèce idéale pour la modélisation du TC chez l'Animal. Par rapport à l'Homme, les rongeurs présentent plusieurs différences concernant l'anatomie du cortex ainsi que les réponses physiologiques et comportementales post-traumatiques (Povlishock *et al.*, 1994).

^[69] Très récemment, des souches transgéniques de rat commencent à apparaître sur le marché. Leur utilisation reste toujours très limitée à cause de leur coût assez élevé et la difficulté de les développer.

Les modèles *in vivo* du TC sont généralement classés en fonction de la façon dont le trauma est induit. Celle-ci peut utiliser soit un impact direct du cortex ou du crâne, soit l'effet de l'inertie.

IV.2.1. Modèles à crâne ouvert

À travers une craniotomie, les modèles expérimentaux réalisés à crâne ouvert consistent à percuter directement le cortex cérébral en gardant intacte la dure-mère (Albert-Weissenberger & Sirén, 2010). Centrale sur la suture sagittale à mi-chemin entre le bregma^[70] et le lambda^[71], ou latérale sur le cortex pariétal, le site de la craniotomie est en lien avec le déficit neurologique, la localisation, le type, et la taille de lésion. Réalisés sur des animaux placés en contention stéréotaxique, les modèles à crâne ouvert conduisent principalement à la formation d'une lésion focale corticale située au niveau de la zone d'impact, avec l'existence possible de lésions axonales diffuses pouvant atteindre le côté controlatéral. En fonction de la force de percussion appliquée, des dégâts variables en terme de sévérité sont observés.

IV.2.1.1. Percussion de fluide

Dans ce modèle, la percussion directe de la surface corticale est réalisée par une brève pulsation de fluide sous pression (Cernak, 2005). Le choc se propage dans l'espace épidual de manière concentrique, conduisant à une charge diffuse dans le cerveau qui peut provoquer des lésions du tronc cérébral et/ou du côté controlatéral. Avec une craniotomie centrale, ce modèle est utilisé afin de reproduire une lésion focale, tandis que la percussion latérale permet d'obtenir en plus une atteinte diffuse de la matière blanche (Wang & Ma, 2010). La pression de fluide détermine la gravité de dommages engendrés. Ces derniers sont caractérisés par une neuro-inflammation, un œdème cérébral, une rupture de la BHE, un déficit neurologique, et une mort cellulaire (Besson *et al.*, 2005; Béziaud *et al.*, 2011). Ce modèle est également adapté pour l'étude de déficit cognitif et de l'épilepsie post-traumatiques (Albert-Weissenberger & Sirén, 2010).

IV.2.1.2. Impact cortical contrôlé

Contrôlé par un système pneumatique contenant de l'air sous pression, le modèle d'impact cortical contrôlé consiste à percuter la dure-mère intacte et le cortex sous-jacent avec un impacteur rigide (Cernak, 2005). Ce modèle prend l'avantage sur celui par percussion de fluide grâce à une parfaite maîtrise de la sévérité du traumatisme par le contrôle précis de paramètres mécaniques. Ce contrôle est réalisé en réglant la vitesse et la durée de l'impact,

^[70] Situé sur la ligne médiane, le bregma est le point d'intersection de la suture coronale séparant l'os pariétal de l'os frontal, à la suture sagittale dissociant les deux os pariétaux.

^[71] Le Lambda représente le point de rencontre des sutures pariéto-occipital et sagittale.

ainsi que la profondeur de la déformation. Le risque de rebond ^[72] trouvé dans le modèle par lâcher de poids n'existe pas dans ce modèle. Celui-ci génère un œdème cérébral, un déficit moteur ainsi que cognitif, une anxiété (Chauhan *et al.*, 2010), une mort neuronale, et une lésion axonale (Hall *et al.*, 2005; Onyszchuk *et al.*, 2007; Chauhan *et al.*, 2010). Cette dernière est diffuse dans le cas d'une craniotomie latérale, en revanche, elle touche essentiellement le tronc cérébral quand l'ouverture du crâne est centrale (Wang & Ma, 2010). Une modification par l'ouverture de la dure-mère du côté controlatéral a été rajoutée pour favoriser la génération de lésions axonales diffuses.

IV.2.2. Modèles à crâne fermé

Les modèles à crâne fermé sont réalisés par la percussion directe de la tête ^[73] de l'animal, de sa boîte crânienne ^[74], ou encore par le processus d'accélération et/ou décélération (Albert-Weissenberger & Sirén, 2010). La percussion du crâne crée une onde de choc transmise au cerveau. Ce dernier sera soumis à de contraintes de déformation sous formes d'étirement, d'écrasement, et de torsion. Ces modèles provoquent des lésions focales aux zones de coup ou de contrecoup ainsi que des lésions diffuses de la substance blanche.

IV.2.2.1. Lâcher de poids (percussion mécanique)

Ces modèles utilisent la force gravitationnelle d'un poids calibré en chute libre d'une hauteur prédéterminée. La sévérité du trauma crânien est contrôlée en utilisant de différents poids, ou en changeant la hauteur du lâcher de poids (Flierl *et al.*, 2009). La mortalité immédiate due à une apnée post-traumatique peut être réduite grâce à un massage cardiaque associé à une assistance respiratoire, ou par l'adaptation de l'âge et du poids des animaux. Ceux-ci sont placés en contention sur des plateformes rigides pour favoriser la production de lésions focales, ou flexibles pour induire plutôt des lésions diffuses. Ce modèle est capable de générer un déficit neurologique de type sensorimoteur à court terme (Mesenge *et al.*, 1996; Homsy *et al.*, 2009), ainsi qu'à long terme (Homsy *et al.*, 2010; Siopi *et al.*, 2012a), et un déficit cognitif à long terme (Siopi *et al.*, 2012b). Ce modèle est également à l'origine d'un œdème cérébral (Hellal *et al.*, 2004; Homsy *et al.*, 2009), d'une hémorragie intracrânienne et d'une ouverture de la BHE (Hellal *et al.*, 2004), d'un stress oxydant et d'une augmentation de l'IL-1 β (Homsy *et al.*, 2009), d'une activation microgliale (Homsy *et al.*, 2010; Siopi *et al.*, 2011), d'une lésion axonale diffuse (Homsy *et al.*, 2010), d'une perte cellulaire et d'une ventriculomégalie cérébrale (Siopi *et al.*, 2011).

^[72] Quand l'impacteur rebondit comme une réaction au choc et répercute le crâne une deuxième fois.

^[73] Sans l'incision de la peau au-dessus du crâne (Mesenge *et al.*, 1996; Siopi *et al.*, 2011).

^[74] Après l'ouverture du scalp et le dégagement du calvarium (Flierl *et al.*, 2009).

IV.2.2.2. Impact d'accélération linéaire

Appelé également le modèle du TC diffus par Marmarou, ce modèle est une variété de celui du lâcher de poids, visant à induire essentiellement une lésion cérébrale post-traumatique diffuse (Morganti-Kossmann *et al.*, 2010; Wang & Ma, 2010). Il a été initialement développé chez le primate non humain, puis chez le porc et le rat. C'est un modèle de percussion mécanique par la chute libre d'un poids qui percute un disque en acier inoxydable fixé par du ciment au crâne intact de l'animal. Ce disque assure une distribution diffuse de la force de l'impact, et permet d'éviter les fractures en cas de TC sévère. La tête de l'animal est placée sans contention sur un matelas élastique ou un gel afin d'en permettre le mouvement après l'impact. Pour maîtriser les paramètres mécaniques, ainsi qu'éviter l'effet du rebond, et la distribution inégale de l'énergie par un déplacement latéral de l'impact, un dispositif à impacteur pneumatique rigide peut substituer le système par lâcher de poids (Cernak, 2005; Wang & Ma, 2010). Générant un déficit moteur ainsi que cognitif, ces modèles sont à l'origine d'une lésion axonale diffuse qui s'étend jusqu'au tronc cérébral induisant une perte de connaissance immédiate. Celle-ci peut nécessiter une ventilation pour réduire la mortalité post-traumatique. Les lésions focales et l'atteinte du corps neuronal sont rarissimes.

IV.2.2.3. Inertie d'accélération/décélération rotationnelle

Contrairement au modèle par Marmarou, ce modèle consiste à induire une accélération qui n'est pas la conséquence d'impact direct, mimant ainsi le mécanisme lésionnel des accidents de la voie publique, la cause majeure du TC (Cernak, 2005). L'accélération rotationnelle produite dans ce modèle est à l'origine des forces de cisaillement produisant exclusivement des lésions axonales diffuses, dont l'extension est proportionnelle à la sévérité du coma et du déficit neurologique résultants. Bien qu'ils soient les plus capables de reproduire le complexe physiopathologique chez le patient traumatisé crânien, l'utilisation de ces modèles est limitée. Le matériel sophistiqué ^[75], le coût et la taille de l'animal ^[76], ainsi que la mortalité à court terme constituent des obstacles contre l'exploitation de ce modèle à large échelle.

^[75] Nécessaire surtout pour l'animal de petite taille.

^[76] Ce modèle est essentiellement appliqué chez les primates non humains. La possibilité d'utilisation des rongeurs dans ce modèle est limitée, car l'effet de l'inertie nécessaire pour induire une lésion est inversement proportionnelle à la masse du cerveau. Ainsi, l'accélération exigée pour cette espèce animale serait énorme. De plus, la relevance clinique de lésions induites n'a été trouvée que chez les primates (Wang & Ma, 2010).

V. Essais cliniques

Les complexes mécanismes physiopathologiques déclenchés par le TC constituent de cibles potentielles pour le développement de nouvelles stratégies neuroprotectrices (Jain, 2008; Vink & Nimmo, 2009). Après leur succès en phase préclinique, plusieurs molécules étaient et/ou sont candidates pour les différentes phases d'essais cliniques (Beauchamp *et al.*, 2008). Spécifiques ou pléiotropes, ces composés agissent à un ou plusieurs niveaux de la cascade délétère du TC. Parmi ces candidats prometteurs, des antagonistes calciques, des anti-oxydants, des antagonistes des récepteurs à la bradykinine, des antagonistes glutamatergiques, et des molécules à effet anti-inflammatoire, y compris les corticostéroïdes.

Maas et collaborateurs (2010) ont fait la revue des 33 études cliniques de phase III réalisées sur le TC au cours des trois dernières décennies, notamment entre 1980 et 2009. Les auteurs ont signalé un pic de démarrage de ces essais détecté au milieu des années 1990s, ainsi qu'une forte chute entre 2000 et 2004. La plupart de ces études se sont intéressées plutôt à des interventions thérapeutiques qu'à de nouveaux agents pharmacologiques. Les registres ont également marqué une tendance croissante de la mise en place d'études cliniques en Extrême-Orient.

V.1. Causes d'échec

À partir des milliers de molécules dépistées pour un effet neuroprotecteur potentiel, des centaines d'entre-elles sont arrivées aux études *in vivo*. Cependant, malgré tous les résultats prometteurs de certaines molécules testées dans plusieurs modèles animaux, aucune d'entre-elles s'est avérée efficace en essai clinique (Maas *et al.*, 2010). L'origine de ces échecs reflète les arguments derrière la difficulté de la transposition de toute stratégie thérapeutique de l'Animal à l'Homme, mettant en question la prédictibilité des modèles expérimentaux.

Premièrement, les études expérimentales sont menées sur des modèles du TC très standardisés. Cette standardisation concerne les conditions expérimentales ainsi que la population d'animaux en question. Elle est indispensable pour des raisons méthodologiques liées à la comparabilité des groupes et l'application de tests d'analyses statistiques. Avec une variabilité intragroupe minimale, les chances de mettre en évidence un effet bénéfique d'une molécule au niveau expérimental sont plus favorisées. Ce n'est pas du tout le cas chez l'Homme à cause de l'hétérogénéité du tableau clinique des patients en ce qui concerne le type de lésions et la gravité du traumatisme. D'une part, si les essais cliniques sont très restrictifs pour les critères d'inclusions, ils seront difficiles à mener. D'autre part, si le recrutement des sujets est moins contraignant, il serait plus difficile de trouver une différence significative entre

les contrôles et les traités. La planification *a priori*^[77] d'analyses en sous-groupe permet d'identifier un éventuel effet bénéfique chez certains groupes de patients cliniquement prédéfinis. Pourtant, cette stratégie de « la sélection du patient idéal » peut créer un biais expérimental assez important.

Deuxièmement, un facteur temporel varie dans la conception d'études expérimentales et d'essais cliniques. D'une part, dans les études expérimentales, l'administration du traitement est réalisée le plus souvent avant sinon très peu après le TC. À l'inverse, les patients inclus dans les études cliniques ne peuvent bénéficier du traitement que dans un délai d'environ 4 heures dans le meilleur des cas, à cause du temps nécessaire pour l'évaluation du patient et l'obtention du consentement. Ce retard dans l'initiation du traitement en clinique soulève le besoin de chercher des agents neuroprotecteurs ayant montré une large fenêtre thérapeutique chez l'Animal. Ces agents devraient agir sur des cibles ayant un rôle plus tardif dans les cascades délétères post-traumatiques. D'autre part, les variables dans les études expérimentales sont évaluées le plus souvent au cours de la première semaine suivant le TC, alors que chez l'Homme, les effets des traitements ne sont évalués que dans les 6 mois après le trauma. Pourtant, il est important à noter que la notion de « temps » ne prend pas les mêmes dimensions entre l'Homme et l'Animal, vu la différence de l'espérance de vie à la naissance entre les deux espèces.

Troisièmement et contrairement aux essais cliniques (Maas *et al.*, 2010), la présence et l'activité du mécanisme pathologique sont le plus souvent vérifiées chez l'Animal avant de tester l'intérêt thérapeutique de la stratégie visant ce mécanisme. Partant sur des bases scientifiques qui ne sont pas forcément solides à cause d'un problème de faisabilité, la probabilité de la réussite d'un candidat pharmacologique ou d'une intervention thérapeutique chez le patient traumatisé crânien reste minime.

Par ailleurs, la recherche est un processus qui devient de plus en plus onéreux. Le budget à disposition semble être parmi les premiers paramètres à considérer lors de la conception d'un projet de recherche expérimental ou clinique. À cause de ce critère financier, beaucoup de molécules candidates sont passées à la phase clinique avec un faible dossier préclinique (Maas *et al.*, 2010). Avec des résultats qui ne sont pas confirmés dans d'autres modèles du TC et chez différentes espèces animales, le passage prématuré de ces composés a eu lieu pour accélérer leur preuve de concept chez l'Homme, dans l'espoir d'une rentabilité rapide quand elles seraient commercialisées.

^[77] Avant le démarrage de l'essai clinique et l'inclusion des patients.

À ces arguments, s'ajoutent d'autres facteurs dont l'existence ne peut pas être niée. En effet, quelques résultats précliniques ou cliniques sont parfois biaisés à cause d'un manque de rigueur scientifique, et de la pression à laquelle les acteurs de ce domaine sont soumis pour publier afin d'acquérir un diplôme, une promotion, ou un financement pour la survie de leur laboratoire. Cette ambiance de concurrence existant entre les personnes, les instituts, et les bailleurs de fonds impliqués dans cette filière n'est pas en faveur d'une recherche scientifique de qualité. Cette qualité est le seul garant pour une recherche dont la finalité est non seulement de sauver les patients traumatisés crâniens, mais également de leur offrir une meilleure qualité de vie.

V.2. Essais actuellement en cours

En conséquence de ces nombreux échecs, un certain nombre d'essais cliniques évaluant l'effet d'autres stratégies thérapeutiques sont actuellement menés. Au total, le nombre d'études sur le TC, toutes phases confondues, s'élève aujourd'hui à 425 ^[78].

Parmi les molécules testées, la minocycline semble constituer un candidat très intéressant. Cet antibiotique de deuxième génération de la famille des tétracyclines a été récemment montré neuroprotecteur dans notre modèle du TC réalisé au sein du laboratoire (Homsy *et al.*, 2009, 2010; Siopi *et al.*, 2011). De même, l'atorvastatine est actuellement testée contre placebo au cours d'un essai de phase II. Le passage en clinique de cette statine commercialisée en France a eu lieu grâce aux résultats prometteurs obtenus avec les hypolipémiants dans plusieurs études expérimentales, parmi lesquelles les travaux réalisés par notre équipe avec le fénofibrate et la simvastatine (Besson *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2008; Béziaud *et al.*, 2011).

L'ensemble de ces données met en avant l'absence de traitement neuroprotecteur et la nécessité de poursuivre la recherche de nouvelles cibles pharmacologiques impliquées dans les mécanismes à l'origine des conséquences post-traumatiques. L'implication de la neuro-inflammation constitue une des thématiques principales de la recherche expérimentale sur le TC. Étant à la fois médiateur et indicateur de ce processus dévastateur, le rôle de la cyclo-oxygénase était le centre d'intérêt de nombreux travaux qui seront détaillés dans le chapitre suivant.

^[78] D'après le registre « ClinicalTrials.gov ».

DEUXIEME CHAPITRE : CYCLO-OXYGENASES ET PROSTAGLANDINES

I. Acides gras et synthèse des prostaglandines

Dans les années 1930s, l'identification de la cascade biochimique impliquant l'acide arachidonique (AA), les cyclo-oxygénases (COXs) et les prostaglandines (PGs) a commencé quand Goldblatt et von Euler, deux scientifiques qui appartenaient à deux équipes différentes, ont isolé une nouvelle substance ayant une activité sur les cellules musculaires lisses, à partir du liquide séminal (Moncada & Vane, 1978). Pensant que celle-ci provenait de la prostate, le physiologiste suédois, von Euler, l'a nommée « prostaglandine ». Grâce à plusieurs travaux menés dans les années suivant cette découverte, on a pu identifier plusieurs types de PGs, et on sait que celles-ci sont synthétisées à partir des acides gras poly-insaturés.

Appartenant à la catégorie des lipides, les acides gras sont des acides carboxyliques à chaîne hydrocarbure aliphatique hydrophobe saturée ou insaturée. Un acide gras est insaturé quand il comporte une ou plusieurs doubles liaisons carbone-carbone. On parle d'acide gras mono-insaturé lorsqu'il n'y a qu'une seule double liaison, et d'acide gras poly-insaturé s'il y en a plusieurs. Parmi les acides gras poly-insaturés actuellement connus, trois sont utilisés par les COXs au cours de la biosynthèse des PGs [Figure 5]. En effet, l'acide dihomog- γ -linoléinique (C20:3 ω 6), l'acide arachidonique (C20:4 ω 6), et l'acide timnodonique (C20:5 ω 3) sont les composés respectifs générant les PGs mono-énoïques (PG₁), bis-énoïques (PG₂) et tri-énoïques (PG₃) (Bergström *et al.*, 1964).

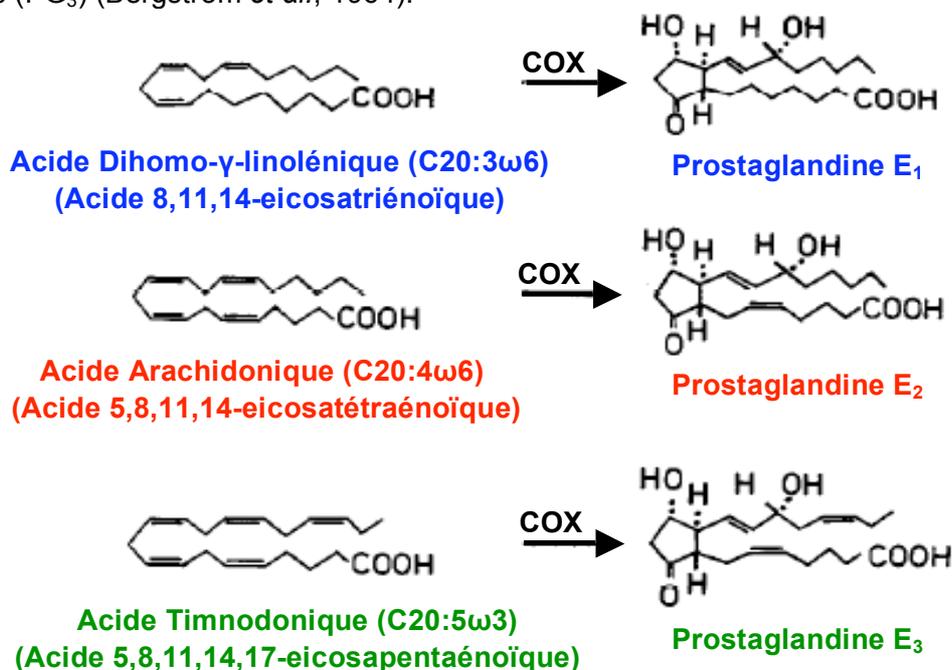


Figure 5 : Synthèse des prostaglandines E par les cyclo-oxygénases à partir des acides gras

Abréviation : COX cyclo-oxygénases.

Dans cette œuvre, nous nous intéresserons plus particulièrement aux PGs de la série indice 2 (PG₂), dont la synthèse nécessite de l'AA, puisque ces prostanoïdes induisent un large spectre d'effets physiologiques ainsi que pathologiques chez les mammifères.

II. Métabolisation de l'acide arachidonique

L'acide arachidonique, également appelé acide 5,8,11,14-eicosatétraénoïque, est un acide gras poly-insaturé présent surtout sous forme estérifiée au glycérol dans les membranes cellulaires. Ainsi, le clivage enzymatique des phospholipides membranaires par la forme cytosolique des phospholipases A₂ (cPLA₂) représente la source principale de sa formation (Murakami & Kudo, 2002; Haeggström & Funk, 2011). La cPLA₂ est un membre d'une large famille formée au moins d'une quinzaine d'enzymes. C'est une protéine de 85 kilodalton (kDa)^[79], qui peut être activée en présence du Ca²⁺ en concentrations sous-micromolaires, ou après une phosphorylation induite soit par la protéine kinase C, soit par les protéines kinases activées par des mitogènes. La cPLA₂ existe sous trois isoformes : α, β et γ qui possèdent une sérine dans leur domaine catalytique. Parmi ces isoformes, c'est la cPLA₂α qui semble jouer un rôle majeur dans la libération de l'AA. Par ailleurs, une autre source de cet acide gras poly-insaturé a été récemment proposée au cours du processus neuro-inflammatoire induit chez la souris. Suite à l'injection au lipopolysaccharide (LPS), il a été montré que la formation de PGs par les COXs au niveau cérébral dépendait de l'AA qui provient majoritairement de l'endocannabinoïde 2-arachidonoyl glycérol après son clivage par la diacylglycérol lipase (Nomura *et al.*, 2011). L'inhibition de cette dernière pourrait donc constituer une stratégie thérapeutique prometteuse pour les pathologies cérébrales à composante inflammatoire.

Suite à l'action de la cPLA₂ ou de la diacylglycérol lipase, l'AA libéré peut être métabolisé selon une des trois voies enzymatiques générant des eicosanoïdes qui constituent une famille de molécules à 20 atomes de carbone. Parmi ces cascades métaboliques, on distingue deux voies majeures catalysant l'insertion stéréospécifique de l'oxygène moléculaire à différents niveaux de l'AA [Figure 6]. La première est la voie catalysée par les COXs, conduisant à la synthèse des prostanoïdes. La deuxième voie est catalysée par les lipoxygénases, aboutissant à la formation de quatre produits : les leucotriènes, les acides hydroperoxy-eicosatétraénoïques (HpETEs), les acides hydroxy-eicosatétraénoïques (HETEs), et les lipoxines. Enfin, l'AA peut être aussi métabolisé par la famille des mono-oxygénases à cytochromes P450 [Figure 6]. Cette voie conduit à la formation des HETEs et des acides époxy-eicosatriénoïques (EETs).

^[79] Le dalton (Da) est équivalent à la masse d'un atome d'hydrogène.

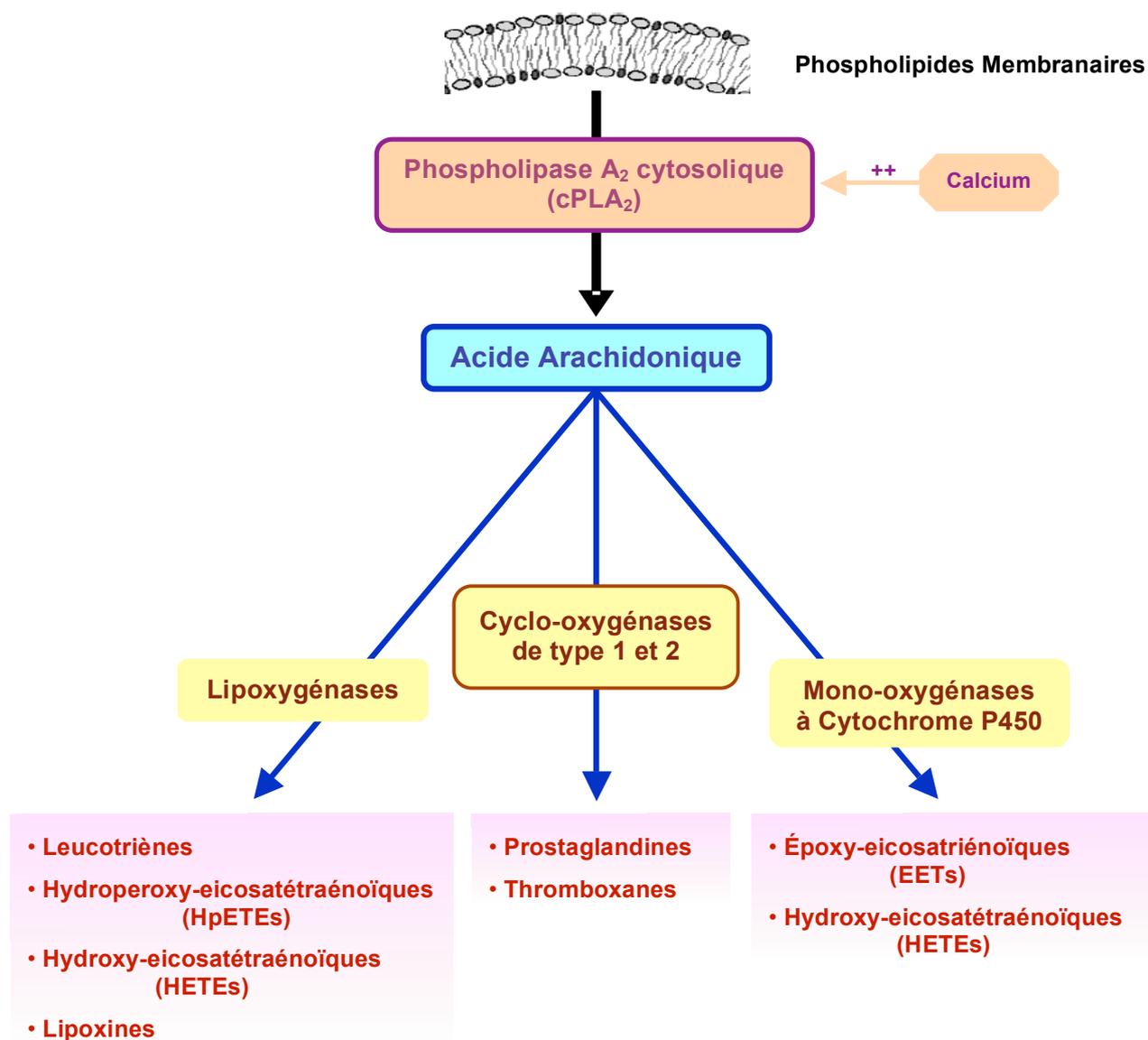


Figure 6 : Voies principales de la métabolisation de l'acide arachidonique (d'après Attwell *et al.*, 2010)

II.1. Voie des mono-oxygénases à cytochromes P450

Les cytochromes P450 (CYP450) forment une superfamille multigénique d'enzymes qui sont impliquées dans le métabolisme oxydatif de nombreuses molécules endogènes^[80] et exogènes^[81]. Principalement exprimées dans le foie et les glandes surrénales, ces protéines sont également retrouvées dans le cœur, les vaisseaux, le tractus gastro-intestinal, les reins, les poumons, ainsi que le cerveau (Malaplate-Armand *et al.*, 2004). Possédant plusieurs substrats, les enzymes à CYP450 sont capables de catalyser plusieurs réactions chimiques. Dans ce chapitre, l'intérêt sera uniquement focalisé sur leur activité mono-oxygénase.

^[80] Hormones stéroïdiennes, acides gras, vitamines, ... etc.

^[81] Médicaments, pesticides, toxiques, cancérigènes, ... etc.

Les mono-oxygénases à CYP450 catalysent la conversion de l'AA en produits biologiquement actifs [Figure 7]. Cette voie de métabolisation décrite comme mineure peut prendre la forme d'une réaction d'oxydation de type « lipoxygénase-like », d' ω -hydroxylation, ou d'époxydation.

II.1.1. Activité oxydase de type « lipoxygénase-like »

L'activité oxydase de type « lipoxygénase-like » des mono-oxygénases à CYP450 génère six produits régioisomères : les acides 5-, 8-, 9-, 11-, 12-, ou 15-HETEs.

II.1.2. Activité ω -hydroxylase

L'activité ω -hydroxylase des mono-oxygénases à CYP450 peut générer deux acides à partir de l'AA : 19- et 20-HETEs. Ce dernier semble être impliqué dans la vasoconstriction des artérioles cérébrales (Attwell *et al.*, 2010). De manière intéressante, il a été suggéré que cette activité ω -hydroxylase exercée par certaines enzymes, notamment la CYP450 4f, était capable de métaboliser certains composés comme le leucotriène B₄^[82] et la PGE₂^[83] connus par leur rôle pro-inflammatoire. La dégradation de ces deux eicosanoïdes pourrait donc contribuer à l'arrêt de l'inflammation. D'ailleurs, au cours d'un TC chez le rat, il a été montré que le taux de l'expression de CYP450 4f était inversement corrélé au contenu cérébral du leucotriène B₄ (Wang *et al.*, 2008). Très récemment, l'effet bénéfique de l'augmentation de ce cytochrome a été également mis en évidence au niveau cérébral lors d'une réponse neuro-inflammatoire due à l'injection au LPS chez la souris (Sehgal *et al.*, 2011).

II.1.3. Activité époxygénase

L'activité époxygénase des mono-oxygénases à CYP450 aboutit à la formation de quatre acides régioisomères : les acides 5,6-, 8,9-, 11,12- et 14,15-EETs (Spector, 2009). Les astrocytes semblent être l'endroit principal de la synthèse des EETs au niveau cérébral (Malaplate-Armand *et al.*, 2004). Ces acides sont des médiateurs à activités autocrine et paracrine. Ils ont une action vasodilatatrice, un effet anti-apoptotique, et anti-inflammatoire impliquant l'inhibition du facteur de transcription nucléaire κ B (NF- κ B) (Spector, 2009). D'ailleurs, Gopez et collaborateurs (2005) ont montré que l'effet neuroprotecteur de l'inhibition de COX-2 après un TC chez le rat était associé à une production accrue des EETs. Ces derniers favorisent également l'angiogenèse (Spector, 2009), et sont montrés protecteurs dans l'ischémie cérébrale (Zhang *et al.*, 2007).

^[82] Voir Rappels Bibliographiques / Deuxième Chapitre / Paragraphe II.2.

^[83] Voir Rappels Bibliographiques / Deuxième Chapitre / Paragraphe II.3.5.1.

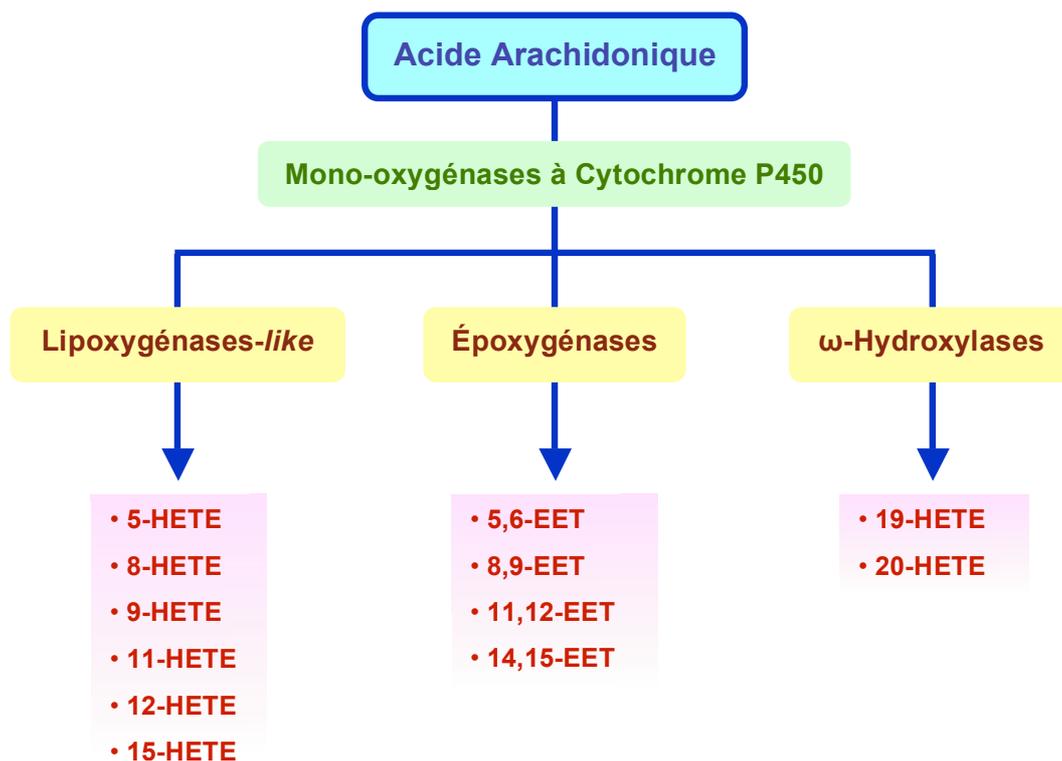


Figure 7 : Voies de la métabolisation de l'acide arachidonique par les mono-oxygénases à cytochromes P450 (d'après Bellien *et al.*, 2011)

Abréviations : EET acide époxy-eicosatriénoïque ; HETE acide hydroxy-eicosatétraénoïque.

II.2. Voie des lipoxygénases

Les lipoxygénases forment une famille d'enzymes de peroxydation lipidique. D'après la nomenclature actuelle, elles sont distinguées tout d'abord selon le site sur l'AA dont elles catalysent la réaction d'oxygénation, et deuxièmement, selon leur stéréosélectivité. Actuellement, cinq isoformes de lipoxygénases (LOXs) ont été identifiées chez l'Homme, alors qu'on peut en distinguer six chez la souris. Ce sont les enzymes catalysant l'oxygénation de l'atome de carbone en position 5 (5S-LOX), 8 (8S-LOX), 12 (12S-LOX) ou (12R-LOX), et 15 (15S-LOX) (Haeggström & Funk, 2011). Jouant un rôle particulier dans le processus neuro-inflammatoire, c'est la voie de la 5-LOX générant les leucotriènes (LTs) qui sera détaillée dans ce chapitre [Figure 8].

La 5S-LOX est une dioxygénase qui ne contient pas d'hème. Chez l'Homme, elle est exprimée essentiellement dans la plupart des cellules dérivées de la moelle osseuse. Elle existe sous forme libre dans le cytoplasme, mais elle peut être également transloquée au noyau. Néanmoins, elle ne peut pas agir directement sur son substrat contrairement aux autres LOXs. Lors d'une activation cellulaire, cette enzyme se fixe par un mécanisme dépendant du calcium à une protéine spécifique insérée dans la membrane nucléaire. Cette protéine dont le nom explique la fonction, « Five-Lipoxygenase Activating Protein (FLAP) », permet l'accès de la 5-LOX à l'AA. Cette interaction catalyse dans un premier temps l'oxygénation de ce dernier en acide 5S-HpETE, puis dans un deuxième temps la déshydratation de ce dernier en acide 5-oxido-eicosatétraénoïque, appelé leucotriène A₄ (LTA₄). Ce composé instable est rapidement métabolisé selon trois voies enzymatiques catalysées par la LTA₄ hydrolase, la LTC₄ synthase, et la 15-LOX.

La première voie catalysée par la LTA₄ hydrolase conduit à la formation de l'acide 5-dihydroxy-eicosatétraénoïque, ou leucotriène B₄ (LTB₄), par l'addition d'une molécule d'eau. Le LTB₄ est catabolisé en 20-hydroxy LTB₄ par une ω-hydroxylase de la famille des CYP450^[84]. Ce catabolisme induit l'inactivation du LTB₄, et par conséquent, peut aider à la résolution de l'inflammation.

La deuxième voie est catalysée par la LTC₄ synthase. Également appelée la glutathion S-transférase de type II, cette enzyme ajoute un glutathion pour former l'acide 5-hydroxy-glutathionyl-eicosatétraénoïque, ou leucotriène C₄ (LTC₄). Le clivage du glutathion peut être ensuite effectué par l'action d'une γ-glutamyl transpeptidase qui enlèvera l'acide glutamique pour former le leucotriène D₄ (LTD₄). Ce dérivé peut aboutir à un métabolite final, le leucotriène E₄ (LTE₄) sous l'action d'une dipeptidase. Celle-ci clive la glycine, laissant la cystéine comme seul acide aminé sur le LTE₄. Ainsi, les leucotriènes C₄, D₄, et E₄ sont appelés leucotriènes sulfidopeptidiques ou encore leucotriènes cystéinés (CysLTs).

Comme médiateurs pro-inflammatoires, les LTs apparaissent rapidement et de façon transitoire. Ils possèdent une activité chimiotactique très puissante, favorisent la sécrétion d'enzymes lysosomales, la production de NO, la stimulation de la phagocytose, la mobilisation intracellulaire du Ca²⁺, l'activation des phospholipases, et la libération d'agents pro-inflammatoires.

^[84] Voir Rappels Bibliographiques / Deuxième Chapitre / Paragraphe II.1.2.

Une troisième voie de la métabolisation du LTA₄ qui est produit par la 5S-LOX conduit à la formation des lipoxines (LXs). Cette voie implique également l'action d'une 15S-LOX produisant un intermédiaire époxy. Ce dernier sera ensuite transformé en LXA₄ par une LXA₄ hydrolase, ou en LXB₄ par une LXB₄ hydrolase. Cet intermédiaire peut aussi être formé à partir du 15S-HpETE *via* la 5S-LOX. Synthétisées par la contribution simultanée des deux isoformes différentes des LOXs, les LXs ont des similitudes structurales avec les LTs, mais semblent avoir des activités biologiques complémentaires. Ces dérivés dihydroxylés de l'AA peuvent jouer un rôle important dans la résolution de l'inflammation (Haeggström & Funk, 2011).

L'activation de la 5-LOX favorisant la synthèse des LTs par les cellules inflammatoires, notamment les polynucléaires neutrophiles et les monocytes, ont attiré l'attention des chercheurs sur un rôle potentiellement délétère de cette voie de métabolisation de l'AA dans la neuro-inflammation post-traumatique. Dans un modèle d'impact cortical contrôlé chez le rat, une production accrue de LTB₄ a été mise en évidence 24 heures post-TC (Wang *et al.*, 2008). Ce médiateur pro-inflammatoire pourrait donc être impliqué dans les conséquences de trauma crânien. De même, une augmentation précoce et transitoire de LTC₄ a été décrite chez le rat traumatisé par percussion de fluide (Farias *et al.*, 2009). La suppression de cette production post-traumatique accrue de LTC₄ suite à l'inhibition de la FLAP a été associée à une diminution du volume de lésion. Par ailleurs, une augmentation du récepteur aux CysLTs de type 1 a été démontrée dans les cellules endothéliales, neuronales, et gliales chez des patients traumatisés crâniens (Zhang *et al.*, 2004). Chez des rats traumatisés par lâcher de poids, l'utilisation d'un antagoniste pour ce récepteur a diminué la perméabilité de la BHE sans avoir d'effet sur l'œdème cérébral (Biber *et al.*, 2009). Les auteurs ont également montré lors de cette étude un effet bénéfique sur le déficit neurologique, le stress oxydant et l'infiltration leucocytaire. L'ensemble de ces données est en faveur d'un rôle délétère des LTs dans les conséquences post-traumatiques.

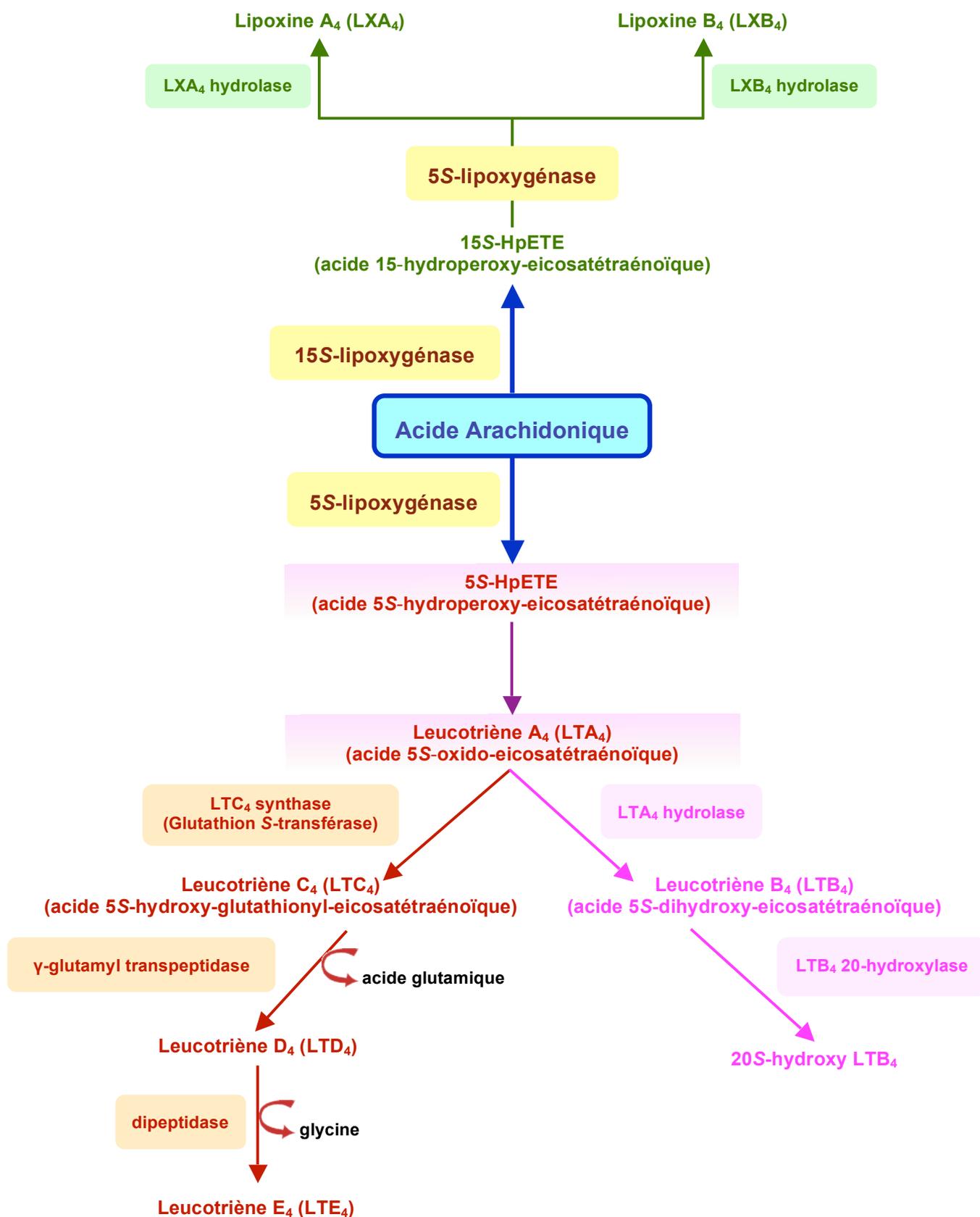


Figure 8 : Schéma simplifié de la voie de métabolisme de l'acide arachidonique par la 5S-lipoxygénase et de la formation des lipoxines par la 15S-lipoxygénase ^[85] (d'après Haeggström & Funk, 2011)

^[85] Pour simplifier le schéma, la voie de synthèse des lipoxines à partir du LTA₄ n'a pas été présentée.

II.3. Voie des cyclo-oxygénases

II.3.1. Historique

La famille cyclo-oxygénase, également appelée prostaglandine H₂ synthase, est un groupe d'enzymes régulant la synthèse des prostanoïdes à partir de l'AA. Depuis la découverte du mécanisme d'action de l'aspirine par Vane (1971), la recherche scientifique s'est largement penchée sur ce groupe enzymatique dont les produits induisent des effets biologiques divers tant à l'état physiologique qu'à l'état pathologique.

Jusqu'à la fin des années 1980s, il était communément admis que la synthèse des PGs n'avait comme limite que la quantité d'AA à disposition, qui est déterminée par l'activité des phospholipases. Cependant, certains travaux dont celui de Raz et collaborateurs (1988), ont pu mettre en évidence une augmentation du contenu cellulaire en COX suite à des médiateurs pro-inflammatoires comme l'IL-1. Cette découverte importante a conduit à l'hypothèse que deux isoformes de cette enzyme existaient. Tandis que la première, appelée COX-1, est constitutivement exprimée et à l'origine du taux basal en prostanoïdes, la deuxième, nommée COX-2, peut être induite par plusieurs stimuli, et au cours de la réaction inflammatoire en particulier. Peu de temps après, cette hypothèse a été validée par le clonage du gène inducible codant pour COX-2 (Xie *et al.*, 1991). Plus récemment, l'acide ribonucléique messager (ARNm) d'une troisième isoforme, appelée COX-3, a été également détecté *in vivo* dans le cortex cérébral du chien (Willoughby *et al.*, 2000; Chandrasekharan *et al.*, 2002; Warner & Mitchell, 2002), de la souris (Shaftel *et al.*, 2003), et partout dans le cerveau du rat, surtout au niveau endothélial (Kis *et al.*, 2004). C'est une variante très proche de COX-1 résultant d'un épissage alternatif de son gène. Son inhibition chez le chien, notamment par le paracétamol, pourrait être à l'origine de l'effet antalgique de cet anti-inflammatoire non stéroïdien (Schwab *et al.*, 2003b; Simmons, 2003; Botting & Ayoub, 2005). Pourtant, d'autres données remettent en question son existence en tant qu'isoforme opérationnelle aussi bien chez l'Homme que chez les rongeurs (Dinchuk *et al.*, 2003; Schwab *et al.*, 2003a; Rao & Knaus, 2008). Dans ces deux espèces, la conservation de l'intron 1^[86] dans l'ARNm de COX-3 provoque le décalage du cadre de lecture au moment de la traduction. Ainsi, la protéine résultante n'aurait pas la même séquence que celle des COXs, et par conséquent, elle ne serait pas catalytiquement fonctionnelle.

^[86] Contrairement à l'exon, un intron est une portion de gène non codante.

II.3.2. Description moléculaire et sites actifs

L'enzyme COX est une hémoprotéine organisée en homodimères. Elle est fixée à la membrane luminaire du réticulum endoplasmique, à la membrane mitochondriale, ainsi qu'à l'enveloppe nucléaire (Vane *et al.*, 1998; Rao & Knaus, 2008; Xu *et al.*, 2010).

La structure tridimensionnelle des COXs est composée de trois domaines distincts [Figure 9] : 1) un court domaine en *N*-terminal formé de deux doubles feuillets β , qui ressemble au Facteur de croissance épidermique « *Epidermal Growth Factor-like* » ; 2) un domaine de liaison à la membrane composé de quatre hélices α où se loge l'AA ou les anti-inflammatoires non stéroïdiens ; 3) un domaine catalytique bifonctionnel en *C*-terminal représentant environ 80% de la protéine (Kurumbail *et al.*, 2001; Hinz & Brune, 2002). Ce domaine catalytique se présente sous la forme d'un long tunnel hydrophobe dont l'entrée se situe à proximité du domaine de liaison à la membrane. Il comprend deux sites spatialement distincts mais mécanistiquement couplés : le premier est celui de réaction cyclo-oxygénase (di-oxygénase), et le deuxième est chargé de réaction peroxydase.

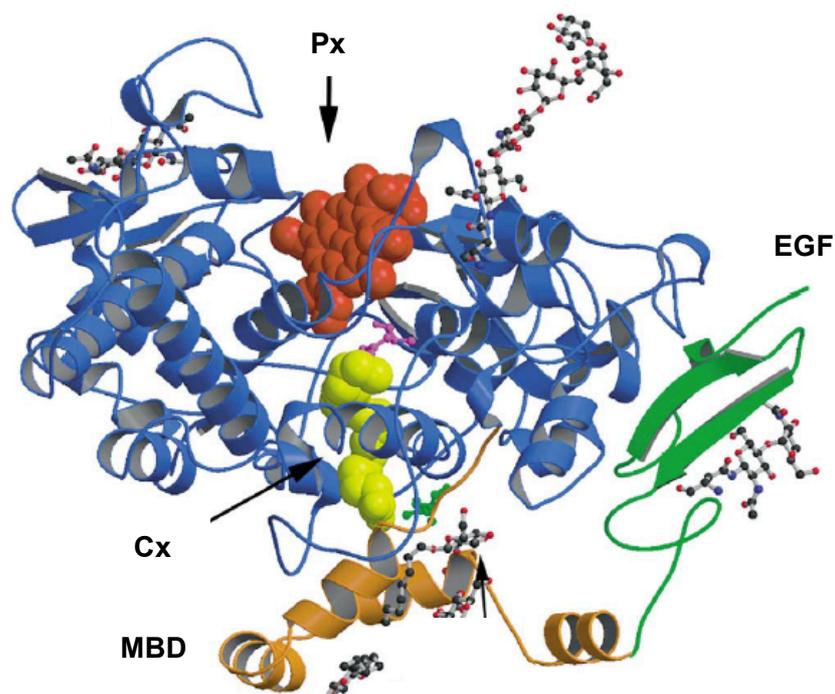


Figure 9 : Modèle tridimensionnel de la structure de cyclo-oxygénase ^[87] (d'après Garavito *et al.*, 2002)

Abréviations : Cx site d'activité cyclo-oxygénase ; EGF domaine Epidermal Growth Factor-like ; MBD domaine de liaison à la membrane ; Px site d'activité peroxydase.

^[87] Ce Modèle tridimensionnel présenté par Garavito et collaborateurs (2002) comporte un noyau hème (en rouge) dans le site peroxydase, un site cyclo-oxygénase occupé ici par le flurbiprofène (en jaune), un domaine de liaison à la membrane (en beige), et un domaine *Epidermal Growth Factor-like* (en vert).

En conservant les acides aminés en interaction avec le substrat, les structures primaires de COX-1 et de COX-2 présentent une séquence en acides aminés avec une homologie d'environ 60%.

La COX-1 est une protéine de 70 kDa composée de 600 acides aminés [Figure 10]. Le site actif sous forme d'un canal hydrophobe est composé d'acides aminés essentiels en raison de leurs positions spatiales et leurs groupements fonctionnels [Figure 11]. L'acide glutamique en position 324 (Glu-324) permet l'ionisation de l'arginine en position 120 (Arg-120). Le groupement guanidine de ce dernier intervient dans une liaison électrostatique avec la fonction acide carboxylique terminale de certains anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ou de l'AA. La tyrosine en position 385 (Tyr-385) est située au sommet du canal et sert à initier la réaction d'oxydation. La tyrosine en position 355 (Tyr-355) constitue avec l'Arg-120 un rétrécissement dans la zone médiane du canal catalytique. La sérine en position 530 (Ser-530) est acétylée lors de la liaison de l'enzyme à l'aspirine.

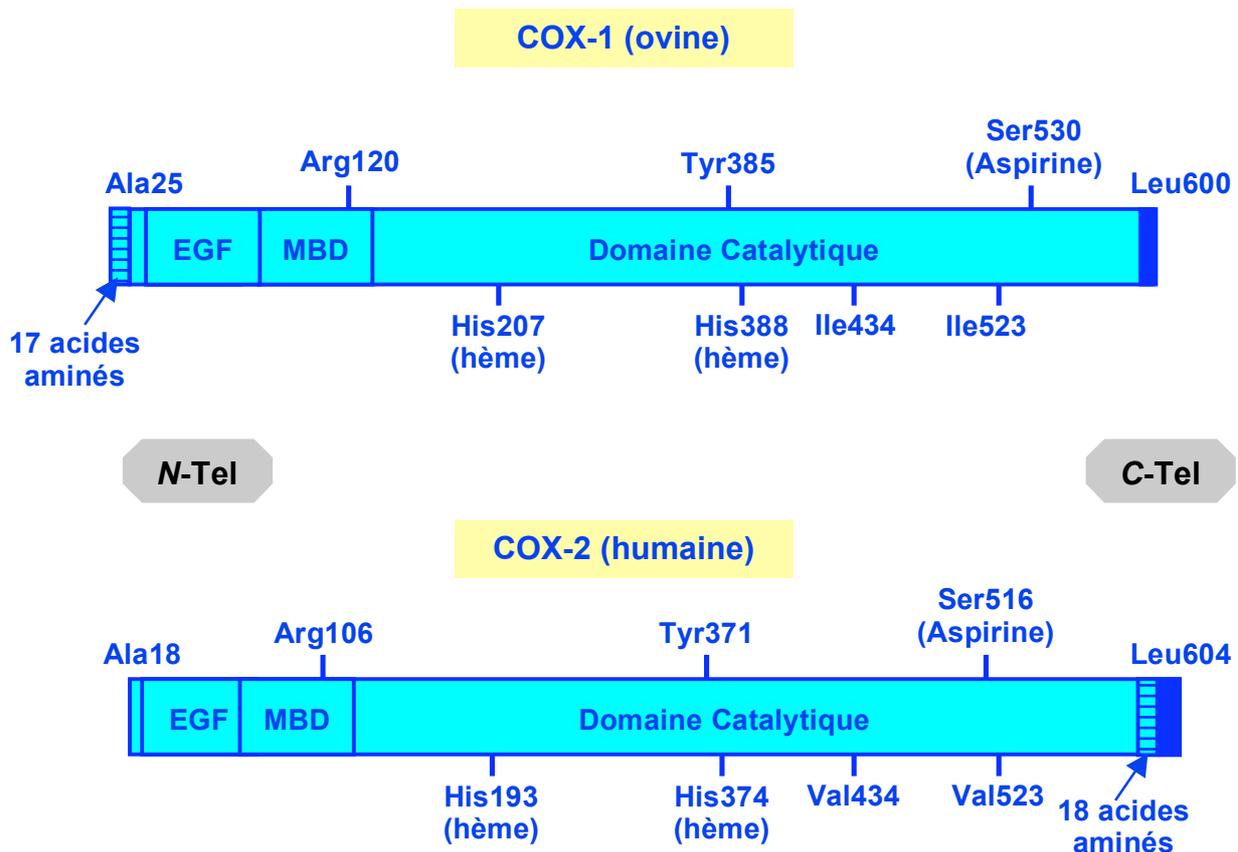


Figure 10 : Schéma montrant les différences majeures dans la structure entre les isoformes 1 et 2 de la cyclo-oxygénase (d'après Garavito *et al.*, 2002)

Abréviations : Ala alanine ; Arg arginine ; COX cyclo-oxygénase ; EGF domaine *Epidermal Growth Factor-like* ; His histidine ; Ile isoleucine ; Leu leucine ; MBD domaine de liaison à la membrane ; Ser sérine ; Tel extrémité terminale ; Tyr tyrosine ; Val valine.

