

Calpain as a new therapeutic target for treating spasticity after a spinal cord injury.

Vanessa Plantier, Frédéric Brocard

▶ **To cite this version:**

Vanessa Plantier, Frédéric Brocard. Calpain as a new therapeutic target for treating spasticity after a spinal cord injury.. Médecine/Sciences, 2017, 33 (6–7), pp.629 - 636. 10.1051/medsci/20173306020 . hal-01791117

HAL Id: hal-01791117
https://amu.hal.science/hal-01791117

Submitted on 14 May 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

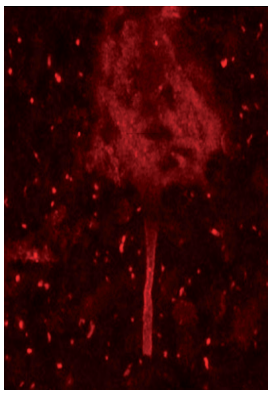
L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

médecine/sciences 2017 ; 33 : 629-36

Une nouvelle cible thérapeutique dans le traitement de la spasticité après une lésion de la moelle épinière : la calpaïne

Vanessa Plantier, Frédéric Brocard

> À la suite d'un traumatisme de la moelle épinière, la plupart des patients développent une exagération du tonus musculaire appelée spasticité, qui aboutit souvent à une incapacité motrice. Dans cette revue, nous résumerons les principaux mécanismes physiopathologiques de la spasticité qui découlent d'une lésion médullaire puis décrirons l'apport de nos récents travaux identifiant une protéase, la calpaïne, comme le promoteur de ces mécanismes physiopathologiques. Cette découverte ouvre de nouvelles pistes thérapeutiques dans le traitement de la spasticité. <



Équipe P3M, Institut de Neurosciences de la Timone, UMR7289, Aix Marseille Université et Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Marseille, France.
frederic.brocard@univ-amu.fr

Le fonctionnement du système nerveux repose sur un équilibre entre l'activité des neurones excitateurs et celle des neurones inhibiteurs. Cette balance excitation/inhibition permet une régulation fine des différentes actions de notre corps (respiration, mastication, locomotion, etc.). Elle permet notamment une coordination de nos mouvements locomoteurs qui repose sur une alternance des contractions entre les muscles fléchisseurs et extenseurs lors de la marche. Après une lésion de la moelle épinière, un déséquilibre de la balance excitation/inhibition perturbe la coordination locomotrice en raison d'une exagération du tonus musculaire (hypertonie) et de co-contractions des muscles fléchisseurs et extenseurs. Ces troubles moteurs, qui s'apparentent à de la *spasticité*, émergent chez la plupart (environ 75 %) des personnes présentant une lésion de la moelle épinière, plusieurs mois après le traumatisme [1]. Dans cette revue, nous résumerons les principaux mécanismes physiopathologiques de la spasticité qui découlent d'une lésion médullaire, puis décrirons l'apport de nos récents travaux identifiant la calpaïne, une protéase intracellulaire, comme le promoteur de ces mécanismes physiopathologiques.

Qu'est-ce que la spasticité ?

La spasticité est un désordre moteur fréquent chez les patients atteints d'une lésion de la moelle épinière (75 %) [1], d'une lésion cérébrale (30 à 70 %) [2] ou d'une maladie neurodégénérative telle que la sclérose en plaque (85 %) [3]. En raison de ses nombreuses étiologies, nous ne disposons pas d'estimation fiable de l'incidence mondiale de la spasticité, mais on évalue à environ 12 millions le nombre de personnes atteintes. La première définition de la spasticité provient des travaux de Lance en 1980, qui la décrit comme « un désordre moteur caractérisé par une augmentation vitesse-dépendante du réflexe d'étirement (hypertonie musculaire), qui est associée à l'hyperexcitabilité de l'arc réflexe myotatique... » [4]. Concrètement, l'étirement d'un muscle lors d'une mobilisation passive de l'articulation provoque une contraction réflexe (voir plus loin « l'arc réflexe myotatique ») qui s'opposera au mouvement, et dont l'exagération définit la spasticité. Cette résistance au mouvement sera proportionnelle à la vitesse de mobilisation de l'articulation. Cependant, le tableau clinique de la spasticité est bien plus large que la définition de Lance [5]. Elle s'accompagne de troubles variés, associés à la pluralité des atteintes lésionnelles. Par exemple, l'hypertonie permanente (dystonie) peut apparaître en l'absence de tout étirement et modifie les propriétés viscoélastiques du muscle en le rendant moins extensible (raideur). À plus long terme, des raccourcissements musculo-tendineux (rétractions musculaires) déforment les articulations *(Figure 1a)*. Il n'est pas rare que la spasticité s'accompagne de clonies (des contractions brèves et répétées du muscle) et de spasmes (des contractions involontaires transitoires du muscle) qui peuvent survenir spontanément ou en réponse à une stimulation

