

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 2002 - Thèse n° 11

LES TROUBLES DE LA REPERFUSION. PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES : LES LAZAROÏDES.

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 11 Janvier 2002

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

MARCEL Jérôme

Né le 8 Janvier 1973

à Orange (84)



DEPARTEMENTS ET CORPS ENSEIGNANT DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Directeur : Professeur J.-F. CHARY

Le 15 Septembre 2001

DEPARTEMENT	PREK	PR1	PR2	MC	Contractés, associés & IPAC	AERC	Chargés de cours et d'enseignements
DEPART. SANTE PUBLIQUE VETERINAIRE Microbiologie, Immunologie, Pathologie G.O.		Y. RICHARD		A. KODJO D. GREZEL V. GUEBLIN J. VIALARD	M. ARTOIS PR associé		
Pathologie infectieuse		M. TRAVE	A. LACHEBERTZ	MP CALLAIT L. ZENNER C. VERNOZY A. GOENTHER			
Parasitologie & Maladies parasitaires		C. CHAUVB	G. BOURDOISEAU				
Qualité et Sécurité des Aliments		G. CHANTREUILLET	P. DEMONT				
Législation & Jurisprudence			A. LACHEBERTZ				
DEPART DES ANIMAUX DE COMPAGNIE							
Anatomie		B. CHATELAIN	T. ROGER	M.A. BERTHELET S. SAWAYA E. TRONCY D. REBY	G. CHANOIT MC	C. CAROZZO	N. DISS M. JUNOT R. FARLAUT C. DECOSSIS JUNOT
Chirurgie et Anesthésiologie		J.P. GENEVOIS	D. PAU				
Anatomie-pathologique/Dermatologie-Cancérologie		J.P. MAGNOL	J.L. CADORE	T. MARCHAL	D. WATERLOT-VIREUX MC M.F. PERROIN-LEPAGE ... MC		
Médecines internes		J.P. COTARD		L. CHEBANNE	I. BURLOT MC A. JONGH-ARAGON MC	P. PONCE C. ESCUDOU	M. HUGONNARD
Emergences médicales		C. FOURNEL		P. BARTHEZ			
DEPART. DES PRODUCTIONS ANIMALES							
Zoonoses, Pathologie & Économie rurale		M. FRANCK		D. GRANCHER L. ALVES de OLIVEIRA G. EGON P. GUERIN S. MARTINOT R. FRUKHA M.A. ARCAANGIOLI D. LE GRAND	A. DERNBURG MC contractuel L. MOUNIER MC contractuel		S. BUFF N. GRAUD
Nutrition et Alimentation		J.P. DESCHANEL F. BADINAND P. BEZELLE	M. BACHAUL-BRETTIN T. ALOGRINOUWA		D. LAURENT MC associé		
Diét & Patho de la Reproduction							
Patho Animaux de Production							
DEPART. SCIENCES BIOLOGIQUES							
Physiologie /Anatomiques		R. BOVIN		J.J. THIEBAULT J.M. BONNET-GARIN T. BURONFOSSE V. LAMBERT P. BERRY			
Biophysique /Biochimie		P. GARNIER	E. BENOIT F. GRAIN P. JAUSSAUD G. KECK	P. SABATIER M.L. DELIGNETTE K. CHEAL-VET-MONFRAY	C. FARMER A. FAVIER		
Chimie et Biologie moléculaire	P. DELATOUR						
Pharmacologie / Toxicologie / Législation de Médicaments	G. LONGUR						
Bio-Médicamentiques							
Langues							
DEPART. MICROBES							
Pathologie Appliquée		O. LEPAGE	J.L. CADORE C. FLEURY	A. LEBLOND	A. BENAMOU-SMITH MC E. CAUVIN		
Chimie Appliquée							
Expertises microbiologiques							

REMERCIEMENTS

**A Monsieur le Professeur NEIDHARDT
de la faculté de Médecine Claude Bernard de Lyon,**

**Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.
Hommages respectueux.**

**A Monsieur le Professeur FAU
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,**

**Qui a eu la gentillesse d'accepter la direction de notre thèse.
Qu'il trouve ici le témoignage de notre profonde gratitude.**

**A Monsieur le Professeur GARNIER
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,**

**Qui nous fait l'honneur de juger notre thèse.
Sincères remerciements.**

En témoignage de mon amour.

A Audrey,

Pour le soutien moral qu'ils m'ont apporté.

A mes parents,

Pour leur affection sans limite.

A ma famille et à ma belle-famille,

Pour les années passées ensemble et celles avenir.

A mes amis,

A tous ceux, qui à quatre pattes ou deux pieds, ont suscité ma vocation.

**Les Troubles de la reperfusion.
Perspectives thérapeutiques: Les Lazaroides.**

Introduction

Première partie:

Les lésions de reperfusion et les radicaux libres oxygénés.

I. Etude descriptive des lésions de reperfusion.

I.1 : Définition.

I.1-1 : Ischémie.

I.1-2 : Reperfusion.

I.2 : Description des lésions de reperfusion.

I.2-1 : Aspect macroscopique.

I.2-2 : Etude histologique.

I.3 : Hypothèses.

II.3.1 : Théorie des échanges à contre-courant.

II.3.2 : Théorie des radicaux libres oxygénés.

II. Formation des radicaux libres oxygénés responsables des lésions de reperfusion.

II.1 : Les radicaux libres.

II.1-1 : Définitions, nature et propriétés.

II.1-2 : Les radicaux libres oxygénés.

II.2 : Biosynthèse des radicaux libres oxygénés.

II.2-1 : Le système de la xanthine oxydase.

II.2-1-1 : Hypoxie et conversion de la xanthine oxydase.

II.2-1-2 : Localisation et distribution de la xanthine oxydase.

II.2-2 : Autres oxydases.

II.2-2-1 : La cyclooxygénase.

II.2-2-2 : Oxydation des catécholamines.

II.2-2-3 : Déshydrogénases.

II.3 : Participation des neutrophiles aux troubles de la reperfusion.

II.3-1 : Migration leucocytaire au sein du tissu ischémié.

II.3-2 : Rôle des neutrophiles dans les lésions de reperfusion.

II.4 : Transformation en radicaux hydroxyles plus toxiques.

II.4-1 : Par l'action des ions métalliques.

II.4-2 : Par les quinones.

Deuxième partie:

Pathogénie des troubles de la reperfusion et applications cliniques potentielles.

I. Pathogénie.

I.1 : La peroxydation des lipides.

I.1.1 : Mécanisme biochimique.

I.1.2 : Conséquences physiopathologiques de la peroxydation des lipides membranaires.

I.2 : Modifications ioniques.

I.2.1 : Perturbations calciques.

I.2.2 : Conséquences de la surcharge en calcium.

I.3 : L'acidose intracellulaire.

I.4 : Les lésions vasculaires.

I.4.1 : Augmentation de la perméabilité vasculaire.

I.4.2 : Phénomène de non-reflux.

I.5 : Reperfusion et répercussions systémiques.

I.5.1 : Etat de choc.

I.5.2 : Répercussions cardiaques.

I.5.3 : Œdème pulmonaire.

II. Applications.

II.1 : Transplantation d'organes et de tissus

II.2 : Etat de choc.

II.3 : Traumatismes neurologiques.

II.4 : Toutes les situations d'étranglement ou de volvulus du tractus intestinal.

Troisième partie:

Moyens de protection de l'organisme et possibilités thérapeutiques.

I. Défenses endogènes.

I.1 : La superoxyde dismutase.

I.2 : Cas du radical hydroxyle.

I.3 : Lutte contre la peroxydation lipidique.

II. Possibilités thérapeutiques.

II.1 : Inhibition de la formation de superoxyde.

II.1-1 : Inhibition de la xanthine oxydase.

II.1-1-1 : Allopurinol et oxypurinol.

II.1-1-2 : Inhibiteurs des protéases.

II.1-2 : Destruction du superoxyde par la SOD.

II.1-3 : Inhibiteurs calciques.

II.2 : Inhibition de la formation de peroxyde d'hydrogène.

II.3 : Inhibition de la formation des radicaux hydroxyles.

II.3-1 : Chélateurs du fer.

II.3-2 : Diméthyl sulfoxyde.

II.3-3 : Les agents osmotiques.

II.3-4 : Le coma barbiturique.

II.4 : Antagonistes des radicaux libres non spécifiques.

II.5 : Anti-inflammatoires non stéroïdiens.

II.6 : Les anti-inflammatoires stéroïdiens : les corticoïdes.

II.7 : Les gangliosides.

II.8 : Le naloxone.

II.9 : Action sur les conditions de reperfusion: La reperfusion contrôlée.

II.9-1 : Théories utilisant l'oxygène.

II.9-1-1 : Théorie visant à diminuer ou différer la réintroduction de l'oxygène.

II.9-1-2 : Théorie de l'hyperventilation et de l'oxygène hyperbare.

II.9-2 : Diminution de la température de l'organe ischémié.

II.9-3 : Modification de la composition ionique des perfusats.

Quatrième partie :

Les Lazaroïdes ou 21 aminostéroïdes.

I. Biochimie.

I.1 : Nom chimique.

I.2 : Numéro de laboratoire.

I.3 : Nom générique.

I.4 : Nom déposé.

I.5 : Structure.

I.6 : Formule.

I.7 : Poids moléculaire.

I.8 : Propriétés physiques.

I.9 : Présentation.

I.10 : Voie d'administration.

II. Pharmacologie :

II.1: Formulation.

II.2 : Compatibilité de la solution.

II.3 : Précautions d'emploi.

III. Pharmacodynamie et pharmacocinétique.

III.1 : Absorption.

III.2 : Distribution.

III.3 : Biotransformation.

III.4 : Excrétion.

III.5 : Liaisons aux protéines.

III: Toxicologie.

III.1 : Etudes de toxicité aiguë.

III.2 : Etudes de toxicité chronique.

III.2.1 : Chez le rat.

III.2.2 : Chez le chien.

III.2.3 : Chez le singe.

III.3 : Etudes des organes cibles.

III.3.1 : Effets cardiovasculaires.

III.3.2 : Effets sur le muscle squelettique et cardiaque .

III.3.3 : Effets hépatiques et sur le métabolisme lipidique.

III.3.4 : Effets sur les tissus lymphoïdes.

III.4 : Etudes de toxicité sur les fonctions de reproduction.

III.4.1 : Effets toxicologiques sur le développement et la reproduction.

III.4.2 : Potentiel mutagène.

III.4.3 : Potentiel carcinogène.

III.5 : Tolérance locale.

III.5.1 : Irritation vasculaire.

III.5.2 : Potentiel d'irritation vasculaire.

III.5.3 : Potentiel d'irritation oculaire et dermique.

III.6 : Etude d'interaction avec le TM.

III.7 : Résumé et analyse.

IV. Etudes cliniques.

IV.1 : Etudes in vivo de traumatisme cérébral.

IV.2 : Etudes in vivo de traumatismes de la moelle épinière.

IV.3 : Etudes in vivo d'hémorragie subarachnoïdienne.

IV.4 : Autres domaines d'applications du TM actuellement en cours d'études.

Conclusion:

INTRODUCTION

Dans les années 70, un nouveau concept médical est apparu: l'existence de troubles liés à la réoxygénation des tissus ischémiés. En effet, bien que la réoxygénation soit absolument nécessaire à la restauration du métabolisme normal et au maintien de la viabilité du tissu ischémié, le retour soudain de l'oxygène peut amplifier les lésions liées à l'anoxie cellulaire. Ce phénomène, appelé « paradoxe de l'oxygène », entraîne ce que l'on a baptisé les « troubles de la reperfusion ».

Les nombreuses études réalisées depuis ont précisé le schéma pathogénique de ces troubles et notamment l'intervention des radicaux libres oxygénés, ce qui laisse entrevoir aujourd'hui des possibilités thérapeutiques, utilisées d'ores et déjà en chirurgie cardiovasculaire humaine.

Paradoxalement, alors qu'en médecine humaine ce sujet fait l'objet de très nombreux travaux, les recherches restent limitées en médecine vétérinaire. Or, la connaissance des mécanismes présidant à l'apparition de ces troubles ainsi que du moyen de les combattre pourrait offrir au monde médical de nouvelles et intéressantes perspectives dans le traitement de nombreuses maladies.

Nous nous proposons dans ce travail de faire le point sur l'état actuel des connaissances en la matière et d'en évoquer le domaine d'application.

Après avoir défini, dans une première partie, les troubles de la reperfusion et les radicaux libres oxygénés, nous consacrerons la deuxième partie à la pathogénie de ces troubles ainsi qu'aux applications cliniques potentielles.

La troisième partie abordera les moyens de protection de l'organisme et les possibilités thérapeutiques.

La quatrième partie sera quant à elle consacrée aux lazaroides, molécule appartenant à une nouvelle famille thérapeutique, qui devraient bientôt venir augmenter l'arsenal thérapeutique dans le traitement et la prévention des lésions induites par les radicaux libres.

Première partie.

LES LESIONS DE REPERFUSION ET LES RADICAUX LIBRES OXYGENES.

Le terme de reperfusion, terme anglo-saxon qui ne possède pas d'équivalent en français, se définit par rapport au phénomène d'ischémie qui la précède.

I. Etude descriptive des lésions de reperfusion. (15-37-38)

I.1 : Définition.

I.1.1 : Ischémie.

L'ischémie est une diminution ou un arrêt de la circulation sanguine dans un tissu ou un organe. Le territoire ischémié présente à la fois une hypoxie, composante majeure de l'ischémie, mais aussi une diminution de l'apport en substrats énergétiques ainsi qu'une incapacité à éliminer les déchets du métabolisme tissulaire. Il s'ensuit une baisse de l'activité métabolique de la cellule.

I.1.2 : Reperfusion. (19-23-41-42-43-45)

On parle de reperfusion lorsque l'oxygène et les substrats métaboliques sont à nouveau fournis à la cellule. Le terme de « réoxygénation » est donc insuffisant pour qualifier l'arrêt de l'ischémie, même si c'est la réoxygénation, comme nous le verrons, qui est la principale responsable des lésions que nous allons décrire.

NB : il est difficile de déterminer les lésions propres à la reperfusion car il n'existe pas de reperfusion sans ischémie préalable mais diverses expériences tendent à démontrer l'hypothèse de la toxicité de l'oxygène.

Une des premières observations des troubles de la reperfusion réalisée par HEARSE en 1975 sur des cœurs de rats isolés et perfusés confirme l'hypothèse de la toxicité de l'oxygène. Il mesure la quantité de créatine phosphokinase (CPK) libérée, permettant ainsi d'évaluer la souffrance du muscle myocardique.

- Certains cœurs sont perfusés avec une solution salée dépourvue d'oxygène pendant au moins 7 heures.
- D'autres sont soumis à 150 minutes d'anoxie puis reperfusés avec une solution saline oxygénée.

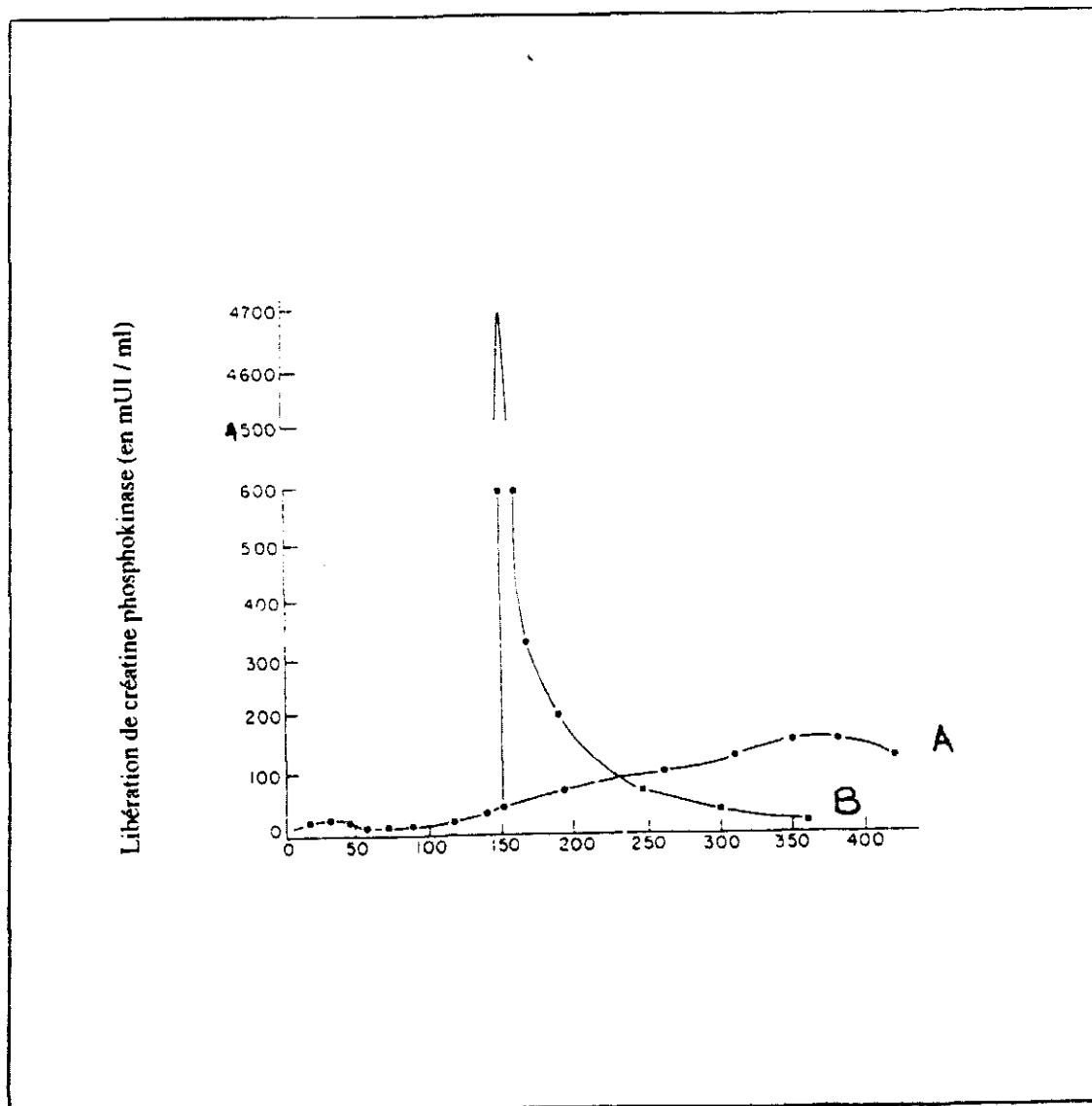
Sur le premier lot (anoxie seule), la libération de CPK est continue mais modérée tout au long de l'expérience. En revanche, sur le second lot, les mesures ont montré que la libération de CPK survient de façon massive immédiatement après que l'apport en oxygène a été restauré (taux multiplié par 100 après 2 minutes) : celui-ci peut donc être rendu directement responsable des lésions du myocarde (Figure 1).

Figure 1 : Libération de créatine phosphokinase (en mUI/ml) par le cœur de rat isolé et perfusé. (d'après HEARSE 1975)

A: anoxie seule

B: anoxie puis réoxygénation après 150 minutes

La réintroduction de l'oxygène semble responsable de la libération de la CPK, témoin de la souffrance des cellules myocardiques.



PARKS et GRANGER ont montré que les lésions de nécrose épithéliale consécutives à 3 heures d'ischémie suivies d'une heure de reperfusion sont significativement plus sévères que celles consécutives à quatre heures d'ischémie sans reperfusion. Les mêmes chercheurs ont montré que la reperfusion d'un intestin avec un perfusat dépourvu d'oxygène après 3 heures d'ischémie entraîne de manière significative moins de lésions que la reperfusion du même organe avec du sang oxygéné (Figure 2).

Figure 2 : Nécrose épithéliale au niveau des cryptes sur des biopsies intestinales de chats dans les conditions suivantes (d'après PARKS et GRANGER 1986).

