

Stress oxydant et sepsis

D'après la communication de L. Rochette

Université de Bourgogne, faculté de médecine, 7 boulevard Jeanne d'Arc, BP 87900, 21079, Dijon Cedex

Les radicaux libres

L'oxygène (O_2) est un composé indispensable à la vie mais qui peut présenter, dans certaines circonstances, une forte toxicité. Il peut en effet lors de réactions radicalaires former des espèces réactives de l'oxygène. Une des premières étapes passe par la formation de l'anion superoxyde. Puis dans une suite de réactions, les processus oxydatifs non compensés par les défenses endogènes, conduisent à un état qui caractérise une situation instable et potentiellement délétère : le stress oxydant. Il est des situations comme le sepsis où le stress oxydant apparaît comme un facteur essentiel du développement d'atteintes cellulaires et de dysfonctions d'organes.

Les radicaux libres se caractérisent donc comme des intermédiaires chimiques particulièrement intéressants à appréhender dans l'approche de la physiopathologie du sepsis.

D'une manière globale, les formes radicalaires initiatrices des événements « oxydants » sont dérivées de l' O_2 et de l'azote (N). L'anion superoxyde formé à partir de l' O_2 sous l'action d'enzymes de type oxydases ou mitochondriales, peut être transformé en peroxyde d'hydrogène par la voie des superoxyde dismutases (SODs), puis en H_2O , par la voie des catalases et des glutathion (GSH) peroxydases ; ce sont des voies normales de détoxification et de protection cellulaires.

Mais le peroxyde d'hydrogène peut, dans des situations pathologiques, par les mêmes voies, en présence de métaux dits de transition comme le fer (Fe) ou le cuivre (Cu) qui activent la réaction, conduire à la formation permanente de composés radicalaires hydroxylés.

Des réactions en chaîne vont alors s'établir au niveau des différents compartiments intracellulaires, mais aussi extracellulaires. On passe ainsi des radicaux libres primaires (anion superoxyde, OH hydroxyle et monoxyde d'azote ou NO^*) à des radicaux libres secondaires alkyl-alkoxyl (RO , ROO^* ou NO_2). Certaines de ces formes radicalaires qui ont un rôle de signalisation intracellulaire apparaissent comme des « modulateurs » indispensables aux fonctions cellulaires. Toutefois, en cas de « débordement » des processus oxydatifs, comme nous l'avons signalé précédemment, les effets toxiques s'installent initialement de manière réversible puis irréversible, conduisant à la mort de la cellule par nécrose ou apoptose. Dans une phase intermédiaire, tous les constituants de la cellule subissent des déstructurations par oxydation ; sont alors formés les dérivés oxydés des protéines, des lipides et des acides nucléiques.

La mise en évidence des espèces radicalaires principalement dérivées de l'oxygène est très délicate, en effet leurs demi-vies sont très brèves, fraction de milliseconde hormis pour le NO dont la demi-vie est en moyenne de quatre secondes (Fig. 1).

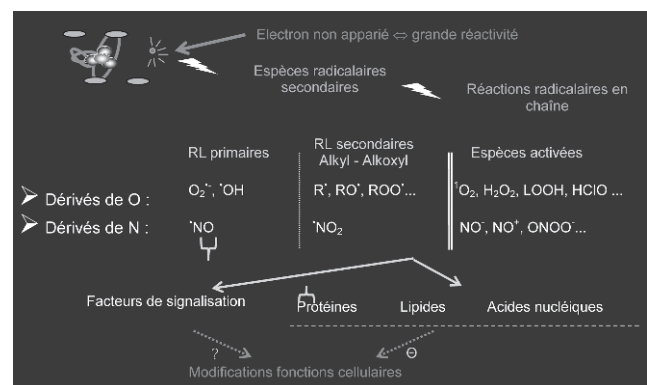


Fig. 1 - Les radicaux libres.

Auteur correspondant.

Adresse e-mail : rochette@u-bourgogne.fr

Les antioxydants

Un antioxydant est, par définition une substance qui, à l'état de trace, inhibe l'oxydation d'un substrat présent en concentration importante. Dans le plasma en particulier, les substances présentes vont orienter le milieu vers un état oxydatif ou réducteur. À ce titre, la présence d'albumine (non dénaturée), même à l'état de traces, constitue un potentiel antioxydant plasmatique majeur.

