

Récepteurs GABA_B et sensibilisation douloureuse

Marc Landry et Frédéric Nagy

Université Bordeaux 2, INSERM U862, 146 rue Léo Saignat, 33077 Bordeaux Cedex, France

Auteur correspondant : Marc Landry, marc.landry@biocell.u-bordeaux2.fr

Reçu le 19 janvier 2009

Résumé – Les récepteurs au GABA de type GABA_B appartiennent à la famille des récepteurs métabotropiques de classe C. Ce sont des récepteurs inhibiteurs formant des hétérodimères obligatoires. Leur rôle analgésique dans les cornes dorsales de la moelle épinière est connu depuis plus de 25 ans. Toutefois, le Baclofen, agoniste de référence du GABA_B, s'avère peu efficace en clinique chez des patients neuropathiques. Il apparaît donc nécessaire de préciser les fonctions du GABA_B dans la circuiterie nociceptive, et leur régulation en conditions de douleurs chroniques. Dans cette revue, nous préciserons d'abord la distribution des deux sous-types du récepteur GABA_B. Puis, nous envisagerons leurs fonctions pré- et post-synaptiques dans les cornes dorsales de la moelle de rats naïfs. Nous nous intéresserons enfin aux mécanismes qui pourraient conduire à un dysfonctionnement de ce récepteur en conditions neuropathiques.

Mots clés : Récepteurs GABA_B / sensibilisation

Abstract – GABA_B receptors and sensitization to pain.

The GABA_B receptors belong to the family of class C metabotropic receptors. They are inhibitory receptors forming obligatory heterodimers. Their analgesic role in the dorsal horn of the spinal cord is well established since more than 25 years ago. However, Baclofen, the reference agonist of the GABA_B receptor, proved to have little efficiency in clinics in neuropathic patients. It seems therefore useful to decipher GABA_B functions in the nociceptive circuitry, and their regulation in conditions of chronic pain. In the present review, we will focus first on the distribution of the GABA_B subtypes. Then, we will consider their pre- and post-synaptic functions in the dorsal horn of naïve rats. Finally, we will document the mechanisms that may lead to receptor impairment in neuropathic conditions.

Key words: GABA_B receptors / sensibilization

Introduction

Les récepteurs couplés aux protéines G (RCPGs) constituent une vaste famille de protéines membranaires responsables de la transduction d'une large variété de signaux. Les messages intracellulaires qui en découlent sont initiés par l'activation de protéines G hétérotrimériques. La mise en jeu des RCPGs est impliquée dans la régulation de nombreux processus physiologiques et pathologiques; ils représentent la cible du quart des médicaments actuellement disponibles dans la lutte contre la douleur (Overington *et al.*, 2006).

Une analyse évolutive a permis d'identifier cinq classes principales de RCPGs (Bockaert & Pin, 1999). Les récepteurs GABA_B appartiennent à la classe C des RCPGs. Celle-ci comprend également les mGluRs, les récepteurs sensibles au calcium qui transduisent les goûts sucré et 'umami' (goût glutamate), ainsi que plusieurs récepteurs aux phéromones et récepteurs orphelins (Brauner-Osborne *et al.*, 2007).

Les RCPGs de classe C possèdent trois particularités remarquables qui contribuent à leur régulation et à leurs fonctions. La première caractéristique structurale de ces récepteurs (excepté les récepteurs aux

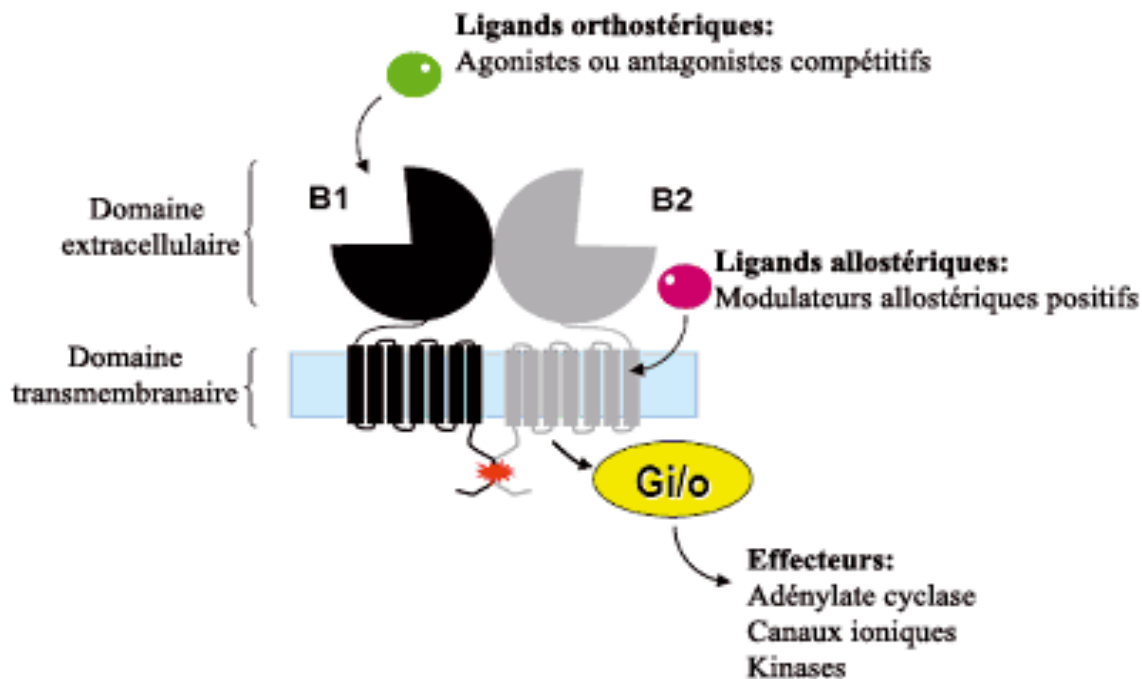


Fig. 1. Structure des récepteurs $GABA_B$. Les récepteurs $GABA_B$ sont des hétérodimères obligatoires constitués de deux sous-unités $GABA_{B1}$ (B1) et $GABA_{B2}$ (B2). Chaque sous-unité est composée d'un domaine extracellulaire et d'un domaine transmembranaire. Les deux isoformes de la sous-unité B1 diffèrent par la présence de deux domaines extracellulaires de type « *sushi* » sur le variant d'épissage B1a. La sous-unité B1 est responsable de la reconnaissance du GABA et des autres ligands orthostériques. B1 ne peut cependant pas activer les protéines G, ni atteindre la surface lorsqu'elle est exprimée seule en raison de l'existence d'un site RSR de rétention du côté C-terminal. La sous-unité B2 ne peut pas lier le GABA mais permet l'expression de l'hétérodimère à la surface cellulaire en masquant le signal de rétention. De plus, B2 est responsable de l'activation des protéines G. Par ailleurs, les modulateurs allostériques positifs, capables d'augmenter l'activité du récepteur, se lient au domaine transmembranaire de B2.

phéromones) est la présence d'un large domaine extracellulaire bilobé qui fixe les ligands. Ce domaine extracellulaire est associé à un domaine transmembranaire composé de sept hélices, commun à tous les RCPGs et responsable du couplage aux protéines G. Le domaine bilobé joue un rôle important en spécifiant les caractéristiques pharmacologiques de ces récepteurs (Pin *et al.*, 2004a).

