

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

Le système nocicepteur

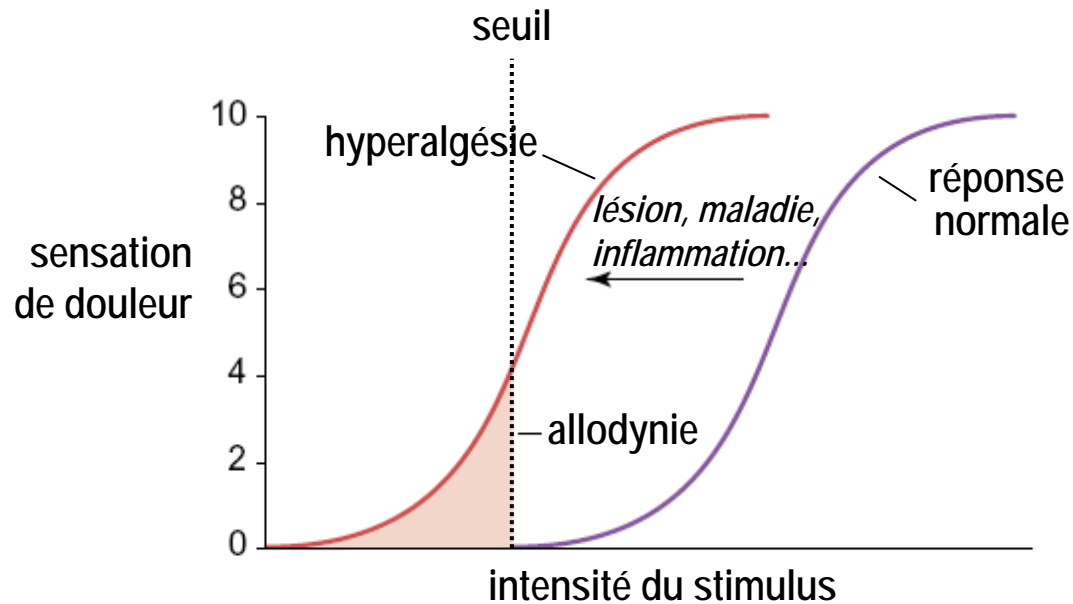
Bases anatomiques

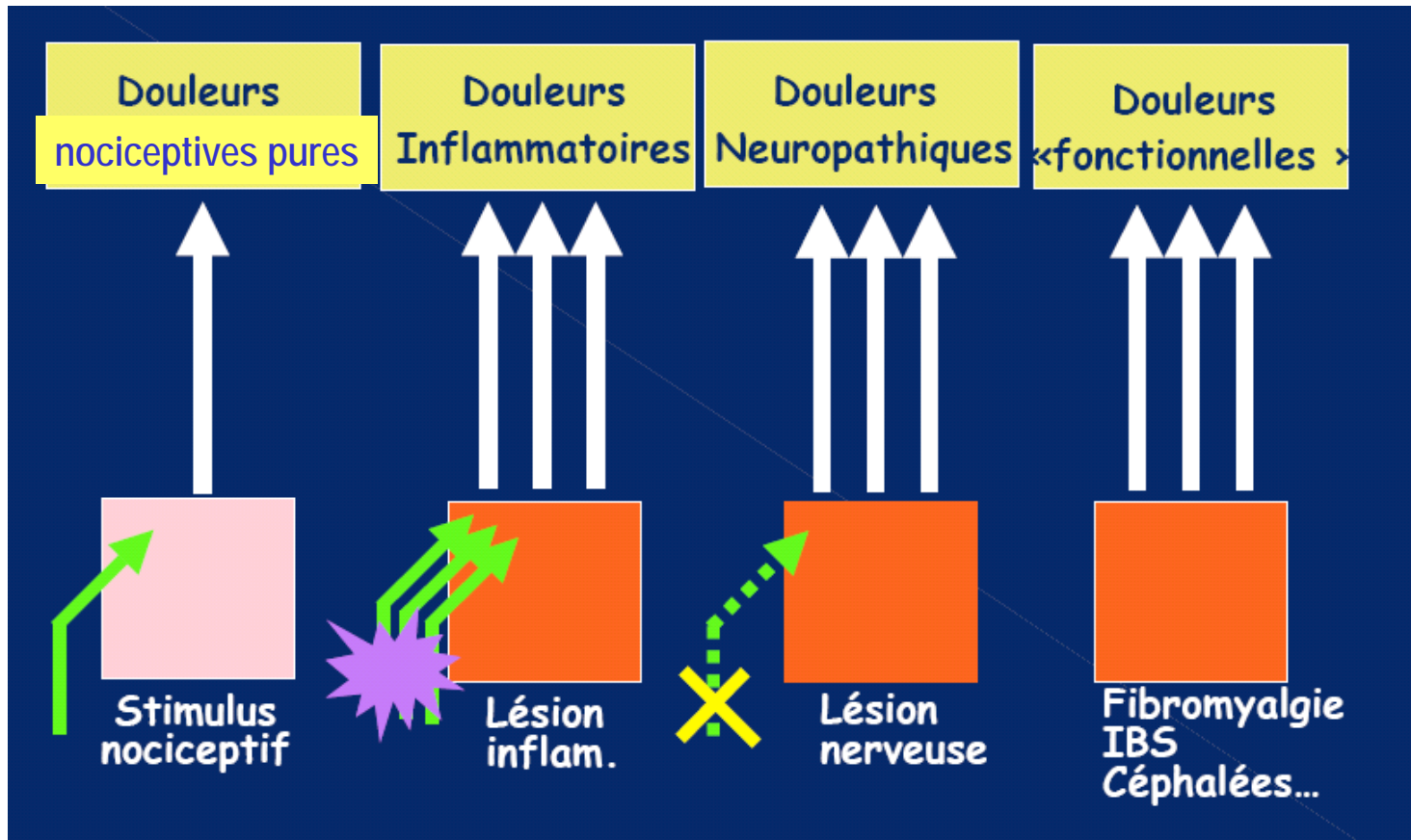
Les seuils de douleur

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

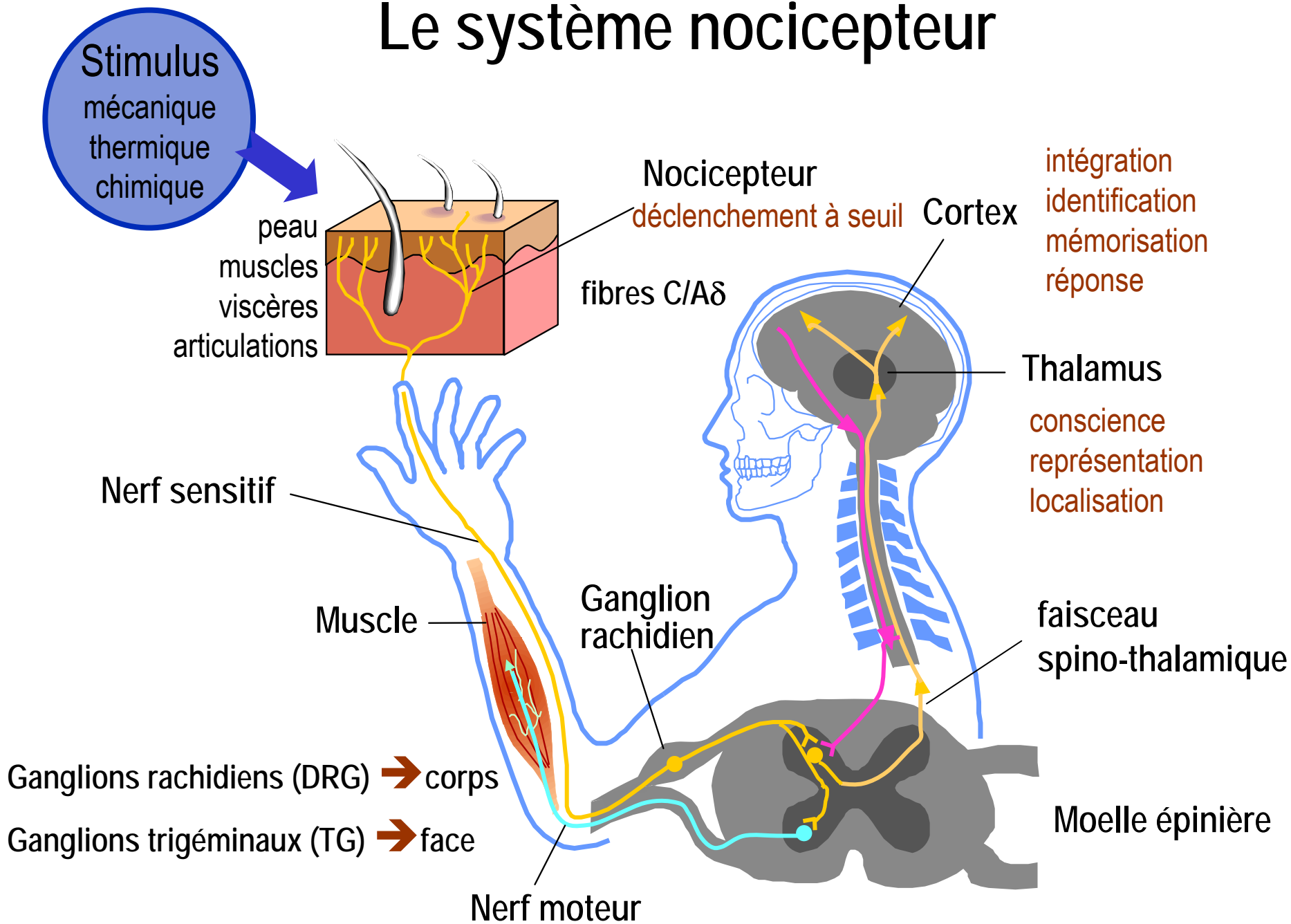
**Douleur chronique =
douleur pathologique**

Clinique: plus de 3 mois

Le système nocicepteur

Bases anatomiques

Le système nocicepteur



Les différents types de fibres afférentes

Fibres sensorielles primaires



fibres Aβ

Gros diamètre
Myélinisées
Proprioception, sensibilité tactile non nociceptive

rapide



fibres Aδ

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

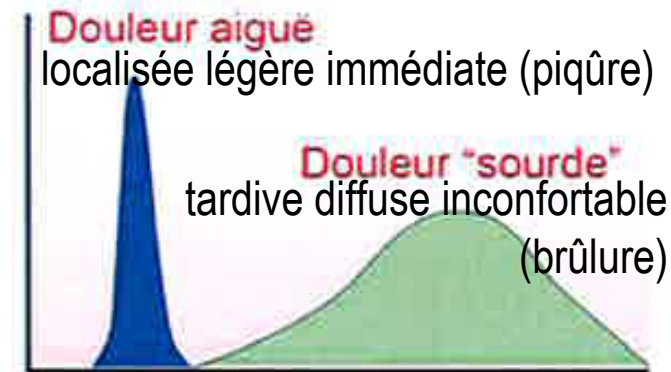
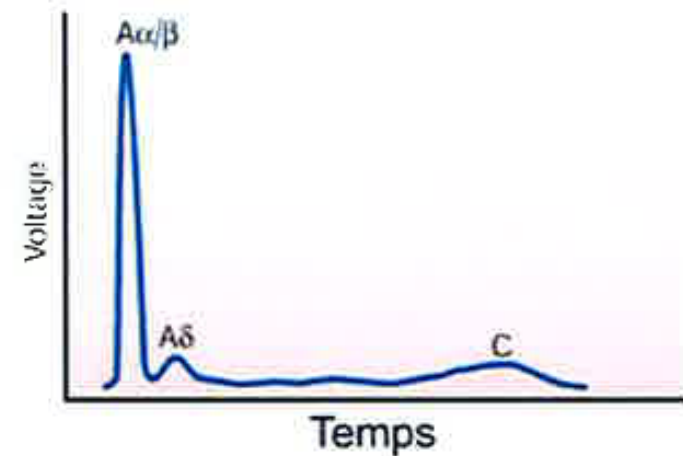
rapide

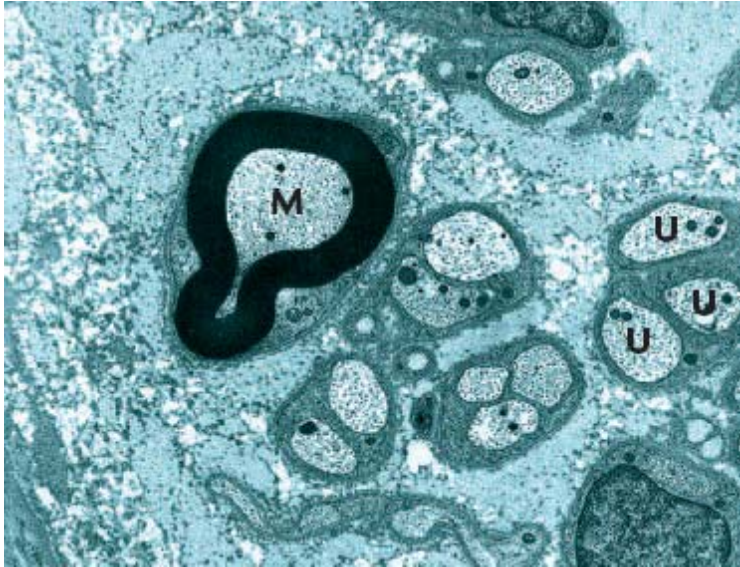


fibres C

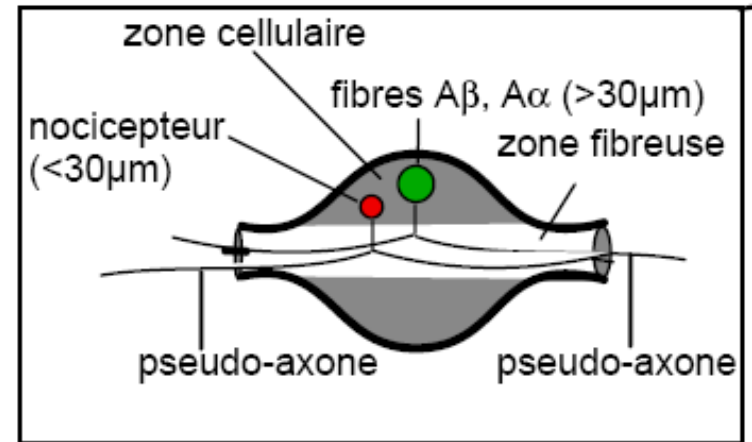
Faible diamètre
Non myélinisées
Température non nociceptive
Démangeaisons
Caresses
Nociception (mécanique, thermique, chimique)

lente
($<2\text{m/s}$)



