Université de Nice-Sophia Antipolis

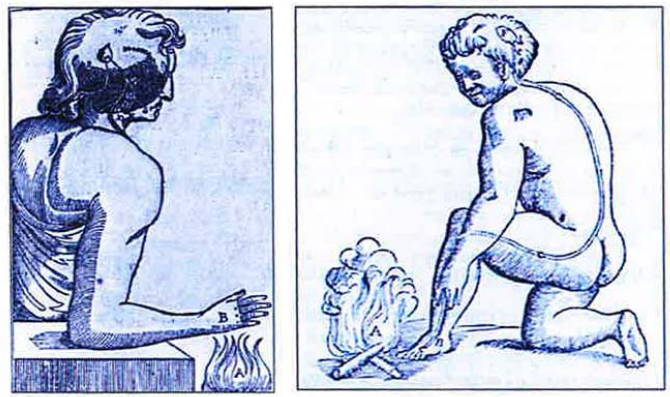
Aspects cellulaires et moléculaires de la douleur

Eric Lingueglia

Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire

UMR 7275 CNRS-UNS

lingueglia@ipmc.cnrs.fr



René Descartes (1648)

- Le système nocicepteur

- Les acteurs de la nociception

- Physiopathologie de la douleur

- Pharmacologie de la douleur

La douleur

Définition :

Expérience sensorielle et émotionnelle désagréable associée à un dommage tissulaire réel ou virtuel, ou décrite en termes d'un tel dommage *(International Association for the Study of Pain - IASP).*

La douleur se distingue des autres systèmes sensoriels puisque dans l'élaboration d'une perception identifiée comme une douleur, la sensation, l'émotion et la cognition sont étroitement liées.

Expérience personnelle et subjective.

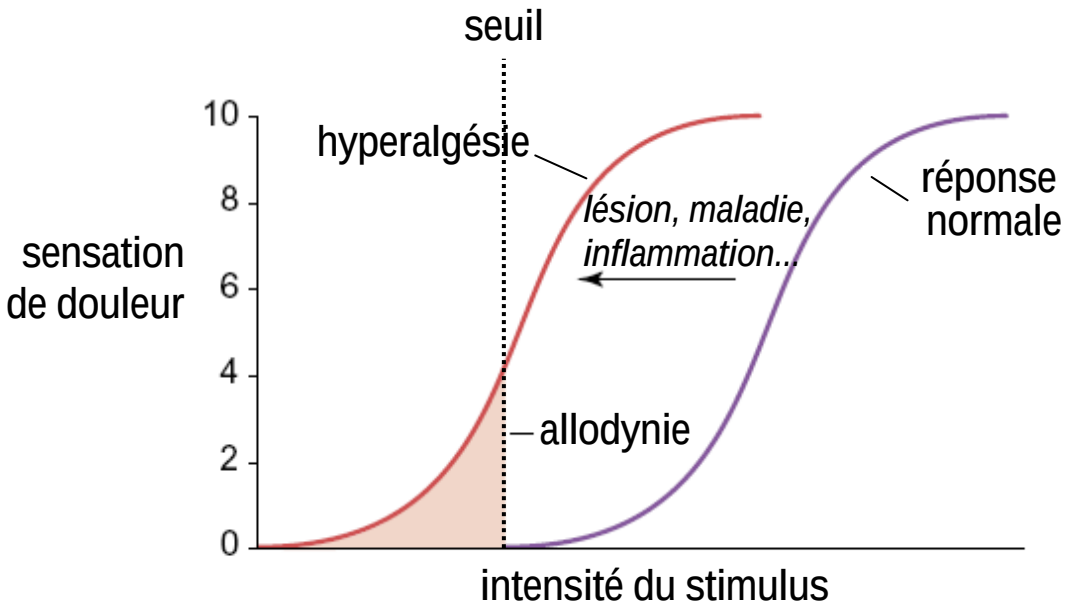
Nocicepteur: récepteur sensible aux stimuli produits par des agents potentiellement nocifs
Nociception: mécanisme neuronal codant une stimulation nociceptive

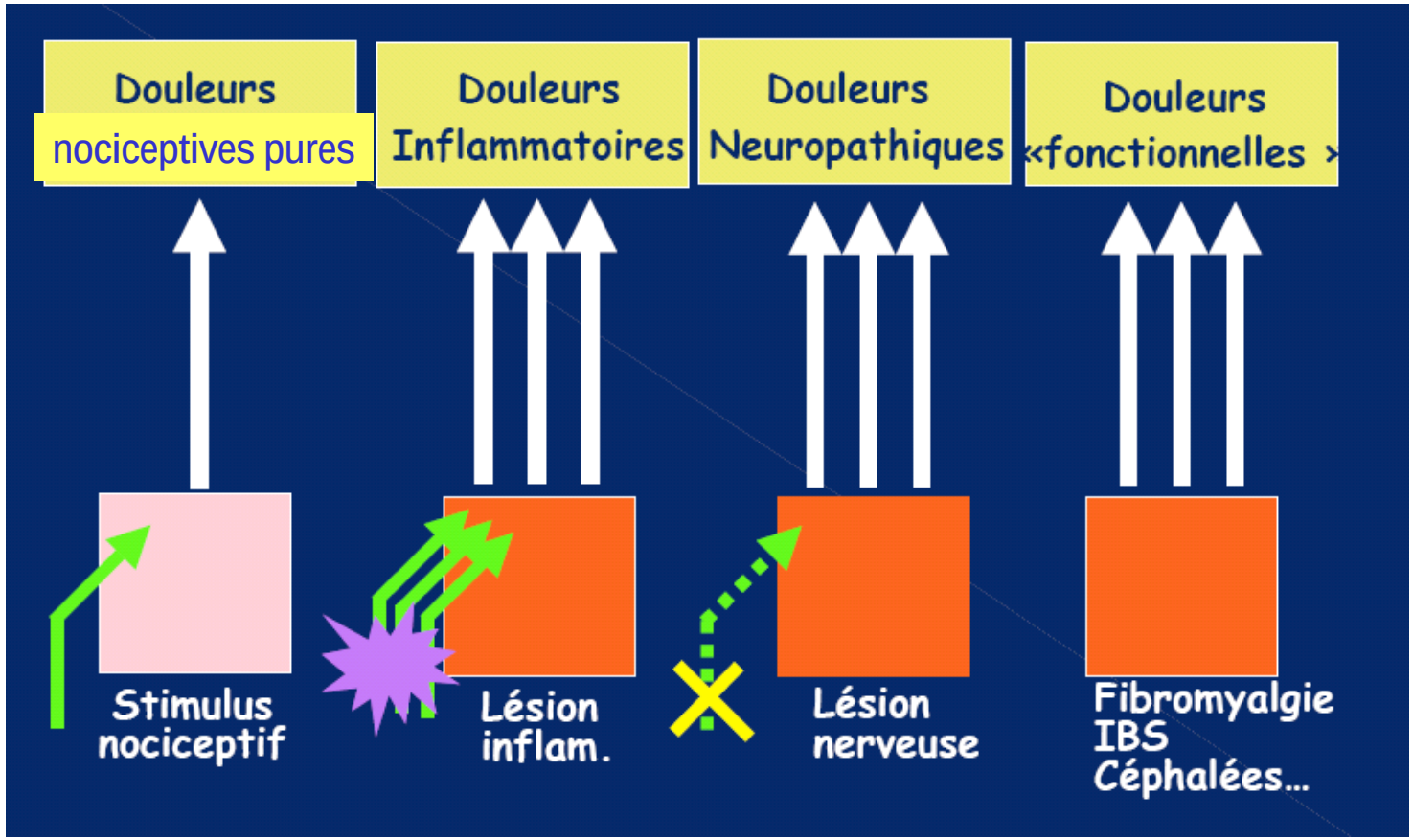
Les seuils de douleur

Intensité à laquelle un stimulus devient douloureux

Différents selon région du corps, moment, attention, sexe, âge...

Valeurs moyennes	mécanique	4 kg/cm^2
	chaud	42°C
	froid	10°C





Douleur aiguë =
douleur « physiologique »
Signal d'alarme

Clinique: moins de 3 mois

Douleur chronique =
douleur pathologique

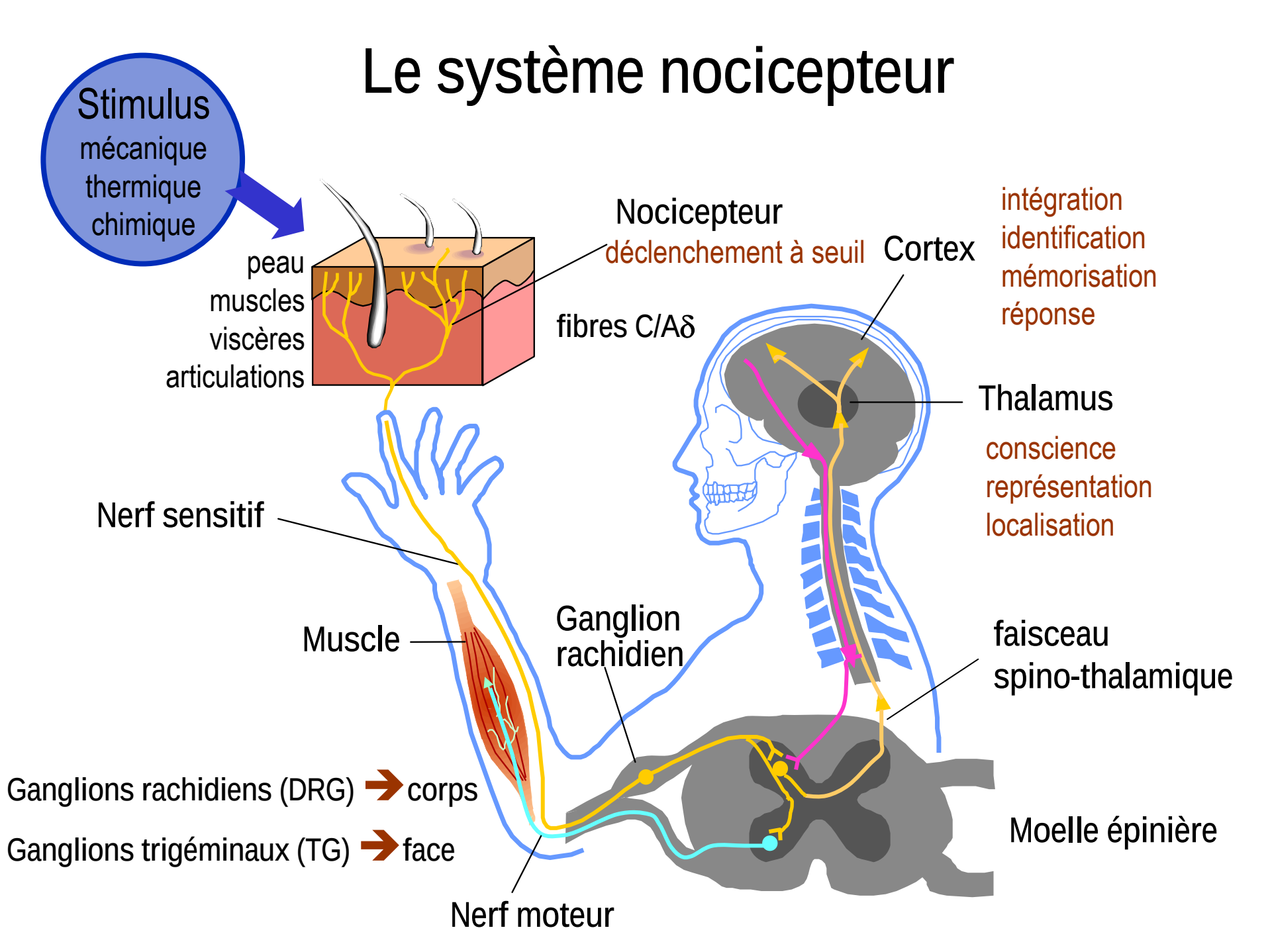
Clinique: plus de 3 mois

D'après N. Attal, 2006

Le système nocicepteur

Bases anatomiques

Le système nocicepteur



Les differents types de fibres afférentes

Fibres sensorielles primaires



fibres Aβ

Gros diamètre
Myélinisées
rapide
Proprioception, sensibilité tactile non nociceptive



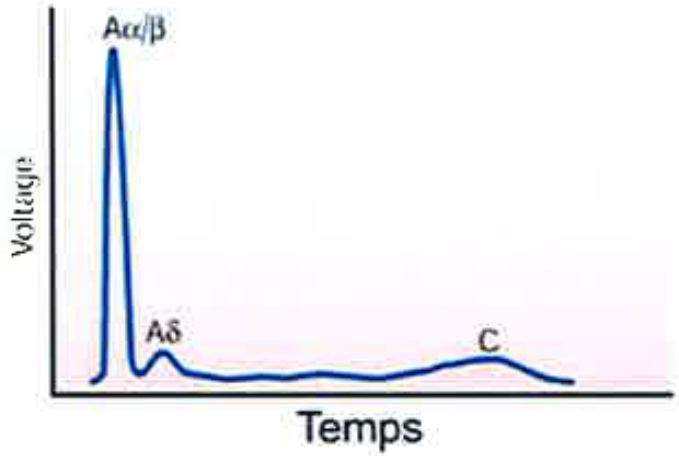
fibres Aδ

rapide
Moyen diamètre
Faiblement myélinisées
Nociception (mécanique, thermique, chimique)



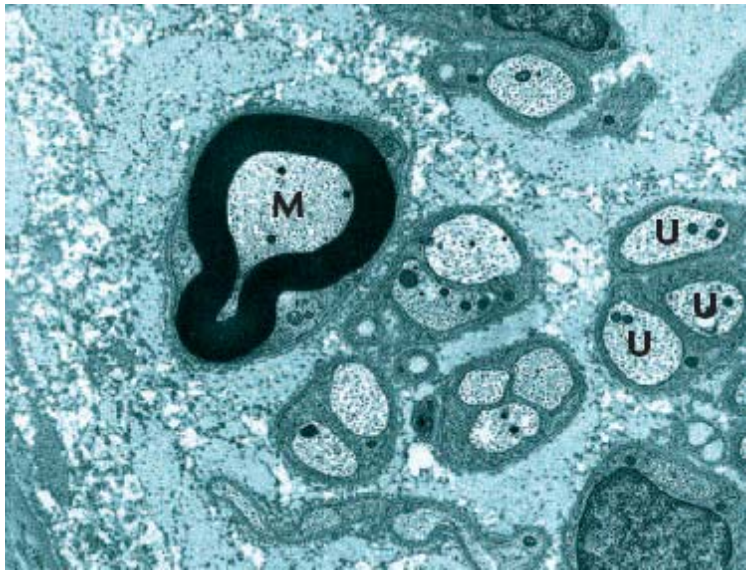
fibres C

lente
(<2m/s)
Faible diamètre
Non myélinisées
Température non nociceptive
Démangeaisons
Caresses
Nociception (mécanique, thermique, chimique)

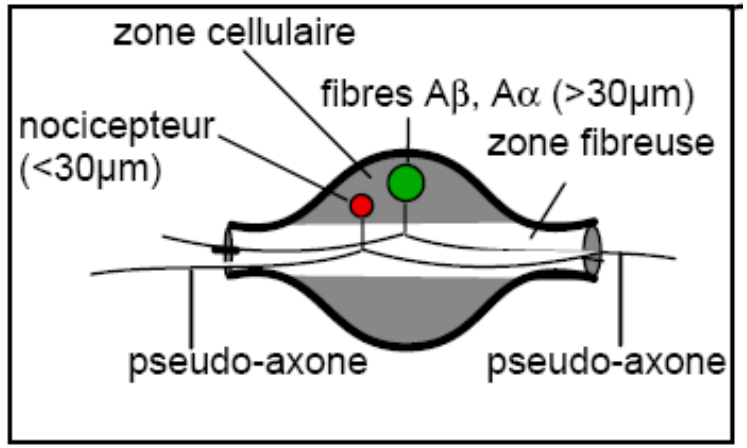




D'après Julius et Basbaum, 2001

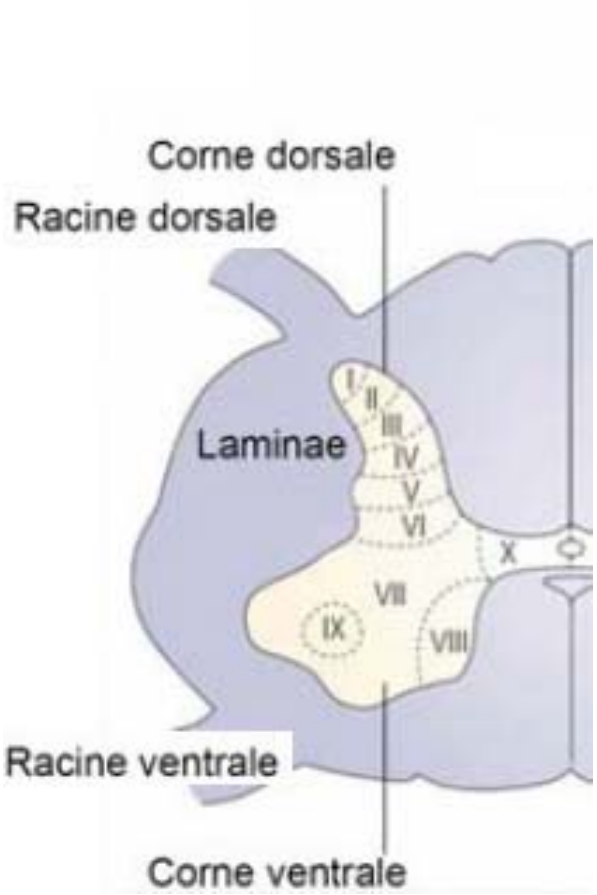


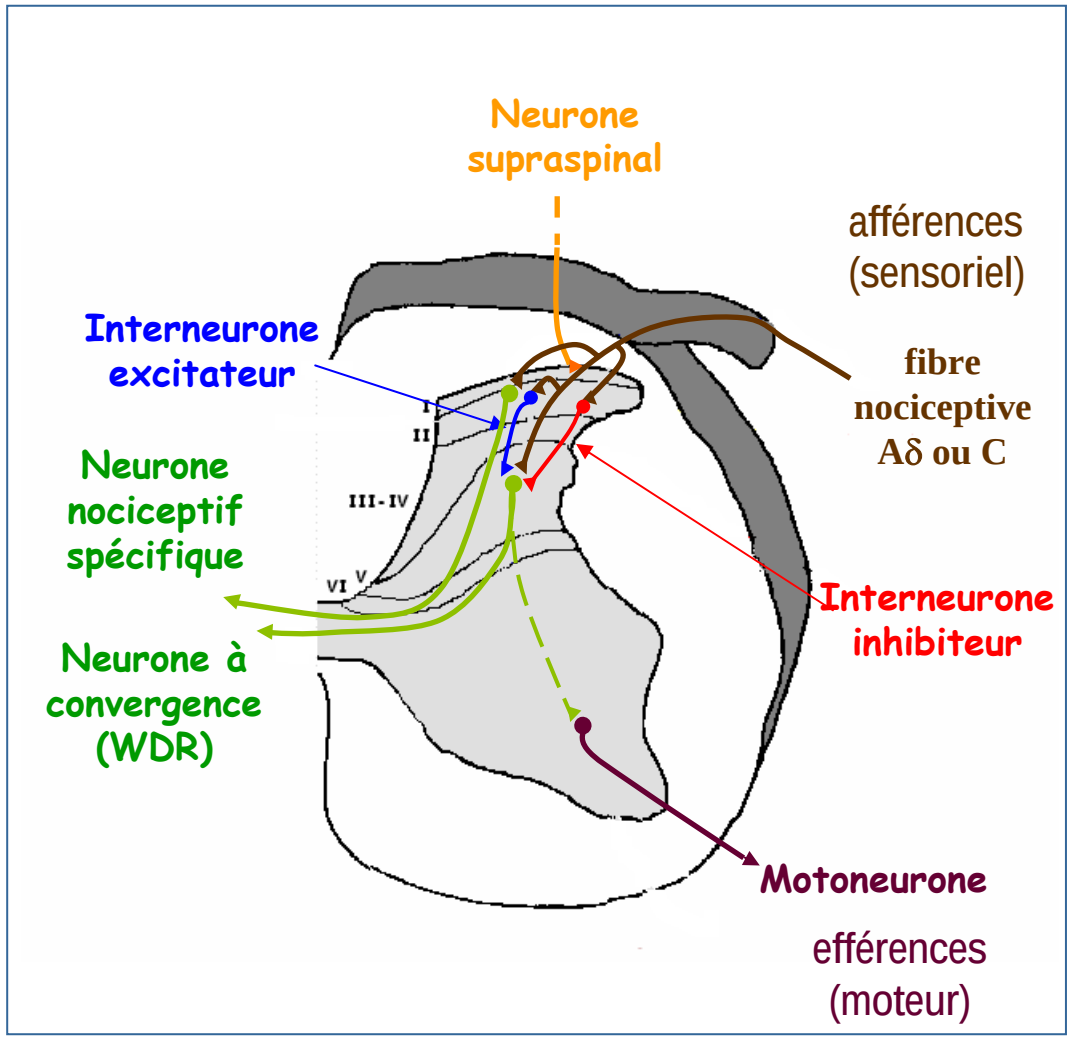
Coupe d'un nerf sensitif



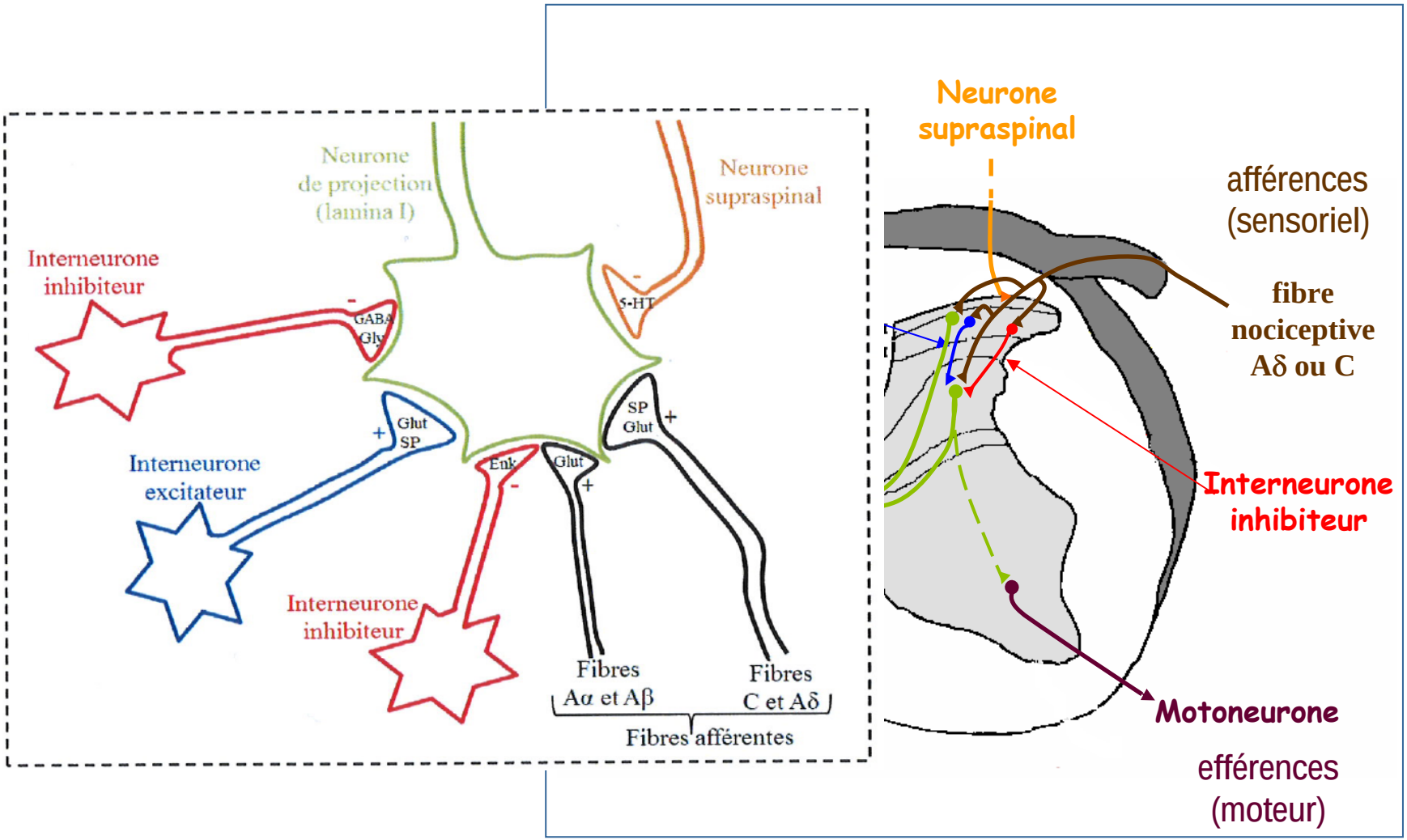
Coupe d'un ganglion rachidien (DRG)

