

FORMATION CONTINUE-ARTICLE DE SYNTHÈSE

Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le chevalB. DE MOFFARTS¹, N. KIRSCHVINK¹, J. PINCEMAIL², P. LEKEUX^{1*}¹Département des Sciences fonctionnelles, Service de Physiologie

Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, boulevard de Colonster 20, Bât. B42, B-4000 Liège, Belgique,

²PROBIOX SA, Centre Hospitalier Universitaire, Université de Liège, Belgique

* Correspondance : Prof P. Lekeux : Tél : 32(0)4/366.40.30 ; Fax : 32(0)4/366.29.35 ; e-mail : Pierre.Lekeux@ulg.ac.be

RÉSUMÉ : Le stress oxydant est de plus en plus étudié tant dans le domaine de la recherche qu'en médecine humaine et équine. Il a été défini comme un déséquilibre prononcé entre les éléments antioxydants et oxydants en faveur de ces derniers et de leurs effets potentiellement néfastes. Les origines du stress oxydant sont multiples et résultent d'une formation de formes réactives de l'oxygène (FRO) au sein de l'organisme. En condition physiologique, comme par exemple au cours d'un exercice réalisé de façon modérée, l'équilibre entre la production des FRO et les systèmes de défenses antioxydantes permet le maintien d'une fonction organique optimale. Mais à la lumière du rôle potentiellement délétère que peut induire une production excessive de FRO et du fait que le stress oxydant induit par l'exercice existe chez le cheval, la prise en compte du stress oxydant chez le cheval de sport n'est plus à négliger. De plus, des recherches récentes suggèrent que le stress oxydant intervient dans la physiopathologie ou dans la genèse de certaines entités pathologiques chez le cheval et pourrait être partiellement associé à un déficit d'apports d'éléments antioxydants. Dès lors, en appui au traitement classique, l'administration contrôlée d'antioxydants semble être justifiée au cours de ces phénomènes, ou chez le cheval de sport au cours d'une période d'exercice intense.

INTRODUCTION

Il y a à peu près 3 milliards d'années, l'atmosphère de notre planète était anaérobie, jusqu'à l'apparition de l'algue bleue-verte. L'oxygène (O₂), sous forme gazeuse, apparut lors de l'avènement de la photosynthèse (Blankenship et Hartman, 1998). L'oxygène est indispensable à la plupart des espèces vivantes ; il donne, en effet, un énorme avantage métabolique pour la production d'énergie. Cependant, en raison de sa conformation chimique, la molécule d'oxygène peut, dans certaines circonstances, s'avérer toxique. Cette toxicité est induite par des éléments réactifs, instables et pro-oxydants : les espèces oxygénées activées ou encore les formes réactives de l'oxygène (FRO). Pour contrôler, corriger ou utiliser les éléments conduisant au stress oxydant, les organismes aérobies furent

obligés de développer des mécanismes de défense, les antioxydants.

Le stress oxydant est un syndrome au cours duquel les éléments pro-oxydants surpassent les capacités antioxydantes de l'organisme. Il en résulte un déséquilibre entre pro-oxydants et antioxydants (Sies, 1991).

Les origines du stress oxydant sont multiples et mènent à la formation de FRO au sein de l'organisme. Les FRO comprennent des radicaux libres, c'est-à-dire des espèces chimiques possédant un électron célibataire, ainsi que des molécules non-radicalaires mais chimiquement instables. Ainsi, les FRO possèdent un pouvoir pro-oxydant vis-à-vis des éléments qui les entourent. La figure 1 présente les origines d'un stress oxydant en fonction du mode de production des FRO.

Trois voies de génération endogène des FRO sont généralement décrites (Cheeseman et Salter, 1993), à savoir : la chaîne de transfert des électrons située au niveau des mitochondries (Sohal et al., 1990) ; la flambée respiratoire des cellules phagocytaires, ces dernières étant indispensables à la défense immunitaire (Moslen, 1994 ; Rahman et al., 1996) ; ainsi que l'activité des enzymes de type oxydase (Becker et al., 1991). Lors de réactions inflammatoires, l'activation des enzymes telles que la NADPH-oxydase (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase) et la myéloperoxydase (MPO) est à souligner. Effectivement, elles permettent une forte production de FRO. Les oxydants jouent donc un rôle important dans l'inactivation et la destruction des micro-organismes par la peroxydation et la déstabilisation des membranes lipidiques, par l'oxydation et

l'inactivation de leurs protéines de structure, et enfin par l'oxydation de leur matériel génétique (Kowaltowski et Vercesi, 1999 ; Kobayashi et al., 2001).

D'autres sources ou modes de génération exogène des FRO existent de part les interactions avec leur milieu environnant. Par exemple, l'ingestion ou l'inhalation de toxiques, de produits oxydés ou oxydants (Lee et al., 2003 ; Staprans et al., 2003), ou encore les radiations (Basu-Modak et Tyrrell, 1993) sont autant de situations pouvant produire un stress oxydant.

Les FRO peuvent potentiellement réagir avec chaque composant cellulaire et provoquer son oxydation. Cependant, les cibles préférentielles des FRO sont les lipides, suivis par les protéines et les bases constitutives du matériel génétique (Roberfroid et Calderon, 1995). L'oxydation de ces composants cellulaires peut induire des dysfonctions du métabolisme cellulaire telles qu'une modification de la fluidité membranaire causée par la peroxydation lipidique (Uyesaka *et al.*, 1992 ; Oostenbrug *et al.*, 1997) ou encore une diminution de l'activité d'une enzyme suite à son oxydation (Pigeolet et Remacle, 1991). De part ces interactions, le stress oxydant participe aux phénomènes dégénératifs s'il est localisé à un seul tissu, comme par exemple le cerveau, ou les articulations, ou de vieillissement lorsque l'ensemble des systèmes sont progressivement touchés. Les mécanismes conduisant au vieillissement ne sont à l'heure actuelle encore que peu connus, néanmoins, il semble que la production continue de FRO par la mitochondrie puisse conduire au vieillissement prématuré et à la réduction de l'espérance de vie surtout lorsqu'une anomalie des défenses antioxydantes existe (Melov, 2000).