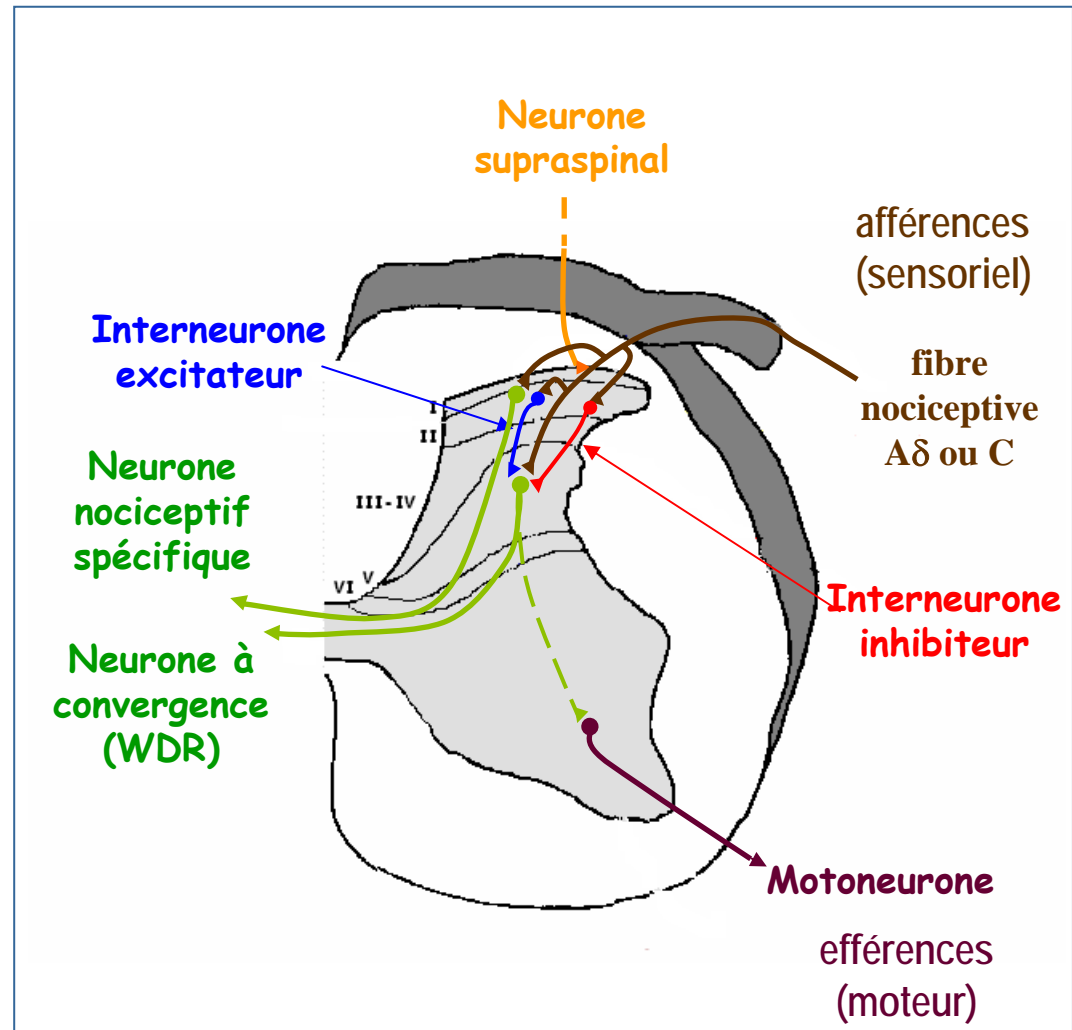
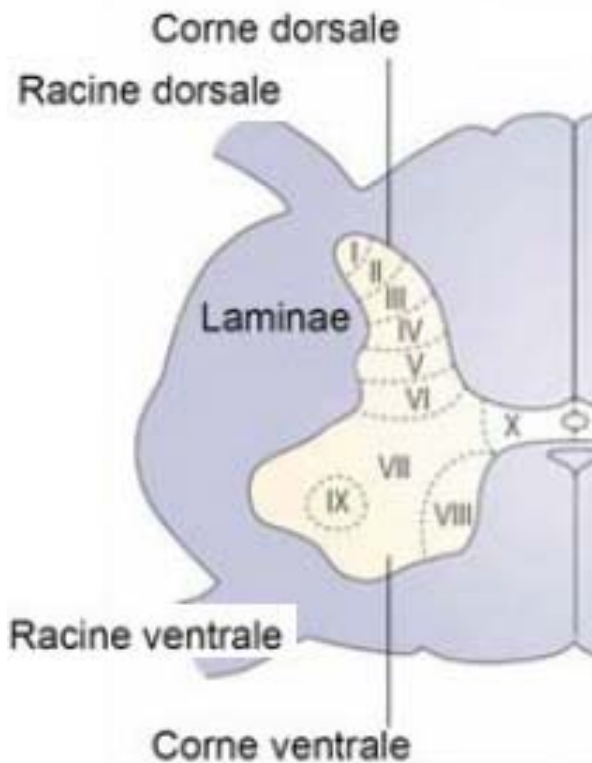


Coupe d'un nerf sensitif

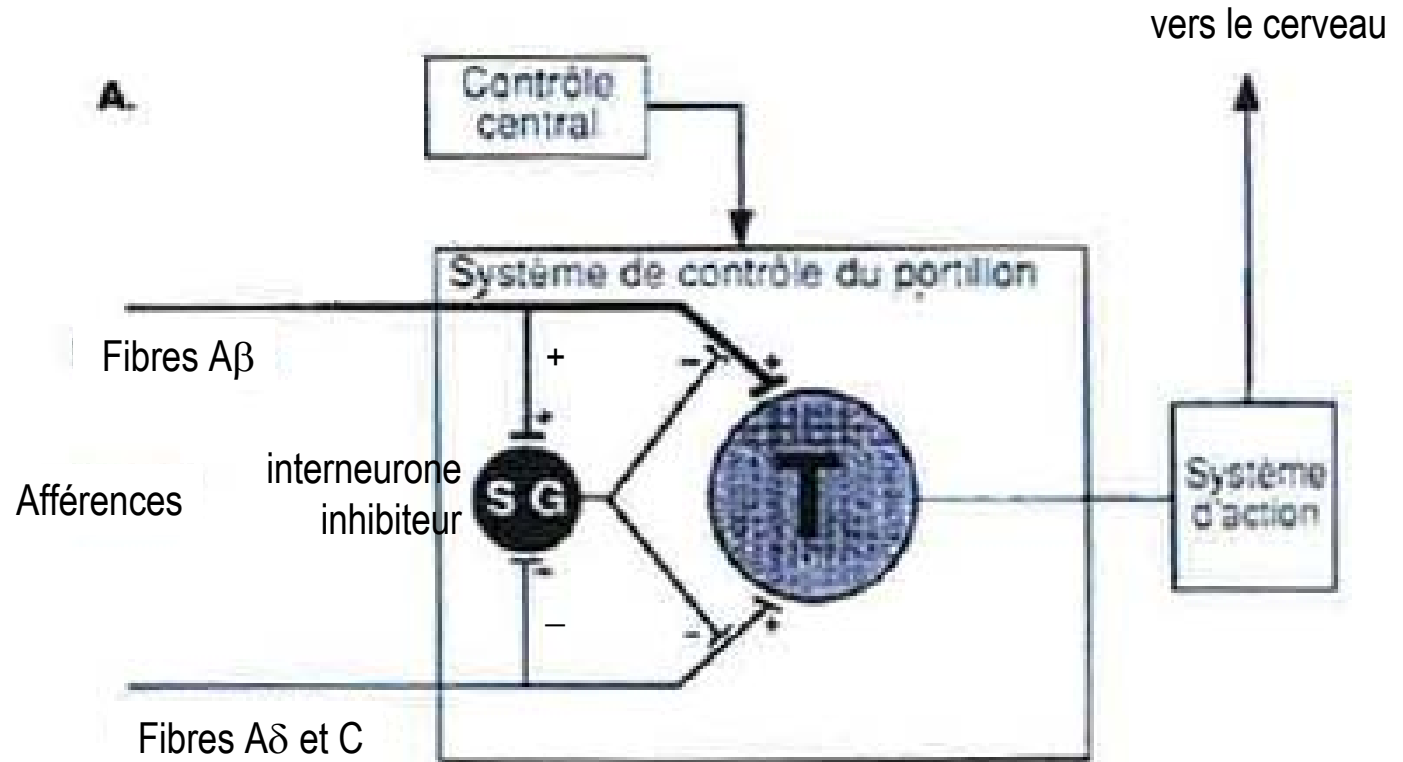
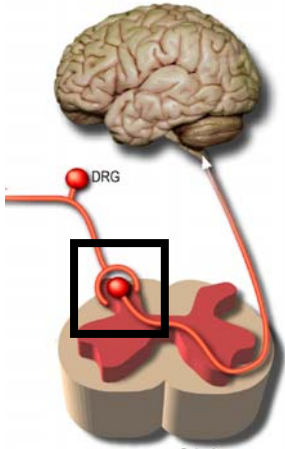


Coupe d'un ganglion rachidien

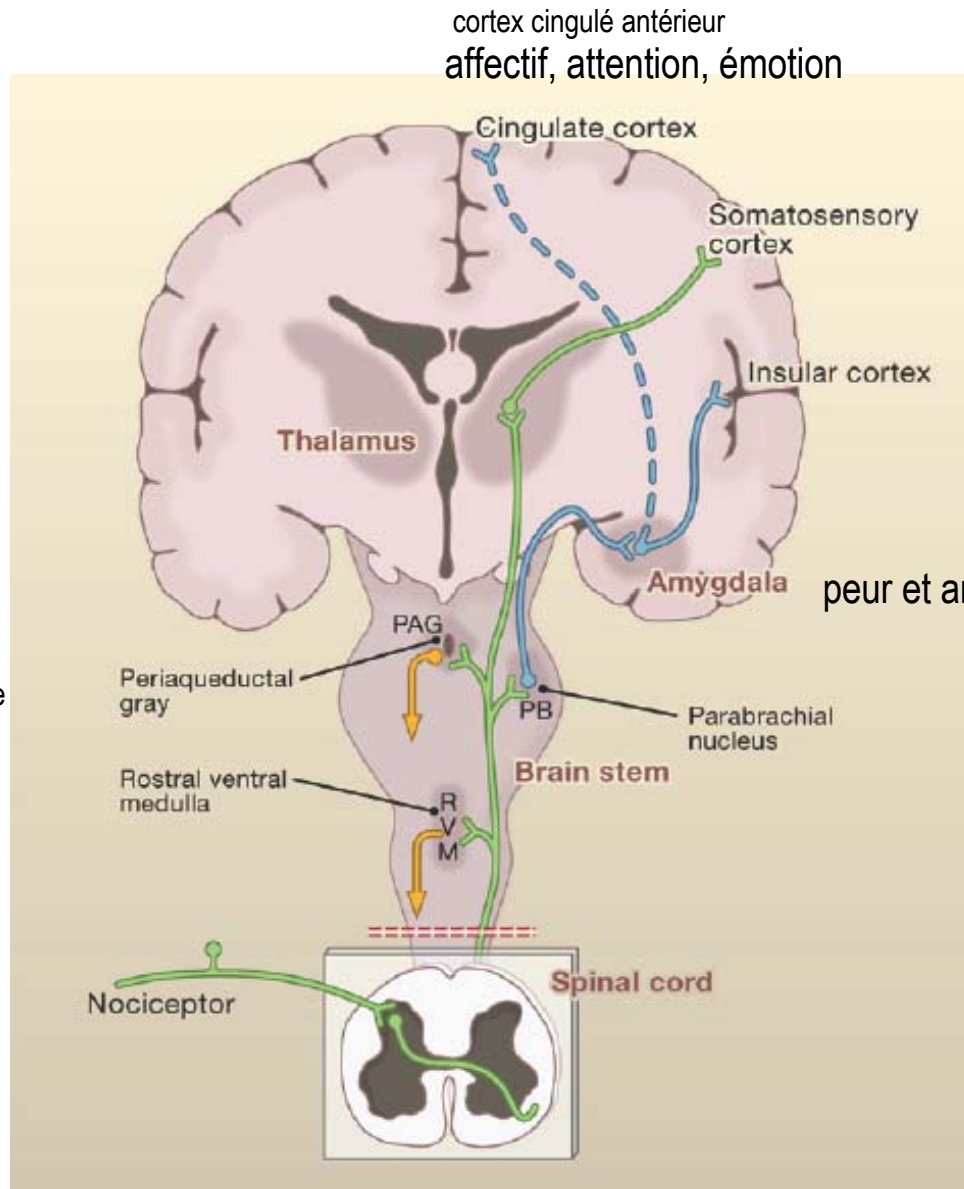
Projections centrales des fibres cutanées: Le réseau spinal



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



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

Les acteurs de la nociception

Quatre composantes de la sensation de douleur

Transduction activation de la terminaison périphérique
(thermique, mécanique, chimique)

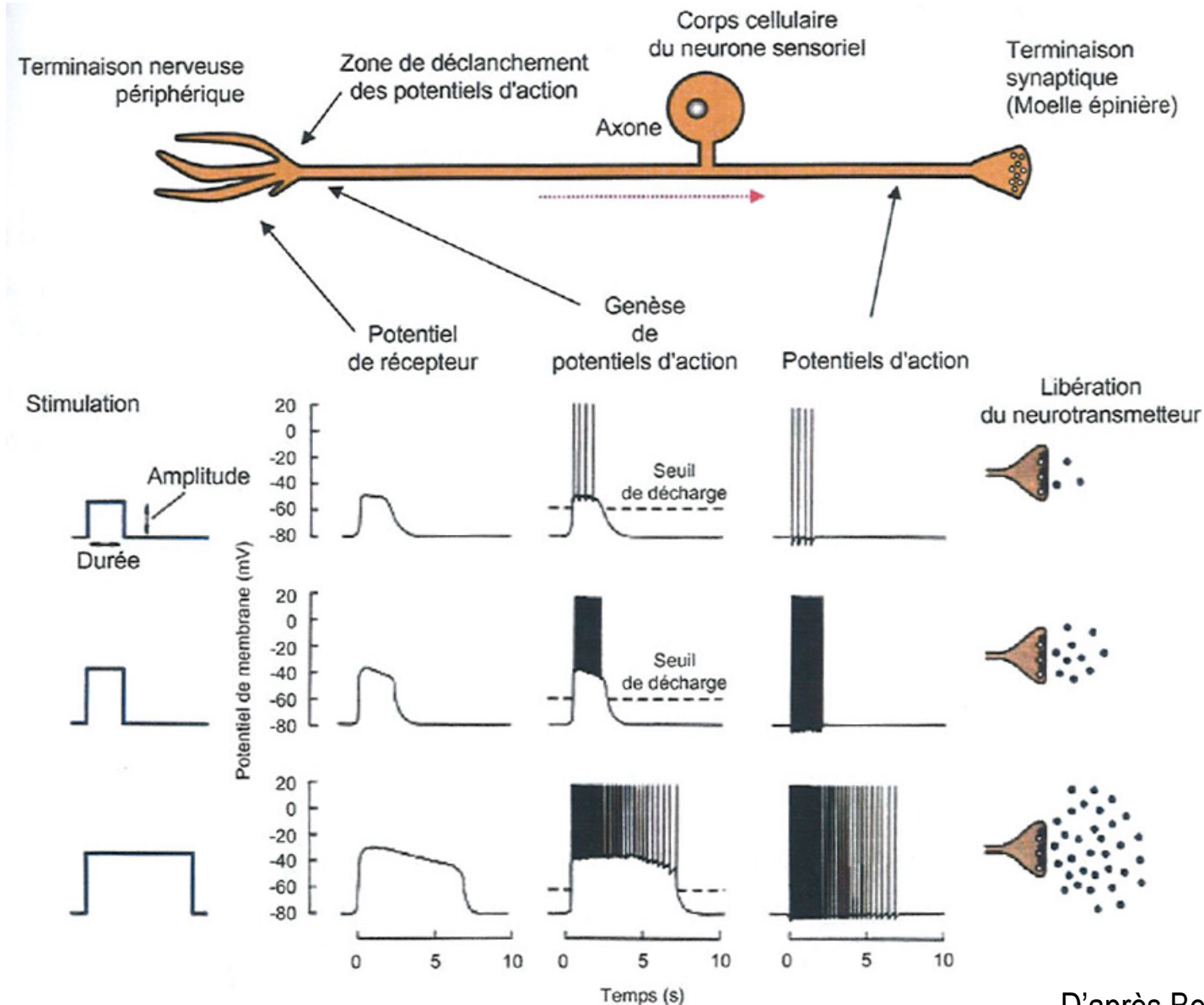
➡ décharge électrique dans le neurone sensoriel

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

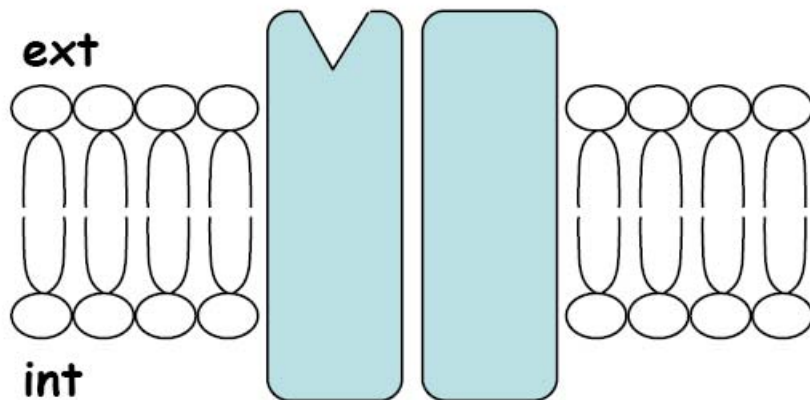


Les canaux ioniques

Les canaux ioniques

activation

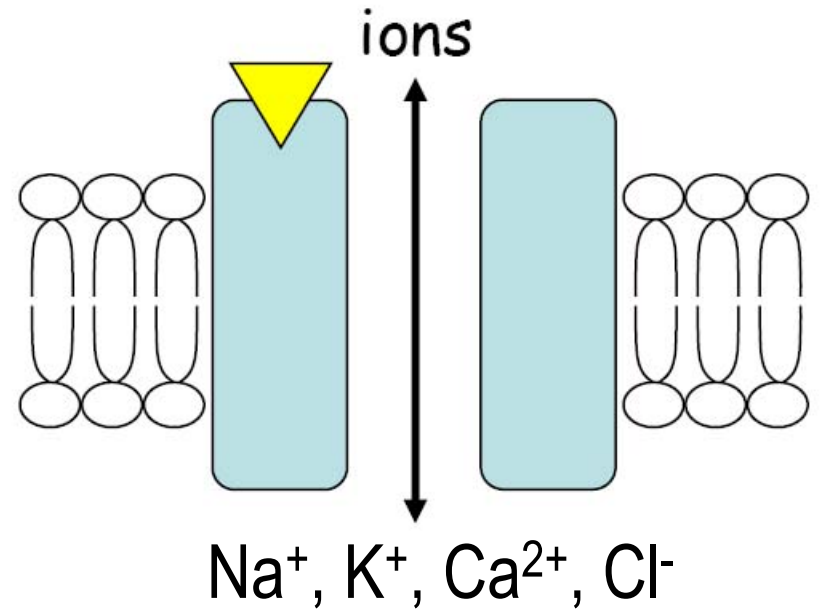
(voltage, ligand, temperature,
stimulation mécanique)



