

La mitochondrie au cours du sepsis



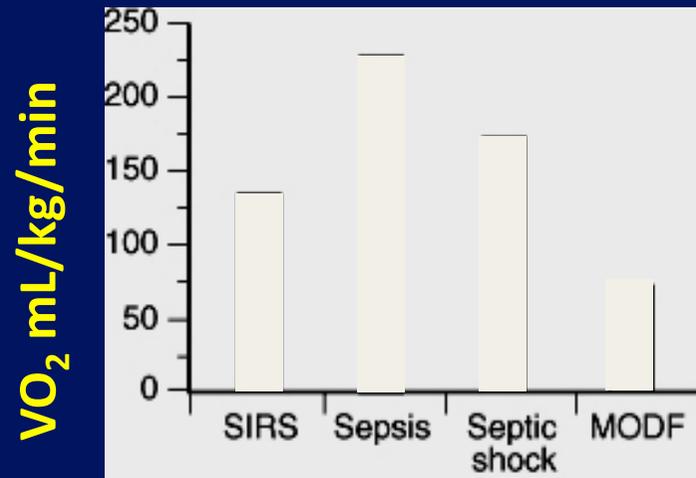
Paris 18 Mars 2011

**SOCIÉTÉ DE RÉANIMATION
DE LANGUE FRANÇAISE**

R. Neviere

Département de Physiologie, Faculté de Médecine de Lille

Les études (1975-1990) de calorimétrie indirecte (mesure de $\dot{V}O_2$) selon la gravité du syndrome septique clinique



Environ 90-95 % de l'oxygène capté dans l'environnement est utilisé par les mitochondries

$\dot{V}O_2$: « oxygen uptake »
ou prise d'oxygène
dans l'environnement



$\dot{V}O_2$: « oxygen consumption »
consommation d'oxygène
de l'organisme

Dysfonction mitochondriale sous-jacente ?

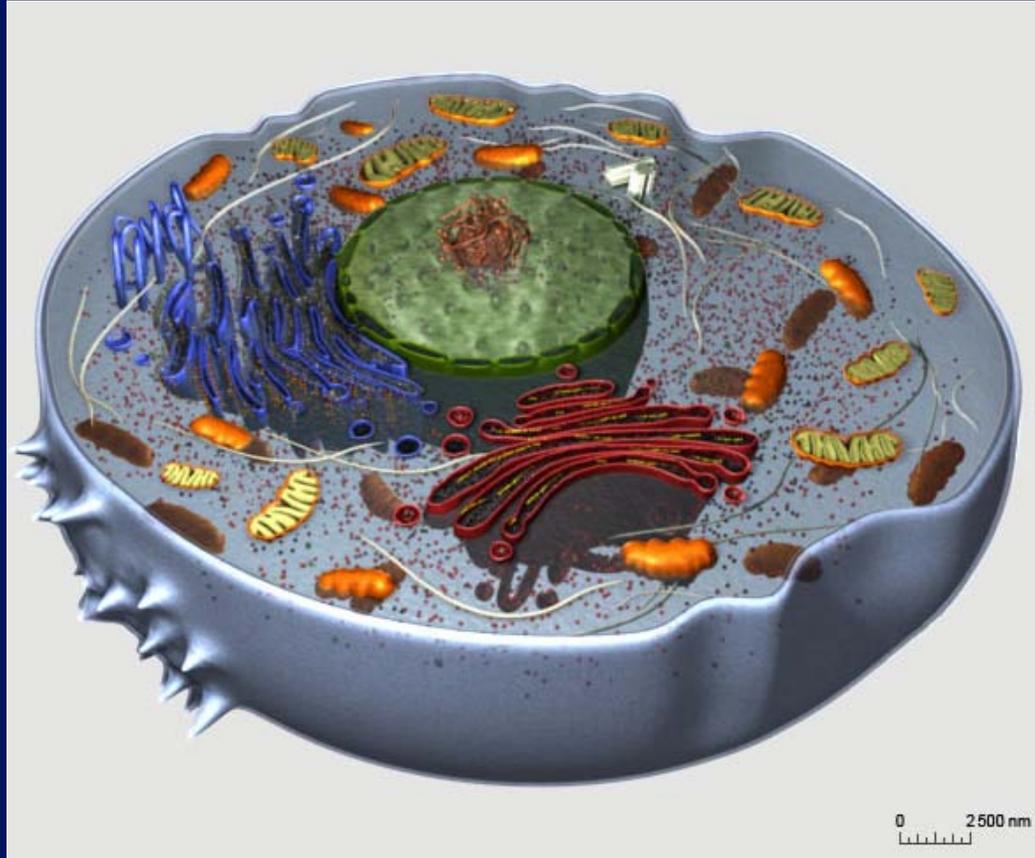
Les mitochondries sont des organites "particuliers" pourvus d'une à double membrane dans une cellule eucaryote

Réticulum
endoplasmique

Appareil de
Golgi

Peroxisomes

Lysosomes



Mitochondries

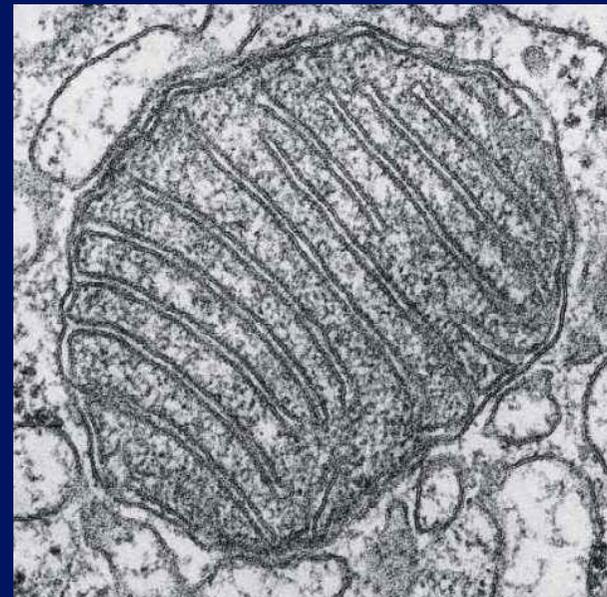
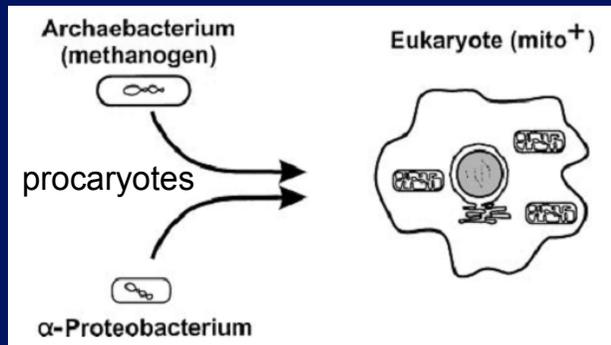
membrane simple

Cellule animale eucaryote

membrane double

du fait de son origine probable . . .

