

# modèle d'étude du stress oxydatif cellulaire

## le chien de travail en environnement extrême

Le chien de travail en environnement extrême est un modèle idéal d'étude du stress. C'est en effet l'espèce animale qui a la consommation maximale d'oxygène la plus élevée.

L'exposition de l'organisme à des conditions environnementales hypoxiques et hypobariques se révèle responsable d'un stress à l'origine de dégradations membranaires oxydatives.

• Dans le cas du chien de recherche de personnes ensevelies, l'exercice physique intense associé à des conditions environnementales extrêmes ne fait qu'accroître ce processus.

• Stress d'effort, stress mental et stress hypoxique cumulent alors leurs effets pour exacerber la production radicalaire. Le chien qui pratique un effort en haute altitude a donc valeur de modèle expérimental de terrain.

### L'EXERCICE PHYSIQUE ET LE STRESS OXYDATIF D'EFFORT

• L'exercice physique est associé à une importante augmentation de la consommation d'oxygène, dès qu'il dépasse quelques dizaines de secondes.

• Le chien est l'espèce animale qui a la plus forte consommation maximale d'oxygène ( $VO_2max$ ) (Homme inclus) [17].

Ce métabolisme oxydatif se révèle obligatoirement associé à une production accrue de radicaux libres de l'oxygène, donnée biologique mise en évidence depuis plus de 20 ans et confirmée par les différentes études menées sur chiens de traîneau ou chiens de recherche [5, 7, 10].

• À ces deux éléments s'ajoute la particularité énergétique de l'effort d'endurance chez le chien, le métabolisme aérobie s'exerçant par le biais quasi exclusif d'une oxydation lipidique [9, 13].

• Ce stress oxydatif d'effort induit chez le chien de nombreuses affections spécifiques : de la simple diarrhée de stress, par altérations des cellules muqueuses intestinales à *turn-over* rapide, à des lésions musculaires de rhabdomyolyse aiguë [11], voire à la mort



1 L'effort produit lors de la recherche de personnes ensevelies entraîne une oxydation intense des acides gras et une forte consommation d'oxygène (photo C. Zaglia).



2 Chien sur un tapis d'exercice : la consommation maximale d'oxygène du chien est plus élevée que chez les autres espèces (photo U.M.E.S., E.N.V.A.).

de l'animal. C'est le cas du syndrome mort subite du chien de traîneau à l'effort, toujours associé à une effondrement total du statut antioxydant du chien.

• L'effort que produit le chien de recherche de victimes ensevelies est particulier car il entraîne une oxydation intense d'acides gras avec une forte consommation d'oxygène (photos 1, 2).

• Cette oxydation a pour corollaire une intense production radicalaire, ainsi qu'un stress mental des plus rudes, lié à la concentration que le chien doit fournir durant son travail.

Au stress physiologique organique d'effort s'ajoute donc un stress psychologique qui provoque de nombreux effets délétères pour les cellules.

Dominique Grandjean<sup>1</sup>  
Nicolas Renard<sup>2</sup>, Frank Dhote<sup>3</sup>  
Malik Ouabdeslam<sup>4</sup>  
Léna Aubert<sup>2</sup>, Xavier Bigard<sup>3</sup>  
Paul Robach<sup>5</sup>, Jean-Pierre Hery<sup>5</sup>  
Éric Bomassi<sup>6</sup>, Gérald Berliat<sup>1</sup>

1. Service de Santé et de Secours Médical, Brigade de Sapeurs Pompiers de Paris 55 bd de Port-Royal 75007 Paris
2. Laboratoire Intervet, Santé Animale, Angers
3. Service de Santé des Armées, Centre de Recherches du Service de Santé des Armées 38000 Grenoble
4. Service de Santé et de Secours Médical, Service Départemental d'Incendie et de Secours 38000 Grenoble
5. École Nationale de Ski et d'Alpinisme 74000 Chamorix
6. Clinique vétérinaire des Cordeliers 35 rue des Cordeliers 77100 Meaux

### Objectif pédagogique

Reconnaître et prévenir les symptômes du stress oxydatif chez le chien de travail.

### Essentiel

■ Lorsqu'un chien recherche des victimes ensevelies, le stress psychologique s'ajoute au stress physiologique, ce qui provoque de nombreux effets délétères pour les cellules.

■ Stress d'effort, stress mental et stress hypoxique cumulent leurs effets pour exacerber la production radicalaire.