Fermé

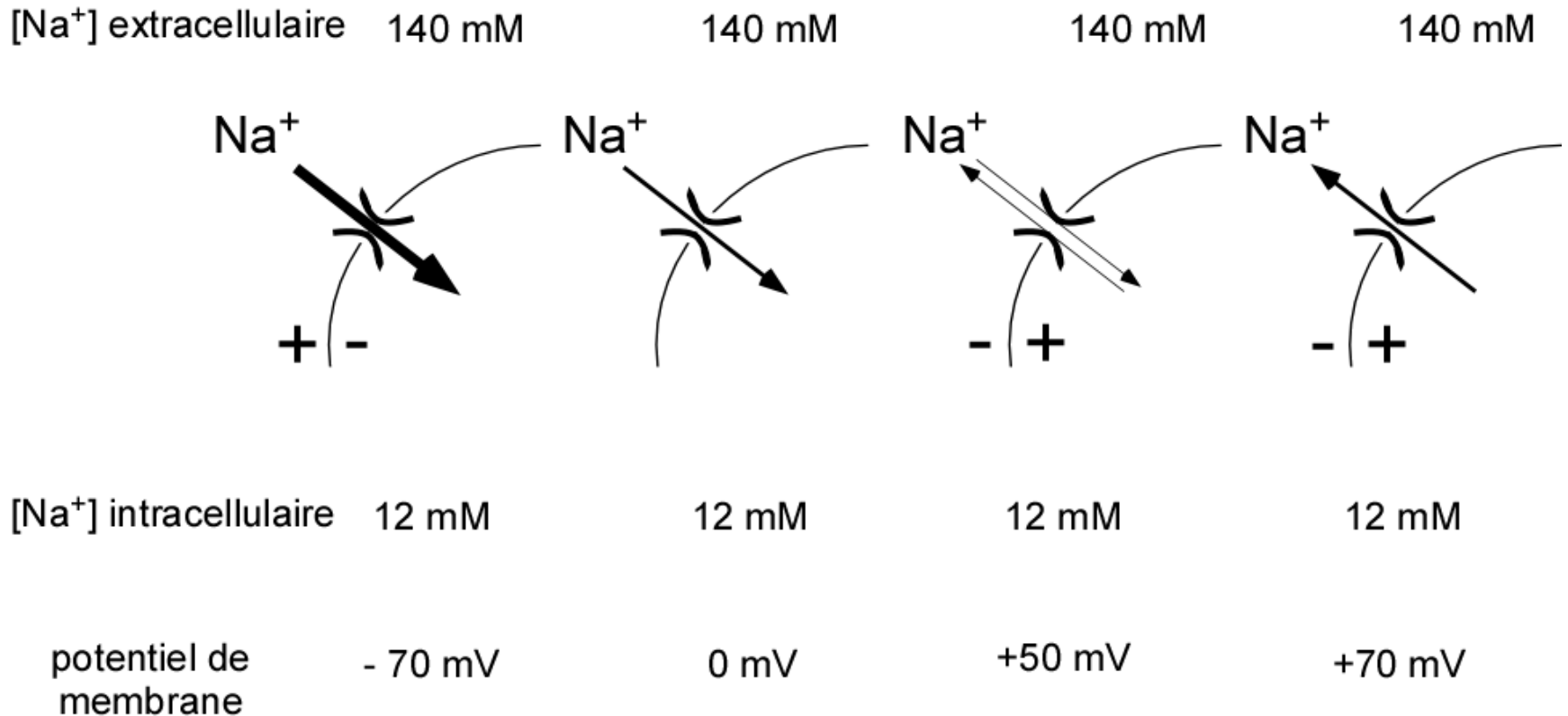
conductance
probabilité d'ouverture
cinétiques

sélectivité



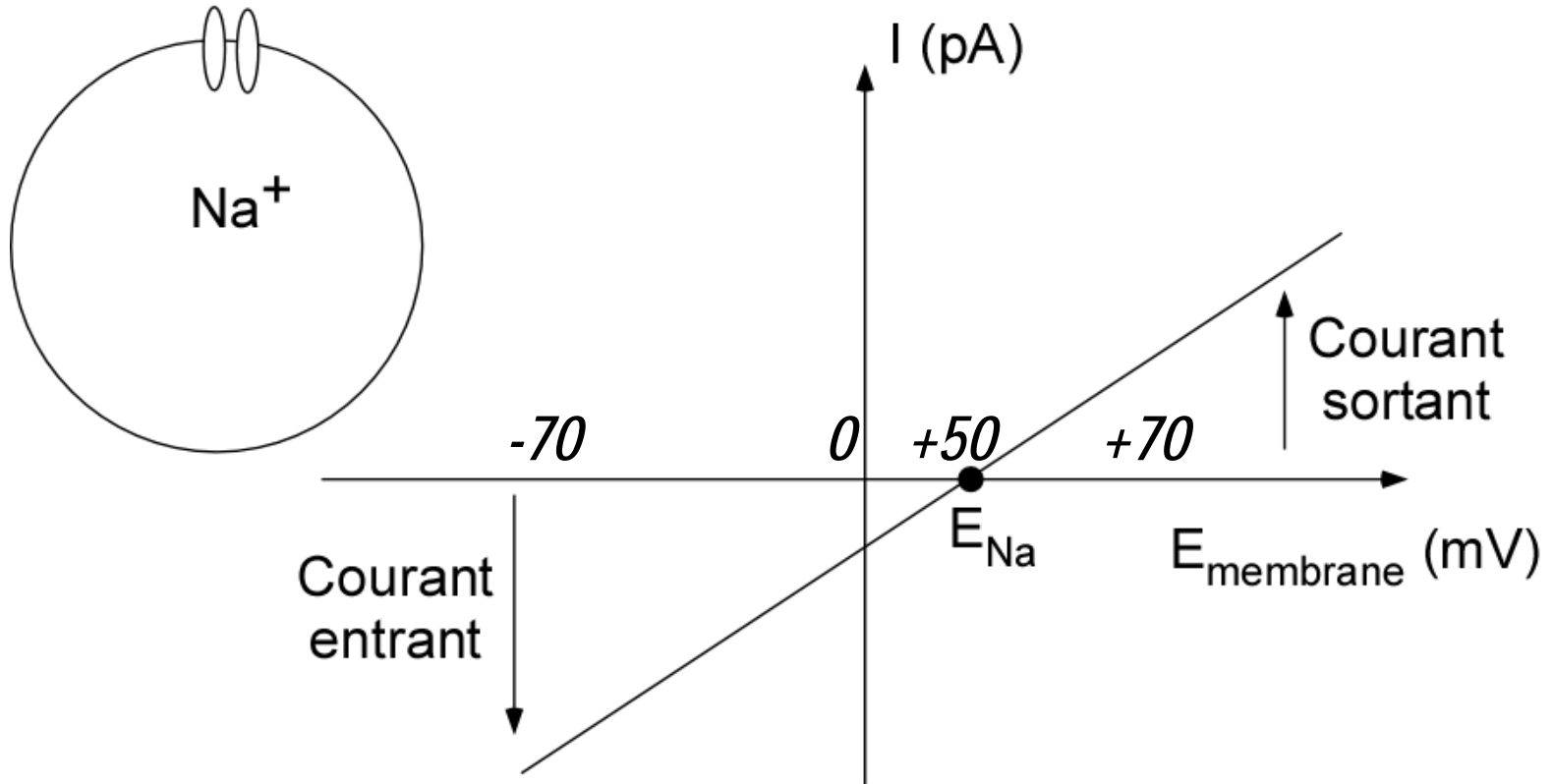
Ouvert

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



Canaux sélectifs au sodium

Na⁺



Equation
de Nernst:

$$E_{Na} = (RT)/(ZF) * \ln ([Na+]_{ext} / ([Na+]_{int}))$$

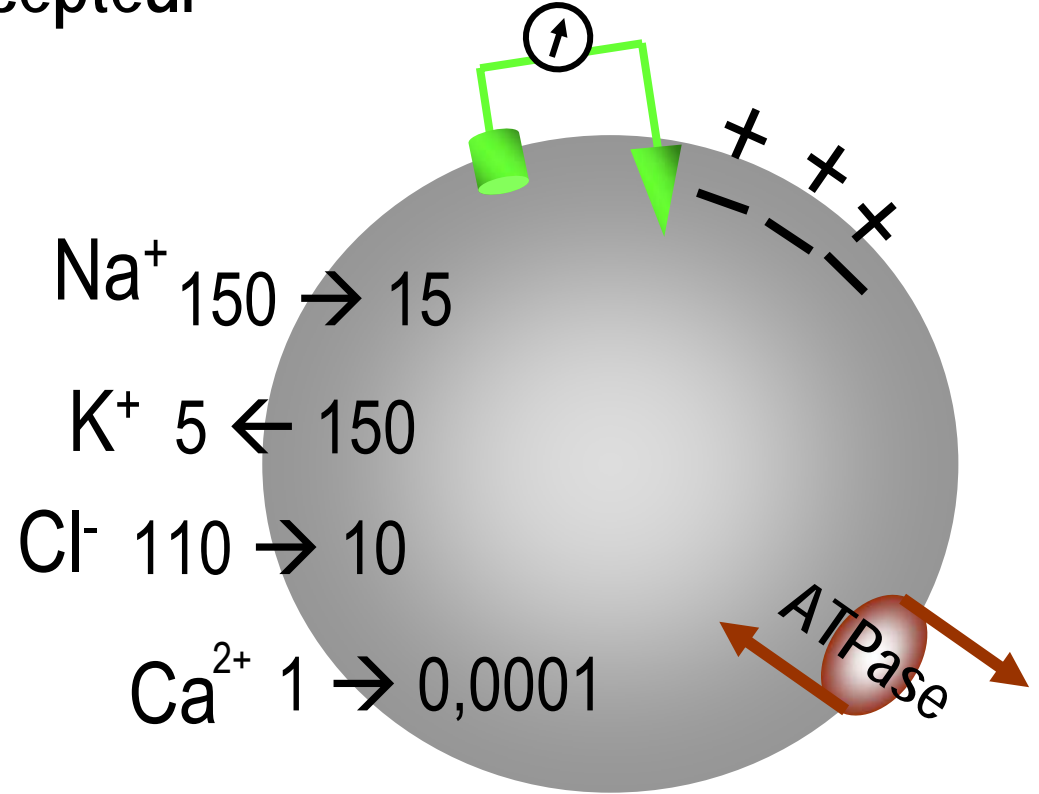
R: cte des gaz parfaits
T: température absolue
Z: valence de l'ion
F: CTE de Faraday

Activité des canaux ioniques et conséquences sur le nocicepteur

Le gradient électrochimique

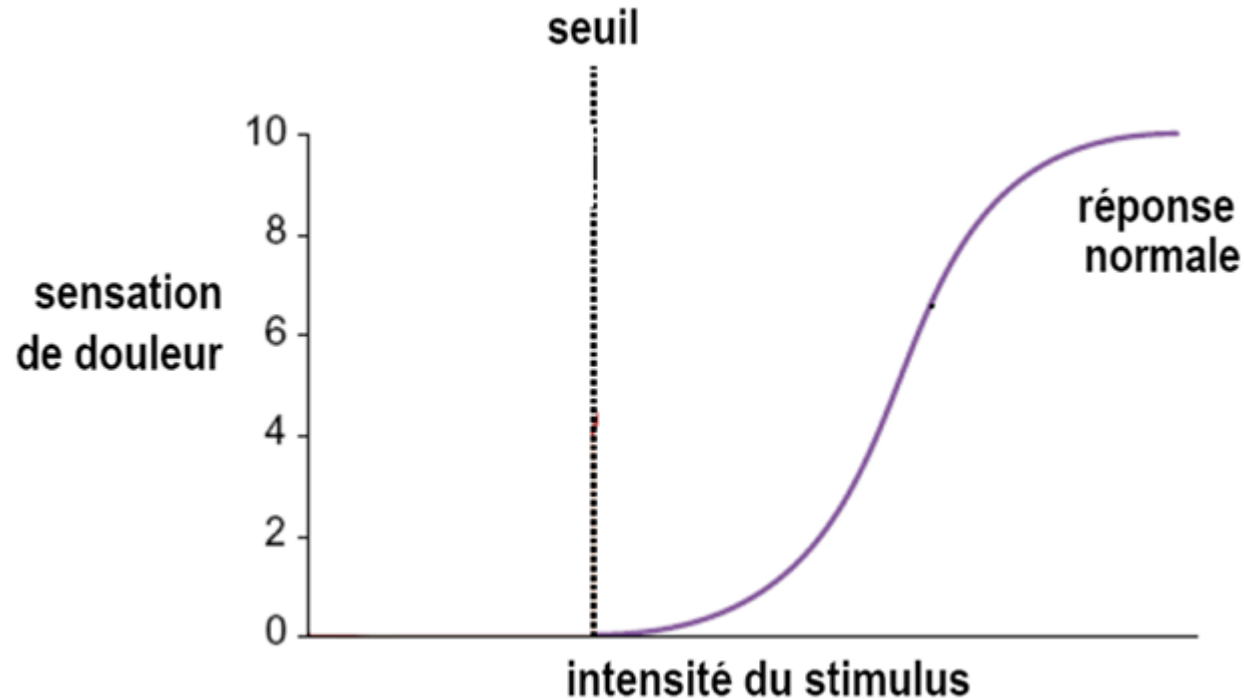
ouverture canal K^+ ou Cl^-
→ hyperpolarisation