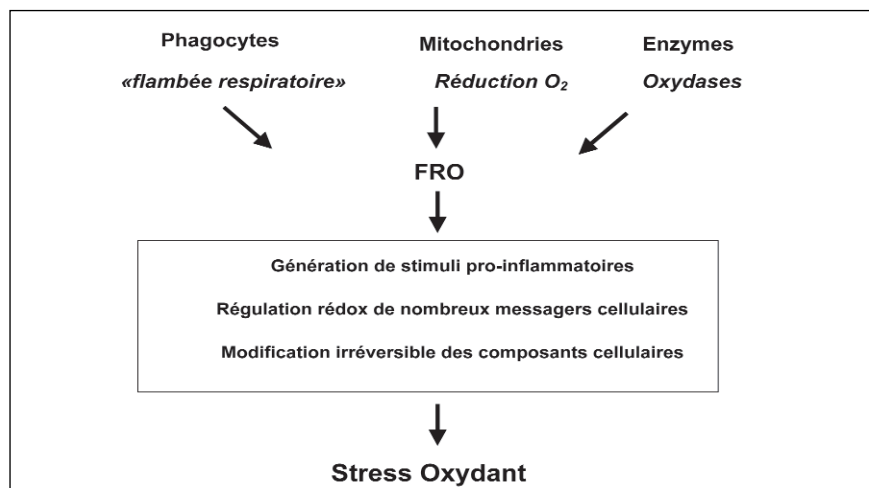
LES ANTIOXYDANTS ET LEURS RÔLES PHYSIOLOGIQUES

En condition physiologique, le pouvoir oxydant des FRO est contrebalancé par de nombreux antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques. Cet état d'équilibre permet à l'organisme d'assurer une défense anti-infectieuse efficace (Kobayashi *et al.*, 2001) et de contribuer à la transduc-

Tableau I : Les marqueurs du stress oxydant

Marqueurs	Type	Rôles	Observations
Acide ascorbique (Vit. C ou AA)	Antioxydant hydrophile	Elément essentiellement plasmatique. Premier rempart contre les FRO	Vitamine la plus sensible
Glutathion réduit (GSH)	Antioxydant hydrophile	Elément essentiellement cytoplasmique. Protège les protéines contre les FRO	Diminue durant exercices et maladies
Glutathion oxydé (GSSG)	Marqueur oxydant	Forme oxydée du glutathion. Est un marqueur précis du processus oxydatif	Augmente durant exercices et maladies
Capacité antioxydante hydrophile du plasma (CAHP)	Marqueur antioxydant	Marqueur de la capacité du plasma à réagir contre les FRO (partie hydrophile)	Corrélée avec AA
Capacité antioxydante lipophile du plasma (CALP)	Marqueur antioxydant	Marqueur de la capacité du plasma à réagir contre les FRO (partie lipophile)	Corrélée avec Vit E et β -car
α -tocophérol (Vit. E)	Antioxydant lipophile	Elément protégeant les lipides contre les FRO.	Diminue durant exercices répétés
β -carotène	Antioxydant lipophile	Pro-vitamine A et élément de protection contre l'oxygène atomique FRO	
Sélénium (Se)	Oligo-élément	Elément catalyseur pour efficacité de la GPx	Déficiences en Se et Vit E associées à la myopathie
Cuivre (Cu)	Oligo-élément	Elément catalyseur pour efficacité de la SOD	
Zinc (Zn)	Oligo-élément	Elément catalyseur pour efficacité de la SOD	
Manganèse (Mn)	Oligo-élément	Elément catalyseur pour efficacité de la SOD	
Superoxyde dismutase (SOD)	Antioxydant enzymatique	Enzyme antioxydant protégeant contre l'anion super-oxyde (FRO)	S'améliore grâce à l'entraînement et diminue durant un processus oxydatif
Glutathion peroxydase (GPx)	Antioxydant enzymatique	Enzyme antioxydant régénérant le glutathion	Corrélée avec Se. S'améliore grâce à l'entraînement et diminue en cas de surentraînement
Peroxyde lipidique (Pool)	Marqueur oxydant	Suivi des dégâts occasionnés par l'oxydation des lipides	Corrélée négativement à la Vit E. Faible chez les chevaux performeurs
Protéines oxydées (Prottox)	Marqueur oxydant	Suivi des dégâts occasionnés par l'oxydation des protéines	Augmente avec l'exercice et les pathologies

Figure 1 : Mode de production des formes réactive de l'oxygène (FRO) résultant en un stress oxydant.



tion de signaux intracellulaires (Davis *et al.*, 2001).

Les défenses antioxydantes permettent de prévenir la génération de FRO, d'inactiver ceux-ci ou encore de limiter les effets délétères des FRO (Cheeseman et Slater, 1993).

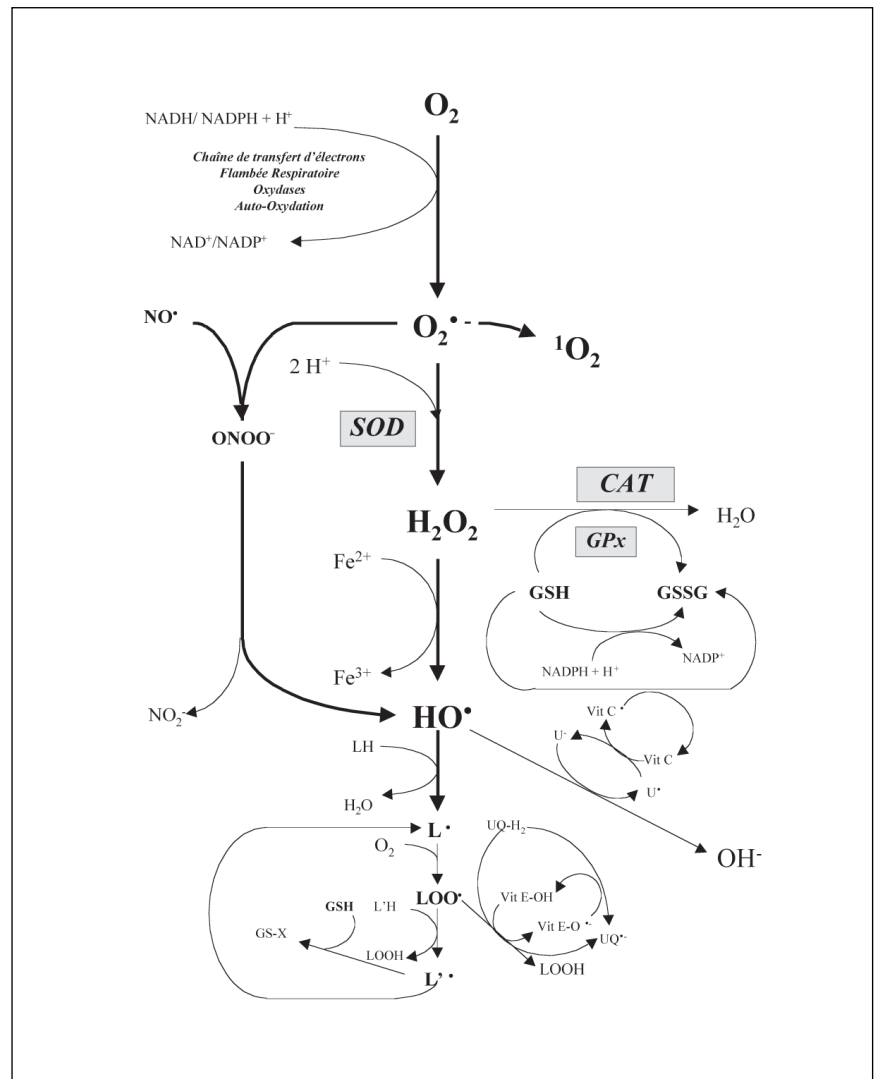
Le maintien de l'intégrité et de l'efficacité de la chaîne de transferts des électrons dans la mitochondrie permet de limiter au maximum les fuites électroniques conduisant à la formation de FRO. Différentes molécules sont impliquées dans ce mécanisme : la coenzyme Q, les cytochromes b, ... (Halliwell, 1994). De nombreuses molécules, à savoir la ferritine, la transferrine, la céruloplasmine et l'albumine, la lactoferrine et bien d'autres, permettent de chélater les métaux de transition impliqués dans la formation de radicaux hydroxyles lors des réactions concomitantes de Haber-Weis et Fenton (Halliwell et Gutteridge, 1986). Elles sont réparties dans l'organisme et permettent de diminuer la production de FRO (Beckman et Ames, 1998).

