

Mécanismes intracellulaires de la nociception

Capacité d'Évaluation et Traitement de la Douleur

Rhône-Alpes-Auvergne

Gérard MICK

Réseau Voironnais de la Douleur - Hôpital Neurologique de Lyon

dernière mise à jour : 08-03-02

PRÉAMBULE

La biologie repose sur plusieurs principes fondamentaux :

- les liaisons physiques et biochimiques entre les ions et molécules ;
- la compartimentation par des membranes ;
- les mouvements d'ions dans chaque compartiment et d'un compartiment à l'autre.

Les mouvements transmembranaires des ions induisent des modifications des balances physico-chimiques favorisant ou s'opposant aux liaisons entre molécules. Les liaisons nouvellement établies modifient la conformation spatiale, et corollairement les propriétés de ces molécules: un site moléculaire privilégié devient par exemple accessible, disponible pour une autre liaison moléculaire spécifique. Selon l'effet induit par l'occupation de ce site, il s'agit d'un site de fonction ou d'un site régulateur de la molécule (protéine de structure ou enzyme).

Suivant ces principes, tout système biochimique (enchaînement de réactions chimiques sous la forme de modifications moléculaires en cascade) sous-tendant une fonction biologique est susceptible d'être

activable par un signal, et coordonné ou régulé par plusieurs autres systèmes biochimiques. Il peut ainsi exister diverses entrées régulatrices à chaque étage de la cascade.

Lorsque le signal est extracellulaire, des systèmes de transduction transforment la nature du signal tout en préservant son sens biologique.

Des réseaux d'interactions biochimiques sont ainsi organisés à l'échelle cellulaire, coordonnant signaux et fonctions.

RAPPELS FONDAMENTAUX

Les systèmes transductionnels

Récepteurs couplés aux protéines G

Protéines effectrices activées par les récepteurs couplés aux protéines

Seconds messagers activés par les récepteurs couplés aux protéines G

Systèmes de seconds messagers

Autres systèmes transductionnels

Facteurs de transcription génique

NOTIONS FONDAMENTALES CONCERNANT LA TRANSMISSION DU SIGNAL NOCICEPTIF

MÉCANISMES INTRACELLULAIRES MIS EN JEU DANS LES MODÈLES EXPÉRIMENTAUX DE DOULEUR AIGUE ET DOULEUR CHRONIQUE

I) Induction de c-fos

II) Induction de c-jun

III) Induction de CREB

IV) Induction de PKC

V) Induction génique tardive

VI) Modulation de l'induction des facteurs de transcription

LÉGENDE DES FIGURES

RAPPELS FONDAMENTAUX

Les systèmes transductionnels

Un système transductionnel transforme un type de signal biochimique (e.g. neurotransmetteur libéré dans la fente synaptique) en un autre type de signal biochimique (e.g. activité enzymatique intracellulaire).

Dans le système nerveux, un système transductionnel est un mode de passage direct et unidirectionnel entre un processus extracellulaire (e.g. synaptique) et un processus intracellulaire (e.g. métabolique).

Les systèmes transductionnels ne sont pas directement impliqués dans la transmission du signal d'un neurone à un autre, processus qui dépend avant tout de l'activité électrique neuronale (notion de réseau neuronal câblé). Ils régulent cependant cette transmission en modifiant la réponse neuronale à toute stimulation, électrique ou biochimique. Surtout, leur mise en jeu se superposent à la transmission nerveuse, en assurant une intégration du signal par le biais d'une modification des systèmes métaboliques intracellulaires.

Les systèmes transductionnels sont essentiellement représentés dans le système nerveux par les canaux ioniques, les récepteurs couplés aux protéines G, et les récepteurs couplés aux tyrosine-kinases.

Récepteurs couplés aux protéines G

Ce sont des récepteurs transmembranaires complexes dont l'activation met en jeu une cascade d'événements :

1er temps : liaison récepteur-neurotransmetteur

2e temps : activation d'une sous-unité protéique (protéine G) par catalyse du GTP en GDP

3e temps : activation ou inhibition d'une protéine effectrice par la protéine G

4e temps (facultatif) : activation d'un second messenger par la protéine effectrice

Protéines effectrices activées par les récepteurs couplés aux protéines

Enzymes : adénylyl-cyclase, guanylyl-cyclase, phospholipase C, phospholipase A2.

Canal ionique : canaux calcique, sodique, potassique.

Transporteur de neurotransmetteur.

Seconds messagers activés par les récepteurs couplés aux protéines G

AMP cyclique (adénylyl-cyclase) : activation de la protéine-kinase A (PKA).

GMP cyclique (guanylyl-cyclase) : activation d'un canal ionique.

Phospholipase C : production de phosphoinositols (IP3) et de diacylglycérol (DAG) par les phosphoestérases.

Phospholipase A2 : production d'acide arachidonique (AA).

Les protéines G sont souvent à la base de la transduction d'un signal biochimique simple en une fonction cellulaire : **association signal (extracellulaire) - fonction (cellulaire)**.

L'activation d'un récepteur couplé à une protéine G peut stimuler plusieurs effecteurs: **divergence et amplification d'un signal**.

Un second messenger activé par la protéine effectrice d'un récepteur couplé à une protéine G peut réguler en retour l'activité du récepteur lui-même (**autodésensibilisation du récepteur**) ou d'un autre récepteur (**couplage entre récepteurs**).

Systèmes de seconds messagers

Un système de second messenger est une cascade spécifique de réactions biochimiques qui sous-tend la transmission intracellulaire d'une information, et dont l'activation, en s'intégrant avec d'autres systèmes au sein d'un réseau biochimique interactif, induit, coordonne ou régule une ou plusieurs fonctions cellulaires.