A: lot témoin (pas d'ischémie),

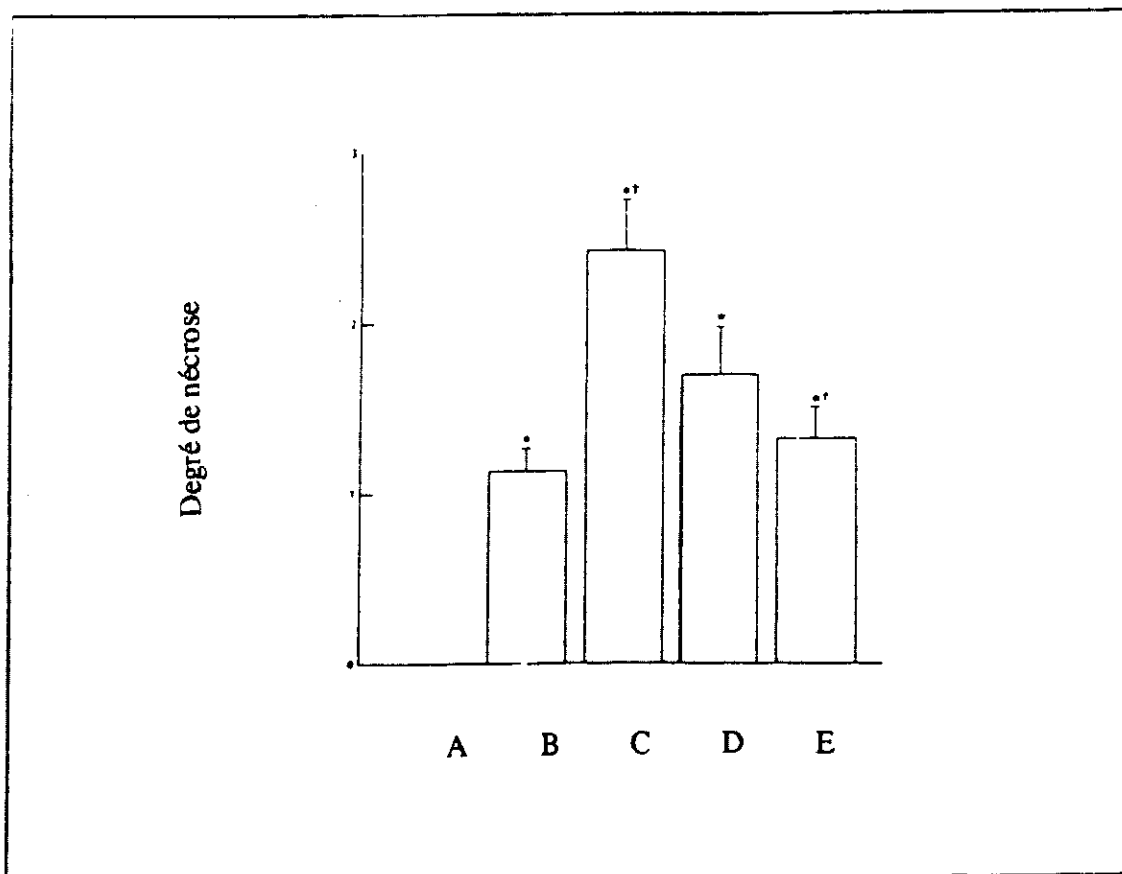
B: 3 heures d'ischémie,

C: 3 heures d'ischémie plus 1 heure de reperfusion,

D: 4 heures d'ischémie,

E: 3 heures d'ischémie plus 1 heure de reperfusion avec une solution saline.

Le lot C, reperfusé avec de l'oxygène, présente plus de lésions que le lot D, non reperfusé, et que le lot E, reperfusé avec une solution dépourvue d'oxygène.



Ainsi, bien que la reperfusion soit absolument nécessaire à la viabilité des tissus, le retour de l'oxygène après une période d'ischémie peut amplifier les lésions liées à l'anoxie tissulaire et participer à des réactions chimiques délétères. Les inventeurs de ce concept parlent alors de *paradoxe de l'oxygène*.

I. 2 : Description des lésions de reperfusion.(19-40-42-43-45)

Diverses expériences ont été menées pour étudier le développement des lésions d'ischémie-reperfusion. La plupart ont été menées sur des modèles d'ischémie régionale en interrompant le flux sanguin d'un organe à l'aide d'un clamp ou bien sur des modèles utilisant des organes isolés et perfusés (modèle du cœur isolé utilisé par HEARSE).

Les travaux effectués par les chercheurs sont différents quant à la durée de l'ischémie, la durée de reperfusion, l'espèce animale utilisée et le choix de l'organe ischémié. Cependant, l'aspect macroscopique ainsi que la nature histologique des lésions rencontrées sont sensiblement comparables d'une espèce à l'autre et d'un organe à l'autre car les mécanismes biochimiques qui les sous-tendent sont les mêmes. La gravité des lésions repose surtout sur les durées d'ischémie et de reperfusion.

Nous prendrons pour exemple l'une des situations les plus étudiées : le cas d'un infarctus (provoqué) de l'intestin.

Les lésions de l'intestin grêle consistent en une dégénérescence progressive de la muqueuse intestinale, un clivage entre épithélium et membrane basale au sommet de la villosité puis une desquamation de l'épithélium qui progresse des villosités vers les cryptes. Tout ceci peut être associé à la nécrose de la lamina propria.

I.2.1 : Aspect macroscopique.

Au cours de l'ischémie, l'intestin s'épaissit, s'œdématie et prend une couleur pourpre. La muqueuse et le mésentère sont congestionnés et hémorragiques.

Lors de la reperfusion, la paroi intestinale continue à s'épaissir progressivement, devient plus congestionnée, plus hémorragique et de couleur encore plus sombre. Le mésentère est très sévèrement congestionné, hémorragique et œdédié.

La couleur de l'organe ischémié permet d'évaluer grossièrement la gravité des lésions lors d'une chirurgie et d'envisager ses possibilités de viabilité.

I.2.2 : Etude histologique.

On utilise généralement la classification de CHIU qui repose sur l'importance des lésions. La gravité des lésions va croissant du grade 0 au grade 5.

1. Immédiatement après occlusion des vaisseaux, on constate un oedème léger de la lamina propria.
2. Après une heure d'ischémie, cet oedème persiste et s'accompagne de quelques petites disjonctions éparpillées à la surface de l'épithélium. On peut observer également une vacuolisation limitée du cytoplasme des cellules épithéliales de la muqueuse ainsi qu'une congestion. Ce stade lésionnel est qualifié de grade 1.

3. Après deux heures d'ischémie, l'organe est touché au grade 2. L'œdème encore modéré, touche la muqueuse et la sous-muqueuse. De petites desquamations épithéliales se forment avec des fissures sous-épithéliales. Les cellules épithéliales se disjoignent et la congestion est légère.
4. Après 3 heures d'ischémie, le grade 3 est atteint. L'œdème de la muqueuse et de la sous-muqueuse est modéré à sévère. La desquamation de l'épithélium se poursuit et l'épithélium se sépare de la lame basale. La lamina propria subit une nécrose modérée.
5. Après reperfusion, la dégénérescence de la muqueuse s'intensifie **ce qui est caractéristique des troubles de la reperfusion.**
6. Une heure post-reperfusion, le grade 4 est atteint avec aggravation de l'œdème, infiltration neutrophilique, desquamation épithéliale, formation de fissures, désorganisation de la lamina propria et hémorragie de la muqueuse.
7. Après deux heures de reperfusion, la muqueuse est hémorragique et nécrotique (grade 5).

Il apparaît donc que les lésions histologiques surviennent dès l'interruption du flux sanguin: d'abord modérées, elles s'aggravent lors de la reperfusion. L'observation de ces lésions de reperfusion est intéressante car elle explique en partie certains échecs de chirurgies correctrices telles que la torsion du côlon chez le cheval ou la torsion d'estomac chez le chien: la dégénérescence de la muqueuse se poursuit et s'intensifie malgré la reperfusion de l'organe.

I.3 : Hypothèses.(31)

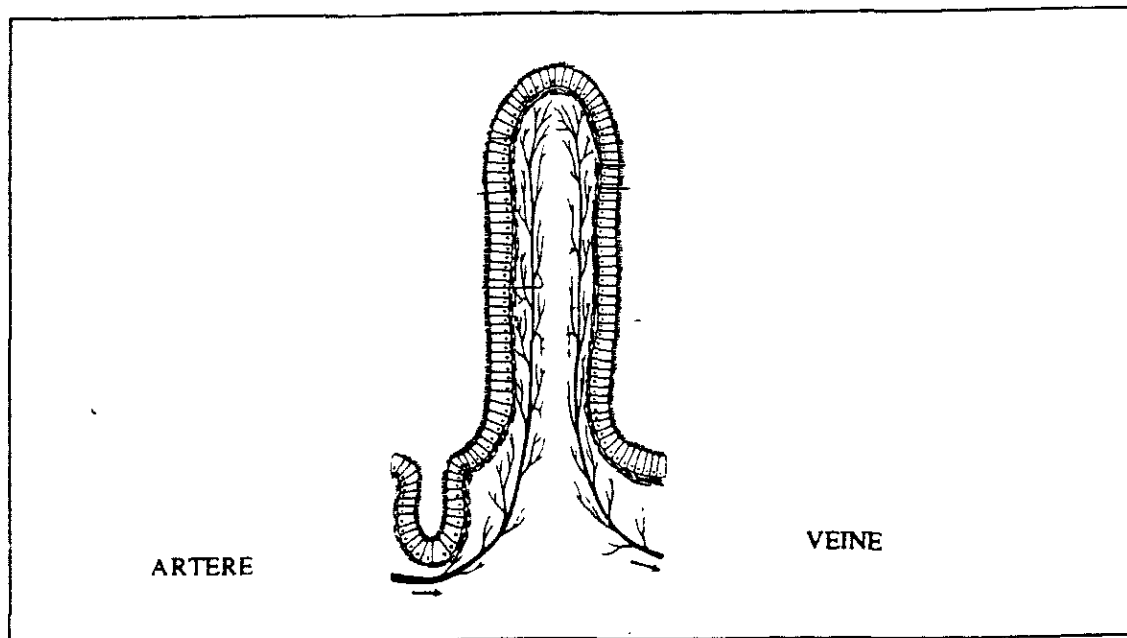
Deux théories ont été avancées pour expliquer la formation de ces lésions : la théorie des échanges à contre-courant et la théorie des radicaux libres.

I.3.1 :Théorie des échanges d'oxygène à contre-courant.

LUNDGREN et HAGLUND ont attribué ces lésions à la période d'ischémie subie par un organe. Leur hypothèse était fondée sur l'architecture vasculaire de la villosité intestinale (Figure 3) : l'artériole centrale est à proximité d'un réseau capillaire sous-épithélial mais le flux sanguin y circule en sens inverse. Selon ces auteurs, l'oxygène peut diffuser sur une courte distance de l'artériole jusqu'aux capillaires. Cette diffusion crée un gradient d'oxygène décroissant de la base de la villosité jusqu'à son extrémité, ce qui contribue à la mort des cellules de l'apex de la villosité, composante normale du renouvellement cellulaire élevé de la muqueuse intestinale. Au cours de l'ischémie, le flux sanguin est réduit voire absent, l'échange d'oxygène à contre-courant aboutit à la circulation d'un sang désoxygéné à l'apex de la villosité qui devient alors anoxique.

Cette hypothèse d'échanges à contre-courant rend donc l'hypoxie responsable des lésions constatées ce qui est en contradiction avec de nombreuses études expérimentales où les lésions sont attribuées principalement à la reperfusion.

Figure3 : Circulation sanguine au niveau d'une villosité intestinale.



I.3.2 : Théorie des radicaux libres oxygénés.(7-38)

D'autres chercheurs incriminent essentiellement la reperfusion en se fondant sur leurs expériences. Ainsi, PARKS et GRANGER en travaillant sur un intestin ischémié et reperfusé montrent de façon quantitative que les lésions intestinales sont plus sévères après 3 heures d'ischémie suivie d'une heure de reperfusion qu'après 4 heures d'ischémie.

Leur hypothèse est la suivante : l'ischémie provoque, entre autres lésions, la conversion d'une enzyme, la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase. Lorsque le tissu est reperfusé, la xanthine oxydase réagit avec l'oxygène pour former des radicaux libres oxygénés cytotoxiques responsables des lésions décrites.

Les lésions auraient pu être attribuées à l'augmentation de pression vasculaire contemporaine de la réoxygénation mais dans l'expérience de GRANGER, les organes reperfusés avec une solution saline présentent des lésions moins sévères que celles présentées par les organes reperfusés avec du sang oxygéné. Le rôle de la réintroduction d'oxygène semble primordial et non l'augmentation de pression vasculaire.

Les études précitées montrent que peu de lésions ont le temps de se développer pendant l'ischémie et que la plupart apparaissent lors de la reperfusion : il est probable qu'une grande partie des lésions survient pendant l'ischémie mais celles-ci ne se manifestent macroscopiquement que lors de la restauration du flux sanguin. L'hypoxie est à l'origine de la conversion de la xanthine déshydrogénase ce qui aboutit à la production de radicaux libres oxygénés cytotoxiques.

Nous verrons dans une autre partie que malgré son rôle primordial, la xanthine oxydase n'est pas la seule source de radicaux libres oxygénés.

II. Formation des radicaux libres oxygénés responsables des lésions de reperfusion.

II.1 : Les radicaux libres.(9-13-41)

II.1.1: Définitions, nature et propriétés.

Un radical libre est une molécule possédant un nombre impair d'électrons sur son orbitale électronique la plus externe. L'électron non apparié, dit électron célibataire et symbolisé par un « • », a donc tendance à réagir : la molécule qui le contient est donc hautement réactive et très instable (demi-vie de quelques nanosecondes à quelques millisecondes).

Dans les systèmes biologiques, le processus de formation le plus fréquent est le transfert d'électrons.

Les réactions chimiques radicalaires sont des réactions en chaîne qui s'arrêtent soit par recombinaison de deux radicaux libres entre eux, soit par piégeage par des molécules anti-radicaux libres (vitamine C et E, superoxyde dismutase...) qui constituent une forme de défense de l'organisme contre les radicaux libres.

II.1.2: Les radicaux libres oxygénés.(18-34-45)

Les radicaux libres impliqués dans les troubles de la reperfusion sont dérivés de l'oxygène. Les métabolites actifs dérivés de l'oxygène sont : l'ion superoxyde $O_2^{\bullet -}$, le radical hydroxyle OH^{\bullet} , le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et l'ion peroxyde O_2^{2-} .

II.2 : Biosynthèse des radicaux libres oxygénés.

II.2.1: Le système de la xanthine oxydase.(25-36)

II.2.1.1 : Hypoxie et conversion de la xanthine oxydase.

L'hypoxie est responsable de deux événements qui favorisent la production de radicaux libres par ce système:

- l'accumulation de purines dégradables par une enzyme particulière, la xanthine oxydase (XO),
- la conversion de cette enzyme en une forme capable d'utiliser l'oxygène fourni ultérieurement par la reperfusion.

Dans la chaîne respiratoire, l'oxygène sert d'accepteur d'électrons au cours de la phosphorylation oxydative. Le manque d'oxygène conduit donc à une diminution de la synthèse d'ATP et concurrentement, à une accumulation d'AMP. Celui-ci est catabolisé en adénosine puis en inosine et enfin en hypoxanthine. L'hypoxanthine s'accumule dans la cellule au cours de l'ischémie en quantité proportionnelle à la durée de cette ischémie. La dégradation de l'hypoxanthine, qui nécessite de l'oxygène, a lieu lors de la reperfusion. Le catabolisme de l'hypoxanthine est assuré par une enzyme particulière: la xanthine oxydase (XO). La XO est une forme de la xanthine déshydrogénase convertie lors d'hypoxie. La XO est capable d'utiliser l'oxygène fourni par la reperfusion et de générer des radicaux libres oxygénés.

La conversion de la forme XD en forme XO lors d'ischémie est dépendante du calcium et de la calmoduline par le biais d'une protéase Ca^{2+} -dépendante comme l'a montré MC CORD en 1968 en utilisant lors d'études un traitement préalable avec des inhibiteurs de la calmoduline.

II.2.1.2 : Localisation et distribution de la XO.

JARASCH a pu localiser cette enzyme grâce à des techniques d'immunofluorescence dans le cytoplasme des cellules endothéliales des capillaires sanguins, cellules qui sont le site de production des radicaux libres et une cible importante des lésions.

Par ailleurs, la quantité de xanthine oxydase varie suivant les organes : elle est abondante dans les intestins, les poumons et le foie. Dans le tractus digestif, l'activité est très importante ce qui explique la sensibilité des organes intestinaux à l'ischémie. Cette activité s'exerce surtout au niveau de la muqueuse; celle-ci étant plus sensible à l'ischémie. Un autre gradient d'activité s'exerce le long de l'intestin : l'activité de la XO est trois fois plus importante au niveau de la muqueuse duodénale que dans l'iléum.

En revanche le muscle squelettique est le seul tissu parmi ceux étudiés où la conversion de la XO n'a pas été mise en évidence lors de l'ischémie. Cette constatation est en accord avec l'observation clinique de la résistance du muscle à l'hypooxygénation. Cependant, malgré cette relative insensibilité à l'ischémie suivie de réoxygénation, des lésions peuvent néanmoins apparaître après une ischémie prolongée (par exemple lors de « crush injury »). Ceci a des conséquences non négligeables lors de la revascularisation d'un membre ischémié et peut aboutir dans des cas extrêmes à l'amputation. De même des précautions doivent être prises lors d'une chirurgie orthopédique prolongée avec usage d'un tourniquet, car la restauration de l'appareil sanguin peut entraîner des lésions de reperfusion. Une étude a montré que la reperfusion d'un muscle ischémié s'accompagne de la formation de radicaux libres qui pourraient être responsables de ces lésions mais dont l'origine reste pour l'instant inconnue.

II.2.2 : Autres oxydases.(31)

II.2.2.1 : La cyclooxygénase : Au cours de l'ischémie et de la reperfusion on assiste à une augmentation de la synthèse des prostaglandines et des leucotriènes à partir de l'acide arachidonique. A partir de précurseurs comme l'acide arachidonique et de NADH ou NADPH, la prostaglandine synthétase forme des radicaux libres.

II.2.2.2 : Oxydation des catécholamines : Certains radicaux libres dérivent de l'oxydation des catécholamines. En effet dans un modèle d'étude de cœurs reperfusés après ischémie, se produit une libération brutale de catécholamines dans la zone ischémiée. Elles y subissent une dégradation par une enzyme: la monoamine oxydase. Une étape oxydative produisant des électrons pris en charge par l'oxygène aboutit à la formation de radicaux libres oxygénés.

II.2.2.3 : Deshydrogénases.

Les flavoprotéines NADH-déshydrogénases produisent des radicaux superoxydes.

II.3 : Participation des neutrophiles aux troubles de la reperfusion.(31)

Une production de radicaux libres superoxydes par les neutrophiles existe en temps normal puisqu'elle est à l'origine de leurs propriétés bactéricides. Au cours de la reperfusion, l'infiltration neutrophilique dans les tissus lésés se produit tardivement. C'est l'hyperperméabilité vasculaire qui permet l'extravasation de plasma (oedème) et de polynucléaires.

II.3.1 : Migration leucocytaire au sein du tissu ischémié.

Pendant l'ischémie, les neutrophiles s'accumulent en bordure de la zone hypooxygénée et adhèrent à l'épithélium vasculaire des artérioles, veinules et capillaires. Lors de la reperfusion la production de radicaux libres oxygénés aboutit à la libération d'agents proinflammatoires qui activent les neutrophiles qui vont produire à leur tour des radicaux superoxydes. Le rôle des neutrophiles dans les lésions de reperfusion dépendrait de la durée d'ischémie mais également de l'organe atteint : elle est plus importante dans le cas des poumons et de l'intestin.

II.3.2 : Rôle des neutrophiles dans les lésions.

L'adhérence des leucocytes à l'endothélium vasculaire et l'obstruction qui en résulte participent à l'activation des neutrophiles et aux lésions microvasculaires, et peut-être même au phénomène de non reflux, phénomène qui correspond à une occlusion de certains capillaires après rétablissement de la perfusion tissulaire et qui entraîne une hypoxie et une ischémie localement irréversibles. Les neutrophiles constituent donc un phénomène d'amplification secondaire des lésions de reperfusion.

II.4 : Transformation en radicaux hydroxyles plus toxiques.(31)

La toxicité des radicaux libres dits « primaires » (superoxyde, ion peroxyde...) est exacerbée lors de leur transformation en radicaux hydroxyles.

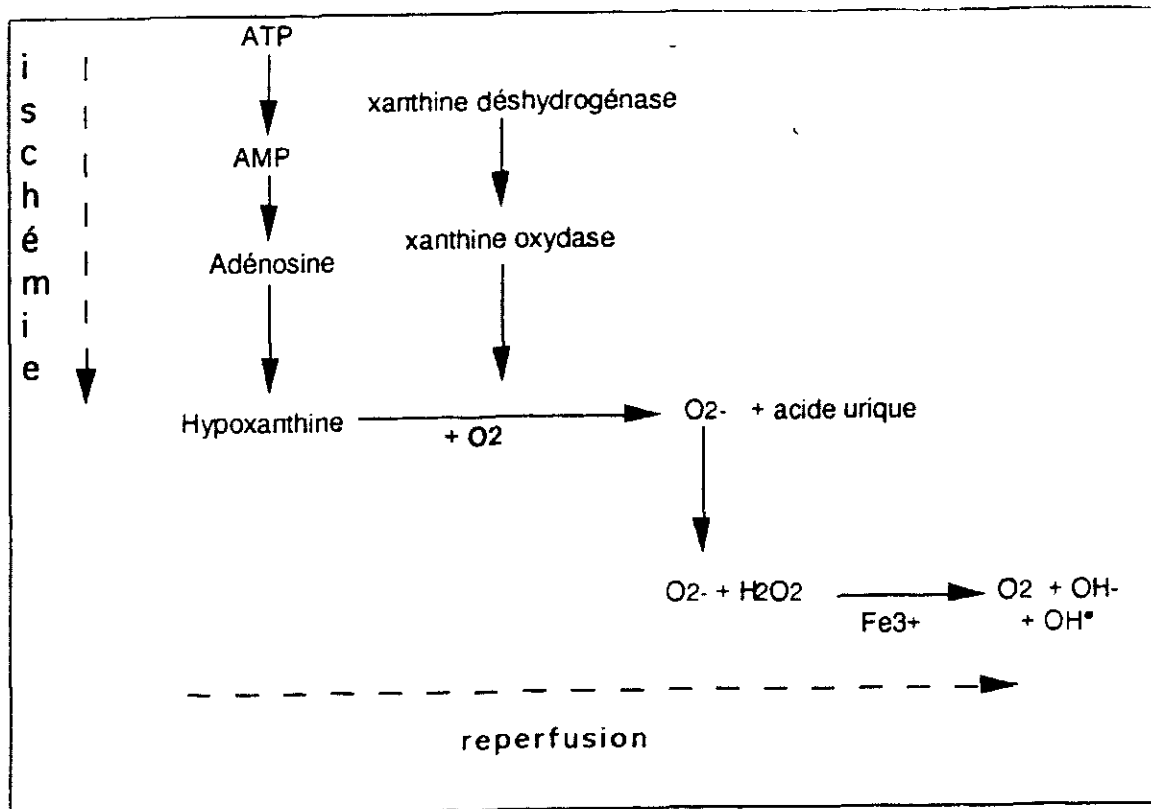
II.4.1 : Par l'action d'ions métalliques.