Théorie endosymbiotique (L. Margulis, 1960)



Explique :

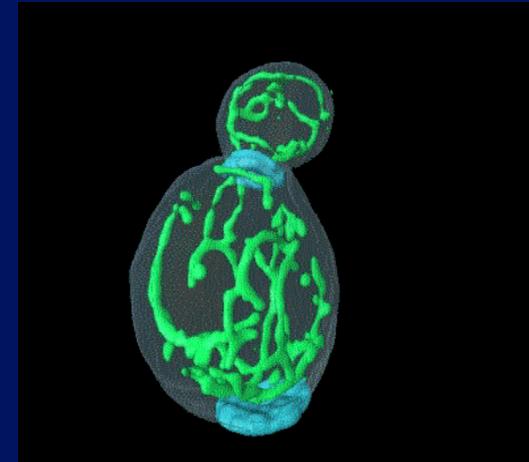
- Son propre ADN
- Composition des membranes
- Enzymes et ribosomes, transcription
- Renouvellement indépendant du cycle cellulaire

Ultra structure caricaturale
qui a fait oublié . . .

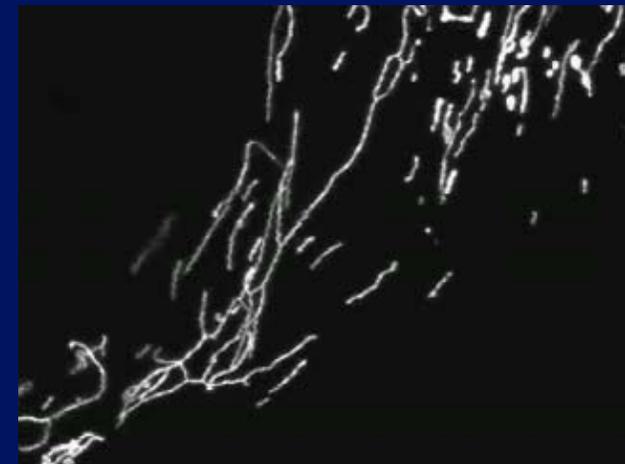
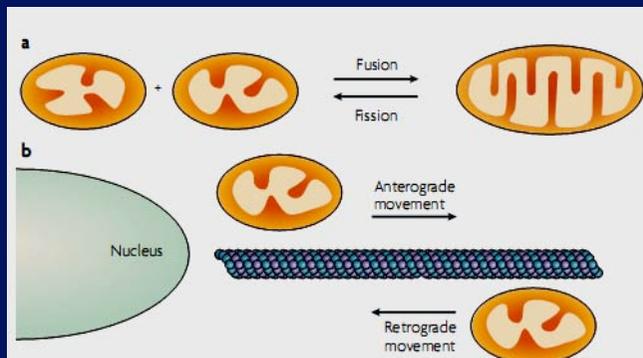


(Re)découverte du « mitochondriome »

- Les mitochondries sont organisées en un réseau dynamique qui est en perpétuel mouvement
- Cette organisation est modifiée par les mécanismes de fusion et fission et possibilité de migration (cytosquelette)



Egner *et al.*, PNAS, 2002



Chan, Cell, 2006

À quoi sert la mitochondrie ?

Apoptose (cytochrome c)

Synthèse de stéroïdes et de l'hème

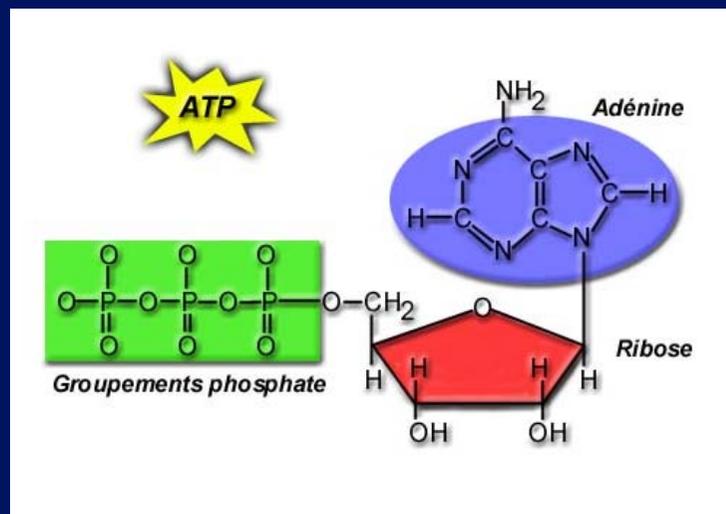
Thermogénèse (UCP)

Production de ROS

Equilibre ionique Ca^{2+} , K^+ , H^+



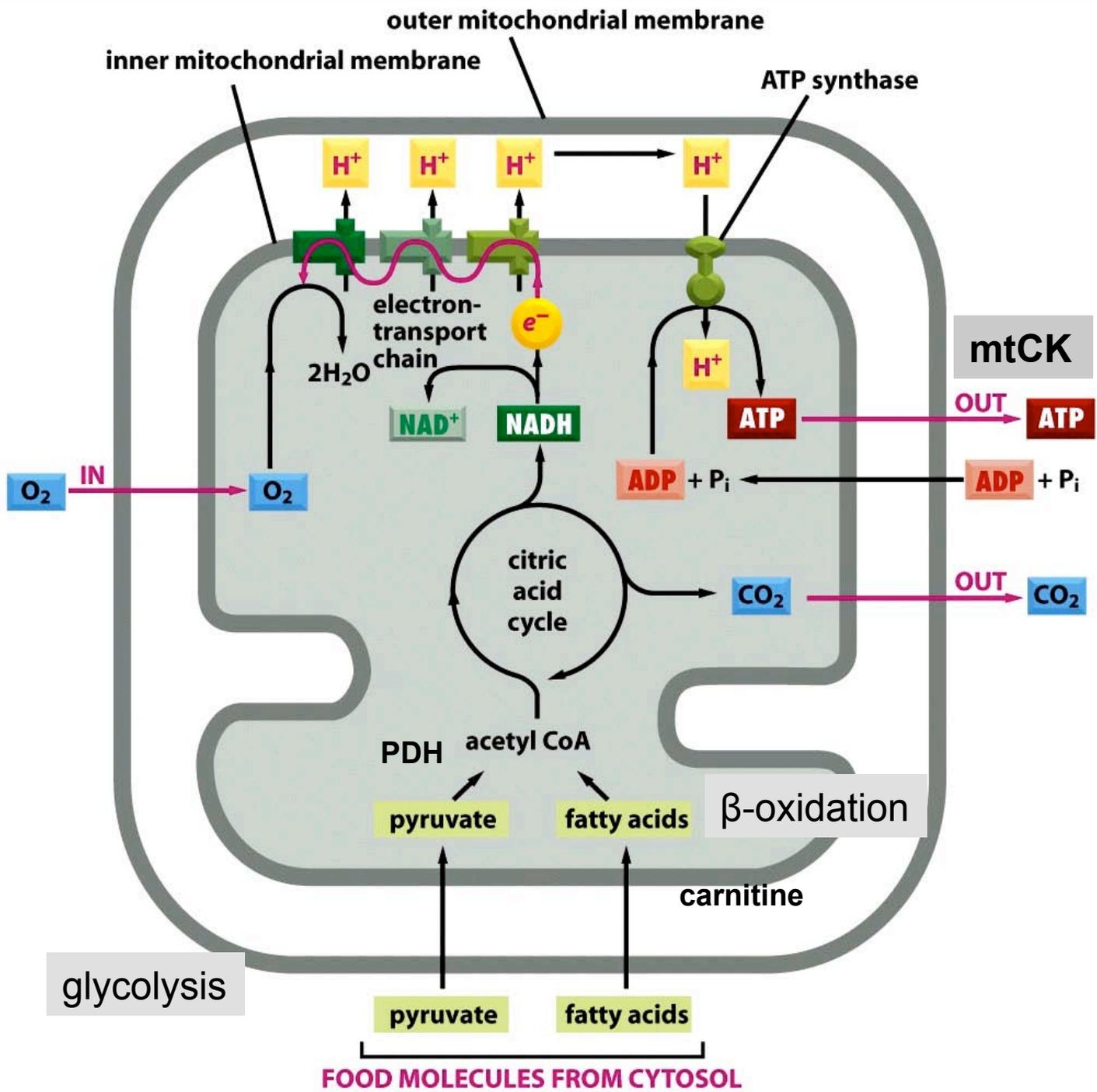
Métabolisme
des hydrates de carbone
et des lipides



