

Université de Nice Sophia-Antipolis

# Aspects cellulaires et moléculaires de la douleur

Eric Lingueglia

Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire  
UMR6097 CNRS-UNSA

[lingueglia@ipmc.cnrs.fr](mailto:lingueglia@ipmc.cnrs.fr)

- Le système nocicepteur
  - Les canaux ioniques
- 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 (la douleur est subjective)*

**Nocicepteur:** récepteur sensible aux stimuli produits par des agents potentiellement nocifs

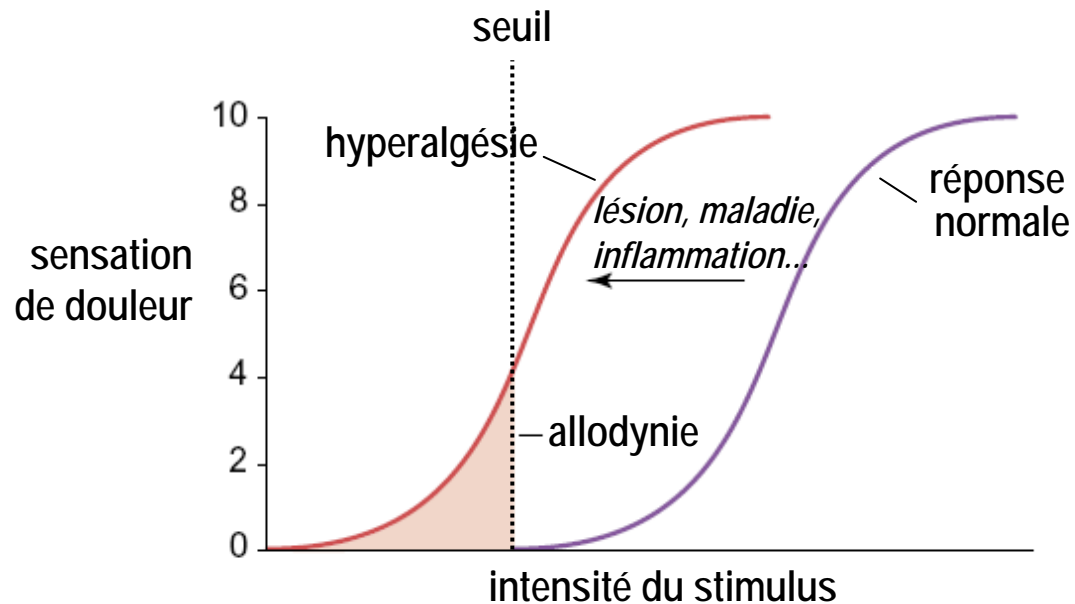
**Nociception:** mécanisme, par lequel des stimuli nocifs périphériques sont transmis au système nerveux central

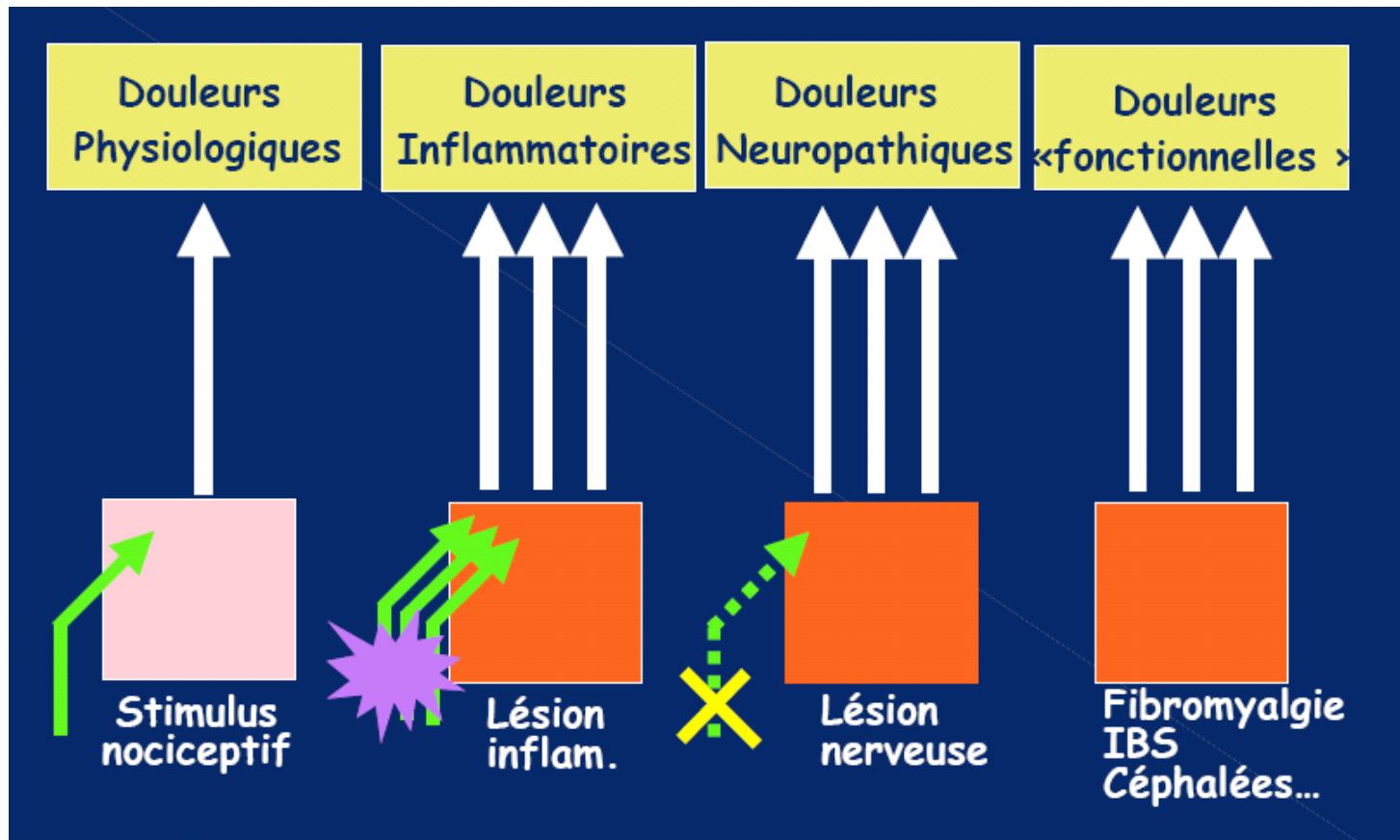
# Les seuils de douleur

Intensité à laquelle un stimulus devient douloureux

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

Valeurs moyennes	mécanique	~ 4 kg/cm <sup>2</sup>
	chaud	~ 42°C
	froid	~ 10°C





**Douleur aiguë =  
douleur physiologique  
Signal d'alarme**

**Douleur chronique =  
douleur pathologique**

**Clinique: moins de 3 mois**

**Clinique: plus de 3 mois**

# Le système nocicepteur

# Quatre composantes

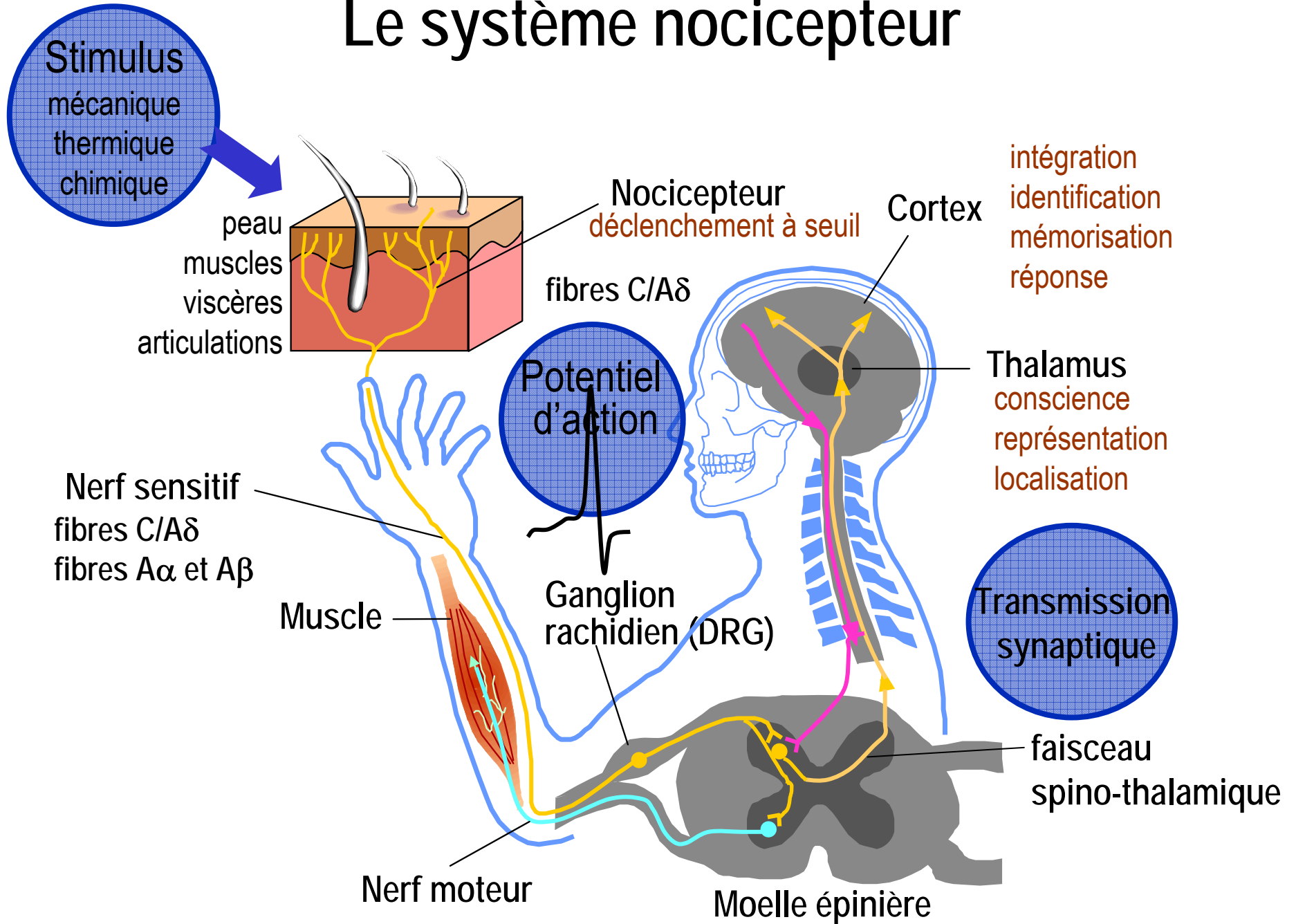
**Transduction** activation de la terminaison périphérique  
(thermique, mécanique, chimique)  
➔ décharge électrique dans le neurone sensoriel

**Transmission** transmission du signal dans la moelle épinière

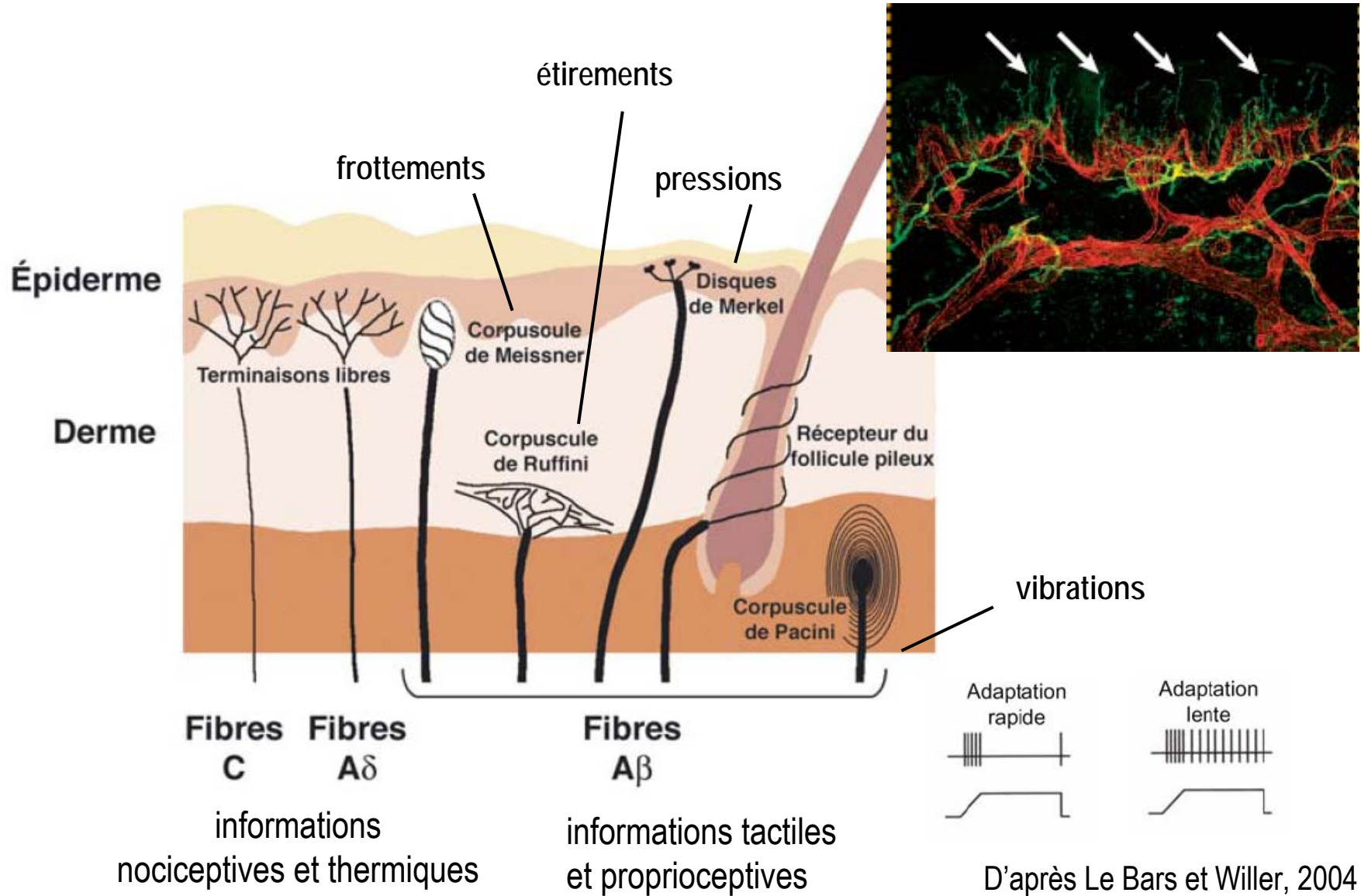
**Modulation** intégration et relais de l'information par un système (réseau)  
complexe dans la moelle épinière et le cerveau  
(voies ascendantes et descendantes)

**Perception** composante finale, subjective

# Le système nocicepteur

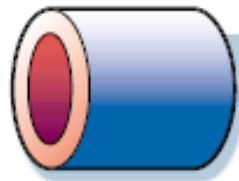


# Principaux récepteurs cutanés



# Les différents types de fibres afférentes

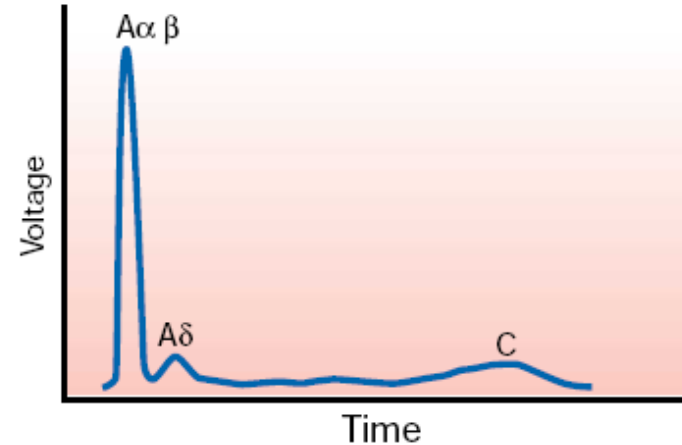
Primary afferent axons



Aα and Aβ fibres

Myelinated  
Large diameter  
Proprioception, light touch

rapide



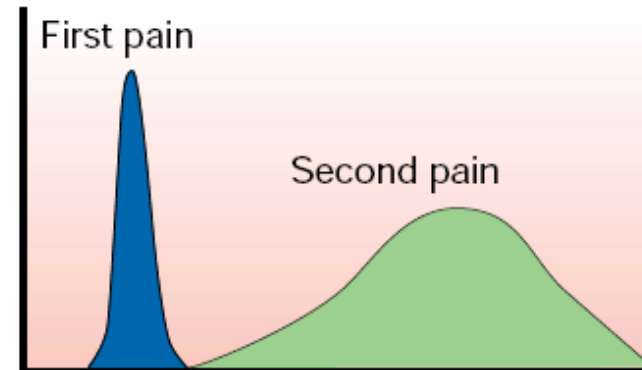
Aδ Fibre

Lightly myelinated  
Medium diameter  
Nociception  
(mechanical, thermal, chemical)

rapide

Cutané  
Articulaire  
Musculaire

Douleur aiguë localisée légère immédiate (piqûre)



C fibre

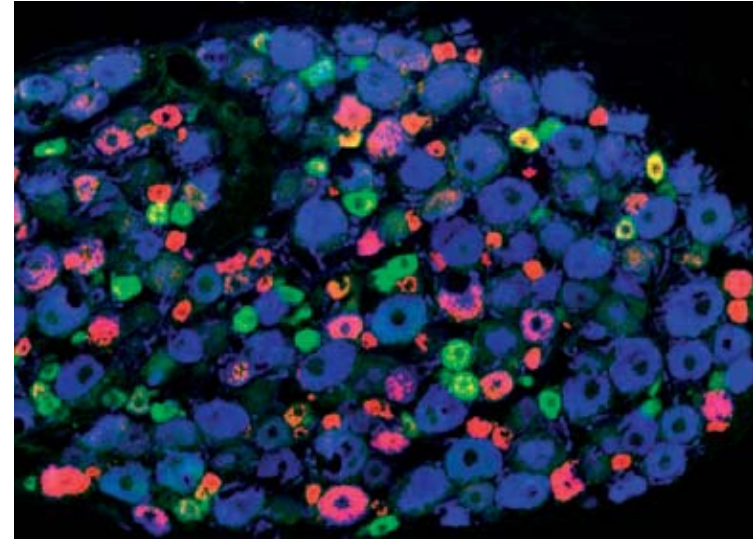
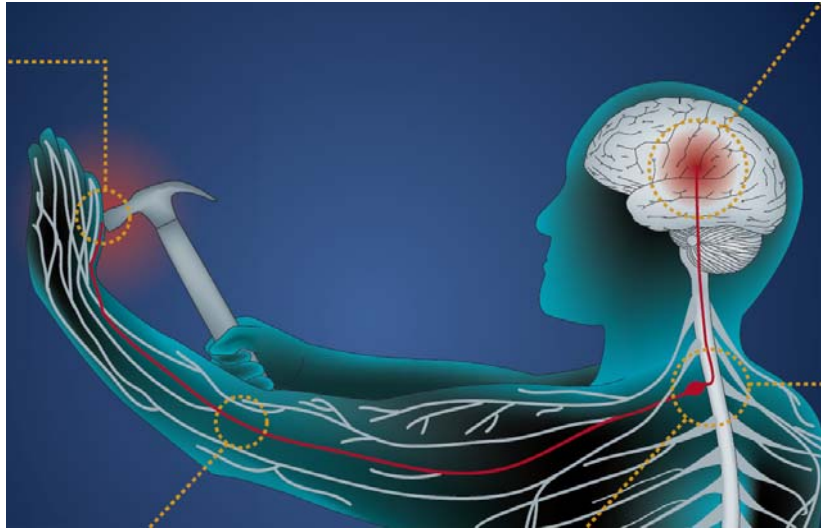
Unmyelinated  
Small diameter  
Innocuous temperature, itch  
Nociception  
(mechanical, thermal, chemical)

lente  
(<2m/s)

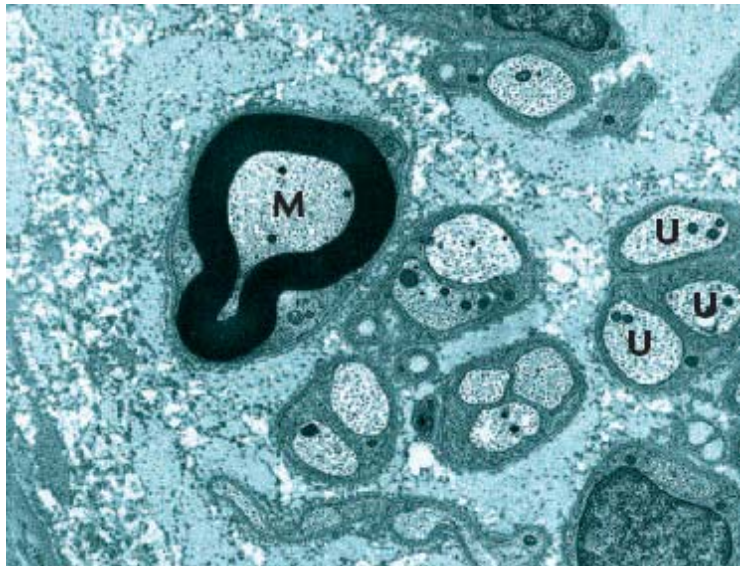
Cutané (60-90%)  
Articulaire  
Musculaire  
Visceral (>90%)

Douleur tardive diffuse inconfortable (brûlure)

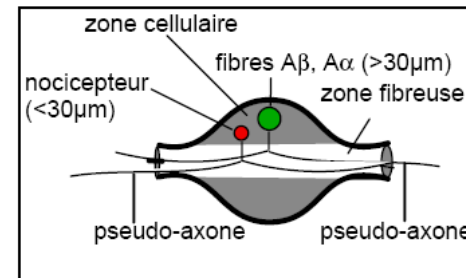
D'après Julius et Basbaum, 2001



Coupe d'un ganglion rachidien



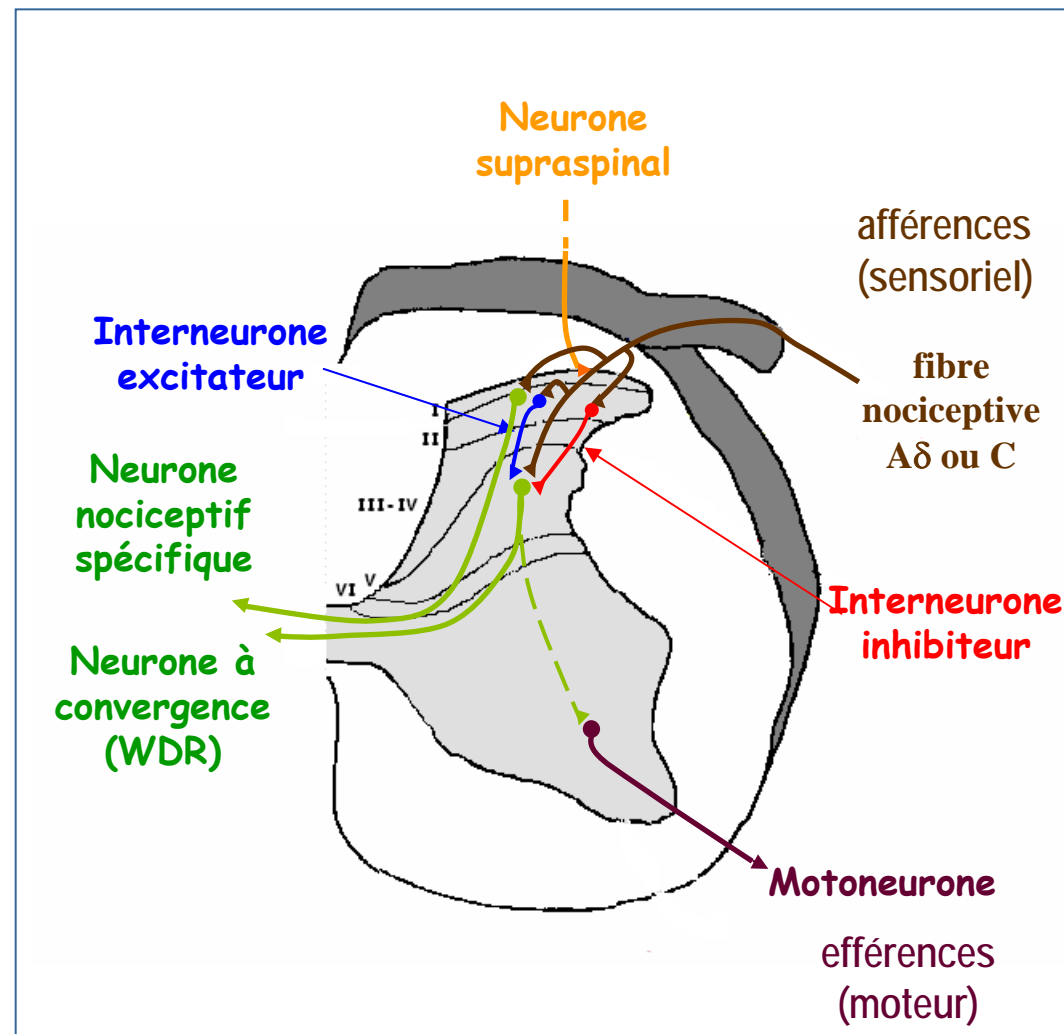
Coupe d'un nerf



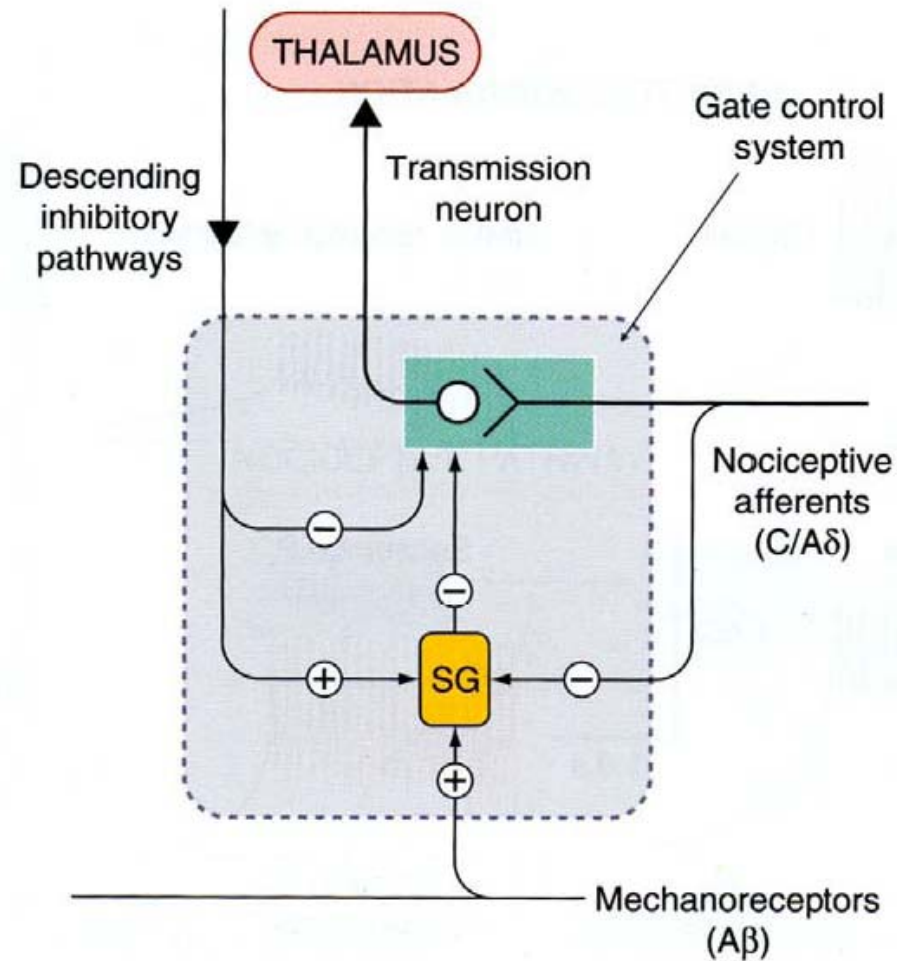
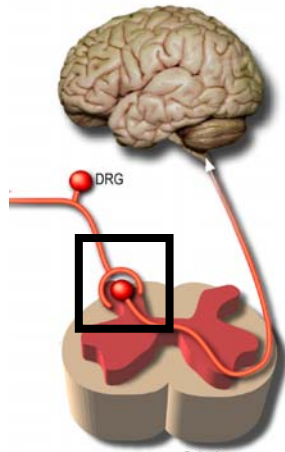
Ganglion rachidien