En présence de fer sous forme ionisée, les ions superoxydes et le peroxyde d'hydrogène réagissent pour former des radicaux hydroxyles, instables et très cytotoxiques.

II.4.2 : Par les quinones.

Il a été montré qu'il existe un mécanisme de formation des radicaux hydroxyles indépendant de la catalyse métallique. La réaction repose sur la capacité du radical superoxyde à réagir avec les quinones.

Figure 4 : Schéma récapitulatif de la formation des radicaux libres oxygénés par la xanthine oxydase et de leur transformation au cours de la séquence ischémie-reperfusion.



Deuxième partie.

PATHOGENIE DES TROUBLES DE LA REPERFUSION ET APPLICATIONS CLINIQUES

I.Pathogénie.(5-7-9-13-18-35)

I.1 : La peroxydation des lipides.

Toutes les biomolécules sont susceptibles d'être lésées par l'attaque des radicaux libres oxygénés mais les lipides y sont les plus sensibles.

Dans les conditions normales, la peroxydation lipidique existe : il s'agit alors d'un processus physiologique continu, indispensable à la synthèse des prostaglandines et des leucotriènes, à la pinocytose, à la phagocytose et aux remaniements des membranes cellulaires. Elle est alors sous contrôle enzymatique. La peroxydation lipidique est également impliquée dans les phénomènes de lyse bactérienne au sein des phagosomes.

Dans des conditions d'hypoxie, la peroxydation lipidique se manifeste aussi mais elle est alors incontrôlée et donc, pathologique. Les biomembranes et les organites cellulaires sont particulièrement sensibles à l'attaque oxydative des radicaux libres à cause de la richesse en acides gras polyinsaturés des membranes phospholipidiques. Les réactions radicalaires en chaîne se déclenchent à l'intérieur de la membrane et libèrent des lipoperoxydes et des aldéhydes qui vont ensuite propager l'attaque radicalaire à l'intérieur de la cellule mais aussi à distance.

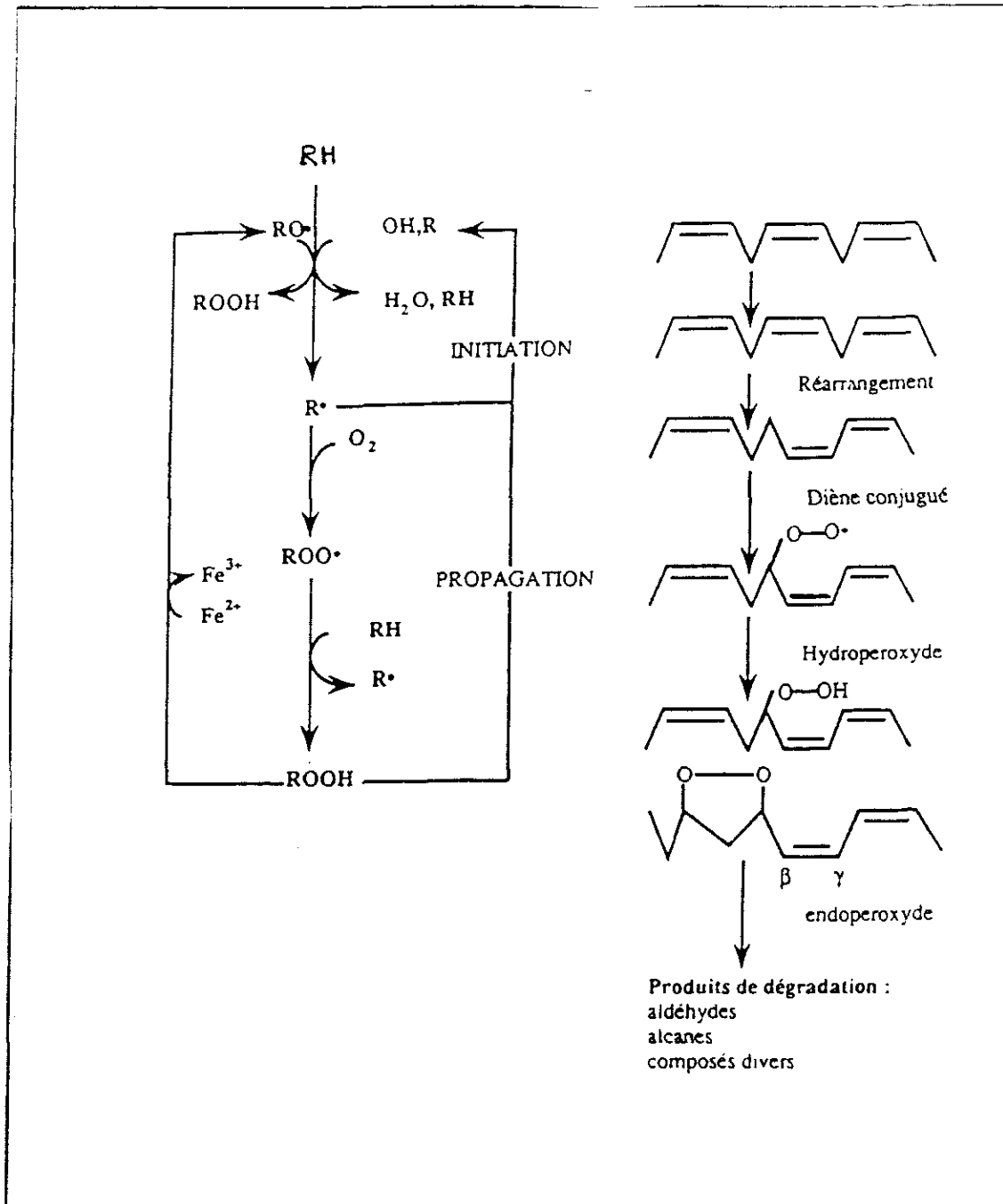
I.1.1 : Mécanisme biochimique

La peroxydation lipidique commence par l'attaque d'un acide gras insaturé par un radical oxydant R° qui capte un atome d'hydrogène de l'acide gras au sein d'un groupement méthylène. Il forme ainsi un radical alkyle lipidique L° .

Lorsque le radical alkyle est attaqué par l'oxygène, c'est à dire lors de la reperfusion, il produit des radicaux lipidiques alkoxydes LO° et peroxydes LOO° , qui composent ainsi les réactions de la phase d'initiation, capables à leur tour d'extraire un atome d'hydrogène d'un acide gras et de perpétuer ainsi la réaction en chaîne.

S'en suit la phase de propagation où un cycle auto-catalytique est amorcé qui se propage, dans le plus simple des cas, jusqu'à des réactions de terminaison, c'est à dire la collision de deux radicaux pour former une espèce chimiquement stable.

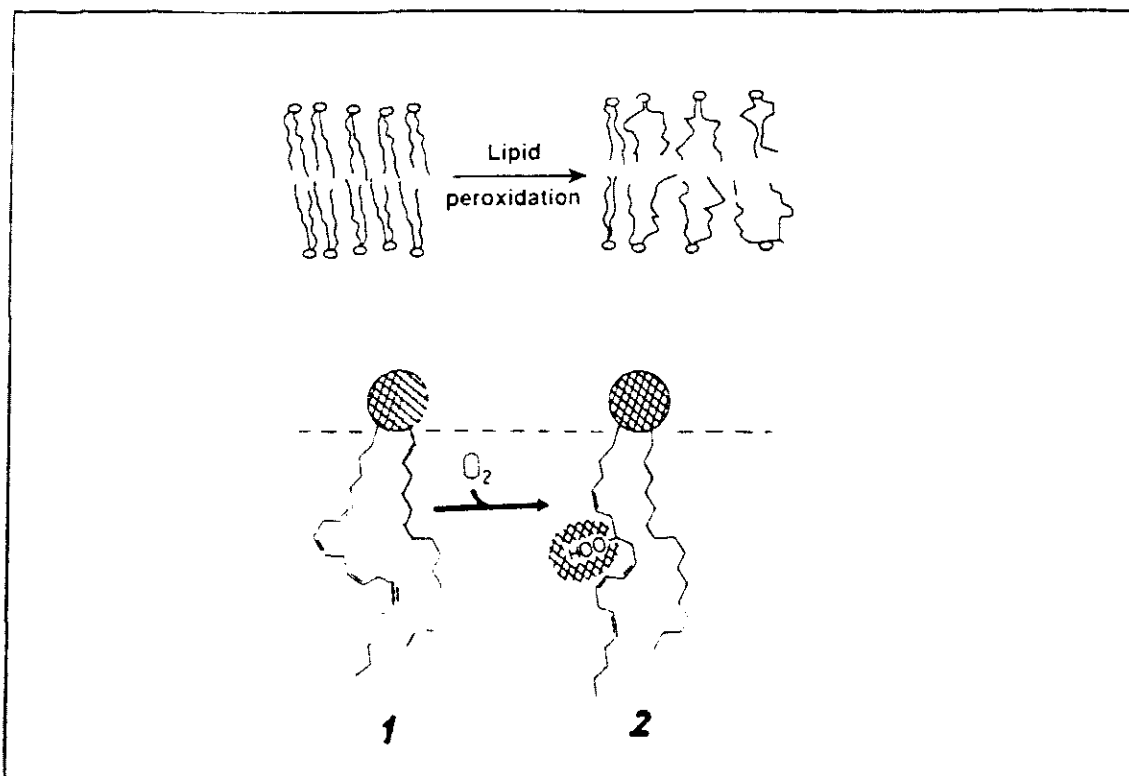
Figure 5 : Mécanisme biochimique de la peroxydation lipidique.



I.1.2 : Conséquences physiopathologiques de la peroxydation des lipides membranaires.

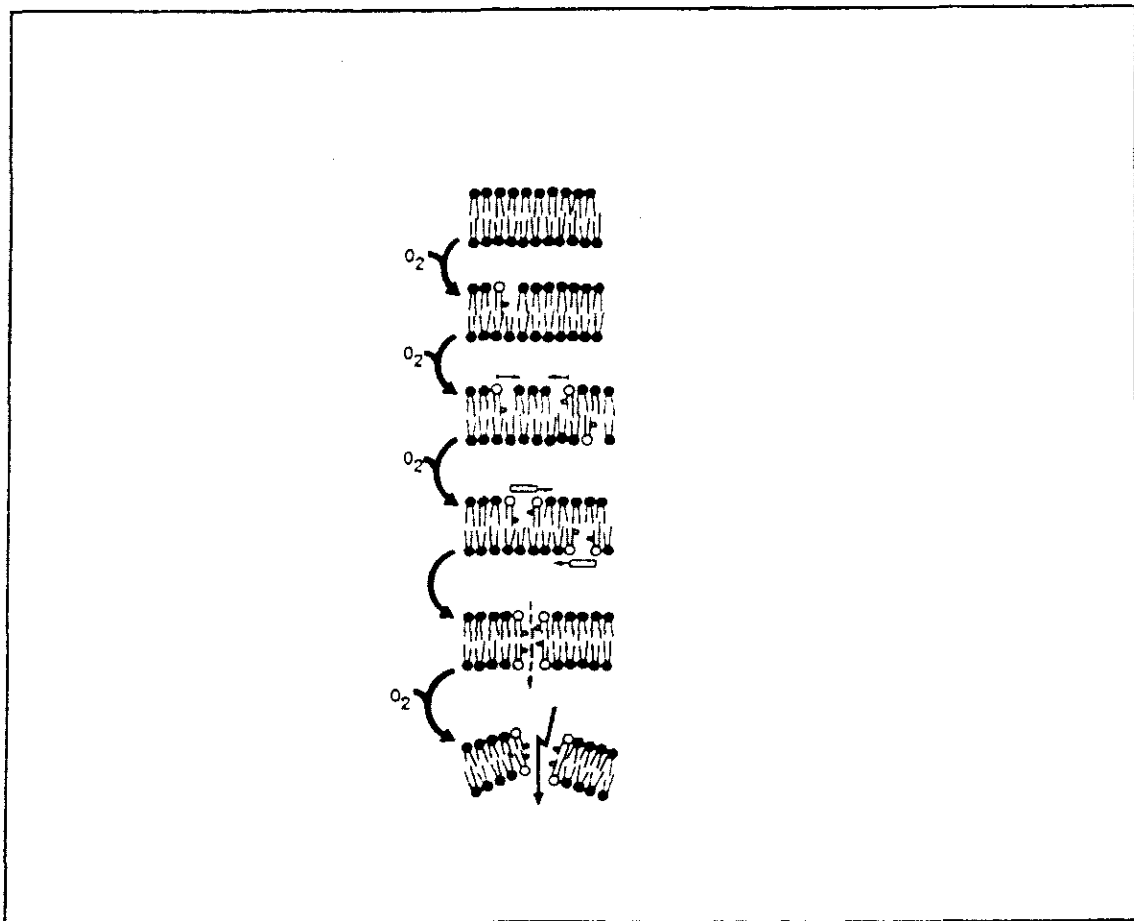
Les conséquences biologiques de la peroxydation lipidique dépendent de la composition biochimique des membranes touchées et de la population cellulaire sur laquelle elle s'exerce. Les membranes mitochondriales et microsomales sont particulièrement sensibles à la peroxydation lipidique à cause de la richesse de leurs phospholipides en acides gras poly insaturés. Néanmoins, toutes les membranes sont atteintes à des degrés divers. La peroxydation lipidique est un processus multifactoriel qui peut aboutir à la rupture de l'architecture et des fonctions membranaires et, secondairement, à la rupture de la chaîne carbonée des acides gras (par des réactions de réarrangement des radicaux) et à l'intrusion de composants membranaires hydrophiles dans la couche hydrophobe.

Figure 6 : Interaction d'un phospholipide membranaire avec l'oxygène et formation d'un phospholipide hydroperoxyde possédant un cœur hydrophile au sein de la couche hydrophobe de la membrane.



De nouveaux canaux perméables se forment par agglutination transmembranaire d'hydroperoxydes : d'abord disséminés dans la membrane, ils diffusent latéralement en monocouche puis se regroupent en amas transmembranaires qui forment des canaux ioniques, perméables notamment aux ions calcium. L'augmentation du nombre d'hydroperoxydes dans ces agrégats peut aboutir à la fragmentation et à la destruction des membranes cellulaires, ce qui cause un dysfonctionnement voire la mort de la cellule.

Figure 7 : Formation d'agrégats de peroxydes lipidiques et fragmentation de la bicouche phospholipidique.



Dans les conditions physiologiques, la peroxydation lipidique ne subit pas un tel dérapage car il existe au sein de la cellule un système antioxydatif efficace, que nous développerons dans la dernière partie, qui n'est mis en défaut que lors de situations exceptionnelles comme l'ischémie intense suivie d'une reperfusion.

I.2 : Modifications ioniques.(8-34)

I.2.1 : Perturbations calciques.(36)

Les ions calcium (Ca^{2+}) semblent jouer un rôle important dans la pathogénie de l'ischémie-reperfusion : ils seraient même une des causes essentielles de l'irréversibilité de certaines lésions. L'accumulation de calcium se traduit histologiquement par des amas de granules denses (cristaux de phosphate de calcium) au sein du cytoplasme et des mitochondries. Elle est, semble-t-il, davantage due à une augmentation de l'aflux calcique qu'à une réduction des sorties de calcium.

Plusieurs phénomènes sont en cause dans l'augmentation de concentration du calcium cytosolique :

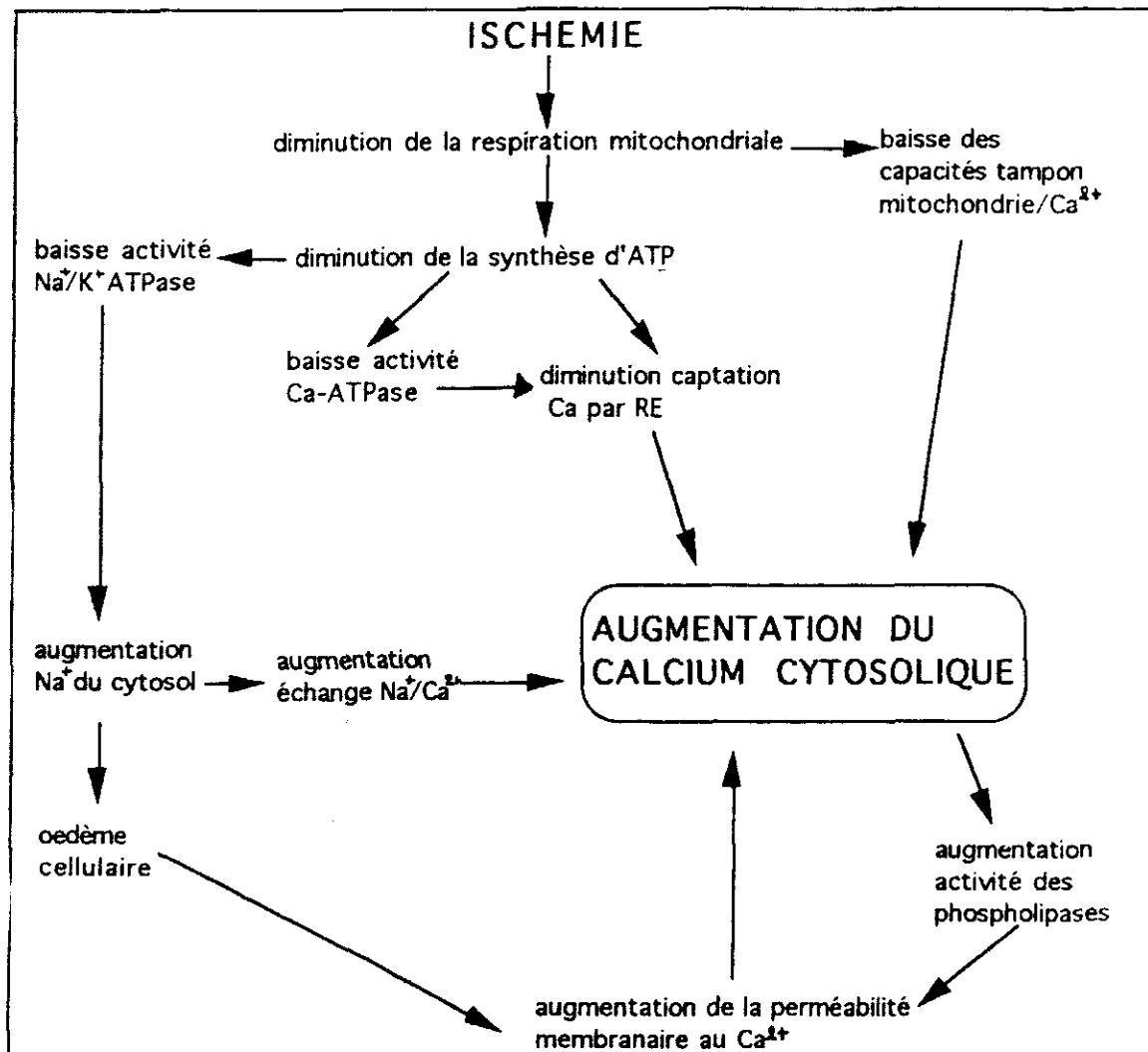
- La cellule hypoxique, carencée en ATP, devient incapable de maintenir des gradients ioniques corrects au travers de ses membranes : l'ATP est notamment indispensable au fonctionnement des pompes Ca^{2+} -ATPases qui maintiennent un rapport Ca^{2+} extracellulaire/ Ca^{2+} intracellulaire supérieur à 1000. Il se produit alors un aflux de calcium dans la cellule et dans les mitochondries.
- La surcharge calcique dans les mitochondries endommage les structures mitochondriales ce qui provoque le découplage de la phosphorylation oxydative d'où diminution de la synthèse d'ATP et la consommation d'oxygène. Tous ces phénomènes interdépendants constituent le « paradoxe du calcium ».
- D'autres part, les systèmes enzymatiques chargés de faire pénétrer le calcium en excès dans le réticulum sarcoplasmique sont inefficaces, faute d'ATP ;
- Les lésions membranaires dues à l'action des phospholipases augmentent la perméabilité au calcium : il se produit passivement un influx massif de calcium selon le gradient de concentration.

I.2.2 : Conséquences de la surcharge en calcium.

Comme nous l'avons déjà évoqué, l'augmentation intracellulaire de calcium active des protéases Ca^{2+} -dépendantes dont celle qui provoque la conversion de la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase productrice de radicaux libres oxygénés. Le calcium provoque également l'activation ou l'inhibition d'autres enzymes conduisant éventuellement, lors de la reperfusion, à de nombreux troubles dont la formation d'espèces radicalaires.

Par ailleurs, la surcharge cytosolique calcique est susceptible d'aggraver les lésions membranaires en activant des phospholipases : il y a libération d'acides gras (dont l'acide arachidonique) et de lysophospholipides, non toxiques en eux-mêmes mais le métabolisme de l'acide arachidonique peut aboutir par l'action des cyclooxygénases et des lipooxygénases à la production de radicaux libres lors de la reperfusion.

Figure 8 : Phénomènes responsables de la surcharge intracellulaire en calcium.



