Déclaration d'intérêts de Mr : Durand Denys

- Pactivités de conseil, fonctions de gouvernance, rédaction de rapports

 Non
- Essais cliniques, autres travaux, communications de promotion

 Non
- **➢Intérêts financiers (actions, obligations)**Non
- Liens avec des personnes ayant des intérêts financiers ou impliquées dans la gouvernance
 Oui
 Société(s): Phytosynthèse
- ➤ Réception de dons sur une association dont je suis responsable
- > Perception de fonds d' une association dont je suis responsable et qui a reçu un don
- Détention d'un brevet, rédaction d'un ouvrage utilisé par l'industrie







Mécanismes et régulations du stress oxydant chez les animaux de rente

- principes généraux -

Denys Durand (1), Mylène Gobert (2) et Marie Damon (3)

(1)Unité Mixte de Recherches sur les Herbivores (2) Unité Qualité des Produits Animaux

Centre de Recherches de Clermont-Ferrand/Theix

(3) Physiologie, Environnement et Génétique pour l'Animal et les Systèmes d'Elevage

Centre de Recherches de Rennes

INRA





Radicaux libres centrés sur l'oxygène et stress oxydant



Qu'est-ce qu'un radical libre ?



Un radical libre est une espèce chimique qui possède un électron célibataire sur sa couche périphérique



Si l'électron célibataire est situé sur un atome d'oxygène on parle de radicaux libres « centrés » sur l'oxygène

 O_2^{O-} \longrightarrow Radical superoxyde

HO₂ → Radical perhydroxyle

OH — Radical hydroxyle

ROO Radical peroxyle

RO Radical alkoxyle



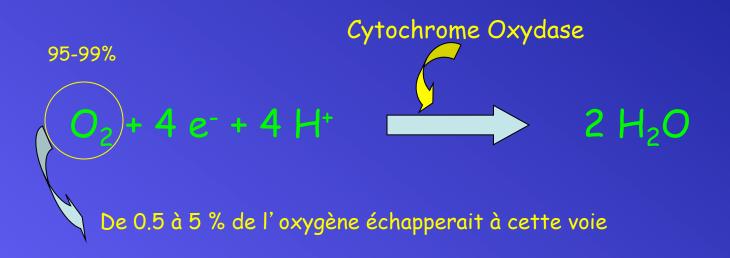
Espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou Reactive Oxygen Species (ROS)



Métabolisme de l'oxygène in vivo



Réduction complète de l'oxygène au niveau de la mitochondrie



⇒ Formation de l'anion superoxyde

Voies de synthèse des ERO in vivo



🖔 Réduction incomplète de l'oxygène

$$O_2 + 1e^-$$

♥ Formation du peroxyde d'hydrogène

🦴 Réaction de Fenton (avec Fe²+ou Çu+)

