



UNIVERSITATEA
DIN BUCUREȘTI
FONDATA IN 1864



Rolul canalului de sodiu $Na_v1.8$ în detectia frigului intens la mamifere

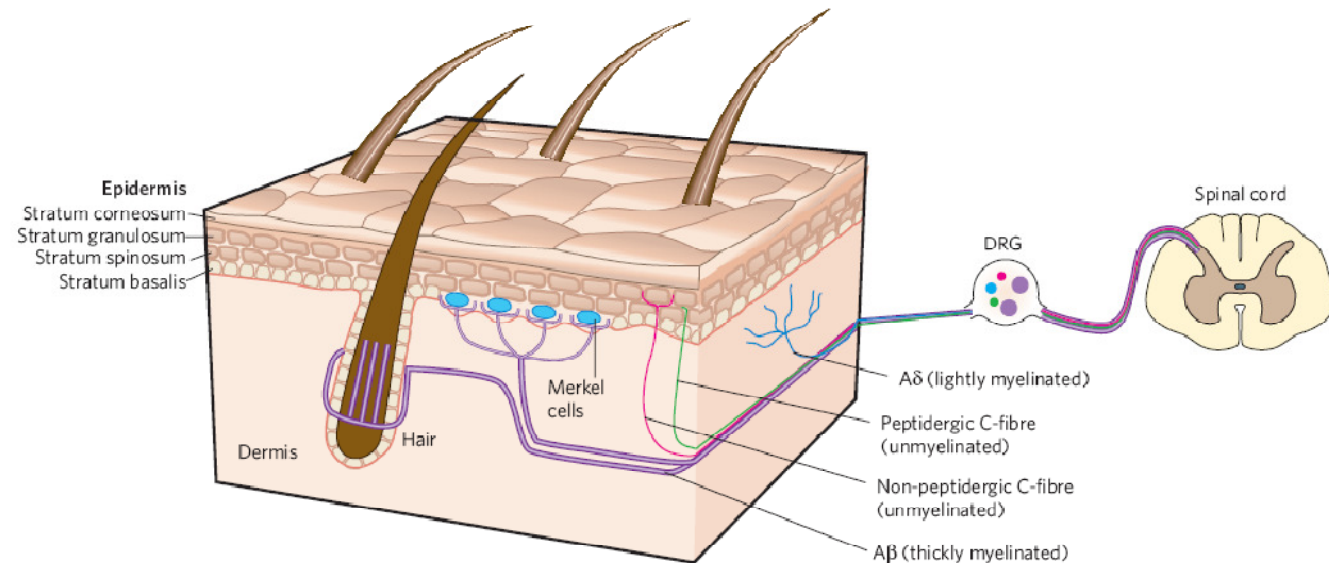
Alexandru Babeș

Facultatea de Biologie, Universitatea din București

Traducerea senzorială

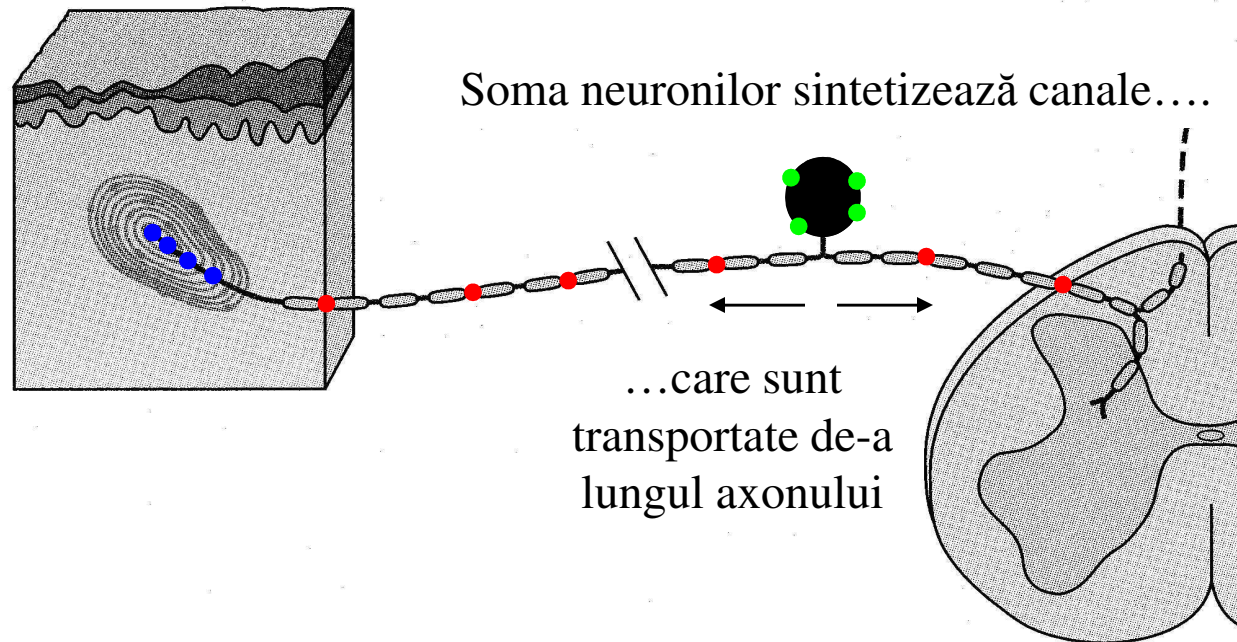
-răspunsul specific al neuronilor senzitivi la stimuli nocivi (mecanici sau termici)

-nociceptorii și termoreceptorii au terminații mici și inaccesibile (de tip C sau A δ)...



Soluție parțială: folosirea somei ca model al terminației

In vivo....



Soluție parțială: folosirea somei ca model al terminației

În cultură....

Soma neuronilor sintetizează canale....