d'après McMahon et Bennett, 2007

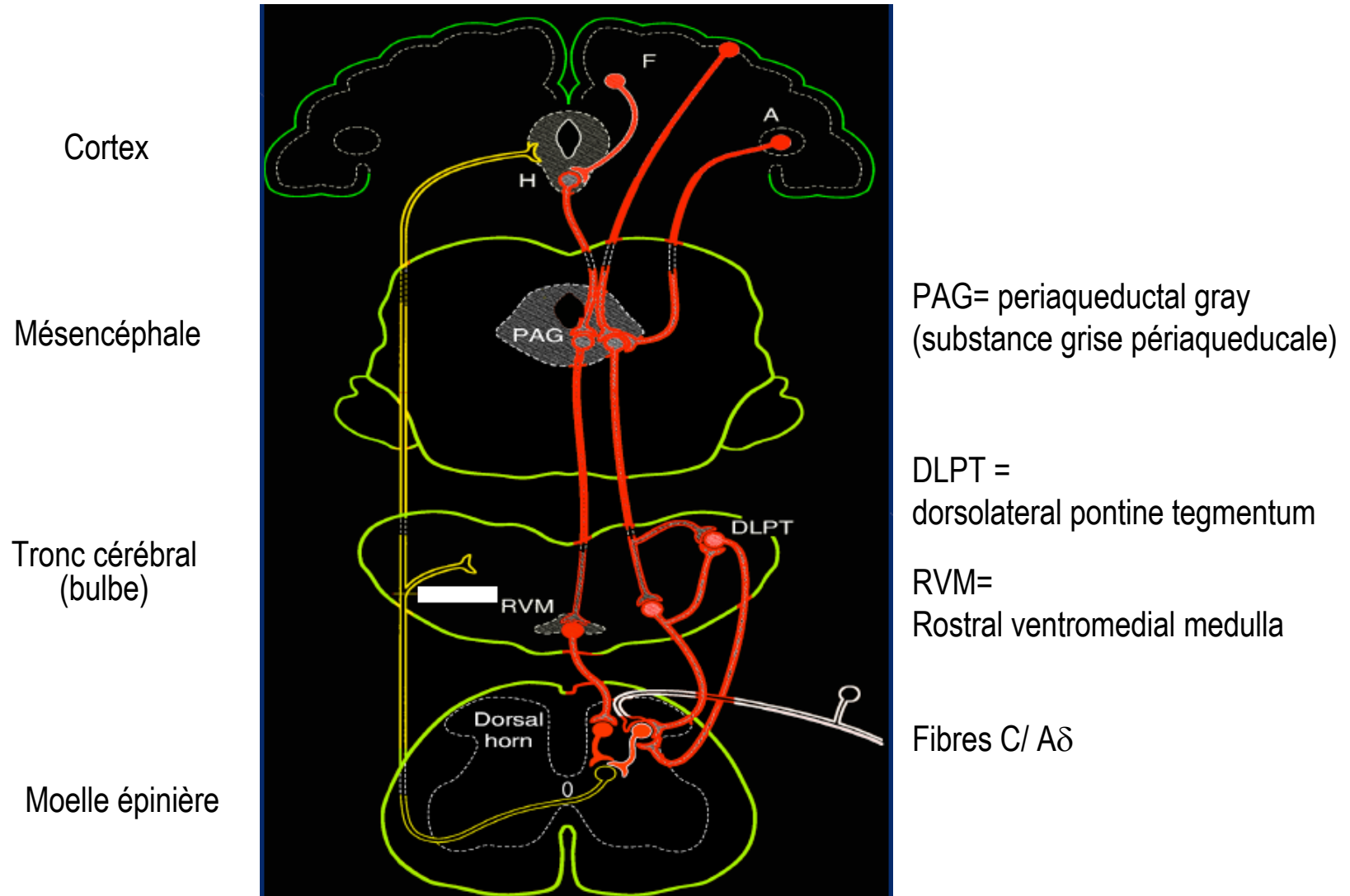
# Projections centrales des fibres cutanées: Le réseau spinal



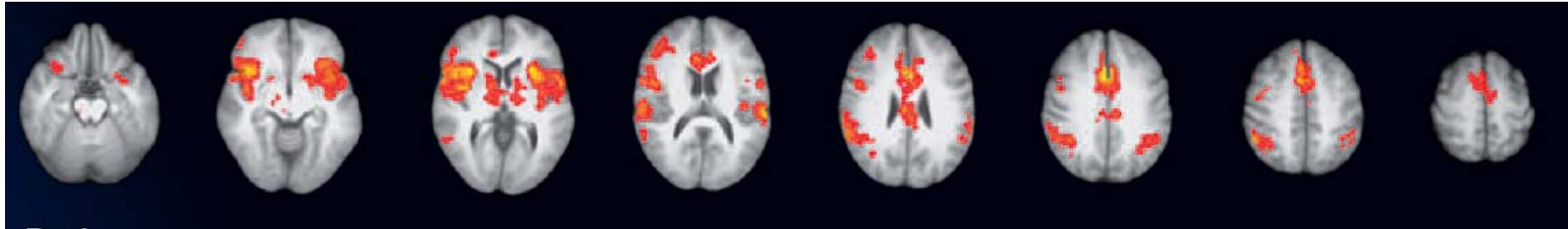
# Transmission et "gate control" dans la corne dorsale de la moelle épinière



# Les voies ascendantes et descendantes de la douleur



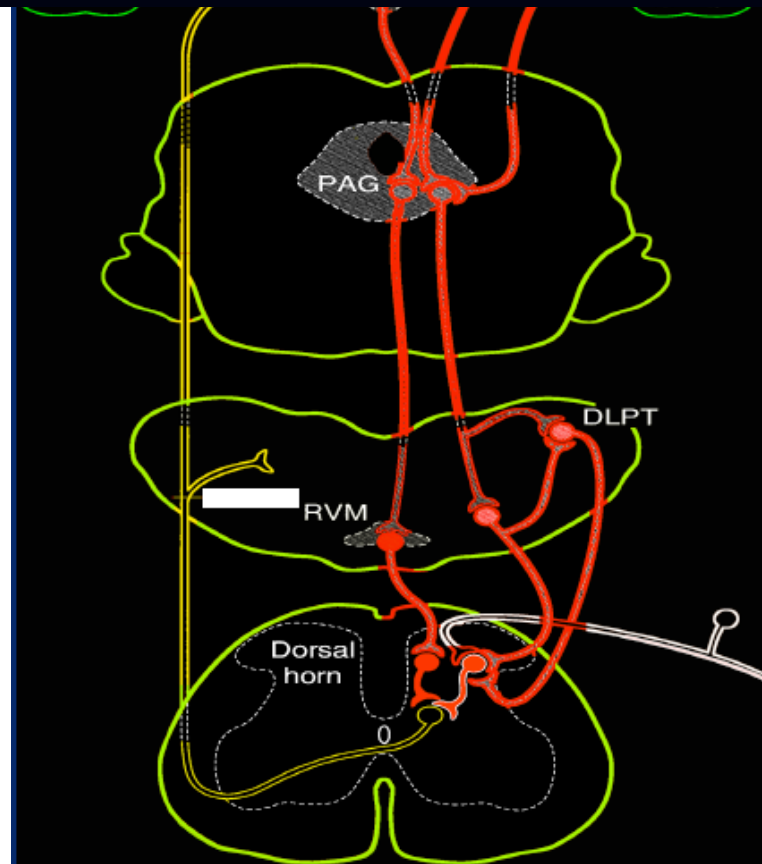
# Les voies ascendantes et descendantes de la douleur



Mésencéphale

Tronc cérébral  
(bulbe)

Moelle épinière



PAG= periaqueductal gray  
(substance grise périaqueducale)

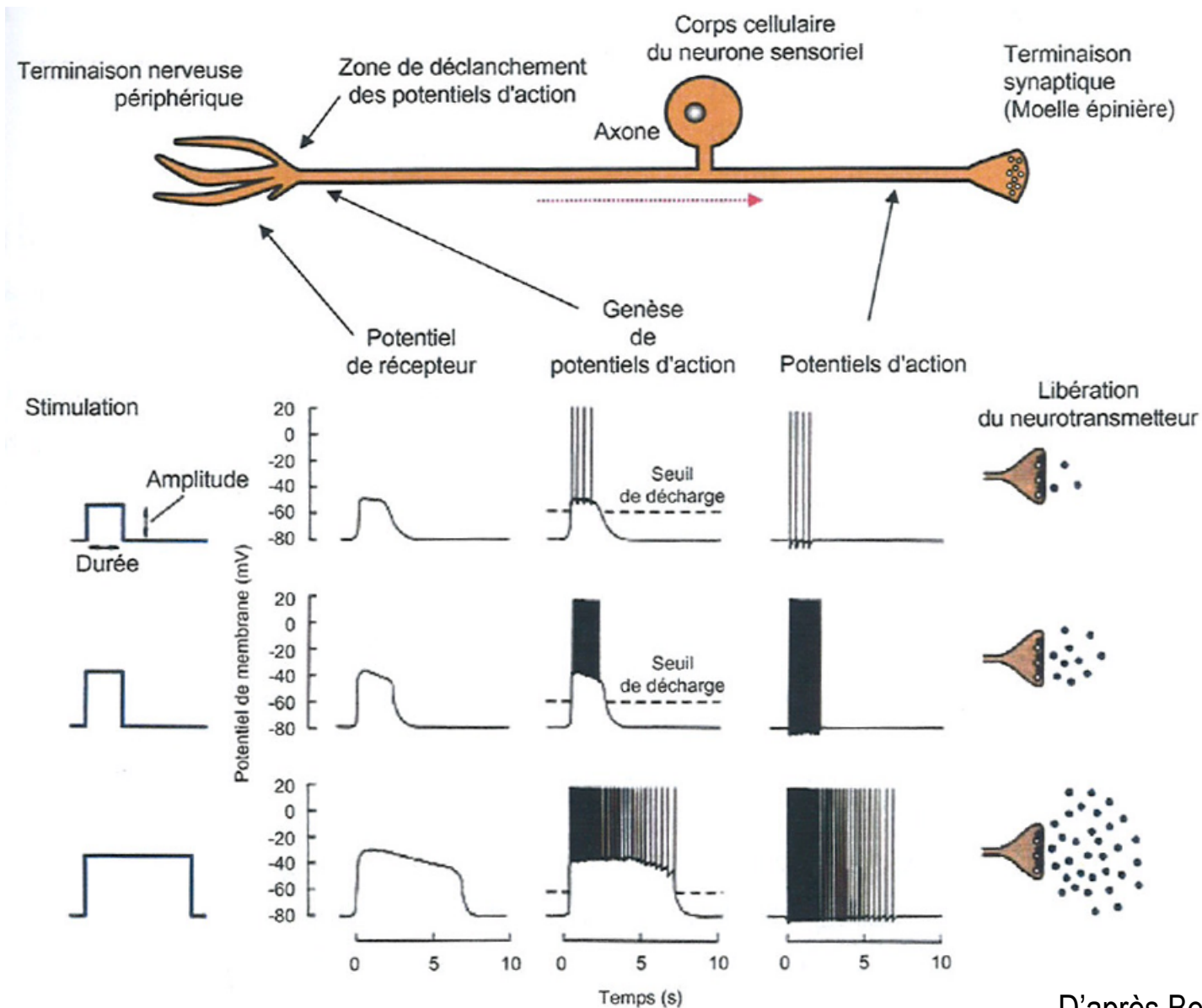
DLPT =  
dorsolateral pontine tegmentum

RVM=  
Rostral ventromedial medulla

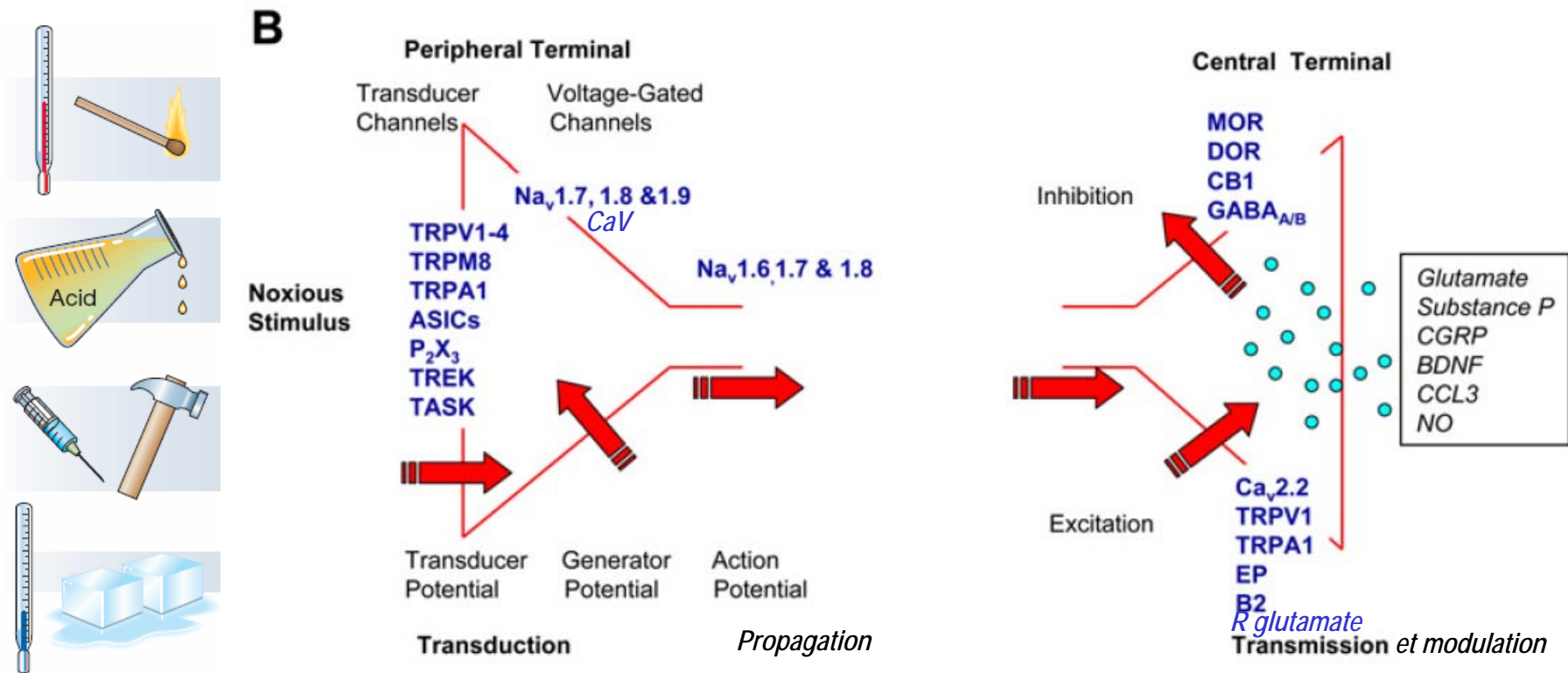
Fibres C/ A $\delta$

# Les acteurs de la nociception

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



D'après Bear et al., 1997



D'après Woolf, 2007

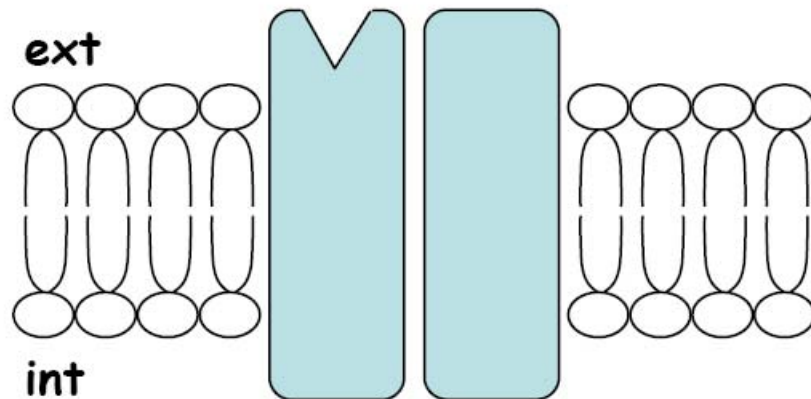
# Les canaux ioniques

# Activation des canaux ioniques (récepteur ionotropique)

Voltage  
( $\Delta V$ ) ou

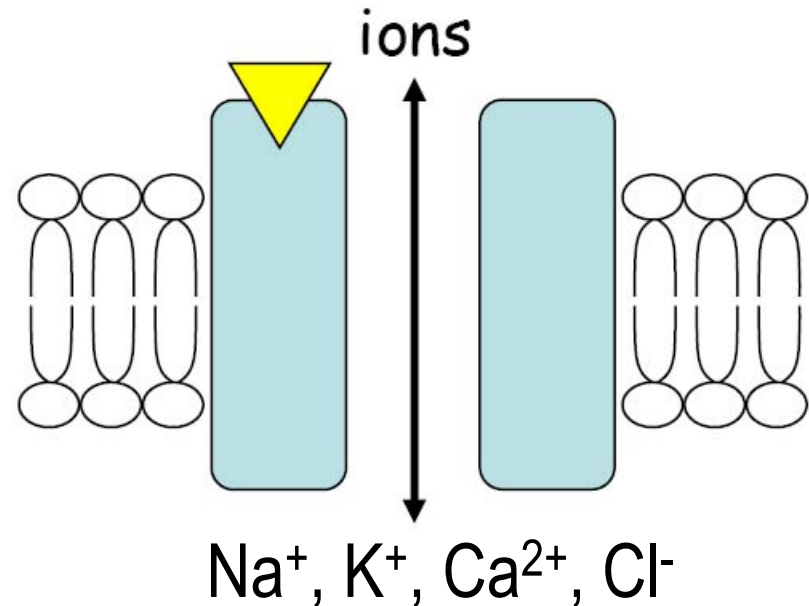


Ligand  
(Ach, glutamate,  
GABA, ATP, H<sup>+</sup>...)



**Fermé**

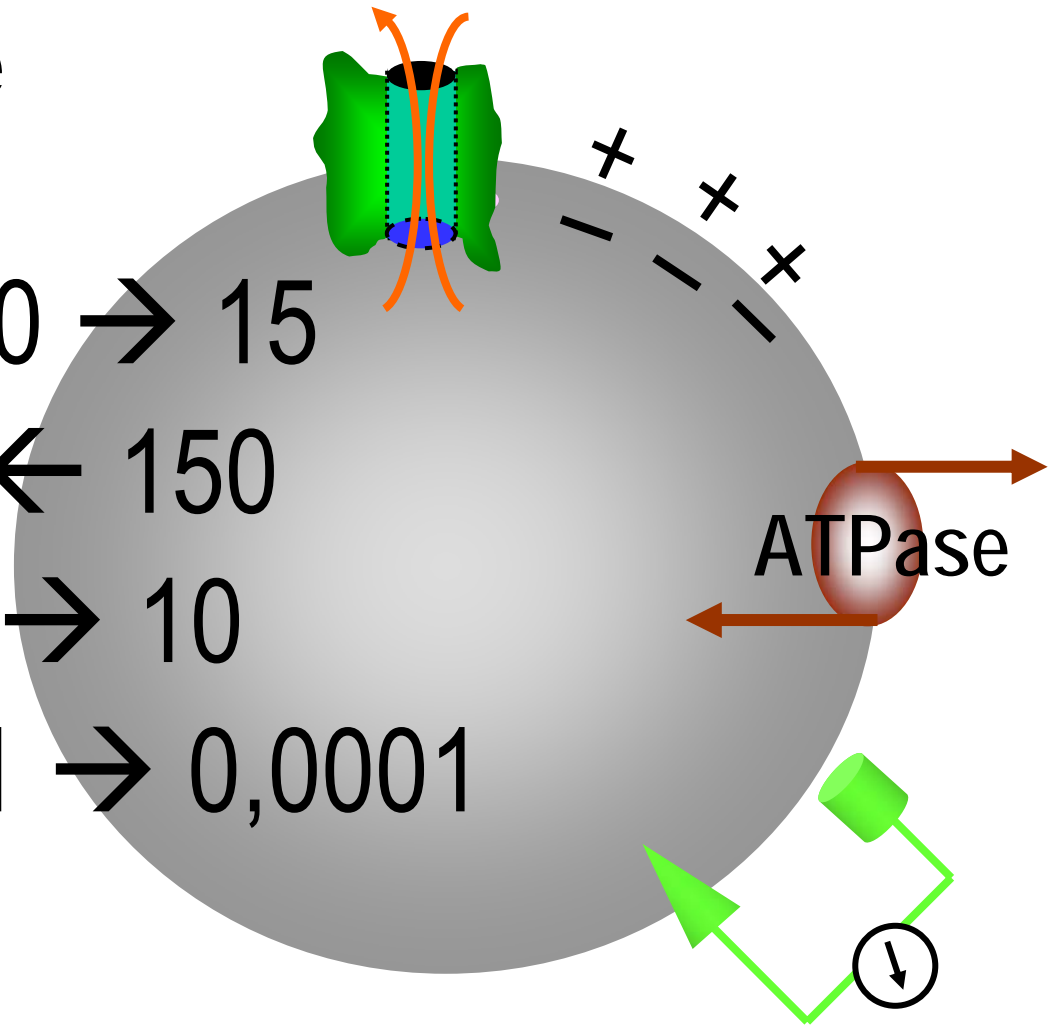
activation  
(voltage, ligand, température,  
stimulation mécanique)  
sélectivité  
conductance  
probabilité d'ouverture  
cinétiques



**Ouvert**

# Composition ionique et Em

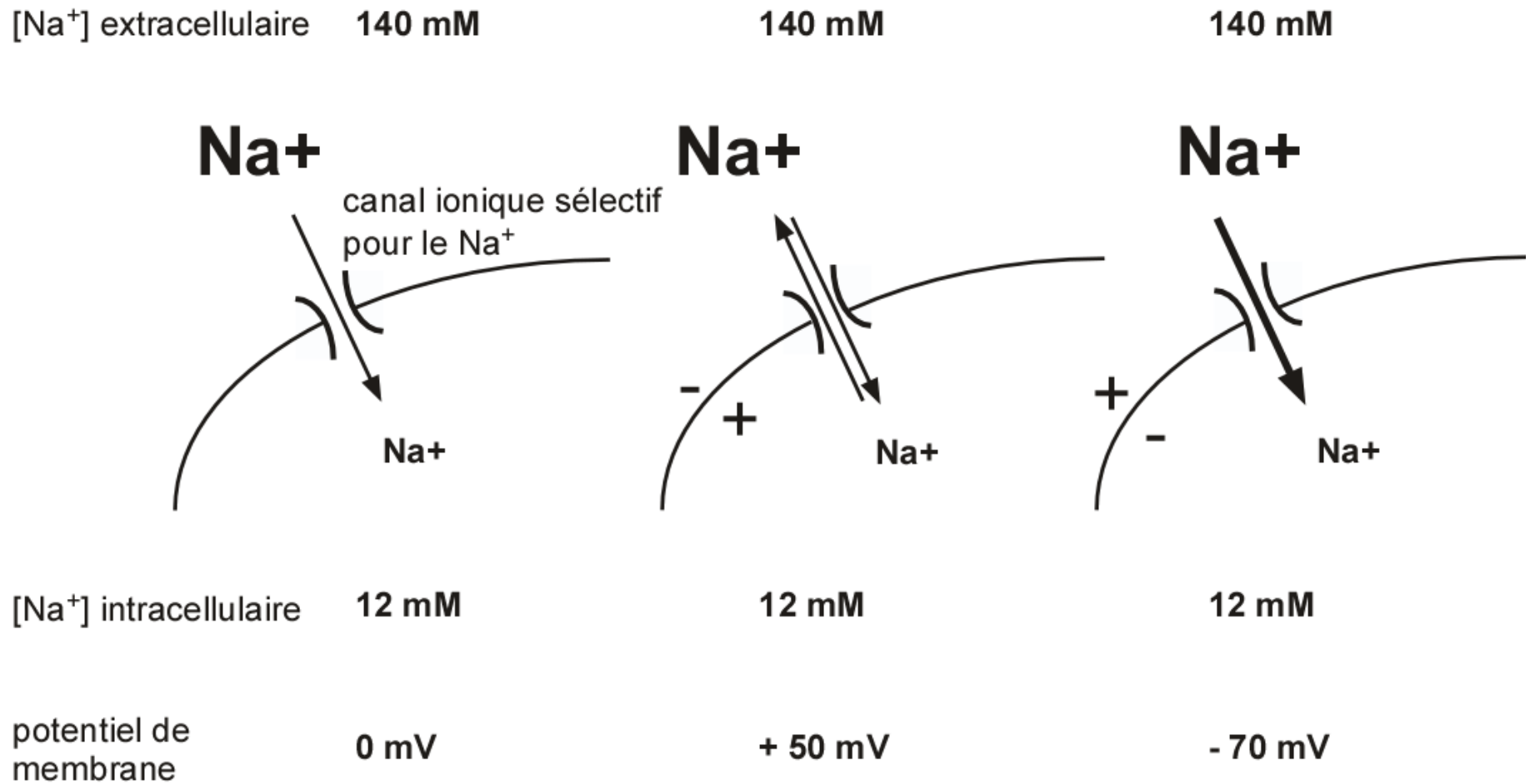
$\text{Na}^+$	150	$\rightarrow$	15
$\text{K}^+$	5	$\leftarrow$	150
$\text{Cl}^-$	110	$\rightarrow$	10
$\text{Ca}^{2+}$	1	$\rightarrow$	0,0001



ouverture canal  $\text{K}^+$  ou  $\text{Cl}^-$   
 $\rightarrow$  hyperpolarisation

ouverture canal  $\text{Na}^+$   $\rightarrow$  ddp membranaire ( $E_m$ ) à  $-70\text{mV}$   
 $\rightarrow$  dépolarisation  
 $\rightarrow$  seuil excitation  $\rightarrow$  PA  $\rightarrow$  influx