Dans cette hypothèse, des antioxydants naturels doivent être considérés comme des protecteurs indispensables ; ils sont classés en tenant compte de leur structure chimique et de leur localisation : extracellulaire ou intracellulaire. Leurs fonctions doivent être appréhendées de manière spatiale et temporelle, ce qui rend leur approche souvent complexe. Ils existent sous la forme de vitamines (A, C, E, acide folique) ou de protéines (albumine, ferritine, coeruloplasmine, myoglobine, etc.). Les composés endogènes protecteurs sont présents dans tous les liquides de l'organisme : plasma, liquide céphalorachidien ou liquide synovial. Ces protéines ont un rôle majeur dans la protection cellulaire ; en effet, elles sont capables de chélater le Fer ou le Cuivre qui sont, comme nous l'avons noté, des métaux de transition « facilitateurs » des réactions radicalaires impliquant l'oxygène. Rappelons également que le milieu intracellulaire est riche en composés aux propriétés « anti-oxydantes » directes et indirectes : rôle des thiols, coenzymes Q10, acide urique, bilirubine, mélatonine... Compte tenu de la répartition tissulaire de ces composés, chaque structure devra être envisagée de manière spécifique (Fig. 2).

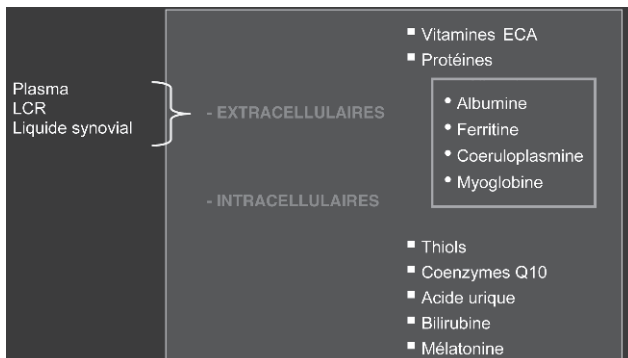


Fig. 2 - Antioxydants

Une place tout à fait particulière car majeure doit être accordée à l'albumine sérique humaine (HSA). Cette protéine qui représente 60 % de la totalité des protéines plasmatiques, est constituée de 585 acides aminés, de 17 ponts disulfures et d'un groupement thiol au niveau de sa cystéine 34. Son rôle apparaît déterminant dans le maintien d'une protection plasmatique vis-à-vis des processus oxydatifs qui accompagnent de nombreuses pathologies débutant par un état inflammatoire.

Mesure du stress oxydant

L'évaluation du stress oxydant se fait le plus souvent par des mesures indirectes portant, soit sur les défenses antioxydantes : vitamines A, C, E, GSH, thiols, acide urique

ou activités enzymatiques (SOD, catalase, GPx), soit sur les produits des réactions radicalaires : lipides peroxydés, protéines oxydées, acides nucléiques oxydés ou métabolites du NO (nitrites/nitrates).

Cependant, des mesures directes du stress oxydatif ont été développées par la méthode du « spin trapping ». Un « spin trap » se définit comme un composé capable de fixer un composé radicalaire ; le produit d'addition ayant une demi-vie supérieure au radical libre qui a été piégé. Il existe des « spin traps » endogènes qui vont, de manière réversible, soustraire le radical libre à son environnement. Par ailleurs, des techniques physicochimiques récentes permettent d'obtenir par synthèse des composés qui ont une spécificité pour une forme radicalaire. Deux méthodes peuvent donc être, à cette fin, utilisées : le « spin trap » endogène, telle la fixation du NO par l'hémoglobine (Hb) avec formation d'un complexe Hb-NO ou nitrosylhémoglobine, détectable dans la circulation sanguine, et le « spin trap » exogène, avec des composés ayant une affinité pour des formes radicalaires déterminées et formant des complexes avec le NO. L'identification et la quantification de l'association : spin trap- espèce radicalaire sont réalisées par Résonance Paramagnétique Electronique (RPE) [1].

Les propriétés anti-oxydantes de certaines protéines ont été étudiées par RPE, comme par exemple, celles de la coeruloplasmine, capable de fixer le cuivre. Ces études ont ainsi montré que le signal radicalaire (induit par une réaction produisant des radicaux libres oxygénés) diminuait de manière concentration-dépendante en fonction des teneurs plasmatiques en coeruloplasmine.