Nu există axon, astfel încât ele apar în membrana somei

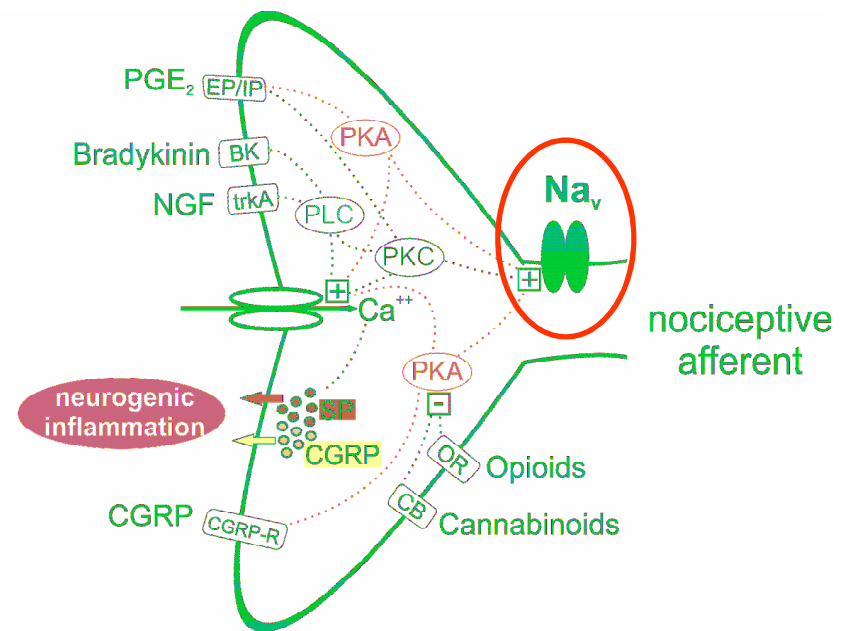
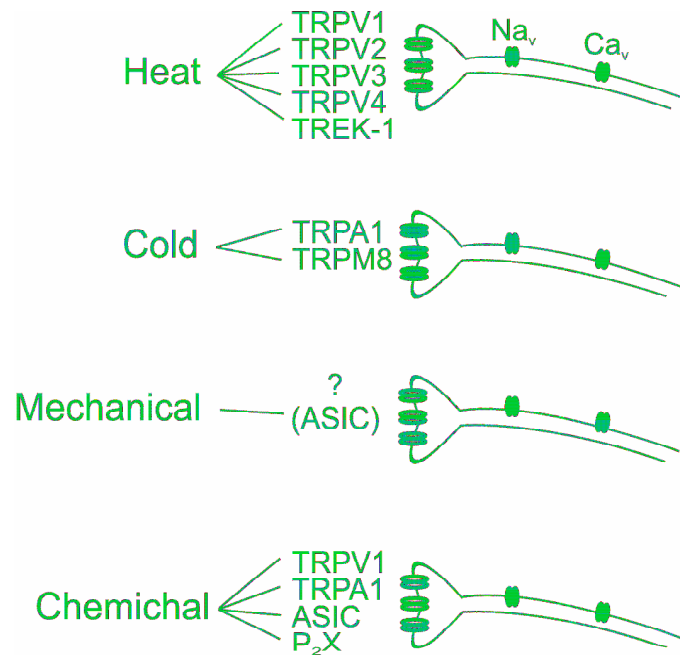
Aspecte utile:

- ☺ Soma este accesibilă, deci:
- ☺ Se poate folosi imagistica de Ca^{2+}
- ☺ Se pot aplica toate configurațiile de patch-clamp

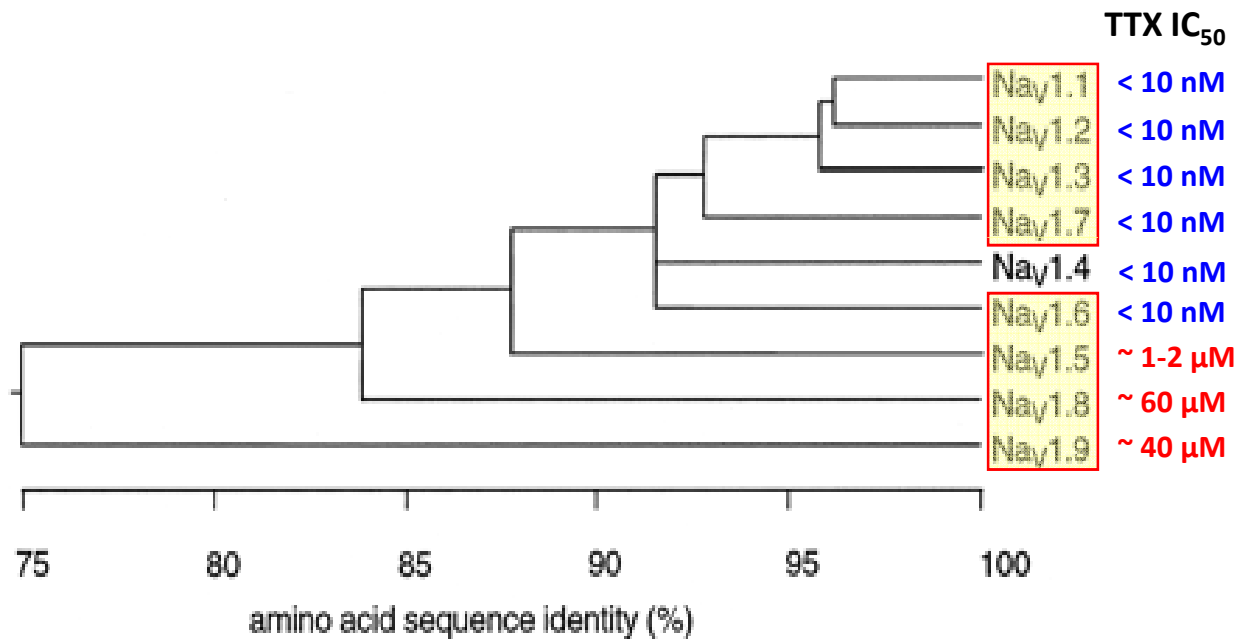
Probleme:

- ☹ Amestec de canale din soma, axon și terminații
- ☹ Modificarea fenotipului celular în cultură

Traducere și Conducție în Nociceptori și Termoreceptori



Nociceptorii exprima diferite subunitati α ale canalelor de sodiu dependente de voltaj



Canalele de sodiu și durerea

$\text{Na}_v1.7$ – mutații tip “gain of function” – primary erythermalgia, paroxysmal extreme pain disorder



$\text{Na}_v1.7$ – mutații tip “loss of function” – channelopathy-associated insensitivity to pain