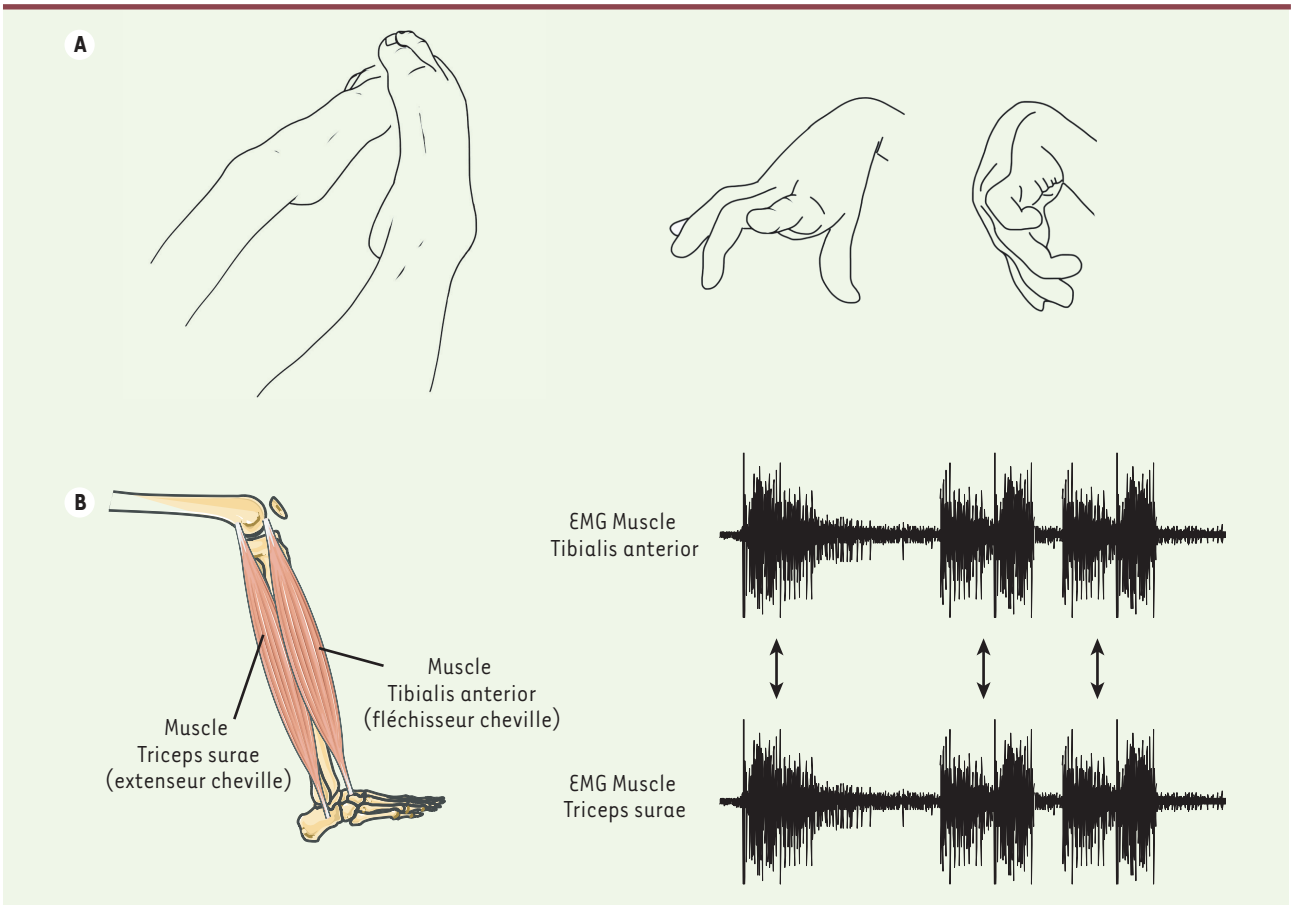


Figure 1. ***Les signes cliniques de la spasticité. A.*** Déformations de l'articulation de la cheville et du poignet chez des patients souffrant de spasticité chronique (© Joel Sadoun). ***B.*** Électromyogrammes (EMG) de muscles du membre inférieur (le *Tibialis* antérieur et le *Triceps surae*, respectivement fléchisseur et extenseur de la cheville) illustrant le phénomène de co-contractions (double flèche) des muscles antagonistes lors de spasmes enregistrés chez un patient médullo-lésé.

sensorielle. Les spasmes se manifestent par des co-contractions de muscles fonctionnellement opposées *(Figure 1b)*, rendant tout mouvement volontaire difficile. De tels spasmes musculaires peuvent également être évoqués dans des modèles expérimentaux de rats [6] ou de souris [7] médullo-lésés.

La spasticité a donc des conséquences importantes sur la qualité de vie, puisqu'elle réduit significativement la mobilité, les soins corporels, le sommeil, la fonction sexuelle, et l'estime de soi [8]. En raison d'une méconnaissance des mécanismes qui en sont responsables, le traitement n'est que symptomatique et repose essentiellement sur l'utilisation de myorelaxants (dantrolène, baclofène, toxine botulique, etc.) dont les effets secondaires restent nombreux (somnolence, vertiges, etc.) [9]. La découverte d'un nouveau traitement plus efficace reste aujourd'hui une nécessité clinique.

Les mécanismes physiopathologiques

L'arc réflexe myotatique

Le réflexe myotatique, encore nommé réflexe de Hoffmann, est la contraction d'un muscle en réponse à son propre étirement. Lors de l'étirement, l'activation des fuseaux neuromusculaires génèrent une décharge des fibres sensorielles Ia[1] transmise monosynaptiquement[2] aux motoneurones α[3] innervant le muscle étiré *(Figure 2a, voie bleue)*. Les motoneurones activés transmettront une commande motrice à l'origine d'une libération d'acétylcholine dans la jonction neuromusculaire générant une contraction du muscle qui s'opposera à son étirement initial *(Figure 2a, voie rouge)*. Lors du fonctionnement normal, ce réflexe est important dans le maintien du tonus postural. L'hyperexcitabilité de ce réflexe est à la base de l'hypertonie qui caractérise la spasticité.

[1] Les fibres sensitives Ia sont de gros calibre et à conduction rapide (80 à 120 m/s). Les fibre Ib sont de plus petit calibre et à conduction nerveuse moins rapide (35 à 75 m/s).

[2] Un circuit nerveux monosynaptique est un circuit qui ne comporte que deux neurones séparés par une synapse.

[3] Un motoneurone, ou neurone moteur, est une cellule nerveuse qui est directement connectée à un muscle et commande sa contraction. Il existe trois types de motoneurones : les alpha qui innervent les fibres musculaires responsables de la contraction, les gamma qui innervent les fuseaux neuromusculaires et les bêta qui innervent les deux types de fibres.