I.3 : L'acidose intracellulaire.(8)

L'ischémie entraîne l'altération du métabolisme cellulaire. On assiste à un arrêt du métabolisme aérobie et le passage vers un métabolisme anaérobie. Par épuisement des substrats énergétiques de la cellule par les mitochondries, le métabolisme cellulaire est ralenti. La cellule est incapable d'éliminer ses déchets et on assiste à une accumulation d'acide lactique (aboutissement de la glycolyse anaérobie). Il y a alors accumulation de sodium intracellulaire par stimulation d'échanges Na^+/H^+ d'où turgescence et mort de la cellule. Parallèlement, on assiste à l'activation de certaines enzymes, comme les phospholipases, qui entraîne la formation d'acide arachidonique qui par oxydation aboutit à la formation de radicaux libres comme il a été vu précédemment.

I.4 : Les lésions vasculaires.

I.4.1 : Augmentation de la perméabilité capillaire.

L'augmentation de la perméabilité capillaire a été bien étudiée dans le cas de l'ischémie intestinale. Elle a pour conséquences une filtration excessive de liquide au travers des capillaires, une accumulation de celui-ci dans l'espace interstitiel (œdème interstitiel) et son élimination vers la lumière de l'intestin. En outre, certaines macromolécules passent au travers de la barrière endothéliale alors que celle-ci leur est habituellement imperméable.

Tout d'abord, les prostaglandines et l'histamine ont été pressenties comme responsables de l'augmentation de perméabilité vasculaire car d'une part, leur synthèse et leur libération par l'intestin sont augmentées lors d'hypooxygénation et d'autre part, ces substances vasoactives ont la propriété d'accroître la perméabilité des capillaires intestinaux aux protéines plasmatiques.

Les études entreprises par GRANGER et son équipe utilisant l'indométhacine (inhibiteur de la cyclooxygénase) ou la cimétidine associée au bédryl (antagonistes des récepteurs H1 et H2 de l'histamine) montrent que l'histamine et les prostaglandines ne sont pas responsables des variations de perméabilité des capillaires.

La méthylprednisolone, utilisée à des doses massives, a un effet bénéfique sur les lésions de la muqueuse intestinale car elle permet la stabilisation des membranes lysosomales mais elle ne prévient pas l'augmentation de la perméabilité vasculaire. Il est donc peu probable que les enzymes lysosomales en soient responsables.

Le rôle possible des endotoxines bactériennes dans ce phénomène a pu être écarté car des doses létales sont nécessaires pour induire de telles variations de perméabilité.

En revanche, l'efficacité d'anti-radicaux superoxydes tels que la superoxyde dismutase a permis de conclure que le radical $O_2^{\cdot -}$ est à l'origine de l'augmentation de la perméabilité capillaire. Les mécanismes n'en sont pas encore totalement élucidés mais il pourrait s'agir soit d'une altération de l'endothélium ou de la membrane basale par la peroxydation lipidique, soit d'une dégradation du collagène et/ou de l'acide hyaluronique par des radicaux dérivés du superoxyde. L'acide hyaluronique est en effet un composant essentiel de la matrice interstitielle de l'endothélium et de la membrane basale des capillaires qui constituent la barrière hémato-lymphatique contre le passage des macromolécules.

I.4.2 : Phénomène de non-reflux.(31)

Après reperfusion tissulaire, certains capillaires restent occlus et il n'y a pas restauration du flux sanguin normal ce qui fait perdurer l'ischémie. Ceci a été observé notamment dans les cas d'ischémie du myocarde ou du cerveau. L'hypoxie est alors irréversible. Plusieurs explications ont été évoquées :

- L'œdème cellulaire qui touche en particulier l'endothélium vasculaire, entraîne une mauvaise diffusion de l'oxygène entre les capillaires et les mitochondries ce qui a pour conséquence l'hypoxie cellulaire.
- Des embolies pourraient être à l'origine de l'obstruction des capillaires. Les cellules endothéliales des capillaires ont subi des lésions membranaires par action directe des

radicaux libres. Ces lésions entraînent la libération de thromboplastines, provoquant une agrégation plaquettaire, la libération de facteurs de coagulation et la dégranulation des mastocytes, qui libèrent à leur tour des amines vasoactives (histamine, sérotonine) aggravant ainsi l'œdème interstitiel. Il peut s'agir aussi d'agrégats de neutrophiles, impliqués à cause de leurs propriétés rhéologiques, leur absence de déformabilité et leur tendance naturelle à adhérer à la paroi des vaisseaux. Ce phénomène est similaire à celui observé avec les globules rouges, appelé « SLUDGE » (embourbement) par LARCAN en 1970.

- Dans le cas d'ischémie myocardique, l'ischémie pourrait provoquer une contracture du myocarde qui comprime fortement les artères coronaires et s'oppose ensuite au reflux sanguin normal.

I.5 : Reperfusion et répercussions systémiques.(8)

La reperfusion peut parfois entraîner des complications sur des organes éloignés du territoire ischémique.

I.5.1 : Etat de choc.

Des lésions hémorragiques de la muqueuse intestinale sont fréquemment observées sur des animaux soumis à un choc expérimental. Ces lésions ne sont pas prépondérantes mais elles conditionnent l'issue de l'état de choc. En effet, des substances cardiopresseurs telles que le MDF (myocardial depressant factor, libéré par le pancréas ischémique) sont libérées dans la circulation ce qui entraîne le cercle vicieux du choc et peut aboutir à une défaillance circulatoire fatale. Des modèles expérimentaux d'ischémie-reperfusion mesurant la pression artérielle moyenne montrent d'ailleurs que celle-ci chute après reperfusion.

La dégénérescence de la muqueuse intestinale permet en outre l'absorption d'endotoxines et autres substances nocives depuis la lumière intestinale ainsi que la fuite de quantités importantes de sang, de sérum, de leucocytes, d'électrolytes et d'eau dans cette même lumière. Ceci exacerbe le choc, la déshydratation et le déséquilibre électrolytique conduisant à la mort de l'individu.

De même, la principale cause de morbidité et de mortalité après revascularisation d'un membre est la présence de troubles de la reperfusion. La libération de lactate, potassium, myoglobine au niveau du tissu ischémique entraîne une acidose. Ces produits de dégradation gagnent la circulation générale après reperfusion et entraînent une myoglobinurie ainsi qu'une hyperkaliémie. L'œdème massif provoque hémococoncentration et hypovolémie d'où installation possible d'un état de choc.

I.5.2 : Répercussions cardiaques.(13-20-26-34)

Chez l'homme, le suivi de patients ayant subi un infarctus du myocarde et traités par thrombolyse a permis de mettre en évidence une incidence plus élevée des tachycardies ventriculaires par rapport aux malades non thrombolysés. La reperfusion a été incriminée car,

sur ces mêmes patients, l'incidence des arythmies a considérablement baissé après huit jours d'évolution.

S'il est fréquent de rencontrer des troubles du rythme dans des cas d'ischémie myocardique, il est également possible d'en constater dans des situations d'ischémie du tractus intestinal : des arythmies cardiaques sont associées à la dilatation-torsion de l'estomac chez le chien dans environ 42% des cas cliniques.(6) Des lésions de nécrose myocardique sont d'ailleurs histologiquement visibles sur ces chiens. De telles arythmies semblent donc liées à la reperfusion sans que le mécanisme d'apparition en soit précisément connu.

Il s'agirait d'une instabilité électrophysiologique complexe. Il est même probable que plusieurs types de troubles du rythme résultant de mécanismes distincts se succèdent après la reperfusion. Chez l'animal, le trouble du rythme le plus fréquemment rencontré après reperfusion est la fibrillation ventriculaire.

Les radicaux libres semblent impliqués dans le développement d'arythmies ainsi que d'autres facteurs, déjà évoqués, dont l'existence leur est plus ou moins directement liée, en particulier :

- une distribution et une accumulation anormales de certains ions, en particulier le potassium et le calcium,

- la libération de catécholamines engendrée par l'ischémie,
- la perturbation de l'intégrité membranaire,
- l'activité des lysophospholipides membranaires,
- l'accumulation et l'utilisation d'acides gras...

Dans le cas de l'ischémie-reperfusion myocardique, ces arythmies sont communément admises comme étant calcium-dépendantes : on a montré que des oscillations du taux de calcium en excès lors de la phase de réoxygénation coïncident avec des arythmies ventriculaires. Par ailleurs, l'efficacité des anti-radicaux libres en prévention de telles arythmies prouve que les radicaux libres oxygénés sont impliqués dans ce phénomène, en provoquant des lésions membranaires et donc des variations électrophysiologiques, comme l'atteste l'existence concomitante de potentiels d'action anormaux. Le rôle des radicaux libres n'est pas élucidé mais ce sont probablement des facteurs qui facilitent l'action arythmogène du calcium.

I.5.3 : Oedème pulmonaire.(32)

La reperfusion peut provoquer un œdème pulmonaire et une détresse respiratoire même si le territoire ischémique se trouve éloigné des poumons.

Plusieurs études ont montré en effet qu'une ischémie expérimentale des membres postérieurs chez le chien ou chez le mouton peut entraîner un œdème du poumon, non cardiogénique, plusieurs heures après la fin de l'ischémie. L'apparition de cet œdème n'est pas systématique car la capacité de drainage lymphatique du poumon en limite l'incidence. En revanche, en cas d'insuffisance cardiaque gauche, d'hypertension pulmonaire préexistante ou si la durée de l'ischémie est longue, l'installation de l'œdème est possible.

L'augmentation de liquide dans le poumon est due à une augmentation de la perméabilité des micro-vaisseaux pulmonaires. L'analyse histologique montre la présence d'un exsudat protéiné dans l'interstitium et les alvéoles ainsi qu'une accumulation de neutrophiles dans les capillaires pulmonaires. Cet œdème a pour origine des facteurs humoraux et/ou cellulaires libérés par les tissus ischémiques, notamment :

- des produits du métabolisme de l'acide arachidonique comme les thromboxanes ; en effet l'ischémie des membres postérieurs chez le rat ou le mouton entraîne une augmentation du

taux de thromboxane B2 dans la circulation systémique et plusieurs constatations tendent à prouver que ce sont les poumons qui sont à l'origine des thromboxanes après ischémie. Le thromboxane, vasoconstricteur puissant, provoque l'augmentation de la pression artérielle pulmonaire ainsi que l'augmentation de la perméabilité vasculaire, en modifiant le cytosquelette des cellules endothéliales par dissociation des microfilaments d'actine. Il favorise aussi la diapédèse des neutrophiles en relâchant les jonctions intercellulaires des cellules de la barrière endothéliale. Il favorise également la formation de microthrombi plaquettaires et autres embols qui peuvent obstruer certains capillaires (phénomène de non-reflux) à cause de son activité proagrégatoire vis-à-vis des cellules sanguines.

-des substances chimioattractives : le tissu ischémique libère dans la circulation des agents inflammatoires qui activent la synthèse de thromboxane au niveau des poumons après reperfusion. Ces substances chimioattractives sont notamment le leucotriène B4, le facteur d'activation plaquettaire PAF et les radicaux libres oxygénés.

Le PAF est un phospholipide biologiquement actif, libéré par différentes cellules telles que les plaquettes, les cellules endothéliales et les leucocytes. Il a été rendu responsable de lésions locales et systémiques associées à la reperfusion : adhérence entre neutrophiles et endothélium, nécrose de la muqueuse intestinale ou gastrique, augmentation de la perméabilité vasculaire pulmonaire. L'administration d'antagonistes du PAF donne des résultats discutables.

Tous ces phénomènes constituent une réaction inflammatoire qui n'est pas confinée au territoire ischémique et qui peut provoquer l'apparition d'un œdème pulmonaire et une insuffisance respiratoire.

II. Applications cliniques potentielles.

II.1 : Transplantation de tissus et d'organes.(31)

La transplantation est actuellement très peu développée en médecine vétérinaire alors qu'en médecine humaine, ce domaine suscite de nombreux travaux de recherche, notamment en ce qui concerne les lésions de la reperfusion. Les organes sont prélevés sur le donneur puis conservés dans la glace plusieurs heures sans perfusé avant d'être implantés et reperfusés. Ces organes souffrent de lésions de reperfusion. Une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans les troubles de l'ischémie-reperfusion peut contribuer à une meilleure préservation du greffon et donc à la réussite de la transplantation. Chaque organe possède une spécificité plus ou moins grande de tolérance aux troubles de la reperfusion. En effet, en chirurgie cutanée, la reperfusion des lambeaux cutanés provoque un œdème vasculaire et interstitiel, l'occlusion des capillaires et la nécrose tissulaire qui s'ensuit.

Les progrès des travaux concernant les troubles de la reperfusion sont essentiels pour ces organes dits sensibles. De même des travaux sont actuellement consacrés à la chirurgie cardiovasculaire. En effet lors de ces chirurgies, transplantation cardiaque ou autre type de chirurgie où un temps opératoire nécessite un arrêt temporaire du flux sanguin (clampage vasculaire), la restauration du flux sanguin entraîne ou majore des troubles déjà existants. Les études actuelles visent à minorer, chez des patients cardiopathes en insuffisance rénale chronique, les troubles liés à de telles chirurgies.

Par contre il existe des organes plus résistants à l'ischémie-reperfusion qui servent de modèles d'études.

Une étude expérimentale sur la revascularisation d'un membre chez le rat a montré qu'après une ischémie de 4 heures, le membre ischémié est presque intact : on constate seulement une augmentation modérée de son volume et un œdème tissulaire. Sa récupération fonctionnelle est bonne malgré un effondrement du pH intramusculaire et des stocks en composés énergétiques (ATP) : c'est la reperfusion (non contrôlée) qui est responsable des lésions structurales et fonctionnelles du membre revascularisé. Cette résistance à l'ischémie est, nous l'avons vu, propre au tissu musculaire.

II.2 : Toutes les situations d'étranglement ou de volvulus du tractus intestinal.(24-51)

Les étranglements ou volvulus intestinaux sont fréquemment rencontrés dans les coliques du cheval : la réduction chirurgicale entraîne alors des lésions de reperfusion, responsables en majeure partie du faible taux de succès des traitements chirurgicaux des coliques dans cette espèce. En effet, ces chirurgies sont souvent suivies d'un choc, d'un iléus, d'une péritonite ou même de la mort qui survient 2 à 3 jours après l'intervention.

La résection éventuelle d'une partie de l'intestin est décidée au cours de la chirurgie sur des critères tels que la couleur de l'intestin, la motilité ou la présence de pulsations artérielles. Nous avons vu dans la première partie que la viabilité de l'intestin n'est pas toujours macroscopiquement visible : une étude sur l'obstruction intestinale étranglée du poney a montré que si l'intestin apparaissait normal 60 minutes après relâchement de la ligature, en

Les obstructions intestinales par strangulation représentent environ 20% des cas de coliques référés chez le cheval, avec un taux de mortalité de 75%. Les lésions étranglées de l'intestin grêle les plus fréquentes sont des volvulus, des intussusceptions et des étranglements herniaires au travers d'une brèche mésentérique ou de l'anneau inguinal alors qu'au niveau du gros intestin, le volvulus du côlon est l'affection la plus rencontrée. Malgré les progrès réalisés tant au niveau de la technique chirurgicale que du suivi post opératoire, les chevaux souffrant de coliques étranglées de l'intestin grêle ont un taux de survie moins élevé (11 à 21%) que les chevaux souffrant de coliques étranglées du côlon (21 à 42%). Cette différence provient du fait que les lésions intestinales présentent plus de complications postopératoires telles l'iléus, nécrose persistante et formation d'adhérences. Les lésions surviennent plus rapidement et sont d'emblée plus sévères dans le cas de l'intestin grêle (en moyenne, pour obtenir les mêmes lésions sur le côlon, la durée de l'ischémie doit être multipliée par 1.25). La cause initiale de cette variabilité de sensibilité à l'ischémie s'explique par des différences de vascularisation et d'équipements enzymatiques en xanthine oxydase et/ou en systèmes de protection endogènes.

II.3 : Etat de choc.(2-8-44-49)

Le choc est un syndrome dominé par une insuffisance de la perfusion tissulaire avec baisse de l'apport d'oxygène et déviation du métabolisme vers l'acidose. Ses causes peuvent être très diverses : défaillances circulatoires de toutes origines, traumatismes, intoxications, toxi-infections, anaphylactiques, toxiques, endocriniennes... , le processus suivant généralement une évolution irréversible conduisant à la mort. Malgré les variantes cliniques observées, l'insuffisance circulatoire aiguë demeure le dénominateur commun de l'état de choc où tous les tissus sont insuffisamment perfusés aux dépens des organes vitaux (cerveau, cœur). Que ce soit lors de la perfusion ou de la transfusion lors de choc hémorragique, ces dernières restaurent la perfusion tissulaire et l'oxygénation mais parallèlement, elle peut provoquer des lésions de reperfusion telles que nous les avons déjà décrites.

Le syndrome dilatation-torsion de l'estomac chez le chien est un cas particulier. En effet la dilatation-torsion de l'estomac entraîne l'ischémie d'une grande partie du tractus gastro-intestinal. En outre, la compression de la veine cave caudale et de la veine porte empêche le retour du sang vers le cœur et entraîne un choc hypovolémique systémique. L'état de choc qui accompagne cette maladie présente donc de multiples composantes : choc hypovolémique, choc septique, choc endotoxinique, choc neurogène. D'autres événements survenant après la reperfusion (arythmies cardiaques, déséquilibres électrolytiques, hypotension) participent également à la physiopathologie complexe de cette entité clinique.(17)

La correction chirurgicale constitue un modèle de reperfusion tissulaire. Les lésions fréquemment observées sont une nécrose de la muqueuse gastrique, des signes de pancréatite, d'entérite, et de congestion hépatique avec des foyers nécrotiques ainsi qu'une congestion et un œdème pulmonaires. Le plus souvent, la mort survient dans les 96 heures suivant l'intervention : c'est à dire pendant la reperfusion.(6)

II.4 : Traumatismes neurologiques.(3-14-21-30)

Le traumatisme neurologique aboutit non seulement à une destruction mécanique primaire du tissu nerveux (moelle épinière et cerveau) mais aussi, à cause d'une cascade de réactions cellulaires et biochimiques associées à la formation de radicaux libres oxygénés, à des lésions dites secondaires. En effet, quelques heures après un traumatisme vertébral, des changements successifs se produisent au sein du parenchyme médullaire. On s'est aperçu que la distribution spatiale des lésions microscopiques s'étendait loin en amont et en aval de la lésion traumatique mécanique. De même, on a noté que la distribution temporelle de la nécrose des neurones s'étendait jusqu'à plusieurs heures après l'application des forces compressives. Le lieu et le temps d'apparition de ces lésions ne peuvent pas s'expliquer uniquement par le traumatisme mécanique primaire qui ne concernait justement pas les segments médullaires plus éloignés. Ces changements d'ordre secondaire, plus destructifs que la lésion primaire, sont le résultat de conditions ischémiques et anoxiques créées au sein du parenchyme plusieurs heures après le traumatisme. Ces conditions entraînent l'installation d'une cascade de réactions biochimiques qui vont aggraver la lésion primitive et la rendre souvent irréversible. Les lésions d'ordre secondaire provoquent une myélomalacie, c'est à dire une autolyse, ascendante et descendante dont le pronostic est désespéré. En effet, un patient dont des forces traumatiques ont détruit 25% de son parenchyme médullaire (et donc avec un pronostic correct), se retrouvera avec 50 ou 75% de ce même parenchyme détruit après 12 heures si aucun traitement médical ou chirurgical n'est mis en œuvre.(10) On a baptisé le temps qui s'écoule après un traumatisme médullaire aigu « les heures dorées » en référence à cette période où une intervention médicale ou chirurgicale peut réellement éviter le développement d'une ischémie secondaire et l'autolyse subséquente du parenchyme médullaire. Elles sont favorisées par plusieurs facteurs tels que la formation de substances vasoactives, l'obstruction de la microcirculation, l'infiltration de cellules inflammatoires (neutrophiles et macrophages), les changements induits par le déséquilibre calcique au niveau cellulaire, la formation d'acide arachidonique et la formation de radicaux libres oxygénés.

Le système nerveux central et périphérique est particulièrement sensible aux troubles de la reperfusion à cause de :

- sa richesse en acides gras peroxydables,
- sa faible teneur en enzymes protectrices (catalase et glutathion peroxydase),
- un mécanisme endogène de production de radicaux libres oxygénés (oxydation des monoamines),
- un rapport surface membranaire/volume cytoplasmique très élevé,
- la nature de ses cellules, incapables de réplication et donc de réparation.

Impuissant face aux lésions primaires, mais en initiant rapidement un traitement médical (ou chirurgical), le clinicien peut intervenir sur les modifications ischémiques secondaires délétères ; il en découle que l'amélioration de la perfusion médullaire par des méthodes thérapeutiques appropriées devrait conduire à une meilleure récupération.

Toute thérapeutique médicale ou chirurgicale entreprise pour soulager les effets secondaires progressifs d'un traumatisme médullaire sérieux doit pour avoir un effet préventif, être appliquée dans les quatre à six heures suivant l'accident.(11)

A bien des égards, le traitement du traumatisme médullaire est comparable au traitement des altérations métaboliques aiguës observées lors de choc. Les modifications métaboliques et vasculaires sont simplement localisées à une zone réduite de la moelle épinière au lieu d'être étendues à tout l'animal. Comme pour le choc systémique, plus tôt le traitement est institué, plus la réversibilité et la survie des neurones traumatisés sont probables.(12)

MOYENS DE PROTECTION DE L'ORGANISME ET POSSIBILITES THERAPEUTIQUES.