La majeure partie des antioxydants est impliquée dans l'inactivation et la transformation des FRO.

Plusieurs enzymes sont impliquées dans la défense antioxydante. Les trois enzymes antioxydantes majeures sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). Aussi bien l'activité que l'expression des gènes codants pour ces enzymes peuvent être augmentées lors d'un stress oxydant (de Zwart *et al.*, 1999). La réaction de dismutation de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ainsi que la réduction de celui-ci en eau (H_2O) sont illustrées dans la figure 2.

Des métaux tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn) et, dans certains micro-organismes le nickel (Ni), jouent un rôle important en tant que catalyseur de la SOD (Fridovich, 1995). De la même façon, le sélénium (Se) est l'élément catalyseur de la GPx. Un déséquilibre entre oligo-éléments, par exemple un excès de cuivre par rapport au zinc, peut également

Figure 2 : Rôle central des enzymes antioxydantes dans la cascade oxydante.



$O_2^{\bullet-}$: anion super oxide, $1O_2$: oxygène singulet, H_2O_2 : peroxyde d'hydrogène, HO^{\bullet} : radical hydroxyl, NO^{\bullet} : oxyde nitrique, $ONOO^-$: peroxy-nitrite, GSH : glutathion réduit, $GSSG$: glutathion oxydé, SOD : superoxyde dismutase, CAT : catalase GPx : glutathion peroxydase, U : acide urique, Vit C : acide ascorbique, UQ : ubiquinone (coenzyme-Q10), Vit E : vitamine E, NO_2^- : nitrite, L : lipide, NAD(P)H : nicotinamide adénine dinucléotide phosphatée.

favoriser l'apparition d'un stress oxydant (Zowczak *et al.*, 2001 ; Bureau *et al.*, 2002). Etant donné que les oligo-éléments interviennent également dans la régulation du système immunitaire, leur rôle est de plus en plus investigué en médecine humaine (Maughan, 1999 ; Speich *et al.*, 2001).

Bien qu'il soit admis que parmi les défenses antioxydantes les plus importantes de l'organisme figurent la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase (CAT), le système glutathion reste un acteur majeur dans la défense antioxydante (Sen *et al.*, 1994 ; Sen et Packer, 2000). Ce dernier comprend essentiellement (1) le tripeptide γ -glutamyl-cystéi-

nyl-glycine ou GSH, (2) la GPx : l'enzyme catalysant l'oxydation du GSH en GSSG, (3) le sélénium (Se), l'oligo-élément catalyseur indispensable de la GPx et (4) la glutathion réductase (GR), l'enzyme assurant le recyclage du GSSG en GSH.

Deux autres groupes d'antioxydants participent à la défense antioxydante : ce sont les antioxydants hydrophiles et lipophiles. Les tocophérols, les rétinolides, les flavonoïdes, l'ubiquinol, la bilirubine ainsi que la mélatonine font partie des antioxydants lipophiles, spécialisés dans la protection des lipides et dans l'interruption des réactions en chaîne lors de la peroxydation lipidique. D'autre part, en plus du glutathion, avec l'acide urique, la vita-

mine C, les dérivés thiol, les protéoglycans et l'acide hyaluronique font quant à eux partie des antioxydants hydrophiles, capables de protéger de l'oxydation tant les lipides, les protéides, que l'ADN.

LE STRESS OXYDANT INDUIT PAR L'EXERCICE ET SA MODULATION

L'étude de la contractilité musculaire et des relations entre celle-ci et la production des FRO a mis en évidence le rôle physiologique des FRO dans le maintien d'une fonctionnalité musculaire optimale (Catterall, 1991 ; Favero *et al.*, 1995 ; Aghdasi *et al.*, 1997). Effectivement, les FRO à faible concentration aident à la libération du calcium nécessaire à la contraction musculaire et de plus elles sensibilisent également les fibres musculaires à ce calcium cytoplasmique. De plus, toute réaction chimique nécessite un potentiel red-ox optimal, lors de la contraction musculaire ; il semble que ce potentiel doit être plus oxydant que durant le repos (Heunks et Dekhuijzen 2000). Ceci illustre la nécessité qu'un équilibre oxydo-réducteur soit adéquat lors de chaque réaction physico-chimique et que lorsqu'un déséquilibre intervient, un stress peut apparaître. La figure 3 résume l'origine des antioxydants ainsi que leur rôle dans les phénomènes d'oxydo-réductions.

Cependant, la génération de FRO et le stress oxydant induit par l'exercice ont pu être mis en relation dans différentes espèces animales avec la fatigue musculaire (Sen *et al.*, 1994), les myopathies (Jackson et O'Farrell, 1993 ; Tews et Goebel, 1998) et une diminution de la défense immunitaire (Vider *et al.*, 2001). Dans l'espèce équine, plusieurs études suggèrent que l'exercice peut induire un stress oxydant (Mills *et al.*, 1996b ; Art *et al.*, 1999 ; Kirschvink *et al.*, 1999 ; Balogh *et al.*, 2001 ; White *et al.*, 2001 ; Deaton *et al.*, 2002 ; Hargreaves *et al.*, 2002 ; Kirschvink *et al.*, 2002a ; 2002b ; Marlin *et al.*, 2002 ; de Moffarts *et al.*, 2004). Effectivement, lors de l'exercice, la consommation d'oxygène du cheval peut augmenter jusqu'à 30 fois (Art et Lekeux, 1993 ; Butler *et al.*, 1993). Le flux d'oxygène à travers les cellules musculaires varie de 1 à 100 entre le repos et l'exercice maximal (Poole, 2004). Deux à 5 % de l'oxy-

Figure 3 : Origine et fonction des antioxydants.

