

Rôle de la mitochondrie dans le pré- et le post-conditionnement myocardique

RÉSUMÉ : La mitochondrie est un organe dont le fonctionnement est sans cesse au carrefour de voies de signalisation facilitant tantôt la survie de la cellule tantôt sa mort par nécrose ou apoptose. L'ouverture d'un "méga-canal" fonctionnel de sa membrane interne, appelé pore de transition de perméabilité mitochondrial (PTP), est un événement clé à l'origine des lésions de reperfusion de l'infarctus du myocarde.

Le post-conditionnement comme le pré-conditionnement ischémique utilisent la médiation de la voie RISK (*reperfusion injury salvage kinases*) pour retarder l'ouverture du PTP et limiter ainsi les conséquences de l'ischémie-reperfusion.

Indépendamment de son effet immunosuppresseur, l'administration de ciclosporine A (avant ou après une occlusion coronaire prolongée) reproduit l'intégralité de cette protection myocardique en retardant l'ouverture du PTP. Ces résultats obtenus au laboratoire ont récemment pu être transposés à l'Homme.



→ **L. ARGAUD, M. COUR**

INSERM U886 "Cardioprotection",
LYON.

Service de Réanimation Médicale,
Groupe Hospitalier Edouard
Herriot, LYON.

Les mitochondries, organites intracellulaires propres aux eucaryotes, sont chargées d'emmagasiner, sous forme d'ATP, l'énergie libérée par la dégradation des nutriments. Cependant, à l'opposé de cette fonction indispensable à la vie des cardiomyocytes, les mitochondries jouent aussi, en particulier au cours de l'ischémie-reperfusion, un rôle décisif dans l'induction de la mort cellulaire par la perméabilisation de leur membrane interne.

Le pré-conditionnement, comme le post-conditionnement, sont des concepts expérimentaux dont le bénéfice pour "sauver" du myocarde est prouvé en laboratoire, mais aujourd'hui aussi en clinique, en interagissant avec cette dualité du fonctionnement intime de la mitochondrie. Au-delà de l'infarctus du myocarde, l'ubiquité de ces mécanismes mitochondriaux de cytoprotection laisse entrevoir de nombreuses perspectives cliniques.

Mitochondrie : de la physiologie à la physiopathologie des lésions d'ischémie-reperfusion

L'énergie nécessaire au bon fonctionnement cellulaire est fournie par la mitochondrie, par oxydation des nutriments, et stockée sous la forme d'une liaison anhydride lors de la phosphorylation de l'adénosine diphosphate (ADP) en ATP. L'ensemble de ces réactions est assimilé à une "respiration mitochondriale" qui consomme plus de 90 % de l'oxygène que nous respirons. On parle également de phosphorylation oxydative pour qualifier les différentes étapes de ce processus hautement régulé [1].

L'oxydation des nutriments (principalement les hydrates de carbones et les acides gras) fournit par l'intermédiaire du cycle de Krebs des coenzymes réduits (NADH et à un moindre degré FADH₂), donneurs d'électrons de haute

énergie. Ce flux d'électrons est pris en charge par différentes réactions d'oxydo-réduction assurées par les quatre complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale jusqu'à la réduction de l'oxygène moléculaire en eau. Les complexes respiratoires utilisent également l'énergie générée par ce transfert d'électrons pour une translocation active de protons depuis la matrice vers l'espace intermembranaire.

Cette expulsion de protons va avoir comme conséquence la création d'un gradient de concentration de protons (ou gradient de pH) et d'un potentiel de membrane mitochondrial (appelé $\Delta\Psi_m$) à travers la membrane interne. Les protons ainsi expulsés de la matrice vont, du fait d'un gradient électrochimique favorable, retourner dans la matrice en empruntant le "canal" d'une protéine particulière appelée F₀/F₁ ATP synthase. Le flux de protons à travers ce canal active l'ATP synthase (cinquième complexe de la chaîne respiratoire) qui transforme alors de l'ADP en ATP, assurant ainsi le couplage entre les réactions d'oxydo-réduction et la production d'ATP [1].