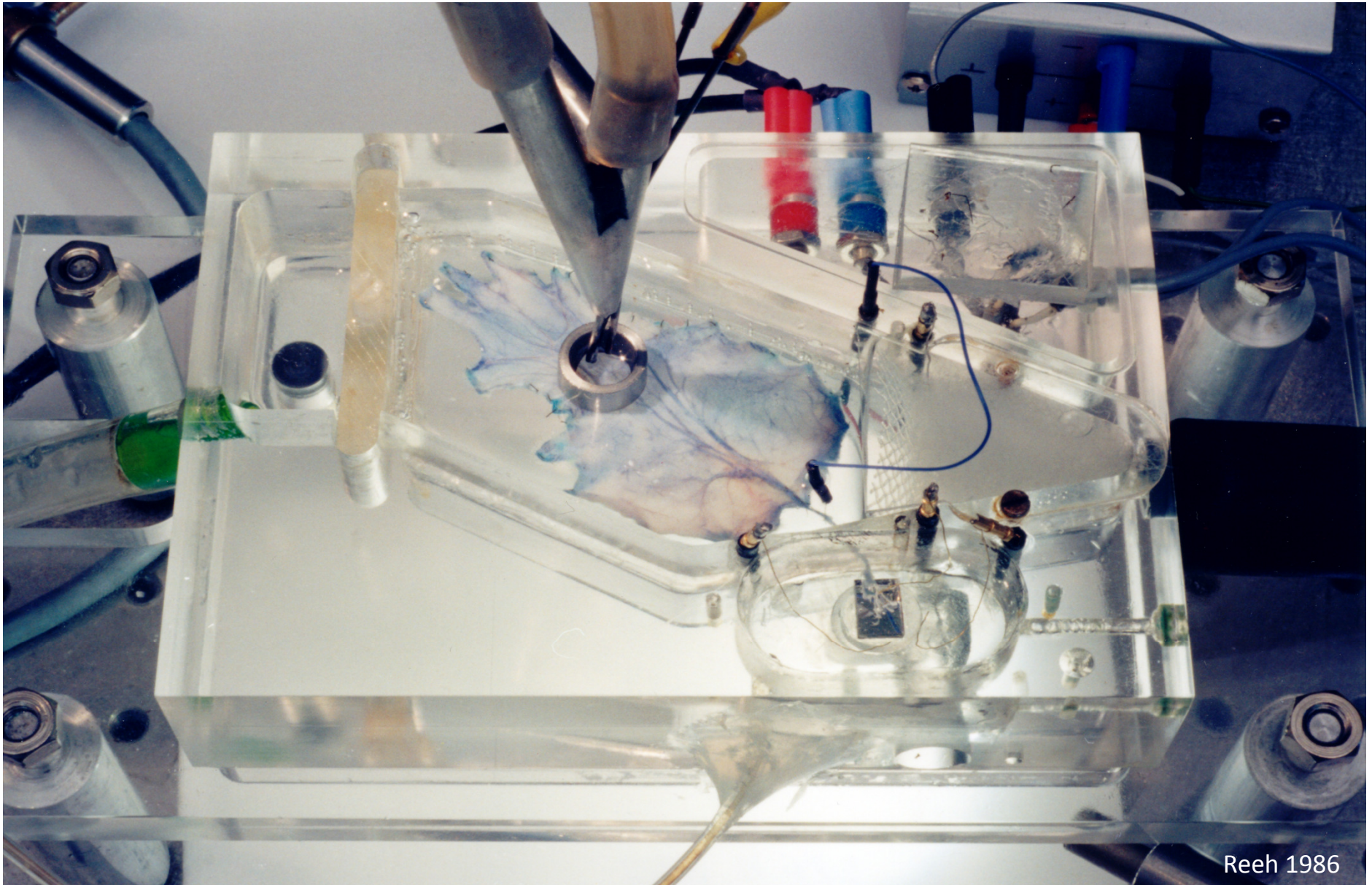


Ce rol are Na_v1.8?

-fenotipul animalelor Na_v1.8 -/- a fost dezamăgitor

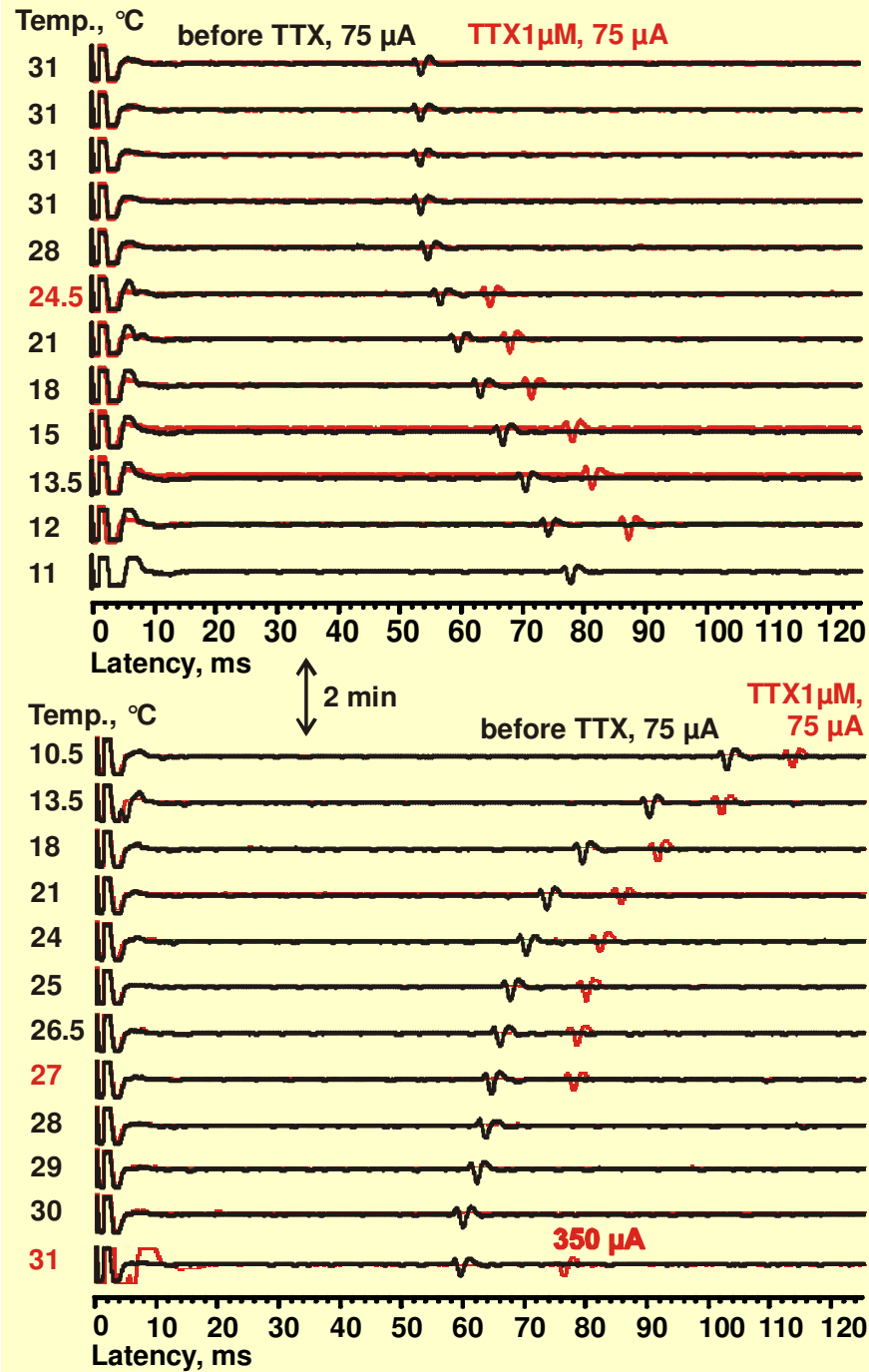
“small deficits in noxious thermoreception”
(Akopian et al., 1999, Nat Neurosci 2(6):541)

Tehnica “skin-nerve”