La COX-2 est formée de 604 acides aminés, et sa masse molaire est de 72 kDa [Figure 10]. Au plan structural, elle porte deux différences principales par rapport à la COX-1. La première est l'absence d'une séquence de 17 acides aminés en position *N*-terminale, avec la présence d'une extension formée de 18 acides aminés du côté *C*-terminal (Xu *et al.*, 2010). La deuxième est la substitution d'une isoleucine (Ile) par une valine (Val) en positions 434 et 523, entraînant la disparition d'un groupement méthylène à chaque position (Vane *et al.*, 1998; Hinz & Brune, 2002; Botting, 2006; Phillis *et al.*, 2006). La suppression de ce groupement en position 523 permet l'accès à une poche supplémentaire dans le site actif de cyclo-oxygénase. Cet élargissement d'environ 17% du canal de COX-2 lui donne la possibilité, d'une part, de métaboliser avec les acides arachidonique et dihomo- γ -linoléique, autres substrats comme les acides γ -linoléique, α -linoléique, linoléique et eicosapentaénoïque, et d'autre part, d'être spécifiquement inhibée par certains composés. Le double remplacement de l'isoleucine par la valine en positions 434 et 523 donne également l'espace à l'AA pour qu'il soit même métabolisé par une COX-2 dont la Ser-516 est acétylée par l'acide acétylsalicylique. Dans ce cas particulier, la COX-2 acétylée se conduira comme une 15-LOX, et le produit formé sera le 15-HETE ayant un rôle anti-inflammatoire (Vane *et al.*, 1998; Shrestha Palikhe *et al.*, 2012). Ainsi, l'aspirine bloque la formation des PGs par la COX-2, mais n'inhibe pas complètement son activité.

II.3.3. Expression et localisation

La COX-1 est codée par un gène du chromosome IX de 22 kilobases (kb) ^[88], dont la transcription résulte d'un ARNm de 2,8 kb (Vane *et al.*, 1998; Botting, 2006). Cette protéine ubiquitaire est fortement exprimée dans les plaquettes sanguines, les cellules endothéliales, les cellules épithéliales de la muqueuse gastrique et des cryptes de l'iléon, dans les cellules musculaires lisses du tractus gastro-intestinal, les reins (Vanegas & Schaible, 2001), et le cerveau (Phillis *et al.*, 2006). Le profil de l'expression constitutive de COX-1 et sa distribution à travers l'organisme montrent que les prostanoïdes synthétisées par cette isoforme de COX sont indispensables pour l'homéostasie cellulaire et la fonction physiologique de différents systèmes.

La COX-2 est codée par un gène localisé sur le chromosome I de 8,3 kb, à l'origine de la formation d'un ARNm de 4,5 kb (Vane *et al.*, 1998; Botting, 2006). À la différence de celui de COX-1, le gène de COX-2 possède des sites de liaison avec les facteurs transcriptionnels, notamment le NF- κ B. Ainsi, cette isoforme peut être induite par plusieurs stimuli parmi lesquels les endotoxines bactériennes comme le LPS, les cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 β et le TNF- α , les facteurs de croissance, les hormones, et les mitogènes (Hinz & Brune, 2002;

^[88] La kilobase (kb) est une unité de mesure en biologie moléculaire représentant une longueur de 1 000 paires de bases d'ADN bicaténaire ou de 1 000 bases d'ARN.

Phillis *et al.*, 2006; Strauss, 2008). Inversement, l'expression de COX-2 peut être inhibée par les glucocorticoïdes et les cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-4, l'IL-10 et l'IL-13. Cette forme de régulation transcriptionnelle a attribué à la COX-2 un rôle important au cours des processus pathologiques. Pourtant, les données récentes suggèrent également un rôle physiologique de COX-2. Celle-ci est exprimée de manière constitutive dans l'endothélium de vaisseaux artériels, les ovaires, l'utérus, l'estomac, les reins, et la moelle épinière (Phillis *et al.*, 2006). Au niveau cérébral, la COX-2 est présente exprimée principalement par les neurones, les microglies, et les cellules endothéliales (Phillis *et al.*, 2006).

II.3.4. Réactions catalytiques

L'acide arachidonique constitue le substrat principal des cyclo-oxygénases. Puisque celles-ci ont une double fonction : d'oxygénation et de peroxydation, la métabolisation de l'AA menée par cette famille enzymatique passe par deux étapes successives [Figures 11 et 12]. Tout d'abord, l'enzyme COX catalyse l'oxydation de l'AA en PGG₂ au cours d'une réaction impliquant l'activité cyclo-oxygénase. Ensuite, la PGG₂ est réduite en PGH₂ par l'activité hydroperoxydase (Vane *et al.*, 1998; Chandrasekharan & Simmons, 2004).

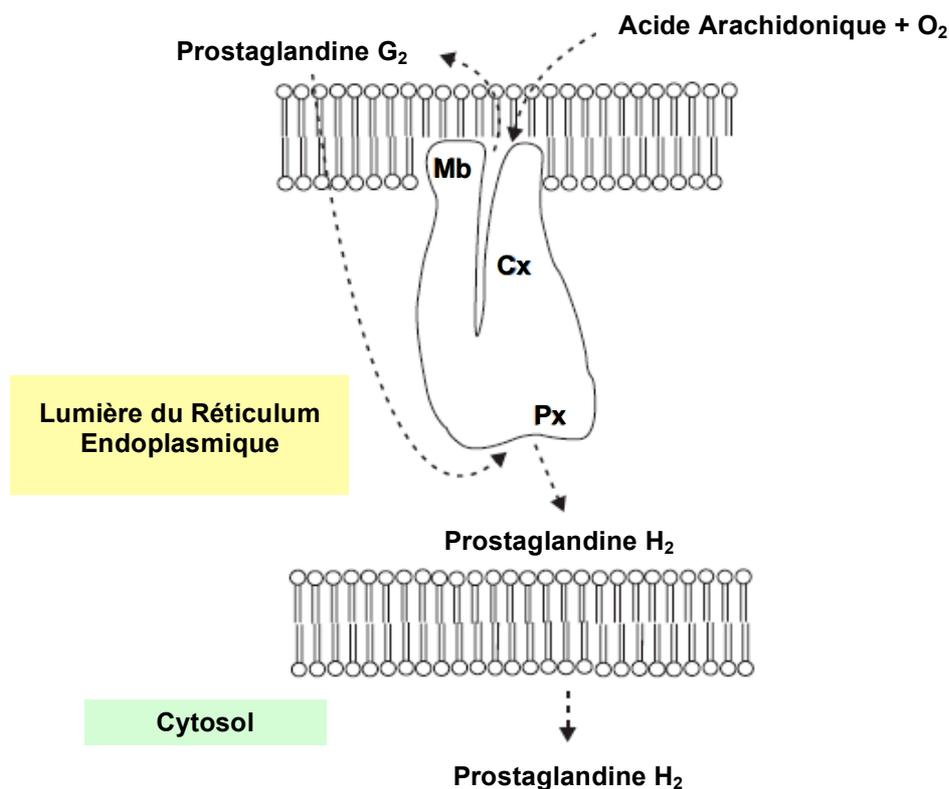


Figure 11 : Schéma montrant deux différents sites catalytiques d'un monomère de cyclo-oxygénase dans la lumière du réticulum endoplasmique (d'après Chandrasekharan & Simmons, 2004)

Abréviations : Cx site d'activité cyclo-oxygénase ; Mb domaine de liaison à la membrane ; Px site d'activité peroxydase.

Une fois que la protéine est synthétisée, il est suggéré que le site catalytique de l'activité cyclo-oxygénase (Cx) a besoin d'être activée au moins pour un premier cycle. Par l'intermédiaire d'un oxydant endogène ou d'une PGG₂ provenant d'une autre COX, l'ion ferrique (Fe³⁺) de l'hème présent dans le site peroxydase (Px) se transformera en radical oxoferryl (Fe⁴⁺=O)[•] [Figure 12 : étape 1]. Le résidu tyrosine^[89] situé au sein du site actif Cx sera activé après sa réduction en radical tyrosyl par l'ion oxoferryl du site Px [Figure 12 : étape 2].

Après la formation du radical tyrosyl, et par conséquent l'activation de COX, les deux réactions cyclo-oxygénase et peroxydase fonctionnent indépendamment car le radical tyrosyl sera régénéré après chaque étape de cyclo-oxygénation [Figure 12 : étape 5].

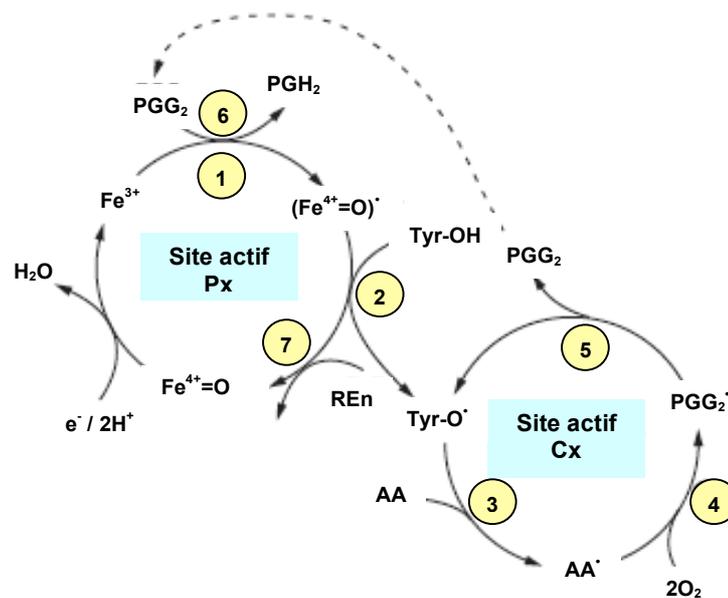


Figure 12 : Schéma de l'hypothèse des réactions cyclo-oxygénase et peroxydase de l'acide arachidonique catalysées par l'enzyme cyclo-oxygénase (d'après Chandrasekharan & Simmons, 2004)

Abréviations : AA acide arachidonique ; AA[•] radical arachidonyle ; Cx site d'activité cyclo-oxygénase ; e⁻ électron ; Fe³⁺ cation ferrique de l'hème ; (Fe⁴⁺=O)[•] cation radical oxoferryl de la porphyrine de l'hème ; H⁺ proton ; H₂O molécule d'eau ; O₂ molécule d'oxygène ; PG prostaglandine ; PGG₂[•] radical prostaglandyle G₂ ; Px site d'activité peroxydase ; REn réducteur endogène ; Tyr-OH site actif du tyrosine ; Tyr-O[•] radical tyrosyl.

II.3.4.1. Réaction cyclo-oxygénase

Dans un premier temps, la métabolisation de l'AA par COX commencera au site catalytique de cyclo-oxygénation par l'oxydation de cet acide gras poly-insaturé, et la formation de cyclopentane hydroperoxy endopéroxyde ou PGG₂. Cette réaction d'oxydation aura lieu sur deux étapes. Le résidu tyrosine à l'état radicalaire arrachera un proton à l'AA pour former un radical arachidonyle instable [Figure 12 : étape 3]. Ce dernier recevra ensuite deux molécules d'oxygène pour donner PGG₂ radicalaire (PGG₂[•]) [Figure 12 : étape 4]. Celle-ci transférera son électron libre au résidu tyrosine pour le retransformer en radical tyrosyl nécessaire à un nouveau cycle de cyclo-oxygénation [Figure 12 : étape 5].

^[89] C'est le résidu Tyrosine en position 385 (Tyr-385) pour COX-1, et en position 371 (Tyr-371) pour COX-2 [Figure 10].

II.3.4.2. Réaction peroxydase

Dans un deuxième temps, la PGG₂ diffusera vers le site actif voisin ayant une activité peroxydase où elle est réduite en hydroxy endopéroxyde ou PGH₂ [Figure 12 : étape 6]. Ce dernier est le précurseur des prostaglandines de la série indice 2. L'ion ferrique est régénéré par un réducteur endogène [Figure 12 : étape 7].

II.3.5. Cascade cyclo-oxygénase / prostanoides

Après la formation de PGH₂ par la COX, une série d'enzymes prennent le relais pour synthétiser des prostaglandines et de thromboxane, regroupées sous le terme de prostanoides [Figure 13]. À l'heure actuelle, les prostaglandines connues pour être fonctionnelles sont de type PGD₂, PGE₂, PGF_{2α} et PGI₂ [Figure 13 et Tableau VI]. Une fois formées, elles sont rapidement catabolisées par diverses enzymes à l'exception de la PGI₂ qui subit une hydrolyse spontanée. Le type de prostanoides formé dépend surtout de type cellulaire car les PG synthases ne sont pas toutes présentes dans la cellule. Au niveau cérébral, les deux types majoritaires de PGs formés à l'état physiologique chez le rat sont la PGD₂ et la PGF_{2α} (Hétu & Riendeau, 2005). Dans le système nerveux central, les prostanoides jouent un rôle dans le flux sanguin cérébral, la régulation de la température et du cycle éveil/sommeil, la prolifération et la différenciation neuronales, l'appétit, la synaptogenèse et la transmission synaptique, la modulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien, ainsi que dans la libération des neurotransmetteurs (Phillis *et al.*, 2006).

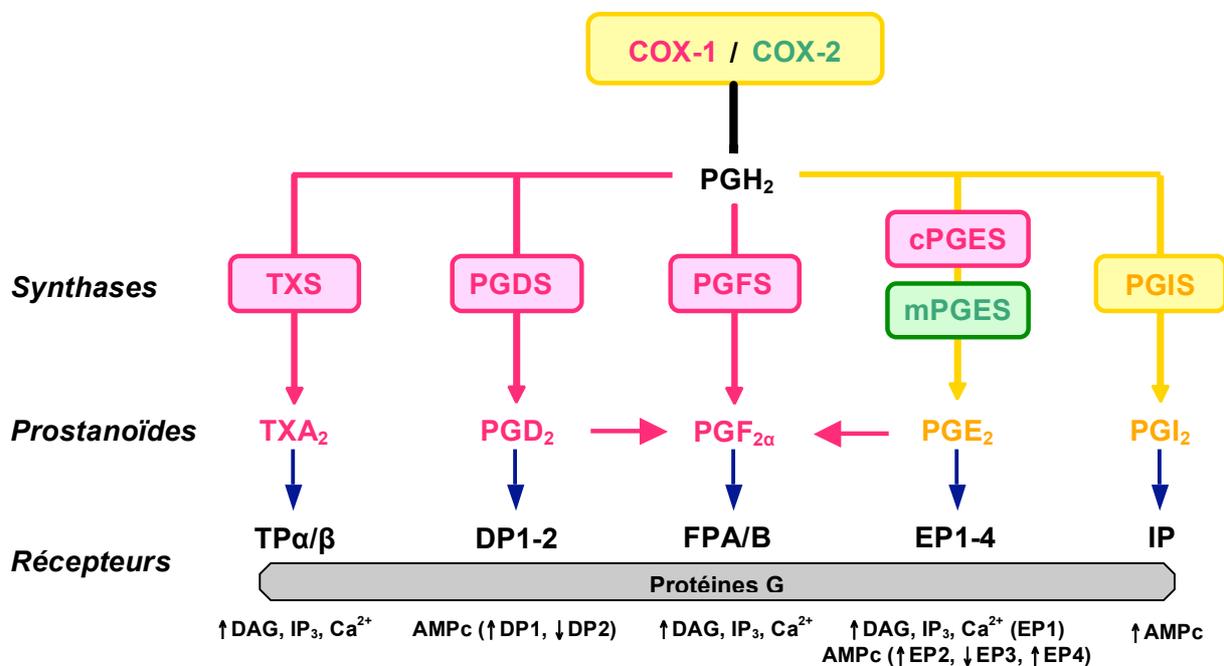


Figure 13 : Schéma simplifié de la voie de métabolisation de prostaglandine H₂ et la formation des prostanoides (d'après Candelario-Jalil & Fiebich, 2008)

Abréviations : AMPc adénosine monophosphate cyclique ; c cytosolique ; Ca²⁺ cation calcique ; COX cyclo-oxygénase ; DAG diacylglycérol ; IP₃ inositol-trisphosphate ; m microsomale ; P prostanoides ; PG prostaglandine ; S synthase ; TX thromboxane.

II.3.5.1. Voie de PGE₂ synthèse

La PGE₂ est générée par la PGE synthase (PGES). Celle-ci existe sous trois formes : une forme cytosolique (cPGES), et deux formes microsomaux ou membranaires (mPGES)-1 et -2^[90] [Tableau V] (Helliwell *et al.*, 2004; Hara *et al.*, 2010). Il est connu que la cPGES et la mPGES-1 appartiennent à la superfamille de glutathion S-transférase. La cPGES et la mPGES-2 sont constitutivement exprimées dans la plupart de tissus, sauf au niveau cérébral où la cPGES montrant un couplage fonctionnel préférentiel avec la COX-1, peut être aussi induite suite à l'injection au LPS (Tanioka *et al.*, 2000). Comme pour le couple COX-1/cPGES, une synchronisation entre l'induction de COX-2 et celle de mPGES-1 par certains médiateurs pro-inflammatoires comme l'IL-1 β a été également suggérée (Murakami *et al.*, 2000). Ainsi, l'inhibition de mPGES-1 pourrait constituer une stratégie anti-inflammatoire intéressante.

| | cPGES | mPGES-1 | mPGES-2 |
|--------------------------|----------------|--------------------------|--------------------------------|
| Position du gène | Chromosome XII | Chromosome IX | Chromosome IX |
| Glutathion | Dépendant | Dépendant | Indépendant |
| Expression | Constitutive | Inductible | Constitutive |
| Poids Moléculaire | 23 KDa | 16 KDa | 33 KDa |
| Nombre d'acides aminés | 160 | 152-153 | 377-384 |
| Localisation | Cytoplasme | Membrane périmoléculaire | Cytoplasme - Appareil de Golgi |
| Préférence pour les COXs | COX-1 > COX-2 | COX-2 > COX-1 | COX-1 = COX-2 |

Tableau V : Caractéristiques des trois isoformes de la prostaglandine E synthase (d'après Hara *et al.*, 2010)

Abréviations : COX cyclo-oxygénase ; kDa Kilodalton ; PGES prostaglandine E synthase.

La PGE₂ est la plus abondante dans l'organisme, et la plus étudiée parmi toutes les prostanoïdes (Helliwell *et al.*, 2004; Féléto *et al.*, 2011). Sa production à l'état basal est impliquée dans la sécrétion et la motilité gastriques, la formation osseuse, la reproduction chez la femme, ainsi que dans la régulation de la température corporelle, du sommeil, de la fonction rénale, et de la pression artérielle. Elle est également considérée comme médiateur jouant un rôle fondamental dans la fièvre, la douleur, et l'inflammation. Son implication dans une multitude d'atteintes cérébrales à composante neurodégénérative a été établie. Ce rôle *a priori* délétère a été suggéré d'être en lien avec l'activation d'une réponse immunitaire neuro-inflammatoire pouvant aboutir à la mort cellulaire (Hein & O'Banion, 2009). Or, les données récentes de la littérature montrent que cette PG possède un double rôle, bénéfique ou délétère, selon des mécanismes qui ne sont pas encore élucidés.

^[90] Tandis que la mPGES-1 inductible est fixée aux membranes périmoléculaires, la mPGES-2 constitutive est liée à la membrane de l'appareil de Golgi.

Il existe quatre sous-classes de récepteurs à la PGE₂ (EPs1-4) qui sont couplés à des protéines G différentes (Milatovic *et al.*, 2011). Ceux-ci présentent des différences structurelles, pharmacologiques et fonctionnelles qui déterminent les effets biologiques des PGE₂. Le récepteur EP1 active la phospholipase C, conduisant à l'élévation du diacylglycérol ainsi que de l'inositol-trisphosphate. Ce dernier mobilise le Ca²⁺ des stocks intracellulaires^[91]. Les récepteurs EP2 et EP4 induisent la stimulation de l'adénylate cyclase et de la voie adénosine monophosphate cyclique (AMPC). Par contre, la signalisation *via* le récepteur EP3 diminue le taux d'AMPC.

Les récepteurs EPs sont exprimés dans presque tous les systèmes, y compris le système nerveux central. Ils sont trouvés dans l'endothélium, les microglies, les astrocytes et les neurones. Au niveau neuronal, l'expression des récepteurs EP4 est limitée à l'hypothalamus, tandis que celle des récepteurs EP1, EP2 et EP3 est détectée dans l'hippocampe, le striatum et le cortex (Milatovic *et al.*, 2011). Jouant un rôle potentiel dans la plasticité synaptique, les récepteurs EP2 et EP3 sont les plus exprimés de manières présynaptiques et postsynaptiques respectivement (Hein & O'Banion, 2009). Pourtant, ce sont les récepteurs EP3 et EP4 qui possèdent la plus grande affinité pour la PGE₂.

II.3.5.2. Voie de PGF_{2α} synthèse

Les différentes isoformes de PGF₂ peuvent être synthétisées à partir de PGH₂, de PGD₂, et de PGE₂ par des synthases distinctes (Helliwell *et al.*, 2004; Féléto *et al.*, 2011). La PGF_{2α} se lie à un seul type de récepteurs (FP), qui existe avec deux variants d'épissage : FPA et FPB. Ce récepteur possède une faible sélectivité. Aux concentrations nanomolaires, il peut fixer d'autres prostanoides, comme la PGD₂ et la PGE₂. L'activation de ce récepteur induit une augmentation intracellulaire du calcium. La PGF_{2α} est impliquée dans l'accouchement, la fonction rénale, la régulation de la pression intraoculaire, l'hypertrophie cardiaque, l'hypertension artérielle, et l'athérogénèse.

II.3.5.3. Voie de PGI₂ synthèse

La PGI₂ (prostacycline) est le métabolite principal de l'AA dans les cellules musculaires lisses et l'endothélium. C'est un très puissant vasodilatateur et antiagrégant plaquettaire^[92] (Moncada & Vane, 1978). Elle possède des propriétés anti-inflammatoires par l'inhibition de l'adhésion leucocytaire (Helliwell *et al.*, 2004). Cette PG instable est formée par la PGI₂ synthase (PGIS) appartenant à la superfamille enzymatique des CYP450 (Féléto *et al.*, 2011). Cette protéine est largement exprimée dans les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses des vaisseaux, et les neurones. La prostacycline active le récepteur IP. Couplé à une

^[91] Principalement du réticulum endoplasmique.

^[92] La prostacycline empêche l'agrégation des plaquettes ainsi que leur adhésion à la surface de cellules endothéliales.

protéine G, ce récepteur est présent à la surface des plaquettes, des cellules musculaires lisses et de l'endothélium. La stimulation de ce récepteur conduit le plus souvent à la stimulation de l'adénylate cyclase et l'augmentation de l'AMPc.

II.3.5.4. Voie de PGD₂ synthase

Il existe deux isoformes de PGD₂ synthase (PGDS) : l'hématopoïétique et la lipocaline. Tandis que la première^[93] est cytosolique et glutathion dépendante, la deuxième^[94] est sécrétée et glutathion indépendante (Helliwell *et al.*, 2004).

Essentiellement impliquée dans la régulation du sommeil et de la réponse allergique, la PGD₂ est la plus abondante des prostanoïdes au sein du système nerveux central et dans les cellules immunitaires (Féléto *et al.*, 2011; Surh *et al.*, 2011). Elle peut aussi être synthétisée dans l'endothélium. Ce type de PGs est relativement instable, et peut subir une dégradation spontanée en PGJ₂. Après un réarrangement intramoléculaire du double lien en position (13,14) qui est suivi par une déshydratation, la PGJ₂ sera transformée en une PG de type cyclopentenone appelée la 15-désoxy-delta^{12,14}-prostaglandine J₂ (15-désoxy-Δ^{12,14}-PGJ₂).

La PGD₂ exerce ses effets à travers deux types de récepteurs membranaires dont la stimulation est associée à un flux intracellulaire de calcium. Couplés à deux protéines G différentes, tandis que le récepteur DP1 aboutit à une augmentation de l'AMPc, le récepteur DP2^[95] induit sa diminution.

La PGD₂ et ses produits de dégradation semblent jouer un rôle complexe dans l'inflammation. Cette PG a une puissante action pro-inflammatoire, notamment par l'activation leucocytaire *via* son récepteur DP2 qui est un membre de la famille des chimiokines.

Toutefois, la 15-désoxy-Δ^{12,14}-PGJ₂ exerce un effet anti-inflammatoire autocrine par l'intermédiaire de plusieurs agents intracellulaires (Surh *et al.*, 2011). Ce métabolite est un ligand endogène du récepteur activé par les proliférateurs des peroxysomes- (PPAR-) γ. Ce dernier est à l'origine de la plupart des effets anti-inflammatoires de la PGD₂, impliquant l'inhibition de gènes qui codent pour certains médiateurs pro-inflammatoires tels que la NO synthase inductible, l'IL-1β, l'IL-6, et le TNF-α (Gilroy & Colville-Nash, 2000).

^[93] Appartenant à la famille de Glutathion S-Transférase, la PGDS hématopoïétique est localisée essentiellement dans les mégacaryocytes, les mastocytes, et les cellules présentant l'antigène. Elle est ainsi largement exprimée dans la rate, la moelle osseuse, l'intestin, la peau, le thymus, l'estomac, les reins, et les testicules.

^[94] La lipocaline est une enzyme ayant une double fonction : la production de PGD₂ et l'interaction physique avec les petites molécules hydrophobes telles que les stéroïdes, les sels biliaires, et les rétinoïdes. Elle est exprimée dans le cerveau, la moelle épinière, et l'épididyme.

^[95] Homologue au récepteur exprimé sur les cellules TH2, le récepteur DP2 est également appelé CRTH2.

Sans l'implication de PPAR- γ , cette cyclopentenone PG peut directement inhiber les voies de signalisation du NF- κ B^[96] et d'autres facteurs transcriptionnels qui sont stimulées par les médiateurs pro-inflammatoires (Surh *et al.*, 2011). Un autre mécanisme anti-inflammatoire de la 15-désoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂ impliquant l'inhibition de la mPGES a été également démontré *in vitro* (Quraishi *et al.*, 2002).

II.3.5.5. Voie de TXA₂ synthèse

Le thromboxane A₂ (TXA₂) est un puissant vasoconstricteur, et activateur des plaquettes (Moncada & Vane, 1978; Félétou *et al.*, 2011). Il est formé dans les plaquettes, les monocytes, et les cellules musculaires lisses des vaisseaux. Puisque le TXA₂ et la PGI₂ exercent des effets biologiques opposés, l'équilibre entre ces deux composés est crucial pour le maintien de conditions physiologiques au niveau vasculaire (Helliwell *et al.*, 2004). Ce type instable de prostanoïdes est synthétisé par la thromboxane synthase (TXS) appartenant à la superfamille enzymatique des CYP450 (Félétou *et al.*, 2011). Le TXA₂ est le ligand préférentiel des récepteurs TP. Ces derniers sont exprimés dans les plaquettes, l'endothélium, les cellules musculaires lisses, les macrophages, les astrocytes, et les monocytes. La PGH₂, certains types de PGs^[97] en plus fortes concentrations, les HETEs, et les isoprostanes^[98] peuvent également activer ces récepteurs couplés à deux protéines G différentes. Cette activation stimule la phospholipase C ainsi que la cascade calcique, et module l'activité de l'adénylate cyclase ainsi que le taux de l'AMPc. En revanche, les EETs et leurs métabolites sont considérés comme antagonistes endogènes pour ce type de récepteurs.

^[96] Le NF- κ B est normalement séquestré dans le cytoplasme par sa liaison à un ou plusieurs répresseurs tels que la protéine inhibitrice κ B (I κ B) formant un complexe inactif. L'activation du NF- κ B est initiée par la stimulation de l'I κ B kinase qui induit la phosphorylation suivie par la dégradation de l'I κ B. Une fois libéré, le NF- κ B est transloqué au noyau pour induire l'expression de gènes pro-inflammatoires. La 15-désoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂ peut amortir la stimulation transcriptionnelle due à l'activation du NF- κ B, par une alkylation des cystéines de l'I κ B kinase induisant son inactivation, ou en empêchant la translocation nucléaire du NF- κ B et ainsi sa liaison à l'ADN (Surh *et al.*, 2011).

^[97] Comme la PGD₂ par exemple.

^[98] Les isoprostanes sont des PGs générées non-enzymatiquement à partir de l'AA par les RLs. Ces composés lipidiques sont considérés comme biomarqueurs spécifiques de la peroxydation lipides (Cracowski *et al.*, 2000). Les isoprostanes sont de puissants vaso- et bronchoconstricteurs. Elles provoquent l'activation plaquettaire ainsi que la prolifération des fibroblastes et des cellules endothéliales.

| Prostaglandine | Récepteur | Effets Physiologiques |
|--|-----------------|---|
| PGI₂ (prostacycline) | IP | - Bronchodilatation - Inhibition de l'agrégation plaquettaire - Vasodilatation |
| PGE₂ | EP ₁ | - Bronchoconstriction - Contraction des muscles lisses du tube digestif - Régulation de la tension artérielle |
| | EP ₂ | - Bronchodilatation - Relaxation des muscles lisses du tube digestif - Vasodilatation |
| | EP ₃ | - Diminution de la sécrétion de l'acide gastrique - Augmentation de la sécrétion du mucus gastrique - Contractions utérines pendant la grossesse - Contraction des muscles lisses du tube digestif - Inhibition de la lipolyse - Augmentation des neurotransmetteurs - Action pyrogène - Réabsorption rénale |
| | EP ₄ | - Niveau et stabilité de l'ARNm de COX-2 - Adaptation néonatale du système circulatoire |
| | Non déterminé | - Hyperalgésie - Action pyrogène |
| PGD₂ | DP ₁ | - Augmentation du flux sanguin et de la perméabilité vasculaire - Relaxation endothélium- et NO-dépendante des muscles lisses |
| | DP ₂ | - Membre de la famille de récepteurs de chimiokines |
| | TP | - Contraction endothélium-indépendante des muscles lisses |
| PGF_{2α} | FP | - Bronchoconstriction - Stimulation des contractions utérines - Induction de la parturition - Modulation de la pression intraoculaire |

Tableau VI : Différents récepteurs de prostaglandines et les effets biologiques de leurs stimulations (d'après Anderson, 2008; Féléto et al., 2011)

Abréviations : ARNm acide ribonucléique messenger ; COX-2 cyclo-oxygénase de type 2 ; P récepteur ayant comme ligand un certain type de prostaglandine ; PG prostaglandine.

II.3.6. Cyclo-oxygénases et traumatisme crânien

Depuis leur clonage à la fin des années 1980s, la littérature scientifique fournissait de plus en plus d'arguments en faveur de l'inhibition des cyclo-oxygénases de manière générale, et de leur isoforme inducible, la COX-2 en particulier, comme stratégie pour le traitement du TC (Hurley et al., 2002). Une douzaine d'études expérimentales se sont intéressées au rôle de cette famille enzymatique dans les conséquences post-traumatiques [Tableau VII]. Les données issues de ces travaux sont très complexes, contradictoires et non concluantes.

Ces études ont été exclusivement réalisées chez deux types de rongeurs : le rat ^[99], et récemment ^[100] la souris ^[101]. Chez le rat, hormis une étude par une approche non sélective (Kim *et al.*, 1989), tous les travaux se sont intéressés à l'inhibition pharmacologique de COX-2. Le déficit neurologique, moteur ou cognitif, a été utilisé comme le critère principal de jugement. Selon cet indicateur de pertinence clinique, l'inhibition de COX-2 peut être bénéfique (Cernak *et al.*, 2002; Gopez *et al.*, 2005; Hakan *et al.*, 2010), sans effet (Dash *et al.*, 2000; Koyfman *et al.*, 2000; Cernak *et al.*, 2002; Gopez *et al.*, 2005; Hickey *et al.*, 2007), ou délétère (Dash *et al.*, 2000). En revanche, deux études se sont intéressées à l'œdème cérébral, et ont montré que les inhibiteurs de COX-2 n'avaient aucun effet (Koyfman *et al.*, 2000; Hakan *et al.*, 2010) malgré une amélioration au niveau de l'ouverture post-traumatique de la BHE (Hakan *et al.*, 2010). Une amélioration (Gopez *et al.*, 2005) ou une absence d'effet (Kunz *et al.*, 2006) a été signalée au niveau de la mort neuronale. Le volume de lésion n'a été quantifié que dans une seule étude où il n'était pas modifié par l'inhibition de COX-2 (Hickey *et al.*, 2007). De même, une seule étude a montré que la COX-2 jouait un rôle délétère dans la neuro-inflammation et le stress oxydant post-traumatiques (Hakan *et al.*, 2010). Chez la souris, hormis une récente étude utilisant un composé pharmaceutique (Thau-Zuchman *et al.*, 2012), les autres travaux ont adopté une approche transgénique (Ahmad *et al.*, 2008; Kelso *et al.*, 2009). La délétion génétique de COX-2 n'influçait pas (Ahmad *et al.*, 2008) ou très peu (Kelso *et al.*, 2009) le volume de lésion, ne modifiait pas le déficit cognitif (Ahmad *et al.*, 2008; Kelso *et al.*, 2009), aggravait l'activation microgliale (Kelso *et al.*, 2009), et améliorait partiellement la mort neuronale au niveau de l'hippocampe (Ahmad *et al.*, 2008). L'intérêt de l'inhibition pharmacologique de COX-2 n'a été testé chez la souris que très récemment. L'utilisation d'un inhibiteur présumé sélectif pour la COX-2 a été montrée bénéfique aux niveaux du déficit neurologique, de l'œdème cérébral, du volume de lésion, de la neuro-inflammation, et de la prolifération cellulaire (Thau-Zuchman *et al.*, 2012). Par ailleurs, une seule étude utilisant des souris transgéniques COX-1^{-/-} a montré que la délétion génétique de cette isoforme constitutive était sans effet sur le déficit cognitif, le volume de lésion, et l'activation microgliale (Kelso *et al.*, 2009).

L'ensemble de ces données montre que l'implication des COXs et surtout celle de COX-2 dans les conséquences post-traumatiques reste controversée. Il est donc nécessaire de poursuivre la recherche afin de pouvoir identifier le rôle de COX dans l'évolution des lésions induites par le trauma crânien.

^[99] Huit études.

^[100] Après le démarrage de ce projet.

^[101] Trois études.

| Référence | Modèle | Espèce | Isoforme | Approche | Variable | Temps Post-Trauma | Technique | Effet |
|------------------------------|-------------------------------|--------|----------------|--|--------------------------------|-------------------|---|--------------|
| Kim <i>et al.</i> , 1989 | Percussion Latérale de Fluide | Rat | COX-1 COX-2 | Pharmacologique (Indométacine) 3 mg/kg, voie intrapéritonéale, 10 à 15 minutes avant le trauma | Mortalité | 1 heure | - | Amélioration |
| | | | | | Hémorragie sous-arachnoïdienne | | Examen Macroscopique | |
| Dash <i>et al.</i> , 2000 | Impact Cortical Latéral | Rat | COX-2 | Pharmacologique (Celecoxib) 50 mg/kg, voie orale, 2 fois/jour | Déficit Moteur | 1 à 4 jours | Balance sur la poutre, flexion de la patte comme réaction à la suspension par la queue et fautes d'appui en marchant sur une grille | Aggravation |
| | | | | | Déficit Cognitif | 7 à 11 jours | Piscine de Morris | Sans Effet |
| Koyfman <i>et al.</i> , 2000 | Lâcher de Poids | Rat | COX-2 | Pharmacologique (Nimésulide) 30 mg/kg, voie intrapéritonéale, 1 fois/jour | Déficit Neurologique | 1 et 24 heures | Score de Sévérité Neurologique | Sans Effet |
| | | | | | Œdème Cérébral | 24 heures | Contenu Cérébral en Eau | |

Tableau VII : Implication de la cyclo-oxygénase dans les conséquences post-traumatiques évaluées *in vivo* chez l'Animal (1/5)

| Référence | Modèle | Espèce | Isoforme | Approche | Variable | Temps Post-Trauma | Technique | Effet |
|-----------------------------|-------------------------------|--------|----------|--|-----------------------------|-------------------|---------------------------------------|--------------|
| Cernak <i>et al.</i> , 2002 | Impact d'Accélération | Rat | COX-2 | Pharmacologique (Nimésulide) 6 mg/kg, voie intrapéritonéale, 30 minutes post-Trauma 1 fois/jour pendant 10 jours | Déficit Moteur | 1 à 10 jours | Rotarod | Sans Effet |
| | | | | | Déficit Cognitif | | Labyrinthe Circulaire de Barnes | Amélioration |
| Gopez <i>et al.</i> , 2005 | Impact Cortical Latéral | Rat | COX-2 | Pharmacologique (DFU) ^[102] 1 ou 10 mg/kg, voie intrapéritonéale, 10 min. pré-, ou 2 ou 6 h. post-Trauma, 2 fois/jour pendant 3 jours | Déficit Moteur | 3 jours | Réflexes | Amélioration |
| | | | | | Déficit Cognitif | | Marche sur la Poutre | Sans Effet |
| | | | | | Mort Neuronale par Apoptose | 72 heures | Piscine de Morris | Amélioration |
| Kunz <i>et al.</i> , 2006 | Percussion Latérale de Fluide | Rat | COX-2 | Pharmacologique (Rofecoxib) 10 mg/kg, voie intrapéritonéale, 2, 3 ou 6 doses | Mort Neuronale | 1 à 3 jours | Marquage au TUNEL ou au Fluoro-Jade B | Sans Effet |

Tableau VII : Implication de la cyclo-oxygénase dans les conséquences post-traumatiques évaluées *in vivo* chez l'Animal (2/5)

^[102] Le DFU ou le [5,5-diméthyl-3(3-fluorophényl)-4(4-méthylsulfonyl)phényl-2(5H)-furanone] est un inhibiteur très sélectif de COX-2.

| Référence | Modèle | Espèce | Isoforme | Approche | Variable | Temps Post-Trauma | Technique | Effet |
|-------------------------------------|--------------------------|--------|----------------|--|--|-------------------|---------------------------|--|
| Hickey <i>et al.</i> , 2007 | Impact Cortical Contrôlé | Raton | COX-2 | Pharmacologique (SC58125) 30 mg/kg, voie orale, 2 doses | Volume de Lésion | 18 jours | Système d'Analyse d'Image | Sans Effet |
| | | | | | Déficit Cognitif | 11 à 15 jours | Piscine de Morris | |
| Ahmad <i>et al.</i> , 2008 | Impact Cortical Contrôlé | Souris | COX-2 | Transgénique (COX-2 ^{-/-}) | Mort Neuronale | 24 heures | Marquage au TUNEL | Amélioration Partielle ^[103] |
| | | | | | Déficit Cognitif | 14 à 18 jours | Piscine de Morris | Sans Effet |
| | | | | | Volumes de Lésion et de l'Hémisphère Ipsilatéral | 21 jours | Système d'Analyse d'Image | |
| Kelso <i>et al.</i> , 2009 | Impact Cortical Contrôlé | Souris | COX-1 COX-2 | Transgénique (COX-1 ^{-/-}) (COX-2 ^{-/-}) | Déficit Cognitif | 5 à 9 jours | Piscine de Morris | Sans Effet |
| | | | | | Volume de Lésion | 9 jours | Système d'Analyse d'Image | COX-1 ^{-/-} Sans Effet |
| | | | | | | | | COX-2 ^{-/-} Amélioration de 6% |
| | | | | | | | | Neuro-inflammation |
| COX-2 ^{-/-} Aggravation | | | | | | | | |

Tableau VII : Implication de la cyclo-oxygénase dans les conséquences post-traumatiques évaluées *in vivo* chez l'Animal (3/5)

^[103] La diminution au niveau du marquage a été uniquement observée dans la région CA1 de l'hippocampe.

| Référence | Modèle | Espèce | Isoforme | Approche | Variable | Temps Post-Trauma | Technique | Effet |
|----------------------------|-----------------|--------|----------|---|--|-------------------|--|--------------|
| Hakan <i>et al.</i> , 2010 | Lâcher de Poids | Rat | COX-2 | Pharmacologique (Méloxicam) 2 mg/kg/jour, voie intrapéritonéale 30 min. post-Trauma | Déficit Neurologique | 2 jours | Score de Sévérité Neurologique | Amélioration |
| | | | | | Ouverture de la Barrière Hémato-Encéphalique | | Extravasation de Bleu Evans | |
| | | | | | Œdème Cérébral | | Contenu Cérébral en Eau | Sans Effet |
| | | | | | Neuro-inflammation | | Activité Myéloperoxidase | Amélioration |
| | | | | | Stress Oxydant | | Malondialdéhyde | |
| | | | | | | | Glutathion | |
| | | | | | | | Activité Na ⁺ /K ⁺ -ATPase | Sans Effet |

Tableau VII : Implication de la cyclo-oxygénase dans les conséquences post-traumatiques évaluées *in vivo* chez l'Animal (4/5)

| Référence | Modèle | Espèce | Isoforme | Approche | Variable | Temps Post-Trauma | Technique | Effet |
|-----------------------------------|-----------------|--------|----------|--|--|------------------------------|-----------------------------------|--------------|
| Thau-Zuchman <i>et al.</i> , 2012 | Lâcher de Poids | Souris | COX-2 ? | Pharmacologique (Carprofen) 5 mg/kg/jour, voie sous-cutanée, pendant 7 jours | Déficit Neurologique | 1 à 90 jours | Score de Sévérité Neurologique | Amélioration |
| | | | | | Œdème Cérébral | 24 heures | Contenu Cérébral en Eau | |
| | | | | | Cytokines (Interleukines-1 β , -4, -6, et -10) | 4 heures | Enzyme-Linked Immunosorbent Assay | |
| | | | | | Volume de Lésion | 90 jours | Système d'Analyse d'Image | |
| | | | | | Activation Microgliale | | Marquage au Iba1 | |
| | | | | | Prolifération Cellulaire | | Marquage au BrdU | |
| | | | | | Prolifération Astrocytaire | | Double Marquage au BrdU/GFAP | |
| | | | | | Prolifération Oligodendrogliale | | Double Marquage au BrdU/GAL-C | |
| | | | | | Présence des Neuroblastes | | Marquage au DCX | |
| | | | | | Prolifération des Neurones | Double Marquage au BrdU/NeuN | Sans Effet | |

Tableau VII : Implication de la cyclo-oxygénase dans les conséquences post-traumatiques évaluées *in vivo* chez l'Animal (5/5)

TROISIEME CHAPITRE : ANTI-INFLAMMATOIRES NON STEROÏDIENS

I. Historique

L'histoire des anti-inflammatoires non stéroïdiens a commencé avec l'utilisation des feuilles et de l'écorce de saule ^[104] par les anciens égyptiens et par *Hippocrate* ^[105] pour traiter la fièvre et/ou la douleur. Après des milliers d'années d'un usage empirique de cette plante médicinale, c'est en 1897 que *Felix Hoffmann* ^[106] fut le premier à synthétiser l'acide acétylsalicylique mieux toléré au niveau du goût que l'acide salicylique extrait de la plante (Wu, 2000; Ballinger & Smith, 2001; Vane & Botting, 2003). En 1899, l'appellation Aspirine® fut enregistrée, et un an après, les premiers comprimés furent fabriqués. À l'heure actuelle, la famille des AINS à laquelle appartient l'acide acétylsalicylique possède de nombreuses indications thérapeutiques, tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire. Avec un large spectre d'activités pharmacologiques de type anti-inflammatoire, analgésique, antipyrétique et antiplaquettaire, les AINS sont aujourd'hui une des classes médicamenteuses les plus utilisées dans le monde (Warner & Mitchell, 2002).

II. Cibles et mécanismes d'action

II.1. Inhibition des cyclo-oxygénases

Le mécanisme d'action des AINS a été décelé sept décennies après la découverte de l'acide acétylsalicylique. En effet, les AINS exercent un effet anti-inflammatoire essentiellement par l'inhibition de l'activité enzymatique de COX (Vane, 1971). Puisque celle-ci en utilisant l'AA comme substrat génère plusieurs types de prostanoïdes ayant un rôle crucial dans l'inflammation, les AINS permettent de limiter la quantité de médiateurs pro-inflammatoires produits lors de ce processus immunitaire, et par conséquent, constituent une stratégie thérapeutique intéressante pour le traitement de l'inflammation. Or, comme nous l'avons déjà mentionné dans le chapitre précédent, l'activité COX est également indispensable pour le bon fonctionnement de la cellule, ce qui explique en grande partie les effets secondaires des AINS.

^[104] Le saule ou « *Salix* » est un genre d'arbres, d'arbustes, d'arbrisseaux de la famille des Salicacées « *Salicaceae* ». Il comprend plus que 350 espèces, réparties à travers le monde, principalement dans les zones fraîches et humides des régions tempérées et froides de l'hémisphère nord.

^[105] *Hippocrate le Grand* (460-370 avant Jésus-Christ), aussi appelé *Hippocrate de Cos*, est considéré comme le père de la médecine.

^[106] C'est un chimiste allemand employé chez Bayer.

Pour cela, le dernier siècle a été témoin du développement de nouvelles molécules ayant une certaine affinité vis-à-vis de COX-2, l'isoforme inductible présumée délétère, ce qui permet *a priori* de diminuer les effets indésirables des AINS tout en gardant leur efficacité. Ainsi, on peut anticiper que les AINS n'inhibent pas tous l'activité COX de la même façon.

Lors de notre description de COX, nous avons montré que le site catalytique de cette famille enzymatique ressemble à un long tunnel terminé par un cul-de-sac élargi. D'une part, les AINS non sélectifs bloquent l'entrée du site actif de COX en se liant *via* leur groupement carboxyl à un résidu arginine en position 120 (Arg-120) (Vane *et al.*, 1998). Ainsi, cette liaison à l'arginine située à l'entrée du tunnel empêche l'AA d'atteindre le site catalytique de l'enzyme [Figure 14].

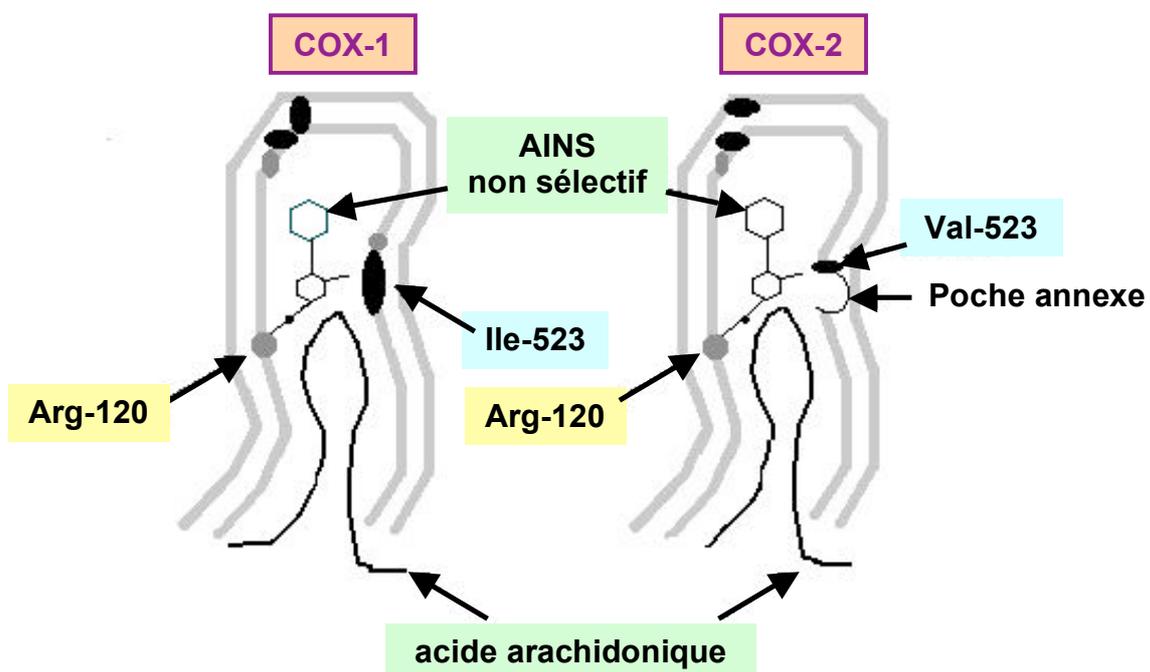


Figure 14 : Représentation schématique de l'inhibition des cyclo-oxygénases par un anti-inflammatoire non stéroïdien non sélectif (d'après Hawkey, 1999)

Abréviations : AINS anti-inflammatoire non stéroïdien ; Arg arginine ; COX cyclo-oxygénase ; Ile isoleucine ; Val valine.

D'autre part, les AINS inhibant préférentiellement ou sélectivement la COX-2, comme la famille des coxibs, pénètrent également dans le site actif mais ne réagissent pas avec l'Arg-120. Dans le canal de COX-2, les coxibs se lient à une poche latérale grâce à leur groupement phénylesulfonamide, de manière lente, irréversible et temps-dépendante, empêchant l'AA d'entrer dans le tunnel [Figure 15]. Cette poche annexe est inexistante dans le site catalytique de COX-1, puisqu'en position 523 se trouve un résidu isoleucine, plus volumineux que le résidu valine présent à la même position dans COX-2, et donc occupant tout l'espace (Vane *et al.*, 1998). Les coxibs possèdent ainsi très peu d'affinité pour la COX-1.

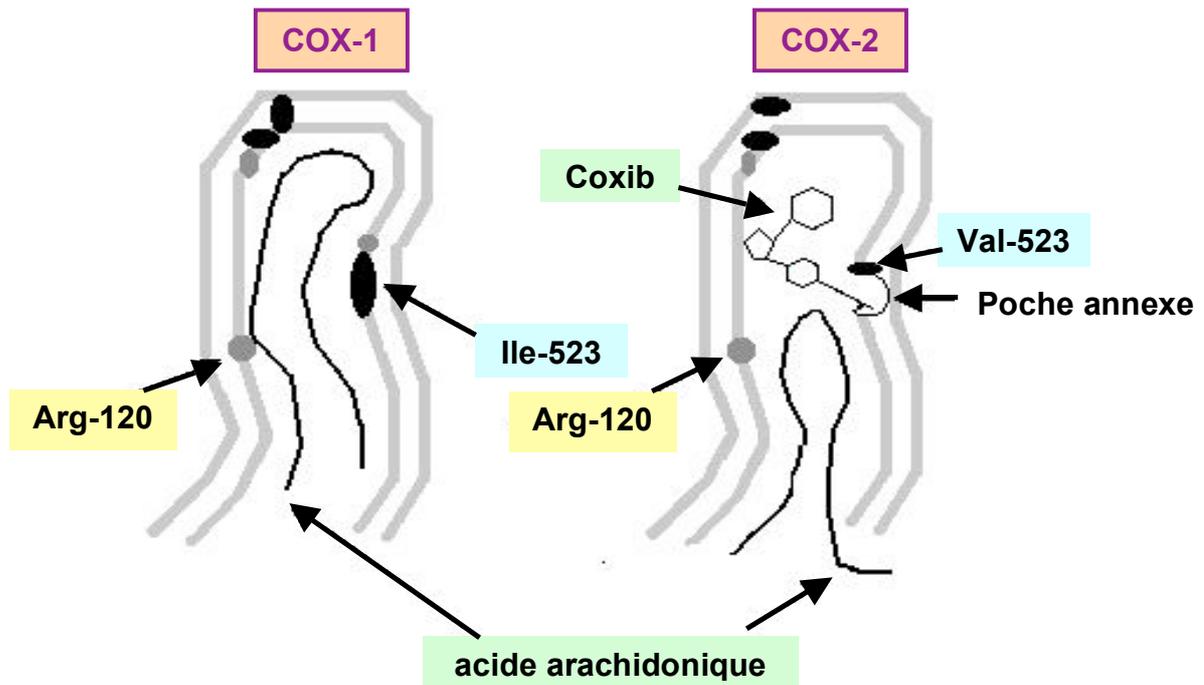


Figure 15 : Représentation schématique de l'inhibition de la cyclo-oxygénase de type 2 par un coxib, l'isoforme de type 1 reste accessible à l'acide arachidonique (d'après Hawkey, 1999)

Abréviations : Arg arginine ; COX cyclo-oxygénase ; Ile isoleucine ; Val valine.

Les AINS ne doivent pas être seulement considérés comme des inhibiteurs de l'activité COX. En effet, ces composés exercent une multitude d'actions supplémentaires qui n'impliquent pas les cyclo-oxygénases comme cibles pharmacologiques.

II.2. Effets anti-inflammatoires COX-indépendants

Aujourd'hui, il est bien connu que l'acide acétylsalicylique inhibe l'activité COX par l'acétylation du résidu sérine en position 530 (Ser-530)^[107] pour la COX-1, et en position 516 (Ser-516) pour la COX-2 (Wu, 2000). Cette inhibition est irréversible car l'acétylation de la sérine est permanente, et prévient l'accès de l'AA au site catalytique de cyclo-oxygénation [Figure 16]. Le salicylate de sodium, métabolite résultant de la désacétylation de l'acide acétylsalicylique, est supposé être alors incapable d'inhiber les COXs aux doses thérapeutiques. Pourtant, il a été montré que celui-ci diminuait la synthèse des prostaglandines aussi bien *in vitro* (Wu, 2000) qu'*in vivo* (Hamberg, 1972; Higgs *et al.*, 1987). Ces données étaient parmi les premières à suggérer un effet anti-inflammatoire de ce métabolite de l'aspirine qui n'implique pas l'activité COX. Plus tardivement, Yin et collaborateurs (1998) ont montré que l'aspirine et le salicylate de sodium inhibaient *in vitro* l'activité de l'isoforme β de l'I κ B kinase, en rentrant en compétition avec l'ATP sur son site de liaison à l'enzyme. Cette inhibition pourrait donc avoir des conséquences sur l'expression de COX-2, puisque celle-ci est régulée,

^[107] Selon Catella-Lawson et collaborateurs (2001), la sérine acétylée est en position 529 (Ser-529).

entre autres, par la voie du NF- κ B^[108] (Hinz & Brune, 2002; Phillis *et al.*, 2006; Strauss, 2008). D'ailleurs, sur des cellules endothéliales et des fibroblastes d'origine humaine, Xu et collaborateurs (1999) ont montré que l'aspirine et le salicylate de sodium inhibaient la synthèse *in vitro* des prostanoïdes, en supprimant la transcription de COX-2 induite par l'IL-1 β ou par d'autres facteurs. Avec des concentrations qui sont de 100 à 1000 fois supérieures à celles des doses thérapeutiques, ces AINS peuvent également agir sur d'autres cibles, comme les protéines kinases activées par un mitogène et les acteurs régulant la progression du cycle cellulaire (Tegeder *et al.*, 2001).

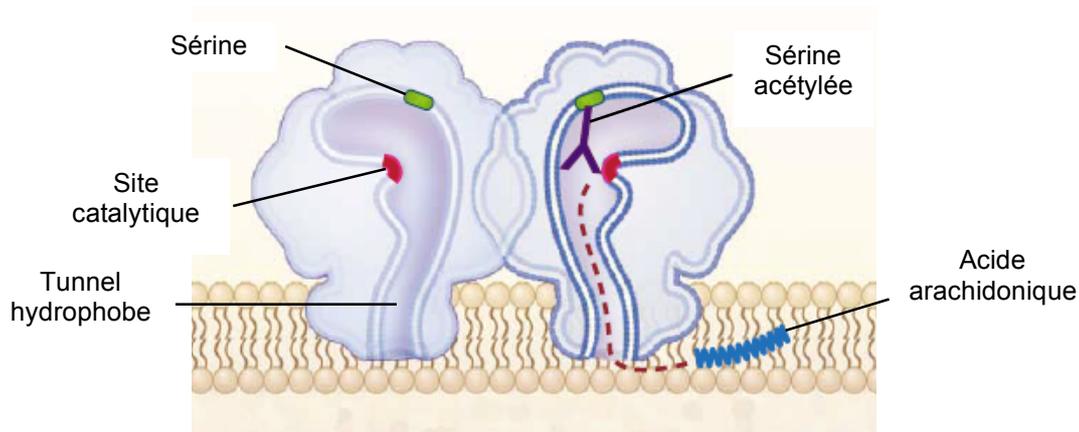


Figure 16 : Représentation schématique de l'inhibition irréversible de la cyclo-oxygénase par l'acide acétylsalicylique empêchant l'acide arachidonique d'avoir accès au site catalytique de cyclo-oxygénation de l'enzyme (d'après Catella-Lawson *et al.*, 2001)

Certains AINS possèdent également des propriétés anti-inflammatoires qui ne sont pas directement liées à l'inhibition des COX (Tegeder *et al.*, 2001; Süleyman *et al.*, 2007). Ces effets impliquent le plus souvent l'inhibition des facteurs de transcription tels que le NF- κ B. Cette inhibition peut être la conséquence d'une interaction directe avec les facteurs de transcription, ou plutôt, d'une altération de l'activité des protéines kinases, comme l'I κ B kinase.

