

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE.

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -



FACULTE DE MEDECINE.

DEPARTEMENT DE PHARMACIE.

Evaluation préclinique de l'activité analgésique des médicaments

Thèse d'exercice de fin d'études

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

Session : Juillet 2017.

Présentée par :

- Zerrouki Ichrak

- Saoudaoui Radia

Encadrée par :

- Dr S.Djellouli

Maitre assistant en pharmacologie

Devant le jury :

- Dr S.Benhamida

Maitre assistante en pharmacologie

- Dr k.Reggabi

Maitre assistante en pharmacologie

- Dr N.Ayachi

Maitre assistante en pharmacie galénique

Remerciement

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu, De nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation de Docteur en pharmacie et pouvoir réaliser ce modeste travail.

La première personne que nous tenons à remercier est notre encadrant Mr. Djellouli, pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Nous remercions très sincèrement, les membres du jury d'avoir bien voulu accepter de faire la commission d'examineurs.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements aux chef de département Dr. Bellouni et son adjoint Dr. Mahfoud pour leur aide et leur soutien durant notre cursus.

Nous adressons aussi nos sincères remerciements à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce projet, aux personnes qui, malgré que leurs noms ne figurent pas dans ce document, étaient toujours prêtes à aider et à contribuer dans le bon déroulement de ce travail.

Merci.

Dédicace

Dédicace D'un sentiment plein d'amour, de sincérité et fidélité, je dédie ce travail :

A mes chers parents : Boualem et Hamida, pour tout l'amour dont vous m'avez entouré, Pour votre amour, votre compréhension, votre patience et votre tendresse sont toujours pour moi sans limite, vous m'avez soutenu le long de mes études et vous avez tout sacrifié pour ma réussite, Je ferai de mon mieux pour rester un sujet de fierté à vos yeux avec l'espoir de ne jamais vous décevoir que Dieu vous garde en bon santé.

A mes chères frères et sœurs : Mohamed, Sidali et Hadjer, Je vous remercie pour votre amour inconditionnel patience, soutien et vos sentiments d'amour aux moments les plus difficiles, Je vous aime et je vous souhaite une vie pleine de succès et de réussite. Que dieu vous garde et illumine vos chemins

A tous mes amis Nadjjet, Hiyem, Radia, avec lesquelles j'ai partagé mes moments de joie et de bonheur, pour vos encouragements et pour avoir été là pour moi chaque fois que j'en avais besoin.

A mes chères amies Meriem et Ibtissem .

A l'ensemble des étudiants de ma promotion de pharmacie 2011.

A tous ceux qui m'aiment, A tous ceux que j'aime Que cette modeste dédicace puisse vous témoigner ma profonde gratitude pour votre immense amour, votre confiance et vos paroles apaisantes qui m'ont toujours fait garder le sourire.

ICHRAK

Table des matières

Liste des figures.....	i
Liste des tableaux.....	ii
Abréviations.....	iii
Introduction.....	1
Chapitre I : Généralités sur le médicament	2
1. Histoire du médicament.....	3
2. Définition du médicament	3
3. Composition des médicaments	4
4. Dénomination des médicaments	4
5. Classification des médicaments.....	5
5.1. Classification selon l'origine.....	5
5.2. Classification chimique	5
5.3. Classification pharmacologique	5
5.4. Classification thérapeutique	5
6. Pharmacocinétique.....	6
6.1. Absorption.....	6
6.2. Distribution.....	6
6.3. Métabolisation.....	7
6.4.Élimination.....	8
7. Pharmacodynamie	8
8. Développement de médicament.....	9
8.1. Recherche exploratoire.....	9
8.2. Etudes précliniques	10
8.3. Recherche clinique	10
8.4. Phase administrative.....	11
Chapitre II : Evaluation préclinique des médicaments.....	13
Introduction.....	14
1 Pharmacologie expérimentale.....	14
1.1 Définition	14

1.2	Criblage ou screening.....	14
1.3	Modèles biologiques expérimentaux.....	15
1.3.1	Définition du Modèle animal.....	15
1.3.2	Types de modèles.....	15
1.3.3	Qualité d'un modèle.....	16
2	Etudes pharmacocinétiques.....	17
2.1	Méthodes expérimentales en pharmacocinétique.....	17
2.1.1	Approche in vitro.....	17
2.1.2	Approche in vivo.....	18
2.1.3	Approche in silico.....	19
3	Etudes toxicologiques.....	20
3.1	Types d'études toxicologiques.....	20
3.2	Évaluation de la toxicité.....	20
3.2.1	Toxicité aiguë : DL ₅₀	20
3.2.2	Étude de toxicité subaiguë.....	21
3.2.3	Toxicité chronique.....	21
	Chapitre III: Activité analgésiques des médicaments.....	24
1	Douleur.....	25
1.1	Définition de la douleur.....	25
1.2	Types de douleur.....	25
1.3	Physiopathologie :.....	26
1.4	Traitement de la douleur.....	28
1.5	Examen du patient douloureux et évaluation de la douleur.....	29
2	Antalgiques.....	31
2.1	Définition.....	31
2.2	Classification.....	31
2.3	Antalgiques centraux ou opioïdes.....	32
2.3.1	Mécanismes d'action.....	32
2.3.2	Réglementation.....	33
2.3.3	Exemples d'analgésiques.....	33
2.4	Néfopam.....	38
2.5	Antalgiques périphériques.....	38
2.6	Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	40

Chapitre IV: Méthodes d'étude de l'activité analgésique	43
1 Méthodes in vivo :	44
1.1 Stimulation thermique	45
1.1.1 Essai de plaque chauffante: Test de la plaque chaude (hot-plate test)...	45
1.1.2 Test du retrait de la queue (tail-flick test)	45
1.1.3 Méthode de D'Amour et Smith (1941, 1943)	46
1.2 Stimulus mécanique	47
1.2.1 Test Randall et Selitto: Douleur dans les tissus enflammés	47
1.3 Stimulation chimique	48
1.3.1 Injections d'agents algogènes intradermiques (formalin test)	49
1.3.2 Injection intra péritonéale d'agents irritants ou cromping test	49
1.4 Stimulation électrique	49
1.4.1 Stimulation par trains de chocs électriques.....	50
1.4.2 Stimulation par choc unique	50
1.5 Méthode Haffner	50
2 Méthodes in vitro.....	52
2.1 Dosage de liaison 3H-Naloxone.....	52
2.2 3H-Dihydromorphine se liant à l'opiacé μ	52
2.3 Inhibition de l'encéphalinase	53
2.4 Bioessais pour la nociceptine	53
Partie pratique	55
1 Introduction	56
2 Matériels et méthodes	56
2.1 Réactif animal	56
2.2 Réactifs chimiques	57
2.3 Matériel expérimental	58
2.4 Consommable :.....	58
2.5 Principe de la méthode	60
2.6 Protocole expérimental.....	60
2.6.1 Traitement avec le Paracétamol	60
2.6.2 Traitement avec le Tramadol :	63
2.6.3 Traitement avec l'association tramadol/paracétamol.....	63
3 Résultats.....	64

3.1	Traitement avec paracétamol	64
3.1.1	Prise de poids	64
3.1.2	Mesure de la force mécanique	65
3.1.3	Détermination de la DE ₅₀	65
3.2	Traitement avec tramadol.....	69
3.2.1	Prise de poids	69
3.2.2	Préparation des dilutions.....	70
3.2.3	Mesure de la force mécanique	70
3.2.4	Concentration administrée /pression appliquée sur chaque lot.....	70
3.2.5	Détermination de la DE ₅₀	71
3.3	Traitement avec tramadol/paracétamol	73
3.3.1	Prise de poids	73
3.3.2	Mesure de la pression.....	74
3.3.3	Pourcentage d'efficacité de l'association.....	74
4	Discussion	76
	Conclusion	79
	Références Bibliographiques	80

Liste des figures :

Figure 1 : étapes de développement de médicament.

Figure 2 : physiologie de la douleur

Figure 3 : Classification des antalgiques par paliers selon l'Organisation mondiale de la santé.

Figure 4 : Souris BALBc albinos mâles utilisés lors des expériences.

Figure 5 : réactifs utilisés solution de paracétamol et NaCl à 9‰

Figure 6 : analgésimètre utilisé lors de la mesure de la pression.

Figure 7 : différents consommables utilisés.

Figure 9 : préparations des différentes concentrations du paracétamol à administrer.

Figure 10 : différentes étapes de l'administrations intra-péritonéale du paracétamol chez une souris.

Figure 11 : mesure de l'activité analgésique après administration du paracétamol.

Figure 12 : représentation graphique sur papier log-probabilité du paracétamol administré seul par voie intra péritonéale.

Figure 13 : Courbe dose-effet du paracétamol administré seul par voie intra péritonéale.

Figure 14 : Courbe dose-effet du paracétamol administré seul par voie intra péritonéale après élimination du point aberrant.

Figure 15 : représentation graphique sur papier log-probabilité du tramadol administré seul par voie intra péritonéale.

Figure 16 : Courbe dose-effet du tramadol administré seul par voie intra péritonéale.

Figure 17 : Courbe dose-effet du tramadol administré seul par voie intra péritonéale après élimination du point aberrant.

Figure 18 : représentation graphique sur papier log-probabilité de l'association paracétamol/tramadol administrée par voie intra péritonéale.

Figure 19 : Courbe dose-effet du tramadol/paracétamol administré par voie intra-péritonéale.

Liste des tableaux :

Tableau 1 : concentrations du paracétamol administré seul pour chaque lot.

Tableau 2 : concentrations de l'association paracétamol/tramadol.

Tableau 3 : poids individuel de chaque souris et poids moyen de chaque lot avant administration du paracétamol exprimés en mg.

Tableau 4 : force mécanique moyenne de chaque lot (Unité : échelle graduée).

Tableau 5 : tableau récapitulatif de pressions mesurées en fonction des concentrations de paracétamol administrées pour chaque lot.

Tableau 6 : Pourcentage d'efficacité des différents lots.

Tableau 7 : les différentes doses efficaces de paracétamol avec et sans points aberrants.

Tableau 8 : poids individuel de chaque souris et poids moyen de chaque lot avant administration du tramadol exprimé en mg

Tableau 9 : différentes concentrations de tramadol administrés

Tableau 10 : forces mécaniques appliquées sur chaque souris ainsi que la pression moyenne de chaque lot (unité : échelle graduée)

Tableau 11 : tableau récapitulatif de pressions mesurées en fonction des concentrations de tramadol administrées pour chaque lot

Tableau 12 : calcul des pourcentages d'efficacité des différents lots après administration du tramadol.

Tableau 13 : calcul des différentes doses efficaces de tramadol avec et sans point aberrant.

Tableau 14 : différentes DE de tramadol données par le logiciel STATISTICA.

Tableau 15 : poids des souris avant l'administration de l'association paracétamol/tramadol.

Tableau 16 : activité analgésique moyenne de chaque lot après administration de l'association paracétamol/tramadol.

Tableau 17 : pourcentage d'efficacité de l'association calculé dans chaque lot.

Tableau 18 : tableau récapitulatif de pressions mesurées en fonction des concentrations de l'association tramadol/paracétamol administrées pour chaque lot.

Tableau 19: différentes DE de l'association paracétamol/tramadol déterminées manuellement sur papier log-probit.

Tableau 20: différentes DE de l'association paracétamol/tramadol données par le logiciel STATISTICA

Abréviations

ADH	Anti Diurétique Hormone
ADME	Absorption /Distribution /Métabolisme/ Elimination
AINS	Anti Inflammatoire Non Stéroïdiens
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ANF	Natriurétique Auriculaire Facteur
ARC	Assistants de Recherche Clinique
BPL	Bonnes Pratiques de Laboratoire
COX	Cyclo-Oxygenase
CTD	Common Technical Document
CTZ	Chemo-receptive Trigger Zone
DCI	Dénomination Commune Internationale
DE50	Dose Efficace 50
DL 50	Dose Létale 50
EN	Echelle Numérique
ESB	Encéphalopathies Spongiformes Humains
EVA	Echelle Visuelle Analogique
EVS	Echelle verbale simple
IC50	Concentration inhibitrice 50
IMAO	Inhibiteur de la Mono-Amine Oxydase
IP	Intra-Peritonal
Kd	Constante de Dissociation
Ki	Constante d'inhibition
LP	Libération Prolongé
MP	Matière Première
OMS	Organisation Mondiale de Santé
PC	Pharmacocinétique
PD	Pharmacodynamic
PIT	Association Paracetamol/Tramadol
SNC	Système Nerveux Central

Introduction

La douleur est un problème de soins majeur ayant un énorme impact sur la santé publique. C'est le symptôme le plus courant pour lequel les patients recherchent un contact médical, et c'est un facteur majeur cause de congé de maladie. Elle constitue près de deux tiers des consultations médicales, c'est pourquoi elle est l'objet de nombreuses études.

Dans le traitement de la douleur aiguë et chronique, les médicaments les plus fréquemment utilisés sont les analgésiques du premier palier par exemple le paracétamol; les opioïdes de deuxième palier, par exemple le Tramadol, et un groupe de médicaments appelés Co-analgésiques. Cette association pourrait avoir une signification clinique dans le traitement de la douleur avec une réduction des doses et des effets néfastes. Dans diverses études sur la douleur, la combinaison à dose unique de Paracétamol / Tramadol (PIT) s'est révélée plus efficace que l'un ou l'autre agent seul.

L'utilisation de modèles animaux précliniques joue un rôle essentiel à la fois dans la compréhension de la biologie fondamentale de la douleur ainsi que dans le développement de traitements thérapeutiques pour la soulager. Dans le développement de médicaments analgésiques, les procédures précliniques sont largement utilisées pour évaluer les effets des médicaments sur les comportements liés à la douleur. Ces procédures partagent deux composantes principales: une manipulation destinée à produire un état de douleur chez le sujet d'expérimentation et la mesure des comportements vraisemblablement indicatifs de cet état de douleur. Les médicaments peuvent ensuite être évalués pour leur capacité à atténuer les comportements liés à la douleur.

Cependant, la compréhension de l'expérience réelle de la douleur nécessitera toujours un organisme intact qui puisse intégrer toute la gamme des stimuli externes et des états cognitifs et émotionnels internes qui entraînent et modulent la douleur. Les modèles de douleur des rongeurs ont historiquement joué un rôle dominant dans l'étude des mécanismes de la douleur.

Les modèles animaux précliniques qui sont utilisés pour tester de nouveaux composés et mécanismes doivent être capables de prédire à la fois l'efficacité clinique et les effets néfastes d'une nouvelle thérapeutique. Dans la plupart des cas, des études de sécurité sont complétées chez deux rongeurs ainsi que dans d'autres espèces plus grandes telles que le chien ou le primate.

Notre travail consiste à mettre au point une méthode d'étude de l'activité analgésique chez les souris en utilisant le test de Randall et Selitto. Pour juger de la pertinence du protocole expérimental établi, cette méthode sera évaluée en l'appliquant d'abord à des molécules connues : le paracétamol (palier I) et le Tramadol (palier II) ainsi que l'association entre les deux molécules.

Chapitre I : Généralités sur le médicament

1. Histoire du médicament

La découverte de nouveaux médicaments s'est longtemps limitée à l'observation empirique des effets produits par certaines substances naturelles sur le cours des maladies. C'est Paracelse au XVI^e siècle qui prônera la nécessité d'un médicament spécifique pour chaque maladie. Avec la découverte du nouveau monde, les explorateurs rapporteront de grands principes actifs comme le quinquina, l'ipéca, le coca, le café etc.

Grâce aux progrès de la chimie et de la physiologie, le XIX^e siècle marque une nouvelle étape avec l'isolement des principes actifs : de l'opium, on isole la morphine puis la codéine, de l'ipécacua on extrait l'émétine, du quinquina, la quinine. La colchicine supplante le colchique et l'acide acétylsalicylique, l'écorce de saule. On dispose alors de la papavérine extrait du pavot, de la digitaline de la digitale et de l'ergotamine de l'ergot de seigle. L'aspirine sera synthétisée en 1897 par Hoffman.

Apparaîtront au début du XX^e siècle la novocaïne en 1901, les antisyphilitiques en 1906 et les antipaludéens de synthèse en 1927. Mais l'ère moderne débute avec la découverte en 1937 de l'action antibactérienne des sulfamides. En 1943 c'est l'année de la découverte par Fleming de la pénicilline et 1947 de la streptomycine qui vainc (momentanément) la tuberculose. On assiste alors à un emballement des découvertes :

- les antihistaminiques de synthèse en 1942,
- les anticoagulants coumariniques en 1947
- la cortisone en 1949
- l'isoniazide et les neuroleptiques en 1952
- les IMAO, la chlorothiazide et les antidépresseurs imipraminiques en 1957.

Ces découvertes sont souvent le fruit du hasard.

À partir des années soixante, après la découverte de l'effet tératogène de la thalidomide (1957), les pharmacologues mettent au point des méthodes d'évaluation préclinique moléculaire à partir de méthode de sélection qu'on appelle « Screening ». Cette méthode va permettre d'élaborer de nouveaux médicaments à partir de modèles de médicaments existants.

Durant les deux décennies qui suivent seules quelques classes ont enrichi les possibilités thérapeutiques comme les bêtabloquants et les antihistaminiques H₂.

Les années quatre-vingt-dix, celles des années du génie génétique, du génie cellulaire et de la thérapie génique. C'est ainsi qu'une bactérie fabrique une insuline pure entraînant peu d'effets indésirables ou que le génie génétique permet de produire des anticorps monoclonaux ou que la thérapie génique transfère directement l'ADN producteur du médicament protéique dans l'organisme malade, les cellules deviennent des microfabriquants puis des microsystèmes de délivrance du médicament. Et l'histoire continue ... (François Chast, 1995).

2. Définition du médicament

D'après l'article 4 modifiant et complétant l'article 169 de la loi 85-05 du 16 février 1985 ; de la loi 08/13 du 3 août 2008, on entend par médicament : toute

substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, et tous produits pouvant être administrés à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger et modifier ses fonctions organiques .

3. Composition des médicaments

Chaque médicament est composé de deux constituants :

- le (ou les) principe(s) actif(s) : c'est la substance responsable de l'effet pharmacologique du médicament ;
- l' (ou les) excipient(s) : ce sont des substances qui permettent de fabriquer la forme galénique souhaitée ; ces derniers n'ont pas de propriétés pharmacologiques et ne doivent pas interagir avec le principe actif. (Thibaut Caruba 2015)

- Excipient

L'excipient est tout composant, autre que le(s) principe(s) actif(s), qui est présent dans un médicament ou utilisé pour sa fabrication. La fonction d'un excipient est de servir de vecteur (véhicule ou base) au(x) principe(s) actif(s), ou d'entrer dans la composition du vecteur, contribuant ainsi à certaines propriétés du produit telles que la stabilité, le profil biopharmaceutique, l'aspect et l'acceptabilité pour le patient, et la facilité de fabrication. Une seule propriété est commune à tous les excipients : l'inertie. (Le Hir, 2009)

4. Dénomination des médicaments

Un médicament a un nom chimique, une dénomination commune internationale (DCI) et un nom de spécialité (nom commercial).

- Nom chimique : correspond à la formule chimique de la molécule.
- La Dénomination Commune Internationale (DCI) de la molécule active est attribuée par l'OMS selon des directives générales permettant de regrouper selon des assonances voisines des produits appartenant à la même classe pharmacologique. Par exemple, les DCI des inhibiteurs de la pompe à protons se terminent par « prazole », celles des antiprotéases par « navir », celles des antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II par « sartan », ...
- La dénomination commerciale, nom de spécialité est définie lors de la mise sur le marché de la molécule. Le nom de spécialité, nom de commercialisation, est différent selon les pays.

En Algérie d'après l'art 14 du Décret n° 76-139 du 23 octobre 1976 portant réglementation des produits pharmaceutiques : La dénomination spéciale du médicament qui doit être un nom de fantaisie ou une dénomination scientifique usuelle assortie d'une marque ou du nom du fabricant.

5. Classification des médicaments

Classer les médicaments peut se faire de différentes manières. L'intérêt de chacune dépend en fait du but poursuivi.

5.1. Classification selon l'origine

Les médicaments peuvent être classés selon leur origine. On peut ainsi, par exemple, distinguer :

- les médicaments d'origine minérale par exemple : les argiles
- les médicaments d'origine végétale cette catégorie a été longtemps très importante, tant que les médicaments d'origine végétale ont dominé la pharmacopée
- les médicaments d'origine chimique : les médicaments d'origine chimique sont soit des composés de synthèse à partir de principes de chimie minérale, soit des composés de semi synthèse c'est-à-dire des dérivés obtenus par synthèse chimique à partir de substances naturelles extraites de végétaux, de fermentation ou de tout autre procédé
- les médicaments d'origine animale : un certain nombre de produits sont issus directement ou après extraction et transformation du corps humain : l'exemple majeur est celui des médicaments dérivés du sang. C'est là une catégorie tout à fait spécifique.
- les médicaments issus des biotechnologies ils prennent une importance croissante. Ils sont caractérisés par leurs procédés d'obtention (génie génétique, fermentation, etc.).

5.2. Classification chimique

La classification par séries chimiques est évidemment pertinente pour le chimiste et le pharmacien. C'est dans ce cadre que se placent les études structure – activité. Elle est utile au chercheur et à la découverte de nouveaux principes actifs.

Son inconvénient est d'être peu pertinent en pratique clinique. Dans la même série chimique, les dérivés présentent à des degrés divers de multiples effets pharmacologiques et des applications thérapeutiques parfois très différentes.

5.3. Classification pharmacologique

La classification pharmacologique est une classification par effet pharmacologique, donc par cibles et par mécanismes d'action. par exemple, les IMAO, les parasympholytiques, les inhibiteurs des phosphodiésterases, etc. Elle a le grand avantage d'être satisfaisante pour l'esprit car elle permet la compréhension des phénomènes et donc de la logique de l'utilisation des médicaments.

5.4. Classification thérapeutique

La classification thérapeutique consiste à lister les médicaments par les pathologies qu'ils traitent. C'est la classification la plus satisfaisante pour le praticien car elle est directement opérationnelle. C'est ainsi que l'on aura comme « classes thérapeutiques » par exemple les antihypertenseurs (médicaments de l'hypertension artérielle), les antirhumatismaux (médicaments des rhumatismes), les antiulcéreux (médicaments de l'ulcère gastroduodénal), et les anticancéreux (médicaments du cancer). (Dangoumau, 2006)

6. Pharmacocinétique

La pharmacocinétique correspond au sort du médicament (appelé aussi principe actif) dans l'organisme. Elle a pour but de définir la dose, le rythme d'administration et la durée de traitement. Elle explique qu'il est nécessaire d'adapter les traitements dans certaines situations particulières comme l'insuffisance rénale, la grossesse, etc.

La pharmacocinétique est composée de 4 étapes qui forment l'acronyme ADME pour:

- l'absorption, appelée aussi résorption ;
- la distribution ;
- la métabolisation, appelée aussi biotransformation ;
- l'excrétion.

6.1. Absorption

C'est le processus qui permet au principe actif de passer sous forme inchangée de son lieu d'application à la circulation générale.

Seuls les médicaments qui sont directement injectés par voies intraveineuse ou intra-artérielle ne sont pas concernés par cette étape. En effet, dans ces deux cas, les médicaments sont directement administrés dans le compartiment vasculaire et l'étape d'absorption n'a pas lieu.

6.1.1 Facteurs influençant l'absorption d'un médicament

Deux facteurs influencent l'absorption d'un médicament :

- sa structure physicochimique ;
- son lieu d'application.

6.1.2 Structure physicochimique

Chaque principe actif a une propriété physicochimique qui lui est propre. Cette structure est responsable de sa lipophilie et son hydrophilie :

- la lipophilie d'un principe actif fait que celui-ci est attiré par les lipides de l'organisme ;
- l'hydrophilie fait qu'il est attiré par l'eau de l'organisme.

6.1.3 Lieu d'application

La voie d'administration d'un principe actif définit la nature du tissu cellulaire où il va être en contact pour l'absorption (passage dans le sang).

6.2. Distribution

Lors de cette étape, le principe actif est maintenant présent dans le sang (il vient d'être résorbé). Le principe actif doit alors aller dans les tissus et organes cibles pour avoir son action pharmacologique.

La distribution se divise en deux étapes :

- le transport plasmatique du principe actif ;
- la distribution tissulaire.

✓ **Transport plasmatique**

C'est le transport du principe actif dans le sang. Il se fait grâce aux protéines plasmatiques, dont l'albumine représente environ 60 %.

Le médicament existe donc dans le sang sous deux formes :

- une forme liée aux protéines plasmatiques ;
- une forme libre (non liée aux protéines plasmatiques).