Les gradients ioniques et électriques transmembranaires déterminent la direction des courants (exemple du Na<sup>+</sup>)



potentiel d'équilibre:  $E_{Na} = RT/zF \cdot \ln ([Na^+]_{ext} / [Na^+]_{int})$

# La transduction

# La nociception chimique

**Stimulus externe :** rare, piquûre (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 ...*)
- neuropeptides (*substance P, CGRP ...*)
- médiateurs pro-inflammatoires  
(*histamine, bradykinine, PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub> ...*)

# La nociception thermique

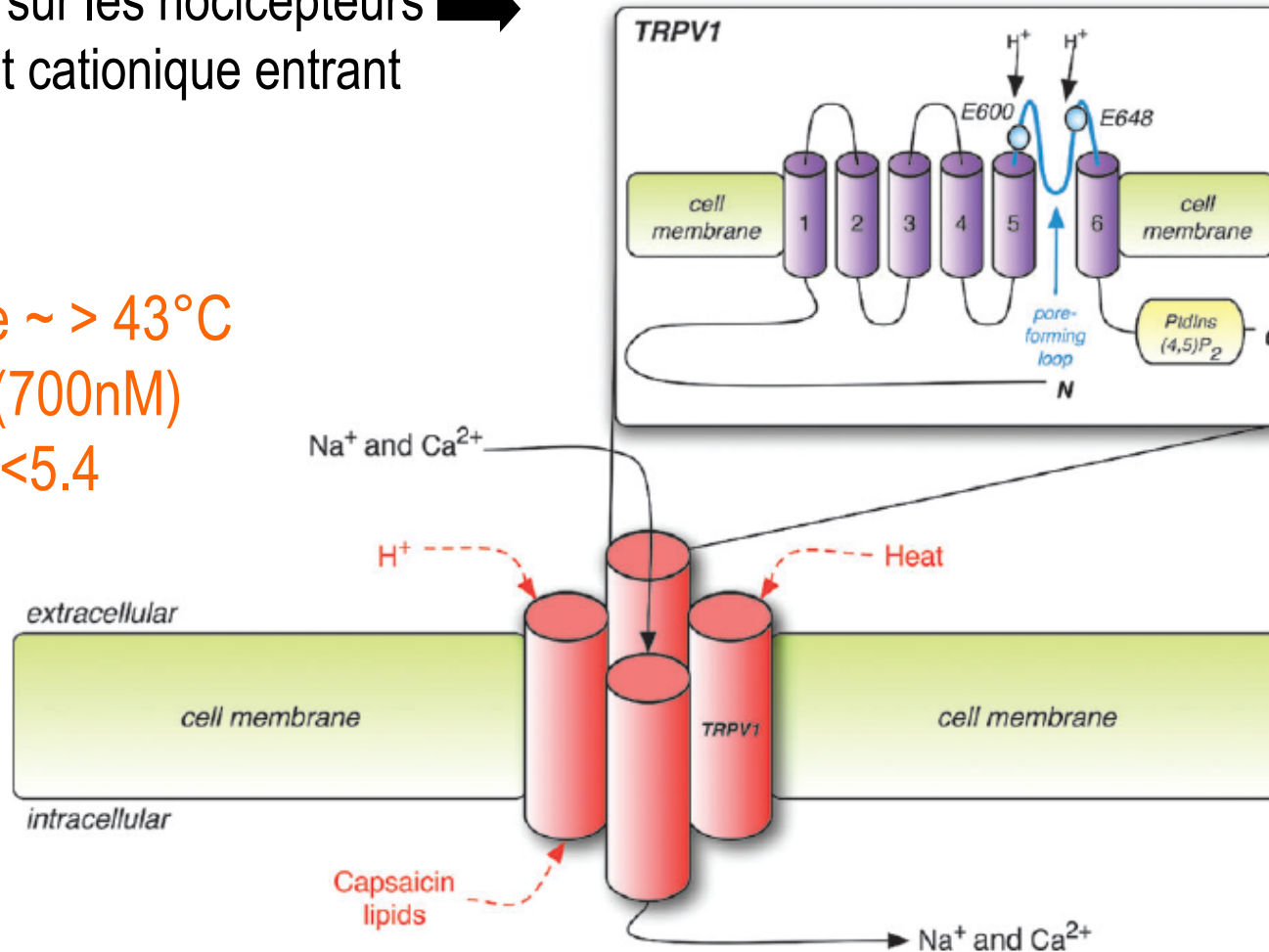
**Seuil** chaud > 42°C, diminution après insulte (hyperalgésie thermique)  
froid < 10°C

# Le récepteur aux vanilloïdes TRPV1

(transient receptor potential vanilloid 1)

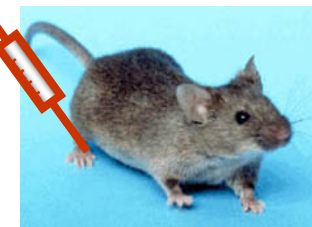
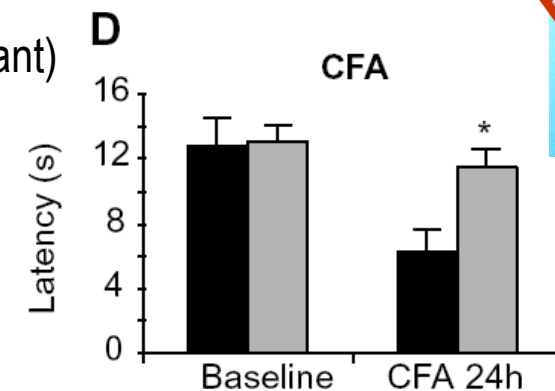
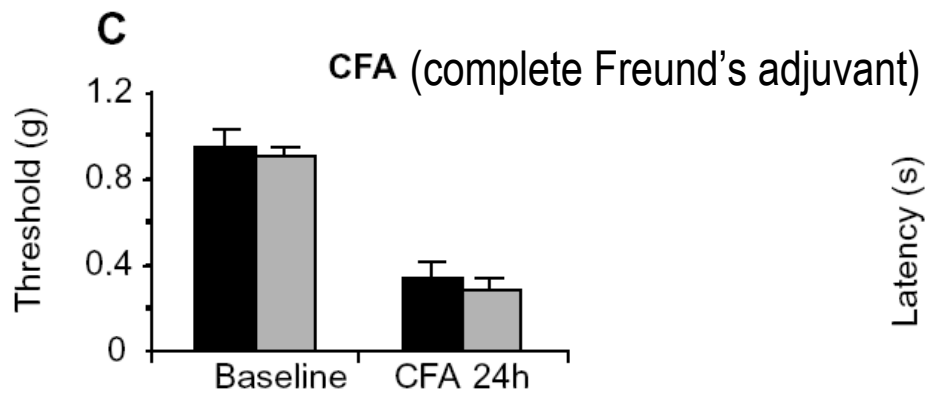
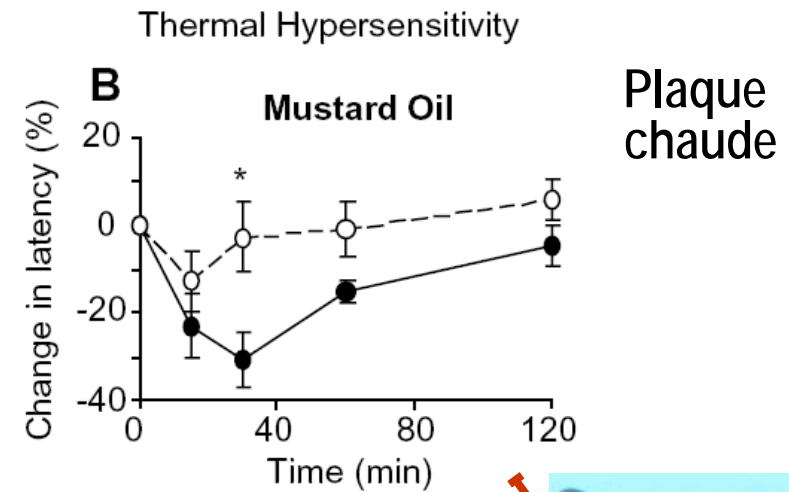
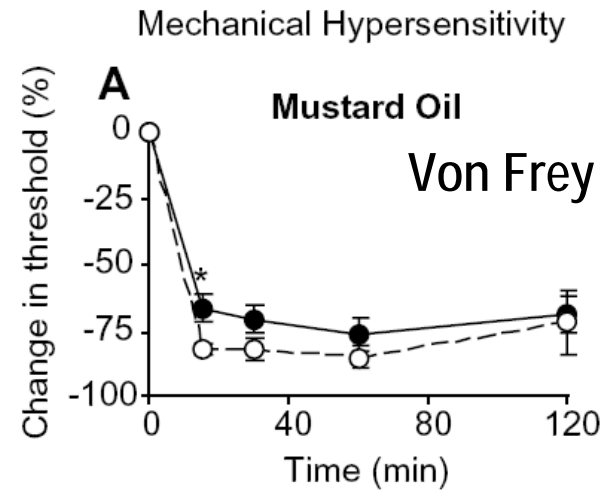
température sur les nocicepteurs →  
courant cationique entrant

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



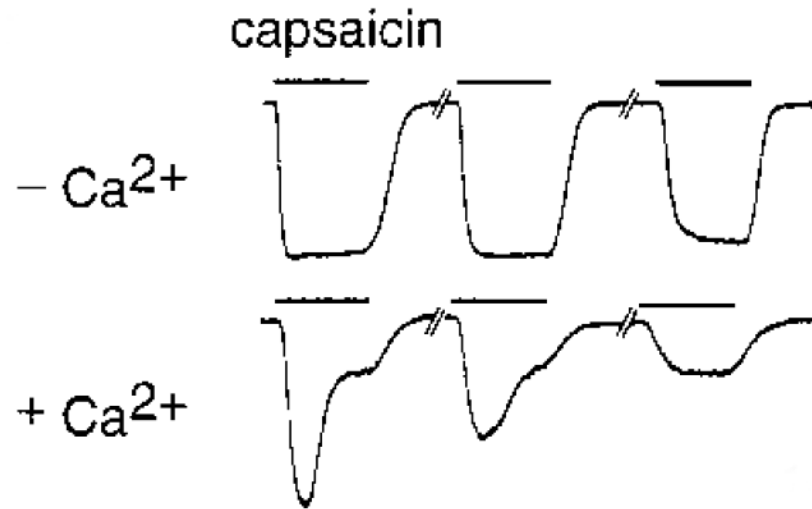
appartient à la famille des canaux TRP (transient receptor potential ion channels)

# TRPV1 participe à l'hyperalgésie thermique inflammatoire

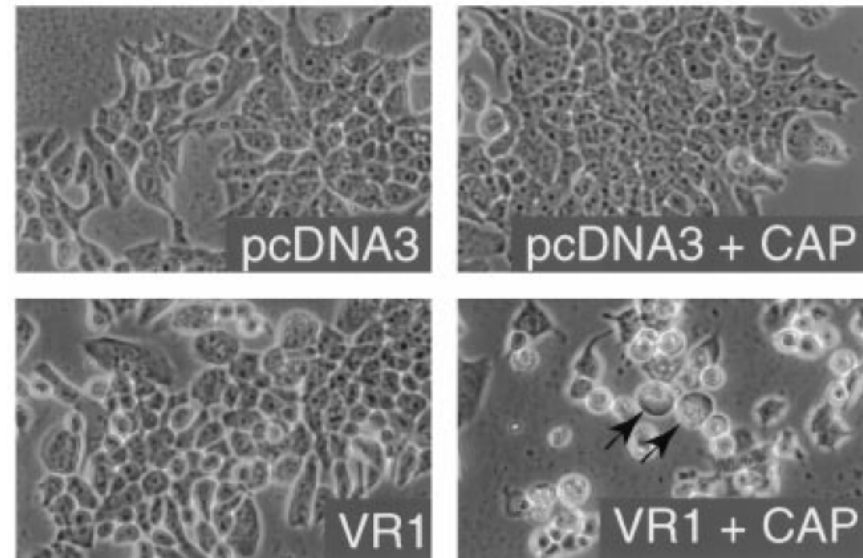


# Expliquer les effets analgésiques de la capsaïcine

→ TRPV1 desensibilise en presence de  $\text{Ca}^{2+}$



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



cellules HEK293 transfectées

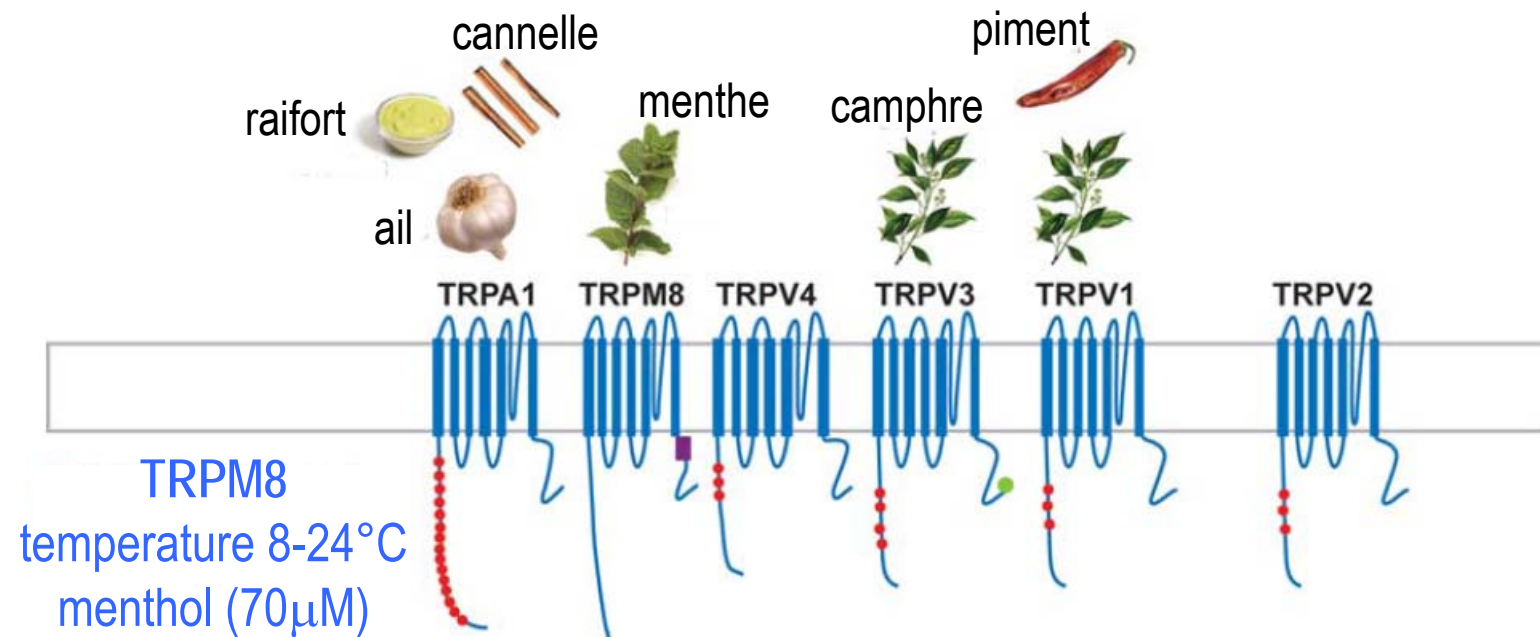
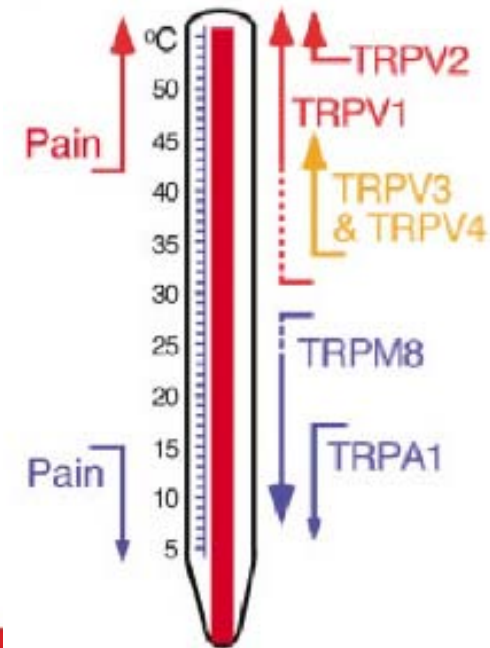
# Nouveaux modulateurs de TRPV1

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

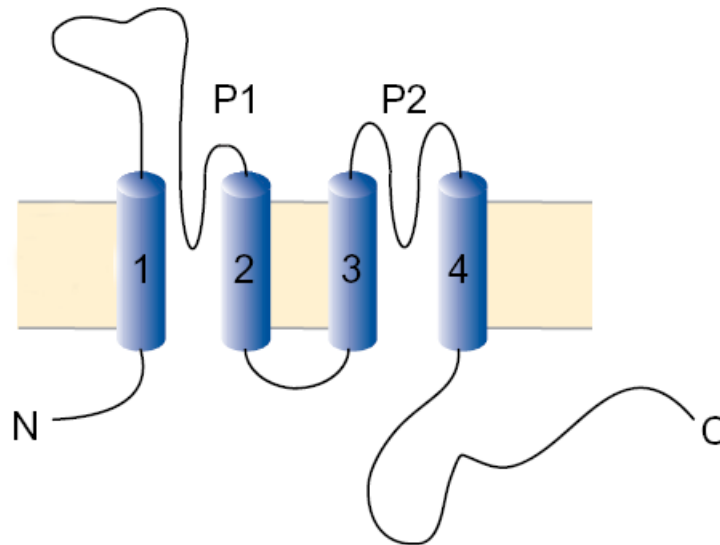
\*This compound is no longer listed in the GlaxoSmithKline pipeline for migraine. TRPV1, transient receptor potential vanilloid subfamily, member 1.

# Canaux TRP dans les nocicepteurs

TRPA1, TRPM8, TRPV4,  
TRPV3, TRPV2 and TRPV1  
(temperature sensitive)



# Les canaux K2P (TREK), une implication multiple dans la nociception



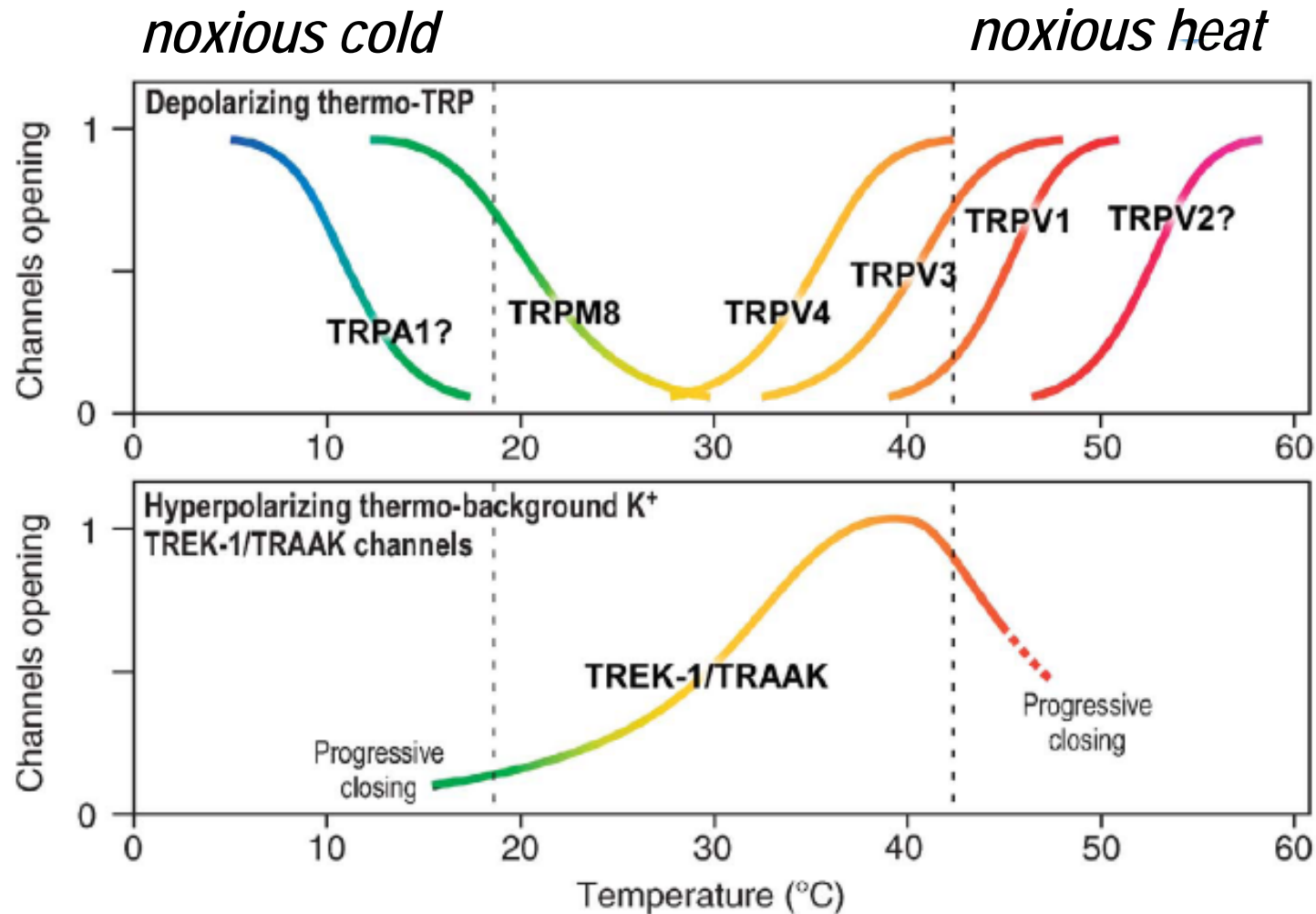
ouverture → hyperpolarisation

## Canal TREK1

Activés par: étirement membranaire, lipides, chaleur, pH intracellulaire (acide), anesthésiques volatiles

*KO: augmentation de la sensibilité ➡ mécanosensibilité, nociception thermique (chaud), hyperalgésie thermique et mécanique (inflammation), douleur liée à l'osmolarité*

# Les canaux K2P (TREK, TRAAK), dans la nociception thermique



# Fonction des canaux "thermoTRP" et relation avec la douleur

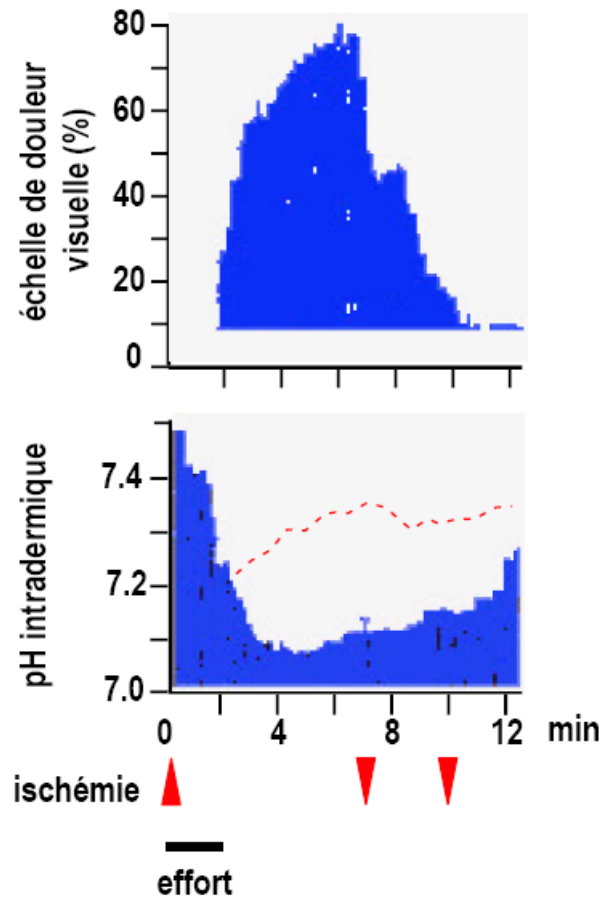
Channel	Thermal threshold	Function and phenotype
TRPV1	$\geq 43^{\circ}\text{C}$	Involved in noxious heat detection and mediates thermal hyperalgesia under inflammatory conditions
TRPA1	$\leq 17^{\circ}\text{C}$	intracellular alkalization mechanical and mustard oil- and bradykinin-induced hyperalgesia
TRPV2	$\geq 53^{\circ}\text{C}$	Responds to noxious heat in heterologous systems; upregulated during inflammation
TRPV3	$\geq 33^{\circ}\text{C}$	Involved in warm and noxious heat detection
TRPV4	$\geq 25^{\circ}\text{C}$	Involved in warm temperature sensation; controversial reports about its involvement in mediating noxious heat pain and thermal hyperalgesia
TRPM8	$\leq 23^{\circ}\text{C}$	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.