La production de radicaux libres existe dans les conditions normales à une échelle réduite: 1 à 2% de l'oxygène moléculaire subit un « dérapage » et se retrouve sous forme de radicaux libres dans la chaîne respiratoire mitochondriale. Il existe des mécanismes permettant de détoxifier ces radicaux libres oxygénés. Cependant, lors d'une formation exacerbée de radicaux libres telle qu'elle se produit lors de la reperfusion, les défenses de l'organisme sont dépassées d'où l'intérêt d'envisager une action thérapeutique.

I. Défenses endogènes. (31)

Les cellules ne sont pas démunies face aux attaques des radicaux libres oxygénés et peuvent prévenir, limiter et même réparer les lésions oxydatives qu'ils occasionnent. Les mécanismes protecteurs sont de deux types: ils préviennent la formation des radicaux libres et/ou ils détruisent ceux déjà formés.

I.1 La superoxyde dismutase

La superoxyde dismutase (SOD) est capable de catalyser la dismutation de O_2^- en H_2O_2 . Sa découverte a été le point de départ des connaissances actuelles sur les radicaux libres oxygénés en biologie. Le peroxyde est ensuite transformé par la catalase ou la glutathion peroxydase en H_2O et O_2 .

I.2 Cas du radical hydroxyle.

Il n'existe pas d'enzyme capable de détoxifier OH^\bullet car c'est un oxydant tellement puissant qu'il détruirait une enzyme avant même qu'elle puisse le neutraliser. La stratégie cellulaire consiste donc en la détoxification du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène (par la SOD, la catalase et la glutathion peroxydase) avant que ces espèces oxygénées puissent en produire d'autres encore plus toxiques comme OH^\bullet . Lorsque ce système est mis en faillite, la cellule ne peut que tenter de limiter ou réparer les dégâts causés par ces oxydants puissants, par des mécanismes que nous allons développer maintenant.

I.3 Lutte contre la peroxydation lipidique.

Comme nous l'avons déjà évoqué, seuls des oxydants suffisamment puissants peuvent initier la formation en chaîne de radicaux lipidiques, en réagissant directement avec un acide gras polyinsaturé ou en générant des hydroperoxydes qui peuvent à leur tour subir une décomposition catalysée par des métaux. Des antioxydants peuvent rompre la chaîne réactionnelle et interférer ainsi avec la propagation des lésions de peroxydation lipidique. Ces principaux antioxydants sont les vitamines A, C et E. Leur chef de file est la vitamine E, présente au sein de la bicouche phospholipidique principalement sous la forme alpha-

polyinsaturé ou en générant des hydroperoxydes qui peuvent à leur tour subir une décomposition catalysée par des métaux. Des antioxydants peuvent rompre la chaîne réactionnelle et interférer ainsi avec la propagation des lésions de peroxydation lipidique. Ces principaux antioxydants sont les vitamines A, C et E. Leur chef de file est la vitamine E, présente au sein de la bicouche phospholipidique principalement sous la forme alpha-tocophérol. Elle réagit avec un radical lipidique pour former une vitamine radicalaire de faible réactivité : le radical tocophéroxyle incapable d'initier lui-même la peroxydation lipidique. Le radical tocophéroxyle peut également réagir avec la vitamine C. Le bêta-carotène est lui aussi un antioxydant mais il agit à des pressions en oxygène qui sont basses, contrairement à la vitamine E et est donc peu impliqué lors de la reperfusion.

En dépit de tous les mécanismes de défense que la cellule met en oeuvre, les oxydants parviennent néanmoins à créer des lésions. En effet, ils peuvent neutraliser ou même échapper aux antioxydants endogènes, ce qui a donc nécessité la mise en place de thérapies. En médecine vétérinaire il existe un certain nombre de situations cliniques dans lesquelles il serait envisageable d'utiliser des molécules permettant de limiter d'éventuelles lésions de reperfusion.

Figure 9 : Structure de la vitamine E.

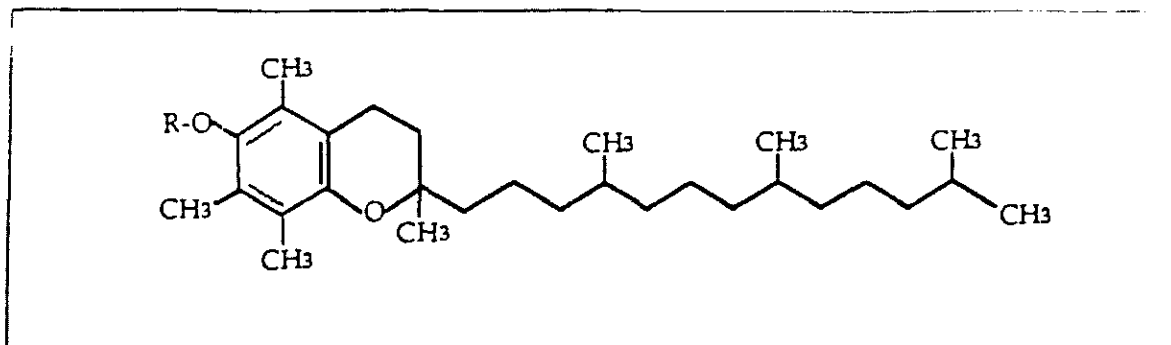
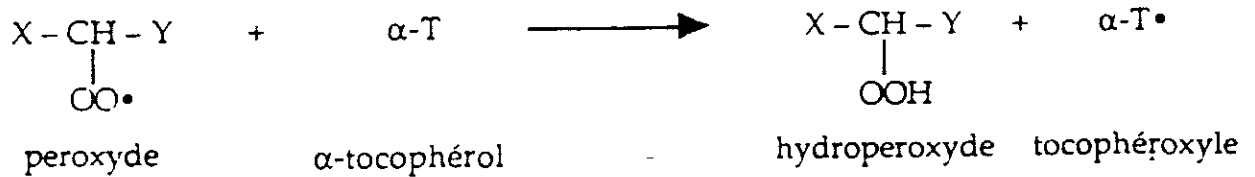
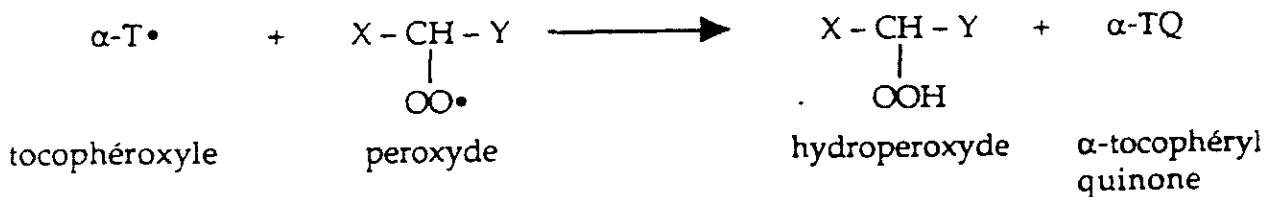


Figure 10 : Mécanisme de l'action anti-oxydante de la vitamine E.

• Le tocophérol réagit avec les radicaux peroxydes ce qui empêche la formation de nouveaux radicaux libres et interrompt la réaction en chaîne :



Le radical tocophéroxyle ($\alpha\text{-T}\cdot$) est très instable et réagit avec un second radical peroxyde :



II. Possibilités thérapeutiques.

La connaissance de quelques éléments de la pathogénie des troubles de la reperfusion conduit à envisager plusieurs possibilités d'interventions thérapeutiques :

D'une part,

- bloquer la formation des radicaux libres oxygénés,
- neutraliser les radicaux libres déjà formés,
- interrompre la propagation en chaîne qui génère des oxydants secondaires,
- améliorer les défenses antioxydantes endogènes de la cible,

D'autre part, -bloquer la génération de métabolites toxiques et de médiateurs inflammatoires.

La nature des molécules, la voie d'administration ainsi que la posologie sont difficiles à déterminer mais le moment de l'administration est encore plus délicat à définir, dans la mesure où, pour celles qui ont une action destructrice des radicaux libres ou inhibitrice de leur formation, elles doivent être présentes et actives au moment même de la reperfusion.

II.1 : Inhibition de la formation de superoxyde.(31-45)

II.1.1 : Inhibition de la xanthine oxydase.

II.1.1.1 : Allopurinol et oxypurinol.

L'allopurinol, analogue purinique, inhibiteur de la xanthine oxydase, dont le métabolite actif est l'oxypurinol, a déjà montré dans de nombreuses études, son intérêt dans la réduction des lésions de reperfusion notamment dans des situations de choc hémorragique, de ressuscitation cardio-pulmonaire, d'ischémie intestinale, cérébrale, gastrique ou hépatique, dans les transplantations d'organes ou sur des modèles de cœurs perfusés.

Malheureusement, il n'existe aucune forme injectable disponible actuellement ce qui rend nul son intérêt pour le moment. En effet, la seule forme actuellement disponible sur le marché est le ZyloricND, utilisé en prévention de la formation de calculs d'urates.

II.1.1.2 : Inhibiteurs des protéases.

Les inhibiteurs de protéases tels que le STI (soybean trypsin inhibitor) en empêchant la conversion de la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase ont été efficaces chez le chat, administrées avant une ischémie intestinale expérimentale. Ils ont atténué de manière significative l'augmentation de perméabilité vasculaire ainsi que les lésions histologiques de reperfusion.

II.1.2 : Destruction du superoxyde par la SOD.

La superoxyde dismutase présente une demi-vie, suite à une administration intraveineuse, d'environ 6 minutes, ce qui constitue son inconvénient majeur. Par contre sa conjugaison avec le polyéthylène glycol permet d'allonger sa demi-vie à 38 heures et également d'augmenter son accumulation intracellulaire.

Administrée 90 à 120 minutes avant ischémie dans un modèle de reperfusion gastrique chez des chats, elle réduit de manière significative les lésions de reperfusion alors qu'injectée 30 minutes avant l'ischémie, elle n'a aucun effet. La SOD s'est également révélée efficace pour limiter les troubles de la reperfusion sur des lambeaux cutanés.

II.1.3 : Inhibiteurs calciques.(8)

Les inhibiteurs calciques utilisés en cardiologie (diltiazem, vérapamil, nifédipine, nimodipine) ont été testés dans de nombreuses études portant sur les troubles de la reperfusion à cause de l'importance du calcium dans la pathogénie de cette entité. En évitant l'excès intracellulaire de calcium, ils inhiberaient la conversion de la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase.

En effet, la nimodipine en entraînant une vasodilatation et en augmentant localement le flux sanguin de 40% tant dans le cerveau que dans la moelle épinière améliore la perfusion sanguine des tissus ischémiés. Par contre, des vasopresseurs peuvent être nécessaires au

maintien d'une pression artérielle systémique moyenne, en raison de l'effet possible des inhibiteurs calciques sur la pression artérielle. L'association adrénaline et nimodipine s'est montrée efficace en améliorant de 60% la perfusion du site médullaire traumatisé sans aggraver les hémorragies intra-médullaires locales.

En plus de l'amélioration de la perfusion, les inhibiteurs calciques pourraient avoir une action protectrice cellulaire qui reste à prouver.

Leur utilisation a également été bénéfique dans l'atténuation des lésions de reperfusion sur un modèle d'insuffisance rénale aiguë d'origine ischémique.(1, 9)

II.2 : Inhibition de la formation de peroxyde d'hydrogène.(31)

L'administration de catalase (CAT) diminue la formation de peroxyde d'hydrogène. Cette enzyme agit en synergie avec la superoxyde dismutase. La synergie des deux enzymes SOD et CAT, administrées juste avant la réoxygénation et non avant l'ischémie, diminue les lésions de reperfusion associées à l'ischémie gastrique et à la pancréatite ischémique.

II.3 : Inhibition de la formation des radicaux hydroxyles.(45)

II.3.1 : Chélateurs du fer

La déferroxamine (DESFERAL®) est un chélateur des ions ferreux qui inhibe la transformation du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène en radicaux hydroxyles beaucoup plus toxiques. Hydrosoluble, bien tolérée et peu toxique elle n'interfère pas avec le transport d'oxygène par l'hémoglobine. Elle s'est montrée efficace dans l'atténuation du phénomène de sidération myocardique et dans la dilatation-torsion expérimentale de l'estomac chez le chien.

II.3.2 : Diméthyl Sulfoxide (DMSO)(8-33)

Le DMSO et son métabolite le diméthyl sulfide peuvent s'avérer bénéfiques en réduisant la consommation d'oxygène et de glucose des zones périphériques à une lésion traumatique du système nerveux central. De la Torre a préconisé pendant de nombreuses années l'utilisation du DMSO par voie intraveineuse lors de traumatisme du SNC.

Le DMSO :

- réduirait localement les besoins métaboliques,
- agirait comme un protecteur de membrane à haute solubilité dans les lipides,
- possède de puissantes propriétés diurétiques et des propriétés antioedémateuses,
- diminuerait l'agrégation plaquettaire,
- diminuerait la demande cellulaire en oxygène,
- détruirait les radicaux libres issus d'un environnement ischémique,
- stabiliserait les cellules endothéliales capillaires et
- aurait des propriétés anti-inflammatoires.

Ces propriétés semblent remarquablement proches de celles des corticostéroïdes.

Expérimentalement, le DMSO a été administré à raison de 0.5 à 2.5 mg par kg, trois fois par jour par voie intraveineuse comme protecteur du système nerveux central à la suite de traumatismes cérébraux ou médullaires chez le chien.

Il a également montré son efficacité sur des modèles d'ischémie intestinale et gastrique chez le chat mais par contre ne s'est pas révélé bénéfique ni dans le syndrome dilatation-torsion de l'estomac du chien ni dans la ressuscitation cardiopulmonaire chez le chien.

II.3.3 : Les agents osmotiques.(8-45)

Les agents osmotiques comme le mannitol ou la glycérine, administrés par voie intraveineuse, ont été utilisés avec succès pour réduire l'œdème cérébral post-traumatique. Ils n'ont pas donné d'aussi bons résultats sur les traumatismes médullaires où ils sont parfois contre-indiqués. Le mannitol peut être administré par voie intraveineuse, à raison de 2 g de solution à 20% par kg de poids en 30 minutes. Il doit être utilisé toutes les 4 à 6 heures pour éviter un phénomène rebond qui peut contribuer à une aggravation de l'œdème.

L'effet thérapeutique du mannitol est augmenté quand il est utilisé 15 minutes après en association avec le furosémide à la dose de 0.7 mg/kg.

En outre le mannitol est un anti-radical libre actif sur les radicaux hydroxyles.

II.3.4 : Le coma barbiturique.(8)

Les barbituriques présentent des propriétés similaires à celles du DMSO. Il a été montré que le coma barbiturique entraîne une diminution de la consommation de glucose par le tissu neural. En raison des dégâts causés à la micro-vascularisation et de la diminution du débit sanguin au siège de la lésion, la disponibilité en glucose est limitée. La survie neuronale dépendant du substrat énergétique, une diminution des besoins de la zone lésée du SNC pourrait rendre les restrictions en glucose plus tolérables. Dans la région lésée qui a tendance à s'étendre concentriquement, la réduction des besoins métaboliques induite par un coma barbiturique pourrait bénéficier aux cellules partiellement privées de leur débit sanguin normal, donc de leur apport normal en glucose.

Effets des barbituriques sur le tissu nerveux:

- diminution de la consommation cérébrale d'oxygène,
- diminution des fuites de potassium au siège de la lésion,
- réduction générale du métabolisme,
- réduction de l'œdème vasogénique au siège de la lésion,
- diminution des produits de la peroxydation des lipides au siège de la lésion,
- diminution des dégâts de la microvascularisation et réduction de l'agrégation plaquettaire.

II.4 : Antagonistes des radicaux libres non spécifiques.(31-45)

La découverte du rôle des radicaux libres et de la peroxydation des lipides dans le SNC lésé, a permis de prouver récemment que les antioxydants confèrent au système nerveux central une protection excellente pourvu qu'ils soient administrés avant la traumatisme. Ces antioxydants sont les vitamines A, C et E ainsi que le sélénium. La vitamine E (alpha-tocophérol) et le sélénium ont permis d'inhiber l'induction de la peroxydation des lipides médullaires par le chlorure de fer. Ce ne sont pas des thérapeutiques applicables car pour être protectrices, ces vitamines doivent se trouver à un taux élevé à la fois dans le sang mais aussi au niveau des tissus ce qui nécessiterait l'administration de quantités importantes, intolérables et même nocives pour l'organisme.

De nombreuses expériences ont montré qu'une supplémentation alimentaire en vitamines antioxydantes réduit les lésions ischémiques du myocarde. La supplémentation de 1000 UI de vitamine E et 50 µg de sélénium une fois par jour, pendant 5 jours, chez des chats, a montré une protection du tissu médullaire. La vitamine E vient s'intercaler entre les acides gras polyinsaturés dans la couche phospholipidique de la membrane cellulaire, les protégeant ainsi de l'attaque des radicaux libres en les oxydant.

II.5 : Les anti-inflammatoires non stéroïdiens.(8-10-14)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) bloquent la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines, dont le rôle dans le recrutement des leucocytes et par conséquent l'amplification de la réponse inflammatoire est prépondérant. L'emploi de ces substances est utile mais avec certaines restrictions, car les prostaglandines grâce à leur propriétés vasoactives sont essentielles au maintien de l'intégrité de la muqueuse gastrique et de la perfusion tissulaire d'organes tels que le rein, l'estomac et l'intestin. Supprimer les prostaglandines sur un organisme en état de choc, souffrant d'hypotension et de vasoconstriction peut se révéler dangereux.

II.6 : Les anti-inflammatoires stéroïdiens : les corticoïdes (30-44-49)

Les corticoïdes inhibent la transformation des phospholipides en acide arachidonique, étape synthétisée par la phospholipase A₂. Ils stabilisent les membranes cellulaires et lysosomiales et évitent la formation de prostaglandines et de leucotriènes. A long terme, ils sont immunosuppresseurs et diabétogènes, ils retardent la cicatrisation. Ces effets sont souvent discrets sur une si courte période, et en tout cas infiniment moindres que les bénéfices escomptés.(8)

Les corticoïdes sont la seule thérapeutique actuellement utilisable dans les situations d'urgence précédemment décrites, où les risques de troubles de la reperfusion sont grands.

L'intérêt des corticoïdes dans le traitement de l'état de choc (et des troubles de la reperfusion consécutifs) réside dans les propriétés suivantes :

- stabilisation membranaire : prévention de l'altération des membranes, de la lyse cellulaire et de la rupture des lysosomes,
- inhibition de la libération de substances vasoactives

- stimulation de la pompe cardiaque (effet inotrope positif),
- diminution de la résistance vasculaire périphérique d'où vasodilatation mésentérique et rénale et renforcement de l'intégrité capillaire,
- augmentation du métabolisme de l'acide lactique d'où diminution de l'acidose,
- lutte contre la coagulation intravasculaire disséminée par prévention de l'agrégation plaquettaire,
- inhibition de la phospholipase A₂, responsable de la libération de l'acide arachidonique.(8-22)

Dans les traumatismes neurologiques, les effets bénéfiques recherchés sont une limitation de l'extension des lésions dites secondaires de la moelle épinière, une réduction de la peroxydation lipidique grâce à une action anti-radicaux libres et la préservation de la perfusion sanguine au niveau des tissus (limitation de l'ischémie).