Une deuxième caractéristique est l'existence de modulateurs allostériques qui représentent une nouvelle classe de ligands des RCPGs de classe C, identifiée à la fin des années 90. Ces modulateurs peuvent être positifs ou négatifs, selon qu'ils favorisent ou inhibent l'activité des RCPGs induite par les agonistes. Au contraire des composés orthostériques qui se fixent sur le site de liaison des ligands naturels, les modulateurs allostériques ciblent les domaines transmembranaires (Fig. 1), stabilisant ou inhibant leur conformation active (Goudet *et al.*, 2004). Alors que le site de liaison des ligands endogènes a été soumis à une intense pression évolutive et demeure hautement conservé, les sites de fixation des modulateurs

allostériques sont beaucoup plus variables et devraient conduire à la découverte de ligands sélectifs des différents sous-types de récepteurs. Ces modulateurs sont dépourvus d'activité propre et ne peuvent réguler un système que lorsqu'il est activé. En conséquence, les modulateurs devraient présenter des effets secondaires réduits et devraient conduire à une moindre désensibilisation que les agonistes. Ils représentent donc des outils thérapeutiques potentiellement très prometteurs (Goudet *et al.*, 2004; Kew, 2004), et les compagnies pharmaceutiques développent actuellement des programmes de screening de ces composés.

La dernière caractéristique spécifique des RCPGs de classe C est leur structure dimérique (Fig. 1) (Goudet *et al.*, 2005; Hlavackova *et al.*, 2005; Kniazeff *et al.*, 2004; Pin *et al.*, 2004b). Les mGluRs sont des homodimères stabilisés par un pont disulfure dans les domaines extracellulaires. Malgré leur nature homodimérique, ils fonctionnent cependant de manière asymétrique, c'est-à-dire que les deux sous-unités du dimère assurent des fonctions différentes (Goudet *et al.*, 2005; Hlavackova *et al.*, 2005; Kniazeff

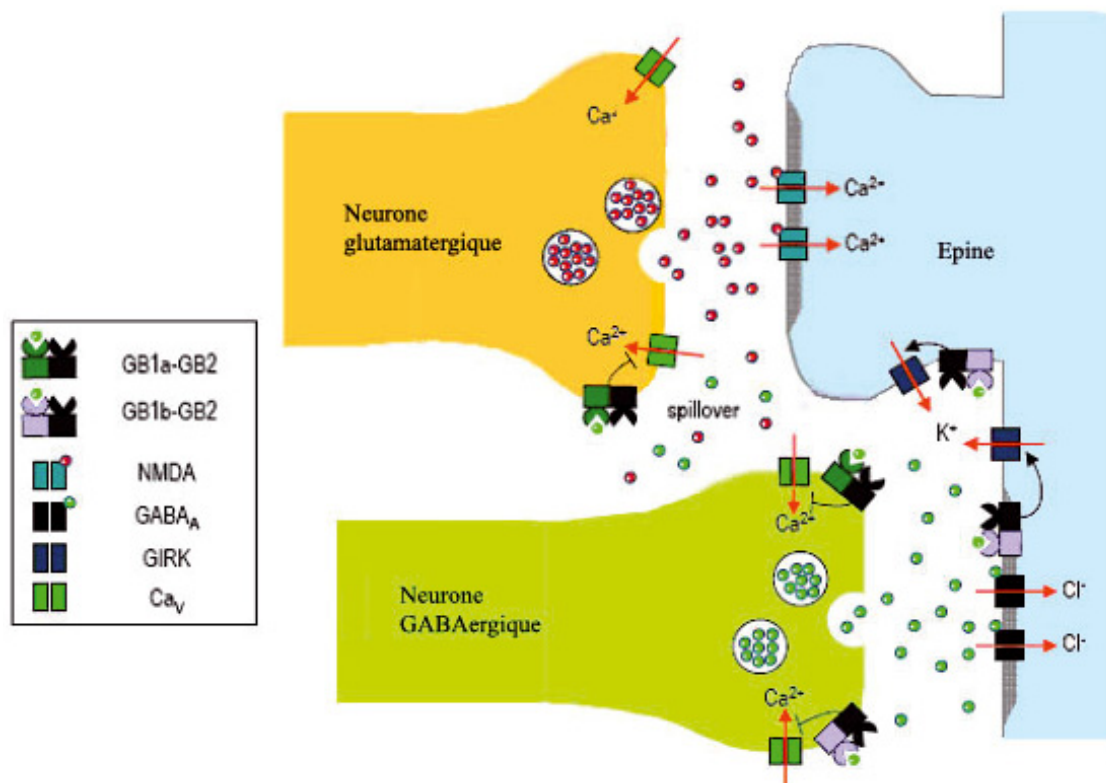


Fig. 2. Localisation synaptique des récepteurs GABA_B. Les hétérodimères B1a-B2 et B1b-B2 sont coexprimés dans les terminaisons GABAergiques du cerveau où ils modulent la libération de GABA en inhibant les canaux calciques voltage-dépendants. Les hétérorécepteurs GABA_B existent aussi dans les terminaisons glutamatergiques (ainsi que d'autres terminaisons). B1a-B2 est préférentiellement associé aux terminaisons glutamatergiques. Les récepteurs GABA_B postsynaptiques (comprenant le variant B1b) inhibent l'activité neuronale en ouvrant des canaux potassiques. Les hétérodimères B1a-B2 et B1b-B2 se trouvent également sur le corps des dendrites et à la base des épines.

et al., 2004). Les récepteurs GABA_B (Fig. 1) sont au contraire hétérodimériques. Ils comprennent deux sous-unités nommées GABA_{B1} (B1) et GABA_{B2} (B2). B1 est responsable de la liaison du ligand, alors que B2 assure le couplage aux protéines G (Duthey *et al.*, 2002; Havlickova *et al.*, 2002; Kniazeff *et al.*, 2002). La sous-unité B1 est incapable d'atteindre la surface cellulaire par elle-même et doit obligatoirement s'associer à la sous-unité B2. Cette association se fait dans le réticulum endoplasmique et masque le signal de rétention présent sur l'extrémité C-terminale, intracellulaire de B1. L'hétérodimère ainsi formé est ensuite adressé à la membrane plasmique (Filippov *et al.*, 2000; Galvez *et al.*, 2001; Margeta-Mitrovic *et al.*, 2001a; Margeta-Mitrovic *et al.*, 2001b) où il constitue un récepteur fonctionnel (Brock *et al.*, 2005; Pin *et al.*, 2004a). La nature hétérodimérique du récepteur GABA_B est donc obligatoire à la fois pour son adressage à la membrane, et pour sa fonctionnalité.

La diversité des récepteurs GABA_B est accrue par l'existence de deux variants d'épissage de la sous-

unité B1, nommés B1a et B1b. Ceux-ci diffèrent par la présence d'une paire de domaines « sushi » à l'extrémité N-terminale, extracellulaire de B1a. Ces domaines « sushi » sont impliqués dans les interactions protéines-protéines. Ils pourraient ainsi spécifier des associations spécifiques de chacun des sous-types de récepteurs (B2/B1a et B2/B1b) avec des partenaires protéiques différents. Ils interviendraient également dans la localisation spécifique de ces sous-types et dans leurs fonctions sur la transmission synaptique ou l'excitabilité neuronale (Fig. 2) (Bettler & Tiao, 2006).

Quels que soient les sous-types de récepteurs GABA_B considérés, ceux-ci exercent leurs effets inhibiteurs à la fois aux niveaux pré- et post-synaptiques. En ce qui concerne leurs cibles intracellulaires, ils bloquent l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants, facilitent l'ouverture des canaux potassiques rectifiants-entrants, et diminuent l'activité de l'adénylyl cyclase. L'ensemble de ces effets conduit à une diminution de la transmission synaptique (Iyadomi *et al.*, 2000; Kangrga *et al.*, 1991), ou de

l'expression des propriétés membranaires d'amplification du rapport entrées/sorties (Derjean *et al.*, 2003).

