

Le rat STZ-diabétique : modèle adapté à l'étude de la neuropathie diabétique douloureuse ?

Does the streptozocin diabetic rat provide a suitable model for studying painful diabetic neuropathy?

A.-S. Wattiez · A. Dupuis · C. Courteix

Reçu le 7 octobre 2011 ; accepté le 31 janvier 2012
© Springer-Verlag France 2012

Résumé Le modèle du rat rendu diabétique par la streptozocine reproduit un mécanisme lésionnel métabolique (diabète de type 1) et les symptômes habituels de douleur évoquée. Bien que la pertinence clinique du modèle soit remise en cause en raison de l'altération de l'état général des animaux et de l'absence de modifications morphologiques des nerfs périphériques, les nombreux travaux ont contribué à une meilleure connaissance physiopathologique et pharmacologique de la neuropathie diabétique douloureuse, à l'amélioration des modalités d'utilisation des outils pharmacologiques et à l'émergence de nouveaux concepts thérapeutiques.

Mots clés : Douleur neuropathique · Diabète · Streptozocine · Modèle animal · Prédicibilité

Abstract The streptozocin-induced diabetic rat model reproduces a metabolic lesion mechanism (type I diabetes) and the usual symptoms of evoked pain. Even though the clinical relevance of the model is challenged due to the alteration of the general health condition of the animals and the lack of morphological changes in peripheral nerves, many studies have contributed to a better pathophysiological and pharmacological understanding of painful diabetic neuropathy, to the improvement of the use of pharmacological tools and to the emergence of new therapeutic concepts.

Keywords: Neuropathic pain · Diabetes · Streptozocin · Animal model · Predictability

A.-S. Wattiez · A. Dupuis
Laboratoire de physiologie, Faculté de pharmacie, Inserm, U766,
F-63001 Clermont-Ferrand cedex 01, France

C. Courteix (✉)
Clermont Université, Université d'Auvergne,
laboratoire de physiologie, UFR pharmacie, Inserm U1107,
Neuro-Dol, BP 38, 28 Place Henri Dunant,
F-63001 Clermont-Ferrand cedex 1, France
e-mail : christine.courteix@u-clermont1.fr

Introduction

Les douleurs neuropathiques telles qu'elles ont été récemment redéfinies par le groupe d'intérêt en douleur neuropathique NeuPSIG (*Neuropathic Pain Special Interest Group*) correspondent à « l'ensemble des douleurs résultant directement d'une lésion ou d'une maladie affectant le système somatosensoriel » [59]. Leur prévalence en population générale, toutes étiologies confondues, est estimée entre 1,5 [57] et 6,9 % [7]. Le développement de modèles expérimentaux de douleur neuropathique consécutive à des lésions d'origine traumatique (constriction [5], section partielle [55], ligature du nerf infra-orbitaire [61] ou d'un nerf spinal [37]...), métabolique (diabète [16]) ou toxique (agent anticancéreux [2] ou antirétroviral [60]) a largement contribué à une meilleure connaissance de leur physiopathologie. Ces modèles tentent de se rapprocher au plus près de la symptomatologie et/ou de l'étiopathogénie clinique des neuropathies douloureuses et sont utilisés pour évaluer de nouvelles thérapies médicamenteuses.

La nécessité de modéliser les douleurs neuropathiques diabétiques provient d'une réalité clinique : le diabète est l'un des plus grands pourvoyeurs de neuropathies dans le monde. En effet, sur 246 millions de patients diabétiques, entre 20 et 30 millions sont atteints par une neuropathie diabétique symptomatique [54]. La neuropathie survient à la fois pour les diabètes de type 1 et 2, suggérant que l'hyperglycémie en est le facteur étiopathogénique primaire [9]. La forme clinique la plus fréquente est, de loin, la polyneuropathie sensitive distale qui présente une distribution classique « en chaussettes et en gants », parfois asymptomatique, mais qui entraîne le plus souvent des sensations anormales (paresthésies et dysesthésies) et/ou des douleurs. Ce sont les fibres les plus longues qui sont d'abord touchées, ce qui explique leur distribution distale. La douleur et les sensations anormales précèdent ou accompagnent la neuropathie ; elles sont continues ou intermittentes, spontanées ou

évoquées. L'estimation de la prévalence des polyneuropathies douloureuses varie entre 8 et 65 % [21,30,53,64] selon les études et, surtout, les outils diagnostiques utilisés. À l'instar des douleurs neuropathiques d'autre étiologie, la douleur neuropathique du diabète répond mal aux antalgiques classiques (paracétamol, AINS) et les traitements de référence ne sont que partiellement efficaces. En France, trois molécules ont spécifiquement l'AMM dans cette indication : la gabapentine et la prégabaline, ligands de la sous-unité $\alpha_2\delta$ des canaux calciques, ainsi que la duloxétine, antidépresseur inhibiteur de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline (IRSN).

C'est dans ce contexte clinique qu'ont été développés des modèles expérimentaux de diabète spontané (Type 1 insulino-penic diabetic BB/Worcester Rat, Type 2 hyperinsulinemic diabetic BBZDR/Worcester Rat, Souris NOD, Rat LETL, Akita Mice spontaneous type 1 diabetes [B6Ins2(Akita)]) ou obtenus par des manipulations diététiques (suralimentation, jeûne prolongé, passage d'une alimentation hyperlipidique à une alimentation hyperglucidique) (*High-fat diet-fed Mice*), génétiques (*Zucker diabetic fatty Rat*, *Obese leptin-deficient [ob/ob] Mice*, *Leptin receptor deficient [db/db] Mice*, *Nonobese diabetic Mice*) ou par insuffisance pancréatique chimio-induite (streptozocine [STZ], alloxane [ALX]) [39,51]. Parmi ces modèles, celui du rat rendu diabétique par la STZ est, de loin, le plus utilisé pour l'étude des neuropathies douloureuses diabétiques. Bien que ce modèle étiopathogénique ne réplique pas de façon univoque les conditions cliniques de la neuropathie diabétique, il n'en demeure pas moins un outil précieux permettant l'étude des mécanismes par lesquels l'hyperglycémie atteint le système nerveux somatosensoriel.

