

MISE AU POINT

Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène

G. Deby-Dupont, C. Deby, M. Lamy*

Service d'anesthésie-réanimation, centre hospitalier universitaire, Université de Liège, domaine universitaire du Sart Tilman, B35, 4000 Liège, Belgique ; centre de l'oxygène, recherche et développement, Université de Liège, domaine universitaire du Sart Tilman, B6a, 4000 Liège, Belgique

(Reçu et accepté le 14 novembre 2001)

Résumé

Malgré sa structure biradicalaire, l'oxygène fondamental (O_2) est inerte vis-à-vis de la matière vivante, et des activités enzymatiques spécialisées sont nécessaires pour permettre son utilisation par les organismes aérobies. In vivo, il peut produire, en cascade, à partir de l'anion superoxyde, des espèces activées oxydantes (radicalaires et non radicalaires) responsables de lésions cellulaires et tissulaires. Sa toxicité est visible lorsqu'il est administré en conditions d'hyperoxie ou d'hypoxie. À 100 % d' O_2 , en normobarie, la mort survient en 100 heures. Les lésions consécutives à l'hyperoxie, observées sur modèle animaux, commencent au niveau de l'endothélium et sont suivies par des lésions des cellules alvéolaires. Il existe des phénomènes d'adaptation à l'hyperoxie, caractérisés par une augmentation d'activité des enzymes « anti-oxydantes ». En clinique humaine, l'oxygène est administré régulièrement avec des FiO_2 élevées, chez les patients en défaillance respiratoire aiguë, pour des périodes prolongées, sans toxicité apparente. Cette observation paradoxale pourrait s'expliquer par l'absence d'augmentation de la pression artérielle en oxygène, due aux altérations des échanges gazeux, tandis que les cellules alvéolaires, soumises à hautes concentrations en oxygène, sont plus résistantes. Les lésions inhérentes à la défaillance respiratoire peuvent aussi masquer les phénomènes toxiques dus à l'hyperoxie. L'utilisation de FiO_2 élevées en soins intensifs doit donc rester contrôlée et limitée en temps. © 2002 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

défaillance respiratoire / espèces oxygénées activées / hyperoxie / oxydation

Summary – Current data on the toxicity of oxygen.

Oxygen, as a molecule, is inert towards living bodies despite its biradical structure, and enzymatic activities are necessary for its utilisation by aerobic organisms. In vivo, oxidative species can be produced from the superoxide anion, and generate cellular and tissular injury. Under 100 % FiO_2 , death occurs within 100 hours. Cellular lesions start at the endothelial level and are followed by alveolar cell damage. Adaptive phenomena to hyperoxia exist, characterised by an increased activity of antioxidant enzymes. In patients with respiratory failure, high levels of FiO_2 are frequently used for prolonged periods without obvious visible toxicity. This paradoxical observation could be explained by the lack of partial pressure rise in the arterial blood, while the alveolar cells are more prone to resist hyperoxia. The underlying lung injury can also mask the toxic effects of oxygen. The use of high FiO_2 in the critically ill patient might therefore be limited in time.

© 2002 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

respiratory failure / reactive oxygen species / hyperoxia / oxidation

*Correspondance et tirés à part.

Adresses e-mail : gdeby@ulg.ac.be (G. Deby-Dupont), mlamy@chu.ulg.ac.be (M. Lamy).

L'oxygène a été découvert par Scheele en 1772, puis « redécouvert » par Priestley quelques années plus tard, et c'est Lavoisier qui l'identifia dans l'air et décrivit son rôle capital dans la combustion. L'oxygène est un élément familier, indispensable aux organismes aérobies. Le seul rôle qui lui ait longtemps été attribué était d'alimenter la respiration cellulaire mitochondriale, génératrice d'énergie par la voie des phosphorylations oxydatives ; en termes simples, l'oxygène était considéré comme une « poubelle » à électrons, destiné à être réduit en eau par apport de quatre électrons, tandis que l'énergie de cette réaction permettait la fabrication d'ATP. Les radiobiologistes furent les premiers à tenir compte de la toxicité de l'oxygène en « l'utilisant » pour le traitement des tumeurs cancéreuses. Il faudra attendre la seconde moitié du 20^e siècle pour que les recherches biochimiques commencent à s'intéresser au « métabolisme » de l'oxygène [1, 2]. On sait maintenant que l'utilisation de l'oxygène par les organismes aérobies implique l'intervention d'enzymes spécialisées et que des « excès » ou des « erreurs » de métabolisation sont possibles, conduisant aux pathologies associées aux perturbations de l'équilibre oxydo-réducteur. Les connaissances accumulées sur la nature et la réactivité de l'oxygène incitent à prendre sa toxicité potentielle en considération lorsqu'il est utilisé en conditions différentes des conditions habituelles (21 %, pression atmosphérique normale) (*tableau I*) [3-6].

NATURE CHIMIQUE ET RÉACTIVITÉ DE L'OXYGÈNE

Inertie réactionnelle de l'oxygène et famille des espèces oxygénées activées (ROS : *reactive oxygen species* ou RNOS : *reactive nitrogen oxygen species*)

L'oxygène réagit avec la matière vivante de deux manières, soit en acceptant des électrons (oxydations) soit en se fixant sur la matière organique (oxygénations). Le cas d'oxydation le plus simple est la captation par l'oxygène de deux atomes d'hydrogène avec leur électron pour

former une molécule d'eau (H₂O). Le cas le plus simple d'oxygénation est la formation de CO₂. Mais pour réaliser ces deux réactions « simples », l'oxygène doit franchir une barrière énergétique importante. C'est la raison pour laquelle l'oxygène est inerte au contact de la matière vivante : il ne réagit pas spontanément, ce qui explique sa teneur élevée dans l'atmosphère (21 %). Sans l'existence de cette barrière énergétique, il n'y aurait pas d'oxygène dans l'atmosphère terrestre. Mais, une fois franchie la barrière, la suite des réactions se produit sans difficulté.

La chimie moderne explique cette inertie de départ par la structure très particulière de l'oxygène : la molécule d'oxygène est diatomique (O₂), mais contrairement à la plupart des molécules élémentaires, deux de ses électrons ne sont pas appariés (ils sont célibataires). On sait que, dans les molécules, les électrons sont groupés par paires. Une molécule avec un électron non apparié est appelée « radical libre » ou « doublet ». O₂ a deux électrons non appariés et est appelé « triplet ». La matière organique est formée d'atomes dont tous les électrons sont appariés et qui sont appelés « singulets » : la matière organique est dite à l'état singulet. La chimie quantique prouve, par des équations compliquées, les trois règles du jeu suivantes (*tableau II*) :

- la réaction entre une molécule triplet (biradical) et une molécule singulet (non radicalaire) est interdite ;
- la réaction entre une molécule doublet (monoradicalaire) et une molécule singulet ou triplet est autorisée ;
- les réactions entre molécules semblables (singulet avec singulet, doublet avec doublet, triplet avec triplet) sont autorisées.

Par interdiction quantique (barrière énergétique), l'oxygène triplet ne peut donc pas réagir avec la plupart des molécules organiques qui sont des singulets. Des intermédiaires radicalaires (doublets) doivent intervenir. Pour lever l'interdiction quantique, il faut, soit amener l'oxygène de l'état triplet (biradicalaire) à l'état doublet (monoradicalaire) ou à l'état singulet (non radicalaire : cas de l'oxygène singulet), soit amener les

Tableau I. Principales étapes de l'évolution des connaissances sur la toxicité de l'oxygène.

Au 18 ^e siècle :
découverte de l'oxygène (Scheele, Priestly, Lavoisier)
mise en question de sa toxicité (Priestley)
Début du 20 ^e siècle :
utilisation clinique de l'oxygène (assistance respiratoire dans la pneumonie)
À partir de 1950 :
prise de conscience d'une toxicité de l'oxygène (« épidémie » de fibroplasie rétro-lentale chez le prématuré)
Depuis 1950 : développement des recherches sur la toxicité de l'oxygène : rôle des espèces activées dérivées de l'oxygène, phénomènes « d'adaptation »
mise en évidence sur modèles animaux, études sur cellules en culture
mise en évidence sporadique chez l'homme (surtout chez les sujets sains)
Depuis les années 1990 :
l'oxygène peut-il être toxique en soins intensifs ?

Tableau II. États quantiques des molécules et règles quantiques qui gouvernent les réactions chimiques.