Ainsi, nous envisagerons la distribution des récepteurs GABA_B dans les circuits nociceptifs spinaux, leur rôle dans la transmission nociceptive normale, et leur possible dysfonctionnement en conditions de douleurs pathologiques. Nous montrerons comment ce dysfonctionnement, en provoquant une désinhibition des voies nociceptives, pourrait participer aux mécanismes de sensibilisation douloureuse.

1 Les récepteurs GABA_B dans les circuits nociceptifs

L'acide γ -aminobutyrique (GABA) est le médiateur de la majorité des actions inhibitrices dans le système nerveux central et périphérique. Il est à ce titre impliqué dans le contrôle de la transmission nociceptive et dans l'intégration de cette information nociceptive, en particulier au niveau du premier relais spinal. Ces effets mettent en jeu des récepteurs ionotropiques GABA_A et les récepteurs métabotropiques GABA_B. La première mise en évidence du rôle des récepteurs GABA_B dans la modulation de la transmission nociceptive date du début des années 80. Un large éventail d'études précliniques a décrit comment le Baclofen, l'agoniste de référence du GABA_B, exerçait un effet antinociceptif dans des modèles de douleurs aiguës (Malcangio *et al.*, 1991) et dans certains cas de douleurs chroniques (Dirig & Yaksh, 1995; Patel *et al.*, 2001; Potes *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 1994). Toutefois, dans des modèles de douleurs chroniques chez le rat, les effets du Baclofen restent incomplets (Franck *et al.*, 2004; Gwak *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2007).

Ces effets du Baclofen s'exercent sur des récepteurs spinaux et supra-spinaux. La mise en jeu des récepteurs supra-spinaux provoque une inhibition des voies ascendantes adrénergiques et dopaminergiques et une facilitation des voies descendantes noradrénergiques (Sawynok, 1984).

Les effets antinociceptifs du Baclofen sont classiquement attribués à son action dans la moelle épinière, au niveau des terminaisons pré-synaptiques des fibres nociceptives afférentes (Price *et al.*, 1984). Celles-ci libèrent le neurotransmetteur Glutamate et le neuropeptide Substance P, deux médiateurs excitateurs responsables de l'activation des neurones post-synaptiques dans les couches superficielles de la corne dorsale de la moelle épinière. Au niveau de ces terminaisons, les récepteurs GABA_B provoquent l'inhibition de l'activité des canaux calciques voltage-dépendants à haut seuil (Bowery, 1993). Dans la substance gélatineuse de la corne dorsale, le Baclofen a un effet inhibiteur sur la libération de glutamate, plus marqué dans les fibres C que dans les

fibres A δ . Cette différence suggère une expression préférentielle dans les terminaisons des fibres C (Ataka *et al.*, 2000). Sur des tranches de moelle épinière, le Baclofen inhibe également la libération, après stimulation électrique, du CGRP (*Calcitonin Gene-related Peptide*) (Malcangio & Bowery, 1995). La diminution de l'excitabilité post-synaptique (Kangrga *et al.*, 1991) et la régulation des propriétés neuronales intrinsèques d'amplification (propriétés de plateau) (Derjean *et al.*, 2003) suggèrent en outre des sites d'action post-synaptiques pour le Baclofen. Les récepteurs GABA_B sont aussi impliqués dans les effets inhibiteurs d'autres neurotransmetteurs sur la transmission nociceptive glutamatergique. Ils modulent en effet les actions de l'acétylcholine *via* les récepteurs muscariniques, des endocannabinoïdes *via* les récepteurs CB1, de l'adénosine *via* les récepteurs A1, et l'activité des récepteurs mu aux opiacés (Chen & Pan, 2004; Naderi *et al.*, 2005; Suzuki *et al.*, 2005).

2 Localisation des récepteurs GABA_B

L'expression des sous-unités B1a, B1b, et B2 dans le cortex cérébral, le thalamus, les couches I-V des cornes dorsales de la moelle épinière (Charles *et al.*, 2001; Malcangio & Bowery, 1996; Price *et al.*, 1984), et les ganglions spinaux (Charles *et al.*, 2001; Engle *et al.*, 2006; Towers *et al.*, 2000) fournit le substrat anatomique des effets antinociceptifs du Baclofen. Les mécanismes d'action des différents sous-types de récepteurs GABA_B dans les circuits nociceptifs, ainsi que leur localisation cellulaire et subcellulaire, ont fait l'objet de nombreuses études récentes. En particulier, une série de travaux a permis de mettre en évidence la distribution différentielle des variants d'épissage B1a et B1b. Il est fréquent qu'un seul variant soit majoritairement exprimé dans certaines régions. Ainsi, l'expression de B1b dans le thalamus du rat et de l'Homme est plusieurs fois supérieure à celle de B1a (Bischoff *et al.*, 1999; Calver *et al.*, 2000). A l'inverse, plus de 90 % des ARNm B1 codent pour le variant B1a dans les soma des ganglions spinaux, à l'origine des fibres nociceptives de type C et A δ . Dans les couches superficielles des cornes dorsales, les deux variants sont exprimés à des niveaux comparables (Towers *et al.*, 2000). Ces résultats sont à rapprocher de données récentes qui suggèrent, dans plusieurs régions cérébrales, une distribution différentielle des variants B1a et B1b dans les compartiments pré- et post-synaptique.

B1a et B1B apparaissent associés respectivement avec des éléments pré- et post-synaptiques, dans le cervelet de l'Homme et du rat (Billinton *et al.*, 1999), dans l'hippocampe de rat, ainsi qu'au niveau des synapses glutamatergiques du noyau cochléaire chez le

rat (Lujan, 2007). Cette localisation subcellulaire a été étudiée en détail dans l'hippocampe de rat, et se caractérise par l'expression sélective de B1a sur les terminaisons glutamatergiques alors que les deux variants, B1a et B1b, sont présents sur les terminaisons GABAergiques (Bettler & Tiao, 2006; Kulik *et al.*, 2003; Ulrich & Bettler, 2007). En utilisant des ensembles de méthodes complémentaires, les auteurs ont montré que les hétérodimères contenant B1a contrôlent principalement la libération pré-synaptique de glutamate, les variants B1b participant, quant à eux, à l'inhibition post-synaptique (Fig. 2).

Il faut noter en outre que l'expression et la localisation subcellulaire de B1 sont plastiques dans le cervelet et peuvent être modulées au cours du développement. B1a est ainsi le variant d'épissage prédominant au cours de la période prénatale. Son expression diminue ensuite après la naissance et celle de B1b devient prédominante à P10 (Fritschy *et al.*, 1999). De plus, à la surface des cellules de Purkinje, les sous-unités B1 passent du tronc dendritique aux épines au cours de la différenciation. Ces changements de localisation accompagnent l'établissement et la maturation des synapses excitatrices (Lujan, 2007; Lujan & Shigemoto, 2006). L'existence de telles réorganisations dans la moelle épinière, et plus généralement, la réactivation de programmes ontogénétiques en réponse à une lésion nerveuse et à un état de douleur pathologique restent des questions ouvertes.

3 Rôles des récepteurs GABA_B dans la transmission nociceptive normale

L'interprétation classique des fonctions du récepteur GABA_B dans le contrôle de la transmission nociceptive repose sur son rôle pré-synaptique inhibiteur de la libération de glutamate par les fibres sensorielles afférentes (Bowery, 2006; Towers *et al.*, 2000).

Toutefois, plus récemment, le développement de modèles murins transgéniques, chez lesquels l'expression de B1 a été invalidée (Schuler *et al.*, 2001), a révélé la diversité des mécanismes par lesquels le GABA_B contribue au traitement et à l'intégration de l'information nociceptive.