Seul le principe actif qui est sous forme libre peut traverser les membranes cellulaires et quitter le compartiment sanguin pour agir dans l'organe cible. La forme liée du principe actif est un « réservoir » bloqué dans le sang. Par conséquent, dès qu'une partie du principe actif sous forme libre quitte le compartiment sanguin pour agir, la même quantité de principe actif fixée aux protéines plasmatiques va se détacher pour devenir forme libre à son tour. On parle d'un équilibre dynamique.

✓ **Distribution tissulaire**

Le sang véhicule le principe actif sous forme libre et liée jusqu'aux tissus et organes cibles. C'est au niveau des capillaires que le médicament sous forme libre passe dans l'organe cible par endocytose et/ou traversée des pores membranaires.

Il existe deux distributions spécifiques :

- la distribution dans le système nerveux central par passage de la barrière hémato-encéphalique (BHE). La BHE est une membrane très sélective qui ne laisse passer que les médicaments sous formes libres, de petites tailles, non ionisés et lipophiles ;
- la distribution foetoplacentaire, qui assure le passage au fœtus.

6.3. Métabolisation

Cette étape s'appelle aussi la biotransformation. La métabolisation est une transformation par réaction enzymatique d'un principe actif en un ou plusieurs composés, appelés métabolites.

Ces métabolites peuvent avoir des propriétés pharmacologiques ou en être dénués. Classiquement le médicament administré à un patient est doué de propriétés pharmacologiques in situ et la métabolisation a pour but de le rendre inactif. Les trois autres situations suivantes existent :

- le médicament a des propriétés pharmacologiques à cet endroit et ses métabolites en ont également ; c'est le cas des médicaments de la classe thérapeutique des benzodiazépines ;
- le médicament n'a pas de propriété pharmacologique à cet endroit : on parle alors de prodrogue. La métabolisation va permettre l'obtention de métabolite pharmacologiquement actif. Ex. : cas du captopril qui appartient à la classe thérapeutique des inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) ;
- le médicament a des propriétés pharmacologiques à cet endroit et ses métabolites sont toxiques pour l'organisme. Ex. : cas du paracétamol qui est métabolisé en N-acétyl-para-benzo-quinone-imine (NAPBQI) qui est hépatotoxique. A dose thérapeutique ce métabolite est éliminé de l'organisme, mais lorsqu'il y a un surdosage en paracétamol le métabolite NAPBQI provoque une hépatite cytolitique.

Le but de la métabolisation est de transformer le médicament en métabolites hydrophiles qui seront facilement éliminables de l'organisme par voie urinaire et/ou digestive.

Tous les organes participent à la dégradation des médicaments (tube digestif, foie, poumon, etc.). Le principal organe est le foie grâce à sa richesse en enzymes, notamment avec les cytochromes, dont le cytochrome P450.

6.4.Élimination

Cette étape correspond à l'élimination de l'organisme du principe actif et/ou de ses métabolites.

La demi-vie plasmatique d'un médicament ($T_{1/2}$) est le temps nécessaire pour que la concentration plasmatique du principe actif diminue de moitié. Les deux principaux organes assurant l'élimination sont le rein et le foie.

7. Pharmacodynamie

La pharmacologie regroupe la PK et la PD. Cette dernière s'intéresse aux effets du médicament sur l'organisme, c'est-à-dire à la fois les bénéfiques et les effets secondaires. L'objectif étant d'expliquer par quel mécanisme un effet se produit sur une cellule, un tissu ou un organe.

➤ Effet du médicament

Il résulte de l'action des propriétés biochimiques du principe actif ou de ses excipients à effets notoires sur les constituants du corps humain.

Un effet peut être :

- quantifiable : température, pression artérielle, fréquence cardiaque, douleur, etc. ;
- non quantifiable : sédation, collapsus, allergies, etc.

Actions du médicament : l'action du médicament peut être ;

- Action préventive : action qui prévient l'apparition de maladies.

Ex. : les vaccins.

- Actions curatives : peut être :

– étiologiques : le médicament traite directement la cause de la maladie (ex. : antihypertenseur) ;

– symptomatologique : le médicament traite les symptômes de la maladie (ex. : antidouleurs dans les rhumatismes) ;

– substitutive : le médicament apporte l'élément manquant (ex. : l'insuline chez les diabétiques).

- Action de diagnostic : action qui permet d'effectuer des explorations fonctionnelles (ex. : produits de contraste iodés).

➤ Réponses cellulaires

Il s'agit d'une réponse biochimique ou physiologique à un stimulus chimique entraînant :

- une modification moléculaire ou physiologique de la cellule (excitation ou inhibition cellulaire, contraction ou dilatation musculaire) ;

- ou une synthèse de protéines (enzymes, activateurs) ;
- ou une synthèse de matériels nucléaires (ADN, ARN).

➤ **Relation dose-effet des médicaments**

Les effets d'un principe actif sont la résultante d'une réponse cellulaire à l'échelle d'un organe ou d'un tissu. Les effets peuvent être mesurables et d'intensité variable (antipyrétiques, antihypertenseurs, hypoglycémiant, antiarythmiques, antidouleurs, etc.) ou bien obéissent à loi du tout ou rien (anxiolytiques, sédatifs, antidépresseurs, etc.).

- réponses mesurables : effet d'intensité variable. En fonction d'une dose croissante de principe actif, la réponse augmente jusqu'à stagnation (ex. : mesure de la tension artérielle) ;
- réponses non mesurables : phénomène du tout ou rien. La réponse apparaît ou non. On mesure dans ce cas la fréquence d'apparition de la réponse (ex. : anxiété, nausées). (Thibaut Caruba 2015)

8. Développement de médicament

On distingue dans la vie du médicament quatre phases : la recherche exploratoire, les études précliniques, la recherche clinique et la phase administrative (la recherche et le développement, l'enregistrement suivi de la commercialisation, l'exploitation et les réévaluations, enfin la disparition). Pour un produit original, une douzaine d'années séparent le début de la recherche de l'enregistrement.

8.1. Recherche exploratoire

C'est la phase qui précède le dépôt du brevet. La recherche fondamentale s'acharne d'abord à comprendre les mécanismes de la maladie afin de déterminer la cible que le médicament devra atteindre. Puis c'est le criblage : de très nombreuses molécules (plusieurs milliers) sont testées afin de ne retenir que celles éventuellement efficaces (généralement une centaine). Ces dernières font l'objet d'un dépôt de brevet valable pendant 20 ans pour protéger l'innovation liée à ces molécules.

Les méthodes de recherche, longtemps restées très empiriques, ont été bouleversées ces dernières années, en particulier grâce à l'informatique. Schématiquement, elles comprennent actuellement :

- l'identification de cibles (récepteur, enzyme, etc.) jouant un rôle clé dans un processus physiopathologique, suivie de leur caractérisation (structure spatiale, clonage, etc.)
- la modélisation par « conception assistée par ordinateur » de structures types capables d'interagir avec la cible
- la synthèse de molécules comportant les structures intéressantes. La « chimie combinatoire » permet d'obtenir dans un délai de quelques jours ou de quelques semaines des dizaines de milliers de dérivés

- le « criblage à haut débit » permet de tester ces molécules in vitro au même rythme. Il consiste à les essayer sur une batterie de tests correspondant à des cibles dans des tubes à essais, l'opération étant entièrement robotisée.

8.2. Etudes précliniques

C'est une phase de tests des différentes molécules précédemment sélectionnées obligatoires avant les essais sur l'homme. Cette phase comporte diverses composantes:

✓ Tests de pharmacologie expérimentale

L'efficacité de la molécule est testée successivement sur des systèmes moléculaires inertes, sur des cellules et des cultures de tissus. Si ces tests sont concluants, des tests sont ensuite menés chez l'animal.

✓ Tests de toxicologie

Ils ont pour but d'une part de définir la limite de l'innocuité du produit, d'autre part les organes ou fonctions atteints lorsque la dose utilisée est toxique. Autrement dit, ces tests évaluent les risques d'effets secondaires des médicaments en développement.

Pour ce faire, la réglementation impose des études chez l'animal selon des protocoles précis conformes aux Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) qui assureront la reproductibilité des essais. Ils se réalisent en différentes étapes suivant des procédures précises internationalement validées.

8.3. Recherche clinique

Le développement clinique a pour objectifs la démonstration de l'existence d'un effet thérapeutique et l'établissement des conditions d'utilisation du produit. L'évaluation clinique ne peut s'effectuer que chez l'homme volontaire, sain ou malade.

Les essais cliniques sont le fait de médecins spécialisés et d'assistants de recherche clinique (ARC), le développement clinique aboutit à la constitution du dossier clinique qui fait partie du dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché.

Beaucoup de candidats médicaments sont éliminés avant ce stade atteint par seulement un médicament sur quinze. Cette recherche se déroule chez l'humain en trois phases principales dans des conditions bien réglementées. Elles s'effectuent dans un cadre juridique.

➤ Différentes phases de l'expérimentation clinique :

- Phase 1 (étude de la tolérance)

Des doses croissantes de la molécule à l'étude sont administrées à des volontaires sains différents sous surveillance étroite au sein de structures particulières agréées, jusqu'à ce qu'apparaissent les premiers signes d'intolérance, repérés grâce à la surveillance clinique et au suivi des constantes biologiques. Cette phase comprend les premières études de pharmacocinétique permettant de déterminer la biodisponibilité, la résorption, la diffusion, le métabolisme et l'élimination du médicament. Elle doit aussi préciser la posologie à appliquer en phase 2.

- Phase 2 (étude de l'efficacité)

La phase d'étude de l'efficacité qui a lieu sur des volontaires sains tandis que la phase 2b s'effectue sur des patients modérément atteints par la pathologie cible du médicament candidat. L'administration demeure de courte durée et les critères d'évaluation sont plus physiopathologiques que thérapeutiques. Cette phase 2 permet de préciser les connaissances de pharmacocinétique et le métabolisme du produit, de recenser ses propriétés pharmacologiques, d'établir les courbes de relation entre sa concentration et les effets obtenus, de préciser la dose optimale pour laquelle l'effet thérapeutique est le meilleur pour le moins d'effets secondaires entraînés.

- Phase 3 (essai comparatif)

L'efficacité et la sécurité du médicament à l'étude sont étudiées au cours d'un classique essai clinique contrôlé en comparaison avec un traitement de référence reconnu efficace dans la maladie en question ou avec un placebo, sur un grand groupe de malades (plusieurs centaines à plusieurs milliers de patients). Si le médicament traverse avec succès ces différentes phases, il est éligible pour l'accession au marché. Pour ce faire, il faut ensuite suivre toute une procédure administrative.

8.4. Phase administrative

Elle résulte de la réglementation complexe entourant la commercialisation du médicament.

➤ Obtention de l'AMM

C'est la première étape du circuit administratif. Toute démarche de mise au point d'un médicament à usage humain en vue d'une commercialisation aboutit à un certain moment à la présentation optimale du principe actif confié au galéniste, c'est-à-dire, la forme la mieux adaptée technologiquement et économiquement à l'usage auquel elle est destinée.

Cet aboutissement caractérise la fin de la période de conception, débouchant à la constitution du dossier d'AMM et plus précisément, à la rédaction du dossier technique **CTD** « Common Technical Document » qui est une forme de présentation du dossier pharmaceutique qui a révolutionné les processus réglementaires régissant le médicament .

L'objectif de ce dossier est de décrire de façon, aussi précise et indiscutable que possible, le médicament qui fait objet de la demande d'AMM. Celui-ci est défini à la fois par les conditions de fabrication, par les contrôles effectués sur les matières premières, en cours de fabrication et sur le produit fini.

Pour assurer la sécurité des patients dans l'utilisation du médicament en situation réelle, des procédures de pharmacovigilance sont prévues qui accompagnent toute la vie du médicament. (Sylviane Chéry-Croze, 2008).

38 DE L'IDÉE AU PRODUIT : GENÈSE D'UN MÉDICAMENT

Source : Leem.

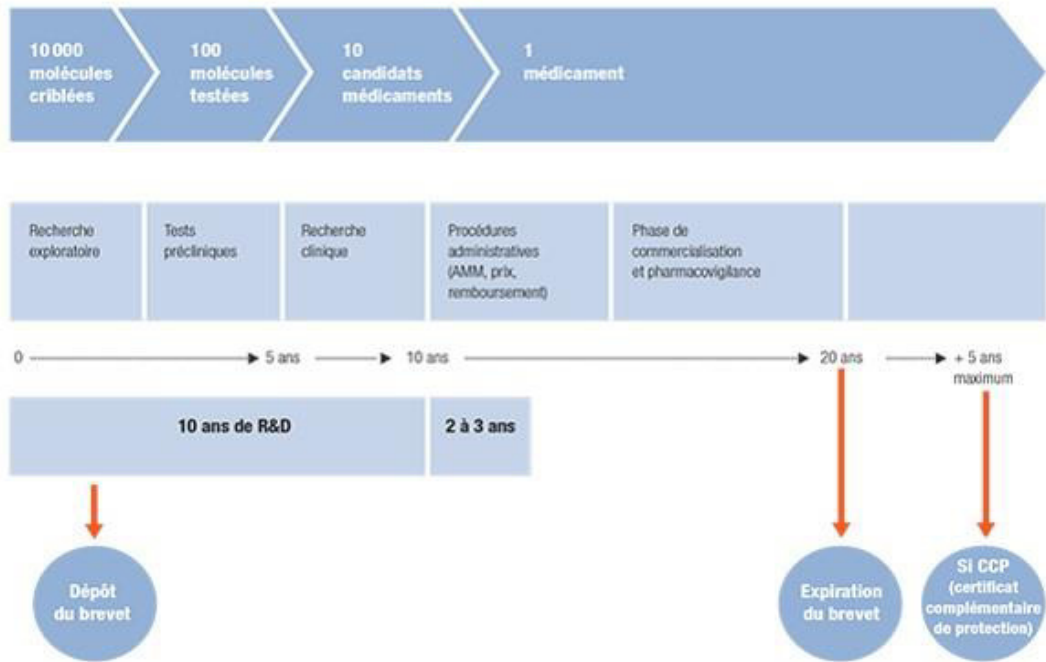


Figure 1 : les étapes de développement de médicament (Sylviane Chéry-Croze, 2008).

Chapitre II : Evaluation préclinique des médicaments

Introduction

Le développement préclinique consiste à évaluer in vivo dans des systèmes vivants non humains l'activité d'un candidat médicament issus des phases de la recherche cognitive.

Le développement préclinique fait en particulier appel à l'expérimentation animale, qui est une étape indispensable à la connaissance d'un futur médicament avant de l'administrer à l'homme. En effet il n'est pas envisageable d'administrer un nouveau composé à l'homme sain ou malade compte tenu des risques non connus susceptibles d'apparaître. L'expérimentation animale est donc utilisée de manière rationnelle et, dans tous les cas, selon des bonnes pratiques qui garantissent un traitement éthique de l'animal de laboratoire.

Au cours du développement préclinique, un grand nombre d'études sont effectuées afin de qualifier le candidat médicament sur le plan de la pharmacologie, [de la pharmacocinétique](#) [et](#) de la toxicologie. Ces études sont constitutives d'une partie du dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM) du futur médicament ; elles répondent à des normes internationales de qualité scientifique et sont étroitement évaluées par les autorités de santé au moment de délivrer l'AMM.

Les études de pharmacologie ont pour but de valider le mécanisme d'action et de mesurer l'activité du candidat médicament dans des modèles expérimentaux de la maladie, in vitro et in vivo chez l'animal.

Les études de pharmacocinétique permettent de décrire le comportement et le devenir du composé dans un organisme vivant. Classiquement il s'agit de modéliser son absorption, sa distribution dans l'organisme, son métabolisme c'est à dire comment l'organisme procède à sa transformation et enfin à son élimination.

Les études de toxicologie visent quant à elles à établir quels sont les organes cibles et les doses toxiques du candidat médicament pour un organisme vivant (développement préclinique).

Pharmacologie expérimentale

Définition

La pharmacologie expérimentale consiste à sélectionner les molécules présentant une activité pharmacodynamique sur des modèles expérimentaux, en dehors du sujet original (homme). Ces molécules sont obtenues par synthèse totale ou extraites à partir du règne végétal, animal, minéral ou issu de la biotechnologie.

Criblage ou screening

Lorsqu'il n'est pas suivi d'un qualificatif, le terme « criblage » désigne en pharmacologie, selon l'usage courant, le criblage général. Il s'agit d'une méthode d'investigation permettant d'effectuer un tri (en anglais, screening) parmi des substances naturelles ou synthétiques dont on ignore les propriétés pharmacologiques, dans la perspective de la recherche d'un médicament. Seules sont présélectionnées les molécules qui présentent une activité intéressante, lors d'essais systématiques sur un ou plusieurs tests selon le programme adopté. Cette façon de procéder est

particulièrement intéressante lorsqu'il s'agit de molécules chimiquement originales puisqu'elle permet non seulement de détecter à l'aide d'un maximum de tests une activité parfois imprévue, mais encore d'obtenir le plus de renseignements possibles sur le produit concerné.

Le criblage orienté, lui, se propose de rechercher ou de vérifier si une molécule possède une (ou plusieurs) activité(s), déterminée(s) dans un (ou plusieurs) domaine(s) préalablement défini(s). Il permet notamment, lorsqu'on étudie une série de molécules chimiquement homogène ou des molécules agissant par des mécanismes biologiques semblables, d'établir des relations structure-activité directement exploitables en drug design (recherche de molécules sur des bases rationnelles théoriques et expérimentales).

Les tests utilisés dans ces deux modes de criblage font appel à des techniques plus ou moins complexes. Ils sont réalisés in vivo sur animal entier et/ou in vitro sur organe isolé ou fragment d'organe, et peuvent comprendre des études sur récepteurs. On recherche, par exemple, des actions anxiolytiques, antidépressives, antiparkinsoniennes, etc. pour le système nerveux central, et des effets antihypertenseurs ou dilatateurs coronariens pour le système cardiovasculaire, etc.

Sur l'animal, les essais de la molécule susceptible de devenir un médicament sont pratiqués à une dose choisie. ([Gagnault](#), 2016)

Modèles biologiques expérimentaux

Définition du Modèle animal

En recherche biomédicale, un modèle animal est un modèle permettant l'étude des données de référence sur la biologie ou le comportement, ou chez lequel on peut étudier un processus pathologique spontané ou induit, celui-ci ayant un ou plusieurs aspects communs avec un phénomène équivalent chez l'humain ou d'autres espèces animales. (American National Research Council Committee on Animal Models for Research and Aging).

Types de modèles

Modèles naturels (spontanés)

Dans ce cas les maladies ou les conditions sont présentes naturellement chez les animaux et identiques à des maladies ou affections humaines. Ces maladies ou affections sont souvent associées à des mutations naturelles conduisant à des désordres similaires à ceux décrits dans l'espèce modélisée (homme).

Exemples :

- Rat brattleboro : diabète insipide neurogène
- Rat SHR : hypertension artérielle essentielle

Modèles expérimentaux

Il s'agit de modèles chez lesquels les scientifiques reproduisent expérimentalement une affection ou une maladie. Organismes animaux « normaux » soumis à des actes

chirurgicaux et/ou toutes autres interventions (diabète, administration de médicaments ou d'agents infectieux) susceptibles d'engendrer un état physiologique anormal

Exemples :

- Hypertension rénale (uninéphrectomie).
- Hypertension neurogène (dénervation sinoaortique).
- Insuffisance cardiaque (ligature coronaire).
- Administration de médicaments ou de substances chimiques.

Modèles génétiquement modifiés

Modèles expérimentaux dont le scientifique a manipulé le code génétique pour provoquer la maladie à étudier. Ces modèles permettent l'étude du fondement génétique de certaines maladies, la susceptibilité ou la résistance à celles-ci.

Exemples :

- Insertion d'un ADN étranger
- Remplacement (modèle knock-in) ou neutralisation de certains gènes (modèles knock-out) (<http://www.taconic.com>)

Modèles négatifs

Animaux résistants à une affection ou maladie donnée. L'étude de la cause de cet état permet de trouver des données sur la résistance à la maladie et ses fondements physiologiques

Exemples :

Seules certaines espèces animales sont sensibles à certaines maladies infectieuses, les autres sont des modèles négatifs (lapin insensible à l'infection gonocoque ou chimpanzé très peu sensible à la maladie d'Alzheimer).

Modèles orphelins

Affections apparaissant naturellement chez un animal et pour lesquelles il n'existe pas d'équivalent chez l'homme.

Exemples :

Autrefois, la tremblante du mouton. Aujourd'hui, cette maladie constitue un modèle utile pour l'étude des encéphalopathies spongiformes humaines (ESB, maladie de la vache folle, maladie de Creutzfeld- Jacob).

Qualité d'un modèle

Meilleure analogie et pertinence possibles :

- 1- Modèle isomorphe (face validity) : Le modèle animal doit présenter des symptômes identiques à ceux de la pathologie humaine, malgré les différences anatomiques, physiologiques...etc.
- 2- Modèle homologue (construct validity) : La connaissance des mécanismes du modèle et de la pathologie permet une comparaison qui s'affine avec l'utilisation du modèle.
- 3- Modèle prédictif (predictive validity) : La réponse aux traitements du modèle animal doit être similaire à celle de la pathologie humaine.

La connaissance des causes de l'affection humaine n'étant pas souvent possible, la comparaison est délicate et l'analogie difficile à établir.

Il n'existe pas de modèle parfait. C'est avec l'expérience qu'un modèle démontre sa pertinence et son analogie avec l'atteinte pathologique humaine.

Un modèle nécessite une validation selon les critères définis précédemment ainsi que la nécessité d'adapter le modèle au cours du temps.

Les causes de la pathologie humaine, voire du modèle animal, sont souvent inconnues

L'analogie n'est jamais parfaite (symptômes, réponse aux traitements)

La connaissance indispensable de la biologie comparée et de la pathologie comparée des différentes espèces d'animaux de laboratoire :

- Anatomie
- Physiologie
- Aspects techniques de l'élevage
- Hébergement
- Médecine et chirurgie vétérinaire
- Anesthésie (Jann Hau, 2003)

Etudes pharmacocinétiques

Méthodes expérimentales en pharmacocinétique

Approche in vitro

Des expérimentations in vitro, dans lesquelles la substance est mise au contact d'organes isolés, de broyats tissulaires, de cultures cellulaires, de solutions protéiques... permettent de préciser certains aspects de cette étude (biotransformations, liaisons protéiques, interactions médicamenteuses, etc.).

Les procédés utilisés pour ces mesures font intervenir l'ensemble des méthodes analytiques, que ce soit au stade de la purification (extraction, chromatographie), ou à celui de la détermination des quantités ou des structures (méthodes spectrographiques dans l'ultraviolet, dans l'infrarouge, de résonance magnétique nucléaire, de masse et de dichroïsme circulaire). On fait largement appel aux traceurs isotopiques radioactifs et stables, tant pour la localisation et la caractérisation du produit et de ses métabolites que pour leur dosage (radio-immuno-essai). (Gagnault, 2017)

Type de modèles in vitro

- méthodes sur organe isolé
- méthodes sur culture cellulaire
- méthodes sur membrane artificielles

➤ **Avantage**

- Analyse fine des interactions au niveau cellulaire et moléculaire (affranchissement des boucles de régulation physiologiques)
- Facilité dans la modélisation mathématique des résultats expérimentaux (faible nombre de paramètres biologiques à prendre en compte)

- Réduction possible du nombre d'animaux utilisés (multiplication du nombre de fragments d'organe prélevés sur un même animal)
- Très bonne reproductibilité des résultats
- Possibilité d'évaluer plusieurs protocoles expérimentaux sur un même organe ou fragment d'organe (série de doses, différentes conditions expérimentales consécutivement)
- Peut éviter l'utilisation d'animaux de laboratoire quand les prélèvements sont réalisés à l'abattoir.

➤ **Inconvénients**

- Toujours invasif
- Nécessité d'une grande maîtrise technique pour assurer la survie des organes et conserver une réactivité reproductible dans le temps
- Aboutit automatiquement à la mort de l'animal

Approche in vivo

➤ **Avantage**

- Prise en compte de l'animal dans son intégralité en respectant les boucles de régulation physiologiques
- N'aboutit pas automatiquement à la mort de l'animal (méthodes non invasives)

➤ **Inconvénients**

- Nécessité de maîtriser les effets délétères chez les animaux utilisés dans les modèles de pathologie expérimentale
- Plus grande variabilité dans les résultats expérimentaux
- Réduction difficile du nombre d'animaux utilisés (un seul résultat expérimental est obtenu par animal)

➤ **Choix de l'état expérimental anesthésié vs vigile**

L'approche expérimentale in vivo peut être mise en œuvre soit sur animaux vigiles soit sur animaux anesthésiés. Le choix sera fonction de l'objectif de l'étude et, plus particulièrement du type et de la quantité de données à recueillir et de l'interférence possible des résultats avec la technique expérimentale.