Le maintien de ce gradient électrochimique, encore appelé force protomotrice, est donc un élément indispensable au rôle énergétique de la mitochondrie. Mais au-delà, il conditionne l'homéostasie cellulaire toute entière en influençant la composition chimique de la matrice mitochondriale (et du cytosol), en régulant la production de radicaux libres de l'oxygène (ROS) et en participant à la régulation de la mort cellulaire par l'intermédiaire de son action sur la transition de perméabilité mitochondriale [2]. Cette transition de perméabilité caractérise la perte de l'imperméabilité constitutionnelle de la membrane mitochondriale interne, réalisant ainsi une communication libre entre la matrice et le cytosol. Elle provoque un gonflement caractéristique

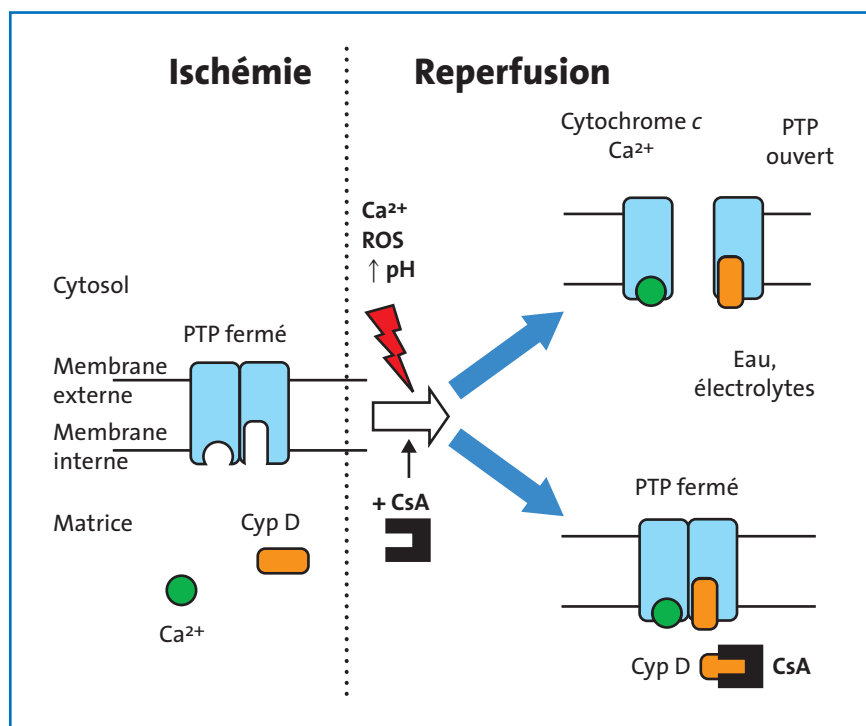


FIG. 1 : Ischémie-reperfusion et transition de perméabilité mitochondriale. Le pore de transition de perméabilité mitochondriale (PTP), assemblage multiprotéique, est connu sous deux configurations : l'une fermée où la membrane mitochondriale interne est imperméable, l'autre ouverte, faisant communiquer librement la matrice et le cytosol. La cyclophiline D (Cyp D), protéine de la matrice mitochondriale, est le seul élément constitutif prouvé de ce pore. L'ouverture du PTP est facilitée par des éléments contemporains de la reperfusion tels que la surcharge calcique (Ca^{2+}), l'excès d'espèces radicalaires de l'oxygène (ROS) et la correction de l'acidose intracellulaire. La cyclosporine A (CsA), en se fixant sur la CypD, empêche l'ouverture du PTP et ses conséquences néfastes : gonflement de la mitochondrie par mouvement hydrique, inhibition de la chaîne respiratoire, libération dans le cytosol de Ca^{2+} et de facteurs pro-apoptotiques dont le cytochrome c.

que de la matrice (*swelling*) et un effondrement du $\Delta\Psi_m$. Elle s'accompagne non seulement d'un arrêt de la synthèse d'ATP, mais aussi de son hydrolyse : en effet, dans ces conditions particulières, l'ATP synthase mitochondriale fonctionne en sens inverse et dégrade l'ATP.