> ENERGIE



- 3 -



- 4 -

- 2 -

- 1 -

Figure 14-10 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Existe t-il une dysfonction mitochondriale septique ?

Association between mitochondrial dysfunction and severity and outcome of septic shock

Singer M. et al Lancet 2002

| | Septic survivors (A) | Septic non-survivors (B) | Controls (C) | p (A vs B vs C) |
|---|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-----------------|
| Complex I activity* | 0.18 (0.14-0.23), n=16 | 0.15 (0.11-0.18), n=10 | 0.21 (0.18-0.24), n=8 | 0.03 |
| Complex II and III activity* | 0.13 (0.10-0.16), n=16 | 0.13 (0.12-0.15), n=12 | 0.12 (0.11-0.14), n=9 | 0.35 |
| Complex IV activity* | 0.014 (0.01-0.02), n=16 | 0.020 (0.013-0.02), n=12 | 0.011 (0.01-0.017), n=8 | 0.05 |
| Reduced glutathione (nmol/mg total protein) | 5.0 (3.5-5.8), n=13 | 3.9 (2.2-4.8), n=11 | 9.8 (8.4-11.0), n=8 | 0.0004 |
| Nitrite/nitrate (μ mol/mg total protein) | 118 (99-159), n=8 | 176 (173-197), n=7 | 86 (45-103), n=6 | 0.001 |

*Expressed as a ratio of citrate synthase activity. Data are median (IQR). n=number of patients on whom sample analysis was done.

Table 3: **Activities of mitochondrial complexes and concentrations of reduced glutathione and nitrite/nitrate in skeletal muscle**

| | Septic survivors (A) | Septic non-survivors (B) | Controls (C) | p (A vs B vs C) |
|--|------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------|
| ATP (nmol/mg dry weight) | 15.8 (12.1-18.6), n=12 | 7.6 (6.6-10.0), n=9 | 12.5 (9.7-13.7), n=8 | 0.001 |
| ADP (nmol/mg dry weight) | 2.3 (1.6-2.7), n=12 | 2.3, (1.5-5.4), n=9 | 2.6 (1.2-3.1), n=8 | 0.83 |
| AMP (nmol/mg dry weight) | 0.12 (0.06-0.23), n=12 | 0.44 (0.1-0.8), n=9 | 0.2 (0.09-0.4), n=8 | 0.22 |
| ATP:ADP ratio | 7.44 (5.2-8.7), n=12 | 4.39 (1.4-5.1), n=9 | 5.5 (4.1-8.0), n=8 | 0.02 |
| Total adenine content (nmol/mg dry weight) | 18.2 (14.0-22.0), n=12 | 12.5 (9.9-13.6), n=9 | 16.1 (13.4-16.5), n=8 | 0.02 |
| Phosphocreatine (nmol/mg dry weight) | 47.1 (47.1-65.3), n=11 | 36.1 (28.4-45.7), n=9 | 62.4 (56.8-63.9), n=8 | 0.02 |
| Creatine (nmol/mg dry weight) | 43.2 (36.3-50.3), n=11 | 41.5 (35.2-46.8), n=9 | 31.6 (28.3-43.0), n=8 | 0.24 |
| Phosphocreatine:creatinine ratio | 1.28 (0.76-1.6), n=11 | 0.98 (0.84-1.1), n=9 | 1.88 (1.4-2.2), n=8 | 0.006 |

Data are median (IQR). n=number of patients on whom sample analysis was done.

Table 2: **Concentrations in skeletal muscle of ATP, ADP, AMP, phosphocreatine, and creatine**

Mécanismes de la dysfonction mitochondriale septique : les données acquises

- diminution d'activité enzymatique des voies de la glycolyse (HK, PFK, notamment) et de la β -oxydation
- limitation de l'entrée de pyruvate produit par la glycolyse (activation PDHK kinase et inhibition PDH) et des AGL (déficit en carnitine)
- inhibition d'enzymes du cycle de Krebs (aconitase)
- inhibition des complexes de la chaîne respiratoire (complexe I, notamment) par les RNS (NO, ONOO⁻)
- inhibition de l'activité CK mitochondriale

Singer M. Biochem Soc Symp. 1999

Singer M. Crit Care Med. 2007

Fredriksson K et al. Crit Care Med. 2007

Dare AJ, et al. Free Radic Biol Med. 2009

Azevedo LC. Endocr Metab Disord Drug Targets. 2010

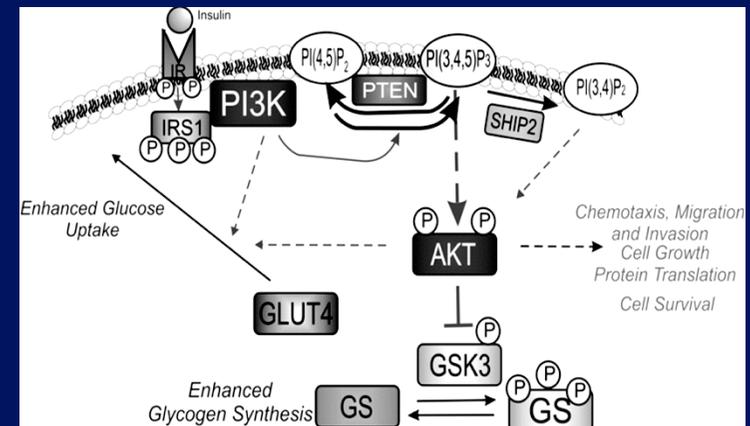
Mécanismes de la dysfonction mitochondriale septique : actualités