Modèles de diabète induit par pancréatectomie chimique

Deux agents sont couramment utilisés pour induire une pancréatectomie chimique, tous deux des analogues du glucose : l'alloxane (ALX), dérivé pyrimidique (synthétisé en 1938) et la streptozocine (STZ), agent antimicrobien et alkylant. Les propriétés chimiques de ces composés sont cruciales pour leur diabétogénicité [40]. Tous deux sont hydrophiles et ne franchissent pas la membrane plasmique. Ils empruntent le transporteur du glucose GLUT2 de la membrane des cellules bêta du pancréas qui les transporte dans le cytosol. Ainsi, les cellules bêta n'exprimant pas ce transporteur sont résistantes à la STZ et à l'ALX.

Les effets cytotoxiques de l'ALX sont dus à son produit de réaction réduit, l'acide dialurique, et à la production d'espèces oxygénées réactives (EOR) (génération de radicaux superoxydes O_2^- , peroxydes d'hydrogène H_2O_2 et hydroxyles OH [56]).

La STZ exerce sa toxicité grâce à une activité d'alkylation de l'ADN [56]. La glycosylation des protéines est un facteur délétère supplémentaire. L'ADP ribosylation est alors sur-stimulée, ce qui entraîne une baisse de NAD^+ cellulaire, du stock d'ATP et conduit à la mort des cellules bêta et de toutes les cellules porteuses du transporteur GLUT2 (cellules du rein et du foie).

Signes cliniques du diabète STZ-induit chez le rat

Les signes cliniques constants du diabète induit par la STZ sont [16] : l'hyperglycémie, apparaissant dans les jours qui suivent l'injection de STZ et persistant, signant une toxicité irréversible ; un arrêt de la croissance pondérale, voire une perte de poids ; une hypo-insulinémie. Ces signes sont accompagnés d'une polydipsie – la prise de boisson pouvant être multipliée par 10 –, d'une polyurie et d'une polyphagie [52]. Alors que la plupart des études morphologiques, histologiques et électrophysiologiques montrent que la neuropathie diabétique s'accompagne de modifications nerveuses structurales (démyélinisation segmentaire et dégénérescence axonale) et fonctionnelles (appréciées par les vitesses de conduction nerveuse motrice et sensitive) chez les patients diabétiques [54], les modifications structurales sont rarement rapportées chez le rat diabétique ou apparaissent tardivement. Les travaux de Walker [62] réalisés à partir de biopsies de nerf tibial chez le rat diabétique en sont un exemple : les auteurs rapportent l'absence d'anomalies du tissu nerveux en ce qui concerne la distribution des axones non myélinisés, le diamètre des axones des fibres myélinisées, l'aire fasciculaire, l'absence de dégénérescence wallérienne. En revanche, des anomalies de la structure des capillaires endoneuraux présentant une surface luminale accrue et des cellules endothéliales de taille réduite, signant une atteinte des vaisseaux nourriciers du système nerveux, ont été observées. Dans ce modèle expérimental, il n'existerait donc pas de support structural aux anomalies fonctionnelles, à savoir la baisse des vitesses de conduction nerveuse (VCN) sensitive et motrice et les modifications de la sensibilité douloureuse. Le seul modèle animal de neuropathie diabétique pour lequel des atteintes morphologiques (amincissement de la gaine de myéline, dystrophie axonale, bourgeons de régénération axonale, cellules de Schwann surnuméraires...) ont été trouvées, est celui du chat domestique développant un diabète spontané [43].

En absence de démyélinisation segmentaire et de dégénérescence axonale qui caractérisent la neuropathie diabétique humaine, le modèle du rat rendu diabétique par la STZ est considéré comme un modèle d'hyperglycémie de courte durée où les anomalies fonctionnelles reflètent les stades précoces de la neuropathie diabétique.

Facteurs étiopathogéniques de la neuropathie diabétique

La responsabilité de l'hyperglycémie chronique dans l'apparition et l'aggravation des complications du diabète de type 1 chez l'homme a été confirmée par l'étude multicentrique nord-américaine (*Diabetes Control and Complications trial Research group* [1]) réalisée sur 1441 patients suivis pendant six ans. Dans cette étude, l'importance prophylactique de la qualité du contrôle glycémique sur la progression de la rétinopathie (réduction de 34-76 %), de la microalbuminurie (réduction de 50 %) et des neuropathies (réduction de 60 %) a été confortée. Les facteurs étiopathogéniques de la neuropathie sensitive sont encore mal connus mais des hypothèses issues de travaux expérimentaux chez le rat diabétique sont avancées. Plusieurs mécanismes sous-tendant la toxicité métabolique du glucose sur les fibres nerveuses périphériques ont été proposés [58] : un mécanisme enzymatique impliquant la voie des polyols, un mécanisme non enzymatique par la glycation des protéines et l'expression des récepteurs des produits terminaux de la glycation avancée, un stress oxydant.

La capture du glucose par les cellules de Schwann des nerfs est indépendante de l'insuline : le glucose pénètre et s'accumule dans les neurones initiant la voie de l'aldose réductase. Cette voie métabolique conduit à une accumulation de sorbitol et de fructose et à une déplétion en myo-inositol compromettant le cycle du glutathion et l'activité ATPasique Na/K. Des inhibiteurs de l'aldose réductase, pourtant très efficaces sur les atteintes fonctionnelles dues au diabète chez le rat, le sont beaucoup moins chez le patient diabétique, différence probablement liée à l'importance de la voie des polyols chez le rongeur par rapport à l'homme.