États quantiques		
Dénomination	Structure électronique	Exemples
État singulet	Tous les électrons sont appariés (état non radicalaire)	Majorité des molécules organiques
État doublet	Un électron non apparié ou célibataire (radical libre)	Anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$), radical hydroxyle ($^{\bullet}OH$), $NO^{\bullet}$
État triplet	Deux électrons non appariés (biradical)	O_2 (oxygène moléculaire ou fondamental)

Règles quantiques : réaction triplet + singulet : interdite ; réactions doublet + triplet et doublet + singulet : permises ; réactions entre espèces identiques (doublet + doublet, triplet + triplet, singulet + singulet) : permises. Conséquence : interdiction de réaction entre O_2 (triplet) et la plupart des molécules organiques (singulets). Par addition d'un électron à O_2 : transformation en monoradical (état doublet) : réaction rapide avec les molécules à l'état singulet.

molécules organiques à l'état radicalaire (doublet). Rappelons que pour enflammer un combustible, on doit porter à une température élevée un point de sa substance (point d'ignition), où se forment alors des radicaux libres qui provoquent des réactions radicalaires en chaîne avec l'oxygène (combustion).

In vivo, le franchissement de la barrière énergétique se fait de manière non catastrophique, normalement très contrôlée, grâce aux catalyseurs biologiques que sont les enzymes, soit les oxydases, soit les oxygénases. Le rôle de ces enzymes est de transformer les deux partenaires, O_2 et molécule organique, de manière à ce que l'un des deux devienne doublet (radical libre). Ainsi, les oxydases (comme la NADPH-oxydase) font passer l'oxygène triplet au stade doublet (= anion superoxyde, à un électron célibataire), tandis que les oxygénases transforment les molécules organiques en radical libre (passage du singulet au doublet). Grâce à ces catalyseurs biologiques, les réactions de l'oxygène avec la matière vivante sont possibles par des voies totalement différentes de celle de la combustion [7].

L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$) est un bon réducteur, de courte durée de vie en milieu aqueux. En milieu hydrophobe (dans les membranes cellulaires), sa durée de vie est plus longue et il peut réagir en désestérifiant les molécules lipidiques comme les phospholipides [8]. À partir d' $O_2^{\bullet -}$ (figure 1), on aboutit au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 , non radicalaire), par dismutation spontanée ou catalysée par la superoxyde dismutase (SOD), ou au peroxynitrite ($ONOO^-$, non radicalaire) par réaction avec le monoxyde d'azote ($NO^{\bullet}$, radicalaire) produit par la NO-synthétase [9]. Le peroxynitrite, instable, est très oxydant et forme de nouvelles espèces actives, dont certaines sont radicalaires ($^{\bullet}OH$ et $^{\bullet}NO_2$), à la base de nitrations et d'hydroxylations. H_2O_2 est plus stable : il peut diffuser et réagir avec des molécules à distance ou être utilisé par d'autres enzymes, notamment la myéloperoxydase des neutrophiles qui le transforme en composé oxydant, l'acide hypochloreux ($HOCl$, non radicalaire). Cette enzyme utilise aussi $ONOO^-$ et les nitrites (dérivés du $NO^{\bullet}$ ou de $ONOO^-$), par la voie d' $HOCl$, pour produire des dérivés instables, capables de nitrer ou de chloriner les

biomolécules [10, 11, 12]. H_2O_2 est aussi à l'origine du radical hydroxyle ($^{\bullet}OH$) s'il y a, dans le milieu, des ions métalliques (comme le fer Fe^{2+} complexé par un ligand activateur) : cette réaction est connue sous le nom de « réaction de Fenton ». $^{\bullet}OH$ est un agent d'oxydation (hydroxylation des cycles aromatiques notamment), mais son action est limitée par sa très courte durée de vie. De plus, sa production in vivo par la réaction de Fenton reste discutée [7]. L' O_2 réagit aussi avec le fer complexé pour former des espèces radicalaires ferryles et oxoferryles [7, 13].

Un aspect important de la toxicité d' O_2 se situe dans sa capacité à entretenir les réactions radicalaires. Lorsqu'une molécule passe à l'état radicalaire, la recombinaison des radicaux (dimérisation) arrête la réaction, mais la présence ubiquitaire d' O_2 empêche cette recombinaison. Le radical formé réagit avec O_2 pour produire de nouveaux radicaux et déclencher une réaction en chaîne. La figure 2 illustre ce mécanisme pour la peroxydation des lipides [7, 13].

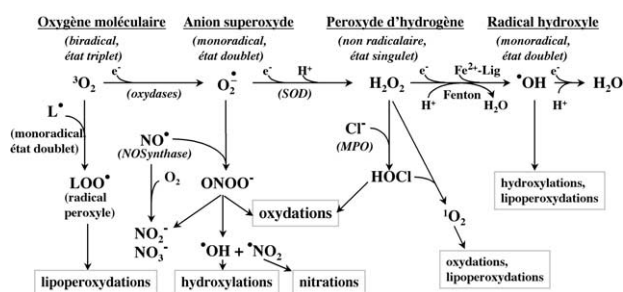


Figure 1. Espèces oxygénées activées produites en cascade à partir de l'oxygène fondamental (ou moléculaire : 3O_2 couramment représenté de manière simplifiée par O_2).

e^- : électron ; $O_2^{\bullet -}$: anion superoxyde ; H_2O_2 : peroxyde d'hydrogène ; $^{\bullet}OH$: radical hydroxyle ; $HOCl$: acide hypochloreux ; 1O_2 : oxygène singulet ; $NO^{\bullet}$: monoxyde d'azote ; NO_2^- : nitrites ; NO_3^- : nitrates ; $ONOO^-$: peroxynitrite ; $^{\bullet}NO_2$: radical nitryle ; Fe^{2+} -Lig : complexe du fer ferreux avec un ligand activateur (Lig) ; $L^{\bullet}$: radical lipidique.

SOD : superoxyde dismutase ; MPO : myéloperoxydase.

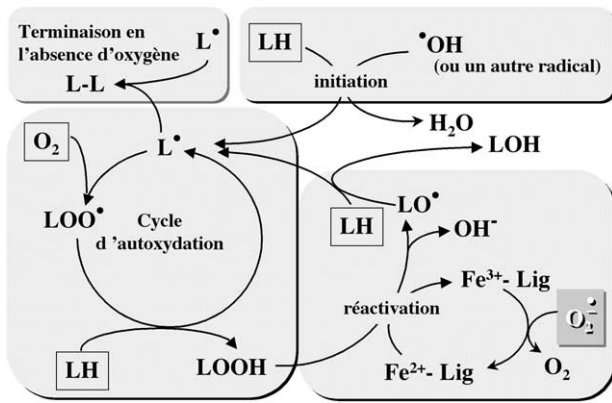


Figure 2. Rôle capital de l'oxygène fondamental dans l'entretien des réactions radicalaires en chaîne (l'exemple donné ici est celui de la lipoperoxydation). L'oxygène fondamental (O_2 , à l'état triplet) réagit avec une molécule organique radicalaire $L^\bullet$ (à l'état doublet), produite à partir d'une molécule organique lipidique (LH) par des processus enzymatiques ou des phénomènes toxiques (irradiation par exemple). L'oxygène fondamental empêche la recombinaison des $L^\bullet$ (terminaison du cycle) et produit un radical peroxyde ($LOO^\bullet$) capable d'attaquer une nouvelle molécule LH pour donner un hydroperoxyde (LOOH) et un nouveau radical $L^\bullet$ (cycle d'autoxydation). Le fer complexé (Fe^{2+} -Lig) est capable de réactiver le cycle et l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$) (ou un autre réducteur) de réduire le Fe^{3+} en Fe^{2+} , permettant ainsi la poursuite de la réaction. $LO^\bullet$: radical alkoxy ; LOH : alcool dérivé de la molécule LH.

Où et quand peut-il y avoir production d'espèces oxygénées activées *in vivo* ?

In vivo, de nombreuses enzymes sont responsables de la production de ROS dans le cytosol, les membranes et les mitochondries de types cellulaires variés. Il existe une production faible mais régulière d' $O_2^{\bullet -}$ dans la mitochondrie. Il est formé par « fuite » d'électrons à partir de la chaîne des transporteurs d'électrons, au niveau de la NADH déshydrogénase, de l'intersection ubiquinone cytochrome b, de la cytochrome oxydase. On estime que $\pm 2\%$ de l' O_2 réduit par la mitochondrie forment $O_2^{\bullet -}$ et son produit de dismutation H_2O_2 [14]. La mitochondrie possède une superoxyde dismutase à manganèse (Mn-SOD), rapidement inductible, capable de neutraliser $O_2^{\bullet -}$, mais elle possède aussi une NO-synthétase, ce qui suppose la production intramitochondriale du peroxynitrite.