Observația “accidentală” care a inițiat acest studiu

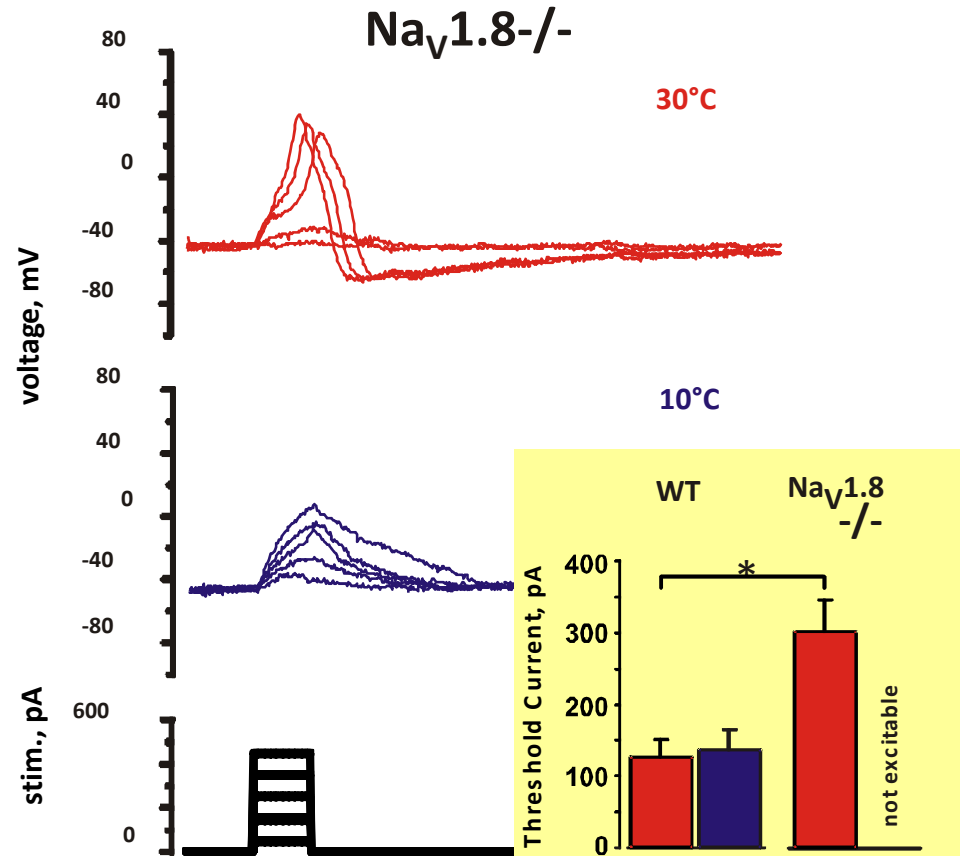
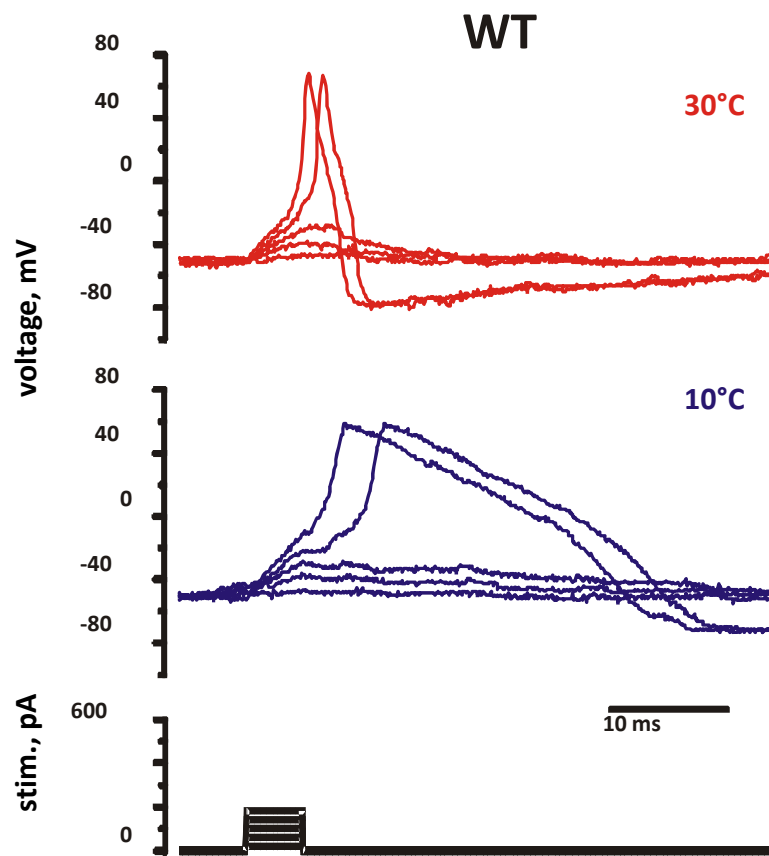
C C57BL/6, CM-fiber, 0.4 m/s, 11.4 mN



**Fibrele de tip C blocate
de TTX
„își revin“ la
temperaturi scăzute**

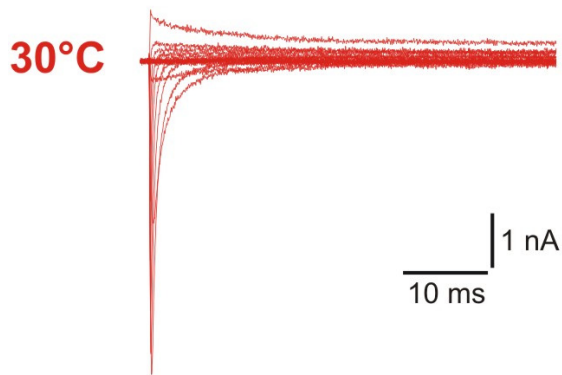
Absența $\text{Na}_v1.8$ la nivelul somei

Neuronii din ganglionii spinali nu pot fi excitați la temperaturi scăzute decât în prezența canalului $Na_v1.8$

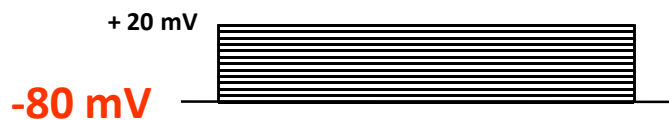
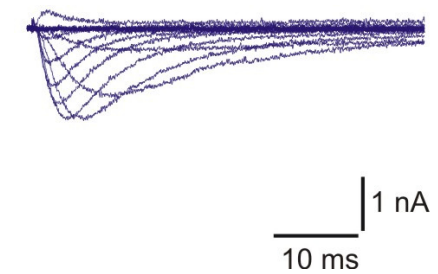
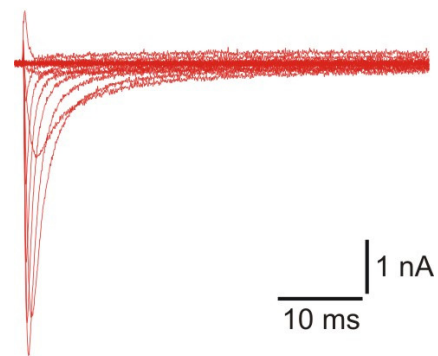


Scăderea temperaturii are efecte diferite asupra curenților de sodiu sensibili și insensibili la TTX