CANINE



**3** En altitude, le chien est soumis à une déshydratation plus intense que l'Homme car il transpire très peu (photos C. Zaglia).



**4** L'absence d'acclimatation avec une dépose en hélicoptère à plus de 3 000 m d'altitude est un facteur favorisant le "mal des montagnes".

## NOTE

\* Cf. article "Comprendre le stress oxydatif chez le chien" de D. Grandjean dans ce numéro.

## Essentiel

■ L'exposition aiguë à l'altitude induit un stress physiologique global qui dégrade la structure intime de la cellule.

■ Chez l'Homme, le "mal aigu des montagnes" peut se traduire par des phases d'anxiété.

■ Le "mal aigu des montagnes" comporte chez l'Homme et chez le chien :

- des céphalées ;
- des nausées ;
- des vomissements ;
- une fatigue physique et mentale ;
- des insomnies ;
- des troubles digestifs ;
- des œdèmes.

■ Dans les cas les plus graves, un œdème pulmonaire aigu, voire cérébral, peut se développer.

## L'ALTITUDE ET LE STRESS OXYDATIF D'EFFORT

### Des conditions d'hypoxie-hypobarie aiguë à l'origine d'une hyperpnée

- Quel que soit l'organisme, la capacité d'effectuer des efforts physiques est réduite dès que l'altitude dépasse 1500 mètres, et ce, de manière directement proportionnelle à l'altitude de travail [15].

- Si la concentration en oxygène de l'air demeure constante avec l'altitude (20,93 p. cent), la pression barométrique diminue, ce qui génère une altération progressive de la quantité d'oxygène inspirée.

- Le mécanisme ventilatoire est également affecté par la diminution de la densité de l'air. Il en résulte une réduction de l'aptitude des muscles respiratoires à travailler.

En même temps, la diminution de la résistance à l'écoulement de l'air se traduit par une diminution du travail ventilatoire qui permet de mobiliser un volume d'air donné.

- Avec l'altitude, l'air devient de plus en plus sec et la déperdition hydrique par l'intermédiaire des voies respiratoires devient bien plus élevée qu'au niveau de la mer.

Ce phénomène est particulièrement accru chez le chien qui, ne transpirant pas (hormis au niveau des espaces interdigités), est soumis en altitude à un processus de déshydratation beaucoup plus intense que l'Homme (photo 3).

- Le travail fourni dans des conditions d'hypoxie-hypobarie aiguë génère ainsi une hyperpnée très supérieure à celle observée pour un travail d'intensité égale au niveau de la mer. Pour une consommation d'oxygène donnée, le débit cardiaque s'élève, permettant ainsi de compenser la chute du taux de saturation de l'hémoglobine observée en altitude.

## Un stress physiologique global à l'origine d'un stress oxydatif spécifique

- L'exposition aiguë à l'altitude induit un stress physiologique global. Les manifestations cellulaires sont importantes, et concernent en particulier le fonctionnement énergétique de la cellule : la structure intime de la cellule est notamment dégradée, la membrane cellulaire devient alors plus fragile et peut plus facilement être altérée par l'attaque des radicaux libres\*. Il s'en suit un stress oxydatif spécifique dont le rôle serait important dans les phénomènes de mal aigu des montagnes [2, 3].

## LE "MAL AIGU DES MONTAGNES"

- Plusieurs modifications biologiques sont générées par l'hypoxie d'altitude. Ce sont [4] :

- un accroissement des phénomènes de stress oxydatif à l'effort ;
- une atteinte du sommeil accompagnée de phases apnéiques ;
- l'apparition chez l'Homme de phases d'anxiété traduisent le "mal aigu des montagnes" ;
- une augmentation du flux sanguin cérébral expliquant en partie les symptômes céphaliques observés ;
- une augmentation du risque d'attaques d'ischémies transitoires ;
- une accentuation des phénomènes de fatigue liés à une moindre disponibilité des stocks énergétiques.

- Dès lors, l'un des premiers effets cliniques retrouvé à haute altitude est le "mal aigu des montagnes", similaire dans son expression non subjective chez l'Homme et chez le chien [7], et qui comporte :

- des céphalées ;
- des nausées, des vomissements ;
- une fatigue physique et mentale ;
- des insomnies ;

## CANINE

**Encadré - Les intérêts potentiels de la propentofylline**

• La propentofylline (Karsivan®) est une base xanthique dont les propriétés pharmacologiques sont assez bien documentées. D'une meilleure liposolubilité que des molécules de la même famille comme la théophylline et la pentoxyfylline, elle est susceptible d'exercer une activité antioxydante cellulaire complémentaire. Ses effets secondaires sont limités.