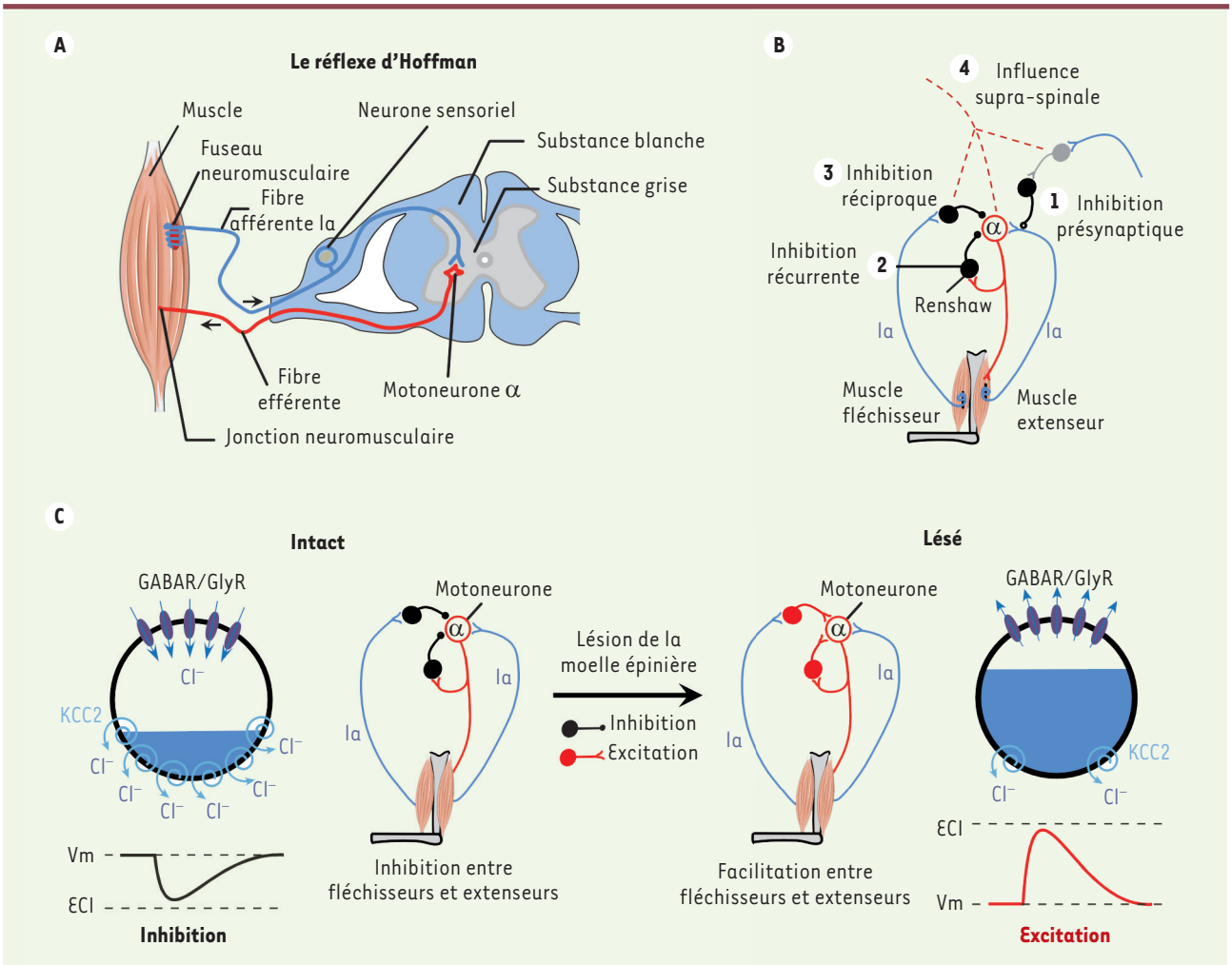


Figure 2. ***La désinhibition post-lésionnelle liée à la baisse du co-transporteur KCC2. A.*** Schéma de l'arc reflexe myotatique. Les fibres sensorielles Ia activées par les fuseaux neuromusculaires recrutent monosynaptiquement les motoneurones dans la moelle épinière, qui vont libérer l'acétylcholine dans la jonction neuromusculaire pour générer une contraction du muscle. ***B.*** Le motoneurone α est au centre de plusieurs inhibitions qui régulent son activité : l'inhibition présynaptique ①, l'inhibition récurrente ②, l'inhibition réciproque ③ et l'inhibition due aux centres supérieurs ④. ***C.*** Le comportement inhibiteur du GABA et de la glycine est sous le contrôle du gradient en ions chlorures (Cl^-) entre le milieu extracellulaire et intracellulaire. Dans des conditions normales, la concentration intracellulaire de ces ions est basse grâce à la présence du co-transporteur KCC2 à la membrane des neurones. KCC2 est responsable d'une sortie des ions Cl^-. Les neurotransmetteurs inhibiteurs (GABA et glycine) engendrent alors une entrée d'ions Cl^-, qui génèrent une inhibition en déplaçant le potentiel de membrane (Vm) vers un potentiel d'équilibre au chlorure (ECl) hyperpolarisé. Après une lésion de la moelle épinière, l'expression de KCC2 diminue à la membrane des motoneurones. La conséquence fonctionnelle est une augmentation de la concentration en ions Cl^-, qui modifie le gradient électrochimique de ces ions plaçant ECl au-dessus de Vm. Le GABA et la glycine engendrent alors une sortie de Cl^- et deviennent dépolarisants. Les circuits inhibiteurs (noir) deviennent alors facilitateurs (rouge) après un traumatisme de la moelle épinière. GABA : acide gamma-aminobutyrique ; KCC2 : *K-Cl co-transporter 2*.

La désinhibition de l'arc réflexe myotatique

Des circuits polysynaptiques mettent en jeu des interneurones inhibiteurs pour moduler le réflexe myotatique à différents niveaux *(Figure 2b)*. Des interneurones inhibiteurs de nature GABAergique (sensibles à l'acide gamma-aminobutyrique ou GABA) projettent sur les terminaisons synaptiques des fibres sensorielles Ia [10]. Cette inhibition dite « présynaptique » réduit la libération de neurotransmetteurs excitateurs des terminaisons Ia afin d'éviter l'emballement du réflexe myotatique *(Figure 2b, ①)*. De même, chaque motoneurone s'auto-inhibe grâce à un circuit d'inhibition récurrente [11]. Ainsi, l'axone du motoneurone émet une collatérale qui s'articule avec un interneurone inhibiteur nommé « Renshaw », qui, en retour, inhibe le motoneurone par une boucle de rétroaction négative *(Figure 2b, ②)*. Enfin, le principe de l'inhibition réciproque s'applique de manière à ce que la contraction

d'un muscle s'accompagne du relâchement du muscle antagoniste [12]. Ainsi, les fibres sensorielles Ia d'un muscle inhibent les motoneurones du muscle antagoniste par l'intermédiaire d'interneurones inhibiteurs *(Figure 2b, ③)*. En dehors du contrôle segmentaire du réflexe myotatique, un contrôle inhibiteur s'exerce aussi par les centres supérieurs du système nerveux *(Figure 2b, ④)* [13].

L'émergence de la spasticité à la suite d'un traumatisme médullaire ne relève pas d'une simple perte de l'inhibition en provenance des centres supérieurs. En effet, l'apparition de la spasticité post-lésionnelle n'est pas immédiate mais progressive, s'étalant sur plusieurs semaines. Une baisse progressive de l'inhibition présynaptique est corrélée à l'émergence de la spasticité de patients [14] ou de rats médullo-lésés [15]. Une réduction de l'inhibition réciproque est également décrite chez de nombreux patients [16] et pourrait rendre compte des phénomènes de co-contractions musculaires. Le contrôle inhibiteur du réflexe monosynaptique est donc fortement réduit après une lésion médullaire et il contribue au développement de la spasticité.