Projections centrales des fibres cutanées: Le réseau spinal

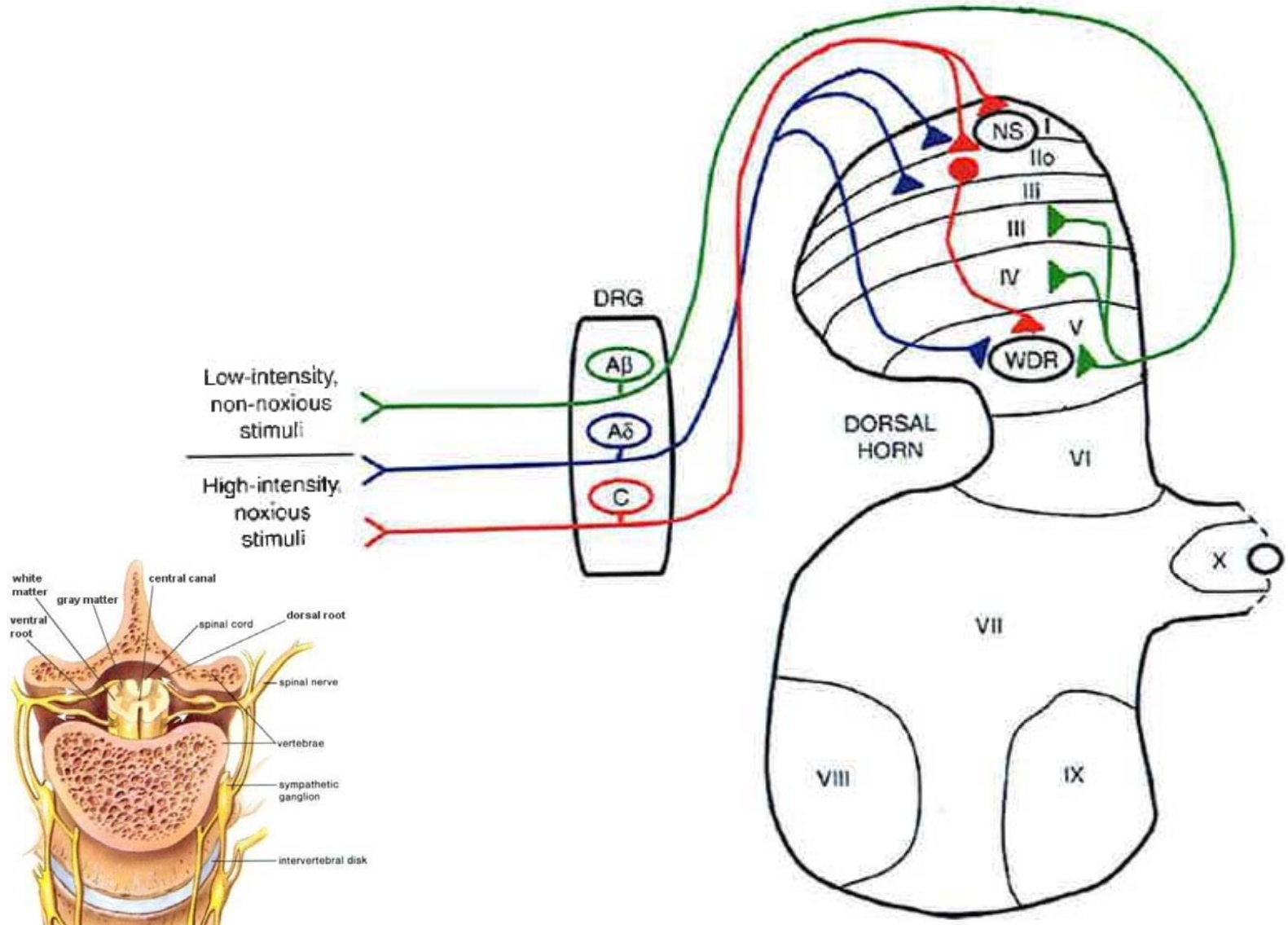




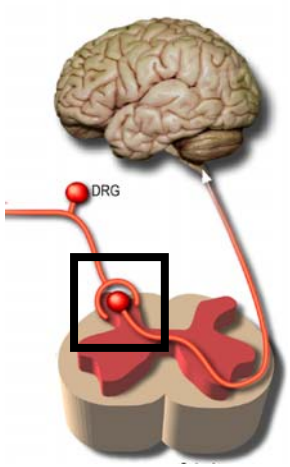
Projections centrales des fibres cutanées: Le réseau spinal

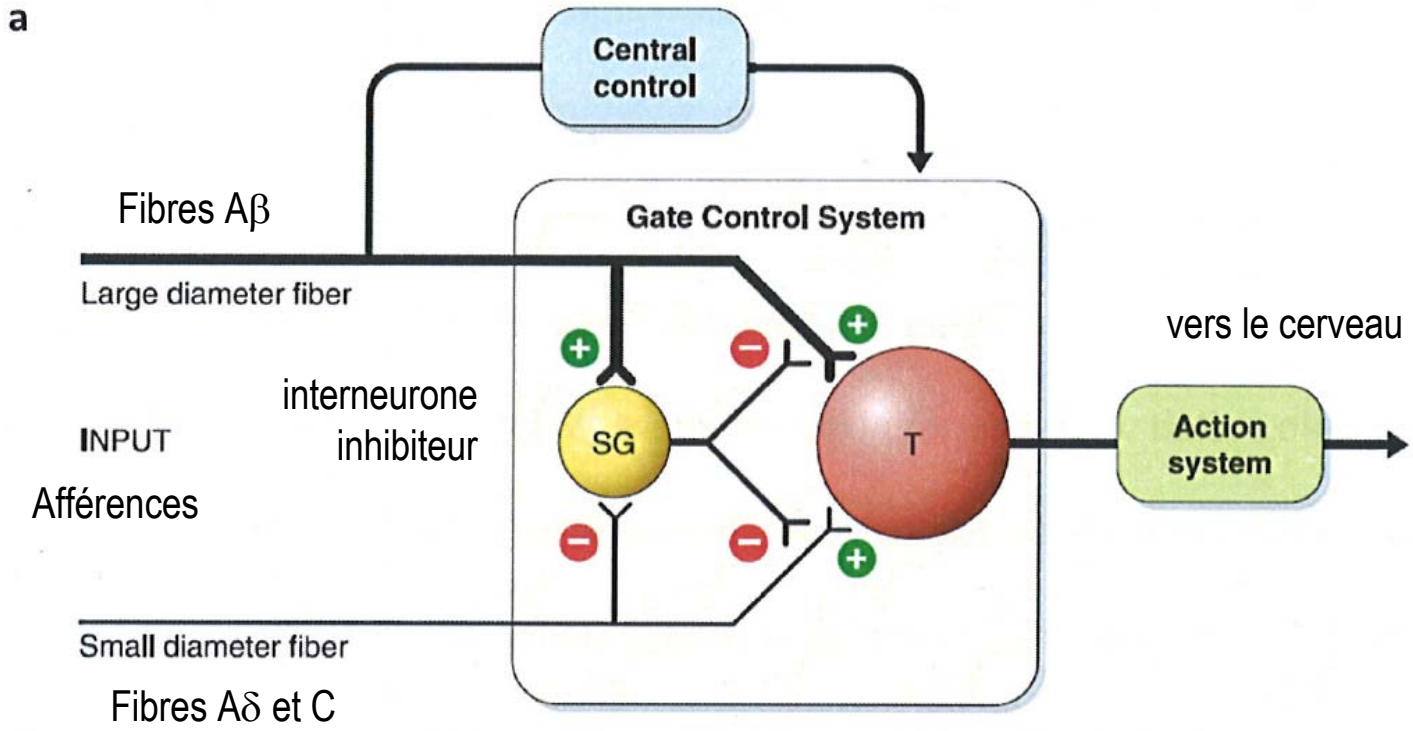


Principaux sites de projection des fibres afférentes primaires dans la corne dorsale de la moelle épinière



Transmission et “gate control” dans la corne dorsale de la moelle épinière

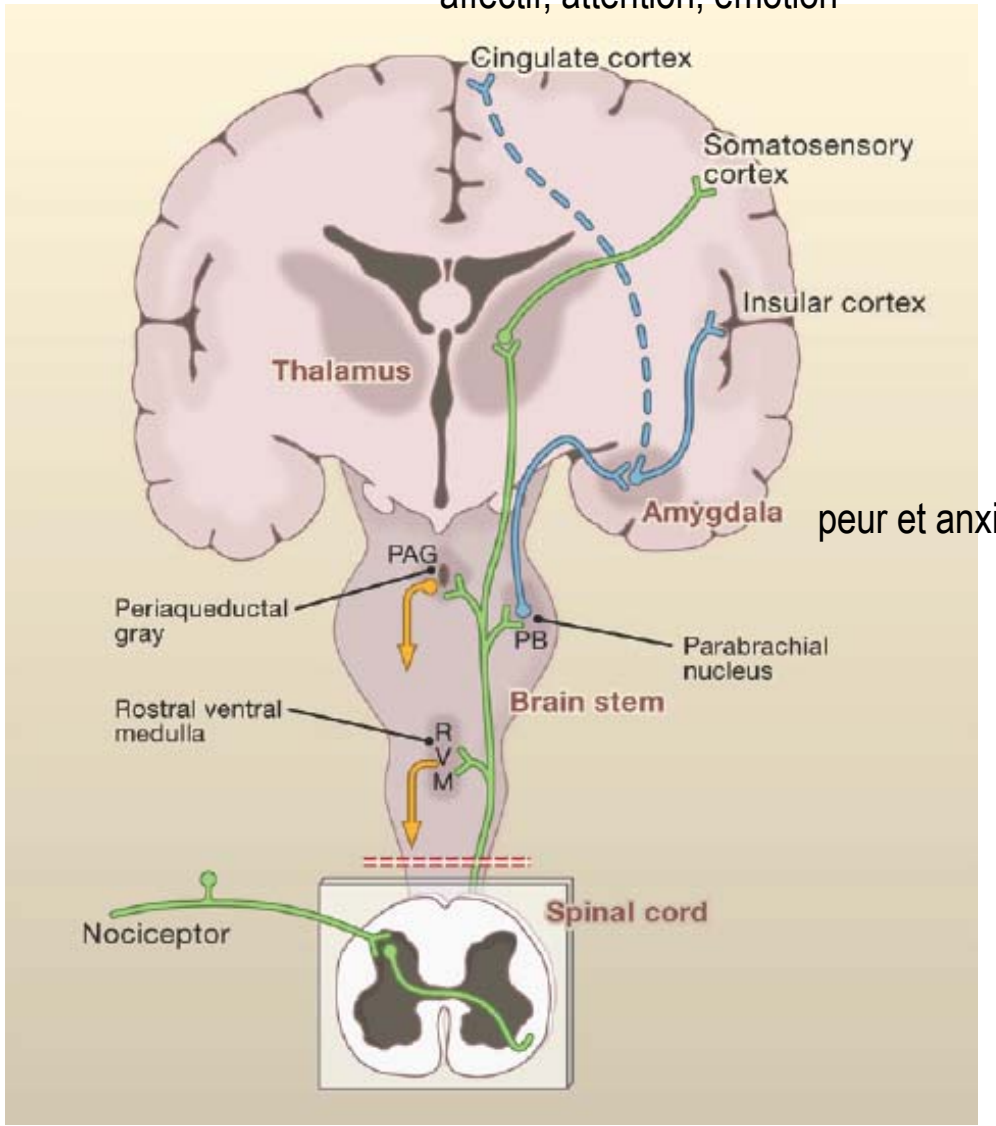




D’après Melzack et Wall., 1965

Les centres supra-spinaux de la nociception:
Les voies ascendantes et descendantes de la douleur

cortex cingulé antérieur
affectif, attention, émotion



Cortex somatosensoriel
localisation, intensité…

cortex insulaire (insula)
composante affective

peur et anxiété

substance grise périaqueducale

D'après Basbaum et al., 2009

Les acteurs de la nociception

Quatre composantes de la sensation de douleur

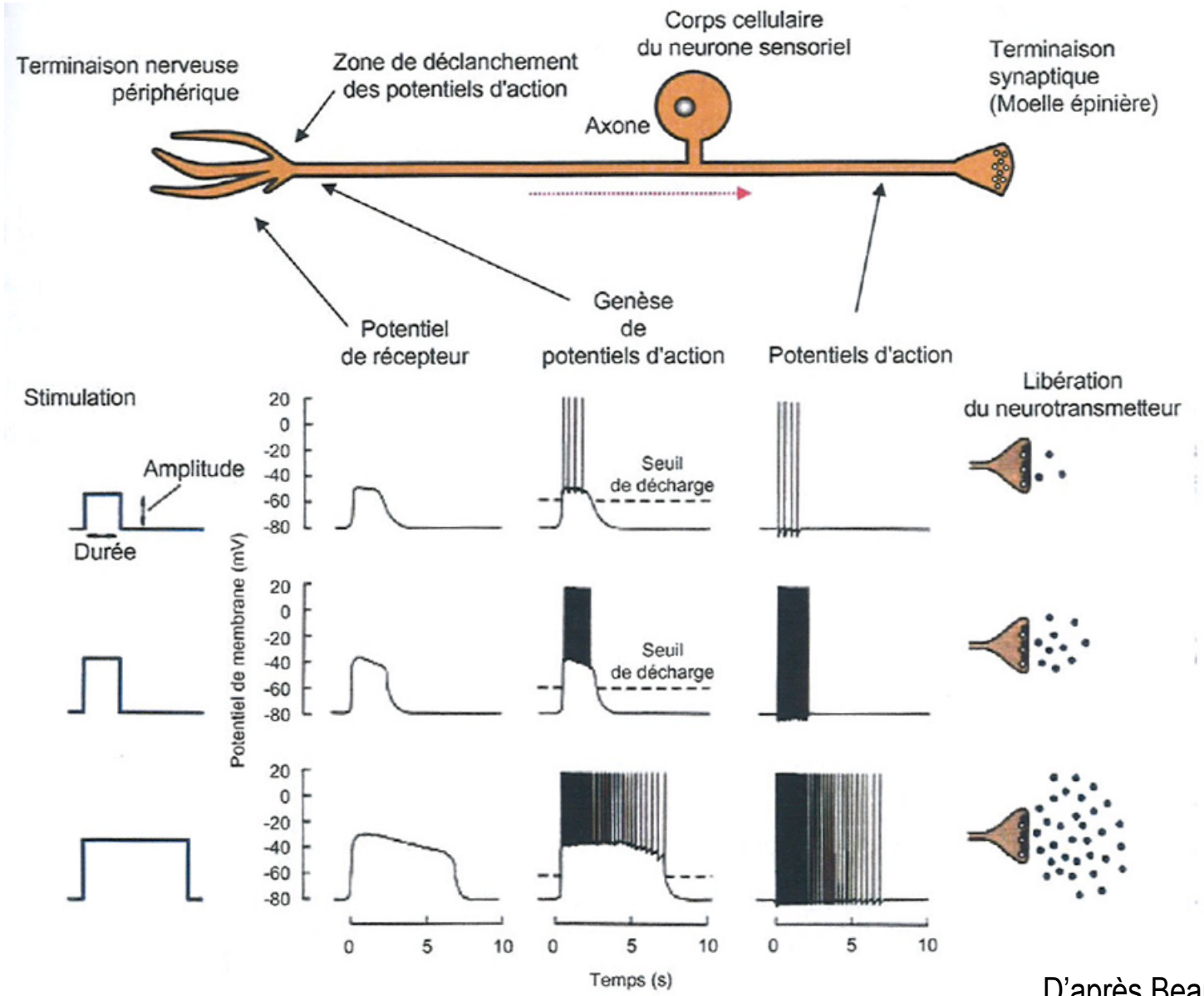
Transduction activation de la terminaison périphérique (thermique, mécanique, chimique)
➡ décharge électrique dans le neurone sensoriel

Transmission transmission du signal dans la moelle épinière

Modulation intégration et relais de l'information par un système (réseau) complexe dans la moelle épinière et le cerveau (voies ascendantes et descendantes)

Perception composante finale, subjective

Transformation d'un stimulus sensoriel en activité électrique par un nocicepteur

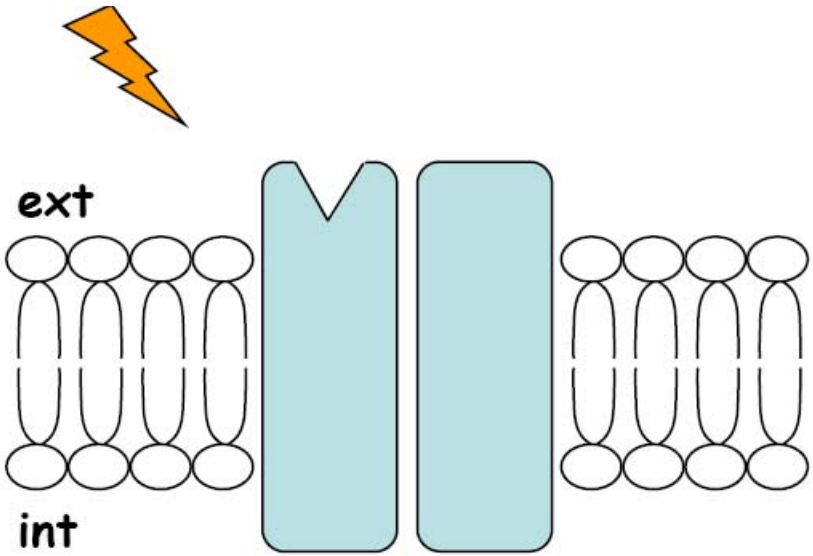


D'après Bear et al., 1997

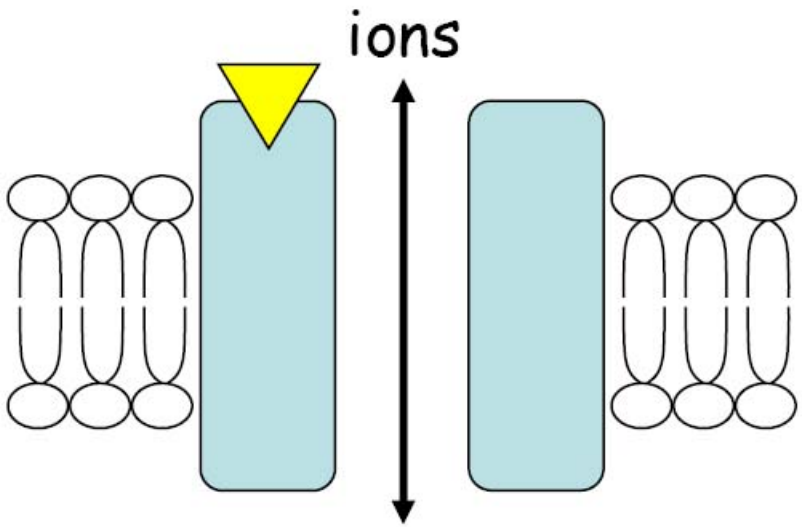
Les canaux ioniques

Les canaux ioniques

activation
(voltage, ligand, temperature,
stimulation mécanique)



sélectivité



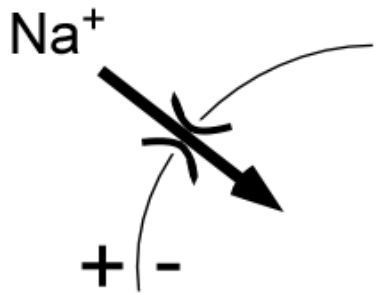
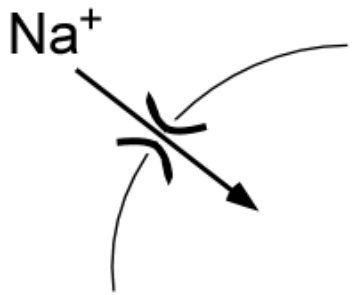
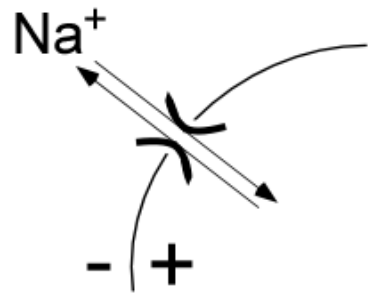
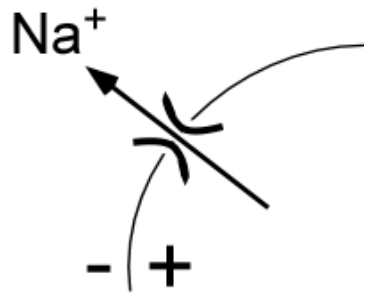
Na^+, K^+, Ca^{2+}, Cl^-

