

CS03 LES RÉCEPTEURS P2X DE L'ATP DANS LE SYSTÈME NOCICEPTIF SPINAL : RÔLE DANS LES DOULEURS NEUROPATHIQUES

R. Schlichter

Université Louis Pasteur, Strasbourg. Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives (INCI), UMR 7168 CNRS, Strasbourg.

Aujourd'hui, il est clairement établi que l'adénosine-5'-triphosphate (ATP) est une molécule de signalisation extracellulaire importante au sein de différents tissus de l'organisme. En particulier, l'ATP est un neurotransmetteur dans le système nerveux central et périphérique où elle est souvent co-libérée avec des neurotransmetteurs classiques (Burnstock, 2004). L'ATP peut activer des récepteurs canaux (P2X) ou des récepteurs couplés à des protéines G (P2Y). Les récepteurs P2X sont des canaux cationiques dont certains présentent une très forte perméabilité aux ions Ca^{2+} . Ils sont formés par l'assemblage homo- ou hétéromérique de trois sous-unités protéiques présentant chacune deux segments transmembranaires (Khakh et North, 2006). À ce jour, sept sous-unités P2X (P2X₁-P2X₇) ont été identifiées. Les sous-unités P2X₁-P2X₆ sont exprimées par les neurones, alors que les sous-unités P2X₇ sont présentes sur des cellules de la lignée immunitaire et des cellules gliales. Les neurones du système nerveux central expriment surtout les sous-unités P2X₂, P2X₄ et P2X₆ alors que dans les neurones du système nerveux périphérique on trouve essentiellement les sous-unités P2X₂ et P2X₃. La sous-unité P2X₃ a particulièrement retenu l'attention des chercheurs dans le domaine de la nociception et de la douleur car elle semble spécifiquement exprimée dans les nocicepteurs périphériques et pourrait donc représenter une cible thérapeutique intéressante. Ainsi, les travaux de recherche se sont essentiellement orientés vers l'étude du rôle des récepteurs incluant la sous-unité P2X₃ dans la nociception aiguë, les douleurs inflammatoires et les douleurs neuropathiques.

Des études immunohistochimiques ont montré que P2X₃ était surtout détectée dans des nocicepteurs de type C ne contenant pas les neuropeptides substances P et CGRP, mais exprimant les canaux TRPV1 (récepteur de la capsaïcine) (Vulchanova *et al.* 1998). Les sous-unités P2X₃ sont trouvées sur les corps cellulaires de ces neurones sensoriels ainsi que sur les terminaisons périphériques et intra-spinales de leurs axones, suggérant un rôle de l'ATP et des récepteurs renfermant la sous-unité P2X₃ dans la détection et la transmission des messages nociceptifs. L'activation de ces récepteurs par application exogène d'ATP ou d'alpha-beta-méthylène ATP ($\alpha\beta$ me-ATP), un agoniste des récepteurs P2X contenant la sous-unité P2X₃, induit des comportements nociceptifs chez le rat ou la souris (Tsuda *et al.* 2000) et une sensation de douleur chez l'homme (Hamilton *et al.* 2000). Dans des modèles de douleur inflammatoire, l'expression et l'activité des récepteurs contenant P2X₃ est augmentée, ce qui contribue notamment à l'hyperalgésie thermique et à l'allodynie mécanique observée dans ce type de douleurs (Tsuda *et al.* 2000). Pour ce qui concerne les douleurs neuropathiques, la situation est moins claire. Dans un premier temps des données apparemment contradictoires ont décrit des diminutions ou des augmentations de l'expression de P2X₃. En fait, l'expression de P2X₃ diminue dans les nocicepteurs dont les axones ont été lésés alors qu'elle augmente dans celle des nocicepteurs voisins n'ayant pas

subi de lésion (Tsuzuki *et al.* 2001). De plus, P2X₃ semble apparaître dans des neurones de plus grande taille, qui n'expriment pas cette sous-unité dans les conditions physiologiques de base. L'administration intrathécale d'oligonucléotides anti-sens afin de bloquer l'expression de la sous-unité P2X₃ (Honore *et al.* 2002) ou l'utilisation d'antagonistes sélectifs des récepteurs contenant P2X₃ (Jarvis *et al.* 2002) ont permis de confirmer un rôle de cette sous-unité dans les douleurs neuropathiques. Cependant ces expériences ont également indiqué que d'autres récepteurs P2X, ne contenant pas P2X₃, sont impliqués dans les douleurs neuropathiques.

Des récepteurs P2X sont exprimés par une sous-population de neurones des couches superficielles de la corne grise dorsale de la moelle épinière impliqués dans la réception, la modulation et la transmission de l'information nociceptive périphérique. Peu d'études se sont intéressées au rôle de ces récepteurs P2X centraux, notamment faute d'outils pharmacologiques appropriés. Nous avons pu montrer que ces récepteurs facilitent la libération du neurotransmetteur inhibiteur GABA (acide γ amino-butérique) par une action présynaptique (Hugel et Schlichter, 2000) et sous-tendent une transmission purinergique (ATPergique) au niveau postsynaptique (Jo et Schlichter, 1999). Dans ces synapses, l'ATP est colibérée avec le GABA mais jamais avec le glutamate. La modulation différentielle de la composante excitatrice (ATPergique) et inhibitrice (GABAergique) de ces synapses pourrait rendre compte du changement du traitement de l'information nociceptive dans des situations de douleur inflammatoire ou neuropathique. Ce point doit cependant être vérifié expérimentalement.