Stress oxydant au cours du sepsis

Dans des conditions normales, et au niveau de toutes les cellules d'un tissu, il existe un équilibre entre la formation radicalaire et le stress oxydatif. Les espèces radicalaires impliquées dans la signalisation Redox jouent alors un rôle majeur dans le devenir et l'adaptation de la cellule à son environnement. La cellule peut soit s'installer en quiescence, ou proliférer, ou s'autodétruire ; c'est ce qui se passe lors de l'apoptose. Lors du développement d'un sepsis, le déséquilibre de l'Etat Redox va intervenir sur les processus de signalisation ; la mise en jeu d'évènements fatals pour la survie de la cellule survient alors (Fig. 3).

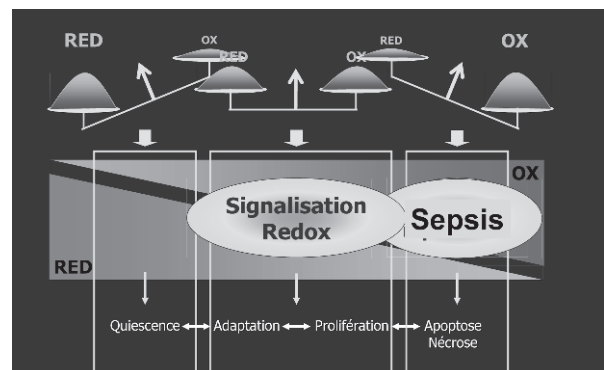


Fig. 3 - Le stress oxydatif radicalaire : l'équilibre Redox.

Une étude [2] récemment publiée, s'est intéressée à l'évolution du statut antioxydant plasmatique chez des patients atteints de sepsis sévère (n = 19) ou de choc septique (n = 37). L'âge moyen de ces patients était de 60 ans. Cette population de patients a été comparée à un groupe de 6 volontaires indemnes de toute pathologie et ne bénéficiant d'aucun traitement. Au cours des 24 premières heures d'hospitalisation, les variables nécessaires à l'établissement du SAPS II (Simplified Acute Physiology Score ou indice de gravité simplifié) étaient recueillies. L'évolution de la gravité clinique était assurée par le Score SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) qui évalue le degré de dysfonction des organes étudiés (poumons, foie, reins, hémostase, SNC et cardiovasculaire). Dans cette étude, il est montré, outre une baisse générale des protéines plasmatiques, une diminution significative de l'albumine dans les 2 catégories de patients par rapport aux sujets sains, soit, respectivement, des moyennes de $26,3 \pm 1,3$ (patients en sepsis sévère) et $21,4 \pm 1,3$ g/l (patients en choc septique) vs $43,5 \pm 1,3$ g/l (groupe contrôle). Il est noté également une chute très significative de la vitamine C (respectivement, $13,9 \pm 3,3$ et $13,9 \pm 3,1$ $\mu\text{mol/l}$ vs $48,2 \pm 6$ $\mu\text{mol/l}$) et une modification significative du rapport vitamine E/lipides (Tableau I).

Tableau I

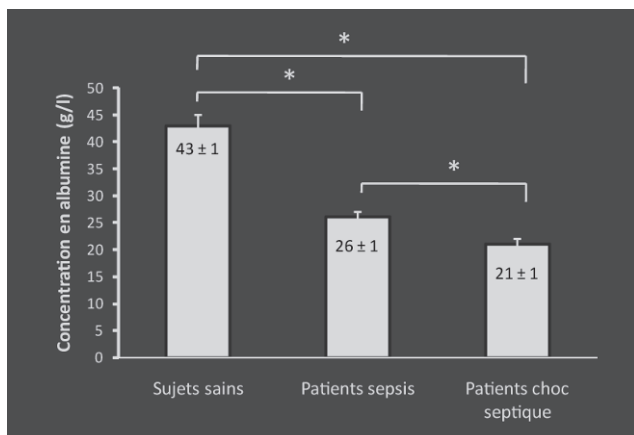
	Groupe contrôle	SEPSIS sévère	Choc septique
Nombre	6	19	37
Age	44 ± 3	62 ± 4.5 #	68 ± 2.6 #
Femme/Homme	2/4	6/13	12/25
SAPS II		42 ± 4.5	71 ± 3.4 §
SOFA SCORE		4.1 ± 2.7	12.4 ± 2.7 §
Mortalité		0 %	62 %

p<0,05 comparaison avec le groupe Contrôle

§ p<0,05 comparaison avec le groupe Sepsis sévère

Sur le graphique de la figure 4, les * représentent les différences statistiquement significatives entre les groupes.