Il est récemment suggéré que la stimulation des PPARs puisse jouer un rôle dans le mécanisme d'action des AINS (Gilroy & Colville-Nash, 2000; Tegeder *et al.*, 2001; Süleyman *et al.*, 2007). Les PPARs constituent un ensemble de récepteurs nucléaires^[109]. Ils sont activés par des ligands naturels, tels que les acides gras et les eicosanoïdes^[110], mais également par certains composés pharmacologiques, comme les fibrates et certains antidiabétiques. L'activation des PPARs inhibe la transcription de certains gènes cibles,

^[108] Voir Rappels Bibliographiques / Deuxième Chapitre / Paragraphe II.3.3.

^[109] Le PPAR- α est surtout exprimé dans le foie, le cœur, et le muscle squelettique. Le PPAR- γ est présent dans le tissu adipeux, l'intestin, et le sein. Le PPAR- β/δ est ubiquitaire, mais il est largement exprimé dans la peau, et le muscle squelettique. Les cellules de la paroi vasculaire et du système immunitaire expriment les trois PPARs.

^[110] Voir Rappels Bibliographiques / Deuxième Chapitre / Paragraphe II.3.5.4.

soit directement par la liaison avec leurs sites promoteurs, soit indirectement en freinant autres voies de facteurs transcriptionnels. Ces gènes sont impliqués dans le métabolisme des lipides, la différenciation cellulaire, l'homéostasie du glucose, et surtout l'activation de certaines réponses inflammatoires.

III. Classifications

Les AINS peuvent être classés selon leur structure chimique, leur mode d'inhibition de l'activité cyclo-oxygénase, ou leur sélectivité vis-à-vis de COX-1 ou de COX-2.

III.1. Classification chimique

Les AINS sont des composés dont certains présentent une analogie structurale. Pour cela, ils peuvent être classés par famille chimique [Tableau VIII]. Classiquement, on distingue parmi les AINS des acides carboxyliques et des acides énoliques. Toutefois, des molécules récentes comme le nimésulide ou les coxibs (célécoxib, rofécoxib, valdécoxib, étoricoxib) ne font pas partie d'une telle classification.

| | | |
|---|-------------------------|--|
| Dérivés des acides carboxyliques | Acide salicylique | - Acide acétylsalicylique (aspirine) - Salicylate de sodium - Acétylsalicylate de lysine (aspégic) |
| | Acide propionique | - Ibuprofène - Fénoprofène - Kétoprofène - Naproxène - Carprofène - Flurbiprofène |
| | Acide amino-nicotinique | - Flunixine - Clonixine |
| | Acide acétique | - Indométacine - Kétorolac - Diclofénac - Sulindac |
| | Acides anthraniliques | - Acide méclofénamique - Acide tolfénamique - Acide méfénamique |
| | Quinolines | - Cincophène |
| Dérivés des acides énoliques | Oxicam | - Méloxicam - Piroxicam - Tenoxicam |
| | Pyrazolone | - Phénylbutazone - Oxyphenbutazone - Dipyrone |

Tableau VIII : Classification chimique simplifiée et non exhaustive des anti-inflammatoires non stéroïdiens

III.2. Classification selon le mode d'inhibition de l'activité COX

Les AINS peuvent être classés selon leur mode d'inhibition de l'activité cyclo-oxygénase (Walker *et al.*, 2001). On distingue 3 modes d'interactions avec l'enzyme [Tableau IX].

| | | |
|-------------------|--|---|
| Classe I | Inhibition simple, compétitive et réversible | - Ibuprofène - Méloxicam |
| Classe II | Inhibition temps-dépendante et réversible par liaison électrostatique entre le groupement guanidine de l'arginine en position 120 (Arg-120) et la fonction acide carboxylique terminale de l'inhibiteur suivi du changement conformationnel de l'enzyme ^[111] | Liaison faible - Naproxène |
| | | Liaison forte - Indométacine - Acide méclofénamique |
| Classe III | Inhibition covalente et irréversible | - Aspirine |

Tableau IX : Classification des anti-inflammatoires non stéroïdiens selon leur mode d'inhibition enzymatique de cyclo-oxygénase (d'après Walker *et al.*, 2001)

III.3. Classification selon la sélectivité pour COX-1 et COX-2

Plusieurs études *in vitro* ont été réalisées pour comparer les activités inhibitrices relatives des AINS sur COX-1 et COX-2. Leur objectif est de calculer un ratio qui met en rapport l'affinité de l'AINS pour chaque isoforme de COX. Cette affinité est estimée par la détermination de la IC₅₀ qui signifie la concentration de l'AINS inhibant 50% de l'activité enzymatique de COX-1 ou de COX-2. Un AINS présentant un ratio (IC₅₀ COX-1/IC₅₀ COX-2) supérieur à 1, inhibe donc préférentiellement voire sélectivement la COX-2.

Il est difficile de comparer les résultats issus de ces différents modèles *in vitro*, étant donné la très grande variabilité des techniques et systèmes cellulaires employés. Dans le but d'établir un lien entre la toxicité gastro-intestinale de certains AINS et leurs capacités d'inhiber la COX-1, une étude réalisée sur du sang humain total a testé l'affinité de 45 AINS d'inhiber chaque isoforme de COX (Warner *et al.*, 1999). Les auteurs ont ensuite élaboré une classification des AINS selon leurs niveaux de sélectivité [Tableau X].

^[111] Un changement conformationnel consiste à une modification de la forme de la protéine, ce qui entraîne une modification de l'affinité de liaison entre l'enzyme et son substrat.

| | | |
|--|--|--|
| Inhibiteurs Sélectifs COX-2 | Au moins 50 fois plus sélectifs pour COX-2 que pour COX-1 | - Di-isopropylfluorophosphate - NS398 - Rofécoxib |
| Inhibiteurs Préférentiels COX-2 | Entre 5 et 50 fois plus sélectifs pour COX-2 que pour COX-1 | - Nimésulide - Méloxicam - Étodolac - Célécoxib |
| Inhibiteurs Non Sélectifs | Inhibition de COX-1 et COX-2 sans sélectivité particulière (ratio inférieur à 5) | - Acide acétylsalicylique - Salicylate de sodium - Indométacine - Kétorolac - Diclofénac - Piroxicam - Kétoprofène - Naproxène - Flurbiprofène - Sulindac |

Tableau X : Classification des anti-inflammatoires non stéroïdiens selon leur sélectivité inhibitrice envers les isoformes de type 1 et 2 de la cyclo-oxygénase (Warner *et al.*, 1999; Rao & Knaus, 2008)

Ainsi, on peut distinguer des AINS qui inhibent la COX-2 de manière très sélective, tels que le rofécoxib. D'autres composés, comme le nimésulide et le méloxicam, ont 5 à 50 fois plus d'affinité pour la COX-2. Une dernière catégorie regroupe les inhibiteurs qui ne possèdent aucune préférence pour une isoforme en particulier, comme l'indométacine et l'acide acétylsalicylique.

Les ratios de sélectivité des trois inhibiteurs qui sont utilisés dans ce travail sont calculés à partir des résultats issus de différentes études [Tableau XI]. Au regard de ce tableau récapitulatif, on peut remarquer que ces ratios peuvent varier en valeurs absolues en fonction des modèles et des protocoles utilisés. Cependant, l'affinité des différentes molécules pour les deux isoformes reste cohérente quelles que soient les conditions expérimentales.

| | Indométacine | Nimésulide | Méloxicam |
|---------------------------------------|--------------------------------------|------------------------|------------------|
| Culture de cellules animales | 0,02 0,05 0,03 0,17 | 20 10 | 3,03 1,25 |
| Enzymes humaines recombinantes | 0,01 0,11 0,29 0,44 0,77 | 5 6,25 50 100 | 333 100 |
| Sang humain total | 0,08 0,34 1,96 | 5,26 14,29 16,67 | 11,11 |

Tableau XI : Ratio IC₅₀ COX-1/IC₅₀ COX-2 de l'indométacine, du nimésulide, et du méloxicam calculés *in vitro* sur des systèmes cellulaires divers et dans des conditions expérimentales différentes (d'après Vane *et al.*, 1998; Rao & Knaus, 2008)

Comme dans les conditions *in vitro*, ces variations peuvent également avoir lieu *in vivo*. Par conséquent, il est indispensable de vérifier dans chaque contexte expérimental l'action des inhibiteurs de COX sur leurs cibles respectives, afin de s'assurer qu'ils sont utilisés aux bonnes doses avant de tester leurs effets sur les critères d'évaluation de l'étude.

IV. Effets indésirables

Si la COX-2 est exprimée de façon constitutive au moins au niveau cérébral, la COX-1 est présente à l'état physiologique dans la plupart des cellules de l'organisme. En conséquence, l'inhibition de cette isoforme par les AINS non sélectifs entraîne des effets secondaires assez importants.

Une toxicité œsophago-gastro-intestinale avec un risque accru des saignements et/ou des ulcérations est considérée comme l'effet indésirable majeur des AINS non sélectifs (Ballinger & Smith, 2001). La suppression de PGE₂ et de PGI₂ réduit l'apport sanguin de la membrane muqueuse ainsi que sa sécrétion de bicarbonate. Ces deux mécanismes rendent la muqueuse gastro-intestinale plus vulnérable à l'effet délétère de l'acide gastrique ou de l'inflammation. Pour cette raison, la prise des AINS doit préférentiellement se faire au cours des repas. Des composés à libération lente, et des composés mixtes possédant un groupement donneur de monoxyde d'azote connu comme vasodilatateur ont été également utilisés comme une tentative de protéger le tractus gastro-intestinal. Cependant, l'association avec les inhibiteurs de la pompe à protons semble être le moyen le plus recommandé.

Une augmentation de la rétention hydrosodée conduisant à une insuffisance rénale peut avoir lieu à cause de l'administration chronique des AINS chez des patients ayant une fonction rénale réduite due à une atteinte primaire de l'organe ou secondaire à une insuffisance cardiaque ou hépatique (Vane *et al.*, 1998). Dans ces cas particuliers, les PGs jouent un rôle indispensable dans le maintien du débit sanguin rénal, et de la filtration glomérulaire.

Un traitement par des AINS peut exacerber la bronchoconstriction surtout chez les patients asthmatiques. Cet effet indésirable pouvant impliquer certains marqueurs génétiques (Shrestha Palikhe *et al.*, 2012), est dû d'une part à l'absence de PGE₂, le puissant bronchodilatateur, et d'autre part, à l'orientation de l'AA vers la voie de synthèse des CysLTs ayant une activité bronchoconstrictrice. En plus de ce déséquilibre lié à l'inhibition des COXs, une augmentation de l'expression du récepteur aux CysLTs de type 1 dans la membrane muqueuse des voies aériennes peut également contribuer à ce phénomène.

Un ralentissement de l'agrégation plaquettaire dû à une suppression de la prostacycline et du thromboxane A₂ influençant l'agrégation plaquettaire (Moncada & Vane, 1978), est un

effet secondaire qui peut être utilisé dans la prévention des thromboses. Celle-ci est instaurée par une prise quotidienne de faibles doses d'aspirine.

V. Anti-inflammatoires non stéroïdiens utilisés dans ce travail

V.1. Nimésulide

Le nimésulide est un AINS appartenant à une famille dont les membres ont en commun un groupement sulfonamide avec un groupement NH acide qui est indispensable à l'activité [Figure 17] (Bernareggi, 1998; Rainsford, 2006; Candelario-Jalil, 2008; Rao & Knaus, 2008). C'est le premier inhibiteur préférentiel de COX-2 qui était commercialisé en Europe, en Asie, et en Amérique latine. Initialement découverte par un laboratoire pharmaceutique américain ^[112], cette molécule a été développée et brevetée par un groupe suisse ^[113] qui n'a jamais demandé l'autorisation de sa mise sur le marché aux États-Unis. Autorisé en France depuis 1995 et commercialisé sous le nom de Nexen[®] depuis 1998, ce médicament et ses génériques ont récemment fait l'objet d'une réévaluation européenne du rapport bénéfice/risque. Celle-ci était en raison d'un risque d'atteintes hépatiques graves, surtout en cas de prise prolongée et à doses élevées. Pour cela, l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) a pris la décision en 2011 de réserver la prescription de cet AINS au traitement de courte durée de la douleur. Cet effet antalgique peut être rapidement induit chez l'Homme après un traitement à la dose de 100 mg, deux fois par jour.

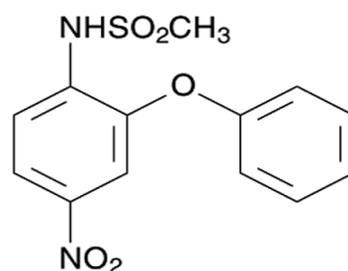


Figure 17 : Structure chimique du nimésulide [N-(4-nitro-2-phénoxyphényl)-méthanesulfonamide] (d'après Rainsford, 2006; Rao & Knaus, 2008)

Le nimésulide est rapidement et complètement absorbé du tube digestif supérieur (Hawkey, 1999; Rainsford, 2006; Candelario-Jalil, 2008). Il est entièrement biotransformé par les cytochromes hépatiques vers un métabolite qui est métaboliquement actif. En raison d'une durée de demi-vie de 1,6 à 5 heures, la clairance de cet inhibiteur préférentiel de COX-2 est également rapide.

^[112] 3M Pharmaceuticals (Saint Paul, Minnesota, États-Unis).

^[113] Helsinn Healthcare SA.

V.2. Méloxicam

Dérivé de l'acide énolique, le méloxicam est un AINS appartenant à la famille des oxicams [Figure 18 et Tableau VIII] (Ahmed *et al.*, 2005). Cet inhibiteur préférentiel de COX-2 est largement utilisé dans le monde, tant en médecine humaine ^[114] qu'en médecine vétérinaire ^[115]. Chez l'Homme, ce médicament est prescrit aux doses de 7,5 ou 15 mg/jour en une seule prise pour traiter les symptômes liés à la douleur et à l'inflammation dans le cadre d'ostéoarthrite ou d'arthrite rhumatoïde.

Après administration orale d'une dose unique, le méloxicam est presque complètement absorbé et les concentrations plasmatiques maximales sont atteintes après 40 minutes, 2 heures, et 6 heures, respectivement chez la souris (Busch *et al.*, 1998), chez le rat (Aguilar-Mariscal *et al.*, 2007), et chez l'Homme (Ahmed *et al.*, 2005). Avec un profil linéaire de pharmacocinétique, un niveau sanguin stable est obtenu entre le deuxième et le cinquième jour de traitement lorsque le médicament est utilisé conformément à la posologie recommandée. À cause de sa forte liaison aux protéines plasmatiques, le méloxicam se retrouve essentiellement dans le plasma, et par conséquent, son volume de distribution est petit.

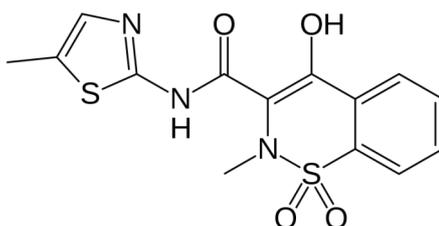


Figure 18 : Structure chimique du méloxicam [4-hydroxy-2-méthyl-N-(5-méthyl-2-thiazolyl)-2H-1,2-benzothiazine-3-carboxamide-1,1-dioxyde] (d'après Ahmed *et al.*, 2005).

Après administration d'une dose unique par voie orale, la demi-vie d'élimination du méloxicam est de 20 heures chez l'Homme (Ahmed *et al.*, 2005), de 5 heures chez la souris, de 50 heures chez le rat, et de 24 heures chez le chien (Busch *et al.*, 1998). Cette molécule est métabolisée en plusieurs composés qui sont pharmacologiquement inactifs. L'excrétion de cet AINS est effectuée par voie biliaire et urinaire, sous forme de méloxicam inchangé ou de métabolites.

^[114] Sous le nom de Mobic®.

^[115] Sous le nom de Metacam®.

V.3. Indométacine

Dérivé d'indole méthylé, l'indométacine est un AINS issu de l'acide acétique [Figure 19 et Tableau VIII] (Rao & Knaus, 2008). À côté de sa large utilisation dans les rhumatismes inflammatoires chroniques et certains types d'arthroses, ce médicament est un traitement de référence pour la persistance du canal artériel (Sekar & Corff, 2008). La posologie quotidienne chez l'adulte est classiquement comprise entre 50 et 150 mg. Grâce à une inhibition non sélective qui est plus puissante au niveau de COX-1 qu'au niveau de COX-2, l'indométacine est bien connu d'être à l'origine d'une vasoconstriction induisant une diminution du débit sanguin cérébral (Hoy & Scott, 2011). Par ce mécanisme, l'indométacine exerce un effet bénéfique en améliorant l'HIC, et par conséquent, indirectement la perfusion du cerveau.

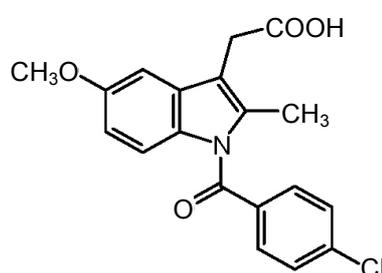


Figure 19 : Structure chimique de l'indométacine [acide 1-(4-chlorobenzoyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1-*H*-indole-3-acétique] (d'après Rao & Knaus, 2008).

De manière générale, l'indométacine est rapidement et complètement absorbé après administration orale (Helleberg, 1981). Un pic plasmatique peut être obtenu après 1 à 2 heures de la prise du médicament. Ce délai peut être prolongé avec une ingestion concomitante des aliments. L'absorption est plus lente et moins complète si la molécule est administrée sous forme de suppositoire. Aux concentrations thérapeutiques, une fraction plasmatique de 90% de cet inhibiteur non sélectif des COXs est liée à l'albumine. L'indométacine subit une dégradation en plusieurs métabolites qui sont pharmacologiquement inactifs. Son excrétion est réalisée par voie urinaire et par voie biliaire. Celle-ci est responsable d'un cycle entéro-hépatique du médicament avant que ses métabolites soient excrétés dans les selles. La demi-vie plasmatique varie de 3 à 11 heures.

BUT DU TRAVAIL

L'activation d'une réponse neuro-inflammatoire est une source clé des effets délétères induits par un traumatisme crânien. Depuis des années, le contrôle de cette cascade au cours du TC a été suggéré d'être une stratégie potentiellement neuroprotectrice dans plusieurs modèles expérimentaux réalisés chez différentes espèces animales. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens de manière générale et les inhibiteurs de la cyclo-oxygénase de type 2 en particulier, sont des composés capables de réguler ce processus dévastateur. Néanmoins, au moment où nous avons initié ce travail voire jusqu'à l'instant de la rédaction de ces lignes, les données étaient peu nombreuses, contradictoires et non conclusives. Selon la littérature, l'inhibition de COX-2 peut être bénéfique, délétère ou sans effet. Par ailleurs, une seule étude s'est intéressée à tester l'effet d'un traitement par un inhibiteur non sélectif des cyclo-oxygénases (Kim *et al.*, 1989).

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail a été de vérifier si la famille des COXs pourrait constituer une cible pharmacologique intéressante pour le traitement d'un TC réalisé par percussion mécanique chez la souris. Pour cela, nous avons testé en parallèle le potentiel thérapeutique de deux stratégies inhibitrices : de COX-2 de manière préférentielle, et des COXs de façon non sélective, sur le déficit neurologique et l'œdème cérébral. Ces deux conséquences post-traumatiques de grand intérêt clinique ont été évaluées à 6 et 24 heures après le trauma suite à un traitement précoce et à court terme par nos médicaments sélectionnés.

MATERIELS ET METHODES

I. Modèles expérimentaux

I.1. Modèle du traumatisme crânien par percussion mécanique chez la souris

Toutes les expérimentations ayant constitué ce travail ont été réalisées sur des souris mâles Swiss [souche albinos non consanguine] (Élevage Janvier[®], Le Genest-Saint-Isle, France). Les souris avaient 5 à 6 semaines d'âge et un poids compris entre 25 et 31 grammes. Les animaux étaient mis en cages avec de l'eau et de la nourriture *ad libitum* dans un environnement où l'éclairage était géré par cycle de 12 heures jour/nuit en alternance à température contrôlée ($22 \pm 2^\circ\text{C}$).

Le modèle du traumatisme crânien à crâne fermé réalisé chez la souris par percussion mécanique ou lâcher de poids, a été originalement décrit dans la littérature scientifique par Edward D. HALL. Ce modèle a été mis en place dans notre laboratoire de recherche par Mésenge et collaborateurs (1996, 1998a, 1998b, 2000). Il a été ensuite adapté par Hellal et collaborateurs (2003, 2004), et utilisé par Homsy et collaborateurs (2009, 2010). En bref, la souris est fermement maintenue en contention par le dos. Elle est légèrement anesthésiée^[116] pendant 10 secondes avec de l'air additionné de 2% d'isoflurane (AErrane, DDG9623, Baxter S.A.S, Maurepas, France). La tête de la souris est bien posée sur un moulage en résine pour empêcher sa rotation pendant le choc. Le crâne est positionné sous le dispositif de trauma, de manière à ce que la tige de percussion en acier inox dont le diamètre est de 6 mm et la longueur est de 60 cm soit placée sur le côté gauche de la boîte crânienne, juste derrière les yeux. D'une hauteur de 32 cm, un poids de 50 grammes est lâché le long de la tige dont l'extrémité en contact avec la peau de l'animal est biseautée pour éviter toute lésion cutanée. Une mortalité de 30% en moyenne a été observée dans les 10 premières minutes suivant l'impact. Après le trauma, les animaux étaient remis dans leurs cages et maintenus en normothermie avec un libre accès à l'eau et à la nourriture.

Avec une quinzaine d'années d'expérience et une dizaine de publications, le modèle de TC à crâne fermé réalisé chez la souris par percussion mécanique est bien maîtrisé par notre équipe. Nos travaux antérieurs ont déjà montré que ce modèle était à l'origine d'un œdème

^[116] L'anesthésie est légère puisqu'il a été montré que l'inhalation de l'isoflurane, même pour une courte durée, uniquement avant, ou avant et après un TC, avait un effet neuroprotecteur aussi bien chez le rat (Statler *et al.*, 2006; Yurdakoc *et al.*, 2008) que chez la souris (Luh *et al.*, 2011).

cérébral, des lésions axonales diffuses, d'un déficit neurologique, d'une hémorragie intracrânienne, et d'une neuro-inflammation.

I.2. Modèle d'inflammation induite par le lipopolysaccharide

Des souris ont été traitées par du lipopolysaccharide d'*Escherichia Coli* O127:B8 (L 3129, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) administré à la dose de 40 mg/kg par voie intrapéritonéale (Sapirstein *et al.*, 2005). Six heures après l'injection au LPS, les cerveaux de ces souris ont été prélevés, et conservés à - 80°C pour les dosages ultérieurs.

I.3. Protocoles des traitements

Le méloxicam (Mobic® solution injectable à 15 mg/1,5 ml, 353 974.5, Boehringer Ingelheim, Paris, France), un inhibiteur préférentiel de COX-2, a été dilué dans du NaCl à 0,9% et administré à la dose de 2 mg/kg par voie intrapéritonéale 10 minutes après le TC. Un groupe d'animaux a reçu le solvant [NaCl à 0,9%] selon le même protocole.

Le nimésulide (*N*-(4-nitro-2-phenoxyphenyl)-methanesulfonamide, 70640, Cayman Chemical Company, Ann Arbor, Michigan, États-Unis), un inhibiteur préférentiel de COX-2, a été solubilisé dans 1 M NaOH et dilué dans le tampon « Krebs-Henseleit Buffer » [114 mM NaCl ; 5 mM KCl ; 24 mM NaHCO₃ ; 1 mM MgCl₂ ; 2,2 mM CaCl₂ ; 0,25% Albumine sérique bovine (BSA) ; 10 mM acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique (HEPES)]. Le pH a été ajusté à 7,4 avec du HCl avant son administration à la dose de 12 mg/kg par voie intrapéritonéale à 10 minutes, 3, 6 et 12 heures après le TC. Un groupe d'animaux a reçu le solvant [Krebs-Henseleit Buffer] selon le même protocole.

Le valeroyl salicylate (Valeryl Salicylate, V2889, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France), un inhibiteur sélectif de COX-1, a été dissout dans 100 mM de tampon phosphate (PBS) [100 mM NaH₂PO₄ (pH 7,4) ; 120 mM NaCl ; 2,7 mM KCl], et administré à la dose de 20 mg/kg par voie intrapéritonéale 10 minutes après le TC. Un groupe d'animaux a reçu le solvant [100 mM PBS] selon le même protocole.

L'indométacine (Indomethacin, I7378, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France), un inhibiteur non sélectif des COXs, a été suspendu dans du NaCl à 0,9% contenant 1,5 mM NaHCO₃ et administré à la dose de 5 mg/kg par voie intrapéritonéale à 10 minutes, 6 et 12 heures après le TC. Un groupe d'animaux a reçu le solvant [0,9% NaCl ; 1,5 mM NaHCO₃] selon le même protocole.

Il est important de noter que les lots d'animaux évalués à 6 heures post-TC pour le comportement, l'œdème cérébral, les études immuno-chimiques ou les dosages biochimiques n'ont reçu qu'une seule dose de leurs traitements respectifs.

I.4. Euthanasie et prélèvements

Les animaux ont été sacrifiés par dislocation cervicale suivie par décapitation. Les cerveaux des souris ont été disséqués sur une plaque en verre, à température ambiante pour la mesure de l'œdème cérébral, ou à 4°C pour les autres études. La zone de lésion visible à l'œil nu à l'endroit du contrecoup a été prélevée à l'aide d'un emporte-pièce de 3 mm de diamètre. Les échantillons ont été immédiatement pesés, puis, soit mis dans une étuve maintenue à 100°C pour la détermination de l'œdème cérébral, soit conservés à - 80°C pour la réalisation des études ultérieures.

Pour les dosages de prostaglandine E et de 6-kéto prostaglandine F1alpha dans le cerveau, les échantillons ont été prélevés et congelés par immersion dans l'azote liquide en moins de 30 secondes, pour éviter l'augmentation post-mortem du taux basal de ces lipides chez les souris naïves (Hétu & Riendeau, 2005).

Pour l'immunodétection par western blot de l'hémoglobine, les animaux ont été profondément anesthésiés avec du pentobarbital (Pentobarbital Sodique solution injectable à 54,7 mg/mL, Ceva Santé Animale, Libourne, France), administré par voie intrapéritonéale à la dose de 240 mg/kg et 5 mL/kg. La souris a été ensuite perfusée avec 50 mL de NaCl à 0,9% à la pression de 100 mm de Hg par voie intracardiaque dans le ventricule gauche jusqu'à ce qu'elle soit exsangue. Après décapitation et dissection à 4°C, le cervelet de chaque échantillon a été éliminé, et le reste du cerveau a été mis dans un tube en polypropylène de 10 mL contenant 3 mL de l'eau Milli-Q®. Les échantillons ont été congelés à - 20°C jusqu'au jour du dosage.

II. Dosages biochimiques

II.1. Dosages des protéines

II.1.1. Méthode de Bradford

Les concentrations en protéines dans les surnageants d'homogénats de cerveaux destinés au dosage immuno-enzymatique de l'interleukine-1 β , à la radio-immuno-analyse de prostaglandine E, et à l'immunoblot des cyclo-oxygénases ont été déterminées par la méthode de Bradford (Bradford, 1976), à l'aide du kit « Bio-Rad Protein Assay Kit » (500-0006, Bio-Rad, Marnes la Coquette, France). Cette méthode est basée sur le changement de l'absorbance maximale de 465 à 595 nm d'une solution acide du bleu brillant de Coomassie G-250 lorsque celui-ci est fixé à une protéine.

Une gamme étalon de 0,1 à 1,2 mg/mL a été réalisée à partir de différentes dilutions d'une solution de BSA (A3059, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) à 20%. Le réactif Bio-Rad® a été dilué au 1/5^e. Un volume de 1 mL du réactif dilué a été ajouté à 20 µL de chaque point de gamme. Un volume de 2,5 mL du réactif dilué a été aussi additionné à 5 µL de chaque échantillon. Après 5 minutes d'incubation, la densité optique a été mesurée par spectrophotométrie (MRX Microplate Reader, Dynex Technologies, Chantilly, Virginie, États-Unis) à 595 nm. Les mesures ont été effectuées en duplicata, et la concentration en protéines a été exprimée en milligrammes par millilitre (mg/mL).

II.1.2. Méthode à l'acide bicinchoninique

Le dosage des protéines dans les échantillons destinés à l'immunoblot de l'hémoglobine et au dosage immuno-enzymatique de 6-kéto prostaglandine F1alpha a été effectué par la méthode à l'acide bicinchoninique (BCA), à l'aide du kit « Bicinchoninic Acid Protein Assay Kit » (B9643, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France). Cette méthode est basée sur la formation d'un complexe entre les protéines et les ions cuivriques en milieu alcalin, suivie de la réduction de ces ions cuivriques (Cu²⁺) en ions cuivreux (Cu⁺). Ces derniers sont proportionnels à la quantité de protéines présentes, et peuvent être détectés par colorimétrie en constituant avec le BCA un produit violet.

Une gamme étalon de 0,1 à 1,5 mg/mL a été préparée à partir de différentes dilutions d'une solution de BSA (A3059, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) à 0,2%. Un volume de 200 µL du réactif a été ajouté à 20 µL de chaque point de gamme et de chaque échantillon. Après 30 minutes d'incubation à 37°C, la densité optique de chaque puits a été mesurée par spectrophotométrie (MRX Microplate Reader, Dynex Technologies, Chantilly, Virginie, États-Unis) à 562 nm. Les mesures ont été effectuées en duplicata, et la concentration en protéines a été exprimée en milligrammes par millilitre (mg/mL).

II.2. Dosage immuno-enzymatique de l'interleukine-1β

Le contenu cérébral en IL-1β a été déterminé selon le dosage d'immuno-adsorption par enzyme liée sur support solide « Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) », à l'aide du kit « DuoSet® ELISA Development System » (DY401 & DY999, R&D Systems Europe Ltd, Abingdon, Royaume-Uni), selon le protocole du fabricant. Cette technique est basée sur la formation des sandwichs contenant l'IL-1β liée à deux anticorps spécifiques : anticorps de capture et anticorps de détection biotinylé. L'amplification se fait grâce au complexe streptavidin-HRP (peroxydase de Raifort). La révélation se fait par une réaction colorimétrique en présence d'un substrat (H₂O₂) et d'un chromogène (Tétraméthylbenzidine).

Les échantillons ont été broyés à 4°C à l'aide de l'Ultra-Turrax® T 8 (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Allemagne) 3 fois pendant 5 secondes dans un volume de 300 µL (1/6, poids/volume) du tampon d'homogénéisation [50 mM Tris-HCl (pH 7,2) ; 150 mM NaCl ; 1% Triton-X100], additionné d'une pastille de cocktail d'inhibiteurs de protéases dépourvu d'acide éthylène-diamine-tétra-acétique (EDTA) « Complete Mini EDTA-free Protease Inhibitor Cocktail Tablets » (11 836 170 001, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Allemagne), par fraction de 7 mL du tampon d'homogénéisation (Bye *et al.*, 2007). Les homogénats ont été centrifugés à 12 000 x g pendant 15 minutes à 4°C. La concentration des protéines dans le surnageant a été déterminée par la méthode de Bradford.

La veille du dosage, la plaque à 96 puits « Nunc-Immuno™ Plates MaxiSorp » (M9410, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) a été recouverte avec 100 µL/puits d'anticorps de capture. L'anticorps de capture (rat anti-IL-1β de souris) a été dilué dans du PBS [8,1 mM Na₂HPO₄ ; 1,5 mM KH₂PO₄ ; 137 mM NaCl ; 2,7 mM KCl] filtré à la concentration de travail (4 µg/mL). Après l'incubation pendant toute la nuit à température ambiante, la plaque a été lavée 3 fois avec un volume de 200 µL du tampon de lavage [PBS ; 0,05% Tween® 20].

Le jour du dosage, les réactifs et les échantillons ont été ramenés à température ambiante avant leur utilisation. Pour le blocage des sites non spécifiques, un volume de 300 µL du tampon de blocage [PBS ; 1% BSA] a été déposé par puits. Après 1 heure d'incubation à température ambiante, la microplaque a été lavée 3 fois avec 200 µL du tampon de lavage. Une gamme étalon de 7,8 à 1 000 pg/mL a été préparée à partir de différentes dilutions d'un standard contenant de l'IL-1β recombinante de souris. Un volume de 50 µL du réactif de dilution, du standard, ou d'échantillons a été déposé par puits. Après 2 heures d'incubation à température ambiante, la microplaque a été lavée 2 fois avec 200 µL du tampon de lavage. L'anticorps de détection (chèvre anti-IL-1β de souris biotinylé) a été dilué dans du réactif de dilution à la concentration de travail (600 ng/mL). Un volume de 100 µL d'anticorps de détection a été déposé par puits. Après 2 heures d'incubation à température ambiante, la microplaque a été lavée 2 fois avec 200 µL du tampon de lavage. Un volume de 100 µL du complexe Streptavidine-HRP (peroxydase de Raifort) a été ajouté par puits pour l'amplification du signal. Après 20 minutes d'incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante, la microplaque a été lavée 3 fois avec 200 µL du tampon de lavage. La révélation du signal a été réalisée par une réaction colorimétrique en ajoutant 100 µL d'un mélange volume à volume du substrat (H₂O₂) et du chromogène (Tétraméthylbenzidine). Après 20 minutes d'incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante, la réaction a été arrêtée par l'addition de 50 µL de 1 M H₂SO₄ à chaque puits. La densité optique a été mesurée par spectrophotométrie à l'aide du lecteur de microplaque (MRX Microplate Reader, Dynex Technologies, Chantilly, Virginie, États-Unis). Une double lecture à 450 et 550 nm a été réalisée afin de limiter les imperfections optiques de la microplaque. Les mesures ont été effectuées en duplicata et la

concentration en IL-1 β a été calculée en picogrammes par milligramme (pg/mg) de protéines. Les résultats ont été exprimés en pourcentage de la moyenne des animaux naïfs.

II.3. Dosage immuno-enzymatique de 6-kéto prostaglandine F1alpha

Étant très instable, la prostacycline (PGI₂) est rapidement hydratée de manière non enzymatique après sa formation en 6-kéto prostaglandine F1alpha (6-kéto PGF_{1 α}) ($t_{1/2}$ = 2 à 3 minutes). Le taux cérébral de ce métabolite plus stable a été déterminé par la technique du dosage immuno-enzymatique « Enzyme Immunoassay (EIA) » à l'aide du kit « 6-keto Prostaglandin F_{1 α} EIA Kit » (515211.1, Cayman Chemical Company, Ann Arbor, Michigan, États-Unis) selon le protocole du fabricant. Cette technique est basée sur la compétition entre la 6-kéto PGF_{1 α} et la 6-kéto PGF_{1 α} conjuguée à l'acétylcholinestérase « 6-kéto PGF_{1 α} tracer » pour la liaison à l'anticorps anti-6-kéto PGF_{1 α} . La quantité du « tracer » est donc inversement proportionnelle à celle de la 6-kéto PGF_{1 α} .

Pour l'extraction des prostaglandines, les échantillons ont été homogénéisés à 4°C dans des tubes eppendorf en polypropylène de 2 mL à l'aide de l'Ultra-Turrax[®] T 8 (IKA[®]-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Allemagne) 3 fois pendant 5 secondes dans un volume de 300 μ L (1/6, poids/volume) de 100 mM PBS [100 mM NaH₂PO₄ (pH 7,4) ; 120 mM NaCl ; 2,7 mM KCl] contenant 1 mM EDTA tétrasodique (ED4SS, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France), et 0,3 mM d'indométacine (Indomethacin, I7378, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France). Après le broyage, un volume de 1,2 mL d'acétone (1/4, tampon d'homogénéisation/acétone) a été ajouté. Après 5 minutes d'incubation à 4°C, les homogénats ont été centrifugés à 3 000 x g pendant 10 minutes à 4°C. Les culots protéiques ont été solubilisés dans 1,5 mL de 1 M NaOH et leurs concentrations en protéines ont été déterminées par la méthode à l'acide bicinchoninique. Les surnageants ont été récupérés dans des tubes en polypropylène de 5 mL avec une pipette pasteur en verre. L'acétone a été évaporée à l'aide de l'évaporateur rotatif (Savant SpeedVac AS160 automatic system). Après l'évaporation, un volume de 500 μ L d'une solution saturée de NaCl a été additionné dans chaque tube, suivi de 2 mL d'un mélange (3/1) d'acétate d'éthyle/acétone. Les tubes ont été vortexés 2 fois pendant 10 secondes et la fraction supérieure (solvant) a été récupérée dans de nouveaux tubes en polypropylène de 5 mL. Un deuxième volume de 2 mL du mélange (3/1) d'acétate d'éthyle/acétone a été ajouté, les tubes ont été vortexés et la fraction supérieure a été récupérée, puis additionnée à celle issue de la première phase d'extraction. Les tubes ont été ensuite conservés à - 20°C.

Le jour du dosage, après l'évaporation complète du mélange d'acétate d'éthyle/acétone à l'aide de l'évaporateur rotatif (Savant SpeedVac AS160 automatic system), les échantillons ont été suspendus dans 2 mL du tampon fourni par le fabricant. Une gamme étalon de 1,6 à 1 000 pg/mL a été réalisée à partir de différentes dilutions d'une solution de 6-kéto PGF_{1α} Standard à 10 ng/mL. Un volume de 50 µL de Standard ou d'échantillons a été déposé par puits. Après l'addition de 6-kéto PGF_{1α} tracer et d'anticorps anti-6-kéto PGF_{1α} selon le schéma de dépôt ainsi que le protocole proposés par le fournisseur du kit, la plaque a été incubée pendant 18 heures à 4°C. Après 5 lavages avec un volume de 200 µL du tampon, la révélation de la plaque a été réalisée par l'addition de 200 µL du « réactif d'Ellman » dans tous les puits. Après 2 heures d'incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante, la densité optique de chaque puits a été mesurée par spectrophotométrie à l'aide du lecteur de microplaque (MRX Microplate Reader, Dynex Technologies, Chantilly, Virginie, États-Unis) à 410 nm. Les mesures ont été effectuées en duplicata, et la concentration en 6-kéto PGF_{1α} a été calculée en picogrammes par milligramme (pg/mg) de protéines. Suite à une rupture d'approvisionnement et un changement du kit de dosage, les résultats ont été exprimés en pourcentage de la moyenne des animaux naïfs.

II.4. Radio-immuno-analyse de prostaglandine E

Le taux cérébral des prostaglandines E₁ et E₂ a été déterminé par la technique de radio-immuno-analyse. Cette technique est basée sur la compétition entre les PGE₁ et PGE₂ d'une part, et la PGE₂ liée au Tritium « [³H] PGE₂ » d'autre part, pour la liaison à l'anticorps anti-PGE₂. La quantité de la PGE₂ tritiée détectée est donc inversement proportionnelle à celle de la PGE présente dans le parenchyme cérébral.

Pour l'extraction des prostaglandines, les échantillons ont été homogénéisés et l'acétone a été ajoutée comme pour le protocole décrit pour la 6-kéto PGF_{1α}. Après 5 minutes d'incubation avec l'acétone à température ambiante, les homogénats ont été centrifugés à 1 500 x g pendant 10 minutes à température ambiante. Les culots ont été solubilisés dans 1,5 mL de 1 M NaOH et leurs concentrations en protéines ont été déterminées par la méthode de Bradford. Les surnageants ont été récupérés dans des tubes eppendorf en polypropylène de 2 mL avec une pipette pasteur en verre. L'acétone a été totalement évaporée à l'aide de l'évaporateur rotatif (Savant SpeedVac AS160 automatic system). Un volume de 2,5 µL d'acide formique concentré a été ajouté à la fraction aqueuse de tous les échantillons. Les tubes étaient ensuite vortexés et centrifugés à 16 000 x g pendant 15 minutes à 4°C. Les surnageants ont été récupérés et déposés sur des colonnes de chromatographie « Amprep™ Mini-Columns, C18 Octadecyl, 100 x 1.0 mL/100 mg » (RPN1900, GE Healthcare Life Sciences, Orsay, France) pré-activées par 4 mL d'éthanol et 4 mL de l'eau Milli-Q®.

Après un lavage avec 4 mL de l'eau Milli-Q® et 4 mL d'héxane, l'éluion ^[117] des colonnes a été réalisée par 4 mL d'acétate d'éthyle. Les éluats ont été récupérés dans des tubes en polypropylène de 5 mL et conservés à - 20°C.

Le jour du dosage, après l'évaporation complète de l'acétate d'éthyle à l'aide de l'évaporateur rotatif, les échantillons ont été suspendus dans 400 µL froids de 10 mM PBS [10 mM NaH₂PO₄ (pH 7,4) ; 120 mM de NaCl ; 2,7 mM de KCl] contenant 0,1% BSA (A3059, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) et 0,1% azide de sodium (NaN₃, 1066880250, Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne). Les tubes ont été vortexés. Une gamme étalon de 75 à 20 000 pg/mL a été réalisée à partir de différentes dilutions d'une solution de PGE₂ (P5640, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) à 1 mg/mL. Un volume de 500 µL d'anticorps anti-PGE₂ de Lapin (P5164, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) reconstitué et dilué au 1/10^e dans du [PBS/BSA/NaN₃] a été ajouté à 100 µL de chaque point de gamme ou échantillon et les tubes ont été ensuite vortexés. Après 30 minutes d'incubation à 4°C, un volume de 100 µL de [PBS/BSA/NaN₃] qui contient 5 nanocuries (nCi) de [5,6,8,11,12,14,15(*n*)³H]PGE₂ (TRK431, activité spécifique de 190 Ci/mmol, GE Healthcare Life Sciences, Orsay, France) a été additionné et les tubes ont été vortexés. Après 1 heure d'incubation à 4°C, un volume de 200 µL d'une suspension froide de 0,1% de dextrane (D1390, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) enduite par 1% de charbon de bois actif non traité 100-400 mesh (C3345, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) a été rapidement ajouté et les tubes ont été vortexés. Après 10 minutes d'incubation à 4°C, les tubes ont été centrifugés à 2 500 x g pendant 10 minutes à 4°C. Un aliquot de 700 µL du surnageant a été récupéré de chaque tube et transféré dans une fiole à scintillation. Un volume de 4,6 mL du cocktail de scintillation (Ultima Gold™, 6013329, PerkinElmer Inc., Waltham, Massachusetts, États-Unis) a été ajouté aux surnageants. Les tubes ont été placés dans le compteur à scintillation « Liquid Scintillation Analyzer » (Tri-Carb 2800TR, PerkinElmer Inc., Waltham, Massachusetts, États-Unis). Les mesures ont été effectuées en duplicata et la concentration en PGE a été calculée en picogrammes par milligramme (pg/mg) de protéines.

^[117] L'éluion est la remise en solution d'un corps adsorbé.

III. Études immuno-chimiques

III.1. Immunoblot des cyclo-oxygénases de type 1 et 2

L'expression des protéines COX-1 et COX-2 a été mise en évidence par la technique du Western Blot. Les échantillons ont été broyés à 4°C à l'aide de l'Ultra-Turrax® T 8 (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Allemagne) 3 fois pendant 5 secondes dans un volume de 400 µL (1/10, poids/volume) de PBS 5 fois concentré [50 mM NaH₂PO₄ (pH 7,4) ; 600 mM NaCl ; 13,5 mM KCl ; 1% Triton X-100] additionné d'une pastille d'inhibiteur de protéase contenant de l'EDTA (11 836 153 001, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Allemagne) par fraction de 10 mL du tampon de broyage. Les surnageants ont été récupérés après centrifugation à 15 000 x g pendant 10 minutes à 4°C. Un aliquot de 30 µL a été utilisé pour le dosage des protéines selon la méthode de Bradford. Un volume de 300 µL du surnageant a été additionné volume à volume avec du tampon de solubilisation du Western blot [125 mM Tris-HCl (pH 6,8) ; 4% Dodécylsulfate de sodium (SDS) ; 20% Glycérol ; 130 mM dithiothréitol ; 0,003% bleu de bromophénol] et chauffé pendant 10 minutes à 95°C.

La technique du Western Blot consiste à réaliser une électrophorèse pendant 75 minutes à 20 milliampères/gel pour séparer les différentes protéines sur un gel (9 cm x 6 cm) de polyacrylamide [acrylamide/bisacrylamide : 7,5%/0,2%] en conditions dénaturantes (présence du SDS) dans le tampon d'électrophorèse [25 mM Trizma® Base ; 192 mM Glycine ; 0,1% SDS]. Les dépôts ont été effectués à quantité de protéine constante de 50 µg/puits. Les protéines contenues dans le gel ont été ensuite transférées pendant 1 heure à 100 Volts à 4°C sur une membrane de Polyvinylidène difluoride (PVDF) de porosité 0,45 µm (Bio-Rad Laboratories, Marnes La Coquette, France) dans le tampon de transfert [50 mM Trizma® Base ; 384 mM Glycine ; 20% éthanol]. Les sites de fixation sur les membranes ont été bloqués pendant 1 heure à température ambiante avec le tampon de blocage constitué du tampon salin à 0,1% de Tween® 20 [10 mM Tris-HCl (pH 7,4) ; 142 mM NaCl ; 0,1% Tween® 20] (TTBS à 0,1%) contenant 2% du mélange bloquant. Pour la COX-1, l'agent de blocage est « ECL™ Blocking Agent » (RPN2125, GE Healthcare Life Sciences, Orsay, France), tandis que celui de COX-2 est l'agent bloquant inclus dans le kit « ECF Western Blotting Kit » (RPN 5780, GE Healthcare Life Sciences, Orsay, France). Pour la COX-1, l'anticorps primaire (anticorps monoclonal de Souris anti-COX-1, sc-19998, Santa Cruz Biotechnology Inc., Heidelberg, Allemagne) a été dilué dans le tampon de blocage au 1/500^e. Pour la COX-2, l'anticorps primaire (anticorps polyclonal de Lapin anti-COX-2, 160126, Cayman Chemical Company, Ann Arbor, Michigan, États-Unis) a été dilué dans le tampon de blocage au 1/1000^e. L'incubation des membranes avec l'anticorps primaire a été réalisée pendant toute la nuit à 4°C. Les membranes ont eu 1 lavage de 15 minutes

et 2 lavages de 5 minutes à température ambiante avec du TTBS à 0,1%. La fixation de l'anticorps primaire a été révélée par immunochimiofluorescence en utilisant le kit « ECF Western Blotting Reagent Pack » (RPN 5780, GE Healthcare Life Sciences, Orsay, France) selon le protocole du fabricant. La détection du signal fluorescent a été réalisée à l'aide du Storm™ 860 (GE Healthcare Life Sciences, Orsay, France). Le poids moléculaire des protéines révélées a été calculé en comparant leurs distances de migration à celles des marqueurs de poids moléculaire ayant migré dans le même gel. Les bandes ont été quantifiées à l'aide du logiciel ImageQuant™ (GE Healthcare Life Sciences, Orsay, France) et les résultats ont été exprimés en unités arbitraires (UA).

III.2. Immunoblot de l'hémoglobine

L'hémorragie intracrânienne post-traumatique a été évaluée par la technique du Western Blot de l'hémoglobine présente dans le tissu cérébral perfusé. Les échantillons ont été broyés à 4°C à l'aide de l'Ultra-Turrax® T 8 (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Allemagne) 3 fois pendant 5 secondes dans 3 mL de l'eau Milli-Q® contenant 1% SDS additionné le jour du broyage. Les homogénats ont été ensuite soniqués à 4°C 3 fois pendant 5 secondes à la puissance de 30 Watts. Les surnageants ont été récupérés après centrifugation à 15 000 x g pendant 10 minutes à 4°C. Une fraction du surnageant a été diluée au 1/10^e et utilisée pour le dosage des protéines selon la méthode à l'acide bicinchoninique réalisée avec une gamme étalon contenant 1% SDS. Un aliquot de 300 µL du surnageant a été additionné volume à volume avec du tampon de solubilisation de Læmmli (Læmmli, 1970) [62,5 mM Tris-HCl (pH 6,8) ; 2% SDS ; 0,68 M β mercaptoéthanol ; 20% Glycérol ; 0,003% bleu de bromophénol] et chauffé pendant 10 minutes à 95°C.

L'électrophorèse a été réalisée pendant 2 heures à 20 milliampères/gel pour séparer les protéines sur un gel (9 cm x 6 cm) de polyacrylamide [acrylamide/bisacrylamide : 15%/0,4%] en conditions dénaturantes (présence du SDS) dans le tampon d'électrophorèse [25 mM Trizma® Base ; 192 mM Glycine]. Les dépôts ont été effectués à quantité de protéine constante de 20 µg/puits. Les protéines ont été transférées pendant 1 heure à 100 Volts à 4°C sur une membrane de PVDF de porosité 0,2 µm (Bio-Rad Laboratories, Marnes La Coquette, France) après activation à l'éthanol dans le tampon de transfert [25 mM Trizma® Base ; 192 mM Glycine ; 20% éthanol]. Après la fixation des protéines à l'aide d'une solution de glutaraldéhyde à 0,5% pendant 5 minutes, les membranes ont subi 2 lavages de 5 minutes avec du TTBS à 0,1%. Les sites de fixation sur les membranes ont été bloqués pendant 1 heure à température ambiante avec le tampon de blocage constitué du TTBS à 0,1% contenant 5% de lait écrémé en poudre. L'anticorps primaire (anticorps monoclonal de Lapin anti-hémoglobine, EPR3608, Abcam, Cambridge, Angleterre) a été dilué dans le tampon de

blocage au 1/2000^e. L'incubation des membranes avec l'anticorps primaire a été réalisée pendant toute la nuit à 4°C. Le lavage des membranes, la révélation de la fixation de l'anticorps primaire, la détection du signal fluorescent et la quantification des bandes ont été réalisés selon le protocole décrit pour les COXs. Les résultats ont été exprimés en UA.

IV. Évaluation de l'œdème cérébral

L'œdème cérébral a été évalué à 6 et 24 heures après le trauma par la mesure du contenu cérébral en eau. Ce dernier a été calculé par la différence entre le poids humide et le poids sec d'échantillons cérébraux selon la même technique que précédemment (Hellal *et al.*, 2004; Homsy *et al.*, 2009).

Les animaux ont été décapités et leurs cerveaux ont été disséqués sur une plaque en verre à température ambiante. Une carotte de tissu cérébral de 3 mm de diamètre a été prélevée au niveau de la zone de lésion à l'aide d'un emporte-pièce. Les échantillons ont été immédiatement pesés dans une coupelle en aluminium sur une balance analytique électronique (Modèle CPA64, Sartorius AG, Allemagne) afin d'enregistrer le poids humide. Les échantillons ont été ensuite mis à sécher dans une étuve maintenue à 100°C pendant 24 heures. À l'issue de cette période, les échantillons ont été pesés à nouveau pour obtenir le poids sec. Le contenu cérébral en eau dont l'augmentation témoigne de l'œdème a été exprimé en pourcentage. Ce dernier a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ eau} = [(\text{poids humide} - \text{poids sec}) \times 100] / \text{poids humide}$$

V. Évaluation du déficit neurologique

L'évaluation du déficit neurologique a été réalisée à 6 et 24 heures après le trauma par un score coté sur 8 points représentant la somme totale des scores attribués au test de la sortie du cercle (Flierl *et al.*, 2009) et à des critères décrits dans la grille d'évaluation neuropharmacologique d'Irwin (Irwin *et al.*, 1959).

V.1. Sortie du cercle

La souris est déposée au milieu d'un dispositif sous forme d'une plateforme circulaire contenant une petite sortie (2 x 2,5 cm) quelque part dans sa base. L'extérieur du cercle au niveau de la sortie doit être plus éclairé que son intérieur de manière à créer une appréhension à la sortie pour l'animal, vu le caractère inné des rongeurs d'éviter les endroits lumineux.



Figure 20 : Dispositif du test de la sortie du cercle

À la différence de ce qui a été appliqué par Flierl et collaborateurs (2009) pour la cotation, la façon dont la souris a quitté le cercle a été observée sur une période maximale de 2 minutes [Tableau XII]. Selon son caractère curieux et son comportement intrinsèque d'explorer son environnement, une souris naïve arrivera à sortir du cercle dans un intervalle de 2 minutes après quelques tentatives reflétant son sentiment d'insécurité en présence de la lumière ainsi que son état de méfiance et d'appréhension envers l'inconnu. Dans ce cas, elle aura une cotation de 3 points. Si la souris ne sort pas dans les 2 minutes imparties malgré plusieurs essais, elle obtiendra 2 points. En revanche, si la souris sort du cercle sans aucune hésitation et aucune démarche d'exploration reflétant un état d'impulsivité et de désinhibition, elle aura une cotation de 1 point. Cet état d'impulsivité a été déjà décrit chez les patients traumatisés crâniens ^[118] (Rochat *et al.*, 2010) ainsi que les sujets atteints de la maladie d'Alzheimer (Rochat *et al.*, 2008). Enfin, si la souris ne sort pas du cercle sans tentative de sortie, on lui attribuera 0 points.

Pour chaque temps d'évaluation, l'orientation de la sortie du dispositif doit être changée. Ce changement d'orientation est effectué pour que la souris ne se serve pas de sa mémoire spatiale afin de trouver la sortie, mais plutôt de sa capacité d'exploration.

| Description | Jugement | Score / 3 points |
|---|--|------------------|
| Initiative et capacité de sortir en 2 minutes d'un cercle de 30 centimètres de diamètre | plusieurs essais suivis d'une sortie | 3 |
| | plusieurs essais de sortie sans sortie | 2 |
| | sortie sans ou avec un seul essai | 1 |
| | pas de sortie et pas d'essai | 0 |

Tableau XII : Cotation du test de la sortie du cercle sur 3 points

^[118] Voir Rappels Bibliographiques / Premier Chapitre / Paragraphe III.4.4.1.

V.2. Critères choisis dans la grille d'évaluation d'Irwin

Cette grille d'évaluation a été autrefois conçue par Irwin et collaborateurs (1959) comme outil de dépistage des molécules pour leurs effets neuropharmacologiques. Elle comprend de nombreux paramètres indépendants, y compris l'état de vigilance, des réflexes physiologiques, et des signes pathologiques. Certains critères de cette grille ont été sélectionnés pour constituer la deuxième composante du score neurologique [Tableau XIII]. Le choix de ces critères a été basé sur leur pertinence par rapport à notre modèle lésionnel ainsi que, pour certains paramètres, la possibilité d'évaluation pendant la réalisation du test de la sortie du cercle en raison de faisabilité.