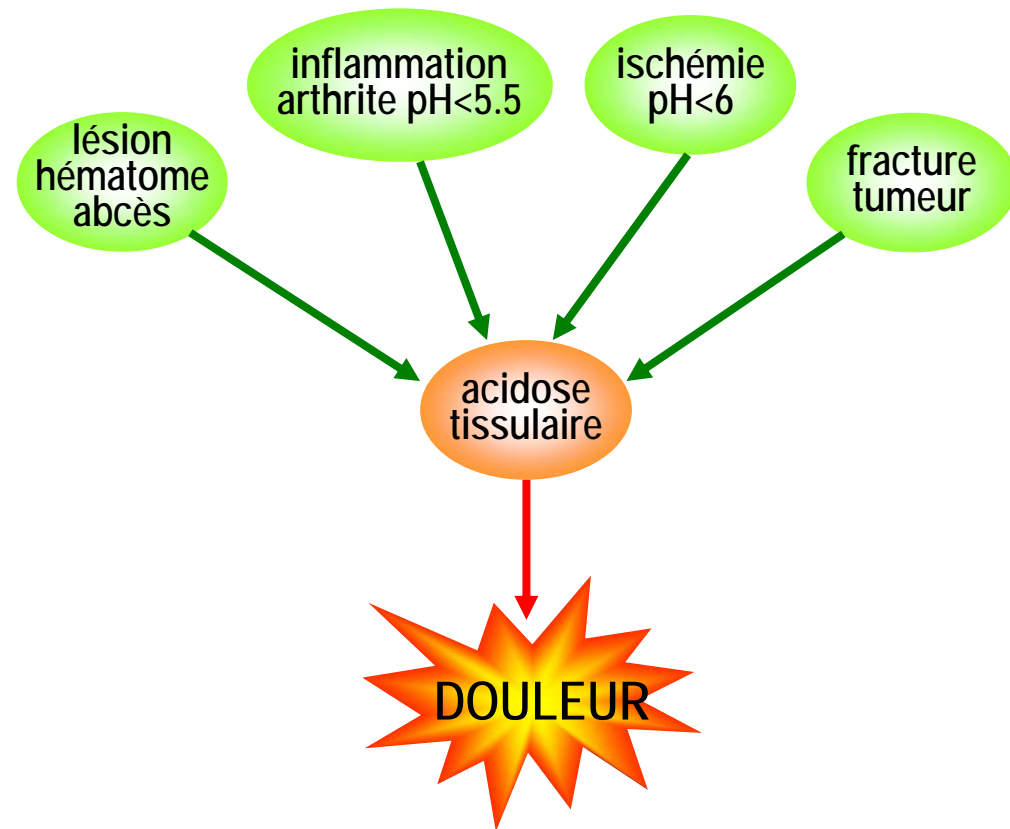
d'après Szallasi et al., NATURE REVIEWS DRUG DISCOVERY 2007

# Acidose tissulaire et douleur

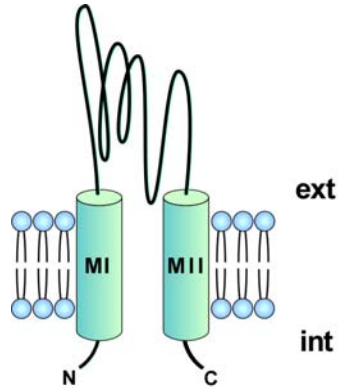
## Corrélation douleur/acidose



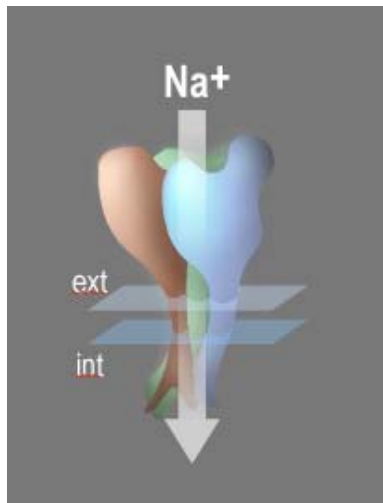
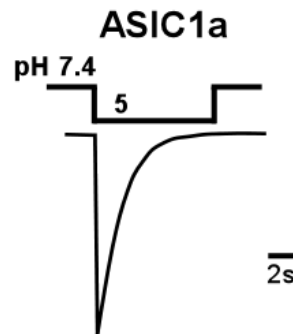
## Conditions d'acidose



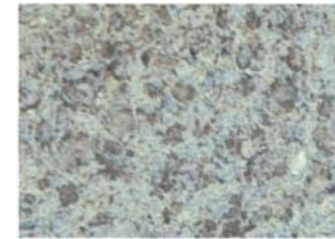
# Acid-Sensing Ion Channels (ASIC): Des senseurs de l'acidité extracellulaire dans les nocicepteurs



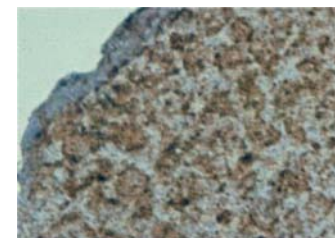
Ouverts dès  $\text{pH} \leq 7.2$   
dépolarisent



**Control**

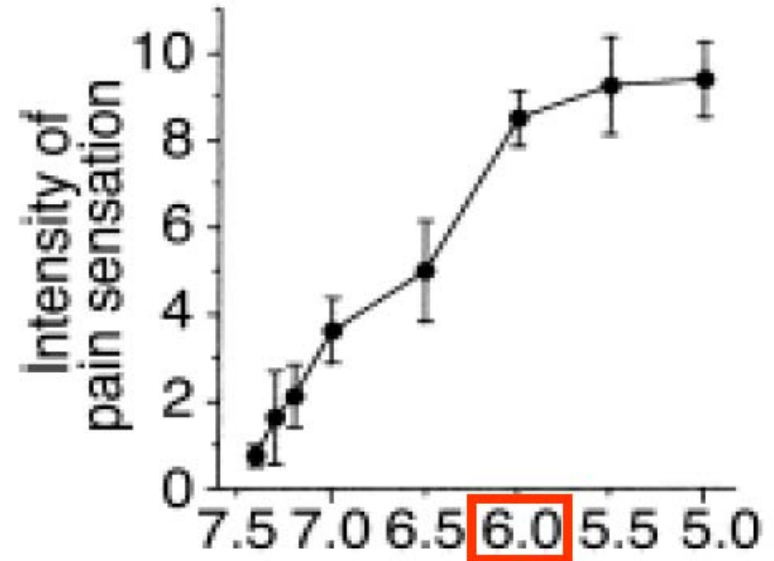


**Inflammation**

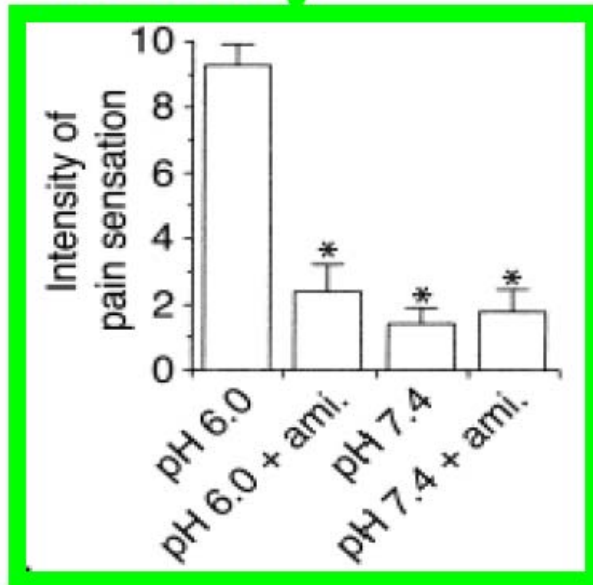


Douleur évoquée chez l'homme  
injection hypodermique d'acide et  
quantification de la douleur de 1 à  
10

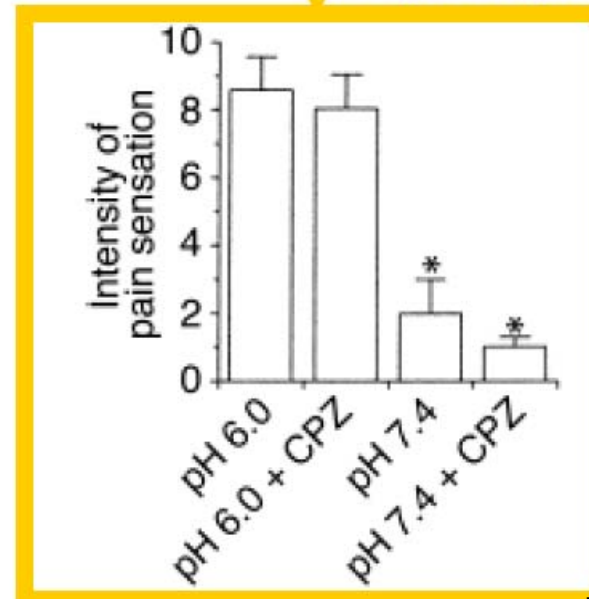
(Ugawa *et al.*, 2002)



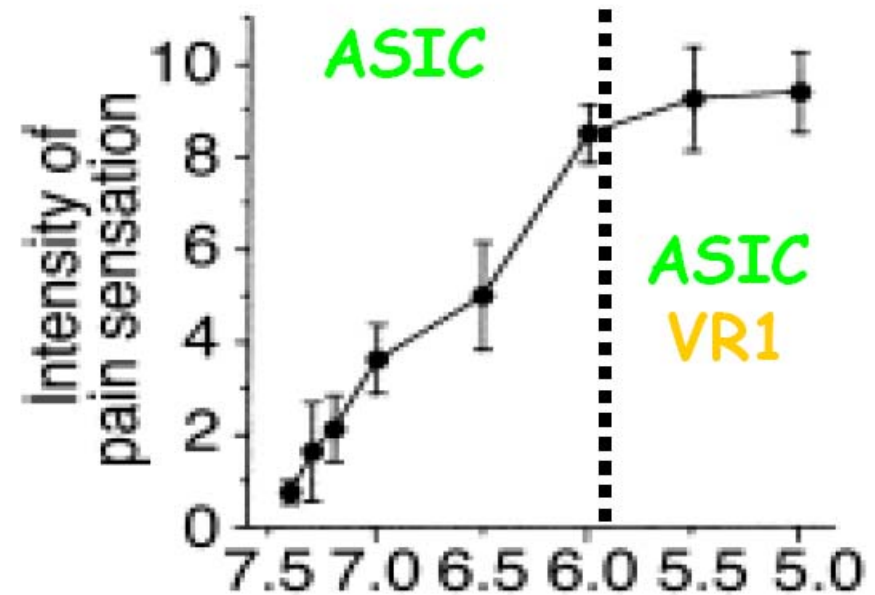
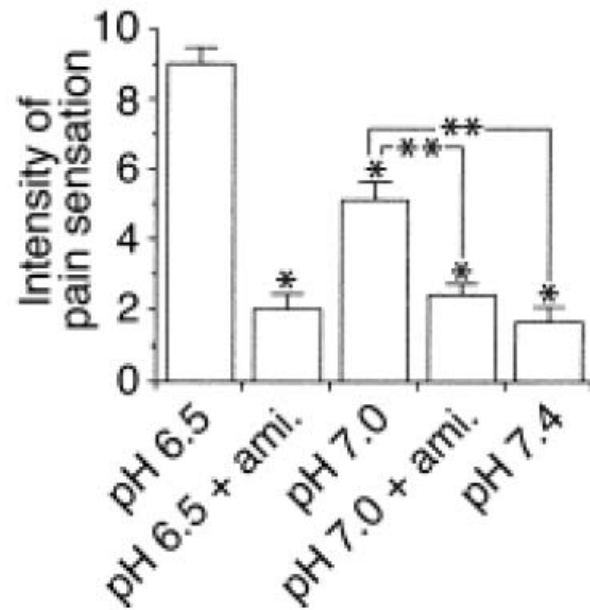
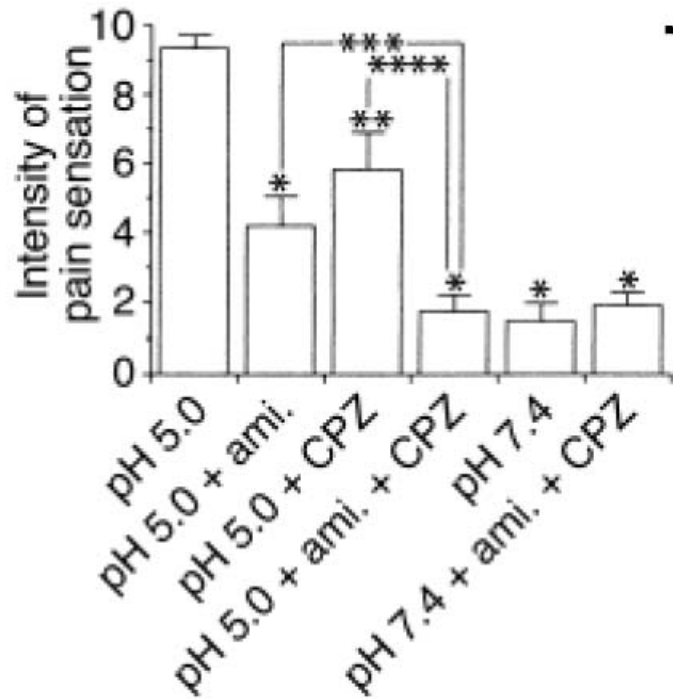
Amiloride (200 $\mu$ M)



Capsazépine (100 $\mu$ M)



d'après Deval 2008



**ASICs : principaux senseur de l'acidose des nocicepteurs humains** (Ugawa *et al.*, 2002)

# Les canaux ASIC : des cibles pharmacologiques potentiels

## ASIC périphériques      inflammation / sensibilisation périphérique

- ▶ augmentation de l'expression et de l'activité ➡ hyperalgesie
- ▶ expression dans les neurones à bas seuil ➡ allodynie

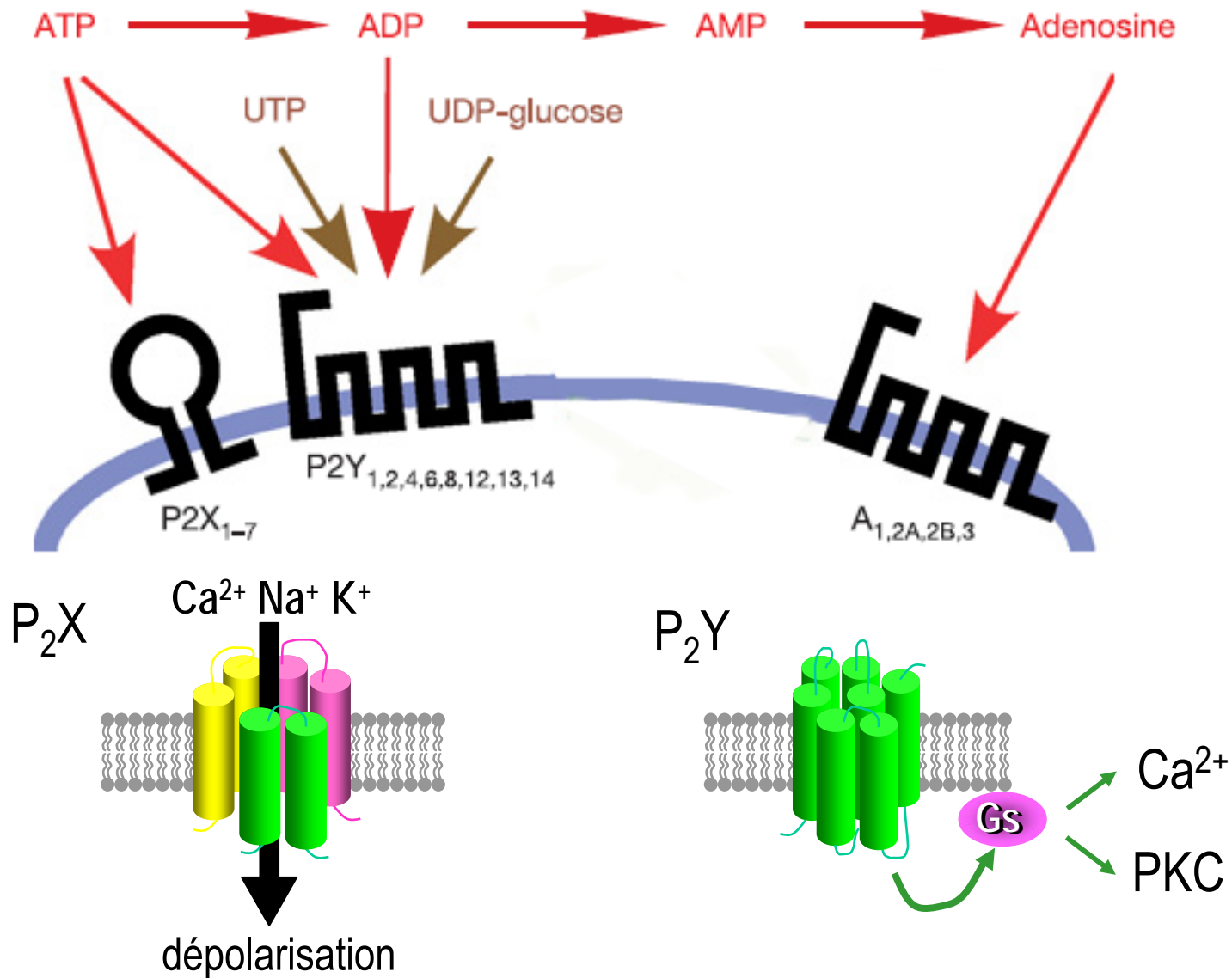
## ASIC centraux      douleur chronique / sensibilisation centrale

- ▶ les ASIC sont directement inhibés par les AINS  
(aspirin, diclofenac, ibuprofen, flurbiprofen)

15 Sep 2008 –

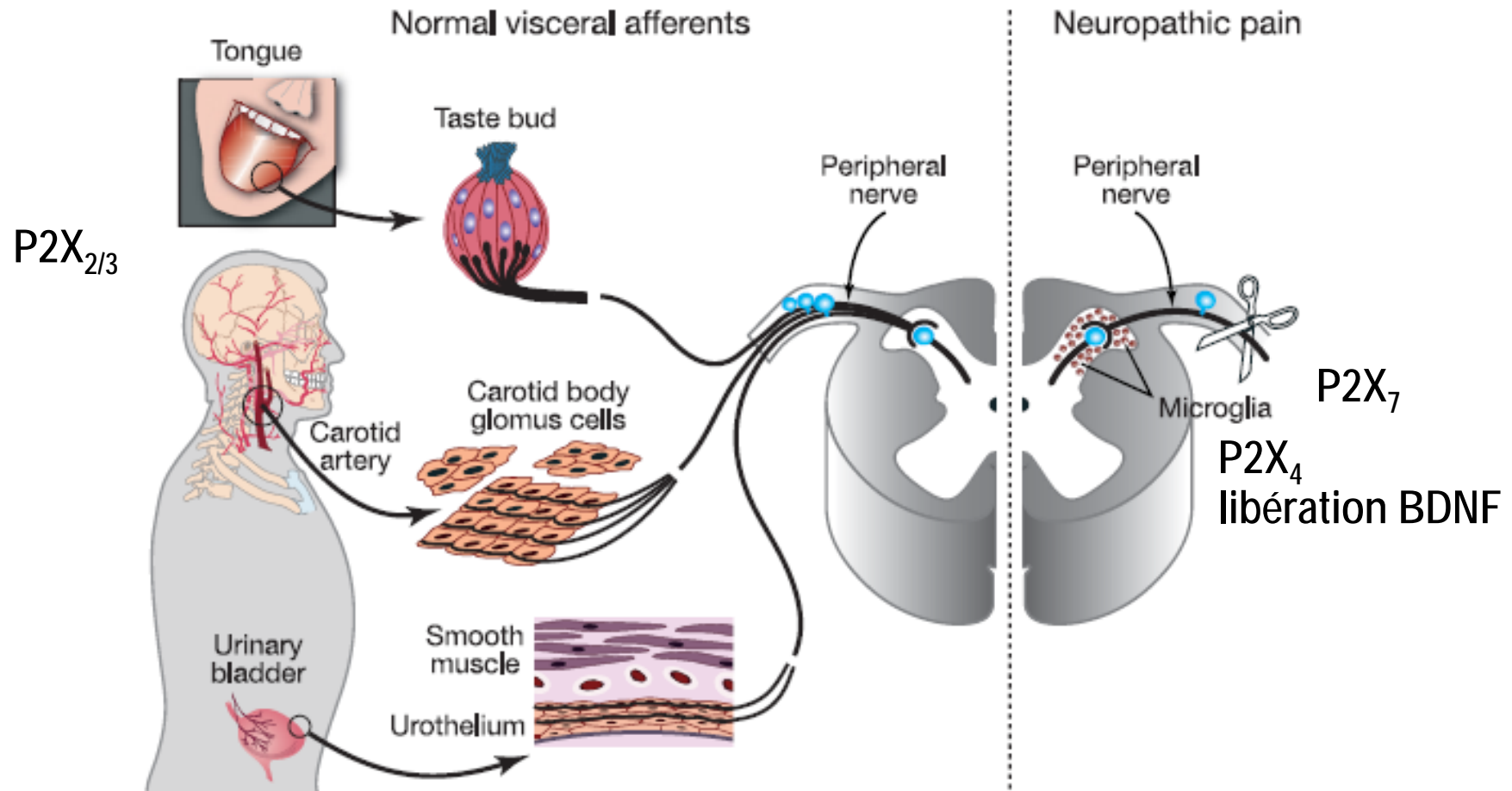
*PainCeptor Pharma announced that PPC-5650, a potent ASIC1a antagonist, reduces thermal and mechanical hyperalgesia in a human inflammatory pain model, thereby validating ASICs as novel molecular targets for the treatment of pain.*

# Les récepteurs purinergiques (ATP)



P2X<sub>3</sub> est exprimé spécifiquement par les nocicepteurs non-peptidergiques

# Les canaux P2X participent à la transduction sensorielle

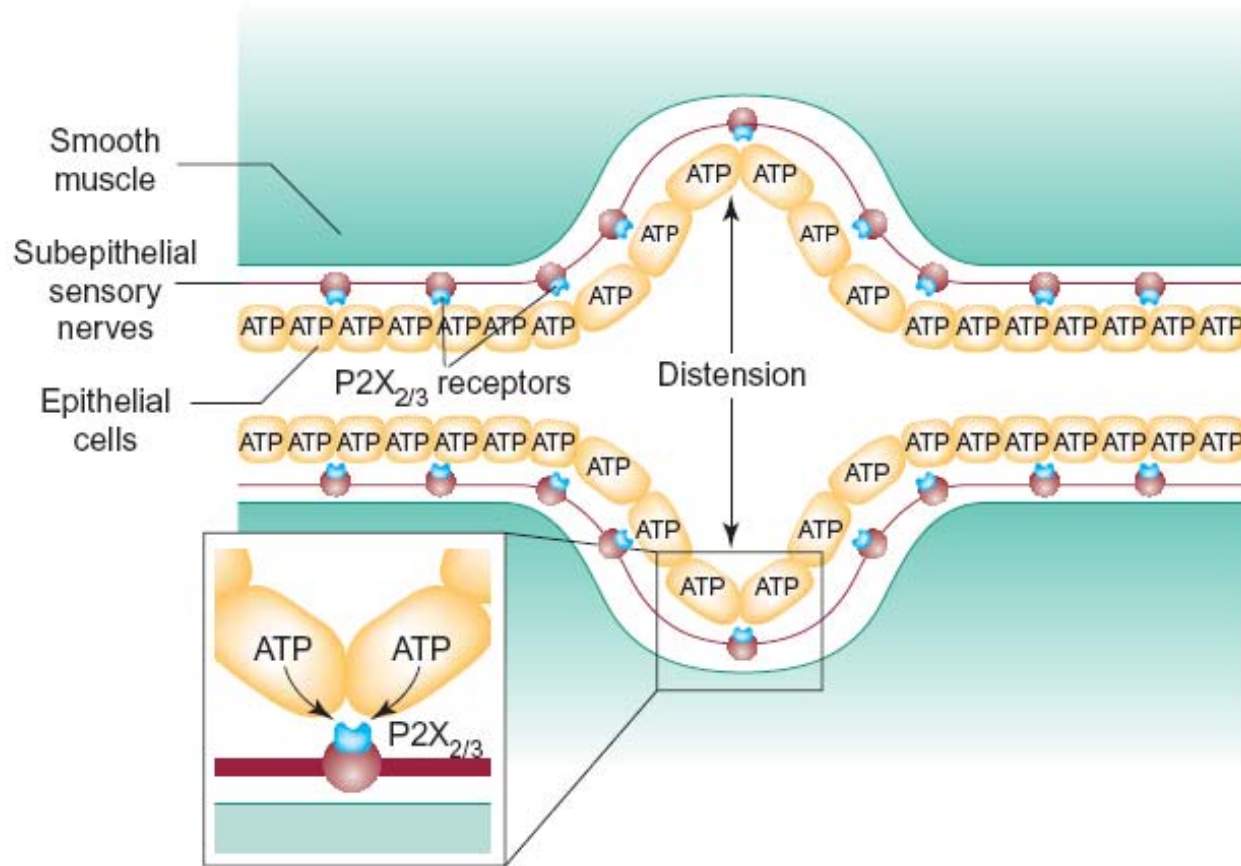


ATP relargué par les cellules sensorielles

# P2X<sub>3</sub> participe à la nociception mécanique

La libération d'ATP par les épithéliums étirés active les récepteurs purinergiques P2X<sub>2/3</sub> des nocicepteurs

(a)



Souris KO P2X<sub>3</sub> avec une allodynie mécanique atténuée

# Les canaux P2X comme cibles pharmacologiques

## Antagonistes P2X3

- ▶ A-317491 (Abbott Laboratories) sur la douleur inflammatoire et neuropathique dans des modèles animaux

## Antagonistes P2X7

- ▶ A740003, A438079 (Abbott Laboratories) sur la douleur inflammatoire et Neuropathique dans des modèles animaux