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



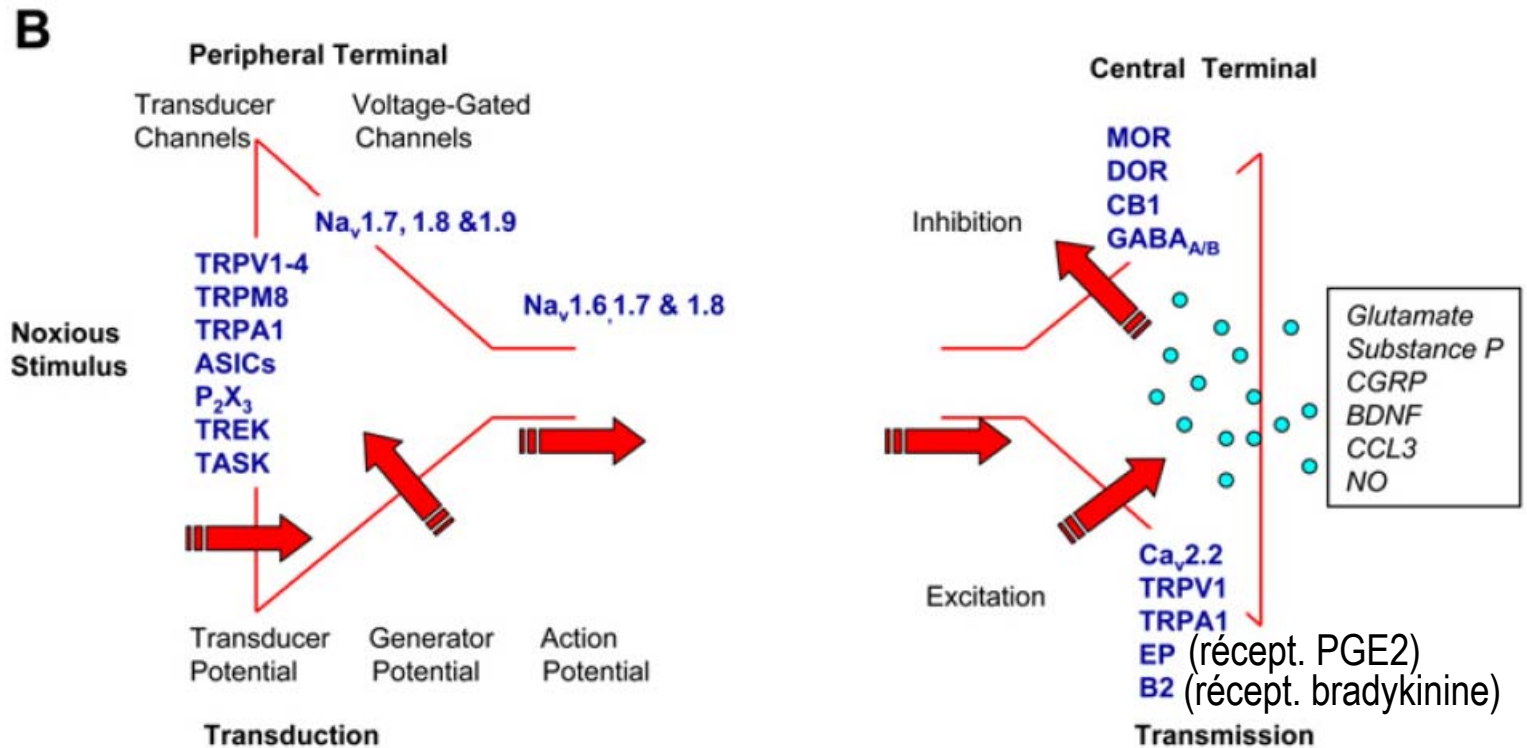
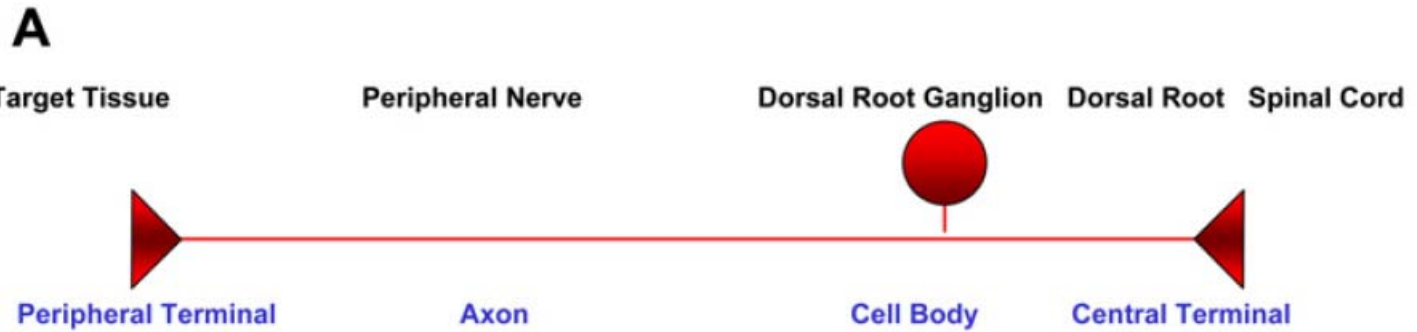
→ ddp membranaire (E_m) à **-70mV**

Les nocicepteurs possèdent des propriétés biophysiques et moléculaires uniques



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

Les acteurs moléculaires de la nociception périphérique



La transduction

Nociception mécanique:

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

Différente de la perception tactile (haut seuil)

Nociception chimique:

Stimulus externe : rare; piqûre (venin), irritants

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

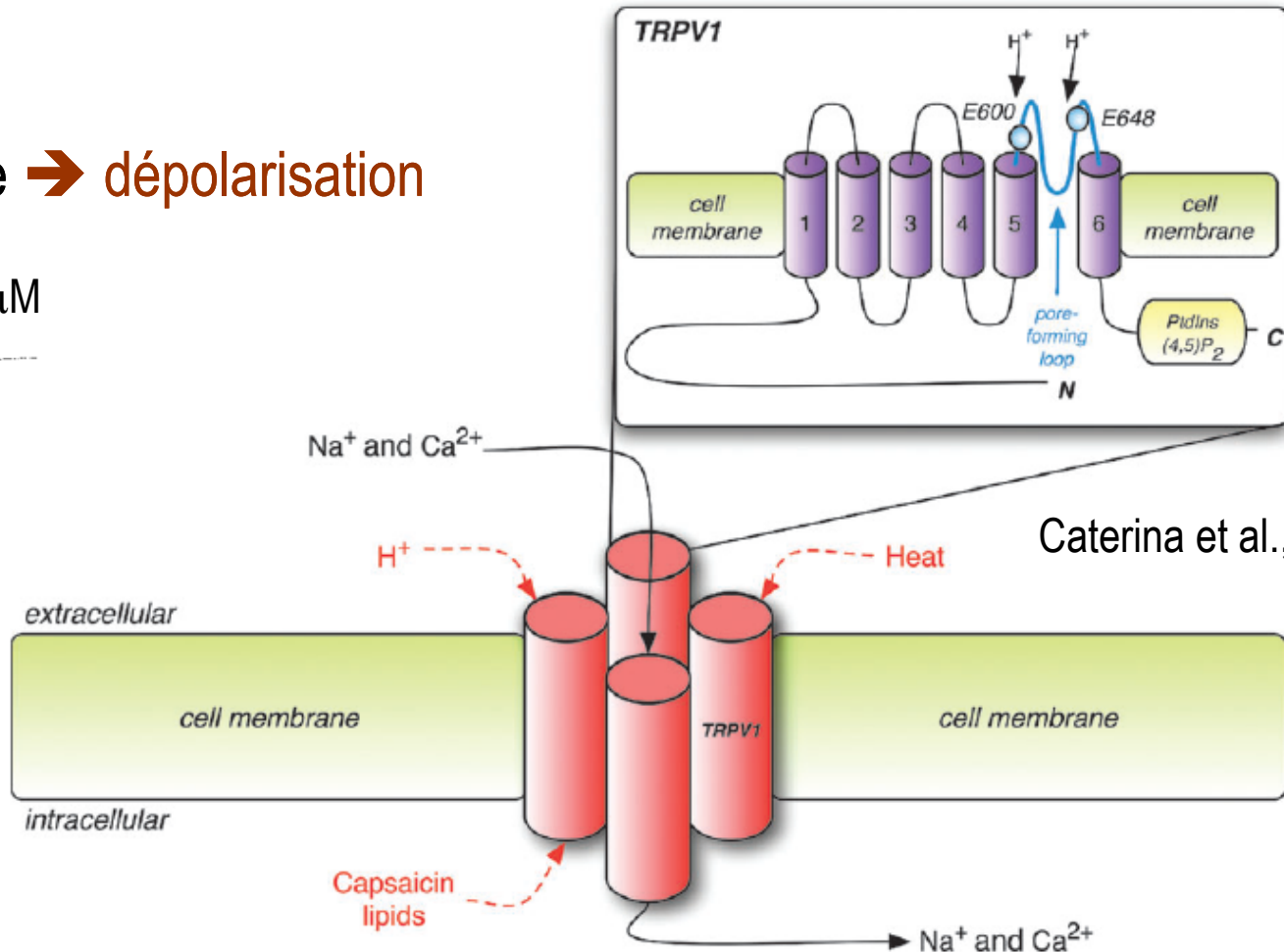
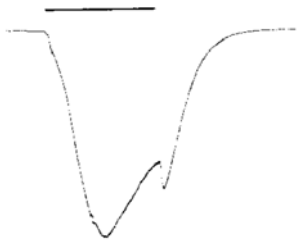
- petites molécules (*protons, ATP, sérotonine, NO ...*)
- facteurs de croissance (*NGF, BDNF ...*)
- cytokines (*IL-1, IL-6 ...*), chémokines (*CCL2...*)
- neuropeptides (*substance P, CGRP ...*)
- médiateurs pro-inflammatoires
(*histamine, bradykinine, PGE₂, PGI₂ ...*)

Transduction chimique et thermique: Le récepteur aux vanilloïdes TRPV1

(transient receptor potential vanilloid 1)

ouverture → dépoléarisation

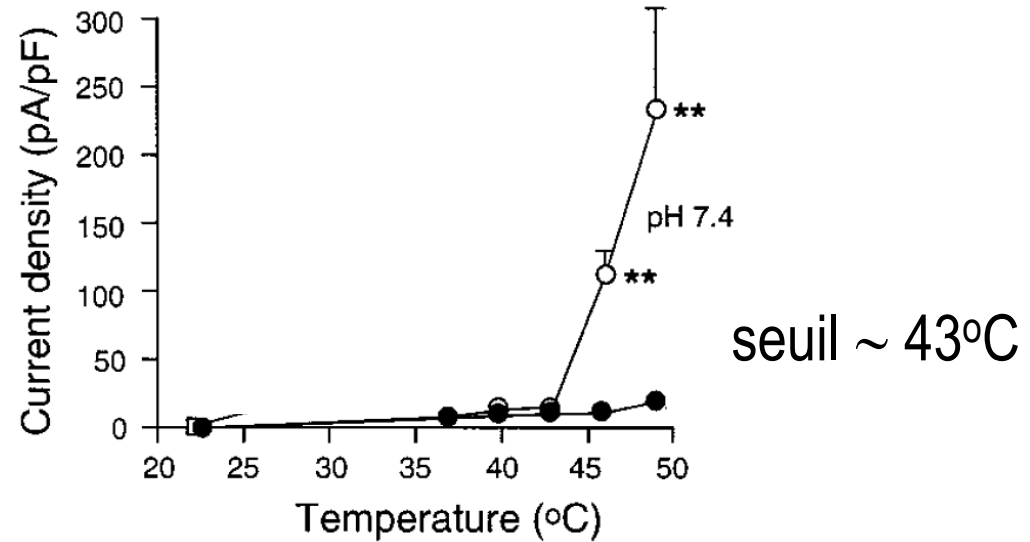
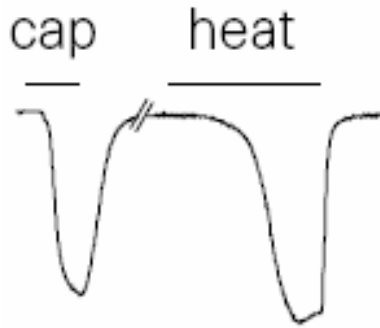
capsaïcine 1 μM



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



temperature ~ > 43°C

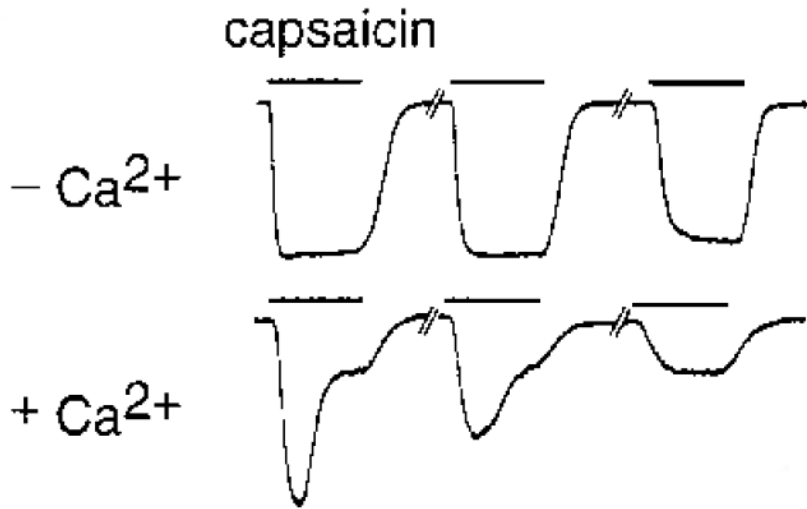
capsaicine (700nM)

protons pH <5.4

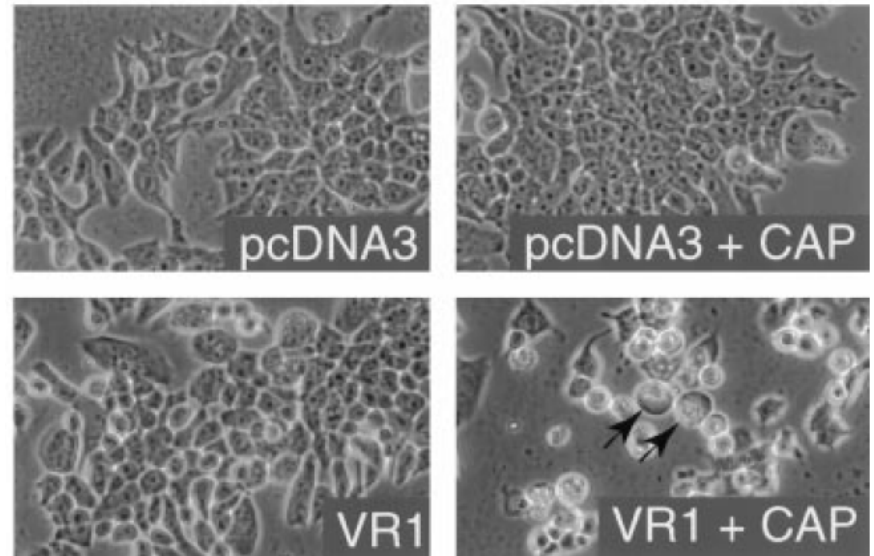
Lipides (anandamide, 12-HPETE...)

Expliquer les effets analgésiques de la capsaïcine?

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

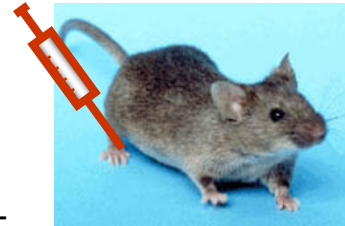
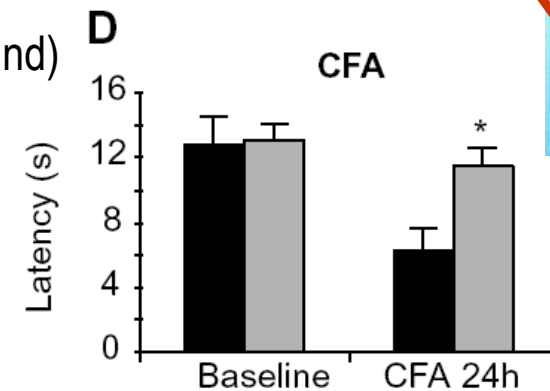
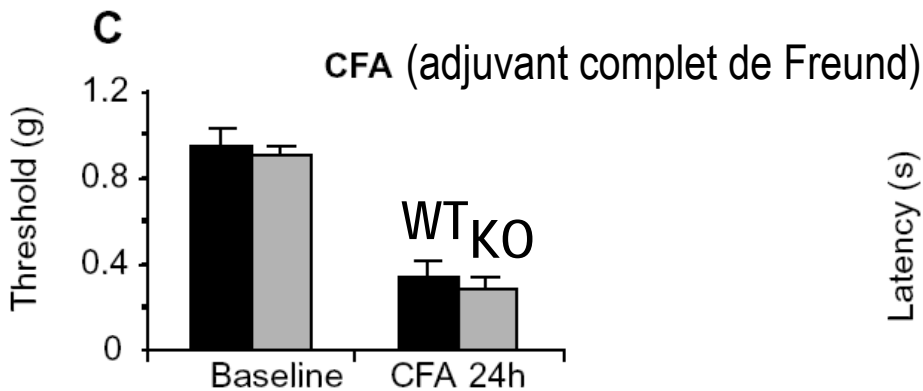
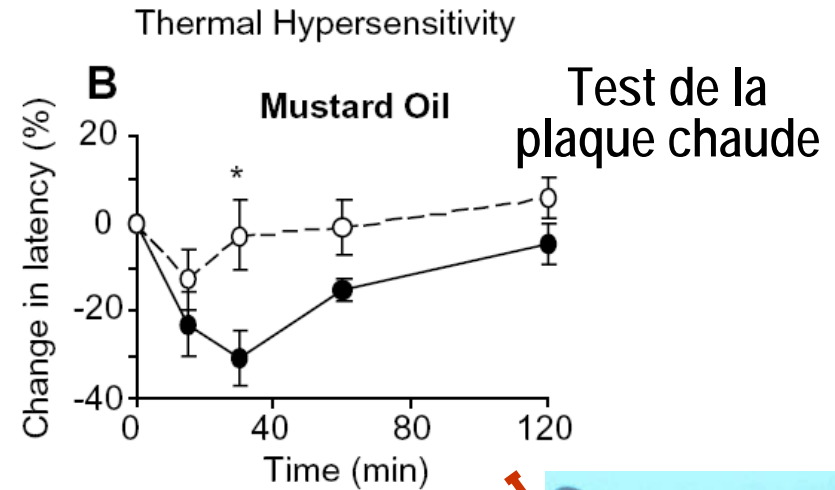
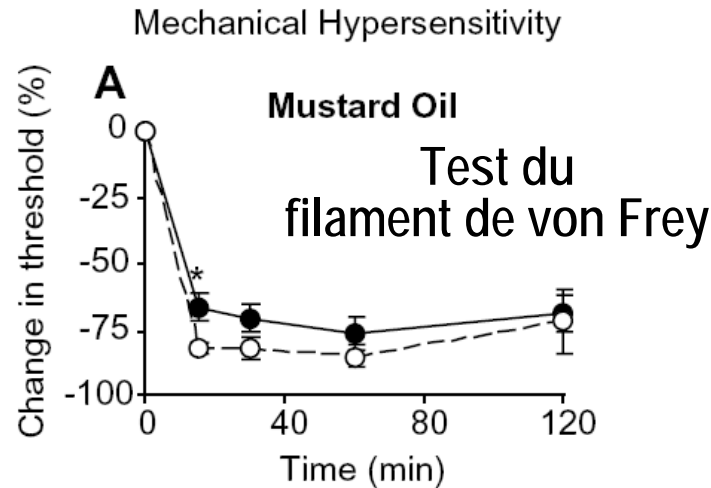