L'anesthésie consiste à tranquilliser l'animal pour l'immobiliser et surtout à abolir sa sensibilité somesthésique dont nociceptive.

Le choix d'anesthésier ou non l'animal doit être évalué selon les avantages et les inconvénients rencontrés :

• **Animal anesthésié**

➤ **Avantage**

- Absence de motricité de l'animal
- Absence de réaction consciente de l'animal
- Réactions neurovégétatives limitées
- Enregistrement possible de nombreux paramètres de manière invasive
- Assez bonne reproductibilité

➤ **Inconvénients**

- Nécessité d'un choix raisonné de l'anesthésique (effets propres des anesthésiques)

- Interférence possible entre l'anesthésie ou l'anesthésique et les paramètres expérimentaux mesurés.
- Réactions neurovégétatives limitées
- Mort de l'animal en fin d'expérience le 18 ouvent
- Suivi dans le temps le plus souvent impossible

- **Animal vigile**

- **Avantage**

- Absence d'interférence entre la procédure expérimentale et les résultats expérimentaux
- Suivi dans le temps des paramètres
- Enregistrement possible à distance et sans intervention grâce aux implants télémétriques

- **Inconvénients**

- Enregistrement très limité de paramètres de manière invasive
- Motricité volontaire de l'animal
- Plus grande variabilité dans les résultats expérimentaux
- Nécessité de maîtriser les effets délétères chez les animaux utilisés dans les modèles de pathologie expérimentale.

- **Pertinence d'une expérimentation invasive vs non invasive**

Les approches expérimentales invasives ont permis d'accéder à un grand nombre de mesures de paramètres biologiques sur un même animal. A partir des implantations expérimentales réalisées chez ces animaux, ils sont généralement euthanasiés à la fin de l'expérimentation.

Actuellement, les approches expérimentales non invasives prennent de plus en plus d'essor en raison des avancées technologiques récentes dans les techniques d'exploration fonctionnelle (imagerie par scanner, IRM, scintigraphie, TEP, télémétrie, ...). Les phénomènes biologiques sont étudiés in vivo et de manière dynamique, permettant également un suivi dans le temps.

De nombreuses plateformes multi-modalités proposent leurs services pour répondre aux besoins expérimentaux, y compris dans des modèles animaux de petite taille (souris, rat). (Bayne K, 2003)

Approche in silico

Le développement d'outils informatiques fiables couplé à la croissance de la puissance informatique a permis la mise en place de techniques de simulation numérique centrées sur la biologie. Par analogie avec les expressions in vivo et in vitro, le terme « in silico » a été introduit pour qualifier les méthodes numériques mises en œuvre pour traiter de tels systèmes. De par son nom, ce terme fait référence au silicium, matériau principal retrouvé dans les puces informatiques de tous les ordinateurs. Le champ in silico regroupe un très large ensemble de méthodes numériques fondées sur les lois de la physique et de la chimie qui, utilisant les approches des mathématiques, permettent de simuler ou de modéliser un phénomène biologique à l'aide de l'outil informatique. Dans le cadre de cette expertise, deux

grandes familles de méthodes seront définies. La première, plus communément connue sous l'acronyme anglais QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship) se base sur les relations quantitatives entre structures et propriétés, tandis que la seconde se réfère directement aux propriétés atomistiques de l'entité étudiée. (Cramer 2004)

Etudes toxicologiques

Les études de [toxicité](#) analysent le profil de sécurité d'un composé à l'étude. Elles fournissent également d'importantes informations sur l'[absorption](#), la distribution, le métabolisme et l'excrétion (ADME) du composé dans l'organisme. Un composé à l'étude doit faire l'objet de nombreux types d'études de toxicité non cliniques avant de pouvoir être administré au premier volontaire humain, et d'autres études toxicologiques sont encore exigées par la suite avant que le médicament ne puisse recevoir l'autorisation de mise sur le marché.

Types d'études toxicologiques

Les types d'études toxicologiques suivantes doivent être effectués pendant les tests précliniques :

- Études de toxicité systémique
 - Études à dose unique
 - Études à doses répétées
- Études de toxicité sur la reproduction
 - Études sur la fertilité masculine
 - Études toxicologiques portant sur le développement et la reproduction féminine
- Études toxicologiques locales
- Études d'hypersensibilité
- [Études de génotoxicité](#)
- Études de carcinogénicité

Évaluation de la toxicité

Toxicité aiguë : DL₅₀

L'étude de la mortalité après une administration unique d'un produit permet de déterminer la dose létale 50, ou DL₅₀, qui est la dose qui tue 50% des animaux traités dans un temps déterminé, par exemple huit jours. L'étude est faite sur des lots d'animaux, souris, rats... que l'on traite avec différentes doses du produit étudié, administré dans des conditions bien déterminées. On note la mortalité mais aussi toutes les modifications comportementales ou autres qui apparaissent. Il existe des méthodes simplifiées donnant avec un faible nombre d'animaux une valeur approchée de la DL₅₀. La DL₅₀ d'un même produit dépend de l'espèce et de la voie d'administration; elle est généralement plus basse (c'est-à-dire que la toxicité est plus grande) par voie parentérale que par voie orale.

Étude de toxicité subaiguë

Elle a pour but de révéler les altérations fonctionnelles et/ou anatomopathologiques apparaissant après administrations répétées de la substance étudiée, en établissant les conditions d'apparition de ces altérations (doses utilisées, rythmes d'administration). C'est une épreuve à court terme (2 à 4 semaines) et elle doit être réalisée sur deux espèces de mammifères dont l'une différente des rongeurs. (Rapport annuel 2008 de l'AFSAPPS)

Toxicité chronique

Elle consiste à étudier les conséquences néfastes de l'administration répétée du produit étudié. Le produit est administré quotidiennement, une ou deux fois par jour, pendant une durée plus ou moins longue, trois à six mois, en général, en fonction de la durée d'administration prévue chez l'homme.

L'expérimentation porte sur deux ou trois espèces animales différentes adultes, souris, rats, lapins, recevant chacune généralement trois doses différentes (faible, moyenne, forte) du produit.

Lorsque le médicament est destiné à un usage pédiatrique, une expérimentation complémentaire sur animaux jeunes, âgés par exemple de quelques jours, peut être utile pour déceler une éventuelle toxicité particulière chez l'enfant.

Les signes de toxicité sont recherchés :

- sur le plan clinique : aspect, poids, prise de nourriture, de boisson, etc.
- sur le plan biologique : paramètres hématologiques, biochimiques, anatomopathologiques.

Il s'agit d'une étude extrêmement coûteuse qui n'est entreprise que lorsque l'on pense que le produit a des chances de devenir un « médicament ».

De plus en plus, les tests *in vitro* apportent des renseignements sur la toxicité potentielle des substances, mais ils ne sont pas suffisants pour éviter l'expérimentation sur l'animal entier avant l'administration à l'homme.

Toxicité et reproduction

Toute molécule susceptible de devenir un médicament peut être suspectée de modifier l'activité sexuelle, la fertilité et la descendance.

Après administration du produit testé au mâle et/ou à la femelle, les modifications de l'activité sexuelle peuvent être décelées en étudiant le déroulement et la fréquence des accouplements et la modification de la fertilité en comptant la fréquence des gestations. Une étude des spermatozoïdes peut également être entreprise.

Effet sur la descendance

Une substance peut avoir des effets toxiques sur la descendance quelque soit le moment de la gestation où elle est administrée à la mère mais plus particulièrement durant la phase d'embryogenèse. On utilise pour caractériser la toxicité d'un médicament ou d'une substance les termes de tératogène, embryotoxique et foetotoxique. Restreint au sens étymologique, une substance est tératogène lorsque,

prise par la mère pendant la gestation, elle provoque des malformations visibles dans la descendance, comme l'a fait la thalidomide dans l'espèce humaine. Mais si, par exemple, l'effet toxique se traduit par une surdité, le terme de tératogène peut encore être employé en lui donnant un sens large: toute altération morphologique ou fonctionnelle ou retard de croissance provoqué dans la descendance par la prise d'un médicament par la mère durant la gestation. On tend actuellement à utiliser pour désigner les effets toxiques provoqués durant la période d'embryogenèse (deux premiers mois de la grossesse dans l'espèce humaine) le mot embryotoxique et pour désigner les altérations induites durant la deuxième phase de la grossesse (à partir du début du troisième mois) le terme foetotoxique.

L'activité tératogène d'un produit est mise en évidence par l'apparition d'anomalies morphologiques ou fonctionnelles dans la descendance de femelles traitées pendant la gestation. L'expérimentation de chaque produit étudié se fait sur deux ou trois espèces animales, en administrations répétées pendant en général toute la durée de la gestation et à plusieurs doses. Elle comporte l'examen des animaux à la naissance et éventuellement à plus long terme.

- Si l'on observe des anomalies importantes ou fréquentes, le produit est contre-indiqué chez la femme enceinte.
- Si les anomalies ne sont pas plus fréquentes que celles qui surviennent spontanément, le risque tératogène est faible. L'absence d'effet tératogène d'un produit chez deux espèces animales, rat et lapin, est une donnée essentielle qui ne garantit pas cependant son innocuité chez la femme enceinte et le laboratoire pharmaceutique peut, en dépit de cette absence d'effet tératogène d'un médicament chez l'animal, déconseiller son utilisation chez la femme enceinte.

De plus, on peut étudier le retentissement éventuel d'un produit administré à la femelle gestante sur le développement postnatal de sa descendance à la première génération et éventuellement aux suivantes.

Effet périnatal

Les accidents de périnatalité sont des troubles qui surviennent chez le nouveau-né dans la majorité des cas à la suite de la prise d'un médicament par la mère peu avant l'accouchement et de sa diffusion à travers le placenta (il peut s'agir par exemple de somnolence du nouveau-né après la prise d'un sédatif par la mère). Plus rarement on peut observer chez le nouveau-né un syndrome de sevrage consécutif à l'arrêt de l'apport par la mère à travers le placenta d'un médicament ou d'une drogue.

Risque mutagène

Le risque mutagène d'un médicament consiste en l'altération du génome, c'est-à-dire de l'acide désoxyribonucléique ou DNA. Une mutation consiste en un changement dans une séquence des nucléotides d'une partie du génome. La mutation peut être silencieuse, c'est-à-dire sans conséquence ou accompagnée de conséquences. Si la

mutation touche le génome des cellules germinales, la mutation est transmissible aux générations suivantes.

La recherche de mutations est effectuée dans le cadre de la toxicologie génétique. On utilise en général des tests *in vitro* sur des souches mutantes, par exemple *Salmonella Typhimurium* (Test de Ames), et on mesure le nombre de mutations.

Risque cancérigène

Pour savoir si un produit pourrait augmenter le risque d'apparition de cancers, il faut l'administrer quotidiennement pendant une très longue durée, de l'ordre de un à deux ou trois ans, chez la souris ou le rat. L'expérience doit être effectuée sur des animaux des deux sexes.

Cette recherche est surtout importante pour les médicaments utilisés pendant de longues durées. Les anticancéreux eux-mêmes, les immunodépresseurs peuvent favoriser l'apparition de cancers. (Allain, 2017)

Chapitre III: Activité analgésiques des médicaments

Douleur

Définition de la douleur

La douleur est définie comme «une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, associée à une lésion tissulaire réelle ou potentielle, ou décrite dans des termes évoquant une telle lésion». La transmission douloureuse est un phénomène complexe impliquant des mécanismes électrophysiologiques et neurochimiques, où les 3 étapes vont se succéder :

- ✓ Naissance de l'influx au niveau du nocicepteur et sa transmission dans la fibre nerveuse périphérique
- ✓ Le relais et la modulation au niveau de la corne dorsale de la moelle épinière (transmission de l'influx, blocage ou amplification, convergence des différents influx).
- ✓ L'intégration au niveau du cerveau qui le transforme en message conscient: sensation douloureuse avec une composante sensori-discriminative (intensité, localisation, durée du stimulus nociceptif), et une composante émotionnelle et affective désagréable.

1.2. Types de douleur

Il n'y a pas dans le cerveau une aire unique spécifique à l'information « douleur » mais plusieurs aires sont concernées dans la sensation, le décodage et le contrôle, de même, différents mécanismes peuvent être générateurs de douleur.

La douleur est un phénomène complexe. Elle peut être différente en fonction du mécanisme d'origine et de sa durée dans le temps. Il est possible d'opposer deux types de douleurs :

- La douleur due à un excès de nociception (perception exagérée de la douleur). Ce type de douleur est le résultat d'une augmentation de la transmission des messages douloureux qui sont transportés par les fibres fines. Pour venir à bout des douleurs par excès de nociception il est nécessaire d'utiliser des antalgiques (aspirine, paracétamol, dextropropoxyphène, dérivés morphiniques etc.).
- La douleur par défaut d'inhibition ou désafférentation. Il s'agit des douleurs de type neurogène qui font suite à l'atteinte d'un nerf périphérique. Il peut s'agir entre autres d'une section, d'une amputation, d'une lésion nerveuse due à l'utilisation de la radiothérapie, de zona etc. Les douleurs par défaut d'inhibition sont le résultat de l'altération des systèmes inhibiteurs d'origine centrale. Les médicaments employés pour lutter contre ce type de douleurs sont des substances ayant une action centrale. Il s'agit des antiépileptiques (carbamazépine, clonazépam, gabapentine... etc.) et des antidépresseurs tricycliques.

Les patients souffrant de cancer entraînant l'apparition de douleurs sont exposés aux deux types de douleurs simultanément ou successivement

1.3. Physiopathologie :

La douleur est le résultat de l'excitation des nerfs, plus précisément des fibres composant les nerfs et aboutissant à un message nerveux : le stimulus douloureux ou douleur. Cet influx nerveux prend naissance à l'endroit où démarre en quelque sorte l'agression de l'organisme c'est-à-dire au niveau des récepteurs qui portent de nocicepteurs constitués par les terminaisons nerveuses sensibles aux stimulations douloureuses. Ces récepteurs nociceptifs sont situés dans la peau, dans les veines, les artères, les muqueuses, les tendons, les os etc... Les nocicepteurs siègent également dans les viscères. Une lésion tissulaire aboutit à l'accumulation de substances algogènes (substance destinée à engendrer la douleur), il s'agit entre autres de la substance P, de bradykinine, de l'histamine et de la sérotonine. Des prostaglandines (PGE-1 et PGE-2) sont impliquées également dans la genèse des phénomènes douloureux. Ces substances permettent de sensibiliser les récepteurs des terminaisons nerveuses sensibles à l'action des médiateurs algogènes.

Si l'on prend l'exemple d'une brûlure de la main, c'est à ce niveau que l'influx douloureux, qui n'est pas encore perçu comme une douleur mais simplement comme un influx nerveux, prend sa source. Ensuite ce stimulus nerveux chemine à travers les nerfs sensitifs, gagne la corne postérieure de la moelle épinière c'est-à-dire la partie arrière de la substance grise de cet organe. Le stimulus douloureux empreinte ensuite les voies de la douleur (fibres sensitives) qui assurent la transmission de ce stimulus à partir des récepteurs périphériques jusqu'au cortex cérébral, en passant par différentes étapes (moelle épinière, système lemniscal, système extra lemniscal, thalamus).

Ces fibres sensitives sont de plusieurs calibres :

- Les unes de gros calibre (fibres A, Alpha, Bêta) sont entourées de myéline, substance qui possède un rôle d'accélérateur de la transmission de l'influx nerveux.
- Les autres sont plus fines il s'agit des fibres A Delta entourées également de myéline mais beaucoup moins rapides (environ 10 fois) que les fibres A Alpha Bêta.
- Les dernières fibres sont les fibres C particulièrement fines et ne possédant pas de myéline en périphérie.

À partir de la corne postérieure de la moelle épinière, l'influx nerveux (qui n'est toujours pas perçu comme une douleur) emprunte d'autres neurones constituant ce que l'on appelle la voie sensitive de la moelle épinière, située également dans la corne postérieure. À cet endroit les influx douloureux subissent habituellement une inhibition, autrement dit une sorte de filtre qui atténue le message douloureux. Ce filtre porte le nom de système de la porte (Gate controle de Melzack et Wall mis en évidence en 1965).

À ce stade l'inhibition de l'influx nerveux peut être intensifiée grâce à l'action de certains neuromédiateurs (substance transmettant l'influx nerveux entre les neurones

au niveau des synapses). C'est le cas entre autres des morphines endogènes ou des endorphines. Signalons que certains neuromédiateurs sont capables de supprimer totalement la douleur.

Pour comprendre le mécanisme du Gate control, il est nécessaire de savoir que le mécanisme neurologique de la douleur fait intervenir entre autres les fibres nerveuses C de faible calibre et les fibres de gros calibre A, responsables de la transmission du tact. Les fibres C transmettent le message douloureux depuis la périphérie de l'organisme jusqu'à la moelle épinière et plus précisément aux cellules T de la corne dorsale (partie de la moelle épinière située vers l'arrière). A ce niveau existe une porte qui s'ouvre et qui permet alors la transmission de la douleur vers le cerveau et plus précisément le thalamus (zone du cerveau située au centre de celui-ci permettant l'analyse des douleurs entre autres).

Il existe également à ce niveau un contrôle par les neuropeptides (variété de protéines). Il s'agit essentiellement de la substance P et des peptides opioïdes endogènes (enképhaline pour morphine du cerveau, endorphine pour morphine endogène) et dynorphines. La substance P est un neuromédiateur des fibres C transmettant la douleur intense. Les influx qui sont véhiculés par les fibres C vont libérer la substance P dans la fente synaptique ce qui aboutit à l'excitation du neurone post-synaptique au niveau de la corne postérieure de la moelle épinière. Les opioïdes endogènes vont se fixer sur les récepteurs morphiniques. L'enképhaline, qui est synthétisée au niveau des inter-neurones de la moelle épinière, inhibe la libération de la substance P par les fibres C. De ce fait il se produit une inhibition du neurone qui reçoit le stimulus douloureux et qui le transmet vers les centres supérieurs.

Ces douleurs sont ensuite transmises au cortex (partie périphérique du cerveau où est " ressentie " la douleur proprement dite. Cette porte pourrait être maintenue fermée grâce, justement, à la stimulation d'autres fibres nerveuses que sont des fibres myélinisées de gros calibre les fibres A (c'est ce qui se passe lors de la neurostimulation transcutanée).

En stimulant précisément ces fibres, on active les cellules T et on inhibe (freine) la transmission de la douleur à hauteur de la moelle épinière. Après ce passage obligatoire l'influx nerveux remonte ensuite le long de la colonne vertébrale, toujours dans la moelle épinière pour atteindre une zone du cerveau : le thalamus, zone anatomique où l'influx nerveux est transformé en sensation douloureuse. Au sein du thalamus il existe des sous-zones (sous noyaux) dont le rôle est d'influencer le message douloureux (sensation, localisation, discrimination etc.). C'est ainsi que chaque individu va ressentir différemment la douleur selon son vécu, son anxiété, son angoisse etc. Des interconnexions entre le thalamus et une autre zone du cerveau : le système limbique influencent la perception de cette douleur. (Encyclopédie médicale 2016)

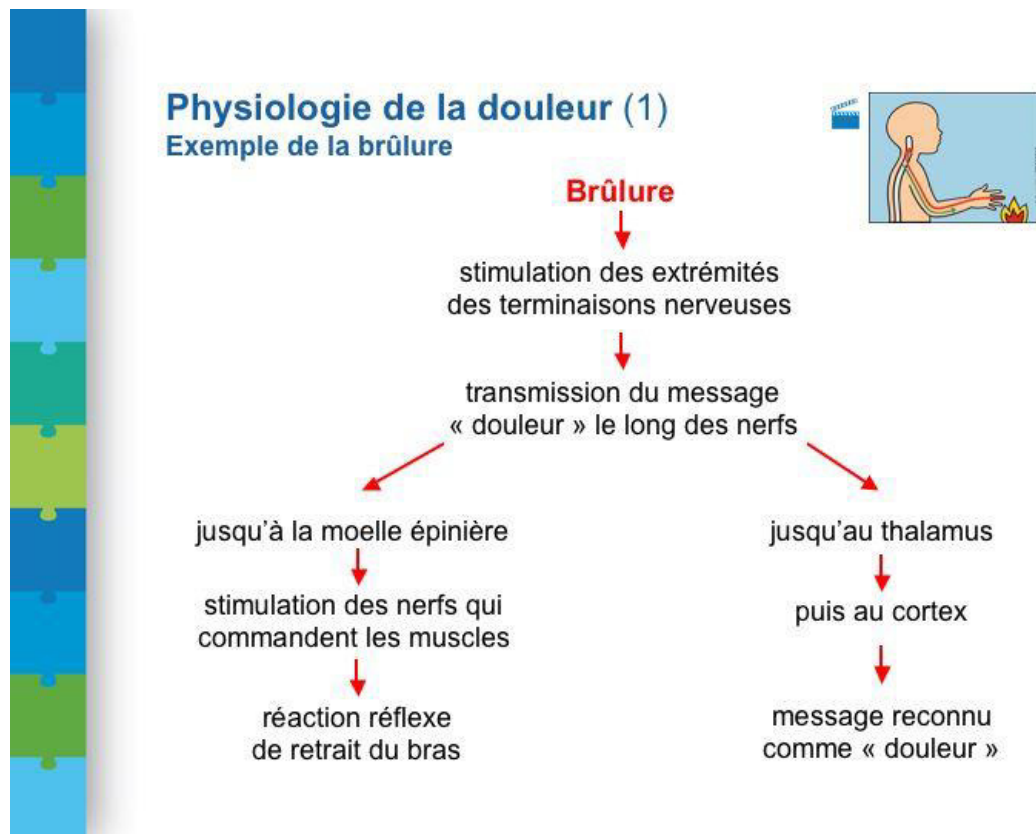


Figure 2 : physiologie de la douleur (www.sparadrap.org)

1.4. Traitement de la douleur

Pour « traiter » la douleur, de nombreuses techniques sont actuellement utilisées. La plus fréquente, qui concerne les douleurs relativement légères, fait appel aux analgésiques, antalgiques (antidouleur). Il s'agit avant tout de l'aspirine, du paracétamol, des anti-inflammatoires ne contenant pas de corticoïdes (cortisone). Pour les douleurs plus importantes on utilise des analgésiques narcotiques (proche de la morphine).

D'autres techniques comme la mésothérapie, l'acupuncture, la cryothérapie sont des alternatives intéressantes. La prise en charge psychologique du patient est également particulièrement importante.

Les douleurs chroniques et rebelles aux médicaments précédemment cités nécessitent des injections de morphine ou d'équivalents en opiacés, agissant par voie sanguine après pénétration du produit par voie sous-cutanée ; intramusculaire ou intrathécale.

Un autre type de traitement antidouleur est la neurostimulation transcutanée qui est adaptée au traitement des douleurs chroniques, elle fait appel à la neurostimulation c'est-à-dire à la stimulation électrique du système nerveux. Au cours de la neurostimulation électrique transcutanée, l'analgésie (ce qui permet de diminuer voire de supprimer la douleur) fait intervenir le mécanisme de la porte " Gate contrôle " étudié ci-dessus. Au cours de cette stimulation on constate la survenue d'une inhibition de la transmission du message douloureux au niveau d'une zone précise de la moelle épinière : la corne postérieure. . (Encyclopédie médicale 2016)

1.5 Examen du patient douloureux et évaluation de la douleur

L'examen du patient douloureux est essentiel pour préciser les caractéristiques séméiologiques de la douleur. L'évaluation de la douleur constitue une part de cet examen. Quel que soit le site de la douleur, l'examen doit préciser au moins 7 points :

- Le profil évolutif : ancienneté de la douleur (depuis plus de 3 à 6 mois ?), mode de début (accident de travail, effort, repas,...), horaire
- la topographie : siège, siège de la douleur maximale, irradiations
- le type de douleur (décharges électriques, brûlure,...)
- L'intensité
- Les facteurs de soulagement et d'aggravation
- Les manifestations associées
- L'impact sur la qualité de vie

Comme il n'existe pas de parallélisme entre l'intensité de la douleur et la gravité des lésions, l'évaluation de l'intensité est le seul moyen d'apprécier l'effet d'un traitement antalgique, et ainsi, d'adapter le traitement symptomatique analgésique. Schématiquement, on distingue 2 modes d'évaluation, l'un étant basé d'après l'information verbale transmise par le patient (auto-évaluation), l'autre d'après des mesures faites par un tiers (hétéro-évaluation) ou d'après la mesure de paramètres physiologiques

▪ Echelles unidimensionnelles :

Il s'agit d'échelles globales car elles ne mesurent que l'intensité de la douleur : échelle visuelle analogique (EVA), échelle numérique (EN), et échelle verbale simple (EVS). Ces échelles sont utilisables chez l'adulte et chez l'enfant à partir de 5 ans, principalement en douleur aiguë post-opératoire ou traumatique. Elles sont simples, rapides à remplir, ce qui permet des mesures répétées et rapprochées pour apprécier la réponse au traitement.