En plus des conséquences très néfastes de ce découplage de la chaîne respiratoire, le gonflement matriciel conduit à une rupture de la membrane externe, plus fragile, à l'origine de la libération de petites molécules protéiques, telles que l'AIF (*apoptosis-inducing factor*) et le cytochrome c [2, 3]. Ce dernier, partenaire de la chaîne respiratoire en temps normal, est égale-

ment doué de propriétés pro-apoptotiques en activant, une fois libéré dans le cytosol, les caspases, protéines enzymatiques chargées d'exécuter la voie finale commune de l'apoptose.

Ce phénomène de perméabilisation de la membrane interne est le résultat de l'ouverture d'un "méga-canal" non sélectif appelé pore de transition de perméabilité (PTP) (**fig. 1**). Son ouverture est facilitée par la surcharge calcique, le stress oxydant, la déplétion en nucléotides adényliques et la correction d'une acidose [3], autant d'éléments contemporains de la reperfusion qui font admettre l'hypothèse d'une ouverture préférentielle du PTP lors de la recirculation (**fig. 1**). En par-

ticulier, la reperfusion réintroduit brutalement de l'oxygène en grande quantité dans des cellules qui en étaient privées: la chaîne respiratoire mitochondriale fonctionnellement endommagée par l'ischémie ne peut pas utiliser correctement cet excès d'oxygène et de substrats, ce qui conduit à une production de ROS.

La nature moléculaire du PTP est, à ce jour, encore mal connue, mais on pense qu'il s'agit d'un assemblage multiprotéique dont le seul constituant connu avec certitude est une protéine de la matrice mitochondriale appelée cyclophiline D [4]. D'autres protéines sont probablement impliquées telles que l'ANT (transporteur des nucléotides adényliques), la porine (*Voltage-Dependent Anion Channel*), le complexe I de la chaîne respiratoire, la créatine kinase, l'hexokinase, le récepteur des benzodiazépines, ainsi que des protéines pro-apoptotiques de la famille Bcl-2 [2-4]. Chez les souris transgéniques déficientes en cyclophiline D dont le phénotype est normal, la transition de perméabilité est inhibée en présence d'une surcharge calcique ou d'un stress radicalaire, ce qui les rend plus résistantes à l'ischémie-reperfusion [4]. Il est intéressant de noter que la transition de perméabilité est également inhibée pharmacologiquement par la cyclosporine A (CsA) *via* sa fixation à la cyclophiline D, indépendamment de ses propriétés immunosuppressives, en lien avec une fixation sur la cyclophiline A cytosolique (**fig. 1**) [2-4].

Pore de transition de perméabilité mitochondrial: effecteur de la cardioprotection

Le mécanisme d'action cellulaire du pré-conditionnement est complexe et incomplètement élucidé à ce jour. Il est cependant admis qu'il met en jeu trois étapes: des phénomènes initia-

teurs ou "*triggers*", des médiateurs et un effecteur qui correspondrait au dernier maillon de cette chaîne de signalisation [5]. Différents ligands paraissent impliqués dans les mécanismes initiateurs du pré-conditionnement. Il s'agit, pour la plupart, de substances libérées au cours de l'ischémie-reperfusion "préconditionnante" dont il a été montré qu'elles avaient toutes un effet cardioprotecteur par l'intermédiaire de l'activation de récepteurs membranaires couplés à des protéines G. On peut citer l'adénosine, la bradykinine ou les dérivés opioïdes. Les ROS sont également suspects d'être à l'origine des mécanismes initiateurs de la cardioprotection. Par la suite, la médiation du signal est assurée par l'activation de protéines kinases, dont certaines isoformes de la protéine kinase C.