- Insulino résistance
 - déficit de transport intracellulaire et d'oxydation du glucose
 - accumulation de lipides dans les cellules et lipotoxicité
- Régulation de la population mitochondriale (saine et efficace)
 - biogénèse mitochondriale / autophagie
 - dynamique mitochondriale (fission fusion)

L'insulino résistance conduit à une
dysfonction mitochondriale

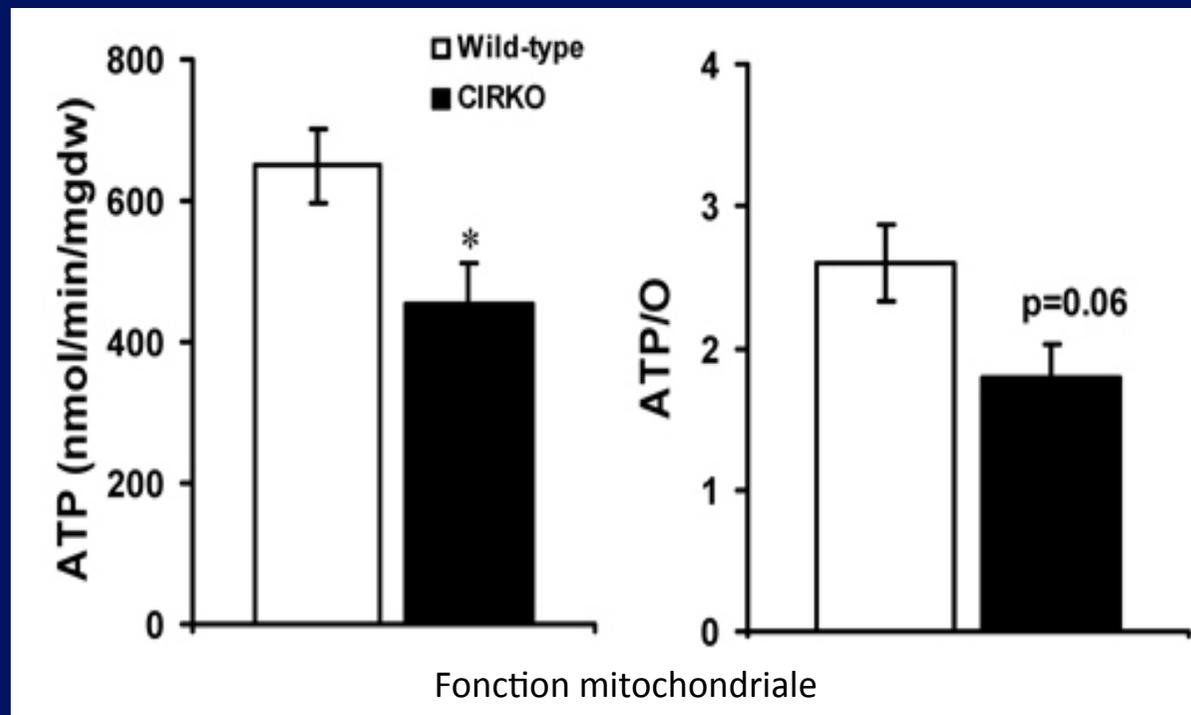
Insulino résistance du sepsis

- Sepsis : « insensibilité à l'insuline » avec « hyperlipémie »
- IR et sepsis : résultats expérimentaux et humains
- IR en l'absence de dysfonction pancréatique secondaire à la réponse inflammatoire
 - cascade inflammatoire
 - IKK, JNK, JAK, STAT (kinases)
 - down régulation IR et IRS
- IR cause et conséquence d'une dysfonction mitochondriale (cercle vicieux)



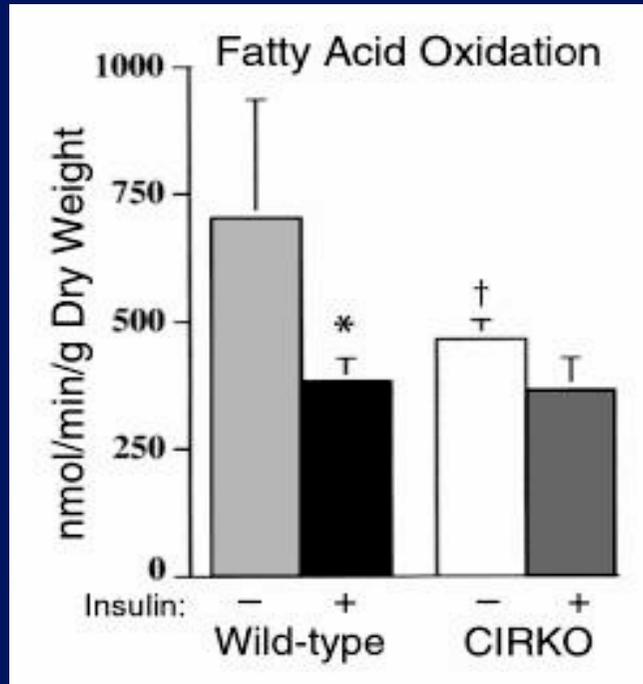
Signalisation des récepteurs à l'insuline et dysfonction mitochondriale

Modèle de déficit génétique de la voie de signalisation insuline tissu spécifique souris CIRKO (cardiomyocyte insulin receptor KO)

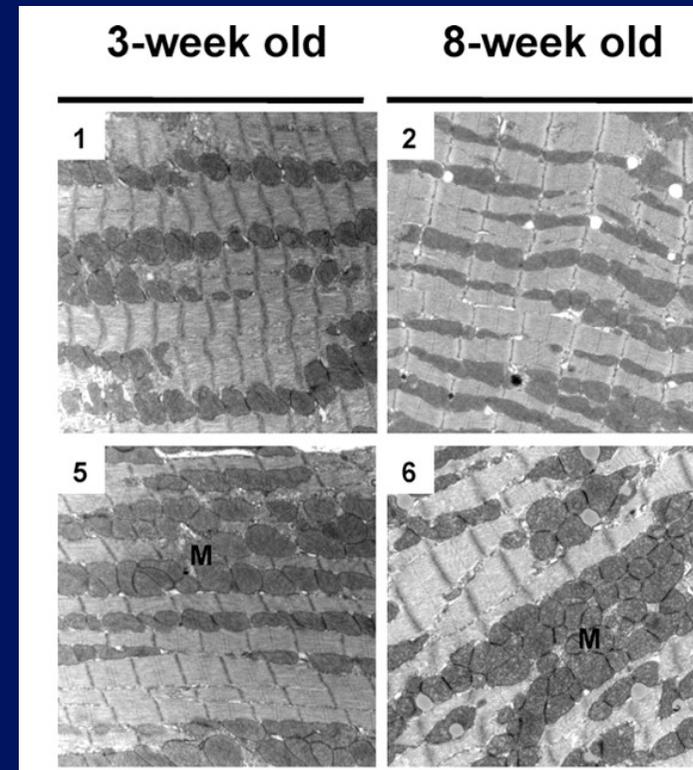


- Réduction OXPHOS
- Stress oxydant
- Pas de réduction d'expression des complexes ETC