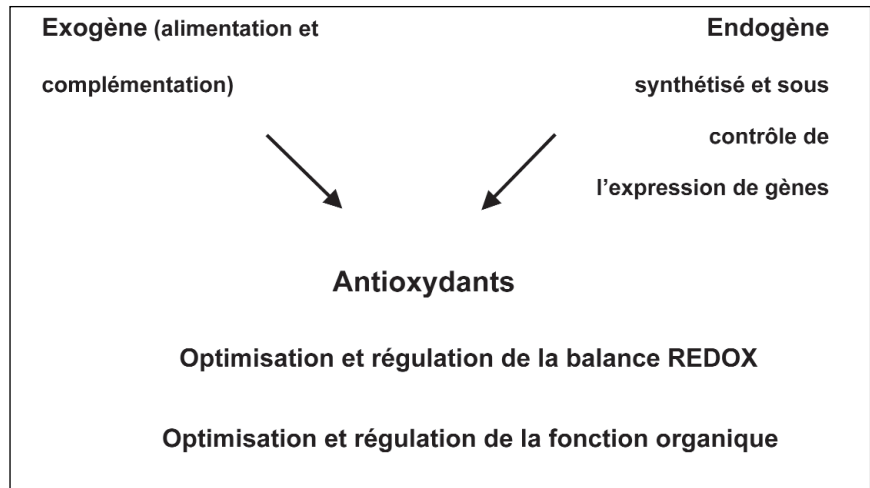
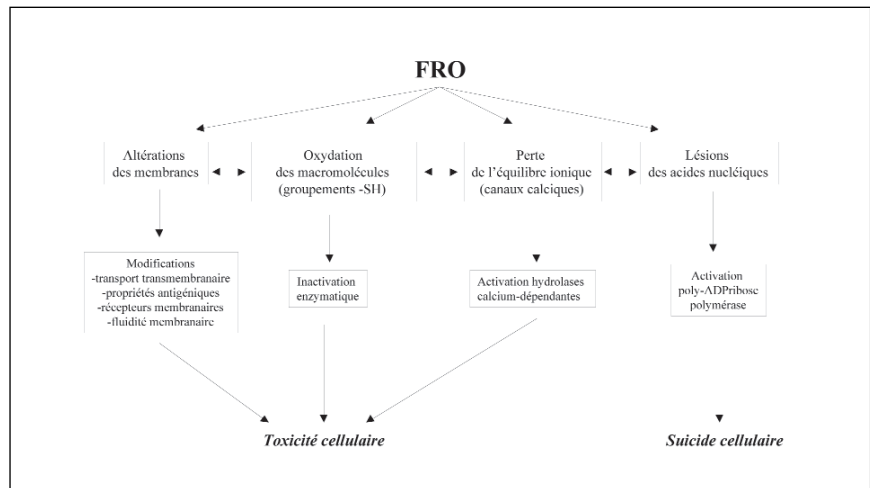


Figure 4 : Les principales modifications biochimiques et métaboliques cellulaires conséquence d'un stress oxydant, selon Roberfroid et Calderon, 1995.



gène sont convertis dans la chaîne de transfert des électrons en FRO, capables d'induire des dommages cellulaires par l'oxydation de ses composants.

L'adaptation à l'exercice par un entraînement adéquat permet d'augmenter la capacité sportive d'un athlète par, entre autre, une plus grande utilisation de l'oxygène (Tonkonogi *et al.*, 2000). A cette augmentation correspond une augmentation de production de FRO en situation d'exercice. Afin de maintenir une fonction optimale, l'organisme réagit par la mise en place de systèmes de défense antioxydants. Ces systèmes évoluent tant chez l'homme que chez le cheval en fonction de la charge pro-ox-

dante et de la consommation d'oxygène (Robertson *et al.*, 1991 ; Tessier *et al.*, 1995 ; Margaritis *et al.*, 1997a ; 1997b ; Ji *et al.*, 1998 ; de Moffarts *et al.*, 2004).

C'est par la régulation de l'activité ou de l'expression d'enzymes, antioxydantes ou non, que l'organisme va se prémunir contre le stress oxydant (pour revue, Allen et Tresini, 2000 ; Johnson, 2002). La régulation red-ox de l'expression génique est notamment sous la dépendance d'éléments de réponse antioxydants «*antioxydant response elements*» qui vont permettre une régulation du système antioxydant lors de l'augmentation de la charge oxydante.

MISE EN ÉVIDENCE D'UN STRESS OXYDANT

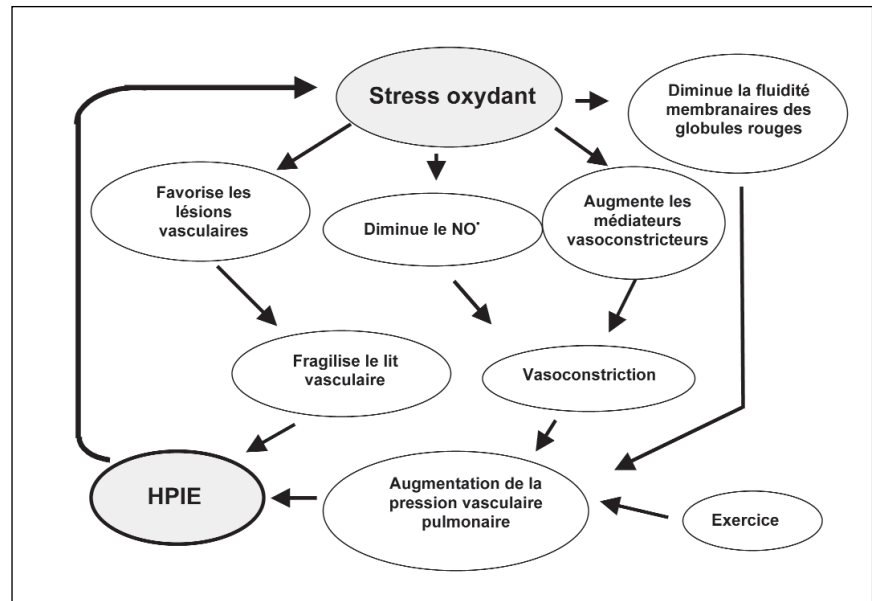
La difficulté de mettre en évidence un stress oxydant de façon directe réside dans le fait que les FRO ont une demi-vie extrêmement courte. Les techniques mises en œuvre afin de doser les radicaux oxygène sont complexes, coûteuses et difficilement réalisables en pratique. Par conséquent, des produits issus des processus d'oxydation, appelés marqueurs oxydants, sont utilisés afin de mettre en évidence indirectement et de quantifier un stress oxydant subi par l'organisme. De plus, des antioxydants peuvent être dosés afin de souligner des carences éventuelles ou encore un déséquilibre entre les anti- et pro-oxydants. De nombreux marqueurs sont actuellement décrits. La détection ciblée de plusieurs marqueurs appartenant à des classes de molécules différentes est donc recommandée (Pincemail *et al.*, 1996 ; Favier, 1997 ; Jenkins, 2000). Le tableau I reprend la liste des marqueurs les plus souvent utilisés en médecine vétérinaire équine. De nombreux marqueurs du stress oxydant sont encore à développer et étudier bien que pour certains, les techniques d'analyse soient maintenant au point comme par exemple celles qui ont été développées pour doser la MPO (Deby-Dupont *et al.*, 1998) ou encore l'ADN oxydé (Marlin *et al.*, 2004).

