

UNIVERSITE DE MEEDCINE D'ETAT DE RYAZAN

DEPARTEMENT DE BIOCHIME

ALI YAZBECK

ETUDIANT DE DEUXIEME ANNEE MEDCINE GENERALE

RYAZAN 2019

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ: МАРСЯНОВА Ю.А.



HYPOXIE NON HYPOXIQUE



❖ PLAN DU CONFERENCE :

1. HISTORIQUE
2. DEFINITION DE L'HYPOXIE EN GENERALE
3. TYPES D'HYPOXIES
4. LES FACTEURS INDUITS PAR L'HYPOXIE [HIF]

HISTOIRE DE LA DÉCOUVERTE

- Comme beaucoup d'histoires, tout a commencé avec les bars à bière et, hélas, très triste. Au milieu des années 1960, parmi les amateurs de bière désespérés, une maladie inhabituelle a balayé les États-Unis, la Belgique et plusieurs autres pays: la cardiomyopathie, qui, selon toutes ses caractéristiques, est toxique en raison de l'accumulation d'un métal lourd inconnu. Très rapidement, le coupable a été trouvé: il s'est avéré qu'il s'agissait du chlorure de cobalt (II) - un antimousse efficace apprécié par un certain nombre de grandes brasseries.
- Fait intéressant, outre la cardiomyopathie, les ivrognes pauvres présentaient un taux élevé d'hémoglobine, ce qui était corrélé à un taux élevé d'érythropoïétine. Oui, c'est précisément cette érythropoïétine, que les athlètes espèrent tant produire, lorsqu'elle s'entraîne dans des conditions d'hypoxie de haute altitude. Cela voulait-il dire que l'hypoxie pouvait être remplacée par la prise de bière bivalente au cobalt? Il semble que oui!





- ❖ On ignore si cette histoire a été racontée par le jeune pédiatre Gregg Semenza de l'Hôpital Johns Hopps. La tâche du postdoc Gregg était de trouver un facteur régulant l'activité du promoteur du gène de l'érythropoïétine dans des conditions hypoxiques. Peu à peu, en 1992, le facteur a été découvert. En 1995, il est devenu évident qu'il s'agissait d'un hétérodimère dans lequel l'une des sous-unités dépendait de l'oxygène, en 2001, le mécanisme de régulation de la stabilité dépendant de l'oxygène. sous-unités - hydroxylation avec des prolyl hydroxylases. Le facteur a reçu un nom éloquent - facteur induit par l'hypoxie, ou HIF en abrégé.



DEFINITION DE L'HYPOXIE :

- L'hypoxie, ou hypoxie tissulaire, correspond à un apport insuffisant en oxygène par rapport aux besoins des tissus de l'organisme. Avant de pouvoir être utilisé au sein de l'organisme, l'oxygène est un élément qui doit être apporté par la respiration, transporté au sein de la circulation sanguine puis distribué aux différents tissus. L'hypoxie peut être due à différentes étapes de ce processus. Elle peut notamment faire référence à :
 - 1. une diminution de la quantité d'oxygène apportée aux cellules ;**
 - 2. une incapacité des tissus à utiliser l'oxygène disponible.**

TYPES D'HYPOXIES :

I. HYPOXIE HYPOXIQUE OU HYPOXIE GÉNÉRALISÉE

- Ceci se rapporte à l'hypoxie résultant d'une saturation insuffisante de l'oxygène de sang due à une alimentation réduite en oxygène à l'air, à la ventilation diminuée de poumon ou à la maladie respiratoire. Avec ce type d'hypoxie, la pression partielle de l'oxygène dans le sang artériel (paO_2) est inférieure à la normale. Certaines des causes de l'hypoxie hypoxique comprennent :
- Une haute altitude, où la concentration de l'oxygène atmosphérique est diminuée.
- Plongée de mer profonde s'il y a une alimentation insuffisante en oxygène dans le mélange respiratoire ou si un cylindre de rouille a extrait l'oxygène, par exemple.
- L'inhalation du protoxyde d'azote ou du gaz hilarant sur une base répétée pour des buts oisifs peut diminuer la disponibilité de l'oxygène tandis que le dioxyde de carbone croissant nivelle.
- L'apnée du sommeil ou l'apnée du sommeil obstructive peut interrompre le flux d'air aux poumons.
- Certaines maladies telles que l'asthme bronchique, arrestation respiratoire, bronchopneumopathie chronique obstructive entraînant la ventilation insuffisante des poumons.