Les premiers tests comportementaux sur ces modèles ont confirmé l'implication du système GABA_B dans la transmission nociceptive normale. Les seuils de sensibilité aiguë à la chaleur, évalués avec les tests de la plaque chauffante et du retrait de la queue, sont réduits chez les animaux *knock-out*. Ces mêmes animaux présentent également un seuil de retrait de la patte réduit en réponse aux stimulations mécaniques. Ainsi, l'activation du récepteur GABA_B semble contribuer à spécifier le seuil nociceptif en conditions normales.

D'autres modèles de souris génétiquement modifiées, chez lesquelles l'invalidation génique porte sélectivement sur les variants d'épissage B1a ou B1b, ont également été développés (Ulrich & Bettler, 2007). Ces modèles ont permis de préciser la localisation de ces variants, mais aussi leurs fonctions spécifiques à l'aide de méthodes morphologiques et électrophysiologiques. L'ensemble de ces études a mis en évidence des rôles spécifiques, et non redondants pour ces deux variants (Vigot *et al.*, 2006); ces travaux ont en outre confirmé la localisation pré-synaptique de B1a sur les terminaisons glutamatergiques dans le cerveau, et la localisation préférentiellement post-synaptique de B1b.

3.1 Fonctions variées dans les neurones périphériques

Les modèles *knock-out* pour B1 ont été récemment utilisés pour explorer la contribution de cette sous-unité aux processus périphériques qui contrôlent la transmission douloureuse (Magnaghi *et al.*, 2008). L'hyperalgésie thermique, mesurée avec un test plantaire, est augmentée chez les souris *knock-out*. À l'inverse, ces mêmes souris présentent une absence d'allodynie mécanique, et même un seuil plus élevé de sensibilité mécanique aux stimulations exercées par des soies de von Frey. Ces données démontrent des rôles spécifiques du récepteur GABA_B selon les processus douloureux considérés, et donc selon les mécanismes cellulaires mis en jeu (Magnaghi *et al.*, 2008). Plusieurs études morphologiques et morphométriques ont été réalisées dans le système nerveux périphérique afin d'élucider les mécanismes qui sous-tendent ces comportements douloureux chez les modèles *knock-out* pour B1. Ces souris possèdent un nombre élevé de fibres nociceptives faiblement myélinisées et de neurones de petit diamètre dans les ganglions spinaux (Magnaghi *et al.*, 2008).

Myélinisation des fibres nociceptives

Les mêmes auteurs avaient auparavant démontré la présence de récepteurs GABA_B dans les cellules de Schwann qui contrôlent la production de myéline et la prolifération cellulaire (Magnaghi *et al.*, 2004). Ces résultats renforcent l'hypothèse d'un contrôle, par le récepteur GABA_B, de la myélinisation périphérique et par conséquent, du nombre des fibres nociceptives myélinisées (Magnaghi, 2007). Des analyses neuropathologiques de la peau révèlent de plus que le nombre de fibres sensorielles non myélinisées, représentant essentiellement les fibres C, est normal chez les souris *knock-out* pour B1. Le marquage immunohistochimique des fibres périphériques pour certains neuropeptides (CGRP) ou neurofilaments spécifiques

souligne enfin que ce sont principalement les fibres sensorielles de type A δ qui sont augmentées chez ces souris *knock-out*.

En conséquence, les altérations du système nerveux périphérique des souris *knock-out* pour B1 semblent plutôt dépendre d'une augmentation des fibres A δ plutôt que des fibres C. En conditions normales, l'activation du GABA_B pourrait limiter la prolifération de ces fibres faiblement myélinisées dans le système nerveux périphérique. La suppression de ce contrôle inhibiteur chez les animaux *knock-out* contribuerait alors au phénotype douloureux observé.

L'interprétation de ces résultats doit toutefois tenir compte d'une possible interaction des récepteurs GABA_A et GABA_B dans le contrôle GABAergique de la physiologie des cellules de Schwann. En effet, les récepteurs GABA_A sont exprimés par les cellules de Schwann. Ils participent également à la régulation de la production de myéline mais présentent des effets opposés à ceux du GABA_B (Magnaghi, 2007). Une hypothèse similaire, concernant l'interaction physique entre les récepteurs GABA_A et GABA_B, a été avancée pour expliquer la diminution du pouvoir antinociceptif du Baclofen chez des souris invalidées pour la sous-unité $\beta 3$ du récepteur GABA_A.

Prolifération des neurones sensoriels nociceptifs

Dans les ganglions spinaux lombaires, où sont localisés les soma des neurones sensoriels établissant des synapses dans les couches I-IV de la corne dorsale, des études en microscopie électronique ont montré un accroissement du nombre de petits neurones (Magnaghi *et al.*, 2008). Il est généralement admis que ces petits neurones sensoriels, possédant des axones faiblement myélinisés, donnent naissance aux fibres de type A δ (Ruscheweyh *et al.*, 2007).

Les récepteurs GABA_B périphériques seraient donc susceptibles de contrôler le nombre de fibres nociceptives de type A δ en limitant à la fois la prolifération des neurones nociceptifs et la myélinisation de leur axone.

Libération présynaptique

Chez les souris transgéniques *knock-out* pour la sous-unité B1, le système nerveux périphérique présente non seulement des altérations de la gaine de myéline ou du nombre des neurones, mais aussi des modifications affectant l'activité même des neurones périphériques (Magnaghi *et al.*, 2008). Ainsi, dans un modèle de neuropathie diabétique caractérisé par une démyélinisation périphérique et une douleur neuropathique, la réduction du nombre ou de l'efficacité des récepteurs GABA_B présynaptiques provoque l'augmentation de la transmission glutamatergique des fibres sensorielles primaires aux neurones de la corne dorsale (Wang *et al.*, 2007).

3.2 Contrôle post-synaptique de l'activité neuronale

Si le GABA_B joue un rôle dans le compartiment présynaptique, en contrôlant la prolifération des neurones sensoriels, ou leurs capacités à libérer le glutamate, des travaux récents, en particulier ceux de notre laboratoire, insistent également sur son action post-synaptique au niveau de la moelle épinière. D'une manière générale, les récepteurs contenant le variant B1b sont responsables d'effets post-synaptiques dans des neurones somatosensoriels où ces dimères B2/B1b induisent spécifiquement une inhibition à long terme des influx calciques dendritiques post-synaptiques (Perez-Garci *et al.*, 2006).

L'implication des canaux calciques dans le contrôle de l'activité neuronale médiée par le GABA_B a été particulièrement documentée dans la moelle épinière. Les récepteurs GABA_B post-synaptiques y modulent en effet l'expression des propriétés intrinsèques de décharge des neurones spinaux, leur permettant de basculer d'un mode de décharge tonique, à un mode de décharge en plateau ou à une activité endogène en bouffées. En ce qui concerne leur signification physiologique, ces propriétés contrôlent l'équilibre entre trois états métastables qui dépendent de l'activité des canaux calciques de type L et sont modulées par la mise en jeu des récepteurs metabotropiques GABA_B ou mGluR. Nous avons ainsi montré que la mise en jeu de ces propriétés s'avère capable de modifier le transfert d'informations vers les neurones de la corne dorsale (Derjean *et al.*, 2003). Les récepteurs GABA_B exercent une inhibition basale tonique qui s'oppose à un tonus excitateur médié par les récepteurs mGluR du groupe I. Ces effets antagonistes résultent en un équilibre dynamique des influences inhibitrices et excitatrices sur les neurones des cornes dorsales (Derjean *et al.*, 2003). À la fois les récepteurs GABA_B et mGluR modulent ces propriétés endogènes en régulant des canaux potassiques rectifiants-entrants de type Kir. De plus, les récepteurs GABA_B modifient directement l'influx de calcium à travers les canaux calciques de type L ainsi que notre groupe l'a démontré sur des corps cellulaires isolés de corne dorsale (Voisin & Nagy, 2001). Ces canaux calciques de type L sont responsables de l'expression de propriétés de plateau, un mécanisme intrinsèque d'amplification des relations entrées/sorties qui affecte les neurones spinaux et pourrait jouer un rôle dans l'exagération de l'information relayée vers les centres supra-spinaux (Morisset & Nagy, 1999). Quels que soient les mécanismes impliqués, les récepteurs GABA_B modulent les propriétés endogènes de membrane exprimées par les neurones spinaux et contribuent à la complexité de la transmission nociceptive et du relais de l'information des fibres afférentes vers ces neurones de projection.