Les neutrophiles sont spécialement équipés pour une production importante et rapide de ROS qu'ils utilisent normalement pour la destruction des organismes à l'intérieur du phagolysosome. Au cours de la flambée respiratoire, la NADPH-oxydase produit $O_2^{\bullet -}$ par réduction monoélectronique d' O_2 [15]. De là dérive H_2O_2 et, d' H_2O_2 , dérive HOCl par l'action de la myélope-

roxydase ; théoriquement, il pourrait aussi y avoir une production d' $^{\bullet}OH$ par réaction de Fenton en présence de fer complexé. Les neutrophiles possèdent également une NO-synthétase productrice de $NO^\bullet$ (et de ses dérivés par réaction avec O_2). $L'O_2^{\bullet -}$ et le $NO^\bullet$ peuvent se former simultanément dans le neutrophile et réagir pour donner le peroxynitrite. Cette combinaison est d'autant plus probable que la NO-synthétase peut aussi produire $O_2^{\bullet -}$ simultanément au $NO^\bullet$. D'autres cellules possèdent une activité de NADPH-oxydase et de NO-synthétase : lymphocytes, fibroblastes, cellules endothéliales, cellules musculaires lisses, myocytes. La « NADPH-oxydase » y aurait une activité normale modérée assurant la production des ROS comme seconds messagers et régulant ainsi les réponses de croissance cellulaire [15, 16, 17]. Des ROS sont aussi produites dans la plupart des cellules durant le fonctionnement des oxydases et oxygénases, comme les enzymes du réticulum endoplasmique (*mixed function oxidases*) et les enzymes cytosoliques (lipoxygénases, PGH-synthases), mais cette production de ROS, en conditions normales, se fait à un niveau réduit et contrôlé par le site enzymatique et la structure protéique de l'enzyme.

La production de ROS est augmentée dans des situations pathologiques comme l'inflammation aiguë, par l'activation excessive des neutrophiles et l'induction d'enzymes comme les NO-synthétase et PGH-synthase inductibles. Des augmentations de la production de ROS existent dans l'hyperoxie, et, paradoxalement, dans les situations d'hypoxie ou d'ischémie suivie de reperfusion. Dans ce dernier cas, la formation de ROS semble consécutive aux altérations subies par les mitochondries, à l'activation intracellulaire de la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase productrice d' $O_2^{\bullet -}$ et à l'activité des NADPH oxydases [2, 18, 19]. L'hémoglobine libre dans le plasma exerce une activité de peroxydase et constitue une autre source de ROS [20].

Les ROS agissent de manière non spécifique de sorte que les cibles atteintes sont variées et toutes les molécules peuvent être atteintes : protéines, lipides, hydrates de carbone, acides nucléiques. Certaines cibles sont plus sensibles : les lipides insaturés, certains acides aminés et composés aromatiques, les fonctions -SH et même CH_3-S- . Les ROS interviennent dans la signalisation intracellulaire en agissant au niveau des récepteurs, des facteurs de transcription nucléaires et de certaines cascades de protéines-kinases. Ces dernières possèdent un point commun sensible aux ROS, un domaine de régulation activé par phosphorylation. Lorsque ce domaine est altéré, la phosphorylation est perturbée et la transduction du signal est modifiée [16, 21].

Tableau III. Principaux mécanismes de la toxicité de l'oxygène.

Production d'espèces activées de l'oxygène :
dans les mitochondries,
par les phagocytes (neutrophiles et macrophages alvéolaires),
dans le réticulum endoplasmique,
dans le cytosol.
Déséquilibre oxydants/antioxydants :
perturbation de l'équilibre oxydo-réducteur intracellulaire :
→ activation de la signalisation dans les cellules.
Lésions cellulaires :
altérations de la chaîne de transport d'électrons mitochondriale,
altérations de l'ADN (altérations des bases nucléiques, cassures monobrin),
lipoperoxydation membranaire (altérations de la perméabilité cellulaire),
altérations de la synthèse protéique et des fonctions enzymatiques.
Recrutement et activation des phagocytes :
production de médiateurs inflammatoires,
expression accrue des récepteurs d'adhésion.

LES MÉCANISMES DE LA TOXICITÉ DE L'HYPEROXIE

La majeure partie des connaissances sur la toxicité d'O₂ a été obtenue sur modèles animaux et sur cellules en culture. Elle est liée principalement à la formation de ROS in situ, en concentrations qui excèdent les capacités antioxydantes, aux interactions des ROS avec les cellules et au déclenchement d'une réaction inflammatoire avec production de médiateurs (*tableau III*) [3, 4, 5, 22].

Les effets cellulaires de l'hyperoxie

L'hypothèse de la production de ROS en hyperoxie est soutenue par des travaux montrant une corrélation entre la chute des antioxydants et l'augmentation de la mortalité après hyperoxie, et la présence d'une augmentation des concentrations en antioxydants induite par l'exposition à une hyperoxie subléthale et corrélée à une résistance accrue à une hyperoxie sévère ultérieure [3, 5, 23, 24].

Les mécanismes de la toxicité d'O₂ ont été étudiés sur cellules (épithéliales alvéolaires et endothéliales) en culture soumises aux concentrations en O₂ comprises entre 80 et 100 % pour des durées allant de 30 min à 48 h. L'hyperoxie, en augmentant la PaO₂ et la concentration tissulaire en oxygène, augmente la production d'espèces radicalaires dans les mitochondries, les microsomes et les fractions nucléaires pouvant entraîner la mort cellulaire par des mécanismes encore discutés : apoptose ou nécrose [3, 25-27]. Des espèces radicalaires ont été identifiées dans les cellules endothéliales (100 % d'O₂ pendant 30 min) par résonance paramagnétique électronique, sans que cette production de radicaux libres ne soit une cause de mort cellulaire [28].

L'administration de NO[•] en hyperoxie pourrait être toxique par sa réaction avec O₂ produisant des nitrites qui peuvent dégrader l'héparine et le sulfate d'héparan [29], et par sa réaction avec O₂⁻ formant du peroxy-nitrite qui altère le surfactant, entraîne la mort des cellules épithéliales et endothéliales des microvaisseaux pulmonaires et provoque une nitration des protéines [30-32]. Ces observations sont confirmées par des études sur modèle animal et sur poumons isolés [33, 34] et posent la question du danger potentiel d'une thérapeutique combinant FiO₂ élevée et administration de NO[•] chez les patients en défaillance respiratoire aiguë.

Les effets biochimiques imputés à l'hyperoxie sont des altérations mitochondriales, une chute du glucose et de l'ATP, des altérations du DNA, la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et l'activation de la NO-synthétase inductible [26, 35, 36]. L'altération des bases nucléiques et les cassures perturbent les processus de transcription et stimulent l'activité de réparation de l'enzyme nucléaire poly (ADP-ribose) synthétase (PARS), avec consommation de NAD⁺, ralentissement de la glycolyse, du transport d'électron et de la formation d'ATP [37]. Les protéines sont oxydées au niveau des fonctions sulfhydryles et des ponts disulfures et peuvent être nitrées sur leurs acides aminés aromatiques (surtout la tyrosine) par les produits dérivés du NO[•] et du peroxy-nitrite [8, 38, 39]. Ces altérations protéiques et nucléaires perturbent les processus de signalisation et de transcription, conduisant à une dérégulation de certains gènes, comme ceux qui codent pour les enzymes de réparation du DNA, et à une activation d'autres gènes comme ceux qui codent pour des enzymes de résistance à l'O₂ et pour la production des médiateurs inflammatoires. L'hyperoxie, via l'induction de NF-κB, régulerait l'expression de facteurs de résistance comme l'hème oxygénase-1 [40].

La lipoperoxydation des membranes agit sur les fonctions de perméabilité et de transports sélectifs. La production d'espèces oxydantes a encore pour effet de consommer les composés antioxydants et d'affaiblir les défenses cellulaires. L'hyperoxie déclenche aussi une réponse inflammatoire dans les tissus pulmonaires, avec production accrue des cytokines (TNFα, IL-1, IL-6 et IL-8) par les monocytes, et, comme conséquence, l'attraction et l'activation des polymorphonucléaires neutrophiles, grands producteurs de ROS.

Le rôle des phagocytes

Dans l'hyperoxie, il y a infiltration progressive des poumons par les leucocytes : leur participation au premier stade du développement de la réaction inflammatoire reste discutée, mais leur rôle aggravant est certain [41]. Les neutrophiles arrivent dans les alvéoles entre la

48^e et la 60^e h selon l'espèce et contribuent au démarrage des altérations pulmonaires dans l'hyperoxie (> 99 % d'O₂) chez la souris [42]. Leur arrivée massive plus tardive (après 60 h à 100 % d'O₂), dans certains modèles animaux, précède de peu le décès [3, 4, 5]. Les neutrophiles sont attirés dans les alvéoles par des facteurs chimiotactiques, libérés par les macrophages alvéolaires, et s'y activent en produisant in situ des médiateurs inflammatoires et des ROS responsables de chlorination et de nitration. Ils attaquent les fonctions amines et thiols présentes sur les chaînes protéiques, avec une perte fonctionnelle pour des protéines comme l' α_1 protéinase inhibiteur et l' α_2 macroglobuline, nécessaires à la lutte contre les protéases. Cette perte d'activité, couplée à la libération des protéases par les neutrophiles et les macrophages et à l'activation des proenzymes par les ROS, accroît la destruction du tissu pulmonaire et des alvéoles (protéolyse de l'élastine, activation de la collagénase) avec œdème et fibrose.