Fermé

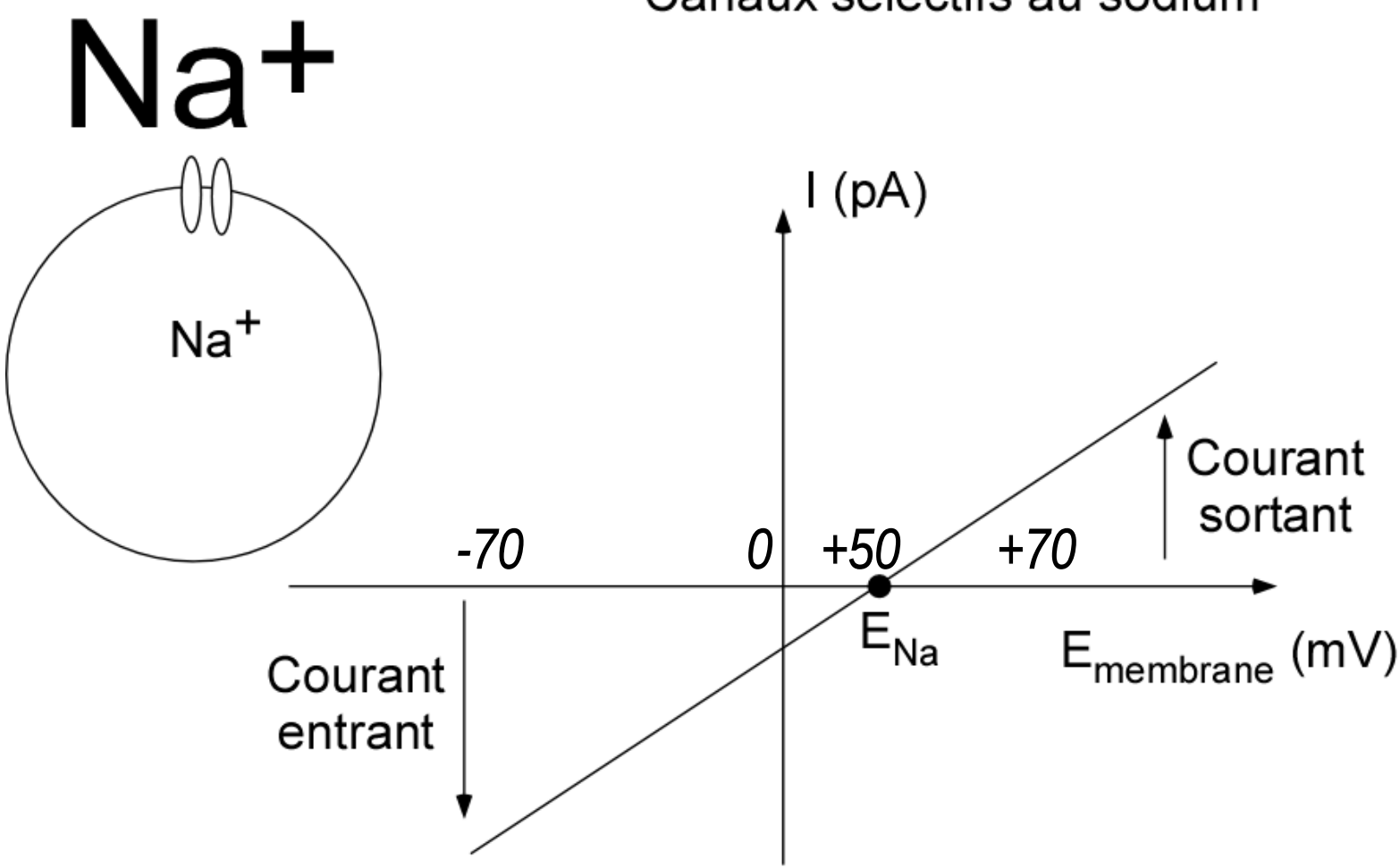
conductance
probabilité d'ouverture
cinétiques

Ouvert

Les gradients ioniques et électriques transmembranaires déterminent la direction des courants (exemple du Na^+)

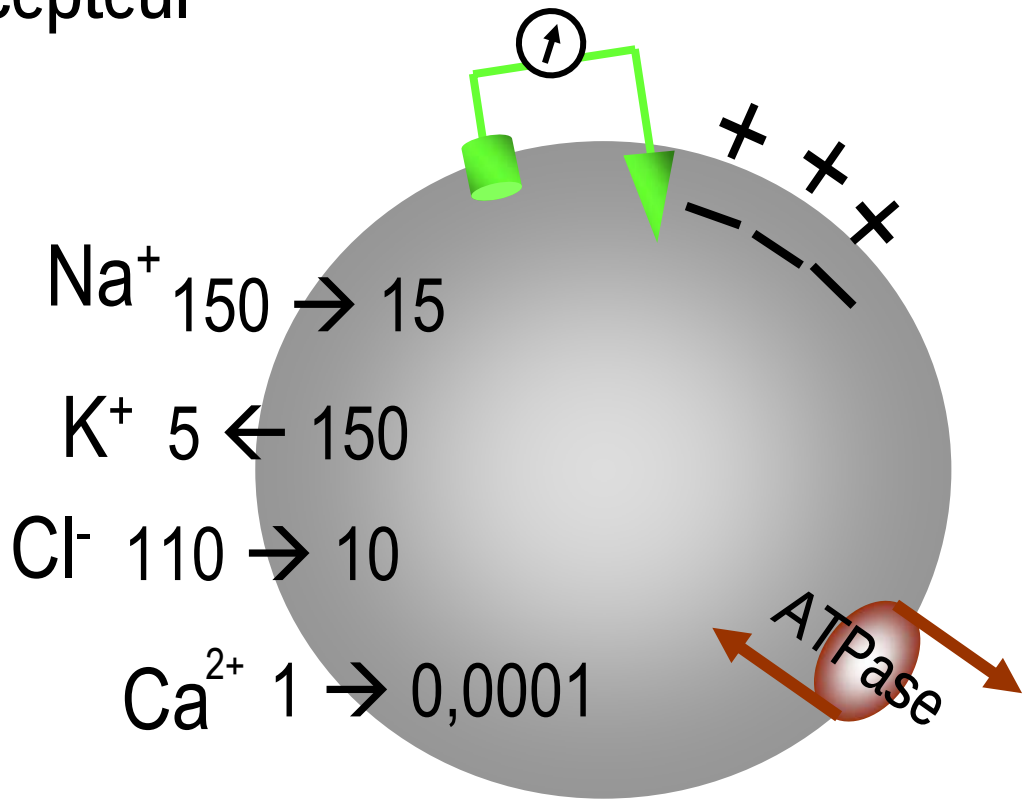
$[Na^+]$ extracellulaire	140 mM	140 mM	140 mM	140 mM
				
$[Na^+]$ intracellulaire	12 mM	12 mM	12 mM	12 mM
potentiel de membrane	- 70 mV	0 mV	+50 mV	+70 mV

Canaux sélectifs au sodium



Activité des canaux ioniques et conséquences sur le nocicepteur

Le gradient électrochimique

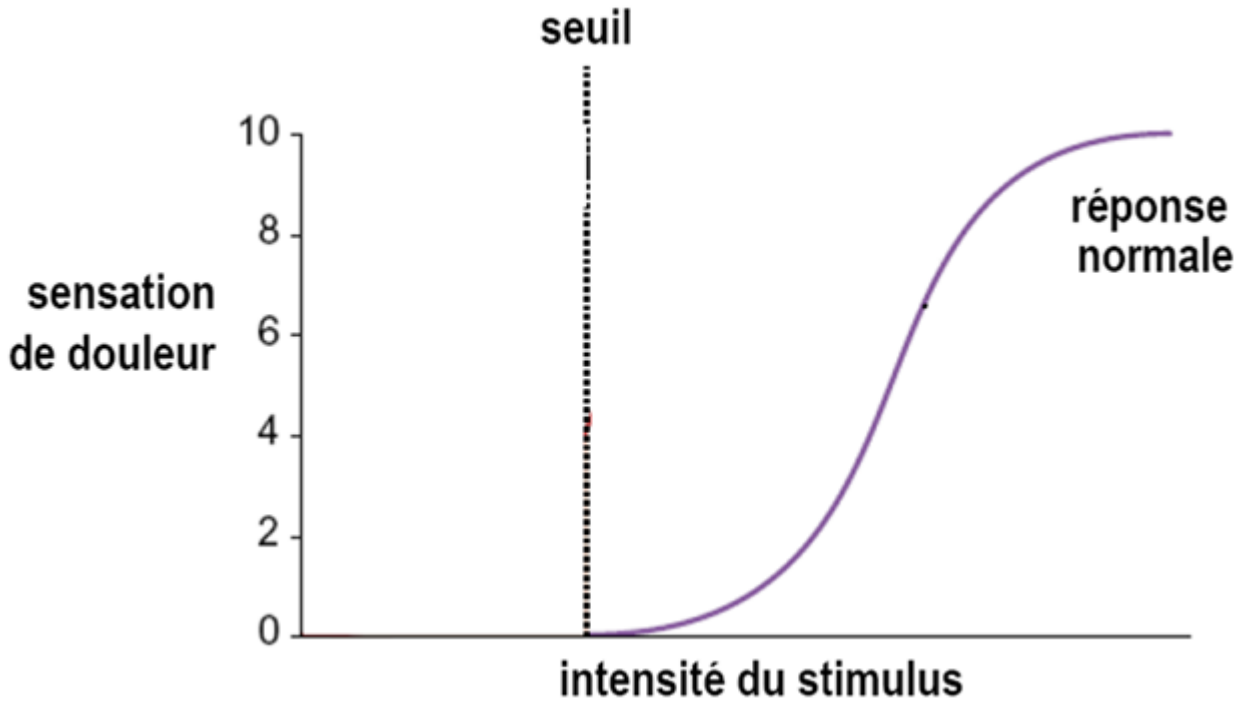


ouverture canal K^+ ou Cl^-
➔ hyperpolarisation

ouverture canal Na^+ ou Ca^{2+}
➔ dépolarisation
➔ seuil excitation ➔ potentiel d'action ➔ signal

➔ ddp membranaire (Em) à -70mV

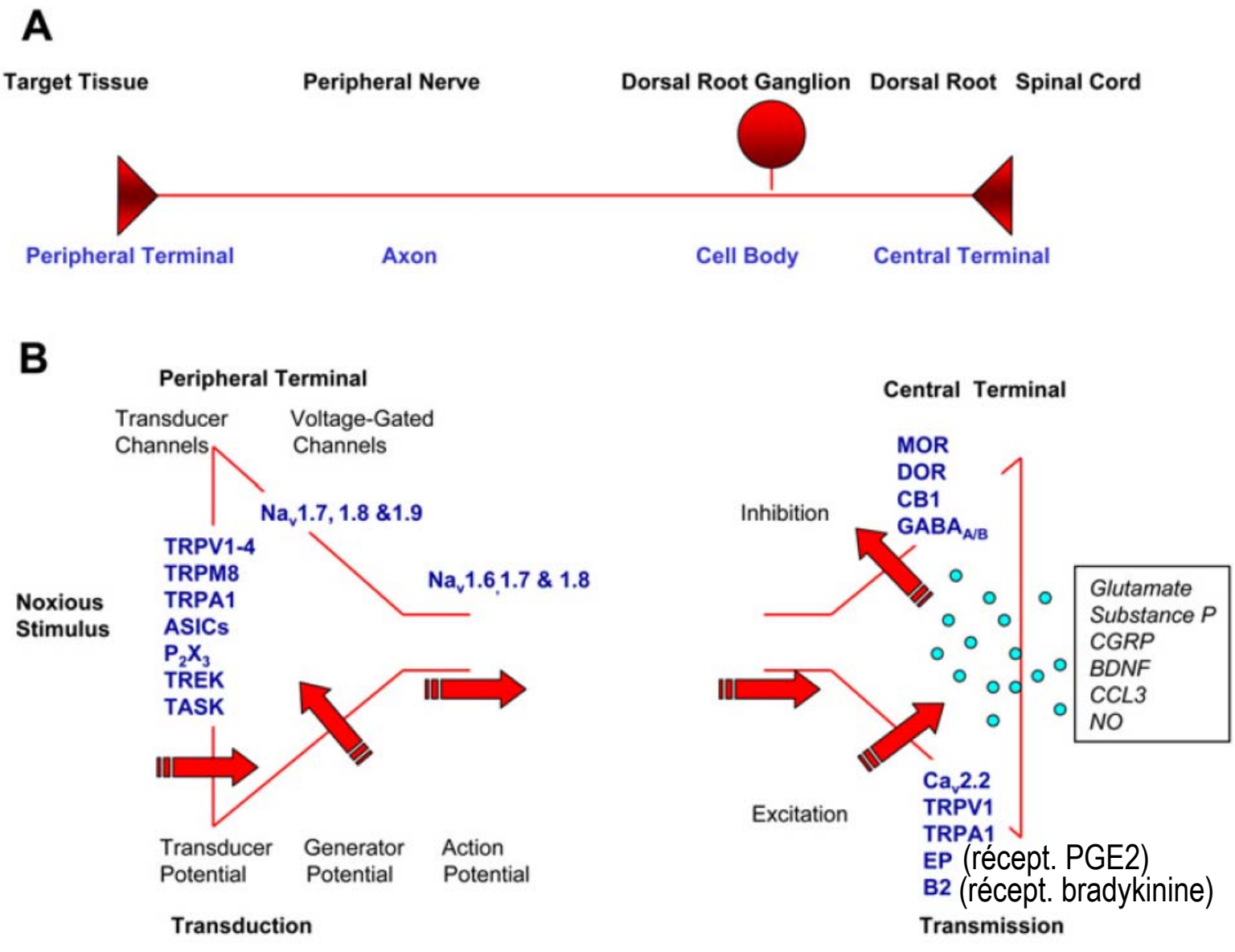
Les nocicepteurs possèdent des propriétés biophysiques et moléculaires uniques



Les nocicepteurs possèdent des propriétés biophysiques et moléculaires qui leurs permettent de détecter de façon sélective et de réagir à des stimuli potentiellement préjudiciables.

Les acteurs moléculaires de la nociception périphérique

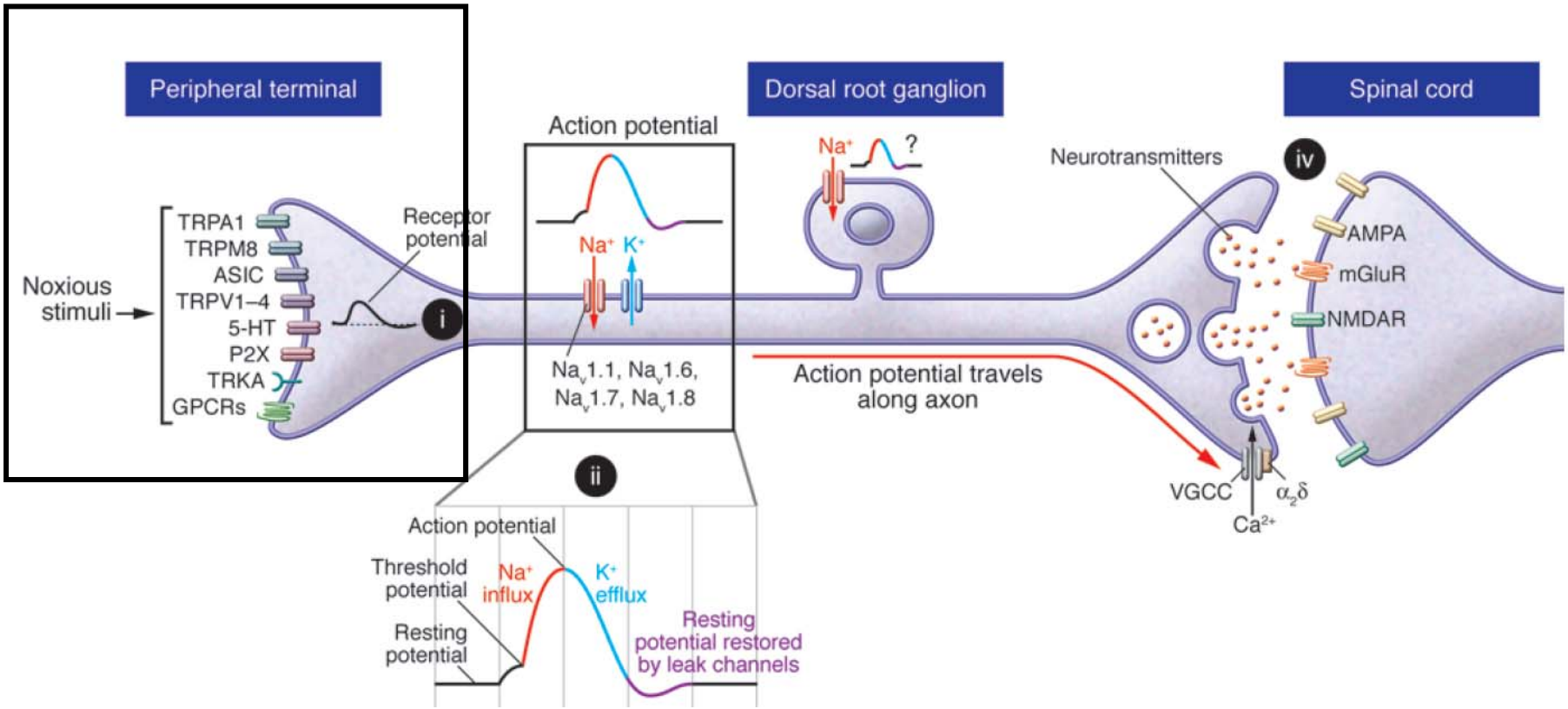




D'après Woolf, 2007

La transduction

Transduction périphérique



D'après Raouf et al, 2010

Stimuli mécaniques:

Stimulus externe (coup, coupure) ou interne (contraction, oedème, tumeur)

Différente de la perception tactile (haut seuil)

Stimuli chimiques:

Stimulus externe : rare; piqûre (venin), irritants

Stimulus endogène : composés libérés par cellules lésées, immunitaires au cours de l'inflammation ...