L'EVA utilise une réglette munie d'un curseur se déplaçant sur la face visible du patient entre «absence de douleur» et «douleur maximale imaginable», correspondant à une échelle graduée de 0 à 100 mm sur sa face cachée. L'EVA est la méthode de référence pour quantifier l'intensité douloureuse et la réponse thérapeutique, puisqu'elle est simple, reproductible, sensible et linéaire.

▪ Echelles multidimensionnelles

Au-delà de l'aspect quantitatif, il y a tout un vocabulaire employé par le patient, qui décrit la répercussion de la douleur sur un plan affectif et sensoriel dans sa vie quotidienne (par exemple, gênante, angoissante, déprimante,...), son milieu socio-professionnel, sa vie familiale. Pour tenir compte de ces aspects qualitatifs, des questionnaires ont été élaborés, dont le Mc Gill Pain Questionnaire (MPQ) mis au point par Melzack, et sa version française, le Questionnaire Douleur Saint-Antoine (QDSA). Le questionnaire français comporte 61 qualificatifs répartis en 17 sous-classes, 9 sensorielles, 7 affectives et 1 évaluative. Après avoir sélectionné le terme le

plus approprié dans une sous-classe, le patient pondère son jugement grâce à une échelle de 0 à 4, ce qui permet de calculer un score. Ces questionnaires sont plus longs à traiter qu'une EVA et peuvent poser des problèmes de compréhension. Ils sont utilisés pour évaluer la douleur chronique car ils apprécient l'intensité douloureuse et le vécu de cette douleur

▪ **Echelles comportementales**

Il existe des méthodes par hétéro-évaluation quand le contact verbal du patient n'est pas possible, par exemple, chez le nouveau-né et nourrisson, le grand vieillard, le sujet polyhandicapé, le patient psychotique ou comateux. Ces échelles comportementales de douleur, basée sur l'expression corporelle à l'état de repos ou en réponse à un stimulus douloureux. Pour être utilisables, ces échelles doivent répondre à des critères de qualité bien précis :

- être sensible, c'est-à-dire donner des résultats différents d'un individu à l'autre, et aussi différents chez le même individu en fonction du traitement ou de l'évolution de la pathologie
- être fiable, c'est-à-dire donner des résultats concordants pour un même patient lorsqu'il est évalué par des observateurs différents
- être valide, c'est-à-dire mesurer effectivement la douleur et non un autre phénomène comme l'anxiété
- Parmi de nombreuses échelles disponibles en pédiatrie, il faut citer l'échelle de COMFORT, spécialement conçue pour les enfants admis en réanimation. Utilisable pour tous les âges, elle associe des critères comportementaux et des variables physiologiques. Chez l'adulte, une échelle de douleur a été récemment proposée pour les patients de réanimation, basée sur l'observation du tonus des membres supérieurs, l'expression du visage, l'adaptation au ventilateur...

▪ **Paramètres physiologiques**

La variation de données physiologiques simples (fréquence cardiaque, pression artérielle, pression intracrânienne) peut refléter indirectement la réponse de l'organisme à l'agression douloureuse. Cependant, ces paramètres sont influencés par de nombreux facteurs confondants (agents vaso-actifs, fièvre, état hémodynamique instable), ce qui rend ces mesures peu spécifiques. D'autres techniques sont à l'étude: variabilité de la fréquence cardiaque, analyse quantitative de l'EEG (spectre de puissance), potentiels évoqués auditifs, indice bispectral (BIS). Cependant, à l'heure actuelle, il n'y a pas de méthode permettant de mesurer l'intensité douloureuse pour ces patients non communicants. (Guirimand, 1996)

Antalgiques

Définition

Les antalgiques ou analgésiques sont des médicaments destinés à réduire la douleur sans perte de conscience. Depuis quelques années, les médecins et les autorités ont pris conscience que la prise en charge de la douleur était primordiale pour améliorer le "confort" du malade et donc pour accélérer sa guérison.

Classification

Afin d'établir des règles, l'OMS a donc classé les différentes substances en trois niveaux selon leur activité.

Le niveau 1 concerne le paracétamol et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) tels que l'aspirine, l'ibuprofène, la noramidopyrine (ou métamizole), etc. En cas de douleur jugée faible ou modérée par un médecin, ces médicaments doivent être prescrits en premier. Ils agissent principalement par inhibition de la cyclo-oxygénase, une enzyme responsable d'une cascade de réactions à l'origine, entre autres, de la douleur. Les effets secondaires les plus fréquents sont surtout gastriques mais d'autres troubles très graves peuvent survenir en cas de surdosage.

Le niveau 2 concerne les antalgiques opiacés faibles (dérivés « allégés » de l'opium et de la morphine) comme la codéine, la dihydrocodéine, le dextropropoxyphène et le tramadol. La codéine et le dextropropoxyphène sont souvent associés à des antalgiques de niveau 1 car leurs mode d'action sont différents et complémentaires. On dit que leur action est synergique. Ce type de substance agit au niveau du cerveau sur des récepteurs spécifiques responsables de l'abolissement de la douleur. Les principaux effets secondaires comprennent constipation, somnolence, nausées, vomissements, voire difficultés respiratoires. Ce type de composés expose à une dépendance physique.

Le niveau 3 concerne les antalgiques opioïdes forts : la morphine et ses dérivés (péthidine, hydromorphone, etc). Ces médicaments ont les mêmes caractéristiques et le même mode d'action que les précédents mais sont plus puissants. Ils sont utilisés en cas de douleurs intenses ou rebelles aux antalgiques de niveau 2. Ils ont les mêmes effets secondaires que les antalgiques opiacés faibles et peuvent entraîner les mêmes problèmes de dépendance.

A côté de ces traitements purement antalgiques, il existe d'autres médicaments qui favorisent l'action des antalgiques ou qui agissent sur la cause de la douleur. Au vu de chaque cas, ces composés peuvent être prescrits, on les appelle les co-analgésiques. Ce sont les corticoïdes, les antidépresseurs, les anxiolytiques ou les neuroleptiques, les antiépileptiques et les antispasmodiques.

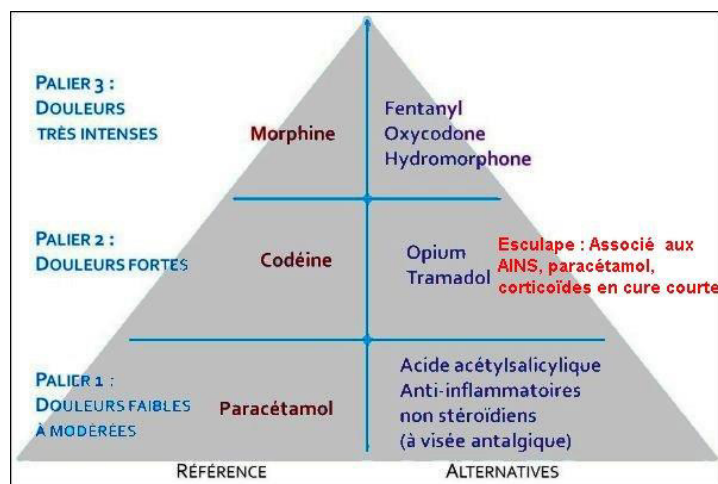


Figure3 : Classification des antalgiques par paliers selon l'Organisation mondiale de la santé.

Antalgiques centraux ou opioïdes

Les opiacés sont une classe de médicaments qui, compte tenu de son efficacité mais aussi de ses effets indésirables, n'est prescrite que si aucun antalgique d'une autre classe ne s'avère efficace ; ils sont irremplaçables.

Tout doit être fait pour minimiser les effets qui gêneraient assez pour faire interrompre le traitement : surveillance, prévention des effets (EI) dose-dépendants par un ajustement des progressif des doses en fonction des effets obtenus.

Avec d'autres classes médicamenteuses, dans une situation analogue, après avoir modifié les doses, on arrête le traitement et on le remplace, pour éviter d'exposer le sujet à un grand nombre de médicaments ; dans le cas des opiacés, si l'ajustement des doses ne suffit pas, on surajoute des traitements des effets indésirables : par exemple, on prescrit des antiémétiques et, systématiquement, un traitement préventif de la constipation.

Mécanismes d'action

Il existe des opioïdes endogènes : les enképhalines, les endorphines, les dynorphines. Leur rôle comme neurotransmetteur ou neuromodulateur est très probable mais incomplètement élucidé. Plusieurs récepteurs opioïdes ont, eux aussi, été identifiés et différenciés.

Dans le S.N.C., trois classes principales sont distinguées : μ (mu), κ (kappa), δ (delta). Une substance opioïde donnée peut interagir avec les trois récepteurs différents et se comporter, pour l'un, comme un agoniste, pour l'autre, comme un agoniste partiel et enfin pour le deuxième, comme un antagoniste. Pour cette raison, il peut exister des différences d'effets entre les différents opioïdes disponibles.

La stimulation des divers récepteurs est responsable des différents effets des opioïdes, et on aimerait, à terme, arriver à trouver des molécules de plus en plus spécifiques, stimulant seulement certains des récepteurs, pas ceux qui seraient responsables des effets indésirables les plus gênants (dépression respiratoire, dépendance, effets sur l'humeur...), tout en gardant l'effet antalgique. Les médicaments qui stimulent ces

récepteurs opioïdes peuvent être des agonistes purs, ou des agonistes partiels, ou des antagonistes.

1. L'effet antalgique d'un agoniste pur (full-agonist, ex : la codéïne) augmente en proportion de la dose, avec pour seule limite l'occupation de tous les récepteurs.
2. L'effet antalgique d'un agoniste partiel, appelé aussi « agoniste-antagoniste » (agoniste sur un récepteur et antagoniste sur un autre), est moindre ; c'est dire que l'occupation de tous les récepteurs induit un effet réel, mais moins important que celui des précédents. Si de tels produits sont rajoutés à un traitement par des agonistes pleins, et s'ils prennent leur place sur les récepteurs, ils diminuent l'effet antalgique, au lieu de l'augmenter, se comportant comme des antagonistes en termes d'effet.
3. L'effet d'un antagoniste sur les récepteurs est nul ; cependant, s'il supprime une stimulation permanente par un agoniste physiologique, il supprime les effets de ce dernier.
4. Enfin, un médicament peut être agoniste sur un récepteur, et antagoniste sur un autre. (Ph. Lechat, 2006-2007)

Réglementation

Compte tenu de ses effets centraux, la morphine et la plupart des opiacés sont inscrits sur la liste des stupéfiants (liste I). Comme tels, ils ont une prescription particulière, très réglementée, visant à gêner le détournement vers la toxicomanie.

Un pharmacien doit savoir en détail les règles de dispensation de ces spécialités.

Exemples d'analgésiques

Morphine

(De Morphée : Dieu des Songes, fils de la Nuit et du Sommeil)

❖ Propriétés pharmacocinétiques

Pour la morphine toutes les voies sont utilisables.

Voie orale : effet de premier passage hépatique est très important (la destruction du médicament est très variable d'un sujet à l'autre). C'est l'une des explications au fait que la dose utile peut varier de 20mg à 2g, et donc qu'on doit rechercher, en montant progressivement, la dose utile pour chaque sujet.

En moyenne, 30 à 50 % de la dose ingérée est biodisponible, ce qui signifie que si on passe de la voie orale à la voie injectable, il faudra diviser les doses par deux ou par trois, et inversement.

Du fait du métabolisme hépatique, il existe des interactions, aboutissant à une modification de l'efficacité et/ou des risques lors de l'introduction de certains inhibiteurs enzymatiques, ou d'inducteurs enzymatiques.

La voie sous cutané est possible, la voie intraveineuse pour calmer la douleur de l'infarctus du myocarde, plus rarement la voie intra-thécale

La diffusion est satisfaisante, la morphine franchit la barrière hémato-encéphalique et la barrière placentaire (à prendre en compte chez la femme enceinte proche de l'accouchement, possibilité d'observer un syndrome de sevrage chez le nouveau-né d'une mère toxicomane).

La morphine est éliminée par toutes les sécrétions : lait, salive (contrôle doping des chevaux) mais aussi par la bile et les urines (contrôle des coureurs cyclistes).

- **Propriétés pharmacologiques**

- ❖ **Système Nerveux Central**

- **Action analgésique**

Analgésie, euphorie (liée à l'action analgésique) ; parfois dysphorie, somnolence, obscurcissement des idées et, à doses plus fortes, diminution des réactions affectives à cette douleur.

La morphine agirait :

— sur la prise de conscience de la sensation douloureuse (implication de nombreuses structures centrales) ; sur la transmission des messages nociceptifs au niveau médullaire (« Gate Control ») par une action dépressive directe au niveau spinal, action indirecte au niveau du tronc cérébral par renforcement des contrôles inhibiteurs descendants.

L'apparition, l'intensité et la durée de l'action analgésique sont fonction de la voie d'administration, de la dose administrée, du type de douleurs et de la sensibilité individuelle ; cet effet peut être rapide et important, peu durable (4h) avec une dose habituelle de morphine orale simple. Il n'est pas possible d'établir une concentration « thérapeutique », l'efficacité étant obtenue à des concentrations plasmatiques trop différentes.

- **Action psychomotrice**

La morphine exerce une action sédatrice et/ou excitatrice suivant les doses, le contexte et l'espèce animale : action sédatrice : le plus souvent ; action excitante à dose inférieure à

1 cg ; et parfois chez l'enfant. La récupération de sommeil liée à l'arrêt de la douleur en début de traitement, qui peut exister, est parfois prise pour une sédation médicamenteuse.

- **Action psycho-dysléptique**

Outre la modification de la nature de la perception douloureuse qui est en soi une action psycho-dysléptique, l'administration de morphine entraîne un état d'euphorie plus ou moins évident, remplacé parfois par un état dysphorique.

A doses élevées, il peut apparaître des phénomènes hallucinatoires chez certains individus. Il s'agit d'une Substance toxicomanogène (inscrite sur liste des Stupéfiants) ce qui signifie qu'il peut entraîner une euphorie, une tolérance ou accoutumance (c'est-à-dire nécessité d'augmenter les doses pour obtenir les mêmes effets) dont les mécanismes sont mal connus soit par diminution de la sensibilité du S.N.C. aux effets de la morphine, modification du catabolisme qui devient plus rapide ou par modification de la répartition dans l'organisme

Elle entraîne aussi une dépendance psychique ou envie irrésistible de se procurer de la drogue, et une dépendance physique ou l'interruption brutale de l'exposition entraîne l'apparition d'un syndrome de sevrage (ou de manque), avec sueurs, larmoiements, catarrhe, douleurs et contractures musculaires, troubles digestifs (nausées, diarrhée, vomissements, anorexie), hyperthermie, anxiété, agressivité, état hallucinatoire.

➤ **Actions respiratoires**

Action dépressive centrale (bradypnée, Cheyne-Stokes, apnée) avec diminution de la sensibilité des centres respiratoires aux taux sanguins de CO₂ ; en outre, il semble exister une action corticale, une inattention aux stimuli normaux (on « oublie » de respirer).

Elle est rarement limitée par voie orale lors d'un emploi à dose progressivement croissante.

➤ **Action sur le centre du vomissement**

Le centre du vomissement est commandé par la chemo-receptive Trigger zone (C.T.Z.). A faibles doses, la morphine stimule la C.T.Z., donc action vomitive. A plus fortes doses, elle déprime le centre du vomissement donc action anti-vomitiv. C'est probablement l'une des raisons pour lesquelles, lors des traitements prolongés, les vomissements se voient essentiellement au début du traitement. On prescrit le plus souvent un antiémétique (de type neuroleptique, qui bloque la CTZ) pour les prévenir ou les supprimer.

❖ **Système Nerveux Autonome**

Action assez modérée portant sur les systèmes sympathiques et parasympathiques, action centrale et périphérique. Sur le premier elle stimule la libération des catécholamines des surrénales, sur le deuxième elle entraîne stimulation du noyau central du pneumogastrique responsable d'effets parasympathomimétiques prédominants : bradycardie (supprimée par l'atropine) et tendance à l'hypotension orthostatique.

❖ **Actions sur les muscles lisses : spasme**

➤ **Tube digestif**

Elle entraîne la diminution du péristaltisme avec augmentation du tonus et des contractions, réalisant au maximum un spasme périodique, une augmentation du tonus du sphincter anal avec abolition du réflexe normal de la défécation et, en outre, la diminution des sécrétions gastriques (HCl) et pancréatique.

➤ **Voies urinaires**

Provoque l'augmentation du tonus et de l'amplitude des contractions de l'uretère. Malgré cette action spasmogène, avec des anti-spasmodiques, la morphine peut être prescrite dans les coliques néphrétiques en raison de la puissance de son action analgésique. Elle peut être à l'origine d'un globe vésical.

➤ **Rein et diurèse**

Effet antidiurétique par diminution de la filtration glomérulaire (il y aurait une diminution du nombre de néphrons actifs) et augmentation de la sécrétion d'ADH.

➤ **Effets divers**

Elle possède une action histamino-libératrice pouvant expliquer l'occasionnelle broncho-constriction, la vasodilatation capillaire périphérique, et des rougeurs cutanées parfois difficiles à différencier d'effets allergiques, possibles mais exceptionnels, avec tendance à l'hypothermie (dépression du centre thermorégulateur hypophysaire et légère diminution du métabolisme basal) et l'hyperglycémie à fortes doses (libération de catécholamines)

- **Principaux effets indésirables**

Nausées, vomissements qu'on peut prévenir ; Constipation qu'on doit prévenir systématiquement, une Dépression respiratoire, qu'un bon ajustement des doses peut éviter, majorée par certaines coprescriptions une rétention urinaire (surtout en cas d'obstacle uréthro-prostatique) ; dépression cardiovasculaire (bradycardie, hypotension) ; sédation ou parfois excitation, confusion majorée par l'association à certains autres psychotropes, hypertension intra crânienne

- **Utilisation**

- ✓ **Indications**

Traitement de la douleur (douleurs chroniques, surtout cancers, mais aussi aiguës : infarctus du myocarde, hémorragie interne) .dans les cas de douleurs chroniques par excès de nociception (s'opposant à « neurogènes »), lorsqu'on est arrivé au troisième palier de l'OMS, après avoir essayé les antalgiques périphériques purs du 1e palier (paracétamol) et les associations paracétamol opiacé faible (2e palier), présentant moins de effets indésirables.

Chez le sujet cancéreux, on peut parfois le faire d'emblée.

Règle : adapter les doses en fonction de l'efficacité, et de la tolérance, qu'il faut évaluer fréquemment ; choisir la forme à la cinétique d'action la plus adaptée à l'évolution dans le temps de la douleur. (Ph. Lechat 2006-2007)

- ✓ **Contre indication ou précautions d'emploi**

Cette molécule ne doit pas être prescrit en cas d'hypersensibilité à la morphine, insuffisances respiratoires décompensées, insuffisance hépatique et rénal majeurs, syndrome abdominale aigu, si la conservation de la douleur a une utilité (pour faire le diagnostic par exemple), aussi chez les sujets intolérants (nausées, vomissements malgré une prévention adaptée), femme enceinte ou allaitante, sauf nécessité impérieuse

Autres agonistes entiers

- **En liste I**

Codéine liste 1, partiellement métabolisé en morphine et dihydrocodéine (Dicodin*).

Dextropropoxyphène (Antalvic*) en liste 1 (car ne serait pas toxicomanogène)

Tramadol, avec une forme LP

- **Inscrits sur la liste des stupéfiants**

Il peut occasionnellement être intéressant de remplacer la morphine. Il existe des équivalences approximatives consacrées par l'usage entre les différents médicaments, selon leur voie d'administration.

- **Fentanyl** : 300 fois plus puissant (doses utiles très faibles), utilisé en anesthésiologie ou, plus récemment, **en patch** (voie transdermique) ayant un effet pendant (en moyenne) 3 jours

- (**Durogésic**^o) ; si on retire le patch, les concentrations mettent 1/2 à 1 journée pour baisser de moitié.

Grande variabilité inter et intra individuelle du passage transdermique, en cas de fièvre par exemple. Cette forme n'est pas adaptée à la mise en route d'un traitement, sauf si on peut se permettre de prendre son temps, ni au traitement de douleurs aiguës

- **Pethidine** ; syn : **meperidine** : (Dolosal*) moins actif, et a un métabolite convulsivant qui s'accumule en cas d'insuffisance rénale.

Contre-indication de l'association à un IMAO (antidépresseur inhibiteur de la monoamine oxydase)

- **Hydromorphe** : gélules de Sophidone LP toutes les 12 h
- **Oxycodone** : suppos d'Eubine*
- **Methadone** : pharmacologiquement très proche de la morphine, elle est surtout utilisée dans certains centres, en solution par voie orale, chez les héroïnomanes, comme traitement de substitution, dans le cadre d'une prise en charge globale.

Dans le cadre de ces traitements au long cours, où on souhaite maintenir les concentrations de méthadone en plateau, on a pu observer des interactions conduisant à une baisse des concentrations et donc à des signes cliniques de type « sevrage », avec certains antiviraux très interactifs. Ne jamais oublier que, en dehors des médicaments très prescrits, les interactions restent mal connues, et qu'il faut donc surveiller l'effet du traitement chronique si on introduit un nouveau. (Ph. Lechat 2006-2007)

Agonistes partiels

- **Buprénorphine**

Etant un agoniste partiel, elle a un effet maximal inférieur à celui de la morphine ; son effet maximal est approximativement celui de 250 mg de morphine par jour. Si elle est limitée dans son effet antalgique, elle serait aussi limitée dans sa capacité d'induire une dépression respiratoire, ce qui ferait son intérêt.

Il serait illogique de l'utiliser conjointement avec la morphine, puisque la buprénorphine a plus d'affinité pour les récepteurs que la morphine, et moins d'effet et donc moins de dépression respiratoire.

- **Nalbuphine**

Elle est en liste I, et s'injecte seulement.

- **Nalorphine**

Chez un sujet n'ayant pas reçu de morphine, la nalorphine a des propriétés de même type que la morphine. C'est un agoniste partiel faible (ou agoniste antagoniste).

Analgésie faible, dépression respiratoire, effets secondaires (nausées, vomissements, excitation psychique avec logorrhée, voire hallucinations visuelles) (Lechat, 2007)

Antagonistes (non analgésiques)

Chez un toxicomane à la morphine, l'administration d'antagonistes entraîne l'apparition brutale d'un syndrome de sevrage (⇒ contre-indication absolue).

- **Naloxone** (Narcan*) : C'est un anti-morphinique pur, agissant 30 mn environ. Utilisé par voie injectable dans le traitement d'un surdosage aiguë (overdose) aux opiacés, en cherchant la dose qui, sans induire de sevrage, rétablit un rythme respiratoire suffisant pour permettre un transport vers un respirateur.
- **Naltrexone**, (Revia*, Nalorex*) : Son effet maximal est approximativement celui de 250 mg de morphine par jour). C'est un antagoniste morphinique utilisable par voie orale, administré seul, il augmente la pression artérielle diastolique, diminue la température, et diminue la fréquence respiratoire. Il est utilisé comme « traitement de soutien », après une période de 7 à 10 jours de sevrage, si le sujet est prêt à le prendre régulièrement, pour prévenir des rechutes. (Ph. Lechat, 2006-2007)

Néfopam

▪ **Mécanisme d'action**

Le néfopam est un analgésique central non morphinique, possède une structure chimique non apparentée à celle des antalgiques actuellement connus.

In vitro, sur des synaptosomes de rat, une inhibition de la recapture des catécholamines et de la sérotonine est évoquée. In vivo, chez l'animal, le néfopam a montré des propriétés antinociceptives. Il a également été démontré une activité antihyperalgésiques par un mécanisme qui n'est pas complètement élucidé.

Le néfopam a montré un effet sur le frisson post-opératoire au cours d'études cliniques. Il n'a aucune action anti-inflammatoire ou antipyrétique. Il n'entraîne pas de dépression respiratoire et ne ralentit pas le transit intestinal. Il possède une activité anticholinergique.

Sur le plan hémodynamique, il a été observé une augmentation modérée et transitoire de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle.