Les médiateurs inflammatoires

L'hyperoxie déclenche une réponse inflammatoire en stimulant la production intrapulmonaire des cytokines pro-inflammatoires. Après 24 h d'hyperoxie, les lymphocytes pulmonaires contiennent des taux accrus d'ARN messager codant pour le TNF α et, dans les monocytes soumis in vitro à 95 % d'O₂, on a mesuré des augmentations des cytokines (TNF α , IL-1, IL-6, IL-8 et IFN γ) et de leurs ARN messagers [43-45]. Il y aurait synergie entre l'hyperoxie et l'action des endotoxines pour augmenter la production de TNF α et d'IL-1 β par les macrophages alvéolaires et accroître l'attraction des neutrophiles [46]. Mais le rôle néfaste de l'augmentation des cytokines dans l'hyperoxie reste discuté. On leur attribue aussi un rôle bénéfique : un prétraitement avec le TNF et l'IL-1 semble protéger les rats soumis à l'hyperoxie et augmenter l'activité antioxydante pulmonaire, particulièrement celle de la Mn SOD mitochondriale [47]. L'hyperoxie agit aussi en induisant l'expression des molécules d'adhésion, différemment selon l'endroit (artérioles, veinules, capillaires). L'exposition à 90 % d'O₂ pendant 48 h induit l'expression d'ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule*) dans les veinules et les capillaires pulmonaires chez le rat, et accroît sélectivement la séquestration des leucocytes dans les capillaires [48].

Les manifestations de la toxicité de l'hyperoxie in vivo et les phénomènes de défense (modèles animaux)

Les effets toxiques les plus connus dus à l'hyperoxie sont les atteintes du système nerveux central et des pou-

mons, mais d'autres organes sont lésés : la rétine, l'humeur vitrée, le foie, les reins, l'intestin, etc. [49-51]. Les mécanismes de la phosphorylation oxydative sont touchés, mais également les synthèses de protéines, d'ADN et d'ARN, les neurotransmetteurs, le transport membranaire, etc. La toxicité de l'hyperoxie hyperbare est connue de longue date [50-52]. Sa toxicité cérébrale fut découverte par Paul Bert en 1877 et sa toxicité pulmonaire par Lorrain-Smith en 1899 : l'exposition continue du rat à une PO₂ de 0,74 à 0,8 atmosphère produisait une dyspnée progressive conduisant à la mort en 4 jours ou en 5 à 10 heures à 2,7 – 3,6 atmosphères [50]. Les symptômes se manifestent après une période de latence, d'autant plus limitée que la PO₂ est élevée. L'hyperoxie hyperbare et ses effets nocifs forment un domaine particulier, toujours très étudié [52].

L'utilisation d'O₂ en hyperoxie normobare est courante chez les patients de soins intensifs et les études de ses effets nocifs potentiels ont débuté dans les années 1950 sur modèles animaux. Elles ont montré une susceptibilité variable selon l'espèce et l'âge de l'animal. Les manifestations de toxicité les plus rapidement visibles se situent au niveau pulmonaire [3, 53-55]. Lors d'une exposition à 100 % d'O₂, les effets toxiques sont modérés après 24 à 36 h et augmentent considérablement au-delà de 48 h (*figure 3a*). Ils se manifestent par des altérations de la perméabilité capillaire avec œdème et augmentation de la population cellulaire intra-alvéolaire. Les cellules endothéliales sont altérées les premières (avec détachement), tandis que les modifications de l'épithélium ne sont visibles qu'en phase tardive [56, 57]. L'image globale est celle d'une défaillance respiratoire aiguë (*acute lung injury* : ALI). Après 78 h, les altérations sont irréversibles et la mortalité est accélérée par un retour à 21 % d'O₂ qui entraîne des

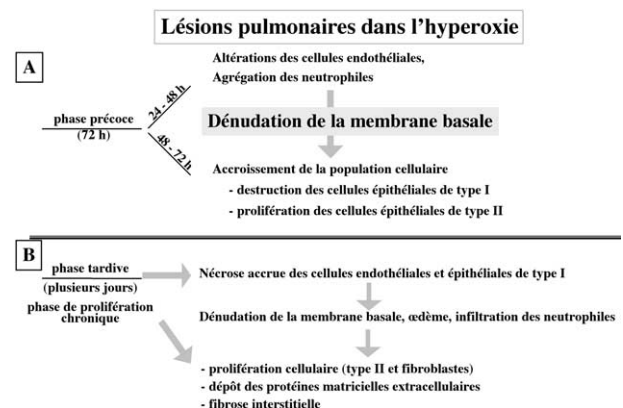


Figure 3. Principaux phénomènes observés dans les poumons au cours de l'hyperoxie (pour des FiO₂ = 70 %) et leur évolution au cours du temps. A : phase précoce ; B : phase tardive.

conditions d'hypoxie (*figure 3b*). Par contre, l'exposition aux conditions d'oxygénation subléthales (jusqu'à 85 % d'O₂) peut induire une résistance. Il existe donc un seuil de tolérance à l'hyperoxie, à la fois dans la concentration en O₂ et dans la durée d'exposition.

Les défenses naturelles contre les ROS sont des molécules antioxydantes (glutathion, vitamine E, etc.), des enzymes spécialisées (SOD cytosolique et mitochondriale, catalase, glutathion peroxydase, thiorédoxine réductase, etc.) et des protéines qui « neutralisent » le Fe²⁺, soit en l'oxydant en Fe³⁺ (céruloplasmine), soit en le captant (albumine, haptoglobine), soit encore en assurant son transport (transferrine) dans les cellules où il est stocké par des protéines spécialisées comme la ferritine. Les enzymes agissent par voie catalytique : une molécule d'enzyme est capable de neutraliser quelques centaines, voire quelques milliers, de molécules toxiques. Les antioxydants agissent de manière stoechiométrique, en neutralisant une ou quelques espèces dangereuses par molécule d'antioxydant [7, 13]. Leur efficacité est limitée par l'importance et le lieu de production des espèces toxiques : la vitamine E est active en milieu lipophile, tandis que le GSH est efficace en milieu hydrophile. Après réaction, le glutathion oxydé dimérise en GSSG d'où il est régénéré par la glutathion réductase, et la vitamine E, devenue radicalaire, peut être régénérée par la vitamine C.

De nombreux travaux signalent des « phénomènes d'adaptation » à l'hyperoxie par augmentation des systèmes de défense, dans les cas d'exposition aux doses d'O₂ au-delà de 70 % et surtout à partir de 85 % [22]. Chez le rat, on a observé une augmentation des concentrations en GSH après 24 h d'hyperoxie et, après 40 à 72 h à 85 % d'O₂, une augmentation d'activité des enzymes anti-oxydantes dans le poumon et dans les cellules pulmonaires isolées en culture [3, 58]. Cet accroissement n'est pas lié à l'augmentation du nombre de cellules, mais à l'expression accrue des enzymes. L'augmentation d'expression de la SOD extracellulaire dans les voies respiratoires protège les souris vis-à-vis de 100 % O₂, en atténuant notamment la réponse inflammatoire des neutrophiles [59]. Dans les mitochondries sous hyperoxie, on a observé une expression accrue de Mn-SOD [42, 60]. Cette induction enzymatique est variable selon l'espèce et l'âge : elle existe surtout chez les nouveau-nés et les animaux jeunes qui induisent rapidement la SOD, la catalase et la glutathion peroxydase [58]. Mais, la protection antioxydante n'est pas le seul mécanisme expliquant la différence de réponse face à l'hyperoxie entre animaux jeunes et âgés [61]. De plus, on ignore si la réponse adaptative chez l'homme est semblable à celle des animaux et s'il y a développement d'une tolérance à l'hyperoxie variable selon l'âge. Les mécanismes de ces phénomènes d'adaptation, inex-

pliqués dans le détail, paraissent liés à l'activation de la transduction du signal cellulaire ainsi qu'à l'influence de facteurs endocrinologiques mal définis. Des modèles animaux ont montré que l'administration de dexaméthasone augmente les potentialités toxiques de l'hyperoxie [59], données qui doivent être prises en considération lorsque des stéroïdes sont utilisés en soins intensifs chez le patient soumis à des FiO₂ élevées.