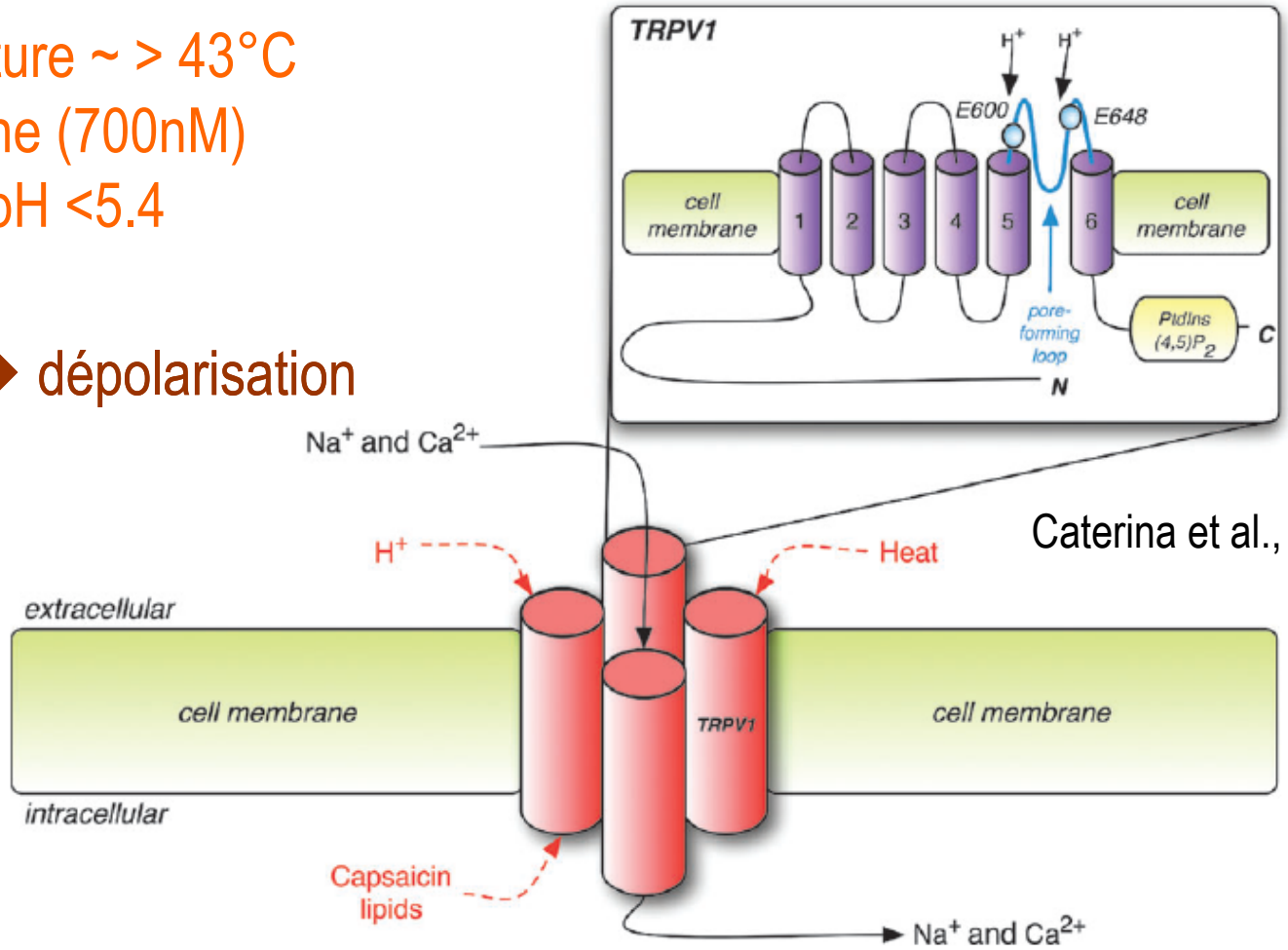
- petites molécules *(protons, ATP, sérotonine, NO ...)*
- facteurs de croissance *(NGF, BDNF ...)*
- cytokines *(IL-1, IL-6 ...)*, chémokines (CCL2…)
- neuropeptides *(substance P, CGRP ...)*
- médiateurs pro-inflammatoires *(histamine, bradykinine, PGE_2, PGI_2 ...)*

Transduction chimique et thermique: Le récepteur aux vanilloïdes TRPV1

(transient receptor potential vanilloid 1)

temperature ~ > 43°C
capsaicine (700nM)
protons pH <5.4
lipides

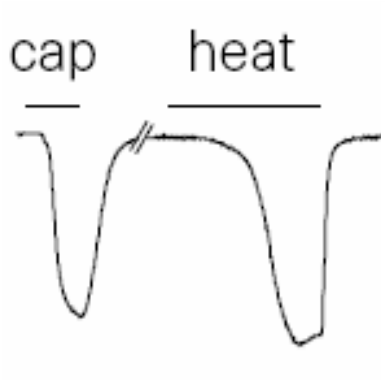
ouverture ➔ dépolarisation

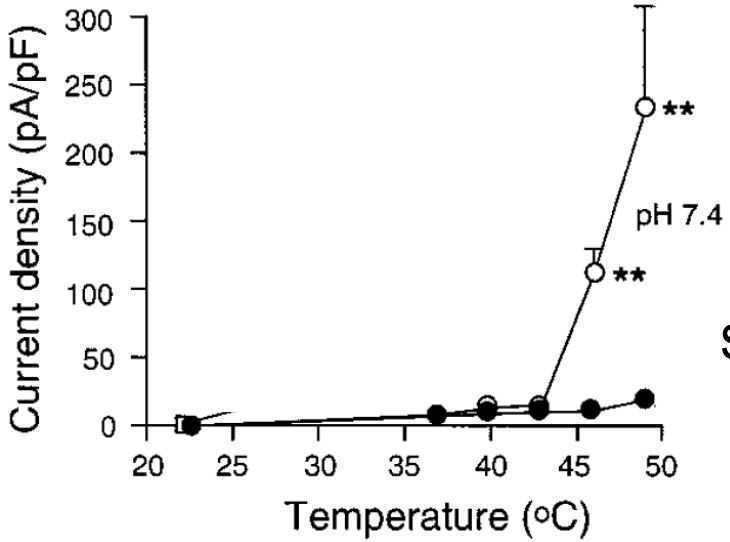


Caterina et al., Nature 1997

appartient à la famille des canaux TRP (transient receptor potential ion channels)

TRPV1 est activé par la capsaïcine et la chaleur



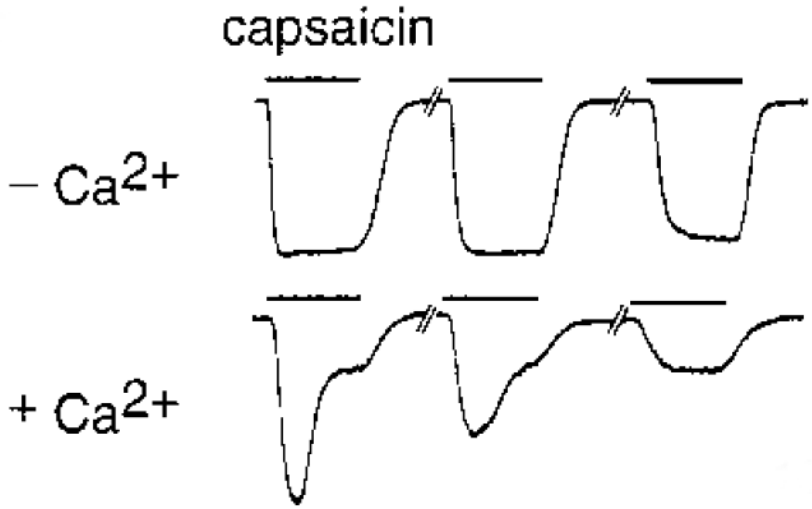


seuil ~ 43°C

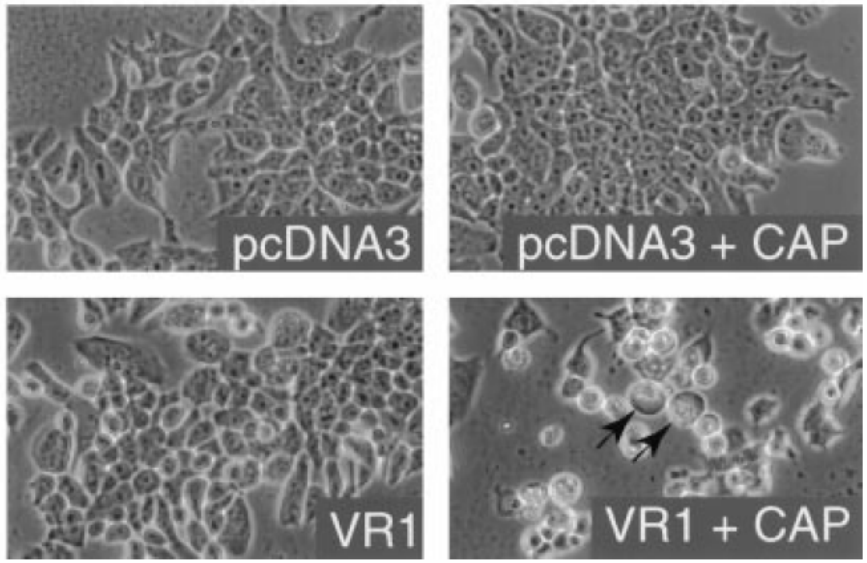
temperature ~ > 43°C
capsaicine (700nM)
protons pH <5.4
Lipides (anandamide, 12-HPETE…)

Expliquer les effets analgésiques de la capsaïcine?

➔ TRPV1 desensibilise en presence de Ca^{2+}



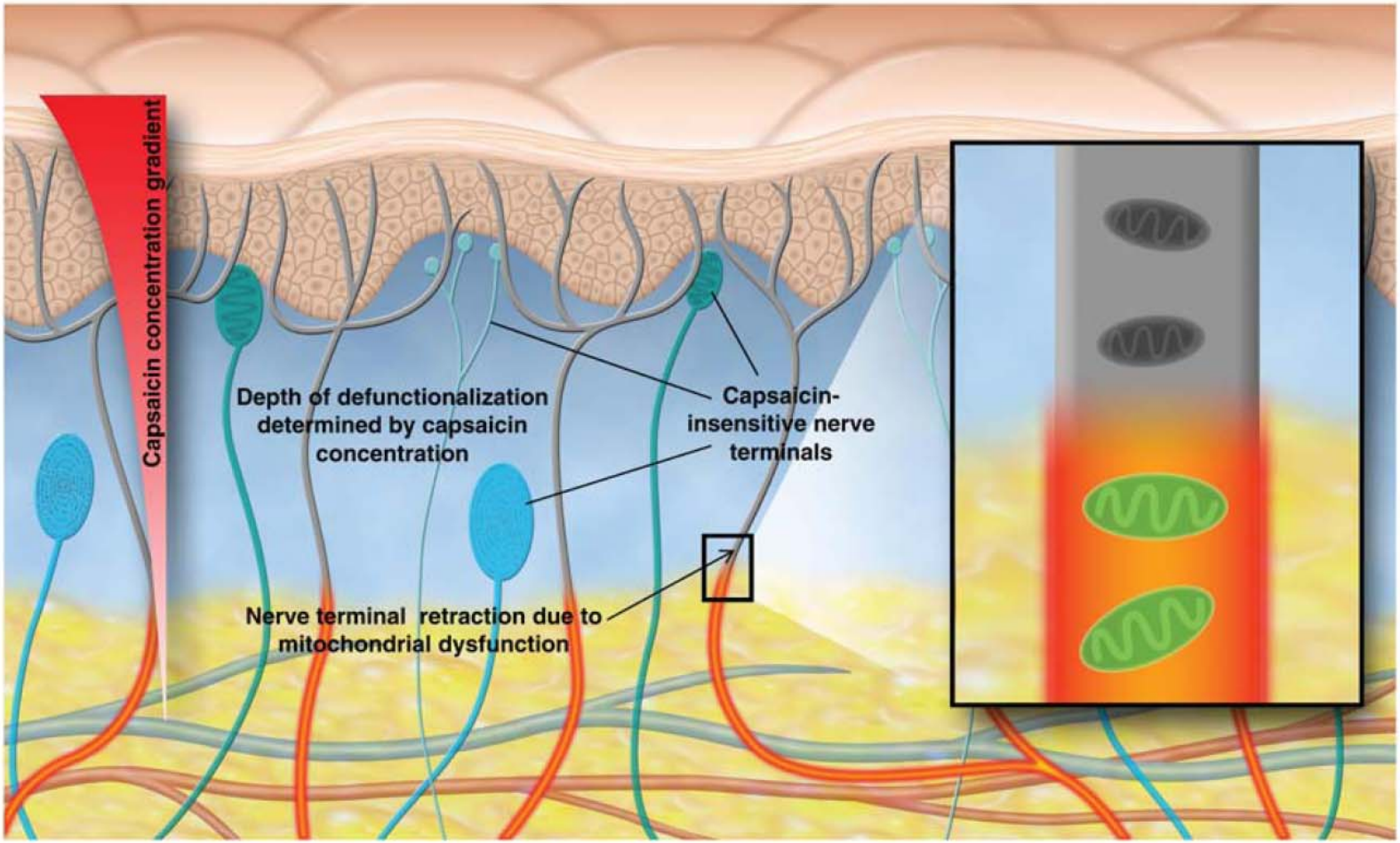
➔ La capsaïcine induit la mort des cellules qui expriment TRPV1.



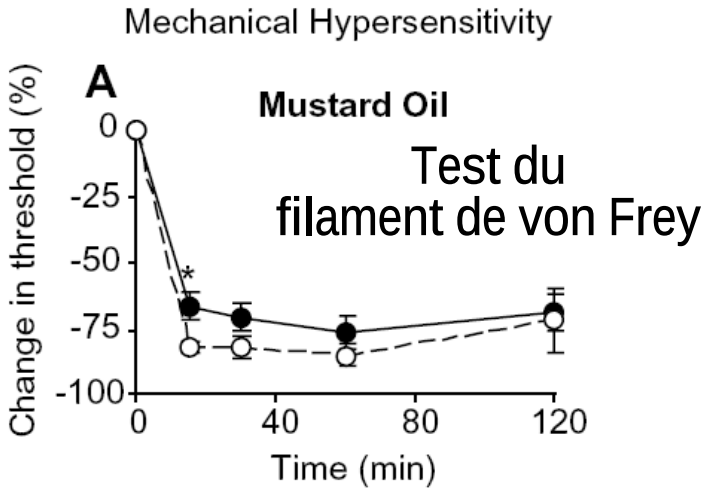
cellules HEK293 transfectées

Expliquer les effets analgésiques de la capsaïcine…

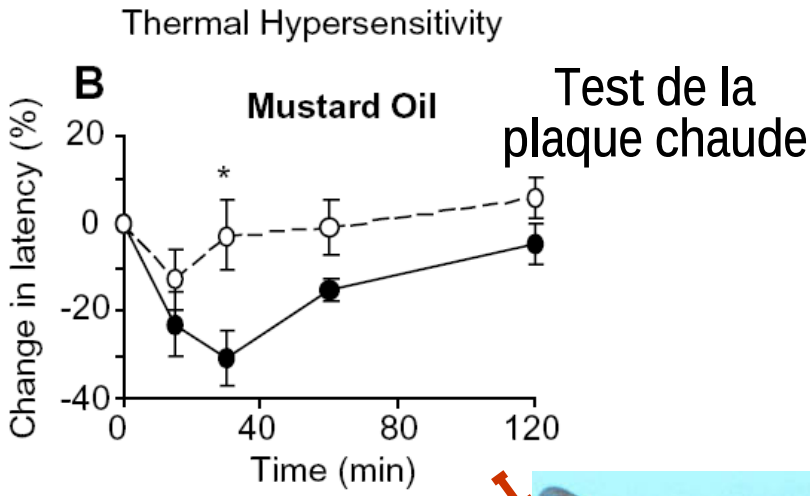
➔ Des patch de capsaïcine dans les douleurs neuropathiques périphériques



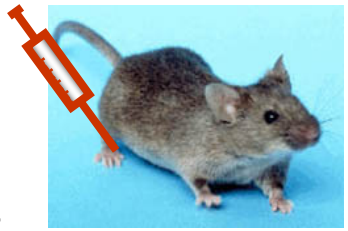
Invalidation du gène TRPV1 chez la souris

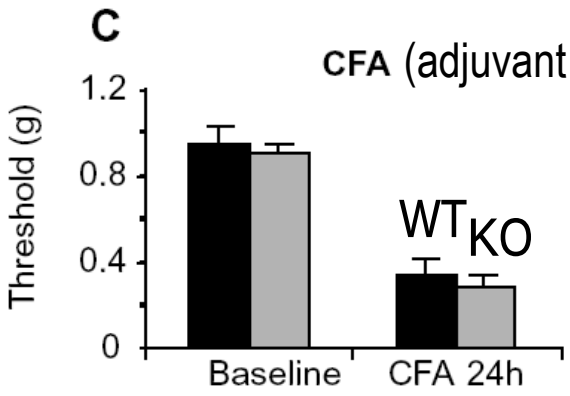


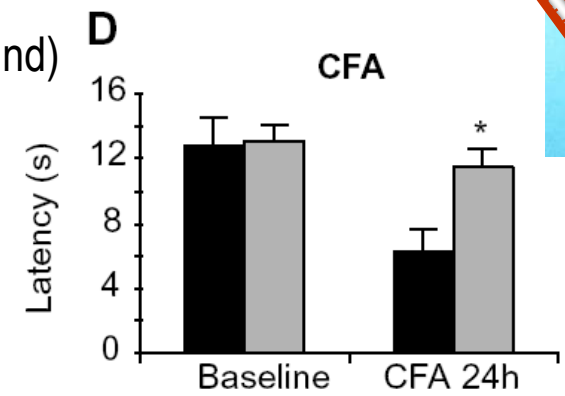
Test du filament de von Frey



Test de la plaque chaude



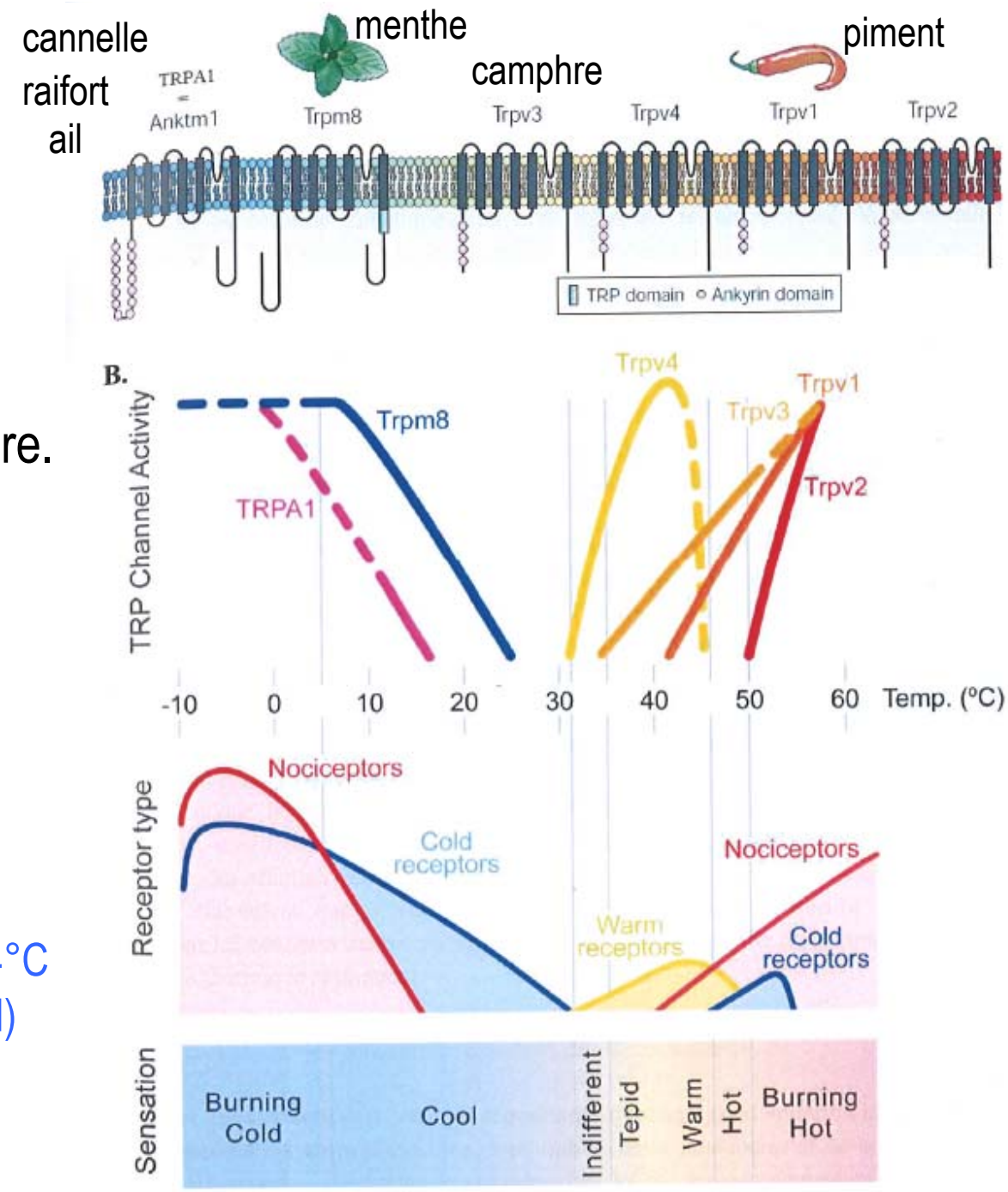




➔ TRPV1 est nécessaire au developpement de l'hyperalgésie thérmique (mais pas mécanique) associée à une inflammation.

Thermo TRP

TRPA1, TRPM8,
TRPV4, TRPV3
et TRPV2 sont
sensibles à la température.



TRPM8
temperature 8-24°C
menthol (70μM)

Fonction des canaux “thermoTRP” et relation avec la douleur

Channel	Thermal threshold	Function and phenotype
TRPV1	≥43°C capsaicin, pH, lipids	Involved in noxious heat detection and mediates thermal hyperalgesia under inflammatory conditions
TRPA1	≤17°C reactive chemicals intra. alkalization	sensitivity to environmental irritants, mechanical stress; inflammatory and neuropathic pain
TRPV2	≥53°C	Responds to noxious heat in heterologous systems; upregulated during inflammation
TRPV3	≥33°C camphor	Involved in warm and noxious heat detection
TRPV4	≥25°C hypotonicity endogenous lipids	osmosensor, mechanical stress?
TRPM8	≤23°C menthol	Role in the detection of innocuous and noxious cold sensations

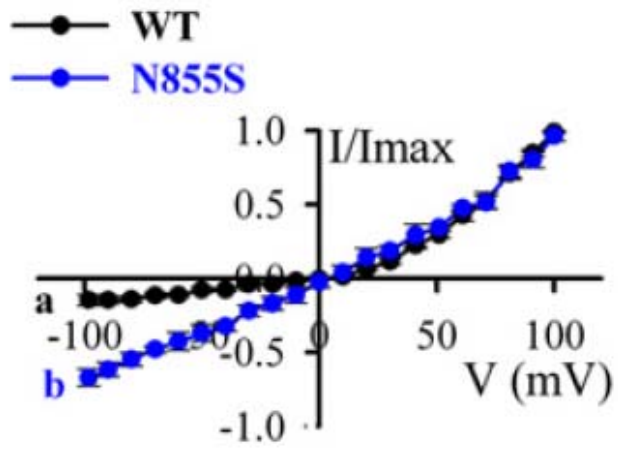
TRPA1, transient receptor potential subfamily ankyrin, member 1; TRPM8, TRP subfamily melastatin, member 8; TRPV1,2,3,4, TRP subfamily vanilloid, member 1,2,3 or 4.

d’après Szallasi et al., *Nat Rev Drug Discov* 2007

Canalopathies de la douleur

TRPA1 (récepteur au froid intense et à certains agents irritants)

Mutations gain-de-fonction = syndrome douloureux épisodique familial (FEPS; autosomique dominante)