• La propentofylline est actuellement indiquée en gériatrie canine pour prévenir ou limiter les troubles liés à la sénescence [6].

**Les effets biologiques de la propentofylline**

• Les effets cellulaires de la molécule sont liés à deux mécanismes d'actions complémentaires (figure) [12] :

1. l'inhibition des phosphodiésterases qui entraîne une augmentation du pool d'AMP cyclique intracellulaire, second messenger généré lors de la transduction du signal déclenché par de nombreuses hormones ;

2. l'inhibition de la recapture de l'adénosine extracellulaire par la cellule, d'où une augmentation de la concentration intracellulaire en adénosine avec amplification de ses effets sur les récepteurs.

• Les propriétés dominantes de cette molécule concernent essentiellement deux territoires organiques, le système circulatoire et le système nerveux central [18].

• La propentofylline provoque :

- une relaxation des fibres musculaires lisses (vasodilatation, bronchodilatation) ;
- un effet inotrope positif (augmentation du débit cardiaque) ;
- un effet antiagrégant plaquettaire ;
- une augmentation de la compli-ance érythrocytaire (amélioration des possibilités de déformation des érythrocytes) ;
- une amélioration de l'extraction de l'oxygène par les tissus (notamment du myocarde) ;

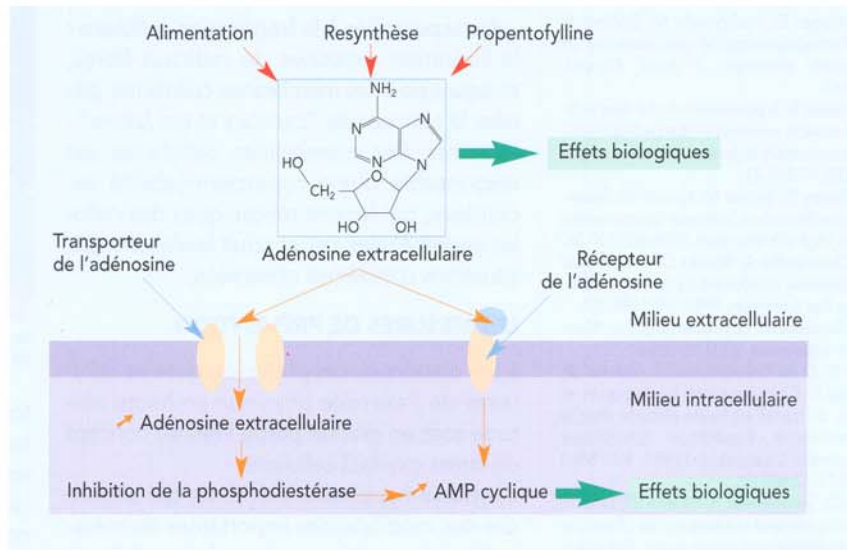
- des troubles digestifs.

- Des œdèmes peuvent aussi être observés à des altitudes égales ou supérieures à 3000 mètres et ce, d'autant plus que l'individu est soumis à une activité physique intense et prolongée.

- Dans les cas les plus graves, un œdème pulmonaire aigu, voire cérébral, peut se développer, en relation directe avec l'accroissement de la perméabilité membranaire induit par la prolifération radicalaire [2].

• L'absence d'acclimatation (ascension rapide, dépose en hélicoptère pour les équipes cynotechniques de sauvetage) est un

**Figure - Les effets biologiques directs (milieu extracellulaire) et indirects (milieu intracellulaire) de l'adénosine**



- une action neuroprotectrice directement liée aux effets potentialisateurs de l'adénosine (protection vis-à-vis de l'ischémie et de l'œdème cérébral).

• Compte tenu de ces propriétés, la propentofylline pourrait améliorer les performances physiques et mentales des chiens de travail, notamment en altitude, son action se traduisant par une meilleure perfusion et oxygénation tissulaire (cerveau, muscle squelettique, myocarde), et par une diminution de la fatigabilité et le maintien des fonctions cognitives et de mémorisation.

**Propentofylline et stress oxydatif cellulaire**

• Le renforcement des systèmes de défenses enzymatiques de la cellule et une sollicitation moindre de ses moyens exogènes de combat antiradicalaire permettent de limiter les actions délétères des radicaux libres produits durant un effort soutenu.