2. HYPOXIE ANÉMIQUE

- Ceci se rapporte quand la capacité du sang de transporter l'oxygène est réduite et des niveaux insuffisants de l'oxygène sont pour cette raison distribués autour du fuselage.
- Les exemples des causes comprennent l'anémie et une quantité modérée d'hémoglobine oxygénée ; intoxication au monoxyde de carbone où les récepteurs qui transportent habituellement l'oxygène sont bloqués par le monoxyde de carbone ; et l'utilisation de certains médicaments qui peuvent modifier les récepteurs actuels sur des hématies et affectent leur capacité de transporter l'oxygène.

3. HYPOXIE HISTOTOXIQUE

- Ceci se rapporte quand l'oxygène est livré aux tissus mais elles ne l'utilisent pas effectivement parce que les cellules sont endommagées et ne peuvent pas extraire et absorber l'oxygène du sang de diffusion. Ceci peut se produire avec l'abus de l'alcool ou des médicaments et est également vu dans l'intoxication de cyanure. Le cyanure perturbe l'oxydase de cytochrome, une enzyme importante dans la respiration de cellules.

3. HYPOXIE STAGNANTE

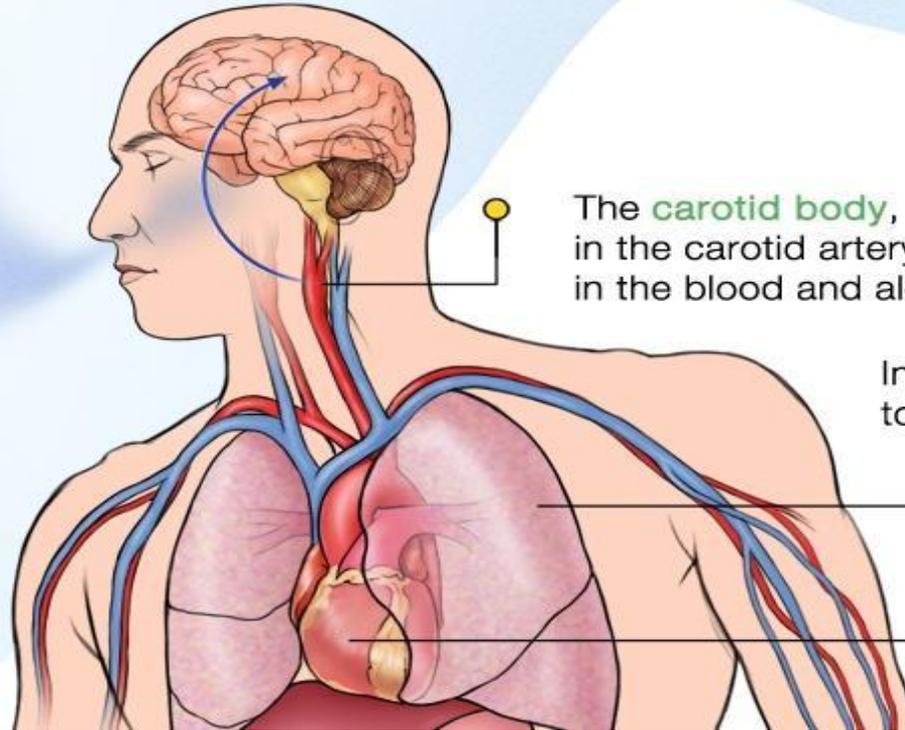
- Ceci résulte d'une diminution en flux sanguin évitant l'approvisionnement en sang adéquat aux tissus. La crise cardiaque, l'insuffisance cardiaque, ou l'arrêt cardiaque, par exemple, peuvent ralentir la circulation du sang signifiant que l'oxygène insuffisant est livré aux tissus et aux organes importants.

Effects of Hypoxia

(hi-pok'se-ah)

: a condition in which the body as a whole or a region of the body is deprived of adequate oxygen supply.
/hy-pox-ia/ - noun

Low oxygen pressure at high altitude



The **carotid body**, a cluster of specialized cells in the carotid artery, detects low oxygen levels in the blood and alerts the brain.

In response, the **brain** sends signals to the rest of the body to...