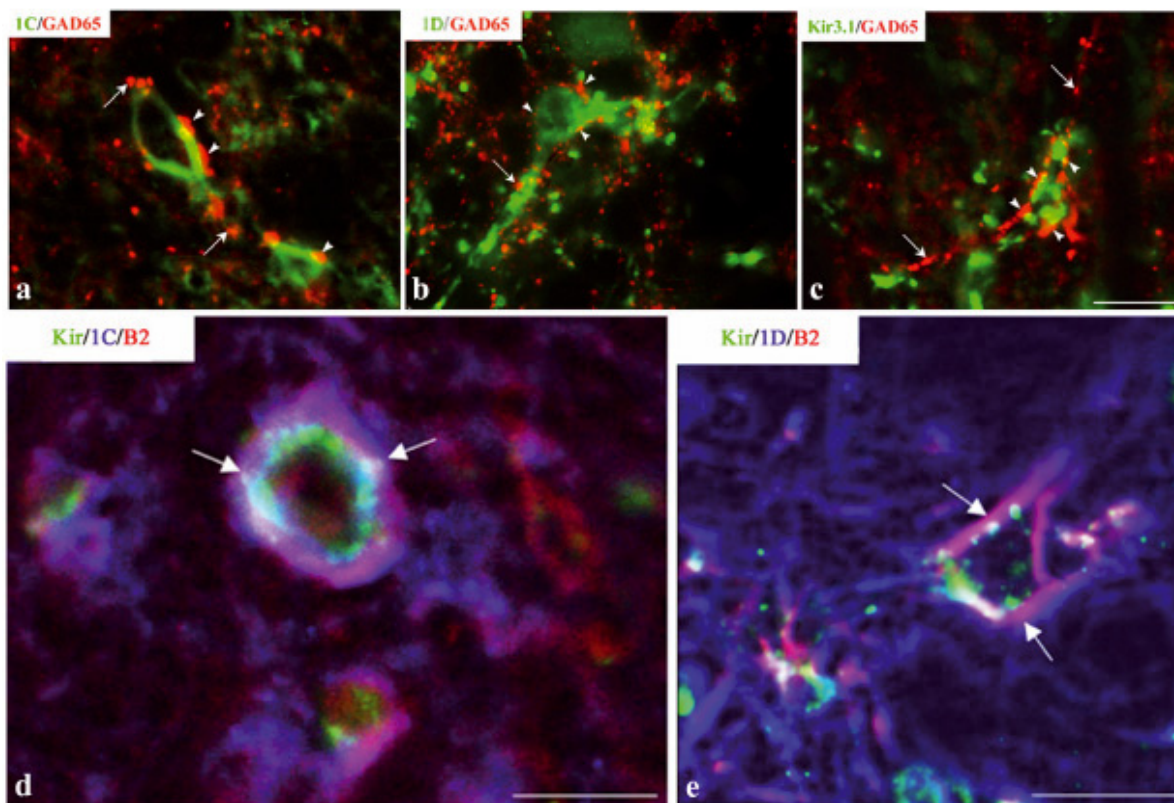


Fig. 3. Analyse immunohistochimique des contacts GABA/GABA_B dans les neurones spinaux de la corne dorsale de la moelle épinière. Des fibres contenant de la GAD65, l'enzyme de synthèse du GABA, forment des appositions sur le soma (têtes de flèches, a-c) et les dendrites proximales (flèches, a-c) des neurones spinaux qui expriment aussi les cibles intracellulaires du récepteur GABA_B, canaux potassiques de type Kir3 (a) ainsi que les sous-unités alpha 1 des canaux calciques de type L (alpha 1C en b, alpha 1D en c). À la membrane plasmique, les soma des neurones spinaux coexpriment B2 (rouge), et ses cibles intracellulaires, les canaux Kir (vert) et la sous-unité alpha 1C (bleue en d) ou alpha 1D (bleue en e) des canaux calciques de type L. Barres : 20 μ m.

En ce qui concerne les mécanismes, il a été récemment montré que l'internalisation et le trafic d'un autre type de canal calcique, les canaux de type N, dépendent également de l'activation des récepteurs GABA_B (Tomblar *et al.*, 2006). Il est donc envisageable que les récepteurs GABA_B inhibent l'expression des propriétés intrinsèques de membrane en réduisant le nombre de canaux calciques présents à la membrane plasmique, limitant ainsi l'excitabilité neuronale. Les données anatomiques obtenues au laboratoire montrent que les cibles intracellulaires des récepteurs GABA_B post-synaptiques sont principalement localisées au niveau des corps cellulaires et des dendrites proximales qui reçoivent de nombreuses afférences GABAergiques (Fig. 3a-c). Ces résultats démontrent par ailleurs la colocalisation des récepteurs GABA_B, des canaux calciques de type L et des canaux potassiques de type Kir3 (Fig. 3d et e). Ils fournissent donc un support anatomique

à la signalisation post-synaptique médiée par les récepteurs GABA_B en direction des canaux ioniques localisés dans le compartiment somato-dendritique des neurones spinaux.

4 Désensibilisation et pertes de fonction des récepteurs GABA_B en conditions de douleurs chroniques

Les effets antinociceptifs du GABA_B les mieux documentés concernent l'inhibition du relargage des neurotransmetteurs à partir des afférences primaires (Ataka *et al.*, 2000; Bowery, 2006). Toutefois, comme nous l'avons décrit ci-dessus, des mécanismes post-synaptiques sont probablement aussi impliqués. Malgré ses propriétés analgésiques, l'utilisation du Baclofen reste malaisée en clinique en partie à

cause d'une rapide tolérance et des nombreux effets secondaires consécutifs à une administration systémique (Bowery, 2006). Même en cas d'injections intrathécales, l'efficacité du Baclofen demeure limitée (Becker *et al.*, 2000; Loubser & Akman, 1996).

4.1 Absence de désensibilisation par internalisation

La désensibilisation des récepteurs GABA_B pourrait expliquer ce manqué d'efficacité des agonistes. Toutefois, les processus de désensibilisation des récepteurs GABA_B apparaissent très complexes. De surcroît, les propriétés de désensibilisation des réponses GABA_B pré- et post-synaptiques sont très différentes (Bettler & Tiao, 2006). L'internalisation du récepteur GABA_B en réponse à l'action de ses agonistes demeure controversée. Dans des modèles neuronaux, le GABA_B ne présente que très peu, voire aucune, internalisation constitutive ou stimulée par un ligand (Fairfax *et al.*, 2004; Perroy *et al.*, 2003). Notre propre étude d'un modèle de co-culture organotypique de ganglion sensoriel et de moelle épinière a montré une internalisation des récepteurs post-synaptiques dépendante des clathrines, suivie par un rapide recyclage à la membrane (Laffray *et al.*, 2007).