→ La capsaïcine induit la mort des cellules qui expriment TRPV1.



cellules HEK293 transfectées

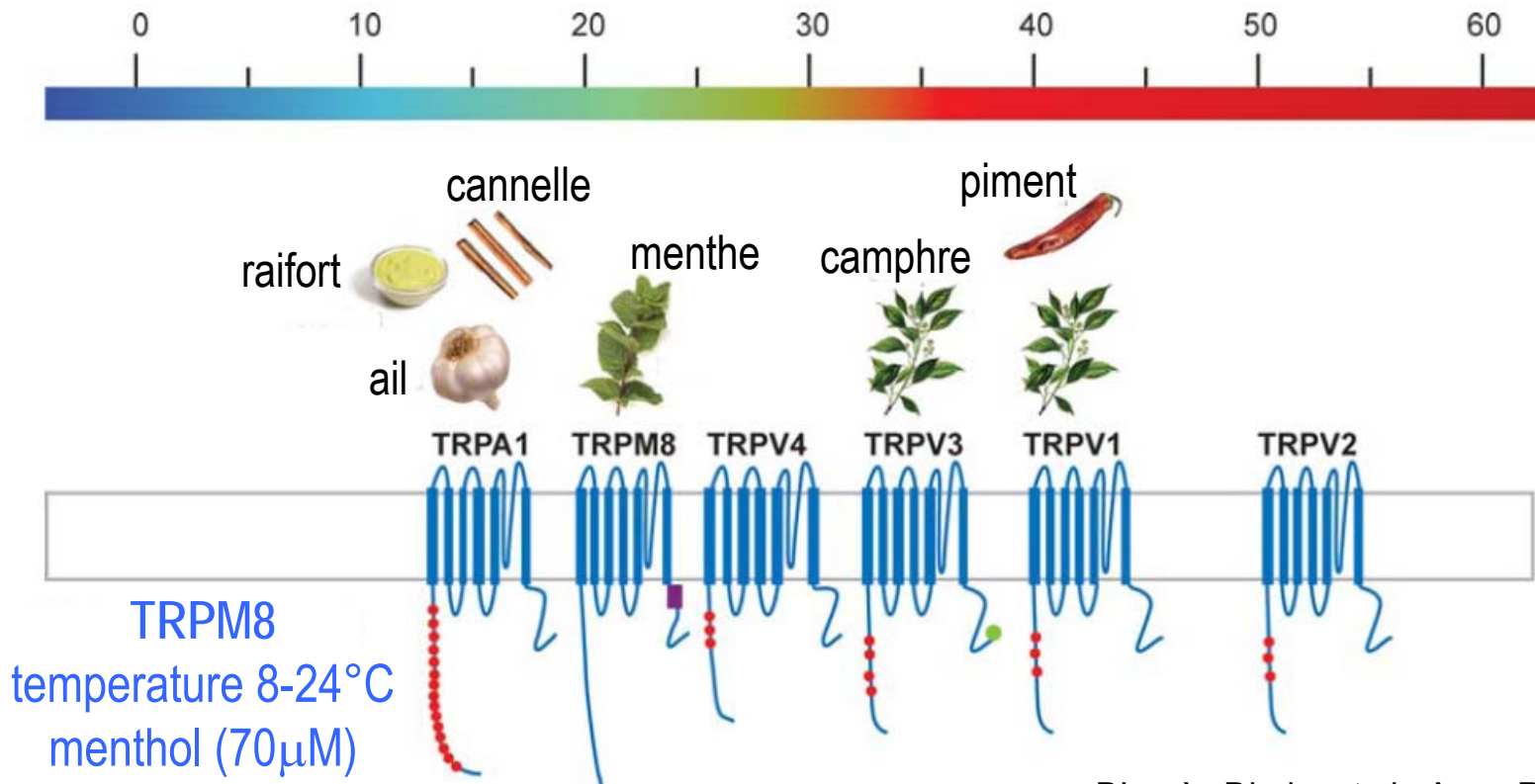
Invalidation du gène TRPV1 chez la souris



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

Transduction chimique et thermique: Les récepteurs à la température

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



Fonction des canaux "thermoTRP" et relation avec la douleur

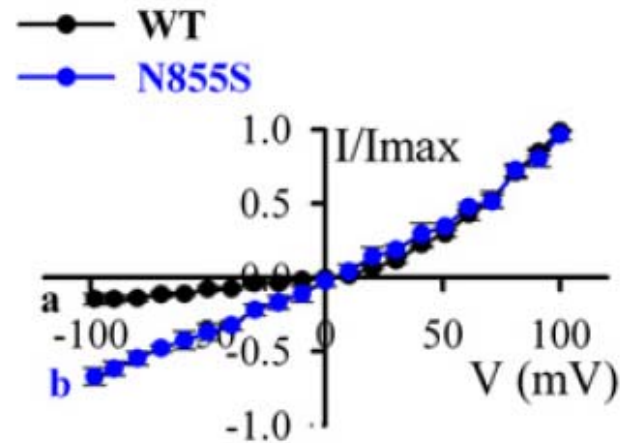
| Channel | Thermal threshold | Function and phenotype |
|---------|--|--|
| TRPV1 | $\geq 43^{\circ}\text{C}$ capsaicin, pH, lipids | Involved in noxious heat detection and mediates thermal hyperalgesia under inflammatory conditions |
| TRPA1 | $\leq 17^{\circ}\text{C}$ reactive chemicals intra. alkalization | sensitivity to environmental irritants, mechanical stress; inflammatory and neuropathic pain |
| TRPV2 | $\geq 53^{\circ}\text{C}$ | Responds to noxious heat in heterologous systems; upregulated during inflammation |
| TRPV3 | $\geq 33^{\circ}\text{C}$ camphor | Involved in warm and noxious heat detection |
| TRPV4 | $\geq 25^{\circ}\text{C}$ hypotonicity endogenous lipids | osmosensor, mechanical stress? |
| TRPM8 | $\leq 23^{\circ}\text{C}$ 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.

Canalopathies de la douleur

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

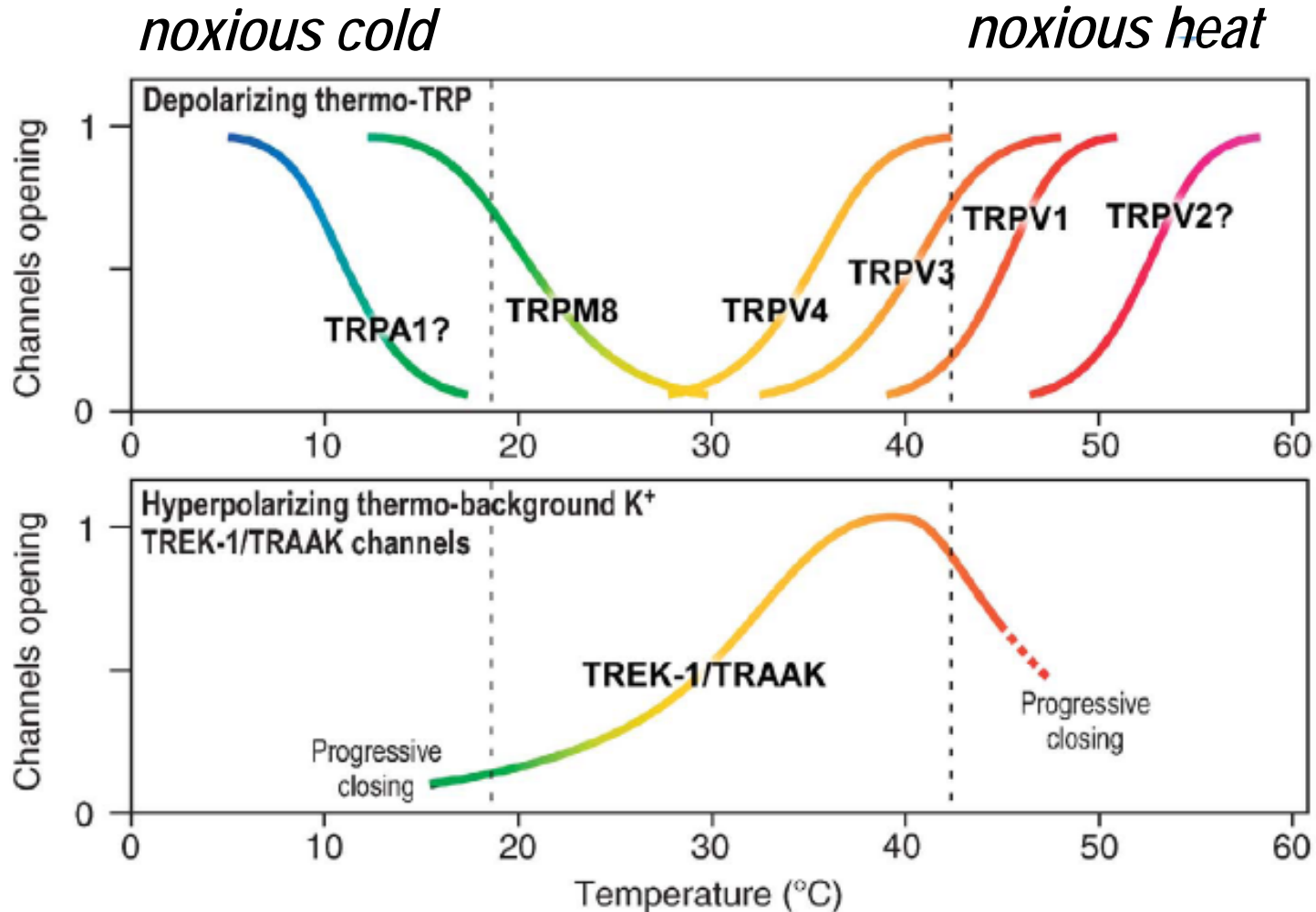
Mutations gain-de-fonction = syndrome douloureux épisodique familial (FEPS; autosomique dominante)



Kremeyer et al., *Neuron* 2010

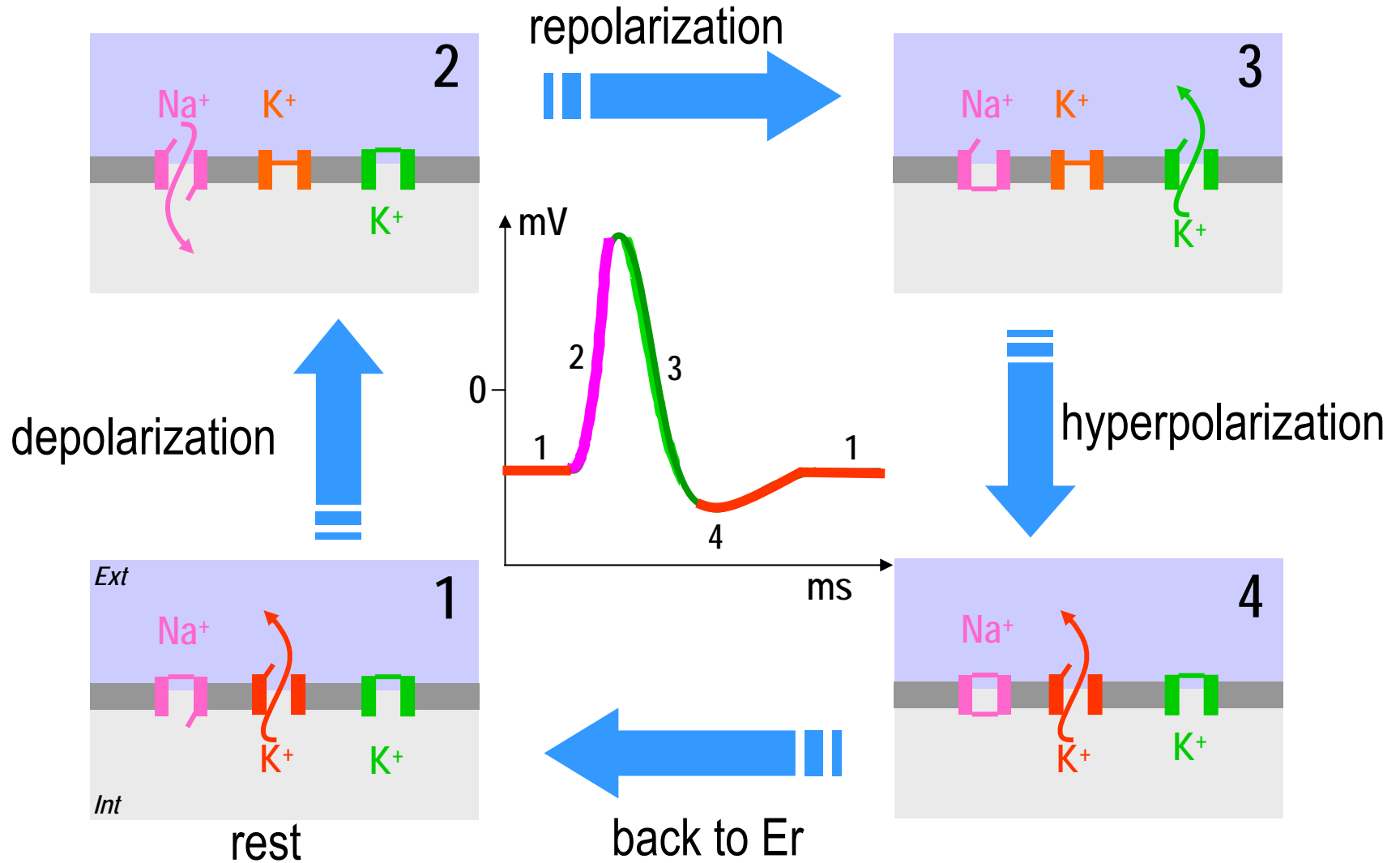
Courant activé par le froid ou des stimuli chimiques 5 fois augmenté au potentiel de repos

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



La transmission

Potentiel d'action



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).

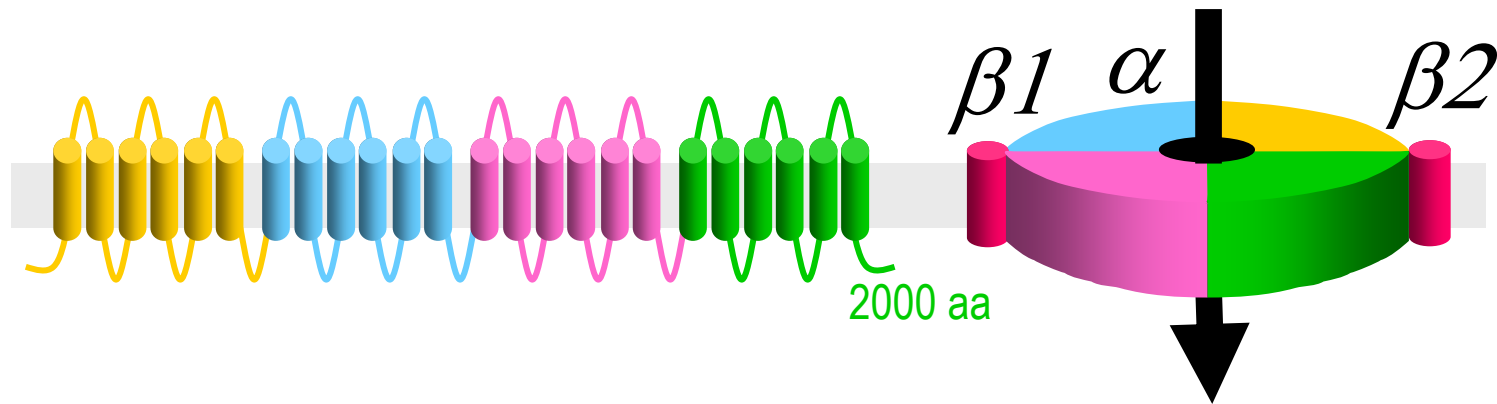
Les canaux Na^+ dépendants du voltage (Na_V ou VGSC)

Généralités sur les VGSCs

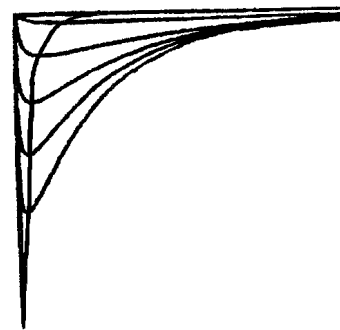
- Parmi les canaux ioniques dépendants du voltage, les VGSCs ont une importance spéciale dans l'histoire de la physiologie.
- Découverte de leurs propriétés fondamentales (axone de calmar, Hodgkin & Huxley 1952).
- Premier canal voltage-dépendant cloné (Noda *et al.*, 1984).
- Importantes cibles thérapeutiques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



TTX-S

TTX-R

Anesthésiques locaux (lidocaïne...)