## Antagonistes P2X4?

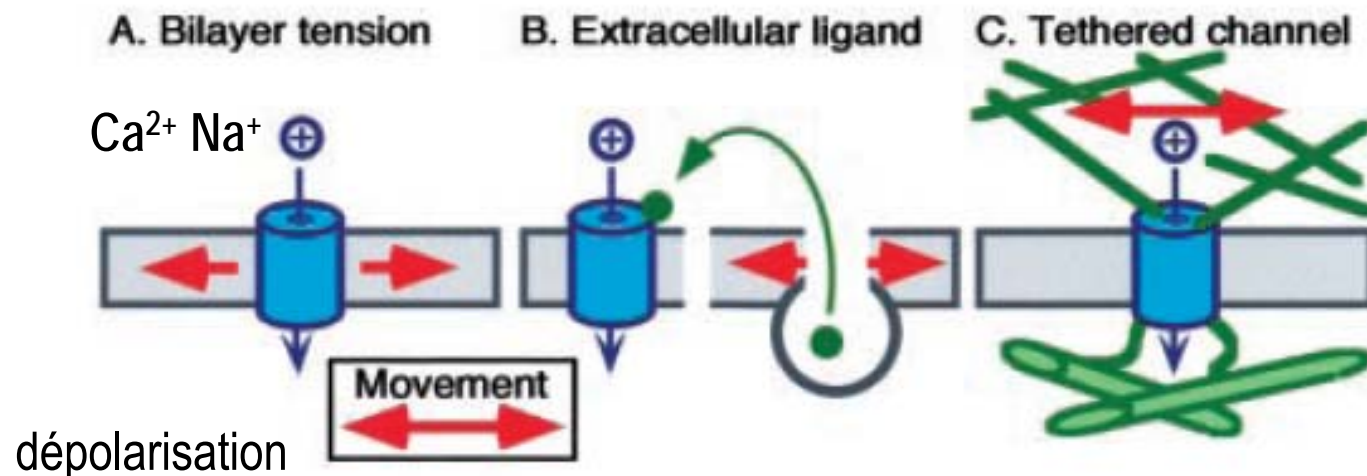
# La nociception mécanique

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

Différente de la perception tactile : nocicepteurs (à haut seuil)

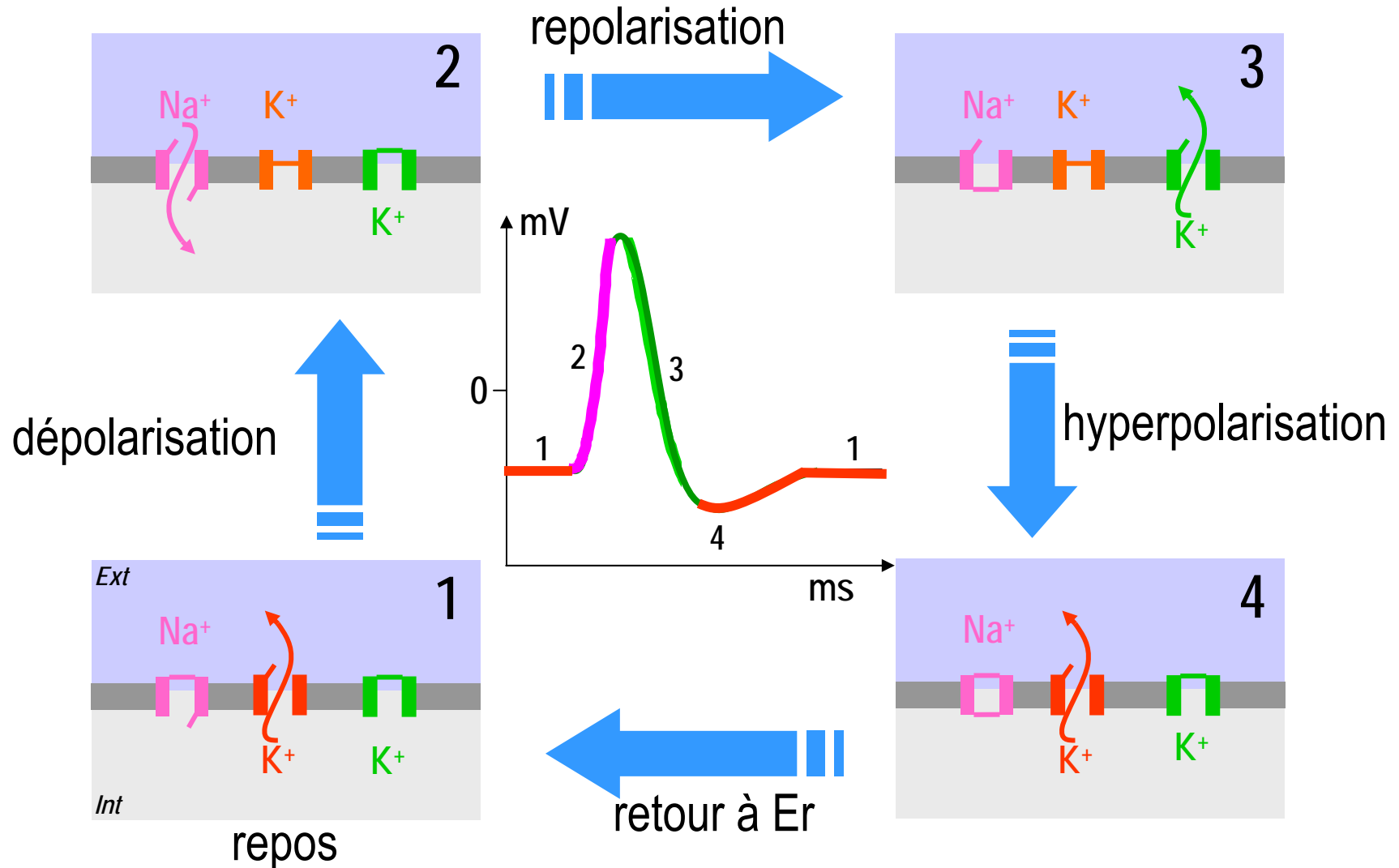
Déformation des extrémités des neurones sensoriels :

activation de canaux ioniques mécanosensibles



# La transmission

# Le potentiel d'action



# Les canaux $\text{Na}^+$ dépendants du voltage ( $\text{Na}_V$ ou VGSC)

## Généralités sur les VGSCs

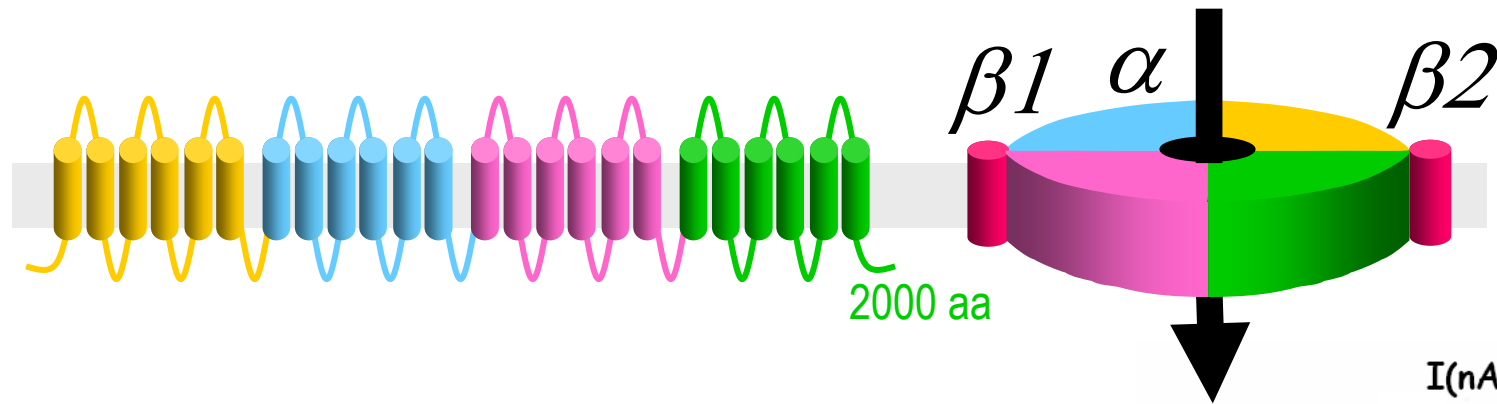
- Parmi les canaux ioniques dépendants du voltage, les VGSCs ont une importance spéciale dans l'histoire de la physiologie.
- Découverte de leurs propriétés fondamentales (axone de calmar, Hodgkin & Huxley 1952).
- Premier canal voltage-dépendant cloné (Noda *et al.*, 1984).
- Importantes cibles thérapeutiques (anesthésiques locaux, anti-arythmiques, anti-convulsivants)

## Importance des VGSCs

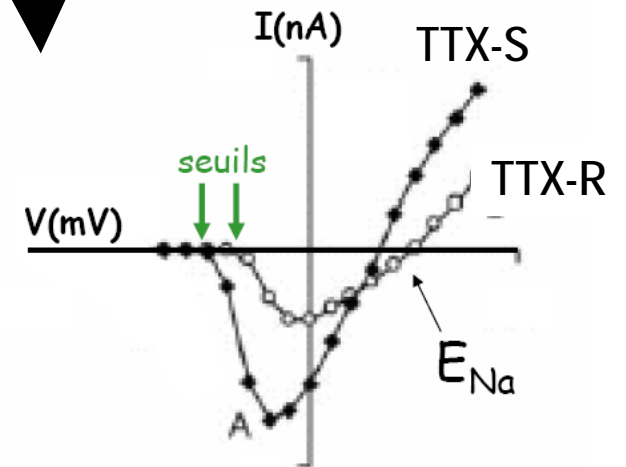
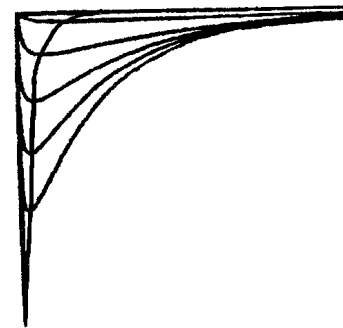
- Rôle : génération et propagation du signal électrique dans les tissus excitables (cœur, muscle, nerfs).
- L'activation des VGSCs dans ces tissus provoque une dépolarisation qui est responsable de la phase ascendante du potentiel d'action (PA).

# Les canaux $\text{Na}^+$ dépendants du voltage ( $\text{Na}_v$ )

**rôles**    dépolarisation de la membrane du neurone et propagation du PA



**bloqueurs**    tétrodotoxine  
                  anesthésiques locaux  
                  anti-convulsivants  
                  anti-arythmiques



Courbe I/V

# La famille des canaux VGSCs de mammifères

Nomenclature	Distribution	Disease correlations
Na <sub>v</sub> 1.1	Brain, spinal cord	Epilepsy
Na <sub>v</sub> 1.2	Brain, spinal cord, peripheral nerve	Epilepsy
Na <sub>v</sub> 1.3 <sup>a</sup>	Brain, spinal cord	Pain
Na <sub>v</sub> 1.4	Skeletal muscle	Movement disorders
Na <sub>v</sub> 1.5	Cardiac muscle, skeletal muscle	Cardiovascular syndromes
Na <sub>v</sub> 1.6	Brain, spinal cord, DRG	Movement disorders, neurological disorders
Na <sub>v</sub> 1.7 <sup>a</sup>	DRG, endocrine glands (adrenal & thyroid)	Neuroendocrine disorders, pain
Na <sub>v</sub> 1.8 <sup>a</sup>	Peripheral nerves (small sensory neurons, DRG)	Pain
Na <sub>v</sub> 1.9 <sup>a</sup>	Spinal cord (sensory axons), DRG	Pain

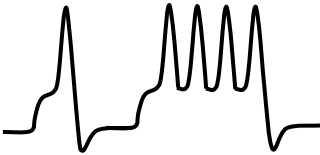

## VGSCs et douleur

Channel	Characteristics	Expression	Evidence from Animal Models	Role in Humans
<b>Nav1.3</b>	TTX-sensitive, voltage-gated sodium channel	Embryonic DRG and TG neurons, spinal cord, and thalamus; upregulated in DRG and dorsal horn neurons following nerve injury	Loss of function attenuates pain-related behavior	Na <sup>+</sup> channel blockers including local anesthetics, anticonvulsants, anti-arrhythmic, and TCAs relieve pain associated with neuropathy, diabetes, osteoarthritis, and surgery. Mutations in the Nav1.7 gene ( <i>scn9a</i> ) cause erythromelalgia and paroxysmal extreme pain disorder; loss of function of Nav1.7 results in pain insensitivity.
<b>Nav1.7</b>	TTX-sensitive, voltage-gated sodium channel	Most adult DRG and TG neurons; upregulated in small DRG and TG neurons postinflammation	Loss of function reduces mechanical and thermal hypersensitivity; the Nav1.7/Nav1.8 blocker CDA54 reduces neuropathic pain in nerve injury models	
<b>Nav1.8</b>	TTX-resistant, voltage-gated sodium channel	Small and medium DRG and TG neurons; upregulated in small DRG neurons after inflammation; down-regulated in small DRG neurons in nerve injury models	Decrease in sensitivity to noxious thermal and mechanical stimuli in knockout mouse; Nav1.8 blocker A-803467 reduces mechanical allodynia and thermal hyperalgesia	
<b>Nav1.9</b>	TTX-resistant, voltage-gated sodium channel	Small and medium DRG and TG neurons; silent nociceptors; upregulated function in DRGs postinflammation	Loss of function reduces mechanical and thermal hypersensitivity associated with inflammatory pain	

From Delmas, Cell 2008

# Les Na<sub>v</sub> et la nociception: Deux types de canaux, deux rôles

Le nocicepteur comporte des TTX<sup>S</sup> (ubiquitaires) et TTX<sup>R</sup> (Nav1.8 et Nav1.9; spécifiques) avec propriétés propres et plasticité d'expression.

	TTX <sup>S</sup>	TTX <sup>R</sup>	
<i>E<sub>m</sub> d'activation</i>	-65mV	-40mV	
<i>Inflammation</i>	= ↑	↑ + P	firing rapide PA large hyperexcitabilité 
<i>Lésion, neuropathie</i>	↑	↓	rapide, spontané décharges ectopiques 

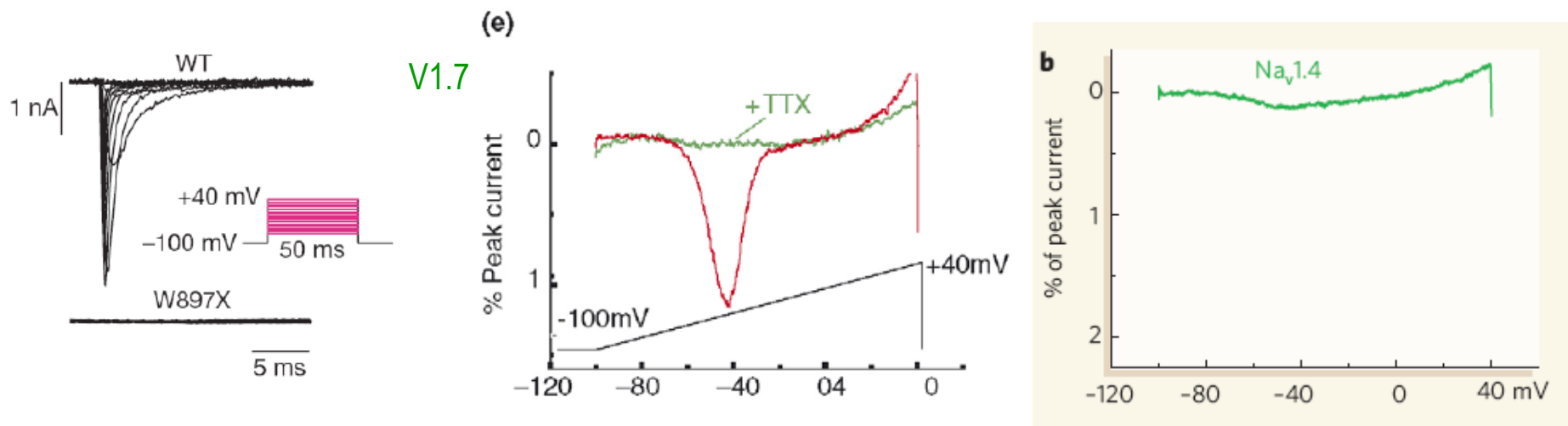
## ARTICLES

## An *SCN9A* channelopathy causes congenital inability to experience pain

James J. Cox<sup>1\*</sup>, Frank Reimann<sup>2\*</sup>, Adeline K. Nicholas<sup>1</sup>, Gemma Thornton<sup>1</sup>, Emma Roberts<sup>3</sup>, Kelly Springell<sup>3</sup>, Gulshan Karbani<sup>4</sup>, Hussain Jafri<sup>5</sup>, Jovaria Mannan<sup>6</sup>, Yasmin Raashid<sup>7</sup>, Lihadh Al-Gazali<sup>8</sup>, Henan Hamamy<sup>9</sup>, Enza Maria Valente<sup>10</sup>, Shaun Gorman<sup>11</sup>, Richard Williams<sup>12</sup>, Duncan P. McHale<sup>12</sup>, John N. Wood<sup>13</sup>, Fiona M. Gribble<sup>2</sup> & C. Geoffrey Woods<sup>1</sup>

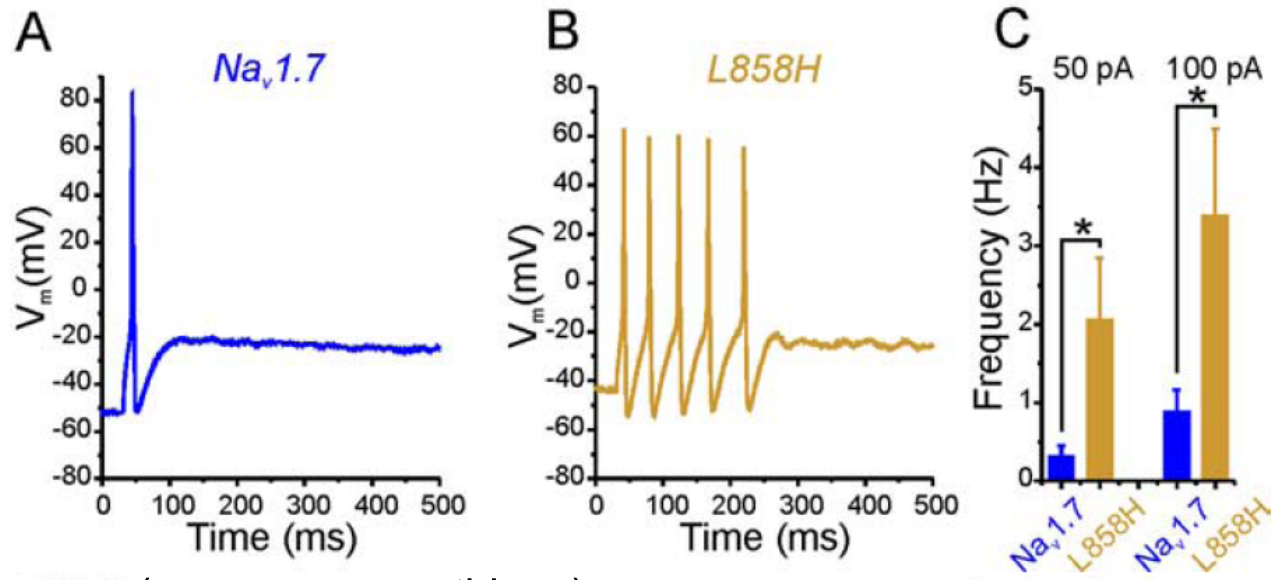
NaV1.7: Mutations perte-de-fonction = insensibilité congénitale à la douleur  
 Mutations gain-de-fonction = érythromélgie (amplification de la sensation douloureuse) et “paroxysmal extreme pain disorder” (PEPD)

**Rôle:** Amplification du “potentiel générateur” des nocicepteurs

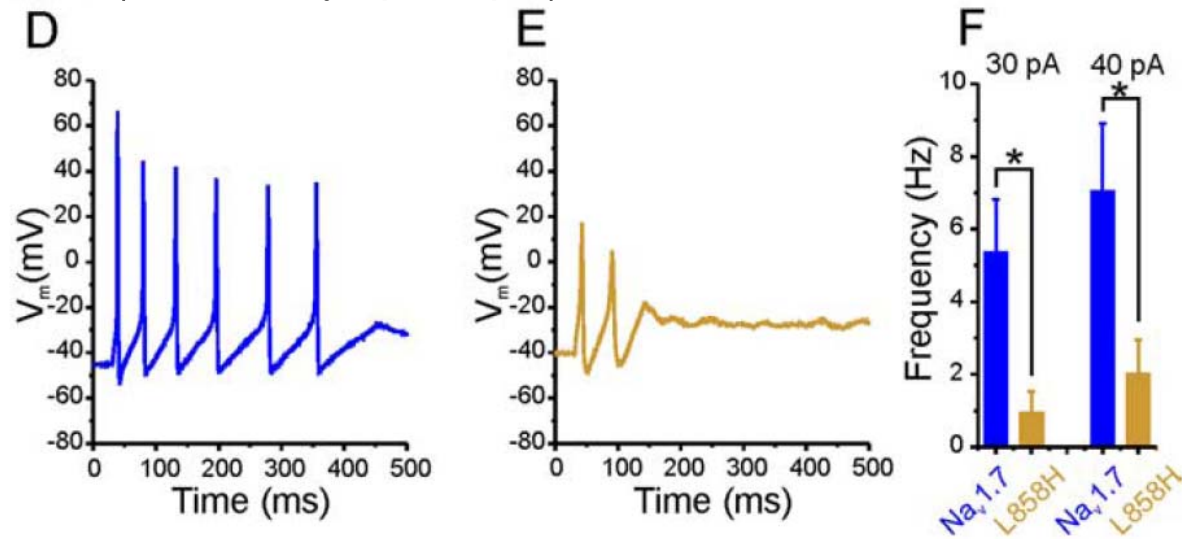


# L'effet d'une mutation dépend du contexte cellulaire

DRG (neurone sensoriel)



SCG (neurone sympathique)



# Canaux VGSC comme cibles thérapeutiques

pharmacologie  
antinociceptive

Anesthésiques locaux  
(lidocaïne)

Douleur chronique et  
neuropathique

i.t. injections (lamotrigine)

développements

TTX<sup>R</sup>, NaV1.7

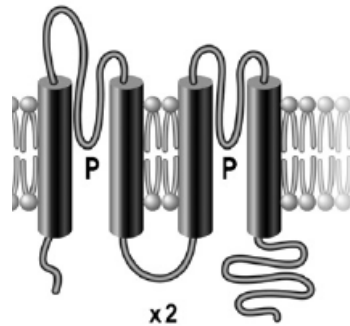
## Statut de différents inhibiteurs des VGSC dans le traitement de la douleur chronique et neuropathique

Strategy	Pros	Cons	Latest developments	Who is working on this strategy
Existing AEDs and cardiac drug with VGSC activity, used for pain	Modest efficacy in pain	Nonselective, nonpotent, careful patient monitoring for side effects, modest efficacy	Examples: Lamotrigine, carbamazepine	Many
Nonspecific use-dependent VGSC inhibitors in clinical trials for pain	Good oral activity in preclinical pain models, clinical efficacy unknown but reported to be safe	Nonselective, nonpotent, modest use-dependence	Ralfinamide	Newron Pharmaceuticals SpA ( <a href="http://www.newron.com/">http://www.newron.com/</a> )
Subtype-specific VGSC inhibitors (preclinical)	Use-dependent, relatively subtype-selective, good oral activity in pain models with preclinical safety profile	Unknown	VX-409	Vertex Pharmaceuticals/ GlaxoSmithKline ( <a href="http://www.vpharm.com/">http://www.vpharm.com/</a> )

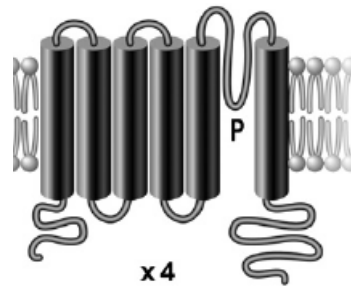
# Canaux K<sup>+</sup> et douleur

Channel	Characteristics	Expression	Evidence from Animal Models	Role in Humans
<b>KCNQ</b>	6 TM voltage-gated K <sup>+</sup> channels of the Kv7 family	Kv7.2, Kv7.3, and Kv7.5 are expressed in DRG neurons and at synapses of the pain transmission pathway	Retigabine reduces pain hypersensitivity, musculoskeletal pain, and behavioral hypersensitivity to mechanical and cold stimulation	Channel openers and second generation ligands are being developed for the treatment of migraine, muscle pain, and pain associated with osteoporosis, cancer, and neuropathy
<b>Kv1-Kv4</b>	6 TM voltage-gated, shaker-related K <sup>+</sup> channels	Kv3.4 and Kv1.4 predominate in nociceptive DRG neurons; Kv1.1 and Kv1.2 predominate in large DRG neurons; Kv4.2 is expressed in dorsal horn neurons; expression of Kv3.4 and Kv4.3 in DRG is reduced after injury and Kv1.1-1.4 are reduced after axotomy	Downregulation of Kv3.4 causes mechanical hypersensitivity; downregulation of Kv1.1 antagonizes antinociception	Possible role (Kv1.1) in antinociception induced by TCAs and H1-antihistamines; Kv4.2 may contribute to visceral pain states and to ERK-dependent forms of pain hypersensitivity
<b>SK1-SK3</b>	6 TM, small conductance Ca <sup>2+</sup> -activated K <sup>+</sup> channels	SK1 and SK2 are expressed in putative nociceptors; SK2 localizes in the superficial laminae of the dorsal horn; SK3 is expressed in DRG neurons	The SK channel blocker apamin reduces the antinociceptive effects of cannabinoids	May moderate afferent input and pain signals; possible roles in antinociception induced by TCAs, H1-antihistamines, and antiepileptic drugs
<b>TREK1</b> background K <sup>+</sup> channels	4 TM K <sup>+</sup> channel	Highly expressed in small and medium DRG neurons	Mice lacking TREK1 display enhanced sensitivity to painful heat and increased thermal and mechanical hyperalgesia	Possible role in polymodal pain perception and anesthetic-mediated antinociception

K2P (TREK)



