

Oxygène - Hypoxie – Hyperoxie

Hyperoxia-Induced Reactive Oxygen Species Formation in Pulmonary Capillary Endothelial Cells In Situ.

Brueckl C, Kaestle S, Kerem A, Habazettl H, Krombach F, Kuppe H, Kuebler WM.

Summary :

Lung capillary endothelial cells (ECs) are a critical target of oxygen toxicity and play a central role in the pathogenesis of hyperoxic lung injury. To determine mechanisms and time course of EC activation in normobaric hyperoxia, we measured endothelial concentration of reactive oxygen species (ROS) and cytosolic calcium ($[Ca^{2+}]_i$) by in situ imaging of 2',7'-dichlorofluorescein (DCF) and fura 2 fluorescence, respectively, and translocation of the small GTPase Rac1 by immunofluorescence in isolated perfused rat lungs.

Endothelial DCF fluorescence and $[Ca^{2+}]_i$ increased continuously yet reversibly during a 90-min interval of hyperoxic ventilation with 70% O₂, demonstrating progressive ROS generation and second messenger signaling. ROS formation increased exponentially with higher O₂ concentrations. ROS and $[Ca^{2+}]_i$ responses were blocked by the mitochondrial complex I inhibitor rotenone, whereas inhibitors of NAD(P)H oxidase and the intracellular Ca²⁺ chelator BAPTA predominantly attenuated the late phase of the hyperoxia-induced DCF fluorescence increase after > 30 min. Rac1 translocation in lung capillary ECs was barely detectable at normoxia but was prominent after 60 min of hyperoxia and could be blocked by rotenone and BAPTA.

We conclude that hyperoxia induces ROS formation in lung capillary ECs, which initially originates from the mitochondrial electron transport chain but subsequently involves activation of NAD(P)H oxidase by endothelial $[Ca^{2+}]_i$ signaling and Rac1 activation. Our findings demonstrate rapid activation of ECs by hyperoxia in situ and identify mechanisms that may be relevant in the initiation of hyperoxic lung injury.

Résumé :

Les cellules endothéliales des capillaires pulmonaires (ECs) sont les cibles privilégiées de l'oxygène toxique et elles jouent un rôle central dans la pathogenèse des lésions pulmonaires hyperoxiques. Afin de déterminer les mécanismes et le temps d'activation des EC dans des conditions d'hyperoxie normobarique, nous avons mesuré la concentration endothéliale de radicaux libres centrés sur l'oxygène (ROS) et celle du calcium cytosolique ($[Ca^{2+}]_i$), par, respectivement, des images *in situ* du 2',7'-dichlorofluoresceine (DCF) et du fura 2 fluorescence, et par la translocation d'un petit GTPase Rac 1 par immunofluorescence sur des poumons de rats isolés et perfusés.

La fluorescence endothéliale DCF et la $[Ca^{2+}]_i$ augmentent continuellement mais de manière réversible pendant le temps de 90 min au cours duquel la ventilation est hyperoxique (70 % O₂), mettant en évidence la génération progressive de ROS et le signal d'un second messenger.

La création de ROS augmente exponentiellement avec l'augmentation de la concentration en oxygène. Les réponses des ROS et de la $[Ca^{2+}]_i$ sont bloquées par l'inhibiteur du complexe mitochondrial I (la roténone), tandis le chélateur BAPTA, inhibiteur de NAD (P) H oxydase et du calcium intracellulaire atténue la dernière phase de l'augmentation de fluorescence du DCF induite par l'hyperoxie après plus de 30 min. La translocation Rac1 dans les ECs du capillaire pulmonaire, à peine perceptible en situation normoxique, devient détectable après 60 min d'hyperoxie et pourrait être bloquée par la roténone et le BAPTA.

Nous concluons que l'hyperoxie induit la formation de ROS dans les ECs du capillaire pulmonaire, avec pour origine la chaîne de transport mitochondrial, mais qui génère, par la suite, l'activation de la NAD (P) H oxydase par l'activation du Rac1 et de la concentration en Ca²⁺ endothélial. Nos découvertes démontrent l'activation rapide des ECs en situation hyperoxique *in situ* et identifient les mécanismes initiant les lésions du poumon hyperoxique.

Introduction

Dans les conditions d'hyperoxie normobarique, les cellules pulmonaires génèrent des radicaux libres et un fort stress oxydatif au niveau de la mitochondrie.

Mots clés

Hyperoxie, ROS (radicaux libres centrés sur l'oxygène)



[Texte relatif à Pubmed](#)

Revue scientifique concernée

American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology, 2066, 34 :453-463.