4.2 Mécanismes de dysfonctionnement du récepteur GABA_B

Perte d'activité par dé-dimérisation

Toutefois, en conditions de stimulations chroniques, le récepteur pourrait ne pas rester pleinement fonctionnel en dépit du maintien de sa présence à la membrane, soulignant ainsi une absence de corrélation entre l'expression du récepteur et sa signalisation. Un autre ensemble de données complémentaires confirme ces différences entre le niveau d'expression des protéines constitutives du GABA_B et la mise en jeu des voies de signalisation intracellulaire. Ces résultats montrent l'existence de mécanismes non-génomiques à l'origine de dysfonctionnements du récepteur GABA_B (Sands *et al.*, 2003). Une approche de FRET/FLIM récemment développée par notre équipe illustre un mécanisme original de désensibilisation du récepteur GABA_B basé sur la dissociation de l'hétérodimère (Laffray *et al.*, 2007). Des études de liaison du GTPγS ont de plus montré que la réponse du GABA_B à son ligand endogène est altérée dans de telles conditions de stimulations chroniques. Ces résultats sont cohérents et s'accordent avec la mise en évidence d'une absence de signalisation dans des conditions où seuls des monomères sont insérés à la membrane plasmique (Engle *et al.*, 2006). Il est ainsi possible que la stimulation

chronique des afférences sensorielles primaires module l'oligomérisation du récepteur, ce qui représenterait alors un mécanisme supplémentaire et original capable de réguler la signalisation intracellulaire activée par le GABA_B dans les circuits nociceptifs spinaux. La mise en jeu d'un tel mécanisme en conditions douloureuses expliquerait les effets analgésiques limités du Baclofen (*cf.* ci-dessus) alors que cet agoniste est utilisé efficacement pour contrôler la spasticité musculaire dans les réseaux locomoteurs des patients atteints de lésions de la moelle épinière.

Altérations de la diffusion membranaire des récepteurs GABA_B

Des modifications de la mobilité membranaire latérale des différentes sous-unités constitutives des récepteurs GABA_B pourrait représenter un autre mécanisme non-génomique putatif de modulation de la signalisation GABA_B. Il a été démontré que l'extrémité C-terminale de la sous-unité B2 est impliquée dans le contrôle de cette diffusion membranaire (Pooler & McIlhinney, 2007). La restriction de cette diffusion confinerait le récepteur dans des compartiments membranaires spécifiques tels que les domaines membranaires enrichis en radeaux lipidiques. Il a été récemment proposé qu'un tel confinement favoriserait l'inhibition du récepteur (Bettler & Tiao, 2006). La diffusion latérale du récepteur pourrait aussi l'empêcher d'atteindre une localisation subcellulaire adéquate et de s'associer avec ses cibles intracellulaires.

Interactions possibles avec des protéines partenaires des récepteurs GABA_B

L'intervention des protéines associées au récepteur fournit un niveau additionnel de complexité dans la liste des mécanismes susceptibles de contrôler le trafic ou l'activation du récepteur GABA_B. Ces protéines pourraient en particulier augmenter la diversité des récepteurs *in vivo* en modifiant l'activité, la pharmacologie ou le trafic et l'ancrage membranaire des récepteurs. Ces modifications pourraient de plus s'avérer spécifiques des différents sous-types B1a/B1b, et/ou d'une localisation subcellulaire particulière.

Parmi les candidats possibles, il avait été démontré que les protéines 14-3-3, une famille de protéines chaperones, pouvaient s'associer avec la sous-unité B1 (Couve *et al.*, 2001). D'un point de vue fonctionnel, une première hypothèse stipulait que 14-3-3 entrerait en compétition avec les protéines du manteau de type COPI pour la liaison à l'extrémité C-ter de la sous-unité B1. Cette liaison pourrait dans ce cas réguler l'exportation hors du réticulum endoplasmique et/ou le recyclage de la sous-unité B1 (Bettler & Tiao, 2006).

Toutefois, des données récentes montrent que l'association entre B1 et 14-3-3 ne perturbe pas le trafic intracellulaire du récepteur (Brock *et al.*, 2005). De plus, dans la moelle épinière, les protéines 14-3-3 sont localisées en dehors du réticulum endoplasmique, en étroite association avec des domaines membranaires (Laffray *et al.*, données non publiées) qui pourraient être enrichis en radeaux lipidiques (Couve *et al.*, 2001). La signification fonctionnelle des interactions avec 14-3-3 reste donc encore problématique.

Un autre partenaire potentiel est la protéine de la matrice extracellulaire Fibuline-2, qui avait été identifiée *in vitro* par un test de double-hybride (Blein *et al.*, 2004). Un intérêt particulier de cette liaison est qu'elle serait spécifique des domaines dits « sushi » qui sont présents uniquement à l'extrémité N-ter de la sous-unité B1a. La fibuline 2 représenterait alors un partenaire spécifique du sous-type de récepteur B2/B1a. Toutefois, le rôle de la fibuline 2 en tant que régulateur du trafic membranaire, ou de l'activité d'un sous-type de récepteur GABA_B n'a pas encore été démontré. D'une manière générale, il faudrait montrer la pertinence physiologique de l'interaction du récepteur GABA_B avec des protéines partenaires dans un contexte de nociception.

En conclusion, le récepteur GABA_B présente une large diversité de mécanismes susceptibles de moduler la transmission nociceptive dans la moelle épinière. L'utilisation de souris invalidées pour la sous-unité B1 a mis en évidence la participation des récepteurs périphériques à la transmission douloureuse, et leur contribution aux phénotypes hyperalgiques. Au niveau central, les récepteurs GABA_B exercent des fonctions pré-synaptiques mais aussi un contrôle post-synaptique inhibiteur sur l'activité des neurones spinaux. En conditions de douleurs chroniques, les récepteurs GABA_B pourraient être désensibilisés et leur signalisation altérée par le biais d'interactions avec des protéines partenaires dont les conséquences physiologiques restent à élucider.

Références

- Ataka T., Kumamoto E., Shimoji K., Yoshimura M. Baclofen inhibits more effectively C-afferent than A-delta-afferent glutamatergic transmission in substantia gelatinosa neurons of adult rat spinal cord slices. *Pain*, 2000, 86, 273–282.
- Becker R., Uhle E.I., Alberti O., Bertalanffy H. Continuous intrathecal baclofen infusion in the management of central deafferentation pain. *J Pain Symptom Manage*, 2000, 20, 313–315.
- Bettler B., Tiao J.Y.H. Molecular diversity, trafficking and subcellular localization of GABA_B receptors. *Pharmacol Therap*, 2006, 110, 533–543.
- Billinton A., Upton N., Bowery N.G. GABA_B receptor isoforms GBR1a and GBR1b, appear to be associated with pre- and post-synaptic elements respectively in rat and human cerebellum. *Br J Pharmacol*, 1999, 126, 1387–1392.
- Bischoff S., Leonhard S., Reymann N., Schuler V., Shigemoto R., Kaupmann K., Bettler B. Spatial distribution of GABA(B)R1 receptor mRNA and binding sites in the rat brain. *J Comp Neurol*, 1999, 412, 1–16.
- Blein S., Ginham R., Uhrin D., Smith B.O., Soares D.C., Veltel S., McIlhinney R.A., White J.H., Barlow P.N. Structural analysis of the complement control protein (CCP) modules of GABA(B) receptor 1a: only one of the two CCP modules is compactly folded. *J Biol Chem*, 2004, 279, 48292–48306.
- Bockaert J., Pin J.P. Molecular tinkering of G protein-coupled receptors: an evolutionary success. *Embo J*, 1999, 18, 1723–1729.
- Bowery N.G. GABA_B receptor pharmacology. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1993, 33, 109–147.
- Bowery N.G. GABA_B receptor: a site of therapeutic benefit. *Curr Opin Pharmacol*, 2006, 6, 37–43.
- Brauner-Osborne H., Wellendorph P., Jensen A.A. Structure, pharmacology and therapeutic prospects of family C G-protein coupled receptors. *Curr Drug Targets*, 2007, 8, 169–184.
- Brock C., Boudier L., Maurel D., Blahos J., Pin J.P. Assembly-dependent Surface Targeting of the Heterodimeric GABA_B Receptor Is Controlled by COPI but Not 14-3-3. *Mol Biol Cell*, 2005, 16, 5572–5578.
- Calver A.R., Medhurst A.D., Robbins M.J., Charles K.J., Evans M.L., Harrison D.C., Stammers M., Hughes S.A., Hervieu G., Couve A., Moss S.J., Middlemiss D.N., Pangalos M.N. The expression of GABA(B1) and GABA(B2) receptor subunits in the CNS differs from that in peripheral tissues. *Neuroscience*, 2000, 100, 155–170.
- Charles K.J., Evans M.L., Robbins M.J., Calver A.R., Leslie R.A., Pangalos M.N. Comparative immunohistochemical localisation of GABA(B1a), GABA(B1b) and GABA(B2) subunits in rat brain, spinal cord and dorsal root ganglion. *Neuroscience*, 2001, 106, 447–467.
- Chen S.R., Pan H.L. Activation of muscarinic receptors inhibits spinal dorsal horn projection neurons: role of GABA_B receptors. *Neuroscience*, 2004, 125, 141–148.
- Couve A., Kittler J.T., Uren J.M., Calver A.R., Pangalos M.N., Walsh F.S., Moss S.J. Association of GABA(B) receptors and members of the 14-3-3 family of signaling proteins. *Mol Cell Neurosci*, 2001, 17, 317–328.
- Derjean D., Bertrand S., Le Masson G., Landry M., Morisset V., Nagy F. Dynamic balance of metabotropic inputs causes dorsal horn neurons to switch functional states. *Nat Neurosci*, 2003, 6, 274–281.
- Dirig D.M., Yaksh T.L. Intrathecal baclofen and muscimol, but not midazolam, are antinociceptive using the rat-formalin model. *J Pharmacol Exp Ther*, 1995, 275, 219–227.
- Duthey B., Caudron S., Perroy J., Bettler B., Fagni L., Pin J.P., Prezeau L. A single subunit (GB2) is required for