L'hyperglycémie induit aussi une glycation non enzymatique des protéines, les produits terminaux de la glycation vont activer le facteur de transcription nFκB responsable de la modification de l'expression de nombreux gènes.

Enfin, le glucose en excès est responsable d'un stress oxydant en combinant génération de radicaux libres et inefficacité des systèmes de protection antioxydants. La plupart des EOR ($O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , H_2O_2) proviennent de la chaîne respiratoire mitochondriale, de la NADPH oxydase et de la xanthine réductase ; les espèces réactives de l'azote (monoxyde d'azote NO, peroxydites ONOOH) sont produites par l'enzyme de synthèse du NO, la NO-synthase. Chez le rat diabétique, il a été montré que ces radicaux libres exercent leurs effets délétères sur la cellule de Schwann. La neutralisation des réactions en chaîne générées par les EOR est assurée par la superoxydismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase. C'est ainsi que le traitement de rats diabétiques avec des antioxydants prévient ou supprime non seulement les atteintes fonctionnelles (VCN) [10] mais également les signes douloureux [34]. Inversement, le

traitement de rats sains (non diabétiques) avec un agent pro-oxydant (la prémaquine) induit des modifications fonctionnelles identiques à celles observées après induction du diabète [11].

Certaines voies de signalisation mettant en jeu les MAP-Kinases sont activées dans les neurones sensoriels exposés à une augmentation de glucose in vitro et in vivo, chez le rat et l'homme diabétiques [48].

Les signes d'hypersensibilité chez le rat diabétique

Les études comportementales réalisées chez les rats diabétiques se focalisent souvent sur la réponse à des stimuli nociceptifs ou non nociceptifs, compte tenu de l'absence de signes de douleur spontanée quantifiables. Les plus simples d'entre eux consistent à mesurer le délai de réaction de l'animal dont la patte ou la queue sont exposées à une stimulation thermique, mécanique ou tactile. Un exemple est apporté avec le test thermique de préférence de place ou test de choix entre deux températures [44]. Outre l'affranchissement du biais inhérent à la contention de l'animal, ce test permet d'appréhender le comportement spontané vis-à-vis d'une gamme de stimuli thermiques laissant à l'animal le choix de se placer sur une des deux plaques maintenues à des températures différentes. Ainsi, l'utilisation de ce test a révélé une hypersensibilité thermique (pour la température de 45°C) chez le rat diabétique [47] dont la prévalence croît avec la durée du diabète. Néanmoins, l'hyperalgie thermique au chaud représente une composante douloureuse inhabituelle chez les patients, rendant difficile l'extrapolation de ces données à la clinique [28]. Certains auteurs, utilisant le test de la rampe thermique, qui consiste à placer l'animal sur une surface dont la température augmente de 1°C/sec de 30°C à 50°C, ont également observé une hypersensibilité pendant les premières semaines du diabète mais qui laisse place à une hypoalgie 2-3 mois plus tard, traduisant une évolution de la neuropathie douloureuse vers une neuropathie insensible aux stimuli nociceptifs chauds aussi décrite chez l'homme [29]. Une perte de nocicepteurs thermiques a d'ailleurs été rapportée chez les patients diabétiques [36].

La perception des stimulations tactiles (toucher léger) et mécaniques (pression) est également modifiée par le diabète. Chez des rats diabétiques, l'application d'un filament de von Frey, produisant un toucher léger statique, provoque le retrait de la patte par la mise en jeu inappropriée des fibres Aδ et C, signant une allodynie tactile. De développement plus récent, le test d'allodynie tactile dynamique consiste à caresser la face plantaire avec un coton-tige ou un pinceau en poil de martre ou en soie de porc ; l'évocation d'un retrait de la patte à l'application du stimulus traduit une atteinte des fibres Aβ responsable de l'allodynie tactile dynamique. La comparaison des deux symptômes révèle que l'allodynie dynamique est d'apparition plus tardive que l'allodynie statique

et que ces deux symptômes douloureux s'aggravent avec le décours du diabète chez le rat [26]. Cette observation suggère que la présence d'une allodynie dynamique traduit une atteinte nerveuse plus sévère que la présence d'allodynie tactile statique seule. Ce modèle permet donc de tester l'allodynie tactile dynamique qui, contrairement à l'allodynie statique et l'hypersensibilité thermique au chaud, est un symptôme commun de la douleur neuropathique en clinique humaine.

L'utilisation des filaments de von Frey peut aussi être mise à profit de l'exploration de l'hypersensibilité mécanique : l'application d'un filament de von Frey (# 4,93) exerçant une pression très ponctuelle statique, se traduit par une augmentation (d'un facteur 2) de l'intensité de la réponse chez les animaux diabétiques [32].

La recherche d'une hypersensibilité chimique chez le rat diabétique, qui peut, au mieux, mimer une hypersensibilité inflammatoire en clinique humaine, a révélé une augmentation de la réponse tonique lors du test du formol (injecté dans la patte) alors que la réponse phasique n'est pas modifiée [8].

Physiopathologie de la douleur neuropathique diabétique

Les douleurs associées aux lésions nerveuses du diabète font initialement intervenir des mécanismes périphériques à l'origine d'une hypersensibilité des fibres sensorielles, qui entraînent, secondairement, des remaniements centraux responsables d'une hyperexcitabilité des systèmes nociceptifs centraux. Dans ce paragraphe, nous aborderons les principaux mécanismes périphériques et centraux des douleurs neuropathiques diabétiques proposés grâce aux travaux réalisés à l'aide du modèle du rat diabétique.

