Rôle des altérations mitochondriales dans le développement de l'insulino-résistance musculaire

Jennifer RIEUSSET, DR2 INSERM
Laboratoire de Cardiométabolisme, diabète et nutrition (CarMeN)
INSERM U1060, Lyon
jennifer.rieusset@univ-lyon1.fr

Déclaration d'intérêts de Jennifer Rieusset

- **Activités de conseil, fonctions de gouvernance, rédaction de rapports**

  Non

- **Essais cliniques, autres travaux, communications de promotion**

  Non

- **Intérêts financiers (actions, obligations)**

  Non

- **Liens avec des personnes ayant des intérêts financiers ou impliquées dans la gouvernance**

  Non

- **Réception de dons sur une association dont je suis responsable**

  Non

- **Perception de fonds d'une association dont je suis responsable et qui a reçu un don**

  Non

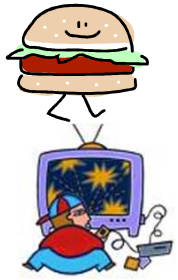
- **Détention d'un brevet, rédaction d'un ouvrage utilisé par l'industrie**

  Non

L'insulino-résistance: une perturbation métabolique associée à de nombreuses pathologies

Facteurs génétiques

Facteurs environnementaux



Obésité

Syndrome métabolique

Insulino-résistance

Lipodystrophie

Veillissement

Infections

Troubles du sommeil

Grossesse

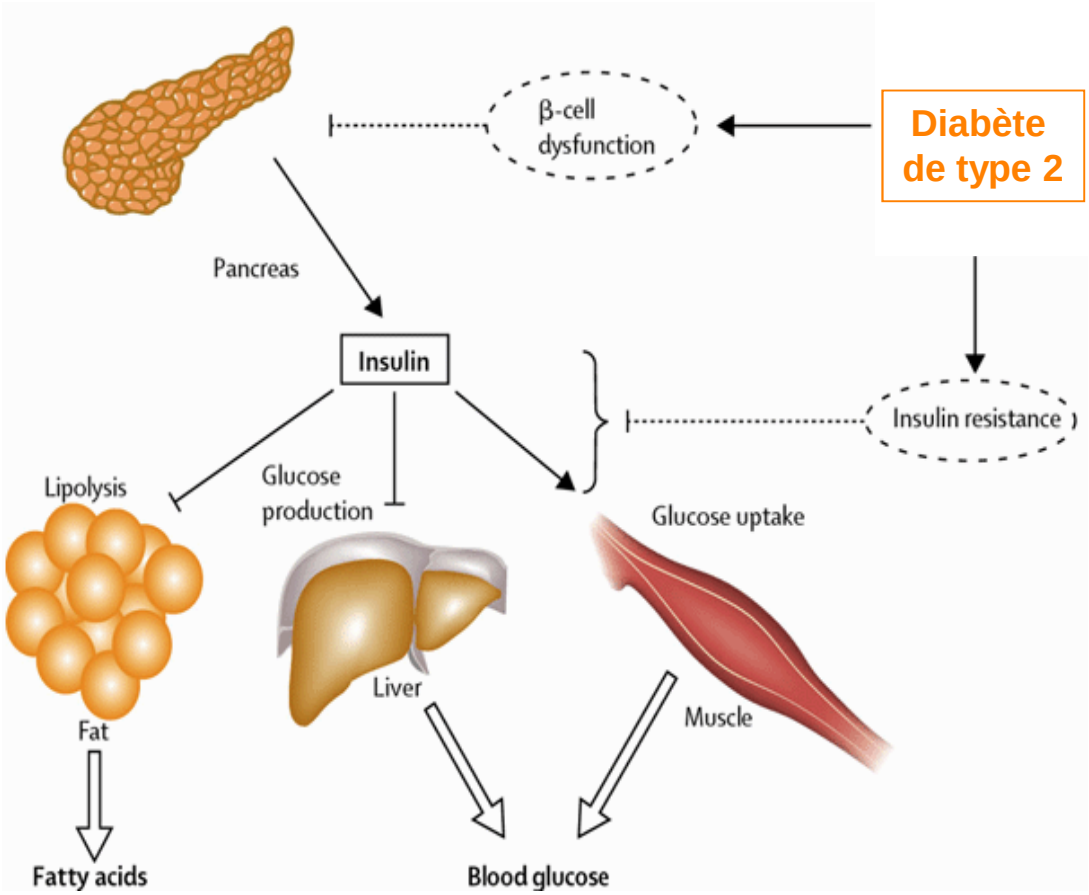
Apnée du sommeil

Diabète type 2

Défaut insulino-sécrétion

Définition et conséquences de l'insulino-résistance

Insulino-résistance = défaut d'action de l'insuline dans ses tissus cibles



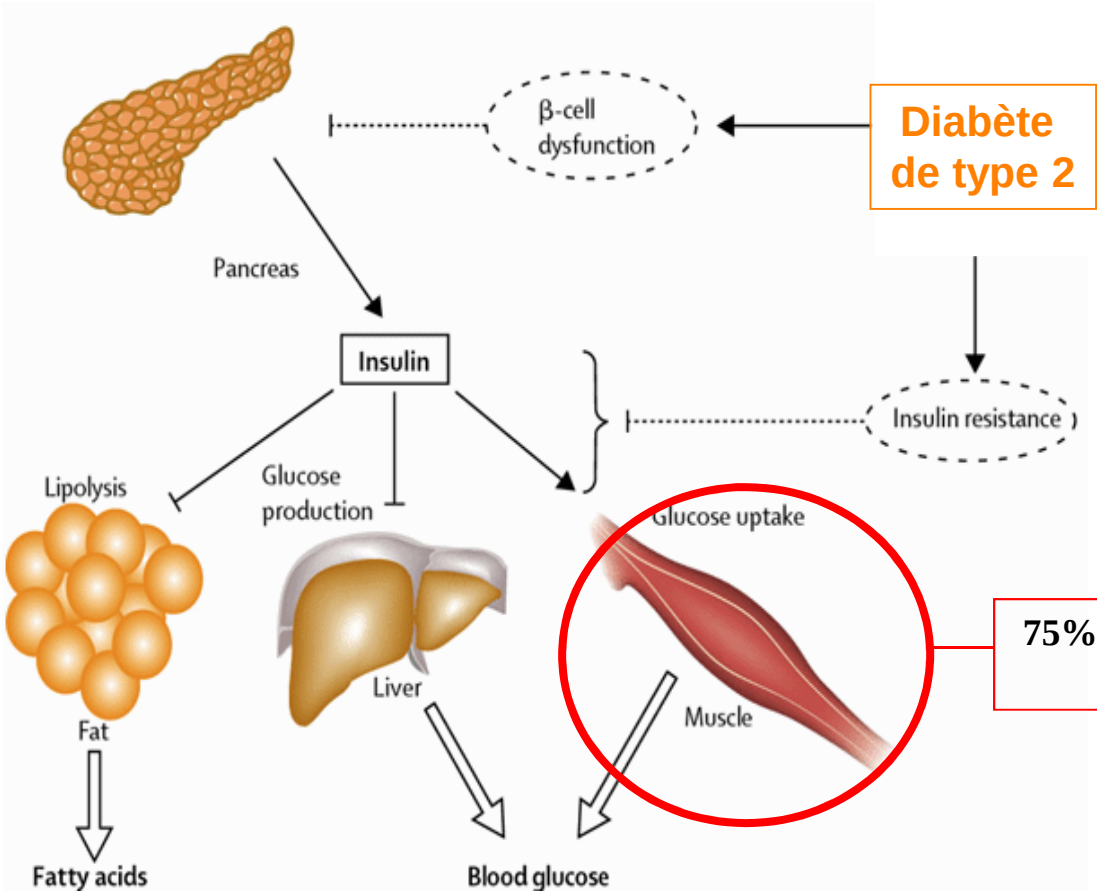
Augmentation de la lipolyse

Augmentation production hépatique de glucose

Inhibition utilisation du glucose

Définition et conséquences de l'insulino-résistance

Insulino-résistance = défaut d'action de l'insuline dans ses tissus cibles



Diabète de type 2

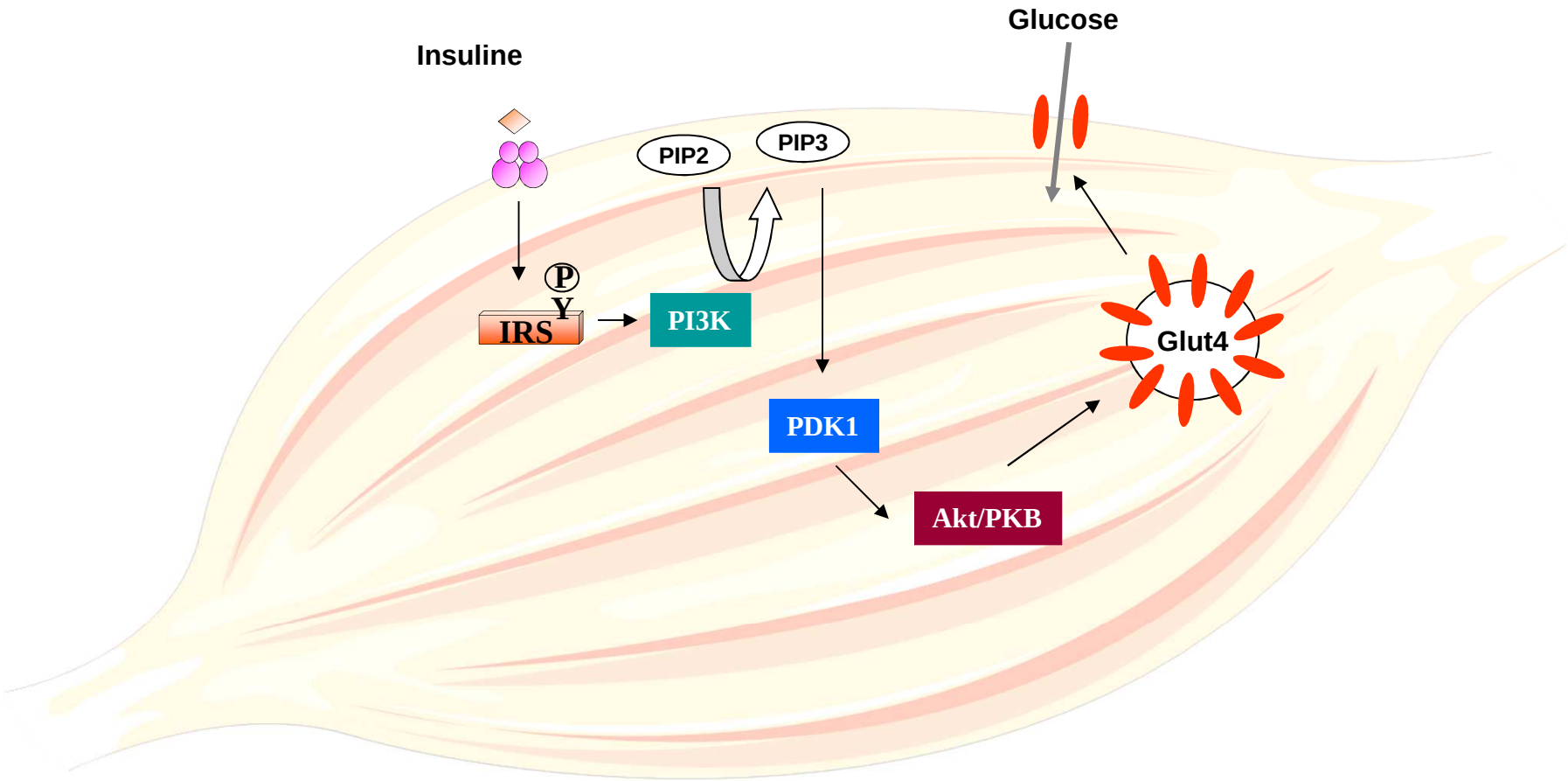
75% de l'utilisation de glucose stimulée par insuline

Augmentation de la lipolyse

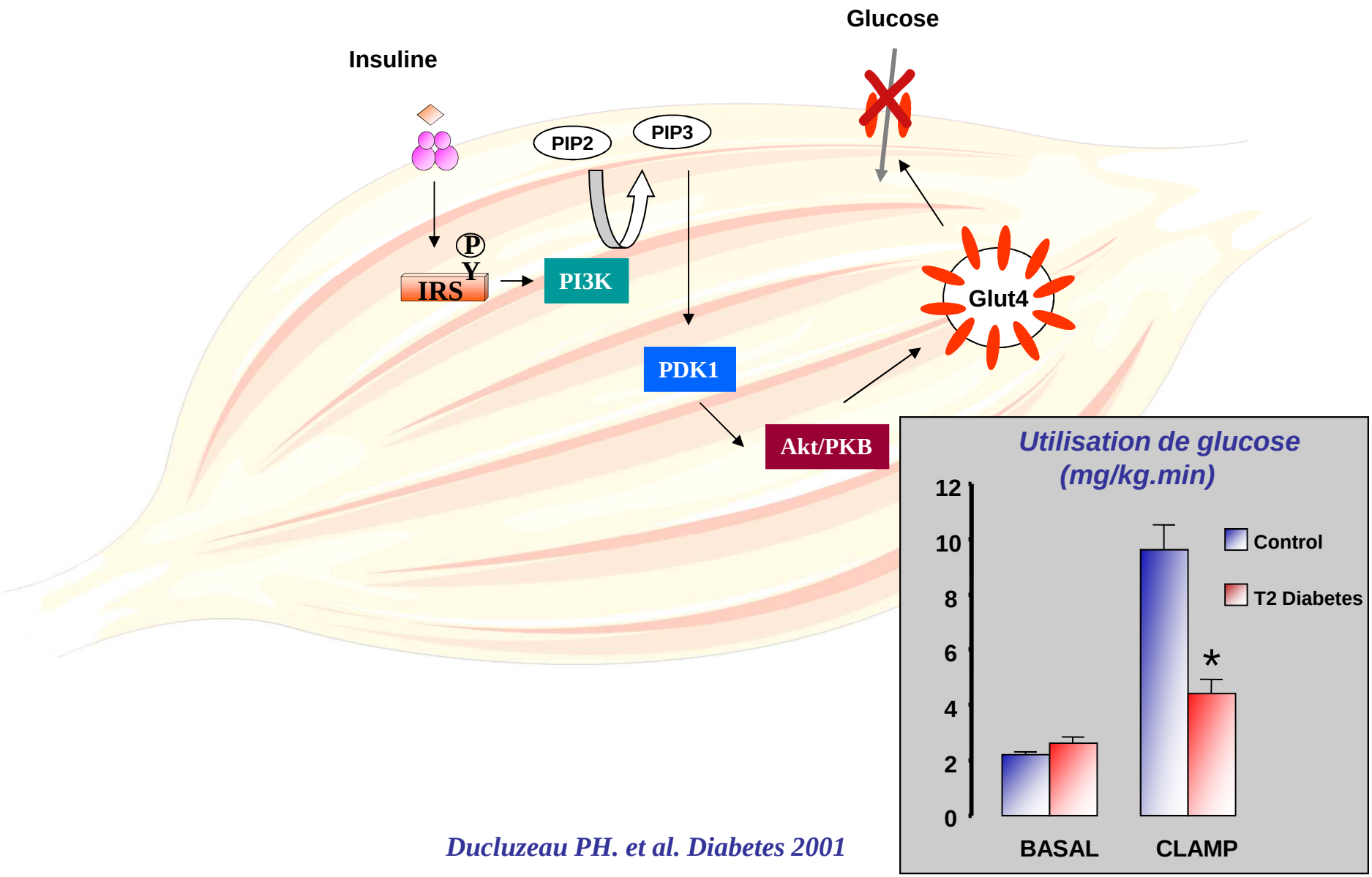
Augmentation production hépatique de glucose