Anti-épileptiques (lamotrigine, carbamazépine >> Na_v)

La famille des canaux Na^+ dépendants du voltage

| Nomenclature | Distribution | Disease correlations |
|--------------------|--|--|
| $\text{Na}_v1.1$ | Brain, spinal cord | Epilepsy |
| $\text{Na}_v1.2$ | Brain, spinal cord, peripheral nerve | Epilepsy |
| $\text{Na}_v1.3^a$ | Brain, spinal cord | Pain |
| $\text{Na}_v1.4$ | Skeletal muscle | Movement disorders |
| $\text{Na}_v1.5$ | Cardiac muscle, skeletal muscle | Cardiovascular syndromes |
| $\text{Na}_v1.6$ | Brain, spinal cord, DRG | Movement disorders, neurological disorders |
| $\text{Na}_v1.7^a$ | DRG, endocrine glands (adrenal & thyroid) | Neuroendocrine disorders, pain |
| $\text{Na}_v1.8^a$ | Peripheral nerves (small sensory neurons, DRG) | Pain |
| $\text{Na}_v1.9^a$ | Spinal cord (sensory axons), DRG | Pain |

TTXr

Na_v et douleur

E_m d'activation

TTXs

-65mV

TTXr

-40mV

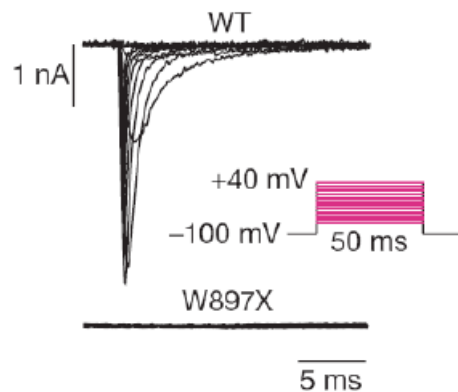


Canalopathies de la douleur

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

Mutations gain-de-fonction = érythromélgie (amplification de la sensation douloureuse; inactivation anormale du canal et courant Na⁺ persistant) et “paroxysmal extreme pain disorder” (PEPD)

Rôle: Amplification du “potentiel générateur” des nocicepteurs



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)

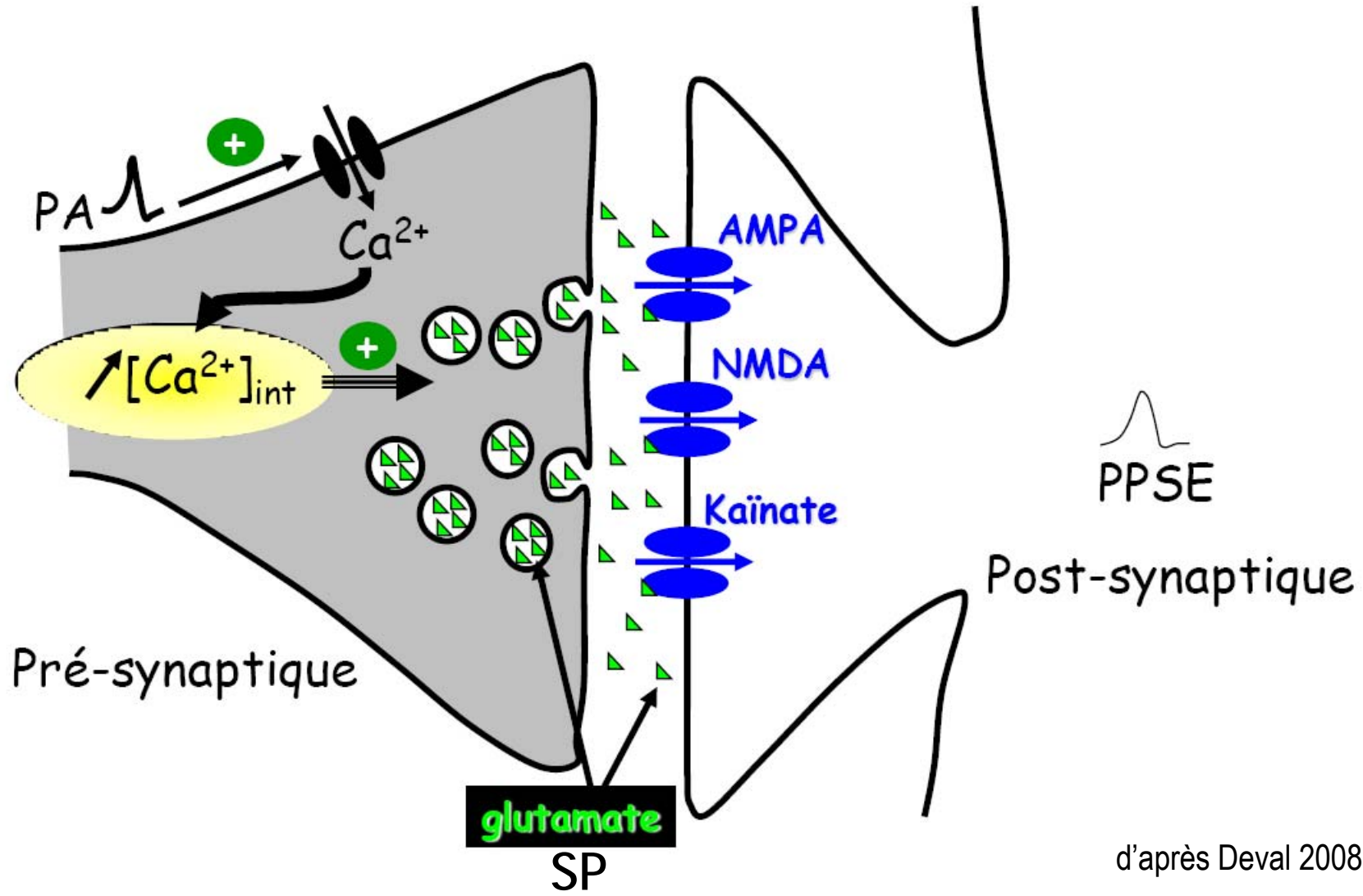
Les canaux CaV comme cibles pharmacologiques

| 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 |

La synapse centrale

Transmission synaptique excitatrice

Canaux Ca^{2+} de type N



La synapse centrale

Transmission synaptique excitatrice

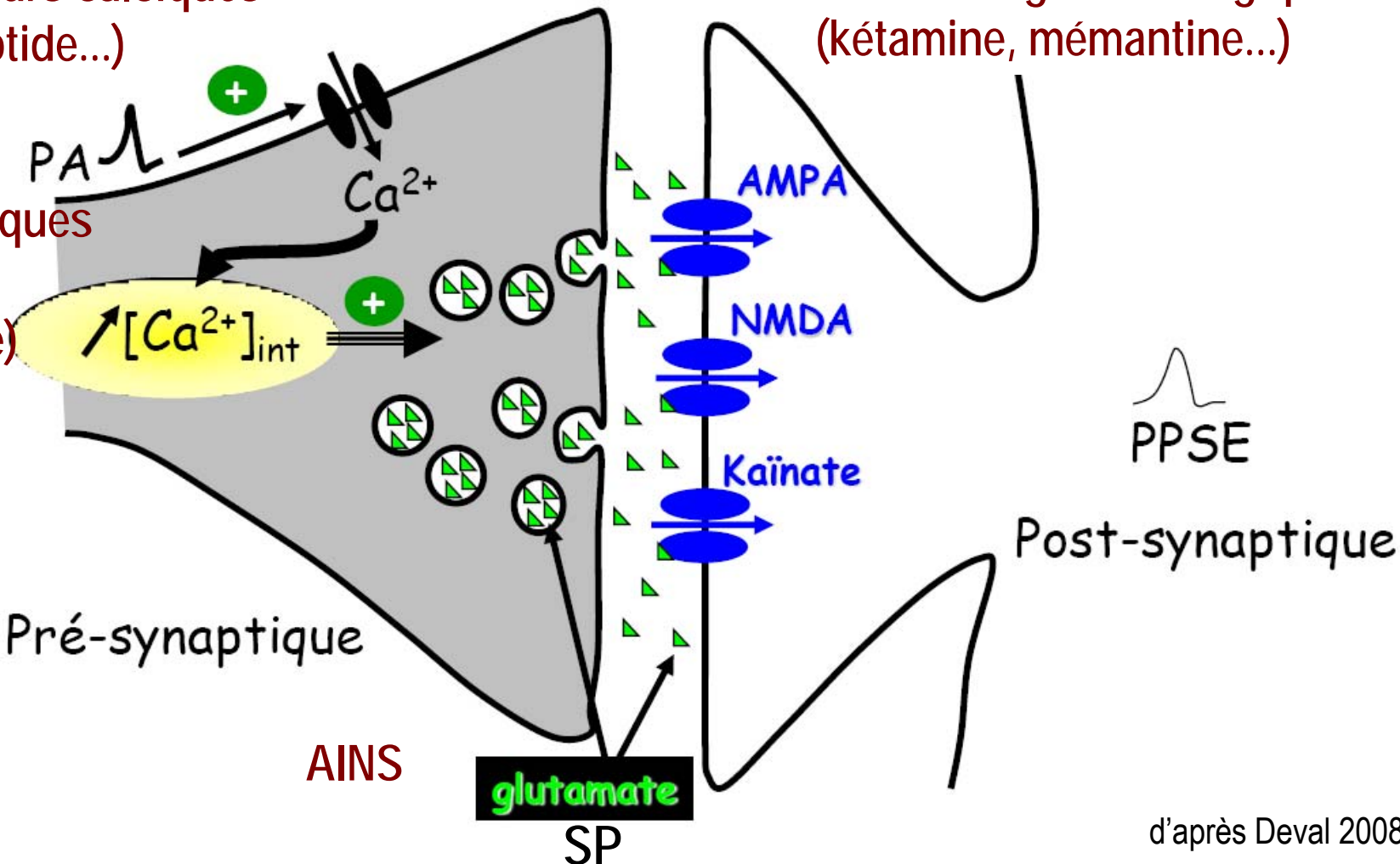
Canaux Ca^{2+} de type N

Opiacés faibles et forts
(morphine...)

Inhibiteurs glutamatergiques
(kétamine, mémantine...)

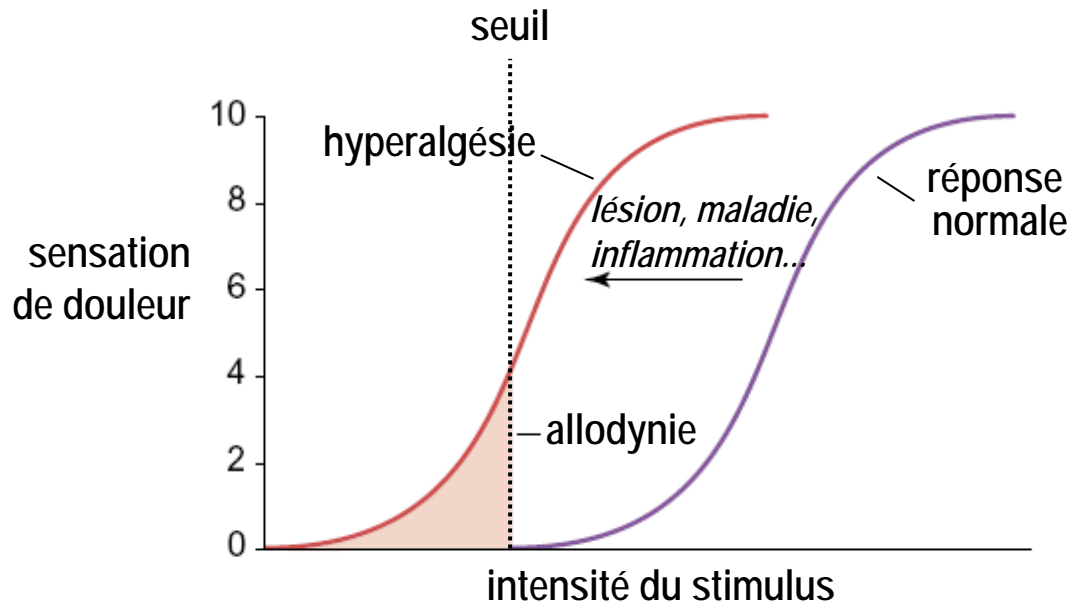
Bloqueurs calciques
(ziconotide...)

Anesthésiques
locaux
(lidocaïne)