Les modes fondamentaux de chaînage des événements biochimiques dans ces systèmes sont la *phosphorylation* d'une protéine (protéine de fonction le plus souvent, parfois structurale) par une enzyme (kinase), et l'activation d'une protéine par sa *liaison à un ion*. Ces deux types d'événements sont activables en consommant de l'énergie.

Les quatre systèmes les plus importants rencontrés dans le système nerveux sont liés à :

AMP cyclique (AMPC)

GMP cyclique (GMPC)

Triphosphate-inositol (IP3) et diacylglycérol (DAG)

Calcium (Ca)

Système lié à l'AMPc

L'AMPc active la protéine-kinase A (PKA), dont la sous-unité catalytique peut phosphoryler différentes protéines.

La PKA peut réguler sa propre action par autophosphorylation, ou se lier aux microtubules dendritiques par la protéine MAP2 par exemple.

Système lié au GMPc

Le GMPc active la GMPc-kinase, dont un rôle connu est d'inhiber les phosphatases (enzymes de déphosphorylation), prolongeant ainsi les phosphorylations induites par les kinases.

La guanylyl-cyclase est elle-même activable par l'oxyde nitrique (NO).

Système lié à l'IP3 et au DAG

L'IP3 se lie à un récepteur spécifique du réticulum endoplasmique, ce qui provoque la libération du calcium qui y est contenu.

Le DAG active la protéine-kinase C (PKC), dont les multiples isoformes ont chacune une distribution cellulaire et une fonction de phosphorylation spécifique.

Calcium

L'augmentation brutale de la concentration calcique intracellulaire (ICa) est toujours un signal régulateur.

L'ICa basale dépend de pompes membranaires (échange Na/Ca ou entrée de Ca), et après signal inducteur dépend de l'ouverture de canaux calciques transmembranaires (hormone, neurotransmetteur, champ électrique) ou de la libération de Ca à partir du réticulum endoplasmique (IP3).

Le Ca intracellulaire est essentiellement sous forme lié, en particulier à la calmoduline (CaM). Les autres liaisons (avec la parvalbumine, la calbindine) amortissent les fluctuations de ICa.

La liaison Ca/calmoduline active les CaM-kinases, qui phosphorylent de nombreuses protéines (MAP, tyrosine-hydroxylase, synapsine, adénylyl-cyclase, phosphodiesterase, sous-unités des canaux ioniques dépendant du voltage, protéases).

Autres systèmes transductionnels

Phospholipase A2 :

Produite par l'activation d'un récepteur couplé à une protéine G, elle induit la production:

- d'**acide arachidonique**, qui régule certaines protéines (isoforme α de la PKC) ou traverse la membrane pour gagner l'extrémité présynaptique et jouer un rôle de signal régulateur, en particulier de la libération de neurotransmetteur;
- de **lipoxigénase**, qui régule certains récepteurs et intervient dans les systèmes eicosanoides.

Tyrosine-kinases :

Ces kinases sont directement liées à certains récepteurs, dont ceux des facteurs trophiques (NGF, NT1, NT3, BDNF, GDNF, IGF). La liaison du récepteur à son ligand les active, ce qui induit la phosphorylation de diverses protéines au niveau d'un de leurs sites régulateurs (site sérine/thréonine surtout).

Phosphatases :

Ces enzymes sont le contrepoids biochimique des kinases et permettent la balance entre phosphorylation, processus le plus souvent activateur d'une protéine, et déphosphorylation.

Comme les kinases, certaines phosphatases sont spécifiques de processus biochimiques, qui induisent leur activation.

A la différence des kinases, de nombreuses phosphatases ont une activité qui n'est pas inductible stricto sensu mais régulable, leurs substrats étant peu spécifiques. Elles sont alors le support d'une régulation négative constitutionnelle des processus activés ponctuellement par les phosphorylations.

La mise en jeu d'un système de second messager peut induire :

- l'activation ou la régulation d'un système biochimique, et corollairement d'une fonction cellulaire ;
- la régulation d'un autre système de second messager ;
- la régulation de l'activité de récepteurs transmembranaires ;
- l'activation de facteurs de transcription génique.

Les systèmes de seconds messagers interagissent entre eux pour permettre l'intégration de diverses informations survenant à *divers moments* et *en divers sites* neuronaux.

Certains systèmes de seconds messagers sont capables de mémoire biochimique: l'autophosphorylation de la CaMII-kinase est une forme de rétention d'information.

Facteurs de transcription génique

Les facteurs de transcription génique sont des protéines nucléaires dont la fonction est d'induire la réplication d'un gène.

Constitutionnels, leur activité biochimique est alors induite le plus souvent par leur phosphorylation ou leur liaison à une autre protéine. Inductibles, leur synthèse est alors provoquée par un second messenger.

Ces protéines se combinent entre elles (dimères souvent) et se lient à un site dit *promoteur* sur un gène cible. Ce site est spécifiquement reconnu par un facteur mais n'est pas spécifique de ce facteur: plusieurs facteurs s'y combinent, et il y a compétition entre eux pour l'occupation du site promoteur.

C'est donc une combinaison spécifique (rapport stœchiométrique) entre divers facteurs de transcription au niveau d'un site promoteur qui activera plus ou moins ce site. Si un facteur ou une combinaison de facteurs est produite en grande quantité, c'est elle qui déterminera l'activation ou l'inactivation du site.