La désinhibition post-lésionnelle liée à la baisse du co-transporteur KCC2

Les principaux neurotransmetteurs de la moelle épinière que sont le GABA et la glycine agissent sur des récepteurs membranaires perméables aux ions chlore (Cl^-) et bicarbonate ($HCO3^-$). L'action inhibitrice du GABA et de la glycine dépend essentiellement du gradient électrochimique des ions Cl^-. Dans des conditions normales, la concentration intracellulaire de ces ions est maintenue basse grâce à la présence du co-transporteur KCC2 (*K-Cl co-transporter 2*) à la membrane des neurones qui expulse l'ion de la cellule *(Figure 2c)* [17]. En raison de leur faible concentration intracellulaire, les ions Cl^- entrent dans le neurone lors de l'ouverture des récepteurs $GABA_A$[4] et glycine[5], et génèrent une hyperpolarisation du potentiel de membrane et donc une inhibition du neurone *(Figure 2c)*. Après une lésion de la moelle épinière, l'expression et la fonctionnalité de KCC2 sont fortement altérées [18, 19] (➜) *(Figure 2c)*. Il s'ensuit, au niveau des neurones, une augmentation de la concentration intracellulaire des ions Cl^- rendant l'action inhibitrice du GABA et de la glycine moins efficace [20, 21] *(Figure 2c)*. La levée de l'inhibition de la moelle épinière sous-lésionnelle en lien avec une perturbation de l'homéostasie des ions Cl^- contribue ainsi au développement de la spasticité [18-21]. Notons cependant que l'altération de l'inhibition présynaptique observée après une lésion de la moelle épinière ne peut être en lien avec une altération de KCC2 puisque les fibres afférences Ia en sont dépourvues.

(➜) Voir la Nouvelle de P. Boulenguez *et al.*, *m/s* n° 1, janvier 2011, page 7

L'hyperexcitabilité des motoneurones sous-lésionnels liée à l'augmentation du courant sodique persistant

L'élément central du réflexe myotatique est le motoneurone. Durant de nombreuses années, le motoneurone était considéré comme un élément passif du système nerveux central, relayant avec fidélité et de façon linéaire les entrées synaptiques qu'il recevait. En fait, son rôle est bien plus complexe. Le motoneurone possède la propriété de décharge non-linéaire nommée « potentiel de plateau » [22]. Cette propriété, intrinsèque au motoneurone, se manifeste par l'émission continue de potentiels d'action à la suite d'une brève dépolarisation *(Figure 3a et 3b)*. Nous avions démontré antérieurement que le courant sodique persistant (I_{NaP}), largement exprimé au sein du réseau locomoteur [23-26], est essentiel dans cette décharge en plateau [22]. Ce courant augmente considérablement à la suite d'une lésion de la moelle épinière *(Figure 3c)* et contribue à l'hyperexcitabilité motoneuronale en favorisant l'émergence des potentiels de plateau de très longue durée [27] *(Figure 3d)*. Le blocage pharmacologique de I_{NaP} avec le riluzole *(Figure 3c)* fait disparaître les potentiels de plateau des motoneurones [22] *(Figure 3d)*. Ainsi, l'augmentation de I_{NaP} associée à la désinhibition de la moelle sous-lésionnelle prédispose les motoneurones à générer des décharges en plateau, de longue durée, à l'origine des spasmes musculaires chez l'animal [6, 27] ou l'homme médullo-lésés [28].

En définitive, l'augmentation de I_{NaP} associée à une baisse de KCC2, responsable de l'hyperexcitabilité motoneuronale, est un acteur de la spasticité. Jusqu'à récemment, l'origine de ces mécanismes physiopathologiques était inconnue.

Les calpaïnes, promoteurs des mécanismes physiopathologiques de la spasticité

Les calpaïnes s'activent à la suite d'une lésion de la moelle épinière

Les calpaïnes sont des protéases intracellulaires à cystéine découvertes par Guroff en 1964 [29]. On dénombre actuellement 16 calpaïnes, dont la μ-calpaïne et la m-calpaïne qui sont les plus représentées chez les mammifères [30]. Le calcium active toutes les calpaïnes, mais leur sensibilité à l'ion divalent diffère. Ainsi, l'activation de la μ-calpaïne nécessite des concentrations calciques de l'ordre du micromolaire, alors que la m-calpaïne est activée par des concentrations proches du millimolaire [30]. Plus d'une centaine de protéines cibles des calpaïnes ont été identifiées [30] dont un grand nombre possède une séquence d'acides aminés PEST (proline, glutamine, sérine et thréonine) [31]. En raison d'une grande diversité de leurs substrats, les calpaïnes sont impliquées dans de nombreux processus biologiques tels que la mobilité cellulaire, la régulation de l'activité neuronale ou la mort neuronale [32].

[4] Il existe deux grands types de récepteurs GABAergiques : le récepteur $GABA_A$ et le récepteur $GABA_B$. Le récepteur $GABA_A$ est un membre de la famille des récepteurs-canaux ioniques. Le récepteur $GABA_B$ est un récepteur métabotropique associé à une protéine G.

[5] Couplé à un canal ionique, le récepteur de la glycine contrôle le passage des ions chlorures (Cl^-).