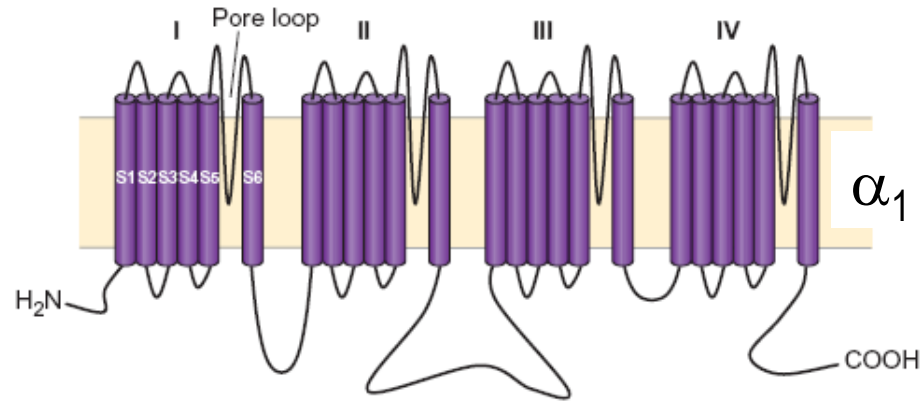
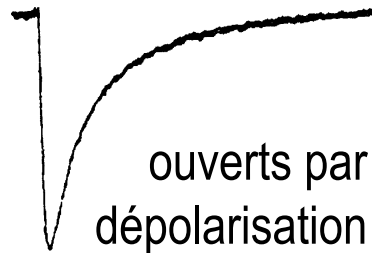
KCNQ/Kv/SK



ouverture → hyperpolarisation

# Les canaux $\text{Ca}^{2+}$ dépendants du potentiel (CaV)

structure de type NaV



$\alpha_2-\delta$ ,  
 $\beta$  et  $\gamma$   
(haut seuil)

rôles PA, transmission synaptique (exocytose), expression gènes

haut seuil

$\text{Ca}_v1.1$  L-type  
 $\text{Ca}_v1.2$  L-type  
 $\text{Ca}_v1.3$  L-type  
 $\text{Ca}_v1.4$  L-type

➔ *corps cellulaire, transcription de gènes  $\text{Ca}^{2+}$ -dépendante*

$\text{Ca}_v2.1$  P/Q-type  
 $\text{Ca}_v2.2$  N-type  
 $\text{Ca}_v2.3$  R-type

➔ *présynaptiques, libération des neurotransmetteurs*

bas seuil

$\text{Ca}_v3.1$  T-type  
 $\text{Ca}_v3.2$  T-type  
 $\text{Ca}_v3.3$  T-type

➔ *dendrites, excitabilité cellulaire*

# Canaux calcium dépendant du potentiel et douleur

Channel	Characteristics	Expression	Evidence from Animal Models	Role in Humans
<b>Cav2.2</b>	High-threshold, voltage-gated calcium channel	Small and medium DRG neurons, brainstem, thalamus; increased expression in the dorsal horn of the spinal cord in neuropathic pain models; upregulated in DRGs following nerve injury and tissue inflammation	Loss of function leads to resistance to hyperalgesia and allodynia following nerve injury	Therapeutic target for pain associated with cancer, AIDS, and neuropathies; channel blockers are antinociceptive and undergoing clinical evaluation
<b>Cav3.2-3.1</b>	Low-threshold, voltage-gated calcium channels	Small and medium DRG neurons, spinal cord, thalamus; increased current density observed in models of neuropathy	Knockdown of Cav3.2 leads to antinociceptive effects; knockout reduces pain responses and attenuates thermal hyperalgesia; channel blockers attenuate hyperalgesia (mibefradil) and mechanical allodynia (ethosuximide)	Possible involvement in migraine pain and in analgesic effects of N <sub>2</sub> O and neuroactive steroids
<b>Cav<math>\alpha</math>2<math>\delta</math>1</b>	Calcium channel auxiliary subunit	DRG neurons, dorsal horn of spinal cord, brainstem, thalamus; increased expression in DRGs and spinal cord in neuropathic pain models, nerve injury, and tissue inflammation	Knockdown reduces pain-related behaviors; R217A $\alpha$ 2 $\delta$ 1 knockin mice are unresponsive to the inhibitors gabapentin and pregabalin (used to treat pain)	Linked to fibromyalgia pain, postherpetic neuralgia, and neuropathic pain associated with cancer, diabetes, and HIV

From Delmas, Cell 2008

## Canaux de type N (Cav2.2)

Transmission du message nociceptif au niveau moelle épinière

*KO: douleur neuropathique et inflammatoire*

## Canaux de type T (Cav3.2-3.1)

Excitabilité des neurones sensoriels, sensibilisation centrale

*Knock down: analgésie (Cav3.2)*

## Régulation

augmentation en situation neuropathique et inflammatoire

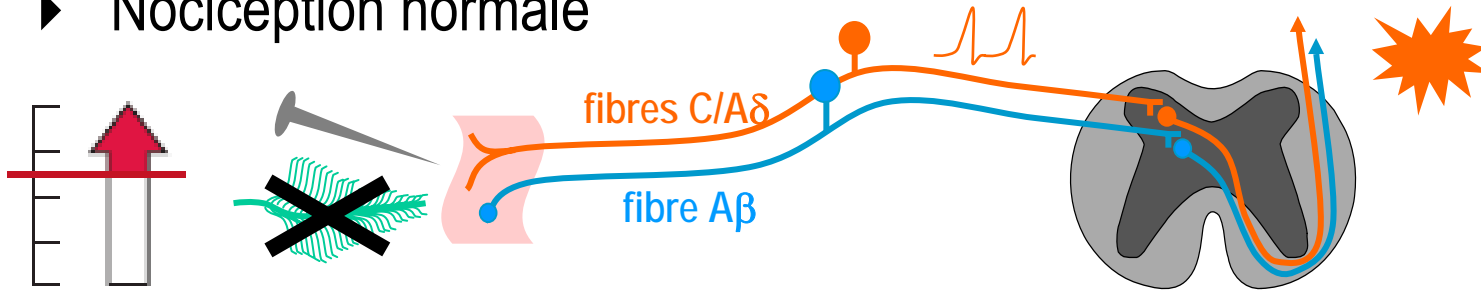
# Les canaux CaV comme cibles pharmacologiques

Molécule/ nom	Cible moléculaire	Indication(s)	Statut clinique
Ziconotide ( $\omega$ -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
$\omega$ -conotoxine CVID (AM-336)	N-type	neuropathic	Phase II

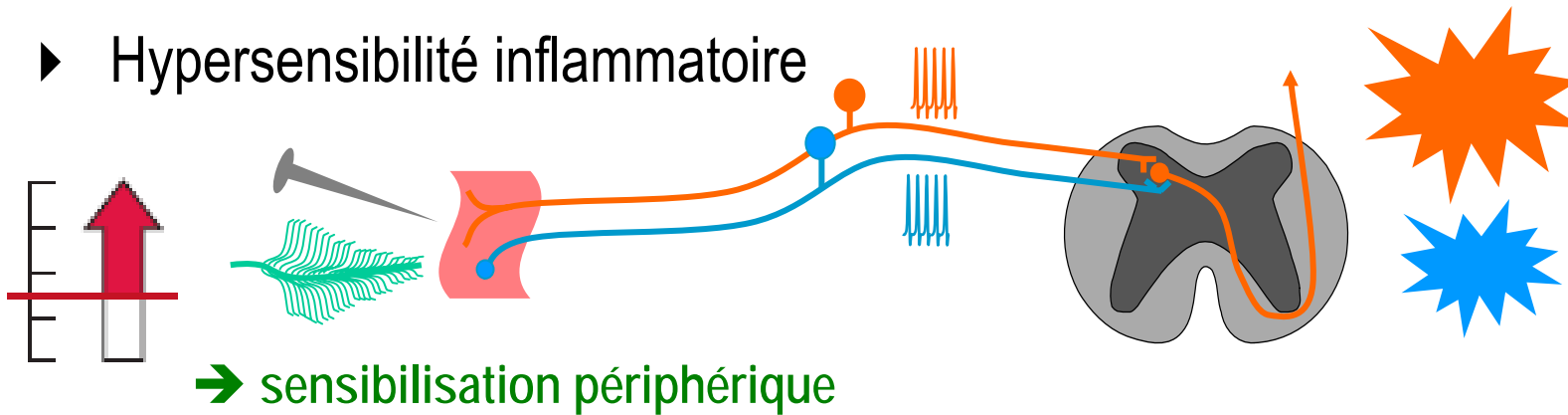
# Physiopathologie de la douleur

# Douleur chronique : plasticité neuronale

## ▶ Nociception normale

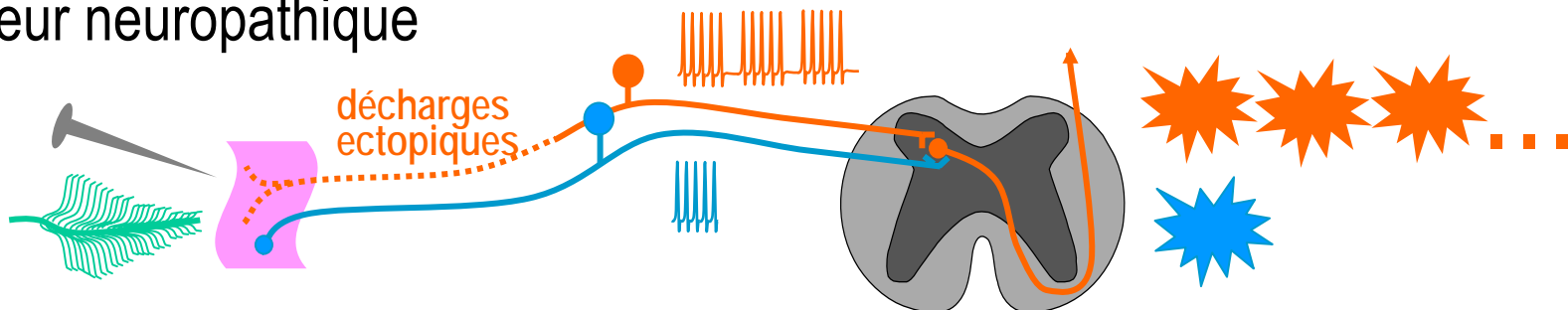


## ▶ Hypersensibilité inflammatoire

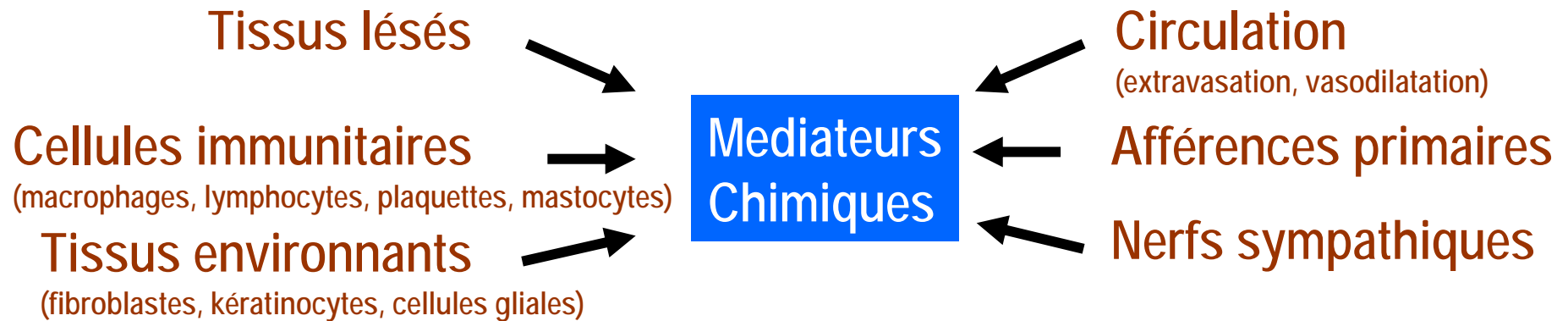


→ sensibilisation centrale

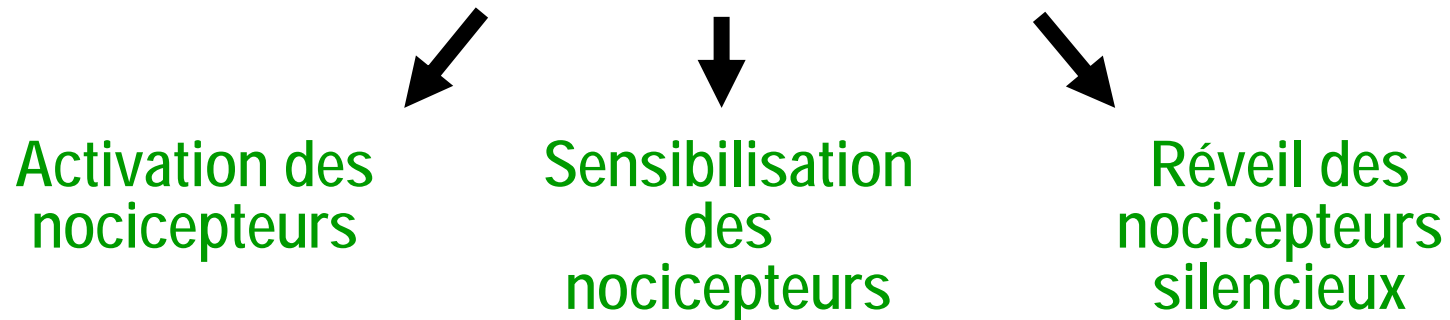
## ▶ Douleur neuropathique



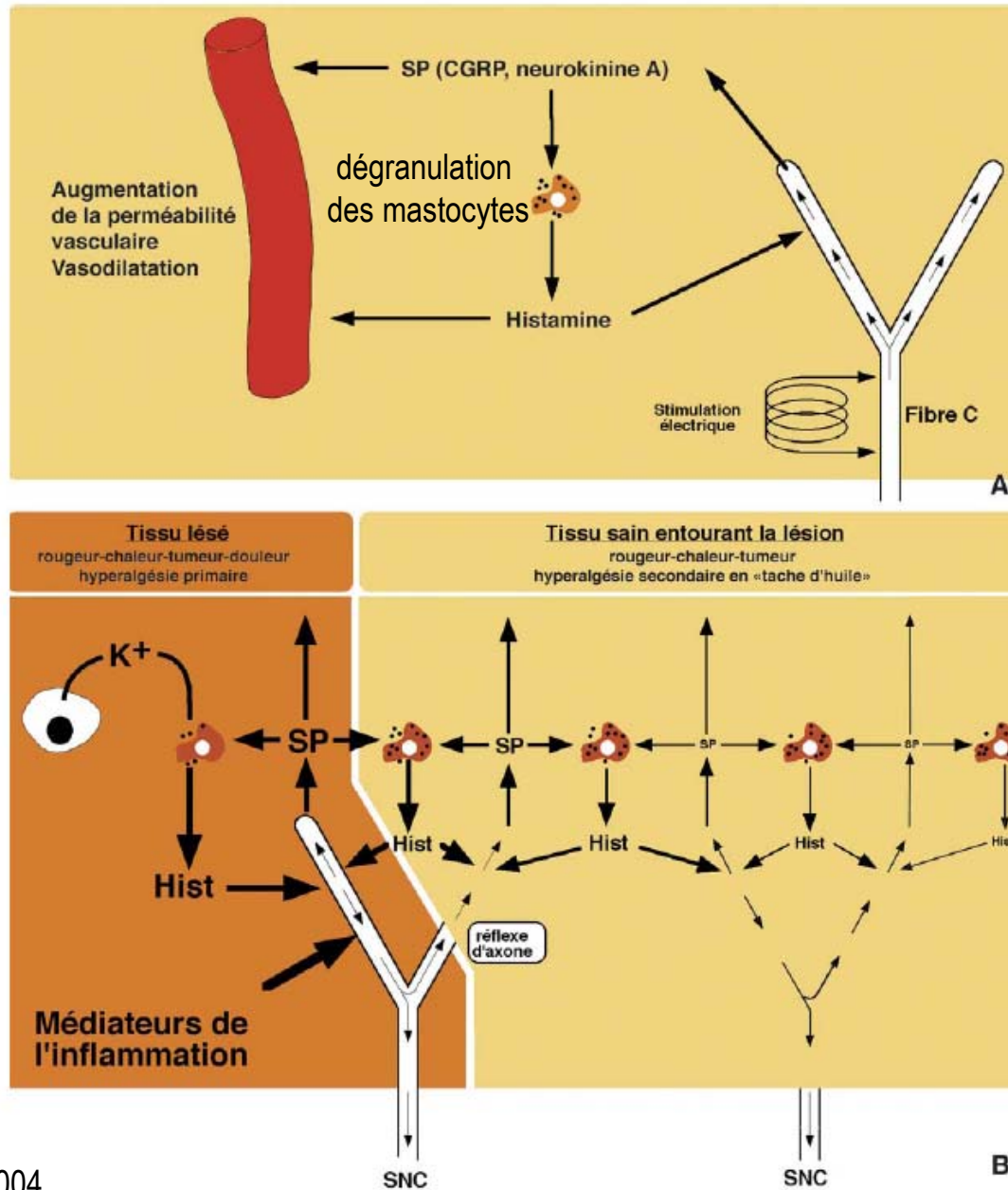
# Lésion Tissulaire



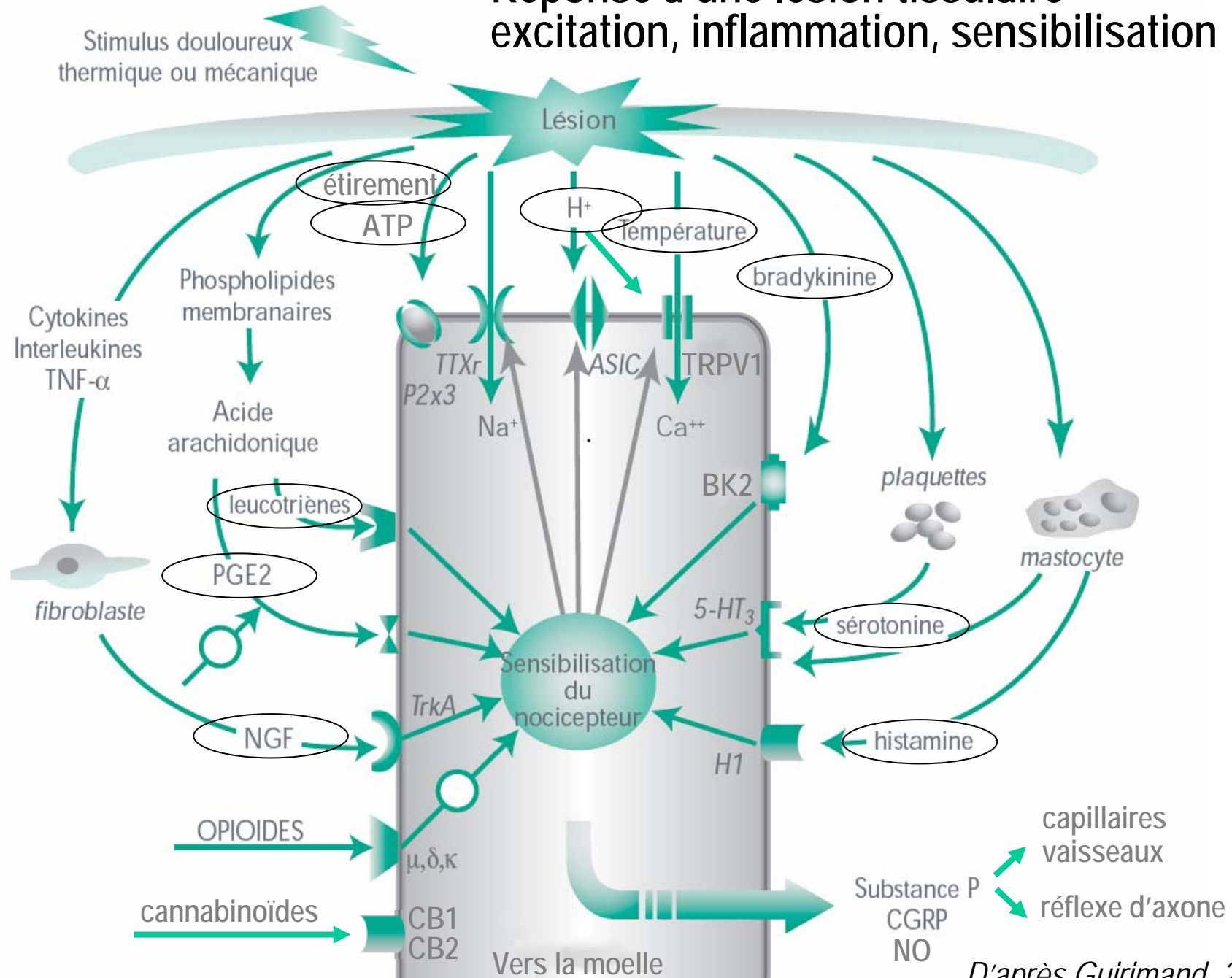
- Petites molécules ( $H^+$ , ATP, sérotonine, NO...)
- Cytokines (IL-1, IL-6...)
- Neuropeptides (SP, CGRP, NKA...)
- Médiateurs pro-inflammatoires (histamine, sérotonine, bradykinine, PGE2, PGI2...)
- Facteurs de croissance (NGF, BDNF...)



# Inflammation neurogène



# Réponse à une lésion tissulaire excitation, inflammation, sensibilisation



*D'après Guirimand, 2005*

# Médiateurs algogéniques/sensibilisants

**Bradykinine** : produite dans tissus et plasma  
action sur nocicepteurs, neurones sympathiques, endothélium

récepteur B2      présents dans de nombreux tissus  
K.O. cardiopathie

récepteur B1      induits par l'inflammation  
K.O. baisse de l'hyperalgésie

▶▶ cible possible ?

**Substance P** : synthèse et sécrétion induite par inflammation  
côtés périphérique et central  
récepteur NK1

▶▶ antagonistes actifs chez l'animal mais pas chez l'homme

# La sérotonine : un médiateur complexe

## Sérotonine périphérique :

**action sur les nocicepteurs** : pro-inflammatoire et algogénique  
libérée par plaquettes et mastocytes en inflammation

récepteur 5HT<sub>3</sub> : canal cationique dépolarisant

récepteur 5HT<sub>2</sub> : activation PKA → sensibilisation

antagonistes inutilisables (récepteurs dans SNC, GI, SV)

## **action sur le système trigémino-vasculaire**

récepteur 5HT<sub>1B/D</sub> : module CGRP, active canaux K<sup>+</sup>

agonistes **triptans** : anti-migraineux

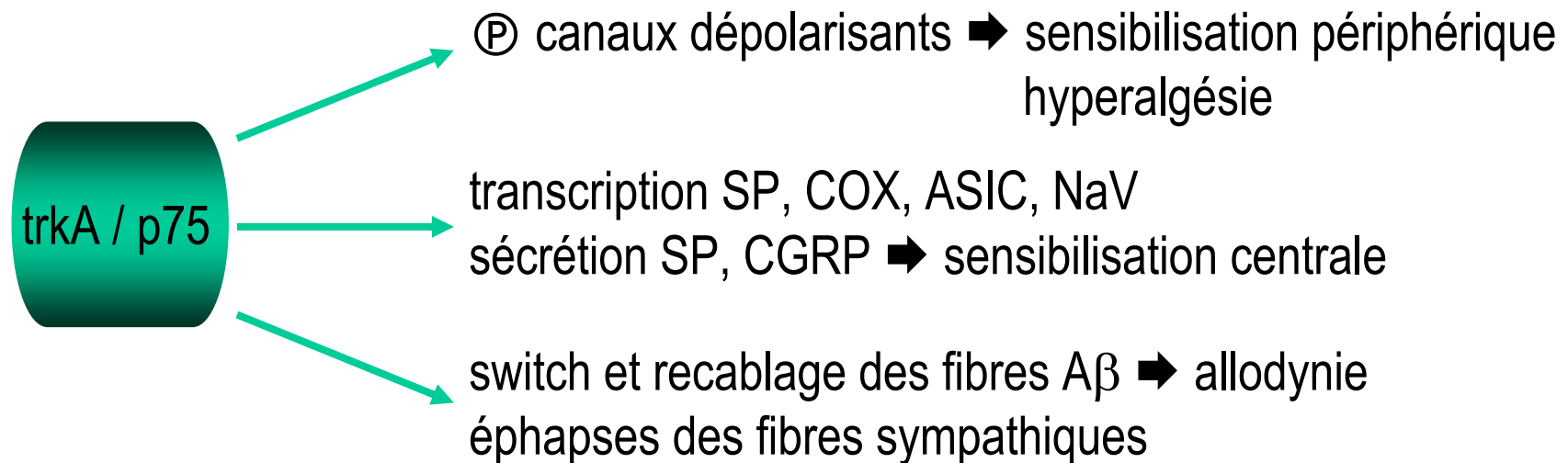
## Sérotonine centrale :

active fibres bulbo-spinales pour sécrétion peptides opioïdes

antagonistes inutilisables (rôles : états psychiques, comportements)

# Le NGF : acteur de la plasticité inflammatoire

facteur de développement et de différenciation des neurones  
induit par l'inflammation et lésion, sécrété par les fibroblastes et les cellules gliales



K.O. létal, inactivation par sérum : perte hyperalgésie périphérique et centrale  
antagoniste à l'essai

# Les cytokines

Petites protéines de signalisation extracellulaire initialement mises en évidence comme médiateurs de l'activation du système immunitaire et des réponses inflammatoires.

interleukines (IL), TNF, chémokines (CXC, CC...), interférons (IFN), TGF $\beta$ , ...