Le site promoteur, une fois activé, est le point de départ de la réplication du gène cible par la RNA polymérase. La production de RNA messenger est suivie de sa translocation dans le cytoplasme et de sa traduction en une protéine.

Chaque facteur de transcription a une activité induite par un signal donné par le biais d'un système de second messenger. Un facteur de transcription assure ainsi le lien entre ce signal et la régulation de l'expression du génome. Un facteur peut être induit par plusieurs systèmes, et un système peut induire plusieurs facteurs. Ainsi, plusieurs récepteurs sur une même surface cellulaire, activés à des divers moments par diverses afférentes synaptiques, activent à leur tour plusieurs systèmes de seconds messagers dont la coopération spatiale et temporelle aboutit à une combinaison spécifique de signaux dont les facteurs de transcription sont une voie d'aboutissement.

L'induction des facteurs de transcription étant très rapide après arrivée d'un signal (10 à 20 mn), du fait du chaînage des mécanismes transductionnels et intracellulaires, leurs gènes de synthèse sont appelés **gènes de réponse précoce**, et leurs gènes cibles sont appelés **gènes de réponse tardive**.

Les facteurs de transcription sont souvent régulateurs du site promoteur de leur propre gène de synthèse ou de celui d'un autre facteur de transcription: il s'agit de **régulation négative** ou **positive autologue** ou **hétérologue**.

Au niveau neuronal, le facteur constitutionnel le plus fréquemment activé (phosphorylé) précocement est **CREB**.

Le facteur de transcription le plus fréquemment induit (synthétisé) dans une cellule après un signal activateur est **c-fos**.

Les facteurs les plus dimérisables avec c-fos appartiennent à la **famille jun (c-jun, jun D, jun B)**, inductibles ou activables.

Le site promoteur reconnaissant électivement les dimères fos/jun et régulant de nombreux gènes de fonction est le site **AP1**.

NOTIONS FONDAMENTALES CONCERNANT LA TRANSMISSION DU SIGNAL NOCICEPTIF

La connaissance classique des phénomènes nociceptifs et des interventions thérapeutiques développées jusqu'à la fin des années 80 était basée sur un schéma d'organisation linéaire et simple: genèse du signal nociceptif à la périphérie, transduction à l'extrémité libre du nocicepteur, transmission par les fibres C ou A δ , transmission synaptique au niveau de la corne dorsale de la moelle (couche I et II), intégration de l'information au niveau du neurone médullaire, en particulier les WDR.

Aujourd'hui, ce schéma linéaire est supplanté par un schéma beaucoup plus souple, qui tient compte de la nature primaire du signal nociceptif, de la situation biologique dans laquelle ce signal nociceptif est généré, et de l'état des systèmes de transmission et d'intégration lors de l'arrivée du signal: il s'agit de *phénomènes coïncidant*, l'état du système "qui reçoit et qui transmet" déterminant la façon dont un signal donné à un moment donné sera "reçu et transmis". Par conséquent, l'arrivée d'un signal va modifier l'ensemble du système récepteur et transmetteur, ceci se produisant de façon permanente dans l'organisme pour d'autres systèmes. Il s'agit d'une base des processus intégratifs, dont les niveaux sont à différentes échelles: réseau neuronal, synapse, systèmes subcellulaires (récepteurs, seconds messagers, expression génique).

GENÈSE DU SIGNAL NOCICEPTIF

Il s'agit classiquement de la transduction d'une information périphérique, initiale, quelle qu'elle soit, au niveau de l'extrémité libre de la terminaison nerveuse sensible. Le signal est alors perçu de façon nociceptive par le biais de récepteurs spécifiques qui traduisent un signal biochimique, mécanique, électrique, en un signal intracellulaire et un signal électrique. Le signal électrique est une modification de la polarisation de la membrane de la terminaison libre ou un potentiel d'action. Le signal intracellulaire est une modification des systèmes de seconds messagers qui induit en cascade une modification de l'état physiologique de l'extrémité libre. Un signal n'est donc pas uniquement générateur d'un potentiel d'action transmis à distance: il est aussi générateur d'une information biochimique intégrée in situ.

TRANSMISSION DU SIGNAL NOCICEPTIF

Cette transmission est en fait possible de plusieurs façons. Si l'on connaît bien la classique transmission intracellulaire sous forme câblée, c'est-à-dire par transmission d'un potentiel d'action, on ne doit pas oublier qu'il existe également un transport intracellulaire, en particulier intra-axonal ou intra-dendritique sous forme rétrograde, ni qu'il existe une communication intercellulaire de type hormonal, c'est-à-dire endocrine, paracrine ou autocrine.

MODULATION ET INTÉGRATION DU SIGNAL NOCICEPTIF

Ce sont ces deux notions qu'il faut positionner à différentes échelles.

La modulation et l'intégration peuvent être les fruits d'un simple processus intracellulaire par modification des systèmes de seconds messagers. La modulation peut être aussi un processus synaptique, par l'intégration de divers signaux (neuromédiateurs) au niveau d'une même synapse, ou en tout cas d'un même groupe synaptique (exemple des glomérules de fibres nerveuses que l'on rencontre dans certains systèmes neuronaux). Il existe enfin des processus de modulation et d'intégration intercellulaire dans les réseaux neuronaux dont la modélisation est essentiellement de type câblée mais avec pondération de chaque neurone car ceux-ci n'interviennent pas tous de façon similaire dans un même réseau.