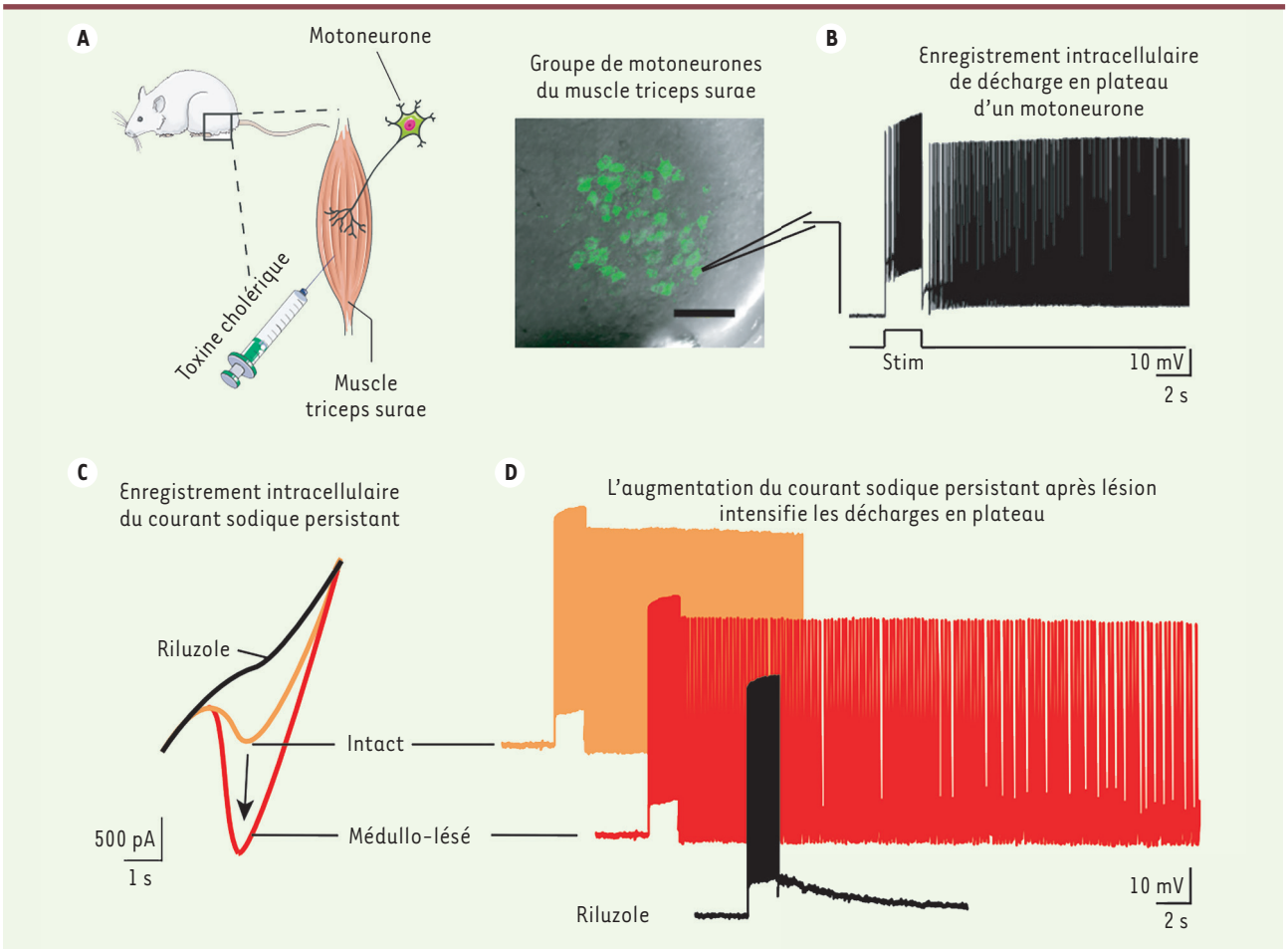


Figure 3. ***L'hyperexcitabilité des motoneurones sous-lésionnels est liée à l'augmentation du courant sodique persistant. A.*** Visualisation en microscopie confocale des motoneurones innervant le muscle triceps du rat et marqués de façon rétrograde par l'injection par voie intramusculaire de la toxine cholérique couplée à une sonde fluorescente de couleur verte. Les motoneurones infectés sont identifiés dans la moelle épinière (barre d'échelle : 100 µm). ***B.*** Les enregistrements intracellulaires montrent l'expression d'un potentiel de plateau (décharge continue) évoqué par une brève stimulation (stim) dans ces motoneurones. ***C.*** Enregistrement intracellulaire du courant sodique persistant (I_{NaP}) en réponse à une rampe de voltage chez un animal intact, médullo-lésé et après application de riluzole (5 µM). ***D.*** Le blocage de I_{NaP} par le riluzole abolit les potentiels de plateau au niveau des motoneurones (***A***, ***B*** et ***D*** sont adaptés de [22])

L'expression des calpaïnes est considérablement accrue dans les heures qui suivent une lésion de la moelle épinière [33]. À cela s'ajoute une augmentation de leur activité en raison d'une élévation du calcium intracellulaire [34]. L'inhibition des calpaïnes a de nombreux effets bénéfiques, tant sur les performances motrices que sur le tissu cicatriciel, ce qui suggère l'existence d'une activation importante de ces protéases après une lésion de la moelle épinière [35].

Le clivage des canaux sodiques par les calpaïnes augmente I_{NaP} dans les motoneurones sous-lésionnels

La fermeture des canaux sodiques voltage-dépendants s'effectue peu de temps après leur ouverture par un processus d'inactivation, indispensable pour une maîtrise de l'excitabilité neuronale *(Figure 4a)*. Si des évidences expérimentales montrent que les canaux sodiques sont sensibles aux protéases [36], une éventuelle protéolyse de ces canaux après une lésion médullaire reste méconnue. Néanmoins, la réponse classique des canaux sodiques à une protéolyse se traduit par une perte de leur inactivation, ce qui augmente le courant I_{NaP} [37] *(Figure 4a)*. Nos récents travaux démontrent l'existence d'un tel processus dans la moelle sous-lésionnelle [27]. La technique de western-blot permet de révéler la sous-unité α des canaux sodiques dont la masse moléculaire est d'environ 250 kDa *(Figure 4b)*. Si la protéine est présente dans les extraits de tissus isolés d'un rat médullo-lésé, l'apparition d'une protéine de plus petite taille (environ 120 kDa) témoigne d'un clivage des canaux sodiques dans la moelle sous-lésionnelle *(Figure 4b)*. Ces résultats montrent une augmentation globale des canaux sodiques (260 kDa + 120 kDa) que