Contexte de la douleur: IL-1, IL-6, IL-8, TNF, CCL2/MCP1, CX3CL1 (fractalkine),  
CCL-5

**CCL2 / MCP1** (récepteur CCR2)

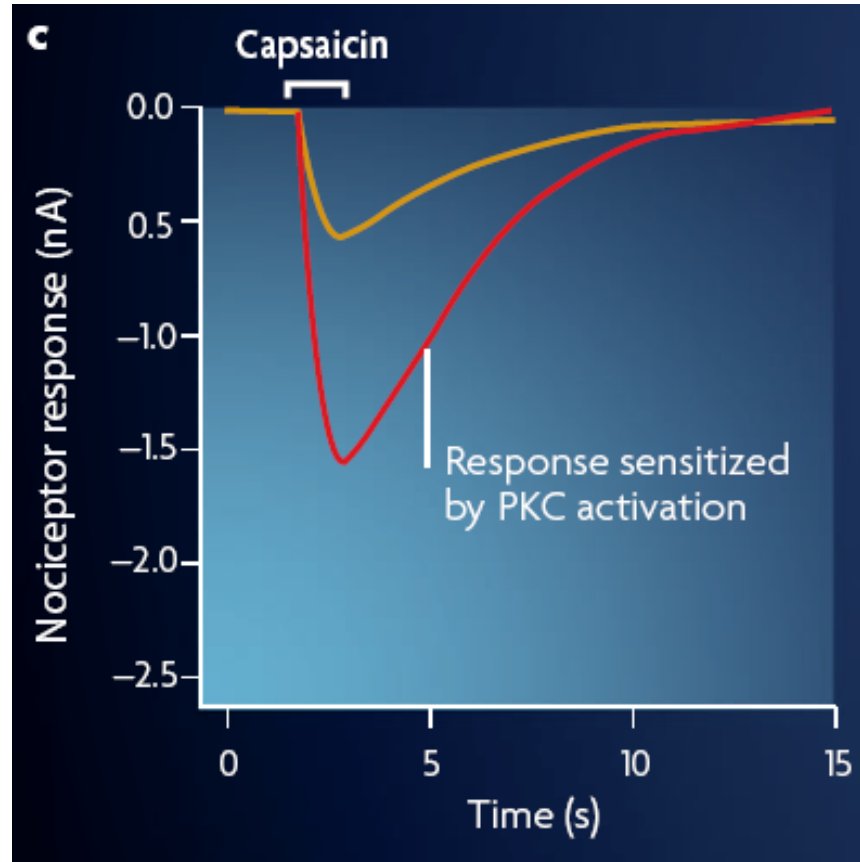
Expression dans les DRG dans un modèle de douleur neuropathique

Relargage centrale  $\longrightarrow$  activation de la microglie

Inactivation de CCR2: bloque l'hyperalgésie mécanique

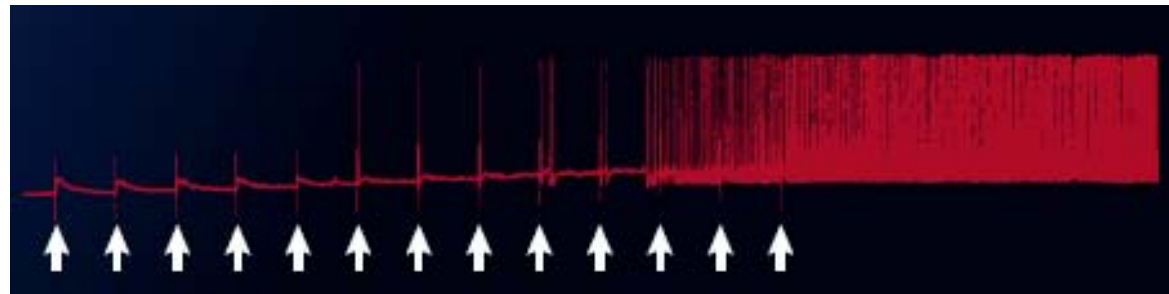
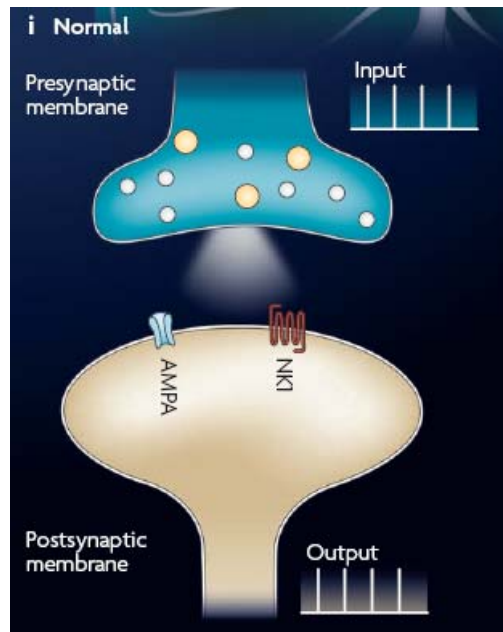
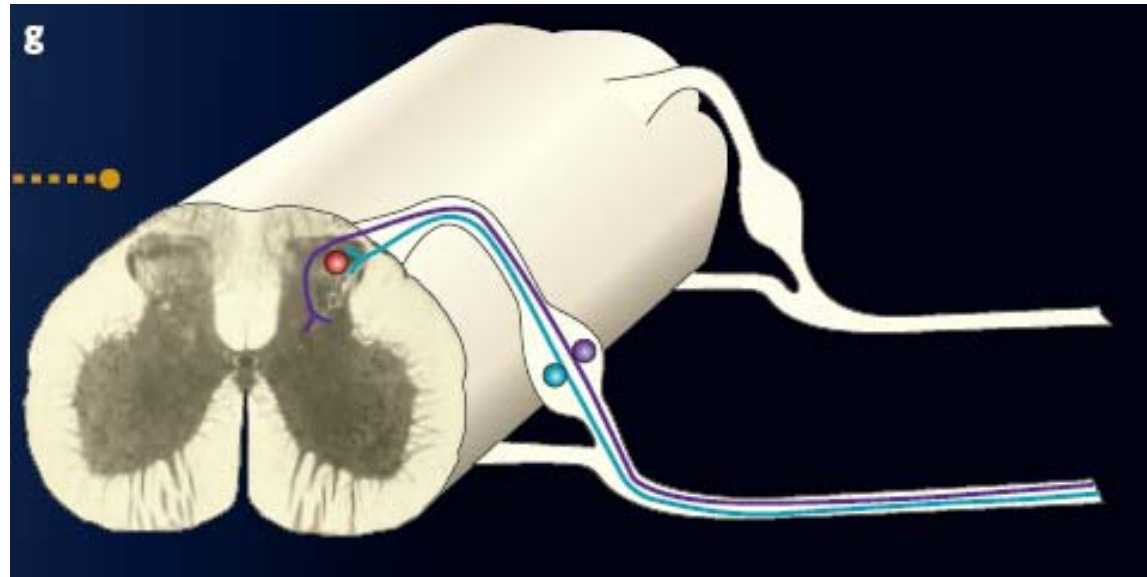
Antagonistes CCR2 en développement pour douleurs neuropathiques

# Réponse à une lésion tissulaire: Sensibilisation périphérique



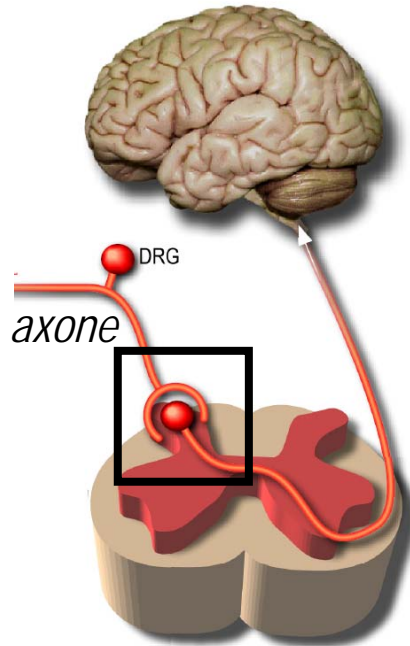
d'après McMahon et Bennett, 2007

# Sensibilisation centrale dans la ME



d'après McMahon et Bennett, 2007

# Sensibilisation centrale



Synapse centrale  
(corne dorsale de la moelle épinière)

Facilitation synaptique (rapide)

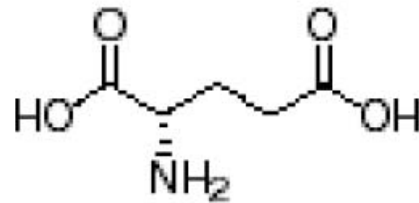
Modifications géniques (persistant)

Recablage

Perte d'inhibition (excitotoxicité...)

## Les récepteurs au glutamate.

- **Glutamate** : principal neurotransmetteur excitateur (SNC).



acide glutamique

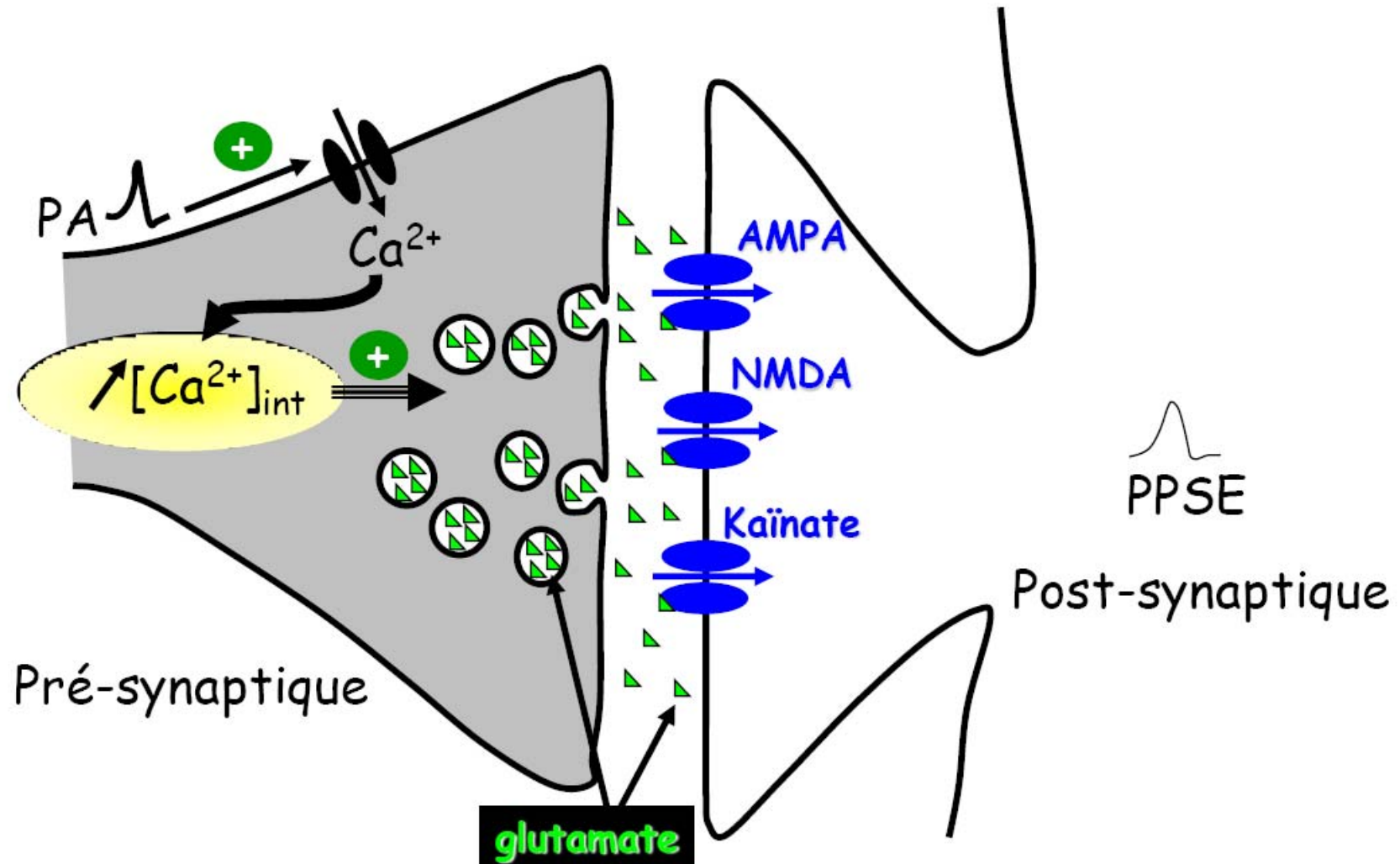
récepteurs  
ionotropiques

- NMDA
- non NMDA

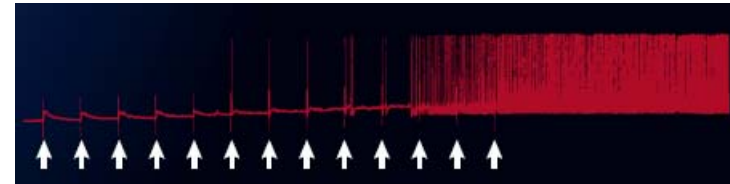
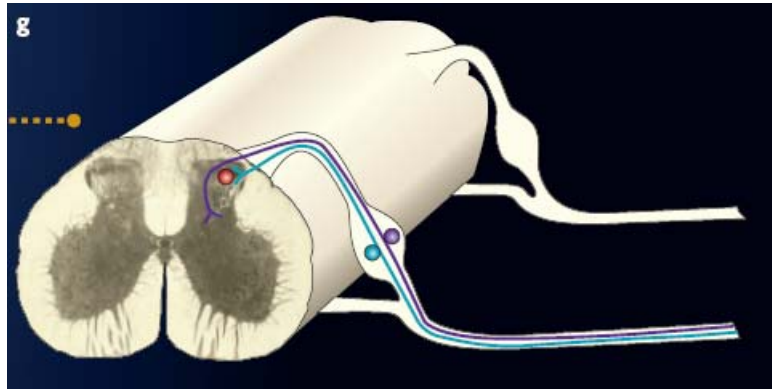
récepteurs  
métabotropiques

# Les récepteurs ionotropiques au glutamate (iGlu-Rs).

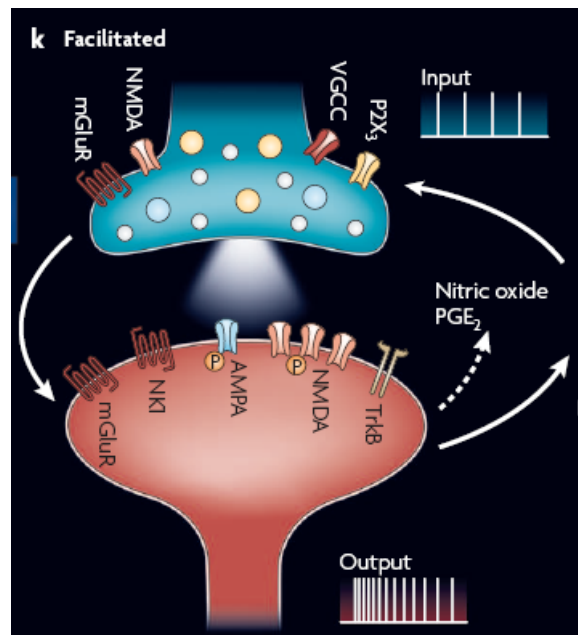
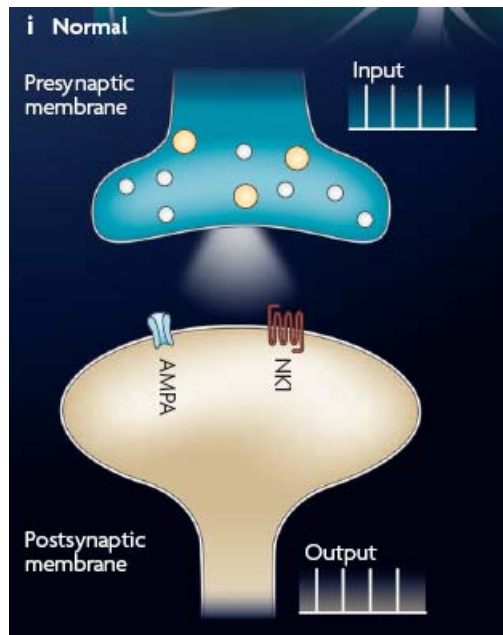
- Rôle : transmission synaptique excitatrice.



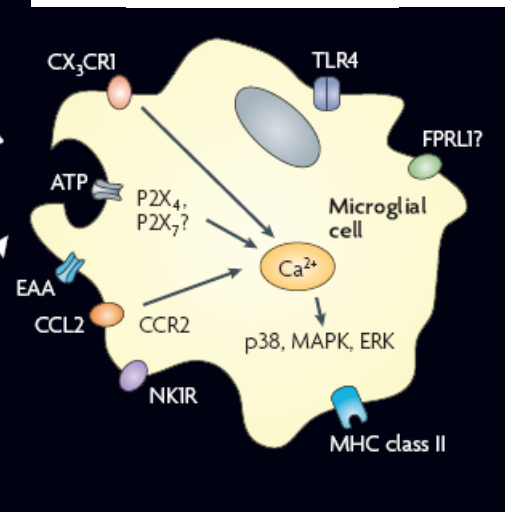
# Sensibilisation centrale



## Facilitation synaptique



## microglie

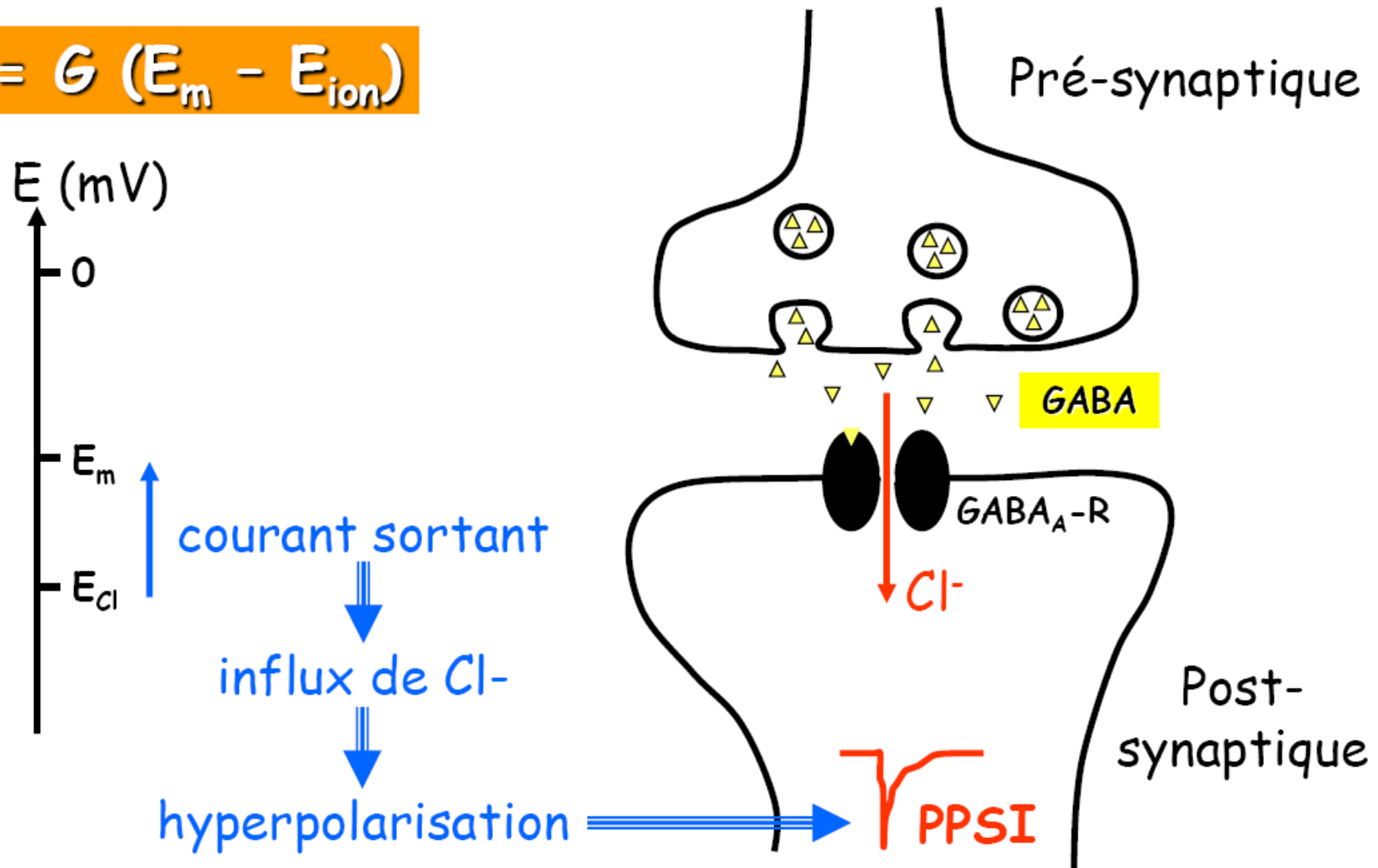


d'après McMahon et Bennett, 2007

# Récepteurs ionotropiques au GABA ( $GABA_A$ -Rs)

- Transmission synaptique inhibitrice rapide.

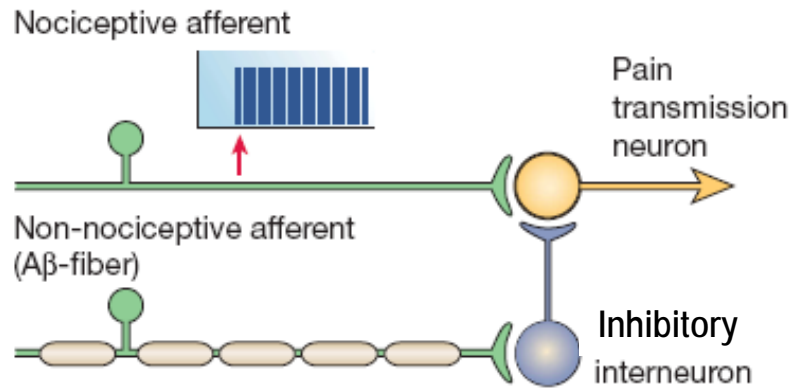
$$I = G (E_m - E_{ion})$$



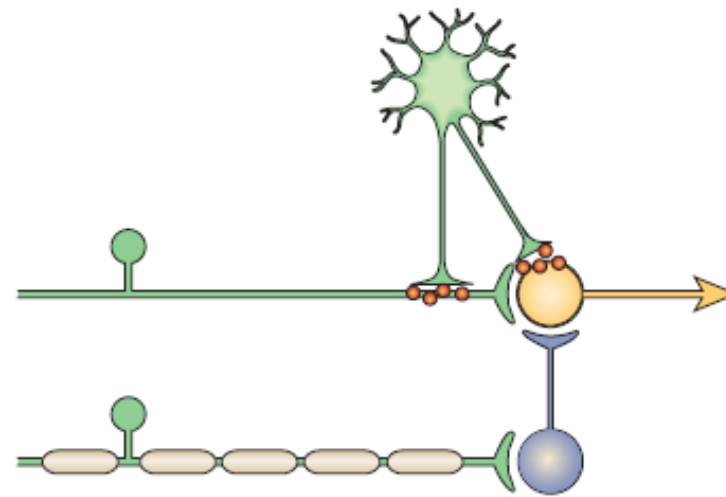


# Sensibilisation centrale

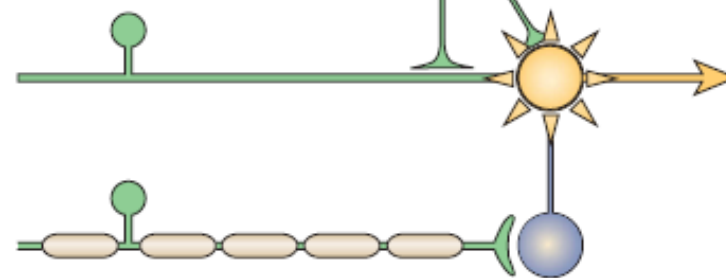
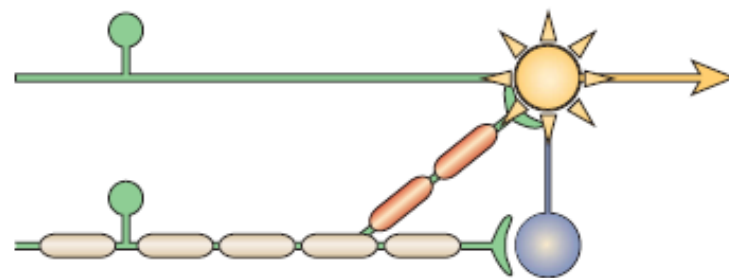
## Recablage



## Perte d'inhibition



## Sprouting after nerve injury



Réponse exagérée à la douleur

D'après Scholz et Woolf, 2002

# Pharmacologie de la douleur

# Classes pharmacologiques actuelles

**Morphine**  
(1803)



Opiacés faibles  
Opiacés forts

**Paracetamol**  
(1893)



**Antidépresseurs**

**Antiépileptiques**

**Aspirine**  
(1899)



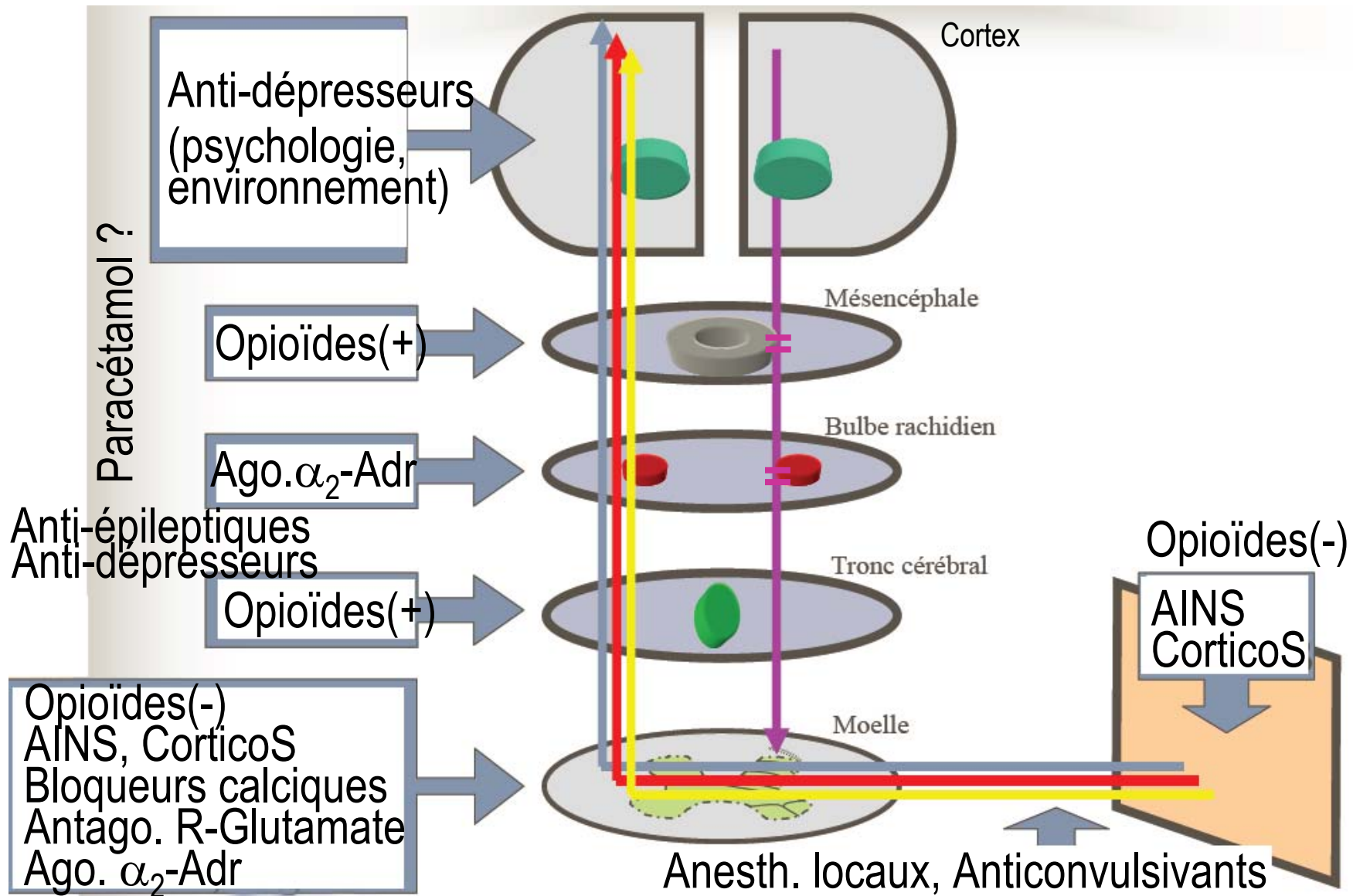
**AINS**  
(1965)