In fine, tout relai d'un signal nociceptif change d'état lorsqu'il reçoit un signal,

et ainsi de suite (par exemple lors de la réception d'un train de signaux dans le cadre d'une douleur persistante). Il y a également modification de l'état du relai en cas de déafférentation partielle, ce qui signifie qu'un signal sera perçu d'une façon différente de la normale et expliquer certaines anomalies perceptives dont en partie l'allodynie ou hyperalgésie dans les douleurs neuropathiques.

La notion la plus importante est que chaque relai, que ce soit au niveau cellulaire, synaptique, ou intercellulaire (réseau), est un système prêt à recevoir une information et à la transmettre, alors qu'il est dans un état donné. Le phénomène de coïncidence est très important: un signal parvenant à un moment donné peut ne modifier que de façon très peu perceptible un système, alors que dans un autre état, le même système recevant le même signal va réagir tout à fait différemment. Il n'y a donc pas équivalence, pour un même signal, de sa transduction, sa transmission et son intégration: chaque situation (dans le temps et dans l'espace) est unique. La plupart du temps, un signal puissant est un activateur (par la voie des acides aminés excitateurs) d'un système dont la modulation permanente est plus ou moins prête à permettre la transmission et l'intégration (un système *neuromodulateur* prépare une terminaison libre par exemple, à intégrer et transmettre un signal donné). Dans l'immense majorité des cas, les grandes voies peptidergiques sont des réseaux neuronaux modifiant l'état neuronal sans déclencher la transmission d'un signal. Les systèmes monoaminergiques sont la plupart du temps inhibiteurs, le système gabaergique est désactivateur, et le système glutamatergique est excitateur.

TRANSDUCTION DU SIGNAL DANS LES VOIES NOCICEPTIVES (NEURONES MÉDULLAIRE)

La voie des seconds messagers la plus connue est celle des facteurs neurotrophiques, qui active une petite protéine appelée RAS, une guanosine triphosphate. Grâce à RAS, Il y a ensuite recrutement et activation d'une autre protéine, RAF-1, jusqu'à la membrane plasmique. Parallèlement, la stimulation des récepteurs NMDA, ou d'autres canaux calciques dont ceux dépendants du voltage, ainsi que des récepteurs métabotropiques, aboutit *in fine* à l'augmentation de la concentration du calcium intracellulaire. Cette augmentation va activer différentes kinases dépendantes du calcium, par exemple la protéine kinase C, l'adénylate-cyclase, ou la tyrosine kinase PYK2. Ces kinases vont alors chacune activer une cascade, essentiellement la cascade MAP-K, qui in fine induit la phosphorylation d'une protéine pivot, ERK (Extracellularly-Regulated-Kinase). ERK peut être aussi phosphorylée par la MEK, elle-même phosphorylée par la protéine RAF. Il y a donc deux voies d'activation de la ERK, une longue par le Ca et une courte par MEK.

Une troisième voie d'activation de la ERK implique l'AMP cyclique, liée à une protéine homologue de RAS, appelée RAP-1, induisant elle-même l'activation d'une autre protéine isoforme de la protéine RAF, la protéine B-RAF.

La protéine kinase C et les autres kinases induites par l'augmentation du calcium intracellulaire sont elles-mêmes toutes capables de phosphoryler la protéine RAS: il y a donc augmentation de l'activation de la voie produisant la protéine ERK.

Cette voie finale commune (ERK) est activatrice d'une autre protéine kinase, la RSK2. Cette dernière est capable de phosphoryler la protéine CREB, qui sous forme dimérisée va se lier au site promoteur CRE et provoquer la transcription génique. La cible principale de ce dimère est le gène *c-fos*. CREB peut être également phosphorylée par la voie de la calmoduline-kinase IV, elle directement activée par l'augmentation du calcium intracellulaire.

On voit donc qu'il peut exister de multiples voies d'activation de la même voie finale commune, certaines extrêmement rapides, d'autres beaucoup plus lentes, avec une interaction positive (potentialisation) de l'une

par l'autre. Il faut savoir également que l'entrée dans une voie donnée pour activer la voie finale commune dépend du médiateur, donc du récepteur membranaire et de son couplage à un système de seconds messagers. Ce sont ces couplages qui déterminent les actions des neuromédiateurs par le biais de leur récepteur, et c'est la coïncidence d'arrivée des différents signaux (différents neuromédiateurs ou activateurs des récepteurs) qui produit l'activation parallèle plus ou moins synchrone des différentes voies. Il en résultera une activation donnée (spécifique sur le plan biochimique, spatial et temporel au niveau intracellulaire) de la voie finale commune.

MÉCANISMES INTRACELLULAIRES MIS EN JEU DANS LES MODÈLES EXPÉRIMENTAUX DE DOULEUR AIGUE ET DOULEUR CHRONIQUE (chez le rat).

I) Induction de c-fos : signal nociceptif primaire

L'induction de c-fos signe une activation cellulaire dans la corne dorsale de la moëlle par un stimulus nocif.

Douleur inflammatoire aiguë (modèle à la carragénine) :

Induction en 1h, essentiellement dans les couches I et II de la corne dorsale (zones de projection des fibres C), dont le maximum correspond au maximum de la phase allodymique, et qui décroît rapidement avec la récession du processus inflammatoire.

Douleur inflammatoire chronique (modèle à l'adjuvant de Freund) :

Induction rapide dès le début de la phase inflammatoire, qui persiste plusieurs semaines et atteint un maximum au moment de l'acmé des troubles comportementaux liés à la douleur (allodynie et hyperalgésie), puis diminue jusqu'à un minimum qui reste stable avec la chronicisation du processus inflammatoire.

Douleur neuropathique (modèle de la ligature légère du sciatique) :

Induction durable mais modeste, essentiellement dans la couche II de la corne dorsale.