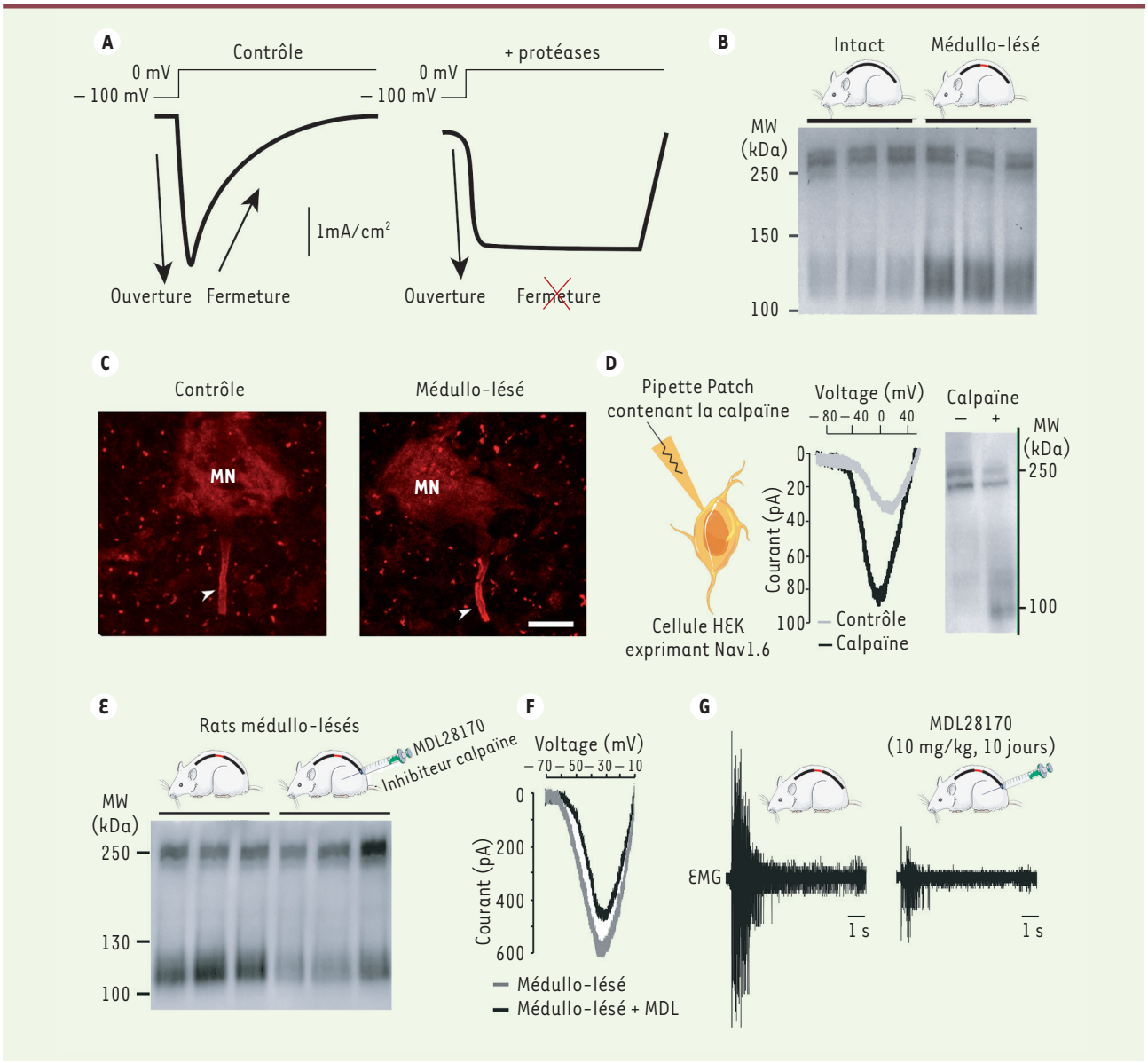


Figure 4. ***Le clivage des canaux sodiques augmente le courant sodique persistant (I_{NaP}) des motoneurones et contribue au développement des spasmes chez les rats médullo-lésés. A.*** Illustration de la modification des propriétés biophysiques de canal sodique en absence et en présence de protéases à la suite d'une une brève dépolarisation de -100 mV à 0 mV (adapté de [37]). La capacité d'inactivation du canal est réduite en présence de protéases, ce qui augmente le courant I_{NaP}. ***B.*** Profil d'expression des canaux sodiques visualisé en western blot chez des rats intacts (trois colonnes de gauche) et médullo-lésés (trois colonnes de droite). La bande à 120 kDa témoigne de l'existence d'un clivage des canaux sodiques dans la moelle sous-lésionnelle. ***C.*** Immunomarquage en rouge des canaux sodiques Nav1.6 au niveau du segment initial (flèche) de motoneurones (MN) lombaires d'un rat intact et médullo-lésé (barre d'échelle : 20 µm, section optique : 1 µm). ***D.*** Enregistrement en patch clamp (configuration cellule entière) de I_{NaP} sur des cellules de rein embryonnaire humain (HEK) exprimant le canal Nav1.6. Le courant I_{NaP} est identifié par une rampe de voltage lente (de -100mV à +90mV en 4 secondes). La dialyse dans la cellule de la calpaïne contenue dans la solution intra-pipette de patch, engendre une augmentation de I_{NaP} et un clivage des canaux Nav1.6 visualisable en western blot. ***E.*** Profil d'expression des canaux sodiques visualisé en western blot chez des rats médullo-lésés non-traités (trois colonnes de gauche) ou traités avec le MDL28170 (10 mg/kg), un inhibiteur de la calpaïne (trois colonnes de droite). La réduction de la bande à 120 kDa témoigne de l'existence d'un clivage des canaux sodiques dans la moelle sous-lésionnelle, par l'activation de la calpaïne. ***F.*** Enregistrement de I_{NaP} au niveau des motoneurones sous-lésionnels d'animaux traités (noir) ou non (gris) avec le MDL28170. ***G.*** Enregistrement EMG de spasmes musculaires au niveau du muscle *flexor digitorum brevis* d'animaux avant (droite) et après (gauche) traitement avec le MDL28170. (***B à G*** sont adaptés de [27]. Servier Medical Art). EMG : électromyogramme ; Nav1.6 : canal sodique dépendant du voltage.

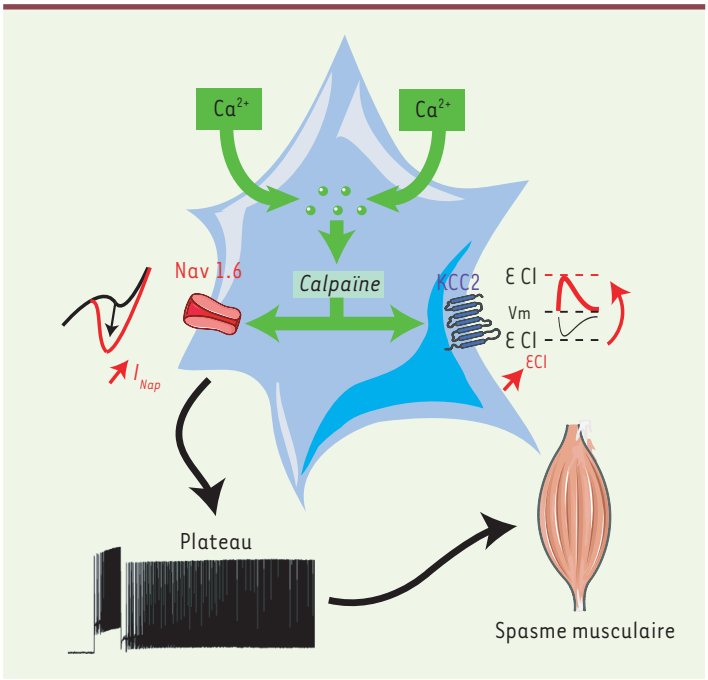


Figure 5. ***Mécanismes physiopathologiques de la spasticité post-lésionnelle.*** Après une lésion de la moelle épinière, l'excitotoxicité qui résulte d'une activation massive des récepteurs glutamatergiques, augmente la concentration intracellulaire des ions calcium dans les motoneurones. En raison de la faible efficacité du motoneurone à chélater le calcium, cette augmentation va activer des protéases calcium-dépendantes comme les calpaïnes qui, en retour vont permettre la protéolyse à la fois des canaux sodiques Nav1.6 et des co-transporteurs KCC2. Le clivage des canaux sodiques altère leur inactivation et engendre une augmentation du courant sodique persistant (I_{NaP}) facilitant l'émergence de propriété plateau. Parallèlement, le clivage des co-transporteurs KCC2 réduit leur fonctionnalité, diminue l'extrusion des ions Cl^-, et contribue à la désinhibition du motoneurone, rendant difficile l'arrêt du potentiel de plateau. Ainsi, une synergie entre la dérégulation du co-transporteur KCC2 et de I_{NaP} contribuerait à l'hyperexcitabilité motoneuronale et au développement de spasmes musculaires (© Frédéric Brocard/Servier Medical Art). Nav1.6 : canal sodique dépendant du voltage ; KCC2 : *K-Cl co-transporter 2 ; Vm : potentiel de membrane ; ECL : potentiel d'équilibre du chlorure.*