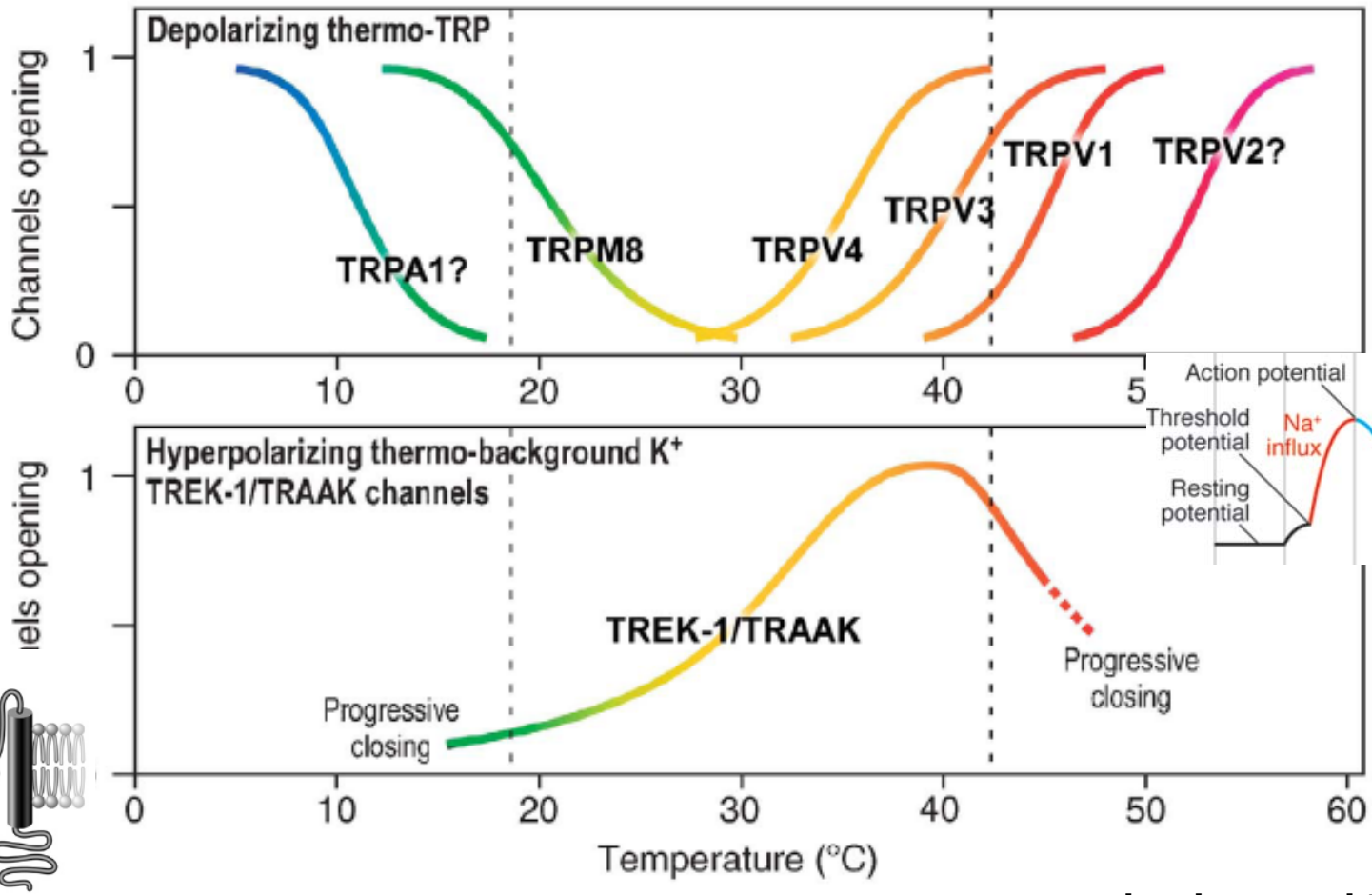


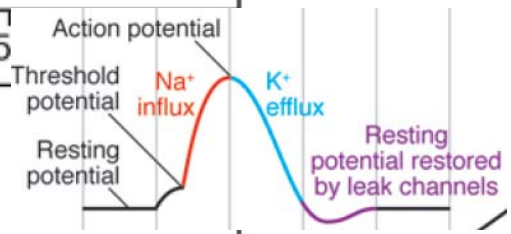
Kremeyer et al., *Neuron* 2010

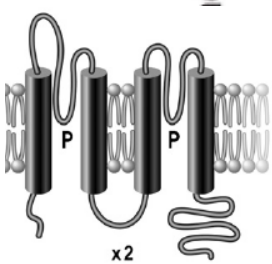
Courant activé par le froid ou des stimuli chimiques 5 fois augmenté au potentiel de repos

Un exemple de fonctionnement concerté des canaux ioniques: TRP et canaux potassium K2P dans la nociception thermique

noxious cold *noxious heat*







ouverture ➔ hyperpolarisation

background K^+ channels

D'après Noël et al, 2009

Nouveaux modulateurs de TRPV1

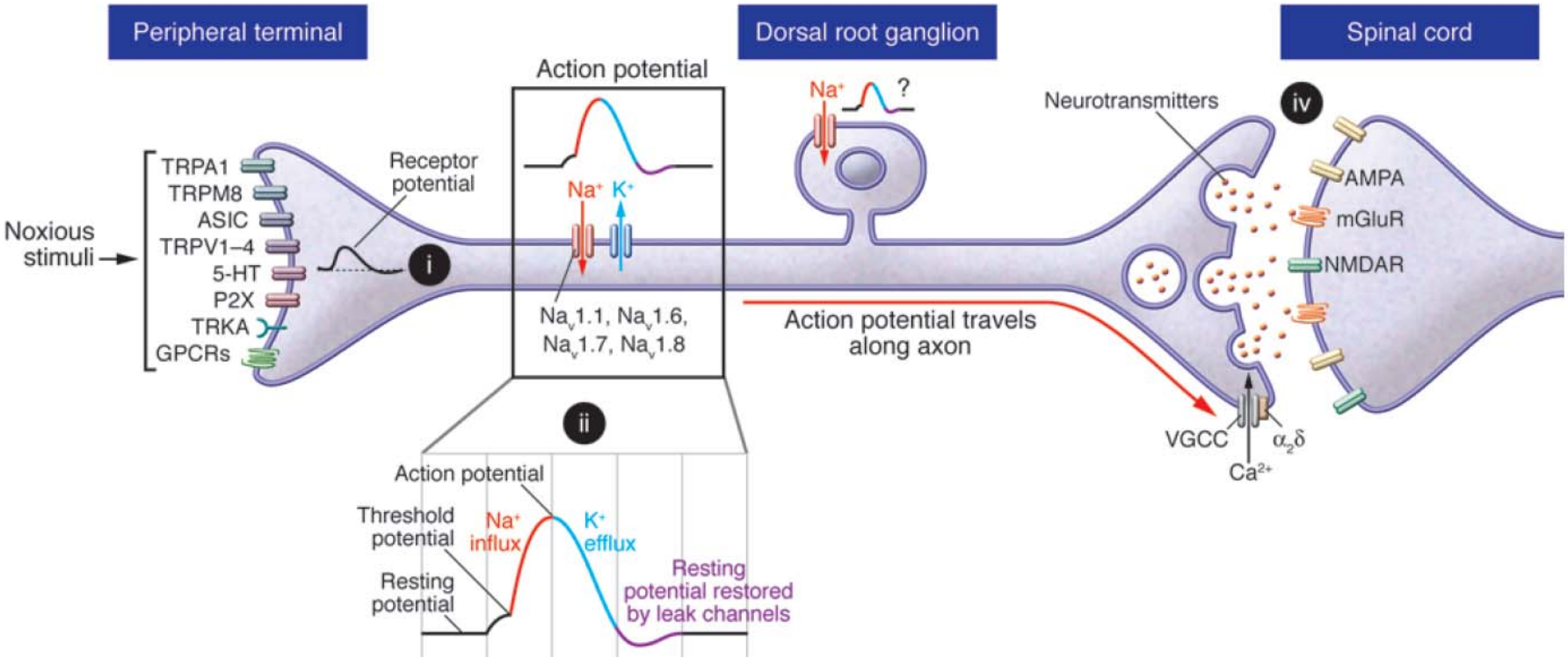
Therapy name	Compound	Company	Action	Route(s)	Indication(s)	Clinical stage
Transacin	Capsaicin	NeurogesX	Agonist	Transdermal patch	HIV neuropathy-associated pain	Phase III
WL-1001 WL-1002	Civamide (cis-capsaicin)	Winston Laboratories	Agonist	Intranasal, topical	Cluster headache, migraine, osteoarthritis pain	Phase III (headache, osteoarthritis) Phase II (migraine)
ALGRX4975	Capsaicin	Anesiva	Agonist	Injection	Pain	Phase II
SB-705498	SB-705498	GlaxoSmith-Kline	Antagonist	Oral	Migraine, dental pain	Phase II* (migraine) Phase I (dental pain)
NGD 8243	NGD 8243	Neurogen/ Merck	Antagonist	Oral	Pain	Phase II
AMG 517	AMG 517	Amgen	Antagonist	Oral	Pain	Phase I
GRC 6211	GRC 6211	Glenmark	Antagonist	Oral	Osteoarthritis pain, dental pain, incontinence, neuropathic pain	Phase I

*This compound is no longer listed in the GlaxoSmithKline pipeline for migraine. TRPV1, transient receptor potential vanilloid subfamily, member 1.

From Szallasi et al., NATURE REVIEWS DRUG DISCOVERY 2007

La transmission

Transmission périphérique



D'après Raouf et al, 2010

Les canaux Na^+ dépendants du voltage (Na_V ou VGSC)

Généralités sur les VGSCs

- Parmi les canaux ioniques dépendants du voltage, les VGSCs ont une importance spéciale dans l'histoire de la physiologie.

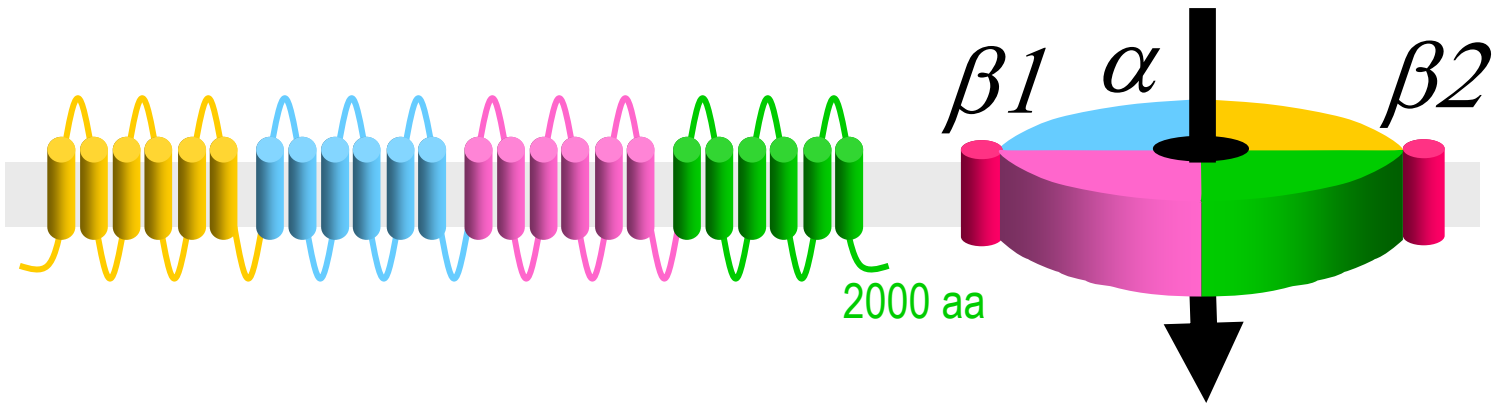
- Découverte de leurs propriétés fondamentales (axone de calmar, Hodgkin & Huxley 1952).

- Premier canal voltage-dépendant cloné (Noda *et al.*, 1984).

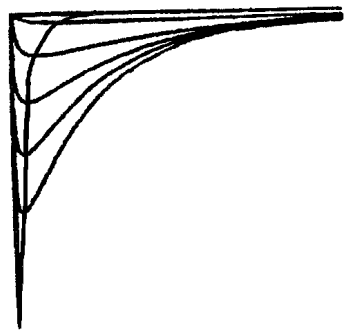
- Importantes cibles thérapeutiques (anesthésiques locaux, anti-arythmiques, anti-convulsivants)

Les canaux Na^+ dépendants du voltage (Na_V)

rôles dépolarisation de la membrane du neurone et propagation du PA



bloqueurs tétrodotoxine
anesthésiques locaux
anti-épileptiques
anti-arythmiques



TTX-S

TTX-R

Anesthésiques locaux (lidocaïne...)

Anti-épileptiques (lamotrigine, carbamazépine >> NaV)

La famille des canaux Na^+ dépendants du voltage

Nomenclature	Distribution	Disease correlations
$Na_v1.1$	Brain, spinal cord	Epilepsy
$Na_v1.2$	Brain, spinal cord, peripheral nerve	Epilepsy
$Na_v1.3$[a]	Brain, spinal cord	Pain
$Na_v1.4$	Skeletal muscle	Movement disorders
$Na_v1.5$	Cardiac muscle, skeletal muscle	Cardiovascular syndromes
$Na_v1.6$	Brain, spinal cord, DRG	Movement disorders, neurological disorders
$Na_v1.7$[a]	DRG, endocrine glands (adrenal & thyroid)	Neuroendocrine disorders, pain
$Na_v1.8$[a]	Peripheral nerves (small sensory neurons, DRG)	Pain
$Na_v1.9$[a]	Spinal cord (sensory axons), DRG	Pain

TTXr

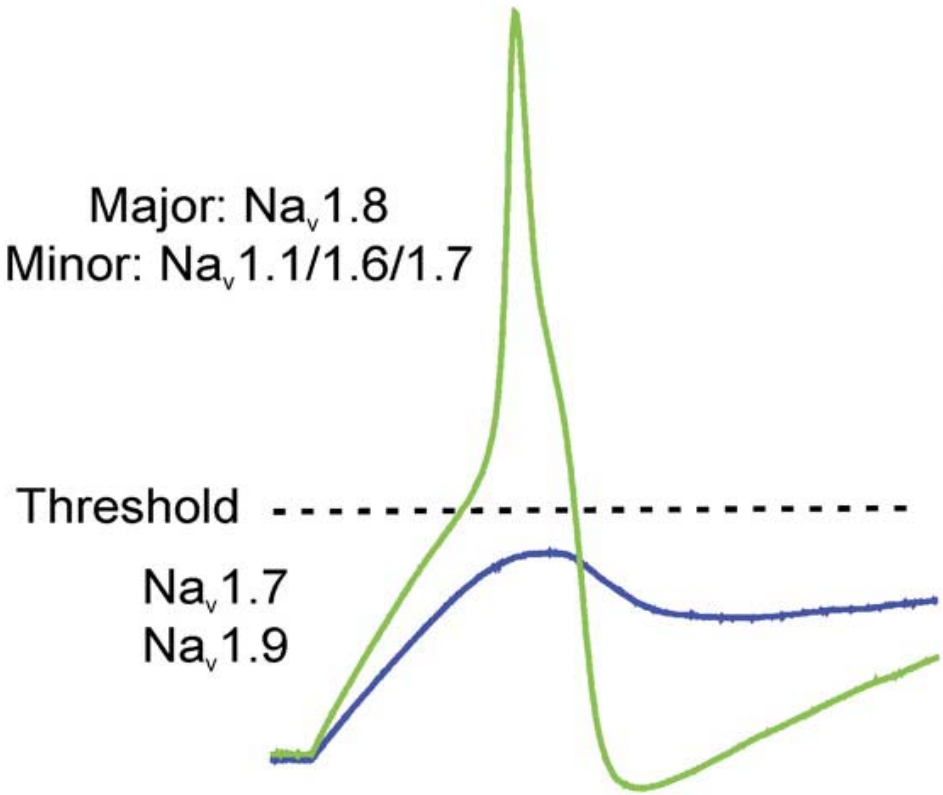
Na_V et douleur

	TTXs	TTXr
E_m d'activation	-65mV	-40mV



Tétraodon

Rôle des différents canaux sodium dans l'électrogenèse des neurones nociceptifs



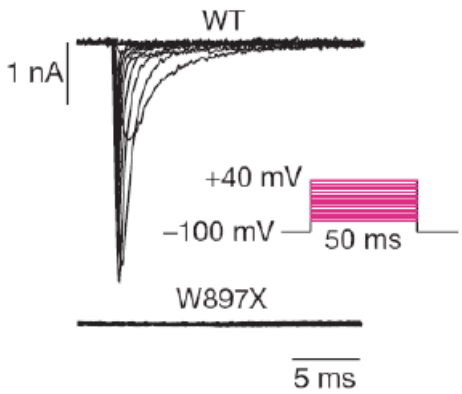
D'après Delmas, 2012

Canalopathies de la douleur associées aux NaV

NaV1.7: Mutations perte-de-fonction = insensibilité congénitale à la douleur

Mutations gain-de-fonction = érythromélalgie (amplification de la sensation douloureuse; inactivation anormale du canal et courant Na^+ persistant) et syndrome de douleur paroxystique extrême (PEPD)

Rôle: Amplification du “potentiel générateur” des nocicepteurs



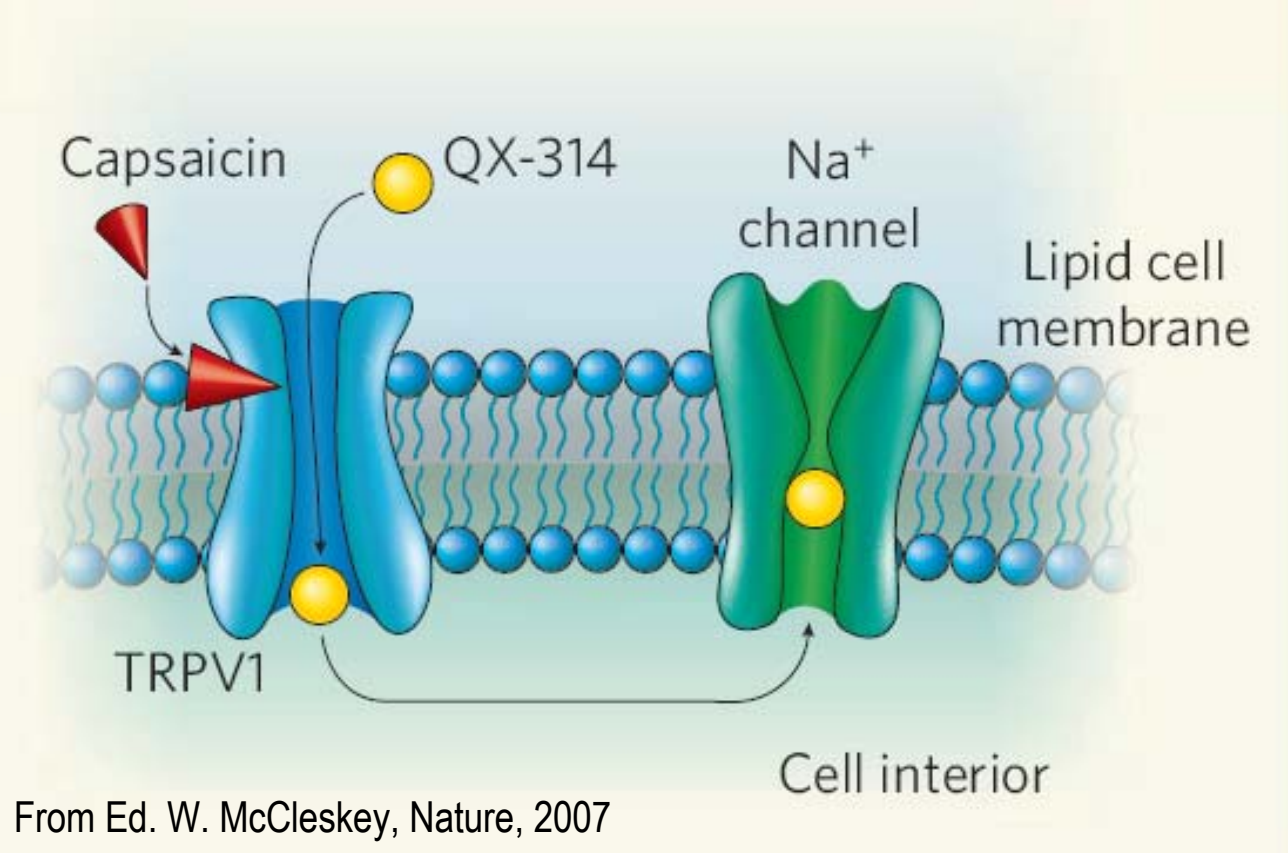


Canalopathies de la douleur associées aux NaV

FHM3	*SCN1A* (Nav1.1)	Q1489K, L1649Q, L263V	Various; Q1489K and L1649Q: partial or complete loss of function; L263V: gain of function	–	Neuronal hyperexcitability
PEPD	*SCN9A* ($Na_v1.7$)	R996C, V1298D, V1299F, I1461T, T1464I, and M1627K, A1632E, F1462V	Gain of function: impaired inactivation leading to persistent sodium currents	–	Nociceptor hyperexcitability, prolonged action potentials and repetitive neuronal firing
CIP	*SCN9A* ($Na_v1.7$)	F259X, R277X, Y328X, S459X, E693X, I767X, R830X, W897X, I1235-, F1200-, R1488X , K1659X, W1689X, Q693X (due to c.4366-7del)	Loss of function: premature termination of protein, frameshift or splicing alterations	Nociceptor specific $Na_v1.7$-null mice have increased mechanical and thermal pain threshold (3)	Compromised nociceptor function
PE	*SCN9A* ($Na_v1.7$)	Q10R, I136V, F216S, S241T, N395K, V400M, L823R, I848T, L858H, L858F, A863P, V872G, F1449V	Gain of function: hyperpolarizing shift in the voltage dependence of channel activation, slowed deactivation, increased ramp currents in some mutants	–	Nociceptor hyperexcitability

FHM3 = migraine hémiplégique familiale de type 3
FEPS = syndrome douloureux épisodique familial
PEPD = syndrome de douleur paroxystique extrême
CIP = insensibilité congénitale à la douleur
PE = érythromélalgie

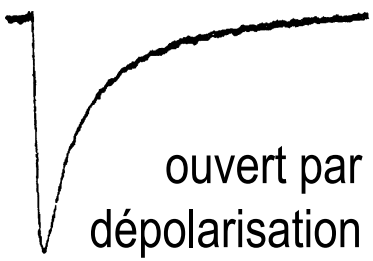
TRPV1 comme voie d'entrée de bloqueurs imperméants des canaux sodium