Modifications périphériques

Implication des canaux calciques voltage-dépendants

Les canaux Ca_v de type T (LVA à bas seuil d'activation) ou Ca_v 3.1, 3.2 et 3.3 sont localisés dans les corps cellulaires et les dendrites des fibres afférentes primaires (FAP), et jouent un rôle important dans la modulation de l'excitabilité neuronale [12]. Leur implication dans la physiopathologie des douleurs neuropathiques a aussi été démontrée, en particulier dans les modèles de diabète et de ligature du nerf sciatique pour lesquels la densité du courant de type T est largement augmentée [32]. Le « knockdown » par stratégie antisens de l'isoforme Ca_v 3.2 et non celui des isoformes Ca_v 3.1 et Ca_v 3.3, supprime l'hypersensibilité thermique (test de Hargreaves) et mécanique (application d'un filament de von Frey #4.93) chez le rat diabétique. L'enregistrement électrophysiologique de cellules de petite taille (fibres C) des ganglions

rachidiens dorsaux (GRD) de la moelle épinière (voltage-clamp sur cellules entières) montre que la même stratégie supprime la « up-regulation » des courants de type T induite par le diabète [42].

Enfin, la surexpression de la sous-unité $\alpha_2\delta$ des canaux calciques de type L appartenant à la famille des « HVA » (à haut seuil d'activation) dans le GRD chez le rat diabétique est contemporaine à l'apparition de l'allodynie tactile appréciée par le test des filaments de von Frey [66]. C'est cette sous-unité $\alpha_2\delta$ qui est la cible pharmacologique de certains antiépileptiques comme la gabapentine et la prégabaline.

Implication des canaux sodiques voltage-dépendants

La lésion nerveuse périphérique peut modifier l'expression et la fonction des sous-unités α des canaux Na_v ayant pour conséquence un changement de l'excitabilité neuronale [24]. Hong et al. [31] ont en effet montré que, quatre semaines après l'induction du diabète par la STZ chez le rat, les courants Na_v sensibles (S) et résistants (R) à la tétrodotoxine (TTX) sont accrus dans les neurones de petit diamètre des GRD. La quantification par western-blot des différents types de canaux sodiques montre une augmentation du niveau d'expression des canaux Na_v 1.3 et Na_v 1.7 (TTX-S) et une baisse du niveau d'expression des canaux Na_v 1.6 (TTX-S) et Na_v 1.8 (TTX-R) dans les GRD de rats diabétiques (quatre semaines post-STZ). Ces auteurs ont aussi rapporté que la phosphorylation des résidus Thr/Ser des canaux Na_v 1.6 et Na_v 1.8 et des résidus Tyr des Na_v 1.3 et Na_v 1.7 est accrue par le diabète. Ces données sont loin d'être univoques : alors qu'une augmentation et une diminution de l'expression des canaux Na_v 1.3 et Na_v 1.8 (ARNm et protéine) respectivement, ont bien été retrouvées, l'expression de Na_v 1.6 (ARNm et protéine) a été trouvée augmentée [19]. Qu'ils soient sensibles ou résistants à la TTX, les canaux Na_v jouent un rôle important dans la physiopathologie des douleurs neuropathiques de toutes étiologies, y compris diabétique, en modifiant les propriétés électriques de la membrane, participant ainsi à la genèse de décharges ectopiques. Ces canaux sont d'ailleurs la cible de molécules (antidépresseurs tricycliques, antiépileptiques, anesthésiques locaux...) dont l'efficacité dans le traitement des douleurs neuropathiques est établie.

Implication des récepteurs TRP

L'hypersensibilité thermique observée chez les animaux diabétiques [47] est probablement due à la sensibilisation des nocicepteurs cutanés associés aux fibres A δ et C. Un des acteurs de la sensibilité thermique est le récepteur TRPV1 (*Transient Receptor Potential Vanilloid* type 1), cloné en 1997 [13], majoritairement présent sur les fibres C, et en faible quantité sur les fibres A δ [35,46,49]. Le TRPV1

est un canal perméable au calcium activé par des températures supérieures ou égales à 43°C, par la capsaïcine (extraite du piment rouge), les protons (pH<5,9), les métabolites de l'acide arachidonique... ; il peut être sensibilisé par phosphorylation, par les prostaglandines, la bradykinine, le glutamate, l'histamine, la sérotonine, l'ATP ou encore le *Nerve Growth Factor* (NGF). Tout changement d'expression de TRPV1, associé à des modifications de transduction du signal intracellulaire, peut conduire à une activité neuronale spontanée induite par une température corporelle normale ; tel est le cas si le seuil de réponse de TRPV1 est abaissé en dessous de 38°C [6]. Pabbidi et al. [45] ont rapporté une augmentation de l'amplitude des courants TRPV1 induits par la capsaïcine chez des souris diabétiques hyperalgiques par rapport aux souris diabétiques hypoalgiques et contrôles. Le niveau d'expression des canaux TRPV1 dans les fibres A δ et C de souris diabétiques était accru chez celles présentant une hyperalgie thermique et diminuée chez les souris hypoalgiques. La même équipe a également montré que l'hypersensibilité thermique développée par des souris sauvages diabétiques est abolie lorsque le gène codant pour les canaux TRPV1 a été invalidé (souris TRPV1^{-/-}). Enfin, un traitement par un anticorps anti-TRPV1 bloque l'hyperalgie thermique de souris diabétiques [35]. Dans les conditions physiologiques, il a été montré que l'insuline module positivement l'activité et l'expression des canaux TRPV1, via protéine kinase C (PKC) [46]. Il est alors possible qu'une diminution brutale du taux d'insuline provoquée par la STZ soit responsable indirectement d'une diminution de l'activité des TRPV1, laquelle, par compensation, augmenterait l'expression de ces canaux. Ce phénomène pourrait expliquer l'hypersensibilité thermique apparaissant à la troisième semaine de diabète dans notre étude [47]. Une autre hypothèse, évoquée par Pabbidi [45], réside dans l'action directe qu'exercerait la STZ sur les neurones, impliquant la voie EOR-p38 MAPKinase, modifiant ainsi l'expression et la fonctionnalité des TRPV1. Un effet direct de la STZ sur l'expression et/ou la fonctionnalité des TRPV1 peut être exclu car nous avons montré que des animaux, qui ont reçu de la STZ mais n'ont pas développé d'hyperglycémie, n'ont pas présenté de troubles de la thermosensibilité (résultats non publiés).