Signalisation des récepteurs à l'insuline et dysfonction mitochondriale

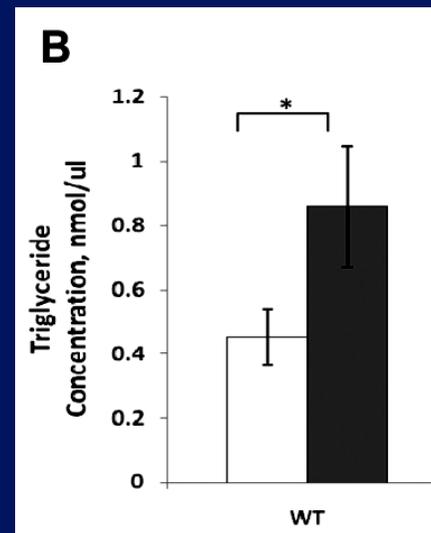
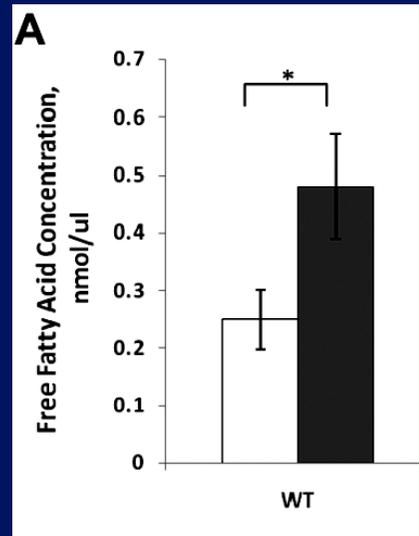


- Réduction de l'expression CPT1; enzymes de la β oxydation;
- Diminution des substrats lipidiques mitochondriaux

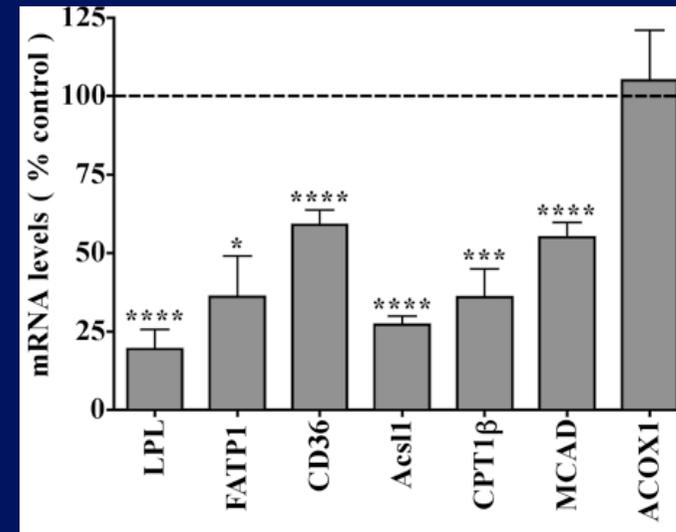


- Augmentation du nombre et du volume mitochondrial

Sepsis : relation insulino résistance et « hyperlipémie »



Maitra et al 2009



Feingold et al 2009

- Réduction de l'expression CPT1 et enzymes de la β oxydation
- Diminution des coenzymes réduits

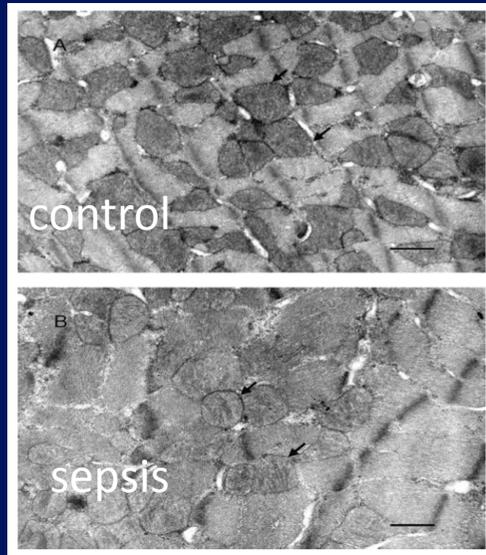


- Accumulation de lipides par réduction de la β oxydation
- Oxydation incomplète des AG (toxiques DAG; nonenal)

Densité mitochondriale et anomalies de biogénèse

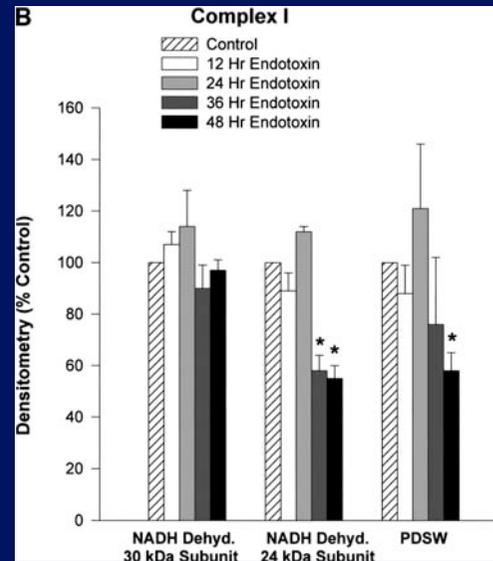
Réduction de la masse mitochondriale et l'expression protéique des complexes de la chaîne respiratoire

Watts et al. (2004)