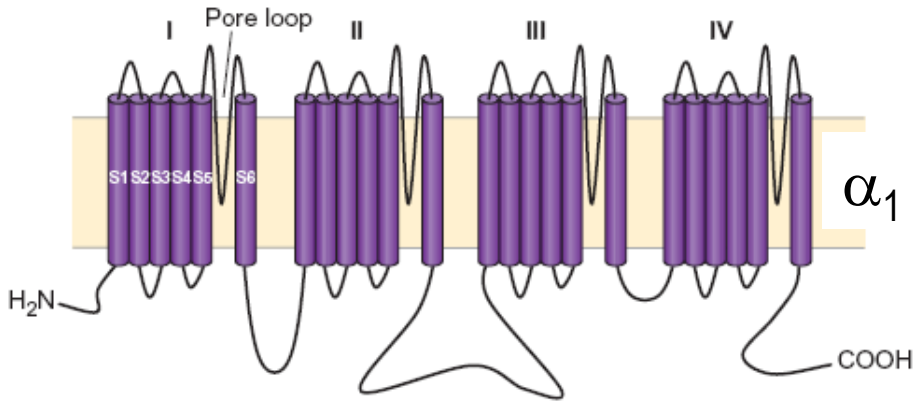
From Ed. W. McCleskey, Nature, 2007

Canaux Ca^{2+} dépendants du voltage

structure (comme NaV)



ouvert par dépolarisation



α_2–δ, β et γ (haut seuil)

roles AP, transmission synaptique (exocytose), expression génique

haut seuil	HVA	$Ca_V1.1$	L-type	➡ *corps cellulaire, transcription Ca^{2+}-dependente des gènes*
		$Ca_V1.2$	L-type	
		$Ca_V1.3$	L-type	
		$Ca_V1.4$	L-type	
		$Ca_V2.1$	P/Q-type	➡ *presynaptique, relargage des neurotransmetteurs*
		$Ca_V2.2$	N-type	
		$Ca_V2.3$	R-type	
bas seuil	LVA	$Ca_V3.1$	T-type	➡ *dendrites, excitabilité*
		$Ca_V3.2$	T-type	
		$Ca_V3.3$	T-type	

ouverture ➔ dépolarisation

Canaux calcium dépendant du potentiel et douleur

Canaux de type N (Cav2.2)

Transmission du message nociceptif au niveau moelle épinière

Canaux de type T (Cav3.2-3.1)

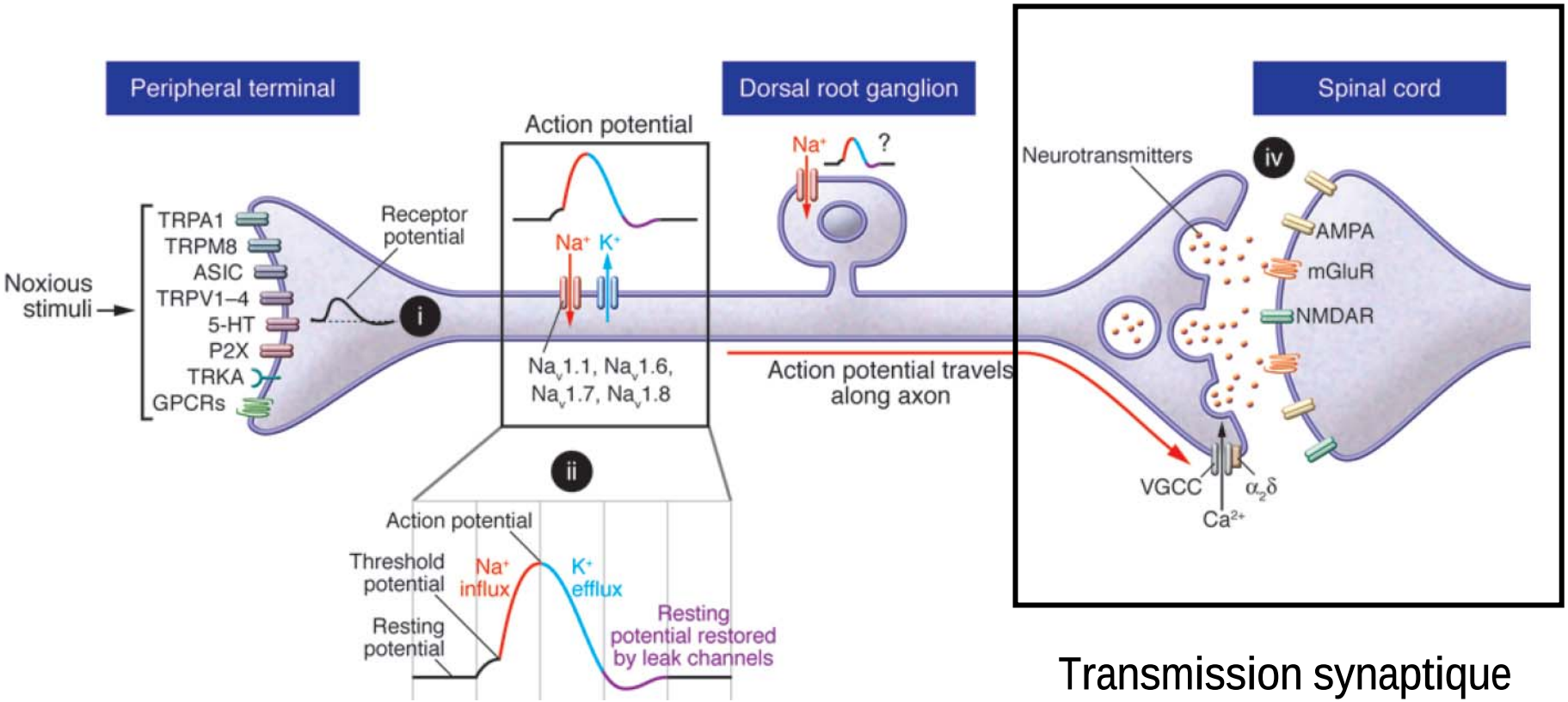
Excitabilité des neurones sensoriels, sensibilisation centrale

Anti-épileptiques (gabapentine, prégabaline >> sous unité $\alpha 2\delta$ des CaV1 et 2)

Les canaux CaV comme cibles pharmacologiques

Molécule/ nom	Cible moléculaire	Indication(s)	Statut clinique
Ziconotide (ω-conotoxine MVIIA) / Prialt®	N-type	neuropathic, Cancer, HIV	clinical
Gabapentin/ Neurontin®	$\alpha 2\delta 1$ and $\alpha 2\delta 2$ subunits	neuropathic, cancer, diabetic, migraine trigeminal and post-herpetic neuralgia	clinical
Ethosuximide/ Zarontin®	T-type	migraine	clinical
ω-conotoxine CVID (AM-336)	N-type	neuropathic	Phase II

Transmission dans la moelle épinière: la synapse centrale

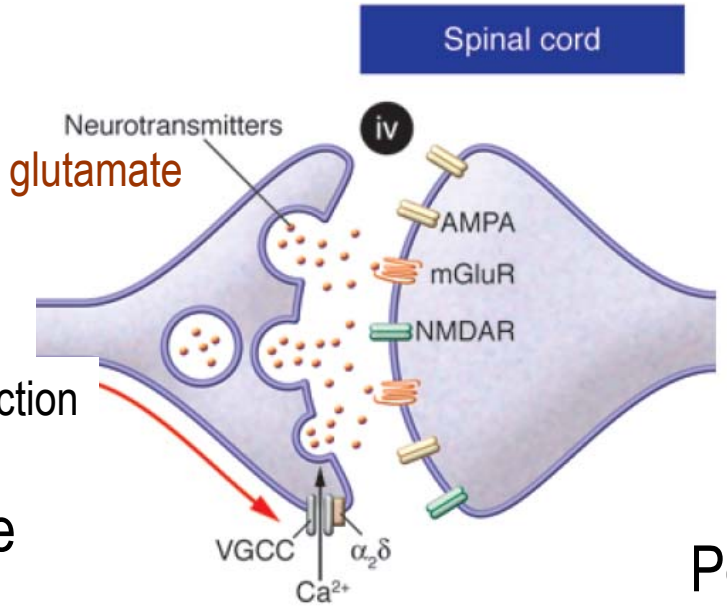


Transmission synaptique excitatrice

D'après Raouf et al, 2010

Transmission dans la moelle épinière: la synapse centrale

Transmission synaptique excitatrice

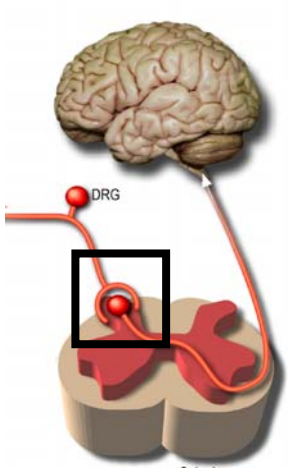


Pré-synaptique

Post-synaptique

Canaux Ca2+
de type N

Canaux et Récepteurs à la synapse de la corne dorsale



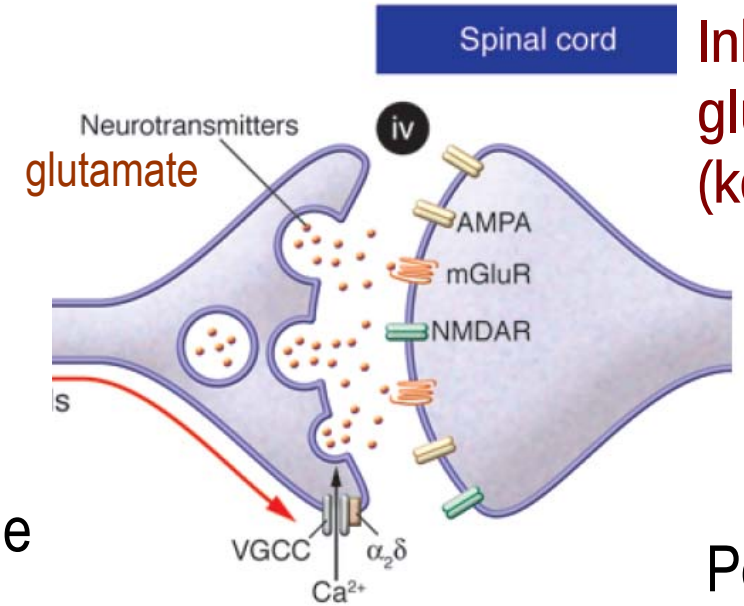
rouge: doit être inhibé
bleu: doit être activé

	Postsynaptic neuron	Presynaptic neuron
Ion channels		
Na^+		$Na_V1.3$, $Na_V1.8$, $Na_V1.9$
Ca^{2+}	α2δ, N-type ($Ca_V2.2$)	α2δ, N-type ($Ca_V2.2$)
K^+	KCNQx, KCNJx	KCNQx, KCNJx, KCNNx
		VR1, $P2X_2$, $P2X_3$
GABA-mediated transmission		
GABA	$GABA_A$, $GABA_B$	$GABA_A$, $GABA_B$
Glutamate-mediated transmission		
Glutamate	NMDA2B, NMDA glycine site, AMPA, kainate, $mGlu_1$, $mGlu_5$	$mGlu_1$, $mGlu_2$, $mGlu_3$, $mGlu_4$, $mGlu_5$
GPCRs		
Inhibitory neuropeptides	Y_1, Y_5, GAL1, sst_2	Incompletely characterized
Excitatory neuropeptides	NK_1, NK_2, NK_3, $PACAP_1$, $VPAC_1$, $VPAC_2$, PAC_1, CGRP	
Cannabinoids	CB_1	CB_1
Opioids	MOP, KOP, DOP, N/OFQ	MOP, KOP, DOP, N/OFQ
ACh	Nicotinic receptor, M_2, M_4	Nicotinic receptor, M_2
Prostanoids	EP_1, EP_2, EP_3, EP_4	EP_1, EP_3, EP_4
5-HT (inhibitory)	$5\text{-}HT_{1A}$, 5-HT_2	$5\text{-}HT_{1A}$, $5\text{-}HT_{1B/1D}$
5-HT (excitatory)	$5\text{-}HT_2$, $5\text{-}HT_3$, $5\text{-}HT_4$	$5\text{-}HT_2$, $5\text{-}HT_3$, $5\text{-}HT_4$
Noradrenaline	α_2	α_2
Adenosine	A_1, $P2Y_x$	A_1, $P2Y_x$

La synapse centrale

Transmission synaptique excitatrice

AINS



Inhibiteurs glutamatergiques (kétamine, mémantine...)

Anesthésiques locaux (lidocaïne)

Pré-synaptique

Post-synaptique

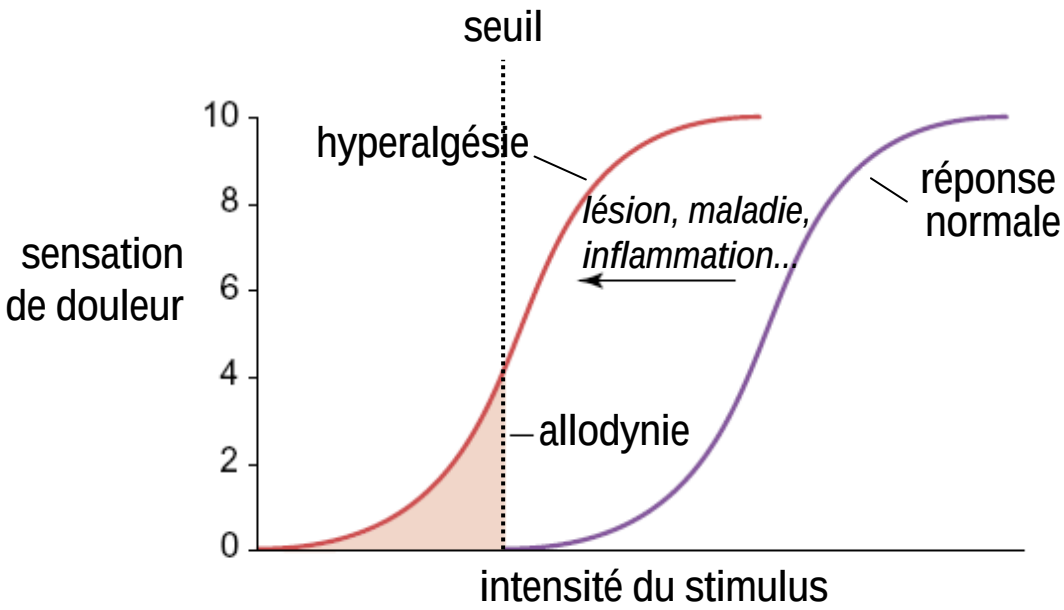
Canaux Ca2+ de type N

Bloqueurs calciques (ziconotide...)

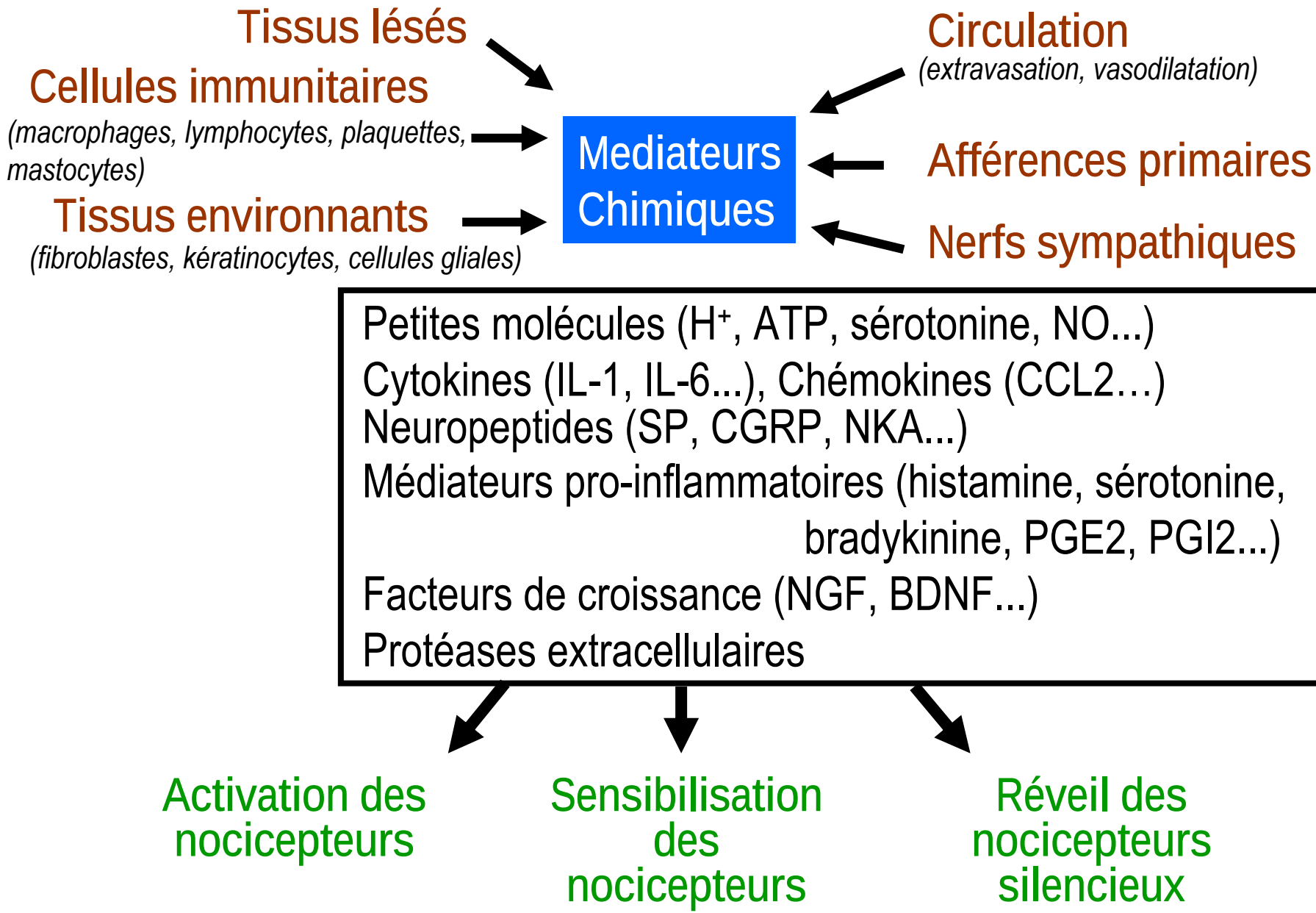
Opiacés faibles et forts (morphine...)

Physiopathologie de la douleur

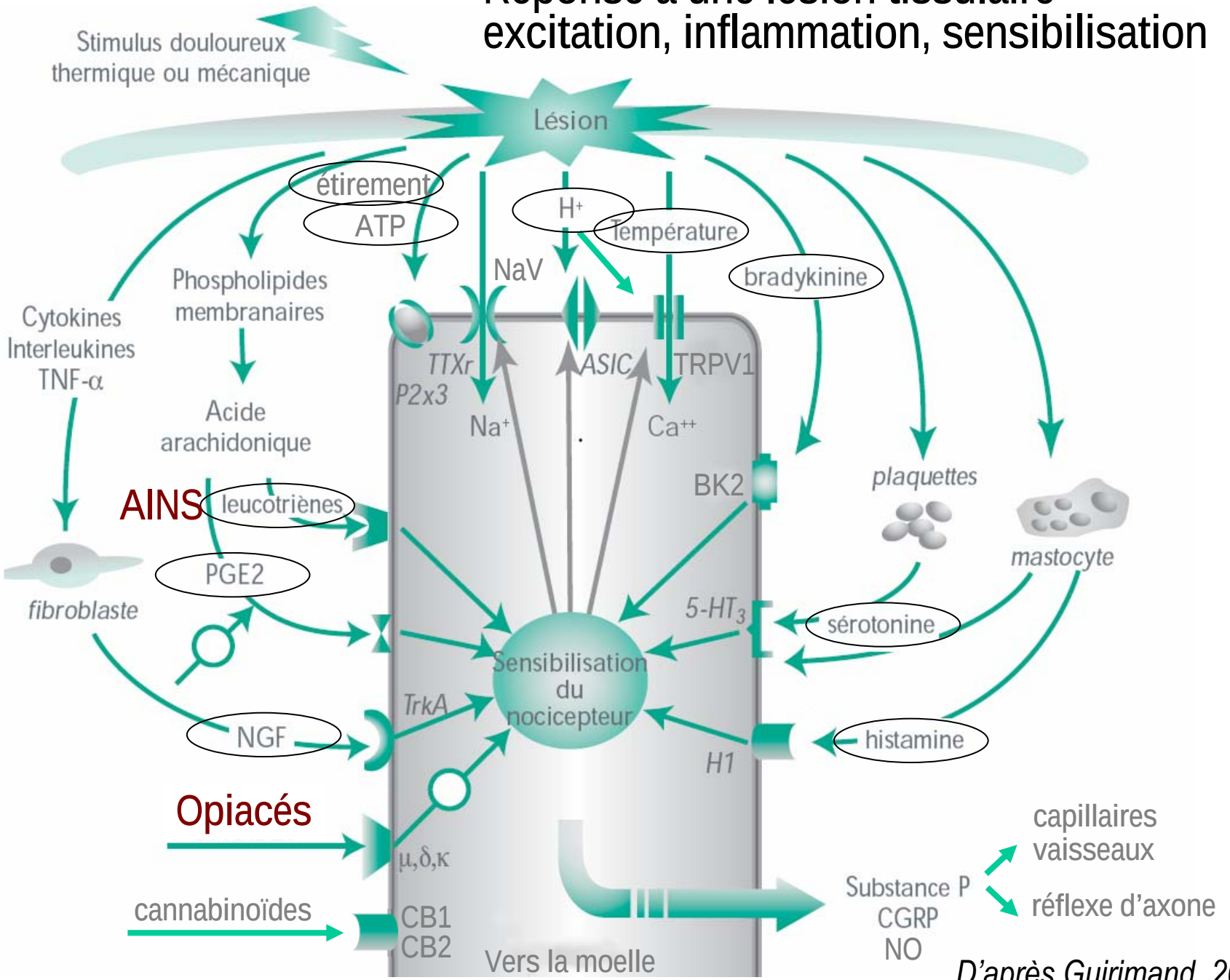
La sensibilité des nocicepteurs est un phénomène dynamique: sensibilisation périphérique et centrale