TTXs - DRG

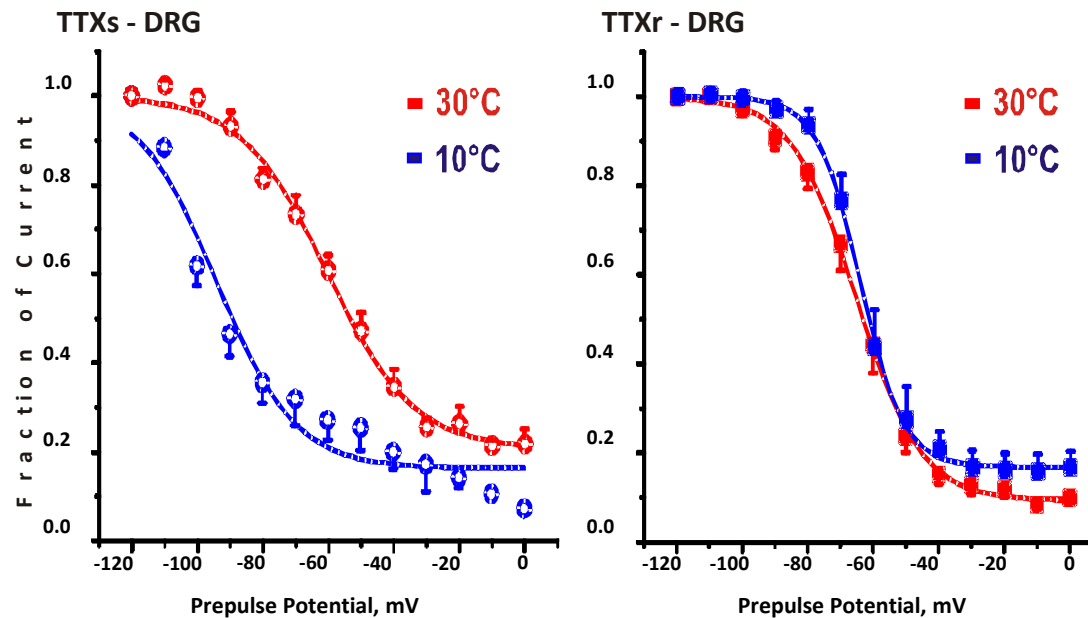


TTXr - DRG

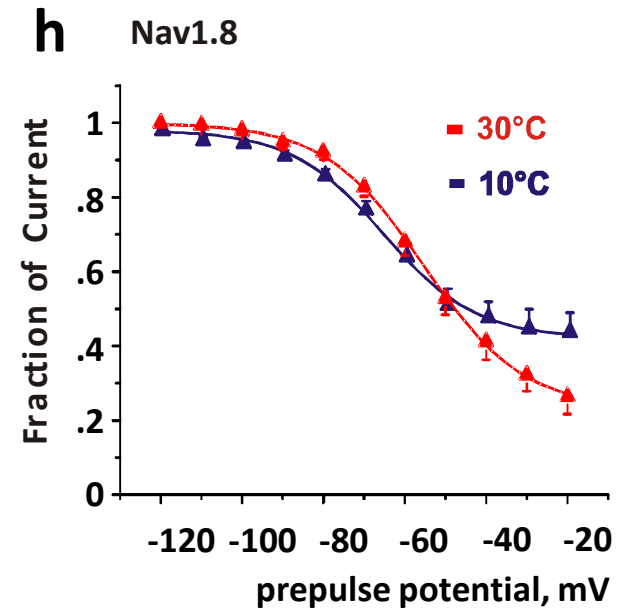
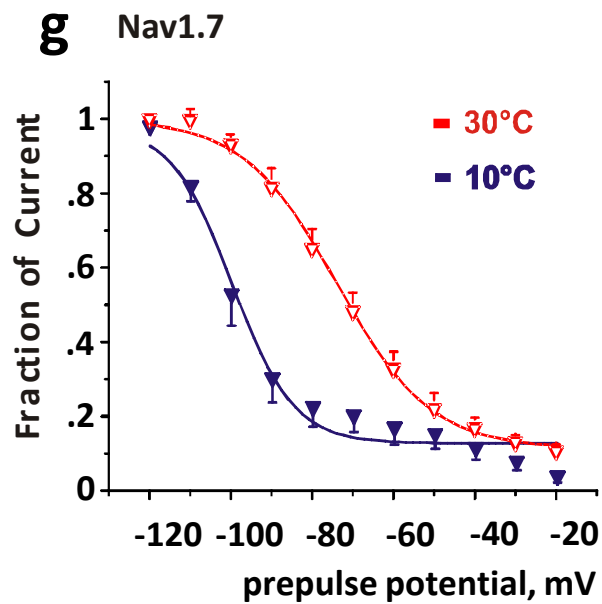


Inactivarea lentă a canalelor TTXr ($\text{Na}_v1.8$) este rezistentă la răcire (spre deosebire de cea a canalelor TTXs)

Slow inactivation

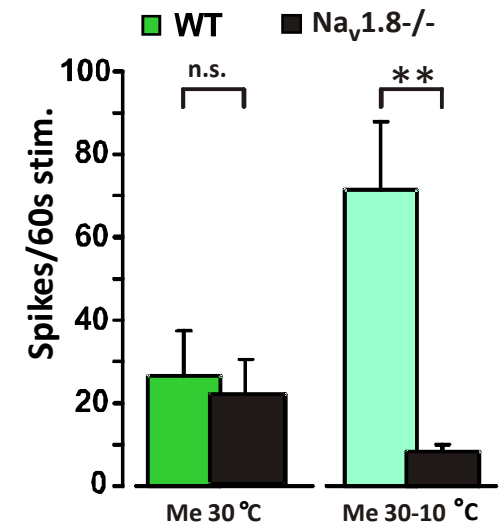
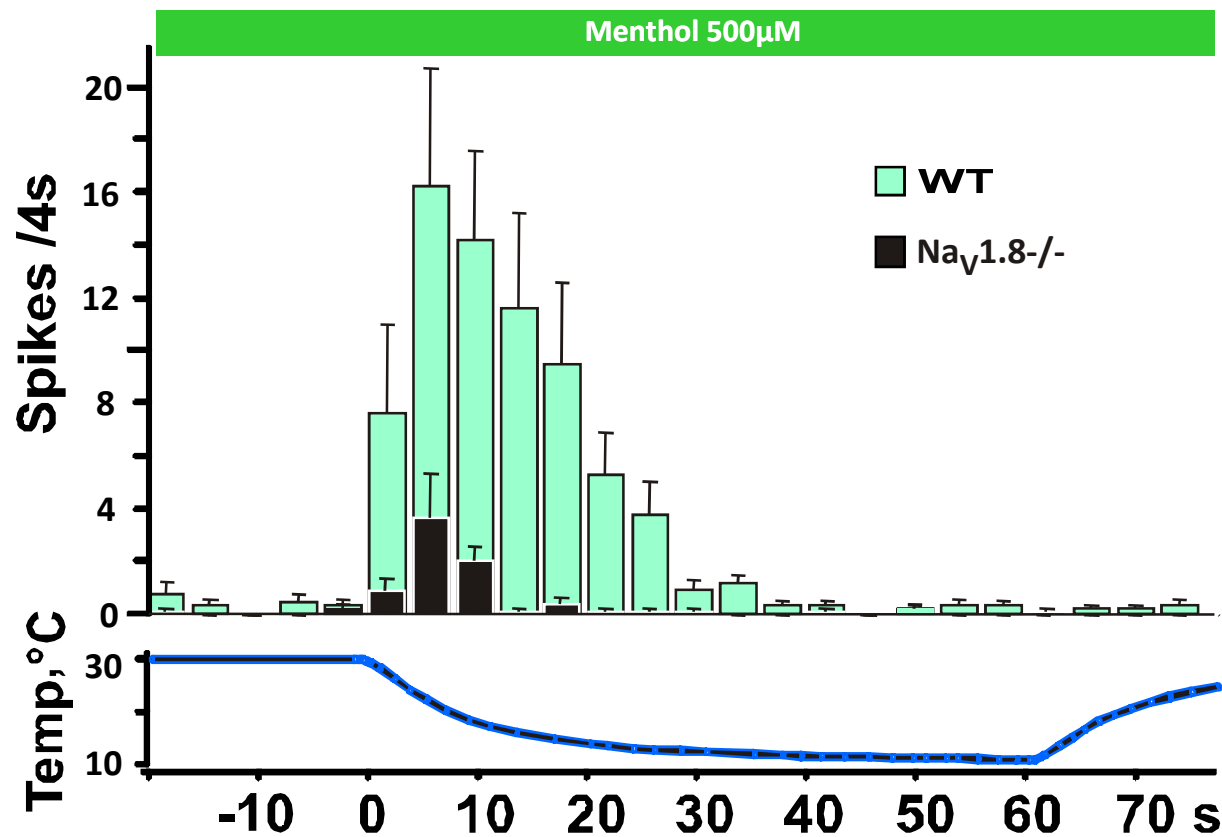