Une cotation de 1 point sera attribuée en cas de normalité de l'état d'alerte, de la posture ou de l'exploration, ainsi qu'en cas d'absence de ptôsis palpébral ou de stéréotypie.

| Paramètre testé | Description | Jugement | Score |
|--|---|------------------|-------|
| État d'alerte et de vigilance | Tendance à fuir la main venant d'attraper la souris dans la cage. | anormal / normal | 0/1 |
| Posture dans la cage et démarche | Aspect général de l'animal au repos (dos cassé, prostration,...), et son aptitude de marcher normalement en ligne droite sans traîner les pattes. | anormal / normal | 0/1 |
| Curiosité intrinsèque et exploration spontanée | Initiative et capacité motrice d'exploration (renifler, flairer, se redresser,... etc.), reflétant la curiosité ainsi que l'intérêt de l'animal pour son environnement. | absent / présent | 0/1 |
| Stéréotypie | Signe d'un mouvement anormalement répétitif. | présent / absent | 0/1 |
| Ptôsis palpébral | Chute anormale de la paupière supérieure d'un ou des deux côtés. | présent / absent | 0/1 |

Tableau XIII : Cotation des critères choisis dans la grille d'évaluation d'Irwin sur 5 points

Une souris naïve sortira du cercle après plusieurs tentatives, ou bien, vu son caractère craintif, elle restera dans le dispositif circulaire après avoir également réalisé plusieurs essais de sortir. Par conséquent, elle aura normalement un score total de 7 ou 8 points. Il est important de noter que plus le score est petit, plus le déficit neurologique est important.

VI. Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés en valeur moyenne \pm écart standard à la moyenne (esm). L'analyse statistique des données a été effectuée à l'aide du logiciel Statview[®] 5.0 (Abacus Concept Inc., France).

Pour les cinétiques de l'évolution post-traumatique de l'œdème cérébral, des COXs, des PGs, et de l'IL-1 β (variables continues), les comparaisons entre les groupes ont été réalisées à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA) à un facteur, suivie du test de Dunnett.

Pour l'évaluation de l'effet de nos stratégies thérapeutiques sur les dosages biochimiques, les études immunochimiques ainsi que les mesures de l'œdème cérébral, de poids et de température (variables continues), la comparaison des données a été effectuée à l'aide d'une ANOVA à deux facteurs, suivie du test de Bonferroni.

Pour le score neurologique (variable discontinue), les comparaisons entre les différents groupes ont été réalisées par une analyse non paramétrique de variance de Kruskal-Wallis, suivie du test U de Mann-Whitney. Une différence a été considérée significative pour une valeur de $p < 0,05$.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

PREMIERE PARTIE : CARACTERISATION DU MODELE

I. Évolution du déficit neurologique

L'évolution du déficit neurologique a été évaluée entre 1 heure et 28 jours après le trauma par un score neurologique coté sur 8 points [Figure 21 et Tableau XIV]. Les souris naïves ont un score compris entre ($6,8 \pm 0,2$) et ($7,8 \pm 0,1$). Le TC entraîne une diminution significative de ce score dès 1 heure ($2,3 \pm 0,4$ *versus* $7,8 \pm 0,1$ chez les souris naïves ; $p < 0,001$), et au moins jusqu'à 28 jours ($5,3 \pm 0,5$ *versus* $6,8 \pm 0,2$ chez le groupe Naïf ; $p < 0,01$). Avec le temps, on note toutefois une tendance à une récupération fonctionnelle spontanée chez les souris traumatisées.

| Temps post-Trauma | n | Moyenne \pm esm Score neurologique | |
|-------------------|---------|---|-------------------|
| | | Groupes | |
| | | Naïf | Trauma |
| 1 heure | 19 - 20 | 7,8 \pm 0,1 | 2,3 \pm 0,4 *** |
| 6 heures | 19 - 20 | 7,2 \pm 0,1 | 3,1 \pm 0,5 *** |
| 24 heures | 19 - 20 | 7,3 \pm 0,1 | 4,6 \pm 0,5 *** |
| 72 heures | 18 - 20 | 7,3 \pm 0,2 | 4,2 \pm 0,5 *** |
| 7 jours | 17 - 20 | 7,5 \pm 0,2 | 5,2 \pm 0,3 *** |
| 14 jours | 17 - 20 | 7,2 \pm 0,2 | 5,5 \pm 0,3 *** |
| 21 jours | 17 - 20 | 6,8 \pm 0,2 | 5,2 \pm 0,4 ** |
| 28 jours | 17 - 20 | 6,8 \pm 0,2 | 5,3 \pm 0,5 ** |

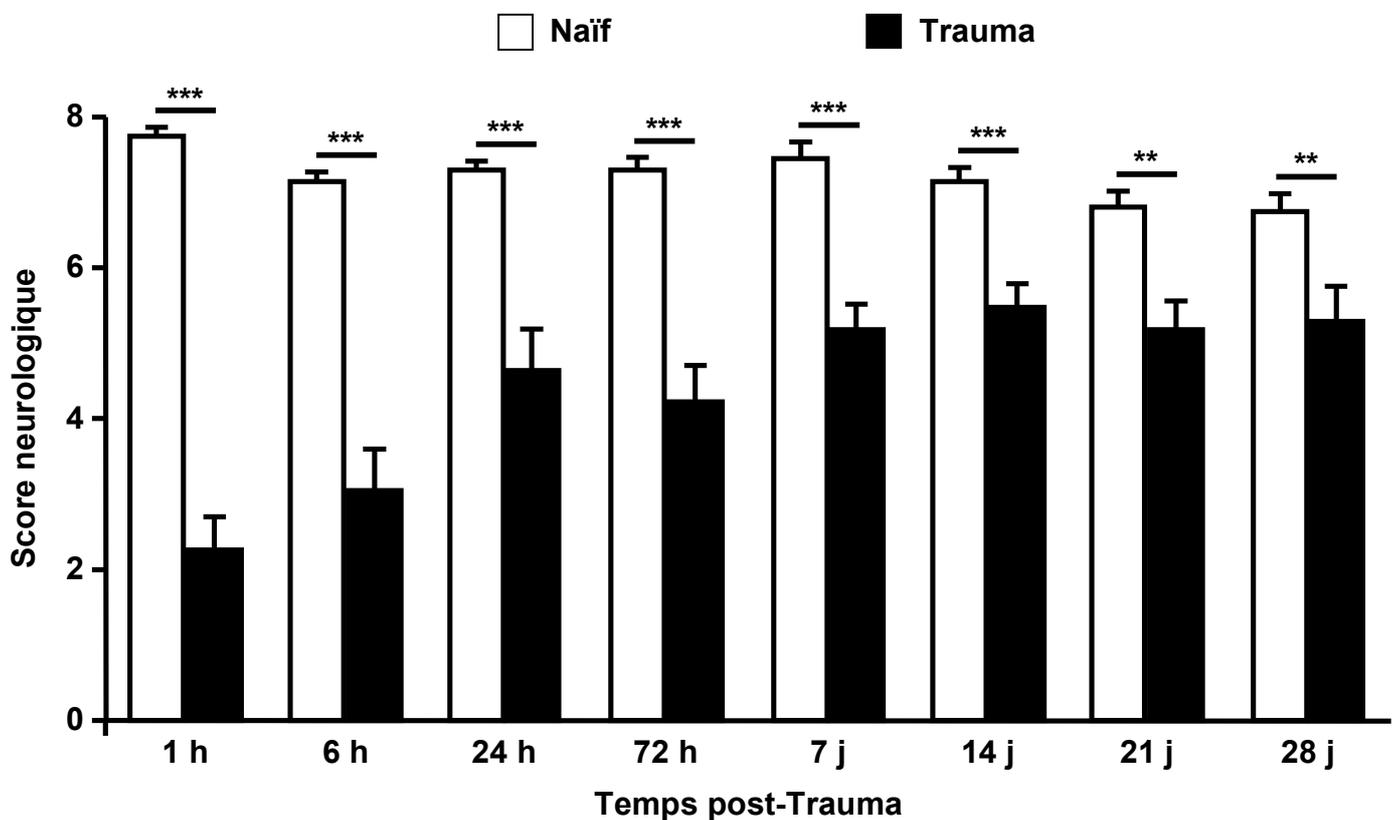


Figure 21 et Tableau XIV : Évolution du déficit neurologique après le traumatisme crânien

Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm. ** $p < 0,01$ et *** $p < 0,001$ versus Naïf (Test U de Mann-Whitney).

II. Évolution de l'œdème cérébral

Le TC entraîne une augmentation significative du pourcentage du contenu cérébral en eau témoignant d'un œdème cérébral dès 1 heure ($80,5 \pm 0,2\%$; $p < 0,05$), et au moins jusqu'à 24 heures ($81,4 \pm 0,4\%$; $p < 0,001$) par rapport aux souris naïves ($79,4 \pm 0,2\%$) après l'incident traumatique [Figure 22 et Tableau XV]. Après cet intervalle, l'œdème commence à être résorbé et le contenu cérébral en eau à 48 heures post-TC ($80,3 \pm 0,2\%$) n'est plus différent de celui du groupe Naïf ($79,4 \pm 0,2\%$).

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Contenu cérébral en eau en % |
|-------------|----|---|
| Naïf | 8 | $79,4 \pm 0,2$ |
| Trauma 1 h | 13 | $80,5 \pm 0,2$ * |
| Trauma 3 h | 13 | $80,7 \pm 0,1$ ** |
| Trauma 6 h | 12 | $81,4 \pm 0,2$ *** |
| Trauma 12 h | 14 | $81 \pm 0,3$ *** |
| Trauma 24 h | 9 | $81,4 \pm 0,4$ *** |
| Trauma 48 h | 12 | $80,3 \pm 0,2$ |

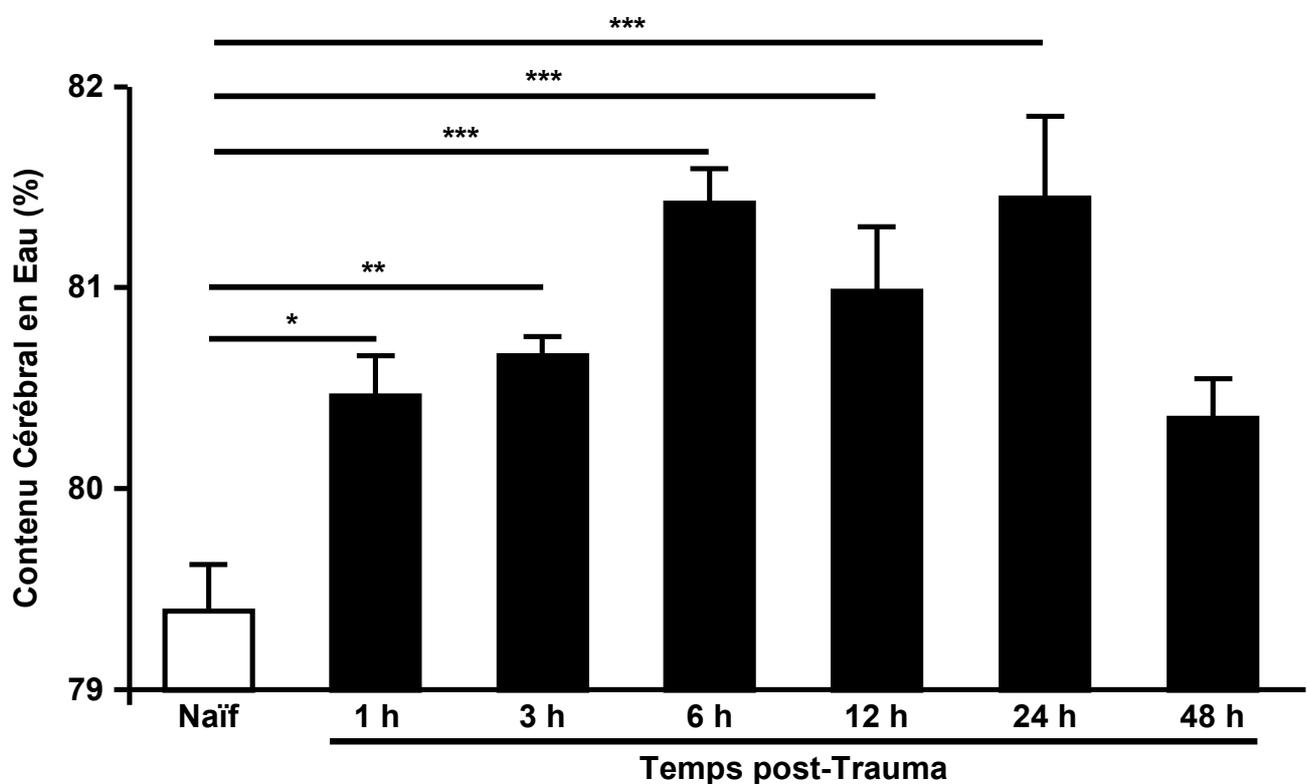


Figure 22 et Tableau XV : Évolution de l'œdème cérébral après le traumatisme crânien

Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage du contenu cérébral en eau. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ et *** $p < 0,001$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Dunnett).

DISCUSSION

Nous avons commencé cette étude avec la caractérisation du modèle du traumatisme crânien par percussion mécanique chez la souris sur la base de critères décrits chez l'Homme en clinique ou en post-mortem. Ces paramètres de pertinence clinique étaient choisis comme outils d'évaluation de l'efficacité potentielle de nos stratégies thérapeutiques testées.

Le déficit neurologique post-traumatique est le handicap ayant un impact majeur sur le patient traumatisé crânien, son entourage familial ou professionnel, et le budget du système de soins sanitaires de l'État. Par conséquent, développer et bien adapter des tests comportementaux permettant de refléter de manière assez reproductible un déficit fonctionnel et/ou cognitif ainsi que suivre son évolution post-traumatique constituaient un de nos objectifs.

Dans un modèle du TC réalisé à crâne fermé après le dégagement du scalp, une équipe a proposé un score neurologique mettant en évidence un déficit dont la gravité était corrélée à la hauteur de la chute du poids (Flierl *et al.*, 2009) ainsi qu'à l'œdème cérébral post-traumatique (Beni-Adani *et al.*, 2001). Nous avons adapté ce score à notre modèle du TC réalisé sans ouverture de la peau du crâne. La cotation de la sortie du cercle, un des critères de ce score, a été modifiée compte tenu de l'impulsivité et de la désinhibition d'animaux traumatisés qui étaient mises en évidence dans notre modèle. Ces anomalies se manifestent par une sortie brusque du cercle sans aucune hésitation au préalable de la part de souris lésées ayant anormalement perdu leur appréhension envers l'inconnu et les endroits bien éclairés. Ce genre de déficit induit dans nos conditions expérimentales se rapproche du caractère impulsif qui a été précédemment décrit chez les patients traumatisés crâniens ^[119] (Rochat *et al.*, 2010). De plus, d'autres paramètres définis par cette équipe, et encore plus antérieurement par Irwin et collaborateurs (1959), notamment l'état d'alerte, le caractère intrinsèque de l'animal d'explorer son environnement ainsi que sa posture et sa démarche ont été aussi retenus. Dans le calcul de notre score, nous avons également intégré les signes pathologiques du ptôsis palpébral et de la stéréotypie inclus dans la grille d'évaluation neuropharmacologique élaborée chez la souris (Irwin *et al.*, 1959). Ces deux paramètres sont de grand intérêt dans notre modèle où le traumatisme est frontal et unilatéral.

Notre modèle du TC est capable de générer une diminution du score neurologique témoignant d'un déficit. Ce dernier est significatif dès 1 heure et jusqu'à 28 jours après le trauma. La chute du score est maximale à 1 heure post-TC avec une récupération rapide et spontanée au cours des premières 24 heures après lesquelles un déficit résiduel d'environ 25% peut être détecté jusqu'à un mois.

^[119] Voir Rappels Bibliographiques / Premier Chapitre / Paragraphe III.4.4.1.

La formation d'un œdème cérébral est responsable d'environ 50% des cas de mortalité après un TC (Donkin & Vink, 2010). Ayant également un impact sur la morbidité post-traumatique, la recherche des stratégies contrôlant ce type de lésion cérébrale reste toujours incontournable.

Dans notre modèle du TC, Hellal et collaborateurs (2004) ont précédemment mis en évidence une augmentation du contenu cérébral en eau. Nous avons retrouvé dans nos conditions expérimentales le même profil d'évolution de l'œdème cérébral entre 1 et 24 heures post-TC.

DEUXIEME PARTIE : ÉVOLUTION DE L'EXPRESSION PROTEIQUE ET DE L'ACTIVITE IN VIVO DE CYCLO-OXYGENASE DE TYPE 2

I. Évolution de l'expression protéique de cyclo-oxygénase de type 2

La Figure 23A est représentative de Western Blot réalisé avec un anticorps anti-COX-2 sur des cerveaux prélevés chez des animaux naïfs et à différents temps après le trauma crânien. On observe une bande d'environ 75 kDa dans les extraits stimulés par le LPS, connu comme inducteur de l'expression de COX-2 ^[120]. La même bande est identifiée dans tous les échantillons prélevés chez des souris traumatisées avec une modulation post-traumatique observée au cours du temps.

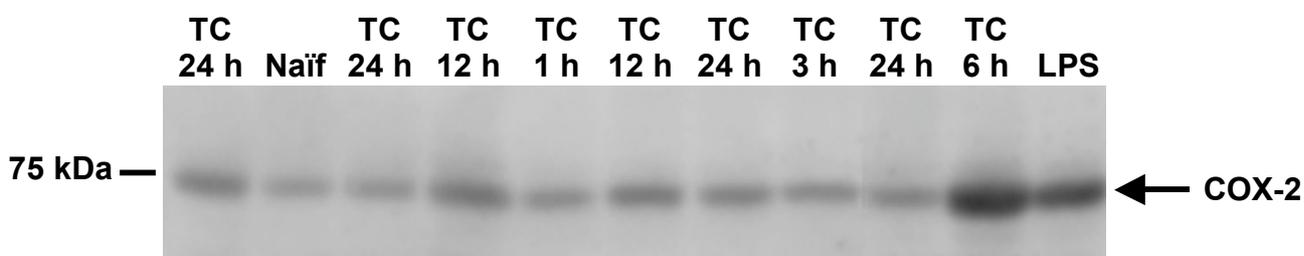


Figure 23A : Immunodétection de cyclo-oxygénase de type 2 sur des extraits de cerveaux de souris après un traumatisme crânien

La quantification de cette bande dans les différents immunoblots à l'aide du logiciel ImageQuant™ est présentée par la Figure 23B et le Tableau XVI. On observe une augmentation significative de la protéine COX-2 6 heures après l'injection au LPS ($92,2 \pm 4,8$ versus $31,9 \pm 2,9$ UA chez le groupe Naïf ; $p < 0,05$). Le TC augmente l'expression de COX-2 à 6 heures ($89,4 \pm 14,3$ UA ; $p < 0,05$) ainsi qu'à 12 heures ($107,8 \pm 24$ UA ; $p < 0,01$) par rapport aux animaux naïfs ($31,9 \pm 2,9$ UA). À partir de 24 heures, le niveau de COX-2 dans le parenchyme cérébral des souris traumatisées ($67 \pm 8,8$ UA) ne diffère plus de celui des naïves.

^[120] Voir Rappels Bibliographiques / Deuxième Chapitre / Paragraphe II.3.3.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm COX-2 en unités arbitraires (UA) |
|-------------|----|---|
| Naïf | 10 | 31,9 \pm 2,9 |
| LPS 6 h | 9 | 92,2 \pm 4,8 * |
| Trauma 1 h | 9 | 44,2 \pm 4,2 |
| Trauma 3 h | 9 | 38,1 \pm 5,4 |
| Trauma 6 h | 14 | 89,4 \pm 14,3 * |
| Trauma 12 h | 13 | 107,8 \pm 24 ** |
| Trauma 24 h | 14 | 67 \pm 8,8 |

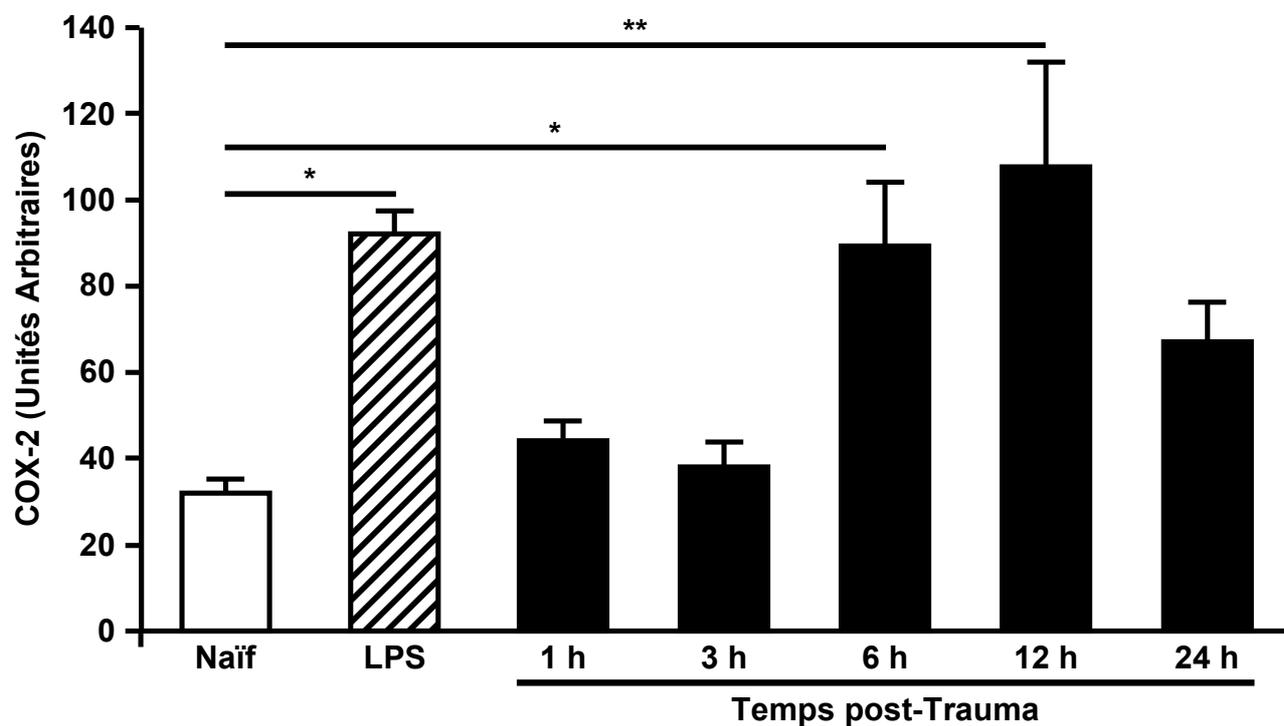


Figure 23B et Tableau XVI : Évolution de cyclo-oxygénase de type 2 après le traumatisme crânien

Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en unités arbitraires. Le lipopolysaccharide (LPS) est administré par voie intrapéritonéale à la dose de 40 mg/kg, et les cerveaux des souris sont prélevés 6 heures après son administration comme contrôle positif. * $p < 0,05$ et ** $p < 0,01$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Dunnett).

II. Évolution de la production de PGE

L'activité *in vivo* des COXs a été suivie par le dosage des prostanoïdes. Dans un premier temps, nous avons quantifié le contenu cérébral en PGE qui correspond à la quantité de PGE₁ et de PGE₂. La synthèse de ces isomères implique nécessairement l'activité COX, même si ce dosage est couramment utilisé comme reflet de la production de PGE₂.

La Figure 24 et le Tableau XVII montrent le contenu de PGE dans les cerveaux des groupes Naïf, 6, 12 et 24 heures après le TC ainsi que dans les échantillons traités par le LPS. Chez les souris ayant subi un TC, le taux cérébral de PGE ne diffère pas de celui des animaux naïfs. Par contre, le LPS augmente significativement la concentration intracérébrale de PGE ($270,3 \pm 52,6\%$ versus $100 \pm 14,2\%$ chez le groupe Naïf ; $p < 0,001$), ce qui témoigne de la validité de notre technique de dosage.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm PGE en % de la moyenne du groupe Naïf |
|-------------|----|--|
| Naïf | 16 | 100 \pm 14,2 |
| LPS 6 h | 9 | 270,3 \pm 52,6 *** |
| Trauma 6 h | 15 | 127,8 \pm 14 |
| Trauma 12 h | 16 | 101,5 \pm 14,2 |
| Trauma 24 h | 14 | 112,9 \pm 12,6 |

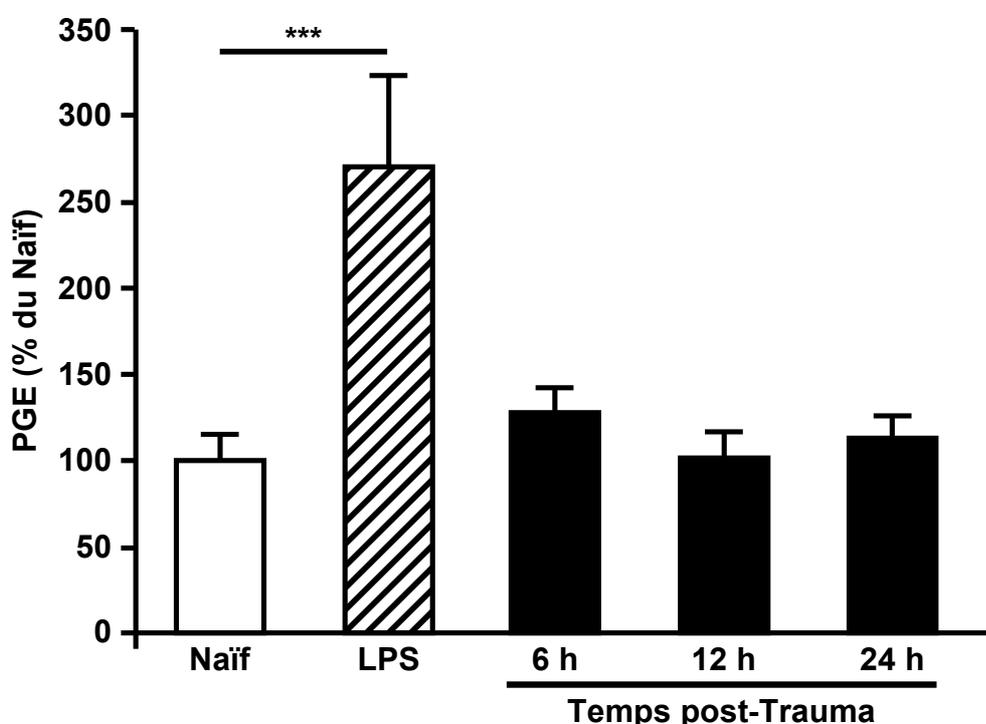


Figure 24 et Tableau XVII : Évolution de prostaglandine E après le traumatisme crânien

Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage de la valeur moyenne du groupe Naïf qui est égale à $89,6 \pm 12,7$ pg/mg de protéine. Le lipopolysaccharide (LPS) est administré par voie intrapéritonéale à la dose de 40 mg/kg, et les cerveaux des souris sont prélevés 6 heures après son administration comme contrôle positif. *** $p < 0,001$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Dunnett).

III. Évolution de la production de 6-kéto PGF_{1α}

La Figure 25 et le Tableau XVIII montrent le contenu de 6-kéto PGF_{1α}, le métabolite stable de PGI₂, dans les cerveaux des groupes Naïf, 1, 3, 6, 12 et 24 heures après le TC, ainsi que dans les échantillons prélevés des animaux traités préalablement par le LPS. On observe une augmentation significative de 6-kéto PGF_{1α} 6 heures après l'injection au LPS ($204,4 \pm 12,5\%$ versus $100 \pm 12\%$ chez le groupe Naïf ; $p < 0,001$). De même, le TC accroît le contenu cérébral en ce métabolite de la prostacycline à 3 heures ($147,7 \pm 13,7\%$; $p < 0,05$) et à 6 heures ($166,6 \pm 17,7\%$; $p < 0,01$) par rapport aux animaux naïfs. Cette augmentation est transitoire puisqu'elle n'est plus significative à 12 heures ($119,6 \pm 10,4\%$) et à 24 heures ($114,4 \pm 10,2\%$) après le trauma.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm 6-kéto PGF _{1α} en % de la moyenne du groupe Naïf |
|-------------|----|---|
| Naïf | 11 | 100 \pm 12 |
| LPS 6 h | 6 | 204,4 \pm 12,5 *** |
| Trauma 1 h | 11 | 111 \pm 8,5 |
| Trauma 3 h | 11 | 147,7 \pm 13,7 * |
| Trauma 6 h | 11 | 166,6 \pm 17,7 ** |
| Trauma 12 h | 11 | 119,6 \pm 10,4 |
| Trauma 24 h | 11 | 114,4 \pm 10,2 |

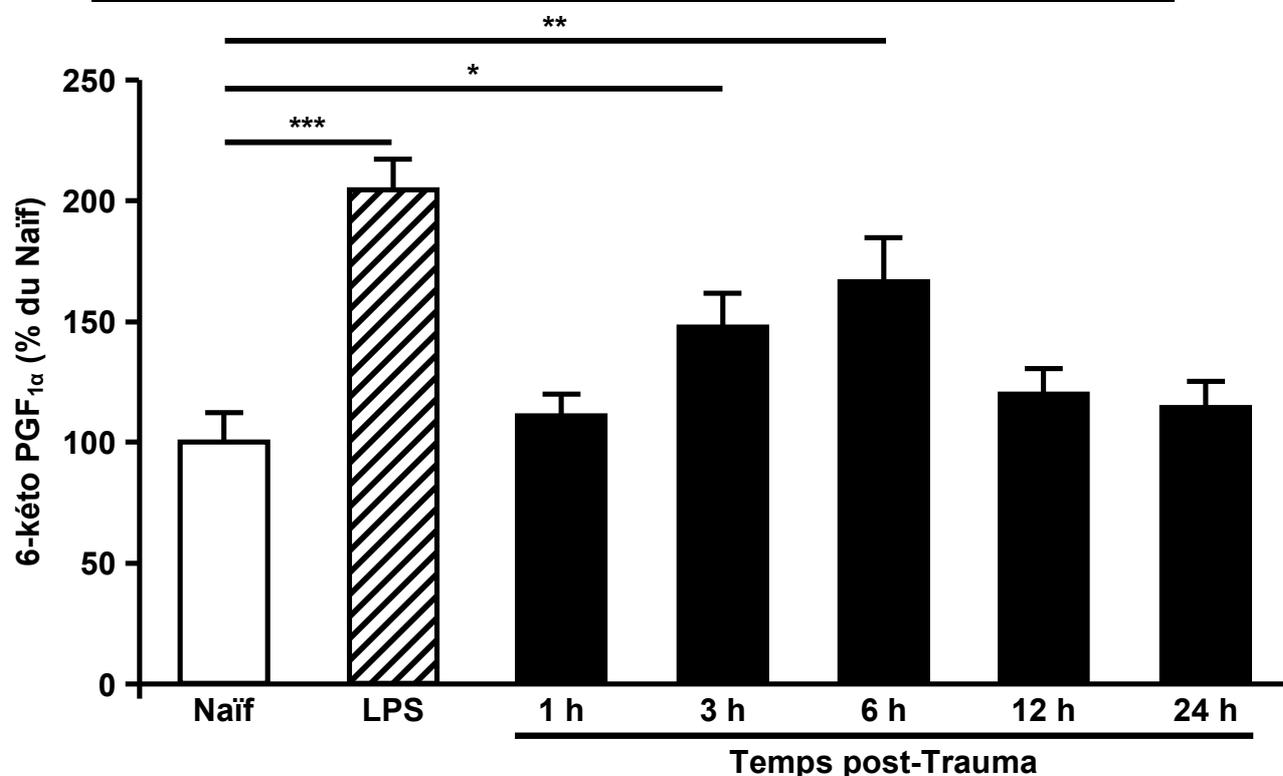


Figure 25 et Tableau XVIII : Évolution de 6-kéto prostaglandine F_{1α} après le traumatisme crânien

Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage de la valeur moyenne du groupe Naïf qui est égale à $261,5 \pm 31,3$ pg/mg de protéine. Le lipopolysaccharide (LPS) est administré par voie intrapéritonéale à la dose de 40 mg/kg, et les cerveaux des souris sont prélevés 6 heures après son administration comme contrôle positif. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ et *** $p < 0,001$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Dunnett).

IV. Effets des inhibiteurs de COX-2 sur la synthèse de 6-kéto PGF_{1α} 6 heures après le traumatisme crânien

Afin de déterminer si l'augmentation post-traumatique de 6-kéto PGF_{1α} est dépendante de COX-2, nous avons testé l'effet de deux différents inhibiteurs de cette isoforme.

IV.1. Effet du nimésulide

Conformément à la cinétique antérieurement réalisée, le TC induit une augmentation d'environ 161% du taux cérébral de 6-kéto PGF_{1α} (161,2 ± 26,2% *versus* 100 ± 6,3% chez le groupe Naïf ; *p* < 0,05), 6 heures après la percussion [Figure 26 et Tableau XIX]. L'inhibition de COX-2 par le nimésulide supprime totalement l'accroissement post-traumatique de ce métabolite de la prostacycline dans les cerveaux de souris traumatisées (97,9 ± 10,5% *versus* 161,2 ± 26,2% chez le groupe Trauma Solvant ; *p* < 0,05).

| Groupes | n | Moyenne ± esm 6-kéto PGF _{1α} en % de la moyenne du groupe Naïf |
|------------------------------|---|---|
| Naïf | 8 | 100 ± 6,3 |
| Trauma Solvant | 9 | 161,2 ± 26,2 * |
| Trauma Nimésulide (12 mg/kg) | 8 | 97,9 ± 10,5 # |

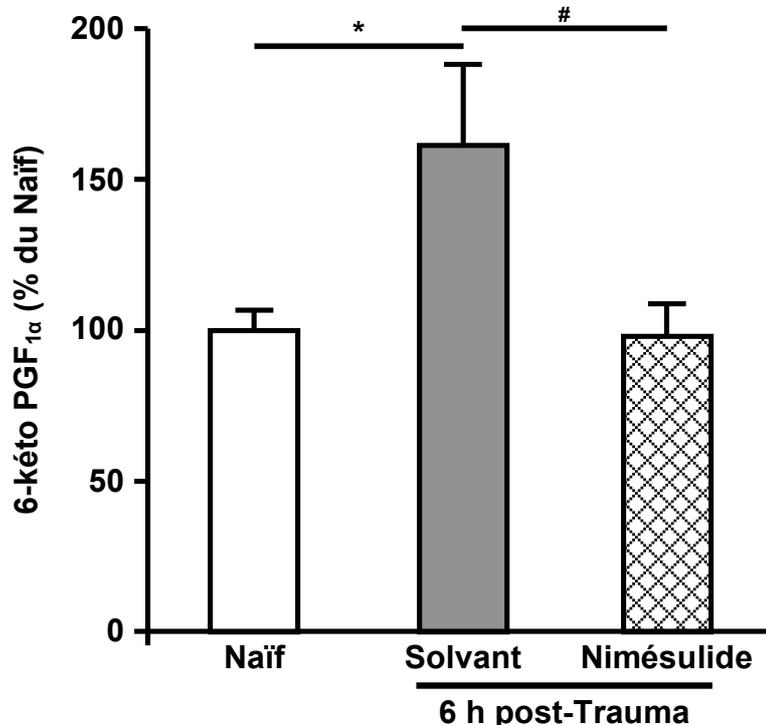


Figure 26 et Tableau XIX : Effet du nimésulide sur la 6-kéto prostaglandine F_{1α} 6 heures post-Trauma

Le nimésulide (12 mg/kg) et son solvant (Krebs-Henseleit Buffer) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le TC. Les résultats sont présentés par la moyenne ± esm et exprimés en pourcentage de la valeur moyen du groupe Naïf qui est égale à 116 ± 7,3 pg/mg de protéine. * *p* < 0,05 *versus* Naïf et # *p* < 0,05 *versus* Trauma Solvant (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

IV.2. Effet du méloxicam

Le TC induit quasiment la même augmentation de 6-kéto PGF_{1α} que précédemment (162,5 ± 12,5% *versus* 100 ± 11,6% chez le groupe Naïf ; $p < 0,01$) [Figure 27 et Tableau XX]. Chez les souris traumatisées ayant reçu le traitement, l'inhibition de COX-2 par le méloxicam induit une diminution de 88% de l'augmentation post-traumatique de ce métabolite (107,7 ± 15,5% *versus* 162,5 ± 12,5% chez le groupe Trauma Solvant ; $p < 0,05$).

| Groupes | n | Moyenne ± esm 6-kéto PGF _{1α} en % de la moyenne du groupe Naïf |
|----------------------------|----|---|
| Naïf | 11 | 100 ± 11,6 |
| Trauma Solvant | 12 | 162,5 ± 12,5 ** |
| Trauma Méloxicam (2 mg/kg) | 15 | 107,7 ± 15,5 # |

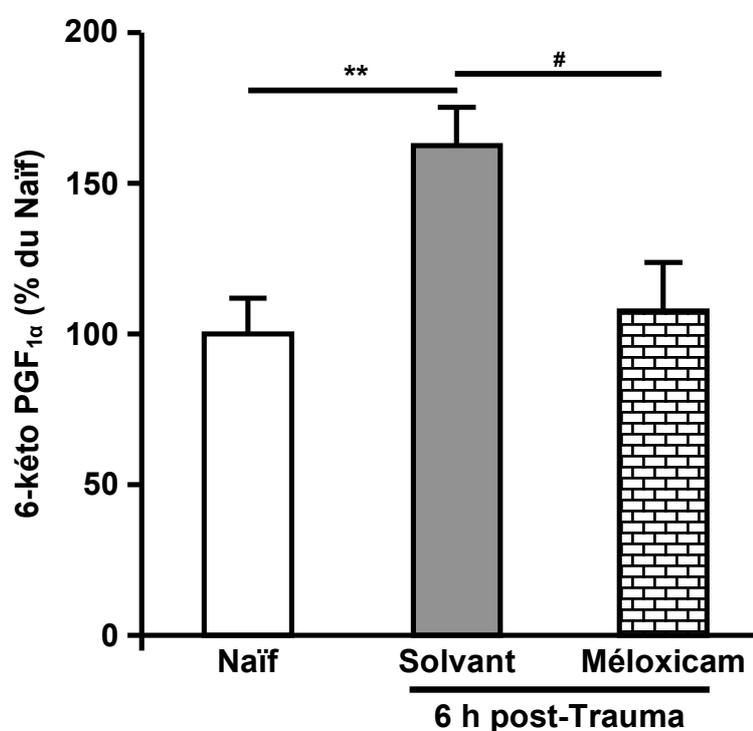


Figure 27 et Tableau XX : Effet du méloxicam sur la 6-kéto prostaglandine F_{1α} 6 heures post-Trauma

Le méloxicam (2 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le TC. Les résultats sont présentés par la moyenne ± esm et exprimés en pourcentage de la valeur moyenne du groupe Naïf qui est égale à 578,1 ± 66,9 pg/mg de protéine. ** $p < 0,01$ *versus* Naïf et # $p < 0,05$ *versus* Trauma Solvant (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

V. Effet de l'inhibition de COX-2 par le méloxicam sur le taux basal de 6-kéto PGF_{1α} 6 heures après son administration chez les souris naïves

L'expression constitutive de COX-2 au niveau cérébral nous a incités à vérifier si la formation de 6-kéto PGF_{1α} à l'état physiologique était modifiée par l'utilisation des inhibiteurs de COX-2. La Figure 28 et le Tableau XXI montrent le taux basal de 6-kéto PGF_{1α} dans les cerveaux de souris naïves, 6 heures après leur traitement par le méloxicam ou son solvant. Le solvant (solution saline à 0,9%) ne modifie pas significativement ce taux basal ($83,5 \pm 9\%$ *versus* $100 \pm 16,8\%$ chez le groupe Naïf). De même, l'inhibition de COX-2 par le méloxicam n'induit pas d'effet significatif sur le contenu cérébral de ce dérivé de PGI₂ ($67 \pm 7\%$ *versus* $83,5 \pm 9\%$ chez les souris naïves ayant reçu le solvant).

| Groupes | n | Moyenne \pm esm 6-kéto PGF _{1α} en % de la moyenne du groupe Naïf |
|--------------------------|----|---|
| Naïf | 10 | $100 \pm 16,8$ |
| Naïf Solvant | 13 | $83,5 \pm 9$ |
| Naïf Méloxicam (2 mg/kg) | 14 | 67 ± 7 |

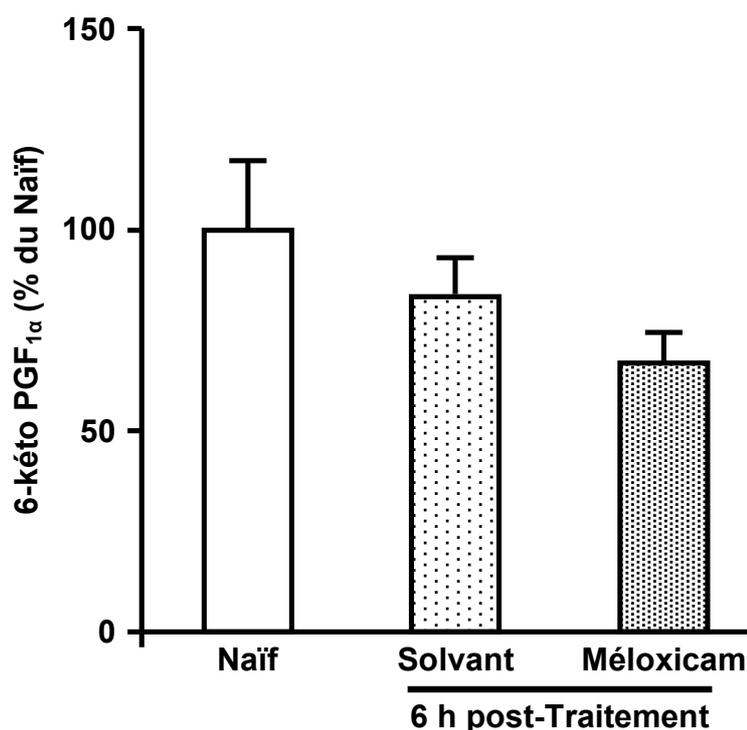


Figure 28 et Tableau XXI : Effet du méloxicam sur le taux basal de 6-kéto prostaglandine F_{1α} 6 heures post-Traitement

Le méloxicam (2 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage de la valeur moyenne du groupe Naïf qui est égale à $274,2 \pm 46,1$ pg/mg de protéine.

DISCUSSION

L'ensemble de ces résultats montre une augmentation précoce et transitoire du contenu cérébral en COX-2, qui est associée à un accroissement du taux cérébral de la prostacycline, sans aucune conséquence sur la formation de PGE. La suppression de cette augmentation post-traumatique de PGI₂ par le méloxicam ou le nimésulide montre que celle-ci est dépendante de COX-2. Par ailleurs, ces données sont en faveur de la validité de nos stratégies thérapeutiques, et ouvrent la voie à l'évaluation de leurs effets sur le déficit neurologique et l'œdème cérébral post-traumatiques.

Il a été montré par la méthode d'hybridation *in situ* une induction de l'ARNm de COX-2 entre 1 et 3 jours dans le cortex et l'hippocampe des rats traumatisés par percussion de fluide (Strauss *et al.*, 2000). Cette induction commençait à disparaître vers le 7^{ème} jour post-TC. Dans un modèle lésionnel par impact cortical contrôlé, les auteurs ont montré parallèlement une induction corticale plus précoce de l'ARNm entre 6 et 72 heures.

Une stimulation de l'expression de COX-2 dans le cortex et l'hippocampe a été détectée par la technique d'immunoblot après un TC chez le rat adulte et le raton en phase de développement postnatal. Chez le rat adulte, une augmentation corticale du contenu cérébral de la protéine a été décrite à 24 heures (Strauss *et al.*, 2000) et à 3 jours (Dash *et al.*, 2000; Strauss *et al.*, 2000; Cernak *et al.*, 2001), suivant un TC induit par impact cortical latéral (Dash *et al.*, 2000; Strauss *et al.*, 2000) ou par lâcher de poids (Cernak *et al.*, 2001). De même, une hausse du taux de l'enzyme a été montrée dans le parenchyme cérébral de l'hippocampe à 24 heures (Dash *et al.*, 2000), ou de manière précoce dès 3 heures et continue jusqu'à 12 jours après l'impact (Cernak *et al.*, 2001). Dans les homogénats des cerveaux de jeunes rats âgés de 17 jours, une augmentation de COX-2 a été également détectée 24 heures après un TC réalisé par impact cortical contrôlé (Hickey *et al.*, 2007). Les cellules immunoréactives (COX-2-ir) étaient des neurones (Dash *et al.*, 2000; Strauss *et al.*, 2000) et des astrocytes (Strauss *et al.*, 2000).

Des données non publiées du laboratoire ^[121] ont montré dans notre modèle une induction précoce mais transitoire de l'ARNm de COX-2 entre 30 minutes et 6 heures après le TC. Au cours de cette étude, nous avons renforcé ce résultat en montrant par immunoblot une augmentation d'un facteur 3 de la protéine entre 6 et 12 heures post-TC. En cohérence avec nos données trouvées chez la souris, Ahmad et collaborateurs (2008) ont décrit chez la souris une hausse d'un facteur 15 de l'expression de COX-2 évaluée 24 heures après un TC par impact cortical contrôlé. Cette forte augmentation de l'enzyme a été associée à une élévation

^[121] Travaux non publiés de Hervé RHINN et collaborateurs.

d'un facteur 1,7 du contenu cérébral de PGE₂. Dans nos conditions expérimentales, nous n'avons détecté aucun changement du taux cérébral de ce médiateur pro-inflammatoire. Malgré l'induction post-traumatique de COX-2, l'absence de modification ultérieure de PGE₂ peut s'expliquer. Premièrement, il est possible que l'augmentation de COX-2 ne soit pas couplée systématiquement à une induction de mPGES. À cet égard, cette dissociation a été déjà démontrée au moins au niveau neuronal (Kunz *et al.*, 2002). Une deuxième hypothèse est aussi plausible avec la présence probable d'albumine dans les homogénats de nos échantillons cérébraux. Cette présence est non seulement due au dysfonctionnement de la BHE après le TC (Zhang *et al.*, 2010), permettant l'infiltration de cette protéine plasmatique majeure dans le parenchyme cérébral, mais également à l'hémorragie intracérébrale post-traumatique déjà démontrée dans notre modèle (Hellal *et al.*, 2004). Il a été suggéré que la PGD₂ pourrait être le type principal de PGs synthétisées en présence de l'albumine (Hamberg & Fredholm, 1976). Cette protéine peut également catalyser sa déshydratation en série des cyclopentenone prostaglandines (Fitzpatrick & Wynałda, 1983). D'ailleurs, Kunz et collaborateurs (2002) ont trouvé ces derniers quand des endopéroxydes, composés intermédiaires de la biosynthèse des prostanoïdes, ont été incubés avec de l'albumine ou de l'homogénat des cerveaux des rats traumatisés. Parmi ces métabolites résultant de la déshydratation de PGD₂ (Fitzpatrick & Wynałda, 1983; Kunz *et al.*, 2002), la 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂ a reçu le plus d'attention car elle est liée à la biosynthèse de PGE₂. En effet, des données ont déjà montré que la 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂ était un inhibiteur de la mPGES^[122] (Quraishi *et al.*, 2002). L'ensemble de ces arguments suggère que l'absence d'un accroissement post-traumatique du contenu cérébral en PGE₂ dans nos conditions expérimentales semble probablement résulter d'un manque d'induction voire une inhibition de sa synthèse terminale inductible.

Pour la première fois dans un modèle du TC chez la souris, nous avons montré une augmentation cérébrale de la formation d'un dérivé stable de prostacycline à partir de 3 heures post-TC. Cette stimulation de la synthèse de 6-kéto PGF_{1 α} a atteint son maximum 6 heures après le trauma, quand le pic du contenu cérébral de COX-2 a commencé à apparaître. Cette augmentation post-traumatique de PGI₂ semble être liée à la COX-2. La disparition de cette augmentation suite au traitement par le méloxicam ou le nimésulide, et l'absence d'effet du premier sur le taux de ce prostanoïde à l'état physiologique montrent que l'accroissement post-TC de PGI₂ est dépendant de COX-2.

^[122] Voir Rappels Bibliographiques / Deuxième Chapitre / Paragraphe II.3.5.4.

La présence de PGI₂ pouvant jouer un rôle bénéfique au cours du TC (Bentzer *et al.*, 2001), et l'absence de PGE₂ connue par son rôle pro-inflammatoire (Guay *et al.*, 2004) suggèrent un rôle bénéfique de COX-2 dans notre modèle. D'ailleurs, de plus en plus d'arguments récents de la littérature sont en faveur de l'hypothèse d'un rôle protecteur de cette enzyme dans la neuro-inflammation. Ainsi, il a été montré que l'inhibition pharmacologique ou la délétion génétique de COX-2 augmentait la réponse neuro-inflammatoire au LPS dans le cerveau (Aid *et al.*, 2008). De même, l'activité des métalloprotéases matricielles, l'expression des chimiokines, de marqueurs de recrutement et d'infiltration leucocytaires ainsi que la rupture de la BHE étaient exacerbées chez les souris COX-2^{-/-} (Aid *et al.*, 2010). De plus, il a été récemment suggéré que la COX-2 était nécessaire à la neurogenèse (Goncalves *et al.*, 2010). Selon l'auteur, le traitement par le nimésulide (10 mg/kg pendant 5 jours) empêchait la prolifération cellulaire dans la zone sous-ventriculaire des cerveaux de souris adultes. Ainsi, l'inhibition de cette enzyme pourrait s'opposer à ce processus de réparation. À cette implication bénéfique de COX-2 au cours de la neuro-inflammation expérimentale s'ajoute un rôle protecteur de cette isoforme qui a été décrit au niveau cardiovasculaire chez l'Homme. Dans le cadre de la prise en charge des maladies chroniques comme l'arthrite rhumatoïde, l'utilisation à long terme des coxibs inhibant la COX-2 de manière très sélective était associée à un risque accru d'infarctus de myocarde et d'accident vasculaire cérébral de type ischémique (Couzin, 2004). Cependant, un rôle délétère de COX-2 ne peut pas être exclu. Une fois induite, la COX-2 pourrait entraîner une neurotoxicité par la production de prostanoïdes, la génération de radicaux libres, et la dégradation des endocannabinoïdes qui possèdent des propriétés neuroprotectrices (Candelario-Jalil & Fiebich, 2008). L'inhibition des COXs peut également porter un intérêt supplémentaire par la déviation de la métabolisation de l'AA vers la formation d'acides HETEs et EETs^[123], connus comme neuroprotecteurs (Strauss, 2008, 2010). D'ailleurs, dans un modèle du TC par contusion corticale latérale chez le rat, Gopez et collaborateurs (2005) ont remarqué que l'effet bénéfique de l'inhibition sélective de COX-2 était associé à une augmentation des EETs.

^[123] Voir Rappels Bibliographiques / Deuxième Chapitre / Paragraphe II.1.3.

TROISIEME PARTIE : IMPLICATION DE CYCLO-OXYGENASE DE TYPE 2 DANS LES CONSEQUENCES POST-TRAUMATIQUES

I. Effets du nimésulide sur les conséquences post-traumatiques

I.1. Effet sur l'œdème cérébral

Le TC induit une augmentation significative du contenu cérébral en eau de 1% et de 1,5% à 6 et 24 heures respectivement ($p < 0,01$), ce qui témoigne de la présence d'un œdème cérébral [Figure 29 et Tableau XXII]. Le nimésulide à la dose de 12 mg/kg ne modifie pas ce contenu en eau chez les animaux traumatisés et traités.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Contenu cérébral en eau en % | |
|------------------------------|----|---|------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 15 | 79,1 \pm 0,2 | 79,5 \pm 0,1 |
| Trauma Solvant | 17 | 80,1 \pm 0,3 *** | 81 \pm 0,2 *** |
| Trauma Nimésulide (12 mg/kg) | 17 | 80,1 \pm 0,2 | 80,7 \pm 0,2 |

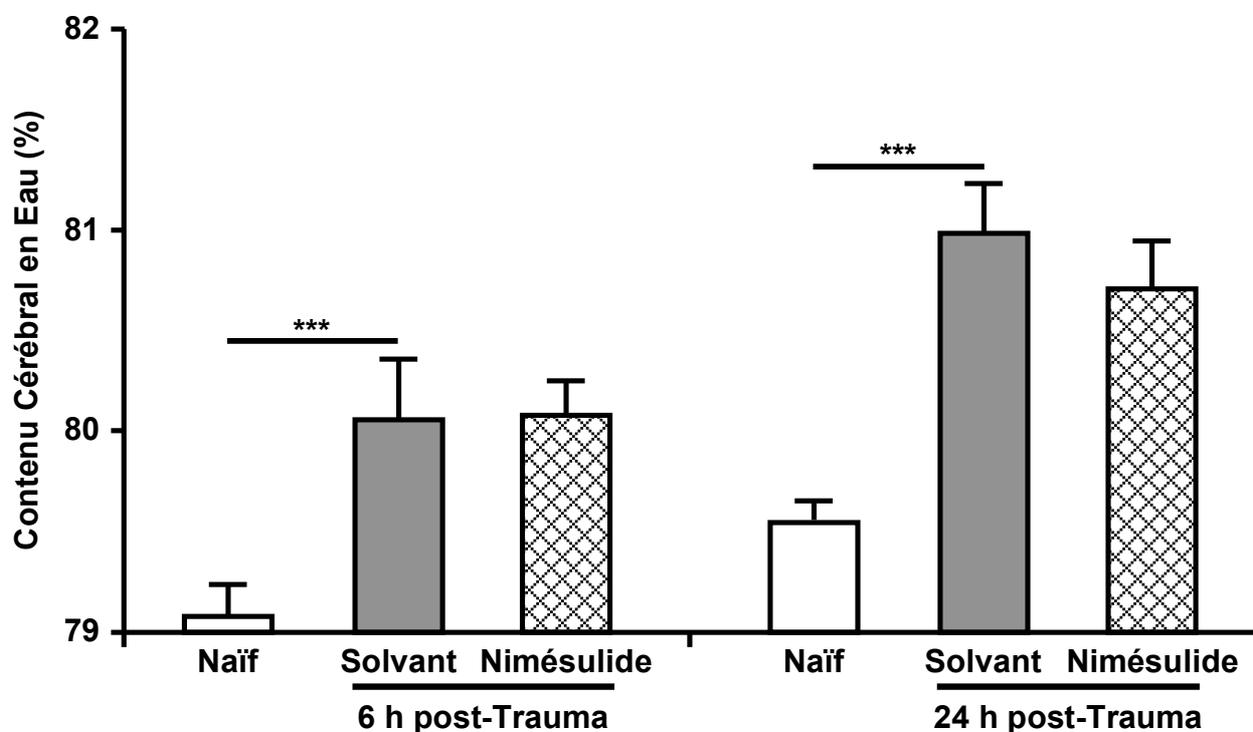


Figure 29 et Tableau XXII : Effet du nimésulide sur l'œdème cérébral à 6 et 24 heures post-Trauma

Le nimésulide (12 mg/kg) et son solvant (Krebs-Henseleit Buffer) sont administrés par voie intrapéritonéale à 10 minutes, 3, 6 et 12 heures après le TC. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage du contenu cérébral en eau. *** $p < 0,001$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

I.2. Effet sur le déficit neurologique

Le TC est à l'origine d'une diminution significative du score neurologique à 6 heures ($4 \pm 0,9$ versus $7,8 \pm 0,2$ chez les animaux naïfs ; $p < 0,001$), et à 24 heures ($4,6 \pm 0,8$ versus $7,5 \pm 0,2$ chez le groupe Naïf ; $p < 0,01$), ce qui reflète un déficit [Figure 30 et Tableau XXIII]. Le traitement par le nimésulide à la dose de 12 mg/kg n'améliore pas le score neurologique chez les animaux traumatisés et traités.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Score neurologique | |
|------------------------------|----|---|------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 12 | $7,8 \pm 0,2$ | $7,5 \pm 0,2$ |
| Trauma Solvant | 14 | $4 \pm 0,9$ *** | $4,6 \pm 0,8$ ** |
| Trauma Nimésulide (12 mg/kg) | 14 | $3,9 \pm 0,9$ | $4,4 \pm 1$ |

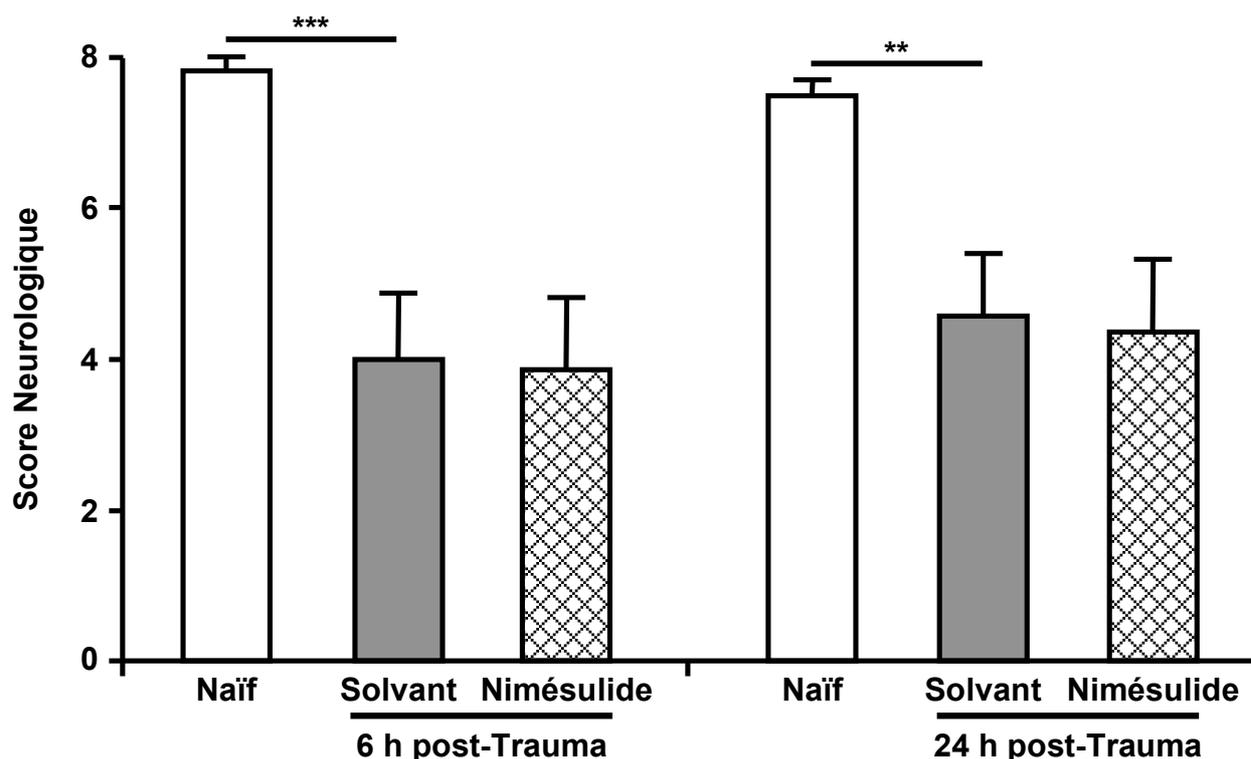


Figure 30 et Tableau XXIII : Effet du nimésulide sur le déficit neurologique à 6 et 24 heures post-Trauma

Le nimésulide (12 mg/kg) et son solvant (Krebs-Henseleit Buffer) sont administrés par voie intrapéritonéale à 10 minutes, 3, 6 et 12 heures après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm. ** $p < 0,01$ et *** $p < 0,001$ versus Naïf (Kruskal-Wallis suivi du test *U* de Mann-Whitney).