Douleur migraineuse (modèle de l'inflammation neurogène périvasculaire par stimulation méningée mécanique) :

Induction rapide de c-fos (en 1h après 15 mn de stimulation) dans les couches I et II du noyau spinal trigéminal, et dans le noyau du tractus solitaire, mais dont le décours temporel après 2h n'a pas été étudié.

Concepts fondamentaux :

1) Il existe une corrélation entre l'induction de c-fos dans les couches cibles des afférentes nociceptives et certains phénomènes comportementaux liés à la douleur inflammatoire, en particulier l'allodynie.

2) L'induction de c-fos ne semble pas l'un des mécanismes moléculaires principaux mis en jeu dans la douleur neurogène.

3) L'induction de c-fos par un stimulus nocif n'est pas confinée aux couches I et II de la corne dorsale de la moëlle. D'autres neurones sont activés dans la corne dorsale (couche V), mais aussi dans le noyau parabrachial et le thalamus médian par exemple. L'induction de c-fos est un marqueur de l'activation de multiples groupes neuronaux par un signal nociceptif.

4) L'induction de c-fos n'est pas spécifique d'un stimulus nociceptif dans l'organisme (c-fos est induit dans l'hippocampe après injection de kainate provoquant une crise comitiale; c-fos est induit dans l'hypothalamus antérieur après exposition brutale à la lumière au cours de la nuit, provoquant une remise à l'heure de l'horloges biologique). L'induction de c-fos révèle donc l'activation d'un système fonctionnel par un signal spécifique.

5) L'induction de c-fos ne semble pas être un phénomène indispensable au développement du *wind-up*, mais plutôt un phénomène dont l'importance quantitative est une fonction positive de l'importance du stimulus nociceptif: c-fos peut-être induit précocement par un stimulus bref et peu intense d'une fibre C.

II) Induction de c-jun : signal de régénération nerveuse ou de mise en jeu de l'algésie post-axotomie ?

La section partielle ou complète d'un tronc nerveux induit en 24h la synthèse de c-jun dans le corps cellulaire de l'axone lésé (ganglion rachidien d'une racine sciatique). Cette induction s'accompagne de la modification phénotypique du neurone, qui produit alors de nouveaux neurotransmetteurs: NPY, galanine (GAL) entre autres. Les antagonistes des récepteurs de GAL ou un RNAm antisens bloquant la production de GAL induisent après axotomie une augmentation du comportement d'autotomie, marqueur comportemental de douleur neuropathique. La production anormale de GAL en condition pathologique est donc un support potentiel de la réponse douloureuse à la lésion d'un nerf.

Cependant, l'induction de c-jun et de GAL a été notée dans le corps cellulaire des neurones périphériques lors de la lésion du nerf facial. Ces inductions peuvent donc être aussi le témoin d'un phénomène de réaction neuronale après lésion axonale. De plus, la section du nerf sciatique provoque dans les neurones du ganglion rachidien l'activation de jun-kinase 1, corollairement la phosphorylation de c-jun et l'augmentation de l'activité du site promoteur AP1 par dimérisation c-jun/junD. Ces phénomènes ont un développement temporel qui dépend de la distance entre l'axotomie et le ganglion, et retournent à l'état basal lorsque la régénération axonale est complète, mais reste élevé en cas d'arborisation collatérale de l'axone. L'induction de c-jun est dans ce cas un phénomène lié à la repousse axonale.

En somme, il est probable après section nerveuse, l'induction de c-jun soit surtout un marqueur de la régénération nerveuse alors que l'induction de GAL est un témoin de la mise en route de phénomènes algésiques.

Note : Dans le modèle de douleur inflammatoire aigue, junB est le seul facteur de transcription dont l'induction a lieu parallèlement à c-fos dans la corne dorsale, selon un décours spatio-temporel très similaire, probablement dans les mêmes neurones. Cette co-induction s'accompagne en 2h d'une augmentation de l'activité du site AP1 et d'une induction du RNAm codant pour la prodynorphine. Ces événements sont les témoins de la mise en jeu d'une cascade de mécanismes intracellulaires régulateurs.

III) Induction de CREB : signal d'activation d'une voie biochimique spécifique ou simple signal nociceptif ?

Dans certaines conditions, la sensibilité du récepteur opioïde μ peut être augmentée par la liaison de la

CCK au récepteur CCKA. Cette interaction entre récepteurs dépend de l'activité de CREB, sans que le mécanisme intime de l'interaction soit connue. Il s'agit là d'un effet analgésique de la CCK, dont on sait qu'elle possède également des effets anti-analgésiques contrecarrant l'effet de la morphine lorsqu'elle est délivrée à long terme, effet mis en jeu par le biais d'un récepteur CCKB probablement présynaptique agissant sur le récepteur μ d'un neurone endomorphinique. Cet effet est l'une des bases du phénomène de tolérance.

Ces deux mécanismes antagonistes (analgésique et anti-analgésique) pour un même transmetteur font donc intervenir deux récepteurs différents. Le type de récepteur activé détermine l'action de la CCK sur l'analgésie opioïde. L'un ou l'autre est activable selon la situation: imprégnation opioïde (régulation par le biais de mécanisme intracellulaire mettant en jeu CREB) ; localisation spécifique du récepteur (régulation câblée donc prédéterminée au sein d'un réseau neuronal) ; activation par une autre voie analgésique (mise en jeu d'interaction entre voies nerveuses).