Inactivarea lentă a canalelor $\text{Na}_v1.8$ (dar nu și $\text{Na}_v1.7$) în celule HEK293 transfectate este rezistentă la răcire

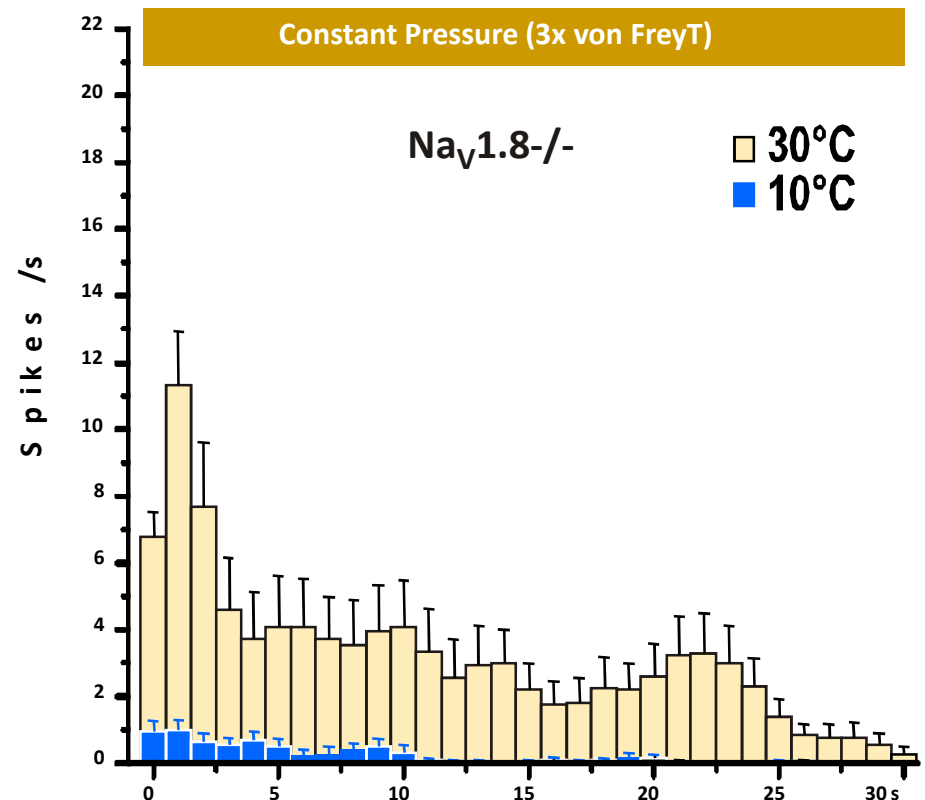
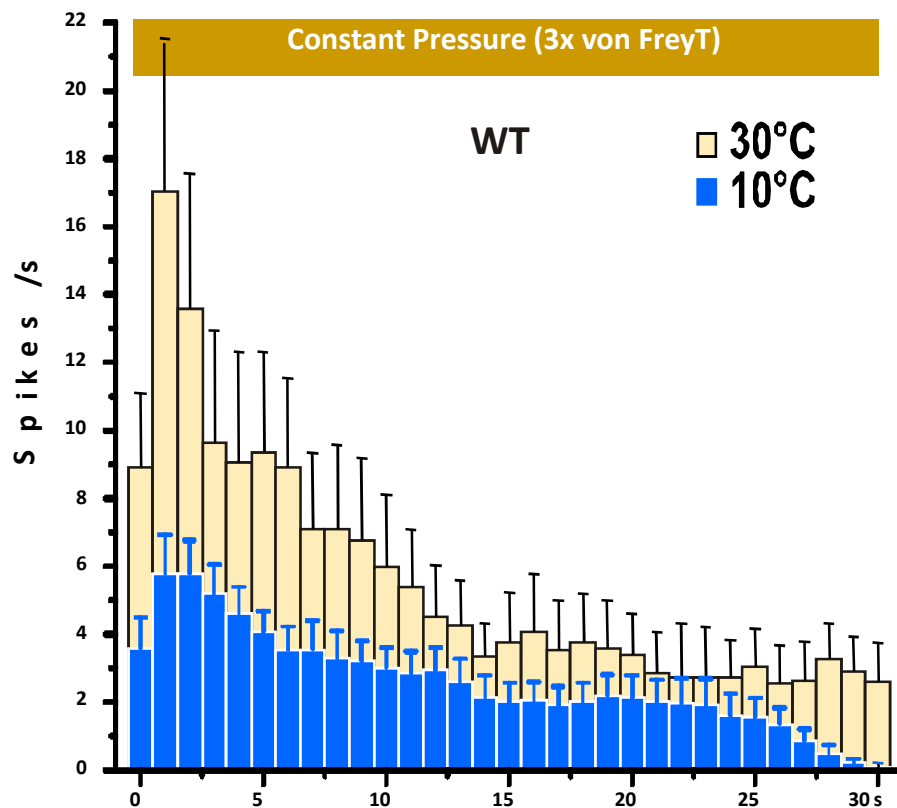


Absența Nav1.8 la nivelul terminațiilor nervoase

Nociceptorii sensibili la frig și mentol au un răspuns masiv diminuat la frig dureros în absența canalului $Na_v1.8$