La conséquence pratique pour le vétérinaire de terrain est que l'analyse et l'interprétation des résultats sur les marqueurs oxydants et des antioxydants ne peuvent se faire que via un laboratoire maîtrisant un grand nombre de techniques d'analyse et ayant une expérience dans le domaine du stress oxydant. En effet, de nombreuses techniques sont nécessaires pour analyser ces marqueurs. Une attention particulière doit être portée à la gestion des prélèvements. Ainsi par exemple, il est important de respecter les délais de centrifugation, de respecter la chaîne du froid au cours du transport des échantillons (4° à -80° C selon les marqueurs), et réaliser l'analyse dans des délais adéquats.

IMPACT PHYSIOPATHOLOGIQUE DU STRESS OXYDANT

Au vu des mécanismes précédemment cités, reliant l'inflammation et le stress

Figure 5 : Implication du stress oxydant dans l'hémorragie pulmonaire induite par l'exercice (HPIE), adapté de Derksen, 1997.



NO• : oxyde nitrique

oxydant, celui-ci était, auparavant, considéré comme un épiphénomène ou une conséquence inévitable d'un processus inflammatoire. Il est actuellement reconnu en tant qu'acteur potentiel dans la pathogenèse de nombreuses maladies inflammatoires ou dégénératives. En effet, le stress oxydant a pu être mis en évidence dans de nombreuses pathologies en médecine humaine (Babior, 2000 ; Young et Woodside, 2001).

De manière générale, les FRO sont capables d'oxyder les éléments qui les entourent. Suivant leurs lieux de production et les défenses antioxydantes en présence, ceux-ci peuvent altérer la fonction cellulaire et de là, potentiellement conduire à des troubles organiques et à des pathologies. La figure 4 illustre les principales modifications biochimiques et métaboliques cellulaires conséquence d'un stress oxydant.

En médecine vétérinaire équine, le stress oxydant semble jouer un rôle au moins favorisant dans certaines entités pathologiques, à savoir : l'hémorragie pulmonaire induite par l'exercice (Derksen, 1997 ; Mills et Higgins, 1997), la figure 5 illustre le mécanisme potentiel impliquant le stress oxydant dans cette pathologie, l'inflammation des voies respiratoires profondes (Mills *et al.*, 1996a), les obstructions récurrentes des voies res-

piratoires (Art *et al.*, 1999 ; Kirschvink *et al.*, 2002a ; Deaton *et al.*, 2004a ; 2004b), certains types de myopathies induites ou non par l'exercice (Serteyn *et al.*, 1990 ; Lofstedt, 1997 ; Perkins *et al.*, 1998), ainsi que dans plusieurs maladies dégénératives atteignant le système nerveux (Sisó *et al.*, 2005) telles que la maladie dégénérative des neurones moteurs (EMND) (Divers *et al.*, 1994 ; Polack *et al.*, 2000), la « maladie de l'herbe » (McGorum *et al.*, 2003) ou encore la myéloencéphalopathie dégénérative équine (Sisó *et al.*, 2005). De même, certains auteurs suspectent l'implication du stress oxydant dans d'autres pathologies comme l'inflammation synoviale (Auer *et al.*, 1993).

CORRECTION DU STRESS OXYDANT

L'inflammation constitue le producteur principal de FRO, il peut dès lors s'avérer intéressant de combiner un traitement anti-inflammatoire avec un traitement antioxydant ou encore de poursuivre un traitement anti-inflammatoire par un traitement antioxydant afin de compenser les pertes d'antioxydants survenues durant le phénomène inflammatoire. En effet, il a été montré que les antioxydants peuvent, à eux seuls, réduire, entre-autres, la migration leucocytaire (Rocksén *et*

al., 2003) et l'agrégation plaquettaire (Kaneider *et al.*, 2004). La vitamine E a fait l'objet de nombreuses études qui tendent à démontrer son implication dans la régulation des gènes de l'inflammation (Azzi *et al.*, 2004). Chez l'homme, l'adjonction d'antioxydants semble, dans une certaine mesure, avoir des effets préventifs ou bénéfiques sur l'évolution de plusieurs pathologies tels que les troubles coronariens ou dégénératifs du système nerveux (Sen et Packer, 2000 ; Ferrari et Torres, 2003).

Peu d'études rapportent l'effet des antioxydants en médecine équine ; néanmoins, il semble que les antioxydants puissent, chez le cheval, être utilisés de façon bénéfique en condition inflammatoire. Effectivement, un complément alimentaire à base d'antioxydants naturels a permis de réduire le score inflammatoire des voies respiratoires chez des chevaux poussifs qui présentaient des signes cliniques modérés (Kirschvink *et al.*, 2002c). De plus, dans le cadre de la prévention des maladies dégénérative du système nerveux chez le cheval, il semble que la vitamine E soit un élément incontournable. De La Rua-Domenech et collaborateurs (1997) ont montré une corrélation négative entre le risque d'apparition de l'EMND et les concentrations plasmatiques en Vit E.

Comme mentionné ci-dessus, en condition physiologique, les chevaux de sport peuvent également être affectés par le stress oxydant induit par l'exercice, et différentes études investiguant l'effet d'une complémentation en antioxydants ont montré une amélioration du statut oxydant-antioxydant au cours de la période de complémentation ou encore durant l'exercice ou de l'entraînement (Ono *et al.*, 1990 ; McMeniman et Hintz, 1992 ; Siciliano *et al.*, 1997 ; White *et al.*, 2001 ; Deaton *et al.*, 2002 ; de Moffarts *et al.*, 2004). Bien qu'actuellement, aucune étude chez les chevaux n'ait pu démontrer un impact direct d'une complémentation en antioxydants sur la performance, un traitement antioxydant semble pouvoir augmenter la tolérance à l'exercice en améliorant les capacités antioxydantes hydrophile, lipophile et enzymatique (Kirschvink *et al.*, 2002c ; de Moffarts *et al.*, 2005).

Lors du choix d'un complément alimentaire, il est important de veiller à ce que la ration de base soit équilibrée. Effectivement, l'équilibre alimentaire basé sur les besoins du cheval en énergie, en fibres et en protéines, et sur l'équilibre du rapport calcium-phosphore reste primordial dans le management. L'apport de vitamines et d'oligo-éléments vient dans un deuxième temps. Attendu que les antioxydants agissent de façon synergique (Igarashi *et al.*, 1991), il est préférable d'apporter simultanément des éléments hydrophiles, lipophiles ainsi que des oligo-éléments nécessaires à l'activité optimale des antioxydants enzymatiques.

CONCLUSIONS

La présente revue cherche à mettre en évidence l'importance de l'équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants chez le cheval. Tant que cet équilibre dynamique est maintenu, l'organisme peut fonctionner de façon optimale. Lorsque la charge pro-oxydante est trop importante, un déséquilibre intervient. Ce déséquilibre peut, en fonction de son importance et de sa durée, conduire à l'apparition de pathologies. Certaines conditions physiologiques, comme par exemple l'exercice, peuvent également conduire à un stress oxydant. Chez le cheval, différentes études ont permis de montrer que le stress oxydant intervient au cours de plusieurs pathologies, que l'exercice peut provoquer des changements significatifs de la balance antioxydante et que la complémentation peut être un moyen efficace de contrebalancer les déséquilibres observés.