Lésion Tissulaire

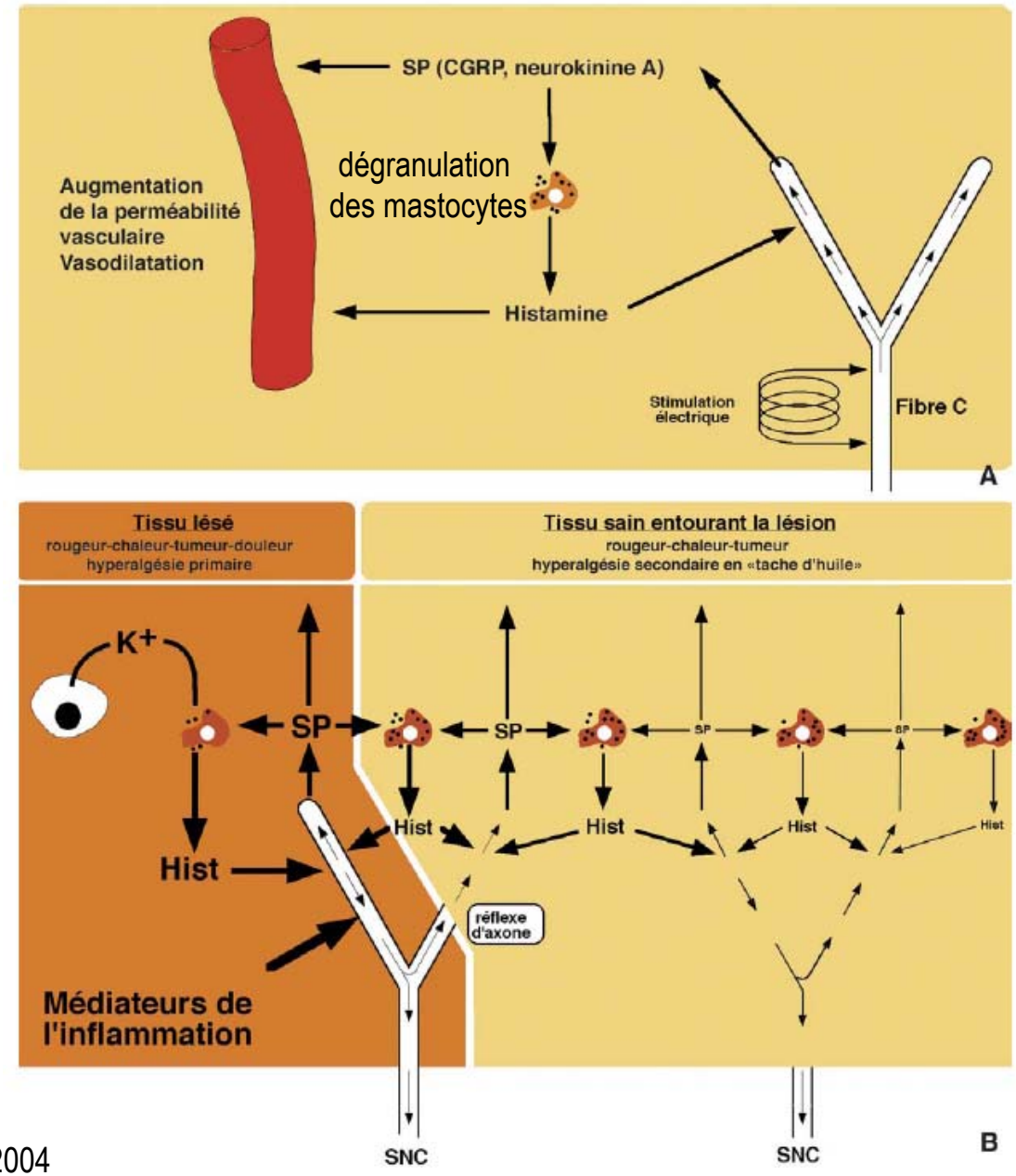


Réponse à une lésion tissulaire
excitation, inflammation, sensibilisation



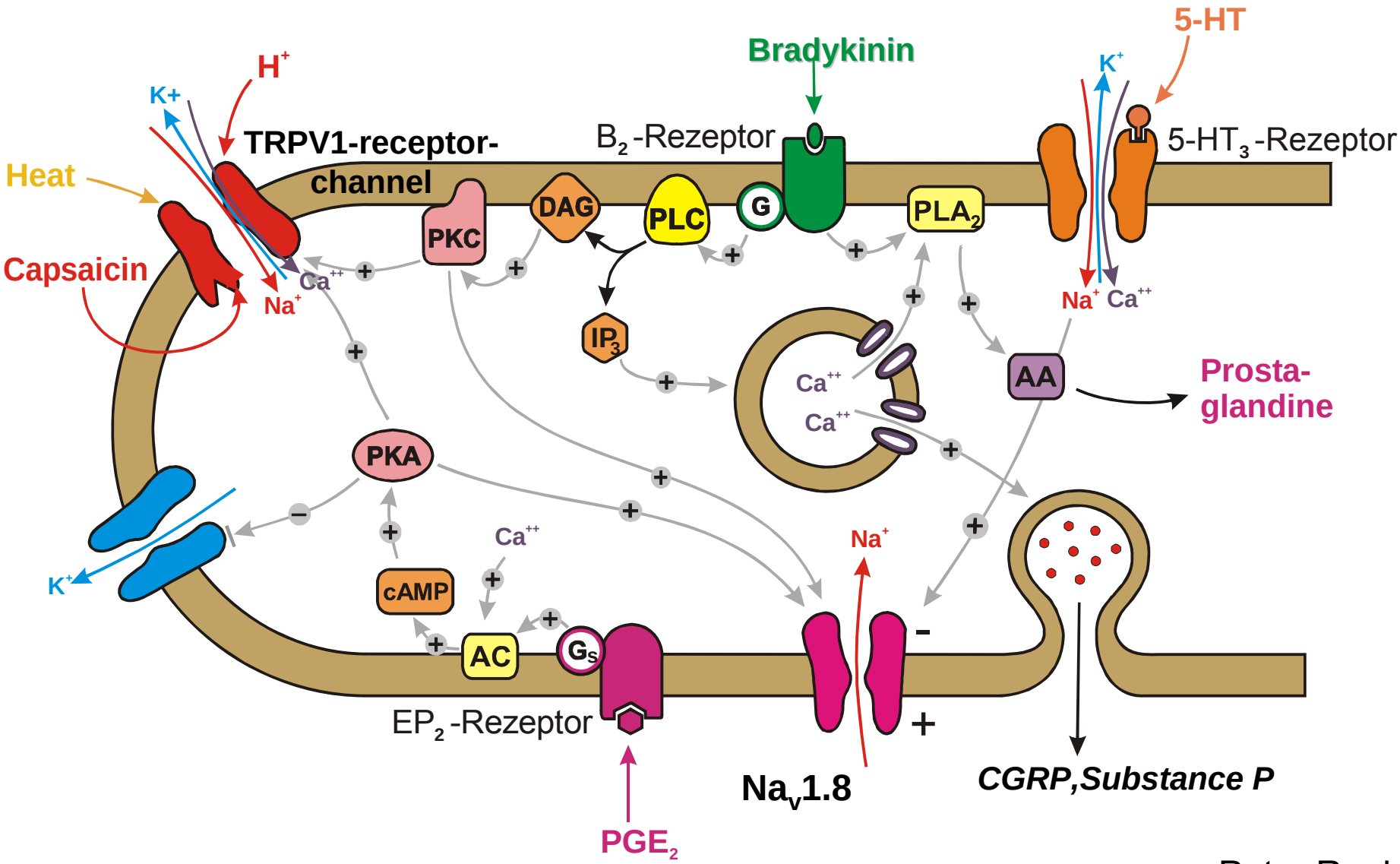
D'après Guirimand, 2005

Inflammation neurogène



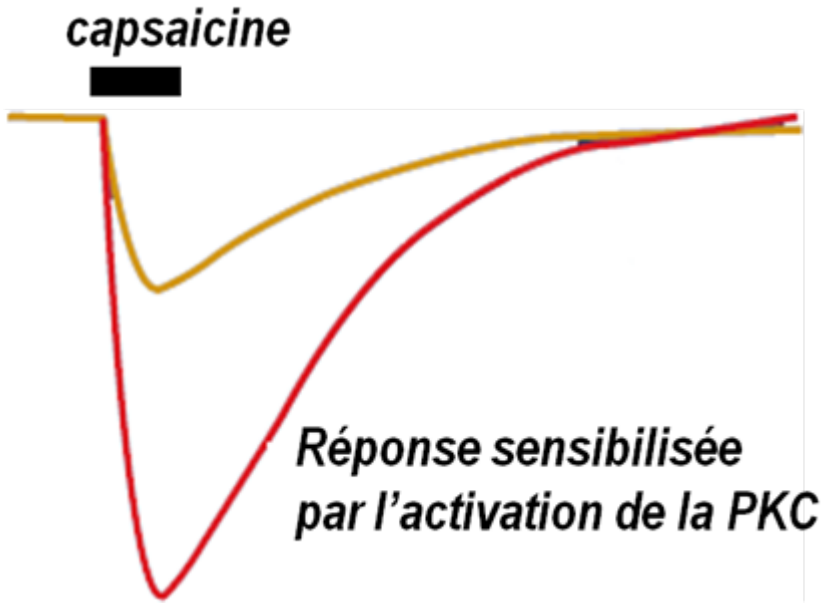
Le Bars et Willer, 2004

Transduction et sensibilisation des nocicepteurs: l'exemple de TRPV1

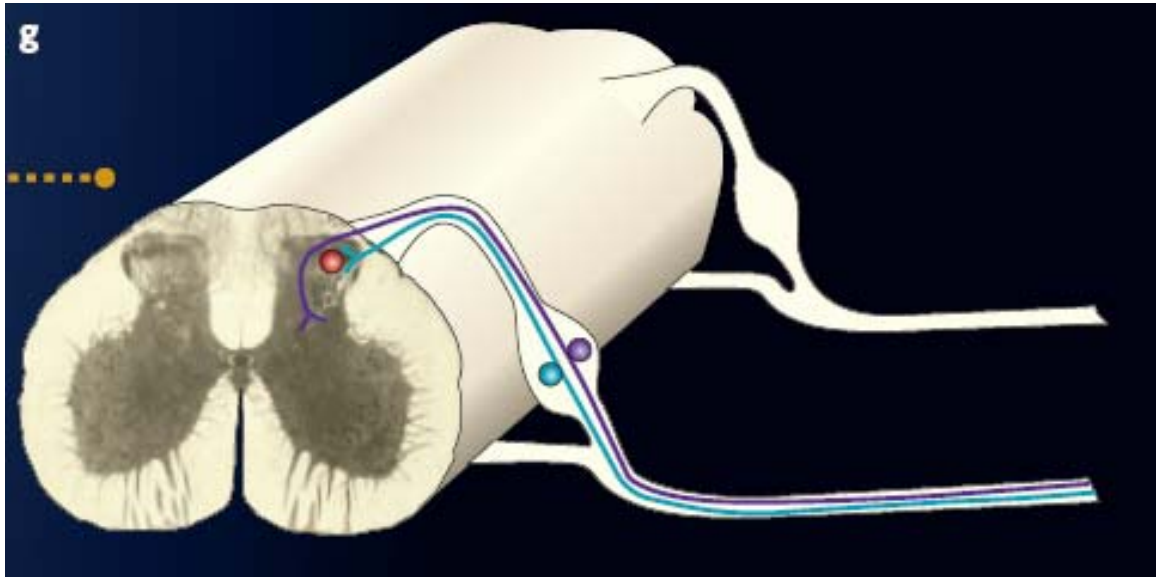


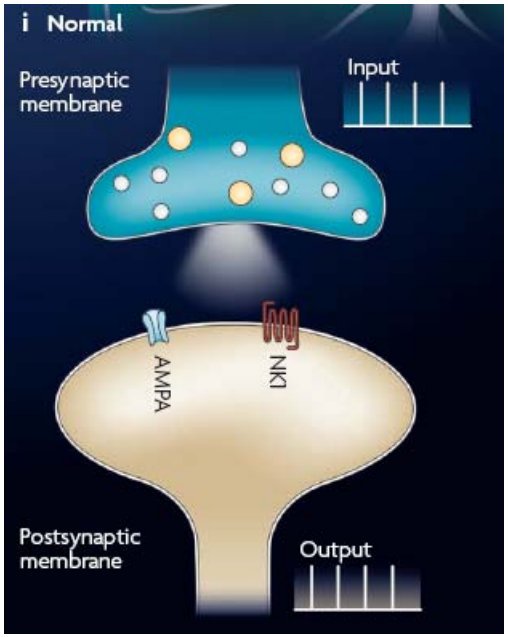
Peter Reeh

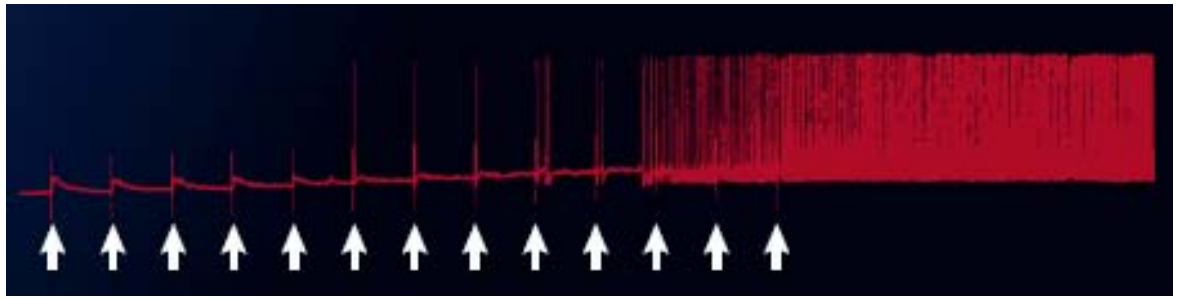
L’activité du canal TRPV1 est fortement augmentée par la sensibilisation périphérique



Sensibilisation centrale dans la moelle épinière

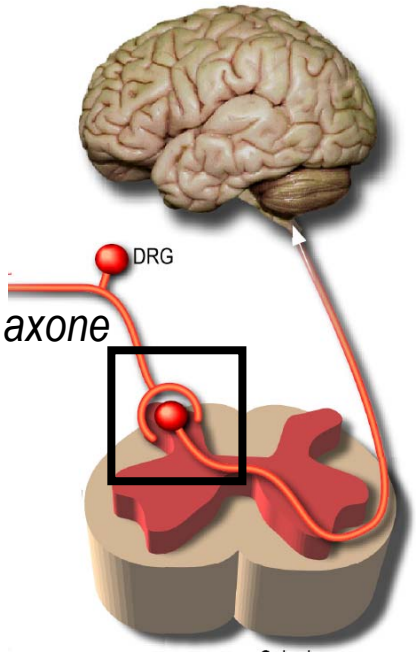






phénomène de Wind Up

Sensibilisation centrale



Synapse centrale
(corne dorsale de la moelle épinière)

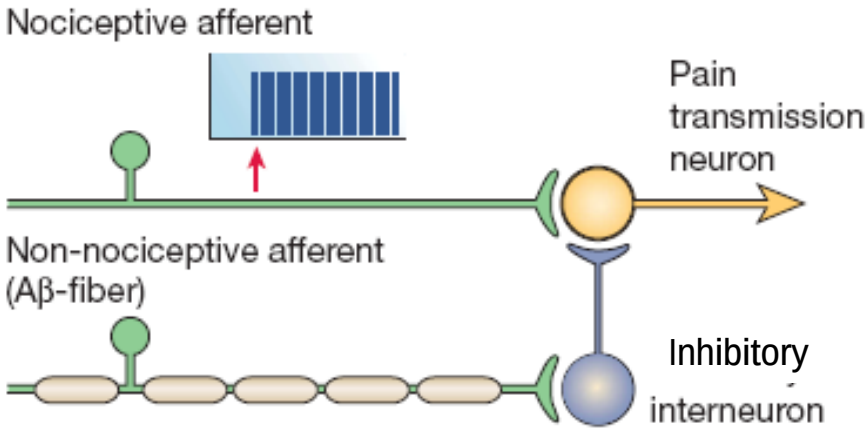
Facilitation synaptique (rapide)

Modifications géniques (persistant)

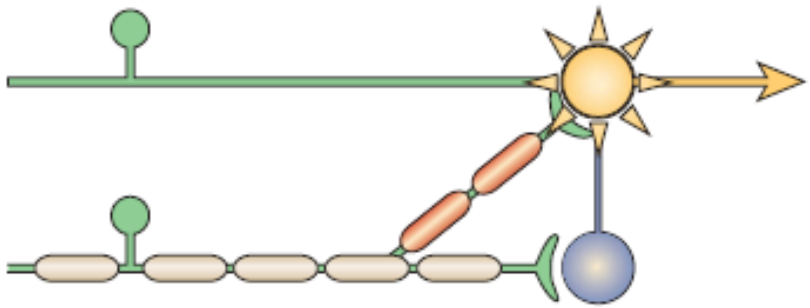
Perte d’inhibition

Recablage

Sensibilisation centrale / Recablage



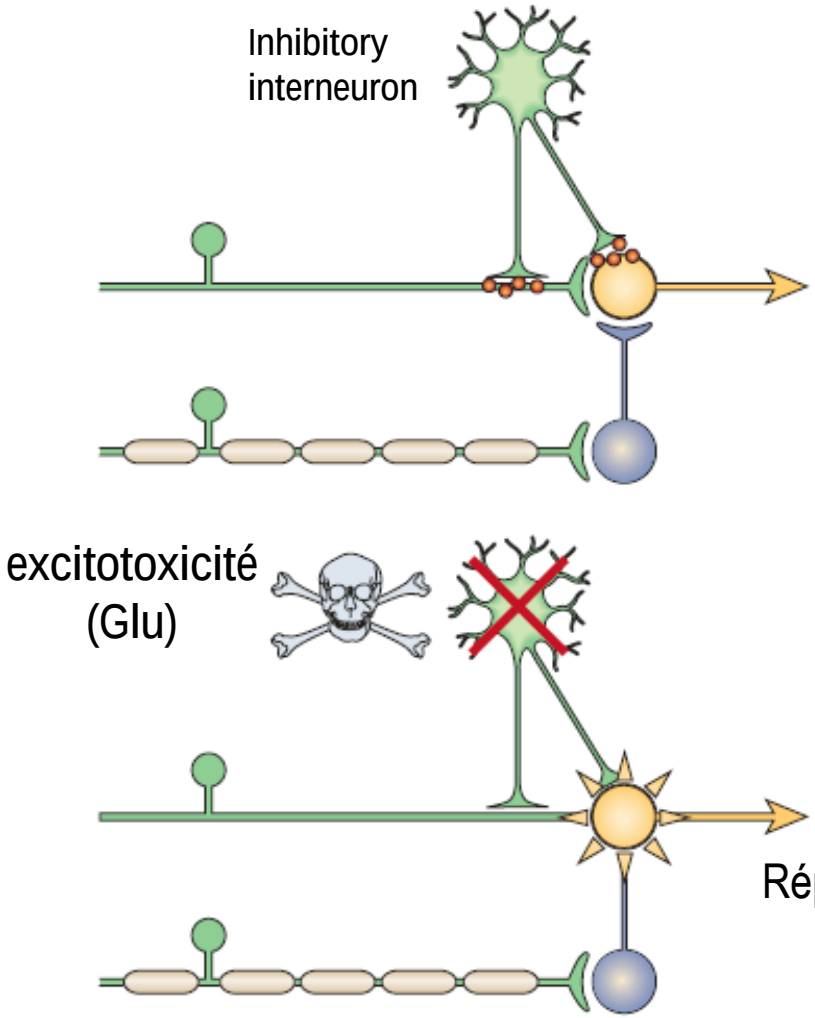
Sprouting after nerve injury



Réponse exagérée à la douleur
Allodynie mécanique

D'après Scholz et Woolf, 2002

Sensibilisation centrale / Perte d'inhibition



Réponse exagérée à la douleur

D'après Scholz et Woolf, 2002

Pharmacologie de la douleur

Classes pharmacologiques actuelles

Morphine
(1803)

Paracetamol
(1893)

Aspirine
(1899)

Opiacés faibles
Opiacés forts

AINS
(1965)

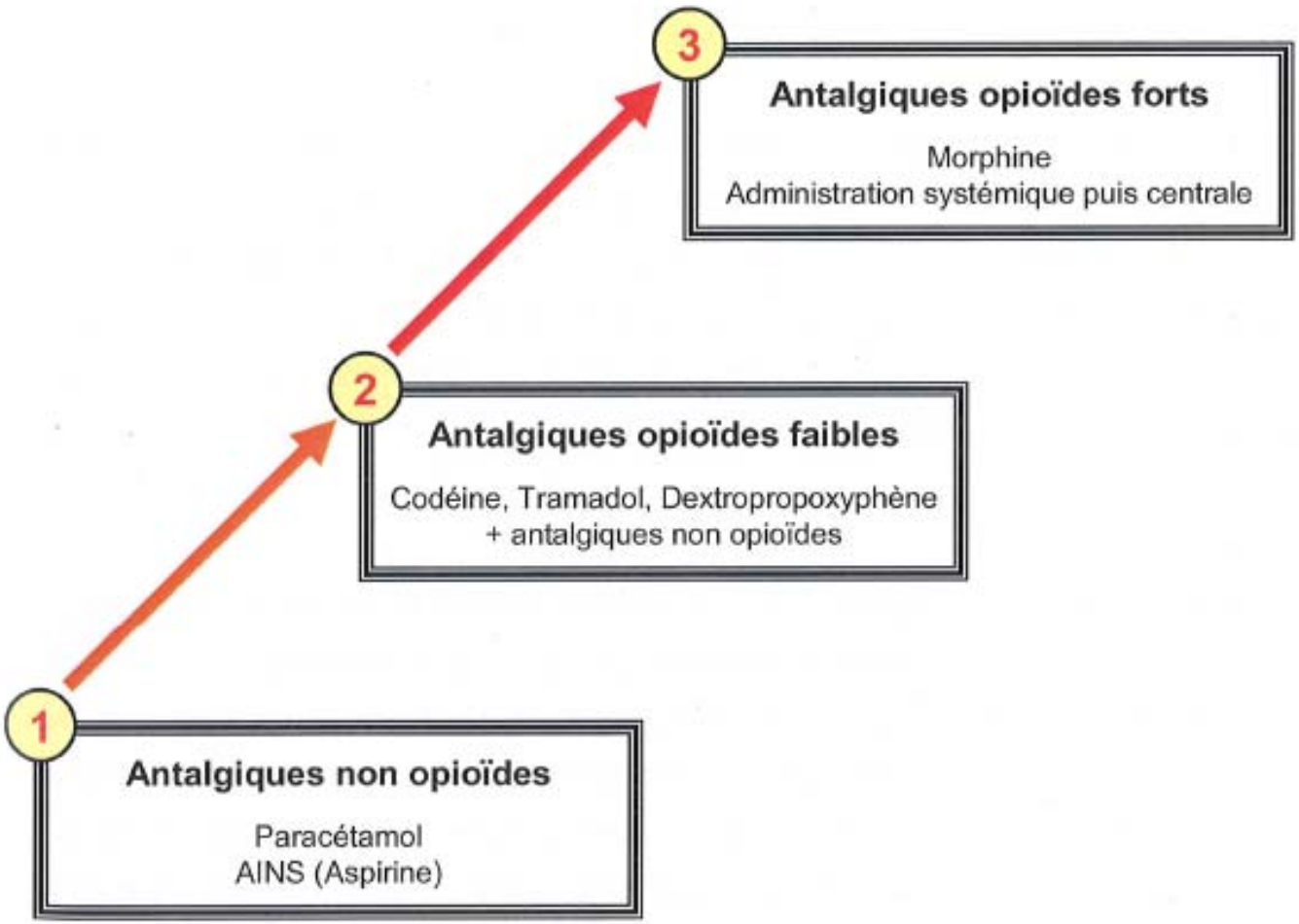
Antidépresseurs
(amitryptiline, duloxétine)