▪ **Cas d'usage**

Le néfopam est utilisé dans la prise en charge d'affections douloureuses aiguës, notamment des douleurs postopératoires. (Vidal 2013)

Antalgiques périphériques

➤ **Paracétamol**

Le paracétamol est un médicament de la douleur. C'est en fait, l'antalgique le plus banal. Mais, c'est quand même un produit pharmacologiquement assez complexe.

- **Pharmacocinétique**

Le paracétamol est rapidement absorbé par les muqueuses digestives et le maximum de concentration est atteint au bout d'une demie à une heure. Il se distribue dans l'eau totale de l'organisme. Les concentrations plasmatiques efficaces sont de l'ordre de 5 à 20 mg/l. Son taux de liaison aux protéines plasmatiques est de 50 %. Sa demi-vie d'élimination est de deux à quatre heures. Le paracétamol est métabolisé par les enzymes microsomiales hépatiques et ce phénomène a une importance capitale :

- 80 % est conjugué avec l'acide glucuronique (et accessoirement l'acide sulfurique). Les conjugués sont inactifs et éliminés dans les urines.
- le reste est oxydé en radicaux actifs intermédiaires. Normalement, ceux-ci sont immédiatement conjugués avec le glutathion et ainsi neutralisés.

Le paracétamol et ses dérivés sont éliminés dans les urines, 7 % sous forme libre, 63 % glycuronoconjugué, 28 % sulfoconjugué, 2 % en tant que dérivés mercapturiques. Il passe peu dans le lait.

- **Propriétés pharmacodynamiques**

Le paracétamol appartient aux classes des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (qui font partie des médicaments de l'inflammation) et des analgésiques – antipyrétiques (qui font partie des médicaments de la douleur). Il est donc très proche d'une part des salicylés et de l'aspirine, d'autre part des acides anti-inflammatoires. Il s'en distingue par l'importance de ses effets antalgiques et antipyrétiques considérablement plus importants que ses effets anti-inflammatoires et antiagrégant, négligeables en pratique clinique.

Le mécanisme d'action du paracétamol procède de l'inhibition de la cyclo-oxygénase. Il a été décrit une troisième isoforme de cette enzyme dont le paracétamol serait l'inhibiteur sélectif. Ceci pourrait expliquer son profil pharmacodynamique particulier.

- **Utilisation**

Le paracétamol est employé seul ou associé dans de très nombreuses spécialités. Il n'est pas listé et donc en vente libre ; son usage en automédication est important.

La présence de paracétamol dans de nombreuses spécialités à noms de marques fait courir un risque de surdosage en cas d'associations intempestives. Le public doit être mis en garde et apprendre à reconnaître la présence de paracétamol dans un médicament.

Le paracétamol est utilisé par voies orale et rectale. La dose usuelle est de 0,50 g par prise. La dose maximale de la pharmacopée (à ne dépasser dans aucun cas) est de 3 g par jour. La posologie chez le nourrisson et l'enfant est de 0,02 à 0,03 g/kg/jour.

- **Indication**

Les indications du paracétamol sont :

- les syndromes douloureux aigus (migraines, céphalées, douleurs dentaires, algies banales, etc.). C'est l'antalgique de première intention dans les douleurs courantes
- les affections chroniques et douloureuses. L'efficacité est au moins équivalente à celle de l'aspirine, si elle peut être inférieure à celles des autres AINS, surtout si la composante inflammatoire est importante.

- les syndromes fébriles, notamment chez l'enfant (absence de risque de syndrome de REYES)

- **Effets indésirables**

Le paracétamol est bien mieux toléré que les AINS et les antalgiques, notamment l'aspirine. Aux doses usuelles, ses inconvénients sont des plus réduits. C'est la raison pour laquelle, il est l'antalgique - antipyrétique de premier choix dans la plupart des situations en médecine courante, même si ce n'est pas le plus efficace. Il présente cependant deux effets indésirables importants :

- Les allergies et les thrombocytopénies sont exceptionnelles.
- L'insuffisance hépatique chronique lors de traitements prolongés est discutée.

- **Intoxication au paracétamol**

- **Intoxication aiguë**

L'intoxication aiguë par le paracétamol est d'une extrême gravité. Elle résulte le plus souvent de surdosages involontaires (automédication) ou d'accidents (enfants).

En cas de surdosage, la capacité de glutathion conjugaison hépatique qui est limitée, est débordée. L'excès de radicaux libres formés se fixe sur les protéines cellulaires hépatiques.

Il en résulte une nécrose hépatique aiguë habituellement massive et mortelle.

L'induction enzymatique accroît le risque. Dans les douze premières heures, l'administration de méthionine ou d'acétyl-cystéine, qui comme le glutathion sont des porteurs de sulfhydriles, peut protéger les cellules hépatiques en se combinant avec les métabolites réactifs. Sinon, le seul traitement efficace est la greffe hépatique d'urgence.

- **Toxicité chronique**

Comme les autres dérivés de l'aniline, le paracétamol présente une toxicité rénale chronique. Elle est certainement beaucoup plus faible que celle de la phénacétine, mais paraît bien réelle lors de traitements prolongés. Le tableau est celui d'une néphropathie interstitielle évoluant par poussées qui peut se compliquer de nécroses papillaires. L'insuffisance rénale peut conduire à la dialyse permanente ou à la greffe rénal. (Dangoumau, 2006)

Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non hormonaux ou non stéroïdiens (AINS) regroupent les substances qui diminuent les réactions inflammatoires de l'organisme et ne sont pas apparentées à des hormones (stéroïdes). La famille des AINS comporte de nombreuses substances appartenant à plusieurs familles chimiques, dont le point commun est d'être des acides faibles.

Les anti-inflammatoires traitent les symptômes (et soulagent les malades), mais ils ne suppriment pas les causes. Si celles-ci persistent, l'arrêt du traitement expose à un phénomène de rebond. Les anti-inflammatoires sont responsables de multiples effets secondaires qui entraînent de nombreux effets indésirables souvent graves. Ce sont des médicaments fréquemment utilisés et aussi dangereux qu'utiles.

➤ Mécanisme d'action

L'unité de la famille repose sur son mécanisme d'action responsable des quatre effets pharmacodynamiques majeurs. Les eicosanoïdes se forment à partir des phospholipides de la membrane cellulaire, ne enzyme, la phospholipase A2, provoque la formation d'acide arachidonique, suivie de réactions « en cascade ». Dans ce processus complexe, interviennent deux enzymes clés, la cyclo-oxygénase et la lipo-oxygénase. La première est à l'origine de la formation des prostaglandines et du thromboxane A2, la seconde des leucotriènes et de la prostacycline.

Les AINS sont des inhibiteurs de la cyclo-oxygénase (COX) et par là de la formation des prostaglandines et du thromboxane A2.

L'inhibition de la COX est réversible sauf dans le cas de l'aspirine (il faut attendre la synthèse de nouveau de l'enzyme, d'où l'effet rémanent de l'aspirine).

Il existe deux isoformes de la COX :

- la COX1 constitutive (reins, estomac, vaisseaux, etc.) a un rôle physiologique. Son inhibition est responsable des effets indésirables des AINS, elle est immédiate
- la COX2 inductible par des autacoïdes (IL1, TNF) en cas d'inflammation. Son inhibition est responsable des effets pharmacodynamiques des AINS ; elle augmente avec la durée de l'administration.

La sélectivité des AINS par rapport aux isoformes de la COX est toujours relative et très variable. On peut schématiquement les répartir en trois classes en fonction de leur pouvoir inhibiteur in vitro :

- inhibiteurs préférentiels de la COX1 : flubiprofène, kétoprofène, indométacine, aspirine, naproxen, ibuprofen, fénoprofen
- inhibiteurs préférentiels de la COX2 : acide niflurique, salicylate de sodium, diflunisal, piroxicam, méclofénamate, sulindac, diclofénac, nimésulide, célécoxib, méloxicam
- inhibiteurs prépondérants de la COX2 : coxibs.

➤ Effets pharmacodynamiques

Trois effets résultent de la diminution de la formation de prostaglandines :

- effet anti-inflammatoire : atténuation des phénomènes inflammatoires impliquant aux phases précoces, les prostaglandines (vasodilatation, oedème, douleur), sans effet sur les autres phases, en particulier les processus entraînant des lésions tissulaires chroniques
- effet antalgique : atténuation de la douleur d'origine périphérique, au départ des influx nociceptifs (les prostaglandines sensibilisent les terminaisons nerveuses centripètes aux hormones locales algogènes, notamment la bradykinine, libérées lors de l'inflammation).
- effet antipyrétique : diminution de la fièvre et retour à la normale de la température corporelle par abaissement du seuil du thermostat hypothalamique (la fièvre est due à

l'action sur l'hypothalamus des prostaglandines ; les pyrogènes provoquent la sécrétion par les macrophages d'interleukine 1 qui provoquent leur formation).

L'importance respective de ces trois effets varie avec les produits.

L'effet anti-agrégant plaquettaire résulte de l'inhibition de la formation de thromboxane. Il est surtout marqué avec l'aspirine en raison de l'irréversibilité de son action.

➤ **Indications générales**

- les syndromes douloureux aigus : céphalées, migraines, syndrome prémenstruel, douleurs dentaires, mais aussi douleurs post-opératoires, etc. L'efficacité est variable, surtout marquée pour les douleurs d'origine périphérique et s'accompagnant d'inflammation

- en rhumatologie, les affections chroniques et douloureuses

- les syndromes fébriles.

En clinique, la réponse à un AINS donné est très individuelle et il faut souvent tâtonner avant de trouver le produit satisfaisant et convenablement toléré.

➤ **Effets indésirables**

Les effets indésirables des AINS sont nombreux, extrêmement fréquents, parfois graves, quelquefois mortels. Etant donné leur très grande utilisation, ce sont en valeur absolue les plus dangereux des médicaments. Il convient de veiller très soigneusement aux contre-indications et, le cas échéant, de mettre le malade en garde contre les risques de l'automédication.

- troubles digestifs : dyspepsies, diarrhées, nausées, vomissements ; hémorragies digestives, perforations gastriques et intestinales

- troubles cutanés : rashes, urticaires, photosensibilisation ; syndromes de LYELL et de STEVENS-JOHNSON.

- troubles respiratoires : crises d'asthme.

- troubles rénaux : insuffisance rénale aiguë en cas de bas débit ; insuffisance rénale chronique en cas de traitement très prolongé (surtout soupçonnée pour le paracétamol)

- troubles hématologiques : (série des butazones) et troubles hépatiques, éventuels

- intoxications aiguës : souvent graves, en particulier avec l'aspirine (coma avec acidose métabolique) et le paracétamol (nécrose hépatique). (Dangoumau, 2006)

Chapitre IV: Méthodes d'étude de l'activité analgésique

Méthodes in vivo :

Diverses méthodes d'évaluation expérimentale de l'activité analgésique ont été décrites, elles sont toutes basées sur le changement qui se produit dans la réponse du sujet expérimental soumis à un stimulus douloureux après administration d'un composé actif. Ces méthodes sont classées selon le type de stimuli algogène :

✓ **Stimulation thermique**

A) Essai de la plaque chauffante : Test de la plaque chaude (hot-plate test)

B) Test du retrait de la queue (tail-flick test)

✓ **Stimulation mécanique**

A) Clip de queue Tail clip

B) Test Randal Sellito

✓ **Stimulation chimique**

A) Injections d'agents algogènes intradermiques (formalin test)

B) Injection intrapéritonéale d'agents irritants (writhing test)

✓ **Stimulation électrique**

A) Stimulation par trains de chocs électriques

B) Stimulation par choc unique ou trains très courts de chocs électriques. (D. Le Bars 2001)

Parmi les méthodes disponibles, on utilise le test de Randall Sellito et les essais de contorsion chimiquement induits pour l'évaluation de l'activité analgésique de médicaments à action périphérique. Les autres méthodes énumérées sont principalement destinées à évaluer les médicaments qui agissent par des mécanismes centraux. Cependant, il est possible d'utiliser le clip de queue, le film de queue et les méthodes de plaques chauffantes pour le criblage de médicaments non narcotiques.

Diverses espèces animales ainsi que l'homme ont été utilisées comme sujets expérimentaux et une variété de stimuli ont été employés. Lors de l'examen de nouveaux composés pour l'activité analgésique, il est intolérable d'utiliser le sujet humain, et si le nombre des composés est grand, les petits animaux de laboratoire, les rats ou les souris, deviennent animaux de choix.

Dans la méthode idéale, le stimulus utilisé doit provoquer une réponse caractéristique facilement observée en fonction de l'intensité du stimulus, elle doit varier peu d'un animal à l'autre; La méthode devrait donner des résultats reproductibles. (L. Davies, 1946)

Stimulation thermique

La chaleur stimule de manière sélective les récepteurs cutanés et, par conséquent, des catégories spécifiques de fibres périphériques : les fibres thermosensibles et les nocicepteurs. La peau peut être réchauffée par radiation ou par contact.

Essai de plaque chauffante: Test de la plaque chaude (hot-plate test)

Ce test consiste à introduire le rat ou la souris dans un espace cylindrique ouvert vers le haut dont le plancher, constitué par une plaque métallique, est chauffé par un thermostat ou par un liquide porté à l'ébullition. La plaque chauffée à température constante déclenche deux composantes comportementales dont on mesure le délai d'apparition : le léchement des pattes, réflexe considéré comme élémentaire, et le saut, réponse considérée comme intégrée au niveau supra spinal. Le comportement de léchement n'est affecté que par les morphiniques. En revanche, la latence du saut est également augmentée par les analgésiques moins puissants comme l'acide acétylsalicylique ou le paracétamol.

Par ailleurs ce test est très sujet à des phénomènes d'apprentissage, l'abaissement progressif de la latence du saut étant contemporain de la disparition du comportement de léchement. Ainsi, l'animal va se lécher les pattes puis sauter lors du premier test, mais sautera d'emblée avec une latence plus courte lors des tests suivants. Il suffit de présenter les animaux sur la plaque non chauffée, même une seule fois la veille du test, pour provoquer une diminution de la latence mesurée ultérieurement dans les conditions habituelles de température nociceptive constante. Enfin, la répétition du test une fois par jour ou une fois par semaine réduit progressivement les latences de réaction. D'une façon générale, les latences mesurées sont très variables, mêmes au sein d'un même laboratoire, ces observations rendent ce test d'utilisation délicate. (D. Le Bars 2001)

Test du retrait de la queue (tail-flick test)

Il en existe deux variantes : l'une consiste à appliquer une chaleur radiante sur une petite surface de la queue, l'autre à immerger la queue dans de l'eau portée à une température prédéterminée. Ces deux variantes sont en réalité bien différentes sur le plan physique : la température cutanée varie avec la racine carrée du temps dans le premier cas et de façon quasi instantanée dans le second. Par ailleurs les surfaces stimulées peuvent être très différentes.

➤ Chaleur radiante

Il s'agit d'une adaptation de la méthode d'irradiation thermique cutanée utilisée chez l'homme. L'application d'un faisceau calorifique sur la queue des animaux provoque le retrait de la queue par un mouvement bref et vigoureux. On déclenche en même temps la mise sous tension de la source calorifique et la mise en route d'un

chronomètre et c'est la latence du mouvement – le temps de réaction – qui est enregistrée. L'intensité du courant, et donc de la source de chaleur, peut être réglée de façon à prédéterminer empiriquement le temps d'exposition précédant le retrait de la queue entre 2 et 10 secondes, usuellement 2–4 secondes, mais parfois beaucoup plus.

L'action analgésique se traduisant par l'allongement du temps de réaction, il convient de ne pas prolonger l'exposition au-delà de 10-20 secondes pour éviter de provoquer une brûlure. L'intérêt de cette méthode réside dans sa simplicité et dans la faible variabilité interindividuelle des latences contrôlées dans des conditions standard données.

Le tail-flick est un réflexe spinal car il persiste après section ou blocage par le froid de la moelle épinière, du moins lorsque la latence est assez brève.

Sur le plan pharmacologique, ce test ne révèle que l'activité des analgésiques morphiniques (mais non des morphiniques agonistes partiels) ; il est alors assez prédictif de leurs effets analgésiques chez l'homme.

➤ **Immersion de la queue**

Il s'agit d'une variante du test précédent, la différence essentielle concernant la surface de stimulation, beaucoup plus grande. L'immersion de la queue de l'animal dans l'eau chaude provoque un mouvement brusque de la queue et parfois le recul global du corps de l'animal. On mesure le délai d'apparition de la réponse [53].

En réalité ce test est bien différent du précédent dans la mesure où l'immersion de la queue dans un liquide chaud augmente sa température très rapidement et de façon plus ou moins linéaire, ce qui n'est pas le cas avec la chaleur radiante. (D. Le Bars 2001)

Méthode de D'Amour et Smith (1941, 1943)

Le procédé est basé sur la réaction du rat à un stimulus de chaleur appliqué à un petit bout de la queue. L'appareil peut être construit à partir de matériaux couramment disponibles en laboratoire. Il est constitué essentiellement d'une feuille de panneau d'amiante (par exemple, l'uralite), supporté horizontalement et présentant sur sa face supérieure deux bandes de la même matière, fixé de manière à laisser un canal entre eux. À un certain point le long de ce canal, un trou est foré à travers l'amiante et une petite bobine de fil de résistance reliée par une clé à un 6-volt d'alimentation électrique fixée en dessous. Le fil est d'une telle jauge et longueur que, avec le circuit fermé il est élevé à une chaleur rouge vif.

Le rat en essai est maintenu dans un support cylindrique en zinc perforé, serré horizontalement; sa queue se trouve le long du canal et au-dessus du trou, qui ne doit pas être supérieur à 1 ponce de sa pointe. Lorsque l'animal est devenu calme dans cette position, le circuit est fermé. Après un intervalle, l'animal retirera sa queue du canal. Cet intervalle est chronométré avec un chronomètre et est appelé temps de réaction.

Les rats pesant entre 120 et 160 g avec des queues propres et saines sont utilisées pour l'expérience. La bobine de chauffage est ajustée initialement à une position telle qu'une majorité des animaux réagissent à environ 5 secondes. Le temps de réaction normal d'un certain nombre de rats est déterminé avec précision, la moyenne de trois déterminations successives à intervalles de 2 minutes étant prises, et celles pour qui est entre 4 et 6 secondes sont divisés en groupes d'une taille commode. Il a été jugé impraticables de traiter avec un groupe de plus de six rats à la fois.

Le composé à l'essai est administré par la voie choisi et au niveau de dose souhaité, et les temps de réaction des rats sont ensuite déterminés à des intervalles de 15 minutes. L'analgésie est reflétée dans une prolongation du temps de réaction; l'augmentation par rapport à la normale. Pour éviter des dommages inutiles aux queues, le chauffage n'est jamais pendant plus de 15 secondes, et si un animal n'a pas réagi pendant ce temps, l'analgésie est supposée être «complète».

Dans les expériences préliminaires, il a été démontré pour cette technique les activités analgésiques de la morphine, de la codéine et de la péthidine, administrée par voie intra péritonéale. (O. L.DAVIES 1946)

Stimulus mécanique

L'application d'un stimulus mécanique peut être progressive ou brutale. Les comportements ainsi déclenchés par stimulation mécanique nociceptive s'étagent, en fonction de l'intensité et de la durée, depuis les réflexes jusqu'aux vocalisations et à des comportements moteurs complexes finalisés. Ils sont arrêtés dès l'obtention de la réponse.

Test Randall et Selitto: Douleur dans les tissus enflammés

Cette méthode de mesure de l'activité analgésique est basée sur le principe que l'inflammation augmente la sensibilité à la douleur et que cette sensibilité est modifiée par les analgésiques. L'inflammation diminue le seuil de perception de la douleur et ce seuil faible de la réaction de douleur est facilement élevé par des analgésiques non narcotiques du type salicylate-amidopyrine ainsi que par les analgésiques narcotiques. La levure de bière a été utilisée comme un inducteur de l'inflammation qui augmente la douleur après pression.

- **Procédure :**

Des groupes de rats Wistar mâles (130 à 175 g) sont utilisés seulement pour les tests oraux les animaux sont affamés 18 à 24 h avant administration, sinon, la voie d'administration peut être intra péritonéale ou sous-cutanée. Pour induire une inflammation, 0,1 ml d'une suspension à 20% de la levure de bière dans de l'eau distillée est injectée par voie sous-cutanée dans la surface plantaire de la patte postérieure gauche de rat, trois heures plus tard, la pression est pointée vers la surface plantaire du pied du rat, la détection se fait par un appareil spécial au point où les luttes animales, les cris ou les tentatives de mordre. Le dispositif utilisé a été modifié

par divers auteurs tels que l'utilisation de l'analgésimètre (Ugo Basile, appareil pour la recherche biologique, Milan, Italie). Chaque animal est testé pour son seuil de douleur de contrôle. Tout animal avec un seuil de douleur de contrôle supérieur à 80 g est éliminé et remplacé.

Pour une réponse en temps, des groupes d'au moins 7 animaux sont utilisés, quatre groupes pour l'agent à tester et un pour le contrôle du véhicule. Les tests sont effectués à 15 min après administration sous-cutanée et à intervalles de 30 minutes après administration orale pour changement du seuil de la douleur. L'intervalle de temps qui indique que la plus grande augmentation du seuil de douleur est comme le temps de pointe. Une plage de dose est obtenue de la même manière que le temps. Le médicament à tester est administré par une méthode randomisée. Le seuil de douleur est enregistré à l'instant zéro et encore à la période de pointe déterminée, qui est donné par la formule suivante :

- **Évaluation :**

La force moyenne appliquée est déterminée pour chaque intervalle de temps testé. Le pourcentage d'augmentation du seuil de douleur est calculé en soustrayant la force appliquée de véhicule à partir de la force appliquée du groupe de médicaments qui est divisé par la force appliquée du véhicule contrôle pour donner le pourcentage d'augmentation de douleur du groupe de médicaments. Les doses de 50 mg / kg en s.c. de Na salicylate, 50 mg / kg de amidopyrine, 3 mg / kg en s.c. de Morphine, 12,5 mg / kg s.c. La codéine ou la pethidine ont été jugées efficaces.

$$\% \text{ d'ihnibition de seuil de douleur} = \frac{\text{force de lot essai} - \text{force de lot témoin}}{\text{force de lot témoin}}$$

- **Évaluation critique de la méthode :**

La méthode initialement décrite par RANDALL et SELITTO a été utilisé par de nombreux chercheurs et a été prouvée pour détecter des analgésiques centraux ainsi les analgésiques périphériques : tels que les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens qui augmentent seulement le seuil de la patte enflammée, alors que les analgésiques opiacés augmentent également le seuil de l'intact Dolinsk et al. 1987). Dans la plupart des modifications, l'essai présente une courbe dose-réponse faible. Néanmoins, les valeurs ED50 des anti-inflammatoires non stéroïdiens dans ce test ont montré une bonne corrélation avec les doses humaines (Romer 1980).

Stimulation chimique

Les stimuli chimiques, sous forme d'agents algogènes, offrent l'avantage de pouvoir être appliqués sur n'importe quel territoire corporel, qu'il soit cutané, viscéral ou musculaire. Ils se distinguent très nettement des précédents par la progressivité de la stimulation, sa durée et son caractère inéluctable car l'animal ne peut s'y soustraire.

Injections d'agents algogènes intradermiques (formalin test)

La substance la plus utilisée est le formol, le terme « formalin » désignant souvent une solution à 37 % de formaldéhyde. Une solution de formol (0,5–15 %) est injectée dans la face dorsale de la patte antérieure de rat. Le comportement « douloureux » est coté sur une échelle à quatre niveaux : (0) posture normale ; (1) la patte injectée reste au sol sans soutenir l'animal; (2) la patte injectée est franchement relevée ; (3) la patte injectée est léchée. On mesure parfois le nombre de lèchements ou de tressaillements de la patte par unité de temps , le comportement peut aussi être enregistré par une caméra couplée à un ordinateur ; les effets d'une substance sur la motricité peuvent ainsi être identifiés, analysés et découplés des effets anti nociceptifs.

Sur le plan chronologique, l'injection intra plantaire de formol déclenche une réaction comportementale biphasique qui comporte une phase précoce, survenant dans les 3 minutes suivant l'injection, puis, à la suite d'une période de repos, une phase plus tardive culminant 20 à 30 minutes plus tard, pour l'une et l'autre phase, la vigueur de ces comportements est dépendante de la concentration de formol administré. La première réponse résulterait de la stimulation directe des nocicepteurs et la seconde correspondrait à une phase de sensibilisation au cours de laquelle interviendraient des phénomènes inflammatoires.