- La stimulation des récepteurs membranaires

de l'adénosine active l'ensemble des systèmes antioxydants de la cellule [14].

- Il en résulte un rôle cytoprotecteur de l'adénosine contre le stress oxydatif induit par des phases d'ischémies-reperfusions, par ailleurs démontré lui aussi, dans des situations d'ischémies cérébrale ou myocardique [1, 16, 20].

• Synthétisée dans l'organisme à partir de ribose et d'acides aminés, l'adénosine exprime donc des capacités antioxydantes des plus intéressantes, en agissant dans le milieu extracellulaire comme une "hormone" qui se lie à des récepteurs membranaires, et dans le milieu intracellulaire comme un modulateur réactionnel.

• La propentofylline, qui potentialise les effets de l'adénosine contribue donc à lutter contre le phénomène de stress oxydatif. Cette action a par ailleurs été mise en évidence dans des cas d'hypoxie cérébrale chez le porcelet nouveau-né [14 bis].

autre facteur favorisant ce "mal aigu des montagnes" (photo 4).

Les premiers symptômes biologiques, puis cliniques, apparaissent au bout de 3 à 4 heures.

• Les mécanismes physiopathologiques de cette affection, malgré les nombreux travaux publiés sur ce thème durant la dernière décennie, demeurent obscurs et complexes.

Ils incluent :

- des aspects hémodynamiques : l'hypertension artérielle pulmonaire est reconnue comme l'un des facteurs initiaux responsables des œdèmes.

**CANINE**

Références

1. Armstrong S, Ganote C. *In vitro* ischemic preconditioning of isolated rabbit cardiomyocytes : effects of selective adenosine receptor blockade. *Cardiovasc. Res* 1995;29:647-52;
2. Bailey D, Kleger G, Holzgraefe M, Ballmer P, Bärtsch P. Pathophysiological permeability in acute mountain sickness. *J Appl Physiol*, 2004;96:1459-63.
3. Bailey D, Davies B. A potential role for free radical-mediated muscle soreness in the pathophysiology of acute mountain sickness. *Aviat Space Environ Med*, 2001;77:513-21.
4. Bartsch P, Bailey D, Berger M, Knauth M, Baumgartner R. Acute Mountain Sickness: controversies and advances. *High Alt Med Biol*, 2004;5(2):110-24.
5. Davies K, Quintanilha A, Brooks G. Free radical and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun*, 1982;107:1198-205.
6. Gogny M, Souilem W. La propentofylline. *Nouveau Praticien Vétérinaire*, 2002;10:585-6.
7. Grandjean D, Driss F, Sergheraert R, Valette JP, Michel A, Luigi R. Conséquences biologiques et nutritionnelles du travail en haute altitude chez le chien de recherche. *Expédition scientifique "Chiens de cimes- Licancabur 1996"*. *Rec Med Vet*, 1997, 172;11-12:601-21.
8. Grandjean D, Sergheraert R, Valette JP, Driss F. Biological and nutritional consequences of work at high altitude in search and rescue dogs : the scientific expedition Chiens des cimes-Licancabur. *J Nutr*, 1998;128(12S):2694-7.
9. Grandjean D. Nutrition of racing sled dogs. *Wien. Tierarztl Mochr*, 1994;81:329-43.
10. Grandjean D, Valette JP, Jouglin M, Gabillard C, Bacqué H, Bene M, Guillaud JP. Intérêt d'un supplément nutritionnel en L. carnitine, vitamine C et vitamine B12 chez le chien de sport. *Étude expérimentale conduite chez le chien de traîneau en situation*. *Rec Med Vet*, 1993;169(6):753-61.
11. Hinchcliff K, Constable P, Di Silvestro R. Muscle injury and antioxidant status in sled dogs competing in a long distance sled dog race. *Eq Comp Ex Physiol*, 2004;1(1):81-5.
12. Kepl D, Audolph K. Neue pharmakologische Aspekte zum neurologischen profil von propentofyllin. *Tierärztl Prax*, 1998;26:317-21.
13. Kronfeld D, Downey R. Nutritional strategies for stamina in dogs and horses. *Proc Nutr Soc Austr*, 1981;6:21-9.
14. Maggirwar S, Dhanraj D, Somani S., Ramkumar V. Adenosine acts as an endogenous activator of the cellular antioxidant system. *Bioch. Biophys. Res. Com.* 1994, 201, 508-515.
- 14 bis. Numagami Y, Marro P, Mishra O, Delivoria M. Effect of propentofyllin on free radical generation during cerebral hypoxia in the newborn piglet. *Neuroscience*, 1998, 84, 4 1127-1133.
15. Pugh L. Muscular exercise at great altitude. In: Weihe W. *The physiological effects of high altitude*; Mac Millan ed. New York, USA, 1964, pp209-210.
16. Ramkumar V, Hallam D, Nie Z. Adenosine, oxidative stress and cytoprotection. *Jpn J. Pharmacol. Therap*, 2003;26:1-9.
17. Reynolds A, Fuhere L, Dunlap A. Lipid metabolism responses to diet and training in sled dogs. *J Nutr* 1994;124:2754S-2759S.
18. Scaramuzzi R, Baker D. Possible therapeutic benefits of adenosine-potentiating drugs in reducing age related degenerative disease in dogs and cats. *J Vet Pharmacol Therap* 2003;26:1-9.
19. Schoene R. Unraveling the mechanism sickness; prophylactic benefits of antioxidant vitamin supplementation at high-altitude. *High Alt Med Biol*, 2001;2:21-9.
20. Van Lubitz D, Lin R, Melman N, Ji X, Carter M, Jacobson K. Chronic administration of selective adenosine A receptor agonist and antagonist in cerebral ischemia. *Eur J Pharmacol* 1994;256:161-7.