REMERCIEMENTS

M. Leblond est remerciée pour son aide à la préparation du manuscrit. B. de Moffarts est supporté par le Fonds pour la Recherche en Industrie et en Agriculture (FRIA), Belgique.

Title: Physiological and pathological impact of oxidative stress in the equine species

SUMMARY

Oxidative stress has become of increasing interest in research and in equine and human medicine.

If the pro-oxidant burden overwhelms the endogenous antioxidant defence of the organism, the arising imbalance between pro- and antioxidants is defined as oxidative stress. Different pathways might increase the generation of reactive oxygen species (ROS) and results in oxidative stress. In physiological conditions, like during moderated exercise, the balance between ROS production and antioxidants allows to maintain an optimal organic function. In the light of the potentially deleterious role of excessive ROS production and the evidence that exercise-induced oxidative stress occurs in horses, the assessment of the antioxidant status should be considered in sport horses. Recent researches indicate that oxidative stress may play a role in physiopathology of several pathological syndromes in horses. Therefore, with classical treatment, the controlled administration of antioxidants appears interesting for the modulation of these processes, as well as in sport horses during intense exercise period.

BIBLIOGRAPHIE

- AGHDASI B., REID M.B., HAMILTON S.L. Nitric oxide protects the skeletal muscle Ca²⁺ release channel from oxidation induced activation. *J. Biol. Chem.*, 1997, **272**, 25462-25467.
- ALLEN R.G., TRESINI M. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radic. Biol. Med.*, 2000, **28**, 463-499.
- ARTT., LEKEUX P. Training-induced modifications in cardio-respiratory and ventilatory measurements in thoroughbred horses. *Equine Vet. J.*, 1993, **25**, 532-536.
- ART T., KIRSCHVINK N., SMITH N., LEKEUX P. Indices of oxidative stress in blood and pulmonary epithelium lining fluid in horses suffering from recurrent airway obstruction. *Equine Vet. J.*, 1999, **31**, 397-401.
- AUER D.E., NG J.C., SEAWRIGHT A.A. Free radical oxidation products in plasma and synovial fluid of horses with synovial inflammation. *Aust. Vet. J.*, 1993, **70**, 49-52.
- AZZI A., GYSIN R., KEMPNA P., MUNTEANU A., VILLACORTA L., VISARIUS T., ZINGG J.M. Regulation of gene expression by alpha-tocopherol. *Biol. Chem.*, 2004, 385, 585-591.
- BABIOR B.M. Phagocytes and oxidative stress. *Am. J. Med.*, 2000, **109**, 33-44.
- BALOGH N., GAAL T., RIBICZEYNE P.S., PETRI A. Biochemical and antioxidant changes in plasma and erythrocytes of pentathlon horses before and after exercise. *Vet. Clin. Pathol.*, 2001, **30**, 214-218.
- BASU-MODAK S., TYRRELL R.M. Singlet oxygen: a primary effector in the ultraviolet A/near-visible light induction of the human heme oxygenase gene. *Cancer Res.*, 1993, **53**, 4505-4510.
- BECKER B.F., REINHOLZ N., LEIPERT B., RASCHKE P., PERMANETTER B., GERLACH E. Role of uric acid as and endogenous radical scavenger and antioxidant. *Chest*, 1991, 100 : Suppl 3, 176S-181S.
- BECKMAN K.B., AMES B.N. The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.*, 1998, **78**, 547-581.
- BLANKENSHIP R.E., HARTMAN H. The origin and evolution of oxygenic photosynthesis. *Trends Biochem. Sci.*, 1998, **23**, 94-97.
- BUREAU I., ANDERSON R.A., ARNAUD J., RAYSIGUIER Y., FAVIER A.E., ROUSSEL A.M. Trace mineral status in post menopausal women: impact of hormonal replacement therapy. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 2002, **16**, 9-13.
- BUTLER P.J., WOAKES A.J., SMALE K., ROBERTS C.A., HILLIDGE C.J., SNOW D.H., MARLIN D.J. Respiratory and cardiovascular adjustments during exercise of increasing intensity and during recovery in thoroughbred racehorses. *J. Exp. Biol.*, 1993, **179**, 159-180.
- CATTERALL W.A. Excitation-contraction coupling in vertebrate skeletal muscle: a tale of two calcium channels. *Cell*, 1991, **64**, 871-874.
- CHEESEMAN K.H., SLATER T.F. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.*, 1993, **49**, 481-493.
- DAVIS W. JR, RONAI Z., TEW K.D. Cellular thiols and reactive oxygen species in drug-induced apoptosis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2001, **296**, 1-6.
- DE LA RUA-DOMENECH R., MOHAMMED H.O., CUMMINGS J.F., DIVERS T.J., DE LAHUNTA A., SUMMERS B.A. Association between plasma vitamin E concentration and the risk of equine motor neuron disease. *Vet. J.*, 1997, **154**, 203-213.
- DE MOFFARTS B., KIRSCHVINK N., ART T., PINCEMAIL J., MICHAUX C., CAYEUX K., DEFRAIGNE J.O., LEKEUX P. Impact of training and exercise intensity on blood antioxidant markers in healthy Standardbred horses. *Equine and Comparative Exercise Physiology*, 2004, **1**, 211-220.
- DE MOFFARTS B., KIRSCHVINK N., ART T., PINCEMAIL J., LEKEUX P. Effect of oral antioxidant supplementation on blood antioxidant status in trained thoroughbred horses. *Vet. J.*, 2005, **169**, 65-74.
- DE ZWART L.L., MEERMAN J.H.N., COMMANDEUR J.N.M., VERMEULEN N.P.E. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, **26**, 202-226.
- DEATON C.M., MARLIN D.J., ROBERTS C.A., SMITH N., HARRIS P.A., KELLY F.J., SCHROTER R.C. Antioxidant supplementation and pulmonary function at rest and exercise. *Equine Vet. J.*, 2002, **34** : Suppl, 58-65.
- DEATON C.M., MARLIN D.J., SMITH N.C., HARRIS P.A., ROBERTS C.A., SCHROTER R.C., KELLY F.J. Pulmonary epithelial lining fluid and plasma ascorbic acid concentrations in horses affected by recurrent airway obstruction. *Am. J. Vet. Res.*, 2004a, **65**, 80-87.
- DEATON C.M., MARLIN D.J., SMITH N.C., HARRIS P.A., SCHROTER R.C., KELLY F.J. Antioxidant supplementation in horses affected by recurrent airway obstruction. *J. Nutr.*, 2004b, **134** : Suppl 8, 2065S-2067S.
- DEBY-DUPONT G., GRULKE S., CAUDRON I., MATHY-HARTERT M., BENBAREK H., DEBY C., LAMY M., SERTEYN D. Equine neutrophil myeloperoxidase in plasma: design of a radio-immunoassay and first results in septic pathologies. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1998, **66**, 257-271.
- DERKSEN F.J. Oxidant injury and nitric oxide: a role in exercise-induced pulmonary haemorrhage ? *Vet. J.*, 1997, **153**, 119-122.
- DIVERS T.J., MOHAMMED H.O., CUMMINGS J.F., VALENTINE B.A., DE LAHUNTA A., JACKSON C.A., SUMMERS B.A. Equine motor neuron disease: findings in 28 horses and proposal of a pathophysiological mechanism for the disease. *Equine Vet. J.*, 1994, **26**, 409-415.
- FAVERO T.G., ZABLE A.C., ABRAMSON J.J. Hydrogen peroxide stimulates the Ca²⁺ release channel from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.*, 1995, **270**, 25557-25563.
- FAVIER A. Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann. Biol. Clin.*, 1997, **55**, 9-16.