Injection intra péritonéale d'agents irritants (writhing test) ou crouching test

Le test de Writhing est une méthode chimique utilisée pour induire une douleur d'origine périphérique par injection de principes irritants comme la phénylquinone, l'acide acétique chez la souris. L'activité analgésique du composé d'essai est déduite de la diminution de la fréquence des retardages. Les manifestations des contorsions abdominales chez les souris ont été décrites pour la première fois par Sigmund et al en tant qu'argument du dos, extension des membres postérieurs et contraction de la musculature abdominale. La réponse qui se contente est considérée comme un test réflexif et sans homologues cliniques car elle ne peut être réalisée chez l'homme et les sensations impliquées sont inconnues. En outre, les auteurs ont souligné que le test de contournement a produit une douleur sévère chez la souris, ce qui soulève une préoccupation éthique quant à son utilisation. 0,1 ml de phénylquinone a été injecté par voie intra péritonéale pour induire le rythme et les animaux ont commencé à étirer leur abdomen en quelques minutes. (Shivaji, 2012)

Stimulation électrique

Le stimulus électrique présente les avantages d'être quantifiable, reproductible, et non invasif .L'électricité peut être appliquée de façon abrupte et brève, ce qui permet de synchroniser les messages qui empruntent les fibres afférentes. On déclenche ainsi un vaste répertoire comportemental qui s'étage, en fonction de l'intensité, depuis les réflexes spinaux jusqu'à des vocalisations complexes et des comportements très organisés (évitement, agression, etc.).

Stimulation par trains de chocs électriques

Des stimulations électriques d'intensité croissante sont progressivement délivrées sous forme de trains de quelques centaines de ms par l'intermédiaire d'électrodes sous-cutanées implantées dans la queue du rat ou de la souris. Lorsque cette épreuve est répétée en accroissant l'intensité de stimulation, on observe successivement : un mouvement réflexe de la queue, une vocalisation contemporaine de la stimulation puis une vocalisation qui se prolonge au-delà de la période de stimulation. Ces réponses sont hiérarchiquement organisées : elles dépendent des différents niveaux d'intégration du message nociceptif au niveau central : moelle, bulbe, thalamus/rhinencéphale. La dernière pouvant être le reflet des aspects affectifs et motivationnels du comportement douloureux. La sensibilité à la morphine de ces trois seuils augmente avec ces niveaux : réflexe

< Vocalisation contemporaine de la stimulation

< Vocalisation prolongée. Cet effet différentiel sur les réponses comportementales suggère des sites d'action hiérarchiquement organisés.

-Stimulation des pattes et de la queue (flinch-jump test)

Une stimulation électrique d'intensité croissante est délivrée sous forme de train à travers le plancher métallique de la cage dans laquelle l'animal est libre de ses mouvements. On mesure le seuil d'obtention de divers comportements : tressaillement de l'animal, cri, tentative de fuite par le saut. La réponse vocale peut être enregistrée et analysée objectivement. Une méthode inspirée des tests utilisant la chaleur ou la pression consiste à appliquer de façon continuellement croissante le courant pour déterminer la latence d'obtention d'un cri d'intensité donnée.

Stimulation par choc unique ou trains très courts de chocs électriques

Le stimulus électrique appliqué sur la queue est unique et de courte durée (10 ou 20 ms), ce qui permet de mesurer des latences. Lorsque l'intensité de stimulation croît, on observe successivement : sursaut, fuite, vocalisation et morsure des électrodes. Ces réponses sont hiérarchiquement organisées, la dernière étant coordonnée et finalisée : elles dépendent de niveaux différents d'intégration du message nociceptif dans le système nerveux central. La stimulation est appliquée sur la queue ou sur la patte d'un rat placé dans une boîte de contention à l'intérieur d'une chambre anéchoïque, et la réponse vocale de l'animal est recueillie par un microphone situé à une distance fixe de la tête de l'animal. Grâce aux progrès réalisés dans le traitement informatique du signal, il est possible d'étudier les caractéristiques des différents sons émis en fonction d'une large gamme d'intensités de stimulation. (Le Bars, 2001).

Méthode Haffner

La méthode a été décrite dès 1929 par Haffner qui a observé la queue surélevée (phénomène de Straub) chez des souris traitées avec de la morphine ou des opiacés similaires et ont trouvé que la queue après le traitement médicamenteux était moins sensible à des stimuli nocifs. Il a déjà testé la sensibilité de cette méthode à la morphine.

- **Procédure**

Une pince d'artère est appliquée à la racine de la queue de souris et le temps de réaction est noté. Des souris mâles (souche Charles River ou d'autres souches) avec un poids entre 18 et 25 g sont utilisés. Le groupe témoin se compose de 10 souris. Les composés d'essai sont administrés par voie sous-cutanée à des souris nourries ou orales à des animaux à jeun. Les groupes d'essai et le groupe témoin se compose de 7-10 souris. La drogue est administré 15, 30 ou 60 minutes avant un essai. Une artère clip est appliquée à la racine de la queue (environ 1 cm du corps) pour induire la douleur. L'animal rapidement répond à ces stimuli nocifs en mordant le clip ou la queue près de l'emplacement du clip. Le temps entre le déclenchement de la stimulation et la réponse sont mesurés par un chronomètre par incréments de 1/10 secondes.

- **Évaluation**

Un temps de coupure est déterminé en prenant le temps de réaction moyen plus 3 fois l'écart-type de la valeur de latences combinée des souris témoins à toutes les périodes de temps. Tout temps de réaction des animaux d'essai qui est que le temps de coupure est appelé une réponse positive indicative d'activité analgésique. La durée jusqu'à la réponse indique la période de la plus grande activité après administration. La valeur ED50 est calculée à la période de pointe de l'activité médicamenteuse. Les valeurs ED50 obtenues par cette méthode étaient de 1,5 mg / kg (s.c). Pour la morphine et 7,5 mg / kg pour la codéine (s.c).

- **Evaluation critique de la méthode**

Le test ne nécessite aucun équipement sophistiqué, mais un observateur qualifié, de préférence "aveugle". Analgésiques périphériques du type salicylate ne sont pas détectés par ce test.

- **Modification de la méthode**

Bartoszyk et Wild (1989) ont décrit une modification de l'essai original de clip de Haffner en exerçant une queue de rats au lieu de souris. De plus, l'hyperalgésie a été induite par injection de suspension de carraghénane dans la queue. Dans ce cas, non seulement l'effet est un effet anti-inflammatoire non stéroïdien, mais aussi une potentialisation par les vitamines B pourrait être montré.

Yanagisawa et al. (1984) a décrit une méthode in vitro de pincée de queue pour tester les médicaments antinociceptifs consistant d'une moelle épinière isolée, des racines nerveuses et la queue fonctionnellement connectée d'un rat nouveau-né. Les changements de potentiel électrique dans la racine ventrale sont induite par la pression nocive sur la queue. En outre, les réponses après stimulation électrique de la racine dorsale ont été enregistrées. Les auteurs recommandent la méthode pour l'étude des actions des analgésiques. Une pincée des orteils de cobayes a été recommandée comme test pour les analgésiques opioïdes par Collier (1965). L'injection de divers antagonistes opiacés a été utilisée pour différencier les sous-types de récepteurs opioïdes (Koch et Bodnar, 1993).

Person et al. (1985) ont utilisé trois techniques différentes de la stimulation mécanique de la queue (seuil de réaction déterminé avec un analyseur-mètre à deux valeurs de coupures différentes et HAFFNER's tail clip) pour étudier l'interaction analgésique de la morphine-caféine chez le rat.

Méthodes in vitro

En 1973, la liaison stéréospécifique de haute affinité de composés opiacés radiomarqués a été signalée (Pert et Snyder, 1973, Simon Et coll. 1973; Terenius 1973) sur des préparations membranaires du SNC. Le déplacement in vitro de la 3H-naloxone, un opioïde non narcotique sur la base de ces 3H-naloxone a été introduit pour l'évaluation des analgésiques potentiels ayant des propriétés semblables à celles des opiacés selon différents profils pharmacologiques.

Dosage de liaison 3H-Naloxone

Une bonne corrélation entre le pouvoir pharmacologique in vivo d'opiacés et d'antagonistes avec leurs capacité de déplacer la naloxone radiomarquée a été signalée. La découverte ultérieure que l'ion sodium (100 mM) améliore la liaison des antagonistes et réduit la liaison d'agonistes a conduit au développement d'un dosage qui est utilisé pour classer les composés sous forme d'agonistes opiacés, mélanges agonistes antagonistes et antagonistes en déterminant.

-Composés d'essai: Pour la plupart des essais, un stock 1 mM Solution est préparée dans un solvant approprié et en série dilué, de sorte que la concentration finale dans le dosage varie de 10^{-5} à 10^{-8} M. Au moins 7 concentrations sont utilisés pour chaque dosage. Des concentrations plus élevées ou plus faibles peut être utilisé, en fonction de la puissance du médicament.

- **Évaluation**

Les données sont converties en pourcentage de liaison stéréospécifique de 3H-naloxone déplacée par le médicament test. Les valeurs de CI50 sont déterminées à partir d'une analyse log-probit dérivée de l'ordinateur. Le changement de sodium est calculé à partir des valeurs de CI50 avec et sans NaCl. Des changements de sodium élevés sont agonistes, de faibles valeurs avec des antagonistes et des valeurs moyennes avec des agonistes-antagonistes mixtes. Les données peuvent être analysées à l'aide d'un programme. Décrit par McPherson (1985).

3H-Dihydromorphine se liant à l'opiacé μ (Récepteurs dans le cerveau de rat)

Ces récepteurs sont considérés comme médiateurs du supra-spinal pour l'activité des opioïdes. Le 3H-Dihydromorphine (3H-DHM) présente une certaine sélectivité pour le récepteur μ , une affinité élevée au site de liaison aux opiacés. Le test est utilisé pour détecter les composés qui inhibent la liaison de 3H-DHM dans une membrane synaptique obtenue à partir de cerveau de rat.

- **Évaluation**

La liaison spécifique est définie comme la différence entre la liaison totale et la liaison en présence de 0,1 mM Levallorphan. Les valeurs de IC_{50} sont calculées à partir du pourcentage spécifique à chaque concentration de médicament. La valeur de K_D pour la liaison de $[3H]$ DHM a été trouvée à être de 0,38 nM par l'analyse de Scatchard d'une saturation du récepteur expérience. La valeur K_i peut être calculée à partir La IC_{50} par l'équation de Cheng-Prusoff:

$$K_i = IC_{50} / (1 + L / K_D)$$

Inhibition de l'encéphalinase

Depuis la découverte de peptides cérébraux à propriétés similaires à morphine (Hughes 1975), la décomposition métabolique des encéphalines a été étudiée, Costentin et al. (1986) ont trouvé que le thiorphan Inhibiteur de l'encéphalinase Inhibiteur montre une activité antinociceptive. Un dosage fluorimétrique hautement sensible pour l'encéphalinase, Une métalloendopeptidase neutre qui libère Tyrosine-glycine-glycine provenant d'encéphalines a été développée Par Florentin et al. (1984). Peptide fluorogène,

Dansyl-D-Ala-Gly-Phe (pNO₂) -Gly (DAGNPG) a été synthétisé comme substrat sélectif pour le neutre Métalloendopeptidase impliquée dans le métabolisme de l'encéphaline. Cette enzyme, désignée "encéphalinase", clive la liaison peptidique Gly-Phe (pNO₂) de DAGNPG conduisant à une augmentation de la fluorescence liée à la disparition de trempé intramoléculaire de la fluorescence dansyle par le résidu nitrophényle.

L'encéphalinase induit l'inactivation de la natriurétique auriculaire facteur (ANF). La protection des ANF endogènes contre l'inactivation peut entraîner des applications thérapeutiques (Schwartz et al. 1990).

- **Modification de la méthode**

Les puissances inhibitrices des composés d'essai sont comparées avec la norme. Ksander et al. (1989) ont incubé des membranes synaptiques du striatum de rat avec la 3H-Tyr-Leu-encéphaline pour 15 min à 30 ° C, pH 6,5, en présence de 10⁻⁶ M Bestatin. La réaction a été arrêtée par addition de 30% d'acide acétique et le produit réactionnel 3H-Tyr-Gly- ,Gly a été séparé de la 3H-Tyr-Leu-encéphaline n'ayant pas réagi sur une colonne Q de Porapak suivie d'une colonne Cu²⁺ + Chelex. Le 3H-Tyr-Gly-Gly a été compté par Scintillation liquide. Les effets antinociceptifs de l'administration intrathécale de SCH32 615, un inhibiteur de l'encéphalinase étudié chez le rat par Oshita et al. (1990).

Bioessais pour la nociceptine

Un heptadécapeptide (nociceptine ou orphanine FQ) a été isolé comme agoniste endogène du récepteur opioïde Comme le récepteur ORL1 (Reinscheid et al., 1995; Meunier et al. 1995) qui présente une homologie structurale élevée avec des peptides opioïdes, en particulier la dynorphine A (Cicciocioppo et al., 2000). Nociceptine active un

récepteur spécifique qui a été cloné chez l'homme et les animaux et a semblé être structurellement similaires aux récepteurs opioïdes (Mollereau et al., 1994, Calò et al., 2000, Hawkinson et coll. 2000). au niveau cellulaire, le récepteur de la nociceptine a été montré pour agir par les mêmes mécanismes comme récepteurs opioïdes classiques, à savoir l'inhibition d'adénylyl cyclase, l'activation des canaux potassium et l'inhibition des canaux calciques (Connor et coll. 1996a, b). Des études in vitro et in vivo ont démontré que la nociceptine induit une analgésie lorsqu'elle est administrée, tandis que elle provoque une hyperalgésie et une inversion des effets induits par les opioïdes analgésique lorsqu'elle est administrée intracérébroventriculairement. la nociceptine Inhibe la potentialisation à long terme, les processus de mémoire, bradycardie, hypotension et diurèse. En outre, la nociceptine inhibe la libération des neurotransmetteurs aux sites centraux et périphériques. L'injection intra caverneuse de la nociceptine induit une activité puissante et relativement longue.

Les récepteurs de nociceptine dans la périphérie peuvent être caractérisés par des études dans des organes isolés (Guerrini et al. 1998; Bigoni et al. 1999): l'iléon de cobaye selon Paton (1957), le canal déférent de souris selon À Hughes et al. (1975), le canal déférent de lapin selon Oka et al. (1980), la Guinée

- **Évaluation**

Les données sont exprimées en moyen \pm SEM de n expériences et analysé statistiquement avec le test t bilatéral étudiant l'ANOVA TOST unidirectionnelle plus le test de Dunnett. Les potentialités agonistes sont donnés comme pE50, qui est le logarithme négatif à la base 10 de la concentration molaire agoniste qui produit 50% de l'effet maximal possible de cet agoniste. L'Emax est l'effet maximal qu'un agoniste peut produire. Dans une préparation donnée. Les potentiels antagonistes sont exprimée en pA2, qui est le logarithme négatif à la base 10 de la concentration molaire antagoniste qui rend nécessaire de doubler la concentration de l'agoniste pour obtenir la réponse sous-maximale initiale.

- **Modification de la méthode**

Rizzi et al. (1999) ont étudié la nociceptine et les analogues de la nociceptine dans le colon isolé de souris.

Bigoni et al. (1999) ont utilisé la nociceptine, une série de fragments nociceptine, la naloxone ainsi que [Phe1 Ψ (CH₂-NH) Gly₂] nociceptine (1-13) NH₂ et [Nphe1] nociceptine (1-13) NH₂ pour caractériser les récepteurs de la nociceptine dans les récepteurs des organes périphériques, tels que les canaux déférents de souris et de rat (Terminaisons nerveuses noradrénergiques), dans l'iléon de cobaye (Nerfs cholinergiques) et du bassin rénal (sensibilité Nerfs) et in vivo en mesurant la tension artérielle et la fréquence cardiaque chez les rats anesthésiés.

Partie pratique

Introduction

La combinaison de différents analgésiques a plusieurs objectifs thérapeutiques comme l'amélioration de l'efficacité sans effets néfastes croissants ou la diminution des effets indésirables sans perte d'efficacité. Dans cette étude on va s'intéresser à l'association de deux antalgiques : paracétamol (palier 1 : antalgique non morphinique) et tramadol (palier 2 : antalgique opioïde faible) afin de déterminer la nature de l'interaction induite par coadministration intra péritonéale du paracétamol/tramadol, en utilisant le test de Randall-Selitto chez les souris.

Le test de Randall-Selitto (Randall et Selitto, 1957), destiné à servir d'outil pour évaluer l'effet des agents analgésiques sur les seuils de réponse à la stimulation mécanique sous pression, a été utilisé pour évaluer les réponses inflammatoires douloureuses.

C'est un test de pression de la patte qui est une technique pour la mesure de la réponse à la douleur chez les animaux. Il est utilisé dans la recherche fondamentale sur la douleur et pour tester l'efficacité des analgésiques en observant la réaction à une pression de plus en plus poussée sur une patte enflammée. La douleur est réputée présente si l'animal commence à exposer la réponse au vol ou au combat.

On a choisit le test de Randall-Selitto comme méthode d'étude pour plusieurs raisons, tout d'abord la disponibilité des souris et la facilité de leur manipulation par rapport aux rats (il est plus facile de gérer 36 souris en terme d'espace et de manipulation que de gérer 36 rats), et la disponibilité du matériel utilisé : analgésimètre, ainsi cette méthode est possible à réaliser par rapport au cramping test qui nécessite un observateur pour chaque souris pendant une heure et 30 minutes.

Notre travail consiste à mettre au point une méthode d'étude de l'activité analgésique chez les souris en utilisant le test de Randall et Selitto. Pour juger de la pertinence du protocole expérimental établi, cette méthode sera évaluée en l'appliquant d'abord à des molécules connues : le paracétamol (palier I) et le Tramadol (palier II) puis à l'association entre les deux molécules.

Matériels et méthodes

Réactif animal

Des groupes de souris *BALB/c* albinos mâles (17 à 37g) provenant de l'élevage du Laboratoire National de Contrôle des Produits Pharmaceutiques (LNCPP) sont utilisés. Les animaux ont été maintenus dans des conditions de laboratoire standard tout en fournissant de la nourriture de souris sèche et de l'eau potable. Un total de 35 animaux, réparties en six lots avec un lot témoin (un lot par cage), a été utilisé pour effectuer toutes les expériences.



Figure 4 : Souris BALBc albinos mâles utilisés lors des expériences

Réactifs chimiques

Les deux médicaments utilisés sont :

- ✓ un antalgique du palier 1 : Le paracétamol sous forme de solution injectable 10 % (solution stérile apyrogène pour perfusion intraveineuse)

-Lot 0302

-FAB 0- 2017 EXP 03-2019

- ✓ un antalgique de palier 2 : Le tramadol sous forme de matière première :

-Dénomination : tramadol chlorhydrate /MP

-Dosage (potentiométrie) : 100.85%

-Lot interne : 01/381/2012

-FAB 06-2012 EXP 05-2017

- ✓ On a voulu utiliser un antalgique de palier 3 : mais ce n'était pas possible à cause de la barrière réglementaire qui gère leur accessibilité.
- ✓ Les proportions sont choisies en fonction des DE_{50} de chaque molécule
- ✓ Les dilutions sont au moyen du sérum physiologique (NaCl à 9‰)



Figure 5 : réactifs utilisés solution de paracétamol et NaCl à 9%

Matériel expérimental

Le test est effectué chez les souris à l'aide d'un analgésimètre modèle 7200, Ugo Basile, Varese Italie Pression ugo basile paw qui est le dispositif classique pour effectuer des expériences par pression de la patte selon la méthode de Randall-Selitto. La force est appliquée sur la patte de l'animal, qui est placée sur une petite plinthe sous un poussoir en forme de cône avec une pointe arrondie, ce qui ne fait pas de mal à l'animal. L'opérateur appuie sur un commutateur de pédale pour démarrer le mécanisme qui exerce la force; Quand la souris se débat, l'opérateur relâche la pédale et lit sur l'échelle la force à laquelle l'animal ressentait la douleur. Des poids supplémentaires sont fournis pour augmenter la plage de force.



Figure 6 : analgésimètre utilisé lors de la mesure de la pression

Consommable :

- Seringues 1 ml - Seringues 5 ml - Eprouvettes de 10 ml -Micropipette
- Balance -Balance analytique KERN (précision 0.1 mg)



Figure 7 : les différents consommables utilisés

Principe de la méthode

Cette méthode de mesure de l'activité analgésique est basée sur le principe que l'inflammation augmente la sensibilité à la douleur et que cette sensibilité est modifiée par les analgésiques. L'inflammation diminue le seuil de sensibilité à la douleur et ce seuil faible de la réaction de douleur est facilement élevé par des analgésiques non narcotiques du type salicylate-amidopyrine ainsi que par les analgésiques narcotiques. La levure de bière a été utilisée comme un inducteur de l'inflammation qui augmente la douleur après pression.

Protocole expérimental

Traitement avec le Paracétamol

A/ prise de poids

L'animal est pesé afin qu'une dose adéquate puisse être calculée avant l'injection de façon que chaque animal reçoive une dose identique (mg/kg) afin de faciliter l'analyse des résultats. Ainsi, pour s'assurer de la bonne mise au point du poids, on a utilisé le bécher dans lequel la souris a été maintenue pour éviter tout mouvement et échappement lors de la prise.



Figure 8 : Prise du poids d'une souris avant administration du paracétamol

B/Préparation des solutions

La solution mère étant le paracétamol injectable 10% sous forme de solution ; à partir de laquelle on a préparé différentes concentrations de ce produit : 30 /60/100/150/180 exprimées en mg/kg qui sont administrés respectivement au lot 1-2-3-4-5. Les doses administrés sont d'abord converties en mg/ml pour pouvoir calculer les volumes de la dilution, voila un modèle de calcul:

Lot 1 :

On a à administrer au 1^{er} lot 30mg/kg :

$$30\text{mg} \longrightarrow 1\text{kg} = 1000\text{mg}$$

$$X \longrightarrow 31,13 \text{ mg}$$

$$X = \frac{30 \times 31,13}{1000} = 0,9039 \text{ mg/souris}$$

Le volume administré à chaque souris est de 0,5 ml, alors on aura la concentration en mg/ml :

$$C = \frac{m}{V} = \frac{0,9039}{0,5} = 1,81 \text{ mg/ml}$$

Le volume final à préparer est de 10 ml :

$$\begin{array}{l} \text{Solution fille} \\ \left\{ \begin{array}{l} V: 10 \\ C: 1,81 \end{array} \right. \end{array} \qquad \begin{array}{l} \text{solution mère} \\ \left\{ \begin{array}{l} V: ?? \\ C: 10 \end{array} \right. \end{array}$$

$$Vm = \frac{10 \times 1,81}{10} = 1,81\text{ml}$$

Le volume à prélever de la solution mère est de 1.81 ml, qu'on met dans des éprouvettes de 10 ml à l'aide des seringue de 5ml, et on complète avec du sérum physiologique 9‰ jusqu'au trait de jauge.



Figure 9 : préparations des différentes concentrations du paracétamol à administrés

On suit la même démarche pour les autres dilutions, et les résultats sont illustrés dans ce tableau :

Tableau 1 : Concentrations du paracétamol administré seul pour chaque lot

Lot	1	2	3	4	5
Concentration (mg/kg)	30	60	100	150	180
Concentration (mg/ml)	1.81	3.714	5.704	8.745	9.946
Vm (ml)	1.81	3.714	5.704	8.745	9.946

C/Administration

Les différentes concentrations de la solution de paracétamol sont administrées par voie intra péritonéale en raison de 0.5 ml, à l'aide des seringue de 1ml. La seringue doit être remplie avec le volume approprié et les bulles d'air présentes doivent être éliminées.

Procédure de l'injection intra péritonéale (IP)

Tenir l'animale tête vers le bas (ainsi les organes descendent par gravité), dans un angle de 45 °, insérer une aiguille biseau vers le haut, dans le cadran inférieur gauche de l'abdomen, injecter le volume requis et à la fin relâcher le piston puis retirer l'aiguille. On note l'heure de l'injection pour chaque lot, afin qu'un intervalle de 15 minute sera maintenu avant la mesure de l'activité.