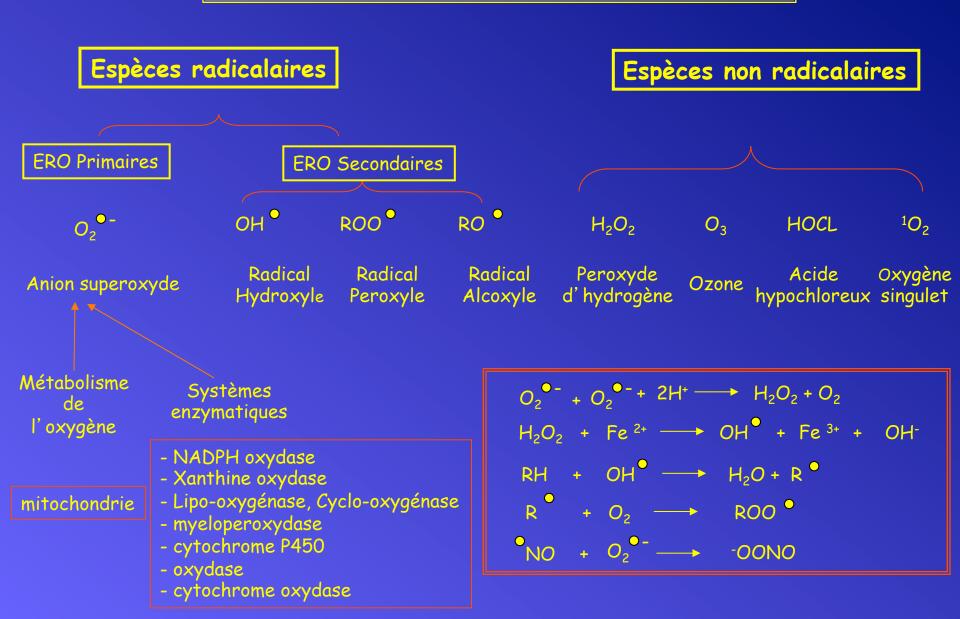
$$H_2O_2 + Fe^{2+}$$





Classification des ERO générés in vivo

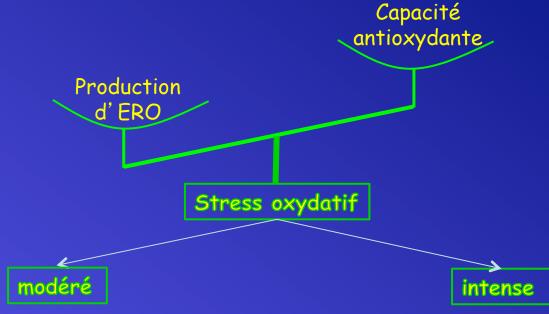






Qu'est ce que le stress oxydant?





Production d'ERO modérée (homéostasie redox)

- Médiateurs cellulaires (régulation des facteurs de transcription) ayant un rôle sur :
 - **b** fonctions immunitaires
 - processus inflammatoires
 - \$ phagocytose
 - w métabolisme des xénobiotiques
 - Modulation de l'expression de gènes codant pour les enzymes antioxydantes

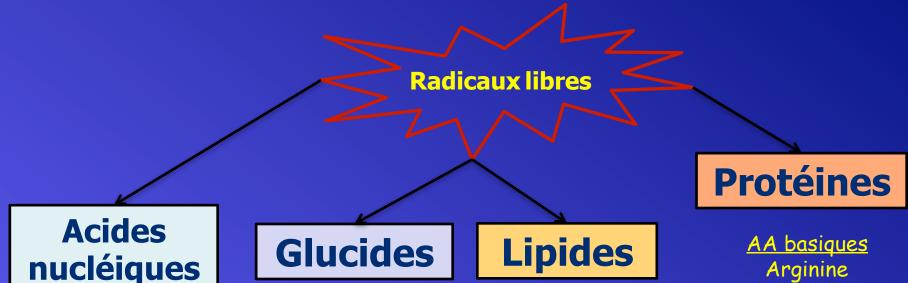
Production d'ERO non contrôlé

- naladies neurodégénératives
- 🖔 diabète
- ♥ cancers
- w maladies cardio-vasculaires
- substitution de la constitution de la constitution
- pathologies articulaires
- ♥ cataracte



Cibles des radicaux libres





ADN Bases puriques Bases pyrimidiques

ARN

Lipides

AGI AGMI AGPI (dont Ac. Arachidonique)