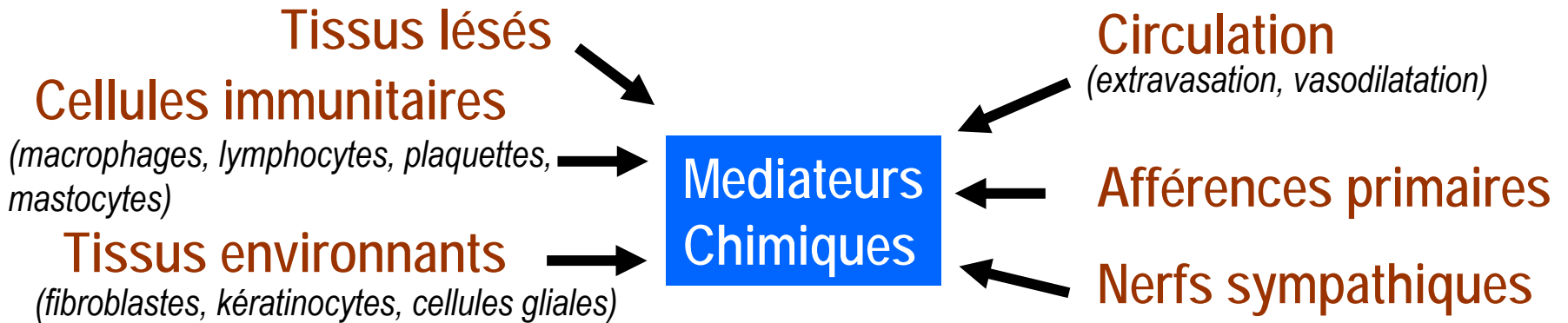


Physiopathologie de la douleur

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



Lésion Tissulaire



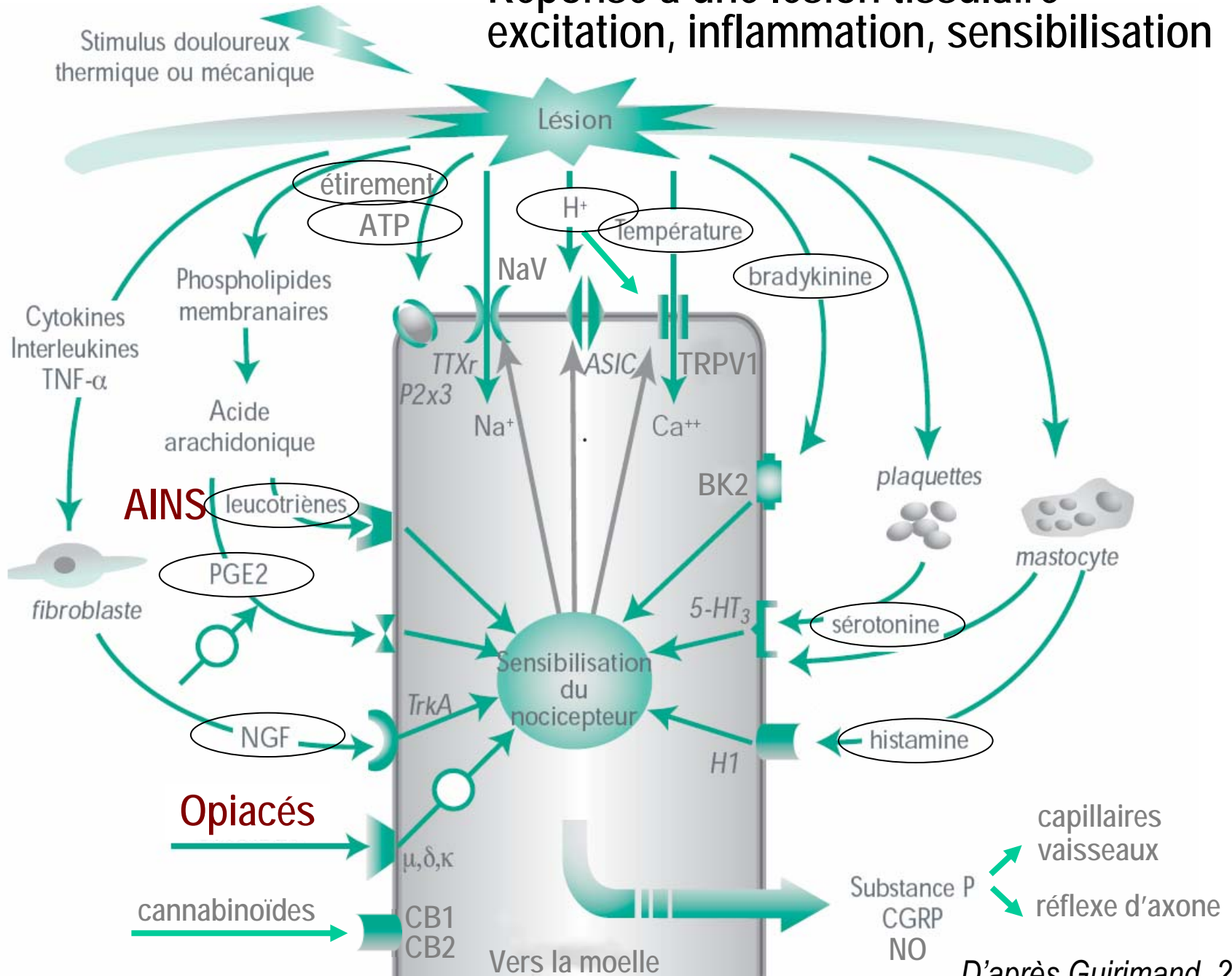
Petites molécules (H^+ , ATP, sérotonine, NO...)
Cytokines (IL-1, IL-6...), Chémokines (CCL2...)
Neuropeptides (SP, CGRP, NKA...)
Médiateurs pro-inflammatoires (histamine, sérotonine, bradykinine, PGE2, PGI2...)
Facteurs de croissance (NGF, BDNF...)
Protéases extracellulaires

Activation des
nocicepteurs

Sensibilisation
des
nocicepteurs

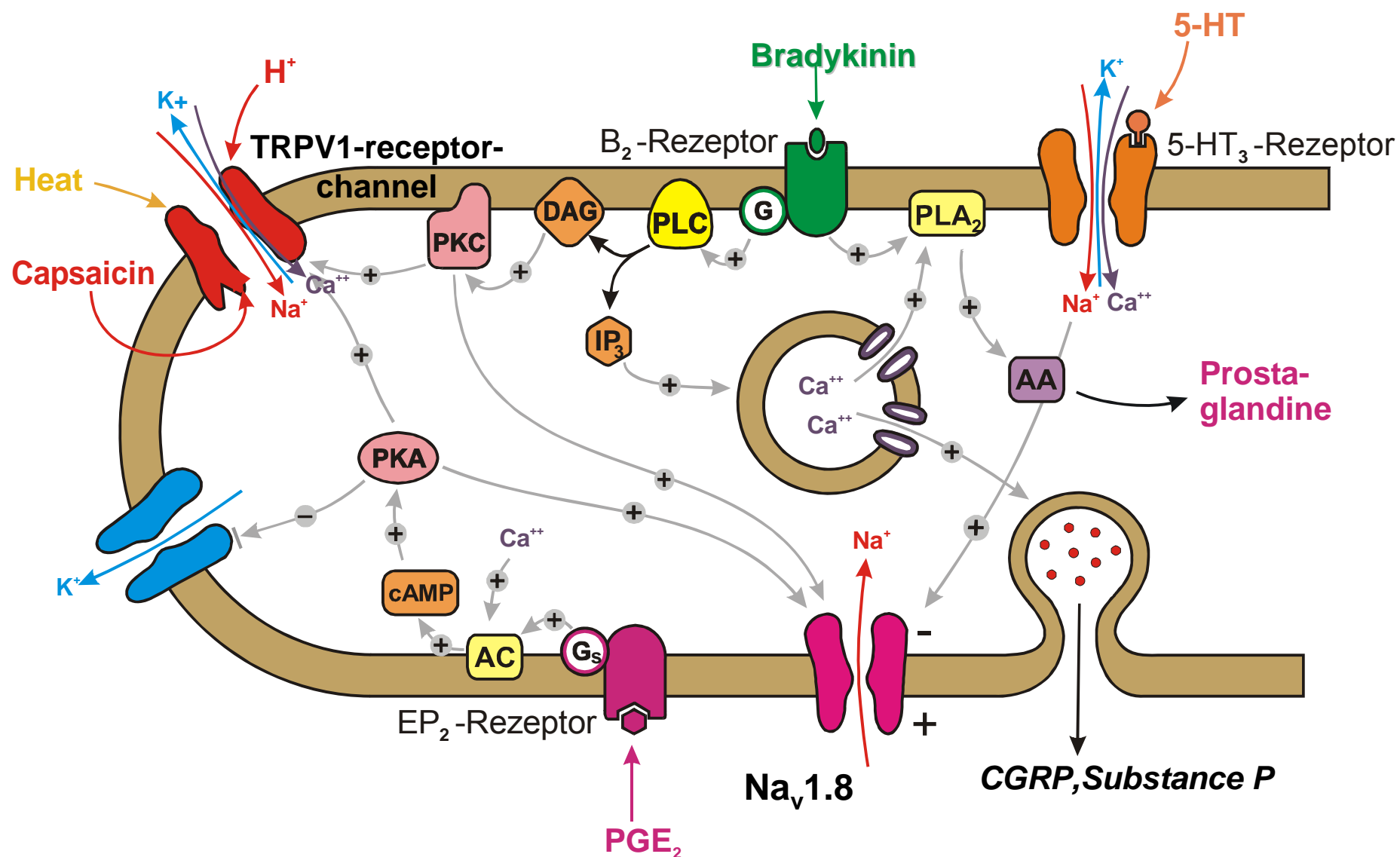
Réveil des
nocicepteurs
silencieux

Réponse à une lésion tissulaire excitation, inflammation, sensibilisation

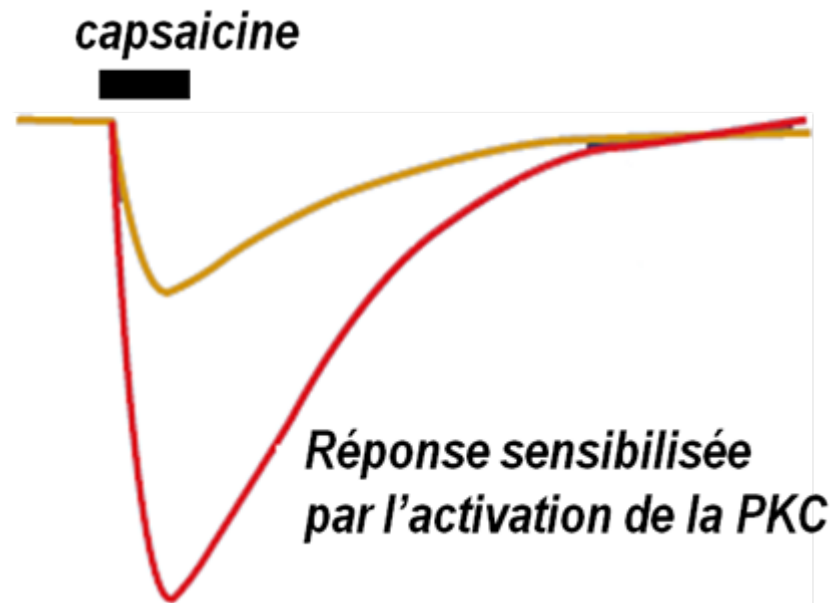


D'après Guirimand, 2005

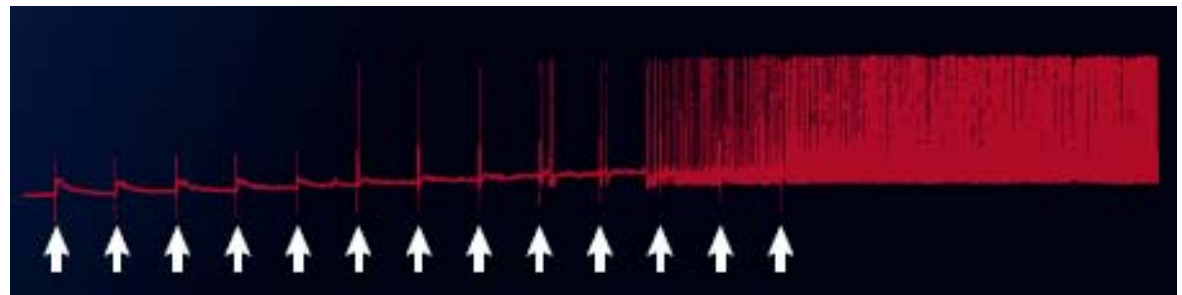
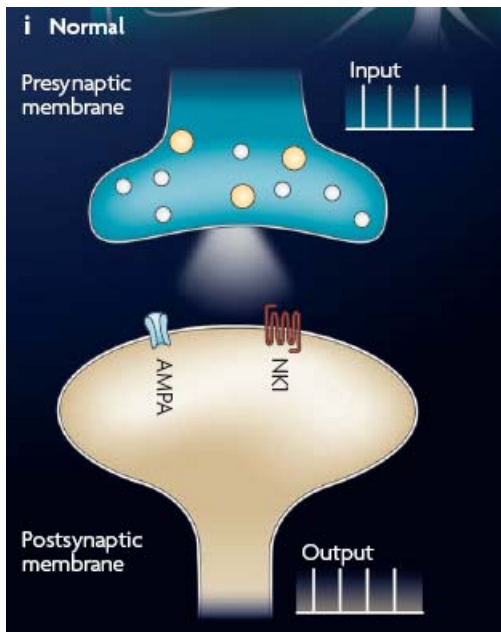
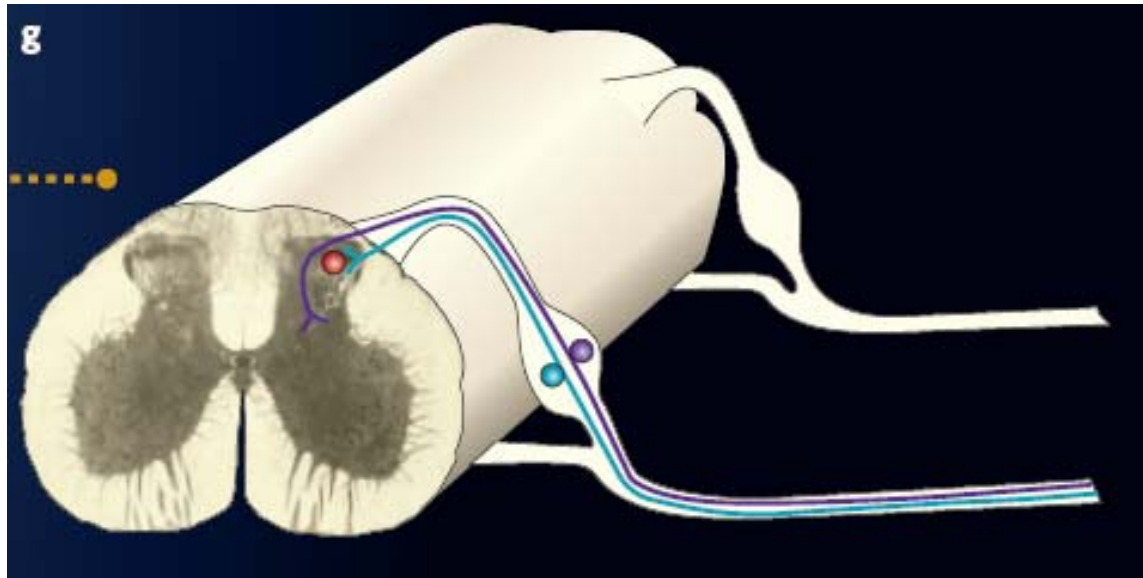
Transduction et sensibilisation des nocicepteurs: l'exemple de TRPV1



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



Sensibilisation centrale dans la moelle épinière



phénomène de Wind Up

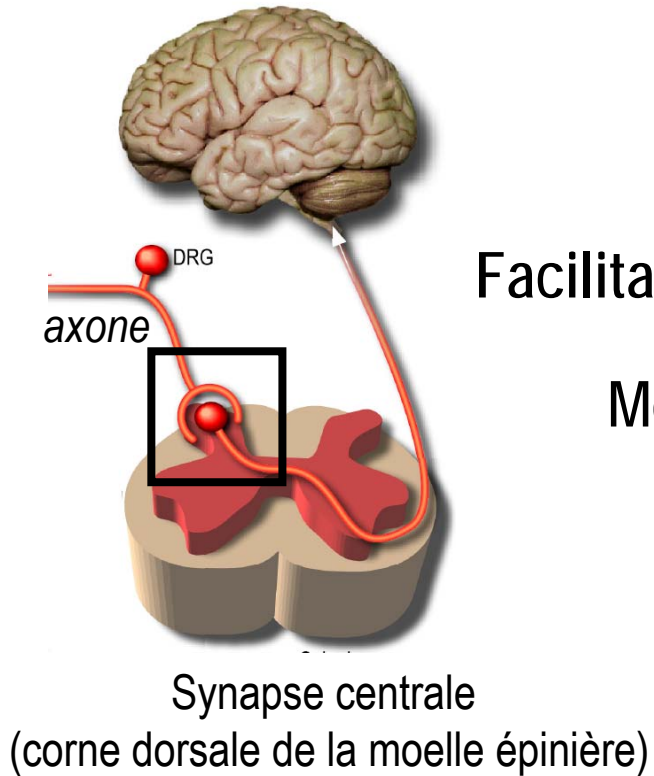
Sensibilisation centrale

Facilitation synaptique (rapide)

Modifications géniques (persistant)

Perte d'inhibition

Recablage



Pharmacologie de la douleur

Classes pharmacologiques actuelles

Morphine
(1803)



Opiacés faibles
Opiacés forts

Paracetamol
(1893)



Antidépresseurs
(amitryptiline, duloxétine)

Antiépileptiques (NaV et CaV)
(carbamazépine, gabapentine)

Aspirine
(1899)



AINS
(1965)