En fait, il est maintenant démontré que **CREB est phosphorylé quelques minutes après signal nociceptif dans la couche II de la corne dorsale**, et il est probable mais non encore démontré que CREB soit le facteur de transcription dont l'activation induit c-fos après stimulation du système trigémino-vasculaire. L'activation de CREB est possède des caractéristiques: rapidité d'induction, dépendance au récepteur NMDA.

IV) Induction de PKC : mise en jeu d'interaction entre signaux ou systèmes.

L'isoforme γ de la PKC n'est présente dans la moëlle qu'au niveau des couches II de la corne dorsale, zone de projection de fibres nociceptives non peptidiques sur des interneurons.

Les souches de souris dont le gène de la PKC γ est inactivé ne développent pas d'allodynie dans le modèle de section partielle du nerf sciatique. Cette kinase serait donc probablement nécessaire au développement d'un processus mettant essentiellement en jeu le récepteur NMDA: sensibilisation du récepteur par la PKC (phosphorylation de la portion intracellulaire de l'une des sous-unités du récepteur), kinase dont la mise en jeu pourrait dépendre du récepteur NK-1 de la substance P, couplé à la phospholipase C (modèle de la colibération synaptique potentialisatrice).

Au niveau trigéminal, un analgésique morphinique puissant se liant au récepteur μ est capable d'augmenter la réponse du récepteur NMDA au glutamate par le biais de l'activation de la PKC, selon un mécanisme dépendant du Ca. L'afflux massif de Ca par le biais du récepteur NMDA est susceptible d'amplifier ce phénomène par une boucle de rétroaction positive. Dans certaines conditions (conditions basales non pathologiques par exemple), par le biais de la mise en jeu de la PKC γ , la stimulation d'un récepteur opioïde analgésique peut ainsi paradoxalement conduire à une sensibilisation durable d'un récepteur impliqué dans l'activation des phénomènes nociceptifs.

V) Induction génique tardive : *réponse cellulaire à long terme*

Dans le modèle d'inflammation aigue induisant une hyperalgésie précoce (carragénine), la production de prodynorphine dans la corne dorsale de la moëlle s'élève rapidement, beaucoup plus vite et plus nettement que celle de la préproenképhaline, dont la concentration est élevée de façon constitutionnelle dans cette région. Ces deux précurseurs de molécules analgésiques sont inductibles de façon conjointe à l'activation du site AP1 par le dimère c-fos/c-jun.

L'induction de prodynorphine dépend de c-fos et témoignerait du signal nociceptif, alors que l'induction de préproenképhaline, dont il n'est pas démontré qu'elle dépend de c-fos ou de c-jun, signerait une réponse moins spécifique du stimulus.

VI) Modulation de l'induction des facteurs de transcription : modulation préparatoire de la réponse à un signal nocif

L'injection de morphine 20 minutes avant l'application d'un stimulus thermique nociceptif diminue l'expression de c-fos, c-jun, et junB, mais pas celle de fosB et de junD, dans la corne dorsale de la moëlle.

L'injection d'un antagoniste α_2 -adrénergique 10 minutes avant l'injection de formol sous la peau diminue l'expression de l'ensemble des facteurs de transcription (c-fos, fosB, c-jun, junB, et junD) dans la corne dorsale de la moëlle. La section unilatérale des voies spinales antéro-latérales descendantes diminue l'expression de c-fos induite par un stimulus nocif du même côté dans la corne dorsale de la moëlle.

L'activation ou la réduction d'activité de systèmes biochimiques ou voies nerveuses agissant sur des neurones médullaires nociceptifs peuvent ainsi modifier leur réponse ultérieure à un signal nociceptif. Ces interactions entre systèmes fonctionnels à l'échelle d'un même réseau neuronal ont lieu par le biais de la modulation des récepteurs membranaires ou par le biais des interactions entre systèmes intracellulaires activés par les divers signaux antérieurs puis par le signal nociceptif. Elles pourraient rendre compte de l'*analgésie préventive*.

LÉGENDE DES FIGURES

Figure 1 : Notion classique d'un réseau câblé linéaire stimulus-réponse.

Figure 2 : Notions actuelles: 1) un signal A induit une modification d'état du système transmetteur et récepteur, avec différents types de réponses; 2) un signal B induit une transmission et une réponse totalement différente. Chaque situation est spécifique.

Figure 3 : Image d'ensemble archétypique de l'induction du gènes de réponse précoce c-fos provoquant l'induction d'une transcription tardive.

Chacun des niveaux subcellulaires est noté de 1 à 9. L'événement principal, l'élévation du calcium intracellulaire, aboutit à la phosphorylation d'une kinase qui elle-même aboutit à l'activation du gène c-fos. Le produit de ce gène, une protéine nucléaire, se combine à une autre protéine nucléaire sous forme d'un dimère pour activer un site promoteur du gène de transcription d'une protéine de fonction par exemple ou d'une protéine de structure parfois. Tout ceci se produit dans le même neurone.

Figure 4 : Au niveau d'une cellule de réponse inflammatoire en périphérie (mastocyte par exemple), proche de la fibre nociceptive, des signaux inflammatoires de différentes natures vont activer par différentes voies: la voie de la protéine RAS, la voie d'une autre protéine - la protéine RHO - , et enfin la voie d'une tyrosine-kinase. Ces voies convergent pour produire une augmentation de la concentration intranucléaire d'un facteur de transcription, le facteur c-jun. Celui-ci augmente l'activité AP1. Il y a donc modification du

fonctionnement de la cellule cible.

Figure 5 : A l'échelle de la fibre nerveuse normale (terminaison libre), une lésion tissulaire modifie la production des neuropeptides et du NGF, et induit une décharge de potentiels d'action.