- FERRARI C.K., TORRES E.A. Biochemical pharmacology of functional foods and prevention of chronic diseases of aging. *Biomed. Pharmacother.*, 2003, **57**, 251-260.
- FRIDOVICH I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu. Rev. Biochem.*, 1995, **64**, 97-112.
- HALLIWELL B., GUTTERIDGE J.M. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1986, **246**, 501-514.
- HALLIWELL B. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr. Rev.*, 1994, **52**, 253-265.
- HARGREAVES B.J., KRONFELD D.S., WALDRON J.N., LOPES M.A., GAY L.S., SAKER K.E., COOPER W.L., SKLAN D.J., HARRIS P.A. Antioxidant status and muscle cell leakage during endurance exercise. *Equine Vet. J.*, 2002, **34** : Suppl, 116-121.
- HEUNKS L.M., DEKHUIJZEN P.N. Respiratory muscle function and free radicals: from cell to COPD. *Thorax*, 2000, **55**, 704-716.
- IGARASHI O., YONEKAWA Y., FUJIYAMA-FUJIHARA Y. Synergistic action of vitamin E and vitamin C in vivo using a new mutant of Wistar-strain rats, ODS, unable to synthesize vitamin C. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 1991, **37**, 359-369
- JACKSON M.J., O'FARRELL S. Free radicals and muscle damage. *Br. Med. Bull.*, 1993, **49**, 630-641.
- JENKINS R.R. Exercise and oxidative stress methodology: a critique. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2000, **72**, 670S-674S.
- JILL L., LEEUWENBURGH C., LEICHTWEIS S., GORE M., FIEBIG R., HOLLANDER J., BEJMA J. Oxidative stress and aging. Role of exercise and its influences on antioxidant systems. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1998, **854**, 102-117.
- JOHNSON P. Antioxidant enzyme expression in health and disease: effects of exercise and hypertension. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, 2002, **133**, 493-505.
- KANEIDER N.C., MOSHEIMER B., REINISCH N., PATSCH J.R., WIEDERMANN C.J. Inhibition of thrombin-induced signaling by resveratrol and quercetin: effects on adenosine nucleotide metabolism in endothelial cells and platelet-neutrophil interactions. *Thromb. Res.*, 2004, **114**, 185-194.
- KIRSCHVINK N., ART T., SMITH N., LEKEUX P. Effect of exercise and COPD crisis on isoprostane concentration in plasma and bronchoalveolar lavage fluid in horses. *Equine Vet. J.*, 1999, **Suppl 30**, 88-91.
- KIRSCHVINK N., SMITH N., FIÉVEZ L., BOUGNET V., ART T., DEGAND G., MARLIN D., ROBERTS C., GENICOT B., LINDSEY P., LEKEUX P. Effect of chronic airway inflammation and exercise on pulmonary and systemic antioxidant status of trained and heaves-affected horses. *Equine Vet. J.*, 2002a, **34**, 563-571.
- KIRSCHVINK N., ART T., DE MOFFARTS B., SMITH N., MARLIN D., ROBERTS C., LEKEUX P. Relationship between markers of blood oxidant status and physiological variables in trained and heaves-affected horses after exercise. *Equine Vet. J.*, 2002b, **34** : Suppl, 159-164.
- KIRSCHVINK N., FIÉVEZ L., BOUGNET V., ART T., DEGAND G., SMITH N., MARLIN D., ROBERTS C., HARRIS P., LEKEUX P. Effect of nutritional antioxidant supplementation on systemic and pulmonary antioxidant status, airway inflammation and lung function in heaves-affected horses. *Equine Vet. J.*, 2002c, **34**, 705-712.
- KOBAYASHI T., TSUNAWAKI S., SEGUCHI H. Evaluation of the process for superoxide production by NADPH oxidase in human neutrophils: evidence for cytoplasmic origin of superoxide. *Redox Rep.*, 2001, **6**, 27-36.
- KOWALTOWSKI A.J., VERCESI A.E. Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, **26**, 463-471.
- LEE Y.K., MOK KIM S., HAN S. Ozone-induced inactivation of antioxidant enzymes. *Biochimie*, 2003, **85**, 947-952.
- LOFSTEDT J. White muscle disease of foals. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 1997, **13**, 169-185.
- MARGARITIS I., TESSIER F., PROU E., MARCONNET P., MARINI J.F. Effects of endurance training on skeletal muscle oxidative capacities with and without selenium supplementation. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 1997a, **11**, 37-43.
- MARGARITIS I., TESSIER F., RICHARD M.J., MARCONNET P. No evidence of oxidative stress after a triathlon race in highly trained competitors. *Int. J. Sports Med.*, 1997b, **18**, 186-190.
- MARLIN D.J., FENN K., SMITH N., DEATON C.D., ROBERTS C.A., HARRIS P.A., DUNSTER C., KELLY F.J. Changes in circulatory antioxidant status in horses during prolonged exercise. *J. Nutr.*, 2002, **132** : Suppl 2, 1622S-1627S.
- MARLIN D.J., JOHNSON L., KINGSTON D.A., SMITH N.C., DEATON C.M., MANN S., HEATON P., VAN VUGT F., SAUNDERS K., KYDD J., HARRIS P.A. Application of the comet assay for investigation of oxidative DNA damage in equine peripheral blood mononuclear cells. *J. Nutr.*, 2004, **134**, 2133S-2140S.
- MAUGHAN R.J. Role of micronutrients in sport and physical activity. *Br. Med. Bull.*, 1999, **55**, 683-690.
- MCGORUM B.C., WILSON R., PIRIE R.S., MAYHEW I.G., KAUR H., ARUOMA O.I. Systemic concentrations of antioxidants and biomarkers of macromolecular oxidative damage in horses with grass sickness. *Equine Vet. J.*, 2003, **35**, 121-126.
- MCMENIMAN N.P., HINTZ H.F. Effect of vitamin E status on lipid peroxidation in exercised horses. *Equine Vet. J.*, 1992, **24**, 482-484.
- MELOV S. Mitochondrial oxidative stress. Physiologic consequences and potential for a role in aging. *Ann. N Y Acad. Sci.*, 2000, **908**, 219-225.
- MILLS P.C., ROBERTS C.A., SMITH N.C. Effect of ozone and airway inflammation on glutathione status and iron homeostasis in the lungs of horses. *Am. J. Vet. Res.*, 1996a, **57**, 1359-1363.
- MILLS P.C., SMITH N.C., CASAS I., HARRIS P., HARRIS R.C., MARLIN D.J. Effects of exercise intensity and environmental stress on indices of oxidative stress and iron homeostasis during exercise in the horse. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.*, 1996b, **74**, 60-66.