Implication des canaux HCN

Décrits pour la première fois dans les cellules pacemaker du nœud sinusal cardiaque, les canaux HCN (*hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated cation*) sont à l'origine des courants *I_f* (funny) responsables de la dépolarisation diastolique spontanée [25]. Plus tard, les mêmes courants furent retrouvés dans les neurones et appelés *I_h* [33]. Les canaux HCN s'ouvrent quand la membrane est hyperpolarisée (-60 à -50 mV, c'est-à-dire au potentiel de repos) et génèrent un

courant cationique mixte Na⁺, K⁺. Leur cinétique d'activation est augmentée par les nucléotides cycliques (AMPc, GMPc). Quatre gènes codant pour des canaux HCN ont été identifiés (HCN1-4). Leur distribution montre qu'ils sont exprimés dans les neurones des GRD et la corne dorsale de la moelle épinière. Les plus abondants dans les neurones des GRD sont de type HCN1/2. Le courant *I_h* généré est de plus grande amplitude, plus rapide et plus fréquent dans les neurones de grand et moyen diamètre (type A) que dans les neurones de petit diamètre (type C). L'implication des courants *I_h* dans la physiopathologie de la douleur neuropathique a été rapportée pour la première fois en 2003 dans un modèle de douleur neuropathique d'étiologie traumatique (ligature des nerfs spinaux L5 et L6) [14] ; non seulement la proportion de neurones exprimant des courants *I_h* de forte densité est augmentée dans ce modèle, mais les propriétés d'activation voltage-dépendante du courant changent (un déplacement de +10 mV est observé). Les décharges spontanées anormales enregistrées au niveau du site de lésion et du GRD ont des patrons de décharges qui suggèrent fortement l'implication des courants « pacemakers ». Au-delà d'une modification de leurs propriétés électrophysiologiques, l'administration d'un bloqueur des canaux HCN, le ZD7288, supprime l'allodynie tactile dans ce modèle tout comme il réduit l'hypersensibilité mécanique chez le rat diabétique (trois semaines post-STZ) (résultats personnels), alors que l'ivabradine, bloqueur plus sélectif des canaux HCN, supprime l'allodynie au froid (test d'immersion de la queue à 15°C) dans un modèle de neuropathie toxique induite par l'oxaliplatine [23].

Ces éléments de physiopathologie périphérique obtenus chez le rat diabétique soulignent le rôle majeur joué par les canaux ioniques dans l'équilibre de la membrane neuronale et l'importance de toute modification des niveaux d'expression ou des seuils d'activation de ces canaux sur l'excitabilité des fibres sensitives et leurs effets délétères sur la nociception.

Modifications centrales

Implication des récepteurs NMDA

Les effets antalgiques in vivo de la dizocilpine, de la méman-tine ou du D-CPP, respectivement antagonistes non compétitifs (pour les deux premiers) et compétitif du récepteur NMDA, sur l'hypersensibilité mécanique chez le rat diabétique [15,18,41] sont retrouvés en clinique humaine avec la kétamine, mais au prix d'effets indésirables invalidants [20], compromettant leur utilisation clinique. La phosphorylation du récepteur NMDA serait en cause dans l'apparition de l'allodynie tactile, de l'hypersensibilité mécanique et thermique [52]. Notre équipe a par ailleurs montré l'importance de l'activation de certaines isoformes de MAPKinases

dans l'hypersensibilité douloureuse chez l'animal diabétique et la nécessité de l'activation du récepteur NMDA pour la phosphorylation de ces kinases [22] ouvrant de nouvelles perspectives pour une thérapie médicamenteuse plus ciblée, donc mieux tolérée, de la douleur neuropathique diabétique.

Altération des systèmes de modulation

Un des mécanismes physiopathologiques impliqué dans l'étiopathogénie de la douleur neuropathique diabétique est une désensibilisation aux effets antalgiques de la sérotonine, comme l'attestent (i) la quasi-inefficacité des inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS) en clinique humaine [27] et, (ii) les résultats obtenus chez le rat diabétique dans notre équipe montrant un dysfonctionnement du récepteur 5-HT_{2A} spinal impliqué dans l'effet antalgique de la sérotonine. Ces récepteurs ont la particularité d'être associés à des complexes multiprotéiques spécifiques, constitués en partie de protéines à domaines PDZ, lesquelles peuvent moduler la transduction du signal des récepteurs auxquels elles s'associent. Chez le rat diabétique, l'administration d'un peptide empêchant de manière compétitive l'interaction entre le récepteur 5-HT_{2A} et les protéines PDZ (stratégie « peptido-mimétique ») s'accompagne d'un effet antalgique et révèle l'activité de la fluoxétine, un ISRS [47].

La plupart des anomalies périphériques et centrales des voies de transmission et de contrôle de la nociception décrites chez le rat diabétique ont été retrouvées dans d'autres modèles de douleur neuropathique, notamment ceux obtenus par lésion nerveuse périphérique traumatique (constriction chronique [CCI] ou section d'un nerf spinal [SNL] chez le rat) soulignant l'absence de spécificité du modèle. Il serait en effet « réducteur » de vouloir associer un mécanisme physiopathologique à une étiologie : un même mécanisme pouvant être retrouvé dans des neuropathies d'étiologies différentes [3], une lésion donnée pouvant mettre en jeu plusieurs mécanismes.