Cholestérol

Arginine Histidine Lysine

AA soufrés Méthionine Cystéine

AA aromatiques Phénylalanine Tryptophane Tyrosine

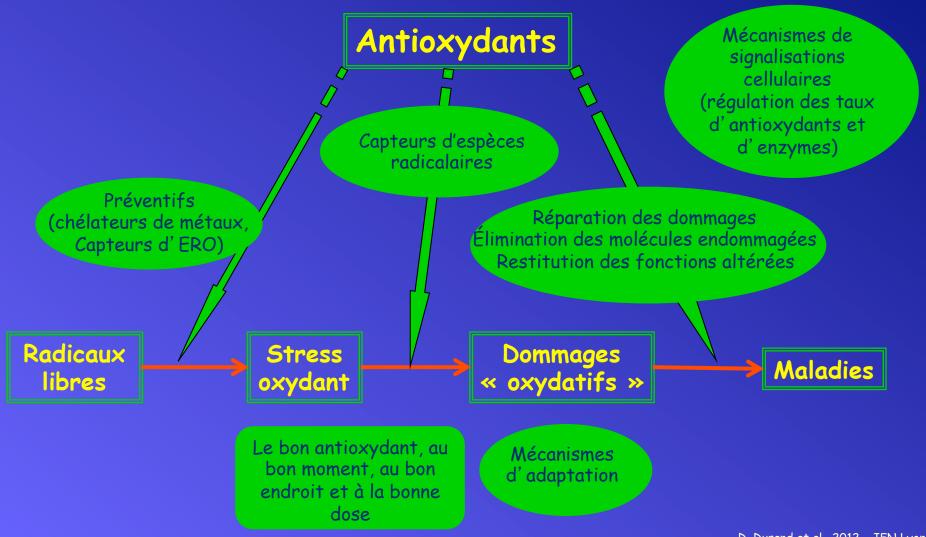
Relation entre stress oxydant et lipoperoxydation Centre de Clermont-Fd – Theix sur les Herbivores INITIATION INITIATION **AGPI PROPAGATION** [Acide linolénique (18:3n-3)] $-H^+$ **Electron** célibataire Radical d' AGPI Remaniement électronique **PROPAGATION** Diène conjugué CH₃ COOH Système de résonance $+ O_2$ Radical peroxyle CH₃ COOH **Toxiques** 16-hydroperoxyle 7 $+ H^+$ **Electron** célibataire CH₃ Hydroperoxyde COOH [16-hydroperoxyde] Alcanes Aldéhydes **Toxiques** [Malondialdéhyde ou MDA] [éthane, pentane] (Pré, 1991) D. Durand et al., 2012 - JFN Lyon



Place des antioxydants dans les « lignes de défense » contre le stress oxydant



Def : substance, qui présente à faible concentration comparativement au substrat oxydable, diminue significativement ou inhibe l'oxydation de ce substrat





Différents types d'antioxydants



Endogènes **Nutritionnels** Lipophiles **Enzymatiques** Non enzymatiques **Hydrophiles** SuperOxyde Vitamine E Glutathion (GSH) Polyphénols Dismutase (SOD) Vitamine A Albumine Vitamine C Glutathion © Caroténoïdes Bilirubine Poligoéléments (Se, Zn ..etc) Peroxydase (GPX) © Coenzyme Q10 Ac. urique © Catalase (CAT) Etc ...



Etc ...

Neutralisation enzymatique des ERO



Donneurs de H⁺ ou d' électron → **Neutraliser les ERO**

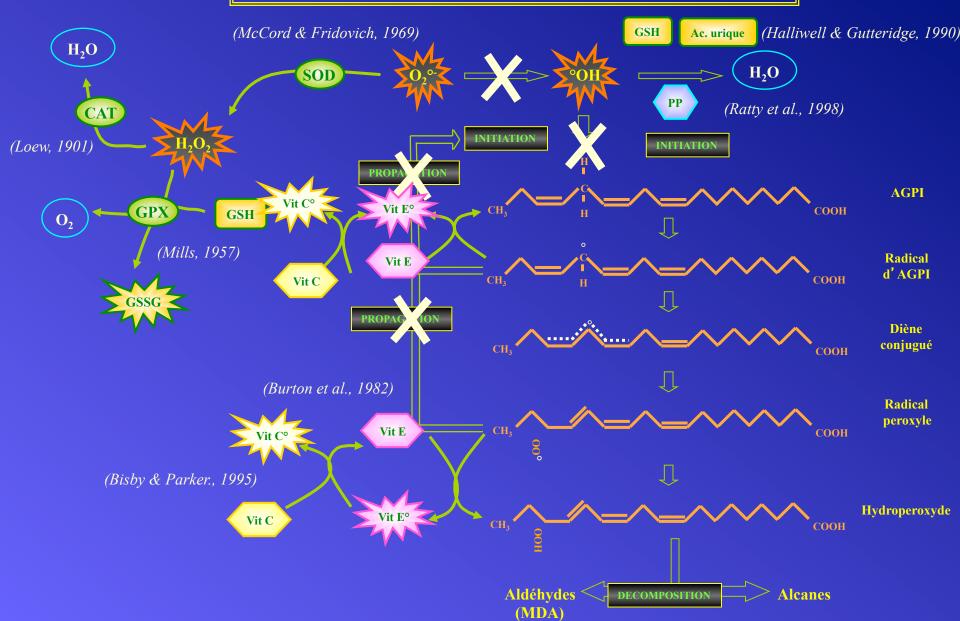
Modes d'action indirects:

- ► Chélation de métaux de transition (Fe²⁺)
 - **→** Inhibition de la réaction de Fenton
- >Activation / Inhibition d'enzymes
- > Recyclage d'antioxydants



Exemple de complémentarité entre antioxydants dans la prévention de la lipoperoxydation

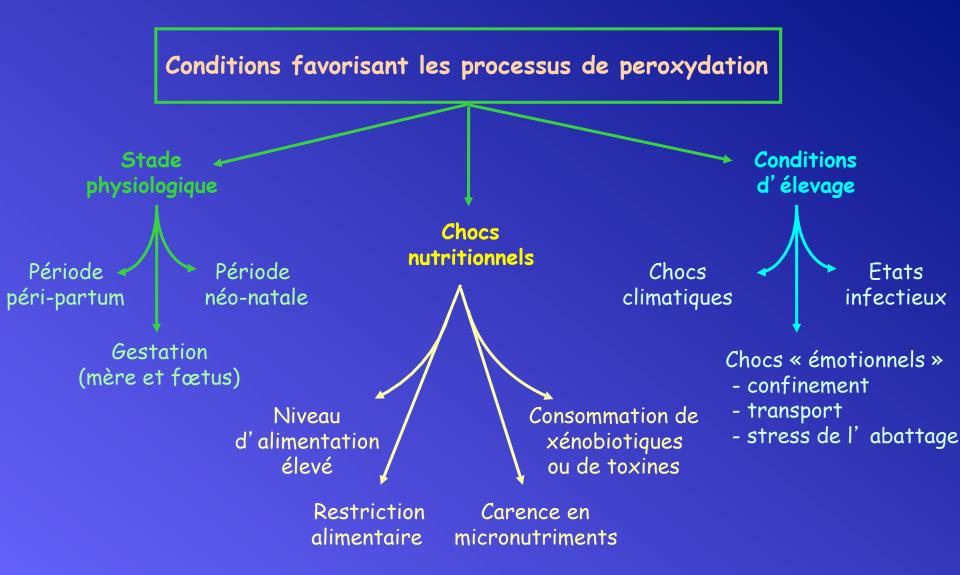






Quelles situations peuvent générer un déséquilibre chez l'animal de rente?







Conséquences du stress oxydant chez les animaux de rente



Animal

sensibilité aux processus infectieux



des pathologies inflammatoires



des perfo

Thématique qui sera développée par Marie Damon



des performances de reproduction



des fonctions hépatiques

Stress oxydant



perte de qualités organoleptiques des produits (tendreté, gout rance...)

Thématique qui sera développée par Mylène Gobert

te de qualités tionnelles des produits

apparition de composés délétères pour la santé humaine (cancer, MCV, ...)



Evaluation du stress oxydant : quelles méthodes pour quelles mesures ?