Ces effets bénéfiques ne se manifestent cependant qu'à des doses élevées de l'ordre de 30 mg/kg pour la méthylprednisolone (utilisée généralement à la posologie de 1 mg/kg) et 4 mg/kg pour le dexaméthasone. En effet, en 1985, le premier « National Acute Spinal Cord Injury Study » (étude nationale des traumatismes médullaires) comparait l'efficacité de la méthylprednisolone à faibles (1.4 mg/kg) et hautes doses (14 mg/kg). Non seulement aucune différence significative ne fut reconnue entre les cas traités et les placebos, mais de plus les hautes doses entraînèrent des complications par fragilisation des membranes cellulaires.(10) A cette concentration, ce n'est pas seulement l'effet anti-inflammatoire qui est recherché (il existe à des doses plus faibles) mais une stabilisation des membranes cellulaires contre la peroxydation lipidique. Il fut démontré que l'effet optimal était obtenu pour une dose thérapeutique beaucoup plus élevée, de l'ordre de 30 mg/kg. L'intervention précoce nécessite le recours à la voie intraveineuse et à une forme hydrosoluble. La molécule qui a montré le plus d'efficacité est la méthylprednisolone sous forme de succinate sodique. Cette protection est transitoire et le traitement doit être entrepris précocement (dans les huit heures suivant le traumatisme comme l'a démontré une étude nationale en 1992) c'est à dire avant que la lésion dite secondaire ne soit installée et ne pas excéder 24 à 48 heures, selon les cas car on favorise alors l'apparition des effets indésirables des corticoïdes. Les complications possibles sont celles associées à tout traitement avec des doses élevées de corticoïdes, pratiquement et surtout avec la dexaméthasone (hémorragie, gastro-entérite, ulcération gastrique et pancréatite). L'administration préventive de pansements gastro-intestinaux et de cimétidine, destinée à inhiber la gastrine et la sécrétion subséquente de chlorhydrate, peut être indiquée pendant une administration prolongée de corticostéroïdes.(16)

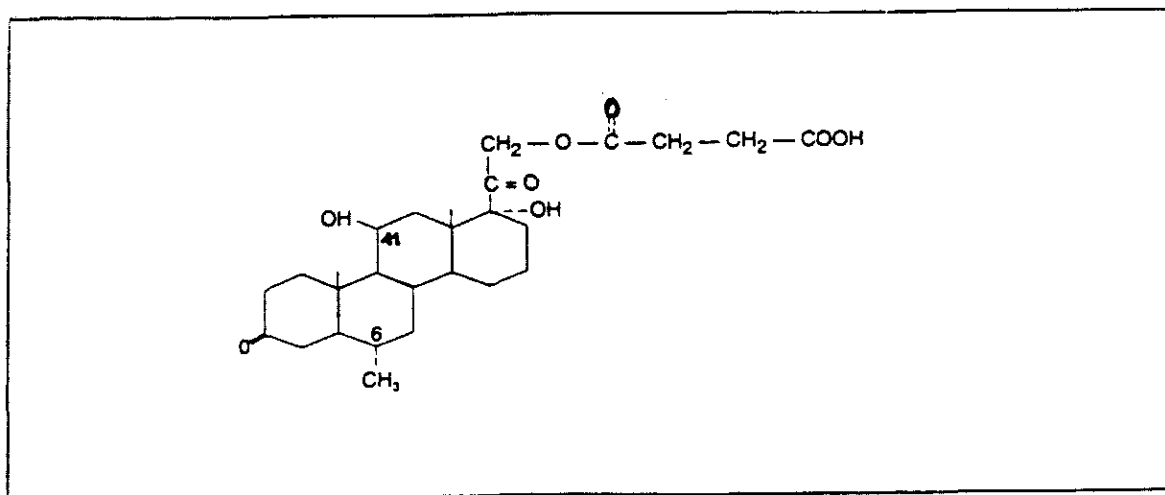
Le protocole qui procura le maximum d'amélioration des fonctions nerveuses de façon statistique et significative est l'administration dans les 3 heures d'une première dose de 30 mg/kg de méthylprednisolone en embol IV suivie d'une perfusion de 5.4 mg/kg/h durant 24 heures. Si le traitement est initié entre 3 et 8 heures après le traumatisme (cas le plus fréquent en médecine vétérinaire), la perfusion doit en revanche être maintenue pendant 48 heures. De plus il existe un autre protocole préconisé par d'autres auteurs qui a fourni des résultats similaires. La première administration est identique suivi de 15 mg/kg 2 heures puis 6 heures après le traumatisme, puis 2.5 mg/kg/h pendant les 42 heures qui suivent.

Les injections devraient être administrées lentement sur une période de 5 à 10 minutes pour éviter une hypotension et une bradycardie.(1-4-10-16)

Ce protocole n'a d'intérêt, selon certains auteurs, que lors de traumatisme. En particulier, la hernie discale, si elle n'est pas brutale (type Hansen I explosive) ne constitue pas une indication.(21)

En ce qui concerne le protocole utilisant la dexaméthasone, les administrations sont de 4 mg/kg en bolus IV toutes les 6 heures pendant les 24 premières heures. Cette posologie est ensuite réduite au troisième jour à un tiers de la posologie initiale. On maintient cette posologie avec de la prednisolone per os pendant les 7 à 10 jours suivants. (16)

Figure 11: Structure chimique du succinate de méthylprednisolone.



Bilan des mécanismes neuroprotecteurs de la méthylprednisolone (45)

- inhibition de la peroxydation lipidique.
- inhibition de l'hydrolyse des lipides et de la formation des eicosanoïdes.
- maintenance du flux sanguin tissulaire.
- maintenance du métabolisme énergétique aérobie.
- réduction de la dégradation des neurofilaments.
- arrêt de l'accumulation de Ca^{2+} intracellulaire.
- réduction de la dégradation des neurofilaments.
- accroissement de l'excitabilité neuronale et de la transmission synaptique.

II.7 : Les gangliosides.(8-10)

Les gangliosides sont des glycolipides complexes présents à haute concentration dans le système nerveux central et qui ont prouvé qu'ils amplifiaient la récupération neurologique en stimulant la croissance des cellules nerveuses, le bourgeonnement axonal, et la régénération des tissus lésés. La première étude conduite chez l'homme fut réalisée en 1991 avec le monosialo-tétra-hexosyl-ganglioside (GM-1) administré 48 heures après le traumatisme, et durant 26 jours en moyenne. Ce traitement donna des résultats apparemment identiques au bout d'un an à ceux conduits avec la méthylprednisolone à haute dose. Le mécanisme d'action est différent au sens large de celui des inhibiteurs des radicaux libres et de ce fait ne rentre pas directement dans le cadre du sujet même s'ils minimisent à long terme les lésions de type secondaire (en grande partie dues aux radicaux libres). En France, les gangliosides qui sont des produits dérivés de tissus d'origine bovine sont interdits d'utilisation.

II.8 : La naloxone.(8-45)

Il a été montré que les troubles vasculaires au niveau médullaire à l'origine des lésions de reperfusion étaient aggravés par les opioïdes endogènes (endorphine, dynorphine). En effet les opioïdes endogènes sont à l'origine d'hypotension systémique ce qui exacerbe l'ischémie post traumatique. La naloxone, un bloqueur non spécifique des récepteurs opioïdes s'est révélée efficace dans des expériences de traumatismes médullaires en améliorant la pression artérielle moyenne, le flux sanguin médullaire ainsi qu'en diminuant l'hypocalcémie sur le site traumatisé.

Le protocole utilisé lors de ces différentes études était une injection en bolus IV de 5 à 10 mg/kg dans les 2 heures suivant le traumatisme, suivi de perfusion avec un débit de 10 à 30 mg/kg/h.

Récemment des recherches ont montré que des récepteurs gamma et kappa devaient entrer en jeu dans les traumatismes médullaires ce qui laisse présager que de nouveaux antagonistes spécifiques de ces récepteurs apporteront des résultats prometteurs.

Il existe également un autre antagoniste partiel physiologique des opioïdes endogènes et qui n'altère pas leur effet analgésique. Cet antagoniste est la TRH (thyrotropin-releasing hormone). Aux doses de 1 à 2 mg/kg IV suivies de 1 à 2 mg/kg/h pendant 4 heures, la TRH s'est révélé aussi efficace que la naloxone ou la dexaméthasone dans l'amélioration des fonctions neurologiques.

II.9 : Action sur les conditions de reperfusion : « la reperfusion contrôlée ».

De nombreuses expériences ont été menées en chirurgie cardiovasculaire sur les conditions de reperfusion afin de limiter l'apparition de lésions dites de reperfusion. L'action thérapeutique à ce niveau est envisageable lors de chirurgie avec circulation extracorporelle par exemple, mais les perspectives en médecine vétérinaire restent tout à fait théoriques pour le moment.

II.9.1 : Théories utilisant l'oxygène. (8-31)

Deux théories radicalement opposées ont procuré de bons résultats dans les troubles de la reperfusion.

II.9.1.1 : Théorie visant à diminuer ou différer la réintroduction de l'oxygène.

Ceci permet d'éviter la flambée de radicaux libres produits pendant la reperfusion.

Chez l'animal, des expériences portant sur l'ischémie myocardique ont pu réduire l'incidence des fibrillations en diminuant le débit sanguin de reperfusion. En effet, c'est la durée et l'intensité de l'ischémie ainsi que la brutalité de la reperfusion qui conditionnent l'apparition d'arythmies. La diminution du débit sanguin permet également de diminuer l'intensité de l'œdème post-reperfusion.

Des expériences de reperfusion contrôlée sur l'estomac ont montré que :

- la reperfusion progressive diminue les lésions de reperfusion (hémorragies de la muqueuse) par un phénomène encore inconnu. Une des explications invoquées s'appuie sur le fait que l'étalement de la production de radicaux libres sur une période plus longue permettrait aux antioxydants endogènes d'agir.
- la reperfusion avec un sang peu oxygéné (reperfusion différée) entraîne peu d'hémorragies de la muqueuse stomacale dans un premier temps. Lors du retour à la normoxie, les lésions apparaissent mais sont moins importantes que sur le lot témoin.

II.9.1.2 : Théorie de l'hyperventilation et de l'oxygène hyperbare.

Cette théorie a été avancée lors de l'étude des lésions des traumatismes cérébraux ou médullaires.

L'hyperventilation réduit la teneur du sang en CO_2 , augmente la pression vasculaire en O_2 , réduit le flux vasculaire cérébral et peut être utilisée avec profit pour réduire l'œdème cérébral. Le flux sanguin local du cerveau est auto-régulé par la teneur du sang en CO_2 dans une région donnée. On peut faire baisser la pression intracrânienne en réduisant le CO_2 , tout en hyperventilant avec de l'oxygène. Un phénomène similaire a été noté expérimentalement avec l'utilisation d'oxygène hyperbare (HBO) tant sur le cerveau que sur la moelle épinière. L'oxygène hyperbare induit une vasoconstriction, réduit l'œdème et augmente localement la teneur plasmatique en oxygène. Le flux sanguin s'en trouve réduit et sa capacité à transporter l'oxygène augmentée. Au long terme, le rétablissement du fonctionnement de la micro-vascularisation au siège de la lésion, permet la survie du tissu nerveux en maintenant la polarité électrique de la membrane neuronale et par conséquent sa stabilité.

Le mécanisme de ce traitement ne fait pas intervenir directement la notion de radicaux libres mais cette théorie a le mérite de pouvoir être opposée à la précédente.

II.9.2 : Diminution de la température de l'organe ischémié.(31)

L'hypothermie est réalisée en chirurgie cardiovasculaire par l'utilisation de solutions de reperfusion dont la température est abaissée. Ceci a pour but de diminuer l'activité métabolique de l'organe reperfusé et de limiter par conséquent la consommation en oxygène et substrats énergétiques ainsi que la production de déchets métaboliques néfastes pour la cellule, tout en maintenant au minimum les processus vitaux. En outre, la diminution de la température inhibe certaines enzymes telles que les phospholipases permettant ainsi une protection contre la peroxydation lipidique.

II.9.3 : Modification de la composition ionique des perfusats.(31)

De nombreuses expérimentations tant au niveau chirurgie cardiovasculaire chez l'Homme avec circulation extracorporelle qu'au niveau animal (revascularisation d'un membre ischémié chez le rat) ont permis d'établir des solutions de « reperfusion » afin de limiter les lésions dites de reperfusion. Les solutions de reperfusion possèdent les caractéristiques suivantes :

-la solution est hypertonique afin de limiter l'œdème cellulaire et le phénomène de non-reflux qui en résulte.

-des anti-radicaux libres lui sont ajoutés afin de neutraliser les radicaux libres générés par la reperfusion.

-le perfusat est pauvre en calcium afin de diminuer l'influx de calcium dans la cellule. Cependant il s'est avéré qu'une hypocalcémie trop importante produit aussi des lésions et une moins bonne récupération.

-l'utilisation de bicarbonate permet de lutter contre une acidose trop importante.

-la solution contient une certaine proportion de sang qui permet de véhiculer de l'oxygène.

Après 20 minutes de reperfusion contrôlée, la revascularisation « normale » est rétablie.

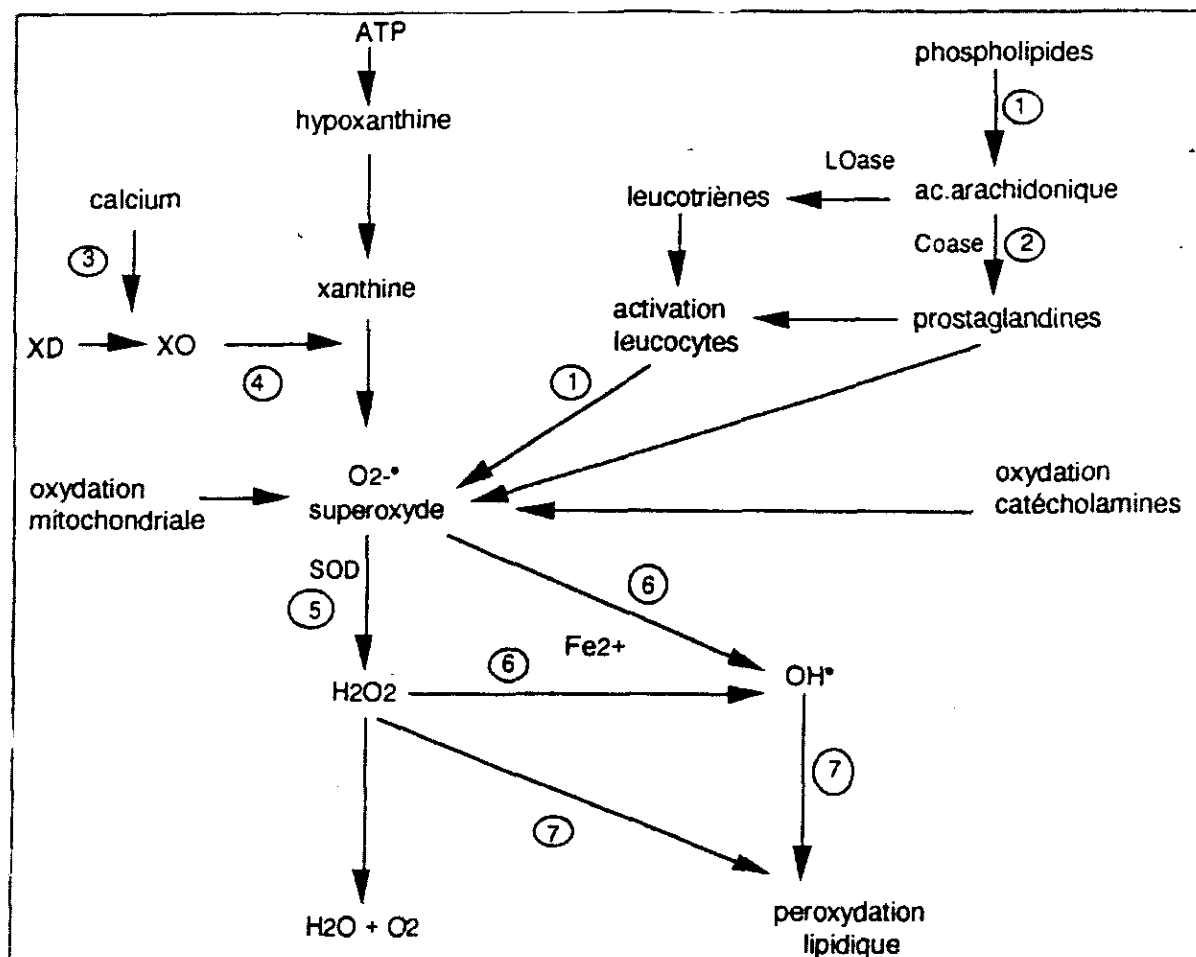
Quelques autres expériences ont permis d'apporter d'autres caractéristiques sur ces solutions.

Une expérience menée sur des cœurs de chats isolés et perfusés, montre les effets bénéfiques d'une solution cardioplégique hypothermique, dont l'efficacité est améliorée par l'adjonction de CAT et SOD.

Une autre étude menée sur des chiens avec circulation extracorporelle modifie la composition du sang reperfusé : diminution du calcium ionique, augmentation du pH, augmentation du potassium (maintien de l'arrêt cardiaque et réduction de l'activité métabolique), augmentation de l'osmolarité par adjonction de mannitol. Les résultats sont alors positifs : il y a amélioration de la récupération fonctionnelle du myocarde.

Ces techniques sont expérimentales et loin d'être, pour le moment, à la portée du vétérinaire.

Figure 12 : Schéma récapitulatif des mécanismes d'apparition des lésions de reperfusion et de quelques moyens thérapeutiques potentiels.



Coase : cyclooxygénase

Loase : lipooxygénase

1 : inhibition par les corticoïdes

2 : inhibition par les AINS

3 : diminution de l'influx calcique

4 : inhibition de la xanthine oxydase (allopurinol)

5 : détoxification du superoxyde par la SOD endogène ou exogène

6 : inhibition de la formation d'hydroxyle par les chélateurs du fer

7 : inhibition par les radicaux libres non spécifiques (DMSO, mannitol...)

Quatrième partie.

LES LAZAROÏDES OU 21-AMINOSTEROÏDES

Une nouvelle série d'inhibiteurs des radicaux libres oxygénés fut créée lorsque fut compris que la capacité membrano-protectrice de la méthylprednisolone avait une origine indépendante de son activité glucocorticoïde ou minéralocorticoïde. Il est apparu envisageable de s'affranchir de leurs effets indésirables. Ces nouvelles molécules sont connues sous le nom de 21-aminostéroïdes ou lazaroïdes.

I. Biochimie. (46)

I.1: Nom chimique

21-(4-(2,6-di-1-pyrrolidinyl-4-pyrimidinyl)-1-piperazinyl)-16 α -méthyl-pregna-1,4,9(11)-triène-3,20-dione, monométhane sulfonate

I.2: Numéro de laboratoire

U-74006F

I.3: Nom générique

Tirilazade Mesylate, qui sera appelé TM dans la suite de l'exposé.

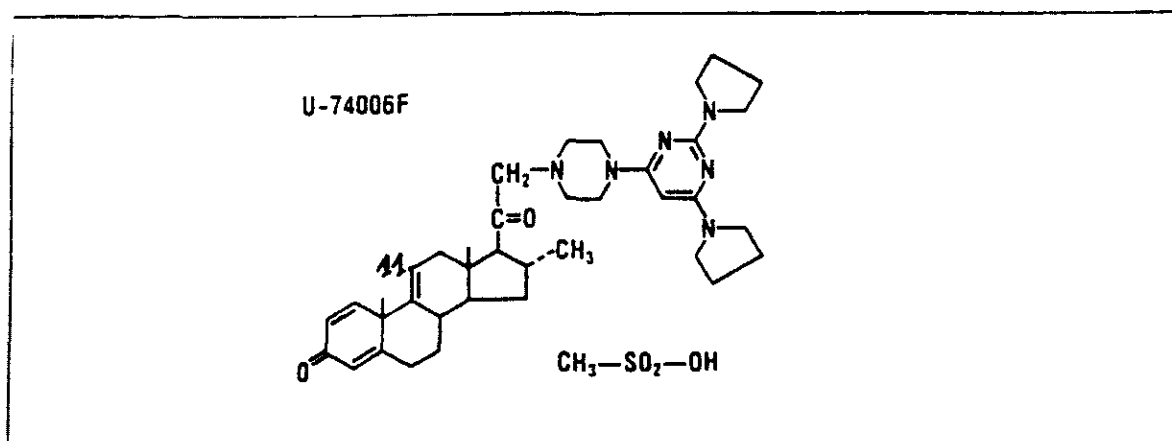
I.4: Nom déposé

FREEDOX® Laboratoire Upjohn (commercialisation prochaine)

I.5: Structure

Les lazaroïdes ne possèdent pas le groupe 11-bêta hydroxyl des corticoïdes. Ce site de fixation de la molécule sur son récepteur est à l'origine des activités gluco ou minéralocorticoïdes. La seconde génération de lazaroïdes, encore à l'étude expérimentale, inclue le site actif de la vitamine E

Figure 13 : Structure chimique du Tirilazade Mesylate.



I.6: Formule

$C_{38}H_{52}N_6O_2 \cdot CH_4SO_3 \cdot nH_2O$

I.7: Poids moléculaire

738.4 (avec une molécule d'eau)

I.8: Propriétés physiques

-de la drogue brute : la drogue brute de tirilazade mesylate est un solide cristallin hygroscopique qui est soluble au pH bas ou dans des solvants comme l'éthanol. La drogue brute en poudre n'est pas soluble dans l'eau ou solution saline au pH physiologique.

-de la solution stérile : la formulation pour injection parentérale est une solution claire, d'une couleur jaune soutenue avec un pouvoir tampon de 0.017 et une osmolalité de 183 mOsm/kg.

I.9: Présentation

solution pour injection parentérale

I.10: Voie d'administration

voie intraveineuse

NB: à ce niveau de développement, il est recommandé pour les administrations IV de filtrer la solution avec une aiguille filtre.

II : Pharmacologie.(47)

II.1 : Formulation

La solution de Tirilazade Mesylate (TM) est une solution stérile à 1.5 mg/ml de TM, d'acide citrique, de citrate de sodium et de chlorure de sodium. Le TM agit comme un détergent qui par conséquent augmente la surface de tension de la solution, ainsi il est recommandé pour éviter la formation de bulles de ne pas secouer vigoureusement la solution.

II.2 : Compatibilité de la solution

La présentation pour injection IV de la solution ci-dessus est compatible avec les solutions injectables suivantes :

- solution de dextrose à 2.5% et 5%
- solution de chlorure de sodium à 0.45% et 0.9%
- eau stérile pour injection.

Par contre la solution de TM est incompatible avec la solution de Ringer Lactate. Ceci est dû aux effets du pH alcalin sur la stabilité chimique et physique de la solution de TM.

La solution de TM à 0.375 mg/ml (dilution 1/4) dans une solution de chlorure de sodium à 0.9% est physiquement et chimiquement stable dans les pochons en plastique les plus couramment utilisées et ceci pendant 48 heures à température ambiante et protégée de la lumière. La solution est également compatible avec les tubulures plastiques et ceci avec un minimum d'absorption. La solution est chimiquement stable dans les seringues stériles pendant 2 jours à 4°C et à l'obscurité. La solution peut être conservée réfrigérée (2-8°C) et protégée de la lumière à condition d'être utilisée dans les 48 heures, mais il est préférable pour des raisons de stabilité physique et de stérilité d'utiliser les solutés préparés quotidiennement.

II.3 : Précautions d'emploi

- si les yeux sont exposés : irriguer abondamment à l'eau claire
- si la peau est exposée : laver au savon et à l'eau
- en cas d'ingestion : contacter un centre anti-poison ou le laboratoire Upjohn.