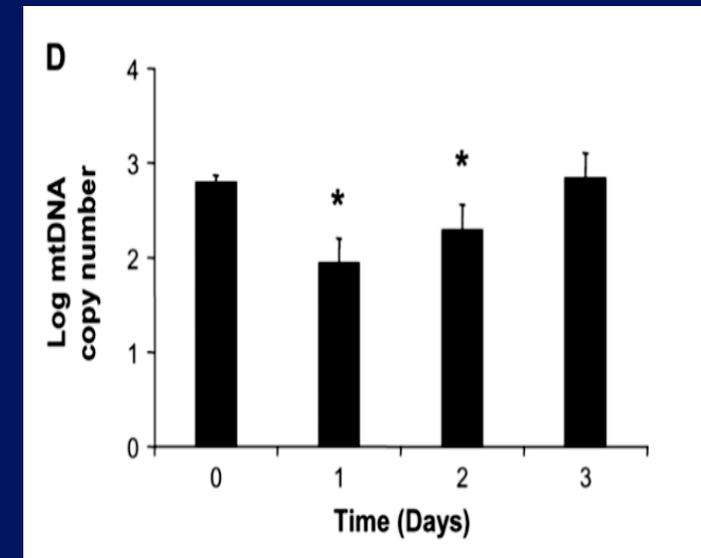
Réduction de la densité de mitochondrie

Callahan et al. (2005-2007)



Complexe I, III de la chaîne respiratoire

Haden et al. (2007)

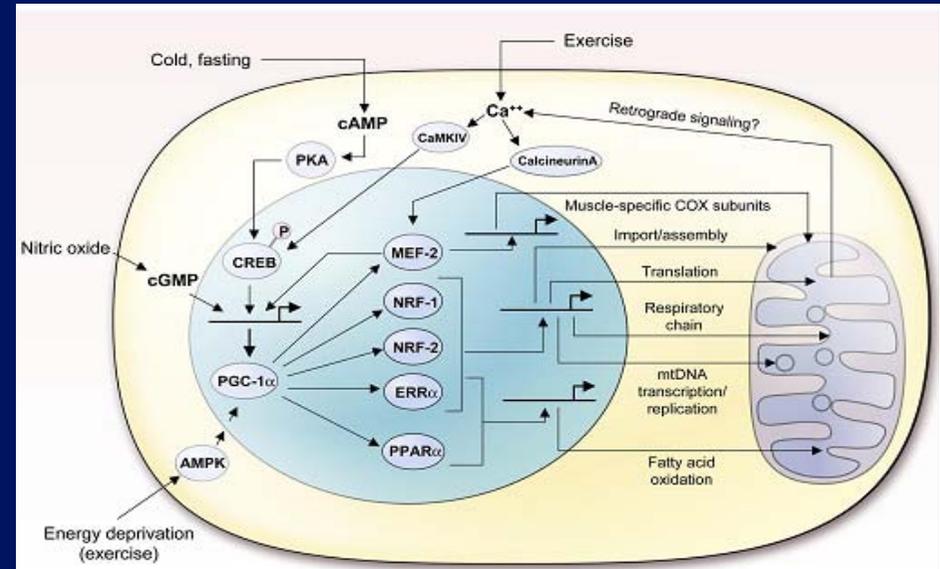
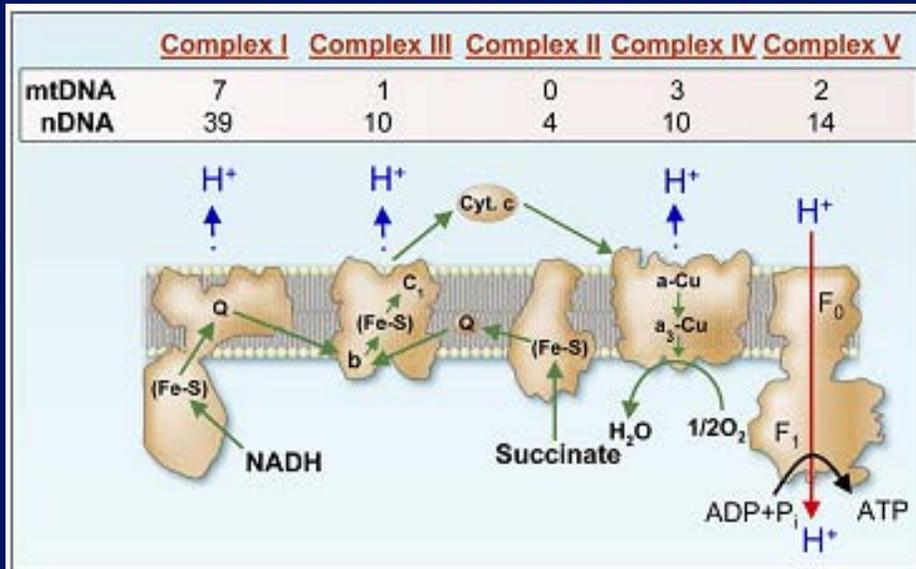


Evolution du nombre de copies de DNA mitochondrial

Notion de « biogénèse » mitochondriale

Les protéines mitochondriales

ADN mitochondrial propre, mais . . .



D'après Scarpulla, Phys Rev, 2008

Forte dépendance des protéines codées par le génome nucléaire

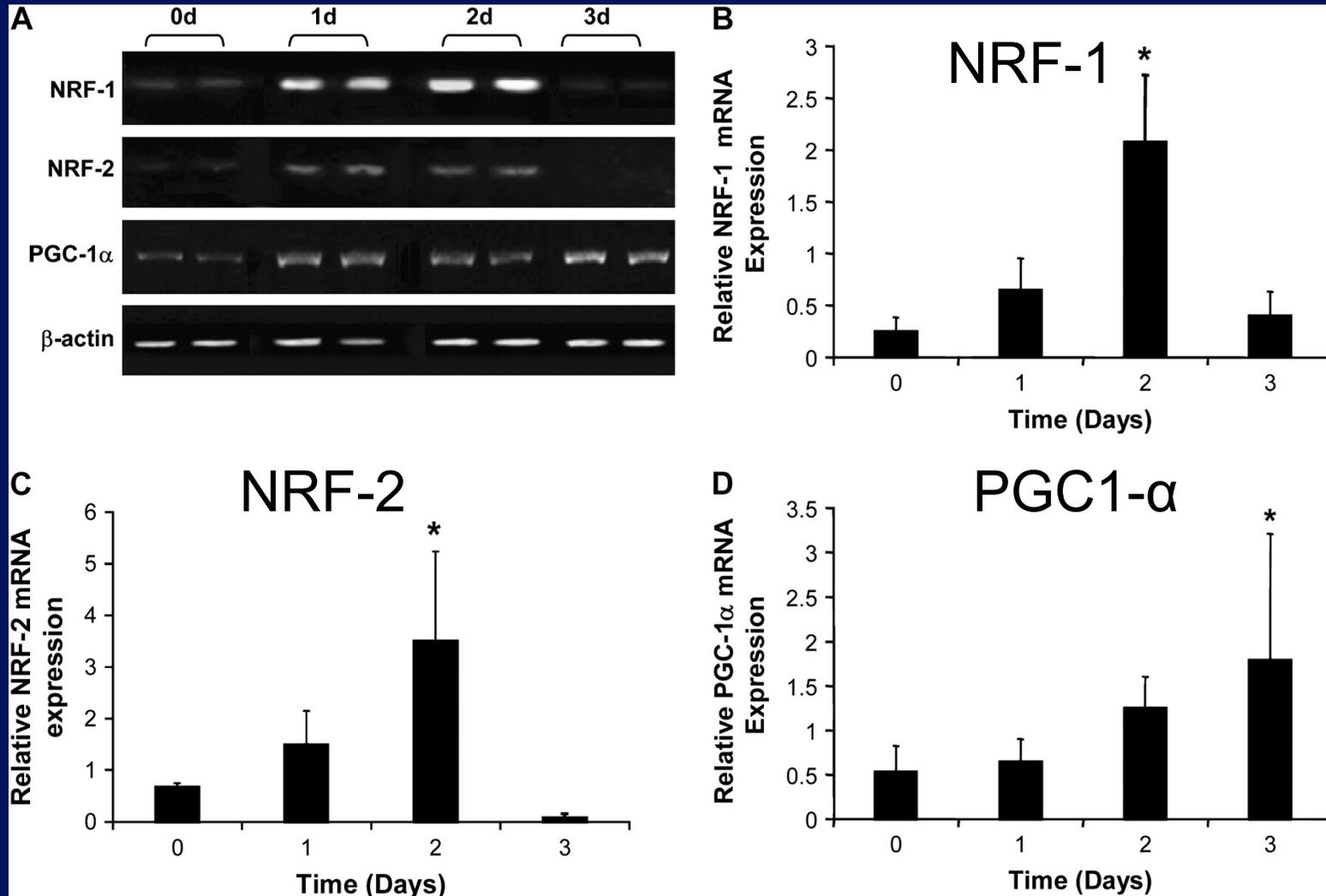
Forte influence de facteurs de transcription nucléaires NRF et PGC1