Inhibition utilisation du glucose

Homéostasie du glucose dans le muscle squelettique

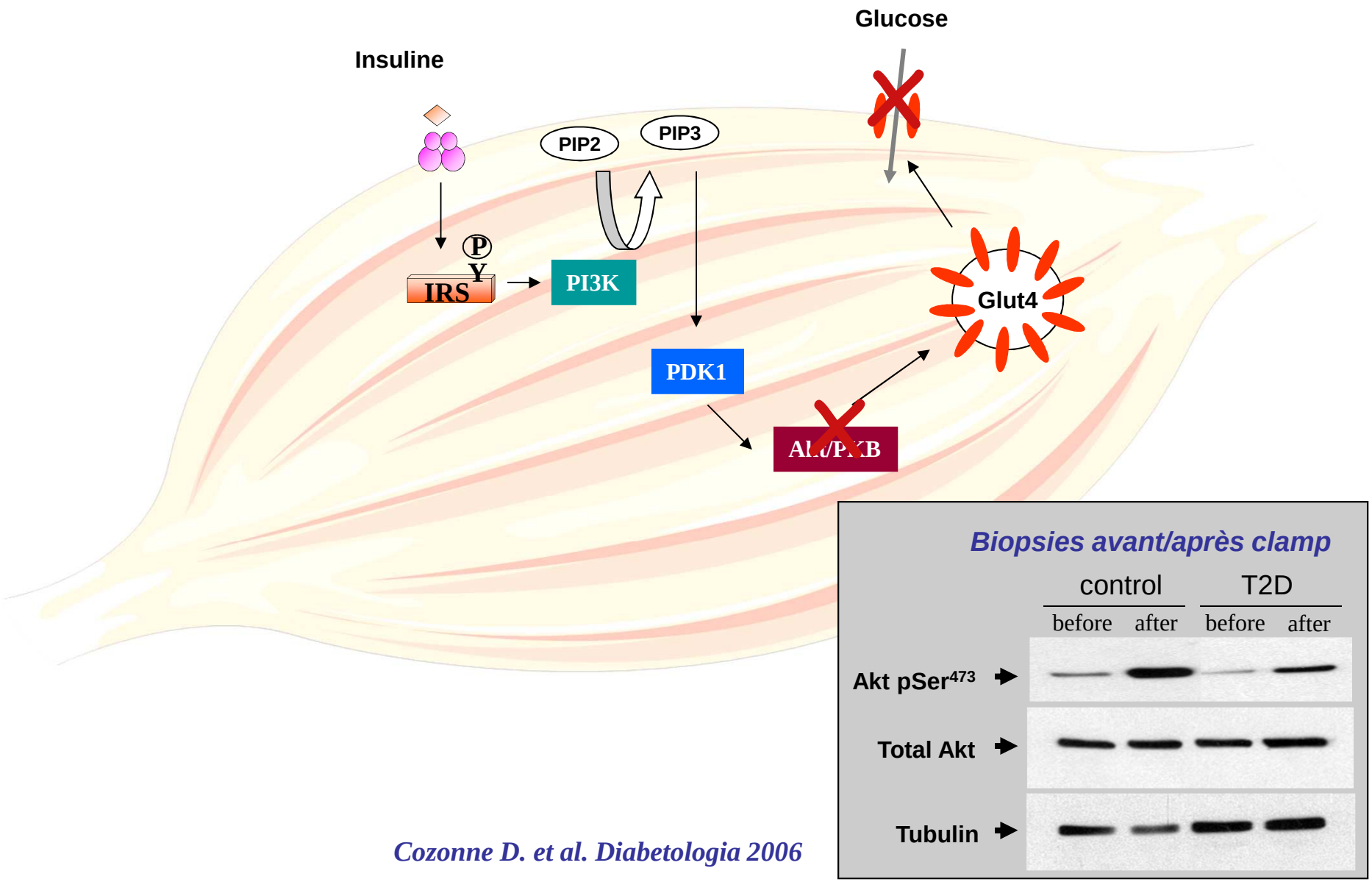


Altérations du métabolisme du glucose dans le muscle en situation de DT2



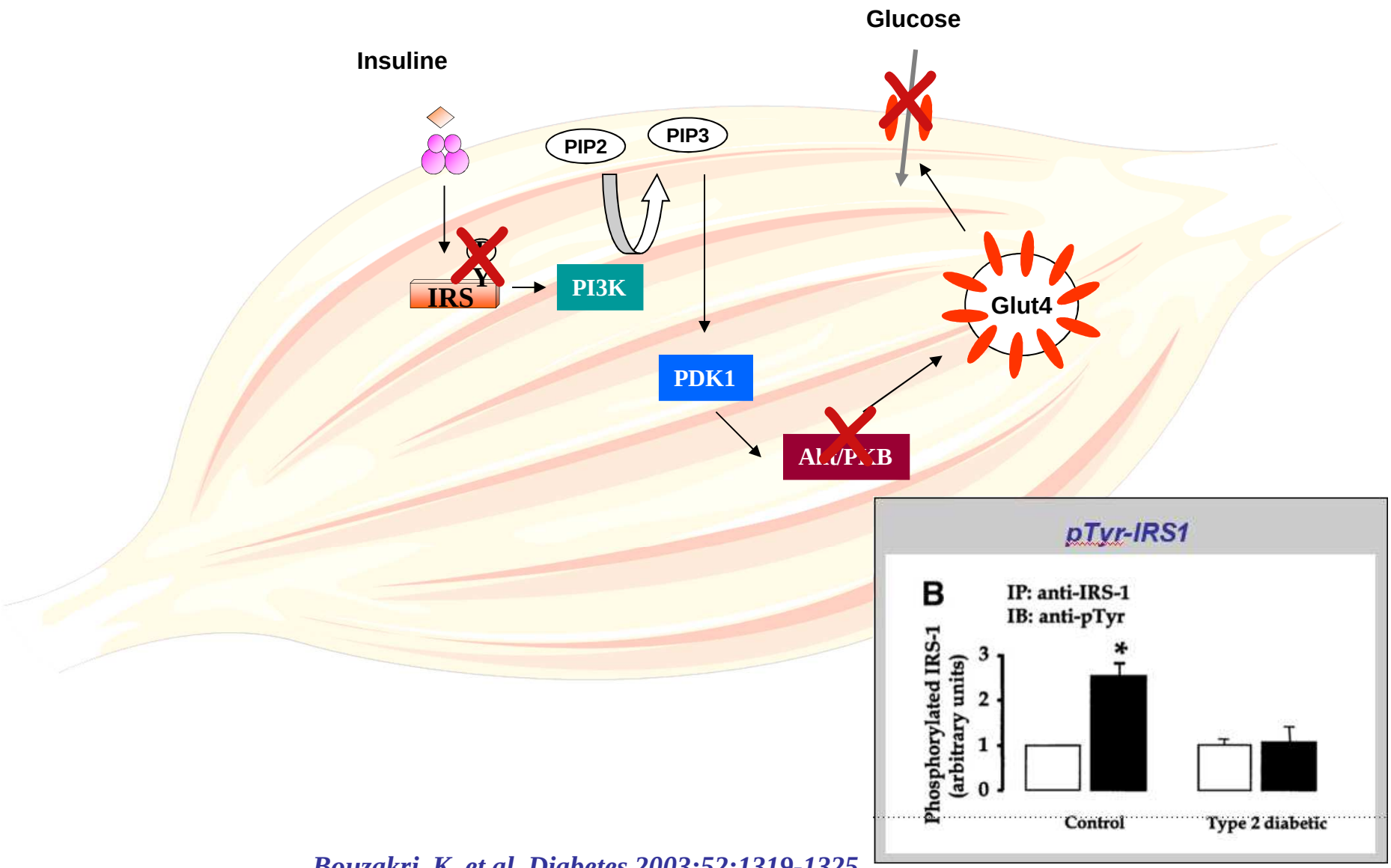
Ducluzeau PH. et al. Diabetes 2001

Altérations de la signalisation de l'insuline dans le muscle de patients diabétiques



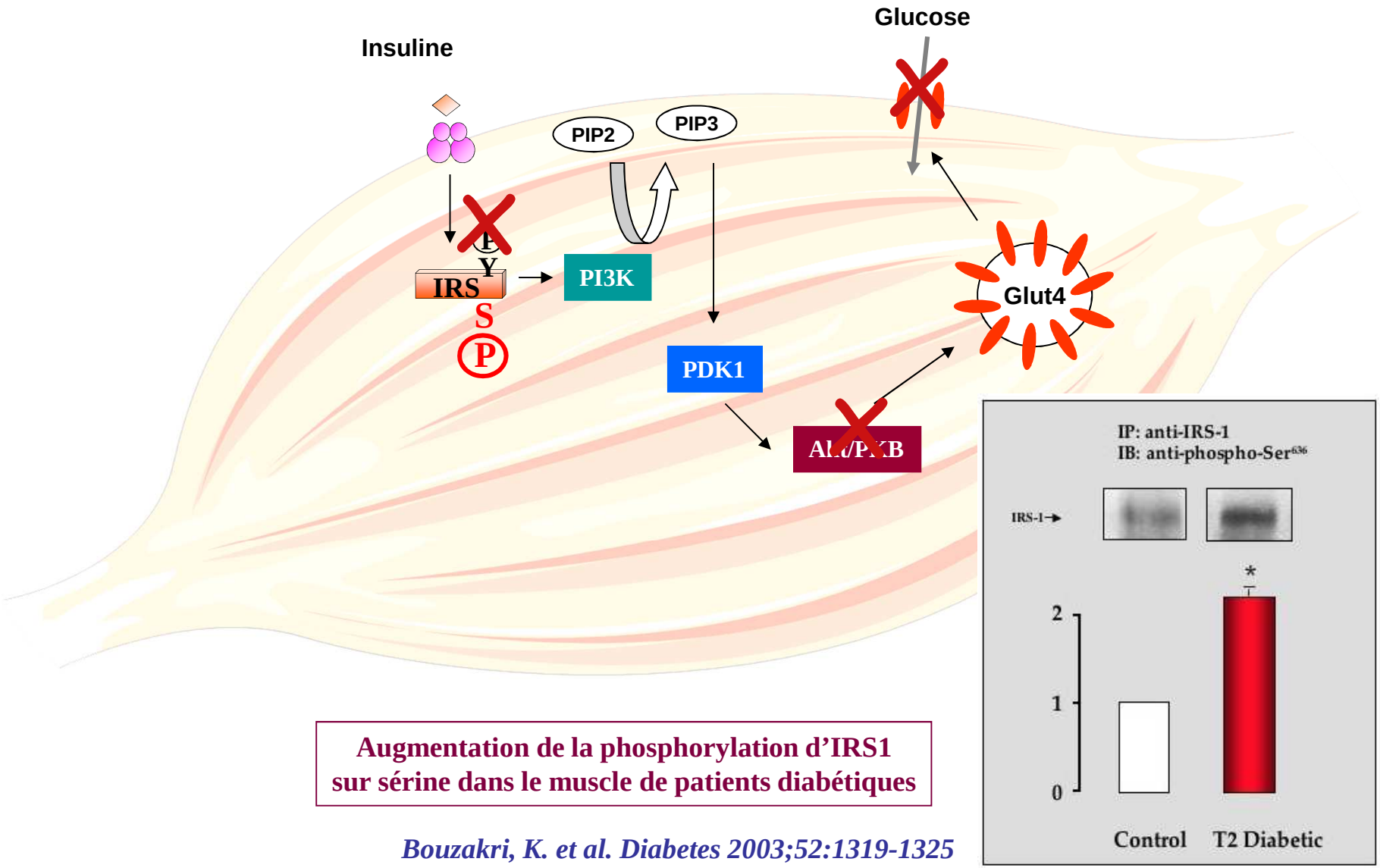
Cozonne D. et al. Diabetologia 2006

Altérations de la signalisation de l'insuline dans le muscle de patients diabétiques



Bouzakri, K. et al. Diabetes 2003;52:1319-1325

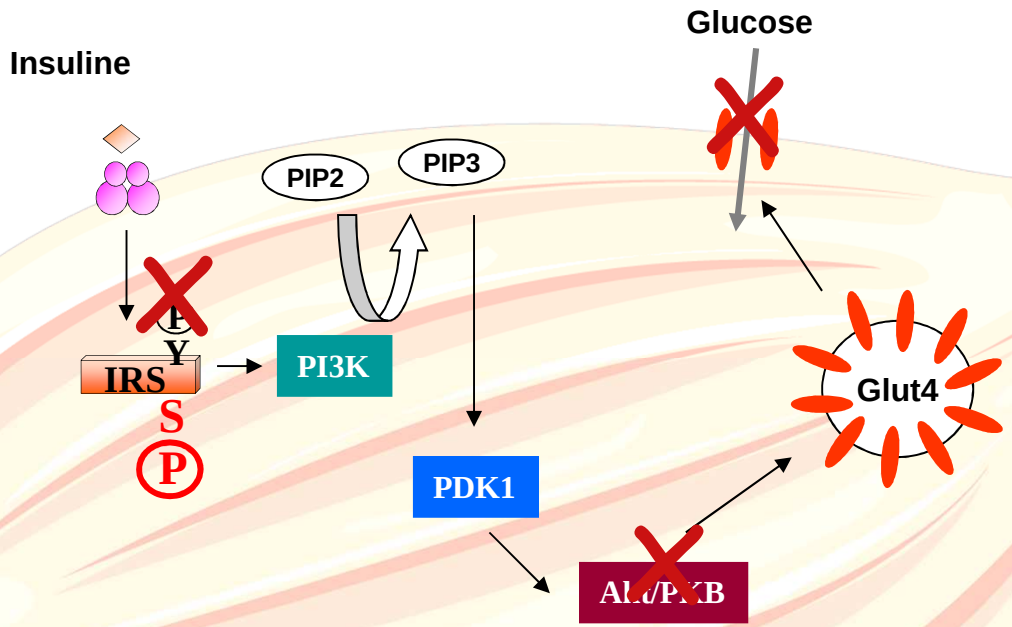
Altérations de la signalisation de l'insuline dans le muscle de patients diabétiques



Augmentation de la phosphorylation d'IRS1 sur sérine dans le muscle de patients diabétiques

Bouzakri, K. et al. Diabetes 2003;52:1319-1325

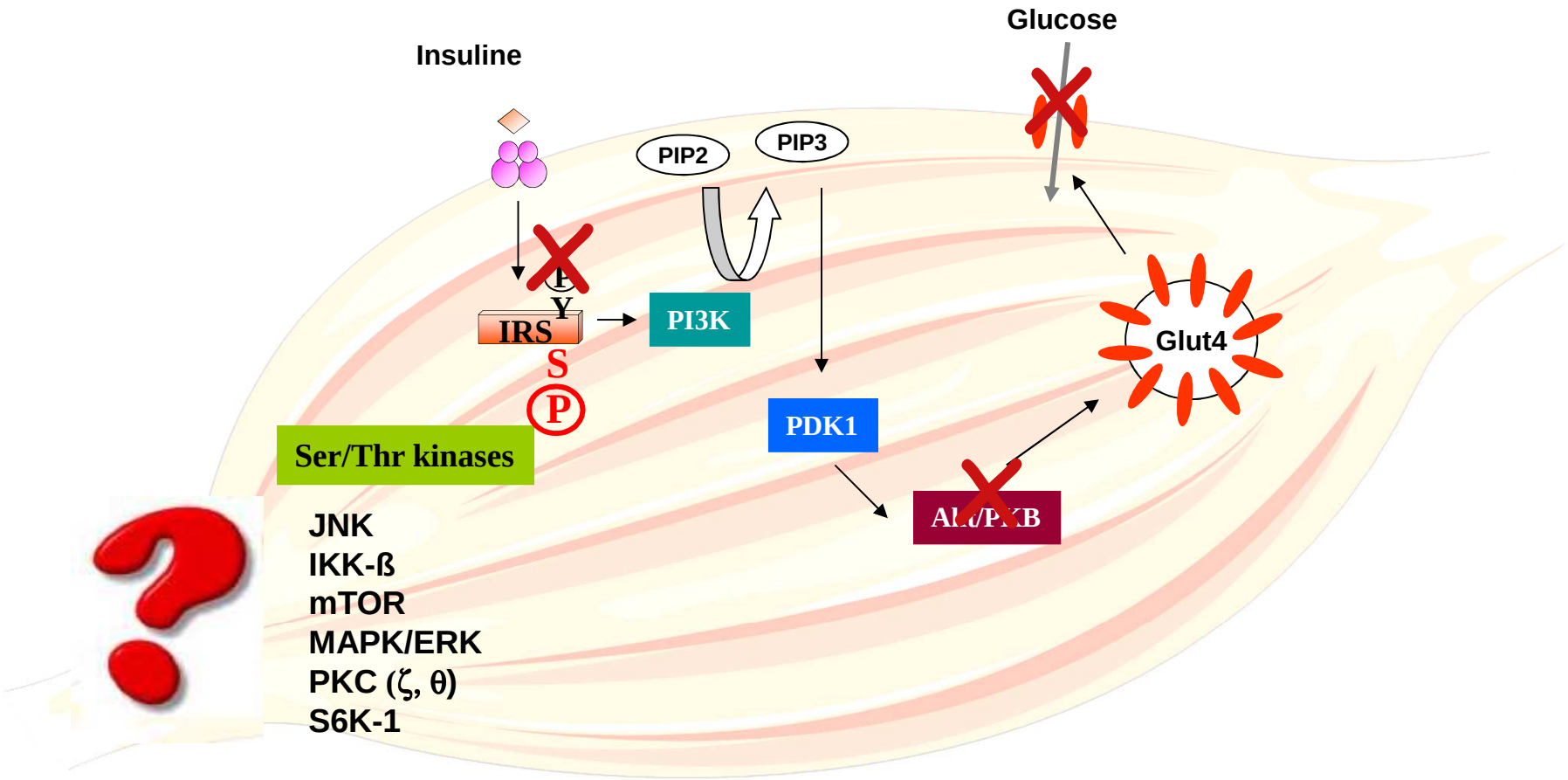
Altérations de la signalisation de l'insuline dans le muscle de patients diabétiques