Les inhibiteurs de la NO-synthétase aggraveraient la toxicité de l'O₂ au niveau des poumons [62]. Le NO[•] endogène est donc présenté comme protecteur potentiel dans l'hyperoxie, grâce à ses capacités de « piègeur » des ROS, de sorte que la stimulation de sa production serait bénéfique [62, 63]. Ce rôle protecteur reste discuté, puisqu'en réagissant avec O₂^{•-}, le NO[•] peut produire le peroxy-nitrite et qu'en réagissant avec O₂, il forme des nitrites utilisables par d'autres voies métaboliques (comme celle de la myéloperoxydase) pour former de nouvelles espèces oxydantes ou nitrantes (*figure 1*). Le niveau et l'endroit de la production du NO[•] influencent sans doute ses effets dans l'hyperoxie : produit en quantité élevée à proximité (ou à l'intérieur) des phagocytes activés [64], en contact avec un flux important d'O₂, le NO[•] pourrait bien être un agent aggravant de l'hyperoxie, ce que semblent montrer un certain nombre d'études in vitro sur cultures cellulaires. D'autre part, la réaction inflammatoire qui accompagne l'hyperoxie peut entraîner une activité de la NO-synthase inductible qui produit des concentrations élevées en NO[•].

L'hème-oxygénase-1 participe aussi à la défense contre l'hyperoxie, par une voie indépendante de son activité enzymatique [65, 66]. Son expression dans les cellules alvéolaires protège contre l'hyperoxie et son induction dans les tissus pulmonaires (par instillation intratrachéale d'hémoglobine) induit une chute significative du volume de fluide pleural et de l'œdème tissulaire après 60 h d'exposition à 100 % O₂ chez le rat. La protection contre l'hyperoxie serait également liée à l'expression de certaines cytokines comme l'IL-11. Des souris transgéniques « surexprimant » l'IL-11 au niveau pulmonaire peuvent survivre plus de 10 jours à 100 % d'O₂ avec une diminution des altérations de la membrane épithéliale, de l'œdème et du recrutement des neutrophiles dans les alvéoles. Cette protection est associée à une augmentation modérée des activités de la GSH réductase, de la GSH peroxydase et de la Mn-SOD, une diminution de la production de TNF et d'IL-1 et une importante réduction de la fragmentation du DNA [67]. La protection pulmonaire est aussi liée à l'induction des *heat shock proteins* (HSP) comme la HSP70 qui exercerait des propriétés cytoprotectrices sur les cellules épithéliales pulmonaires sous hyperoxie en atténuant la peroxydation lipidique et la chute en

ATP [68], mais ces résultats ne sont pas confirmés sur modèle animal [69].

Dans la défense contre l'hyperoxie, il faut souligner le rôle des facteurs nutritionnels. Chez l'animal, une déficience sévère en sélénium entraîne une chute de l'activité de la GSH peroxydase, une déficience en cuivre peut diminuer l'activité de la SOD et un abaissement des concentrations en vitamine E prédispose aux oxydations [70]. Ces observations découlent d'expériences faites en hyperoxie de longue durée chez des animaux soumis aux régimes carencés. De telles situations sont rarement rencontrées chez l'homme, sauf chez le prématuré et les patients traités longtemps par alimentation parentérale.

TOXICITÉ DE L'OXYGÈNE CHEZ L'HOMME

Utilisation de l'oxygène en clinique humaine

L'intérêt clinique d'O₂ est apparu très tôt et ses premières utilisations pour l'assistance respiratoire dans la pneumonie datent du début du 20^e siècle. L'administration d'O₂ est désormais une pratique clinique courante dans les périodes postopératoires, chez les malades de soins intensifs dans l'hypoxémie et dans les situations d'urgence avec défaillance respiratoire aiguë ou chronique (pneumonie, embolie pulmonaire, asthme, fibrose, obstruction pulmonaire chronique, etc.).

L'administration d'O₂ aux PO₂ supérieures à la normale, en normobare, est destinée à rétablir au plus vite une pression artérielle en oxygène (PaO₂) suffisante pour maintenir l'oxygénation tissulaire. Elle est appliquée avec des FiO₂ pouvant atteindre 100 % dans les défaillances respiratoires les plus sévères comme le syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA). En général, cette thérapeutique est efficace, peu onéreuse, aisée à contrôler, et sans effets nocifs. Pourtant, déjà Priestley écrivait que l'O₂ « might not be so proper for us in the usual healthy state of the body » [5, 50, 71]. La question de sa toxicité est « réapparue » dans les années 1950, à la suite d'une épidémie de fibroplasie rétrolentale chez le nouveau-né traité par des pressions partielles élevées en oxygène [72].

Les pathologies clairement liées à l'administration d'O₂, survenant avec des fréquences très différentes, sont la fibroplasie rétrolentale (ou rétinopathie) du prématuré, la rétention de CO₂, l'atélectasie d'absorption, la trachéo-bronchite, le SDRA, la broncho-dysplasie et la toxicité de l'oxygène hyperbare.

La fibroplasie rétrolentale est décrite chez les prématurés traités par des concentrations élevées en oxygène dès la naissance. Elle se manifeste par une néovascularisation de la rétine et un développement bilatéral de tissus fibreux derrière le cristallin conduisant à la cécité

complète [72]. La rétention de CO₂ (hypercapnie sévère) survient par réduction du réflexe respiratoire après administration d'O₂ à forte concentration chez les patients atteints d'obstruction pulmonaire chronique et présentant des valeurs élevées de PaCO₂. Elle peut conduire à l'obligation d'intubation et de ventilation mécanique. Certains patients soumis aux concentrations élevées en O₂ pendant de longues durées peuvent présenter une atélectasie d'absorption avec hypoxémie lorsque la concentration en O₂ est abaissée : ces altérations des échanges gazeux sont dues au collapsus des alvéoles par absorption complète de l'O₂ en l'absence d'un gaz de « soutien » inerte. La trachéo-bronchite, la dysplasie bronchopulmonaire et le SDRA sont des syndromes chroniques ou aigus qui se développent à la suite d'une cascade de réactions oxydantes déclenchées par l'activation de l'oxygène dans les bronches et les alvéoles, en corrélation avec la FiO₂ [73]. La trachéo-bronchite ne met pas la vie du patient en danger, mais s'accompagne d'un risque accru de pneumonie. Le SDRA est une menace pour la survie et nécessite l'intubation et la ventilation mécanique, elle-même parfois génératrice d'altérations et d'agressions pulmonaires (VILI = *ventilator induced lung injury*) [74]. L'O₂ hyperbare est utilisé pour traiter le syndrome de décompression après plongée, l'intoxication par CO, les radionécroses, les infections à micro-organismes anaérobies et aérobies (gangrène, brûlures infectées, etc.). Sur les micro-organismes anaérobies, l'oxygène a un effet toxique direct et sur les aérobies, il agit surtout par une augmentation de l'oxygénation locale qui facilite l'action bactéricide des phagocytes. L'administration d'O₂ hyperbare a fait l'objet d'un grand nombre de travaux. Aux pressions de trois atmosphères, même pour des courtes durées, on peut observer des crises d'épilepsie. Les expositions de durée plus longue produisent des effets neurologiques avec séquelles permanentes (effet Paul Bert) et des effets pulmonaires (effet Lorrain-Smith) [50, 75, 76].

Manifestations de toxicité chez l'homme sain

Les données manquent pour estimer le seuil de FiO₂ induisant une toxicité chez l'homme. Sur la base des résultats obtenus chez l'animal et des rares observations en clinique humaine, il est estimé à 85 %, mais il existe déjà une toxicité pulmonaire pour des expositions prolongées aux FiO₂ > 0,5. D'un point de vue clinique, le syndrome de souffrance par hyperoxie peut se diviser en trois phases : la trachéo-bronchite, le SDRA et la fibrose interstitielle pulmonaire avec dégâts alvéolaires étendus [77]. Chez l'homme sain, les premiers signes de toxicité sont une irritation trachéo-bronchique (contraction thoracique et toux) après une exposition d'environ 10 h

à 100 % d'O₂ à pression atmosphérique : elle est rapidement réversible. Dans les mêmes conditions, après 24 h, le SDRA s'installe. Après 24 à 48 h, la concentration en albumine augmente dans les liquides de lavage broncho-alvéolaire, signe d'une altération de la barrière alvéolo-capillaire et confirmation d'une atteinte précoce de l'endothélium des capillaires pulmonaires [3, 5, 54]. L'administration d'O₂ normobare en concentration supérieure à 85 % provoque des dégâts pulmonaires étendus en 4 à 6 jours et, à 100 % d'O₂, il faut moins de 4 jours pour l'apparition des lésions dans l'endothélium capillaire.