Antiépileptiques (NaV et CaV)
(carbamazépine, gabapentine)

Autres antalgiques à utilisation spécifique

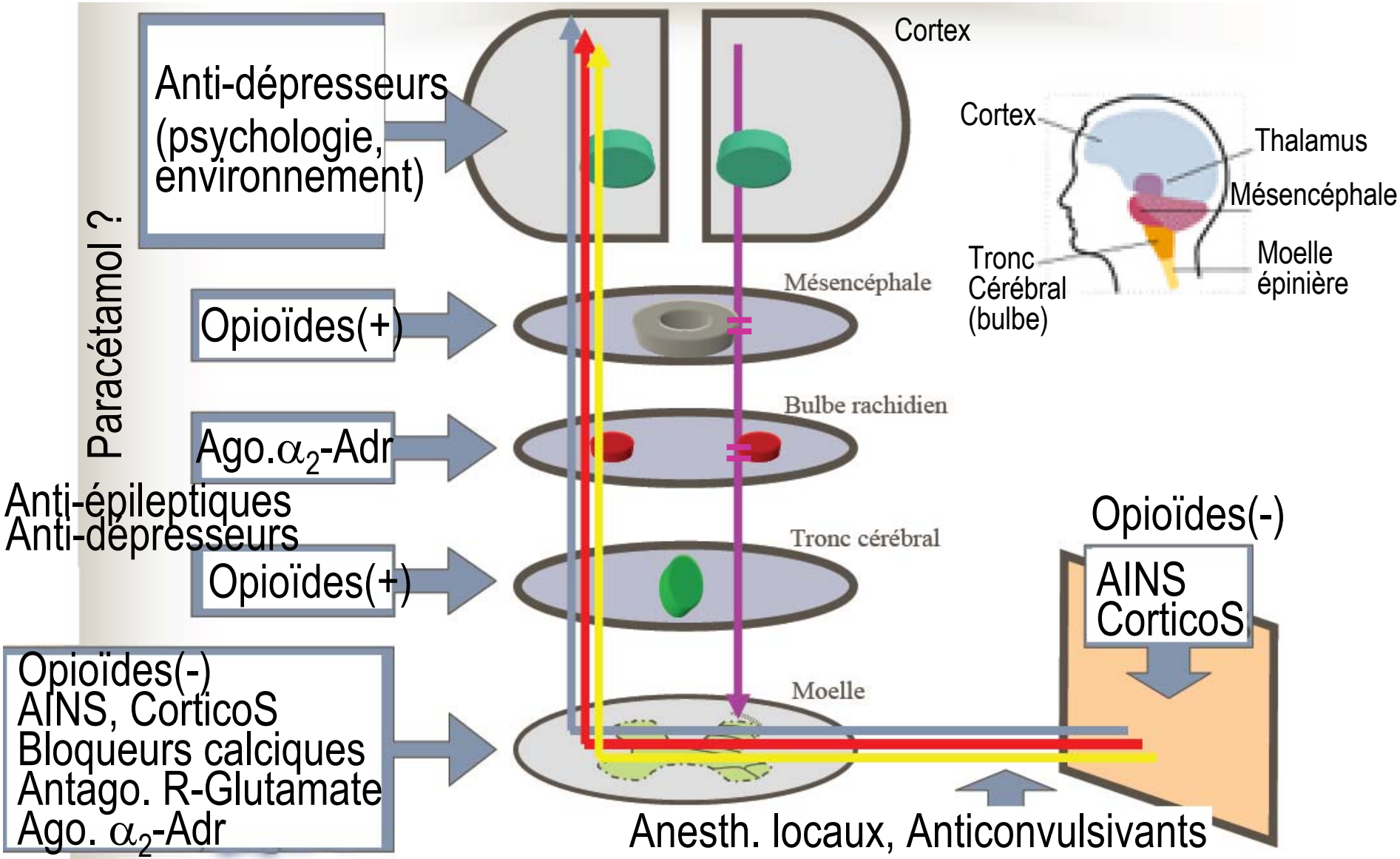
Anesthésiques locaux et apparentés (lidocaïne)
Ago. alpha2 adrénergiques (clonidine) / Inhibiteurs glutamatergiques (kétamine)
Bloqueurs calciques (ziconotide)

Echelle de prescription des antalgiques selon l'OMS



Les antalgiques		
Les antalgiques non opiacés : Palier 1		
Dénomination Commune Internationale : les génériques	**Produits disponibles**	
AINS		
Paracétamol	Efferalgan Dafalgan	Dolipran Perfalgan
Aspirine	Aspégic Aspirine	Kardegic
Ibuprofène	Advil Nureflex	Nurofen
Kétoprofène	Profénid	
Néfopam	Acupan	
Les antalgiques opioïdes faibles : Palier 2		
Dénomination Commune Internationale : les génériques	**Produits disponibles**	
Opiacés faibles		
Codéine	Codenfan	
Codéine + Paracétamol	Codoliprane Dafalgan-codéine	Efferalgan-codéine
Dextropropoxyphène associé	Dialgirex Propofan	Di-Antalvic
Tramadol	Contramal	Topalgic
Tramadol + Paracétamol	Ixprim	Zaldiar
Les antalgiques opioïdes : Palier 3		
Dénomination Commune Internationale : les génériques	**Produits disponibles**	
Opiacés forts		
Morphine	Actiskénan Morphine	Moscontin LP Skénan LP
Fentanyl	Durogésic	
Oxycodone	Oxycontin LP	Oxynorm
Buprénorphine	Temgésic	
Nalbuphine	Nubain	

Sites d'action



D'après Dubois, 2006

Opioïdes

- Les opioïdes agissent dans un système endogène de ligands (*peptides opioïdes*) et récepteurs (*récepteurs opioïdes*)

- Ce système interagit à des niveaux différents avec la sensation de douleur

- Les récepteurs opioïdes sont des récepteurs à protéines G, plusieurs types sont connus

- Différents types de peptides opioïdes existent

Peptides opioïdes

plusieurs classes:

-enképhalines (Met- et Leu-enkephalines)
-endorphines (α- et β-endorphines)
-dynorphines (dynorphines A et B)
-orphanine FQ (Nociceptine)

➔ Dérivés de différents précurseurs
➔ Présent dans CNS; aussi dans des cellules non-neuronales, et dans des régions du cerveau qui ne sont pas impliquées dans la nociception
- Largement présents dans le cerveau
- Moelle épinière

➔ Agissent comme neurotransmetteurs, neuromodulateurs

De la morphine aux récepteurs mu, delta et kappa

Historique des opiacés et de leurs récepteurs

Opium: euphorie, douleur

1803: Alcaloïde Morphine

1850: seringue
Morphine post-chirurgie et douleur chronique

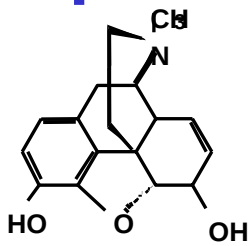
1973: Liaison stéréospécifique et saturable d'opiacés à des extraits de cerveau
-> définition des récepteurs opiacés

1975: Peptides opioïdes endogènes
enkephalines, β-endorphine, dynorphines

1976: Pharmacologie: 3 types de récepteurs opioïdes mu, delta et kappa

1992: Clonage moléculaire du premier récepteur: récepteur delta de souris

1996: Premier knockout d'un récepteur aux opiacés chez la souris



Morphine

Le système opioïde

OPIACES

morphine

Récepteurs opioïdes
μ (MOR)
δ (DOR)
κ (KOR)

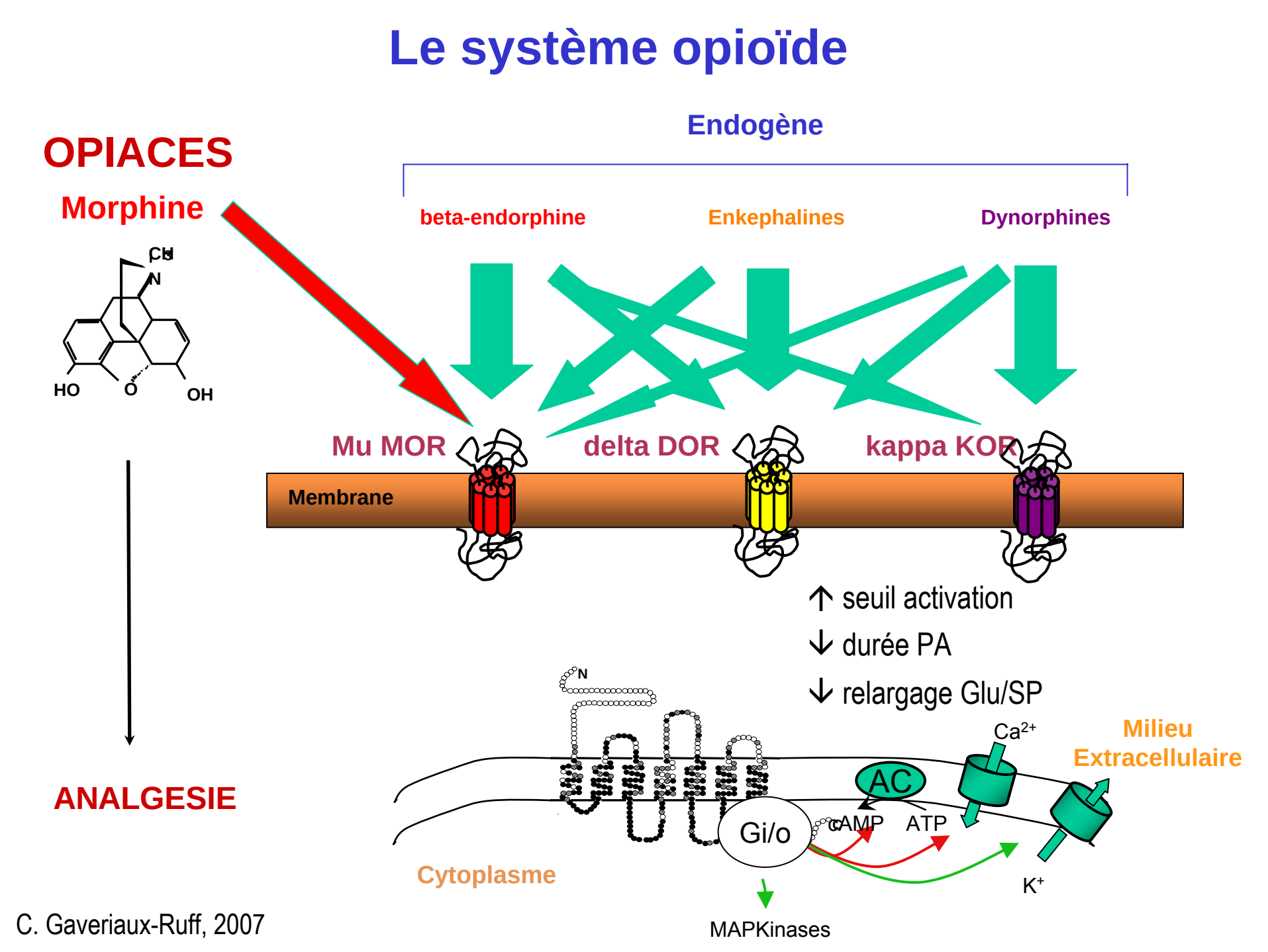
Peptides opioïdes endogènes

Nociception
Stress
Humeur
Locomotion
Respiration
Transit gastrointestinal
Fonction cardiovasculaire
Système endocrine
Immunité

ANALGESIE

C. Gaveriaux-Ruff, 2007

Le système opioïde



C. Gaveriaux-Ruff, 2007

Propriétés des opioïdes

(5-31 aa)

	μ	δ	κ
Endogenous peptides			
β-Endorphin	+++	+++	+++
Enkephalin	+	+++	/
Dynorphin	++	+	+++
Opiate drugs			
Pure agonists			
Morphine, Codeine	+++	+	+
Methadone	++	/	/
Partial mixed agonists			
Pentazocine	-	+	++
Buprenorphine	(+++)	/	- -
Antagonist			
Naloxone	- - -	-	- -

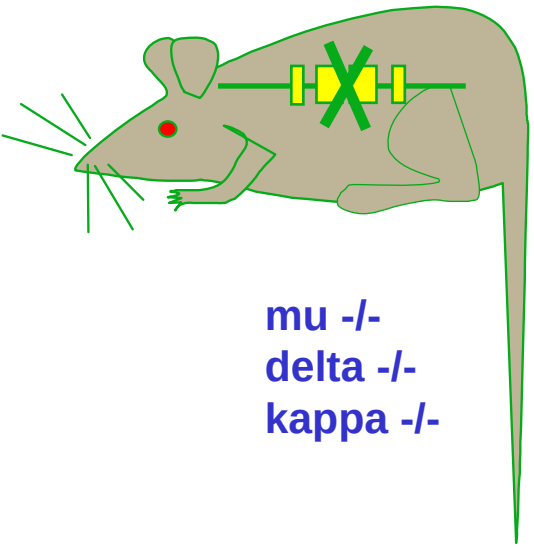
+ : agonistic effect
- : antagonistic effect
/ : no effect
(): partial agonist

L'approche knockout

Pharmacologie

Opiacés
Autres médicaments/drogues

Knockout = Inactivation du gène



mu -/-
delta -/-
kappa -/-

mu
delta
kappa

?

Nociception
Stress
Toxicomanie

Cognition
Respiration
Digestion
Système endocrine
Immunité

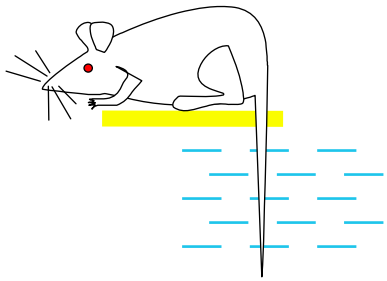
Quelle cible moleculaire?

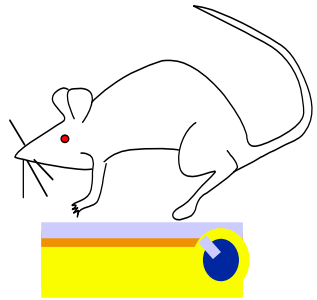
Quel récepteur pour quelle fonction?

C. Gaveriaux-Ruff, 2007

Récepteur mu nécessaire pour l'analgésie morphinique

Souris knockout pour le récepteur mu: Tous les effets de la morphine sont abolis



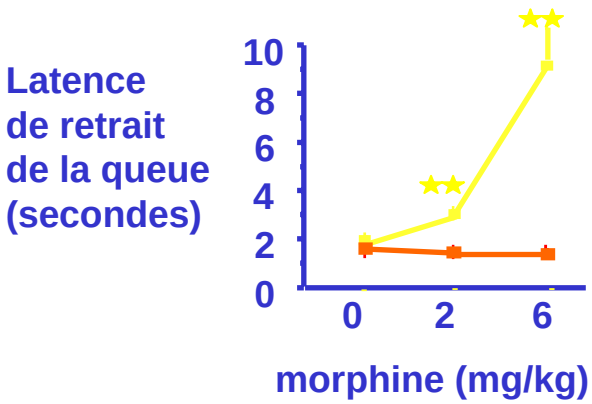


MOR

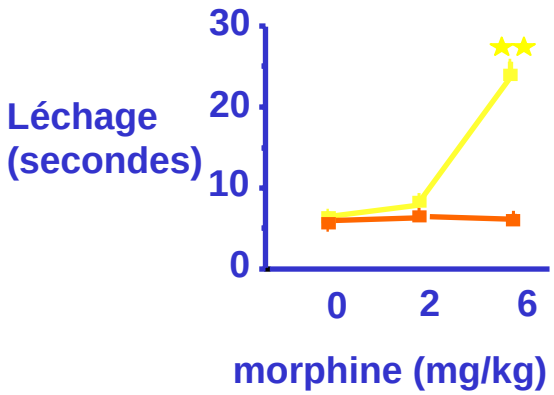
+ / +

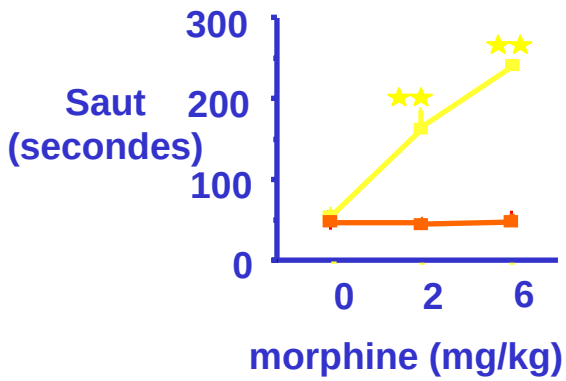
- / -

Test d'immersion de la queue



Plaque chaude





C. Gaveriaux-Ruff, 2007

Effets fonctionnels associés aux types principaux de récepteurs aux opioïdes

	μ	δ	κ
Analgesia			
Supraspinal	+++	-	-
Spinal	++	++	+
Peripheral	++	-	++
Respiratory depression	+++	++	-
Pupil constriction	++	-	+
Reduced GI motility	++	++	+
Euphoria	+++	-	-
Dysphoria	-	-	+++
Sedation	++	-	++
Physical dependence	+++	-	+

Effets secondaires: par action SNC, SN autonome, organes cibles :

Nausées-vomissements, constipation, démangeaisons, dépression repiratoire, troubles comportementaux, tolérance, dépendance

Développement de nouveaux analgésiques

Recherche fondamentale
in vitro et *in vivo*
sur les mécanismes
physiopathologiques
de la douleur

Modéles ↓ *animaux*

Nouveaux mécanismes et
nouvelles cibles
(peripheriques / centrales)

↓

Developpement de nouvelles
classes thérapeutiques

Molécules dont l'efficacité
est déjà reconnue

↓

Recherche clinique

↓

nouvelles indications
nouvelles formulations
meilleure evaluation
meilleure tolerance
nouvelles voies d'administration

Nouvelle formulation, extension d'indication, meilleure évaluation

Molécules dont l'efficacité est déjà reconnue

↓

Recherche clinique

↓

nouvelles indications
nouvelles formulations
meilleure evaluation
meilleure tolerance
nouvelles voies d'administration

<u>nouvelles formulations</u>:

Opiacés (action prolongée par effet "retard", "abuse deterrent" formulations…)

AINS + protecteurs de la muqueuse gastrique

<u>nouvelles indications</u>:

Anti-depressant duloxetine

Anti-épileptique pregabaline

Nouvelles classes thérapeutiques en développement

Recherche fondamentale
in vitro and *in vivo*

Modéles ↓ *animaux*

Nouveaux mécanismes et nouvelles cibles (peripheriques / centrales)

↓

Developpement de nouvelles classes thérapeutiques

Anticorps anti-NGF

Anticorps anti-TNFα

Agonistes du récepteur CB1

Agonistes / Antagonistes de TRPV1

Bloqueurs NaV1.7 , NaV1.8

Bloqueurs ASIC

Inhibiteurs de canaux CaV (CaV2.2, CaV3.2)

Antagonistes NMDA (NR2b)

Agonistes $GABA_A$ (α2/α3)

Déterminants génétiques de la douleur

Trois categories de gènes associés à la douleur (polymorphismes):

> **Les allèles facilitant la douleur**

KCNS1 (VGK^{+}Ch), SCN9A (Nav1.7), ADRB2 (β2 adrenergic receptor), H2TRA, CACNG2 (stargazin), et IL16 (interleukin 16), TRPM8 (dans la migraine)

> **Les allèles "protégeant" de la douleur**

COMT (catechol-O-methyltransferase), OPRM1 (μ-opioid receptor), TRPV1, MC1R (melanocortin 1 receptor), GCH1 (GTP cyclohydrolase 1), et CACNA2D3 (alpha 2 delta 3 subunit of VGCa^{2+}Ch).

> **Les allèles associés à l'analgésie** (effets des opiacés)

COMT (catechol-O-methyltransferase), MC1R (melanocortin 1 receptor), et OPRM1 (μ-opioid receptor).

D'après Young et al, Genetic basis of pain variability: recent advances. J Med Genet 2012

Conclusions

- grande diversité des acteurs moléculaires de la nociception cutanée (TRP, ASIC, P2X…) présents dans les neurones sensoriels.

- plusieurs récepteurs pour un stimulus nocif donné pouvant appartenir à la même famille (exemple des TRP et de la température) ou à des familles différentes de canaux ioniques (exemple de TRPV1 et ASIC pour le proton).

- plusieurs stimuli pour un récepteur donné (récepteur polymodal).

- système dynamique:
  - -implication différente de ces récepteurs dans les conditions physiologiques et physiopathologiques (inflammation...)
  - -sensibilisation périphérique et centrale

- <u>pharmacologie</u>: AINS, paracetamol, opiacés, mais aussi
  antidépresseurs, antiépileptiques,
  anesthésiques locaux,
  inhibiteurs glutamatergiques, agonistes $\alpha 2$ adrénergiques, triptans

- <u>progrès</u>:
  Nouvelles formulations, nouvelles indications de molécules existantes
  Nouvelles cibles et nouveaux mécanismes d'action

Conclusions (suite)

La compréhension moléculaire de la douleur a incontestablement fait des progrès considérables au cours de ces dernières années.

La mise en évidence de certains des mécanismes cellulaires et moléculaires a permis de définir de nouvelles cibles pour le développement d'agents pharmacologiques.

La multiplicité des mécanismes physiopathologiques rend cependant peu probable la mise au point d'un traitement standard des douleurs.

Le principal défi auquel sont confrontés aujourd'hui les chercheurs et les cliniciens est de mettre en relation les données expérimentales et cliniques de façon à proposer de nouvelles options thérapeutiques ciblées sur les mécanismes.

P Delmas, 2012