PGC-1 : peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α

Activation de la biogénèse et sepsis

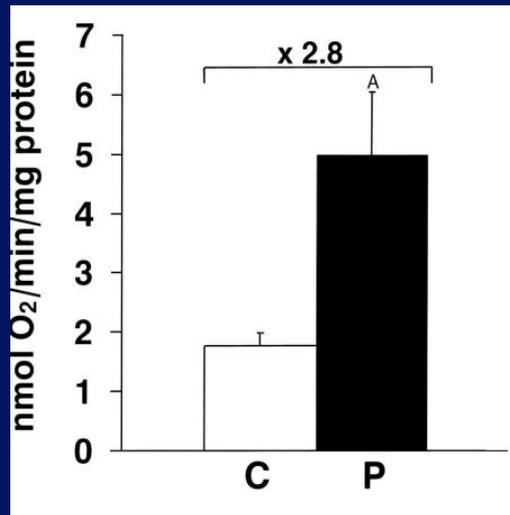
Haden et al. (2007)

post CLP sepsis



Contrôle qualité de la biogénèse mitochondriale

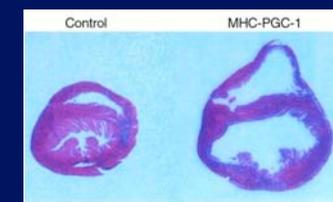
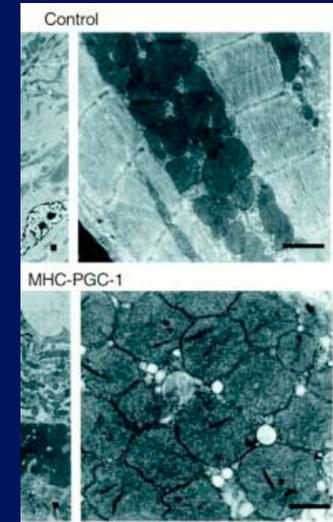
Une surexpression de PGC1 amélioration de la fonction mitochondriale



- Kelly et al. JCI 2000
- Lancel et al. JPET 2009

mais ... quelle est la qualité de la population de novo ?

- prolifération « exubérante »
- fonctionnelle ou non, métabolisme foetal (glycolitique)
- Mitochondrie « thermogénique » (découplage, production ROS)



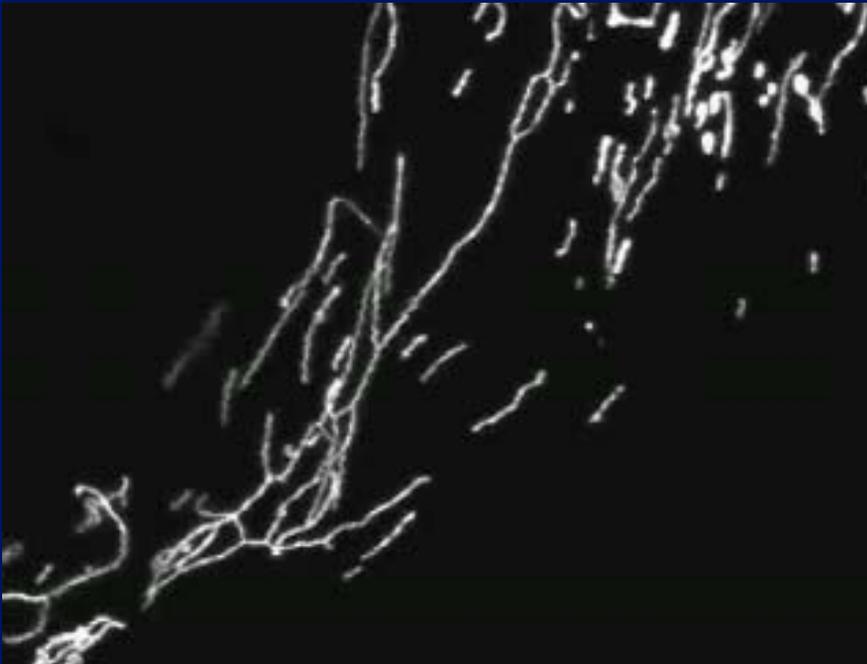
Kelly et al. JCI 2000

vers une nécessaire régulation de la biogénèse

La régulation de la biogénèse

1 - La dynamique mitochondriale permet le maintien d'une population mitochondriale saine

- Rôle de la dynamique mitochondriale (fission et fusion) : échange de mtDNA, de protéines, modulation du potentiel de membrane mitochondrial