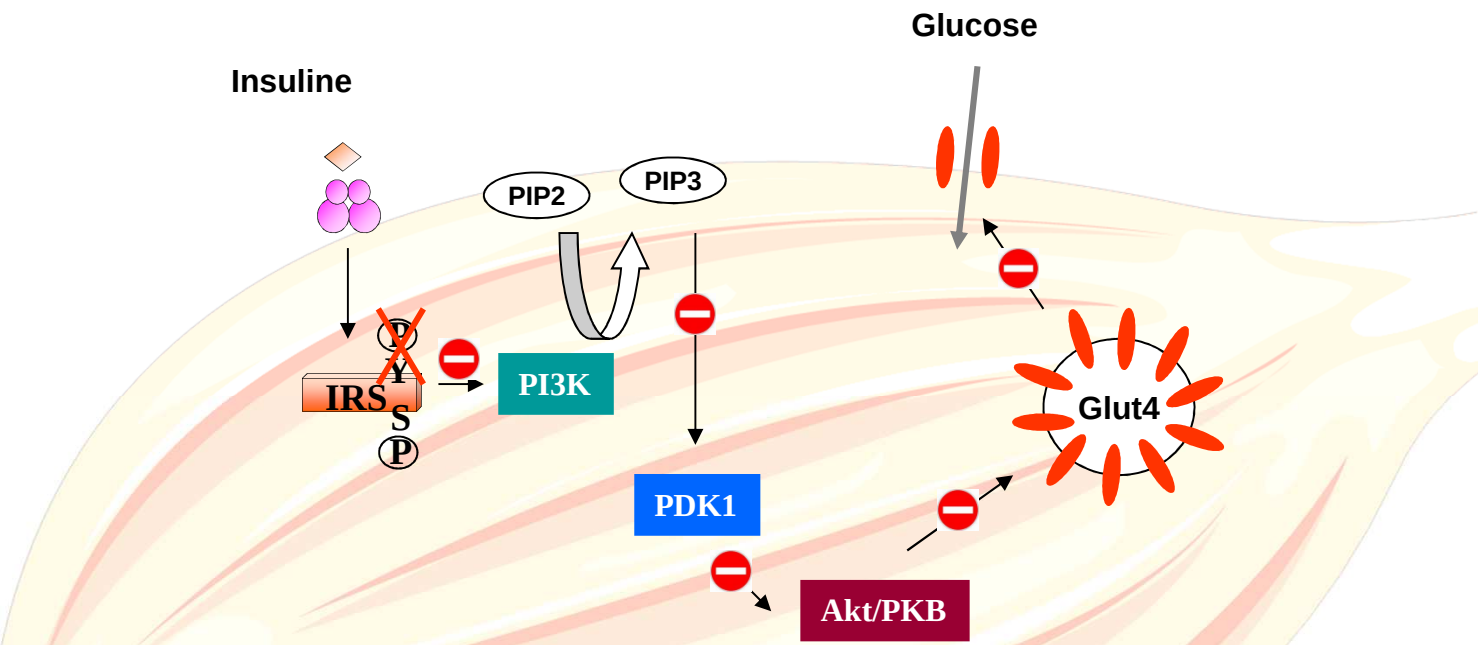
Muscle-Specific IRS-1 Ser→Ala Transgenic Mice Are Protected From Fat-Induced Insulin Resistance in Skeletal Muscle

Katsutaro Morino,[1,2] Susanne Neschen,[1,2] Stefan Bilz,[2] Saki Sono,[2] Dimitrios Tsirigotis,[2,3] Richard M. Reznick,[2,3] Irene Moore,[1] Yoshio Nagai,[1] Varman Samuel,[2] David Sebastian,[2] Morris White,[4] William Philbrick,[2] and Gerald I. Shulman[1,2,3]

Causes de la phosphorylation d'IRS1 sur sérine?

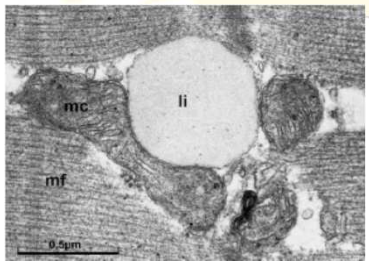


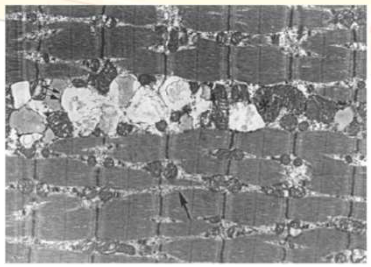
Les altérations du métabolisme lipidique sont associées à l'insulino-résistance.



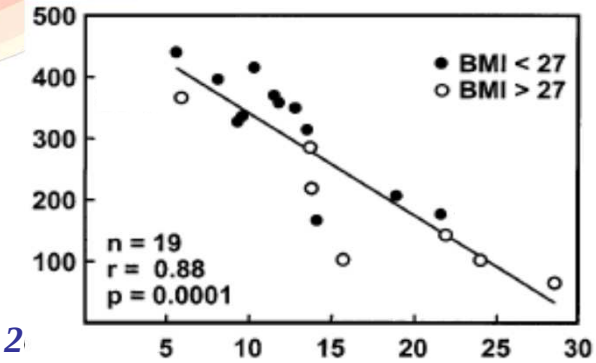
Corrélation négative entre l'accumulation de lipides dans le muscle et la sensibilité à l'insuline

Accumulation intermyofibrillaire de lipides (TG)



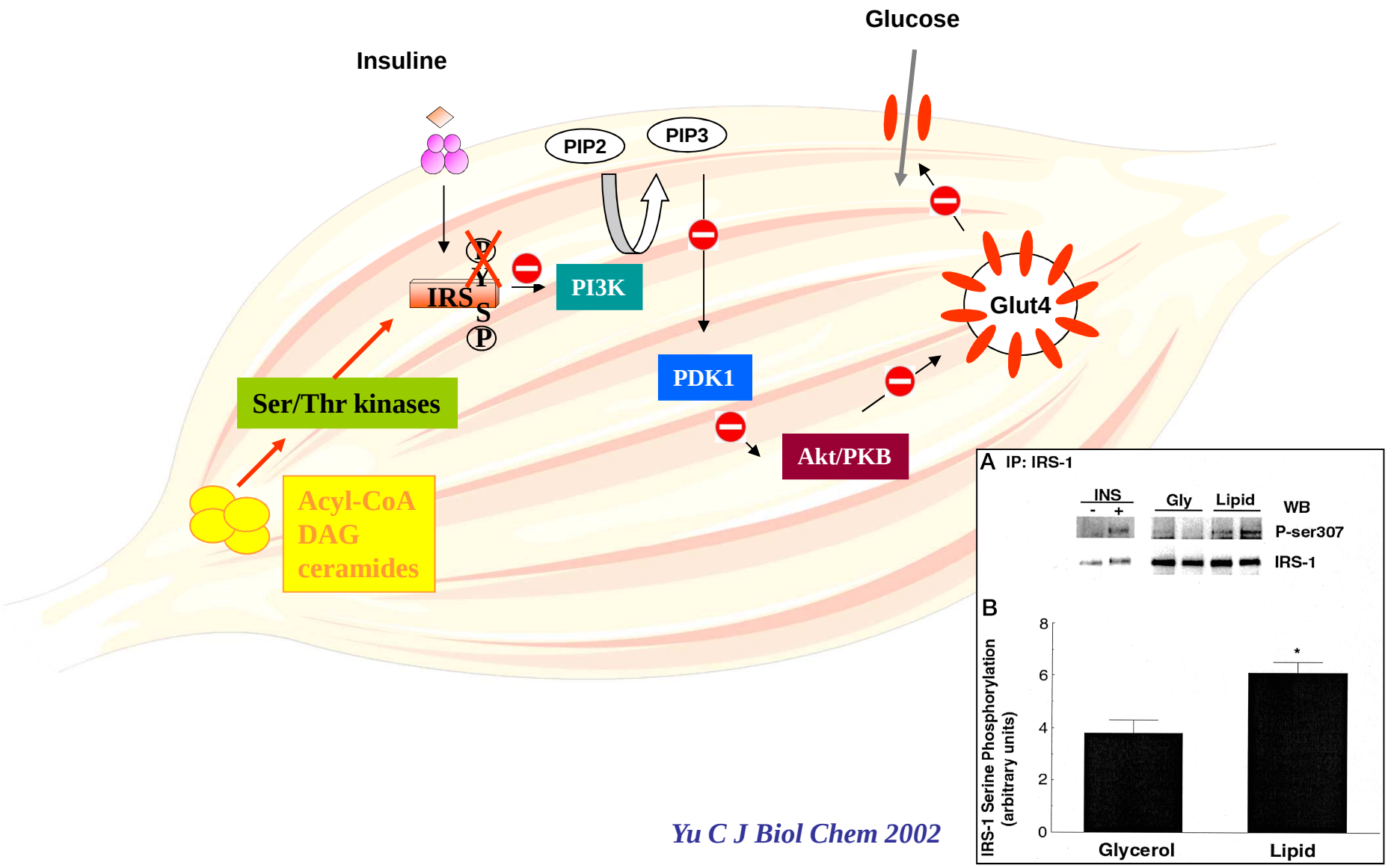


Levin et al, Diabetologia 2001



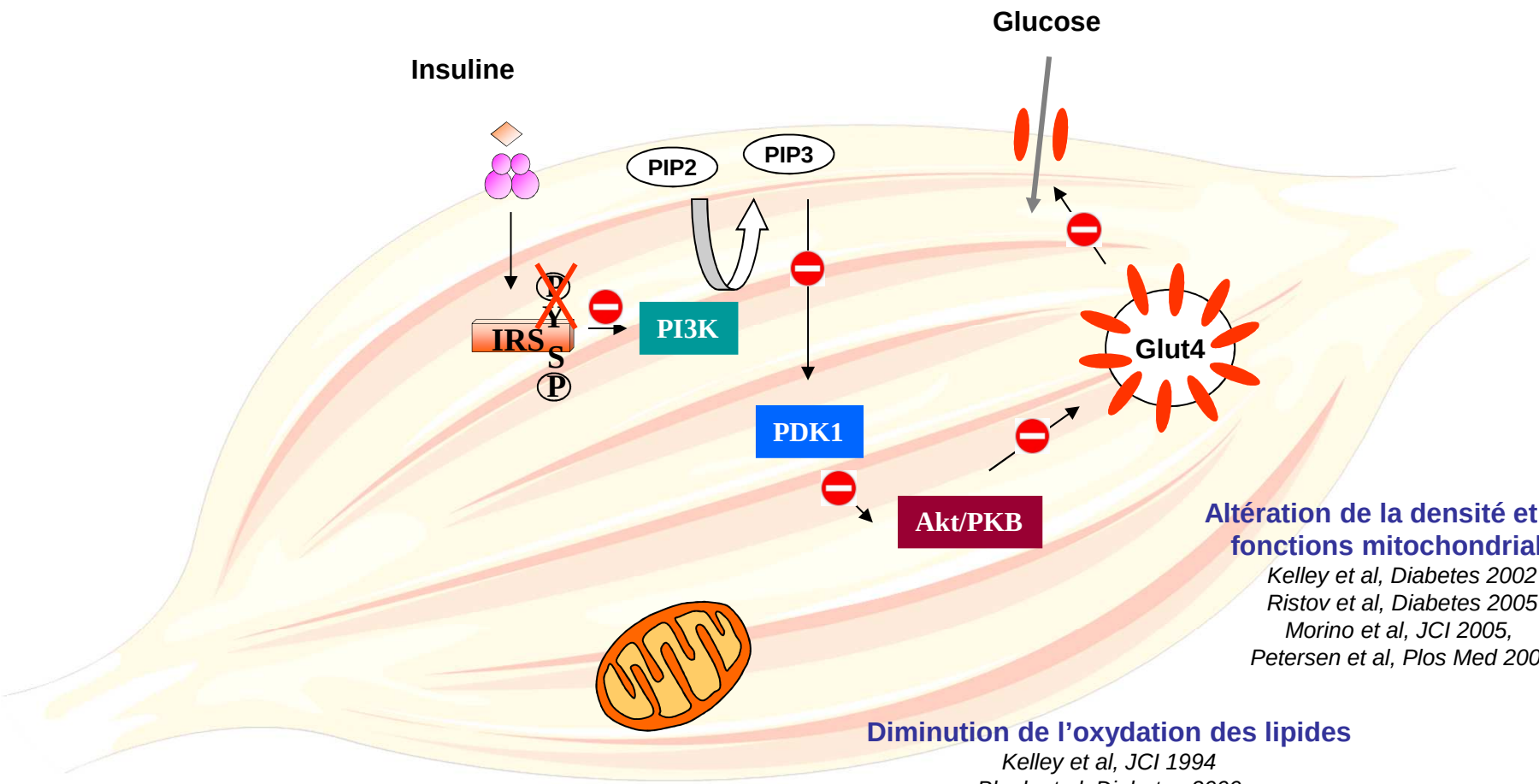
McGarry, Diabetes 2

Mécanismes moléculaires de l'insulino-résistance



Yu C J Biol Chem 2002

Altérations mitochondriales en situation d'insulino-résistance



Altération de la densité et des fonctions mitochondriales

Kelley et al, Diabetes 2002
Ristov et al, Diabetes 2005
Morino et al, JCI 2005,
Petersen et al, Plos Med 2005

Diminution de l'oxydation des lipides

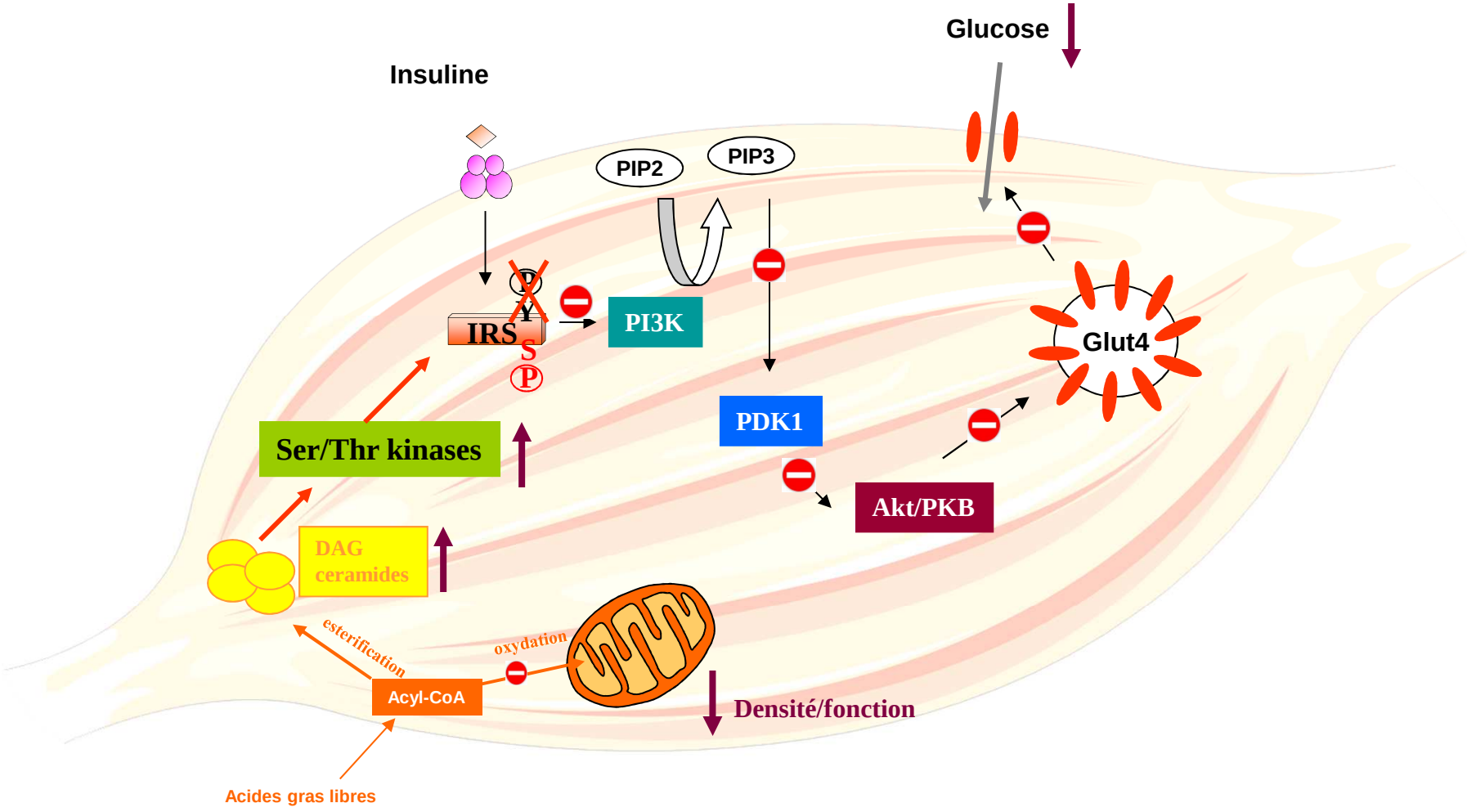
Kelley et al, JCI 1994
Blaak et al, Diabetes 2000
Petersen et al, New England J. Med 2002