- G-protein activation by the heterodimeric GABA(B) receptor. *J Biol Chem*, 2002, 277, 3236–3241.
- Engle M.P., Gassman M., Sykes K.T., Bettler B., Hammond D.L. Spinal nerve ligation does not alter the expression or function of GABA(B) receptors in spinal cord and dorsal root ganglia of the rat. *Neuroscience*, 2006, 138, 1277–1287.
- Fairfax B.P., Pitcher J.A., Scott M.G., Calver A.R., Pangalos M.N., Moss S.J., Couve A. Phosphorylation and chronic agonist treatment atypically modulate GABA_B receptor cell surface stability. *J Biol Chem*, 2004, 279, 12565–12573.
- Filippov A.K., Couve A., Pangalos M.N., Walsh F.S., Brown D.A., Moss S.J. Heteromeric assembly of GABA(B)R1 and GABA(B)R2 receptor subunits inhibits Ca²⁺ current in sympathetic neurons. *J Neurosci*, 2000, 20, 2867–2874.
- Franek M., Vaculin S., Rokyta R. GABA(B) receptor agonist baclofen has non-specific antinociceptive effect in the model of peripheral neuropathy in the rat. *Physiol Res*, 2004, 53, 351–355.
- Fritschy J.M., Meskenaite V., Weinmann O., Honer M., Benke D., Mohler H. GABA_B-receptor splice variants GB1a and GB1b in rat brain : developmental regulation, cellular distribution and extrasynaptic localization. *Eur J Neurosci*, 1999, 11, 761–768.
- Galvez T., Duthey B., Kniazeff J., Blahos J., Rovelli G., Bettler B., Prezeau L., Pin J.P. Allosteric interactions between GB1 and GB2 subunits are required for optimal GABA(B) receptor function. *Embo J*, 2001, 20, 2152–2159.
- Goudet C., Gaven F., Kniazeff J., Vol C., Liu J., Cohen-Gonsaud M., Acher F., Prezeau L., Pin J.P. Heptahelical domain of metabotropic glutamate receptor 5 behaves like rhodopsin-like receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101, 378–383.
- Goudet C., Kniazeff J., Hlavackova V., Malhaire F., Maurel D., Acher F., Blahos J., Prezeau L., Pin J.P. Asymmetric functioning of dimeric metabotropic glutamate receptors disclosed by positive allosteric modulators. *J Biol Chem*, 2005, 280, 24380–24385.
- Gwak Y.S., Tan H.Y., Nam T.S., Paik K.S., Hulsebosch C.E., Leem J.W. Activation of Spinal GABA Receptors Attenuates Chronic Central Neuropathic Pain after Spinal Cord Injury. *J Neurotrauma*, 2006, 23, 1111–1124.
- Havlickova M., Prezeau L., Duthey B., Bettler B., Pin J.P., Blahos J. The intracellular loops of the GB2 subunit are crucial for G-protein coupling of the heteromeric gamma-aminobutyrate B receptor. *Mol Pharmacol*, 2002, 62, 343–350.
- Hlavackova V., Goudet C., Kniazeff J., Zikova A., Maurel D., Vol C., Trojanova J., Prezeau L., Pin J.P., Blahos J. Evidence for a single heptahelical domain being turned on upon activation of a dimeric GPCR. *Embo J*, 2005, 24, 499–509.
- Iyadomi M., Iyadomi I., Kumamoto E., Tomokuni K., Yoshimura M. Presynaptic inhibition by baclofen of miniature EPSCs and IPSCs in substantia gelatinosa neurons of the adult rat spinal dorsal horn. *Pain*, 2000, 85, 385–393.
- Kangrga I., Jiang M.C., Randic M. Actions of (-)-baclofen on rat dorsal horn neurons. *Brain Res*, 1991, 562, 265–275.
- Kew J.N. Positive and negative allosteric modulation of metabotropic glutamate receptors: emerging therapeutic potential. *Pharmacol Ther* 2004, 104, 233–244.
- Kniazeff J., Bessis A.S., Maurel D., Ansanay H., Prezeau L., Pin J.P. Closed state of both binding domains of homodimeric mGlu receptors is required for full activity. *Nat Struct Mol Biol*, 2004, 11, 706–713.
- Kniazeff J., Galvez T., Labesse G., Pin J.P. No ligand binding in the GB2 subunit of the GABA(B) receptor is required for activation and allosteric interaction between the subunits. *J Neurosci*, 2002, 22, 7352–7361.
- Kulik A., Vidal I., Lujan R., Haas C.A., Lopez-Bendito G., Shigemoto R., Frotscher M. Subcellular localization of metabotropic GABA_B receptor subunits GABA_{B1a/b} and GABA_{B2} in the rat hippocampus. *J Neurosci*, 2003, 23, 11026–11035.
- Laffray S., Tan K., Dulluc J., Bouali-Benazzouz R., Calver A.R., Nagy F., Landry M. Dissociation and trafficking of rat GABA_B receptor heterodimer upon capsaicin treatment. *Eur J Neurosci*, 2007, 25, 1402–1416.
- Loubser P.G., Akman N.M. Effects of intrathecal baclofen on chronic spinal cord injury pain. *J Pain Symptom Manage*, 1996, 12, 241–247.
- Lujan R. Subcellular regulation of metabotropic GABA receptors in the developing cerebellum. *The Cerebellum*, 2007, 6, 123–129.
- Lujan R., Shigemoto R. Localization of metabotropic GABA receptor subunits GABA_{B1} and GABA_{B2} relative to synaptic sites in the rat developing cerebellum. *Eur J Neurosci*, 2006, 23, 1479–1490.
- Magnaghi V. GABA and Neuroactive Steroid Interactions in Glia : New Roles for Old Players? *Curr Neuropharmacol*, 2007, 5, 47–64.
- Magnaghi V., Ballabio M., Camozzi F., Colleoni M., Consoli A., Gassmann M., Lauria G., Motta M., Procacci P., Trovato A.E., Bettler B. Altered peripheral myelination in mice lacking GABA_B receptors. *Mol Cell Neurosci*, 2008, 37, 599–609.
- Magnaghi V., Ballabio M., Cavarretta I.T., Froestl W., Lambert J.J., Zucchi I., Melcangi R.C. GABA_B receptors in Schwann cells influence proliferation and myelin protein expression. *Eur J Neurosci*, 2004, 19, 2641–2649.
- Malcangio M., Bowery N.G. Possible therapeutic application of GABA_B receptor agonists and antagonists. *Clin Neuropharmacol*, 1995, 18, 285–305.
- Malcangio M., Bowery N.G. GABA and its receptors in the spinal cord. *Trends Pharmacol Sci*, 1996, 17, 457–462.
- Malcangio M., Ghelardini C., Giotti A., Malmberg-Aiello P., Bartolini A. CGP 35348, a new GABA_B antagonist, prevents antinociception and muscle-relaxant effect induced by baclofen. *Br J Pharmacol*, 1991, 103, 1303–1308.
- Margeta-Mitrovic M., Jan Y.N., Jan L.Y. Function of GB1 and GB2 subunits in G protein coupling of GABA(B)

- receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001a, 98, 14649–14654.
- Margeta-Mitrovic M., Jan Y.N., Jan L.Y. Ligand-induced signal transduction within heterodimeric GABA(B) receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001b, 98, 14643–14648.
- Morisset V., Nagy F. Ionic basis for plateau potentials in deep dorsal horn neurons of the rat spinal cord. *J Neurosci*, 1999, 19, 7309–7316.
- Naderi N., Shafaghi B., Khodayar M.J., Zarindast M.R. Interaction between gamma-aminobutyric acid GABA_B and cannabinoid CB1 receptors in spinal pain pathways in rat. *Eur J Pharmacol*, 2005, 514, 159–164.
- Overington J.P., Al-Lazikani B., Hopkins A.L. How many drug targets are there? *Nat Rev Drug Discov*, 2006, 5, 993–996.
- Patel S., Naeem S., Kesingland A., Froestl W., Capogna M., Urban L., Fox A. The effects of GABA(B) agonists and gabapentin on mechanical hyperalgesia in models of neuropathic and inflammatory pain in the rat. *Pain*, 2001, 90, 217–226.
- Perez-Garci E., Gassmann M., Bettler B., Larkum M.E. The GABA_{B1b} isoform mediates long-lasting inhibition of dendritic Ca²⁺ spikes in layer 5 somatosensory pyramidal neurons. *Neuron*, 2006, 50, 603–616.
- Perroy J., Adam L., Qanbar R., Chenier S., Bouvier M. Phosphorylation-independent desensitization of GABA(B) receptor by GRK4. *Embo J*, 2003, 22, 3816–3824.
- Pin J.P., Kniazeff J., Binet V., Liu J., Maurel D., Galvez T., Duthey B., Havlickova M., Blahos J., Prezeau L., Rondard P. Activation mechanism of the heterodimeric GABA(B) receptor. *Biochem Pharmacol*, 2004a, 68, 1565–1572.
- Pin J.P., Kniazeff J., Goudet C., Bessis A.S., Liu J., Galvez T., Acher F., Rondard P., Prezeau L. The activation mechanism of class-C G-protein coupled receptors. *Biol Cell*, 2004b, 96, 335–342.
- Pooler A.M., McIlhinney R.A.J. Lateral diffusion of the GABA_B receptor is regulated by the GABA_{B2} C-Terminus. *J Biol Chem*, 2007, 282, 25349–25356.
- Potes C.S., Neto F.L., Castro-Lopes J.M. Inhibition of pain behavior by GABA(B) receptors in the thalamic ventrobasal complex : effect on normal rats subjected to the formalin test of nociception. *Brain Res*, 2006, 1115, 37–47.
- Price G.W., Wilkin G.P., Turnbull M.J., Bowery N.G. Are baclofen-sensitive GABA_B receptors present on primary afferent terminals of the spinal cord? *Nature*, 1984, 307, 71–74.
- Ruscheweyh R., Forsthuber L., Schoffnegger D., Sandkuhler J. Modification of classical neurochemical markers in identified primary afferent neurons with A-, Delta-, and C-fibers after chronic constriction injury in mice. *J Comp Neurol*, 2007, 502, 325–336.
- Sands S.A., McCarson K.E., Enna S.J. Differential regulation of GABA B receptor subunit expression and function. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 305, 191–196.
- Sawynok J. GABAergic mechanisms in antinociception. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 1984, 8, 581–586.
- Schuler V., Luscher C., Blanchet C., Klix N., Sansig G., Klebs K., Schmutz M., Heid J., Gentry C., Urban L., Fox A., Spooren W., Jatou A.L., Vigouret J., Pozza M., Kelly P.H., Mosbacher J., Froestl W., Kaslin E., Korn R., Bischoff S., Kaupmann K., van der Putten H., Bettler B. Epilepsy, hyperalgesia, impaired memory, and loss of pre- and postsynaptic GABA(B) responses in mice lacking GABA(B(1)). *Neuron*, 2001, 31, 47–58.
- Smith G.D., Harrison S.M., Birch P.J., Elliott P.J., Malcangio M., Bowery N.G. Increased sensitivity to the antinociceptive activity of (+/-)-baclofen in an animal model of chronic neuropathic, but not chronic inflammatory hyperalgesia. *Neuropharmacology*, 1994, 33, 1103–1108.
- Suzuki T., Nurrochmad A., Ozaki M., Khotib J., Nakamura A., Imai S., Shibasaki M., Yajima Y., Narita M. Effect of a selective GABA(B) receptor agonist baclofen on the mu-opioid receptor agonist-induced antinociceptive, emetic and rewarding effects. *Neuropharmacology*, 2005, 49, 1121–1131.
- Tombler E., Cabanilla N.J., Carman P., Pernaut N., Hall J.J., Richman R.W., Lee J.H., Rodriguez J., Felsenfeld D.P., Hennigan R.F., Diversé-Pierluissi M.A. G protein-induced trafficking of voltage-dependent calcium channels. *J Biol Chem*, 2006, 281, 1827–1839.
- Towers S., Princivalle A., Billinton A., Edmunds M., Bettler B., Urban L., Castro-Lopes J., Bowery N.G. GABA_B receptor protein and mRNA distribution in rat spinal cord and dorsal root ganglia. *Eur J Neurosci*, 2000, 12, 3201–3210.
- Ulrich D., Bettler B. GABA_B receptors: synaptic functions and mechanisms of diversity. *Curr Opin Neurobiol*, 2007, 17, 1–6.
- Vigot R., Barbieri S., Brauner-Osborne H., Turecek R., Shigemoto R., Zhang Y.P., Lujan R., Jacobson L.H., Biermann B., Fritschy J.M., Vacher C.M., Muller M., Sansig G., Guetg N., Cryan J.F., Kaupmann K., Gassmann M., Oertner T.G., Bettler B. Differential compartmentalization and distinct functions of GABA_B receptor variants. *Neuron*, 2006, 50, 589–601.
- Voisin D.L., Nagy F. Sustained L-type calcium currents in dissociated deep dorsal horn neurons of the rat : characteristics and modulation. *Neuroscience*, 2001, 102, 461–472.
- Wang X.L., Zhang H.M., Chen S.R., Pan H.L. Altered synaptic input and GABA_B receptor function in spinal superficial dorsal horn neurons in rats with diabetic neuropathy. *J Physiol*, 2007, 579(Pt 3), 849–861.