III.Pharmacodynamie et pharmacocinétique

III.1 : Absorption

Après une administration unique par voie IV de 3 mg/kg de TM à des rats, la concentration plasmatique décroît de façon exponentielle avec une demi-vie d'environ 1,2 heure. Une administration à 30 mg/kg donne une concentration plasmatique de 19.3 µg/ml 0,1 heure après administration et 0.139 µg/ml 8 heures après.

La concentration maximale observée après administration per os d'une dose de 30 mg/kg est d'environ 0,4 µg/ml ce qui représente seulement 2% de la concentration plasmatique observée après administration IV. La biodisponibilité du TM administré par voie orale est estimée à environ 15%, ce qui explique son faible potentiel d'action par cette voie et qu'il est donc préférable d'utiliser la voie IV, qui est également la voie « des urgences ». Les effets sur l'amélioration des fonctions neurologiques du TM per os sont environ 1000 fois moins importants que ceux observés suite à l'administration par voie IV.

L'administration concomitante d'autres molécules, à savoir la nimodipine ou la méthylprednisolone, ne modifie statistiquement pas les différentes données de pharmacocinétique.

III.2 : Distribution

Afin de déterminer sa distribution tissulaire et son métabolisme, le TM a été synthétisé avec du C_{14} localisé sur le carbone C-16 du groupement méthyle.

L'administration d'une dose bolus IV de 3 mg/kg de $[C_{14}]U674006F$ montre une distribution rapide de la radioactivité dans le sang. Puis 15 minutes après seulement moins de 2% de composé est retrouvé dans la circulation périphérique. Excepté pour le sang total, les érythrocytes, les yeux et le système nerveux central, tous les tissus ont une concentration en radioactivité plus importante 24 heures après l'injection. La plus grande concentration tissulaire à 24 heures est observée par ordre décroissant dans la graisse brune, la graisse blanche, la glande de HARDER à niveau égal avec l'iléum, le jéjunum et le cæcum, puis l'ensemble des glandes thyroïdes, parathyroïdes et surrénales. A 360 heures, les plus fortes concentrations sont au niveau des glandes thyroïdes, parathyroïdes, puis la graisse blanche et les glandes surrénales et la graisse brune.

Les mesures réalisées suite à des administrations répétées de doses IV de 60 mg/kg/j pendant 30 jours chez le singe et le chien montrent une accumulation de TM au niveau du cœur, du foie et du muscle squelettique.

III.3 : Biotransformation

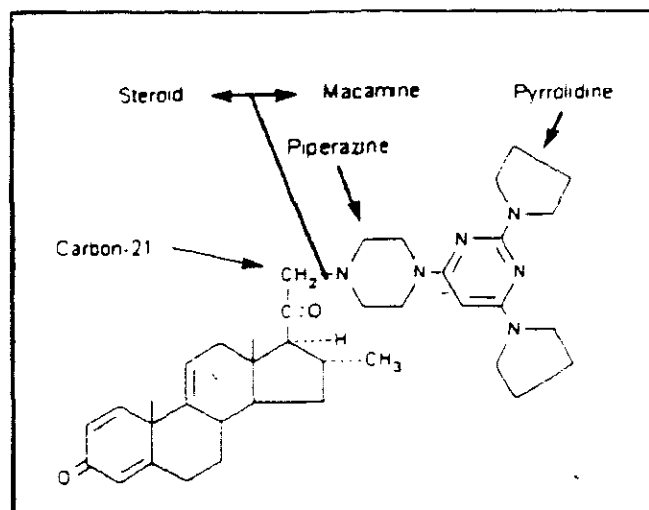
Pour cette étude, le TM a été synthétisé avec un atome de carbone 14 localisé au carbone numéro 16 du groupement méthyle du noyau stérol (portion stéroïde) et/ou au carbone numéro 2 du cycle pyrimidine (portion macamine) afin de déterminer le devenir de chaque portion.

Suite à l'administration de TM marqué dans sa portion stéroïde, on a mesuré dans les 8 heures une excrétion biliaire de 27% de la dose initiale chez le rat, 9% chez le chien et 36% chez le singe.

49 métabolites ont été trouvés dans la bile de chien (52 chez le rat) suite à l'administration de TM doublement marqué. Ces métabolites représentent approximativement et respectivement 27% et 31% de la dose initiale en portion stéroïde et portion macamine. La biotransformation du TM est caractérisée par un clivage de la molécule donnant les 2 portions (stéroïde et macamine). La portion macamine subit une oxydation du noyau pyrrolidine et du noyau pipérazine. La portion stéroïde subit une glucuronidation et une réduction de son noyau A.

Des études menées chez le chien et le singe en doses répétées n'ont pas montré une induction enzymatique du métabolisme, cependant aucune étude sur le cytochrome P-450 n'a été entreprise.

Figure 14 : Structure chimique du TM utilisé lors des études de biotransformation.



III.4 : Excrétion

Les données provenant de l'étude de nombreuses espèces (rat, singe, chien) examinées montrent que la plupart des composés radioactifs sont éliminés par les selles et par les urines dans une proportion moyenne respective de 90% et 4%. Ceci témoigne aussi du fait que le principal métabolisme est hépatique et biliaire. La mesure de la radioactivité au cours du temps a montré une demi-vie très longue qui pourrait être due à l'existence de métabolites à longue demi-vie.

III.5 : Liaisons aux protéines

Des études préliminaires sur les liaisons protéiques réalisées in vitro avec du TM constitué avec de l'hydrogène tritié indique que le pourcentage de liaison protéique est de 96% minimum.

III. Toxicologie.(47)

Les études in vitro et in vivo ne montrent pas les effets classiques des stéroïdes (glucocorticoïdes et minéralocorticoïdes) des androgènes et des oestrogènes. Les études n'ont révélé aucune propriété immunosuppressive.

Les études in vitro comme in vivo chez l'animal indiquent que l'utilisation thérapeutique chez l'homme du TM est probablement peu associée aux effets secondaires neurologiques, cardiovasculaires, sur la fonction gastro-intestinale et sur l'homéostasie des hormones stéroïdes.

Initialement une formulation dont l'excipient était l'acide chlorhydrique a été utilisée pour étudier le potentiel toxique du TM. Les propriétés irritantes de cet excipient ont rendu difficile l'interprétation des résultats. Dès lors a été développée une formulation avec comme excipient le citrate, l'acide citrique et le propylène glycol pour étudier la toxicité du TM.

Des études toxicologiques ont été menées chez la souris, le rat, le chien et le singe, ce qui a permis de définir clairement la toxicité du TM.

Etant donné la faible solubilité du TM en milieu basique et la faible tolérance pour les composés acides pour la voie parentérale autres qu'intraveineuse, la voie orale a été sélectionnée comme seconde voie d'administration pour définir la toxicité du TM. Le TM a été solubilisé dans 1% d'hydroxypropylméthylcellulose et dans une solution aqueuse à 0.5% de polysorbate 80.

Les études de toxicité orale sur 30 jours chez le chien ont été menées en utilisant le TM en poudre contenu dans des capsules en gélatines.

III.1 : Etude de toxicité aiguë : étude après administration d'une simple dose.

Des études sur l'administration de plusieurs doses uniques par voie orale ou par voie intraveineuse ont été conduites chez la souris et le rat. Les administrations à très hautes doses provoquent frémissements, convulsions, détresse respiratoire, nécrose au point d'injection et mort.

En résumé, les signes toxiques induits par le TM après administration IV sont qualitativement similaires chez le rat et la souris. Les administrations IV chez les rongeurs montrent que le TM est modérément toxique. Que ce soit chez le rat ou la souris la dose minimale létale après administration orale apparaît être très supérieure à 5000 mg/kg de poids vif.

III.2 : Etude de toxicité chronique : étude après administration de doses répétées.

III.2.1 : Etude chez le rat.

Les études ont révélé que des administrations de dose de 65 mg/kg/j pendant 14 à 30 jours ont été bien tolérées. Il est également mentionné des essais à 1000 mg/kg/j pendant 30 jours mais les résultats n'ont pas été encore confirmés.

III.2.2 : Etude chez le chien.

5 études toxicologiques à dose répétée ont été conduites chez le chien pendant 30 jours, 4 études avec administration par voie IV et une par voie orale.

Dans les études avec administration par voie intraveineuse, il n'y a pas eu d'effets toxiques notables aux doses de 30 mg/kg/j et plus. Cependant au-delà de la dose de 45 mg/kg/j a été observé :

- trémulations
- augmentations des valeurs sériques des ALAT/ASAT et CPK
- augmentation du dépôt de lipides dans le foie (stéatose)
- augmentation du poids du foie
- cardiomyopathie
- rhabdomyopathie.

Afin de rechercher les indications du TM en cardiologie, une étude par injection bolus a été conduite de la façon suivante : une injection bolus par la veine céphalique de 5 ou 10 ml d'une solution à 25 mg/ml suivie d'administration de 30 ou 60 mg/kg/j à l'aide d'un cathéter.

Les résultats sont une légère augmentation de l'intervalle Q-T. Sur ces chiens il n'a pas été noté de dysfonctionnement cardiaque à court et long terme.

III.2.3 : Etude chez le singe.

Les études menées chez le singe *Cynomolgus* avec administration par voie intraveineuse ont montré une augmentation sérique des taux de créatinine, d'ASAT et triglycérides aux doses de 30 et 60 mg/kg/j. A été noté une augmentation du poids du foie dans le groupe étudié à 60 mg/kg.

III.3 : Etudes des organes cibles.

D'après les études précliniques les organes suivants ont été considérés comme cibles :

- système cardiovasculaire
- muscle squelettique et cardiaque
- le foie ainsi que les lipides hépatiques et le sérum
- le tissu lymphoïde.

III.3.1 : Effets cardiovasculaires.

Sur toutes les études menées aux doses uniques et répétées jusqu'à 65mg/kg/j sur des modèles animaux anesthésiés ou non, aucune modification de la fréquence cardiaque, de la pression artérielle moyenne diastolique ou systolique n'a été observée. La seule modification notable est un allongement de l'intervalle Q-T.

III.3.2 : Effets sur le muscle squelettique et cardiaque.

Chez les chiens, l'allongement de l'intervalle Q-T sur l'électrocardiogramme précède le début des effets dégénératifs sur le cœur (cardiomyopathie). Une dégénérescence localisée et une nécrose du muscle cardiaque et squelettiques ont été observées sur quelques chiens suite à l'administration IV pendant plus de 3 semaines de doses supérieures à 45 mg/kg/j. Les lésions myocardiques ont été fatales à la fin des études pour les chiens ayant reçu des doses de 1000 mg/kg/j par voie orale pendant 30 jours et chez un chien ayant reçu 60 mg/kg par voie IV pendant 30 jours.

Les trémulations et la rhabdomyopathie ont été observées pour des doses fortes et répétées. La sévérité des trémulations est temps et dose-dépendante. Les trémulations ont débuté après 14 jours d'administration par voie IV de TM aux doses de 45, 60 ou 63 mg/kg/j chez le chien. Lors d'études de toxicité menées par voie orale à la dose de 1000 mg/kg, la mort est précédée par de sévères trémulations musculaires.

Les trémulations musculaires sont accompagnées par une augmentation réversible du taux sérique de CPK. De même les trémulations sont réversibles autour de 30 jours après arrêt des injections.

Lors des études IV et par voie orale, aucune anomalie n'a été notée au niveau de l'électroencéphalogramme et de l'électromyogramme. Aucun déficit des nerfs crâniens n'a été signalé. Ces analyses permettent de conclure que les trémulations ont uniquement une origine neurochimique ou neuromusculaire, cependant aucun mécanisme d'action n'a été déterminé.

Une étude a été menée pour déterminer le temps d'induction et de réversibilité des lésions des muscles cardiaque et squelettique sur des chiens mâles de race Beagle. Le TM en solution tampon citratée a été administré par voie intraveineuse 4 fois par jour pendant 7, 14, 21 ou 30 jours à la dose totale quotidienne de 0 à 60 mg/kg.

Le TM à la dose IV de 60 mg/kg/j a été bien toléré pendant une durée maximale de 14 jours. A cette même dose pendant une durée supérieure à 2 semaines, on note l'apparition de trémulations musculaires chez la plupart des animaux.

On observe une augmentation réversible des CPK sériques chez 2 des 4 chiens après 30 jours de traitement avec 60 mg/kg/j de TM. Les lésions de rhabdomyopathie (1 chien) et de cardiomyopathie (2 chiens) s'observent lors d'essais à la dose de 60 mg/kg/j au-delà d'une durée de 30 jours. TM est toujours détectable dans le tissu adipeux ou le muscle squelettique 90 jours après la fin d'une période d'administration de 30 jours.

III.3.3 : Effets hépatiques et sur le métabolisme lipidique.

Les changements hépatiques sont caractérisés par une augmentation du poids du foie à l'autopsie des chiens ayant reçu des doses par voie IV de 20, 30, 45 et 60 mg/kg/j. L'augmentation du poids du foie est dose dépendante. L'analyse microscopique du foie montre:

- une accumulation de lipides
- une hypertrophie cellulaire
- une vacuolisation cytoplasmique hépatocellulaire
- une augmentation des valeurs sériques des ALAT et ASAT
- ainsi qu'une nécrose hépatocellulaire.

De plus aucun effet hépatique n'a été observé chez le chien aux doses de 6.3 mg/kg/j par voie IV et 200 mg/kg/j par voie orale.

En résumé, les lésions hépatiques sont caractérisées par une augmentation du poids du foie et une augmentation des valeurs enzymatiques du foie et apparaissent être temps et dose dépendantes et réversibles après arrêt du traitement.

Les effets du TM, administré par voie orale pendant 14 jours, sur les lipides hépatiques et sur les lipoprotéines plasmatiques ont été examinés aux doses de 100, 250 et 500 mg/kg/j chez des rats femelles. L'administration de TM cause une augmentation du poids du foie ainsi que des HDL et cholestérol plasmatique. L'analyse sérologique et histologique ne montre aucune lésion hépatocellulaire. Chez les chiens, les changements des paramètres lipidiques sanguins sont observés pour des doses IV de 19 à 65 mg/kg/j. Ces modifications sont une augmentation du taux de cholestérol, de triglycérides, de phospholipides et des acides gras non estérifiés. Les doses sans effet sur les lipides plasmatiques sont de 6.3 mg/kg en IV et de 20 mg/kg per os chez le chien.

III.3.4 : Effets sur les tissus lymphoïdes.

Les changements histologiques observés (vacuolisation, cytolysse) ne ressemblent pas aux effets des composés immunosuppresseurs. Aucune immunosuppression n'a été démontrée dans les études de 14 et 30 jours dans lesquelles les réponses d'activation lymphocytaire ont été testées.

Quand la portion macamine (U 75365) de la molécule de TM est administrée seule au chien en IV, les lésions observées sont morphologiquement similaires à celles observées quand le TM est administré à forte dose. Ceci suggère que ces changements ne soient pas dus aux effets des stéroïdes mais probablement liés à la portion macamine.

III.4 : Etudes de toxicologie sur les fonctions de la reproduction

III.4.1 : Effets toxicologiques sur le développement et la reproduction.

De nombreuses études ont été menées pour connaître les effets du TM sur la fertilité et autres performances générales de la reproduction ainsi que sur le développement. Ces études ont été menées en majorité chez le rat. De plus une étude de tératologie a été menée chez le lapin, ainsi qu'une étude de développement post-natal chez le rat.

Résultats :

- Aucun effet sur la fertilité et sur les performances générales de la reproduction n'a été observé chez le rat aux doses orales de 800 mg/kg/j.
- En matière de tératologie, le TM s'est montré embryotoxique lors d'administration à 800 mg/kg/j mais il n'y a aucune preuve de foetotoxicité ni d'effet tératogénique.

III.4.2 : Potentiel mutagène.

Le TM ne s'est pas montré mutagène lors d'essai in vitro effectué sur Salmonella et Escherichia Coli, sur lymphocytes humains ou sur la synthèse d'ADN.

III.4.3 : Potentiel carcinogène.

Aucune étude carcinogénique ou de toxicité à long-terme n'a été conduite avec le TM. Les données de différentes études de toxicité génétique in vitro et in vivo montrent que le TM n'est pas mutagène. De plus il n'y a aucune structure du TM qui puisse suggérer un potentiel carcinogénique. Ces faits et la limite de 10 jours de traitement chez l'homme excluent la nécessité d'étude de carcinogénicité chez l'animal.

III.5 : Etude de tolérance locale.

Plusieurs études ont été menées pour examiner le potentiel d'irritation vasculaire de plusieurs formulations de TM chez le rat, le lapin et le chien. La concentration de la solution de TM varie de 0.375 à 5 mg/ml et les excipients et leurs nombreuses combinaisons sont : l'acide citrique, une solution tampon de citrate de sodium, l'acide phosphorique, le chlorure de sodium, le propylène glycol, l'hydroxylpropyl beta cyclodextrine et le phosphate de sodium.

III.5.1 : Irritation vasculaire.

Une solution de TM à 1.5 mg/ml en milieu citraté tamponné est perfusée à des chiens afin d'étudier les réactions locales. La perfusion est effectuée 1 à 4 fois par jour pendant 15 minutes avec un débit de 6.33 ml/min.

Les lésions sont réduites à l'endothélium avec pour conséquence la formation de thrombus et les lésions augmentent avec le rythme de perfusion.

III.5.2 : Potentiel d'irritation musculaire.

Cette étude a été réalisée en injectant dans les muscles lombaires de lapins japonais blancs une solution de TM dans une solution tampon de citrate et d'acide citrique. Le groupe de témoins négatifs a reçu une injection de 1 ml de solution saline et le groupe de témoins positifs, une solution d'acide acétique à 0.75 et 6 %. Le groupe d'essai a reçu une solution de test de TM à 105 mg/ml. Le sacrifice des lapins a été effectué à J₂ et J₇.

Aucune anomalie clinique n'a été observée. Quelques lapins du groupe de témoins positifs ainsi que du groupe d'essai ont montré une rougeur au site d'injection. Par ailleurs aucune différence significative des valeurs de CPK sérique entre le groupe témoin et d'essai n'a été

observée par rapport au témoin négatif. Les recherches histologiques ont confirmé le faible potentiel irritant du TM.

III.5.3 : Potentiel d'irritation oculaire et dermique.

Chez le lapin, TM est modérément à sévèrement irritant pour l'œil aux doses de 100 mg par oeil ou à 20 mg par oeil instillé quotidiennement pendant 5 jours.

De la poudre humide de TM s'est révélée moyennement irritante pour la peau de lapin lors d'une application à 500 mg par site ou 100 mg par site au rythme d'une fois par jour pendant 5 jours.

III.6 : Etude d'interaction avec le TM.

De nombreuses études d'associations ont été réalisées avec le TM et principalement l'interaction avec la méthylprednisolone. Avec cette association aucun effet secondaire n'a été observé.

III.7 : Résumé et analyse.

En résumé, les premières études pharmacologiques, pharmacocinétiques et toxicologiques apportent des données suffisantes pour établir le potentiel toxique du TM et ses principales indications thérapeutiques, à savoir une utilisation en injection unique ou avec une durée inférieure à 10 jours.

L'analyse des données précliniques de sécurité animale du TM suggère les points suivants :

1. effets délétères : les morts observées chez le chien sont limitées à ceux ayant reçu 60 mg/kg/j en IV ou 1000 mg/kg/j oralement pendant 14 jours ou plus. Les lésions de rhabdomyopathie et de cardiomyopathie ont été observées quand le TM fut administré oralement ou par voie IV aux doses respectives de 1000 ou 45mg/kg/j pendant 30 jours. Aucun changement musculaire n'a été observé chez le chien à 200 mg/kg/j oralement ou 30 mg/kg/j par voie IV. Les trémulations musculaires furent observées chez le chien ayant reçu du TM à 1000 mg/kg/j oralement ou 45 mg/kg par voie IV. Les trémulations sont réversibles à l'arrêt du traitement. Les lésions myocardiques apparaissent être liées à l'accumulation de TM chez le chien et résultent d'une fibrose. Les lésions musculaires n'ont pas été observées chez le rat ou le singe.
2. contre-indications : les études de sécurité de la solution de TM en utilisation par voie IV chez des sujets gravides n'ont pas été établies chez l'homme. Les résultats des études menées chez l'animal n'indiquent pas directement ou indirectement des effets nuisibles sur la fertilité chez les rats. Aucun effet tératogène n'a été observé chez le rat ou le lapin. Une tendance à un léger retard de développement péri et postnatal a été observée chez le rat lors d'études réalisées par os à des doses supérieures ou égales à 200 mg/kg.

Lors d'étude tératologique par voie IV menée chez le rat, un retard de développement a été signalé pour des doses de 60 mg/kg. Puisque le TM n'a pas été étudié durant la gestation chez la femme, le TM doit être utilisé durant la gestation seulement si les bénéfices sont supérieurs au risque potentiel. L'excrétion du TM dans le lait n'a pas été étudiée chez l'Homme, par contre elle existe chez le rat. De ce fait, l'allaitement doit être suspendu lors d'une thérapie avec le TM.

3. autres effets : chez les rats et/ou les chiens ayant reçu du TM par voie IV aux doses de 19 à 65 mg/kg/j pendant 14 à 31 jours furent observées une augmentation réversible du poids du foie, une augmentation des lipides totaux hépatiques, de la créatine phosphokinase (CPK), du cholestérol, de l'alanine et aspartate aminotransférase (ALAT, ASAT).