Diminution de l'expression des gènes impliqués dans la mitochondriogénèse

Patti ME et al. PNAS 2003
Mootha et al, Nat. Genet. 2003
Debard et al, Diabetologia, 2004

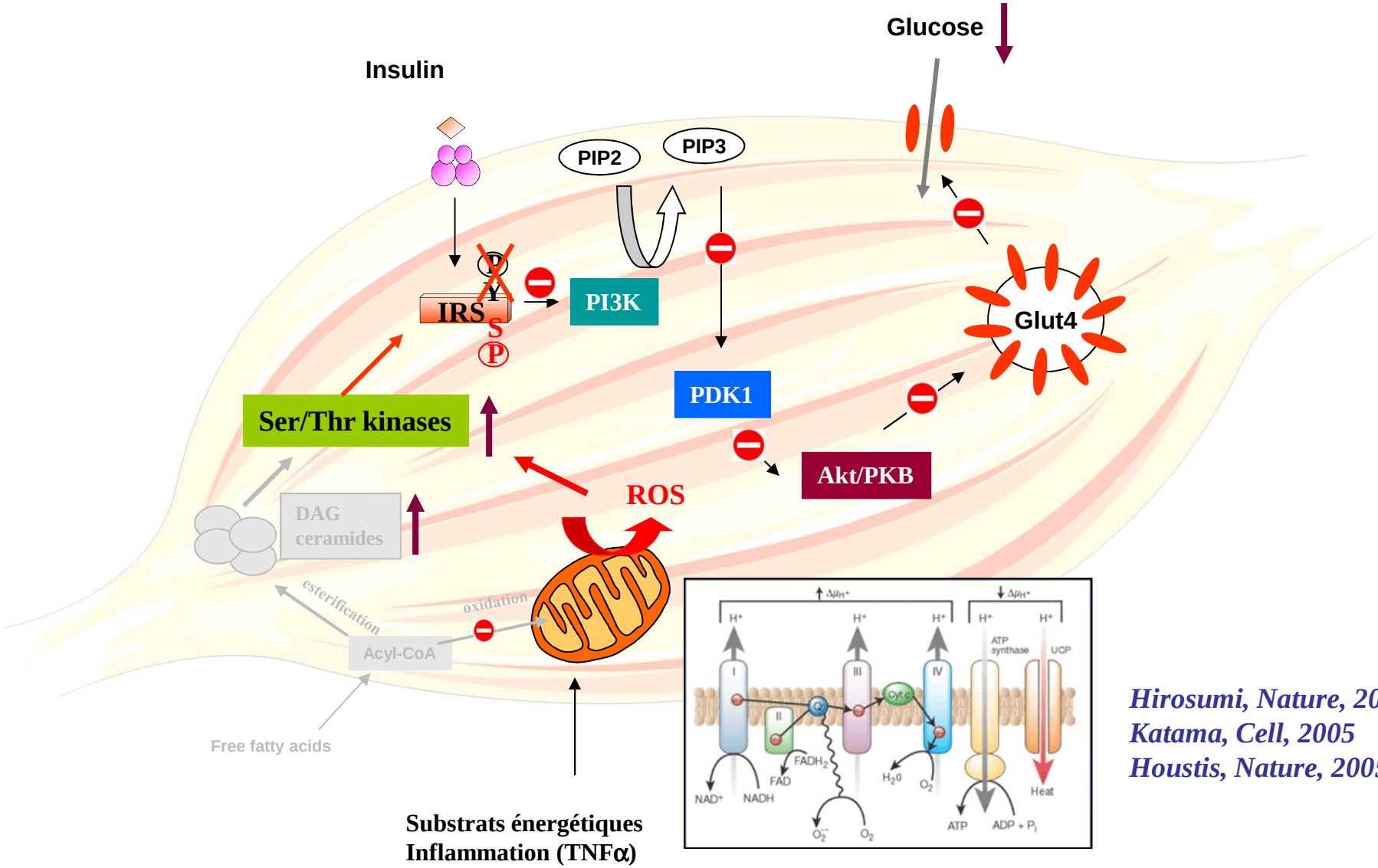
Rôle causal des altérations mitochondriales dans l'insulino-résistance ?

Voie de la lipotoxicité



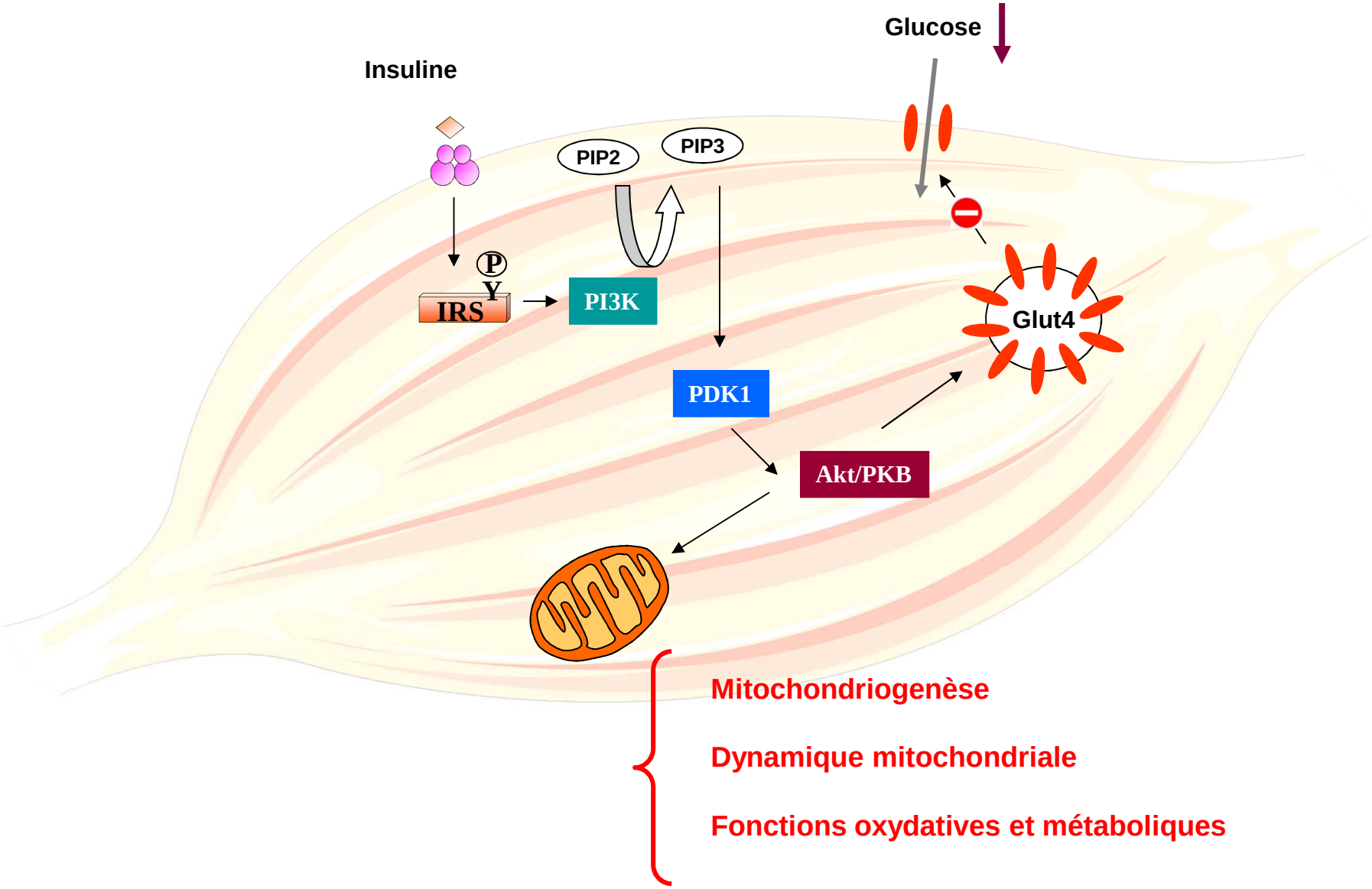
Rôle causal des altérations mitochondriales dans l'insulino-résistance ?

Voie du stress oxydant

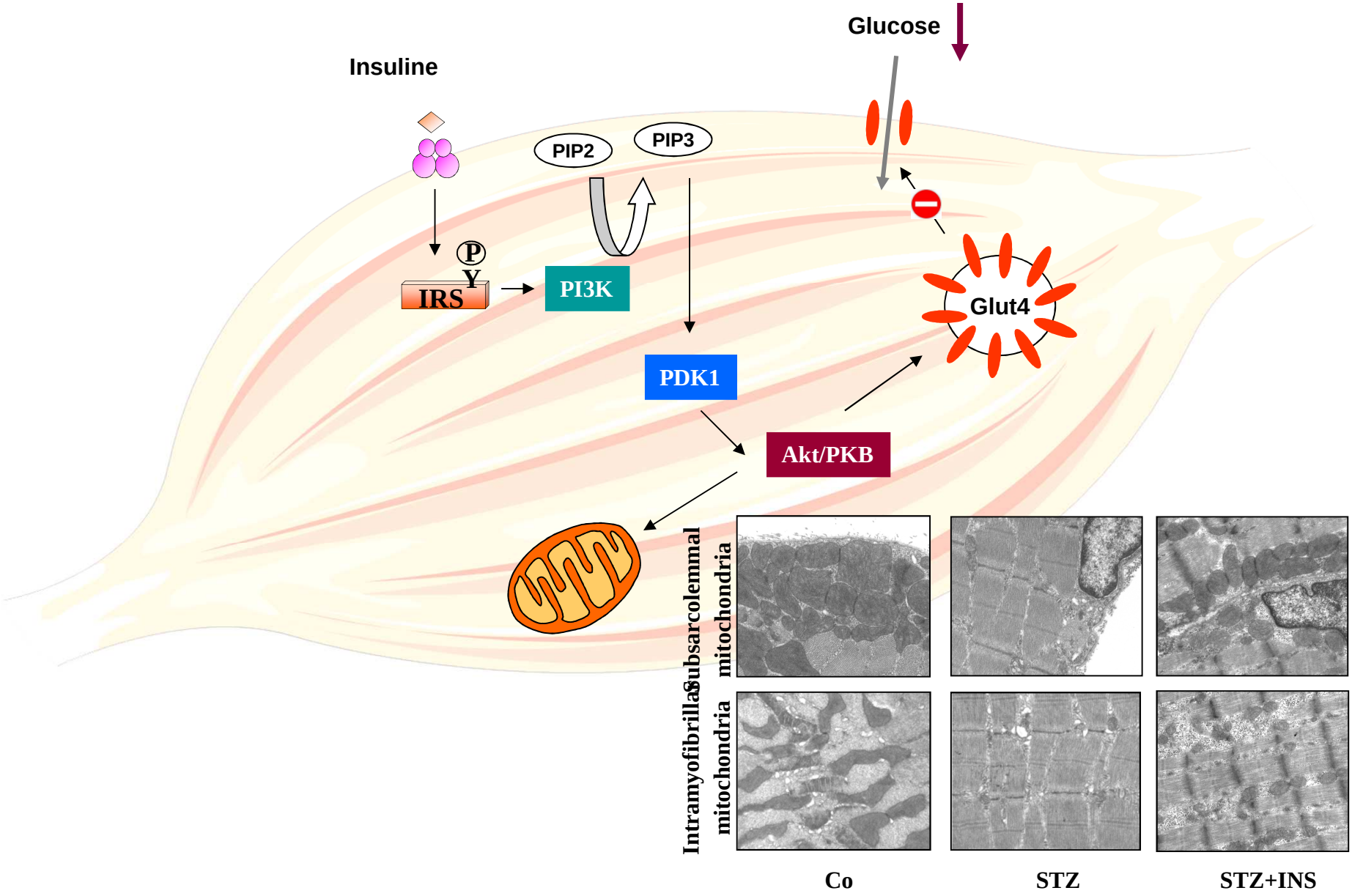


Hirosumi, Nature, 2002
Katama, Cell, 2005
Houstis, Nature, 2005

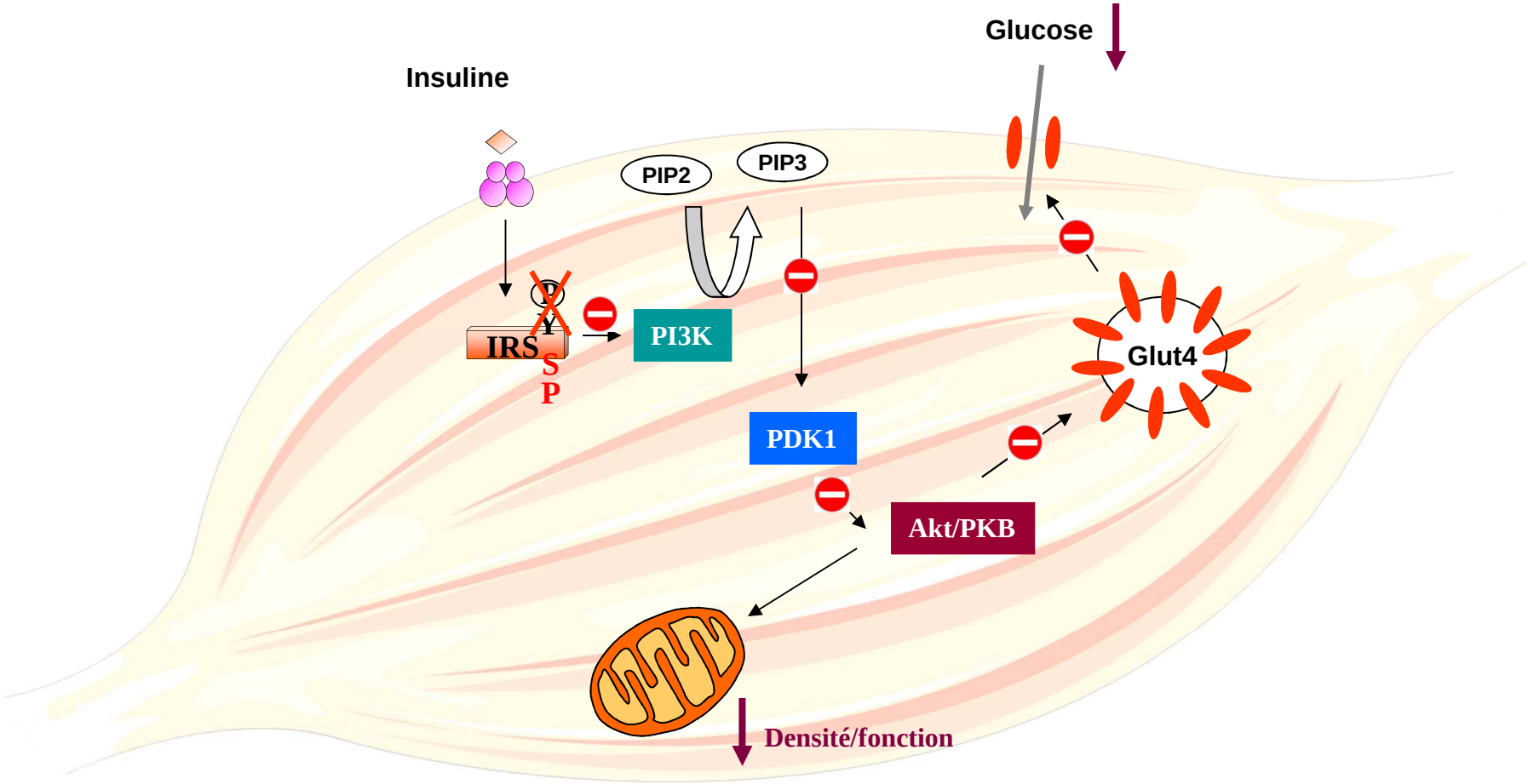
L'insuline régule la biogénèse, la dynamique et la fonction mitochondriale



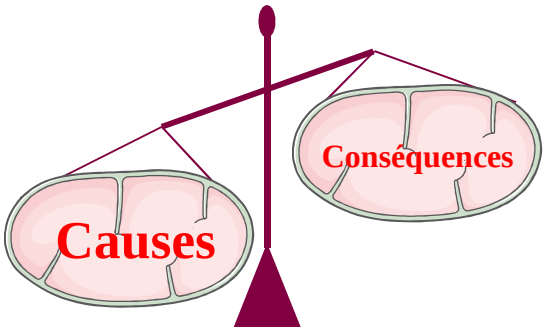
L'insuline régule la biogénèse, la dynamique et la fonction mitochondriale

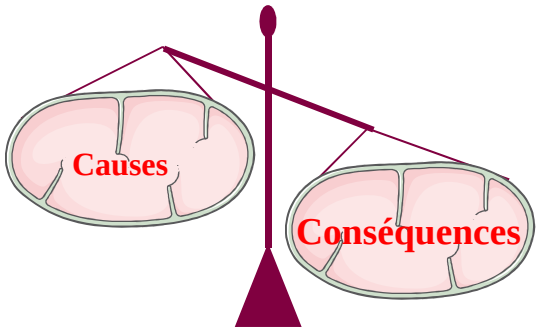


Altérations mitochondriales: une conséquence de l'insulino-résistance



Altérations mitochondriales: cause ou conséquence de l'insulino-résistance?