Cette décharge diminue la mise en jeu des récepteurs GABA-B, augmente la mise en jeu des récepteurs NMDA, la conséquence ultime étant une augmentation de la mise en jeu des canaux calciques et enfin une augmentation du calcium intracellulaire. Il y aura production du facteur de transcription c-fos.

Figure 6 : A l'échelle de la fibre nerveuse lésée, c'est-à-dire en dehors de la nociception habituelle de type inflammatoire, il y a réaction très différente des systèmes intracellulaires: diminution de la production des neuropeptides et du NGF. Il y a également augmentation du nombre de récepteurs AMPA au niveau de la membrane post-synaptique, augmentation du courant NMDA par voie de conséquence, ce même courant étant augmenté par la densité des récepteurs aux neuromédiateurs au sein de la fibre post-synaptique. On aboutit là encore à une augmentation du calcium intracellulaire mais par une autre voie et donc avec d'autres conséquences associées.

Figure 7 : Un exemple des différentes interactions qu'il peut y avoir entre les récepteurs et les systèmes de seconds messagers qui y sont couplés lorsqu'une afférence nociceptive libère différents neuromédiateurs, dont le glutamate, au niveau médullaire.

On voit qu'il existe une dimérisation des facteurs de transcription jun-B et c-fos pour aboutir à une augmentation de l'activité du site promoteur AP1.

On voit également qu'il existe une activation de l'oxyde nitrique, mais on ne connaît que son effet au niveau présynaptique (ce gaz est diffusible dans la fente synaptique). On ne connaît pas son effet au niveau de l'extrémité post-synaptique où il a été produit.

Notez dans ce schéma les interactions qui existent entre les différents systèmes de seconds messagers (calcium, PKA, PKC, acide arachidonique). Certains agissent en retour sur l'extrémité présynaptique (acide arachidonique), d'autres agissent en augmentant l'activation de c-fos ou de AP1 à différents niveaux. Il faut savoir que ces seconds messagers sont communs à différents types de récepteurs et qu'une voie sera donc privilégiée dans certains cas, une autre dans certains autres cas.

Figure 8 : voir paragraphe précédent sur la transduction du signal nociceptif.

Figure 9 : Exemple de l'interaction entre deux récepteurs au niveau de l'extrémité libre d'un nocicepteur: l'inflammation (prostaglandine E2) diminue le seuil d'activation, les conditions d'inactivation et la cinétique des canaux potassiques par le biais de l'AMP cyclique. Lorsque la cinétique des canaux potassiques est modifiée, il y a modification de la polarisation des neurones: il y a donc modification de la propension à la décharge des nocicepteurs.

Figure 10_: Exemple au même niveau mais avec d'autres médiateurs. La bradykinine augmente, par le biais de son récepteur, la concentration en protéine kinase C. Cette kinase module le récepteur VR1 à la capsaïcine en diminuant son seuil d'activation: il y a facilitation de l'hyperalgésie, puisque le récepteur devient plus facilement activable (on rappelle que ce récepteur est sensible à de nombreux signaux inflammatoires ou non déclenchant des potentiels d'action nociceptifs).

Figure 11 : Exemple à l'échelle d'un canal sodique pour expliquer les interactions entre les traitements médicamenteux et leur cible au niveau membranaire (le canal sodique est l'une des principales cibles des traitements psychotropes). Les sodium-bloqueurs sont d'autant plus actifs sur les canaux sodiques que ceux-ci sont ouverts: l'activité répétitive des nocicepteurs va modifier la cinétique des canaux sodiques et les rendre plus sensibles, par modification stéréochimique, à leurs propres bloqueurs. Il en résulte que l'action des sodium-bloqueurs est d'autant plus significative que les canaux sodiques sont activés. Autrement dit, on pourrait dire que les bloqueurs du sodium sont d'autant plus efficaces qu'ils sont utilisés dans des situations pathologiques (l'action du TEGRETOL par exemple est totalement différente chez un sujet ne présentant pas une pathologie induisant une activité permanente des canaux sodiques).

Figure 12 : Un canal potassique récemment caractérisé, TREK-1, n'est activable par les anesthésiques (nouvelle cible), la chaleur et l'étirement. Ce récepteur, activé, est un canal potassique induisant une hyperpolarisation intracellulaire. Il est localisé aux extrémités pré et post-synaptiques: son activation est donc très importante dans la transmission du signal nociceptif.

Ce récepteur est inactivable par l'AMP cyclique. L'AMP cyclique est mis en jeu dans de nombreux processus, en fait un second messenger couplé à de nombreux récepteurs. Il y a donc par exemple au cours d'une inflammation, modification de l'activation de TREK-1: il y a diminution de son activation et donc diminution de la résistance au déclenchement d'un potentiel d'action. Il en résulte donc une plus grande facilitation à la décharge du nocicepteur.

Figure 13 : Au niveau de la membrane post-synaptique du nocicepteur médullaire, la coexistence et la coactivation de quatre récepteurs (canal calcique, NMDA, AMPA, NK1) aboutit *in fine* à une augmentation du calcium intracellulaire. C'est ce signal qui est le plus important dans les conditions normales, sachant que le récepteur AMPA est le premier activé, provoque la décharge du nocicepteur le cas échéant, et surtout une sensibilisation du récepteur NMDA et du canal calcique. C'est alors, donc dans un second temps, que l'augmentation du calcium intracellulaire devient très importante. Il s'agit à ce moment-là de la période de modification intrinsèque du neurone médullaire.