On admet également un rôle important des *reperfusion injury salvage kinases* (RISK) dans la médiation du pré-conditionnement [5, 6]. Schématiquement, il existe un niveau de preuve croissant en faveur de l'implication d'au moins deux voies de signalisation en aval des ligands inducteurs: la voie phosphatidylinositol 3-OH kinase (PI3K)/Akt et la voie des *mitogen-activated protein kinases* (MAPK) impliquant les p38 MAPK et l'activation de ERK (*extracellular regulated kinase*). Ces deux voies convergent pour inhiber la *glycogen synthase kinase 3 β* (GSK-3 β), dernière étape connue en amont de l'effecteur supposé du pré-conditionnement. Le candidat le plus sérieux au rôle d'effecteur de la cardioprotection est sans aucun doute représenté par le PTP, en particulier parce qu'un prétraitement par la CsA, réalisé *in vivo*, reproduit l'intégralité du bénéfice du pré-conditionnement en termes de protection cellulaire (effet anti-nécrotique et anti-apoptotique) mais aussi de phénotype mitochondrial [7, 8].

Les voies de signalisation mises en jeu dans le post-conditionnement sont aujourd'hui moins bien connues que celles du pré-conditionnement. Cependant, il est assez probable que pré-conditionnement et post-conditionnement ne soient que deux modalités d'un même mécanisme de cytoprotection, ce qui implique des voies de signalisation très proches. Le mécanisme de la protection obtenue par le post-conditionnement a initialement été attribué à une limitation de la production des ROS dans les premières minutes de la reperfusion [9]. Par la suite, le rôle protecteur de l'activation des kinases de la voie RISK a également pu être démontré dans cette nouvelle modalité de protection cellulaire [6]. De façon schématique, le signal cytoprotecteur est véhiculé par deux cascades intracellulaires, celle de la phosphatidylinositol-3 kinase-Akt et celle de ERK *via* l'activation de récepteurs membranaires dont les *triggers* pourraient aussi être l'adénosine, les dérivés opioïdes ou la bradykinine (**fig. 2**).

Récemment, notre laboratoire a montré que l'inactivation au cours du post-conditionnement de la GSK-3 β , kinase terminale de la voie RISK, limitait les lésions de reperfusion [10]. Il est par ailleurs possible que la persistance d'une acidose intracellulaire pendant les premières minutes de la reperfusion, maintenant le PTP en position fermée, soit également un élément de régulation permettant la mise en jeu de cette voie RISK (**fig. 2**) [11].

Le rôle d'effecteur du PTP dans ces mécanismes de protection a été démontré par notre équipe à l'aide d'un modèle *in vivo* d'infarctus chez le lapin [6]. En effet, l'administration lors de la reperfusion de CsA ou de ses analogues non immunosuppresseurs (spécifiques de la cyclophiline D), reproduit intégralement le bénéfice du post-conditionnement en termes de