La vasoconstriction artérielle pulmonaire hypoxique associée à l'hyperactivité de la musculature lisse en est le facteur dominant [24] ;

- des aspects liés à la fragilisation cellulaire : la libération excessive de radicaux libres, toxiques pour les membranes cellulaires, génère le concept de "capillary stress failure" : l'atteinte des membranes cellulaires est responsable d'une hyperperméabilité secondaire, par lésions mécaniques des cellules endothéliales, qui conduit finalement aux situations d'œdèmes observées.

LES MESURES DE PRÉVENTION

- Les conséquences physiologiques et cellulaires de l'exercice physique en haute altitude sont en grande partie liées au concept de stress oxydatif cellulaire. L'hypoxie-hypobarie d'altitude, qui engendre des modifications importantes du métabolisme énergétique intime de la cellule, se solde par des phénomènes de lipoperoxydation et de destruction des membranes. Leur importance est accrue par l'exercice physique.
- Si l'entraînement des animaux contribue à améliorer leur potentiel antioxydant enzymatique cellulaire, des adaptations nutritionnelles ou médicamenteuses antioxydantes peuvent jouer un rôle préventif intéressant.
- Face à ces éléments, il apparaît à la fois logique et d'un grand intérêt pratique de se tourner vers une molécule comme la propentofylline, qui contribue à lutter contre le phénomène de stress oxydatif en potentialisant les effets de l'adénosine (encadré).

Une étude a été conduite en altitude chez des chiens soumis à un exercice intense afin d'observer dans quelles mesures la propen-



5 Pour les équipes de l'expédition "chien des cimes 2004", les objectifs étaient de savoir comment se comportaient les chiens dans des conditions extrêmes (photo C. Zaglia).

tofylline peut limiter le stress oxydatif cellulaire *in vivo* : l'objectif était de savoir si cette molécule, d'un point de vue général et grâce à ses propriétés pharmacologiques connues, permet de maintenir la performance opérationnelle du chien de travail en situation extrême et contribue à prévenir certains désordres pathologiques associés (cf. article "L'expédition chiens des cimes 2004, étude expérimentale" du même auteur dans ce numéro) (photo 5).

CONCLUSION

- L'effort conduit lors d'une exposition aiguë, sans acclimatation, en haute altitude, pour les chiens de recherche de personnes ensevelies, se caractérise chez le chien par le cumul d'une série de stress physiologiques exacerbés par l'hypoxie-hypobarie ambiante.
- Ce stress conduit à des altérations fonctionnelles et structurales de la cellule, liées essentiellement à des phénomènes de lipoperoxydation membranaire et de relargage de radicaux libres. □

formation continue

1. Le stress oxydatif d'effort induit chez le chien de nombreuses affections spécifiques :
  - a. une diarrhée de stress par altérations des cellules muqueuses intestinales à *turn-over* rapide :  oui  non
  - b. des lésions musculaires de rhabdomyolyse aiguë :  oui  non
2. Le travail fourni dans des conditions d'hypoxie-hypobarie aiguë génère une hyperpnée très supérieure à celle observée pour un travail d'intensité égale au niveau de la mer :  oui  non
3. Le stress oxydatif peut provoquer la mort de l'animal :  oui  non