Shulman, JCI 2000
Lowell, Science 2005
Morino, Diabetes 2006
Lionetti L IJO 2007
Jove M JLR 2004

Wredenberg A BBRC 2006
Turner, Diabetes 2007
Pospisilik, Cell 2007
Bonnard, JCI 2008
Hancock CR PNAS 2008

Kelley AJP 1999
Kelley, Diabetes 2002
Ritov, Diabetes 2005
Petersen, NEJM 2004
Morino, JCI 2005
Kim, AJPEM 2000
Holloway, AJPEM 2007)
Befroy, Diabetes 2007
Heilbronn, JCEM 2007

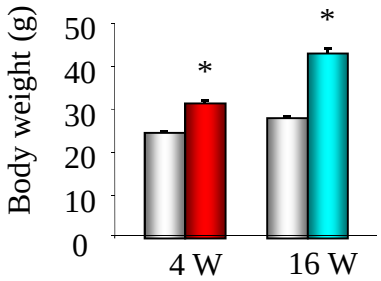
Boushel R Diabetologia 2007
Nair, Diabetes 2008
Rimbert, FEBS letters 2009
Toledo, Diabetes 2008
Rabol, *Metabolism 2009*
Schrauwen-Hinderling VB JCEM 2008
Samocha-Bonet D PLOS One 2012

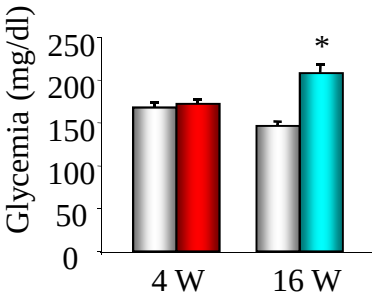
Altérations mitochondriales: cause ou conséquence de l'insulino-résistance?

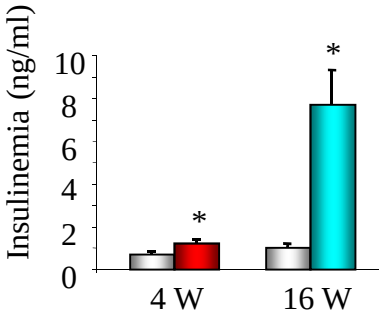
Souris male C57BL/6
(4 semaines)

⇩

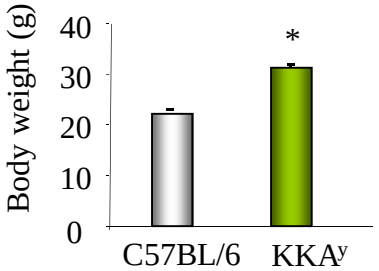
Mise sous régime riche en lipides et en sucrose pendant 4 ou 16 semaines

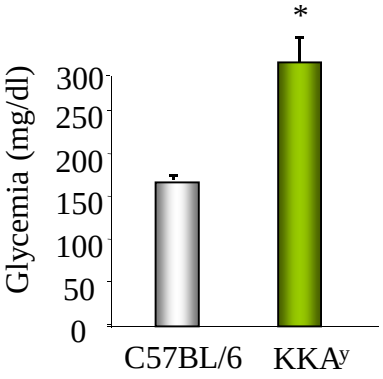


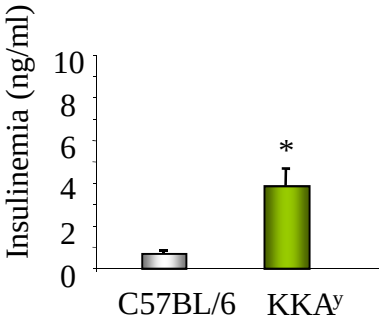




Souris male KKA^y
(9 semaines)





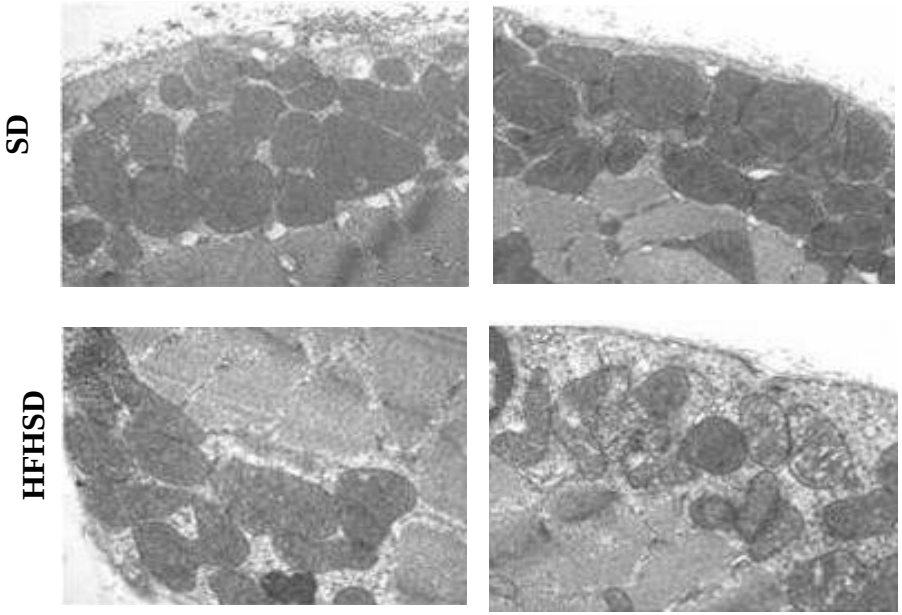


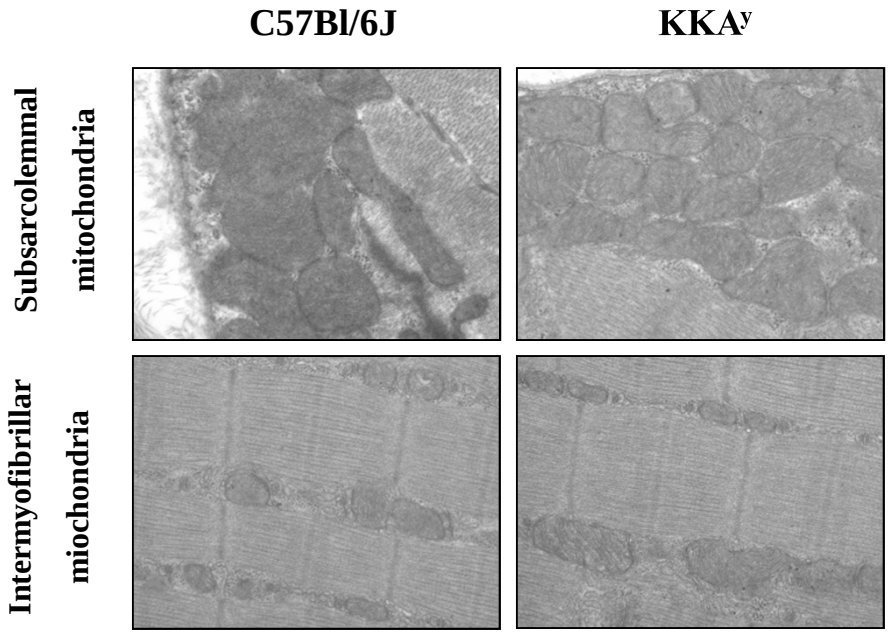
Bonnard C et al. J Clin Invest 118(2):789-800, 2008

Altérations mitochondriales: cause ou conséquence de l'insulino-résistance?

Microscopie électronique

Subsarcolemmal mitochondria



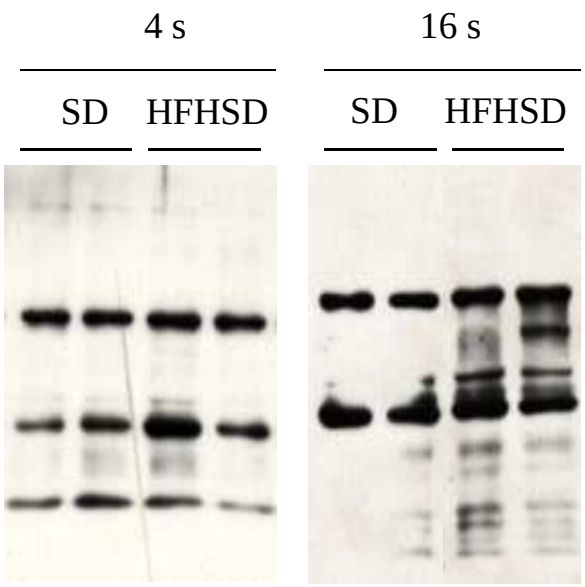


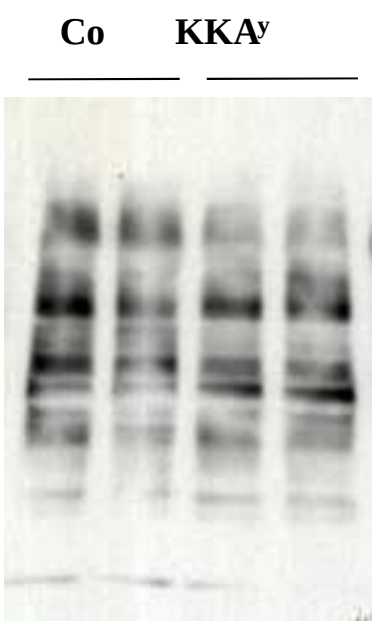
x 25,000

Bonnard C et al. J Clin Invest 118(2):789-800, 2008

Altérations mitochondriales: cause ou conséquence de l'insulino-résistance?

Carbonylation des protéines dans le muscle





Bonnard C et al. J Clin Invest 118(2):789-800, 2008

Le stress oxydant est-il associé à des altérations mitochondriales dans un autre contexte ?

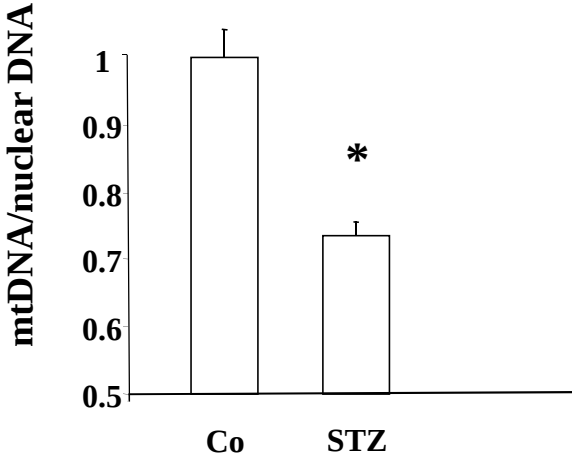
Souris traitées à la streptozotocine (STZ)

Insuline

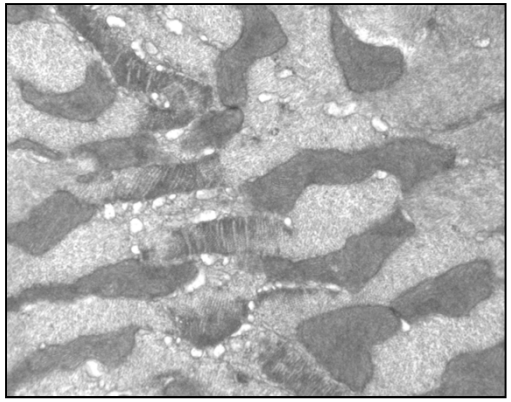
Stress oxydant associé à l'hyperglycémie
Pas d'obésité, pas d'insulino-résistance

Carbonylation des protéines

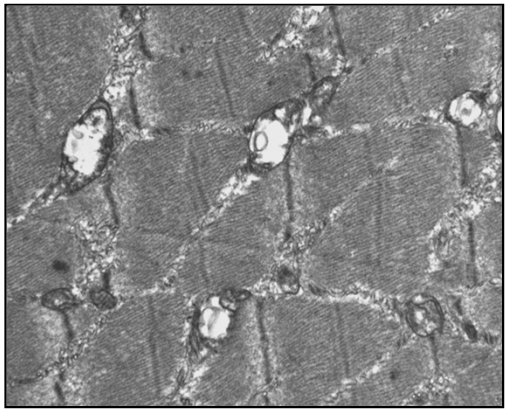
ADN mitochondrial



Microscopie électronique



Co



STZ

x 25,000

Bonnard C et al. J Clin Invest 118(2):789-800, 2008

Le stress oxydant est-il associé à des altérations mitochondriales dans un autre contexte ?

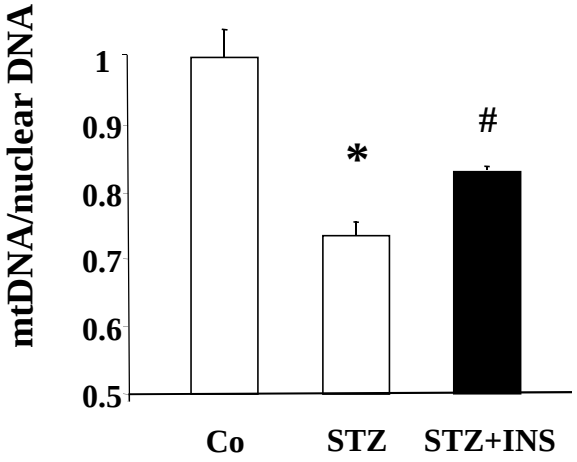
Souris traitées à la streptozotocine (STZ)

Insuline

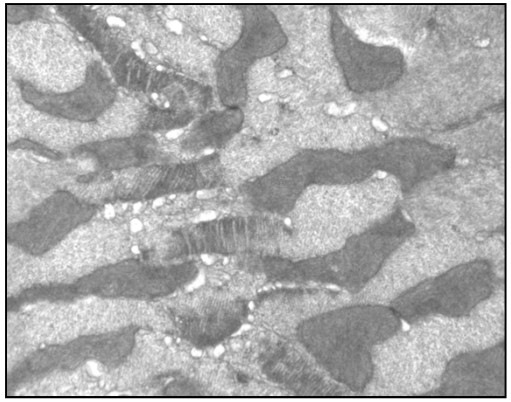
Stress oxydant associé à l'hyperglycémie
Pas d'obésité, pas d'insulino-résistance

Carbonylation des protéines

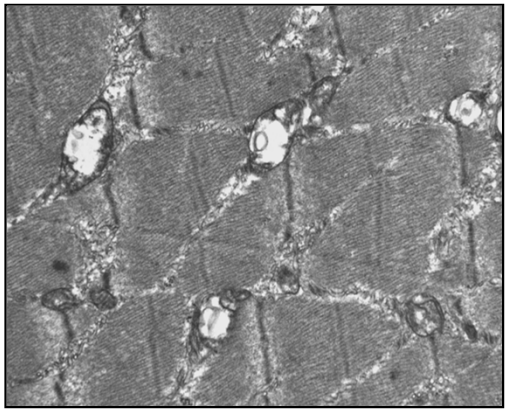
ADN mitochondrial



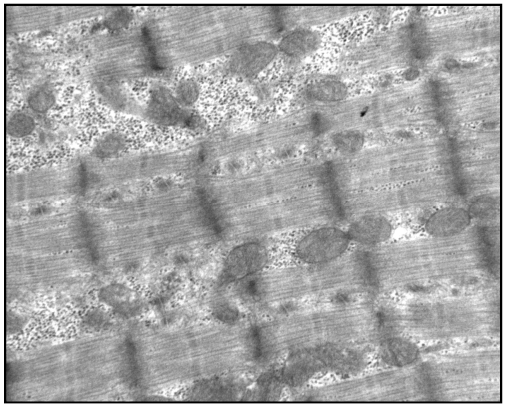
Microscopie électronique



Co



STZ



STZ+INS

x 25,000

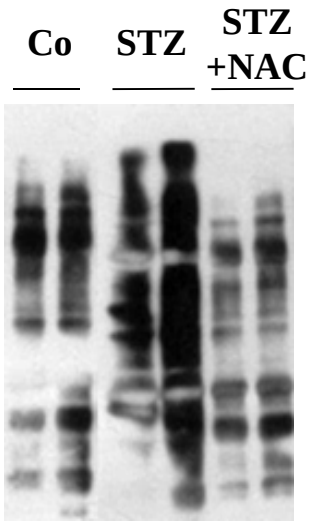
Bonnard C et al. J Clin Invest 118(2):789-800, 2008

Rôle causal du stress oxydant dans les altérations mitochondriales ?