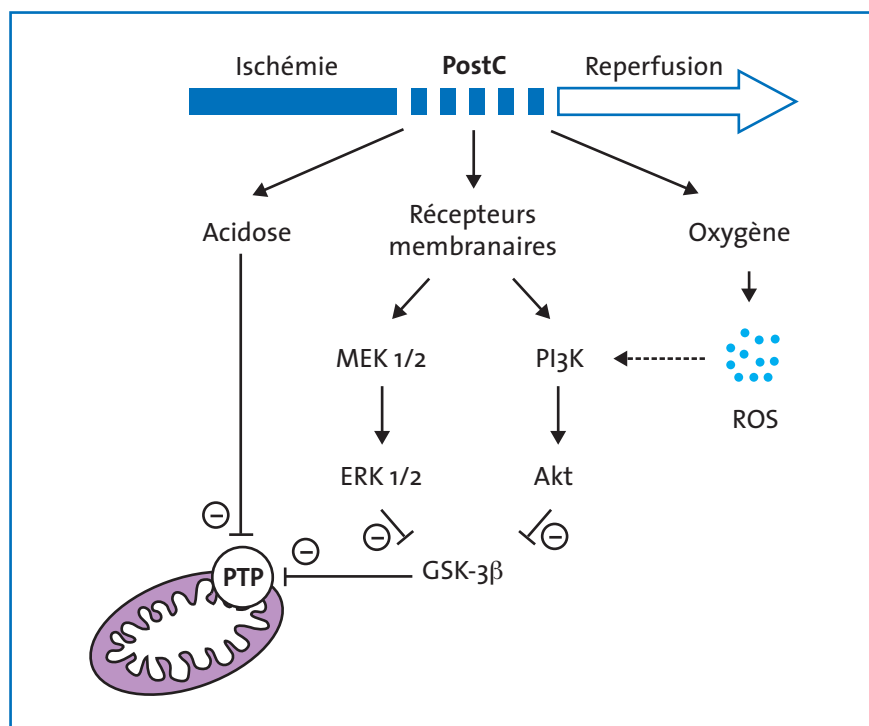


FIG. 2 : Signalisation du post-conditionnement ischémique. Le signal cytoprotecteur du post-conditionnement (PostC) est véhiculé par deux cascades intracellulaires : celle de la phosphatidylinositol-3 kinase-Akt (PI3-Akt) et celle de l'extracellular signal regulated kinase (MEK-ERK), qui inhibent la glycogène synthase kinase-3β (GSK-3β). Le post-conditionnement prolonge également l'acidose intracellulaire pendant les premières minutes de reperfusion et module la production des radicaux libres de l'oxygène (ROS). Tous ces processus concourent à inhiber l'ouverture du pore de transition de perméabilité mitochondriale (PTP), effecteur final de ce mécanisme de protection cellulaire.

limitation de la mort cellulaire [12]. Ces résultats ont été à l'origine des premières applications cliniques de post-conditionnement pharmacologique par la CsA à la phase aiguë de l'infarctus du myocarde chez l'Homme [13].

Ubiquité des mécanismes mitochondriaux de protection cellulaire

Des mécanismes d'ischémie-reperfusion à l'échelle de l'organe, c'est-à-dire d'hypoxie-réoxygénation à l'échelon cellulaire, sont à l'origine de nombreux processus physiopathologiques responsables de défaillance d'organes [14]. Quel que soit l'organe considéré (cœur, cerveau, foie, rein...), la mitochondrie a le même rôle détermi-

nant dans les désordres de l'homéostasie cellulaire, mais aussi celui d'effecteur des signaux cytoprotecteurs laissant entrevoir de nouveaux espoirs thérapeutiques pour la prise en charge de situations physiopathologiques variées telles que le syndrome coronarien aigu, l'accident vasculaire cérébral, l'arrêt cardiaque ou les états de choc, mais aussi dans la problématique de la transplantation d'organe.

Actuellement, devant chacune de ces situations, la principale option thérapeutique offerte au clinicien consiste à restaurer le flux sanguin le plus rapidement possible dans les organes ischémiques (angioplastie, thrombolyse, remplissage vasculaire,...). **Cependant, si la reperfusion reste le seul moyen de "sauver" les organes**

ischémiques, il est également admis qu'elle peut aussi engendrer par elle-même (et de façon paradoxale) d'autres lésions cellulaires en lien avec l'ouverture du PTP [15]. Les données actuelles sur les conséquences cellulaires de l'ischémie-reperfusion sont principalement issues de travaux sur le myocarde et le cerveau, même si les mécanismes mitochondriaux impliqués sont largement retrouvés dans tous les autres organes étudiés [14].