● increase breathing rate and constrict vessels in the **lung**

● increase **heart** rate

LES FACTEURS INDUITS PAR L'HYPOXIE [HIF]

- Les espèces animales ont mis en place un système ingénieux et conservé d'adaptation rapide et durable à de fortes baisses de concentration d'oxygène. Le stress hypoxique est " géré " par la stabilisation et l'activation d'une sous-unité (HIF-1 α) du facteur de transcription central, HIF-1. Ce facteur transcriptionnel coordonne l'induction de plusieurs gènes et unités physiologiques (stimulation de l'angiogénèse, de l'érythropoïèse et de la glycolyse anaérobie, par exemple) qui concourent à compenser la rareté d'oxygène. Le rôle décisif joué par HIF-1 dans le contrôle de l'expression du facteur de croissance vasculaire (VEGF) et de l'angiogénèse tumorale a suscité un regain d'intérêt pour l'étude de HIF-1 et du système " senseur d'oxygène ". Cette synthèse fait le point sur les acquis les plus récents de la "signalisation hypoxique" avec un éclairage particulier pour les mécanismes de contrôle de HIF-1.

MISE EN ÉVIDENCE DE HIF-1

- L'hypoxie a été montrée comme étant capable de stimuler l'expression de l'érythropoïétine (EPO), une hormone glycoprotéique synthétisée principalement au niveau du rein. Cette hormone est acheminée par voie sanguine jusqu'à la moelle osseuse pour y stimuler les précurseurs des globules rouges qui vont proliférer et se différencier en érythrocytes, augmentant le nombre de globules rouges sanguins et donc le potentiel de captage en oxygène du sang. L'étude du promoteur de l'EPO a permis de mettre en évidence une séquence enhancer en position 3' non codante du gène (5'-TACGTGCT-3') qui est sensible à l'hypoxie et qui a été nommée HRE (hypoxia response element). Cette séquence fixe en condition d'hypoxie un complexe protéique nommé HIF1. La découverte de cette activité HIF-1 a permis le clonage des deux ADN complémentaires impliqués dans cette activité qui codent pour les deux protéines du complexe HIF-1, HIF-1 α et HIF-1 β . HIF-1 β a été identifié comme étant le facteur ARNT1 (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator), une protéine déjà décrite et impliquée dans les phénomènes de détoxification des cellules. En revanche, HIF-1 α est spécifique de la réponse hypoxique. Les gènes codant pour HIF-1 α et ARNT1 ont été clonés chez de nombreuses espèces (souris, rat, xénope, drosophile...) et leur séquence protéique est très conservée (90 % d'homologie entre l'homme, le rat et la souris). Le gène hif-1 α , localisé sur le chromosome 14 (14q21q24), est constitué de 15 exons chez l'homme.