I.3. Effet sur la perte de poids corporel

La Figure 31 et le Tableau XXIV montrent l'effet d'un traitement par le nimésulide à la dose de 12 mg/kg sur la perte post-traumatique de poids corporel. Il n'y a pas de différence de perte de poids entre les souris naïves ($3,9 \pm 0,6\%$) et les animaux traumatisés ($5,1 \pm 0,6\%$), 6 heures post-TC. En revanche, le TC induit une perte significative de poids 24 heures après le trauma ($11,9 \pm 1,5\%$ versus $2,9 \pm 0,5\%$ chez le groupe Naïf ; $p < 0,001$). Le nimésulide ne réduit pas cette perte chez les animaux traumatisés et traités ($13,2 \pm 1,3\%$).

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Perte de poids en % | |
|------------------------------|----|--|--------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 12 | $3,9 \pm 0,6$ | $2,9 \pm 0,5$ |
| Trauma Solvant | 14 | $5,1 \pm 0,6$ | $11,9 \pm 1,5$ *** |
| Trauma Nimésulide (12 mg/kg) | 14 | $5,1 \pm 0,5$ | $13,2 \pm 1,3$ |

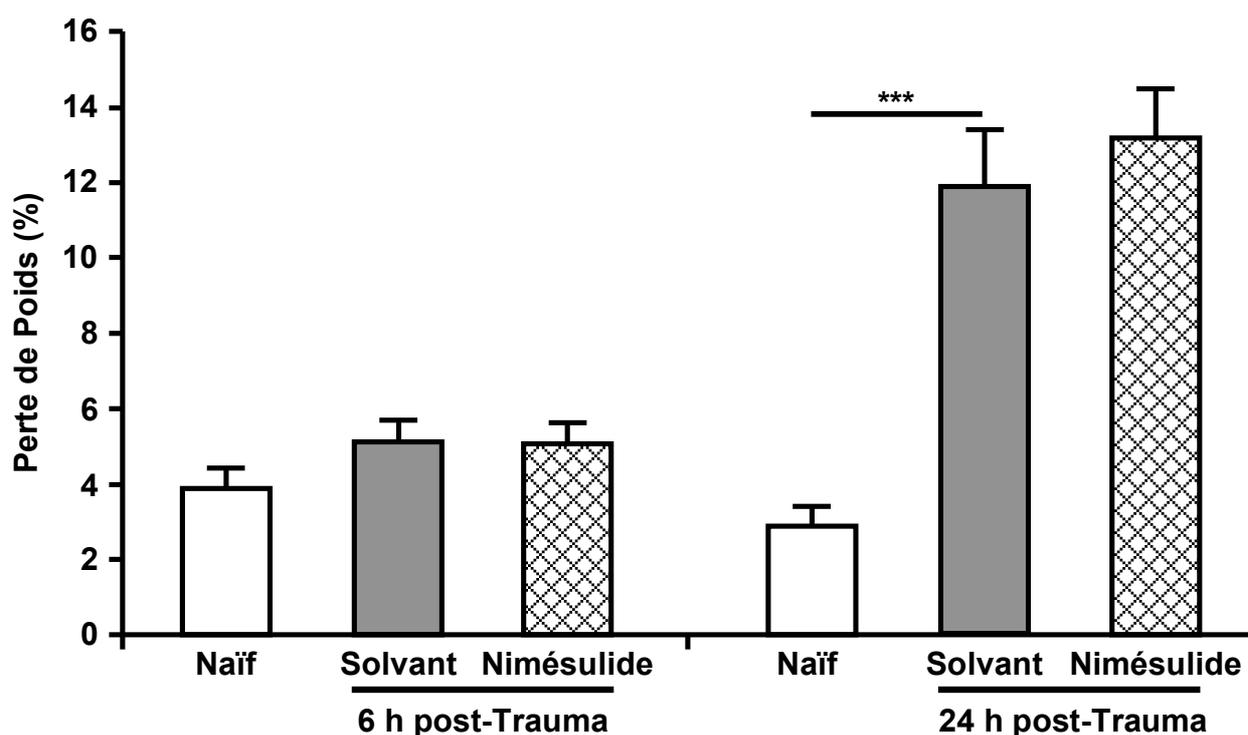


Figure 31 et Tableau XXIV : Effet du nimésulide sur la perte de poids à 6 et 24 heures post-Trauma

Le nimésulide (12 mg/kg) et son solvant (Krebs-Henseleit Buffer) sont administrés par voie intrapéritonéale à 10 minutes, 3, 6 et 12 heures après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage de perte de poids. *** $p < 0,001$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

I.4. Effet sur la température corporelle

La Figure 32 et le Tableau XXV montrent l'effet d'un traitement par le nimésulide à la dose de 12 mg/kg sur la température corporelle après le trauma. Le TC ne modifie pas la température à 6 heures ($35,6 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$) par rapport au groupe Naïf ($37,2 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$). En revanche, le TC est à l'origine d'une baisse significative de la température à 24 heures ($36 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$ versus $38,2 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ chez les souris naïves ; $p < 0,05$). Le nimésulide ne modifie pas la température chez les animaux traumatisés et traités ($34,7 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$).

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Température corporelle en $^{\circ}\text{C}$ | |
|------------------------------|----|---|----------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 12 | $37,2 \pm 0,2$ | $38,2 \pm 0,1$ |
| Trauma Solvant | 14 | $35,6 \pm 0,7$ | $36 \pm 0,8$ * |
| Trauma Nimésulide (12 mg/kg) | 14 | $34,4 \pm 0,9$ | $34,7 \pm 0,8$ |

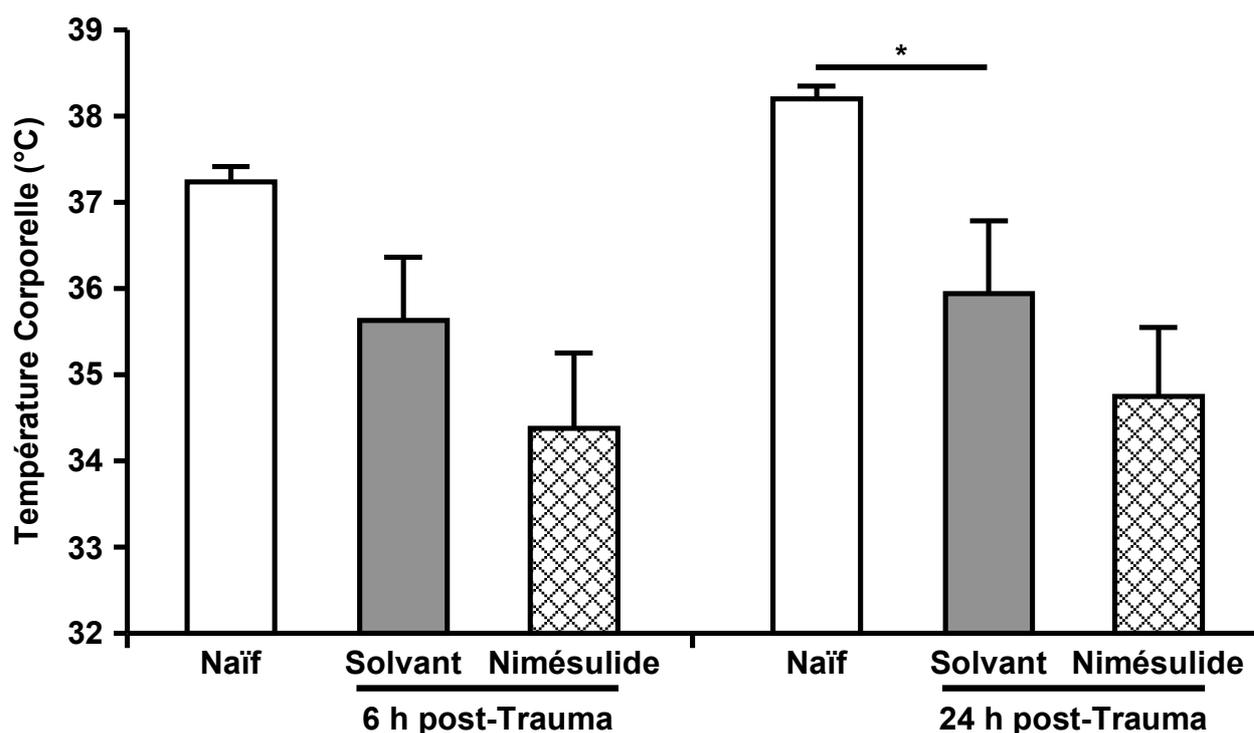


Figure 32 et Tableau XXV : Effet du nimésulide sur la température corporelle à 6 et 24 heures post-Trauma

Le nimésulide (12 mg/kg) et son solvant (Krebs-Henseleit Buffer) sont administrés par voie intrapéritonéale à 10 minutes, 3, 6 et 12 heures après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en degrés centigrades. * $p < 0,05$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

II. Effets du méloxicam sur les conséquences post-traumatiques

II.1. Effet sur l'œdème cérébral

Le TC induit une augmentation significative du contenu cérébral en eau de 0,7% et 1,4% à 6 et 24 heures respectivement ($p < 0,01$), ce qui témoigne de la présence d'un œdème cérébral [Figure 33 et Tableau XXVI]. Après le trauma, le traitement par le méloxicam à la dose de 2 mg/kg ne modifie pas ce contenu en eau chez les animaux traumatisés et traités.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Contenu cérébral en eau en % | |
|----------------------------|----|---|-------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 14 | 80,6 \pm 0,2 | 80,1 \pm 0,2 |
| Trauma Solvant | 16 | 81,3 \pm 0,2 ** | 81,5 \pm 0,4 ** |
| Trauma Méloxicam (2 mg/kg) | 15 | 81,2 \pm 0,2 | 80,9 \pm 0,3 |

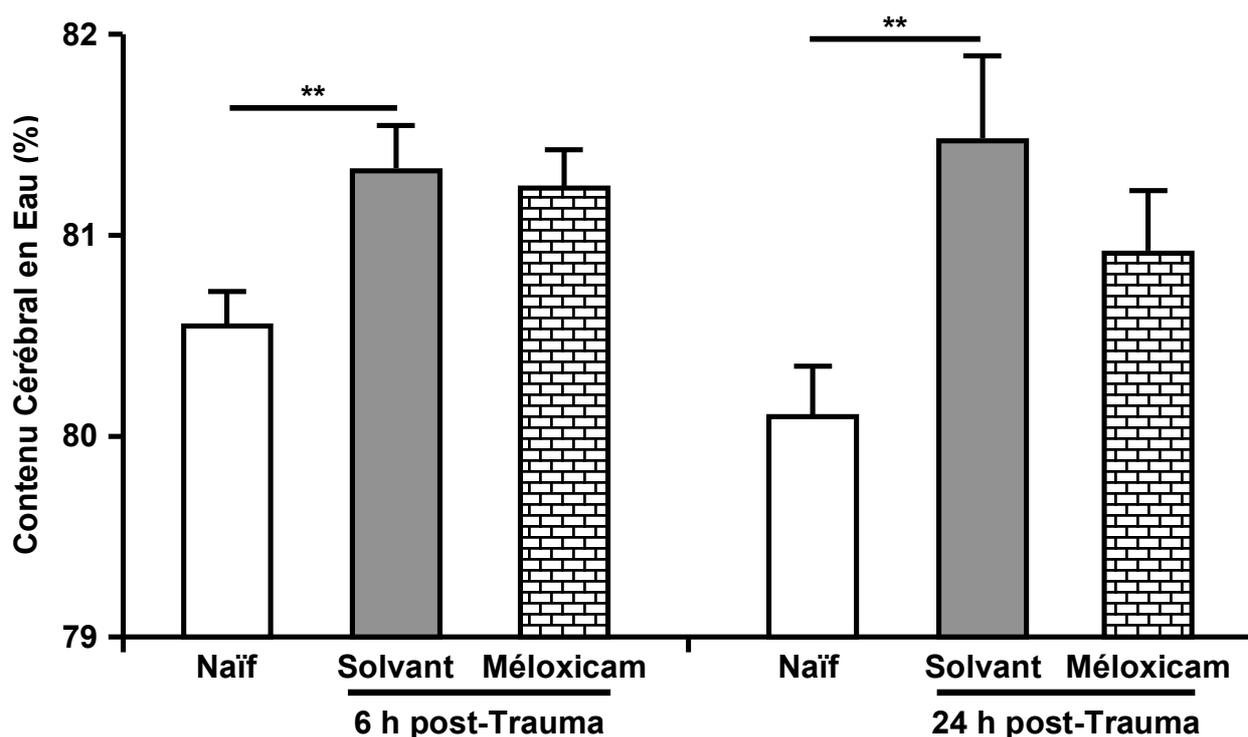


Figure 33 et Tableau XXVI : Effet du méloxicam sur l'œdème cérébral à 6 et 24 heures post-Trauma

Le méloxicam (2 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage du contenu cérébral en eau. ** $p < 0,01$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

II.2. Effet sur le déficit neurologique

Le TC induit une diminution significative du score neurologique à 6 heures ($5,1 \pm 0,5$ versus $7,3 \pm 0,2$) et à 24 heures ($4,8 \pm 0,4$ versus $7,7 \pm 0,2$) par rapport aux animaux naïfs ($p < 0,001$), ce qui témoigne d'un déficit [Figure 34 et Tableau XXVII]. Le traitement par le méloxicam à la dose de 2 mg/kg ne permet pas de réduire ce déficit chez les animaux traumatisés et traités.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Score neurologique | |
|----------------------------|----|---|-------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 18 | $7,3 \pm 0,2$ | $7,7 \pm 0,2$ |
| Trauma Solvant | 17 | $5,1 \pm 0,5$ *** | $4,8 \pm 0,4$ *** |
| Trauma Méloxicam (2 mg/kg) | 17 | $4,8 \pm 0,4$ | $5,2 \pm 0,5$ |

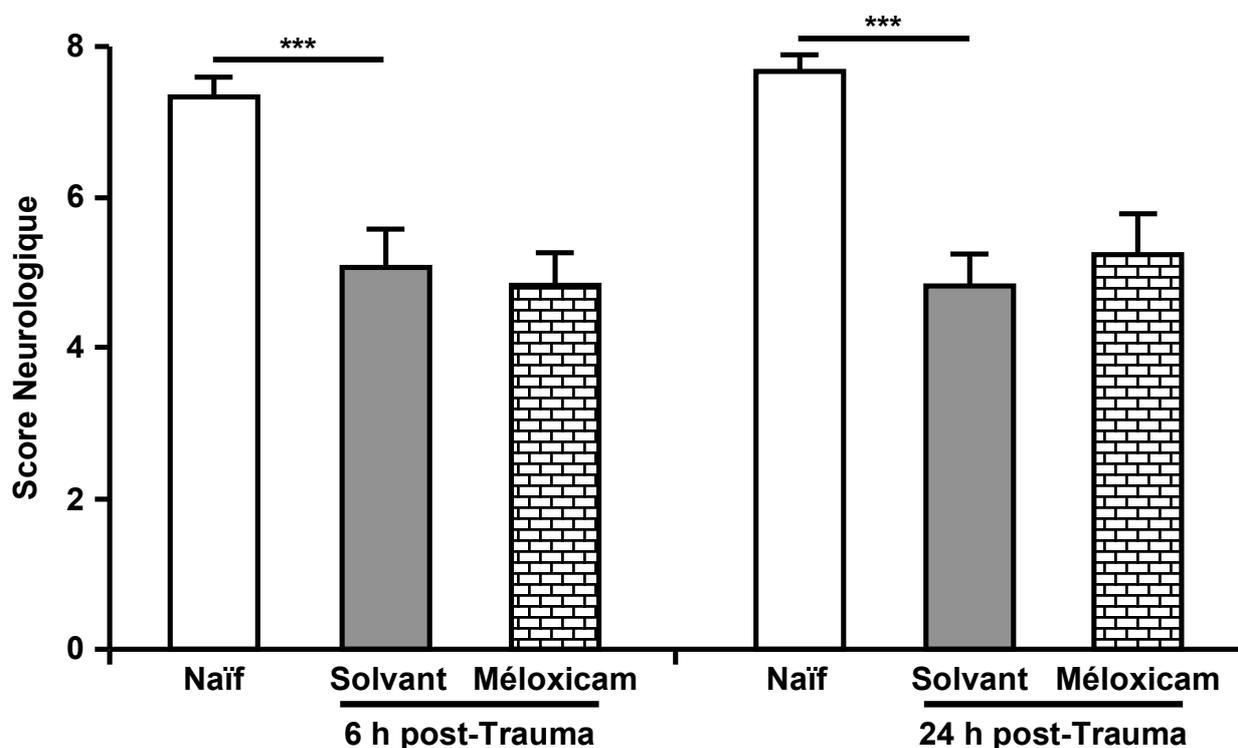


Figure 34 et Tableau XXVII : Effet du méloxicam sur le déficit neurologique à 6 et 24 heures post-Trauma

Le méloxicam (2 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm. *** $p < 0,001$ versus Naïf (Kruskal-Wallis suivi du test U de Mann-Whitney).

II.3. Effet sur la perte de poids corporel

Le TC induit une perte de poids à 6 heures ($6,9 \pm 0,4\%$ versus $4,8 \pm 0,4\%$ chez le groupe Naïf ; $p < 0,05$) ainsi qu'à 24 heures ($14,4 \pm 1\%$ versus $1 \pm 0,6\%$ chez les animaux naïfs ; $p < 0,001$) [Figure 35 et Tableau XXVIII]. Le traitement par le méloxicam ne réduit pas cette perte chez le groupe traumatisé à 6 heures ($6 \pm 0,6\%$) ni à 24 heures ($12,7 \pm 1,3\%$).

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Perte de poids en % | |
|----------------------------|----|--|------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 18 | $4,8 \pm 0,4$ | $1 \pm 0,6$ |
| Trauma Solvant | 17 | $6,9 \pm 0,4$ * | $14,4 \pm 1$ *** |
| Trauma Méloxicam (2 mg/kg) | 17 | $6 \pm 0,6$ | $12,7 \pm 1,3$ |

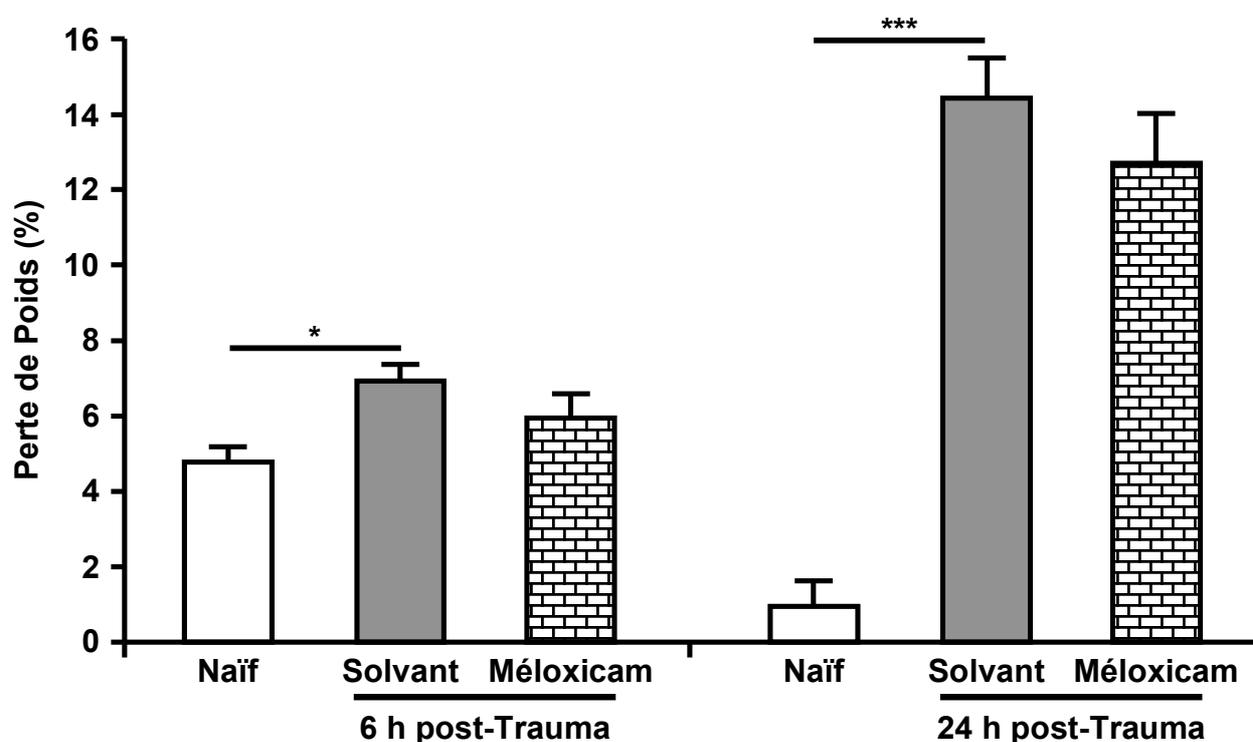


Figure 35 et Tableau XXVIII : Effet du méloxicam sur la perte de poids à 6 et 24 heures post-Trauma

Le méloxicam (2 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage de perte de poids. * $p < 0,05$ et *** $p < 0,001$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

II.4. Effet sur la température corporelle

Le TC n'a pas d'effet sur la température corporelle à 6 heures ($37,1 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ versus $37,4 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ chez le groupe Naïf) [Figure 36 et Tableau XXIX]. Par contre, on observe une baisse significative de la température à 24 heures ($35,8 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ versus $37 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ chez les souris naïves ; $p < 0,001$). Le traitement par le méloxicam ne modifie pas la température à 6 heures ($37,3 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$) ni à 24 heures ($35,8 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$) par rapport aux groupes traumatisés ayant reçu le solvant.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Température corporelle en $^{\circ}\text{C}$ | |
|----------------------------|----|---|--------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 18 | $37,4 \pm 0,2$ | $37 \pm 0,2$ |
| Trauma Solvant | 17 | $37,1 \pm 0,4$ | $35,8 \pm 0,2$ *** |
| Trauma Méloxicam (2 mg/kg) | 17 | $37,3 \pm 0,1$ | $35,8 \pm 0,3$ |

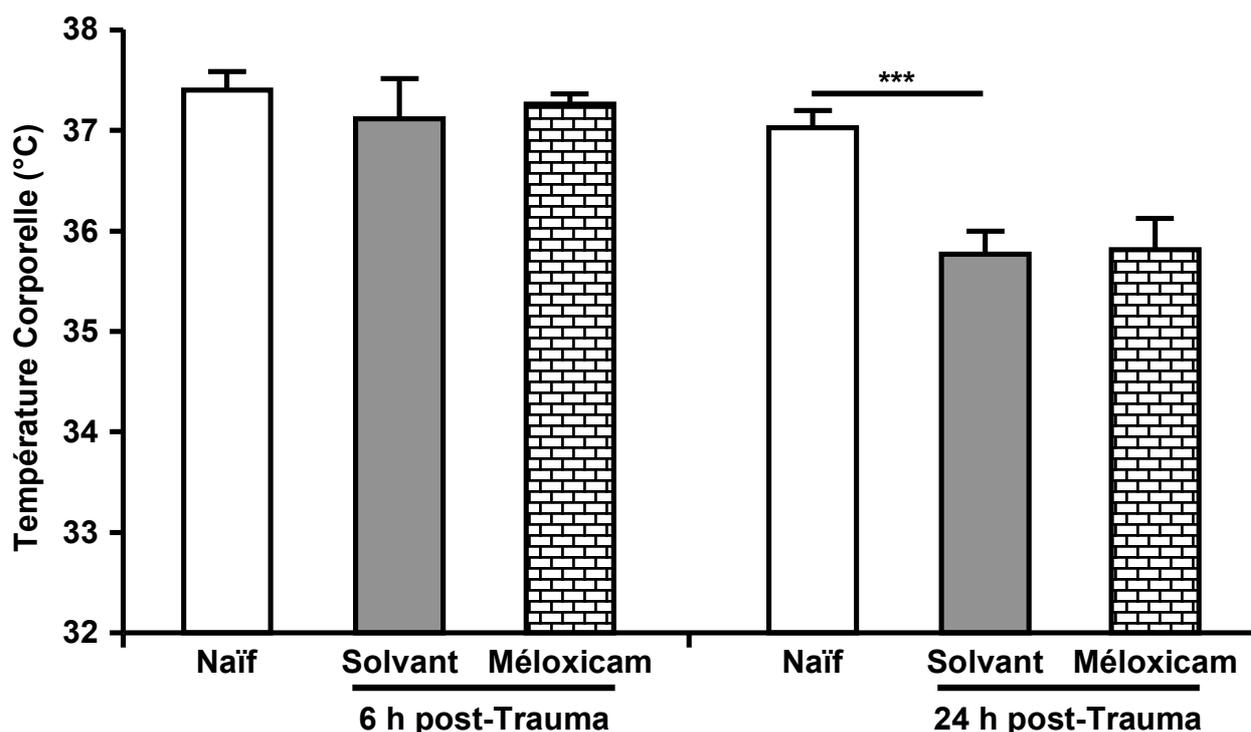


Figure 36 et Tableau XXIX : Effet du méloxicam sur la température corporelle à 6 et 24 heures post-Trauma

Le méloxicam (2 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en degrés centigrades. *** $p < 0,001$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

DISCUSSION

Dans nos conditions expérimentales, l'inhibition préférentielle de COX-2 n'a aucun effet sur l'œdème cérébral et le déficit neurologique. Bien qu'elle soit induite et active suite au TC, cette enzyme ne peut pas constituer à elle seule une cible thérapeutique intéressante dans la prise en charge de ces deux conséquences post-traumatiques.

Notre étude a utilisé une approche pharmacologique pour évaluer le rôle de COX-2 dans les conséquences engendrées par le TC. Ce travail a donc l'intérêt de comparer nos données aux résultats issus des travaux réalisés chez des souris transgéniques COX-2^{-/-}. Pour la rigueur scientifique, la sélection de nos stratégies de traitement pour cette étude a été basée sur deux critères. Premièrement, nous avons choisi nos protocoles thérapeutiques selon leur effet neuroprotecteur déjà décrit dans la littérature. L'inhibition de COX-2 par le nimésulide (12 mg/kg) s'est avérée bénéfique suite à une ischémie cérébrale aussi bien chez la gerbille (Candelario-Jalil *et al.*, 2002) que chez le rat (Candelario-Jalil *et al.*, 2004, 2005, 2007a). Cet inhibiteur de COX-2 était capable de diminuer le volume de lésion, le déficit neurologique (Candelario-Jalil *et al.*, 2004, 2005), le dysfonctionnement de la BHE, l'infiltration leucocytaire, la production post-ischémique de PGE₂ (Candelario-Jalil *et al.*, 2007a), ainsi que la mort neuronale (Candelario-Jalil *et al.*, 2002). De même, le deuxième inhibiteur utilisé dans ce travail, le meloxicam (2 mg/kg) s'est avéré neuroprotecteur chez les rats traumatisés par percussion mécanique en réduisant le déficit neurologique et l'ouverture de la BHE, ainsi qu'en diminuant les marqueurs de l'inflammation et du stress oxydant (Hakan *et al.*, 2010). Deuxièmement, nous avons consolidé le choix de ces stratégies thérapeutiques^[124] en vérifiant leur capacité d'inhiber l'activité *in vivo* de COX-2 dans notre modèle^[125].

Selon nos données, le traitement par le nimésulide (12 mg/kg) ou le méloxicam (2 mg/kg) ne modifiait ni le déficit neurologique ni l'œdème cérébral. Par conséquent, la COX-2 ne peut pas à elle seule constituer une cible pharmacologie intéressante pour le traitement de ces deux conséquences post-traumatiques. Nos résultats confirment les données ayant montré l'absence d'effet d'un traitement par le nimésulide sur l'œdème cérébral et le déficit fonctionnel chez les rats ayant subi un TC par percussion mécanique (Koyfman *et al.*, 2000). Nos résultats sont également en accord avec l'absence d'effet sur le déficit cognitif et le volume de lésion chez les souris COX-2^{-/-} traumatisées par impact cortical contrôlé (Ahmad *et al.*, 2008; Kelso *et al.*, 2009). La délétion génétique de COX-2 était même délétère puisqu'elle était

^[124] Par rapport à la molécule, la dose, et la voie d'injection.

^[125] Voir Résultats et Discussions / Deuxième Partie / Paragraphe IV.

associée à une augmentation de l'activation microgliale dans l'hémisphère lésé (Kelso *et al.*, 2009).

En revanche, une seule étude a montré un effet bénéfique de l'inhibition de COX-2 chez la souris traumatisée (Thau-Zuchman *et al.*, 2012). Il a été montré que le traitement par le carprofen, un antalgique post-opératoire largement utilisé en médecine vétérinaire, a réduit aussi bien l'œdème cérébral que le déficit neurologique après un TC par lâcher de poids. Bien que les auteurs suggèrent que ce médicament est un inhibiteur de COX-2, ils n'excluent pas l'hypothèse d'une autre cible pharmacologique pouvant être responsable des effets observés.

L'ensemble de ces données bibliographiques et de nos résultats suggère que la COX-2 ne semble pas être impliquée dans les conséquences post-traumatiques chez la souris. Cependant, le rôle potentiel de cette isoforme dans les modèles expérimentaux du TC chez le rat reste toujours ambigu.

QUATRIEME PARTIE : IMPLICATION DES CYCLO-OXYGENASES DANS LES CONSEQUENCES POST-TRAUMATIQUES

Parallèlement à l'étude du rôle de COX-2 dans les conséquences post-traumatiques, nous avons testé l'effet d'un inhibiteur non sélectif des COXs, l'indométacine, sur l'œdème cérébral et le déficit neurologique. Comme pour les inhibiteurs de COX-2, la capacité de l'indométacine d'inhiber l'activité *in vivo* des COXs a été tout d'abord vérifiée dans nos conditions expérimentales.

I. Effets de l'indométacine sur la 6-kéto prostaglandine F_{1α}

I.1. Sur sa synthèse 6 heures après le traumatisme crânien

La Figure 37 et le Tableau XXX montrent l'effet d'un traitement par l'indométacine à différentes doses sur la formation de 6-kéto PGF_{1α}, 6 heures après le TC. On observe la même augmentation post-traumatique du contenu cérébral en 6-kéto PGF_{1α} chez le groupe Trauma Solvant ($162,5 \pm 12,5\%$ *versus* $100 \pm 11,6\%$ chez le groupe Naïf ; $p < 0,01$) que précédemment. L'administration de l'indométacine aux doses de 0,1 ; 0,5 ; 2 et 5 mg/kg induisent respectivement une inhibition de 82% ($111,2 \pm 14,8\%$; $p < 0,05$), de 106% ($96,1 \pm 21,1\%$; $p < 0,01$), de 111% ($93,1 \pm 12,9\%$; $p < 0,01$), et de 190% ($43,5 \pm 7,9\%$; $p < 0,001$), de cette augmentation par rapport au groupe d'animaux traumatisés ayant reçu le solvant ($162,5 \pm 12,5\%$).

C'est la dose de 5 mg/kg induisant la plus forte inhibition de l'activité *in vivo* des COXs qui a été retenue pour la suite de cette étude.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm 6-kéto PGF _{1α} en % de la moyenne du groupe Naïf |
|---------------------------------|----|---|
| Naïf | 11 | 100 \pm 11,6 |
| Trauma Solvant | 12 | 162,5 \pm 12,5 ** |
| Trauma Indométacine (0,1 mg/kg) | 8 | 111,2 \pm 14,8 # |
| Trauma Indométacine (0,5 mg/kg) | 8 | 96,1 \pm 21,1 ## |
| Trauma Indométacine (2 mg/kg) | 8 | 93,1 \pm 12,9 ## |
| Trauma Indométacine (5 mg/kg) | 11 | 43,5 \pm 7,9 ### |

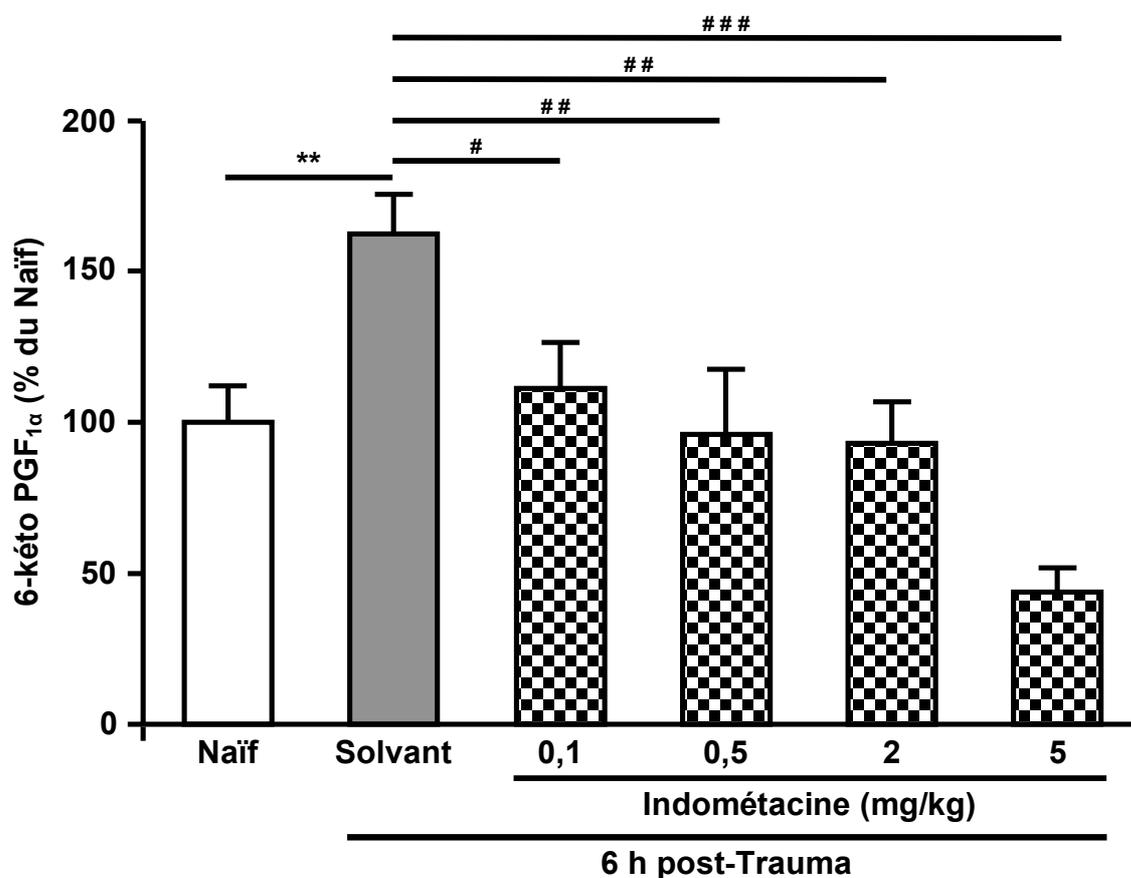


Figure 37 et Tableau XXX : Doses/Effets de l'indométacine sur la 6-kéto prostaglandine F_{1 α} 6 heures post-Trauma

L'indométacine (0,1 ; 0,5 ; 2 et 5 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage de la valeur moyenne du groupe Naïf qui est égale à 115,7 \pm 7,3 pg/mg de protéine. ** $p < 0,01$ versus Naïf, # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ et ### $p < 0,001$ versus Trauma Solvant (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

I.2. Sur son taux basal 6 heures après l'administration du médicament chez les souris naïves

La Figure 38 et le Tableau XXXI montrent le taux basal de 6-kéto $\text{PGF}_{1\alpha}$ dans les cerveaux de souris naïves, 6 heures après leur traitement par l'indométacine ou son solvant. Le solvant (solution saline à 0,9%) ne modifie pas ce taux basal ($83,5 \pm 9\%$ versus $100 \pm 16,8\%$ chez le groupe Naïf). Par contre, l'inhibition des COXs par l'indométacine diminue de 82% le contenu cérébral de ce dérivé de PGI_2 chez les animaux traités ($14,7 \pm 0,7\%$ versus $83,5 \pm 9\%$ chez le groupe Naïf Solvant ; $p < 0,01$).

| Groupes | n | Moyenne \pm esm 6-kéto $\text{PGF}_{1\alpha}$ en % de la moyenne du groupe Naïf |
|-----------------------------|----|--|
| Naïf | 10 | $100 \pm 16,8$ |
| Naïf Solvant | 13 | $83,5 \pm 9$ |
| Naïf Indométacine (5 mg/kg) | 5 | $14,7 \pm 0,7^{**}$ |

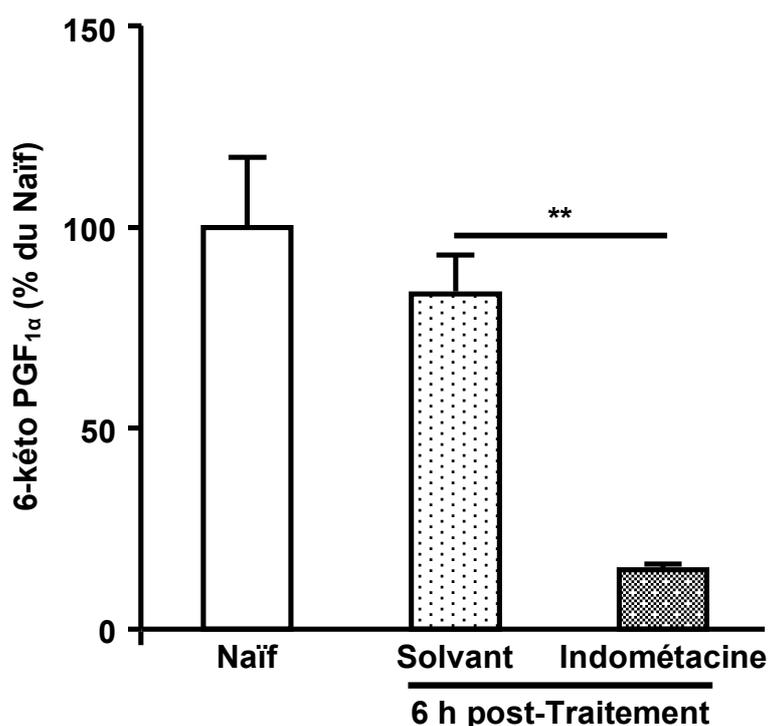


Figure 38 et Tableau XXXI : Effet de l'indométacine sur le taux basal de 6-kéto prostaglandine $\text{F}_{1\alpha}$ 6 heures post-Traitement

L'indométacine (5 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage de la valeur moyenne du groupe Naïf qui est égale à $274,2 \pm 46,1$ pg/mg de protéine. $** p < 0,01$ versus Naïf Solvant (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

II. Effet de l'indométacine sur l'œdème cérébral

Le TC induit une augmentation significative du contenu cérébral en eau de 0,7% et 1,4% à 6 et 24 heures respectivement ($p < 0,01$), ce qui témoigne d'un œdème cérébral [Figure 39 et Tableau XXXII]. Le traitement par l'indométacine à la dose de 5 mg/kg ne modifie pas ce contenu en eau chez les animaux traumatisés et traités.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Contenu cérébral en eau en % | |
|-------------------------------|----|---|-------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 14 | 80,6 \pm 0,2 | 80,1 \pm 0,2 |
| Trauma Solvant | 16 | 81,3 \pm 0,2 ** | 81,5 \pm 0,4 ** |
| Trauma Indométacine (5 mg/kg) | 15 | 81,1 \pm 0,2 | 81,1 \pm 0,3 |

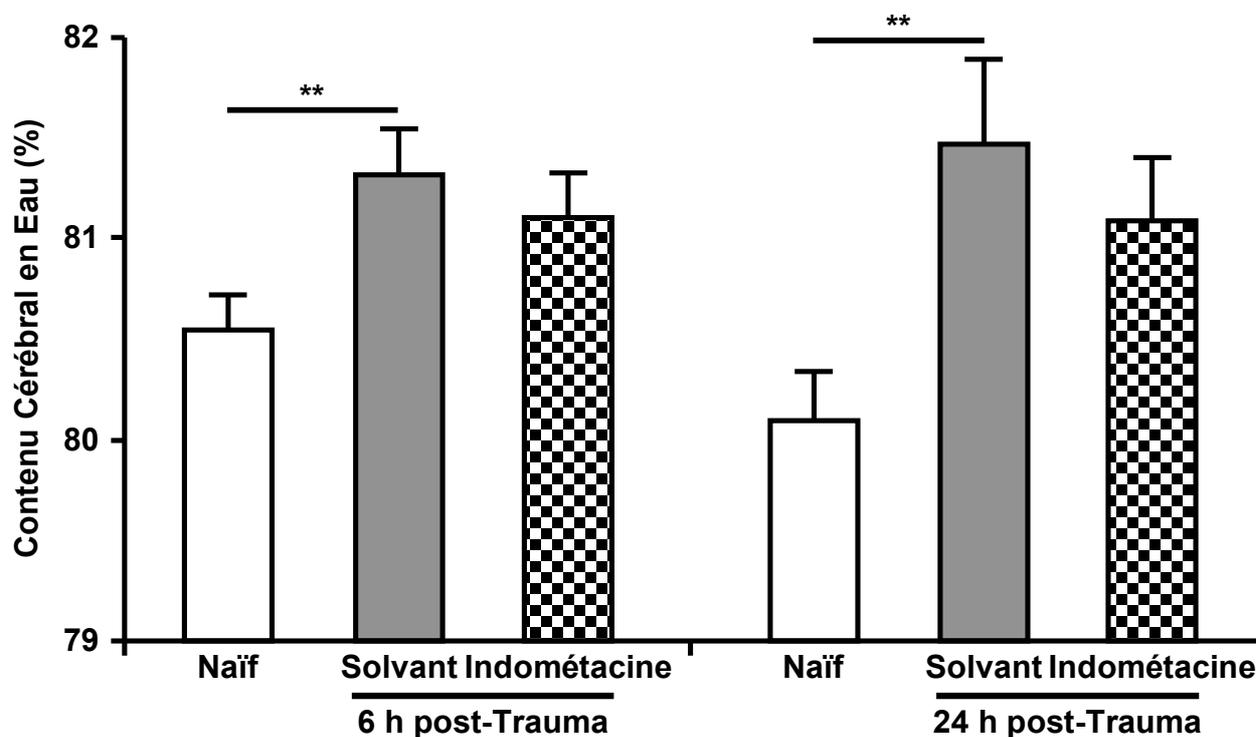


Figure 39 et Tableau XXXII : Effet de l'indométacine sur l'œdème cérébral à 6 et 24 heures post-Trauma

L'indométacine (5 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale à 10 minutes, 6 et 12 heures après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage du contenu cérébral en eau. ** $p < 0,01$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

III. Effet de l'indométacine sur le déficit neurologique

Le TC induit une diminution significative du score neurologique à 6 heures ($4,4 \pm 0,6$ versus $7,7 \pm 0,2$; $p < 0,001$), et à 24 heures ($4,7 \pm 0,6$ versus $7,5 \pm 0,2$; $p < 0,001$) par rapport au groupe Naïf [Figure 40 et Tableau XXXIII]. Le traitement par l'indométacine à la dose de 5 mg/kg permet d'améliorer ce score, et donc de réduire le déficit neurologique aussi bien à 6 heures ($5,9 \pm 0,6$ versus $4,4 \pm 0,6$; $p < 0,05$) qu'à 24 heures ($6,7 \pm 0,5$ versus $4,7 \pm 0,6$; $p < 0,01$) par rapport aux animaux traumatisés et traités par le solvant.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Score neurologique | |
|-------------------------------|----|---|-------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 15 | $7,7 \pm 0,2$ | $7,5 \pm 0,2$ |
| Trauma Solvant | 16 | $4,4 \pm 0,6$ *** | $4,7 \pm 0,6$ *** |
| Trauma Indométacine (5 mg/kg) | 16 | $5,9 \pm 0,6$ # | $6,7 \pm 0,5$ ## |

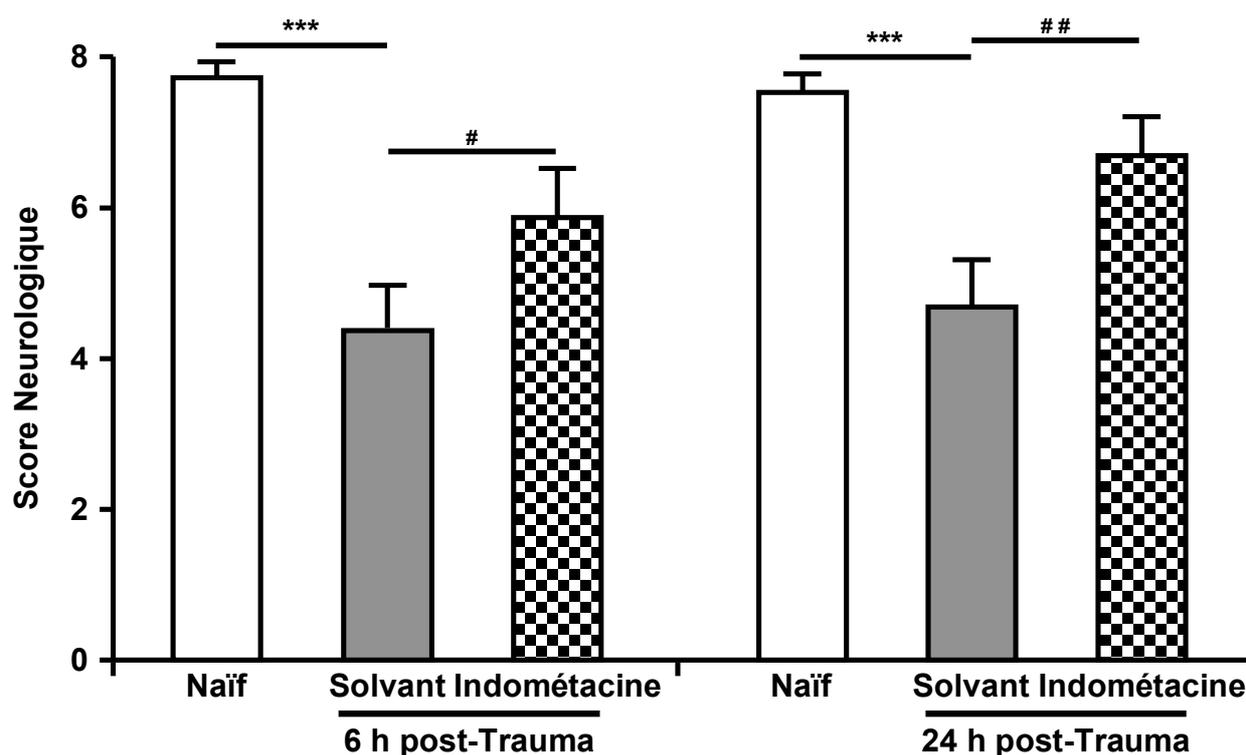


Figure 40 et Tableau XXXIII : Effet de l'indométacine sur le déficit neurologique à 6 et 24 heures post-Trauma

L'indométacine (5 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale à 10 minutes, 6 et 12 heures après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm. *** $p < 0,001$ versus Naïf, # $p < 0,05$ et ## $p < 0,01$ versus Trauma Solvant (Kruskal-Wallis suivi du test *U* de Mann-Whitney).

IV. Effet propre de l'indométacine sur le score neurologique

Il n'y a pas de différence au niveau du score neurologique entre les animaux naïfs qui étaient traités par le solvant (NaCl à 0,9%) et les souris ayant reçu l'indométacine selon le même protocole d'administration adopté après le trauma [Figure 41 et Tableau XXXIV]. Par conséquent, l'indométacine n'a pas d'effet propre sur le score neurologique.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Score neurologique | |
|-----------------------------|----|---|---------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 10 | 7,9 \pm 0,1 | 7,8 \pm 0,1 |
| Naïf Solvant | 10 | 7,9 \pm 0,1 | 7,7 \pm 0,2 |
| Naïf Indométacine (5 mg/kg) | 10 | 7,8 \pm 0,1 | 7,8 \pm 0,1 |

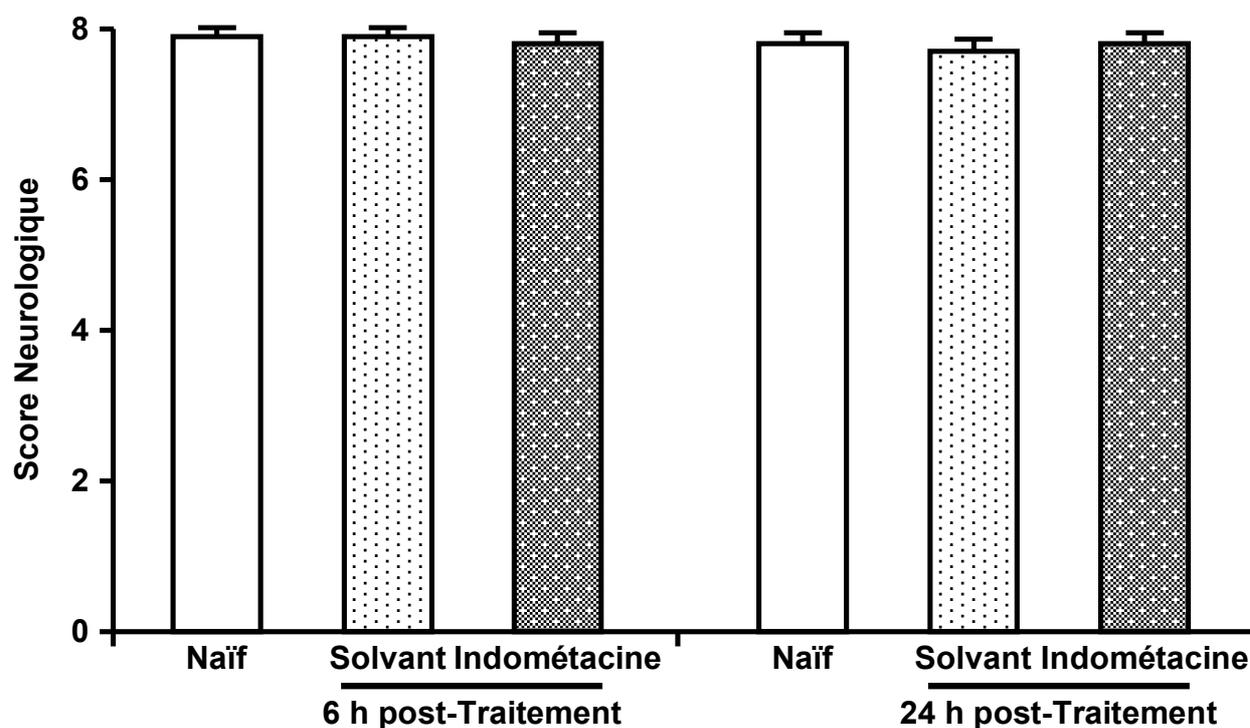


Figure 41 et Tableau XXXIV : Effet propre de l'indométacine sur le déficit neurologique à 6 et 24 heures post-Traitement

L'indométacine (5 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale à 10 minutes, 6 et 12 heures après un temps t. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm.

V. Effet de l'indométacine sur la perte de poids corporel

La Figure 42 et le Tableau XXXV montrent l'effet d'un traitement par l'indométacine à la dose de 5 mg/kg sur la perte post-traumatique de poids corporel. Le TC est à l'origine d'une perte de poids à 6 heures ($7,8 \pm 0,5\%$ versus $5,2 \pm 0,4\%$ chez le groupe Naïf ; $p < 0,05$), ainsi qu'à 24 heures ($8,9 \pm 1,3\%$ versus $1,7 \pm 0,7\%$ chez les souris naïves ; $p < 0,001$). L'indométacine ne réduit pas cette perte chez les animaux traumatisés et traités à 6 heures ($8,2 \pm 0,9\%$) ni à 24 heures ($10 \pm 1,2\%$).