L'histologie montre une exsudation excessive, une congestion, parfois une hémorragie intra-alvéolaire, des zones de nécrose des cellules alvéolaires et une desquamation de l'épithélium. Les altérations commencent dans les cellules endothéliales capillaires, continuent par un épaississement œdémateux des septa alvéolaires, la destruction des pneumocytes de type I, la formation de membranes hyalines, les hémorragies intra-alvéolaires et la constitution de zones d'atélectasie. On atteint ensuite le stade d'extension des dégâts alvéolaires avec prolifération des pneumocytes de type II et fibrose interstitielle (prolifération des fibroblastes et production de collagène). Au stade précoce de l'hyperoxie, la barrière alvéolaire conserve une membrane basale intacte tandis que la membrane capillaire est endommagée. On attribue généralement cette toxicité à la PO₂ élevée directement en contact avec les alvéoles dans les conditions de pression ne dépassant pas une atmosphère et à l'augmentation de la pression plasmatique en oxygène dans les conditions hyperbare (PO₂ > 1 atmosphère) [50]. Pour les expositions de longue durée aux FiO₂ supérieures à 85 %, des données éparses, obtenues chez des malades en coma dépassé après traumatisme cérébral, font état d'une chute progressive de la tension artérielle en O₂ et d'une augmentation du shunt [22].

À 50 % d'O₂ administré pour des périodes prolongées, on observe chez l'homme sain des altérations pulmonaires démontrées par l'analyse des liquides de lavage broncho-alvéolaire. Après 44 h, il y a stimulation des macrophages avec production de médiateurs inflammatoires et une augmentation des neutrophiles dans les alvéoles [78].

Par contre, les FiO₂ inférieures à 50 % en période prolongée et en normobare ne provoquent aucune altération observable chez l'homme sain. À faible pression, il ne semble pas y avoir d'effets nocifs des concentrations élevées en O₂, puisque, lors des vols spatiaux, aucune altération pulmonaire n'a été décrite chez les astronautes soumis à 100 % d'O₂ à 250 mm Hg durant des périodes prolongées.

Utilisation de l'oxygène en soins intensifs : un paradoxe apparent ?

Les travaux sur modèles animaux ont largement démontré que les FiO₂ peuvent produire des espèces activées qui provoquent des altérations cellulaires et tissulaires, avec œdème, prolifération des fibroblastes et des cellules alvéolaires de type II, libération de médiateurs et attraction des cellules inflammatoires. Depuis plusieurs décennies, des concentrations en O₂ supérieures à la normale sont utilisées pour de longues périodes dans le SDRA et chez les patients de soins intensifs, sans effets nocifs cliniquement observables. L'hyperoxie normobare aux concentrations « basses » (± 50 %) est bien tolérée et 100 % d'O₂ peuvent être administrés pour plus de 96 h sans effets toxiques apparents de sorte que l'administration prolongée d'oxygène à haute concentration paraît inoffensive en soins intensifs [79]. Le risque de toxicité pulmonaire dû à l'oxygène pourrait augmenter brutalement à partir d'un seuil proche de 60 % d'O₂. D'autre part, les manifestations pathologiques dues à l'hyperoxie ne sont pas spécifiques : atélectasie, œdème, hémorragie alvéolaire, inflammation, dépôts de fibrine, épaississement des septa et parois alvéolaires. Elles peuvent se confondre avec les pathologies pulmonaires déjà présentes et qui ont conduit à l'application de la ventilation en hyperoxie. Dès les premières années du traitement par ventilation mécanique, on a décrit des altérations pulmonaires comme le développement de membranes hyalines, la fibrose et l'œdème interstitiel, attribués à l'exposition aux FiO₂ élevées plutôt qu'à la ventilation [80].

Par rapport aux données recueillies sur modèles animaux, la survie des patients à une administration prolongée d'O₂ en concentrations élevées peut paraître paradoxale. Mais, chez les patients en défaillance respiratoire, les altérations des échanges gazeux sont profondes de sorte qu'on peut penser que seule une faible fraction d'O₂ atteint les capillaires pulmonaires et que la PaO₂ atteint difficilement et ne dépasse jamais la valeur normale (*figure 4*). Or l'endothélium joue un rôle clef dans les dégâts induits par l'hyperoxie et c'est à son niveau qu'apparaissent les premières lésions. Les cellules alvéolaires semblent mieux armées pour résister, pour autant qu'elles ne soient pas déjà altérées par un traumatisme direct ou par la ventilation mécanique qui peut, par elle-même, produire des dégâts par distensions alvéolaires et volo-traumatisme et par ouvertures et fermetures répétées du poumon.

Au total, les risques liés à l'hyperoxie ne paraissent pas remettre en cause l'utilisation thérapeutique d'O₂ en soins intensifs. Par contre, il faut s'interroger sur les effets délétères potentiels d'une FiO₂ élevée et d'une administration simultanée de NO[•]. La réaction directe

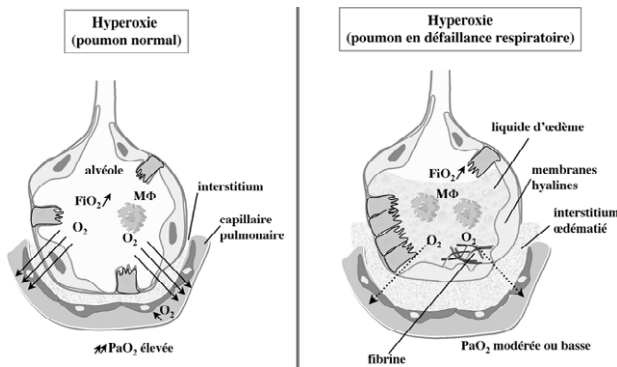


Figure 4. Schéma hypothétique expliquant la différence d'effet de l'hyperoxie dans l'alvéole d'un poumon sain et dans l'alvéole d'un poumon en défaillance respiratoire aiguë (SDRA). La pression artérielle en O_2 (PaO_2) sera élevée chez le sujet normal, tandis qu'elle restera dans les valeurs physiologiques ou inférieures aux valeurs normales dans le SDRA par suite des altérations des échanges gazeux dues à l'œdème dans l'alvéole et dans l'interstitium, à la présence de membranes hyalines et de dépôts fibreux. MΦ : macrophage alvéolaire.

de NO^* avec O_2 n'est pas exclue, conduisant à la formation d'espèces instables capables d'oxydation. Dans les poumons malades, les FiO_2 élevées peuvent être génératrices d' $O_2^{\cdot -}$ qui en présence de NO^* peut donner $ONOO^-$ instable, responsable d'oxydations et de nitrations. L'administration de NO^* aux patients sous FiO_2 élevées comporte donc des risques d'oxydations et de nitrations dans les alvéoles, favorisées par la présence de CO_2 et par la présence de neutrophiles activés. Des travaux récents ont montré que les protéines nitrées sont présentes dans les liquides de lavage broncho-alvéolaire chez les patients avec bronchopneumonie et/ou SDRA et que ces protéines nitrées sont plus élevées chez les patients en SDRA qui reçoivent du NO^* [81-83].

CONCLUSION

L'oxygène fondamental, malgré son apparente inertie, est potentiellement toxique lorsqu'il est utilisé en concentration supérieure à la concentration normale de 21 % chez l'homme et chez l'animal. Administré à la concentration de 100 %, il entraîne la mort en moins de 100 h. Cette toxicité est liée à la production d'espèces activées très réactionnelles (espèces oxydantes et radicalaires) et est particulièrement manifeste au niveau pulmonaire avec une plus grande sensibilité des cellules endothéliales comparées aux cellules épithéliales alvéolaires. En clinique, il est impensable de renoncer à l'utilisation de l' O_2 , en concentrations élevées et pour des périodes prolongées, chez les patients en hypoxémie sévère. L' O_2 semble d'ailleurs peu toxique chez les

patients en SDRA, même en administration de longue durée avec des FiO_2 élevées. Cette apparente contradiction peut s'expliquer par la difficulté à distinguer les dégâts pulmonaires dus spécifiquement à l'hyperoxie de ceux provoqués par la défaillance respiratoire et la réaction inflammatoire chez ces malades. L'altération des échanges gazeux entre l'alvéole et les capillaires pulmonaires peut contribuer à maintenir une pression en O_2 plus faible dans le compartiment vasculaire et à éviter le contact des cellules endothéliales avec des PaO_2 élevées. Les altérations dues à l'hyperoxie se limiteraient ainsi au compartiment alvéolaire, difficiles à distinguer des effets spécifiques de la défaillance respiratoire. Mais, dans cette perspective, il faut envisager l'utilisation du NO^* avec la plus grande prudence, puisque, par ses capacités à réagir avec l' O_2 , il peut augmenter la toxicité des FiO_2 élevées.

L'utilisation d' O_2 avec une FiO_2 supérieure à la valeur normale reste une nécessité vitale pour les patients hypoxiques, en défaillance respiratoire aiguë, mais elle doit être titrée, c'est-à-dire limitée au minimum en concentration et en temps, particulièrement dans les poumons traumatisés et enflammés, c'est-à-dire déjà endommagés.