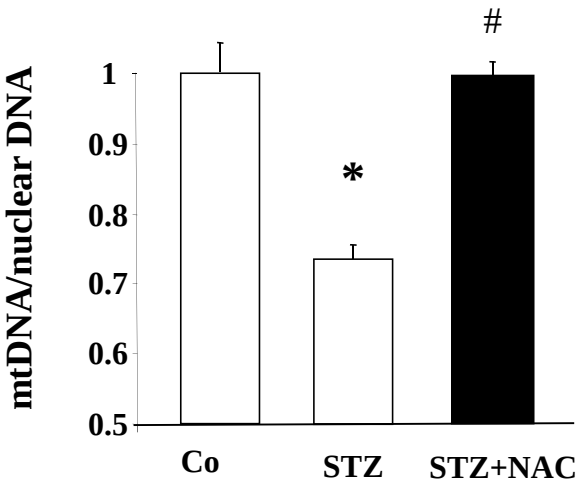
Souris STZ

NAC (10mM)
7 jours

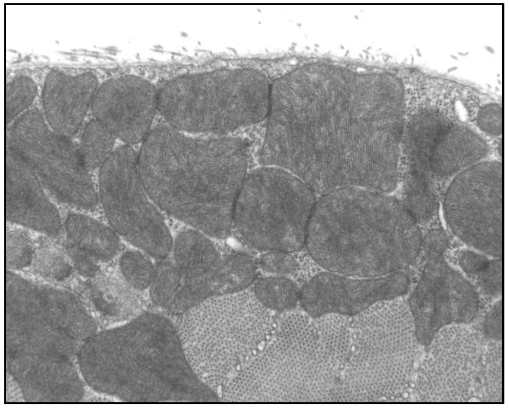
Carbonylation des protéines



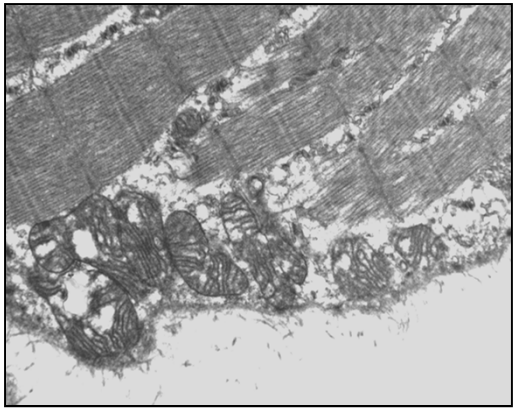
ADN mitochondrial



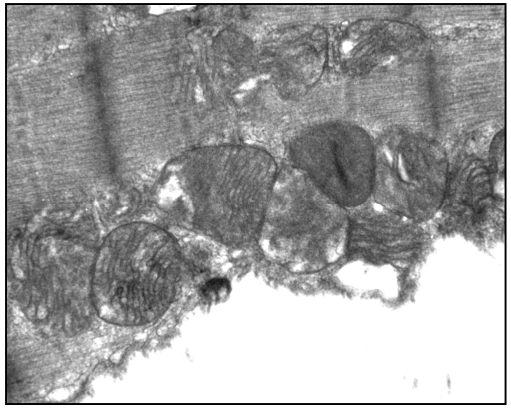
Microscopie électronique



Co



STZ



STZ+NAC

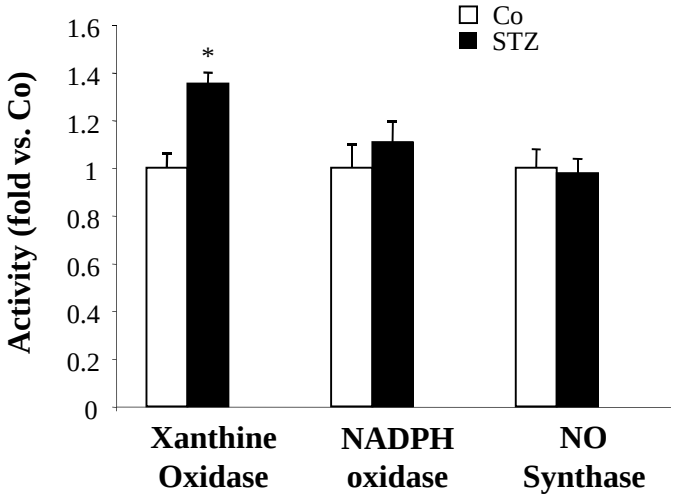
x 25,000

Bonnard C et al. J Clin Invest 118(2):789-800, 2008

Quelle est la source des RL en situation hyperglycémique dans le muscle ?

Activités enzymatiques

Souris STZ



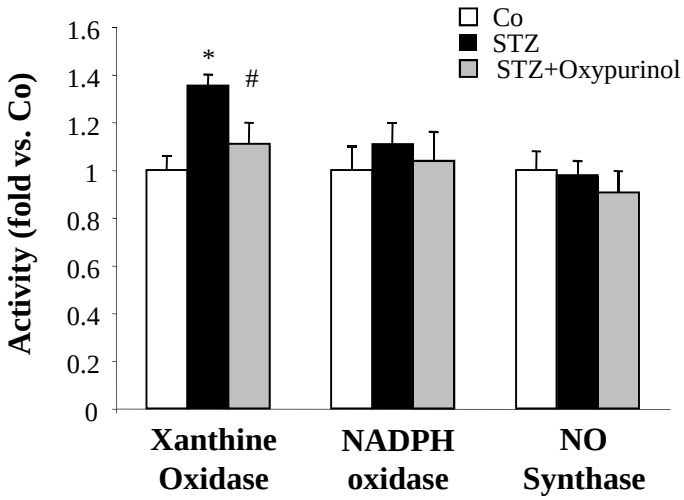
Bravard A. et al. AJP endo. & metab. 2011

Quelle est la source des RL en situation hyperglycémique dans le muscle ?

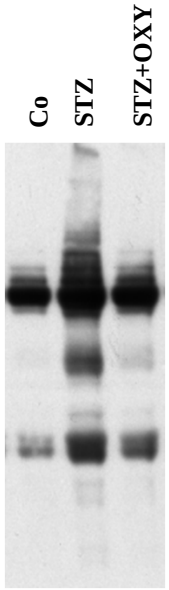
Souris STZ

Oxypurinol
1 mM
7 jours

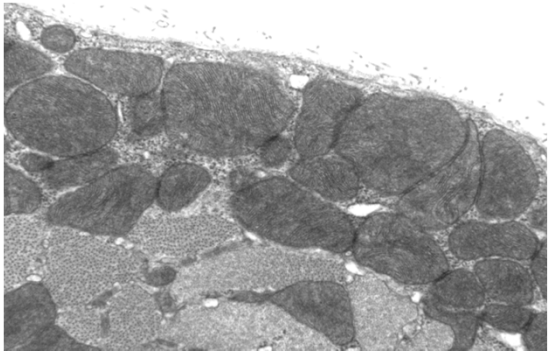
Activités enzymatiques



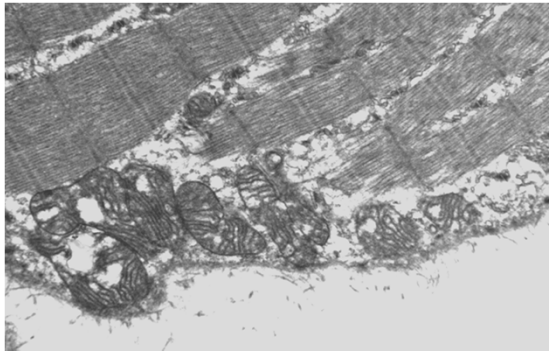
Carbonylation des protéines



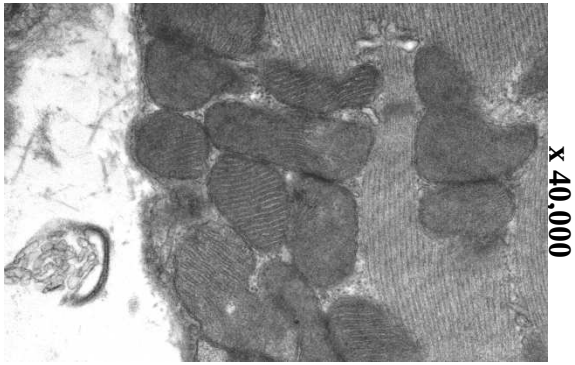
Microscopie électronique



Co



STZ



STZ+Oxypurinol

Bravard A. et al. AJP endo. & metab. 2011

Efficacité de l'oxypurinol chez la souris HFHSD ?

Souris HFHSD

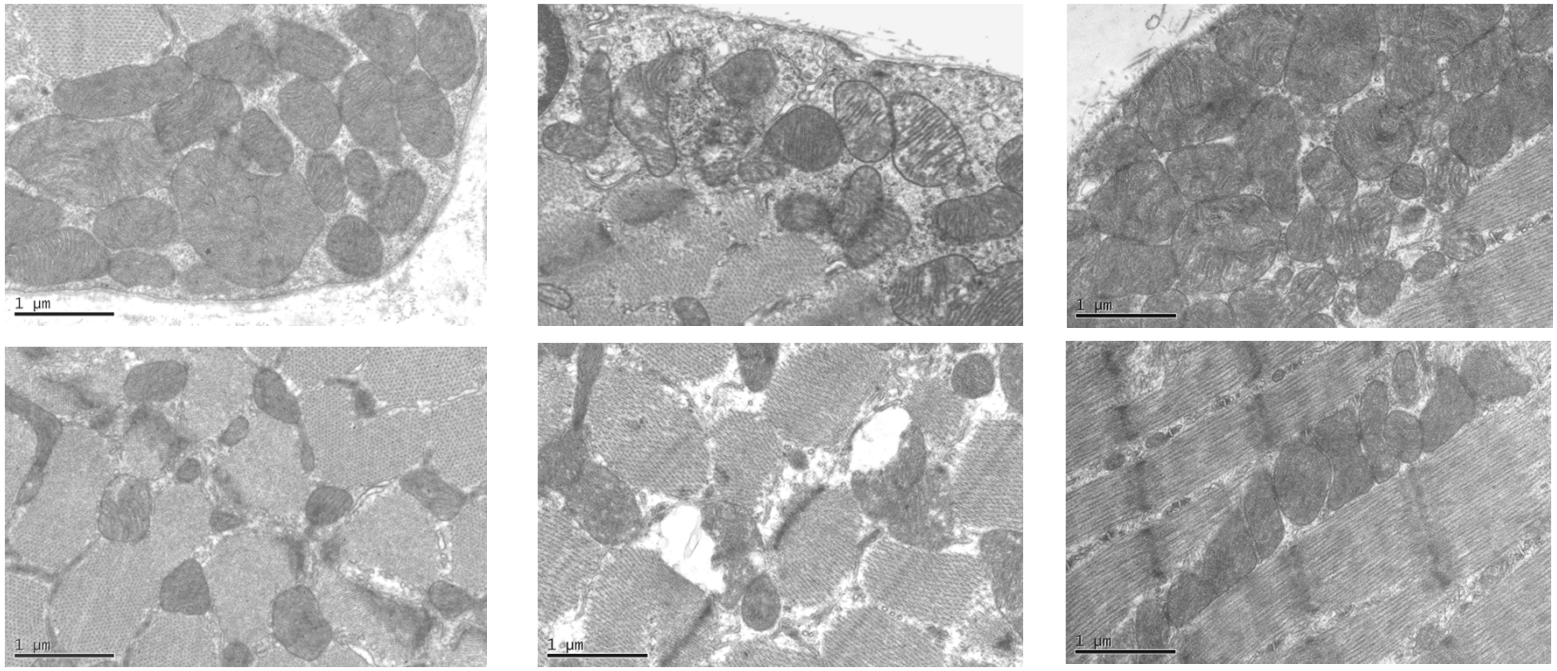
Oxypurinol (1mM)

Pendant 16 semaines

Microscopie électronique

Subsarcolemmal mitochondria

Intermyofibrillar mitochondria



SD **HFHSD** **HFHSD+Oxypurinol**

Bravard A. et al. AJP endo. & metab. 2011

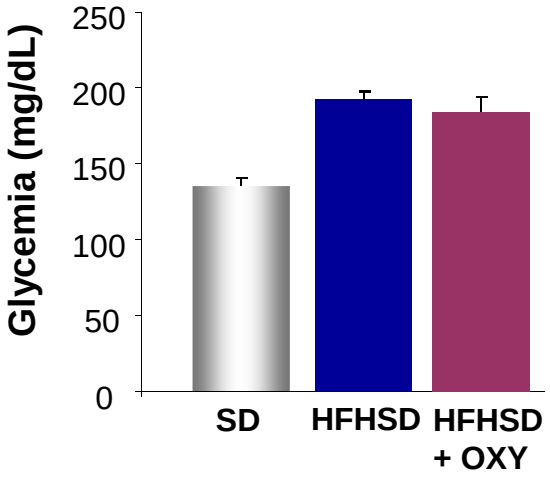
Efficacité de l'oxypurinol chez la souris HFHSD ?

Souris HFHSD

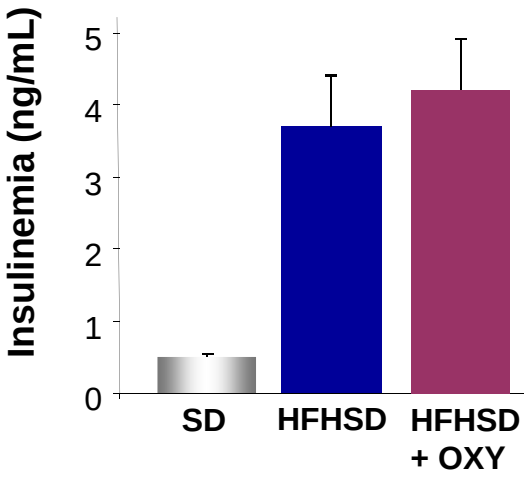
Oxypurinol (1mM)

Pendant 16 semaines

Glycémie



Insulinémie



Bravard A. et al. AJP endo. & metab. 2011

Stress oxydant, fonction mitochondriale et sensibilité à l'insuline

HFHSD

Hyperglycémie
hyperlipidémie

Stress oxydant

Accumulation TG

Altérations mitochondriales

- Densité
- Structure
- Fonction
- Protéome

Insulino-résistance

Les altérations mitochondriales dans le muscle squelettique ne joue pas un rôle causal dans le développement de l'insulino-résistance induite par une diète, mais sont plutôt la conséquence d'un stress oxydant musculaire lié aux phénomènes de gluco-lipotoxicité.

Néanmoins, en participant à l'accumulation de lipides, les altérations mitochondriales participent au maintien et/ou à l'exacerbation de l'insulino-résistance.

Bonnard C et al. J Clin Invest 2008
Bravard A et al. Am J Physiol Endocrinol Met, 2011
Bravard A et al. Diabetes 2011

Stress oxydant, fonction mitochondriale et sensibilité à l'insuline

HFHSD

Hyperglycémie
hyperlipidémie

Oxypurinol

XO

Stress oxydant

Accumulation TG

Altérations mitochondriales

- Densité
- Structure
- Fonction
- Protéome

Insulino-résistance

Il est important d'identifier des stratégies antioxydantes efficaces afin d'améliorer les capacités oxydatives musculaires, diminuer la lipotoxicité et améliorer la sensibilité à l'insuline.

Bonnard C et al. J Clin Invest 2008
Bravard A et al. Am J Physiol Endocrinol Met, 2011
Bravard A et al. Diabetes 2011

Stress oxydant, fonction mitochondriale et sensibilité à l'insuline

L'utilisation de stratégies antioxydantes apparait comme une stratégie potentiellement intéressante pour protéger les mitochondries de muscle et améliorer la sensibilité à l'insuline.