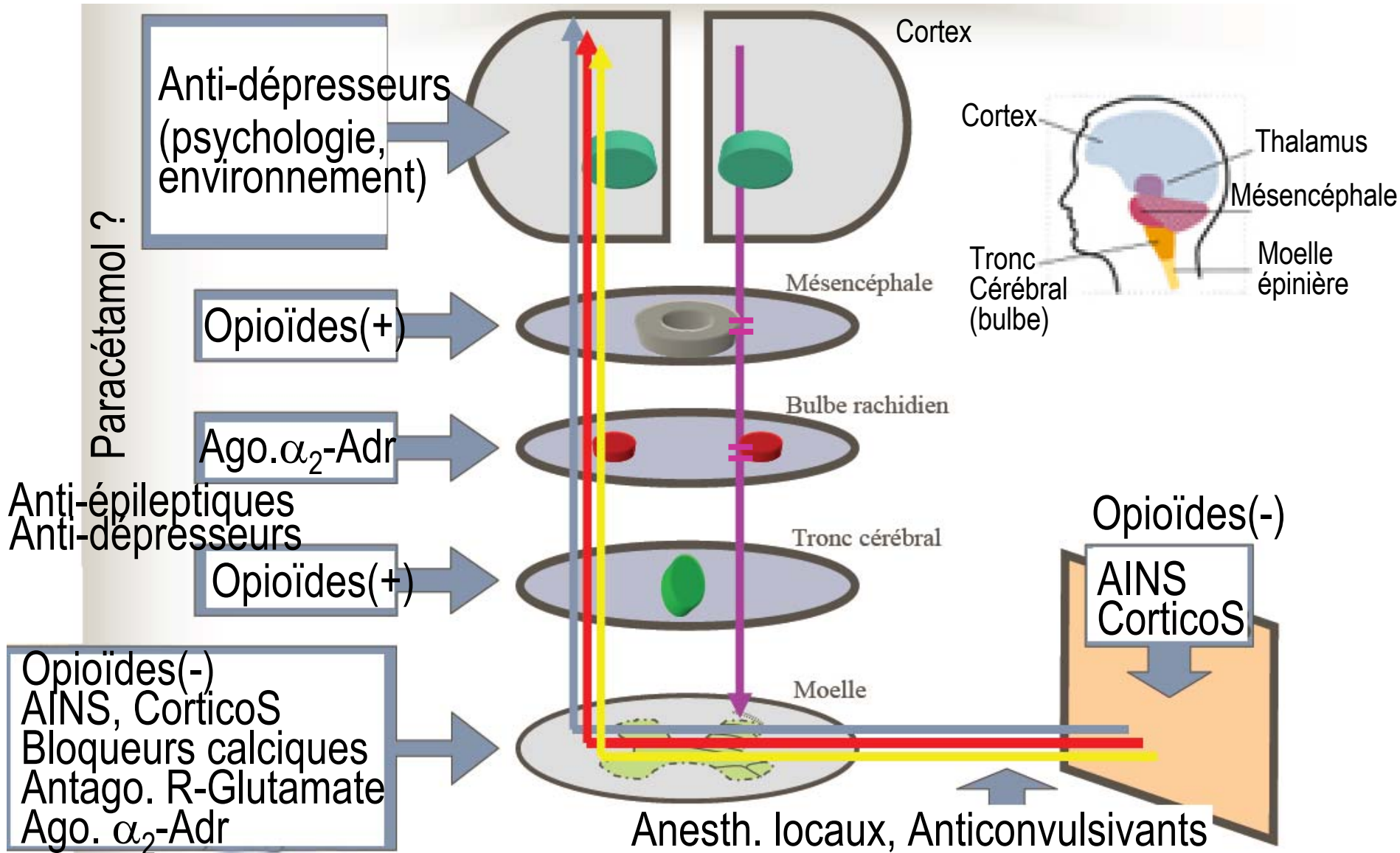
Autres antalgiques à utilisation spécifique

Anesthésiques locaux et apparentés (lidocaïne)

Ago. alpha2 adrénergiques (clonidine) / Inhibiteurs glutamatergiques (kétamine)

Bloqueurs calciques (ziconotide)

Sites d'action



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

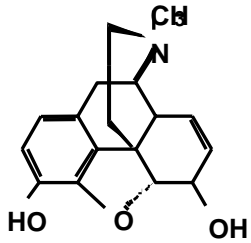
- Largement présents dans le cerveau
- Moelle épinière

→ Agissent comme neurotransmetteurs, neuromodulateurs

Le système opioïde

OPIACES

Morphine



Endogène

beta-endorphine

Enkephalines

Dynorphines

Mu MOR

delta DOR

kappa KOR

Membrane

↑ seuil activation

↓ durée PA

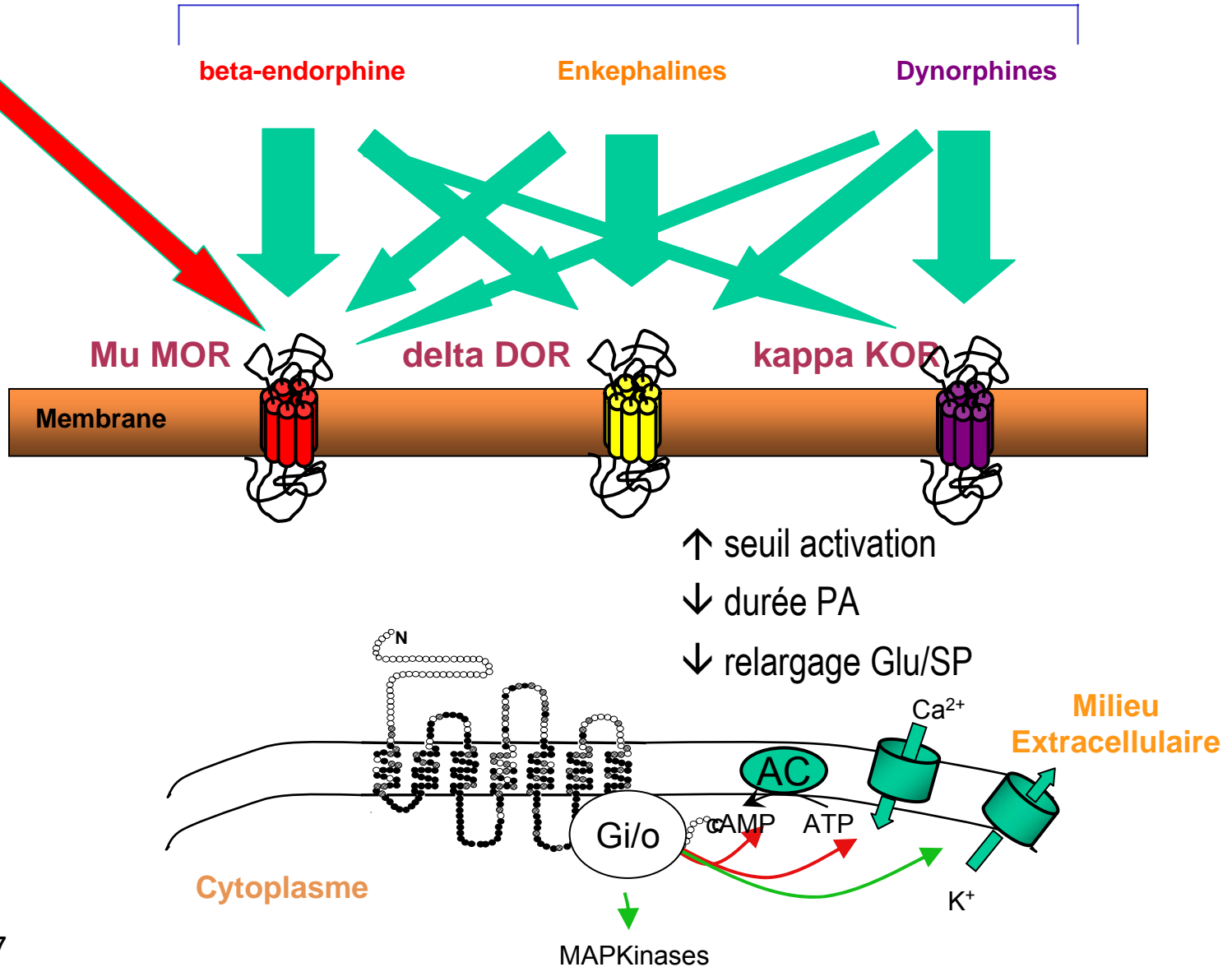
↓ relargage Glu/SP

ANALGESIE

Milieu Extracellulaire

Cytoplasme

MAPKinases



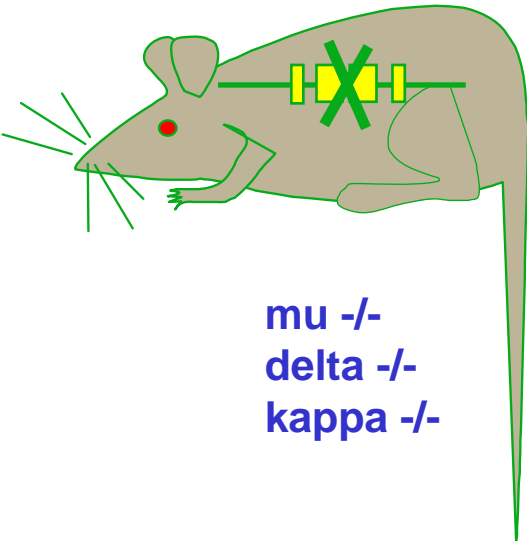
L'approche knockout

Pharmacologie

Opiacés

Autres médicaments/drogues

Knockout =
Inactivation du gène



mu
delta
kappa

?

Nociception

Stress

Toxicomanie

Cognition

Respiration

Digestion

Système endocrine

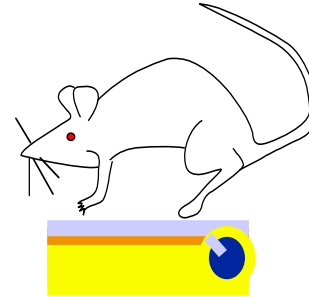
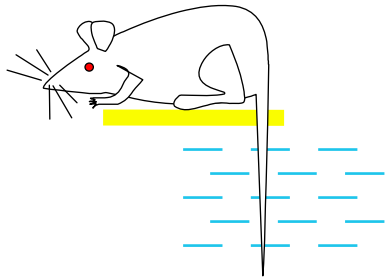
Immunité

*Quelle cible
moléculaire?*

*Quel récepteur pour
quelle fonction?*

Récepteur mu nécessaire pour l'analgésie morphinique

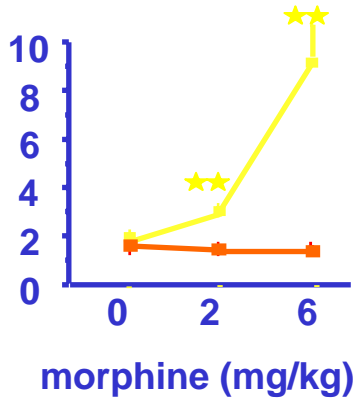
Souris knockout pour le récepteur mu: Tous les effets de la morphine sont abolis



MOR
■ +/+
■ -/-

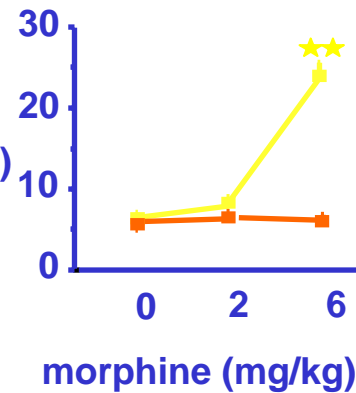
Test d'immersion de la queue

Latence de retrait de la queue (secondes)

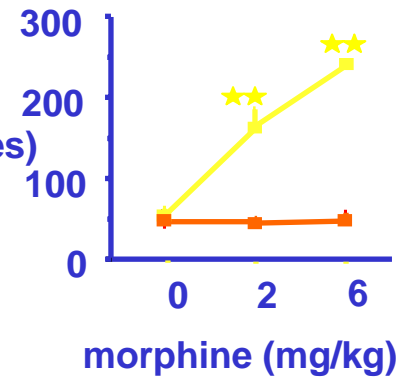


Plaque chaude

Léchage (secondes)



Saut (secondes)



Propriétés des opioïdes

(5-31 aa)

| | μ | δ | κ |
|-------------------------------|-------|----------|----------|
| Endogenous peptides | | | |
| β -Endorphin | +++ | +++ | +++ |
| Enkephalin | + | +++ | / |
| Dynorphin | ++ | + | +++ |
| | | | |
| Opiate drugs | | | |
| <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

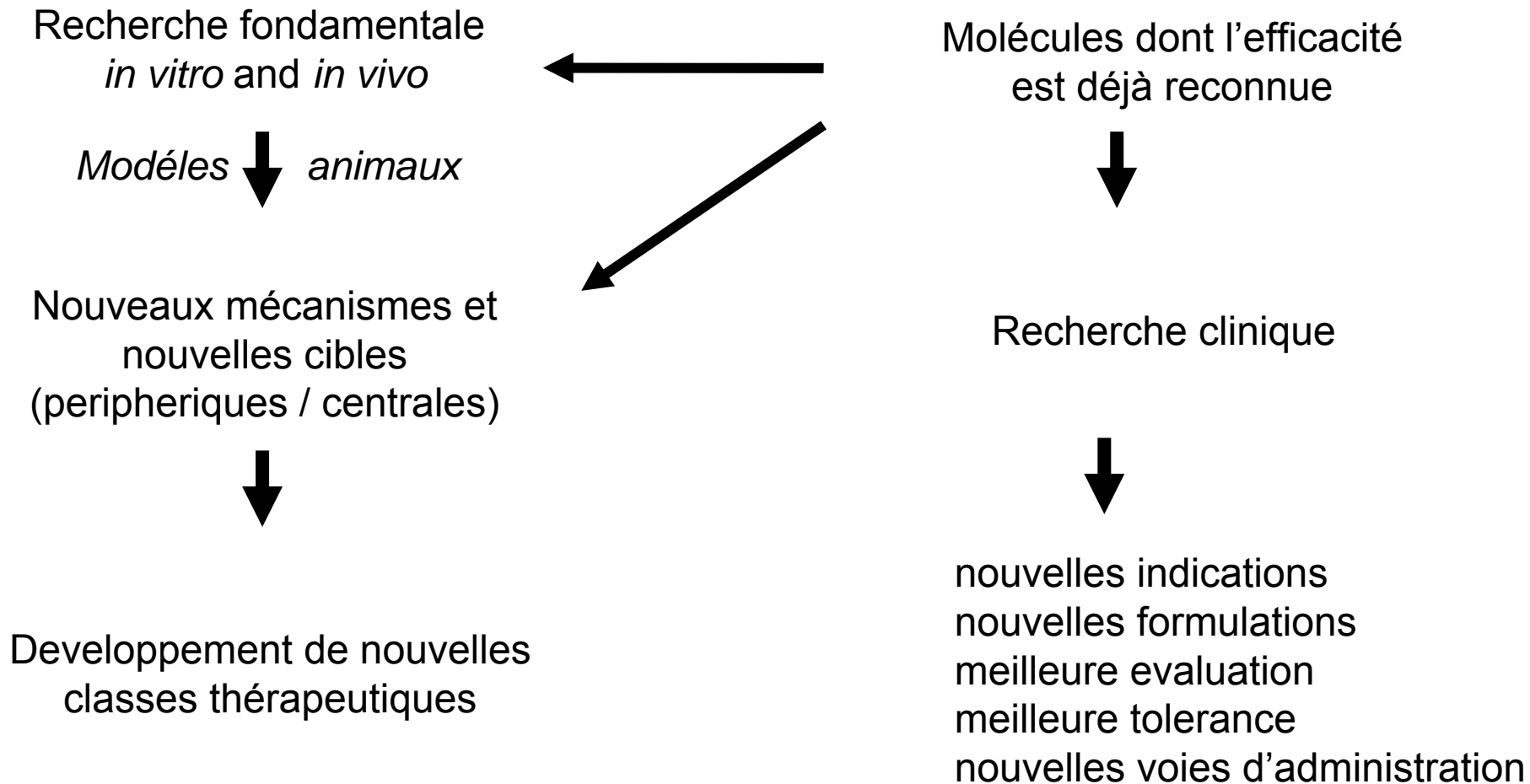
Effets fonctionnels associés aux types principaux de récepteurs aux opioïdes

| | 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 respiratoire, troubles comportementaux, tolérance, dépendance

Développement de nouveaux analgésiques



Nouvelle formulation, extension d'indication, meilleure évaluation

Molécules dont l'efficacité
est déjà reconnue



Recherche clinique



nouvelles indications
nouvelles formulations
meilleure évaluation
meilleure tolérance
nouvelles voies d'administration

nouvelles formulations:

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

AINS + protecteurs de la muqueuse gastrique

nouvelles indications:

Anti-dépresseur duloxetine

Anti-épileptique pregabaline

Nouvelles classes thérapeutiques en développement

Recherche fondamentale
in vitro and *in vivo*

Modèles ↓ animaux

Nouveaux mécanismes et
nouvelles cibles
(peripheriques / centrales)



Developpement de nouvelles
classes thérapeutiques

Anticorps anti-NGF

Anticorps anti-TNF α

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 (α 2/ α 3)

Déterminants génétiques de la douleur

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

> Les allèles facilitant la douleur

KCNS1 (VGK⁺Ch), SCN9A (Nav1.7), ADRB2 (β 2 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 VGCa²⁺Ch).

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

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

Conclusion

- grande diversité des acteurs moléculaires de la nociception
- plusieurs récepteurs pour un stimulus nocif donné pouvant appartenir à la même famille ou à des familles différentes de canaux ioniques.
- plusieurs stimuli pour un récepteur donné (récepteur polymodal).
- Implication différente de ces récepteurs dans les conditions physiologiques et physiopathologiques (inflammation...).
- leurs propriétés biochimiques et biophysiques sont dynamiques (sensibilisation périphérique et centrale...).
- AINS, paracétamol, opiacés mais aussi antidépresseurs, antiépileptiques, anesthésiques locaux, inhibiteurs glutamatergiques, agon. $\alpha 2$ adrénergiques