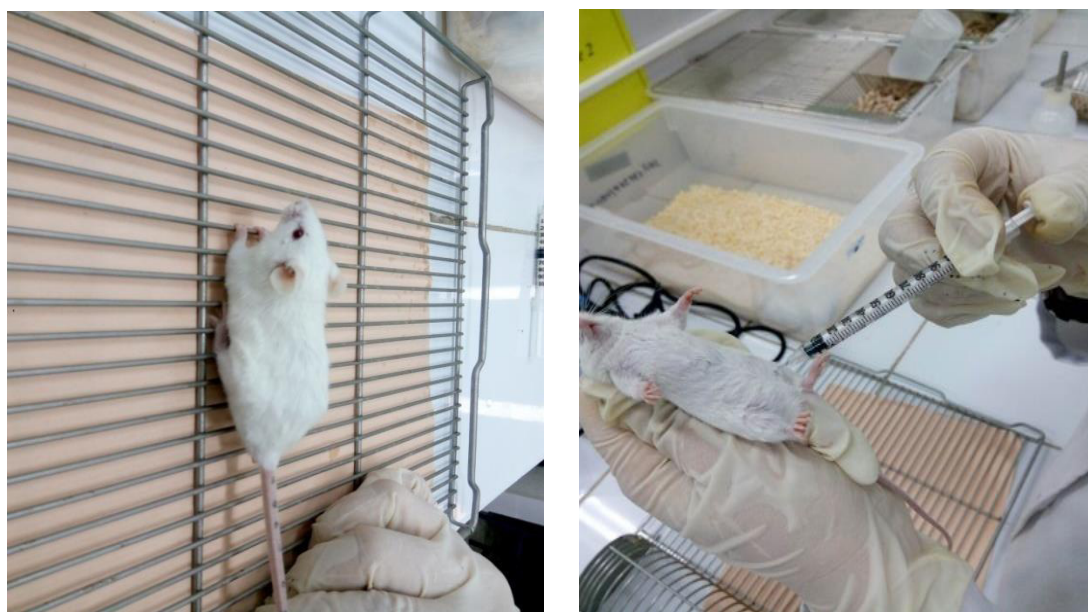


Figure 10 : différentes étapes de l'administration intra-péritonéale du paracétamol chez une souris

D/ Mesure de l'activité analgésique : Mesurer les réponses mécaniques

Le test consiste en l'application d'une force mécanique croissante avec l'analgésimètre, dans laquelle la pointe du dispositif a été appliquée sur la patte, une augmentation linéaire est appliquée sur la patte postérieure jusqu'à ce qu'une réponse de retrait se produit on relâche la pédale et on lit sur l'échelle la force à laquelle l'animal a ressenti la douleur. (Unité : échelle graduée).



Figure 11 : mesure de l'activité analgésique après administration du paracétamol

Traitement avec le Tramadol :

A / prise du poids

Comme pour le paracétamol les souris sont pesées avant de tout commencer de la même façon que précédemment.

B/ préparation des dilutions :

Dans le cas du tramadol, la matière première sous forme sèche « poudre », est mise en solution à une concentration de 4 mg/ml en prenant 40 mg du tramadol qu'on met dans une éprouvette de 10 ml et on complète avec du sérum physiologique.

On aura alors une solution mère du tramadol dosée à 4mg/ml.

Avec la même démarche que pour le paracétamol, on calcule les volumes de la solution mère nécessaire à la dilution pour avoir les concentrations suivantes 5-12.5-25-50-80 mg/kg respectivement au lot 1-2-3-4-5, le tableau ci-dessous regroupe tous les résultats obtenus.

Traitement avec l'association tramadol/paracétamol

A/ Prise du poids

Quand nous sommes arrivés à l'administration de l'association paracétamol /tramadol ; plus que la moitié des souris était morte en raison de la violence entre eux

(réduction de nombre total des souris de 36 à 16 souris seulement) ; donc on a reconstitué 4 lots seulement de 4 souris pour chacun (1lot témoin et 3 lots test)

B/ Préparation des dilutions :

La préparation des solutions dans ce cas se fait par la dissolution du tramadol dans la solution de paracétamol pour avoir des combinaisons de concentration de l'ordre 2.5/25, 7.5/75 ,19/190. On commence par préparer la solution de paracétamol à 190 mg/kg avec un volume de 10ml (de la même façon que paracétamol seul), après on met 4 mg du tramadol dans une éprouvette de 10 ml et on complète avec la solution de paracétamol préparée, à la fin de cette opération on obtient une solution qui est dosée à 19/190 (mg tramadol/mg paracétamol). Les autres solutions sont préparées à partir de cette dernière solution en faisant des dilutions (les calculs des volumes de la solution mère à prélever se font en raison du paracétamol ou du tramadol, ça serais valable et juste pour les deux, car les combinaisons sont de tel façon respecte un rapport de 10, et de ce fait les facteurs des dilutions seront les mêmes que pour le paracétamol ou tramadol).

Tableau 2 : Concentrations du l'association paracétamol/tramadol

Lot	1	2	3
Concentration (mg tram/mg para)	2.5/25	7.5/75	19/190
Vm (ml)	1.31	3.6	9.57

Résultats

Traitement avec paracétamol

Prise de poids

Tableau 3 : poids individuel de chaque souris et poids moyen du chaque lot avant administration du paracétamol exprimés en mg

Lot/souris	S1	S2	S3	S4	S5	S6	Moyenne
T	28.3	27.5	25.8	30.5	31.4		28.7
1	31.6	28.9	30.1	29.5	31.9	27.8	30.13
2	30.5	30.2	33.1	29.0	31.4	31.5	30.95
3	28.7	29.3	32.5	18.3	32.6	29.7	28.52
4	28.6	35.5	22.3	28.6	37.2	22.7	29.15
5	27.0	26.8	31.3	26.1	17.5	37.1	27.63

Mesure de la force mécanique

Tableau 4 : force mécanique moyenne du chaque lot (Unité : échelle graduelle)

Lot/souris	S1	S2	S3	S4	S5	S6	Moyenne
T	9	8	14	8	15.5		10.9
1	7	8	21.5	18	18	19.5	15.3
2	25	21.5	08	15	20.5	18.5	18.80
3	10	12	23	7	9.5	12.5	12.33
4	18.5	7	22	24	25	25	20.25
5	23	19	22	20	21		21

Les animaux traités avec paracétamol ont montré une augmentation significative de la pression appliquée même à la dose la plus petite (30mg/kg) par rapport aux animaux du lot témoin.

Tableau 5 : tableau récapitulatif de pressions mesurées en fonction des concentrations du paracétamol administrée pour chaque lot.

Lot	T	1	2	3	4	5
Dose (mg/kg)	Sérum physiologique	30	60	100	150	180
Dose (mg/ml)	/	1.81	3.71	5.70	8.74	9.94
Pression moyenne (Unité : échelle graduelle)	10.9	15.3	18.80	12.33	20.25	21

Détermination de la DE₅₀

La DE₅₀ est déterminée graphiquement par la méthode de Miller et Tainter qui consiste à reporter directement sur papier Log - Probit le pourcentage d'efficacité en fonction du logarithme décimal de la dose. Les probits correspondant aux pourcentages 0 et 100 tendent vers l'infini. Ils sont donc remplacés par les valeurs suivantes :

0 % correspond à $(0,5 / N) \times 100$

100 % correspond à $(N - 0,25) \times 100$

N : nombre d'animaux dans les lots ayant donné 0 % et 100 % d'efficacité

$$\text{Ecart type de la DE}_{50} : \sigma = \frac{\text{DE}_{84} - \text{DE}_{16}}{2}$$

Ecart à la moyenne : $\text{SEM} = 2 \sigma / \sqrt{2 N}$

N : Nombre total d'animaux dans les lots ayant donné entre 7 et 93 % d'effet

$$\text{DE}_{50} = \text{DE}_{50} \text{ graph} \pm \text{SEM}$$

Calcul du pourcentage d'efficacité

Il est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'efficacité} = \frac{\text{pression moyenne du lot essai} - \text{pression moyenne du lot témoin}}{(\text{Pression moyenne du lot essai} - \text{pression moyenne du lot témoin}) \text{ max}}$$

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Pourcentage d'efficacité des différents lots

Lot	Nombre d'animaux	Dose mg/kg	Pression moyenne	Différence	%effet
T	5	0	10,9	0	0
L1	6	30	15,33	4,43	43,89
L2	6	60	18,08	7,18	71,12
L3	6	100	12,33	1,43	14,19
L4	6	150	20,25	9,35	92,57
L5	5	180	21	10,1	100

Avec : Différence = pression moyenne du lot essai - pression moyenne du lot témoin

Calcul des probits correspondant aux pourcentages 0% et 100%

-le calcul du probit 0 % se fait sur le lot témoin par la formule suivante $(0,5 / N) \times 100$, dont N est égale à 5 (nombre d'animaux dans les lots ayant donné 0 % d'effet), on aura comme résultat 10%.

-dans le cas du probit 100 %, le calcul se fait sur le lot numéro cinq en respectant la formule suivante $(N - 0,25) \times 100$ (N est égale à 5 nombre d'animaux dans les lots ayant donné 100 % d'effet), ça donne 95%.

Représentation graphique et calcul de la DE50 manuellement sur un papier log-probabilité

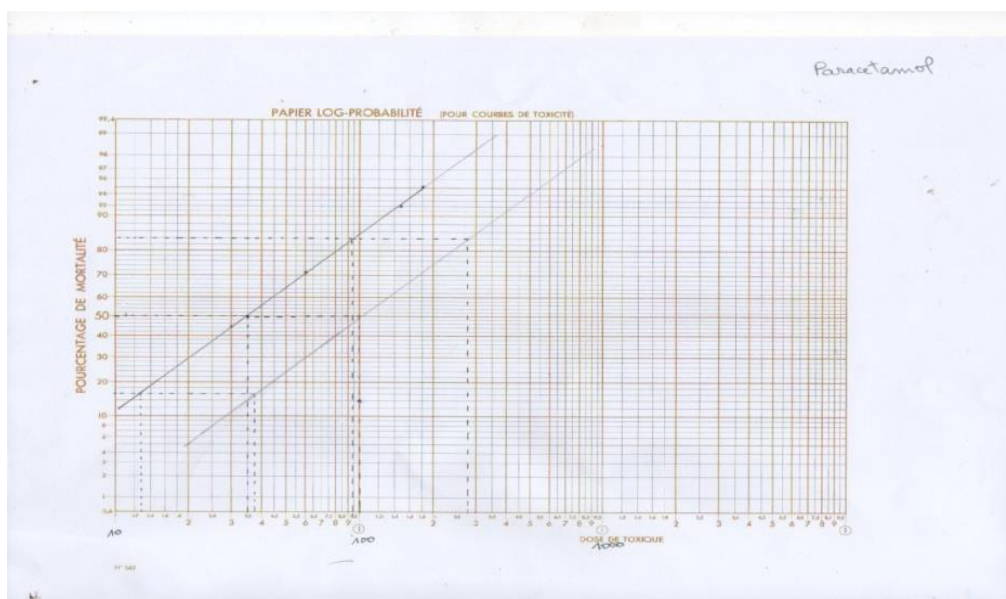


Figure 12 : courbe dose effet sur papier log-probabilité du paracétamol administré seul par voie intra péritonéale

La DE₅₀, DE₁₆ et la DE₈₄ sont obtenus par extrapolation sur la droite

A partir de la représentation graphique deux situations se sont présentées :

- en prenant en considération tous les points expérimentaux
- en éliminant le résultat du point du lot numéro 2 qui semble aberrant

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 7 : les différentes doses efficaces du paracétamol avec et sans points aberrants

	DE ₅₀	DE ₁₆	DE ₈₄	Σ	SEM
aa (mg/kg)	100	37	270	116.5	33.63
sa (mg/kg)	35	13	95	41	11.83

aa : en prenant en considération le point aberrant (lot N° 2)

sa : sans prendre en considération le point aberrant (lot N° 2)

Représentation graphique et calcul de la DE50 en utilisant le logiciel STATISTICA

Sans éliminer le point aberrant

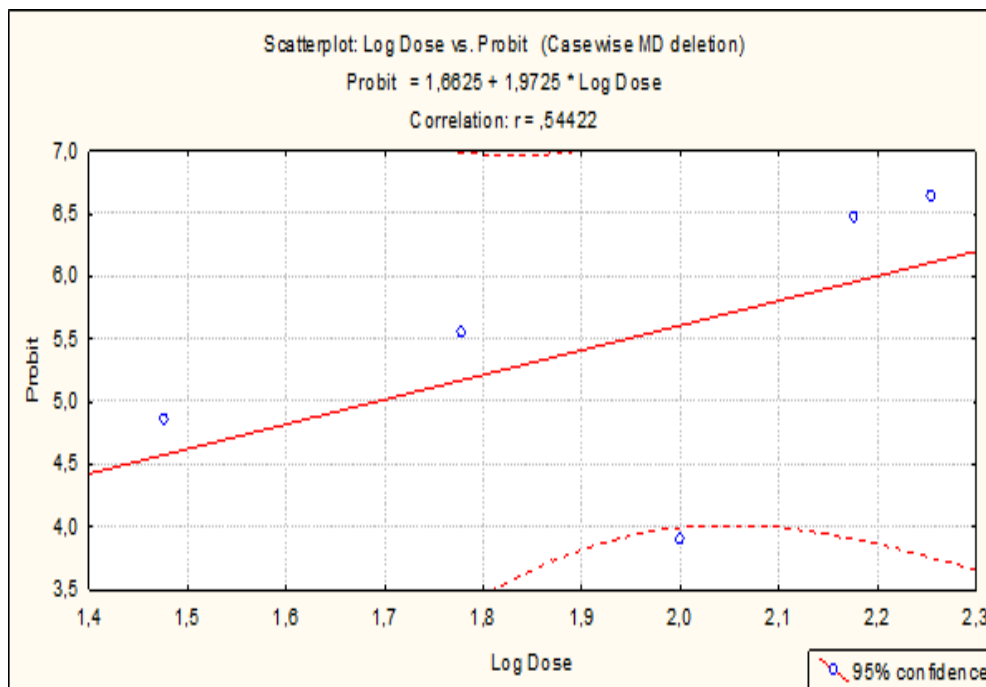


Figure 13 : Courbe dose/effet du paracétamol administré seul par voie intra péritonéale

La détermination de la DE₅₀ a été faite à partir de l'équation de la droite obtenue.

Probit = 1.6625 + 1.9725x log Dose implique : log Dose = (probit - 1.6625) / 1.9725

Le pourcentage 50% correspond à une valeur du probit égale à cinq, on aura donc

Log(DE₅₀) = (5 - 1.6625) / 1.9725 = 1.69 implique DE₅₀ = 48.97 mg/kg

Calcul de l'Ecart type de la DL50 par la formule suivante : $\sigma = \frac{DL_{84} - DL_{16}}{2}$

Log Dose = (probit - 1.6625) / 1.9725

Les pourcentages 16% et 84% correspondent respectivement aux valeurs du probit 4.01 et 5.99, de la même manière que la DE₅₀, on a DE₁₆ qui est de 15.49 mg/kg et DE₈₄ à 156.28 mg/kg. L'Ecart type est de 70.39.

Calcul de l'Ecart à la moyenne : SEM = 2 σ / $\sqrt{2 N}$, N'est égale à 24, SEM est de 20.32 mg/kg. On aboutit à la fin à une valeur de la DE₅₀ qui est de 48.97 ± 20.32 mg/kg.

DE₅₀ paracétamol = 48.97 ± 20.42 mg/kg.

2 En éliminant le point aberrant

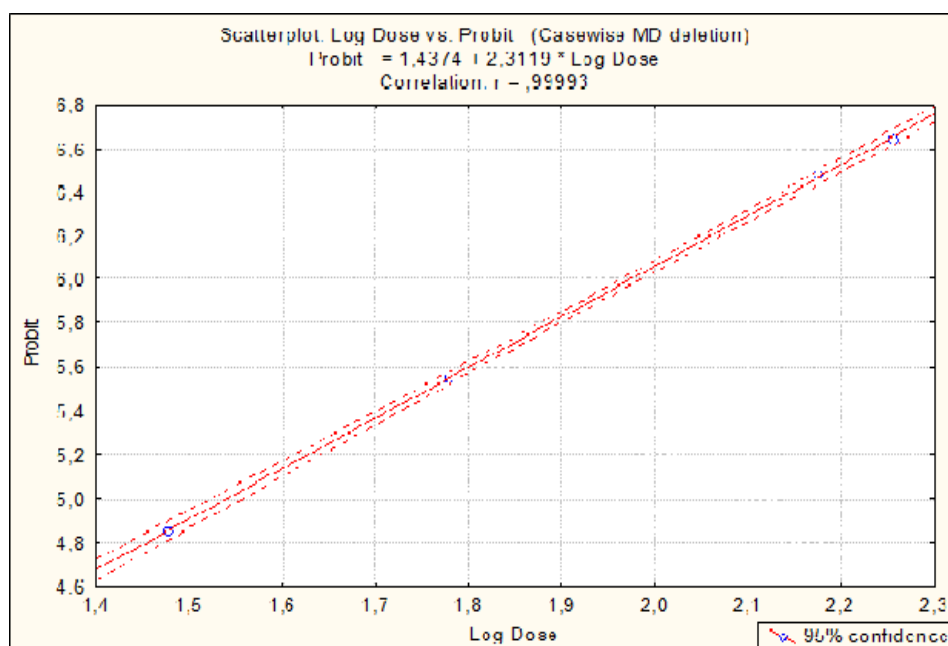


Figure 14 : Courbe dose/effet du paracétamol administré seul par voie intra péritonéale après élimination du point aberrant

Dans ce cas la DE50 est de 34.6 ± 11.57 mg/kg (même démarche a été prit pour la détermination de la DE50)

$$\text{DE50paracétamol} = 34.6 \pm 11.57 \text{ mg/kg}$$

Traitement avec tramadol

Prise de poids

Les résultats sont exprimés en mg

Tableau 8 : poids individuel de chaque souris et poids moyen du chaque lot avant administration du tramadol exprimé en mg

Lot/souris	S1	S2	S3	S4	S5	S6	Moyenne
T	26.1	24.0	22.7	31.9	29.0	/	26.74
1	27.2	25.4	26.8	25.4	28.5	25.1	26.4
2	35.0	35.0	32.2	29.0	34.1	31.7	32.88
3	25.5	27.7	27.4	17.2	30.2	28.1	26.01
4	25.6	35.4	18.1	32.4	25.20	20.1	26.13
5	23.2	23.8	28.5	22.6	32.6	/	26.14

Préparation des dilutions

Tableau 9 : différentes concertations du tramadol administrés

Lot	1	2	3	4	5
Dose (mg/kg)	5	12.5	25	50	80
Dose (mg/ml)	0.264	0.822	1.305	2.613	4.182
Vm (ml)	0.66	2.05	3.25	6.53	10

Mesure de la force mécanique

Tableau 10 : forces mécaniques appliquées sur chaque souris ainsi que la pression moyenne de chaque lot (unité : échelle graduelle)

Lot/souris	S1	S2	S3	S4	S5	S6	Moyenne
T	4	12.5	16	12	8	/	10.5
1	18	20	17.5	15	23	20.5	19
2	25	25	23	24	19	21	22.83
3	7	25	22.5	25	13.5	25	19.67
4	25	25	25	12	25	20	22
5	13	25	25	25	25	/	22.6

Concentration administrée /pression appliquée sur chaque lot

Un allongement significatif du temps de réponse a été montrée dans les lots aux quels on a administré du tramadol par rapport au lot témoin et par rapport aux réponses données par le paracétamol.

Tableau 11 : tableau récapitulatif de pressions mesurées en fonction des concentrations du tramadol administré pour chaque lot

Lot	T	1	2	3	4	5
Dose (mg/kg)	Sérum physiologique	5	12.5	25	50	80
Dose(mg/ml)	/	0.264	0.822	1.305	2.613	4.182
Pression (unité : échelle graduelle)	10.5	19	22.83	19.67	22	22.6

Détermination de la DE₅₀

Tous les calculs à faire pour la détermination de la DE₅₀ du tramadol sont présentés dans les tableaux ci-dessous

Calcul du pourcentage d'efficacité

Tableau 12 : calcul des pourcentages d'efficacité des différents lots après administration du tramadol

Lot	Nombre d'animaux	Dose mg/kg	Moyenne	Différence	%effet
T	5	0	10,5	0	0
L1	6	5	19	8,5	68,91
L2	6	12,5	22,83	12,33	100
L3	6	25	19,66	9,16	74,32
L4	6	50	22	11,5	93,24
L5	5	80	22,6	12,1	98,10

Représentation graphique et calcul de la DE₅₀ manuellement sur un papier log-probabilité

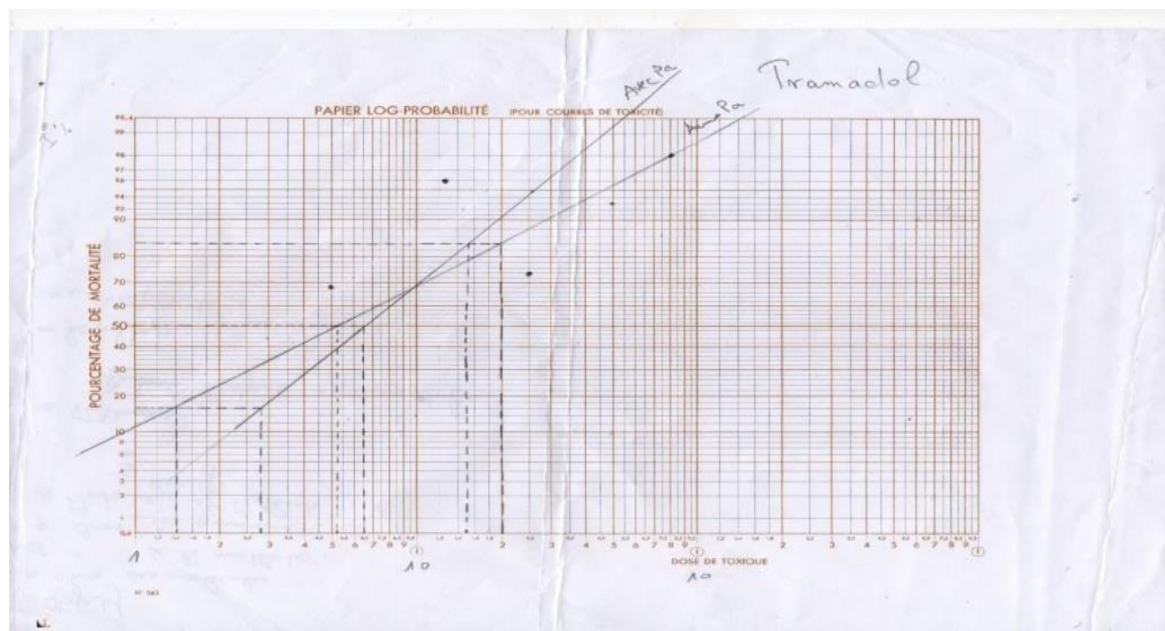


Figure 15 : courbe dose effet sur papier log-probabilité du tramadol administré seul par voie intra péritonéale

Comme pour le paracétamol les différentes doses efficaces sont obtenues par extrapolation sur la droite

Tableau 14 : calcul des différentes doses efficace du tramadol avec et sans point aberrant

	DE ₅₀	DE ₁₆	DE ₈₄	Σ	SEM
aa (mg/kg)	6.5	2.80	15	6.1	2.49
sa (mg/kg)	5.25	1.4	20	9.3	3.79

aa : en prenant en considération le point aberrant

sa : sans prendre en considération le point aberrant

Représentation graphique et calcul de la DE50 en utilisant le programme STATISTICA

Sans éliminer le point aberrant

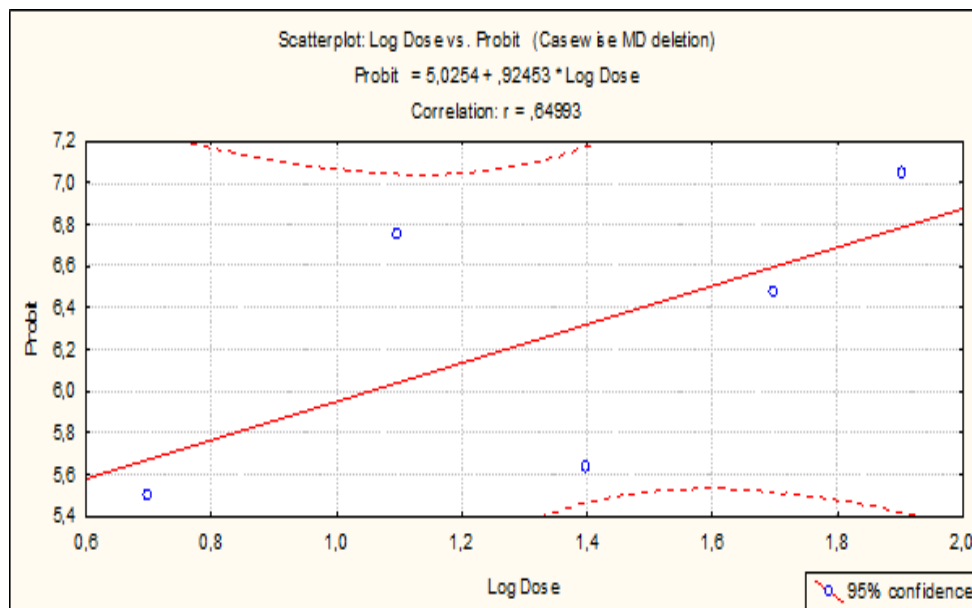


Figure 16 : Courbe dose/effet de tramadol administré seul par voie intra péritonéale