Nociceptorii au un răspuns diminuat la stimulare mecanică la scăderea temperaturii, care aproape dispare la $\text{Na}_v1.8$ -/-

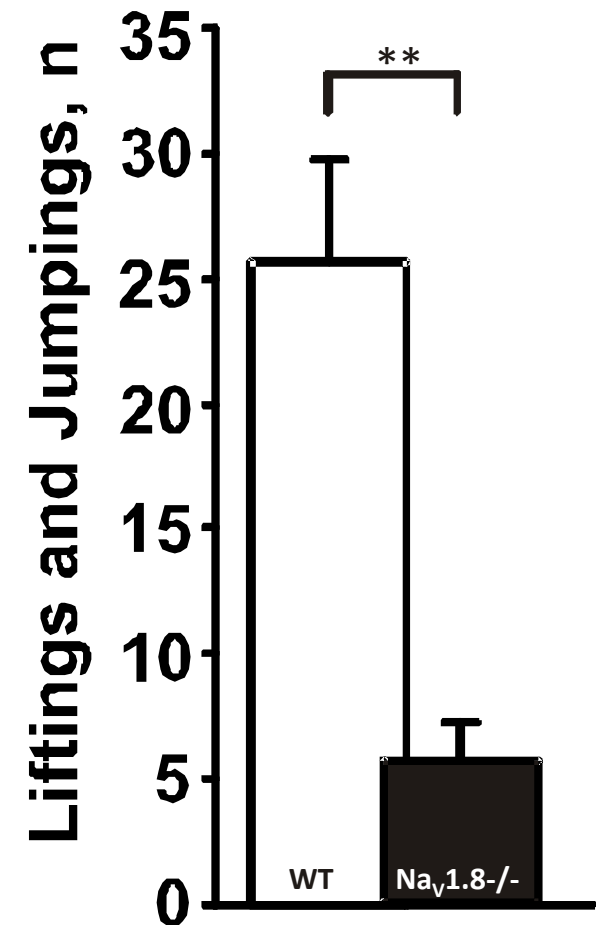


Absența $\text{Na}_v1.8$ la nivelul organismului

Painless freezing $\text{Na}_v1.8$ knockout

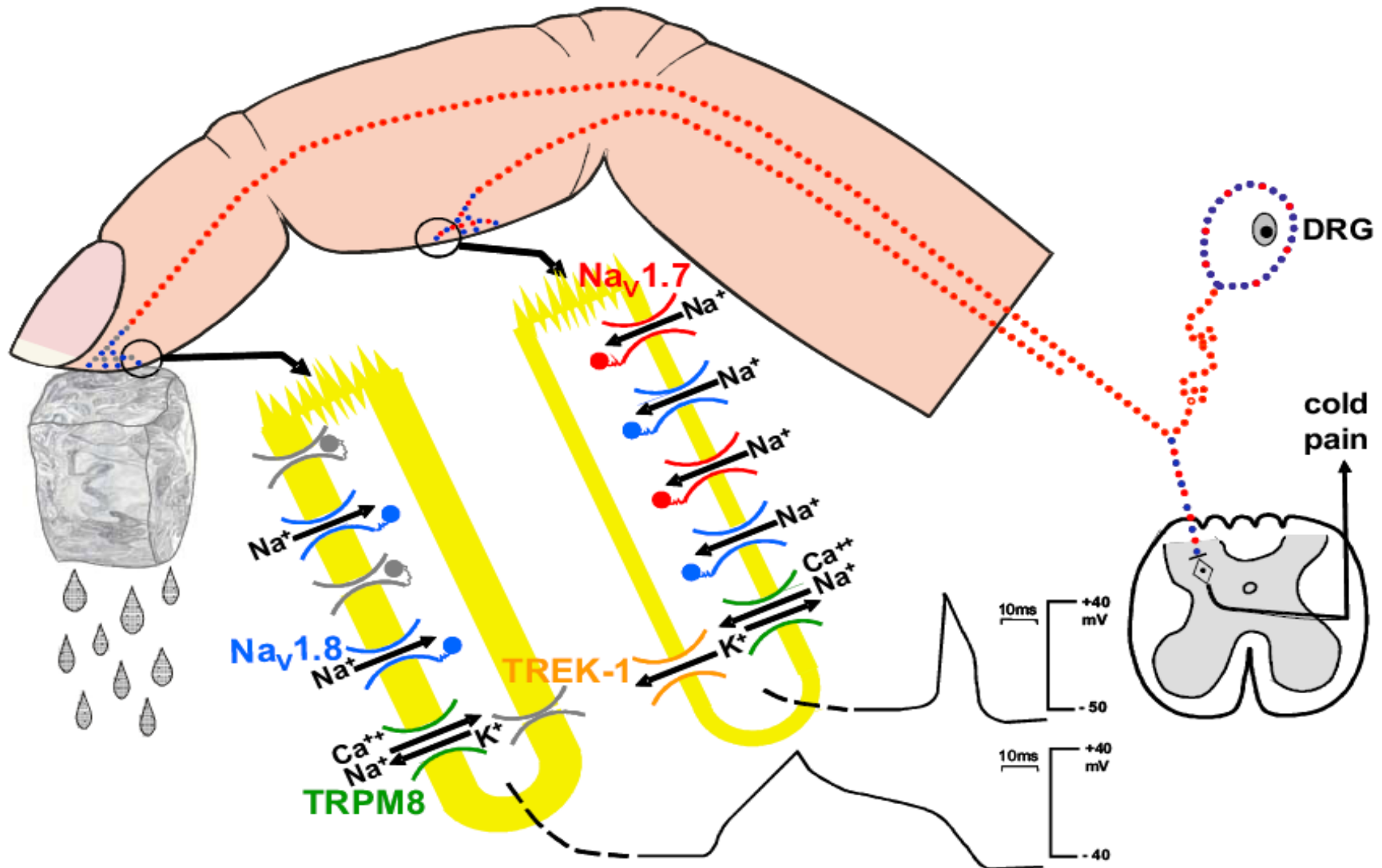


Cold Plate (0°C)