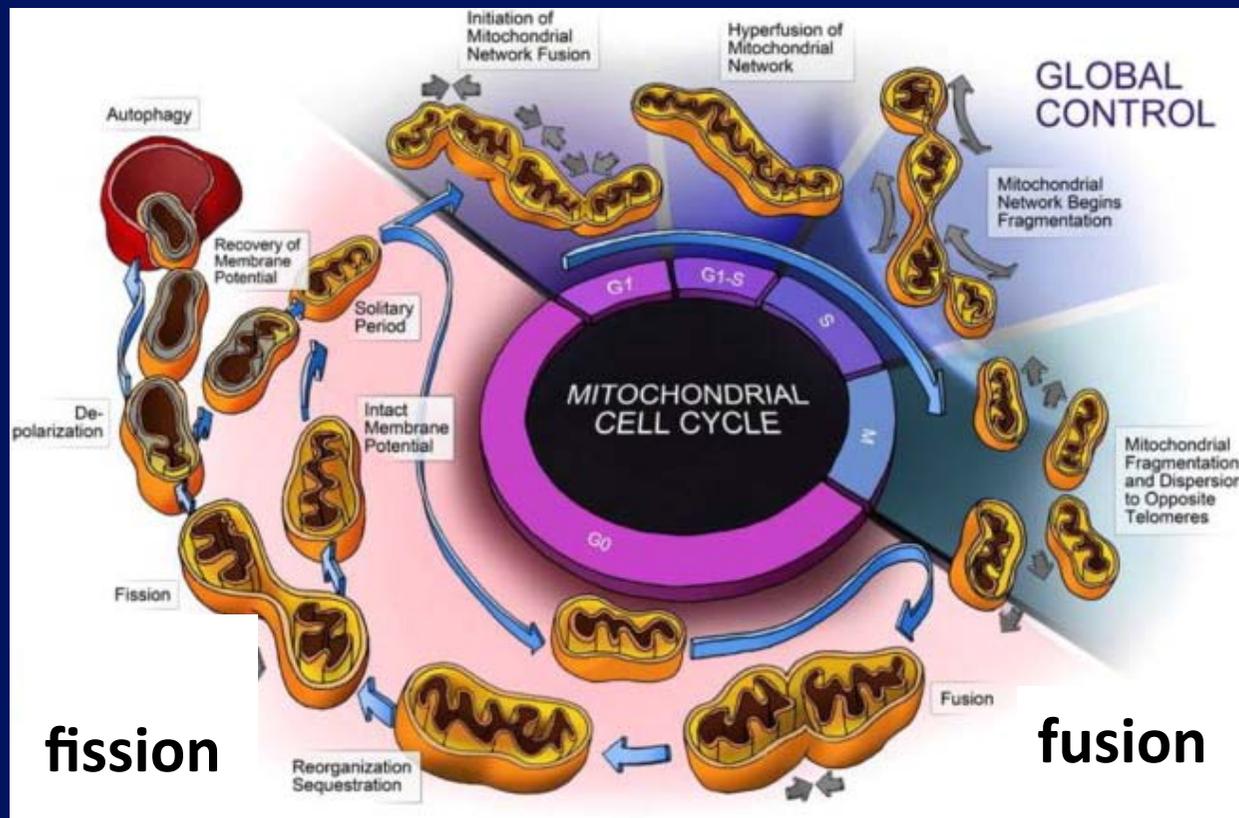


GTPase / fusion
(mitofusines et OPA1)

GTPase / fission
(drip1)

La régulation de la biogénèse

2 - La dynamique mitochondriale permet le tri des mitochondries à éliminer grâce à l'autophagie

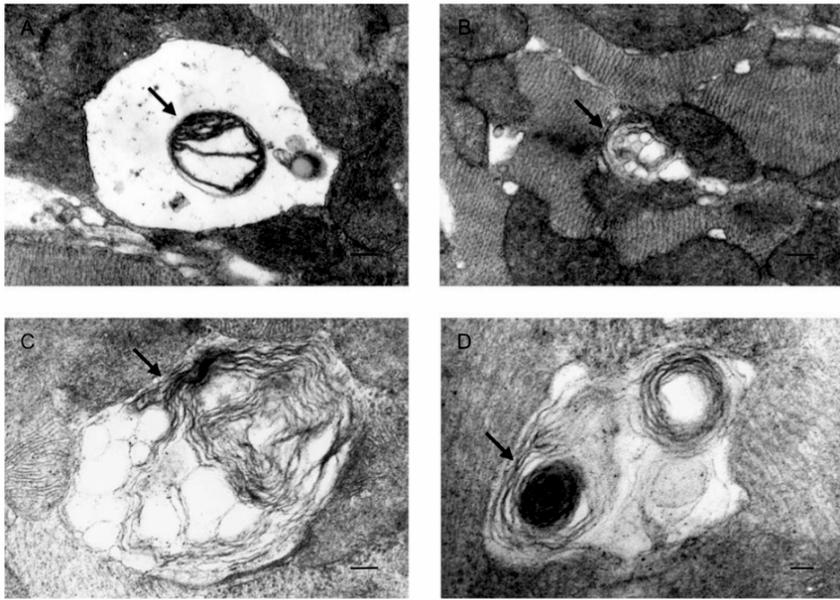


maintien d'une population mitochondriale saine

Sepsis : autophagie de mitochondries « défectueuses »

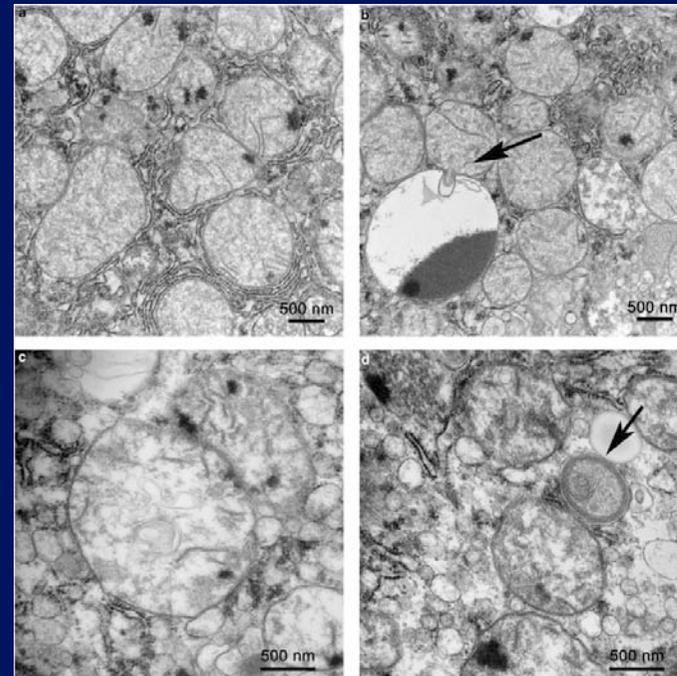
Mitochondries incluses dans les vacuoles de digestion

J.A. Watts et al. / Journal of Molecular and Cellular Cardiology 36 (2004) 141–150



Myocarde CLP rats

Watts et al. (2004)



Foie sepsis humain

Watanabe et al 2009

En conclusion

- Dysfonction mitochondriale : aspects qualitatifs
- Equilibre biogénèse - dynamique – autophagie : aspects quantitatifs et contrôle qualité
- Causal ou épiphénomène dans la physiopathologie du sepsis
- Modulation du rhéostat métabolique : réponse adaptative de survie (hibernation)