- MILLS P.C., HIGGINS A.J. Oxidant injury, nitric oxide and pulmonary vascular function: implications for the exercising horse. *Vet. J.*, 1997, 153, 125-148.
- MOSLEN M.T. Reactive oxygen species in normal physiology, cell injury and phagocytosis. In : Armstrong D. (Eds), *Free radicals in diagnostic medicine: a systems approach to laboratory technology, clinical correlations, and antioxidant therapy*. Plenum Press : New York, 1994, 17-26.
- ONO K., INUI K., HASEGAWA T., MATSUKI N., WATANABE H., TAKAGI S., HASEGAWA A., TOMODA I. The changes of antioxidative enzyme activities in equine erythrocytes following exercise. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 1990, 52, 759-765.
- OOSTENBRUG G.S., MENSINK R.P., HARDEMAN M.R., DE VRIES T., BROUNS F., HORNSTRA G. Exercise performance, red blood cell deformability, and lipid peroxidation: effects of fish oil and vitamin E. *J. Appl. Physiol.*, 1997, 83, 746-752.
- PERKINS G., VALBERG S.J., MADIGAN J.M., CARLSON G.P., JONES S.L. Electrolyte disturbances in foals with severe rhabdomyolysis. *J. Vet. Intern. Med.*, 1998, 12, 173-177.
- PIGEOLET E., REMACLE J. Susceptibility of glutathione peroxidase to proteolysis after oxidative alteration by peroxides and hydroxyl radicals. *Free Radic. Biol. Med.*, 1991, 11, 191-195.
- PINCEMAIL J., DEFRAIGNE J.O., LIMET R. Oxidative stress in clinical situations-fact or fiction ? *Eur. J. Anaesthesiol.*, 1996, 13, 219-234.
- POLACK E.W., KING J.M., CUMMINGS J.F., MOHAMMED H.O., BIRCH M., CRONIN T. Concentrations of trace minerals in the spinal cord of horses with equine motor neuron disease. *Am. J. Vet. Res.*, 2000, 61, 609-611.
- POOLE D.C. Current concepts of oxygen transport during exercise. *Equine and Comparative Exercise Physiology*, 2004, 1, 5-22.
- RAHMAN I., MORRISON D., DONALDSON K., MACNEE W. Systemic oxidative stress in asthma, COPD, and smokers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996, 154, 1055-1060.
- ROBERFROID M., CALDERON P.B. Antioxidants and radical scavengers: some therapeutical uses. In : Roberfroid M., Calderon P.B. (Eds.), *Free radicals and oxidation phenomena in biological systems*. Marcel Dekker : New York, 1995, 193-236.
- ROBERTSON J.D., MAUGHAN R.J., DUTHIE G.G., MORRICE P.C. Increased blood antioxidant systems of runners in response to training load. *Clin. Sci.*, 1991, 80, 611-618.
- ROCKSEN D., EKSTRAND-HAMMARSTROM B., JOHANSSON L., BUCHT A. Vitamin E reduces transendothelial migration of neutrophils and prevents lung injury in endotoxin-induced airway inflammation. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2003, 28, 199-207.
- SEN C.K., ATALAY M., HÄNNINEN O. Exercise-induced oxidative stress : glutathione supplementation and deficiency. *J. Appl. Physiol.*, 1994, 77, 2177-2187.
- SEN C.K., PACKER L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2000, 72 : Suppl 2, 653S-669S.
- SERTEYN D., MOTTART E., DEBY C., DEBY-DUPONT G., PINCEMAIL J., PHILIPART C., LAMY M. Equine postanaesthetic myositis: a possible role for free radical generation and membrane lipoperoxidation. *Res. Vet. Sci.*, 1990, 48, 42-46.
- SICILIANO P.D., PARKER A.L., LAWRENCE L.M. Effect of dietary vitamin E supplementation on the integrity of skeletal muscle in exercised horses. *J. Anim. Sci.*, 1997, 75, 1553-1560.
- SIES H. Oxidative stress: introduction. In : Sies H. (Eds.), *Oxidative stress : oxidants and antioxidants*. Academic Press : London, 1991, XV-XXii.
- SISÓ S., HANZLÍEK D., FLUEHMANN G., KATHMANN I., TOMEK A., PAPA V., VANDELDELDE M. Neurodegenerative diseases in domestic animals: a comparative review – 2005. [en ligne] (30/11/2004) Adresse URL : <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.08.015> Consulté le 09/04/2005.
- SOHAL R.S., SVENSSON I., BRUNK U.T. Hydrogen peroxide production by liver mitochondria in different species. *Mech. Ageing Dev.*, 1990, 53, 209-215.
- SPEICH M., PINEAU A., BALLEREAU F. Minerals, trace elements and related biological variables in athletes and during physical activity. *Clin. Chim. Acta*, 2001, 312, 1-11.
- STAPRANS I., PAN X.M., RAPP J.H., FEINGOLD K.R. Oxidized cholesterol in the diet is a source of oxidized lipoproteins in human serum. *J. Lipid Res.*, 2003, 44, 705-715.
- TESSIER F., MARGARITIS I., RICHARD M.J., MOYNOT C., MARCONNET P. Selenium and training effects on the glutathione system and aerobic performance. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 1995, 27, 390-396.
- TEWS D.S., GOEBEL H.H. Cell death and oxidative damage in inflammatory myopathies. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1998, 87, 240-247.
- TONKONOJI M., WALSH B., SVENSSON M., SAHLIN K. Mitochondrial function and antioxidative defence in human muscle: effects of endurance training and oxidative stress. *J. Physiol.*, 2000, 528, 379-388.
- UYESAKA N., HASEGAWA S., ISHIOKA N., ISHIOKA R., SHIO H., SCHECHTER A.N. Effects of superoxide anions on red cell deformability and membrane proteins. *Biorheology*, 1992, 29, 217-229.
- VIDER J., LEHTMAA J., KULLISAAR T., VIHALEMM T., ZIMLER K., KAIRANE C., LANDOR A., KARU T., ZILMER M. Acute immune response in respect to exercise-induced oxidative stress. *Pathophysiology*, 2001, 7, 263-270.
- WHITE A., ESTRADA M., WALKER K., WISNIA P., FIGUEIRA G., VALDES F., ARANEDA O., BEHN C., MARTINEZ R. Role of exercise and ascorbate on plasma antioxidant capacity in thoroughbred race horses. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 2001, 128, 99-104.
- YOUNG I.S., WOODSIDE J.V. Antioxidants in health and disease. *J. Clin. Pathol.*, 2001, 54, 176-186.
- ZOWCZAK M., ISKRA M., TORLINSKI L., COFTA S. Analysis of serum copper and zinc concentrations in cancer patients. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2001, 82, 1-8.