Activité d'antalgiques de référence

Ligands de la sous-unité $\alpha_2\delta$ des canaux Ca_V

L'efficacité antalgique et antiallodynique de la prégabaline [65] et de la gabapentine [15] dont l'action repose sur leur liaison à la sous-unité $\alpha_2\delta-1$ du canal calcique voltage-dépendant de type $Ca_V2.X$ a été montrée dans de nombreux modèles de douleur neuropathique, dont celui du rat diabétique. L'augmentation des niveaux d'expression des ARNm codant pour les sous-unités $\alpha_2\delta$ des neurones de petit (fibres C) et de moyen (A δ) calibre chez le rat diabétique est connue depuis une dizaine d'années [66] et sous-tendrait le développement de l'hypersensibilité douloureuse.

Les bloqueurs des canaux Ca_V de type N ($Ca_V2.2$)

Le leconotide et le ziconotide, versions synthétiques des ω -conotoxines CVID et MVIIA produites par des mollusques marins, ont fait preuve d'une activité antalgique dose-dépendante après administration par voie intraveineuse dans le modèle de neuropathie diabétique sur un test d'hyperalgie thermique [38]. En revanche, seule la voie d'administration intrarachidienne du ziconotide est efficace chez le patient souffrant de douleurs chroniques intenses, soulignant les précautions et les difficultés de l'extrapolation des données expérimentales animales à la clinique humaine.

Les bloqueurs de canaux Na_V

Les canaux Na_V sont la cible de nombreux médicaments antalgiques. La lidocaïne topique (sous forme de patch), indiquée pour le traitement des douleurs neuropathiques post-zostériennes, est un des modulateurs de canaux sodiques les plus utilisés en thérapeutique. Son activité antalgique par voie systémique avait été rapportée dans le modèle de neuropathie diabétique [8,17]. De structure proche, la mexilétine a fait preuve d'une activité antiallodynique au cours des stades précoces du diabète expérimental (trois semaines), totalement abolie au-delà [65], suggérant un remaniement des canaux sodiques au décours du diabète.

Les antidépresseurs

Les données de la littérature relatives à l'effet antalgique des antidépresseurs dans les modèles animaux sont nombreuses et hétérogènes. Nous avons récemment souligné l'intérêt d'utiliser des protocoles d'administration proches de ceux utilisés en clinique (administrations répétées toutes les demi-vies) pour l'évaluation des effets des antidépresseurs [63]. Ainsi, nous avons mis en évidence un profil d'activité différent du milnacipran (IRSN) selon l'étiologie de la neuropathie, et proposé des critères de choix des antidépresseurs à spectre monoaminergique mixte fondés sur leur mécanisme opioïdérique, un tel mécanisme serait prédictif d'une efficacité modeste, quelle que soit l'étiologie de la neuropathie [63]. D'autres travaux fondamentaux, fondés sur des études comparatives du mécanisme d'action des antidépresseurs selon l'étiologie et la symptomatologie de la douleur neuropathique chez l'animal modèle, sont nécessaires avant d'initier des essais cliniques visant à vérifier si les profils sémiologiques de patients répondeurs ou non-répondeurs à tel ou tel antidépresseur peuvent être considérés comme des critères de choix, source de personnalisation des traitements et donc de meilleure efficacité.

Malgré l'absence relative de spécificité physiopathologique du modèle diabétique, les travaux pharmacologiques ont mis en évidence des profils d'activité particuliers

d'antalgiques réputés efficaces dans ce contexte douloureux et permis de proposer des recommandations pour améliorer la relevance clinique du modèle.

Conclusion

Dès lors que l'on considère que la prédictibilité d'un modèle fait référence à sa symptomatologie et à sa sensibilité aux traitements antalgiques reconnus efficaces dans un contexte douloureux donné, le modèle expérimental de neuropathie diabétique induite par la STZ peut être considéré comme prédictif, tout en gardant à l'esprit que la douleur spontanée n'a jamais été quantifiée dans ce modèle, probablement par manque d'outils comportementaux adaptés. Une amélioration de sa pertinence clinique est encore nécessaire et pourrait provenir d'une standardisation des procédures portant sur le choix de l'animal (souche, âge, sexe, élevage), la chronicité du trouble, la mesure de la douleur (tests opérants et non opérants) [50], ou encore sur les modalités d'utilisation des outils pharmacologiques. En conclusion, ce modèle n'a pas la prétention de reproduire la neuropathie diabétique telle qu'elle se développe chez l'homme, mais de s'en approcher selon le « principe de similarité » rappelé par Bennett [4]. Cette revue de la littérature réaffirme la nécessité d'une collaboration entre la clinique et la recherche préclinique afin d'augmenter, au bénéfice du progrès pharmacologique, la pertinence des travaux réalisés chez l'animal modèle.

Conflit d'intérêt : les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt.