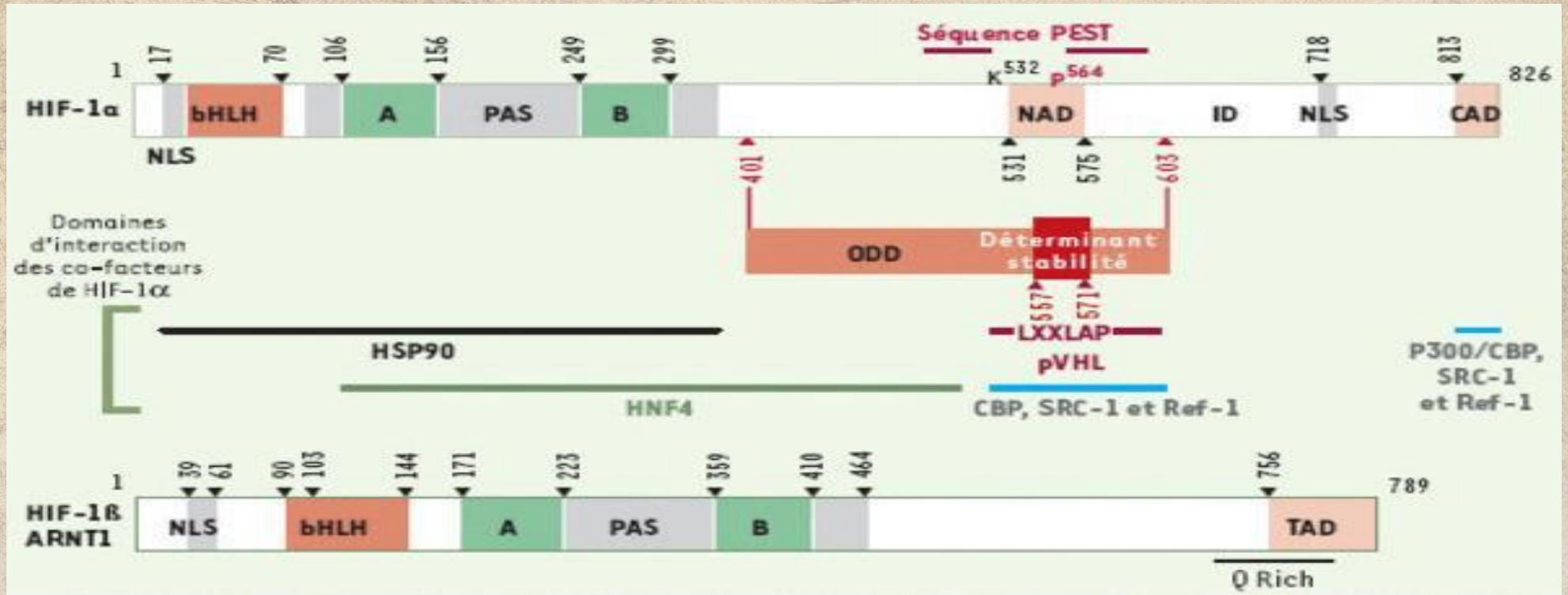
Des isoformes issues d'épissages alternatifs ont été mises en évidence pour HIF-1 d'abord chez la souris et le rat [8, 9] puis récemment chez l'homme . Ces phénomènes d'épissage ne sont pas tous conservés entre les espèces et leurs rôles physiologiques restent à déterminer. Le gène *hif-1 β /arnt1* est localisé sur le chromosome 1 humain (1q21). Des phénomènes d'épissage alternatif sont aussi décrits pour *arnt1*, ainsi le gène humain présente un exon alternatif retrouvé aussi chez le rat. Un autre épissage est également décrit chez la truite. Chez l'homme, les transcrits de *hif-1 α* sont fortement exprimés dans tous les organes de façon constitutive . Cette expression ubiquiste a été confirmée chez la souris . Les transcrits du gène *arnt1* sont exprimés de façon ubiquiste et constitutive chez la souris , une distribution semblable étant globalement retrouvée chez le rat .

STRUCTURE DE HIF-1

- HIF-1 est un hétérodimère constitué des deux sous-unités HIF-1 α et ARNT1/HIF-1 β (Figure 1). HIF-1 α et ARNT1 humains possèdent respectivement 826 et 789 acides aminés. Ils contiennent des domaines bHLH (*basic-helix loop helix*) et PAS (PER-ARNT-SIM) à leur extrémité amino-terminale et font donc partie d'une superfamille de protéines contenant ces domaines (AHR, *aryl hydrocarbon receptor*, SIM, *single-minded*, PER, *period*, CYC, *cycle*...). Le motif HLH intervient dans la dimérisation des protéines tandis que la région basique qui le précède intervient dans la fixation et la spécificité de la liaison de la protéine à l'ADN. PAS est le sigle provenant des noms des protéines dans lesquelles des séquences répétées imparfaites ont été découvertes initialement (protéines de *drosophile*, PER et SIM, et la protéine des vertébrés ARNT). HIF-1 α contient d'autres domaines fonctionnels importants pour sa fonction de régulateur de la transcription de gènes cibles par l'hypoxie. Il s'agit tout d'abord de ses deux domaines de transactivation situés dans la partie carboxy-terminale. Étudiés par plusieurs équipes, leur structure et leur régulation fine sont bien connues [15–17]. Le premier domaine de transactivation (TAD-N ou NAD) correspond aux acides aminés 531-575. Le second TAD (TAD-C ou CAD), en position carboxy-terminale dans la protéine, correspond aux acides aminés 813-826. Ils sont séparés par un domaine inhibiteur de la transcription [15]. La région précédant le domaine TAD-N, pourrait aussi présenter une activité d'inhibition [16]. ARNT1 contient aussi un domaine TAD dans sa partie carboxy-terminale, mais ce dernier n'est pas impliqué dans la réponse à l'hypoxie [16], ce qui souligne encore que HIF-1 α est l'élément clé de la réponse à l'hypoxie.