l'on peut observer en immunofluorescence au niveau des motoneurones lombaires, avec une surexpression du canal sodique dépendant du voltage Nav1.6 [27] *(Figure 4c)*. L'impact fonctionnel d'une telle protéolyse a été étudié par des enregistrements en *patch-clamp*[6] réalisés sur des cellules humaines embryonnaires de rein n'exprimant que le canal Nav1.6 *(Figure 4d)*. La protéolyse du canal Nav1.6 en présence de calpaïne, engendre une potentialisation de I_{NaP} [27] *(Figure 4d)*. Dans le cadre d'un essai préclinique, l'administration d'un inhibiteur des calpaïnes (le MDL28170, pendant 10 jours) réduit la protéolyse des canaux sodiques *(Figure 4e)*, l'amplitude de I_{NaP} *(Figure 4f)* et la spasticité de rats médullo-lésés *(Figure 4g)*. Ces effets bénéfiques restent visibles trois semaines après l'arrêt du traitement. Ainsi, le clivage du canal Nav1.6 par la calpaïne est à l'origine de l'augmentation de I_{NaP} et de l'émergence des potentiels de plateau au niveau des motoneurones sous-lésionnels [27].

Les calpaïnes désinhibent-elles la moelle sous-lésionnelle ?

La sensibilité de KCC2 aux calpaïnes a récemment été démontrée au niveau de l'hippocampe [38]. La calpaïne clive en effet KCC2 et dépolarise le potentiel d'équilibre des ions Cl^-. Des résultats similaires sont observés au niveau de la corne dorsale de la moelle épinière dans le cas de douleur neuropathique [39]. Mercado et ses collaborateurs [40] ont montré que KCC2 présente des séquences PEST qui sont situées en amont du site responsable du transport des ions Cl^-. Le clivage de KCC2 par les calpaïnes supprimerait donc sa fonctionnalité et engendrerait une augmentation intracellulaire des ions Cl^-, comme cela a été décrit après une lésion de la moelle. Il est donc probable que l'activation des calpaïnes soit responsable de la désinhibition des motoneurones après une lésion de la moelle épinière.

[6] Le patch-clamp est la technique de référence pour l'étude électrophysiologique des canaux ioniques.

Conclusion

En conclusion, l'apport de nos récents travaux a permis de dégager un mécanisme fondamental dans la genèse de la spasticité à la suite d'une lésion de la moelle épinière. Ce mécanisme, dont le fondement repose sur l'activation en amont des calpaïnes, jouerait un rôle majeur dans l'altération du courant I_{NaP} et du co-transporteur KCC2 à l'origine de l'hyperexcitabilité motoneuronale, elle-même, à la source de la spasticité *(Figure 5)*. Cette avancée scientifique permettra probablement de mieux comprendre l'étiologie de la spasticité dans différentes pathologies (paralysie cérébrale, sclérose latérale amyotrophique, accident vasculaire cérébral, etc.) et le développement dans un futur proche de nouvelles stratégies thérapeutiques pour la réduire. ◊

SUMMARY

Calpain as a new therapeutic target for treating spasticity after a spinal cord injury

After a spinal cord injury (SCI), patients develop spasticity, a motor disorder characterized by hyperreflexia and stiffness of muscles. Spasticity results from alterations in motoneurons with an upregulation of their persistent sodium current (I_{NaP}), simultaneously with a disinhibition caused by a reduction of expression of

chloride (Cl^-) co-transporters KCC2. Until recently the origin of alterations was unknown. After reviewing pathophysiology of spasticity, the manuscript relates our recent work showing a tight relationship between the calpain-dependent proteolysis of voltage-gated sodium channels, the upregulation of I_{NaP} and spasticity following SCI. We also discuss KCC2 as a substrate of calpains which may contribute to the disinhibition of motoneurons below the lesion. This led us to consider the proteolytic cleavage of both sodium channels and KCC2 as the upstream mechanism contributing to the development of spasticity after SCI. ◊