RÉFÉRENCES

- McCord JM, Fridovich I. The reduction of cytochrome c by milk xanthine oxidase. *J Biol Chem* 1968 ; 243 : 5753-60.
- Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science* 1978 ; 201 : 875-80.
- Fanburg BL, Deneke SM. Hyperoxia. In : Massaro D, Ed. Lung cell biology. Lung biology in health and disease, Vol 41. New York : Marcel Dekker Inc ; 1989. p. 1199-226.
- Jenkinson SG. Oxygen toxicity. *New Horiz* 1993 ; 1 : 504-11.
- Folz RJ, Piantadosi CA, Crapo JD. Oxygen toxicity. In : Crystal RG, West JB, Barnes PJ, Weibel ER, Eds. The lung : scientific foundations. second edition. Philadelphia : Lippincott-Raven Publishers ; 1997. p. 2713-22.
- Deby-Dupont G, Deby C, Lamy M. Oxygen therapy in intensive care patients : a vital poison ? In : Vincent JL, Ed. Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine. Berlin : Springer Verlag ; 1999. p. 417-32.
- Deby-Dupont G, Deby C, Lamy M. Espèces oxygénées activées et radicaux libres. In : Carlet J, Martin C, Offenstadt G, Eds. États infectieux graves - Perspectives thérapeutiques. Paris : Masson ; 1995. p. 130-48.
- Deby C, Goutier R. New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutases. *Biochem Pharmacol* 1990 ; 39 : 399-405.
- Pryor WA, Squadrito GL. The chemistry of peroxynitrite : a product from the reaction of nitric oxide with superoxide. *Am J Physiol* 1995 ; 268 : L622-L99.
- Deby-Dupont G, Deby C, Lamy M. Myeloperoxidase revisited. *Intensivmed* 1999 ; 36 : 500-13.
- Eiserich JP, Hristova M, Cross CE, Jones DA, Freeman BA, Halliwell B, et al. Formation of nitric oxide-derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils. *Nature* 1998 ; 391 : 393-7.
- Van der Vliet A, Eiserich JP, Shigenaga MK, Cross CE. Reactive nitrogen species and tyrosine nitration in the respiratory tract. *Am J Respir Crit Care Med* 1999 ; 160 : 1-9.

- 13 Deby C, Hartstein G, Deby-Dupont G, Lamy M. Antioxidant therapy. In : Bion JF, Ed. Current topics in intensive care 2. London : WD Saunders Company Ltd ; 1995. p. 175-205.
- 14 Freeman BA, Crapo JD. Hyperoxia increases oxygen radical production in rat lungs and lung mitochondria. *J. Biol. Chem.* 1981 ; 256 : 10986-92.
- 15 Babior BM. NADPH oxidase : an update. *Blood* 1999 ; 93 : 1464-76.
- 16 Thannickal VJ, Fanburg BL. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000 ; 279 : L1005-28.
- 17 Griendling KH, Sorecu D, Ushio-Fukai M. NAD (P) H Oxidase. Role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res* 2000 ; 86 : 494-501.
- 18 McCord JM. Superoxide dismutase : rationale for use in reperfusion injury and inflammation. *J Free Radic Biol Med.* 1986 ; 2 : 307-10.
- 19 Zulueta JJ, Yu FS, Hertig IA, Thannickal VJ, Hassoun PM. Release of hydrogen peroxide in response to hypoxia-reoxygenation : role of an NAD (P) H oxidase-like enzyme in endothelial cell plasma membrane. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995 ; 12 : 41-9.
- 20 Everse J, Hsia N. The toxicities of native and modified hemoglobins. *Free Radic Biol Med* 1997 ; 22 : 1075-99.
- 21 Suzuki YJ, Forman HJ, Sevanian A. Oxidants as stimulators of signal transduction. *Free Radic Biol Med* 1997 ; 22 : 269-85.
- 22 Deneke SM, Fanburg BL. Normobaric oxygen toxicity of the lung. *N Engl J Med* 1980 ; 303 : 76-86.
- 23 Hamburg DC, Tonoki H, Welty SE, Geske RS, Montgomery CA, Hansen TN. Endotoxin induces glutathione reductase activity in lungs of mice. *Pediatr Res* 1994 ; 35 : 311-5.
- 24 Carlsson LM, Jonsson J, Edlund T, Marklund SL. Mice lacking extracellular superoxide dismutase are more sensitive to hyperoxia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995 ; 92 : 6264-8.
- 25 Freeman BA, Topolosky MK, Crapi ID. Hyperoxia increases oxygen radical production in lung homogenates. *Arch Biochem. Biophys* 1982 ; 216 : 477-84.
- 26 Slater AFG, Nobel CSI, Orrenius S. The role of intracellular oxidants in apoptosis. *Biochem Pharmacol Acta* 1995 ; 1271 : 59-62.
- 27 Kazzaz JA, Xu J, Palaia TA, Mantell L, Fein AM, Horowitz S. Cellular oxygen toxicity. *J Biol Chem* 1996 ; 271 : 15182-6.
- 28 Sanders SP, Zweier JL, Kuppusamy P, Harrison SJ, Bassett DJ, Gabrielson EW, et al. Hyperoxic sheep pulmonary microvascular endothelial cells generate free radicals via mitochondrial electron transport. *J Clin Invest* 1993 ; 91 : 146-52.
- 29 Vilar RE, Ghael D, Li M, Bhagat DD, Arrigo LM, et al. Nitric oxide degradation of heparin and heparan sulphate. *Biochem J* 1997 ; 324 : 473-9.
- 30 Hallman M, Waffarn F, Bry K, Turbow R, Kleinman MT, Mautz WJ, et al. Surfactant dysfunction after inhalation of nitric oxide. *J Appl Physiol* 1996 ; 80 : 2026-34.
- 31 Robbins CG, Horowitz S, Merritt TA, Kheiter A, Tierney J, Narula P, et al. Recombinant human superoxide dismutase reduces lung injury caused by inhaled nitric oxide and hyperoxia. *Am J Physiol* 1997 ; 272 : L903-7.
- 32 Narula P, Xu J, Kazzaz JA, Robbins CG, Davis JM, Horowitz S. Synergistic cytotoxicity from nitric oxide and hyperoxia in cultured lung cells. *Am J Physiol* 1998 ; 274 : L411-6.
- 33 Garat C, Jayr C, Eddahibi S, Laffon M, Meignan, Adnot S. Effects of inhaled nitric oxide or inhibition of endogenous nitric formation on hyperoxic lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1997 ; 155 : 1957-64.
- 34 Nozik ES, Huang YC, Piantadosi CA. L-arginine enhances injury in the isolated rabbit lung during hyperoxia. *Respir Physiol* 1995 ; 100 : 63-74.
- 35 Arkovitz MS, Szabo C, Garcia VF, Wong HR, Wispe JR. Differential effects of hyperoxia on the inducible and constitutive isoforms of nitric oxide synthase in the lung. *Shock* 1997 ; 7 : 345-50.
- 36 Allen CB, White CW. Glucose modulates cell death due to normobaric hyperoxia by maintaining cellular ATP. *Am J Physiol* 1998 ; 274 : L159-64.
- 37 Szabo C. Role of pol (ADP-ribose) synthetase in inflammation. *Eur J Pharmacol* 1998 ; 350 : 1-19.
- 38 Beckman JS. Oxidative damage and tyrosine nitration from peroxynitrite. *Chem Res Toxicol* 1996 ; 19 : 836-44.
- 39 Quijano C, Alvarez B, Gatti RM, Augusto O, Radi R. Pathways of peroxynitrite oxidation of thiol groups. *Biochem J* 1997 ; 322 : 167-73.
- 40 Franek WR, Horowitz S, Stansberry L, Kazzaz JA, Koo HC, Li Y, et al. Hyperoxia inhibits oxidant-induced apoptosis in lung epithelial cells. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 569-75.
- 41 Barry BE, Crapo JD. Patterns of accumulation of platelets and neutrophils in rat lungs during exposure to 100 % and 85 % oxygen. *Am Rev Respir Dis* 1985 ; 132 : 548-55.
- 42 Folz RJ, Abushama AM, Suliman HB. Extracellular superoxide dismutase in the airways of transgenic mice reduces inflammation and attenuates lung toxicity following hyperoxia. *J Clin Invest* 1999 ; 103 : 1055-66.
- 43 Jensen JC, Pogrebniak HW, Pass HI, Buresh C, Merino MJ, Kauffman D, et al. Role of tumor necrosis factor in oxygen toxicity. *J Appl Physiol* 1992 ; 72 : 1902-7.
- 44 Metinko AP, Kunkel SL, Standiford TJ, Strieter RM. Anoxia-hyperoxia induces monocyte-derived interleukin-8. *J Clin Invest* 1992 ; 90 : 791-8.
- 45 Shea LM, Beehler C, Schwartz M, Shenkar R, Tudor R, Abraham E. Hyperoxia activates NF-kappaB and increases TNF-alpha and IFN-gamma gene expression in mouse pulmonary lymphocytes. *J Immunol* 1996 ; 157 : 3902-8.
- 46 O'Brien-Ladner AR, Nelson ME, Cowley BD, Bailey K, Westelius LJ. Hyperoxia amplifies TNF-a production in LPS-stimulated human alveolar macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995 ; 12 : 275-9.
- 47 White CW, Ghezzi P, McMahon S, Dinarello CA, Repine IE. Cytokines increase rat lung antioxidant enzyme during exposure to hyperoxia. *J Appl Physiol* 1989 ; 66 : 1003-7.
- 48 Nishio K, Suzuki Y, Aoki T, Suzuki K, Miyata A, Sato N, et al. Differential contribution of various adhesion molecules to leucocyte kinetics in pulmonary microvessels of hyperoxia-exposed rat lungs. *Am J Respir Crit. Care Med* 1998 ; 157 : 599-609.
- 49 Lamberts CJ. Effects of hyperoxia on organs and their tissues. In : Lenfant C, Ed. Extrapulmonary manifestations of respiratory disease. Vol 8. Lung Biology in health and disease. New York : Marcel Dekker ; 1978. p. 185-237.
- 50 Oriani G, Michael M, Marroni A, Longoni C. Physiology and pathophysiology of hyperbaric oxygen. In : Oriani G, Marroni A, Wattel F, Eds. Handbook of hyperbaric medicine. Berlin : Springer ; 1996. p. 1-34.
- 51 De Martino G, Luchetti M, De Rosa RC. Toxic effects of oxygen. In : Oriani G, Marroni A, Wattel F, Eds. Handbook of hyperbaric medicine. Berlin : Springer ; 1996. p. 59-74.
- 52 Kain JJ. Textbook of hyperbaric medicine, 3rd rev edition. Seattle : Hogrefe & Huber ; 1999.
- 53 Crapo JD, Barry BE, Foscue HA, Shelburne J. Structural and biochemical changes in rat lungs occurring during exposures to lethal and adaptive doses of oxygen. *Am Rev Respir Dis* 1980 ; 122 : 123-43.
- 54 Crapo JD. Morphological changes in oxygen toxicity. *Annu Rev Physiol* 1986 ; 42 : 720-31.
- 55 Smith LJ, Anderson J. Oxygen-induced lung damage. *Am Rev Respir Dis* 1992 ; 146 : 1452-7.
- 56 Charbonneau P, Azoulay E, Brun M, Bernaudin JF, Blayo MC, Pocard JJ. Normobaric oxygen toxicity in the adult rat lung : evidence for a non hypoxaemic pulmonary oedema. *Clin Respir Physiol* 1981 ; 17 (Suppl) : 117-27.
- 57 Erdmann AJ, Hüttemeier PC, Landolt C, Zapol WM. Pure oxygen breathing increases sheep lung microvascular permeability. *Anesthesiology* 1983 ; 58 : 153-8.
- 58 Stevens JB, Autor AP. Proposed mechanism for neonatal rat tolerance to normobaric hyperoxia. *Fed Proc* 1980 ; 39 : 3138-43.