Un domaine responsable de la dégradation (*oxygen-dependent degradation domain* ou ODD) de HIF-1 α en normoxie par le protéasome et situé entre les acides aminés 401-603 a été mis en évidence (voir Régulation de l'activité de HIF-1). Une étude détaillée de ce domaine a montré que les différentes sections (acides aminés 401-496, 497-529 et 530-603) étaient toutes capables de conférer des inductions par l'hypoxie à des degrés différents. Néanmoins, une analyse comparée des séquences des protéines de la famille de HIF-1 α (notée HIF- α) et des expériences complémentaires ont souligné l'importance d'une séquence de 15 acides aminés (557-571) responsable de la stabilisation par l'hypoxie des protéines HIF- α et retrouvée aussi dans la protéine homologue de HIF-1 α chez la drosophile: *Similar* (Sima). Deux séquences PEST de 20 acides aminés (riches en proline, acide glutamique, sérine ou thréonine) ont été décrites pour HIF-1 α , mais ne semblent pas être impliquées de façon claire dans l'instabilité de la protéine. Elles sont localisées au niveau des acides aminés 499-518 et 581-600 à la fin du domaine ODD.

Enfin, deux séquences de localisation nucléaire ont été décrites. La première séquence possède une structure bipartite ¹⁷RRKEKSRDAARSRRSKE³³ (similaire au NLS, *nuclear localisation sequence*, de la nucléoplasmine) et est localisée dans le domaine bHLH. Elle est réprimée par le domaine PAS-B, ce qui entraîne une rétention cytoplasmique de la protéine. La seconde séquence ⁷¹⁸RKRK⁷²¹ est apparentée au NLS retrouvé dans l'antigène grand-T de SV40. Cette séquence jouerait un rôle clé dans l'import nucléaire dépendant de l'hypoxie de HIF-1 α . Les domaines de fixation connus des co-facteurs de HIF-1, p300/CBP, SRC-1, Ref-1, HSP90 et pVHL, sont aussi indiqués sur *la figure 1* (voir Régulation de l'activité de HIF-1).



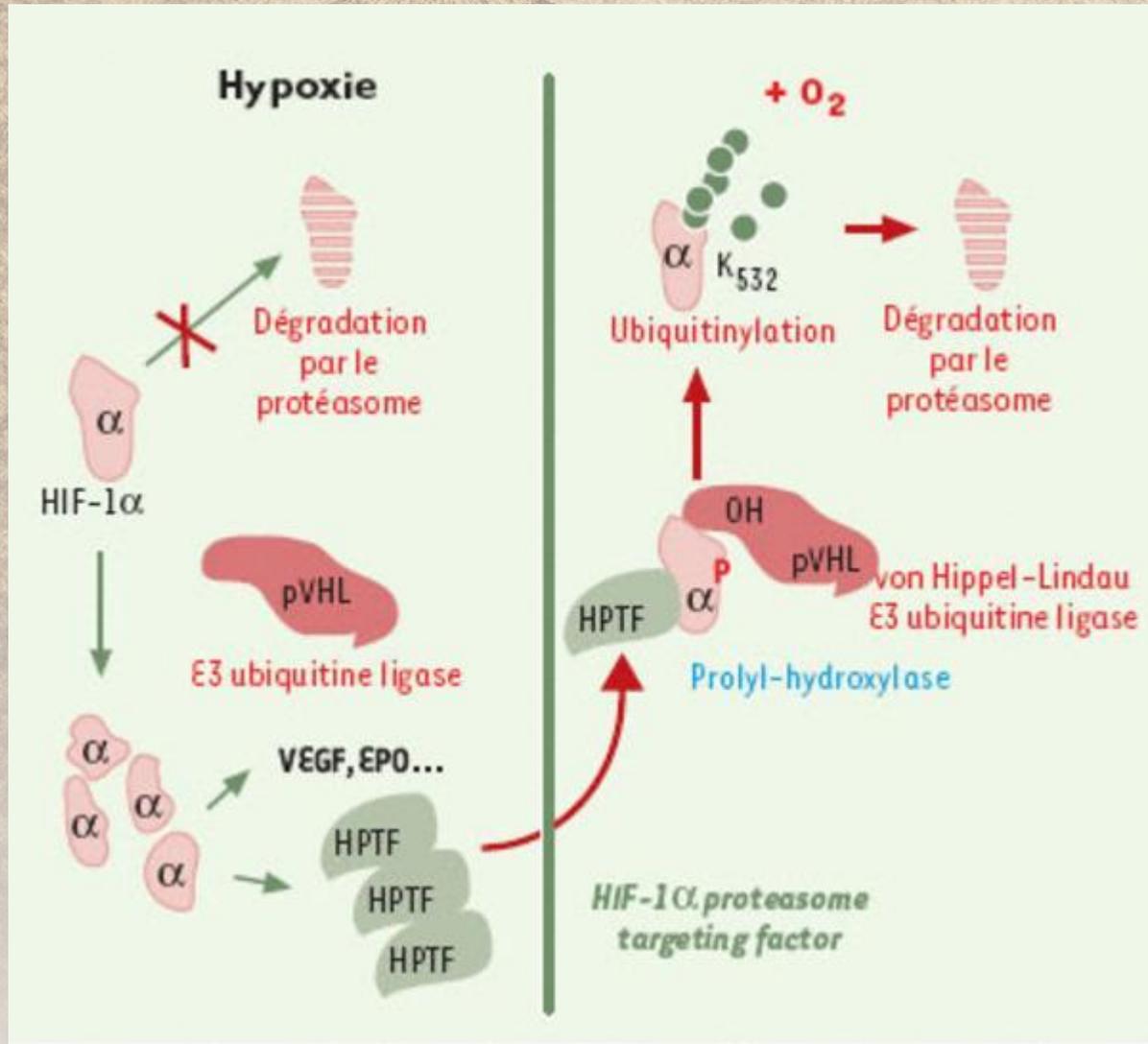
Structure des sous-unités humaines de HIF-1. Domaines fonctionnels des deux sous-unités de HIF-1 et, lorsqu'ils sont connus, domaines d'interaction des co-facteurs de HIF-1α. ODD : *oxygen dépendent dégradation motif* ; LXXLAP : motif conservé de *C. elegans* à l'homme, et reconnu par la HIF-proline hydroxylase ; pVHL : *von Hippel Lindau protein* ; PAS : Per, Arnt, Sim motif ; NAD et CAD : domaines de transactivation N- et C-terminal ; NLS : séquences de localisation nucléaire.