En conclusion, les récepteurs P2X de l'ATP contenant la sous-unité P2X₃ semblent jouer un rôle important dans la nociception aiguë, les douleurs inflammatoires, et dans une moindre mesure dans les douleurs neuropathiques. Dans le contexte de ces douleurs, il s'agit également d'explorer plus en détail les phénomènes de plasticité neuronale liés aux récepteurs P2X dans la corne grise dorsale de la moelle épinière. Par ailleurs, des données récentes suggèrent un rôle fondamental des récepteurs P2X₇ exprimés par les macrophages et les cellules gliales périphériques ainsi que des récepteurs P2X₄ exprimés par les cellules microgliales dans le développement des douleurs neuropathiques (voir présentation de François Rassendren).

RÉFÉRENCES

1. Burnstock G. Cotransmission. *Curr Opin Pharmacol*, 2004;4:47-52.
2. Hamilton SG, Warburton J, Bhattacharjee A, Ward J, McMahon SB. ATP in human skin elicits a dose-related pain response which is potentiated under conditions of hyperalgesia. *Brain* 2000;123:1238-46.
3. Honore P, Kage K, Mikusa J, Watt AT, Johnston JF, Wyatt JR, Faltynek CR, Jarvis MF, Lynch K. Analgesic profile of intrathecal P2X₃ antisense oligonucleotide treatment in chronic inflammatory and neuropathic pain states in rats. *Pain* 2002;99:11-9.
4. Hugel S, Schlichter R. Presynaptic P2X receptors facilitate inhibitory GABAergic transmission between cultured rat spinal cord dorsal horn neurons. *J Neurosci*, 2000;20:2121-30.
5. Jarvis MF, Burgard EC, McGaraughy S, Honore P, Lynch K, Brennan TJ, *et al.* A-317491, a novel potent and selective non-nucleotide antagonist of P2X₃ and P2X_{2/3} receptors, reduces chronic inflammatory and neuropathic pain in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002;99:17179-84.
6. Jo YH, Schlichter R. Synaptic corelease of ATP and GABA in cultured spinal neurons. *Nat Neurosci*, 1999;2:241-5.
7. Khakh BS, North RA. P2X receptors as cell-surface ATP sensors in health and disease. *Nature*, 2006;442:527-32.
8. Tsuda M, Koizumi S, Kita A, Shigemoto Y, Ueno S, Inoue K. Mechanical allodynia caused by intraplantar injection of P2X receptor agonist in rats:

- involvement of heteromeric P2X_{2/3} receptor signaling in capsaicin-insensitive primary afferent neurons. *J Neurosci*, 2000;20:RC90.
9. Tsuzuki K, Kondo E, Fukuoka T, Yi D, Tsujino H, Sakagami M *et al.* Differential regulation of P2X₃ mRNA expression by peripheral nerve injury in intact and injured neurons in the rat sensory ganglia. *Pain*, 2001;91:351-60.
 10. Vulchanova L, Riedl MS, Shuster SJ, Stone LS, Hargreaves KM, Buell G *et al.* P2X₃ is expressed by DRG neurons that terminate in inner lamina II. *Eur J Neurosci*, 1998;10:3470-8.

CS04 RÔLE DES CANAUX NAV DANS L'ACTIVITÉ DES NEURONES SPINAUX DANS DES MODÈLES DE DOULEUR NEUROPATHIQUE

P. Delmas

Laboratoire de Neurophysiologie, Marseille.

Les douleurs neuropathiques ont des origines centrales et périphériques. Dans les atteintes centrales, les principales causes de douleurs neuropathiques sont dues à des accidents ischémiques affectant les voies de passage des informations nociceptives. D'une façon générale, plus l'atteinte est centrale, et plus le traitement est aléatoire, du fait de l'atteinte fréquente des systèmes de régulation de la transmission nociceptive. Nous ne nous intéresserons ici qu'aux lésions nerveuses périphériques dont la physiopathologie est relativement bien connue, en particulier grâce à l'existence de modèles animaux. Les lésions nerveuses périphériques peuvent être d'origine traumatique (fracture), chirurgicale (lésion du plexus cervical, nerf intercostal, nerf saphène, hernie discale), infectieuse (zona), métabolique (diabète, alcoolisme), vasculaire (neuropathie ischémique), immunoallergique (syndrome de Guillain Barré), toxique (colle acrylique), médicamenteuse (chimiothérapie), infectieuse (HIV) ou héréditaire. Toutes ont en commun l'apparition de foyers d'électrogénèse anormale au site de lésion. De nombreuses données expérimentales indiquent que les changements de l'expression et de l'activité des canaux sodiques présents dans les fibres nerveuses sensorielles jouent un rôle déterminant dans les mécanismes physiopathologiques de ces douleurs. La famille des canaux sodium dépendants du potentiel comprend neuf isoformes (Nav1.1-Nav1.9) (Catterall, 2000). Certaines isoformes (Nav1.3, Nav1.7, Nav1.8, Nav1.9), dont on connaît encore mal les fonctions physiologiques, sont très fortement impliquées dans les douleurs neuropathiques périphériques (Amir *et al.* 2006 ; Priest et Kaczorowski, 2007). Ces isoformes présentent la particularité d'être exprimées dans les neurones somatosensoriels mais pas dans les neurones centraux et les cellules musculaires squelettiques et cardiaques. Cette distribution tissulaire permet d'envisager le développement de drogues spécifiques de ces isoformes qui pourraient être utilisées comme analgésiques en limitant les effets secondaires neurotoxiques et cardiovasculaires.