En éliminant le point aberrant

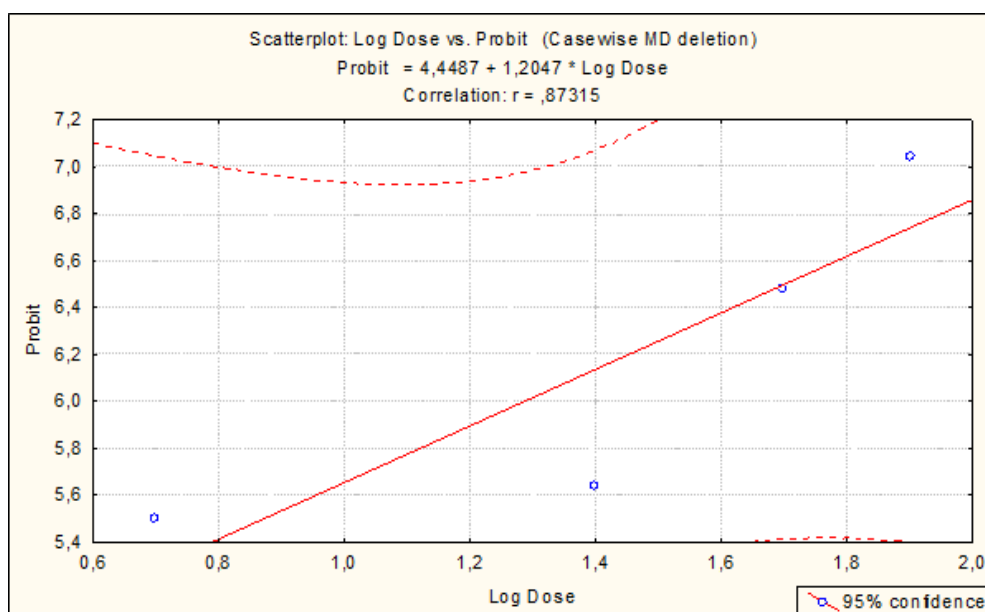


Figure 17 : Courbe dose/effet du tramadol administré seul par voie intra péritonéale après élimination du point aberrant

Résultats

Tableau 15 : différentes DE du tramadol donnés par le logiciel STATISTICA

	DE50	DE16	DE84	Σ	SEM
Aa	0,94	0,079	11,04	5.48	2.23
Sa	2,87	0,43	19,04	9.3	3.79

aa : en prenant en considération le point aberrant

sa : sans prendre en considération le point aberrant

Traitement avec tramadol/paracétamol

Prise de poids

Tableau 16 : poids des souris avant l'administration de l'association paracétamol/tramadol

Lot/souris	S1	S2	S3	S4	Moyenne
T	27.9	23.3	29.5	24.4	26.27
1	28.5	29.8	28.5	14.3	25.27
2	26.9	26.6	24.9	26.8	26.3
3	23.0	21.1	21.7	35.0	25.2

Mesure de la pression

Tableau 16 : activité analgésique moyenne du chaque lot après administration de l'association paracétamol/tramadol

Lot/souris	S1	S2	S3	S4	Moyenne
T	18	5	15.5	3.5	10.5
1	18	22	13	8.5	15.37
2	12.5	18	11	5	11.62
3	25	14.5	25	25	22.37

Pourcentage d'efficacité de l'association

Tableau 17 : pourcentage d'efficacité de l'association calculé dans chaque lot

Lot	Nombre d'animaux	Dose	Moyenne	D	%effet
T	4	0	10,5	0	0
L1	4	2,5/25	15,37	4,47	38,99
L2	4	7,5/75	11,62	0,72	6,31
L3	4	19/190	22,37	11,47	100

Tableau 18 : tableau récapitulatif de pressions mesurées en fonction des concentrations de l'association tramadol/paracétamol administrée pour chaque lot

Lot	T	1	2	3
Concentration (mg tram/mg para)	Sérum physiologique	2.5/25	7.5/75	19/190
Pression	10.5	15.37	11.62	22.37

Représentation graphique et calcul de la DE_{50} manuellement sur un papier log-probabilité

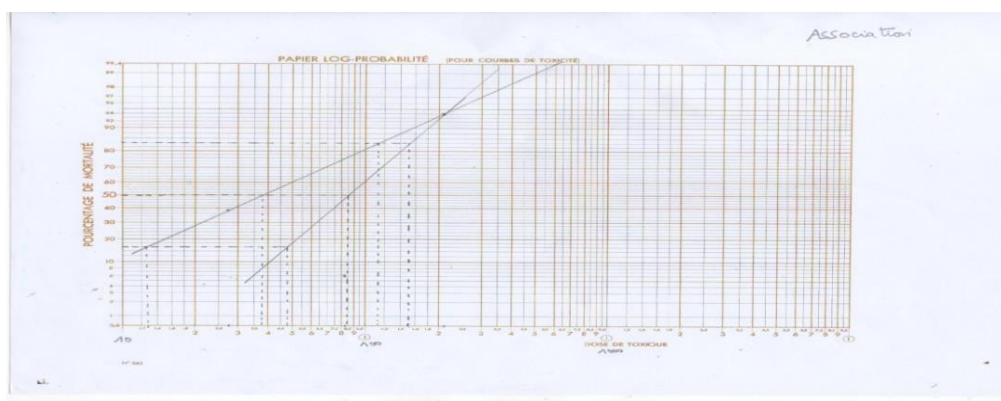


Figure 18 : courbe dose effet sur papier log-probabilité de l'association paracétamol/tramadol administrée par voie intra péritonéale

Tableau 19: différentes DE de l'association paracétamol/tramadol déterminés manuellement sur papier log-probit

	DE ₅₀	DE ₁₆	DE ₈₄	Σ	SEM
aa (mg/kg)	85	47	150	51.5	25.75
sa (mg/kg)	37.5	12.75	115	51.12	25.56

aa : en prenant en considération le point aberrant

sa : sans prendre en considération le point aberrant

Représentation graphique et calcul de la DE50 en utilisant le programme STATISTICA

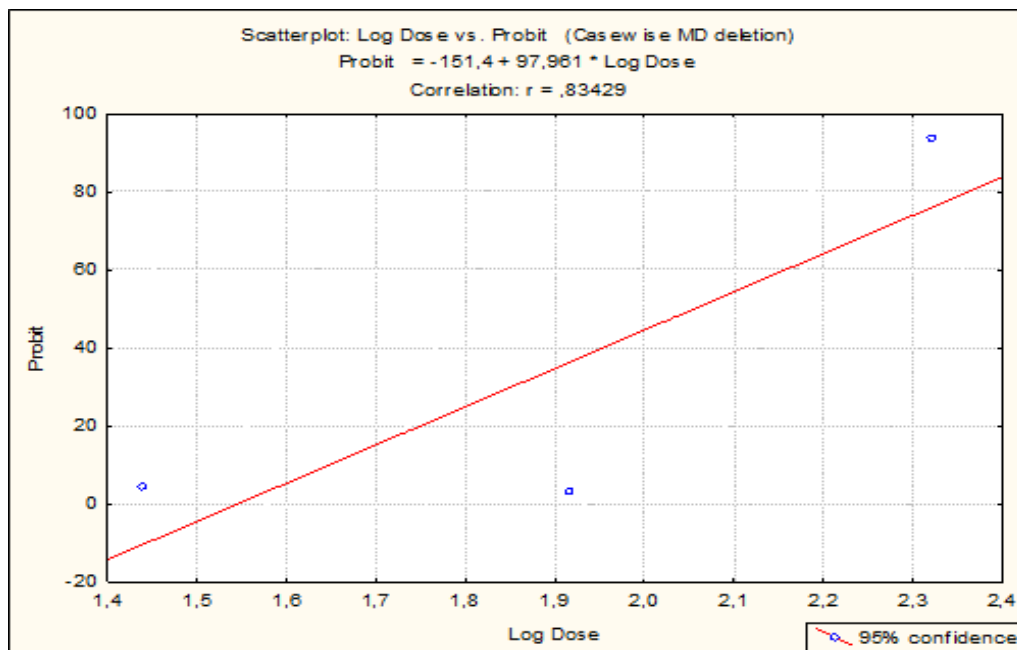


Figure 19 : Courbe dose/effet du tramadol/paracétamol administré par voie intra péritonéale

Détermination de la DE50

Tableau 20: différentes DE de l'association paracétamol/tramadol donnés par le logiciel STATISTICA

DE ₅₀	DE ₁₆	DE ₈₄	Σ	SEM
39.44	38.58	40.14	0.78	0.19

La dose efficace 50 de l'association est de 39.44 ± 0.19 mg/kg

DE50 association = 39.44±0.19 mg/kg

Calcul d'indice d'interaction

L'indice d'interaction, noté γ , est une évaluation de degré de synergie ou d'antagonisme. L'indice est défini par la relation isobolar (Tallarida, 2002):

$$\gamma = \frac{a}{A} + \frac{b}{B}$$

Où A et B sont les doses du médicament A (seul) et B (seul), respectivement, qui donnent l'effet spécifié et (a, b) sont les doses combinées qui produisent le même effet. Les quantités dans l'équation sont obtenues à partir des courbes dose-réponse des médicaments A, B et de leurs combinaisons.

Si $\gamma = 1$, l'interaction est additive; Si $\gamma < 1$, il est super-additif (synergie); Et si $\gamma > 1$, il est sub-additif (antagonisme).

La valeur retenue est celle donnée par le logiciel et qui ne tient pas en considération le point aberrant en raison de la précision dans l'estimation de la DE_{50} par rapport aux résultats manuels.

Les valeurs utilisées pour le calcul d'indice d'interaction sont les doses efficaces 50 c'est-à-dire qui produisent 50% d'effet.

Sachant que :

$$A = 34.6 \text{ mg/kg} \quad , \quad B = 2.87 \text{ mg/kg}$$

$$a+b = 39.44 \text{ mg/kg} \quad \rightarrow \quad 11b = 39.44 \text{ mg/kg}$$

$$\text{On aura : } b = 3.585 \text{ mg/kg} \quad ; \quad a = 35.85 \text{ mg/kg}$$

$$\gamma = \frac{35.85}{34.6} + \frac{3.585}{2.87} \quad \rightarrow \quad \gamma = 4.84$$

$\gamma > 1$ donc il est sub-additif (antagonisme)

Discussion

Notre étude a porté sur l'évaluation de l'activité analgésique du paracétamol seul, du tramadol seul et de la combinaison paracétamol-tramadol en utilisant le test de Randall et Selitto chez les souris afin de déterminer la DE_{50} dans chaque cas. Le traitement des données s'est fait de deux manières : en les reportant manuellement sur un papier log-probabilité ou en utilisant le logiciel STATISTICA afin d'avoir des droites de corrélation représentatives et plus précises. De plus ces deux outils sont utilisés à leurs tours de deux manières : la première consiste à prendre les résultats tels qu'ils se présentent, la deuxième en éliminant les éventuels points jugés aberrants.

Les résultats obtenus ont révélé que le paracétamol administré seul présente une DE_{50} brute déterminée manuellement de 100 ± 33.63 mg/kg ou bien une DE_{50} corrigée (en éliminant le point aberrant) de 35 ± 11.83 mg/kg en éliminant le résultat du lot 3

jugé aberrant. D'autre part, le traitement des données par le logiciel STATISTICA a démontré une DE_{50} brute de 48.97 ± 20.32 mg/kg et une DE_{50} corrigée de 34.6 ± 11.57 mg/kg.

La considération du résultat obtenu pour le lot 3 comme point aberrant est justifiée par le coefficient de corrélation (déterminé par le logiciel STATISTICA) qui passe de 54.44% vers 99.99% lorsqu'on élimine le point en question.

De plus, les résultats obtenus en éliminant le point aberrant manuellement et en utilisant le logiciel se rapprochent (35 ± 11.83 mg/kg et 34.6 ± 11.57 mg/kg respectivement) contrairement à celles qui le prennent en considération et qui s'éloignent les unes des autres. Donc, le résultat retenu est celui qui ne tient pas en considération le point aberrant qui révèle une DE_{50} de 34.6 ± 11.57 mg/kg.

Il est à noter qu'on n'a pas retrouvé de causes apparentes justifiantes l'écart obtenu avec le lot 3 par rapport aux autres lots.

Une DE_{50} de 36 mg/kg a été rapportée par l'étude « Analyse isoblographique des interactions anti nociceptives entre kétoprofène et paracétamol » (Hai-Xia Qiu, 2007), cette valeur bibliographique est comparable à celle retenue dans notre étude tout en tenant compte de l'éventuelle différence entre les deux études : notre étude s'est faite sur des souris BALB/c après administration par voie IP tandis que l'étude citée est faite sur souris après administration orale).

Notre étude a donné une DE_{50} brute pour le tramadol de 6.5 ± 2.49 mg/kg (manuellement) ou bien une DE_{50} corrigée de 5.25 ± 3.79 mg/kg (en éliminant le résultat du lot 2 jugé aberrant). tandis que les résultats du logiciel donnent une DE_{50} brute de 0.94 ± 2.23 mg/kg et une DE_{50} corrigée de 2.87 ± 3.79 mg/kg. Ces résultats apparaissent plus ou moins loin les unes des autres, mais si on met en valeur les SEM, les résultats se chevauchent certainement.

Dans ce cas, le coefficient de corrélation passe de 64.99% à 87.31% ce qui nous confirme que le lot numéro 2 est aberrant toujours sans une raison apparente, donc notre interprétation pour le tramadol va se baser sur les résultats obtenues par le logiciel STATISTICA sans tenir compte de point aberrant.

En se référant à d'autre étude tel que « Etude de l'interaction du tramadol avec l'amlodipine chez la souris » cette dernière rapporte une DE_{50} du tramadol de l'ordre de 22.8 mg/kg (Hiral Modi, 2013), notre résultat expérimental apparaît très différent de la bibliographie toute en prenant en compte que l'étude citée a été effectuée sur une méthode différente qui est la méthode du retrait de la queue (tail-flick test) en utilisant comme stimuli la chaleur radiante.

Arrivant à l'association paracétamol/tramadol, on a obtenu une DE_{50} manuelle brute de 85 ± 25.75 mg/kg et une DE_{50} corrigée de 37.5 ± 25.56 mg/kg (en éliminant l'éventuel point aberrant qui est le lot 2). En contre partie, la DE_{50} obtenue au moyen

du logiciel STATISTICA est de 39.44 ± 0.19 mg/kg. Sachant qu'il n'est pas possible d'envisager l'exclusion du point du lot 2 de faite que le logiciel n'accepte pas une corrélation effectuée par deux points seulement.

La valeur retenue est donc celle donnée par le logiciel en raison de la précision dans l'estimation de la DE_{50} par rapport aux résultats manuels.

D'après notre étude l'association paracétamol/tramadol au rapport 10/1 évoque un effet sub-additif « antagonisme » avec un indice d'interaction supérieure à 1, ce qui est en contradiction avec les données bibliographiques.

Plusieurs hypothèses peuvent être posées afin d'expliquer ces résultats :

-On pense que ceci est probablement dû à la grande mortalité qui est survenue aux animaux avant la troisième expérience : c'est-à-dire la réduction du nombre d'animaux utilisés dans l'étude de 36 à 16 souris (on est passé de 6 lots de 5 à 6 souris/lot à 4 lots de 4 souris/lot), ce qui rend l'interprétation des résultats plus délicate et constitue un biais à notre étude.

-la sensibilité de nos souris : elles ont été très sensibles même à des doses minimales ceci est dû probablement à la méthode qui est adaptée aux rats et n'est pas adaptée aux souris (H. Gerhard Vogel, 2006)

-les conditions dans lesquelles on a travaillé ont probablement influencé l'état des souris et leurs réponses, on a remarqué que les souris étaient très excitées lors de la manipulation ce qui peut être expliqué par le changement d'environnement.

- la qualité de nos produits ; la solution injectable de paracétamol est destinée à l'usage humain tandis que le tramadol utilisé était sous forme de matière première très pure mais nécessite des dilutions dans du sérum physiologique.

- des erreurs probables lors de la manipulation ou lors de la lecture de la pression (toute en tenant compte que c'est notre première manipulation).

-le choix de la méthode : il aurait été plus intéressant de travailler avec la méthode de writhing test ou cramping test (D. Le Bars, 2001), qui est plus adaptée aux souris, et qui consiste à l'injection intra péritonéale d'agents irritants tel que l'acide acétique. On n'a pas pu choisir cette méthode car elle nécessite beaucoup de temps et exige un observateur pour chaque souris.

Conclusion

La douleur demeure, partout dans le monde, l'une des principales raisons pour consulter un médecin. Dans le développement de médicaments analgésiques, les procédures précliniques sont largement utilisées pour évaluer les effets des médicaments sur les comportements liés à la douleur.

Le but de notre travail a été de mettre au point une méthode d'étude de l'activité analgésique chez les souris en utilisant le test de Randall et Sellito pour l'étude de deux analgésiques le paracétamol et le tramadol et de leur association.

Dans ce travail, nous avons évalué l'utilité du test de Randall et Sellito comme méthode pour détecter et quantifier les réponses de la douleur chez les souris soumis à une pression mécanique.

Les résultats de notre travail montrent une contradiction des résultats obtenus avec les données bibliographiques des molécules déjà connus. Ceci peut être lié à la méthode elle-même qui est à l'origine destinée aux rats et n'est probablement pas adaptée aux souris. Ou bien, il est probable aussi que la méthode ne soit pas adéquate pour prédire l'activité des molécules en question... ceci ne peut être confirmé qu'après reconduction de l'essai avec l'espèce (rat) et/ou la méthode (cramping test) recommandées respectivement.

Il faut signaler aussi que les conditions dans lesquels nous avons travaillé (environnement défavorable) peuvent être à l'origine des résultats obtenus.

Ces hypothèses doivent faire l'objet des prochaines études afin de pouvoir arriver à notre but de mettre au point la méthode d'étude de l'activité analgésique.

Il s'est avéré que cette méthode n'est pas adaptée à une telle étude sous les éventuelles conditions, et que cette méthode ne peut être utilisée pour tester l'activité analgésique de nouvelles substances ou des extraits.

Bien qu'on aurait aimé avoir des résultats plus satisfaisants ce travail peut constituer une base pour d'éventuelle travaux futurs qui visent à compléter et continuer ce qu'on a entrepris et qu'on aimerait bien voir réaliser.

Références Bibliographiques

- Art 14 du Décret n° 76-139 du 23 octobre 1976 portant réglementation des produits pharmaceutiques
- La loi 08/13 de 03 aout 2008 complétant l'article 169 de la loi 85-05 du 16 février 1985.
- Allain.<http://www.pharmacorama.com/pharmacologie/medicaments-generalite/etapes-etude-medicament/etude-animal-etude-preclinique>. 2017.
- Bayne K ; Degreeve P. An overview of global legislation, regulation, and policies on the use of animals for scientific research, testing or education. . 2003.
- Chast. Histoire contemporaine des médicaments. Paris Éd de la découverte, coll. Histoire des sciences, 1995.
- Cramer CJ ; Marchand-Geneste N ; Carpy A ; Porcher Jm. Essentials of computational chemistry: theories and models. Wiley. 2004. second Edition.
- Dangoumau ; Nicholas Moore ; Mathieu Molimard, Annie Fourier-Reglat ; Karin Latry ; Françoise Haramburu ; Ghada Miremont-Salame ; Karine Titier .Pharmacologie Générale. Edition 2006
- Dousset. Histoire des médicaments : des origines à nos jours. Paris : Payot, coll. Bibliothèque scientifique, 1985.
- Gagnault (docteur en pharmacie à l'université de Paris, docteur ès sciences physiques, membre de l'Académie nationale de pharmacie).<https://www.universalis.fr/essai7jours/>.
- Gagnault. PHARMACOCINÉTIQUE, Encyclopædia Universalis [en ligne], URL : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/pharmacocinetique/>
- Guirimand F ; Le Bars D. Physiologie de Anesth Réanim 1996. Med-Line Editions, 2001.
- H. Gerhard Vogel (Ed.). Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assays. Edition 2002
- Hai-Xia Qiu ; Jin Liu ; Hui Kong ; Yan Liu ; Xing-guo Mei .Isobolographic analysis of the antinociceptive interactions between ketoprofen and paracetamol. 2007.
- L. Jr, 2003. Handbook of laboratory animal science, second Édition, Volume I essential principles and practices.

- Le Bars ; M. Gozariu ; S.W. Cadden. Évaluation de la douleur aiguë chez l'animal d'expérience. Première partie. Edition 2001
- Le Hir ; Jean-Claude ; Chaumeil ; Denis Brossard. Pharmacie galénique: Bonnes pratiques de fabrication des médicaments. Edition 2009
- Lechat ; Les antalgiques centraux ou opioïdes 2006 - 2007 Service de pharmacologie clinique
- Modi ;Bipa Mazumdar ;Jagatkumar Bhatt . Study of interaction of tramadol with amlodipine in mice. 2013.
- Reggabi.K ; TD3 : Evaluation de l'Activité et de la Toxicité des Médicaments
- Shivaji P ;Gawade .Pharmacol Pharmacotherme .L'acide acétique induit une insuline endogène douloureuse dans le test de contournement chez la souris. 2012
- Sylviane Chéry-Croze. Rapport annuel de l'AFSAPPS, documents fournis par le leem -Site <http://www.med.univ-rennes1.fr/resped/s/pharmaco/BF1/dev.htm> , 2008.
- Thibaut Caruba ; Emmanuel Jaccoulet. Pharmacologie et thérapeutiques. Edition 2015
- Van Hoosier ; Jr. Handbook of laboratory animals - Animal models, 2003, Volume II, second edition, edited by Jann Hau & Gerald L.
- (<http://www.chups.jussieu.fr/polys/pharmaco/poly/corticoides.html>)
- <https://www.vidal.fr/substances/11988/nefopam/> 16 Janvier 2013
- <http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/douleur-physiologie-de-la/traitement> 2016
- <http://www.leem.org/article/developpement-preclinique-premiere-evaluation-0>
- <https://www.google.dz/search?q=physiopathologie+de+la+douleur&source=>

<ul style="list-style-type: none"> - Nom et Prénom 1. Zerrouki Ichrak - Adresse mail. bdbassma@gmail.com 	<ul style="list-style-type: none"> - Nom et Prénom 2. Saoudaoui Radia - Adresse mail. radiasaoudaoui@gmail.com
--	--

Résumé

La douleur est une sensation pénible qui est ressentie dans une zone plus ou moins délimitée du corps. Elle résulte d'une impression produite avec une intensité plus ou moins élevée. Elle représente un problème de santé publique très important

Le but de ce travail est de mettre au point une méthode d'étude de l'activité analgésique chez les souris en utilisant le test de Randall et Sellito pour un analgésique de palier 1 qui est le paracétamol et un autre de palier 2 qui est le tramadol en plus de l'association des deux molécules. La DE_{50} obtenu pour le paracétamol est de 34.6 ± 23.15 mg/kg, celle de tramadol est de 2.87 ± 7.59 mg/kg, pour l'association 37.5 ± 51.25 mg/kg et un indice d'interaction supérieur à 1 ce qui signifie un éventuel antagonisme entre les deux molécules ce qui est en contradiction avec les données bibliographiques.

Donc pour conclure, cette méthode n'est probablement pas adaptée aux souris et il faudra reconduire le test sur des rats ou bien changer complètement de méthode.

Abstract

Pain is a painful sensation that is felt in a more or less limited area of the body. It results from an impression produced with a higher or lower intensity. It is a very important public health problem

The aim of this work is to develop a method for studying analgesic activity in mice using the Randell and Sellito test for a tier 1 analgesic which is paracetamol and a tier one analgesic which is Tramadol in addition to the combination of the two molecules. The ED 50 obtained for paracetamol is 34.6 ± 23.15 mg / kg, that of tramadol is 2.87 ± 7.59 mg / kg, for the combination 37.5 ± 51.25 mg / kg and an index of interaction greater than 1 which means a possible antagonism between the two molecules which is in contradiction with the bibliographic data.

To conclude, this method is probably not adapted to mice and it will be necessary to carry out the test on rats or to completely change the method.