Des modifications du système lymphoïde ont été observées (vacuolisation...) aux doses de 65 mg/kg/j IV chez le rat, 19 à 63 mg/kg/j IV et 1000 mg/kg/ PO chez le chien sans qu'aucune immunosuppression n'ait été observée lors d'études de 14 et 30 jours.

4. précautions : lié aux potentiels d'irritation locale du TM lors d'administration IV, l'extravasation doit être évitée et la veine utilisée doit être observée attentivement. Les fonctions hépatique et musculaire (squelettique et myocardique) doivent être également surveillées chez les patients recevant des doses répétées de TM.

En conclusion, les études précliniques de sécurité animale aussi bien que les données de sécurité lors des épreuves cliniques permettent d'établir une utilisation sans danger du TM par voie IV à la dose 16 mg/kg/j jusqu'à 10 jours aussi bien chez l'animal que chez l'homme.

IV. Etudes cliniques. (39-45-48)

Le TM est liposoluble et peut traverser la barrière hémato-méningée et exercer directement un effet neuroprotecteur. De plus le TM est largement localisé à l'endothélium vasculaire. La plupart des effets neuroprotecteurs provient de la protection de la vascularisation et de la microvascularisation résultant de la préservation d'un flux sanguin normal et de la perméabilité capillaire. Le TM exerce ses effets en inhibant l'action des radicaux libres et par une interaction physico-chimique avec la membrane cellulaire en diminuant la fluidité membranaire.

La cytoprotection est due en partie à une réaction intrinsèque avec les radicaux libres, en partie à une position et une orientation structurale de la molécule autour de la membrane et en partie à la possibilité du composé de modifier les propriétés physiques des lipides membranaires.

Dans les études in vitro, le TM apparaît agir comme un inhibiteur de radicaux libres ciblé sur les membranes. Il agit en inhibant la réaction de peroxydation lipidique dépendante du fer avec une activité jusqu'à 10 fois plus importante que les chélateurs du fer comme la desferroxamine.

L'on notera que la méthylprednisolone est inactive dans ce système.

Le TM se montre être un « piègeur » de radicaux libres et agit également en bloquant les réactions en chaîne. Il a été montré que le TM agissait comme un antioxydant membranaire dont le mécanisme d'action est similaire à celui de la vitamine E.

Durant ces réactions, survenant suite à un traumatisme ou une ischémie du système nerveux central, le TM est consommé de préférence à la vitamine E tissulaire ce qui permet de préserver le taux de vitamine E dans la cellule, ce qui est très important car la vitamine E est l'antioxydant liposoluble majeur cellulaire.

Le TM stabilise les membranes cellulaires de cellules en culture soumises à une hypoxie ou une peroxydation lipidique en bloquant la libération d'acide arachidonique. Lors d'études sur des cellules endothéliales d'origine cérébrale, le TM a montré également une action inhibitrice sur la dégradation de certains neurofilaments protéiques de manière dose dépendante, une amélioration de la structure de la bicouche lipidique membranaire. Ces données suggèrent que l'effet protecteur du TM implique les ions superoxydes et ferriques mais que ces dégâts ne sont pas attribuables à la formation de radicaux hydroxyles.

Le TM inhibe également la formation de radicaux oxygénés par les phagocytes, mais n'affecte pas la dégranulation des neutrophiles chez l'Homme. Par contre, il inhibe la migration transendothéliale des neutrophiles, ce qui est en partie responsable de l'effet protecteur. Le TM inhibe aussi la 5-lipoxygénase dont le rôle important dans la synthèse enzymatique des radicaux libres a été vu précédemment.

Le TM s'est montré efficace sur les modèles animaux de traumatisme crânien, de traumatisme médullaire et d'hémorragie sous-arachnoïdienne (SAH).

Dans les modèles précliniques de SAH et d'ischémie cérébrale, TM atténue le vasospasme post-SAH retardé et aigu, améliore le flux sanguin de la microvascularisation cérébrale, réduit l'ouverture secondaire de la barrière hématoméningée et l'œdème vasogénique associés ainsi que les effets biochimiques et histologiques de l'ischémie. Ces effets sont dus à une diminution de la peroxydation enzymatique et non enzymatique des lipides.

Résumé des caractéristiques pharmacologiques de la neuroprotection du TM (U74006F)

- inhibition de la peroxydation lipidique.
- préservation de la vitamine E tissulaire.
- inhibition de l'hydrolyse lipidique.
- réduction de la dégradation des neurofilaments.
- maintien d'un métabolisme énergétique aérobie.
- maintien du flux sanguin tissulaire.

IV.1 : Etude in vivo de traumatisme cérébral.(27-28-45)

Suite à l'administration d'une dose simple de TM (0.003 à 30 mg/kg, IV), à des souris atteintes de traumatismes cérébraux sévères il s'ensuit une amélioration des fonctions neurologiques une heure après le traumatisme évalué à 169% par rapport aux souris non traitées. TM administré à la dose de 1 mg/kg par voie IV dans les 5 minutes suivant le traumatisme et durant 1.5 jours permet d'améliorer rapidement la guérison mais également d'améliorer de façon significative le taux de survie à une semaine de 79% par rapport aux souris témoins (27%).

IV.2 : Etude in vivo de traumatisme de la moelle épinière.(29-45)

La faculté du TM de prévenir le développement d'ischémie post-traumatique du système nerveux central a été examinée dans les traumatismes spinaux de la région lombaire chez des chats anesthésiés. Le TM s'est montré (partiellement) efficace à la dose de 3 mg/kg à prévenir la baisse de flux sanguin de la moelle épinière. Chez les animaux ayant reçu une dose de 3 mg/kg de TM par voie IV 30 minutes après le traumatisme ainsi qu'une seconde demi-dose 2,5 heures après le traumatisme, la diminution du flux sanguin de la moelle épinière ainsi que la concentration en vitamine E tissulaire sont atténuées de façon significative par rapport aux groupes témoins. La préservation de la concentration en vitamine E tissulaire, liée à l'inhibition de la peroxydation lipidique, est à l'origine de la protection de la microvascularisation de la substance blanche.

Afin d'apprécier l'efficacité du TM au niveau de la récupération fonctionnelle neurologique dans des cas de traumatismes compressifs de la moelle épinière, de multiples dosages ont été testés 48 heures après le traumatisme. Les administrations de 1.6 à 160 mg/kg ont montré une récupération des fonctions neurologiques à 75% dans les 4 semaines après le traumatisme. Les administrations de doses faibles (0.16 à 0.48 mg/kg) n'ont pas permis de retrouver de façon significative des fonctions neurologiques normales par rapport aux groupes témoins.

Un paramètre important à déterminer est le délai maximal d'intervention par rapport au traumatisme initial. Une étude a montré qu'afin d'obtenir une récupération fonctionnelle importante (75% du fonctionnement neurologique initial) à 4 semaines, le traitement au TM devait être instauré dans les 4 heures. Un traitement instauré dans les 8 heures après le traumatisme ne permet de recouvrer que 14% des fonctions neurologiques initiales à 4 semaines.

IV.3 : Etude in vivo d'hémorragie subarachnoïdienne (SAH).(45-50-52)

La SAH est communément causée par la rupture d'un anévrisme intracrânial. Immédiatement après la rupture le sang s'accumule dans l'espace subarachnoïdien. Dans les secondes qui suivent, une augmentation rapide de la pression intracrânienne réduit la circulation cérébrale. 2 à 4 minutes peuvent être nécessaires à assurer la formation d'un caillot et arrêter le saignement. Alors que ce réflexe bénéfique peut assurer l'hémostase et préserver la vie du patient, il peut contribuer à un vasospasme cérébral secondaire, un œdème et une ischémie menant à des lésions cérébrales irréversibles voire à la mort.

La physiopathologie du vasospasme post-SAH est compliquée. Cependant les données animales montrent que la présence de sang et produits sanguins dans le liquide cérébro-spinal sont de puissants stimuli de la formation des radicaux oxygénés induits par la lipoperoxydation cérébrovasculaire. Cette réaction est une réaction en chaîne initiée par l'oxydation de l'hémoglobine qui se termine par la peroxydation des acides gras polyinsaturés membranaires. Dans l'endothélium vasculaire la peroxydation lipidique diminue la production des prostacyclines vasodilatatrices et interfère avec le relâchement vasculaire. De plus la peroxydation lipidique peut provoquer l'accumulation de calcium ce qui contribue au spasme des muscles lisses vasculaires. Le TM en tant qu'inhibiteur de la peroxydation lipidique améliore les lésions neurologiques. Les études animales ont montré que le TM inhibe le vasospasme post-SAH et atténue progressivement l'augmentation de la pression intracrânienne chez le chat, inhibe l'œdème cérébral vasogénique qui se produit suite à la présence de stimuli.

Il en a été déduit de façon hypothétique que le TM pourrait prévenir ou réduire le vasospasme lié à une angiographie.

IV.4 : Autres domaines d'applications du TM actuellement en cours d'études.

Il existe de nombreux domaines d'applications où les lazaroïdes, compte tenu de leur mode d'action montrent ou sont susceptibles de montrer des effets bénéfiques. Ces différents domaines sont :

- Les néphropathies induites : lors de néphrographie par contraste ou lors d'opération de cardiopathes en insuffisance rénale acquise, les lazaroïdes permettraient de minorer les troubles ischémiques qui y sont associés.
- L'infarctus du myocarde ou la transplantation cardiaque.
- Le choc traumatique et hémorragique.
- Les troubles associés à la croissance et au métabolisme des tumeurs cérébrales.
- L'asthme en atténuant le phénomène d'infiltration par les leucocytes.
- Les phénomènes ischémiques intestinaux (volvulus, intussusception, syndrome dilatation-torsion de l'estomac).(6)
- L'athérosclérose.
- Les céphalées (diminution de la perméabilité vasculaire).

Les nombreuses études actuelles permettront de découvrir d'autres applications thérapeutiques ainsi que d'améliorer et compléter la famille des lazaroïdes.

CONCLUSION

Le « paradoxe de l'oxygène » réside dans le fait que l'oxygène apporté à des tissus ischémiés peut ne pas être toléré.

Nous venons de voir que les perspectives thérapeutiques actuelles des troubles de la reperfusion sont encore l'objet d'un grand nombre de recherches. Dans les situations d'urgence que nous avons décrites, l'ischémie ne peut être évitée. Elle doit en revanche être limitée dans le temps : une ischémie trop longue provoque des lésions irréversibles. Il faut rapidement décompresser et revasculariser l'organe ischémié puis intervenir médicalement, autant que faire se peut, pour contrôler la reperfusion.

Intervenir précocement est essentiel car la meilleure des thérapies médicales en matière de troubles de la reperfusion serait totalement inefficace si elle était administrée trop tard. En effet les mécanismes d'amplification secondaire des lésions (neutrophiles et substances régissant l'inflammation) ainsi que les mécanismes de réactions en chaîne que nous avons évoqués sont autant de raisons qui doivent nous inciter à neutraliser rapidement les radicaux libres oxygénés générés par la reperfusion.

Dans l'état actuel des connaissances, la seule thérapeutique utilisable en pratique clinique courante est le recours précoce aux corticoïdes hydrosolubles à forte dose et par voie intraveineuse. L'imminence de la mise sur le marché d'un lazaroïde laisse entrevoir une alternative à ce traitement.

**Le Professeur responsable
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon
Lyon**

**Vu : Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de**

Le Président de la thèse

Professeur J-F CHARY

Vu et permis d'imprimer

Lyon, le 11 DEC. 1983

**Pour le Président de l'Université,
Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales,
Professeur F. MAUGUIERE**

BIBLIOGRAPHIE

1. Anonyme : Le Solumédrol®: quelques données pharmacologiques. Sup. Act. Vet. 3 juin 1994, **1290**, 11.
2. Antonoff B. : Contribution à l'étude du choc hémorragique. Les solutés de remplissage vasculaire chez le chien. Th. Doct. Vét. Lyon 1979.
3. Anthony J.C. : Traumatisme médullaire : évolution clinique et prise en charge. Waltham Focus. (1997), **7**, 3, 20-26.
4. Arfi L. : La corticothérapie dans l'état de choc. Intérêts du Solumédrol®. Perspective. Lettre d'Inf. Vet. An. Comp. (1997), **2**, 6-7.
5. Baffs C.F. : Reperfusion injury of post-ischemic tissues. Ann. Emerg. Med. (1988), **17**, 1148-1157.
6. Badylak S.F., Lantz G.C. et Jeffries M. : Prevention of reperfusion injury in surgically induced gastric dilatation-volvulus in dogs. Am. J. Vet. Res. (1990), **51**, 294-299.
7. Brown Scott A., Ph et Edward D. Hall. : Roll of oxygen derived free radicals in the pathogenesis of shock and trauma with focus on central revous system injuries, J. Am. Vet. Med. Assoc. (1992), **200**, 12, 1849-1856.
8. Brugère H. : Le choc. Rec. Méd. Vet, (1989), **165**, 12, 933-945.
9. Bulkley G.B. : The role of oxygen free radicals in human disease processes. Surgery. (1983), **94**, 407-411.
10. Cauzinille L. : Traumatisme de la moelle épinière: traitement médical de la lésion d'ordre secondaire. Prat. Med. Chir. Anim. Comp. (1994), **29**, 361-366.
11. Cauzinille L. : Les traumatismes du système nerveux central. Sup Act Vet. 3 juin 1994, **1290**, 7-10.
12. Colter S. et Rucker N. : Acute injury to the central nervous system. Point Vét. Numéro spécial « neurologie ». (1991), **23**, 511-521.
13. Charadi N. : Radicaux libres, lipoperoxydation et ischémie-reperfusion myocardiaque - Revue des moyens de protection- Th. Pharm. Besançon 1991.
14. Coughlan A.R. : Secondary injury mechanisms in acute spinal cord trauma. J. Small Anim. Pract. (1993), **34**, 117-122.

- 15.Deschamps J.Y. : Les troubles de la reperfusion. Congrès CNVSPA Paris 21-22-23 Novembre 1997. 256-259.
- 16.Deschamps J.Y. : Place des corticoïdes dans le traitement du syndrome dilatation torsion de l'estomac. Sup. Act. Vet. 3 juin 1994, **1290**, 3-6.
- 17.Duprés G. et Corlouer J.P. : Le syndrome dilatation-torsion de l'estomac chez le chien. Waltham focus. (1994), **4**, 3, 9-16.
- 18.Emerit : Les radicaux libres dérivés de l'oxygène et la peroxydation lipidique. Presse Médicale. (1986), **15**, 751-754.
- 19.Flaherty J.T. et Weisfeldt ML. : Reperfusion injury. Free Rad. Biol. Med.(1988), **5**, 409-419.
- 20.Flaherty J.T. : Myocardical injury mediated by oxygen free radicals. Am. J. Med. (1991), **91**, 3C, 79S-85S.
- 21.Fuhrer L. : Traitement d'urgence des traumatismes du système nerveux central : utilisation de la méthylprednisolone et délai d'intervention. Sem Vet. (1998), **908**, 12.
- 22.Galtier d'Auriac B. : *Utilisation du Solumédrol® dans le traitement du choc chez le chien.* Th. Doct. Vét. Lyon 1988.
- 23.Granger D.N., Höllwarth M.E. et Parks DA. : Ischemia-reperfusion injury : role of oxygen-derived free radicals . Acta physiol .Scand. (1986), **548**, 47-63.
- 24.Granger D.N., Rutili G. et McCoord J.M. : Superoxide radicals in feline intestinal ischaemia. Gastroenterolgy. (1981), **81**, 22-29.
- 25.Granger D.N. : Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. Am. J. Physiol.(1988), **255**, 1269-1275.
- 26.Gressin V. et Louvard Y. : Arythmies de reperfusion. Arch. Mal. Coeur. (1993), **86**, IV, 69-77.
- 27.Hall Ed. et Yonkers P.A. : Attention of post-ischaemic cerebral hypoperfusion by the 21-aminosteroid U74006F. Stroke. (1988), **19**, 340-344.
- 28.Hall Ed. : Beneficial effects of the 21-aminosteroid U74006F in acute CNS trauma and hypovolemic shock. Acta anaesth.Belg. (1987), **38**, 421-425.
- 29.Hall Ed. : Effects of the 21-aminosteroid U74006F on post-traumatic spinal cord ischemia in cats. J. Neurosurg. (1988), **68**, 462-465.
- 30.Huguet C. et Bruchon - Huguet C. : Traitement chirurgical d'un traumatisme crânien avec enfoncement chez un chien . Prat. Med. Chir. Anim. Comp. (1998), **33**, 427-431.
- 31.Jamet C. : Les troubles de la reperfusion. Th. Doct. Vét. Nantes 1995.

32. Klausner J.M., Patterson I.S. et Mannick J.A. : Reperfusion pulmonary edema. *J. Am. Med. Assoc.* (1989), **261**, 1030-1035.
33. Klein S.M., Cohen G. et Cederbaum A.L. : Production of formaldehyde during metabolism of DMSO by hydroxyl radical generating systems. *Biochemistry.* (1981), **20**, 6006-6012.
34. Maupoil V. et Chaillot B. : Identification et évaluation des radicaux libres dans la séquence ischémie-reperfusion cardiaque. *Arch. Mal. Cœur.* (1993), **86**, IV, 69-68.
35. Meerson F.Z., Kagan V.E. et Kozlov Y.P. : The role of lipid peroxidation in pathogenesis of ischemic damage and the antioxidant protection of the heart. *Basic Res. Cardiol.* (1982), **77**, 465-485.
36. Opie L.H. : Proposed role of calcium in reperfusion injury. *Int. J. Card.* (1989), **23**, 159-164.
37. Parks D.A., Bulkley G.B. et Granger D.N. : Ischemic injury in the cat small intestine : role of superoxide radicals. *Gastroenterology.* (1982), **82**, 9-15.
38. Parks D.A. et Granger D.N. : Ischemia-reperfusion injury : a radical view. *Hepatology.* (1988), **8**, 680-682.
39. Perkins W.G., Milde L.N., Milde J.H. et Michenfelder J.D. : Pretreatment with U74006F improves neurologic outcome following complete cerebral ischemia in dogs. *Stroke.* (1991), **22**, 7, 902-909.
40. Rangan U. et Bulkley G.B. : Prospects for treatment of free radical-mediated tissue injury. *Br. Med. Bull.* (1993), **49**, 700-718.
41. Richard V. : Rôle des radicaux libres oxygénés lors de la reperfusion post-ischémique chez le chien. *Th. Pharm. Rouen* 1992.
42. Rochat M.C. : An introduction to reperfusion injury. *Comp. Ed.* (1991), **13**, 35-41.
43. Rochette L. et Maupoil V. : De l'ischémie aux lésions de reperfusion. *Arch. Mal. Coeur.* (1993), **86**, IV, 13-17.
44. Raux F. : Les urgences. *Act. Vet. EPU Belle Ile* 3 septembre 1999. 1488.
45. Scott B., Ph et Edward D. Hall. : Role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of shock and trauma, with focus on central nervous system injuries. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* (1992), **200**, 12, 1849-1856.
46. Su C.C., Harshman T., Fry M.N. et Snider B.G. : U-74006F. Investigator brochure chemistry. (1991), **2**, 1-5.
47. Su C.C., Harshman T., Fry M.N. et Snider B.G. : U-74006F. Investigator brochure nonclinical pharmacology and toxicology. (1991), **4**, 51-78.

48. Su C.C., Harshman T., Fry M.N. et Snider B.G. : U-74006F. Investigator brochure. Table of content. Summary of in vivo pharmacology. (1995), 1, 1-5.

49. Verhelot S. : Le clinicien face à l'urgence. Sup. Act. Vet. 3 juin 1994, 1290, 2.

50. Vollmer D.G., Kassel N.F., Hongo K., Ogawa H. et Tsukahara T. . Effect of the nonglucocorticoid 21-aminosteroid U74006F on experimental cerebral vasospasm. Surg Neurol. (1989), 31, 3, 190-194.

51. Vrins A. et Laverty S. : Décision d'intervention chirurgicale lors de colique chez le cheval. Point Vet. (1991), 23, 140, 857-862.

52. Zuccarello M., Marsch J.T., Schmitt G., Woodward J. et Anderson D.K. : Effect of the 21-aminosteroid U-74006F on cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage. J. Neurosurg. (1989), 71, 98-104.

MARCEL Jérôme

**LES TROUBLES DE LA REPERFUSION. PERSPECTIVES
THERAPEUTIQUES : LES LAZAROÏDES.**

Thèse Vétérinaire : Lyon , 2002

RESUME : Les troubles de la reperfusion sont liés à l'existence de radicaux libres oxygénés. Ces radicaux libres oxygénés engendrent des troubles cellulaires et tissulaires mais également des lésions sur des organes éloignés du tissu ischémié. Les troubles de la reperfusion sont impliqués dans de nombreuses entités cliniques telles que les transplantations d'organes, les états de choc, les situations d'ischémie intestinale et les traumatismes neurologiques. Face à ces troubles, les défenses endogènes de l'organisme sont rapidement saturées. Différentes thérapeutiques , dont certaines sont encore à l'étude, permettent de contrôler ce phénomène.

MOTS CLES :

- REPERFUSION
- ISCHEMIE
- RADICAUX LIBRES
- LAZAROÏDES

JURY :

Président :	Monsieur le Professeur NEIDHARDT
1er Assesseur :	Monsieur le Professeur FAU
2ème Assesseur :	Monsieur le Professeur GARNIER

DATE DE SOUTENANCE :

Le 11 Janvier 2002

ADRESSE DE L'AUTEUR :

150 rue Henri Durre
59880 Saint-Saulve