J Clin Invest 2009

Mitochondrial H_2O_2 emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans

Ethan J. Anderson,[1,2,3] Mary E. Lustig,[4] Kristen E. Boyle,[1,2] Tracey L. Woodlief,[1,2] Daniel A. Kane,[1,2] Chien-Te Lin,[1,2] Jesse W. Price III,[5] Li Kang,[4] Peter S. Rabinovitch,[6] Hazel H. Szeto,[7] Joseph A. Houmard,[1,2] Ronald N. Cortright,[1,2,8] David H. Wasserman,[4] and P. Darrell Neufer[1,2,8]

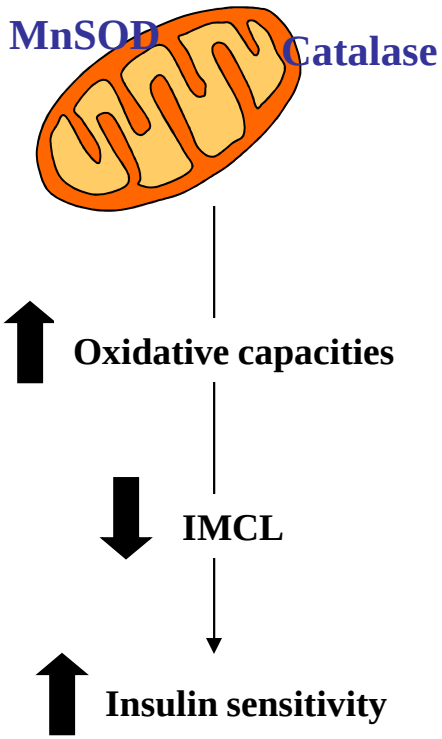
Mitochondrial-targeted scavenging of H_2O_2 by overexpression of catalase or MnSOD prevents high-fat diet-induced insulin resistance in skeletal muscle.

Cell Metabolism 2010

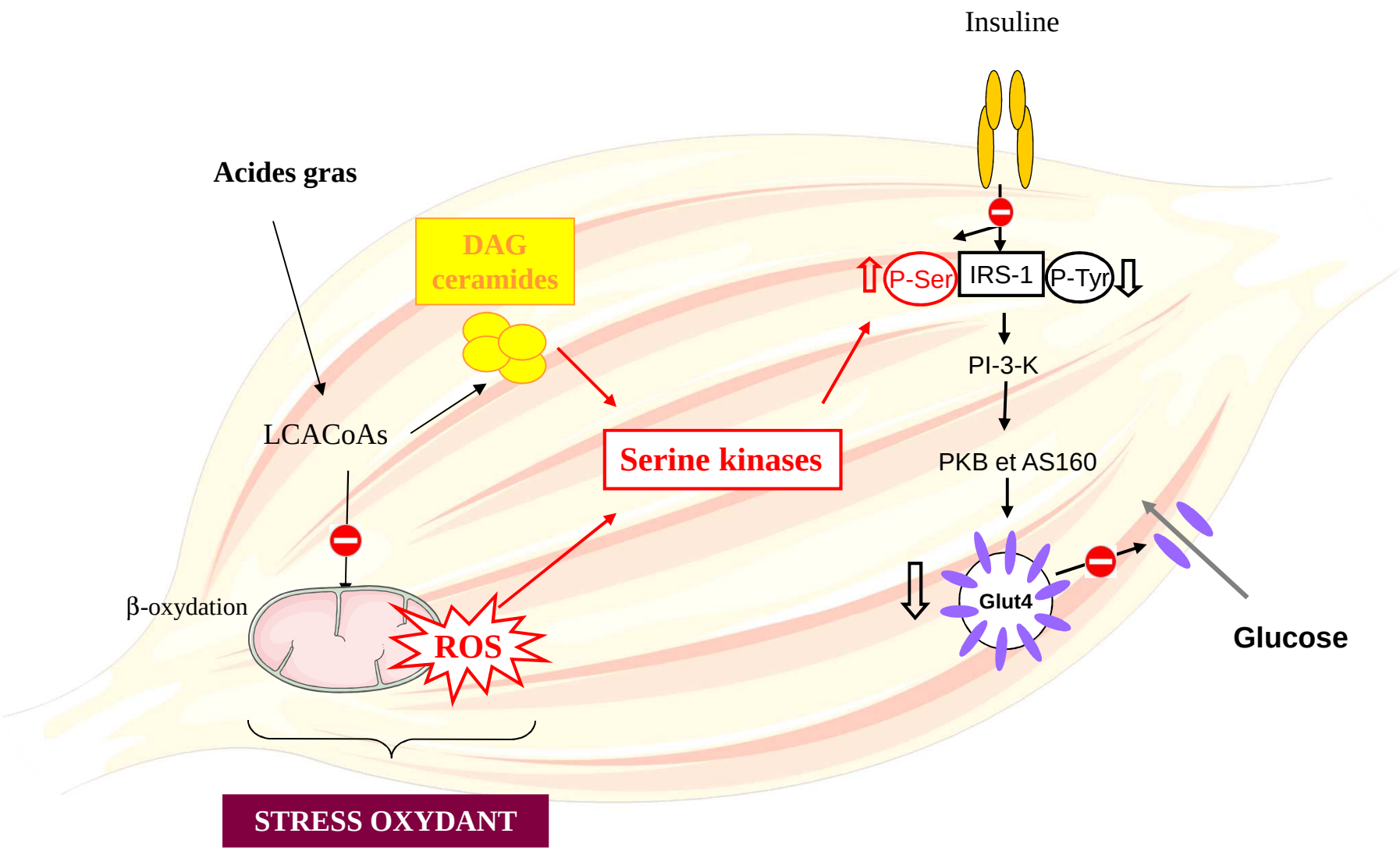
Targeted Expression of Catalase to Mitochondria Prevents Age-Associated Reductions in Mitochondrial Function and Insulin Resistance

Hui-Young Lee,[1,2] Cheol Soo Choi,[2,5] Andreas L. Birkenfeld,[2] Tiago C. Alves,[2] Francois R. Jornayvaz,[2] Michael J. Jurczak,[1,2] Dongyan Zhang,[1,2] Dong Kyun Woo,[3] Gerald S. Shadel,[3] Warren Ladiges,[6] Peter S. Rabinovitch,[7] Janine H. Santos,[8] Kitt F. Petersen,[2] Varman T. Samuel,[2] and Gerald I. Shulman[1,2,4,*]

Mitochondrial-targeted scavenging of H_2O_2 by overexpression of catalase prevents age-induced insulin resistance in skeletal muscle.

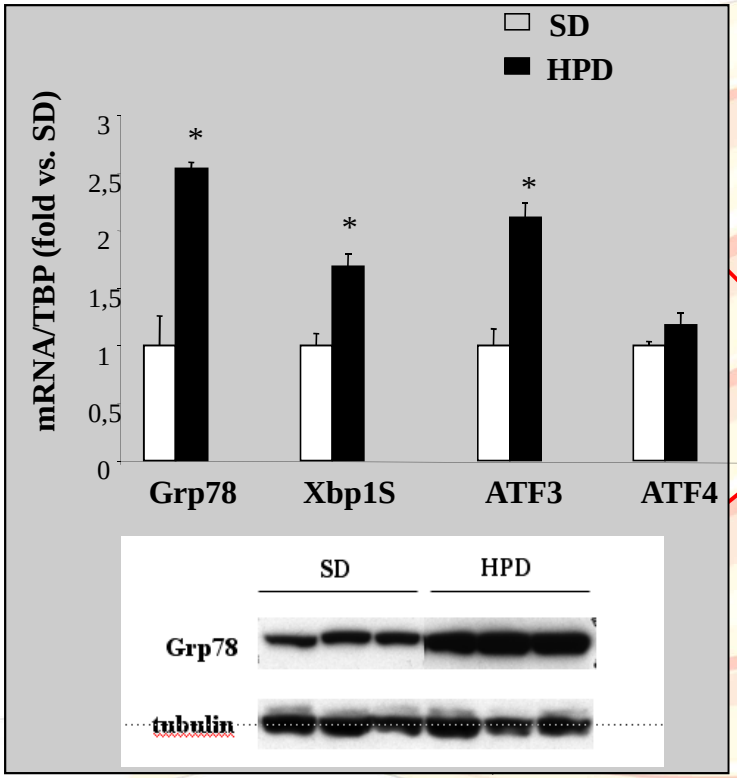


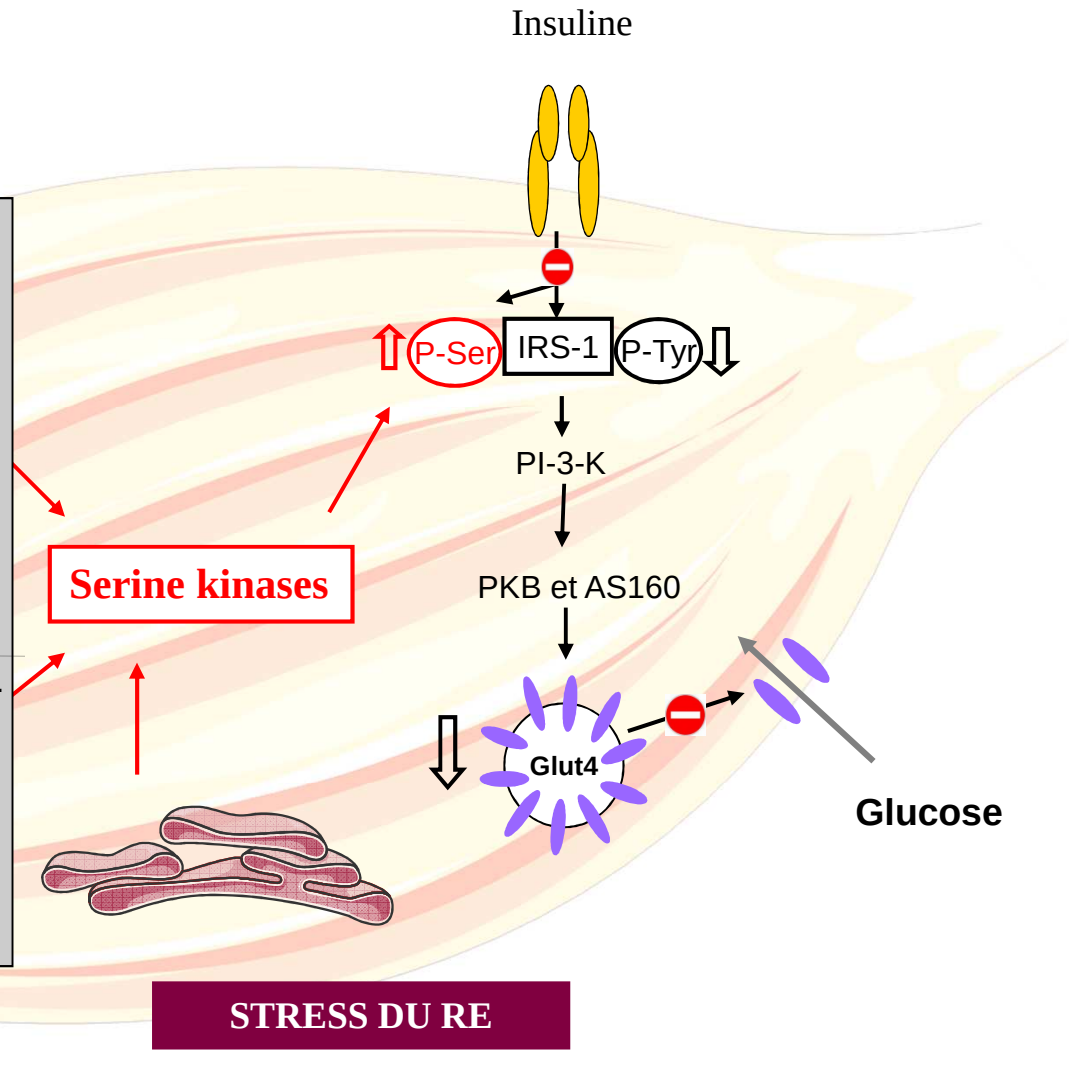
Acteurs impliqués dans l'insulino-résistance