Références

- No authors listed] (1993) The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med* 329:977–86
- Authier N, Gillet JP, Fialip J, et al (2003) A new animal model of vincristine-induced nociceptive peripheral neuropathy. *Neurotoxicology* 24:797–805
- Baron R, Binder A, Wasner G (2010) Neuropathic pain: diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment. *Lancet Neurol* 9:807–19
- Bennett GJ (2010) The logic in animal models. In: *Pain 2010-An Updated Review: refresher Course Syllabus*. IASP Press, Seattle International association for the Study of Pain. Editor: Jeffrey S. Mogil, 87–107
- Bennett GJ, Xie YK (1988) A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 33:87–107
- Biggs JE, Yates JM, Loescher AR, et al (2008) Effect of SB-750364, a specific TRPV1 receptor antagonist, on injury-induced ectopic discharge in the lingual nerve. *Neurosci Lett* 443:41–5
- Bouhassira D, Lanteri-Minet M, Attal N, et al (2008) Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population. *Pain* 136:380–7
- Calcutt NA, Jorge MC, Yaksh TL, et al (1996) Tactile allodynia and formalin hyperalgesia in streptozotocin-diabetic rats: effects of insulin, aldose reductase inhibition and lidocaine. *Pain* 68:293–9
- Calcutt NA, Cooper ME, Kern TS, et al (2009) Therapies for hyperglycaemia-induced diabetic complications: from animal models to clinical trials. *Nat Rev Drug Discov* 8:417–29
- Cameron NE, Cotter MA, Maxfield EK (1993) Anti-oxidant treatment prevents the development of peripheral nerve dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia* 36:299–304
- Cameron NE, Cotter MA, Archibald V, et al (1994) Anti-oxidant and pro-oxidant effects on nerve conduction velocity, endoneurial blood flow and oxygen tension in non-diabetic and streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia* 37:449–59
- Cao YQ (2006) Voltage-gated calcium channels and pain. *Pain* 126:5–9
- Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, et al (1997) The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 389:816–24
- Chaplan SR, Guo HQ, Lee DH, et al (2003) Neuronal hyperpolarization-activated pacemaker channels drive neuropathic pain. *J Neurosci* 23:1169–78
- Chen SR, Samoriski G, Pan HL (2009) Antinociceptive effects of chronic administration of uncompetitive NMDA receptor antagonists in a rat model of diabetic neuropathic pain. *Neuropharmacology* 57:121–6
- Courteix C, Eschalier A, Lavarenne J (1993) Streptozotocin-induced diabetic rats: behavioural evidence for a model of chronic pain. *Pain* 53:81–8
- Courteix C, Bardin M, Chantelauze C, et al (1994) Study of the sensitivity of the diabetes-induced pain model in rats to a range of analgesics. *Pain* 57:153–60
- Courteix C, Privat AM, Pelissier T, et al (2007) Agmatine induces antihyperalgesic effects in diabetic rats and a superadditive interaction with R(-)-3-(2-carboxypiperazine-4-yl)-propyl-1-phosphonic acid, a N-methyl-D-aspartate-receptor antagonist. *J Pharmacol Exp Ther* 322:1237–45
- Craner MJ, Klein JP, Renganathan M, et al (2002) Changes of sodium channel expression in experimental painful diabetic neuropathy. *Ann Neurol* 52:786–92
- Cvrcek P (2008) Side effects of ketamine in the long-term treatment of neuropathic pain. *Pain Med* 9:253–7
- Daousi C, MacFarlane IA, Woodward A, et al (2004) Chronic painful peripheral neuropathy in an urban community: a controlled comparison of people with and without diabetes. *Diabet Med* 21:976–82
- Daulhac L, Mallet C, Courteix C, et al (2006) Diabetes-induced mechanical hyperalgesia involves spinal mitogen-activated protein kinase activation in neurons and microglia via N-methyl-D-aspartate-dependent mechanisms. *Mol Pharmacol* 70:1246–54
- Descocœur J, Pereira V, Pizzoccaro A, et al (2011) Oxaliplatin-induced cold hypersensitivity is due to remodelling of ion channel expression in nociceptors. *EMBO Mol Med* 3:266–78
- Dickenson AH, Bee LA (2010) Neurobiological mechanisms of neuropathic pain and its treatment. *27:271–82*
- DiFrancesco D (1993) Pacemaker mechanisms in cardiac tissue. *Annu Rev Physiol* 55:455–72
- Field MJ, McCleary S, Hughes J, et al (1999) Gabapentin and pregabalin, but not morphine and amitriptyline, block both static and dynamic components of mechanical allodynia induced by streptozotocin in the rat. *Pain* 80:391–8