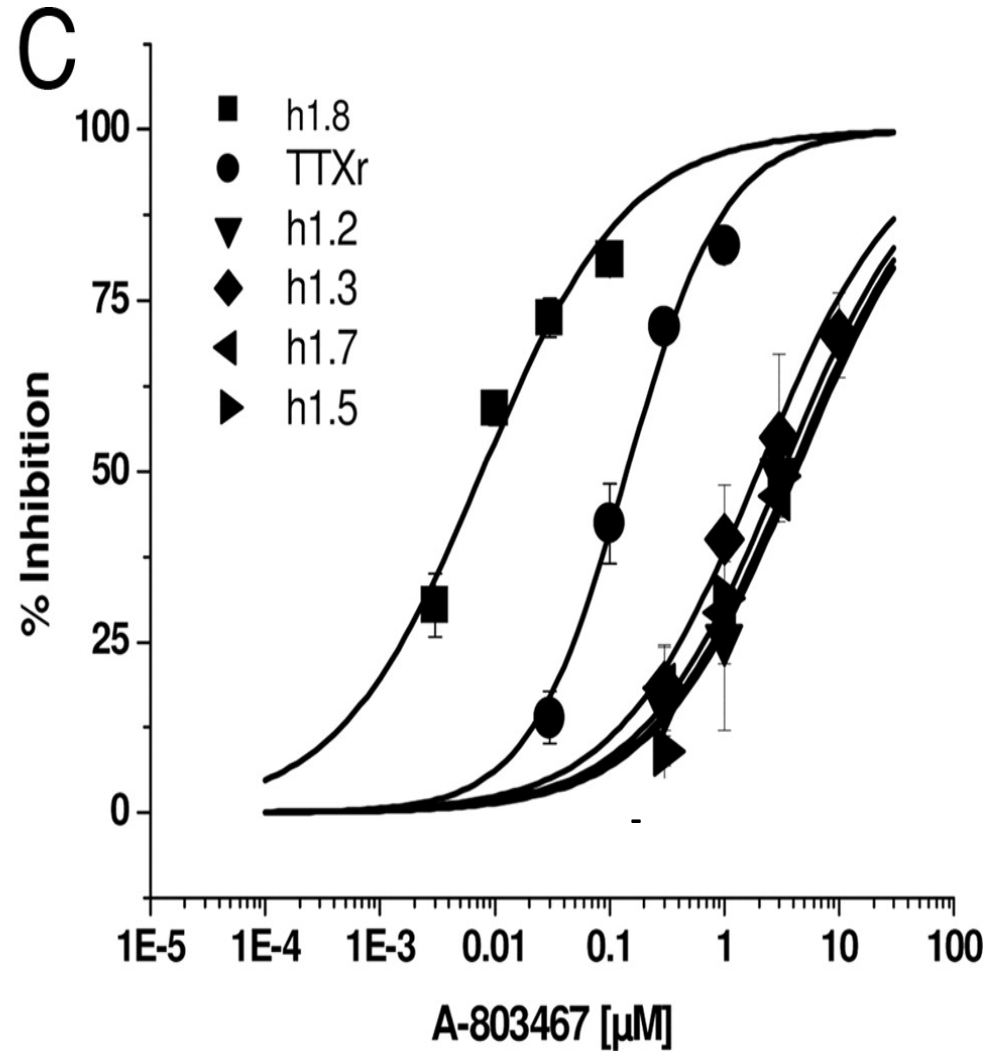
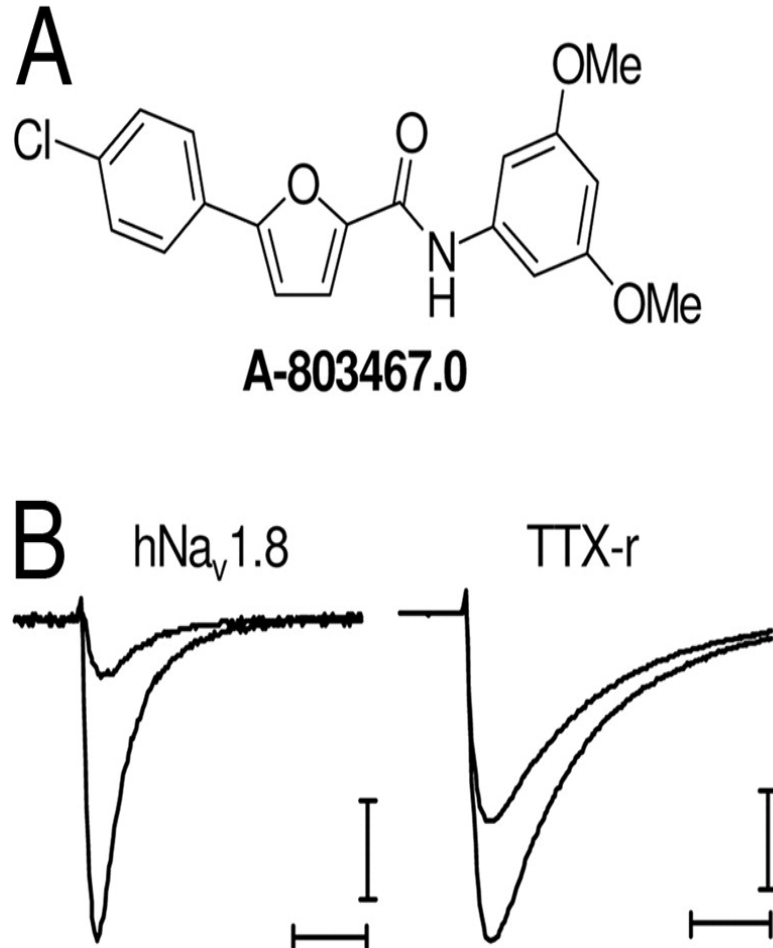


Zimmermann et al., Nature, 2007

Terminațiile nervoase ale nociceptorilor exprimă canale implicate în traducerea frigului (TRPM8) dar și generatoare de potențiale de acțiune sensibile și insensibile la TTX



A 803467 este un blocant selectiv al canalului Na_v1.8



A803467 este un analgezic eficace într-un model animal de alodinie la frig în urma lezării nervului prin constricție cronică

Pain model	ED ₅₀	Effect, %
Acute nociception		
Rat acute therm.	>100	0 ± 0
Rat acute mech.	65	70 ± 4*
Inflammatory pain		
Formalin-flinching	>100	9 ± 11
Capsaicin, mech. allodynia	100	46 ± 4*
CARR, therm. hyperalgesia	100	54 ± 10*
CFA, therm. hyperalgesia Day 2	41	64 ± 6*
CFA, therm. hyperalgesia Day 4	38	71 ± 10*
CFA, mech. allodynia Day 2	>100	34 ± 15*
CFA, mech. allodynia Day 4	>100	42 ± 15*
Neuropathic pain		
SNL, mech. allodynia	47	70 ± 12*
CCI, mech. allodynia	85	56 ± 10*
CCI, cold allodynia	70	61 ± 11*
Vincristine, mech. allodynia	>100	9 ± 9
Postoperative pain		
Skin incision at 2 h	>100	14 ± 2
Skin incision at 24 h	>100	32 ± 18*
Visceral pain		
Mouse writhing assay (s.c.)	>100	34 ± 6*
Cyclophosphamide, cystitis	>100	0 ± 10
Colonic distension (MED)	100	25 ± 5*
Motor effects [†]		
Locomotor activity	>300	12 ± 12
Rotorod performance	>300	0 ± 0
Edge balance	>300	0 ± 0



CCI, cold allodynia

70 61 ± 11*

Percent analgesic effect assessed at 100 mg/kg, i.p.

Jarvis et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2007

București: Nav1.8, current-clamp,
voltage-clamp

Ramona Linte
Cristian Ciobanu
Cristian Neacșu



Erlangen: Nav1.8, „skin-nerve“,
voltage-clamp

Andreas Leffler
Katharina Zimmermann
Richard Carr
Peter Reeh



Londra: Nav1.8, comportament
John Wood, Miguel Cendan