RÉGULATION DE L'ACTIVITÉ DE HIF-1

- Induction hypoxique de HIF-1
- induction non hypoxique de HIF-1
- phosphorylation
- isoformes

INDUCTION NON HYPOXIQUE DE HIF-1

- Bien que l'hypoxie soit le facteur majoritaire d'induction de HIF-1 α au niveau des cellules, d'autres stimulus, tels que l'insuline, l'IGF-1 et 2 (*insulin-like growth factor*), l'EGF (*epidermal growth factor*) ou le FGF (*fibroblast growth factor*), sont capables d'augmenter le niveau de ce facteur de transcription dans certains types cellulaires. Il a en outre été montré une activation consécutive de gènes contrôlés par des HRE tels que *vegf*, *glut 1* et *3*, *alda*, *pgk*. Dans des cellules musculaires lisses vasculaires (VSMC), HIF-1 α est fortement augmenté en situation de normoxie par des agonistes de récepteurs membranaires (angiotensine II, thrombine et PDGF, *platelet derived growth factor*) et capable d'induire aussi la formation du VEGF .
- Une voie indépendante de l'hypoxie est donc aussi capable d'induire la formation du complexe HIF-1 fonctionnel et ce par un mécanisme dépendant également de la stabilisation de HIF-1 α . La corrélation entre l'induction de gènes impliqués dans le transport du glucose ou de la glycolyse par l'hypoxie mais aussi par l'insuline *via* les mêmes éléments (HIF-1 α et HIF-1 β), laisse penser que ces derniers sont aussi essentiels pour l'activation de gènes nécessaires pour fournir à la cellule l'énergie requise dans des conditions de normoxie . De façon intéressante, l'augmentation de HIF-1 α dans es VSMC est dépendante de la production de ROS. Cette voie, pour l'instant spécifique de ces cellules, pourrait jouer un rôle clé dans la production du VEGF en normoxie et donc induire la perméabilité des vaisseaux en phase d'inflammation .



Boucle de régulation de HIF-1 α par HPTF (HIF-1 α proteasome targeting factor). En condition d'hypoxie, le HIF-1 α s'accumule et le complexe HIF-1 entraîne l'expression des gènes cibles spécifiques comme le gène codant pour le VEGF, l'EPO, mais aussi HPTF. Ce facteur s'accumule en hypoxie et participe avec pVHL à la dégradation rapide du HIF-1 α lors du retour en normoxie. HPTF accumulé sous forme "non-activé" en situation d'hypoxie serait une forme inducible de HIF-proline hydroxylase.



**MERCI POUR VOTRE
ATTENTION**