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Perte de poids en % | |
|-------------------------------|----|--|-------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 15 | $5,2 \pm 0,4$ | $1,7 \pm 0,7$ |
| Trauma Solvant | 15 | $7,8 \pm 0,5$ * | $8,9 \pm 1,3$ *** |
| Trauma Indométacine (5 mg/kg) | 14 | $8,2 \pm 0,9$ | $10 \pm 1,2$ |

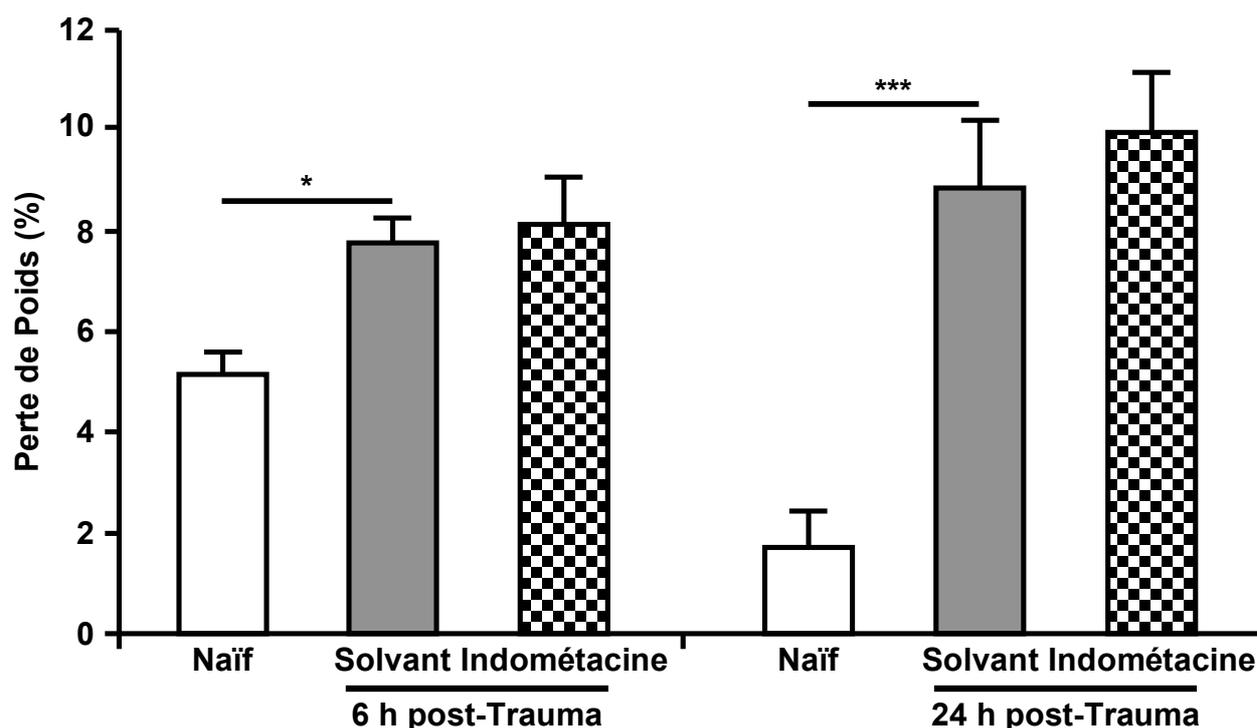


Figure 42 et Tableau XXXV : Effet de l'indométacine sur la perte de poids à 6 et 24 heures post-Trauma

L'indométacine (5 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale à 10 minutes, 6 et 12 heures après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage de perte de poids. * $p < 0,05$ et *** $p < 0,001$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

VI. Effet de l'indométacine sur la température corporelle

La Figure 43 et le Tableau XXXVI montrent que le TC n'a pas d'effet sur la température corporelle à 6 heures ($37,1 \pm 0,4^\circ\text{C}$ versus $37,4 \pm 0,2^\circ\text{C}$ chez le groupe Naïf). Par contre, on observe une baisse significative de la température 24 heures après le trauma ($35,8 \pm 0,2^\circ\text{C}$ versus $37 \pm 0,2^\circ\text{C}$ chez les souris naïves ; $p < 0,001$). Le traitement par l'indométacine ne modifie pas la température à 6 heures ($37,3 \pm 0,2^\circ\text{C}$) ni à 24 heures ($35,7 \pm 0,3^\circ\text{C}$) par rapport au groupe traumatisé ayant reçu le solvant.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Température corporelle en $^\circ\text{C}$ | |
|-------------------------------|----|---|--------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 18 | $37,4 \pm 0,2$ | $37 \pm 0,2$ |
| Trauma Solvant | 17 | $37,1 \pm 0,4$ | $35,8 \pm 0,2$ *** |
| Trauma Indométacine (5 mg/kg) | 16 | $37,3 \pm 0,2$ | $35,7 \pm 0,3$ |

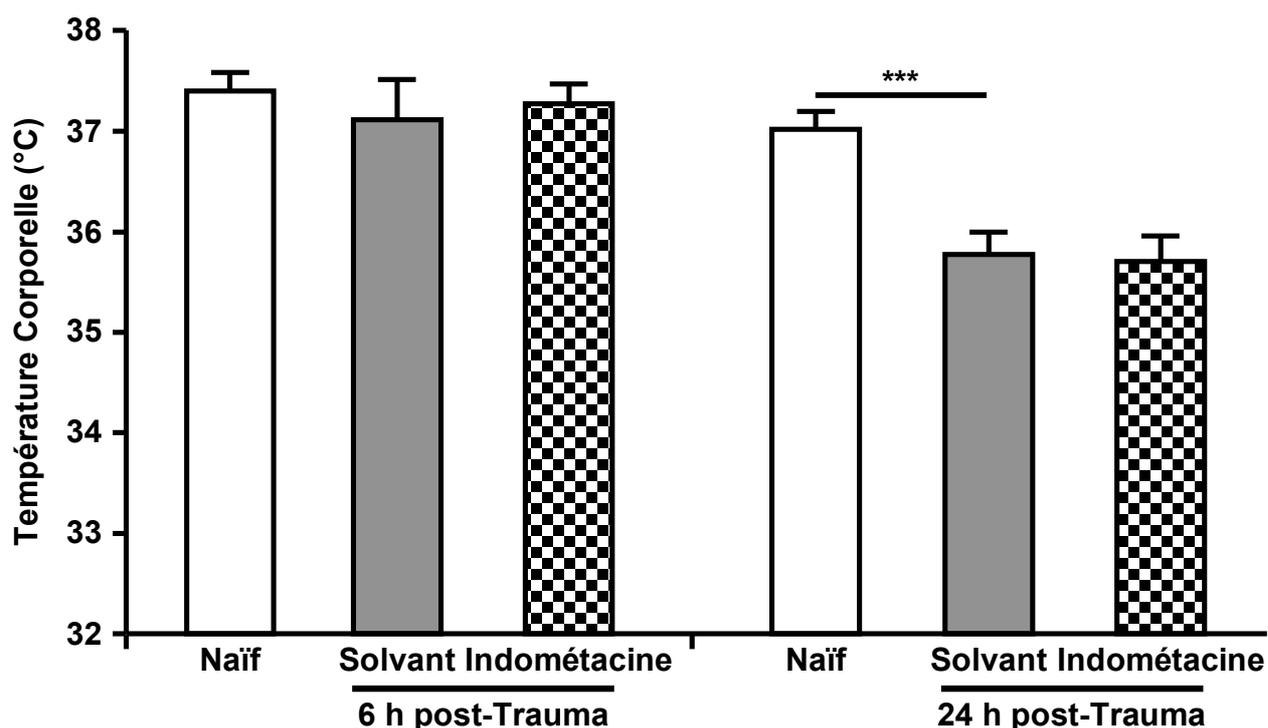


Figure 43 et Tableau XXXVI : Effet de l'indométacine sur la température corporelle à 6 et 24 heures post-Trauma

L'indométacine (5 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale à 10 minutes, 6 et 12 heures après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en degrés centigrades. *** $p < 0,001$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

VII. Effet de l'indométacine sur l'expression protéique des cyclo-oxygénases

Après la vérification de son effet inhibiteur de l'activité *in vivo* de cyclo-oxygénase, l'effet neuroprotecteur de l'indométacine nous a conduits à vérifier également que l'expression de ses cibles pharmacologiques principales, les COXs, n'était pas modifiée. Dans un premier temps, nous avons suivi l'évolution post-traumatique du contenu cérébral en COX-1, de la même manière que l'étude précédente sur la COX-2.

VII.1. Évolution de l'expression protéique de cyclo-oxygénase de type 1

La Figure 44A est représentative de Western Blot réalisé avec un anticorps anti-COX-1 sur des cerveaux prélevés chez des animaux naïfs, et à différents temps après le trauma crânien. On observe une bande d'environ 75 kDa identifiée dans tous les échantillons avec une modulation post-traumatique.

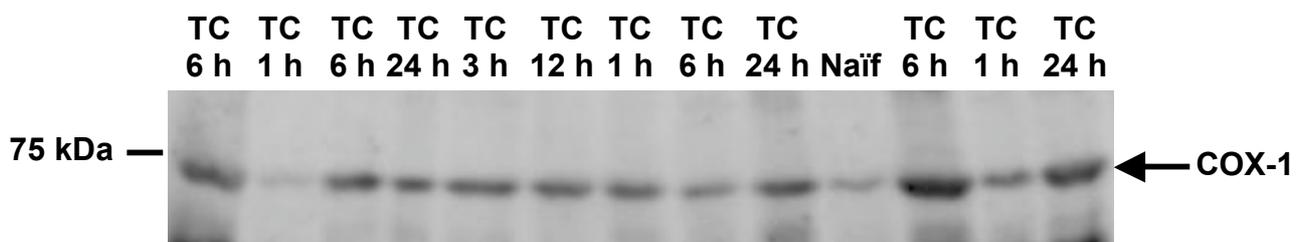


Figure 44A : Immunodétection de COX-1 sur des extraits de cerveaux de souris après un traumatisme crânien

La quantification de cette bande dans les différents immunoblots est présentée par la Figure 44B et le Tableau XXXVII. Un taux basal de la protéine COX-1 est détecté chez les souris naïves, confirmant son expression constitutive au niveau cérébral. À notre surprise, on observe une augmentation de la protéine COX-1, dite « constitutive », à 1 heure ($217 \pm 34,9$ UA) et à 3 heures ($272,9 \pm 44,4$ UA) après le trauma. Cette augmentation est significative à 6 heures ($377,5 \pm 70,1$ UA) et à 12 heures ($382 \pm 75,4$ UA) par rapport aux animaux naïfs ($94,2 \pm 10,2$ UA ; $p < 0,001$). À partir de 24 heures, le niveau de COX-1 dans le parenchyme cérébral chez les souris traumatisées ($257 \pm 40,8$ UA) ne diffère plus de celui chez les animaux naïfs.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm COX-1 en unités arbitraires (UA) |
|-------------|----|---|
| Naïf | 13 | 94,2 \pm 10,2 |
| Trauma 1 h | 12 | 217 \pm 34,9 |
| Trauma 3 h | 13 | 272,9 \pm 44,4 |
| Trauma 6 h | 14 | 377,5 \pm 70,1 *** |
| Trauma 12 h | 13 | 382 \pm 75,4 *** |
| Trauma 24 h | 15 | 257 \pm 40,8 |

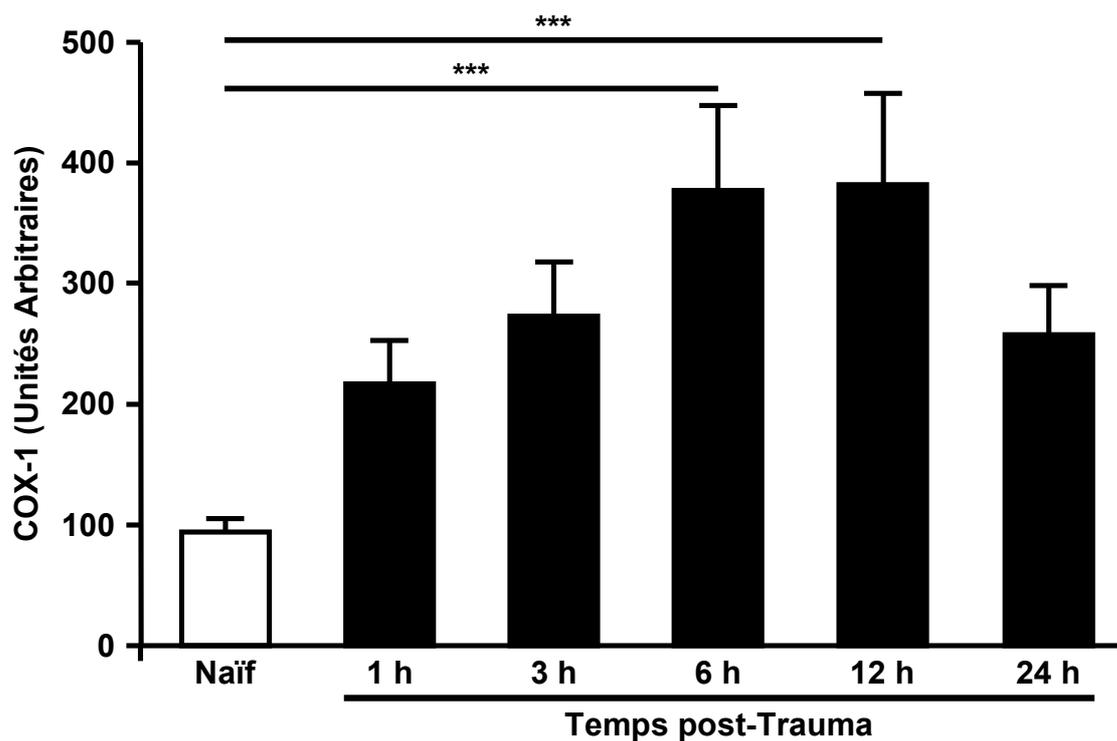


Figure 44B et Tableau XXXVII : Évolution de cyclo-oxygénase de type 1 après le traumatisme crânien

Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en unités arbitraires. *** $p < 0,001$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Dunnett).

VII.2. Effet de l'indométacine sur l'expression de cyclo-oxygénase de type 1

La Figure 45 et le Tableau XXXVIII montrent une augmentation significative d'un facteur 2 du contenu cérébral en COX-1 ($825,8 \pm 73,6$ versus $369,5 \pm 48,8$ UA chez les souris naïves ; $p < 0,001$) 6 heures après le TC. L'indométacine à la dose de 5 mg/kg ne modifie pas le taux cérébral de COX-1 chez le groupe traumatisé et traité ($741,3 \pm 79,4$ UA).

| Groupes | n | Moyenne \pm esm COX-1 en unités arbitraires (UA) |
|-------------------------------|----|---|
| Naïf | 9 | $369,5 \pm 48,8$ |
| Trauma Solvant | 9 | $825,8 \pm 73,6$ *** |
| Trauma Indométacine (5 mg/kg) | 10 | $741,3 \pm 79,4$ |

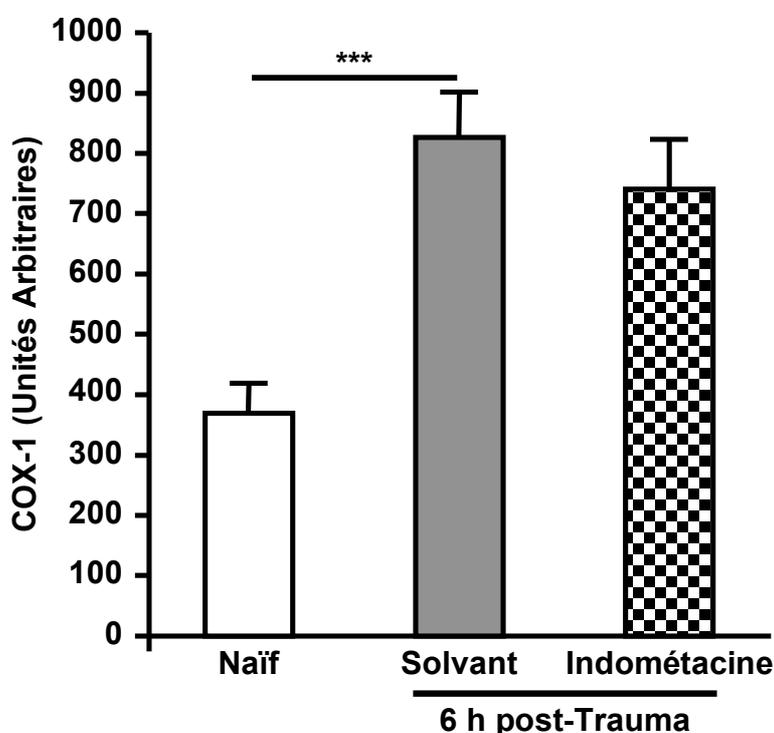


Figure 45 et Tableau XXXVIII : Effet de l'indométacine sur l'expression protéique de cyclo-oxygénase de type 1 6 heures post-Trauma

L'indométacine (5 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en unités arbitraires. *** $p < 0,001$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

VII.3. Effet de l'indométacine sur l'expression de cyclo-oxygénase de type 2

La Figure 46 et le Tableau XXXIX montrent une augmentation significative du contenu cérébral en COX-2 ($835,7 \pm 135,3$ versus $236,1 \pm 39,4$ UA chez les souris naïves ; $p < 0,001$), 6 heures après le TC. L'indométacine à la dose de 5 mg/kg diminue le taux cérébral de COX-2 chez les souris traumatisées et traitées ($505,7 \pm 58$ versus $835,7 \pm 135,3$ UA chez le groupe Trauma Solvant ; $p < 0,05$).

| Groupes | n | Moyenne \pm esm COX-2 en unités arbitraires (UA) |
|-------------------------------|----|---|
| Naïf | 9 | $236,1 \pm 39,4$ |
| Trauma Solvant | 9 | $835,7 \pm 135,3$ *** |
| Trauma Indométacine (5 mg/kg) | 10 | $505,7 \pm 58$ # |

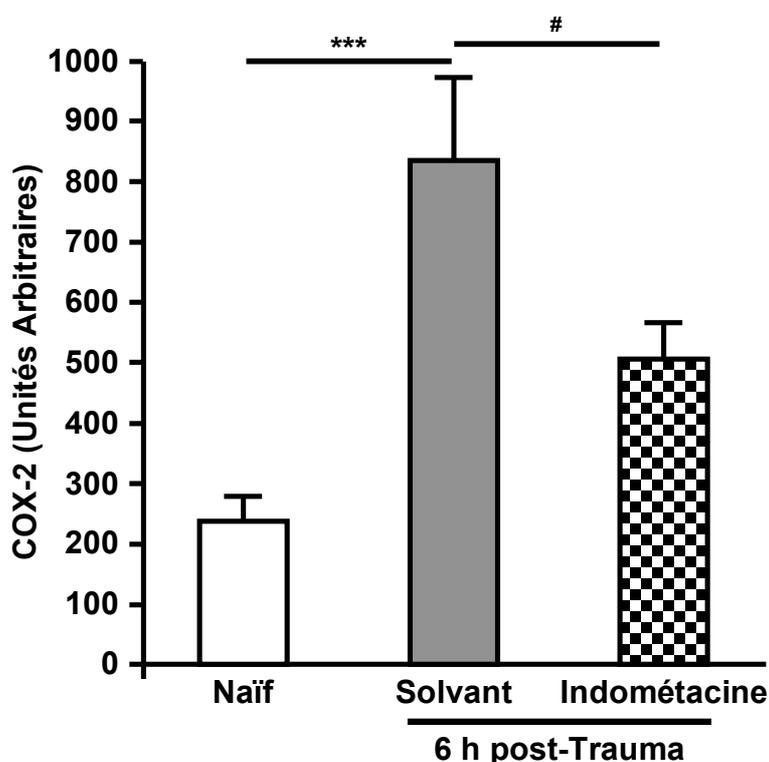


Figure 46 et Tableau XXXIX : Effet de l'indométacine sur l'expression protéique de cyclo-oxygénase de type 2 6 heures post-Trauma

L'indométacine (5 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en unités arbitraires. *** $p < 0,001$ versus Naïf et # $p < 0,05$ versus Trauma Solvant (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

VIII. Effet de l'indométacine sur le contenu cérébral en interleukine-1 β

Ayant diminué le contenu cérébral en COX-2, il était intéressant de tester l'hypothèse d'un effet modulateur de l'indométacine sur la production de l'interleukine-1 β , un des inducteurs de l'expression de cette isoforme.

VIII.1. Évolution de l'interleukine-1 β

Le TC est à l'origine d'une augmentation de l'IL-1 β d'un facteur 4 à 3 heures ($386,4 \pm 90,7\%$; $p < 0,05$), et d'un facteur 10 à 6 heures ($994,2 \pm 138,7\%$; $p < 0,001$) par rapport aux animaux naïfs ($100 \pm 11,2\%$) [Figure 47 et Tableau XXXX]. Le taux cérébral de cette cytokine pro-inflammatoire mesuré 24 heures post-TC ($149,6 \pm 34,1\%$) ne diffère plus de celui des animaux naïfs.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm IL-1 β en % de la moyenne du groupe Naïf |
|-------------|----|---|
| Naïf | 9 | 100 \pm 11,2 |
| Trauma 3 h | 9 | 386,4 \pm 90,7 * |
| Trauma 6 h | 10 | 994,2 \pm 138,7 *** |
| Trauma 24 h | 9 | 149,6 \pm 34,1 |

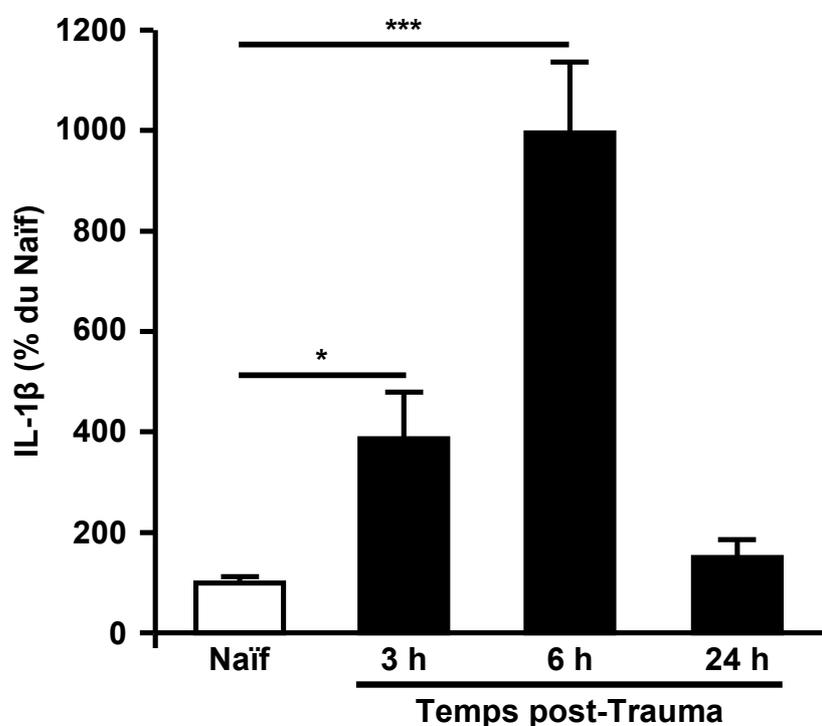


Figure 47 et Tableau XXXX : Évolution de l'interleukine-1 β après le traumatisme crânien

Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage de la valeur moyenne du groupe Naïf qui est égale à $2,5 \pm 0,3$ pg/mg de protéine. * $p < 0,05$ et *** $p < 0,001$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Dunnett).

VIII.2. Effet de l'indométacine sur l'interleukine-1 β

Conformément aux résultats de la cinétique, le TC est à l'origine d'une stimulation d'un facteur 10 du contenu cérébral en IL-1 β à 6 heures ($1073,4 \pm 106,9\%$ versus $100 \pm 24,6\%$ chez les souris naïves ; $p < 0,001$) [Figure 48 et Tableau XXXXI]. Le traitement par l'indométacine ne s'oppose pas à cette stimulation ($1021,7 \pm 128,1\%$).

| Groupes | n | Moyenne \pm esm IL-1 β en % de la moyenne du groupe Naïf |
|-------------------------------|----|---|
| Naïf | 8 | $100 \pm 24,6$ |
| Trauma Solvant | 13 | $1073,4 \pm 106,9$ *** |
| Trauma Indométacine (5 mg/kg) | 14 | $1021,7 \pm 128,1$ |

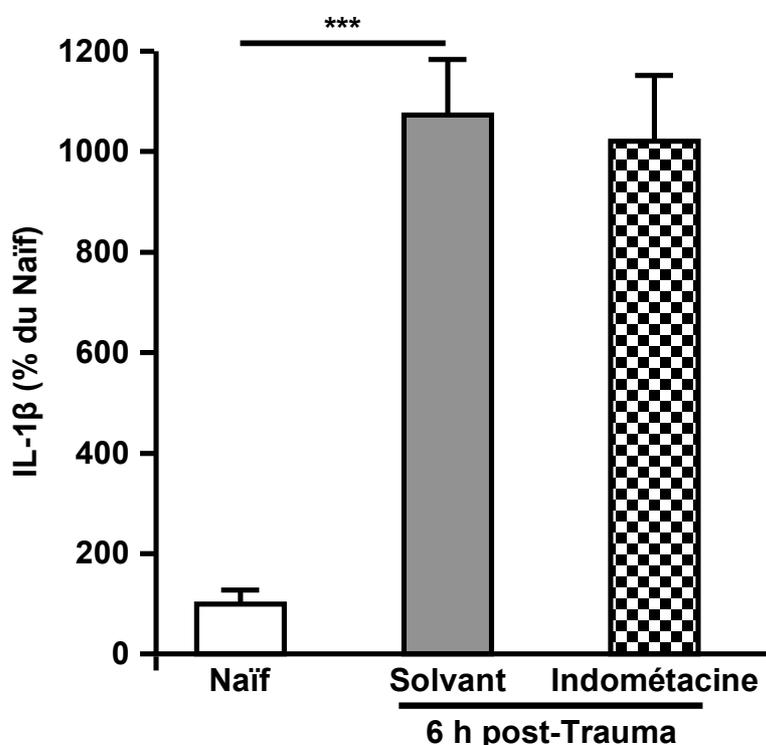


Figure 48 et Tableau XXXXI : Effet de l'indométacine sur l'interleukine-1 β 6 heures post-Trauma

L'indométacine (5 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage de la valeur moyenne du groupe Naïf qui est égale à $0,7 \pm 0,2$ pg/mg de protéine. *** $p < 0,001$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

IX. Effet de l'indométacine sur l'hémorragie intracérébrale

Il a été montré que l'effet bénéfique de l'indométacine pouvait être associé à une diminution de l'hémorragie intracrânienne post-traumatique (Kim *et al.*, 1989). Dans ce travail, nous avons précédemment montré une forte inhibition de la production de la prostacycline par l'indométacine ^[126]. Nous avons donc voulu vérifier si la suppression de PGI₂ ne serait pas responsable de l'effet protecteur de cet AINS, en favorisant la vasoconstriction ainsi que l'agrégation plaquettaire. Par conséquent, nous avons testé cette hypothèse en mesurant le taux intracérébral de l'hémoglobine.

Il y a une augmentation d'un facteur 13 du contenu cérébral en hémoglobine extravasée dans le parenchyme 6 heures après le trauma ($225,2 \pm 44,1$ versus $16,6 \pm 2,7$ UA chez le groupe Naïf ; $p < 0,001$) [Figure 49 et Tableau XXXXII]. Le traitement par l'indométacine ne modifie pas ce contenu chez les souris traumatisées et traitées ($213,3 \pm 44,2$ UA).

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Hémoglobine en unités arbitraires (UA) |
|-------------------------------|---|---|
| Naïf | 8 | $16,6 \pm 2,7$ |
| Trauma Solvant | 9 | $225,2 \pm 44,1$ *** |
| Trauma Indométacine (5 mg/kg) | 9 | $213,3 \pm 44,2$ |

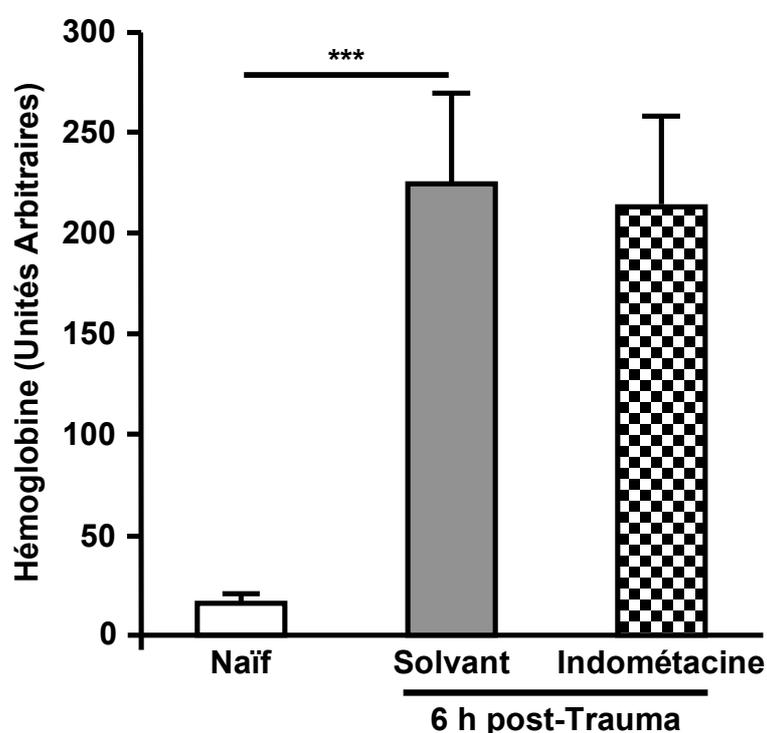


Figure 49 et Tableau XXXXII : Effet de l'indométacine sur l'hémoglobine extravasée 6 heures post-Trauma

L'indométacine (5 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en unités arbitraires. *** $p < 0,001$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

^[126] Voir Résultats et Discussions / Quatrième Partie / Paragraphe I.1.

DISCUSSION

Ces résultats montrent que l'inhibition non sélective des COXs par l'indométacine favorise la récupération fonctionnelle sans avoir d'effet sur l'œdème cérébral. Cet effet neuroprotecteur était associé à une diminution du contenu cérébral post-traumatique en prostacycline ainsi qu'en COX-2. Cependant, le traitement par l'indométacine ne modifiait ni la température corporelle ni les concentrations cérébrales en interleukine-1 β ou en hémoglobine.

Depuis le clonage de différents membres de la famille des COXs dans les années 90s, tous les travaux de recherche étaient centrés pendant ces deux dernières décennies sur la COX-2, l'isoforme inductible au cours du processus inflammatoire. D'ailleurs, la bibliographie fait la preuve que, si les données sur l'implication de COX-2 dans les conséquences post-traumatiques sont toujours peu nombreuses, les études s'intéressant au rôle des COXs en général sont encore plus rares. Au plan expérimental, une seule étude menée par Kim et collaborateurs (1989) a montré qu'un prétraitement avec 3 mg/kg d'indométacine réduisait la mortalité aiguë chez les rats traumatisés par percussion latérale de fluide. Un effet neuroprotecteur de l'indométacine a été également mis en évidence en recherche clinique. Hurley et collaborateurs (2002) ont fait la revue de quatre études montrant un rôle efficace de cet AINS dans la prise en charge des patients traumatisés crâniens ayant eu une HIC réfractaire aux traitements conventionnels. En raison de ces données prometteuses, il nous a paru intéressant de tester le potentiel thérapeutique d'un inhibiteur non sélectif des COXs, en parallèle à notre stratégie ciblant la COX-2 qui constituait l'acteur préférentiel et principal dans cette étude.

Dans ce travail, nous avons montré que l'indométacine avait inhibé la production post-traumatique de prostacycline de manière dose-dépendante. Or, il a été montré sur plusieurs systèmes *in vitro* que l'indométacine possède un profil assez variable comme inhibiteur des COXs ; montrant parfois une préférence pour la COX-1, mais également une non sélectivité vis-à-vis de cette famille d'enzymes [Tableau XI] (Vane *et al.*, 1998). Nous avons déjà montré que la production post-traumatique de la prostacycline est dépendante de COX-2, et que le taux basal de ce prostanoloïde n'implique pas ou peu cette enzyme. Par conséquent, nous avons choisi la dose de 5 mg/kg qui était la seule à montrer un profil non sélectif. Ce dernier a été mis en évidence par l'inhibition de l'augmentation post-traumatique de PGI₂ qui était supérieure à celle des inhibiteurs de COX-2, associée à un effet significatif sur le taux basal de ce médiateur lipidique vasoactif.

Malgré une absence d'effet sur l'œdème cérébral, le traitement par l'indométacine était capable de réduire le déficit neurologique post-traumatique. L'absence d'une amélioration simultanée de ces deux paramètres peut être liée au fait que ces deux conséquences ne reflètent pas le même type de lésions cérébrales induites par la percussion mécanique de la boîte crânienne. D'une part, l'œdème cérébral a été évalué dans des échantillons du tissu cérébral qui ont été prélevés de la zone de lésion visible à l'œil nu ^[127], et par conséquent, il représente la lésion focale générée dans notre modèle du TC. D'autre part, puisque ce dernier induit également une lésion diffuse (Homsy *et al.*, 2010), le déficit neurologique engendré pourrait impliquer d'autres régions du cerveau que celles qui ont été inclus dans le calcul du contenu cérébral en eau. Cependant, il est important de noter que la dissociation entre ces deux conséquences post-traumatiques peut également avoir lieu dans le cadre d'une lésion focale. Suite à un traitement par les inhibiteurs sélectifs de l'isoforme inducible de la NO synthase, Louin et collaborateurs (2006) ont montré une amélioration du score neurologique chez les rats traumatisés par percussion latérale de fluide sans aucune modification de leur contenu cérébral en eau. Ainsi, ces deux critères de jugement de relevance clinique ne sont pas forcément corrélés sans que la distribution spatiale de la lésion cérébrale soit impliquée dans cette éventuelle interrelation.

L'effet bénéfique de l'inhibition des COXs par l'indométacine a été également démontré dans d'autres modèles neuro-inflammatoires. En ischémie cérébrale globale chez le lapin, un prétraitement avec une dose de 4 mg/kg a amélioré la reperfusion cérébrale post-ischémique (Boulu *et al.*, 1981). Chez la gerbille ischémisée par occlusion bilatérale des artères carotides, un prétraitement avec une dose de 0,2 mg/kg a réduit l'augmentation post-ischémique du contenu cérébral en eau et en sodium (Deluga *et al.*, 1991). Cet AINS administré à la dose de 10 mg/kg a réduit l'ouverture de la BHE, le stress oxydant, et le contenu cérébral en COX-2 après l'injection intracérébrale du TNF- α chez le rat (Candelario-Jalil *et al.*, 2007b).

En plus de leur effet inhibiteur de l'activité COX, il a été montré que certains AINS sont capables de moduler l'expression de COX-2 ^[128]. Celle-ci a été diminuée aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* par un traitement par l'aspirine ou le salicylate de sodium (Xu *et al.*, 1999). Bien que ces auteurs n'aient trouvé aucun effet de l'indométacine, Candelario-Jalil et collaborateurs (2007b) ont trouvé une diminution du contenu cérébral en COX-2 induite par cet AINS chez les rats ayant reçu une injection intracérébrale du TNF- α . Ce même effet a été également retrouvé dans un modèle de l'arthrite chez le rat (Anderson *et al.*, 1996). En concordance avec ces données, nous avons montré que l'indométacine diminuait le taux cérébral de COX-2, 6 heures après le TC. Dans notre modèle de percussion mécanique, notre équipe a précédemment

^[127] Voir Matériels et Méthodes / Paragraphe I.4.

^[128] Voir Rappels Bibliographiques / Troisième Chapitre / Paragraphe II.2.

montré une augmentation maximale de l'interleukine-1 β 6 heures post-TC (Homsy *et al.*, 2009), qui a été également confirmée au cours de cette étude. Rappelons que ce pic de l'IL-1 β correspond également à celui de l'expression post-traumatique de COX-2 ^[129]. Or, il est connu que l'IL-1 β est un inducteur de l'expression de COX-2 (Raz *et al.*, 1988). Par conséquent, nous avons voulu vérifier si l'effet inhibiteur de l'indométacine sur l'expression de COX-2 impliquait une éventuelle diminution de la production post-traumatique de l'IL-1 β . Nos résultats montrent que l'indométacine ne modifie pas la formation de cette cytokine pro-inflammatoire après le TC. La diminution du contenu cérébral de COX-2 qui était induite par l'indométacine peut donc impliquer un autre médiateur, comme l'IL-6 (Anderson *et al.*, 1996).

Bien que l'infusion constante pendant 48 heures de prostacycline ait réduit de 43% le volume de lésion chez les rats traumatisés par percussion latérale de fluide, elle n'a modifié ni la fonction motrice ni la perte neuronale au niveau de l'hippocampe (Bentzer *et al.*, 2001). Par conséquent, la présence de PGI₂ n'est pas forcément associée à une récupération fonctionnelle, et sa suppression par l'indométacine dans nos conditions expérimentales ne serait donc pas incompatible avec la réduction du déficit neurologique induite par cet AINS. En revanche, cette carence de prostacycline pourrait même constituer le mécanisme neuroprotecteur de l'indométacine, grâce à une potentielle action hémostatique. Celle-ci a été déjà signalée dans un modèle du TC par percussion latérale de fluide (Kim *et al.*, 1989). À l'aide d'un examen microscopique et l'attribution d'un score, les auteurs ont remarqué que les rats traités par l'indométacine avaient moins d'hémorragie sous-arachnoïdienne que les autres animaux traumatisés ayant reçu le solvant. Ainsi, nous avons postulé que la suppression de PGI₂ par l'indométacine induite dans notre modèle pourrait réduire l'hémorragie post-traumatique en favorisant la vasoconstriction ainsi que l'agrégation plaquettaire. Notre équipe a précédemment décrit l'évolution temporelle de l'hémorragie intracérébrale post-traumatique. Nous avons détecté une augmentation de la quantité de l'hémoglobine extravasée dans le parenchyme cérébral entre 1 heure et 3 jours après le trauma (Hellal *et al.*, 2004). Dans ce travail, l'immunoblot de l'hémoglobine contenue dans le tissu cérébral après perfusion n'a montré aucun effet du traitement par l'indométacine sur l'hémorragie intracérébrale évaluée 6 heures post-TC.

Au cours de cette étude, nous avons mis en évidence une augmentation du contenu cérébral en COX-1. Celle-ci était significative à 6 et 12 heures post-TC. Ce résultat se rapproche des données montrant un accroissement du nombre de cellules exprimant cette isoforme, notamment les microglies, les cellules endothéliales, et les cellules musculaires lisses des vaisseaux cérébraux (Schwab *et al.*, 2002). Cette augmentation a été détectée chez des patients traumatisés crâniens à partir de 6 heures et jusqu'à plusieurs mois après l'incident

^[129] Voir Résultats et Discussions / Deuxième Partie / Paragraphe I.

traumatique. Dans nos conditions expérimentales, l'élévation post-traumatique du contenu cérébral en COX-1 peut être le résultat soit d'une augmentation de l'expression de la protéine au niveau de cellules cérébrales, soit d'une infiltration par les macrophages, soit d'un apport externe qui pourrait avoir comme source l'hémorragie intracrânienne. Ainsi, l'augmentation post-traumatique de la prostacycline dans notre modèle est associée à un accroissement du contenu cérébral en COX-2, mais également en COX-1. Puisque l'indométacine diminue partiellement l'expression de COX-2 sans modifier le taux cérébral de COX-1, la suppression de PGI₂ par cet AINS serait essentiellement due à l'inhibition de l'activité COX.

L'activité neuroprotectrice de l'indométacine et l'absence d'effet d'un traitement par les inhibiteurs de COX-2 suggèrent une implication de l'activité de COX-1 dans les conséquences post-traumatiques. Cette hypothèse est en concordance avec les données récentes de la littérature qui suggèrent un rôle délétère de COX-1 dans la neuro-inflammation et la dégénérescence neuronale. Ceci a été mis en évidence chez des souris transgéniques COX-1^{-/-} ayant subi une injection intracérébrale de β -amyloïde (A β ₁₋₄₂), le facteur déterminant du développement de la maladie d'Alzheimer (Choi & Bosetti, 2009). Comme pour la COX-2 (Li *et al.*, 2010), l'activité de COX-1 peut être une source importante du stress oxydant et donc de la neurotoxicité (Candelario-Jalil, 2009). D'ailleurs, l'effet délétère de COX-1 a été démontré après l'injection intracérébrale du TNF- α chez le rat (Candelario-Jalil *et al.*, 2007b). L'inhibition de l'isoforme constitutive des COXs par le valeroyl salicylate a réduit la rupture de la BHE provoquée par cette cytokine pro-inflammatoire. Dans des modèles d'inflammation induite par le LPS, il a été également montré que la réponse était dépendante de COX-1. Dans une culture de microglies de rat, l'inhibition sélective de cette enzyme par le SC-560 ou le valeroyl salicylate a diminué la production *in vitro* de PGE₂ et de 8-iso-PGF_{2 α} ^[130] (Candelario-Jalil *et al.*, 2007c). Le même effet bénéfique a été retrouvé *in vivo* avec le SC-560 ou par l'utilisation de souris transgéniques COX-1^{-/-} aux niveaux de la dégénérescence neuronale, du stress oxydant, de l'activation microgliale, de la production des cytokines pro-inflammatoires, de la rupture de la BHE, de l'activité des métalloprotéases matricielles, de l'infiltration leucocytaire, et de l'expression des chimiokines (Choi *et al.*, 2008; Aid *et al.*, 2010). L'ensemble de ces données peut être expliqué selon l'hypothèse proposée par Choi et collaborateurs (2009). Avec sa localisation prédominante dans les microglies, la COX-1 pourrait constituer un acteur crucial dans le processus neuro-inflammatoire et la mort neuronale qui en résulte (Bosetti & Choi, 2010).

^[130] Ce type de PGs est membre de la famille des isoprostanes qui sont non-enzymatiquement générées à partir de l'AA par les RLs. Ces composés lipidiques sont considérés comme biomarqueurs spécifiques de la peroxydation lipides (Cracowski *et al.*, 2000).

CINQUIEME PARTIE : IMPLICATION DE CYCLO-OXYGENASE DE TYPE 1 DANS LES CONSEQUENCES POST-TRAUMATIQUES

L'absence d'effet bénéfique des inhibiteurs de COX-2 associée à l'activité neuroprotectrice obtenue par l'inhibition non sélective des COXs nous a conduits à évaluer l'intérêt thérapeutique d'une stratégie ciblant la COX-1 dans la récupération neurologique post-traumatique. Nous avons choisi le valeroyl salicylate comme inhibiteur de cette isoforme constitutive de COX.

I. Effet du valeroyl salicylate sur le déficit neurologique

Dans un premier temps, nous avons testé la dose de 20 mg/kg qui a été montrée neuroprotectrice (Candelario-Jalil *et al.*, 2007b).

I.1. Dose de 20 mg/kg

I.1.1. Effet sur le déficit neurologique

Le TC induit une diminution significative du score neurologique à 6 heures ($5,2 \pm 0,6$ *versus* $7,6 \pm 0,2$) et 24 heures ($5,4 \pm 0,6$ *versus* $7,3 \pm 0,1$) chez les animaux naïfs ($p < 0,001$) [Figure 50 et Tableau XXXXIII]. Le traitement par le valeroyl salicylate à la dose de 20 mg/kg ne réduit pas le déficit neurologique des animaux traumatisés et traités à 6 heures ($4,9 \pm 0,6$) ni à 24 heures ($5,5 \pm 0,5$).

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Score neurologique | |
|----------------------------|----|---|-------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 16 | 7,6 \pm 0,2 | 7,3 \pm 0,1 |
| Trauma Solvant | 17 | 5,2 \pm 0,6 *** | 5,4 \pm 0,6 *** |
| Trauma Valeroyl (20 mg/kg) | 17 | 4,9 \pm 0,6 | 5,5 \pm 0,5 |

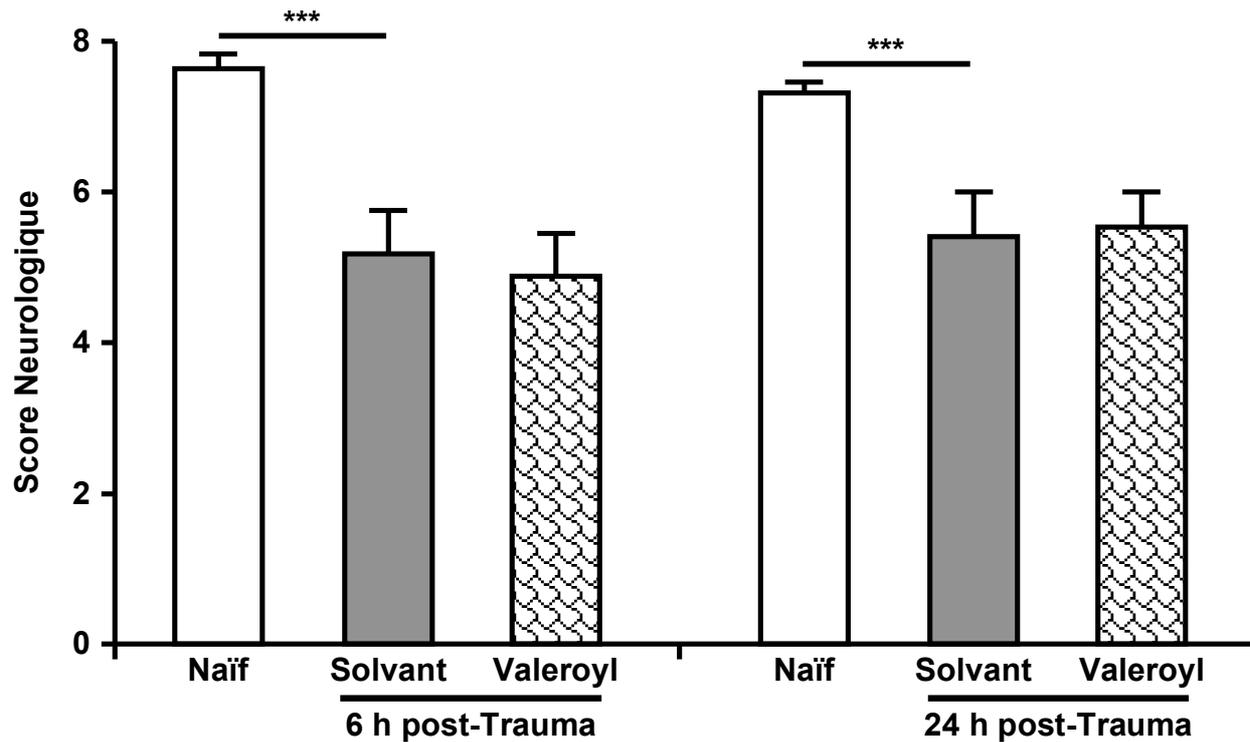


Figure 50 et Tableau XXXXIII : Effet du valeroyl salicylate sur le déficit neurologique à 6 et 24 heures post-Trauma

Le valeroyl salicylate (20 mg/kg) et son solvant (100 mM PBS) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le trauma. Les résultats sont exprimés par la moyenne \pm esm. *** $p < 0,001$ versus Naïf (Kruskal-Wallis suivi du test U de Mann-Whitney).

I.1.2. Effet sur la perte de poids corporel

La Figure 51 et le Tableau XXXIV montrent l'effet d'un traitement par le valeroyl salicylate à la dose de 20 mg/kg sur la perte post-traumatique de poids corporel. Le TC est à l'origine d'une perte de poids à 24 heures ($8,9 \pm 2,2\%$ versus $1 \pm 0,6\%$ chez les souris naïves ; $p < 0,001$). Le valeroyl salicylate ne réduit pas cette perte chez le groupe traumatisé et traité ($7,3 \pm 1,4\%$).

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Perte de poids en % | |
|----------------------------|----|--|-------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 14 | $4,6 \pm 0,4$ | $1 \pm 0,6$ |
| Trauma Solvant | 15 | $6,5 \pm 1,4$ | $8,9 \pm 2,2$ *** |
| Trauma Valeroyl (20 mg/kg) | 12 | $5,8 \pm 0,5$ | $7,3 \pm 1,4$ |

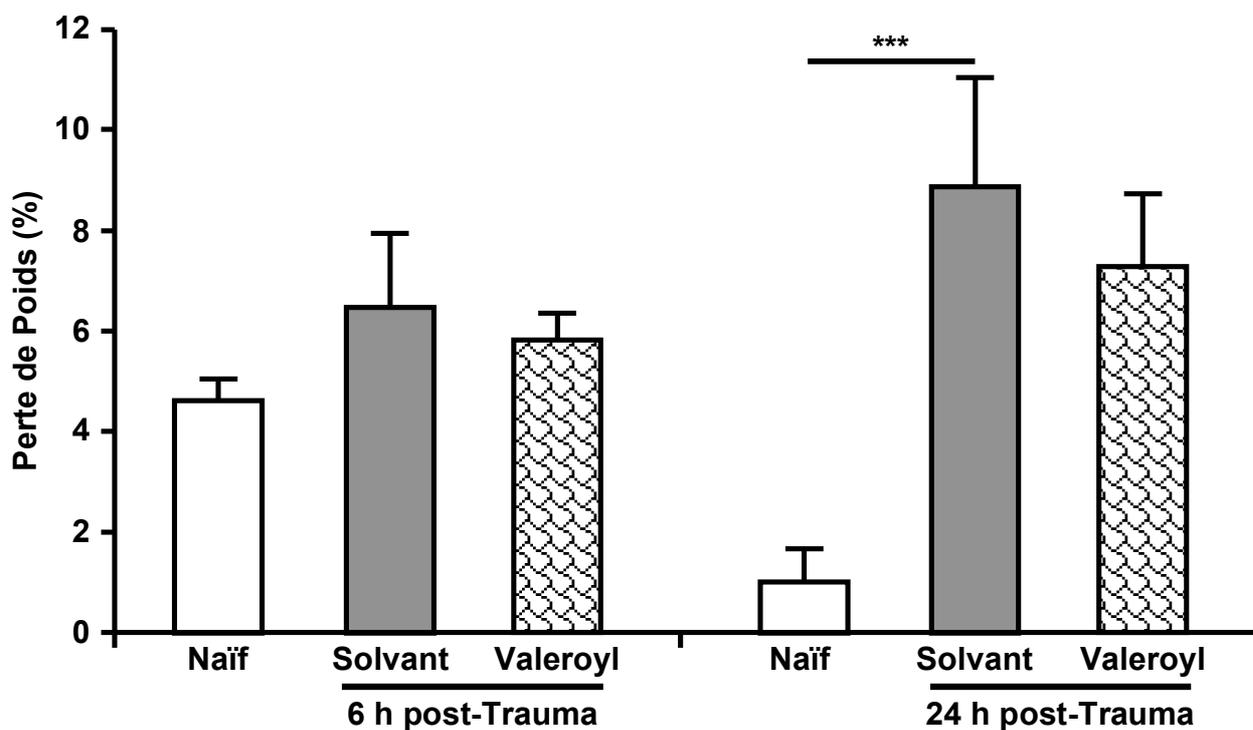


Figure 51 et Tableau XXXIV : Effet du valeroyl salicylate sur la perte de poids à 6 et 24 heures post-Trauma

Le valeroyl salicylate (20 mg/kg) et son solvant (100 mM PBS) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage de perte de poids. *** $p < 0,001$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

I.1.3. Effet sur la température corporelle

La Figure 52 et le Tableau XXXXV montrent que le TC induit une baisse significative de température à 6 heures ($37,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ versus $38,6 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ chez le groupe Naïf ; $p < 0,05$) ainsi qu'à 24 heures ($38 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ versus $39,1 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ chez les animaux naïfs ; $p < 0,01$). Le traitement par l'indométacine ne modifie pas la température à 6 heures ($38,2 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$) ni à 24 heures ($38,4 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$) par rapport aux groupes traumatisés ayant reçu le solvant.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Température corporelle en $^{\circ}\text{C}$ | |
|----------------------------|----|---|-----------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 14 | $38,6 \pm 0,1$ | $39,1 \pm 0,1$ |
| Trauma Solvant | 15 | $37,5 \pm 0,5$ * | $38 \pm 0,4$ ** |
| Trauma Valeroyl (20 mg/kg) | 12 | $38,2 \pm 0,2$ | $38,4 \pm 0,2$ |

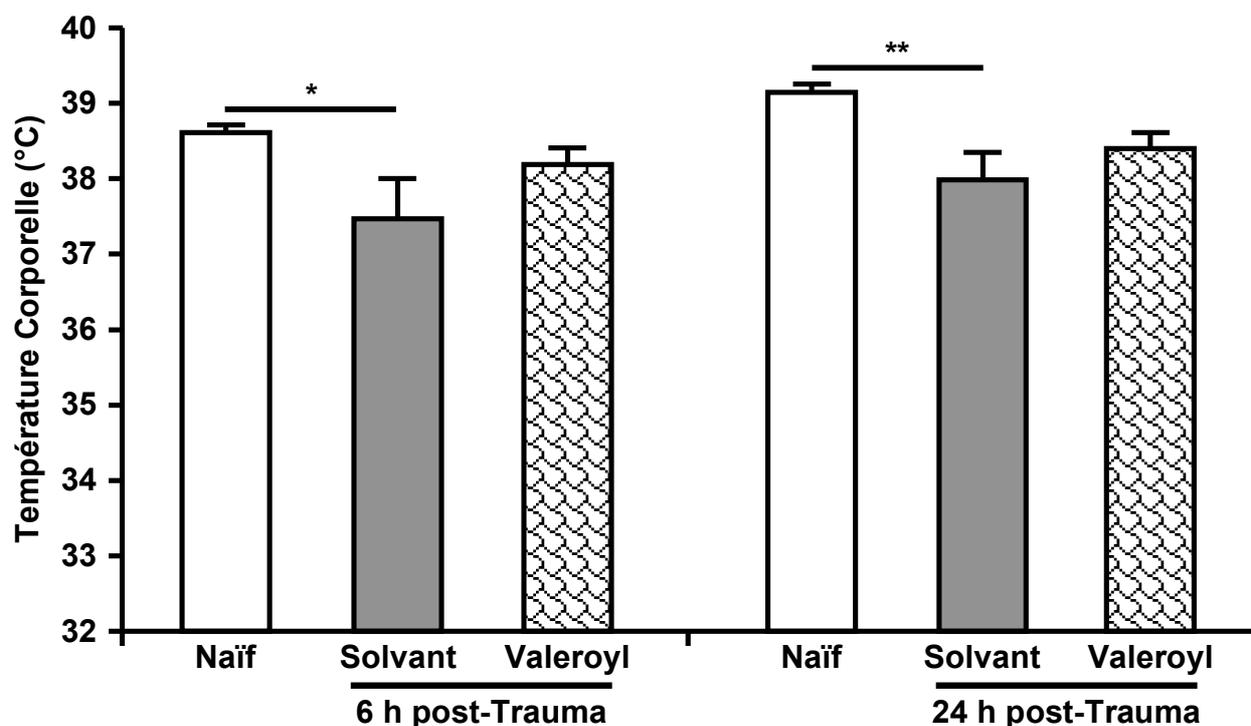


Figure 52 et Tableau XXXXV : Effet du valeroyl salicylate sur la température corporelle à 6 et 24 heures post-Trauma

Le valeroyl salicylate (20 mg/kg) et son solvant (100 mM PBS) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en degrés centigrades. * $p < 0,05$ et ** $p < 0,01$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

I.2. Dose de 50 mg/kg

L'absence d'effet du traitement par le valeroyl salicylate à la dose de 20 mg/kg nous a conduits à tester l'effet de la dose de 50 mg/kg sur les conséquences post-traumatiques.