REMERCIEMENTS

Les auteurs ont bénéficié du soutien de différents organismes dont l'Agence Nationale de la Recherche Scientifique, la Fondation pour la Recherche Médicale, l'Institut pour la Recherche sur la Moelle épinière et l'Encéphale et l'International Spinal Research Trust.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Biering-Sorensen F, Nielsen JB, Klinge K. Spasticity-assessment : a review. *Spinal Cord* 2006 ; 44 : 708-22.
2. Sommerfeld DK, Eek EU, Svensson AK, *et al.* Spasticity after stroke : its occurrence and association with motor impairments and activity limitations. *Stroke* 2004 ; 35 : 134-9.
3. Kiernan MC, Vucic S, Cheah BC *et al.,* Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet* 2011 ; 377 : 942-55.
4. Lance JW. The control of muscle tone, reflexes, and movement: Robert Wartenberg lecture. *Neurology* 1980 ; 30 : 1303-13.
5. Mukherjee A, Chakravarty A. Spasticity mechanisms – for the clinician. *Front Neurol* 2010 ; 1 : 149.
6. Bennett DJ, Gorassini M, Fouad K, *et al.* Spasticity in rats with sacral spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1999 ; 16 : 69-84.
7. Bellardita C, Caggiano V, Leiras R, *et al.* Spatiotemporal correlation of spinal network dynamics underlying spasms in chronic spinalized mice. *Elife* 2017 ; 13 : 6.
8. Gillard PJ, Sucharew H, Kleindorfer *et al.* The negative impact of spasticity on the health-related quality of life of stroke survivors: a longitudinal cohort study. *Health Qual Life Outcomes* 2015 ; 13 : 159.
9. Elbasiouny SM, Moroz D, Bakr MM, Mushahwar VK. Management of spasticity after spinal cord injury: current techniques and future directions. *Neurorehabil Neural Repair* 2010 ; 24 : 23-33.
10. Eccles JC, Kostyuk PG, Schmidt RF. Presynaptic inhibition of the central actions of flexor reflex afferents. *J Physiol* 1962 ; 161 : 258-81.
11. Hultborn H, Jankowska E, Lindstrom S, Roberts W. Neuronal pathway of the recurrent facilitation of motoneurones. *J Physiol* 1971 ; 218 : 495-514.
12. Crone C, Nielsen J, Petersen N, *et al.* Disynaptic reciprocal inhibition of ankle extensors in spastic patients. *Brain* 1994 ; 117 : 1161-68.
13. Lundberg A, Voorhoeve P. Effects from the pyramidal tract on spinal reflex arcs. *Acta Physiol Scand* 1962 ; 56 : 201-19.
14. Nielsen J, Petersen N, Ballegaard M, *et al.* H-reflexes are less depressed following muscle stretch in spastic spinal cord injured patients than in healthy subjects. *Exp Brain Res* 1993 ; 97 : 173-76.
15. Thompson FJ, Reier PJ, Lucas CC, Parmer R. Altered patterns of reflex excitability subsequent to contusion injury of the rat spinal cord. *J Neurophysiol* 1992 ; 68 : 1473-86.
16. Crone C, Johnsen LL, Biering-Sorensen F, Nielsen JB. Appearance of reciprocal facilitation of ankle extensors from ankle flexors in patients with stroke or spinal cord injury. *Brain* 2003 ; 126 : 495-507.
17. Jean-Xavier C, Mentis GZ, O'Donovan MJ, *et al.* Dual personality of GABA/glycine-mediated depolarizations in immature spinal cord. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 11477-82.
18. Boulenguez P, Liabeuf S, Bos R, *et al.* Down-regulation of the potassium-chloride cotransporter KCC2 contributes to spasticity after spinal cord injury. *Nat Med* 2010 ; 16 : 302-7.
19. Boulenguez P, Liabeuf S, Vinay L. Perte d'inhibition neuronale et spasticité après traumatisme de la moelle épinière. *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 7-9.
20. Bos R, Sadlaoud K, Boulenguez P, *et al.* Activation of 5-HT2A receptors upregulates the function of the neuronal K-Cl cotransporter KCC2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013 ; 110 : 348-53.
21. Jean-Xavier C, Pflieger JF, Liabeuf S, Vinay L. Inhibitory postsynaptic potentials in lumbar motoneurons remain depolarizing after neonatal spinal cord transection in the rat. *J Neurophysiol* 2006 ; 96 : 2274-81.
22. Bouhadfane M, Tazerart S, Moqrich A, *et al.* Sodium-mediated plateau potentials in lumbar motoneurons of neonatal rats. *J Neurosci* 2013 ; 33 : 15626-41.
23. Brocard F, Shevtsova NA, Bouhadfane M, *et al.* Activity-dependent changes in extracellular Ca2+ and K+ reveal pacemakers in the spinal locomotor-related network. *Neuron* 2013 ; 77 : 1047-54.
24. Brocard F, Tazerart S, Vinay L. Do pacemakers drive the central pattern generator for locomotion in mammals ? *Neuroscientist* 2010 ;16 : 139-55.
25. Tazerart S, Vinay L, Brocard F. The persistent sodium current generates pacemaker activities in the central pattern generator for locomotion and regulates the locomotor rhythm. *J Neurosci* 2008 ; 28 : 8577-89.
26. Tazerart S, Viemari JC, Darbon P, *et al.* Contribution of persistent sodium current to locomotor pattern generation in neonatal rats. *J Neurophysiol* 2007 ; 98 : 613-28.
27. Brocard C, Plantier V, Boulenguez P, *et al.* Cleavage of Na(+) channels by calpain increases persistent Na^+ current and promotes spasticity after spinal cord injury. *Nat Med* 2016 ; 22 : 404-11.
28. Gorassini MA, Knash ME, Harvey PJ *et al.* Role of motoneurons in the generation of muscle spasms after spinal cord injury. *Brain* 2004 ; 127 : 2247-58.
29. Guroff G. A neutral, calcium-activated proteinase from the soluble fraction of rat brain. *J Biol Chem* 1964 ; 239 : 149-55.
30. Goll DE, Thompson VF, Li H, *et al.* The calpain system. *Physiol Rev* 2003 83 : 731-801.
31. Shumway SD, Maki M, Miyamoto S. The PEST domain of IkappaBalpha is necessary and sufficient for in vitro degradation by mu-calpain. *J Biol Chem* 1999 ; 274 : 30874-81.
32. Baudry M, Bi X. Calpain-1 and calpain 2: The Yin and Yang of synaptic plasticity and neurodegeneration. *Trends Neurosci* 2016 ; 39 : 235-45.
33. Banik NL, Matzelle DC, Gantt-Wilford G, *et al.* Increased calpain content and progressive degradation of neurofilament protein in spinal cord injury. *Brain Res* 1997 ; 752 : 301-6.
34. Du S, Rubin A, Klepper S, *et al.* Calcium influx and activation of calpain I mediate acute reactive gliosis in injured spinal cord. *Exp Neurol* 1999 ; 157 : 96-105.
35. Arataki S, Tomizawa K, Moriwaki A, *et al.* Calpain inhibitors prevent neuronal cell death and ameliorate motor disturbances after compression-induced spinal cord injury in rats. *J Neurotrauma* 2005 ; 22 : 398-406.
36. Iwata A, Stys PK, Wolf JA, *et al.* Traumatic axonal injury induces proteolytic cleavage of the voltage-gated sodium channels modulated by tetrodotoxin and protease inhibitors. *J Neurosci* 2004 ; 24 : 4605-13.
37. Armstrong CM, Bezanilla F, Rojas E. Destruction of sodium conductance inactivation in squid axons perfused with pronase. *J Gen Physiol* 1973 ; 62 : 375-91.
38. Puskarjov M, Ahmad F, Kaila K, Blaesse P. Activity-dependent cleavage of the K-Cl cotransporter KCC2 mediated by calcium-activated protease calpain. *J Neurosci* 2012 ; 32 : 11356-64.
39. Zhou HY, Chen SR, Byun HS, *et al.* N-methyl-D-aspartate receptor- and calpain-mediated proteolytic cleavage of K^+-Cl^- cotransporter-2 impairs spinal chloride homeostasis in neuropathic pain. *J Biol Chem* 2012 ; 287 : 33853-64.
40. Mercado A, Broumand V, Zandi-Nejad K, *et al.* A C-terminal domain in KCC2 confers constitutive K^+-Cl^- cotransport. *J Biol Chem* 2006 ; 281 : 1016-26.

TIRÉS À PART

F. Brocard