## Autres antalgiques à utilisation spécifique

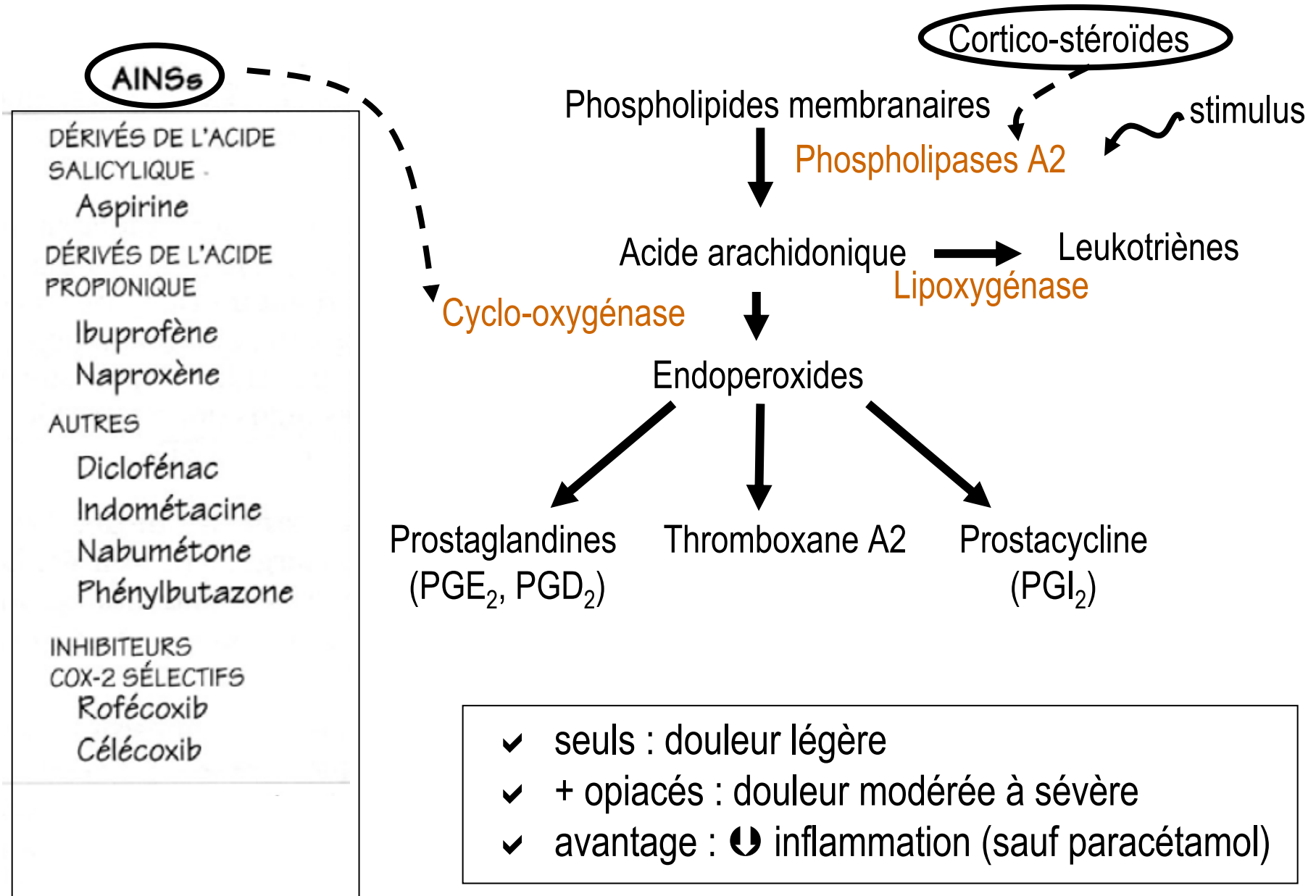
Anesthésiques locaux / apparentés

Alpha2 adrénergiques / Inhibiteurs glutamatergiques / Bloqueurs calciques

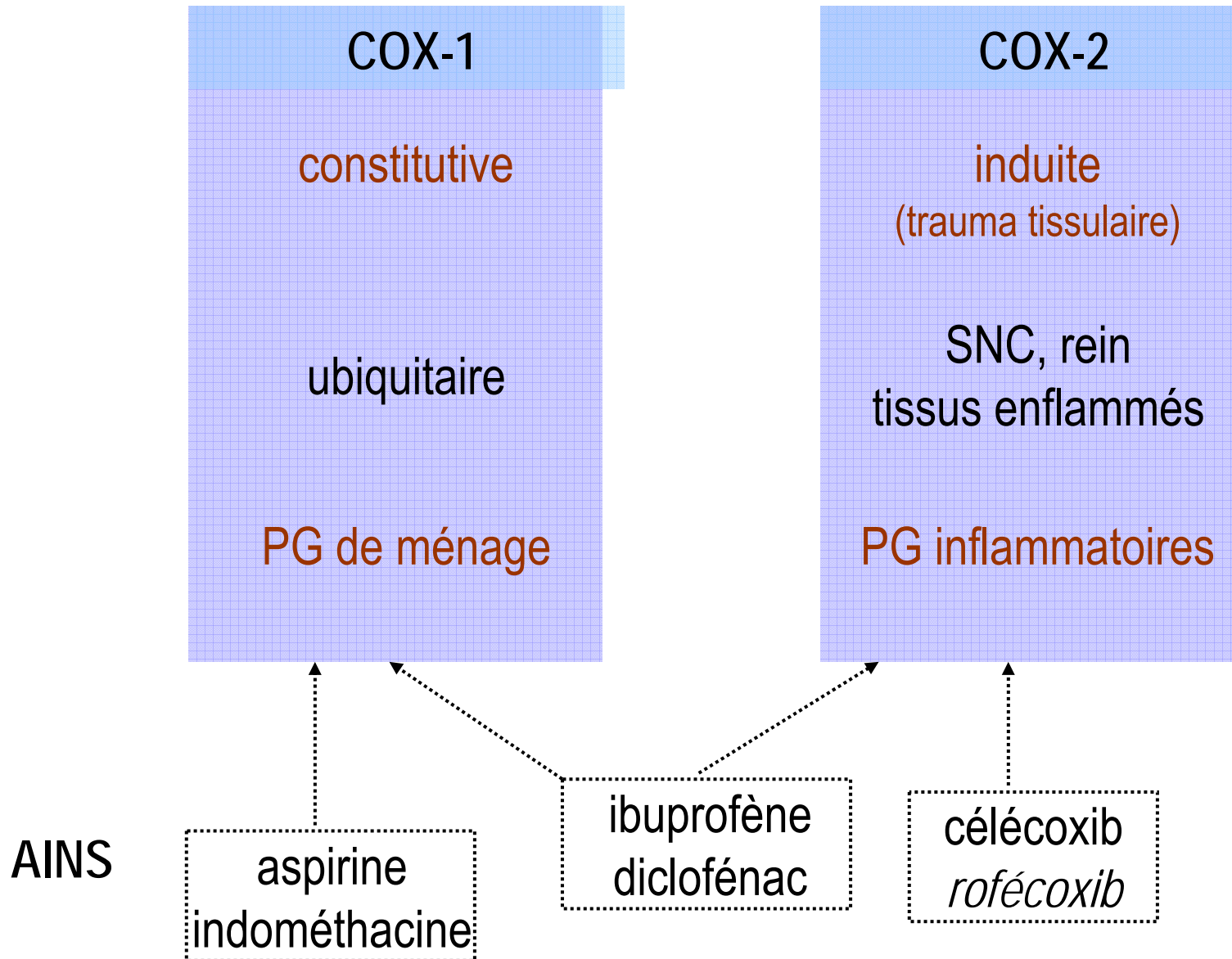
# Pharmacologie de la douleur



# Les AINS (anti-inflammatoires non stéroïdiens)



# AINS et cyclooxygénases



# Effets des AINS

<i>Effets</i>	<i>Mécanisme : rôle des prostaglandines (PGs)</i>
Analgésie	- les PGs sensibilisent les terminaisons nerveuses (nocicepteurs) à l'action d'agents algésiques (comme la bradykinine) et modulent la transmission au niveau spinal
Effet antipyrétique	- des PGs sont produites dans l'hypothalamus en réponse à l'interleukine-1
Effet antiinflammatoire	- les PGs sont un des médiateurs de l'inflammation
Lésions de la muqueuse gastro-duodénale (hémorragies, ulcères)	- les PGs ont un rôle « cytoprotecteur » (↑ sécrétion de mucus et de bicarbonate)
Inhibition de l'agrégation plaquettaire	- rôle du thromboxane A <sub>2</sub> (pro-agrégant)

# Opioides

- 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 ( $\alpha$ - et  $\beta$ -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

# Le système opioïde

## OPIACES

Morphine

Endogène (5-31 aa)

beta-endorphine

Enkephalines

Dynorphines

Mu MOR

delta DOR

kappa KOR

Membrane

↑ seuil activation

↓ durée PA

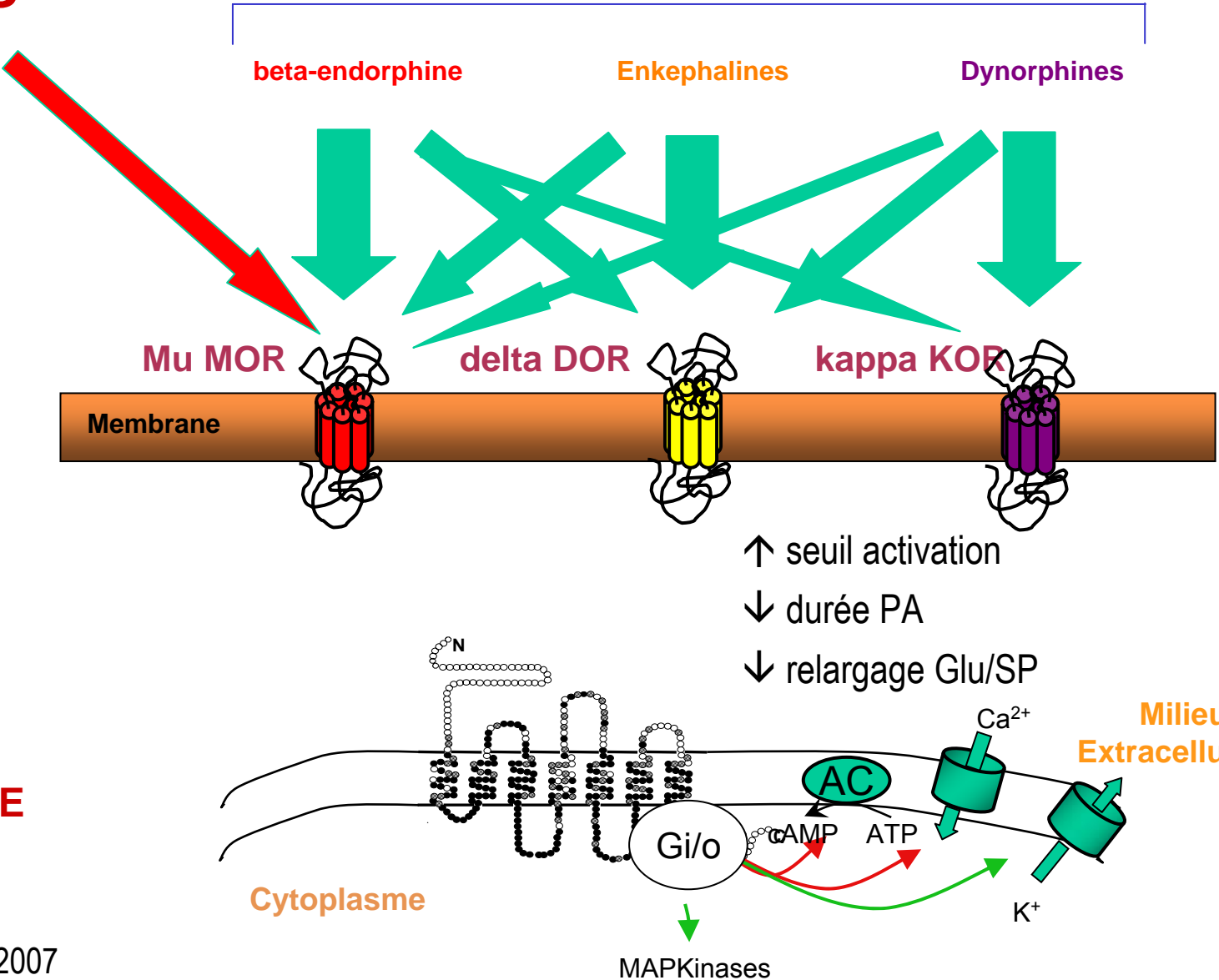
↓ relargage Glu/SP

ANALGESIE

Cytoplasme

Milieu Extracellulaire

MAPKinases

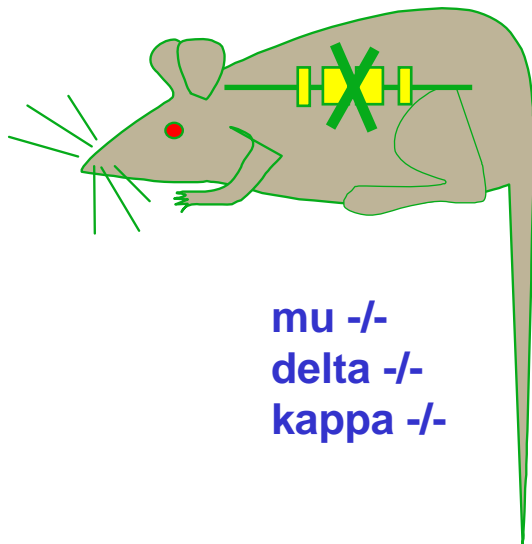


# L'approche knockout

## Pharmacologie

Opiacés  
Autres médicaments/drogues

Knockout =  
Inactivation du gène



mu  
delta  
kappa

?

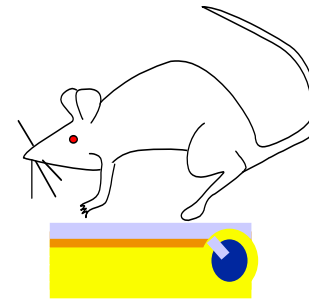
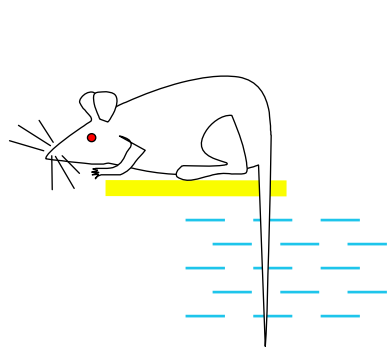
Nociception  
Stress  
Toxicomanie  
Cognition  
Respiration  
Digestion  
Système endocrine  
Immunité

*Quelle cible  
moléculaire?*

*Quel récepteur pour  
quelle fonction?*

# Récepteur mu nécessaire pour l'analgésie morphinique

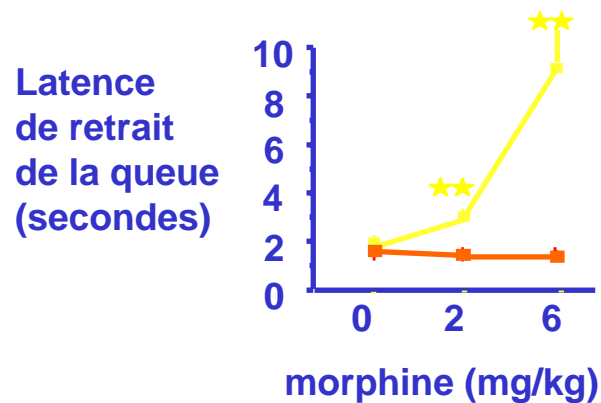
Souris knockout pour le récepteur mu: Tous les effets de la morphine sont abolis



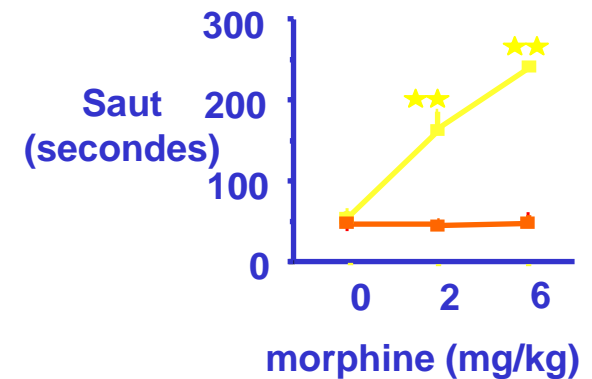
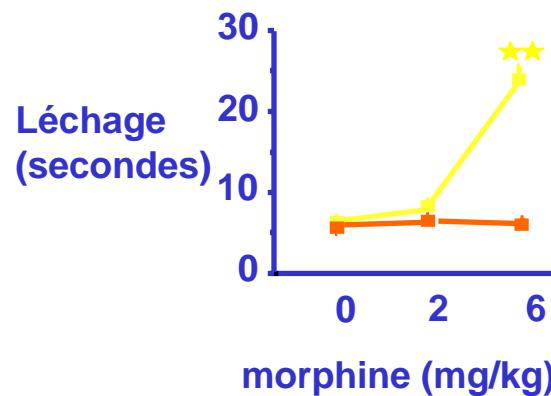
**MOR**

■ +/+  
■ -/-

### Test d'immersion de la queue



### Plaque chaude



# Propriétés des opioïdes

(5-31 aa)

	$\mu$	$\delta$	$\kappa$
<b>Endogenous peptides</b>			
$\beta$ -Endorphin	+++	+++	+++
Enkephalin	+	+++	/
Dynorphin	++	+	+++
<b>Opiate drugs</b>			
<i>Pure agonists</i>			
Morphine, Codeine	+++	+	+
Methadone	++	/	/
<i>Partial mixed agonists</i>			
Pentazocine	-	+	++
Buprenorphine	(+++)	/	--
<i>Antagonist</i>			
Naloxone	---	-	--

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

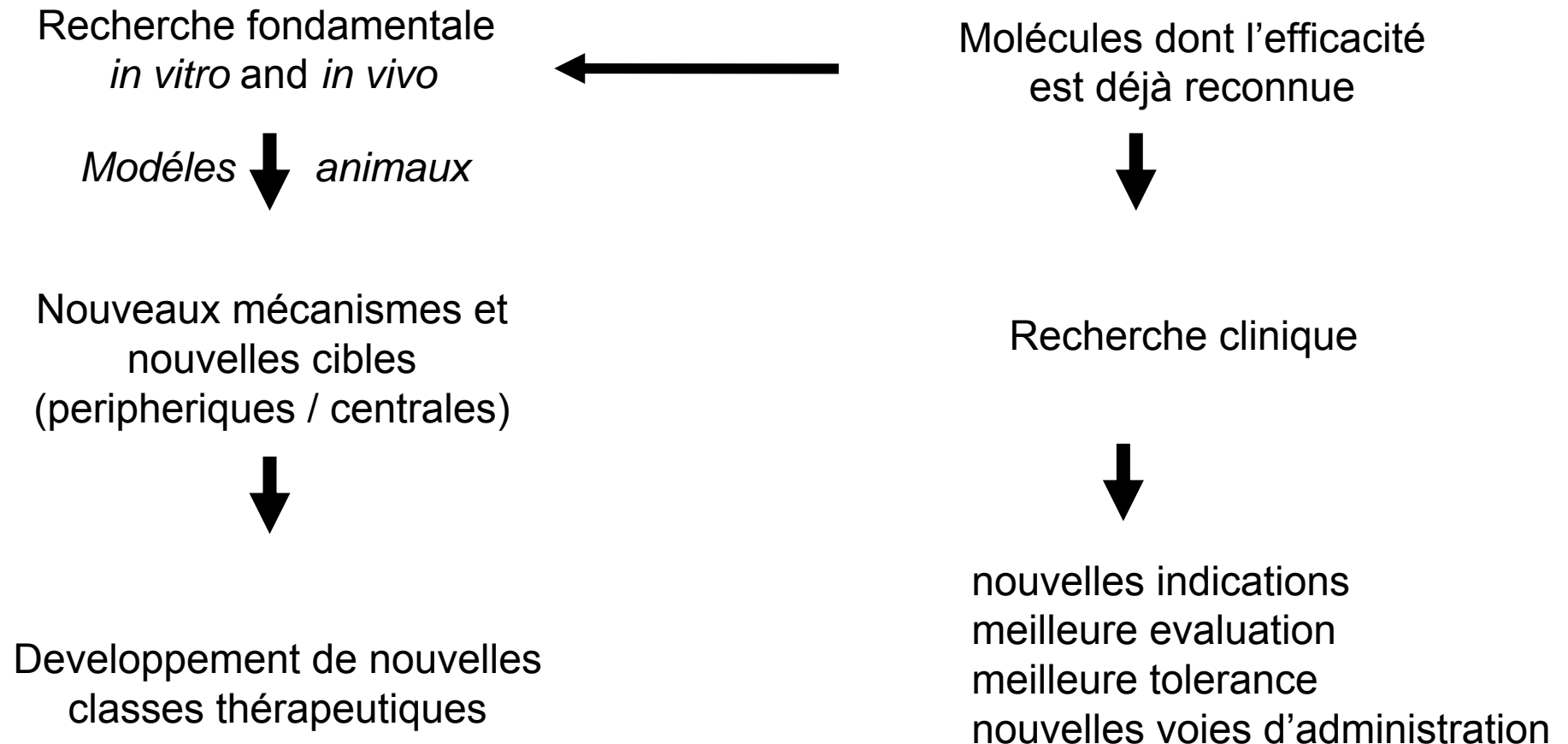
# Effets fonctionnels associés aux types principaux de récepteurs aux opioïdes

	$\mu$	$\delta$	$\kappa$
Analgesia			
Supraspinal	+++	-	-
Spinal	++	++	+
Peripheral	++	-	++
Respiratory depression	+++	++	-
Pupil constriction	++	-	+
Reduced GI motility	++	++	+
Euphoria	+++	-	-
Dysphoria	-	-	+++
Sedation	++	-	++
Physical dependence	+++	-	+

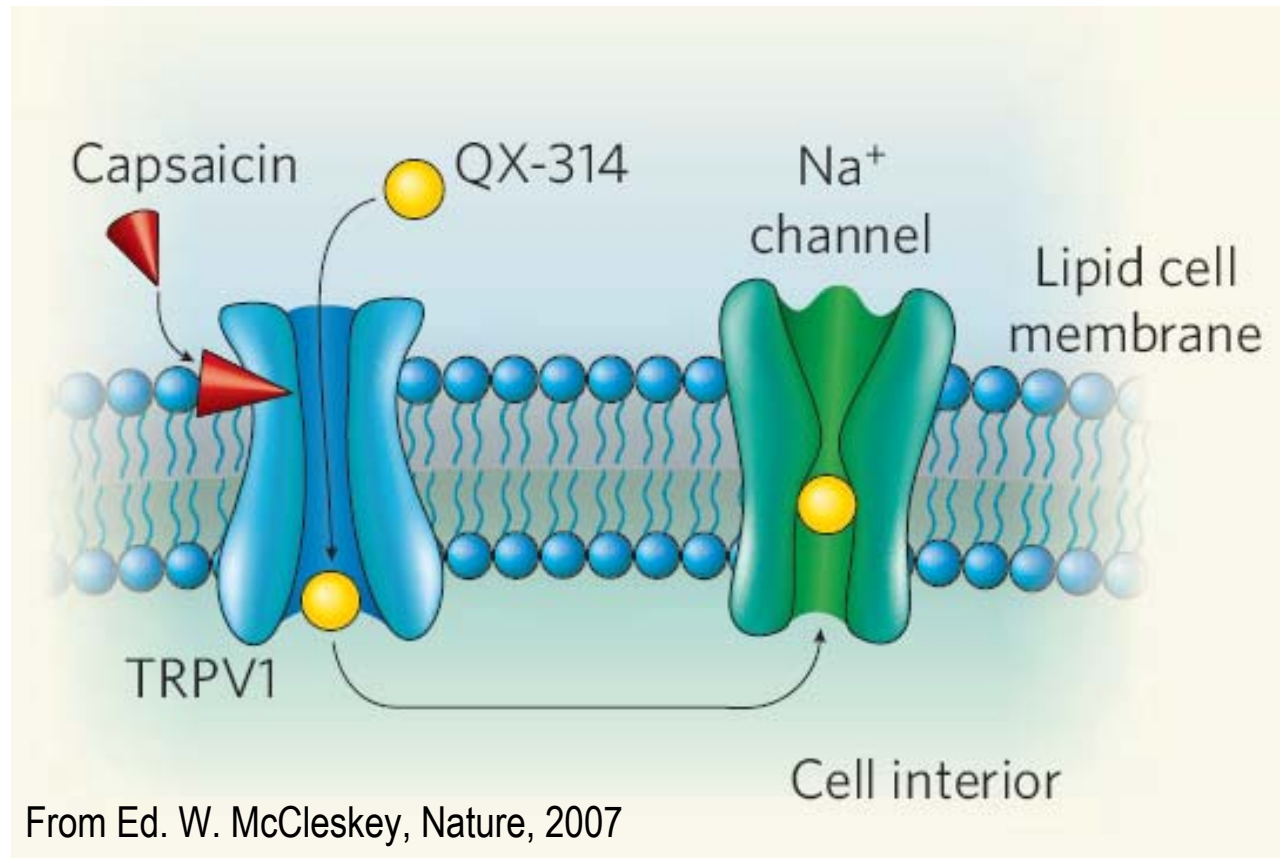
**Effets secondaires:** par action SNC, SN autonome, organes cibles :

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

# Développement de nouveaux analgésiques



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



Vol 449 | 4 October 2007 | doi:10.1038/nature06191

nature

## Inhibition of nociceptors by TRPV1-mediated entry of impermeant sodium channel blockers

Alexander M. Binshtok<sup>1</sup>, Bruce P. Bean<sup>2</sup> & Clifford J. Woolf<sup>1</sup>