RÉFÉRENCES

1. Amir R *et al.* The role of sodium channels in chronic inflammatory and neuropathic pain. *J Pain* 2006;7:S1-S29.
2. Catterall WA. From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron* 2000;26:13-25.
3. Priest BT, Kaczorowski GJ. Blocking sodium channels to treat neuropathic pain. *Expert Opin Ther Targets* 2007;11:291-306.

CS05 LES CANAUX ASIC ACTIVÉS PAR L'ACIDOSE EXTRACELLULAIRE DANS LA DOULEUR CHRONIQUE

E. Lingueglia

Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire (IPMC), UMR 6097 CNRS/UNSA, Valbonne.

Une famille particulière de canaux ioniques, les canaux ASIC (Acid-Sensing Ion Channel), sont récemment apparus comme des senseurs importants du proton extracellulaire dans le système nerveux central et dans le système nerveux périphérique [1, 2]. Ces canaux appartiennent à la super-famille des canaux sodium sensibles à l'amiloride et des dégénéralines (famille ENaC/DEG) qui comprend entre autres le canal sodium épithélial (ENaC). Le premier canal ASIC a été cloné dans le laboratoire de Michel Lazdunski en 1997 [3]. Quatre gènes différents codant pour sept isoformes ont été identifiés depuis : ASIC1a, ASIC1b et ASIC1b2, ASIC2a et ASIC2b, ASIC3 et ASIC4. Les ASIC (sauf ASIC1b2, ASIC2b et ASIC4) sont activés par une acidification du milieu extracellulaire de façon indépendante du potentiel membranaire, avec des pH de demi-activation compris entre 4 et 6,9. Ces canaux sont généralement sélectifs pour le sodium, la sous-unité ASIC1a étant aussi perméable au calcium. Pour former un canal fonctionnel, les sous-unités ASIC s'assemblent probablement sous forme de tétramères entre sous-unités identiques (homomères) ou différentes (hétéromères), générant ainsi des canaux avec des propriétés différentes (cinétiques d'activation et d'inactivation, sélectivités ioniques, sensibilités au pH) et augmentant la diversité fonctionnelle des courants ASIC. Ces courants sont transitoires, dépolarisants, et sont capables de déclencher des potentiels d'action. La localisation des canaux ASIC dans les nocicepteurs ainsi que leurs propriétés sont parfaitement compatibles avec un rôle dans la perception de la douleur associée à une acidose tissulaire périphérique, par exemple en cas d'inflammation, d'ischémie, de tumeur ou suite à une lésion tissulaire. En effet, une acidose modérée est capable d'activer les nocicepteurs et génère chez l'homme une sensation douloureuse qui est atténuée par des bloqueurs non-spécifiques des canaux ASIC comme l'amiloride [4]. L'invalidation de certains ASIC chez la souris (ASIC2 et ASIC3) a confirmé l'implication de ces canaux dans la nociception, ainsi que dans certaines formes de mécanoperception cutanée et viscérale [5]. Certaines isoformes ASIC (ASIC1 et 2) sont également très largement exprimées dans le système nerveux central, y compris dans la moelle épinière, et ASIC1 a été impliqué dans la plasticité synaptique.

Le rôle de ces canaux dans les douleurs neuropathiques a été jusqu'à présent peu documenté. Une étude récente du groupe de Michel Lazdunski en collaboration avec l'équipe d'Alain Eschalière à Clermont-Ferrand illustre l'intérêt que ces canaux pourraient avoir dans le traitement des douleurs chroniques. Une toxine de mygale qui bloque spécifiquement le canal ASIC1a homomérique (IC50 ~ 0,9 nM [6]) possède un effet analgésique puissant sur les différents types de douleur testés (thermique, mécanique, chimique, inflammatoire et neuropathique) après injection intrathécale ou intracérébroventriculaire (ICV) chez l'animal (rat et souris) [7]. Cet effet est très similaire à celui exercé par la morphine. L'inhibition du canal ASIC1a par la toxine (mais également l'inhibition de son expression par des oligonucléotides antisens) module positivement le