Les découvertes récentes autour de la capacité qu'ont les organes d'être postconditionnés, au-delà des barrières d'espèces animales, par l'ischémie-reperfusion ou plus directement par une intervention pharmacologique d'inhibition du PTP laissent entrevoir de nouvelles perspectives de prise en charge de ces situations physiopathologiques [14]. **Il est aujourd'hui parfaitement admis que les progrès à venir en matière de prise en charge de l'infarctus du myocarde chez l'Homme passeront par la mise en œuvre, le plus tôt possible à la reperfusion, de stratégies de post-conditionnement ischémique et/ou pharmacologique, actives *in fine* sur la mitochondrie [15].** Des résultats expérimentaux préliminaires, de post-conditionnement appliqués par exemple à l'ischémie-reperfusion régionale (en particulier cérébrale) [16] ou globale (au cours de l'arrêt cardiaque) [17], laissent également entrevoir l'espoir de nouveaux champs d'application du post-conditionnement chez l'Homme ayant pour cible la mitochondrie.

Bibliographie

1. SARASTE M. Oxydative phosphorylation at the fin de siècle. *Science*, 1999; 283: 1488-93.
2. CROMPTON M. Mitochondrial intermembrane junctional complexes and their role in cell death. *J physiol*, 2000; 529: 11-21.

3. HALESTRAP AP, CLARKE SJ, JAVADOV SA. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion – a target for cardioprotection. *Cardiovasc Res*, 2004; 61: 372-85.
4. FORTE M, BERNARDI P. Genetic dissection of the permeability transition pore. *J Bioenerg Biomembr*, 2005; 37: 121-8.
5. YELLON DM, DOWNEY JM. Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev*, 2003; 83: 1113-51.
6. HAUSENLOY DJ, YELLON DM. Reperfusion injury salvage kinase signaling: taking a RISK for cardioprotection. *Heart Fail Rev*, 2007; 12: 217-34.
7. ARGAUD L, GATEAU-ROESCH O, CHALABREYSSE L *et al.* Preconditioning delays Ca²⁺-induced mitochondrial permeability transition. *Cardiovasc Res*, 2004; 61: 115-22.
8. GATEAU-ROESCH O, ARGAUD L, OVIZE M. Mitochondrial permeability transition and postconditioning. *Cardiovasc Res*, 2006; 70: 264-73.
9. ZHAO ZQ, CORVERA JS, HALKOS ME *et al.* Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003; 285: 579-88.
10. GOMEZ L, PAILLARD M, THIBAUT H *et al.* Inhibition of GSK3 β by postconditioning is required to prevent opening of the mitochondrial permeability transition pore during reperfusion. *Circulation*, 2008; 117: 2761-8.
11. COHEN MV, YANG XM, DOWNEY JM. Acidosis, oxygen, and interference with mitochondrial permeability transition pore formation in the early minutes of reperfusion are critical to postconditioning's success. *Basic Res Cardiol*, 2008; 103: 464-71.
12. ARGAUD L, GATEAU-ROESCH O, RAISKY O *et al.* Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition. *Circulation*, 2005; 111: 194-7.
13. PIOT C, CROISILLE C, STAAT P, THIBAUT H *et al.* Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction. *N Engl J Med*, 2008; 359: 473-81.
14. BERNARDI P, KRAUSKOPF A, BASSO E *et al.* The mitochondrial permeability transition from in vitro artifact to disease target. *FEBS J*, 2006; 273: 2077-99.
15. YELLON DM, HAUSENLOY DJ. Myocardial reperfusion injury. *N Engl J Med*, 2007; 357: 1121-35.
16. YU G, HESS DC, BORLONGAN CV. Combined cyclosporine-A and methylprednisolone treatment exerts partial and transient neuroprotection against ischemic stroke. *Brain Res*, 2004; 1018 : 32-7.
17. COUR M, LOUFOUAT J, PAILLARD M *et al.* Inhibition de l'ouverture du pore de transition de perméabilité mitochondriale et protection cellulaire dans l'arrêt cardio-circulatoire. *Arch Mal Cœur Vais*, 2009; 102, Suppl 1: S58.

L'auteur a déclaré ne pas avoir de conflit d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.