- 59 Koizumi M, Frank L, Massaro D. Oxygen toxicity in rats. Variated effect of dexamethasone treatment depending on duration of hyperoxia. *Am Rev Respir Dis* 1985 ; 131 : 907-11.
- 60 Clerch LB, Massaro D. Tolerance of rats to hyperoxia. Lung antioxidant enzyme gene expression. *J Clin Invest* 1993 ; 91 : 499-508.
- 61 Canada AT, Herman LA, Young SL. An age-related difference in hyperoxia lethality : role of lung antioxidant defense mechanisms. *Am J Physiol* 1995 ; 268 : L539-L45.
- 62 Capellier G, Maupoil V, Boillot A, Kantelip JP, Rochette L, Regnard J, et al. L-NAME aggravates pulmonary oxygen toxicity in rats. *Eur Respir J* 1996 ; 9 : 2531-6.
- 63 McElroy M, Wiener-Kronish J, Miyazaki H, Sawa R, Modelska K, Dobbs L, et al. Nitric oxide attenuates lung endothelial injury caused by sublethal hyperoxia in rats. *Am J Physiol* 1997 ; 272 : L631-8.
- 64 Carreras MC, Pargament GA, Catz SD, Poderoso JJ, Boveris A. Kinetics of nitric oxide and hydrogen peroxide production and formation of peroxynitrite during the respiratory burst of human neutrophils. *FEBS Lett* 1994 ; 341 : 65-8.
- 65 Lee PJ, Alam J, Wiegand W, Choi AMK. Overexpression of heme oxygenase-1 in human pulmonary epithelial cells results in cell growth arrest and increased resistance to hyperoxia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93 : 10393-8.
- 66 Taylor JL, Carraway MS, Piantadosi CA. Lung-specific induction of heme oxygenase-1 and hyperoxic lung injury. *Am J Physiol* 1998 ; 274 : L582-90.
- 67 Waxman AB, Einarsson O, Seres T, Knickelbein RG, Warsaw JB, Johnston R, et al. Targeted lung expression of interleukin-11 enhances murine tolerance of 100 % oxygen and diminishes hyperoxia-induced DNA fragmentation. *J Clin Invest* 1998 ; 101 : 1970-82.
- 68 Wong HR, Menendez JY, Ryan MA, Denenberg AG, Wispe JR. Increased expression of heat shock protein-70 protect A549 cells against hyperoxia. *Am J Physiol* 1998 ; 275 : L836-L41.
- 69 Strand C, Warsaw JB, Snow K, Jacobs HC. Heat-shock does not induce tolerance to hyperoxia. *Am J Physiol* 1994 ; 172 : L78-89.
- 70 Kim HY, Picciano MF, Wallig MA. Postnatal selenium repletion protects neonatal rats from hyperoxia. *J Nutr* 1992 ; 122 : 1760-7.
- 71 Priestly J. Experiments and observations on different kinds of air, Vol 2. London : Johnson at St. Paul's Churchyard ; 1775. p. 101.
- 72 Reynolds JD. The management of retinopathy of prematurity. *Paediatr Drugs* 2001 ; 3 : 263-72.
- 73 Banks BA, Ischiropoulos H, McClelland M, Ballard PK, Ballard RA. Plasma 3-nitrotyrosine is elevated in premature infants who develop bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics* 1998 ; 101 : 870-4.
- 74 Dreyfuss D, Saumon G. Ventilator-induced lung injury : lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med* 1998 ; 157 : 294-323.
- 75 Tibbles PM, Edelsberg JS. Hyperbaric-oxygen therapy. *N Engl J Med* 1996 ; 334 : 1642-8.
- 76 Kleen M, Messmer K. Toxicity of high PaO₂. *Minerva Anestesiol* 1999 ; 65 : 393-6.
- 77 Katzenstein AL, Bloor CM, Leibow AA. Diffuse alveolar damage – the role of oxygen, shock, and related factors. A review. *Am J Pathol.* 1976 ; 85 : 209-28.
- 78 Griffith DE, Garcia JG, James HL, Callahan KS, Iriana S, Holiday D. Hyperoxic exposure in humans. Effects of 50 percent oxygen on alveolar macrophage leukotriene B₄ synthesis. *Chest* 1992 ; 101 : 392-7.
- 79 Capellier G, Beuret P, Clement G, Depardieu F, Ract C, Regnard J, et al. Oxygen tolerance in patients with acute respiratory failure. *Intensive Care Med* 1998 ; 24 : 422-8.
- 80 Nash G, Blennerhassett JB, Pontoppidan H. Pulmonary lesions associated with oxygen therapy and artificial ventilation. *N Engl J Med* 1967 ; 276 : 368-74.
- 81 Lamb NJ, Quinlan GJ, Westerman ST, Gutteridge JMC, Evans TW. Nitration of proteins in bronchoalveolar lavage fluid from patients with acute respiratory distress syndrome receiving inhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1999 ; 160 : 1031-4.
- 82 Mathy-Hartert P, Damas M, Nys G, Deby-Dupont JL, Canivet D, Ledoux, et al. Nitrated proteins in bronchoalveolar lavage fluid of patients at risk of ventilator-associated bronchopneumonia. *Eur Respir J* 2000 ; 16 : 296-301.
- 83 Sittipunt C, Steinberg KP, Ruzinski JT, Myles C, Zhu S, Goodman RB, et al. Nitric oxide and nitrotyrosine in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 ; 163 : 503-10.