I.2.1. Effet sur le déficit neurologique

Le TC induit une diminution significative du score neurologique à 6 heures ($5,5 \pm 0,4$ versus $7,5 \pm 0,2$ chez le groupe Naïf ; $p < 0,001$) et 24 heures ($6,5 \pm 0,5$ versus $7,8 \pm 0,1$ chez les souris naïves ; $p < 0,05$) [Figure 53 et Tableau XXXXVI]. Le traitement par le valeroyl salicylate à la dose de 50 mg/kg n'améliore pas le score chez les animaux traumatisés et traités à 6 heures ($5,6 \pm 0,6$) ni à 24 heures ($5,9 \pm 0,5$).

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Score neurologique | |
|----------------------------|----|---|-----------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 15 | $7,5 \pm 0,2$ | $7,8 \pm 0,1$ |
| Trauma Solvant | 15 | $5,5 \pm 0,4$ *** | $6,5 \pm 0,5$ * |
| Trauma Valeroyl (50 mg/kg) | 16 | $5,6 \pm 0,6$ | $5,9 \pm 0,5$ |

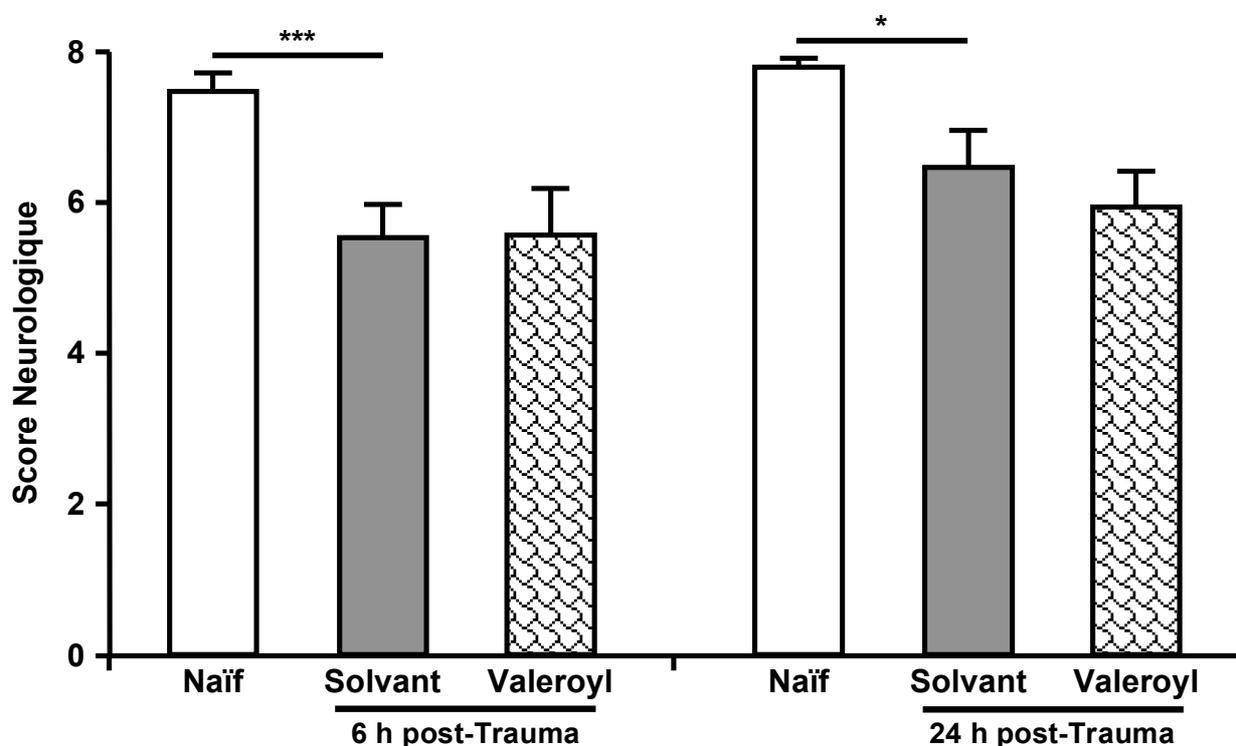


Figure 53 et Tableau XXXXVI : Effet du valeroyl salicylate sur le déficit neurologique à 6 et 24 heures post-Trauma

Le valeroyl salicylate (50 mg/kg) et son solvant (100 mM PBS) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm. * $p < 0,05$ et *** $p < 0,001$ versus Naïf (Kruskal-Wallis suivi du test U de Mann-Whitney).

I.2.2. Effet sur la perte de poids corporel

La Figure 54 et le Tableau XXXXVII montrent l'effet d'un traitement par le valeroyl salicylate à la dose de 50 mg/kg sur la perte post-traumatique de poids corporel. Le TC est à l'origine d'une perte de poids à 6 heures ($7,8 \pm 0,5\%$ versus $5,2 \pm 0,4\%$), ainsi qu'à 24 heures ($8,9 \pm 1,3\%$ versus $1,7 \pm 0,7\%$) chez le groupe Naïf ($p < 0,001$). Le valeroyl salicylate ne réduit pas cette perte chez le groupe traumatisé et traité 6 heures après le trauma ($9 \pm 0,5\%$). En revanche, cet inhibiteur de COX-1 exerce un effet délétère en augmentant significativement la perte de poids corporel chez les animaux traumatisés et traités 24 heures post-TC ($13,7 \pm 0,9\%$ versus $8,9 \pm 1,3\%$ chez le groupe Trauma Solvant ; $p < 0,01$).

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Perte de poids en % | |
|----------------------------|----|--|-------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 15 | $5,2 \pm 0,4$ | $1,7 \pm 0,7$ |
| Trauma Solvant | 15 | $7,8 \pm 0,5$ *** | $8,9 \pm 1,3$ *** |
| Trauma Valeroyl (50 mg/kg) | 16 | $9 \pm 0,5$ | $13,7 \pm 0,9$ ## |

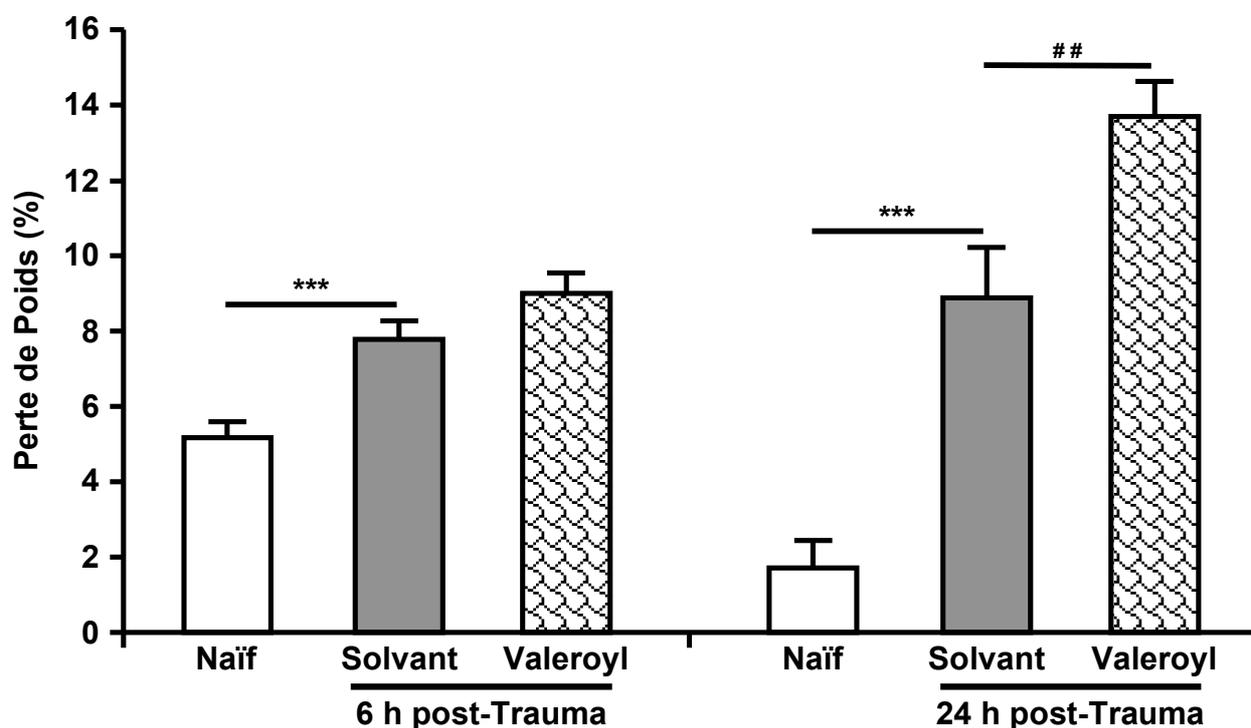


Figure 54 et Tableau XXXXVII : Effet du valeroyl salicylate sur la perte de poids à 6 et 24 heures post-Trauma

Le valeroyl salicylate (50 mg/kg) et son solvant (100 mM PBS) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage de perte de poids. *** $p < 0,001$ versus Naïf et ## $p < 0,01$ versus Trauma Solvant (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

I.2.3. Effet sur la température corporelle

Le TC induit une baisse significative de la température corporelle 24 heures après le trauma crânien ($38,1 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ versus $38,6 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ chez le groupe Naïf ; $p < 0,05$) [Figure 55 et Tableau XXXXVIII]. Le traitement par le valeroyl salicylate est également associé à une baisse significative de température chez les souris traumatisées et traitées tant à 6 heures ($37,6 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ versus $38,2 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$) qu'à 24 heures ($37,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ versus $38,1 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$) par rapport au groupe Trauma Solvant ($p < 0,05$).

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Température corporelle en $^{\circ}\text{C}$ | |
|----------------------------|----|---|------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 15 | $38,3 \pm 0,1$ | $38,6 \pm 0,1$ |
| Trauma Solvant | 15 | $38,2 \pm 0,1$ | $38,1 \pm 0,1$ * |
| Trauma Valeroyl (50 mg/kg) | 16 | $37,6 \pm 0,2$ # | $37,5 \pm 0,2$ # |

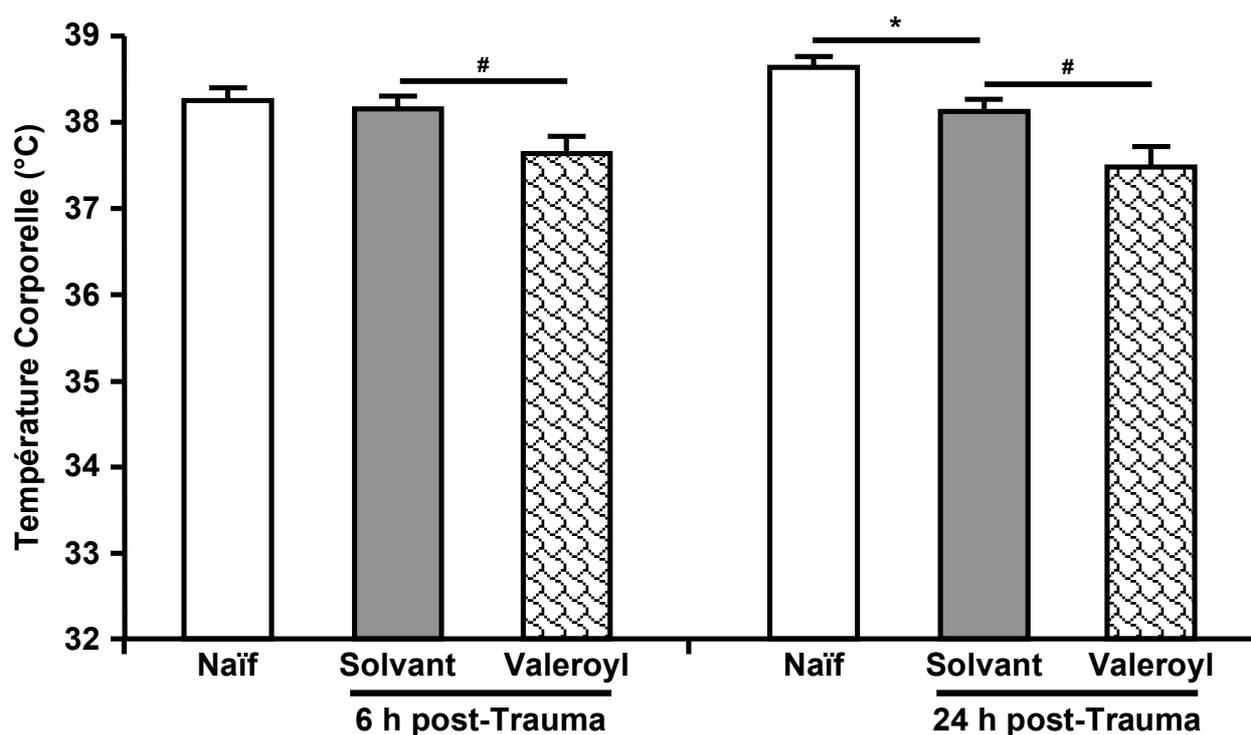


Figure 55 et Tableau XXXXVIII : Effet du valeroyl salicylate sur la température corporelle à 6 et 24 heures post-Trauma

Le valeroyl salicylate (50 mg/kg) et son solvant (100 mM PBS) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en degré centigrade. * $p < 0,05$ versus Naïf et # $p < 0,05$ versus Trauma Solvant (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

II. Doses/Effets du valeroyl salicylate sur la synthèse de 6-kéto PGF_{1 α} 6 heures après le traumatisme crânien

Selon la même démarche suivie pour tous les composés pharmaceutiques utilisés dans cette étude, nous avons testé la capacité du valeroyl salicylate d'inhiber l'activité *in vivo* des COXs dans nos conditions expérimentales post-traumatiques.

La Figure 56A et le Tableau XXXIX montrent les taux de 6-kéto PGF_{1 α} dans les cerveaux de souris naïves et traumatisées ayant reçu le solvant ou le valeroyl salicylate aux doses de : 20, 50, 100 et 150 mg/kg. Six heures après le trauma crânien, on observe la même augmentation du contenu cérébral en ce métabolite de la prostacycline que précédemment ($172,3 \pm 14,5\%$ *versus* $100 \pm 5,1\%$ chez les animaux naïfs ; $p < 0,05$). Hormis une petite diminution induite par la dose de 20 mg/kg qui n'atteint pas le seuil de significativité, aucune des doses utilisées du valeroyl salicylate n'a pu inhiber la production *in vivo* de 6-kéto PGF_{1 α} . Au contraire et à notre surprise, on peut remarquer une tendance de stimulation de la formation post-traumatique de 6-kéto PGF_{1 α} avec l'augmentation de la dose de cet inhibiteur sélectif et irréversible de COX-1.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm 6-kéto PGF _{1α} en % de la moyenne du groupe Naïf |
|-----------------------------|----|---|
| Naïf | 7 | 100 \pm 5,1 |
| Trauma Solvant | 9 | 172,3 \pm 14,5 * |
| Trauma Valeroyl (20 mg/kg) | 14 | 125,9 \pm 13 |
| Trauma Valeroyl (50 mg/kg) | 7 | 150,2 \pm 19,7 |
| Trauma Valeroyl (100 mg/kg) | 7 | 183,2 \pm 34,5 |
| Trauma Valeroyl (150 mg/kg) | 6 | 239,4 \pm 50,3 |

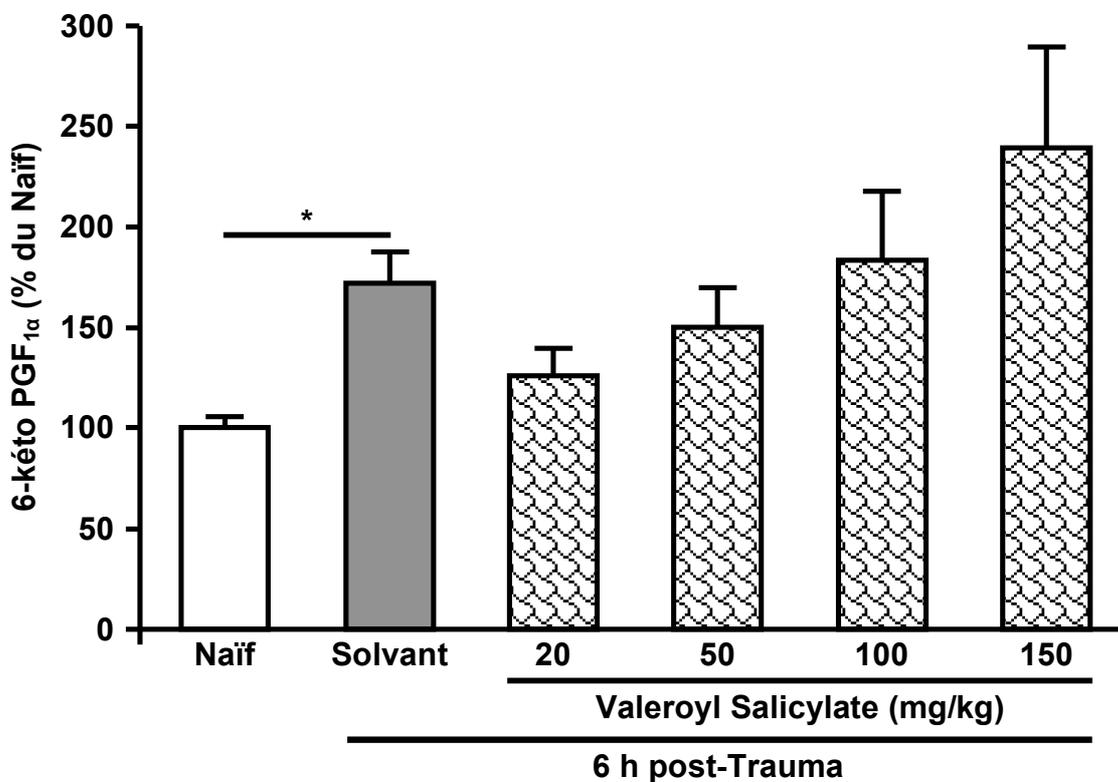


Figure 56A et Tableau XXXIX : Doses/Effets du valeroyl salicylate sur la 6-kéto prostaglandine F_{1 α} 6 heures post-Trauma

Le valeroyl salicylate (20 ; 50 ; 100 et 150 mg/kg) et son solvant (100 mM PBS) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage de la valeur moyenne du groupe Naïf qui est égale à 624,6 \pm 31,5 pg/mg de protéine. * $p < 0,05$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

D'ailleurs, le coefficient de corrélation de Pearson confirme cette observation en montrant une corrélation statistiquement significative entre l'augmentation de la dose du valeroyl salicylate et celle du contenu cérébral en 6-kéto PGF_{1α} ($p = 0,0027$; $r = 0,4987$) [Figure 56B].

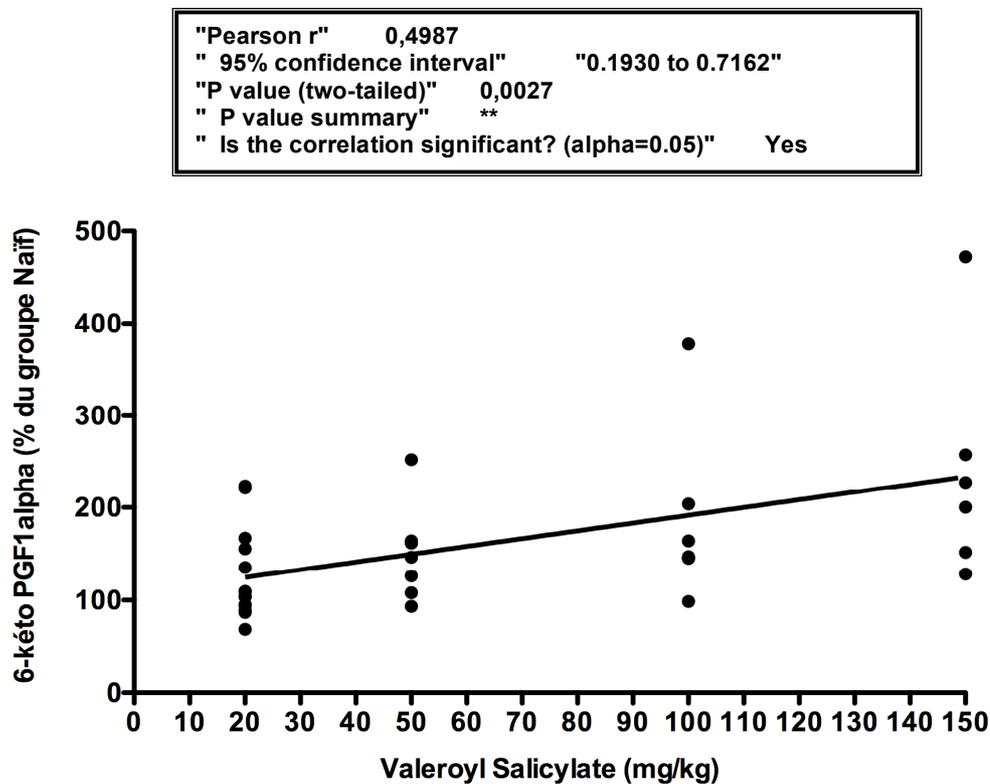


Figure 56B : Étude de corrélation entre la dose du valeroyl salicylate et le taux cérébral de 6-kéto prostaglandine F_{1α} 6 heures post-Trauma

Le valeroyl salicylate (20 ; 50 ; 100 et 150 mg/kg) et son solvant (100 mM PBS) sont administrés par voie intrapéritonéale 10 minutes après le trauma. $p = 0,0027$; $r = 0,4987$ (test de corrélation de Pearson).

DISCUSSION

L'ensemble de ces résultats montre que le traitement par le valeroyl salicylate à la dose de 20 ou de 50 mg/kg ne permet pas de réduire le déficit neurologique post-traumatique. La dose de 50 mg/kg aggrave la perte du poids, et entraîne une baisse de température corporelle chez les animaux traités. À notre surprise, cet inhibiteur sélectif de COX-1 stimulait la production post-traumatique *in vivo* de la prostacycline de manière dose-dépendante. Ce résultat inattendu ne nous permet pas d'utiliser cette molécule pour tester le rôle de COX-1 dans nos conditions expérimentales.

Une seule étude expérimentale s'est intéressée à vérifier l'implication de COX-1 dans les conséquences post-traumatiques (Kelso *et al.*, 2009). Par l'utilisation de souris transgéniques dans un modèle du TC par impact cortical contrôlé, les auteurs ont montré que la délétion génétique de COX-1 ne modifiait ni le déficit cognitif, ni le volume de lésion, ni l'activation microgliale.

Après l'injection intracérébrale du TNF- α chez le rat, un traitement par le valeroyl salicylate à la dose de 20 mg/kg a diminué l'ouverture de la BHE due à cette cytokine pro-inflammatoire (Candelario-Jalil *et al.*, 2007b). La même dose de cet inhibiteur sélectif de COX-1 a réduit également la mort neuronale au niveau de l'hippocampe dans un modèle d'ischémie globale transitoire chez la gerbille (Candelario-Jalil *et al.*, 2003). Cependant, la même équipe a montré qu'une dose plus forte de 120 mg/kg était sans effet sur le volume de lésion, la rupture de la BHE, l'infiltration leucocytaire, et le déficit neurologique après une ischémie focale transitoire chez le rat (Candelario-Jalil *et al.*, 2007a). Par conséquent, dans un premier temps, nous avons choisi d'utiliser la dose de 20 mg/kg. Ce protocole thérapeutique n'avait aucun effet sur le déficit neurologique post-traumatique. L'augmentation de la dose à 50 mg/kg dans l'optique de garantir l'efficacité de traitement n'avait aucun effet protecteur. Cette dose était même délétère en aggravant la perte du poids chez les animaux traumatisés. De plus, la dose de 50 mg/kg a induit une hypothermie significative par rapport au groupe traumatisé ayant reçu le solvant. Cette hypothermie peut refléter une perte de poids développée chez les souris traitées par cette forte dose du valeroyl salicylate.

Ces données nous ont conduits à tester l'effet de différentes doses de cette molécule sur la synthèse de la prostacycline, 6 heures après le TC. À notre étonnement, nous avons montré que cet inhibiteur irréversible de COX-1 augmentait la production *in vivo* de PGI₂ de manière dose-dépendante. Cet effet inverse associé à ces effets sur la perte de poids et la température rend l'utilisation de cette molécule dans nos conditions expérimentales inutile. Toutefois, ce résultat peut suggérer une activité régulatrice de COX-2 par la COX-1.

En effet, si cette molécule inhibe efficacement et sélectivement la COX-1 dans nos conditions post-traumatiques *in vivo*, cette production accrue de la prostacycline ne peut avoir comme origine que la COX-2, surtout que cette dernière est également induite à 6 heures post-TC ^[131]. Ainsi, ces données suggèrent que la forte inhibition de COX-1 peut être compensée par une augmentation de l'activité COX-2. Pourtant, une action stimulatrice directe du valeroyl salicylate sur la COX-2 ne peut pas être éliminée.

Par ailleurs, des données bibliographiques ont mis en question la spécificité d'un autre inhibiteur sélectif de COX-1. Après leur stimulation par le TNF- α , le SC-560 était capable de bloquer totalement la synthèse de PGE₂ dans les neurones de la moelle épinière qui sont déficients en COX-1, avec les mêmes concentrations inhibitrices mesurées lors de son application sur les plaquettes humaines ^[132] (Brenneis *et al.*, 2006). Cette molécule a donc inhibé *in vitro* sur des cellules intactes la COX-1 et la COX-2 avec les mêmes concentrations. Les auteurs ont montré que le SC-560 avait retrouvé sa sélectivité vis-à-vis de COX-1 quand il a été utilisé sur un lysat cellulaire.

Le SC-560 perdant sa sélectivité sur les cellules intactes et le valeroyl salicylate montrant une stimulation *in vivo* de l'activité COX ne sont pas utilisables dans nos conditions expérimentales. Ainsi, les inhibiteurs de COX-1 disponibles à ce jour peuvent constituer de mauvais outils pharmacologiques pour la réalisation d'études précliniques, et ne nous permettent pas de confirmer ou d'infirmer l'implication de COX-1 dans les conséquences du traumatisme crânien.

^[131] Voir Résultats et Discussions / Deuxième Partie / Paragraphe I.

^[132] Système cellulaire contenant uniquement la COX-1.

SIXIEME PARTIE : EFFETS DE L'INHIBITION NON SELECTIVE DES CYCLO-OXYGENASES PAR LE MELOXICAM

I. Effets du méloxicam sur la 6-kéto prostaglandine F_{1α}

I.1. Sur sa synthèse 6 heures après le traumatisme crânien

L'effet neuroprotecteur de l'indométacine nous a incités à confirmer l'implication de l'activité COX dans les conséquences délétères du TC. Ceci a été réalisé en testant l'effet du méloxicam à une dose non sélective sur les conséquences post-traumatiques. Le choix de cette dose a été effectué de manière à obtenir le même niveau d'inhibition que l'indométacine sur la production de PGI₂.

La Figure 57 et le Tableau XXXXX montrent l'effet de doses croissantes du méloxicam sur la production de 6-kéto PGF_{1α} 6 heures après le TC. On observe une augmentation significative du taux cérébral de ce composé chez les souris traumatisées (161,3 ± 26,2% *versus* 100 ± 6,3% chez les animaux naïfs ; $p < 0,05$). Le traitement par le méloxicam aux doses de : 0,5 ; 2 ; 8 et 20 mg/kg induit respectivement une inhibition de cette augmentation de l'ordre de : 120% (87,8 ± 15,7% ; $p < 0,01$), 87% (107,7 ± 15,5 ; $p < 0,05$), 230% (20,6 ± 4% ; $p < 0,001$), et 242% (13 ± 2,4% ; $p < 0,001$). On remarque que les doses de 0,5 et de 2 mg/kg induisent deux niveaux d'inhibition de la production post-traumatique de 6-kéto PGF_{1α} qui ne sont pas très différents. En revanche, il est évident qu'à partir de la dose de 8 mg/kg, l'inhibition est presque complète.

En prenant en considération le degré de l'inhibition de la formation post-traumatique de 6-kéto PGF_{1α} au niveau cérébral, nous avons choisi, pour la suite de ce travail, la dose de 8 mg/kg du méloxicam qui a induit une inhibition équivalente à celle de la dose de 5 mg/kg de l'indométacine ^[133]. Ce résultat est en accord avec les données bibliographiques montrant que cette forte dose du méloxicam inhibe les COXs de manière non sélective (Engelhardt, 1996; Engelhardt *et al.*, 1996).

^[133] Voir Résultats et Discussions / Quatrième Partie / Paragraphe I.1.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm 6-kéto PGF _{1α} en % de la moyenne du groupe Naïf |
|------------------------------|----|---|
| Naïf | 8 | 100 \pm 6,3 |
| Trauma Solvant | 9 | 161,3 \pm 26,2 * |
| Trauma Méloxicam (0,5 mg/kg) | 8 | 87,8 \pm 15,7 ## |
| Trauma Méloxicam (2 mg/kg) | 15 | 107,7 \pm 15,5 # |
| Trauma Méloxicam (8 mg/kg) | 6 | 20,6 \pm 4 ### |
| Trauma Méloxicam (20 mg/kg) | 7 | 13 \pm 2,4 ### |

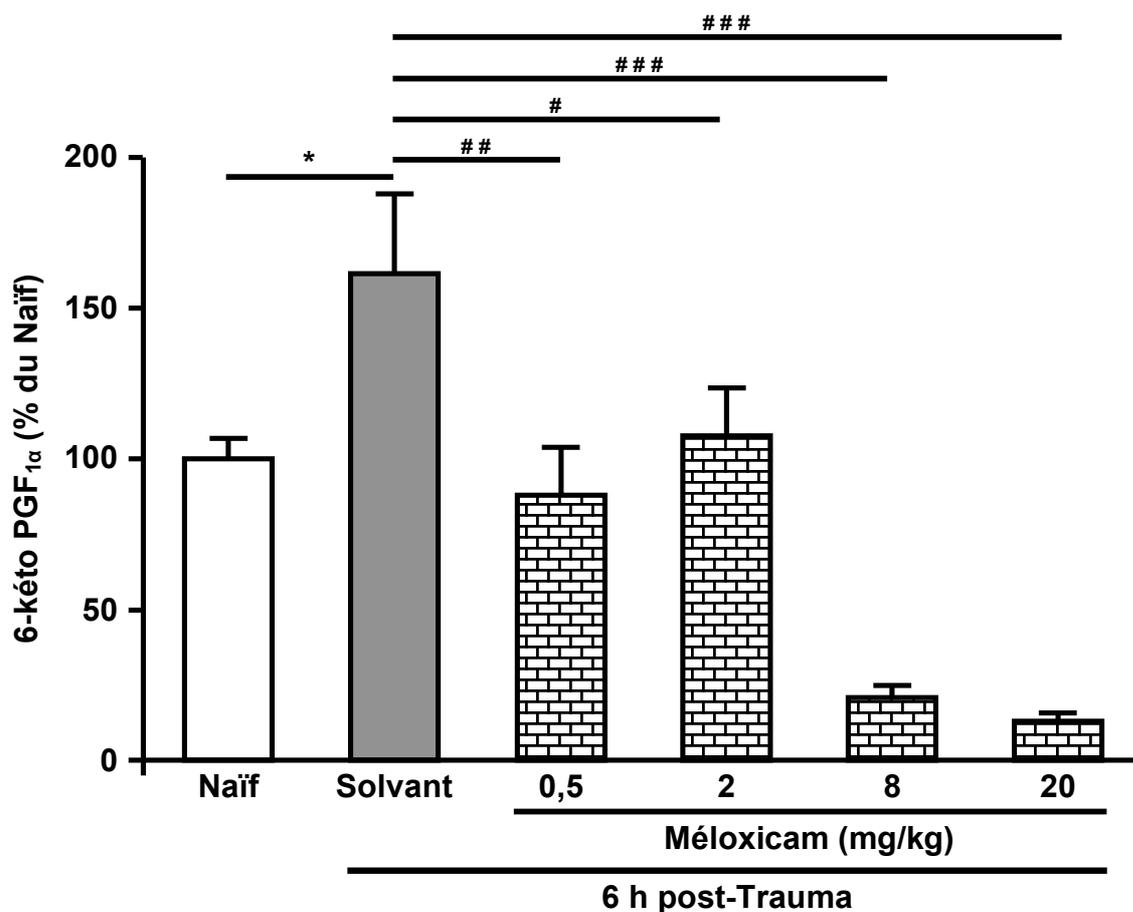


Figure 57 et Tableau XXXXX : Doses/Effets du méloxicam sur la 6-kéto prostaglandine F_{1 α} 6 heures post-Trauma

Le méloxicam (0,5 ; 2 ; 8 et 20 mg/kg) et son solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale à 10 minutes après le TC. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage de la valeur moyenne du groupe Naïf qui est égale à 116 \pm 7,3 pg/mg de protéine. * $p < 0,05$ versus Naïf ; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ et ### $p < 0,001$ versus Trauma Solvant (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

I.2. Sur son taux basal 6 heures après l'administration du médicament chez les souris naïves

La Figure 58 et le Tableau XXXXXI montrent le taux basal de 6-kéto PGF_{1α} dans les cerveaux de souris naïves 6 heures après leur traitement par le méloxicam. Nous avons précédemment montré que le solvant (NaCl à 0,9%) ne modifiait pas ce taux basal^[134], et par conséquent, ce groupe a été supprimé dans cette expérimentation afin de réduire le nombre d'animaux à utiliser. Par contre, le méloxicam à la dose de 8 mg/kg diminue de 59% le contenu cérébral en 6-kéto PGF_{1α} chez les souris traitées (40,9 ± 4,3% *versus* 100 ± 10% chez le groupe Naïf ; $p < 0,001$).

| Groupes | n | Moyenne ± esm 6-kéto PGF _{1α} en % de la moyenne du groupe Naïf |
|--------------------------|----|---|
| Naïf | 12 | 100 ± 10 |
| Naïf Méloxicam (8 mg/kg) | 12 | 40,9 ± 4,3 ### |

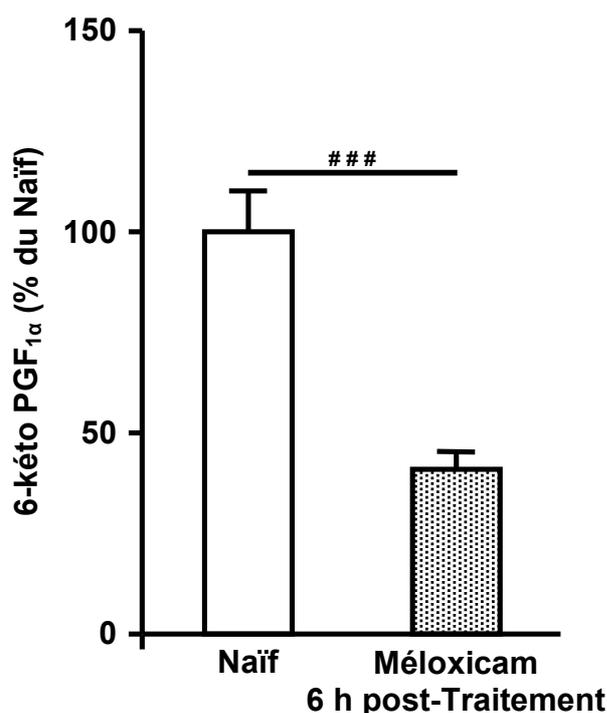


Figure 58 et Tableau XXXXXI : Effet du méloxicam sur le taux basal de 6-kéto prostaglandine F_{1α} 6 heures post-Traitement

Le méloxicam (8 mg/kg) est administré par voie intrapéritonéale. Les résultats sont présentés par la moyenne ± esm et exprimés en pourcentage de la valeur moyenne du groupe Naïf qui est égale à 186,7 ± 18,6 pg/mg de protéine. ### $p < 0,001$ *versus* Naïf (Test *t* de Student).

^[134] Voir Résultats et Discussions / Deuxième Partie / Paragraphe V.

II. Effets du méloxicam sur les conséquences post-traumatiques

II.1. Effet sur l'œdème cérébral

Le TC induit une augmentation significative du contenu cérébral en eau de 1,7% à 24 heures ($p < 0,01$), ce qui témoigne d'un œdème cérébral [Figure 59 et Tableau XXXXXII]. Le traitement par l'indométacine à la dose de 5 mg/kg ou le méloxicam à la dose de 8 mg/kg ne modifie pas le contenu cérébral en eau chez les animaux traumatisés et traités.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Contenu cérébral en eau en % |
|-------------------------------|----|---|
| | | 24 heures post-Trauma |
| Naïf | 16 | 80 \pm 0,1 |
| Trauma Solvant | 16 | 81,7 \pm 0,5 ** |
| Trauma Méloxicam (8 mg/kg) | 16 | 81,5 \pm 0,4 |
| Trauma Indométacine (5 mg/kg) | 15 | 82 \pm 0,4 |

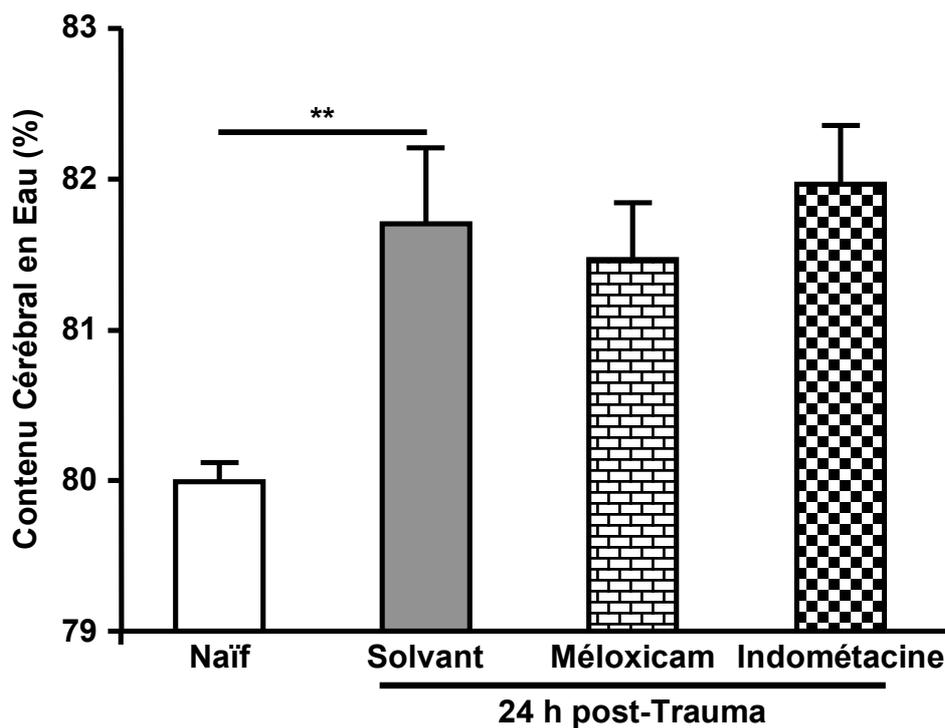


Figure 59 et Tableau XXXXXII : Effets du méloxicam et de l'indométacine sur l'œdème cérébral 24 heures post-Trauma

Le méloxicam (8 mg/kg), l'indométacine (5 mg/kg) et leur solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale à 10 minutes (le méloxicam), ou à 10 minutes, 6 et 12 heures (l'indométacine) après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage du contenu cérébral en eau. ** $p < 0,01$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

II.2. Effet sur le déficit neurologique

Le TC diminue significativement le score neurologique à 6 heures ($3,9 \pm 0,7$ versus $7,7 \pm 0,2$) et à 24 heures ($4,3 \pm 0,6$ versus $7,6 \pm 0,1$) par rapport aux animaux naïfs ($p < 0,001$) [Figure 60 et Tableau XXXXXIII]. Aucun inhibiteur n'a pu réduire le déficit à 6 heures. En revanche, le traitement par le méloxicam à la dose de 8 mg/kg ($6,2 \pm 0,5$) ou l'indométacine à la dose de 5 mg/kg ($6,1 \pm 0,3$) permet d'améliorer ce score chez les souris traumatisées et traitées 24 heures post-TC ($p < 0,05$).

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Score neurologique | |
|-------------------------------|----|---|-------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 16 | $7,7 \pm 0,2$ | $7,6 \pm 0,1$ |
| Trauma Solvant | 16 | $3,9 \pm 0,7$ *** | $4,3 \pm 0,6$ *** |
| Trauma Méloxicam (8 mg/kg) | 16 | $5,1 \pm 0,5$ | $6,2 \pm 0,5$ # |
| Trauma Indométacine (5 mg/kg) | 15 | $5,3 \pm 0,5$ | $6,1 \pm 0,3$ # |

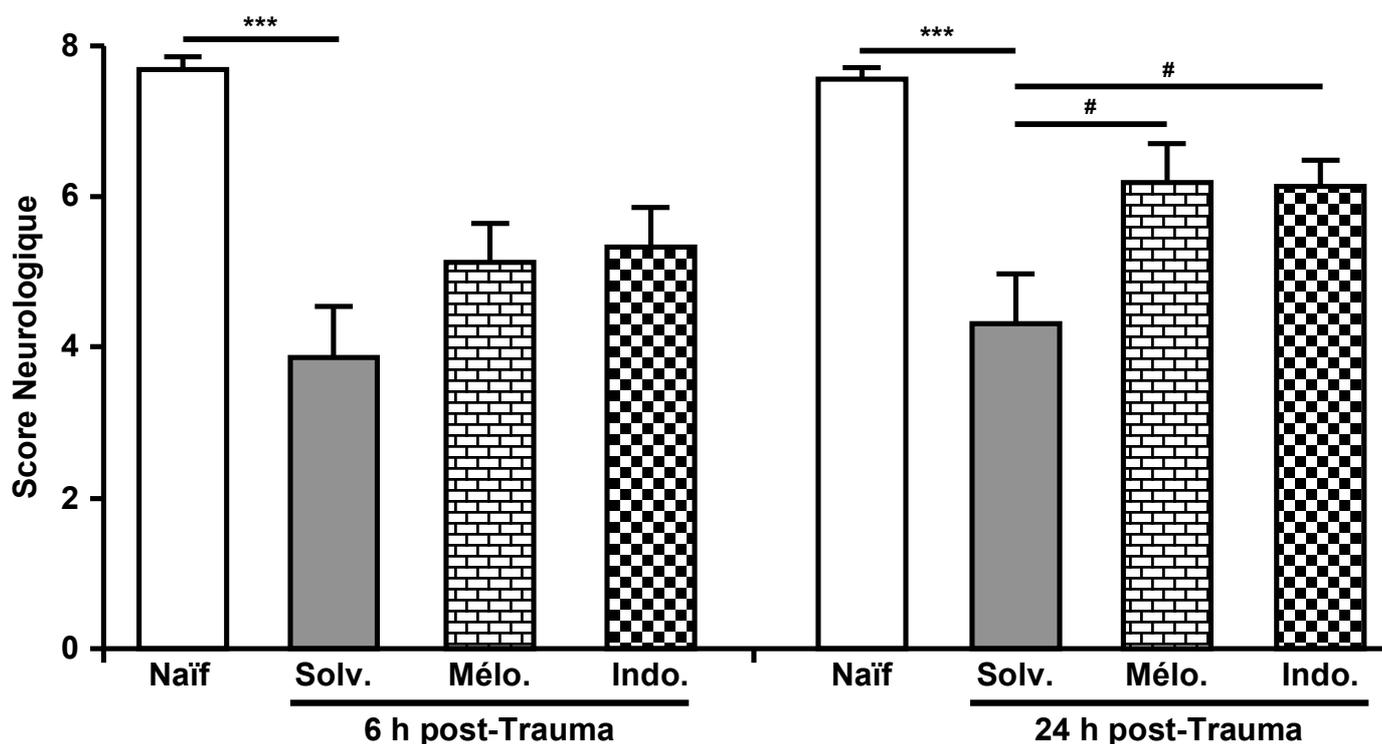


Figure 60 et Tableau XXXXXIII : Effets du méloxicam et de l'indométacine sur le déficit neurologique à 6 et 24 heures post-Trauma

Le méloxicam (8 mg/kg), l'indométacine (5 mg/kg) et leur solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale à 10 minutes (le méloxicam), ou à 10 minutes, 6 et 12 heures (l'indométacine) après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm. *** $p < 0,001$ versus Naïf ; # $p < 0,05$ versus Trauma Solvant (Kruskal-Wallis suivi du test U de Mann-Whitney).

II.3. Effet sur la perte de poids corporel

Le TC n'a pas d'effet sur le poids corporel à 6 heures ($6,9 \pm 0,8\%$ versus $4,9 \pm 0,5\%$ chez les souris naïves) [Figure 61 et Tableau XXXXXIV]. Par contre, les souris traumatisées montrent une perte significative de poids 24 heures post-TC ($14,4 \pm 1,1\%$ versus $0 \pm 1\%$ chez le groupe Naïf ; $p < 0,001$). Le traitement par le méloxicam ou l'indométacine ne réduit pas cette perte chez les groupes traumatisés et traités à 6 heures ni à 24 heures.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Perte de poids en % | |
|-------------------------------|----|--|--------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 16 | $4,9 \pm 0,5$ | 0 ± 1 |
| Trauma Solvant | 16 | $6,9 \pm 0,8$ | $14,4 \pm 1,1$ *** |
| Trauma Méloxicam (8 mg/kg) | 16 | $7,7 \pm 0,6$ | $12,6 \pm 1,1$ |
| Trauma Indométacine (5 mg/kg) | 15 | $8,3 \pm 0,8$ | $11,6 \pm 1,2$ |

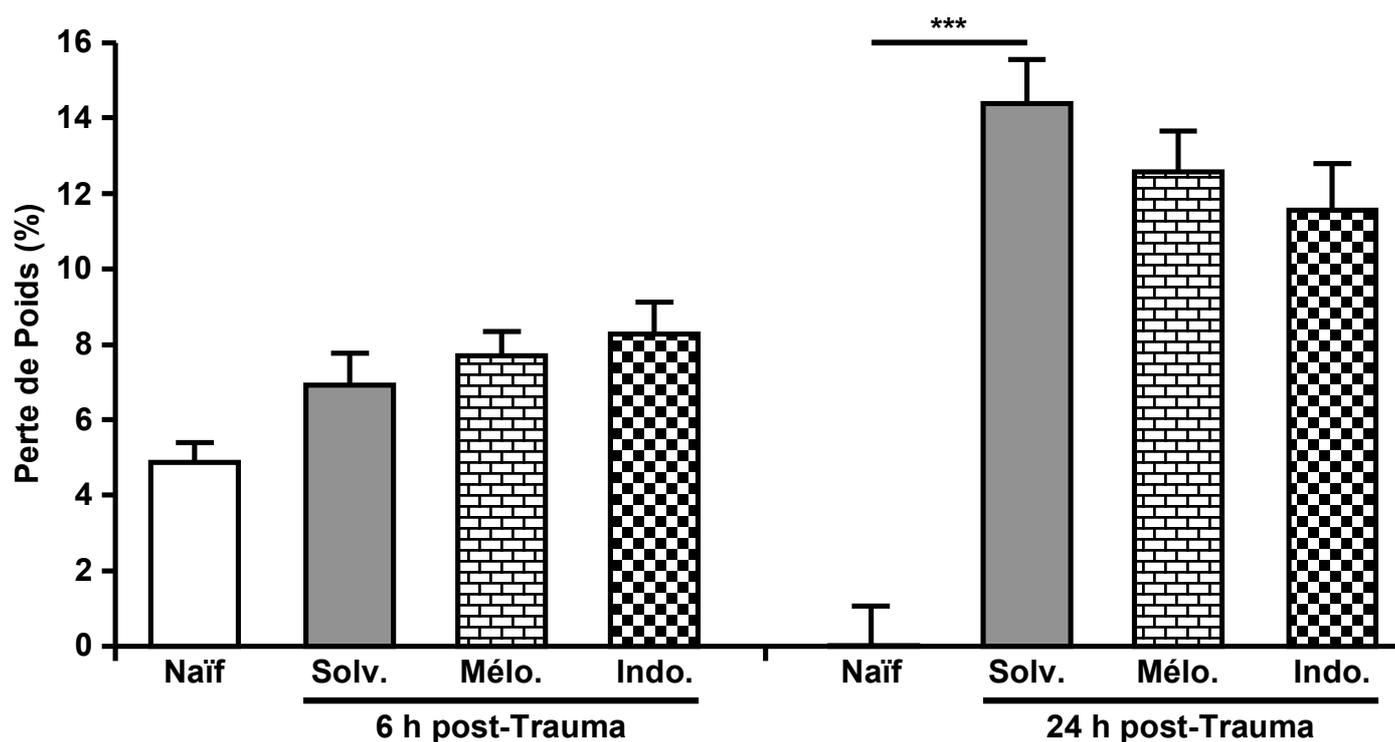


Figure 61 et Tableau XXXXXIV : Effets du méloxicam et de l'indométacine sur la perte de poids à 6 et 24 heures post-Trauma

Le méloxicam (8 mg/kg), l'indométacine (5 mg/kg) et leur solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale à 10 minutes (le méloxicam), ou à 10 minutes, 6 et 12 heures (l'indométacine) après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en pourcentage de perte de poids. *** $p < 0,001$ versus Naïf (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

II.4. Effet sur la température corporelle

Le TC induit une baisse significative de température ($p < 0,01$) aussi bien à 6 heures ($35,5 \pm 0,8^\circ\text{C}$ versus $37,7 \pm 0,1^\circ\text{C}$ chez le groupe Naïf), qu'à 24 heures ($36,2 \pm 0,7^\circ\text{C}$ versus $37,9 \pm 0,1^\circ\text{C}$ chez les souris naïves) [Figure 62 et Tableau XXXXXV]. Le traitement par le méloxicam ($37 \pm 0,4^\circ\text{C}$) ou l'indométacine ($37,3 \pm 0,1^\circ\text{C}$) permet de réduire cette hypothermie chez les groupes traumatisés et traités ($p < 0,05$) à 6 heures. Cependant, cette réduction n'atteint pas le seuil de significativité à 24 heures.

| Groupes | n | Moyenne \pm esm Température corporelle en $^\circ\text{C}$ | |
|-------------------------------|----|---|---------------------|
| | | Temps post-Trauma | |
| | | 6 heures | 24 heures |
| Naïf | 16 | $37,7 \pm 0,1$ | $37,9 \pm 0,1$ |
| Trauma Solvant | 16 | $35,5 \pm 0,8^{**}$ | $36,2 \pm 0,7^{**}$ |
| Trauma Méloxicam (8 mg/kg) | 16 | $37 \pm 0,4^{\#}$ | $37,3 \pm 0,2$ |
| Trauma Indométacine (5 mg/kg) | 15 | $37,3 \pm 0,1^{\#}$ | $37,4 \pm 0,2$ |

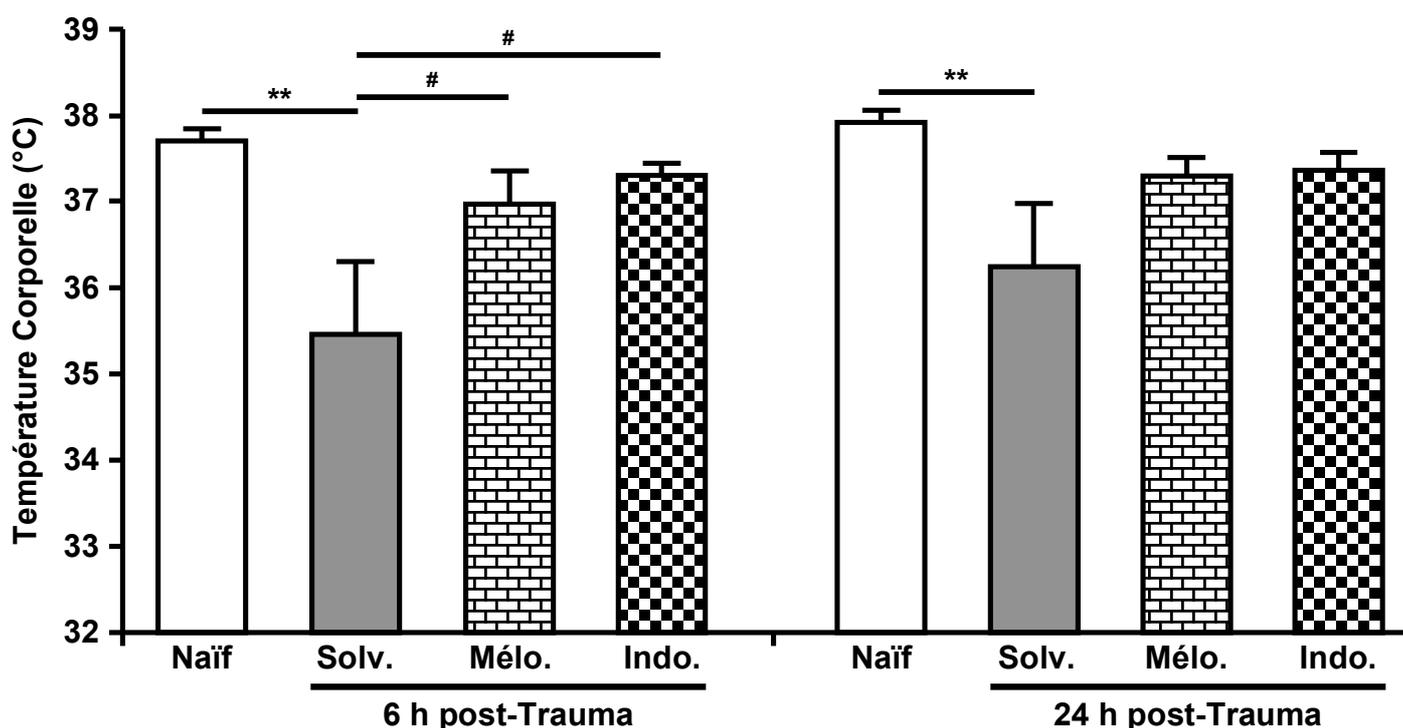


Figure 62 et Tableau XXXXXV : Effets du méloxicam et de l'indométacine sur la température corporelle à 6 et 24 heures post-Trauma

Le méloxicam (8 mg/kg), l'indométacine (5 mg/kg) et leur solvant (0,9% NaCl) sont administrés par voie intrapéritonéale à 10 minutes (le méloxicam), ou à 10 minutes, 6 et 12 heures (l'indométacine) après le trauma. Les résultats sont présentés par la moyenne \pm esm et exprimés en degrés centigrades. $** p < 0,01$ versus Naïf et $^{\#} p < 0,05$ versus Trauma Solvant (ANOVA suivie du test de Bonferroni).

DISCUSSION

Cette partie du projet montre que le méloxicam utilisé à la dose de 8 mg/kg inhibe de manière équivalente à l'indométacine la formation *in vivo* du métabolite de la prostacycline. Comme pour l'indométacine, cette dose induit une récupération fonctionnelle chez les souris traumatisées sans modifier leur contenu cérébral en eau.

Plusieurs données bibliographiques montrent que les AINS exercent une activité anti-inflammatoire qui est COX-indépendante ^[135]. En ce qui concerne l'indométacine, il a été montré que cet AINS activait *in vitro* les récepteurs PPAR- α et PPAR- γ (Lehmann *et al.*, 1997). Puisque la stimulation de ces derniers contribue à la résolution de l'inflammation (Gilroy & Colville-Nash, 2000), l'activité neuroprotectrice de l'indométacine pourrait donc ne pas impliquer uniquement l'inhibition de l'activité COX. Ainsi, il a été indispensable de vérifier si une inhibition non sélective des COXs pourrait reproduire le même effet bénéfique de l'indométacine. Pour cela, nous avons cherché une dose du méloxicam inhibant de manière non sélective les COXs.