Actors of muscle insulin resistance

Rieusset J et al. BBRC 2012

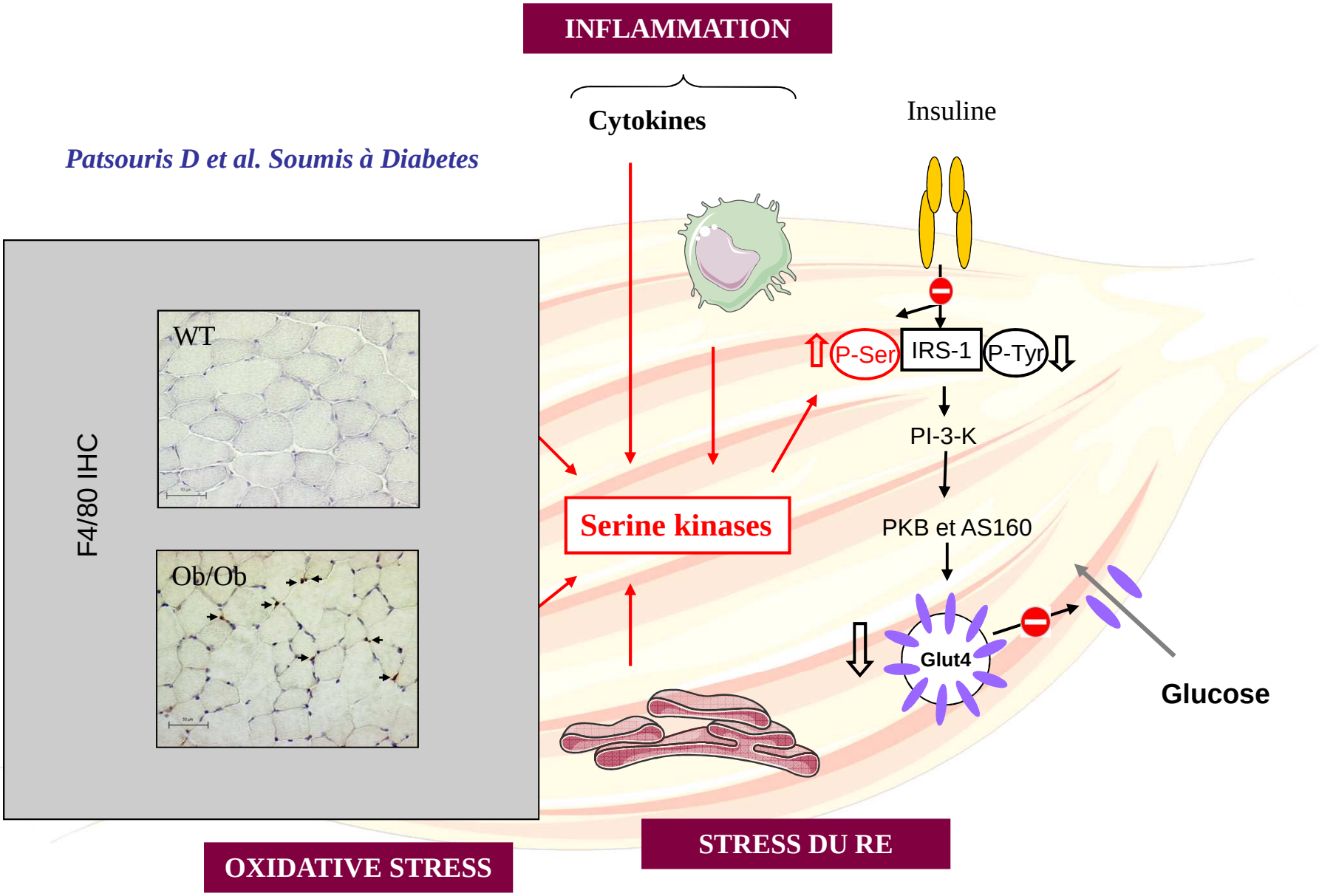




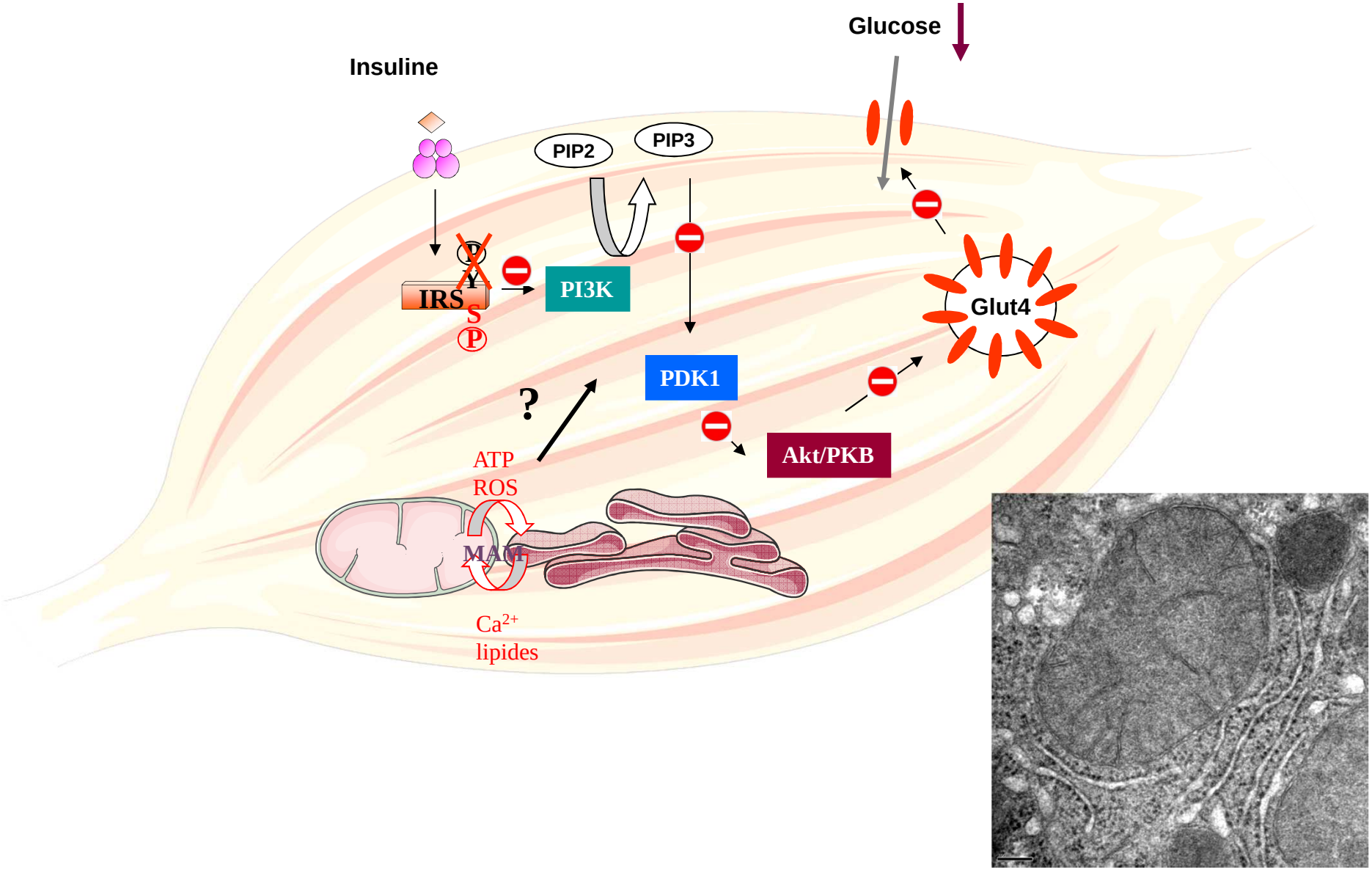
OXIDATIVE STRESS

Actors of muscle insulin resistance

Patsouris D et al. Soumis à Diabetes

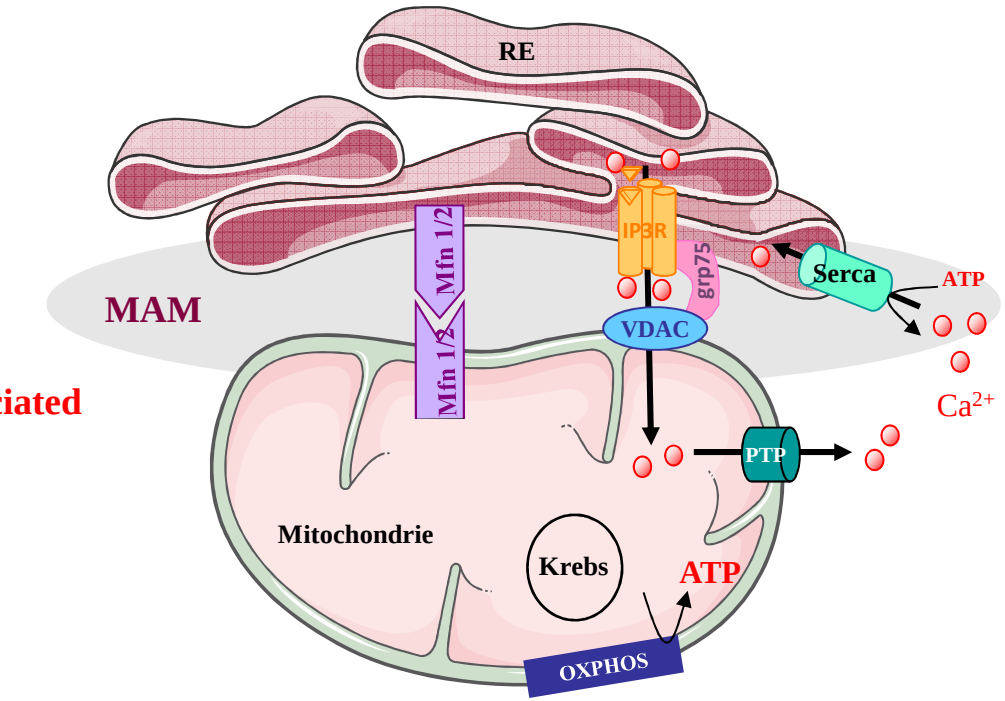


Rôle des interactions structurales et fonctionnelles entre la mitochondrie et le RE dans l'IR ?



Interactions entre les mitochondrie et le RE au niveau des MAM

Environnement cellulaire (nutriments, pathogènes …)



MAM=mitochondria-associated membranes

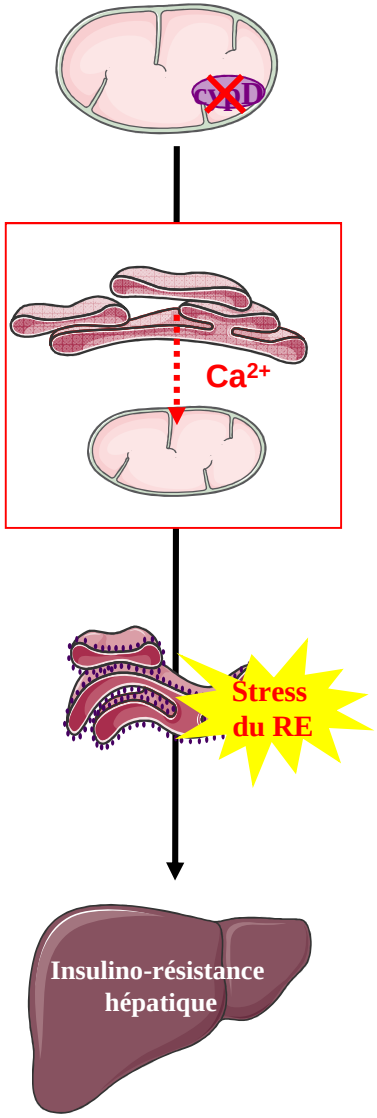
Bioénergétique cellulaire

Apoptose

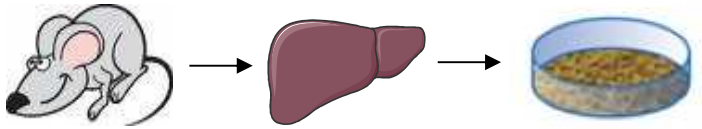
Homéostasie cellulaire

Une altération des échanges calciques entre le RE et la mitochondrie est associée au stress du RE et une insulino-résistance hépatique

Souris invalidée pour la cyclophiline D (cypD-KO)



Défaut de transfert calcique du RE vers la mitochondrie

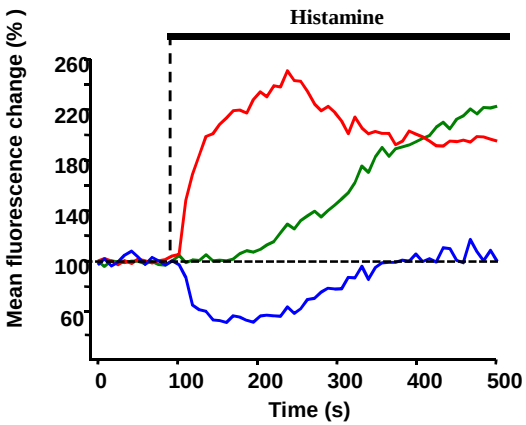


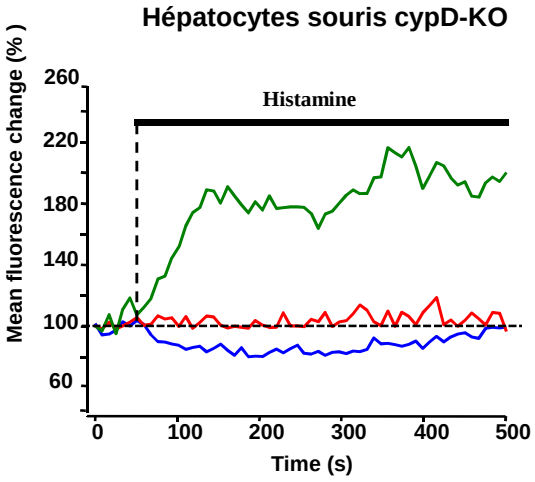
Souris wt et cypD-KO → Foie → Hépatocytes primaires →

Mesure des échanges Ca^{2+} par microscopie à fluorescence

- Ca^{2+} mitochondrial : Rhod-2
- Ca^{2+} du RE : Fluo-5
- Ca^{2+} cytosolique: Fluo-4

RE (Fluo-5))
Mitoch. (Rhod2)
Cytosolique (fluo-4)

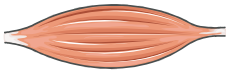




Collaboration avec M. Ovize (éq 5 CarMeN) & A. Lacampagne/J. Faus-connier (U1046, Montpellier)

Rôle potentiel des MAM dans l'insulino-résistance musculaire ?

Fractionnement cellulaire



Homogénat tissulaire

Centrifugations

Mitochondrie non pure

Gradiant de Percoll

MAM

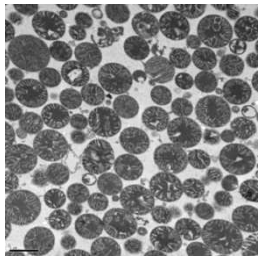
Mp

Cytosol

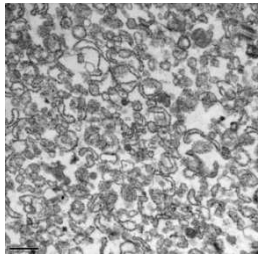
Ultracentrifugations

ER

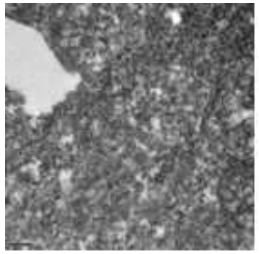
Mp



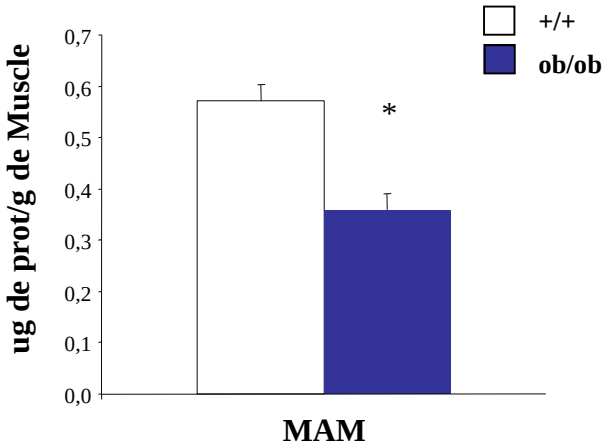
MAM

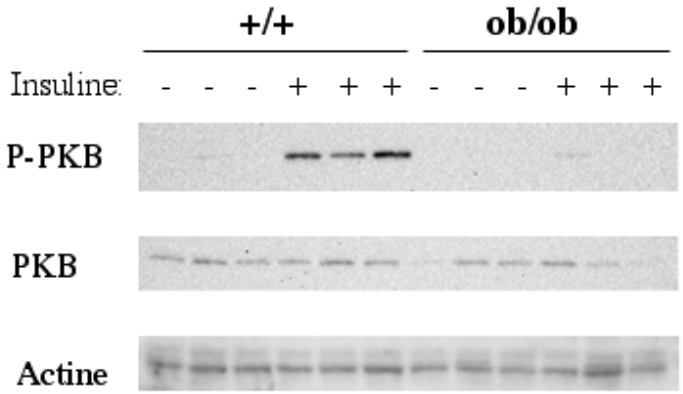


RE



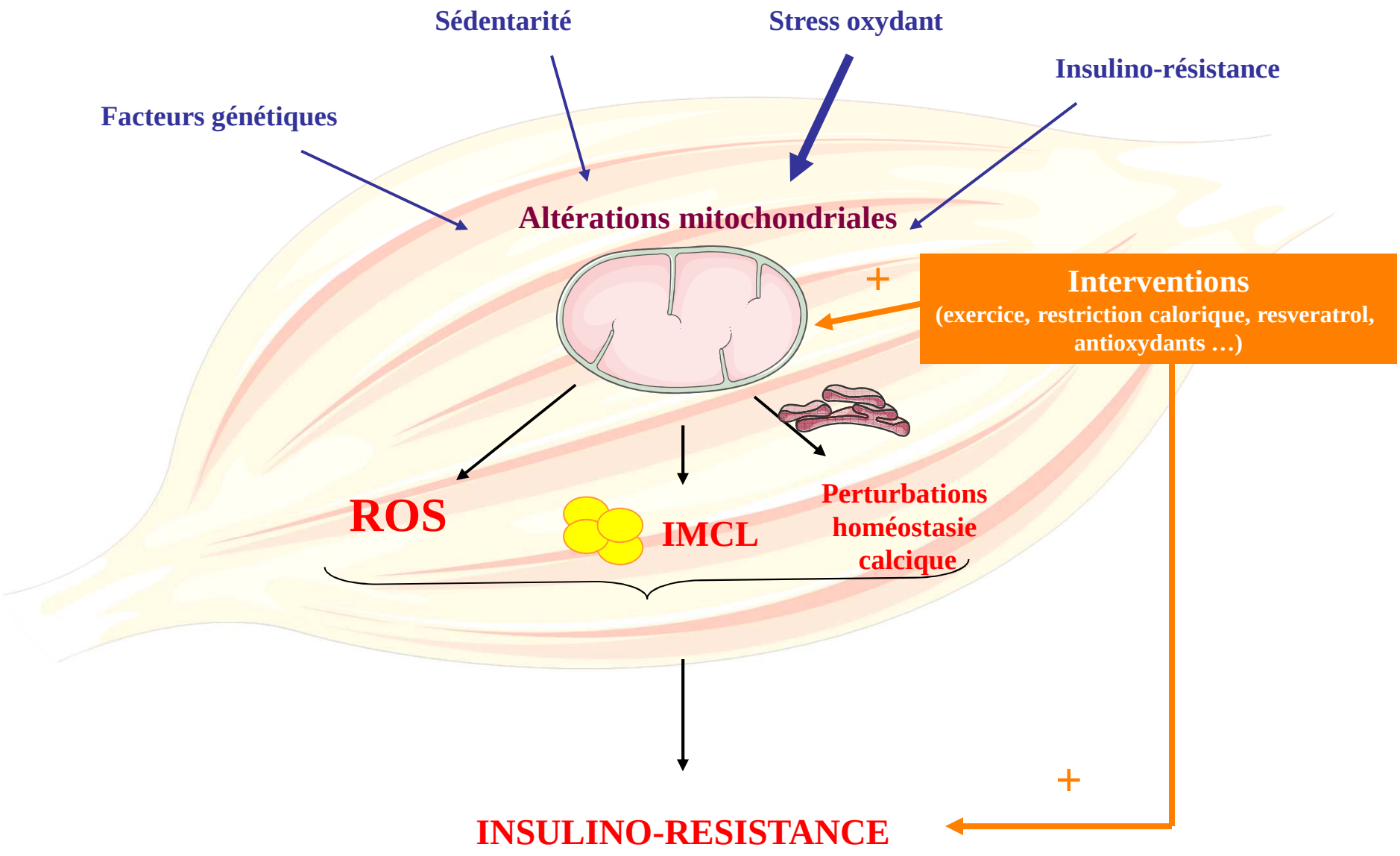
Modèle génétique: souris ob/ob





Données non pubiées

Conclusions



Remerciements

Unité CarMeN (INSERM U1060)

Equipe 3: glucolipotoxicité, stress métabolique et diabètes

Charlotte Bonnard
Amélie Bravard
Emily Tubbs
Pierre Theurey
Annie Durand
Marie-Agnès Chauvin
David Patsouris
Guillaume Vial
Hubert Vidal

Plateformes

CeCIL (IFR 62)

PBES (IFR 128)

CRNH

HCL

Pr. Martine Laville
Nathalie Feugier
Pr. Charles Thivolet

Fonds