Dans cette étude, les auteurs ont par ailleurs observé, chez ces patients, une diminution significative, et quasi



Sujets sains n=6; Patients sepsis n=19; Patients choc septique n=37

* p<0,05 par comparaison entre les groupes

Fig. 4 - Concentrations en albumines des plasmas de sujets sains et patients en état septique et en choc septique

inexorable du pouvoir antioxydant du plasma au cours du temps, quels que soient les traitements utilisés. Il apparaît donc, à la vue de ces résultats, que le sepsis sévère et le choc septique sont associés à une réduction des défenses anti-oxydantes plasmatiques et que, parmi les substances impliquées la chute des teneurs circulantes, l'albumine est une composante majeure.

Toutes les études menées au cours de ces dernières années dans ce domaine et qui étudient les cinétiques d'évolution de certaines composantes plasmatiques ont conduit à élaborer le concept des approches spatiales et temporelles des espèces radicalaires et des défenses antiradicalaires au cours du sepsis. Il serait par ailleurs, fort intéressant de préciser les signaux intracellulaires et le niveau du potentiel redox intracellulaire, en prenant en compte les susceptibilités individuelles et les sensibilités spécifiques de certains organes. Il faut rappeler que dans de nombreux états pathologiques, la phase initiale se caractérise par un processus inflammatoire [3] et que la « maîtrise » endogène de ce processus doit se mettre en place rapidement afin de juguler l'amplification des phénomènes. Au niveau de l'interface sang-cellules endothéliales, les différentes étapes précoces de l'inflammation ont été bien décrites : adhésion (importance de protéines du type intégrines, sélectines), « rolling » et diapédèse. Le stress oxydatif est alors majoré par l'activation de certaines enzymes telles que les NADPH oxydases. Ces événements sont bien décrits dans les phases d'ischémie-reperfusion qui sont concomitantes d'une production radicalaire élevée [4].

Conclusion

Le sepsis se conçoit initialement comme un état inflammatoire qu'accompagnent l'activation leucocytaire et la production de radicaux libres. Il s'en suit des dysfonctions endothéliales et une perte de la vasorégulation. Ces événements sont majorés par une augmentation de la production des cytokines et une activation plaquettaire. Plusieurs processus oxydatifs concourent à amplifier la production radicalaire : découplage des phosphorylations oxydatives mitochondriales et activation des enzymes de type oxydases. Par ailleurs, la mise en jeu rapide de l'induction des NO synthases conduit à une production intense de NO qui, au contact de l'anion superoxyde, forme un composé non radicalaire mais très oxydatif : le peroxy-nitrite. Les défenses endogènes anti-oxydantes sont alors dépassées et les dégâts cellulaires se produisent, touchant initialement les endothéliums vasculaires. Le processus délétère s'installe de manière irréversible conduisant à la mort de la cellule, puis à une dysfonction généralisée à l'ensemble d'un tissu, puis d'un organe.

Il apparaît donc essentiel d'intervenir de manière précoce et de renforcer les défenses endogènes circulantes, les protéines plasmatiques dont l'albumine occupent une place déterminante dans la mise en jeu de ces défenses.

Références

- [1] Lecour S, Maupoil V, Siri O, Tabard A, Rochette L. Electron spin resonance detection of nitric oxide generation in major organs from LPS-treated rats *J Cardiovasc Pharmacol* 1999;33:78-85.
- [2] Doise JM, Aho LS, Quenot JP, Guillard JC, Zeller M, Vergely C, Aube H, Blettery B, Rochette L. Plasma antioxidant status in septic critically ill patients: a decrease over time. *Fundam Clin Pharmacol* 2008;22:203-9.
- [3] Goudeau JJ, Clermont G, Guillery O, Lemaire-Ewing S, Musat A, Vernet M, Vergely C, Guiguet M, Rochette L, Girard C. In high-risk patients, combination of anti-inflammatory procedures during cardiopulmonary bypass can reduce incidences of inflammation and oxidative stress. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007;49:39-45.
- [4] Clermont g, Vergely C, Jazayeri S, Lahet JJ, Goudeau JJ, Lecour S, David M, Rochette L, Girard C. Systemic free radical activation is a major event involved in myocardial oxidative stress related to cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* 2002;96:80-7.