27. Finnerup NB, Sindrup SH, Jensen TS (2010) Recent advances in pharmacological treatment of neuropathic pain. *F1000 Med Rep* 2:52
28. Gold MS, Chessell IP, Devor M, et al (2006) Peripheral nervous system targets: rapporteur report. In: *Emerging Strategies for the Treatment of Neuropathic Pain*. IASP Press, Seattle. International association for the Study of Pain. Editors: James N. Campbell, Allan I. Basbaum, André Dray, Robert Dubner, Robert H. Dworkin, Christine N. Sang 3-36
29. Guy RJ, Clark CA, Malcolm PN, et al (1985) Evaluation of thermal and vibration sensation in diabetic neuropathy. *Diabetologia* 28:131-7
30. Halawa MR, Karawagh A, Zeidan A, et al (2010) Prevalence of painful diabetic peripheral neuropathy among patients suffering from diabetes mellitus in Saudi Arabia. *Curr Med Res Opin* 26:337-43
31. Hong S, Morrow TJ, Paulson PE, et al (2004) Early painful diabetic neuropathy is associated with differential changes in tetrodotoxin-sensitive and -resistant sodium channels in dorsal root ganglion neurons in the rat. *J Biol Chem* 279:29341-50
32. Jagodic MM, Pathirathna S, Nelson MT, et al (2007) Cell-specific alterations of T-type calcium current in painful diabetic neuropathy enhance excitability of sensory neurons. *J Neurosci* 27:3305-16
33. Jiang YQ, Sun Q, Tu HY, et al (2008) Characteristics of HCN channels and their participation in neuropathic pain. *Neurochem Res* 33:1979-89
34. Jolivald CG, Mizisin LM, Nelson A, et al (2009) B vitamins alleviate indices of neuropathic pain in diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 612:41-7
35. Kamei J, Zushida K, Morita K, et al (2001) Role of vanilloid VR1 receptor in thermal allodynia and hyperalgesia in diabetic mice. *Eur J Pharmacol* 422:83-6
36. Kennedy WR, Wendelschafer-Crabb G (1996) Utility of skin biopsy in diabetic neuropathy. *Semin Neurol* 16:163-71
37. Kim SH, Chung JM (1992) An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 50:355-63
38. Kolosov A, Goodchild CS, Cooke I (2010) CNSB004 (Leconotide) causes antihyperalgesia without side effects when given intravenously: a comparison with ziconotide in a rat model of diabetic neuropathic pain. *Pain Med* 11:262-73
39. Leiter EH, von Herrath M (2004) Animal models have little to teach us about type 1 diabetes: 2. In opposition to this proposal. *Diabetologia* 47:1657-60
40. Lenzen S (2008) The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 51:216-26
41. Malcangio M, Tomlinson DR (1998) A pharmacologic analysis of mechanical hyperalgesia in streptozotocin diabetic rats. *Pain* 76:151-7
42. Messenger RB, Naik AK, Jagodic MM, et al (2009) In vivo silencing of the Ca(V)3.2 T-type calcium channels in sensory neurons alleviates hyperalgesia in rats with streptozotocin-induced diabetic neuropathy. *Pain* 145:184-95
43. Mizisin AP, Nelson RW, Sturges BK, et al (2007) Comparable myelinated nerve pathology in feline and human diabetes mellitus. *Acta Neuropathol* 113:431-42
44. Moqrich A, Hwang SW, Earley TJ, et al (2005) Impaired thermosensation in mice lacking TRPV3, a heat and camphor sensor in the skin. *Science* 307:1468-72
45. Pabbidi RM, Cao DS, Parihar A, et al (2008) Direct role of streptozotocin in inducing thermal hyperalgesia by enhanced expression of transient receptor potential vanilloid 1 in sensory neurons. *Mol Pharmacol* 73:995-1004
46. Pabbidi RM, Yu SQ, Peng S, et al (2008) Influence of TRPV1 on diabetes-induced alterations in thermal pain sensitivity. *Mol Pain* 4:9
47. Pichon X, Wattiez AS, Becamel C, et al (2010) Disrupting 5-HT(2A) receptor/PDZ protein interactions reduces hyperalgesia and enhances SSRI efficacy in neuropathic pain. *Mol Ther* 18:1462-70
48. Purves T, Middlemas A, Agthong S, et al (2001) A role for mitogen-activated protein kinases in the etiology of diabetic neuropathy. *FASEB J* 15:2508-14
49. Rashid MH, Inoue M, Bakoshi S, et al (2003) Increased expression of vanilloid receptor 1 on myelinated primary afferent neurons contributes to the antihyperalgesic effect of capsaicin cream in diabetic neuropathic pain in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 306:709-17
50. Rice AS (2010) Predicting analgesic efficacy from animal models of peripheral neuropathy and nerve injury: a critical view from the clinic. In: *Pain 2010-An Updated Review : refresher Course Syllabus*. IASP Press, Seattle International association for the Study of Pain. Jeffrey S. Mogil Eds 415-26
51. Roep BO, Atkinson M, von Herrath M (2004) Satisfaction (not) guaranteed: re-evaluating the use of animal models of type 1 diabetes. *Nat Rev Immunol* 4:989-97
52. Rondon L, Privat AM, Daulhac L, et al (2010) Mg attenuates chronic hypersensitivity and spinal cord NMDA receptor phosphorylation in a rat model of diabetic neuropathic pain. *J Physiol* 588:4205-15
53. Sadosky A, McDermott AM, Brandenburg NA, et al (2008) A review of the epidemiology of painful diabetic peripheral neuropathy, postherpetic neuralgia, and less commonly studied neuropathic pain conditions. *Pain Pract* 8:45-56
54. Said G (2007) Diabetic neuropathy--a review. *Nat Clin Pract Neurol* 3:331-40
55. Seltzer Z, Dubner R, Shir Y (1990) A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain* 43:205-18
56. Szkudelski T (2001) The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res* 50:537-46
57. Taylor RS (2006) Epidemiology of refractory neuropathic pain. *Pain Pract* 6:22-6
58. Tomlinson DR, Gardiner NJ (2008) Glucose neurotoxicity. *Nat Rev Neurosci* 9:36-45
59. Treede RD, Jensen TS, Campbell JN, et al (2007) Neuropathic pain. Redefinition and a grading system for clinical and research purposes. *Neurology* 70:1630-5
60. Van Steenwinkel J, Brisorgueil MJ, Fischer J, et al (2007) Role of spinal serotonin 5-HT2A receptor in 2',3'-dideoxycytidine-induced neuropathic pain in the rat and the mouse. *Pain* 137:66-80
61. Vos BP, Strassman AM, Maciewicz RJ (1994) Behavioral evidence of trigeminal neuropathic pain following chronic constriction injury to the rat's infraorbital nerve. *J Neurosci* 14:2708-23
62. Walker D, Carrington A, Cannan SA, et al (1999) Structural abnormalities do not explain the early functional abnormalities in the peripheral nerves of the streptozotocin diabetic rat. *J Anat* 195:419-27
63. Wattiez AS, Libert F, Privat AM, et al (2011) Evidence for a differential opioidergic involvement in the analgesic effect of antidepressants: prediction for efficacy in animal models of neuropathic pain? *Br J Pharmacol* 163:792-803
64. Wu EQ, Borton J, Said G, et al (2007) Estimated prevalence of peripheral neuropathy and associated pain in adults with diabetes in France. *Curr Med Res Opin* 23:2035-42
65. Yamamoto H, Shimoshige Y, Yamaji T, et al (2009) Pharmacological characterization of standard analgesics on mechanical allodynia in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neuropharmacology* 57:403-8
66. Yusaf SP, Goodman J, Gonzalez IM, et al (2001) Streptozotocin-induced neuropathy is associated with altered expression of voltage-gated calcium channel subunit mRNAs in rat dorsal root ganglion neurones. *Biochem Biophys Res Commun* 289:402-6