Cette modification est modulable par la protéine kinase C, inductible par le récepteur à la Substance P (NK1). La protéine kinase C augmente sa concentration intracellulaire en libérant le calcium contenu dans le réticulum endoplasmique. D'un autre côté, elle module de façon négative le récepteur NMDA en phosphorylant sa portion C-terminale intracellulaire. C'est la balance entre ces différents mécanismes qui aboutit à la modulation de l'augmentation du calcium intracellulaire.

En somme, ce qui déclenche le potentiel d'action est la modification brutale du potentiel membranaire, essentiellement due au récepteur AMPA. Cette dépolarisation sensibilise le récepteur NMDA et permet l'ouverture des canaux calciques: il y a dans un second temps augmentation du calcium intracellulaire, mise en jeu des systèmes de seconds messagers en dépendant, et en particulier augmentation du facteur de transcription c-fos. On comprend bien ici qu'il y a coactivation de deux systèmes: 1) le système câblé avec la décharge des nocicepteurs si le récepteur AMPA est suffisamment activé; 2) une réponse biochimique du nocicepteur médullaire lui-même.

Figure 14 : Pour ce même neurone mais dans une condition différente où la dépolarisation a déjà eu lieu, l'importance du récepteur AMPA par rapport aux récepteur NMDA et calcique est moindre: d'autres récepteurs interviennent, par exemple le récepteur du facteur neurotrophique GDNF par la voie de la kinase SRK. La modulation négative du récepteur NMDA est donc plus importante. Il y a modulation négative de l'augmentation du calcium intracellulaire. C'est l'une des voies de signalisation et d'effet de certaines neurotrophines, alors que l'on a déjà vu que d'autres avaient un effet potentialisateur de l'augmentation du

calcium intracellulaire. Les neurotrophines ne sont donc pas équivalentes entre elles, par le simple jeu des interactions des systèmes de seconds messagers.

Figure 15 : La courbe stimulus - réponse est décalée vers la gauche (hyperalgésie) lors du passage de la douleur aiguë à la douleur chronique (importance du récepteur AMPA dans l'une, du récepteur NMDA dans l'autre). Cette translation de la courbe est en partie liée à la coopération de la Substance P et du récepteur NMDA: les modifications intracellulaires liées à l'activation des récepteurs à la Substance P (NK1) modifient le neurone qui devient plus sensible aux réponses NMDA.

Figure 16 : Exemple d'une cellule musculaire lisse de la média d'un vaisseau méningé.

Les traitements prophylactiques de la migraine sont connus pour agir sur le récepteur 5HT₂, surtout sur les sous-types A et C. Ils modulent négativement ces récepteurs. Les triptans sont des agonistes des récepteurs 5HT_{1B}. **On sait maintenant qu'il existe des récepteurs 5HT_{1B} qui sont silencieux: ils ne sont pas activables en condition basale.**

Figure 17 : Chez les migraineux, c'est-à-dire en dehors des conditions basales, un traitement prophylactique peut moduler négativement le récepteur 5HT_{2A} en modifiant sa cinétique. Pour des raisons encore inconnues, cette modulation négative induit, probablement par un système de seconds messagers, une modulation positive des récepteurs 5HT-1B: les récepteurs silencieux deviennent activables. Il y a donc sensibilisation du système et augmentation de la réponse aux triptans. En somme, un certain type de traitement prophylactique augmente l'efficacité des traitements de crise dans la migraine. Il faut savoir également que le thromboxane A₂, produit au niveau périvasculaire au cours de la crise, induit également une sensibilisation des récepteurs 5HT_{1B}, probablement par la voie de seconds messagers liée à l'acide arachidonique ou à la phospholipase A₂. L'état de crise est donc lui-même inducteur d'une meilleure réponse à un triptan.

Figure 18 : D'une façon générale, on sait maintenant qu'un traitement prophylactique de la migraine peut modifier le couplage du récepteur 5HT₂ à un système de seconds messagers, soit la phospholipase A₂ soit la protéine kinase C. Un couplage donné aura une action donnée sur les récepteurs 5HT_{1B} en les masquant ou les démasquant, et de là agira sur l'efficacité d'un triptan en cours de crise. Ainsi, les traitements prophylactiques ne sont pas équivalents entre eux dans leur facilitation à la réponse aux triptans du fait de cette modification du couplage des récepteurs 5HT₂ à un système de seconds messagers.

Enfin, il existe différentes isoformes des récepteurs 5HT_{1B}, induisant chacune une certaine cinétique de ce récepteur: un triptan n'a pas une action équivalente sur ces deux isoformes. Certaines isoformes sont prédominantes probablement dans certains sous-groupes de migraineux et lorsque certains traitement sont délivrés de façon chronique. Il n'y a donc pas, entre patients, équivalence de la réponse biochimique aux triptans, au moins au niveau des récepteurs 5HT₁ Beux-mêmes. L'un des nouveaux challenges de l'industrie pharmaceutique est de pouvoir déterminer dans quelle population de migraineux il y a certaines isoformes et de modifier les agonistes thérapeutiques en fonction.

Cet exposé concerne les aspects neuronaux essentiellement médullaires. Les phénomènes concernant l'extrémité présynaptique de l'axone afférent n'ont pas été discutés, tout autant que la participation des cellules gliales aux processus nociceptifs médullaires. On sait pourtant que des astrocytes expriment c-fos dans la corne dorsale après stimulus inflammatoire, que le NO est un médiateur chimique régulant la libération des neurotransmetteurs, que les vagues calciques neuronales et gliales peuvent synchroniser les

activités neuronales au sein d'un réseau, etc....

Retour