Dans le modèle de l'inflammation de la patte après injection de kaolin chez le chat, une dose de 1 mg/kg du méloxicam a induit une action analgésique ainsi qu'antipyrétique maximale 4 heures après l'administration du médicament (Giraudel *et al.*, 2005). Après injection de carragénine chez le rat, un effet anti-œdémateux reflété par la diminution du volume de la patte a été obtenu avec des doses orales comprises entre 0,5 et 1 mg/kg (Engelhardt, 1996). Une activité anti-inflammatoire a été également démontrée chez le rat avec une dose de 0,65 mg/kg/jour inhibant de 50% le contenu en PGE₂ dans l'exsudat pleurétique après injection de carragénine (Engelhardt, 1996). L'ensemble de ces données montre que la triple action pharmacologique d'un AINS classique (anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique) peut être globalement obtenue avec une dose du méloxicam de 1 mg/kg/jour. En revanche, la même équipe a montré que des doses d'environ 2 et 9 mg/kg inhibaient de 50% le taux de PGE₂ dans les urines et dans la sécrétion gastrique respectivement (Engelhardt, 1996; Engelhardt *et al.*, 1996). Puisque la formation de PGs aux niveaux du rein et de l'estomac dépend exclusivement de COX-1 à l'état physiologique, ces données suggèrent qu'à partir de la dose de 2 mg/kg/jour, le méloxicam commence à perdre sa sélectivité vis-à-vis de COX-2 au niveau de ces organes. Toutefois, il n'existe pas de données claires pour le cerveau.

^[135] Voir Rappels Bibliographiques / Troisième Chapitre / Paragraphe II.2.

Ainsi, nous avons testé l'effet de quatre doses du méloxicam sur la formation de 6-kéto $\text{PGF}_{1\alpha}$ 6 heures après le TC. Le choix de ces doses a été basé sur l'ensemble des données précédemment décrites ; de manière à inclure deux doses potentiellement sélectives pour la COX-2 (0,5 et 2 mg/kg) avec deux autres non sélectives (8 et 20 mg/kg). En reproduisant le même effet que l'indométacine, l'inhibiteur non sélectif, les deux doses les plus fortes du méloxicam suppriment presque totalement le taux cérébral de 6-kéto $\text{PGF}_{1\alpha}$ chez les animaux traumatisés. De plus, la dose de 8 mg/kg a inhibé comme l'indométacine le taux basal de ce métabolite chez les animaux naïfs. Ces deux résultats montrent que le méloxicam à la dose de 8 mg/kg se conduit comme un inhibiteur non sélectif des COXs.

Nous avons montré que l'inhibition non sélective des COXs par le méloxicam à 8 mg/kg avait reproduit le même effet bénéfique de l'indométacine en réduisant le déficit neurologique post-traumatique. L'hypothèse d'une activité neuroprotectrice de l'indométacine qui n'implique pas les COXs semble donc être moins plausible. Pourtant, il serait toujours nécessaire de confirmer l'implication des COXs dans le déficit neurologique post-traumatique par l'utilisation d'un troisième inhibiteur non sélectif.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce travail de thèse visait à évaluer l'intérêt thérapeutique de l'inhibition pharmacologique des cyclo-oxygénases de manière générale, et de leur isoforme inductible la COX-2 en particulier, dans la prise en charge d'un traumatisme crânien diffus réalisé par lâcher de poids chez la souris. Pour atteindre cet objectif, nous avons parallèlement comparé les effets de deux différents inhibiteurs de COX-2 à ceux d'un inhibiteur non sélectif des COXs sur les conséquences du TC.

Tout d'abord, nous nous sommes intéressés à étudier l'évolution post-traumatique du déficit neurologique et de l'œdème cérébral. Ces deux variables constituent des critères de jugement de grand intérêt clinique car leur contrôle a été montré comme déterminant pour le devenir du patient traumatisé crânien. Nous avons mis en évidence un déficit neurologique significatif qui apparaît précocement, et qui se maintient jusqu'à 28 jours après le trauma. Simultanément au déficit se développe un œdème cérébral dont la résorption commence à partir de 24 heures post-TC.

La deuxième étape de cette étude a été consacrée à vérifier l'expression et l'activité *in vivo* de COX-2 dans notre modèle du TC. Nous avons montré une augmentation précoce et transitoire de cette isoforme à 6 et 12 heures après le trauma. Celle-ci s'accompagnait d'un accroissement du contenu cérébral en prostacycline à 3 et 6 heures post-TC qui est COX-2 dépendant. Même si aucun changement dans la concentration intracérébrale en prostaglandine E n'a été détecté suite au TC, ces données confirment la présence et l'activité de COX-2 dans nos conditions expérimentales.

Afin d'étudier l'implication de COX-2 dans les conséquences post-traumatiques, deux inhibiteurs préférentiels de cette enzyme ont été utilisés. Le traitement par le nimésulide (12 mg/kg) ou le méloxicam (2 mg/kg) inhibait efficacement l'activité *in vivo* de cette enzyme dans notre modèle du TC. Pourtant, ces protocoles d'administrations ne modifiaient ni l'œdème cérébral ni le déficit neurologique. Ces données suggèrent que la COX-2 ne peut constituer à elle seule une cible pharmacologique suffisante pour le traitement des conséquences post-traumatiques, même si cette enzyme est induite et active après le trauma.

Par ailleurs, l'inhibition non sélective des COXs par l'indométacine (5 mg/kg) était neuroprotectrice en réduisant le déficit neurologique chez les souris traumatisées sans influencer la formation post-traumatique de l'œdème, le contenu cérébral en IL-1 β ou en hémoglobine. Sans exclure une possible action COX-indépendante des AINS, cet effet neuroprotecteur pourrait impliquer uniquement la COX-1 ou les deux isoformes ensemble. D'ailleurs, ces résultats sont en faveur de nombreux arguments qui étaient récemment fournis par la littérature à propos d'un rôle délétère de COX-1 dans le processus neuro-inflammatoire au niveau cérébral.

Pour cela, la troisième partie de ce travail visait à tester l'effet de l'inhibition sélective de COX-1 sur les conséquences post-traumatiques. Nos résultats ont montré que le valeroyl salicylate (20 ou 50 mg/kg) ne modifiait ni le déficit neurologique ni l'œdème cérébral. À notre surprise, cet inhibiteur irréversible de COX-1 stimulait la production de prostacycline après le trauma de manière dose-dépendante. De plus, des données bibliographiques ont remis en question la spécificité d'un autre inhibiteur sélectif de cette isoforme, le SC-560. Ainsi, les inhibiteurs de COX-1 disponibles à ce jour sont inexploitable dans nos conditions expérimentales.

Par la suite, nous avons reproduit la même réduction du déficit neurologique avec une dose non sélective du méloxicam (8 mg/kg) inhibant l'activité *in vivo* des COXs de façon équivalente à celle de l'indométacine. Ce résultat confirme que l'effet neuroprotecteur au niveau fonctionnel peut être obtenu avec l'inhibition non sélective des COXs. Par conséquent, il serait particulièrement intéressant de tester un autre inhibiteur non sélectif afin de conforter nos résultats obtenus avec l'indométacine et le méloxicam à forte dose. Il est à noter que la réduction du déficit neurologique par l'inhibition des COXs n'est pas associée à un effet anti-œdémateux. Ceci ne remet pas en question la pertinence de cette stratégie thérapeutique. En effet, une dissociation entre ces deux variables a été également décrite dans d'autres études expérimentales. De plus, notre technique de l'évaluation de l'œdème ne permet de le détecter qu'au niveau focal, et par conséquent, ne nous conduit pas à exclure définitivement un effet bénéfique de notre stratégie anti-inflammatoire sur l'œdème cérébral.

Dans ce travail, nous avons mis en évidence une récupération fonctionnelle à court terme. Pour renforcer la pertinence de notre stratégie inhibitrice des COXs, il est indispensable de l'évaluer sur d'autres types de déficits, par exemple olfactif et mnésique, dont l'évaluation a été récemment mise en place au laboratoire. De même, il sera nécessaire d'étudier la pertinence de notre stratégie en évaluant ses effets sur les déficits mesurés à long terme. Nous savons déjà que le modèle utilisé dans cette étude permet de mettre en évidence des déficits qui peuvent être détectés jusqu'à au moins 3 mois après le trauma crânien. Par ailleurs, de nouveaux tests comportementaux, notamment pour l'évaluation de la

dépression post-traumatique, seront prochainement mis en place par un maître de conférences qui a été récemment recruté.

Nous avons appliqué un protocole où la première administration des molécules testées a été effectuée 10 minutes après le trauma crânien. La transposition de ce schéma thérapeutique chez l'Homme apparaît pratiquement impossible. Il est donc nécessaire d'évaluer dans nos conditions expérimentales la fenêtre d'opportunité thérapeutique pour que nos travaux aient une relevance au niveau clinique.

Afin de préciser les mécanismes moléculaires qui sont responsables de l'effet bénéfique de l'inhibition des COXs, il serait utile de savoir si ce dernier est directement dû à la suppression de l'activité délétère de cette famille d'enzymes, ou plutôt à une réorientation du métabolisme de l'acide arachidonique vers d'autres voies bénéfiques. La spectrométrie de masse est déjà utilisée pour suivre simultanément la formation de produits dérivés de cet acide gras poly-insaturé. Son utilisation nous donnerait une image plus complète sur l'évolution de la synthèse de ces médiateurs lipidiques bénéfiques ou délétères, et leur devenir en présence de différents inhibiteurs des COXs.

Il serait également important d'intégrer dans notre étude l'approche par imagerie cérébrale afin de suivre l'évolution temporelle de l'œdème cérébral et de l'hémorragie intracrânienne de manière longitudinale pour chaque souris. L'IRM du petit animal est actuellement devenu faisable et accessible. Grâce à ses différentes séquences, le recours à cette nouvelle technologie nous permettra de réaliser un bilan lésionnel exhaustif en utilisant les mêmes outils d'évaluation que les cliniciens. Ainsi, nos résultats auront une meilleure crédibilité et plus de chance d'être transposables chez l'Homme.

En conclusion, ce travail constitue une nouvelle piste pour évaluer l'intérêt de l'inhibition des cyclo-oxygénases au cours de la phase précoce de la prise en charge du patient traumatisé crânien. La bonne tolérance de l'usage à court terme des inhibiteurs de COX, leur disponibilité sur le marché, leur prix abordable, leur simplicité d'administration, leurs caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacodynamiques bien connus sont des facteurs suscitant un intérêt croissant d'élargir le spectre de leurs utilisations en clinique et de la mise en place de nouveaux essais thérapeutiques dans les années à venir.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abelson-Mitchell N. Epidemiology and prevention of head injuries: literature review. *J Clin Nurs* 2008; **17**: 46-57.
- Aguilar-Mariscal H, Patiño-Camacho SI, Rodríguez-Silverio J, Torres-López JE, Flores-Murrieta FJ. Oral pharmacokinetics of meloxicam in the rat using a high-performance liquid chromatography method in micro-whole-blood samples. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2007; **29**: 587-591.
- Ahmad M, Rose ME, Vagni V, Griffith RP, Dixon CE, Kochanek PM, Hickey RW, Graham SH. Genetic disruption of cyclooxygenase-2 does not improve histological or behavioral outcome after traumatic brain injury in mice. *J Neurosci Res* 2008; **86**: 3605-3612.
- Ahmed M, Khanna D, Furst DE. Meloxicam in rheumatoid arthritis. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2005; **1**: 739-751.
- Aid S, Silva AC, Candelario-Jalil E, Choi SH, Rosenberg GA, Bosetti F. Cyclooxygenase-1 and -2 differentially modulate lipopolysaccharide-induced blood-brain barrier disruption through matrix metalloproteinase activity. *J Cereb Blood Flow Metab* 2010; **30**: 370-380.
- Aid S, Langenbach R, Bosetti F. Neuroinflammatory response to lipopolysaccharide is exacerbated in mice genetically deficient in cyclooxygenase-2. *J Neuroinflammation* 2008; **5**: 17.
- Albert-Weissenberger C, Sirén AL. Experimental traumatic brain injury. *Exp Transl Stroke Med* 2010; **2**: 16.
- Anderson BJ. Paracetamol (Acetaminophen): mechanisms of action. *Paediatr Anaesth* 2008; **18**: 915-921.
- Anderson GD, Hauser SD, McGarity KL, Bremer ME, Isakson PC, Gregory SA. Selective inhibition of cyclooxygenase (COX)-2 reverses inflammation and expression of COX-2 and interleukin 6 in rat adjuvant arthritis. *J Clin Invest* 1996; **97**: 2672-2679.
- Ashman TA, Gordon WA, Cantor JB, Hibbard MR. Neurobehavioral consequences of traumatic brain injury. *Mt Sinai J Med* 2006; **73**: 999-1005.
- Atta HM. Edwin Smith Surgical Papyrus: the oldest known surgical treatise. *Am Surg* 1999; **65**: 1190-1192.
- Attwell D, Buchan AM, Charpak S, Lauritzen M, Macvicar BA, Newman EA. Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature* 2010; **468**: 232-243.

- Ballinger A, Smith G. COX-2 inhibitors vs. NSAIDs in gastrointestinal damage and prevention. *Expert Opin Pharmacother* 2001; **2**: 31-40.
- Beauchamp K, Mutlak H, Smith WR, Shohami E, Stahel PF. Pharmacology of traumatic brain injury: where is the "golden bullet"? *Mol Med* 2008; **14**: 731-740.
- Bellien J, Joannides R, Richard V, Thuillez C. Modulation of cytochrome-derived epoxyeicosatrienoic acids pathway: a promising pharmacological approach to prevent endothelial dysfunction in cardiovascular diseases? *Pharmacol Ther* 2011; **131**: 1-17.
- Belmont A, Agar N, Hugeron C, Gallais B, Azouvi P. Fatigue and traumatic brain injury. *Ann Readapt Med Phys* 2006; **49**: 283-288.
- Beni-Adani L, Gozes I, Cohen Y, Assaf Y, Steingart RA, Brenneman DE, Eizenberg O, Trembolver V, Shohami E. A peptide derived from activity-dependent neuroprotective protein (ADNP) ameliorates injury response in closed head injury in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; **296**: 57-63.
- Bentzer P, Mattiasson G, McIntosh TK, Wieloch T, Grande PO. Infusion of prostacyclin following experimental brain injury in the rat reduces cortical lesion volume. *J Neurotrauma* 2001; **18**: 275-285.
- Bergström S, Danielsson H, Klenberg D, Samuelsson B. The enzymatic conversion of essential fatty acids into prostaglandins. *J Biol Chem* 1964; **239**: PC4006- PC4008.
- Bernareggi A. Clinical pharmacokinetics of nimesulide. *Clin Pharmacokinet* 1998; **35**: 247-274.
- Besson VC, Chen XR, Plotkine M, Marchand-Verrecchia C. Fenofibrate, a peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonist, exerts neuroprotective effects in traumatic brain injury. *Neurosci Lett* 2005; **388**: 7-12.
- Béziaud T, Ru Chen X, El Shafey N, Fréchou M, Teng F, Palmier B, Beray-Berthat V, Soustrat M, Margail I, Plotkine M, Marchand-Leroux C, Besson VC. Simvastatin in traumatic brain injury: effect on brain edema mechanisms. *Crit Care Med* 2011; **39**: 2300-2307.
- Biber N, Toklu HZ, Solakoglu S, Gultomruk M, Hakan T, Berkman Z, Dulger FG. Cysteinyl-leukotriene receptor antagonist montelukast decreases blood-brain barrier permeability but does not prevent oedema formation in traumatic brain injury. *Brain Inj* 2009; **23**: 577-584.
- Bigler ED. Distinguished Neuropsychologist Award Lecture 1999. The lesion(s) in traumatic brain injury: implications for clinical neuropsychology. *Arch Clin Neuropsychol* 2001; **16**: 95-131.
- Bosetti F, Choi SH. Rethinking the role of cyclooxygenase-1 in neuroinflammation: more than homeostasis. *Cell Cycle* 2010; **9**: 2919-2920.

- Botting RM. Inhibitors of cyclooxygenases: mechanisms, selectivity and uses. *J Physiol Pharmacol* 2006; **57**: 113-124.
- Botting R, Ayoub SS. COX-3 and the mechanism of action of paracetamol/acetaminophen. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005; **72**: 85-87.
- Boulu RG, Gueniau C, Plotkine M, Sofeir M. Recovery from global cerebral ischemia in rabbits: influence of indomethacin. *Eur Neurol* 1981; **20**: 230-234.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; **72**: 248-254.
- Bramlett HM, Dietrich WD. Pathophysiology of cerebral ischemia and brain trauma: similarities and differences. *J Cereb Blood Flow Metab* 2004; **24**: 133-150.
- Brenneis C, Maier TJ, Schmidt R, Hofacker A, Zulauf L, Jakobsson PJ, Scholich K, Geisslinger G. Inhibition of prostaglandin E₂ synthesis by SC-560 is independent of cyclooxygenase 1 inhibition. *FASEB J* 2006; **20**: 1352-1360.
- Bruns J Jr, Hauser WA. The epidemiology of traumatic brain injury: a review. *Epilepsia* 2003; **44 Suppl 10**: 2-10.
- Büki A, Povlishock JT. All roads lead to disconnection?--Traumatic axonal injury revisited. *Acta Neurochir (Wien)* 2006; **148**: 181-193.
- Busch U, Schmid J, Heinzl G, Schmaus H, Baierl J, Huber C, Roth W. Pharmacokinetics of meloxicam in animals and the relevance to humans. *Drug Metab Dispos* 1998; **26**: 576-584.
- Bye N, Habgood MD, Callaway JK, Malakooti N, Potter A, Kossmann T, Morganti-Kossmann MC. Transient neuroprotection by minocycline following traumatic brain injury is associated with attenuated microglial activation but no changes in cell apoptosis or neutrophil infiltration. *Exp Neurol* 2007; **204**: 220-233.
- Candelario-Jalil E. A role for cyclooxygenase-1 in beta-amyloid-induced neuroinflammation. *Aging (Albany NY)* 2009; **1**: 350-353.
- Candelario-Jalil E. Nimesulide as a promising neuroprotectant in brain ischemia: new experimental evidences. *Pharmacol Res* 2008; **57**: 266-273.
- Candelario-Jalil E, Fiebich BL. Cyclooxygenase inhibition in ischemic brain injury. *Curr Pharm Des* 2008; **14**: 1401-1418.
- Candelario-Jalil E, González-Falcón A, García-Cabrera M, León OS, Fiebich BL. Post-ischaemic treatment with the cyclooxygenase-2 inhibitor nimesulide reduces blood-brain barrier disruption and leukocyte infiltration following transient focal cerebral ischaemia in rats. *J Neurochem* 2007a; **100**: 1108-1120.

- Candelario-Jalil E, Taheri S, Yang Y, Sood R, Grossetete M, Estrada EY, Fiebich BL, Rosenberg GA. Cyclooxygenase inhibition limits blood-brain barrier disruption following intracerebral injection of tumor necrosis factor-alpha in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 2007b; **323**: 488-498.
- Candelario-Jalil E, de Oliveira AC, Gräf S, Bhatia HS, Hüll M, Muñoz E, Fiebich BL. Resveratrol potently reduces prostaglandin E₂ production and free radical formation in lipopolysaccharide-activated primary rat microglia. *J Neuroinflammation* 2007c; **4**: 25.
- Candelario-Jalil E, Mhadu NH, González-Falcón A, García-Cabrera M, Muñoz E, León OS, Fiebich BL. Effects of the cyclooxygenase-2 inhibitor nimesulide on cerebral infarction and neurological deficits induced by permanent middle cerebral artery occlusion in the rat. *J Neuroinflammation* 2005; **2**: 3.
- Candelario-Jalil E, González-Falcón A, García-Cabrera M, León OS, Fiebich BL. Wide therapeutic time window for nimesulide neuroprotection in a model of transient focal cerebral ischemia in the rat. *Brain Res* 2004; **1007**: 98-108.
- Candelario-Jalil E, González-Falcón A, García-Cabrera M, Alvarez D, Al-Dalain S, Martínez G, León OS, Springer JE. Assessment of the relative contribution of COX-1 and COX-2 isoforms to ischemia-induced oxidative damage and neurodegeneration following transient global cerebral ischemia. *J Neurochem* 2003; **86**: 545-555.
- Candelario-Jalil E, Alvarez D, González-Falcón A, García-Cabrera M, Martínez-Sánchez G, Merino N, Giuliani A, León OS. Neuroprotective efficacy of nimesulide against hippocampal neuronal damage following transient forebrain ischemia. *Eur J Pharmacol* 2002; **453**: 189-195.
- Catella-Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC, Cucchiara AJ, DeMarco S, Tournier B, Vyas SN, FitzGerald GA. Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *N Engl J Med* 2001; **345**: 1809-1817.
- Cederberg D, Siesjö P. What has inflammation to do with traumatic brain injury? *Childs Nerv Syst* 2010; **26**: 221-226.
- Cernak I. Animal models of head trauma. *NeuroRx* 2005; **2**: 410-422.
- Cernak I, O'Connor C, Vink R. Inhibition of cyclooxygenase 2 by nimesulide improves cognitive outcome more than motor outcome following diffuse traumatic brain injury in rats. *Exp Brain Res* 2002; **147**: 193-199.
- Cernak I, O'Connor C, Vink R. Activation of cyclo-oxygenase-2 contributes to motor and cognitive dysfunction following diffuse traumatic brain injury in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2001; **28**: 922-925.
- Chandrasekharan NV, Simmons DL. The cyclooxygenases. *Genome Biol* 2004; **5**: 241.

- Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, Simmons DL. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; **99**: 13926-13931.
- Chauhan NB, Gatto R, Chauhan MB. Neuroanatomical correlation of behavioral deficits in the CCI model of TBI. *J Neurosci Methods* 2010; **190**: 1-9.
- Chen XR, Besson VC, Beziaud T, Plotkine M, Marchand-Leroux C. Combination therapy with fenofibrate, a peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonist, and simvastatin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitor, on experimental traumatic brain injury. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; **326**: 966-974.
- Chen XR, Besson VC, Palmier B, Garcia Y, Plotkine M, Marchand-Leroux C. Neurological recovery-promoting, anti-inflammatory, and anti-oxidative effects afforded by fenofibrate, a PPAR alpha agonist, in traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2007; **24**: 1119-1131.
- Chesnut RM, Marshall LF, Klauber MR, Blunt BA, Baldwin N, Eisenberg HM, Jane JA, Marmarou A, Foulkes MA. The role of secondary brain injury in determining outcome from severe head injury. *J Trauma* 1993a; **34**: 216-222.
- Chesnut RM, Marshall SB, Piek J, Blunt BA, Klauber MR, Marshall LF. Early and late systemic hypotension as a frequent and fundamental source of cerebral ischemia following severe brain injury in the Traumatic Coma Data Bank. *Acta Neurochir Suppl (Wien)* 1993b; **59**: 121-125.
- Choi SH, Bosetti F. Cyclooxygenase-1 null mice show reduced neuroinflammation in response to beta-amyloid. *Aging (Albany NY)* 2009; **1**: 234-244.
- Choi SH, Aid S, Bosetti F. The distinct roles of cyclooxygenase-1 and -2 in neuroinflammation: implications for translational research. *Trends Pharmacol Sci* 2009; **30**: 174-181.
- Choi SH, Langenbach R, Bosetti F. Genetic deletion or pharmacological inhibition of cyclooxygenase-1 attenuate lipopolysaccharide-induced inflammatory response and brain injury. *FASEB J* 2008; **22**: 1491-1501.
- Clausen F, Hånell A, Israelsson C, Hedin J, Ebendal T, Mir AK, Gram H, Marklund N. Neutralization of interleukin-1 β reduces cerebral edema and tissue loss and improves late cognitive outcome following traumatic brain injury in mice. *Eur J Neurosci* 2011; **34**: 110-123.
- Clausen F, Hånell A, Björk M, Hillered L, Mir AK, Gram H, Marklund N. Neutralization of interleukin-1 β modifies the inflammatory response and improves histological and cognitive outcome following traumatic brain injury in mice. *Eur J Neurosci* 2009; **30**: 385-396.

- Cockerham GC, Goodrich GL, Weichel ED, Orcutt JC, Rizzo JF, Bower KS, Schuchard RA. Eye and visual function in traumatic brain injury. *J Rehabil Res Dev* 2009; **46**: 811-818.
- Couzin J. Clinical trials. Halt of Celebrex study threatens drug's future, other trials. *Science* 2004; **306**: 2170.
- Cracowski JL, Stanke-Labesque F, Bessard G. [Isoprostanes: new markers of oxidative stress. Fundamental and clinical aspects]. *Rev Med Interne* 2000; **21**: 304-307.
- Dash PK, Mach SA, Moore AN. Regional expression and role of cyclooxygenase-2 following experimental traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2000; **17**: 69-81.
- Degeneffe CE, Olney MF. 'We are the forgotten victims': Perspectives of adult siblings of persons with traumatic brain injury. *Brain Inj* 2010; **24**: 1416-1427.
- Deluga KS, Plötz FB, Betz AL. Effect of indomethacin on edema following single and repetitive cerebral ischemia in the gerbil. *Stroke* 1991; **22**: 1259-1264.
- Dinchuk JE, Liu RQ, Trzaskos JM. COX-3: in the wrong frame in mind. *Immunol Lett* 2003; **86**: 121.
- Donkin JJ, Vink R. Mechanisms of cerebral edema in traumatic brain injury: therapeutic developments. *Curr Opin Neurol* 2010; **23**: 293-299.
- Engelhardt G. Pharmacology of meloxicam, a new non-steroidal anti-inflammatory drug with an improved safety profile through preferential inhibition of COX-2. *Br J Rheumatol* 1996; **35 Suppl 1**: 4-12.
- Engelhardt G, Bögel R, Schnitzler C, Utzmann R. Meloxicam: influence on arachidonic acid metabolism. Part II. *In vivo* findings. *Biochem Pharmacol* 1996; **51**: 29-38.
- Farias S, Frey LC, Murphy RC, Heidenreich KA. Injury-related production of cysteinyl leukotrienes contributes to brain damage following experimental traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2009; **26**: 1977-1986.
- Feldman RP, Goodrich JT. The Edwin Smith Surgical Papyrus. *Childs Nerv Syst* 1999; **15**: 281-284.
- Féléto M, Huang Y, Vanhoutte PM. Endothelium-mediated control of vascular tone: COX-1 and COX-2 products. *Br J Pharmacol* 2011; **164**: 894-912.
- Ferguson PL, Smith GM, Wannamaker BB, Thurman DJ, Pickelsimer EE, Selassie AW. A population-based study of risk of epilepsy after hospitalization for traumatic brain injury. *Epilepsia* 2010; **51**: 891-898.
- Fitzpatrick FA, Wynalda MA. Albumin-catalyzed metabolism of prostaglandin D₂. Identification of products formed in vitro. *J Biol Chem* 1983; **258**: 11713-11718.

- Flierl MA, Stahel PF, Beauchamp KM, Morgan SJ, Smith WR, Shohami E. Mouse closed head injury model induced by a weight-drop device. *Nat Protoc* 2009; **4**: 1328-1337.
- Fortin A, Lefebvre MB, Ptito M. Traumatic brain injury and olfactory deficits: the tale of two smell tests! *Brain Inj* 2010; **24**: 27-33.
- Garavito RM, Malkowski MG, DeWitt DL. The structures of prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2002; **68-69**: 129-152.
- Gean AD, Fischbein NJ. Head trauma. *Neuroimaging Clin N Am* 2010; **20**: 527-556.
- Geeraerts T, Menon DK. [Does intracranial pressure monitoring improve outcome after severe traumatic brain injury?]. *Ann Fr Anesth Reanim* 2010; **29**: e171-e175.
- Gilroy DW, Colville-Nash PR. New insights into the role of COX 2 in inflammation. *J Mol Med (Berl)* 2000; **78**: 121-129.
- Giraudel JM, Diquelou A, Laroute V, Lees P, Toutain PL. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling of NSAIDs in a model of reversible inflammation in the cat. *Br J Pharmacol* 2005; **146**: 642-653.
- Goncalves MB, Williams EJ, Yip P, Yáñez-Muñoz RJ, Williams G, Doherty P. The COX-2 inhibitors, meloxicam and nimesulide, suppress neurogenesis in the adult mouse brain. *Br J Pharmacol* 2010; **159**: 1118-1125.
- Gopez JJ, Yue H, Vasudevan R, Malik AS, Fogelsanger LN, Lewis S, Panikashvili D, Shohami E, Jansen SA, Narayan RK, Strauss KI. Cyclooxygenase-2-specific inhibitor improves functional outcomes, provides neuroprotection, and reduces inflammation in a rat model of traumatic brain injury. *Neurosurgery* 2005; **56**: 590-604.
- Guay J, Bateman K, Gordon R, Mancini J, Riendeau D. Carrageenan-induced paw edema in rat elicits a predominant prostaglandin E₂ (PGE₂) response in the central nervous system associated with the induction of microsomal PGE₂ synthase-1. *J Biol Chem* 2004; **279**: 24866-24872.
- Guix FX, Uribealago I, Coma M, Muñoz FJ. The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain. *Prog Neurobiol* 2005; **76**: 126-152.
- Haeggström JZ, Funk CD. Lipoxygenase and leukotriene pathways: biochemistry, biology, and roles in disease. *Chem Rev* 2011; **111**: 5866-5898.
- Hakan T, Toklu HZ, Biber N, Ozevren H, Solakoglu S, Demirturk P, Aker FV. Effect of COX-2 inhibitor meloxicam against traumatic brain injury-induced biochemical, histopathological changes and blood-brain barrier permeability. *Neurol Res* 2010; **32**: 629-635.
- Hall ED, Vaishnav RA, Mustafa AG. Antioxidant therapies for traumatic brain injury. *Neurotherapeutics* 2010; **7**: 51-61.

- Hall ED, Sullivan PG, Gibson TR, Pavel KM, Thompson BM, Scheff SW. Spatial and temporal characteristics of neurodegeneration after controlled cortical impact in mice: more than a focal brain injury. *J Neurotrauma* 2005; **22**: 252-265.
- Hamberg M. Inhibition of prostaglandin synthesis in man. *Biochem Biophys Res Commun* 1972; **49**: 720-726.
- Hamberg M, Fredholm BB. Isomerization of prostaglandin H₂ into prostaglandin D₂ in the presence of serum albumin. *Biochim Biophys Acta* 1976; **431**: 189-193.
- Hara S, Kamei D, Sasaki Y, Tanemoto A, Nakatani Y, Murakami M. Prostaglandin E synthases: Understanding their pathophysiological roles through mouse genetic models. *Biochimie* 2010; **92**: 651-659.
- Hassan NA, Kelany RS, Emara AM, Amer M. Pattern of craniofacial injuries in patients admitted to Tanta University Hospital--Egypt. *J Forensic Leg Med* 2010; **17**: 26-32.
- Hawkey CJ. COX-2 inhibitors. *Lancet* 1999; **353**: 307-314.
- Hein AM, O'Banion MK. Neuroinflammation and memory: the role of prostaglandins. *Mol Neurobiol* 2009; **40**: 15-32.
- Hellal F, Bonnefont-Rousselot D, Croci N, Palmier B, Plotkine M, Marchand-Verrecchia C. Pattern of cerebral edema and hemorrhage in a mice model of diffuse brain injury. *Neurosci Lett* 2004; **357**: 21-24.
- Hellal F, Pruneau D, Palmier B, Faye P, Croci N, Plotkine M, Marchand-Verrecchia C. Detrimental role of bradykinin B₂ receptor in a murine model of diffuse brain injury. *J Neurotrauma* 2003; **20**: 841-851.
- Helleberg L. Clinical Pharmacokinetics of indomethacin. *Clin Pharmacokinet* 1981; **6**: 245-258.
- Helliwell RJ, Adams LF, Mitchell MD. Prostaglandin synthases: recent developments and a novel hypothesis. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2004; **70**: 101-113.
- Héту PO, Riendeau D. Cyclo-oxygenase-2 contributes to constitutive prostanoid production in rat kidney and brain. *Biochem J* 2005; **391**: 561-566.
- Hickey RW, Adelson PD, Johnnides MJ, Davis DS, Yu Z, Rose ME, Chang YF, Graham SH. Cyclooxygenase-2 activity following traumatic brain injury in the developing rat. *Pediatr Res* 2007; **62**: 271-276.
- Higgs GA, Salmon JA, Henderson B, Vane JR. Pharmacokinetics of aspirin and salicylate in relation to inhibition of arachidonate cyclooxygenase and antiinflammatory activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; **84**: 1417-1420.
- Hinz B, Brune K. Cyclooxygenase-2—10 years later. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; **300**: 367-375.

- Homsy S, Piaggio T, Croci N, Noble F, Plotkine M, Marchand-Leroux C, Jafarian-Tehrani M. Blockade of acute microglial activation by minocycline promotes neuroprotection and reduces locomotor hyperactivity after closed head injury in mice: a twelve-week follow-up study. *J Neurotrauma* 2010; **27**: 911-921.
- Homsy S, Federico F, Croci N, Palmier B, Plotkine M, Marchand-Leroux C, Jafarian-Tehrani M. Minocycline effects on cerebral edema: relations with inflammatory and oxidative stress markers following traumatic brain injury in mice. *Brain Res* 2009; **1291**: 122-132.
- Hoy SM, Scott LJ. Indomethacin/prochlorperazine/caffeine: a review of its use in the acute treatment of migraine and in the treatment of episodic tension-type headache. *CNS Drugs* 2011; **25**: 343-358.
- Huang SJ, Ho HL, Yang CC. Longitudinal outcomes of patients with traumatic brain injury: a preliminary study. *Brain Inj* 2010; **24**: 1606-1615.
- Hurley SD, Olschowka JA, O'Banion MK. Cyclooxygenase inhibition as a strategy to ameliorate brain injury. *J Neurotrauma* 2002; **19**: 1-15.
- Irwin S, Slabok M, Debiase PL, Govier WM. Perphenazine (trilafon), a new potent tranquilizer and antiemetic. I. Behavioral mode of action. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1959; **118**: 358-374.
- Jain KK. Neuroprotection in traumatic brain injury. *Drug Discov Today* 2008; **13**: 1082-1089.
- Kelso ML, Scheff SW, Pauly JR, Loftin CD. Effects of genetic deficiency of cyclooxygenase-1 or cyclooxygenase-2 on functional and histological outcomes following traumatic brain injury in mice. *BMC Neurosci* 2009; **10**: 108.
- Kim HJ, Levasseur JE, Patterson JL Jr, Jackson GF, Madge GE, Povlishock JT, Kontos HA. Effect of indomethacin pretreatment on acute mortality in experimental brain injury. *J Neurosurg* 1989; **71**: 565-572.
- Kis B, Snipes A, Bari F, Busija DW. Regional distribution of cyclooxygenase-3 mRNA in the rat central nervous system. *Brain Res Mol Brain Res* 2004; **126**: 78-80.
- Koyfman L, Kaplanski J, Artru AA, Talmor D, Rubin M, Shapira Y. Inhibition of cyclooxygenase 2 by nimesulide decreases prostaglandin E₂ formation but does not alter brain edema or clinical recovery after closed head injury in rats. *J Neurosurg Anesthesiol* 2000; **12**: 44-50.
- Kshetry VR, Mindea SA, Batjer HH. The management of cranial injuries in antiquity and beyond. *Neurosurg Focus* 2007; **23**: E8.
- Kunz T, Marklund N, Hillered L, Oliw EH. Effects of the selective cyclooxygenase-2 inhibitor rofecoxib on cell death following traumatic brain injury in the rat. *Restor Neurol Neurosci* 2006; **24**: 55-63.

- Kunz T, Marklund N, Hillered L, Oliw EH. Cyclooxygenase-2, prostaglandin synthases, and prostaglandin H2 metabolism in traumatic brain injury in the rat. *J Neurotrauma* 2002; **19**: 1051-1064.
- Kurumbail RG, Kiefer JR, Marnett LJ. Cyclooxygenase enzymes: catalysis and inhibition. *Curr Opin Struct Biol* 2001; **11**: 752-760.
- Læmmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; **227**: 680-685.
- LaPlaca MC, Simon CM, Prado GR, Cullen DK. CNS injury biomechanics and experimental models. *Prog Brain Res* 2007; **161**: 13-26.
- Lehmann JM, Lenhard JM, Oliver BB, Ringold GM, Kliewer SA. Peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma are activated by indomethacin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Biol Chem* 1997; **272**: 3406-3410.
- Lescot T, Reina V, Le Manach Y, Boroli F, Chauvet D, Boch AL, Puybasset L. In vivo accuracy of two intraparenchymal intracranial pressure monitors. *Intensive Care Med* 2011; **37**: 875-879.
- Lescot T, Abdenmour L, Degos V, Boch AL, Puybasset L. Réanimation des patients traumatisés crâniens graves [Management of severe traumatic brain injury]. *Presse Med* 2007; **36**: 1117-1126.
- Lewén A, Matz P, Chan PH. Free radical pathways in CNS injury. *J Neurotrauma* 2000; **17**: 871-890.
- Li W, Wu S, Ahmad M, Jiang J, Liu H, Nagayama T, Rose ME, Tyurin VA, Tyurina YY, Borisenko GG, Belikova N, Chen J, Kagan VE, Graham SH. The cyclooxygenase site, but not the peroxidase site of cyclooxygenase-2 is required for neurotoxicity in hypoxic and ischemic injury. *J Neurochem* 2010; **113**: 965-977.
- Louin G, Marchand-Verrecchia C, Palmier B, Plotkine M, Jafarian-Tehrani M. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces neurological deficit but not cerebral edema following traumatic brain injury. *Neuropharmacology* 2006; **50**: 182-190.
- Lu J, Goh SJ, Tng PY, Deng YY, Ling EA, Moochhala S. Systemic inflammatory response following acute traumatic brain injury. *Front Biosci* 2009; **14**: 3795-3813.
- Luh C, Gierth K, Timaru-Kast R, Engelhard K, Werner C, Thal SC. Influence of a brief episode of anesthesia during the induction of experimental brain trauma on secondary brain damage and inflammation. *PLoS One* 2011; **6**: e19948.
- Malaplate-Armand C, Leininger-Muller B, Batt AM. [Astrocytic cytochromes p450: an enzyme subfamily critical for brain metabolism and neuroprotection]. *Rev Neurol (Paris)* 2004; **160**: 651-658.

- Maas AI, Roozenbeek B, Manley GT. Clinical trials in traumatic brain injury: past experience and current developments. *Neurotherapeutics* 2010; **7**: 115-126.
- Masel BE, DeWitt DS. Traumatic brain injury: a disease process, not an event. *J Neurotrauma* 2010; **27**: 1529-1540.
- Mésenge C, Verrecchia C, Charriaut-Marlangue C, Margail I, Boulu RG, Plotkine M. Contribution of NO/ONOO-pathway to the deleterious effect of traumatic brain injury in mice. *Drug Discov Today* 2000; **5**: 432-433.
- Mésenge C, Margail I, Verrecchia C, Allix M, Boulu RG, Plotkine M. Protective effect of melatonin in a model of traumatic brain injury in mice. *J Pineal Res* 1998a; **25**: 41-46.
- Mésenge C, Charriaut-Marlangue C, Verrecchia C, Allix M, Boulu RR, Plotkine M. Reduction of tyrosine nitration after N(omega)-nitro-L-arginine-methylester treatment of mice with traumatic brain injury. *Eur J Pharmacol* 1998b; **353**: 53-57.
- Mésenge C, Verrecchia C, Allix M, Boulu RR, Plotkine M. Reduction of the neurological deficit in mice with traumatic brain injury by nitric oxide synthase inhibitors. *J Neurotrauma* 1996; **13**: 209-214.
- Meythaler JM, Peduzzi JD, Eleftheriou E, Novack TA. Current concepts: diffuse axonal injury-associated traumatic brain injury. *Arch Phys Med Rehabil* 2001; **82**: 1461-1471.
- Milatovic D, Montine TJ, Aschner M. Prostanoid signaling: dual role for prostaglandin E₂ in neurotoxicity. *Neurotoxicology* 2011; **32**: 312-319.
- Moncada S, Vane JR. Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A₂, and prostacyclin. *Pharmacol Rev* 1978; **30**: 293-331.
- Morganti-Kossmann MC, Yan E, Bye N. Animal models of traumatic brain injury: is there an optimal model to reproduce human brain injury in the laboratory? *Injury* 2010; **41**: S10-S13.
- Morganti-Kossmann MC, Satgunaseelan L, Bye N, Kossmann T. Modulation of immune response by head injury. *Injury* 2007; **38**: 1392-1400.
- Morrison B 3rd, Saatman KE, Meaney DF, McIntosh TK. In vitro central nervous system models of mechanically induced trauma: a review. *J Neurotrauma* 1998; **15**: 911-928.
- Murakami M, Kudo I. Phospholipase A₂. *J Biochem* 2002; **131**: 285-292.
- Murakami M, Naraba H, Tanioka T, Semmyo N, Nakatani Y, Kojima F, Ikeda T, Fueki M, Ueno A, Oh S, Kudo I. Regulation of prostaglandin E₂ biosynthesis by inducible membrane-associated prostaglandin E₂ synthase that acts in concert with cyclooxygenase-2. *J Biol Chem* 2000; **275**: 32783-32792.

- Nomura DK, Morrison BE, Blankman JL, Long JZ, Kinsey SG, Marcondes MC, Ward AM, Hahn YK, Lichtman AH, Conti B, Cravatt BF. Endocannabinoid hydrolysis generates brain prostaglandins that promote neuroinflammation. *Science* 2011; **334**: 809-813.
- Onyszchuk G, Al-Hafez B, He YY, Bilgen M, Berman NE, Brooks WM. A mouse model of sensorimotor controlled cortical impact: characterization using longitudinal magnetic resonance imaging, behavioral assessments and histology. *J Neurosci Methods* 2007; **160**: 187-196.
- Park E, Bell JD, Baker AJ. Traumatic brain injury: can the consequences be stopped? *CMAJ* 2008; **178**: 1163-1170.
- Phillis JW, Horrocks LA, Farooqui AA. Cyclooxygenases, lipoxygenases, and epoxygenases in CNS: their role and involvement in neurological disorders. *Brain Res Rev* 2006; **52**: 201-243.
- Povlishock JT, Hayes RL, Michel ME, McIntosh TK. Workshop on animal models of traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 1994; **11**: 723-732.
- Quraishi O, Mancini JA, Riendeau D. Inhibition of inducible prostaglandin E₂ synthase by 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂ and polyunsaturated fatty acids. *Biochem Pharmacol* 2002; **63**: 1183-1189.
- Rainsford KD. Current status of the therapeutic uses and actions of the preferential cyclo-oxygenase-2 NSAID, nimesulide. *Inflammopharmacology* 2006; **14**: 120-137.
- Rangel-Castilla L, Gopinath S, Robertson CS. Management of intracranial hypertension. *Neurol Clin* 2008; **26**: 521-541.
- Rao P, Knaus EE. Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond. *J Pharm Pharm Sci* 2008; **11**: 81s-110s.
- Raz A, Wyche A, Siegel N, Needleman P. Regulation of fibroblast cyclooxygenase synthesis by interleukin-1. *J Biol Chem* 1988; **263**: 3022-3028.
- Reilly P. The impact of neurotrauma on society: an international perspective. *Prog Brain Res* 2007; **161**: 3-9.
- Reiter ER, DiNardo LJ, Costanzo RM. Effects of head injury on olfaction and taste. *Otolaryngol Clin North Am* 2004; **37**: 1167-1184.
- Rochat L, Beni C, Billieux J, Azouvi P, Annoni JM, Van der Linden M. Assessment of impulsivity after moderate to severe traumatic brain injury. *Neuropsychol Rehabil* 2010; **20**: 778-797.
- Rochat L, Delbeuck X, Billieux J, d'Acremont M, Van der Linden AC, Van der Linden M. Assessing impulsivity changes in Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2008; **22**: 278-283.

- Rogers JM, Read CA. Psychiatric comorbidity following traumatic brain injury. *Brain Inj* 2007; **21**: 1321-1333.
- Roth P, Farls K. Pathophysiology of traumatic brain injury. *Crit Care Nurs Q* 2000; **23**: 14-25.
- Sapirstein A, Saito H, Texel SJ, Samad TA, O'Leary E, Bonventre JV. Cytosolic phospholipase A₂alpha regulates induction of brain cyclooxygenase-2 in a mouse model of inflammation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; **288**: R1774-R1782.
- Schmidt OI, Heyde CE, Ertel W, Stahel PF. Closed head injury--an inflammatory disease? *Brain Res Brain Res Rev* 2005; **48**: 388-399.
- Schwab JM, Beiter T, Linder JU, Laufer S, Schulz JE, Meyermann R, Schluesener HJ. COX-3—a virtual pain target in humans? *FASEB J* 2003a; **17**: 2174-2175.
- Schwab JM, Schluesener HJ, Laufer S. COX-3: just another COX or the solitary elusive target of paracetamol? *Lancet* 2003b; **361**: 981-982.
- Schwab JM, Beschorner R, Meyermann R, Gözalan F, Schluesener HJ. Persistent accumulation of cyclooxygenase-1-expressing microglial cells and macrophages and transient upregulation by endothelium in human brain injury. *J Neurosurg* 2002; **96**: 892-899.
- Sehgal N, Agarwal V, Valli RK, Joshi SD, Antonovic L, Strobel HW, Ravindranath V. Cytochrome P4504f, a potential therapeutic target limiting neuroinflammation. *Biochem Pharmacol* 2011; **82**: 53-64.
- Sekar KC, Corff KE. Treatment of patent ductus arteriosus: indomethacin or ibuprofen? *J Perinatol* 2008; **28**: S60-S62.
- Shaftel SS, Olschowka JA, Hurley SD, Moore AH, O'Banion MK. COX-3: a splice variant of cyclooxygenase-1 in mouse neural tissue and cells. *Brain Res Mol Brain Res* 2003; **119**: 213-215.
- Shrestha Palikhe N, Kim SH, Jin HJ, Hwang EK, Nam YH, Park HS. Genetic mechanisms in aspirin-exacerbated respiratory disease. *J Allergy (Cairo)* 2012; **2012**: 794890.
- Silver JM, McAllister TW, Arciniegas DB. Depression and cognitive complaints following mild traumatic brain injury. *Am J Psychiatry* 2009; **166**: 653-661.
- Simmons DL. Variants of cyclooxygenase-1 and their roles in medicine. *Thromb Res* 2003; **110**: 265-268.
- Siopi E, Calabria S, Plotkine M, Marchand-Leroux C, Jafarian-Tehrani M. Minocycline restores olfactory bulb volume and olfactory behavior after traumatic brain injury in mice. *J Neurotrauma* 2012a; **29**: 354-361.

- Siopi E, Llufríu-Dabén G, Fanucchi F, Plotkine M, Marchand-Leroux C, Jafarian-Tehrani M. Evaluation of late cognitive impairment and anxiety states following traumatic brain injury in mice: The effect of minocycline. *Neurosci Lett* 2012b; **511**: 110-115.
- Siopi E, Cho AH, Homsí S, Croci N, Plotkine M, Marchand-Leroux C, Jafarian-Tehrani M. Minocycline restores sAPP α levels and reduces the late histopathological consequences of traumatic brain injury in mice. *J Neurotrauma* 2011; **28**: 2135-2143.
- Spaethling JM, Geddes-Klein DM, Miller WJ, von Reyn CR, Singh P, Mesfin M, Bernstein SJ, Meaney DF. Linking impact to cellular and molecular sequelae of CNS injury: modeling *in vivo* complexity with *in vitro* simplicity. *Prog Brain Res* 2007; **161**: 27-39.
- Spector AA. Arachidonic acid cytochrome P450 epoxygenase pathway. *J Lipid Res* 2009; **50 Suppl**: S52- S56.
- Statler KD, Alexander H, Vagni V, Holubkov R, Dixon CE, Clark RS, Jenkins L, Kochanek PM. Isoflurane exerts neuroprotective actions at or near the time of severe traumatic brain injury. *Brain Res* 2006; **1076**: 216-224.
- Stiefel M, Shaner A, Schaefer SD. The Edwin Smith Papyrus: the birth of analytical thinking in medicine and otolaryngology. *Laryngoscope* 2006; **116**: 182-188.
- Stocchetti N, Colombo A, Ortolano F, Videtta W, Marchesi R, Longhi L, Zanier ER. Time course of intracranial hypertension after traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2007; **24**: 1339-1346.
- Strauss KI. COX2 inhibitors for acquired brain injuries: is the time ripe? *Crit Care Med* 2010; **38**: 723-724.
- Strauss KI. Antiinflammatory and neuroprotective actions of COX2 inhibitors in the injured brain. *Brain Behav Immun* 2008; **22**: 285-298.
- Strauss KI, Barbe MF, Marshall RM, Raghupathi R, Mehta S, Narayan RK. Prolonged cyclooxygenase-2 induction in neurons and glia following traumatic brain injury in the rat. *J Neurotrauma* 2000; **17**: 695-711.
- Süleyman H, Demircan B, Karagöz Y. Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors. *Pharmacol Rep* 2007; **59**: 247-258.
- Surh YJ, Na HK, Park JM, Lee HN, Kim W, Yoon IS, Kim DD. 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂, an electrophilic lipid mediator of anti-inflammatory and pro-resolving signaling. *Biochem Pharmacol* 2011; **82**: 1335-1351.
- Tagliaferri F, Compagnone C, Korsic M, Servadei F, Kraus J. A systematic review of brain injury epidemiology in Europe. *Acta Neurochir (Wien)* 2006; **148**: 255-268.

- Tanioka T, Nakatani Y, Semmyo N, Murakami M, Kudo I. Molecular identification of cytosolic prostaglandin E2 synthase that is functionally coupled with cyclooxygenase-1 in immediate prostaglandin E2 biosynthesis. *J Biol Chem* 2000; **275**: 32775-32782.
- Teasdale G, Jennett B. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. *Lancet* 1974; **2**: 81-84.
- Tegeder I, Pfeilschifter J, Geisslinger G. Cyclooxygenase-independent actions of cyclooxygenase inhibitors. *FASEB J* 2001; **15**: 2057-2072.
- Terpolilli NA, Zweckberger K, Trabold R, Schilling L, Schinzel R, Tegtmeier F, Plesnila N. The novel nitric oxide synthase inhibitor 4-amino-tetrahydro-L-biopterine prevents brain edema formation and intracranial hypertension following traumatic brain injury in mice. *J Neurotrauma* 2009; **26**: 1963-1975.
- Thau-Zuchman O, Shohami E, Alexandrovich AG, Trembovler V, Leker RR. The anti-inflammatory drug carprofen improves long-term outcome and induces gliogenesis after traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2012; **29**: 375-384.
- Tomaiuolo F, Bivona U, Lerch JP, Di Paola M, Carlesimo GA, Ciurli P, Matteis M, Cecchetti L, Forcina A, Silvestro D, Azicnuda E, Sabatini U, Di Giacomo D, Caltagirone C, Petrides M, Formisano R. Memory and anatomical change in severe non missile traumatic brain injury: ~1 vs. ~8years follow-up. *Brain Res Bull* 2012; **87**: 373-382.
- Unterberg AW, Stover J, Kress B, Kiening KL. Edema and brain trauma. *Neuroscience* 2004; **129**: 1021-1029.
- Vane JR, Botting RM. The mechanism of action of aspirin. *Thromb Res* 2003; **110**: 255-258.
- Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1998; **38**: 97-120.
- Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol* 1971; **231**: 232-235.
- Vanegas H, Schaible HG. Prostaglandins and cyclooxygenases [correction of cyclooxygenases] in the spinal cord. *Prog Neurobiol* 2001; **64**: 327-363.
- Vink R, Nimmo AJ. Multifunctional drugs for head injury. *Neurotherapeutics* 2009; **6**: 28-42.
- Walker MC, Kurumbail RG, Kiefer JR, Moreland KT, Koboldt CM, Isakson PC, Seibert K, Gierse JK. A three-step kinetic mechanism for selective inhibition of cyclo-oxygenase-2 by diarylheterocyclic inhibitors. *Biochem J* 2001; **357**: 709-718.
- Wang HC, Ma YB. Experimental models of traumatic axonal injury. *J Clin Neurosci* 2010; **17**: 157-162.

- Wang Y, Dawson VL, Dawson TM. Poly(ADP-ribose) signals to mitochondrial AIF: a key event in parthanatos. *Exp Neurol* 2009; **218**: 193-202.
- Wang Y, Zhao J, Kalsotra A, Turman CM, Grill RJ, Dash PK, Strobel HW. CYP4Fs expression in rat brain correlates with changes in LTB₄ levels after traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2008; **25**: 1187-1194.
- Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenase-3 (COX-3): filling in the gaps toward a COX continuum? *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; **99**: 13371-13373.
- Warner TD, Giuliano F, Vojnovic I, Bukasa A, Mitchell JA, Vane JR. Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: a full in vitro analysis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; **96**: 7563-7568.
- Werner C, Engelhard K. Pathophysiology of traumatic brain injury. *Br J Anaesth* 2007; **99**: 4-9.
- Willoughby DA, Moore AR, Colville-Nash PR. COX-1, COX-2, and COX-3 and the future treatment of chronic inflammatory disease. *Lancet* 2000; **355**: 646-648.
- Wilde EA, McCauley SR, Kelly TM, Levin HS, Pedroza C, Clifton GL, Robertson CS, Valadka AB, Moretti P. Feasibility of the Neurological Outcome Scale for Traumatic Brain Injury (NOS-TBI) in adults. *J Neurotrauma* 2010; **27**: 975-981.
- Wilson JT, Pettigrew LE, Teasdale GM. Structured interviews for the Glasgow Outcome Scale and the extended Glasgow Outcome Scale: guidelines for their use. *J Neurotrauma* 1998; **15**: 573-585.
- Wu KK. Aspirin and salicylate: An old remedy with a new twist. *Circulation* 2000; **102**: 2022-2023.
- Xie WL, Chipman JG, Robertson DL, Erikson RL, Simmons DL. Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; **88**: 2692-2696.
- Xu XM, Sansores-Garcia L, Chen XM, Matijevic-Aleksic N, Du M, Wu KK. Suppression of inducible cyclooxygenase 2 gene transcription by aspirin and sodium salicylate. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; **96**: 5292-5297.
- Xu Y, Phipps S, Turner MJ, Simmons DL. The N-terminus of COX-1 and its effect on cyclooxygenase-1 catalytic activity. *J Genet Genomics* 2010; **37**: 117-123.
- Yin MJ, Yamamoto Y, Gaynor RB. The anti-inflammatory agents aspirin and salicylate inhibit the activity of I(kappa)B kinase-beta. *Nature* 1998; **396**: 77-80.
- Yurdakoc A, Gunday I, Memiş D. Effects of halothane, isoflurane, and sevoflurane on lipid peroxidation following experimental closed head trauma in rats. *Acta Anaesthesiol Scand* 2008; **52**: 658-663.

Zhang W, Koerner IP, Noppens R, Grafe M, Tsai HJ, Morisseau C, Luria A, Hammock BD, Falck JR, Alkayed NJ. Soluble epoxide hydrolase: a novel therapeutic target in stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 2007; **27**: 1931-1940.

Zhang WP, Hu H, Zhang L, Ding W, Yao HT, Chen KD, Sheng WW, Chen Z, Wei EQ. Expression of cysteinyl leukotriene receptor 1 in human traumatic brain injury and brain tumors. *Neurosci Lett* 2004; **363**: 247-251.