Critères de choix des méthodes (valable pour toutes espèces):

- 🖔 simplicité de mise en œuvre
- besoin instrumentaux à mobiliser
- ♥ mécanismes investigués
- 🖔 méthode quantitative ou non
- \$ méthode « biologiquement » pertinente

Cas des animaux de rente

Evaluer les niveaux de stress oxydant :

- 🤟 pendant les phases d'élevage 🗢 impact sur les performances, la santé, le bien-être...
- 🦫 au <u>moment de l'abattage</u> 🗢 impact sur « l'orientation » des produits pour
- l'Homme selon leur susceptibilité à la peroxydation



Evaluation des niveaux de stress oxydant survenant au cours de la vie des animaux



Sang

Evaluation de la capacité antioxydante

- Evaluation de la capacité de captage des radicaux libres : DPPH , ABTS
- Evaluation par méthodes de compétitions: ORAC, TEAC, TRAP
- Sevaluation par réduction d'ions métalliques : FRAP
- Sevaluation par mesures de composés antioxydants : Vitamines E et A, albumine...
- Sevaluation de la susceptibilité à la peroxydation : cinétiques d'apparition des diènes conjugués

Evaluation de l'intensité des processus de peroxydation

- Mesures des produits de la peroxydation:
- protéique : carbonyles
- lipidique :

Radicaux alkyls : TBARS, MDA, HHE (oméga 6), HNE (oméga 3),

Radicaux peroxyls : isoprostanes (ac arachidonique)

Hydroperoxydes lipidiques (sang et lipoprotéines)

- 5 Indicateurs de stress cellulaires :
- *thiols oxydés/thiols réduits (GSSG/GSH)
- * Production d'oxyde nitrique (NO) (nitrate + nitrite)



Evaluation des niveaux de stress oxydant survenant au cours de la vie des animaux



Tissus

Evaluation de la capacité antioxydante

- Servaturation par méthodes de compétitions : TEAC
- Evaluation par mesures de composés antioxydants : Vitamines E et A, albumine....
- Sevaluation par mesures de l'activité des principales enzymes antioxydantes : Catalase, SOD, GPx
- Sevaluation par approche transcriptomique

- Evaluation de l'intensité des processus de peroxydation
- Mesures des produits de la peroxydation:
- protéique : carbonyles
- lipidique :

Radicaux alkyls : TBARS, MDA, HHE (oméga 6), HNE (oméga 3),

Radicaux peroxyls : isoprostanes (ac arachidonique)

* Adduits lipides-protéines

Indicateurs de stress cellulaires : thiols oxydés/thiols réduits (GSSG/GSH)



Conclusions



La prise en compte du stress oxydant chez les animaux de rente prend une part importante dans les recherches actuelles:

Pour l'animal lui-même ⇒ Santé / performances /bien-être / réduction des pathologies associées...

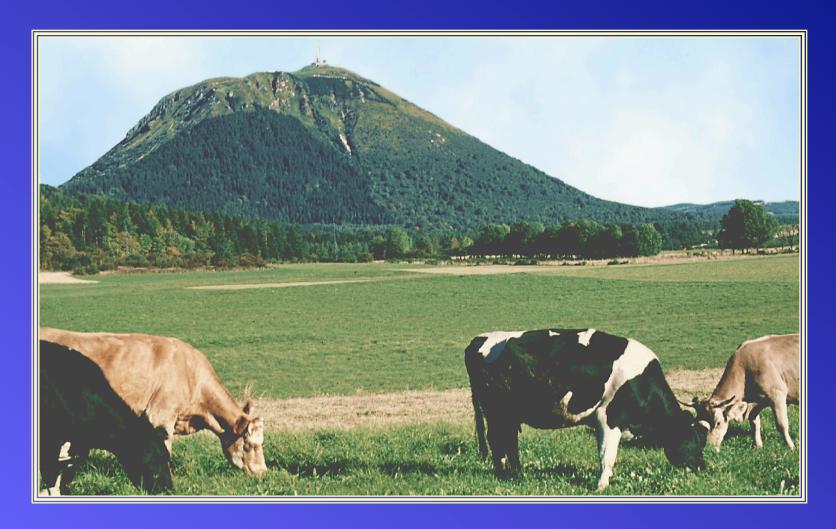
Pour les produits animaux → qualités sensorielles / nutritionnelles / sécurité alimentaire, Volets développés dans les présentations à suivre de Marie Damont et Mylène Gobert







Merci pour votre attention

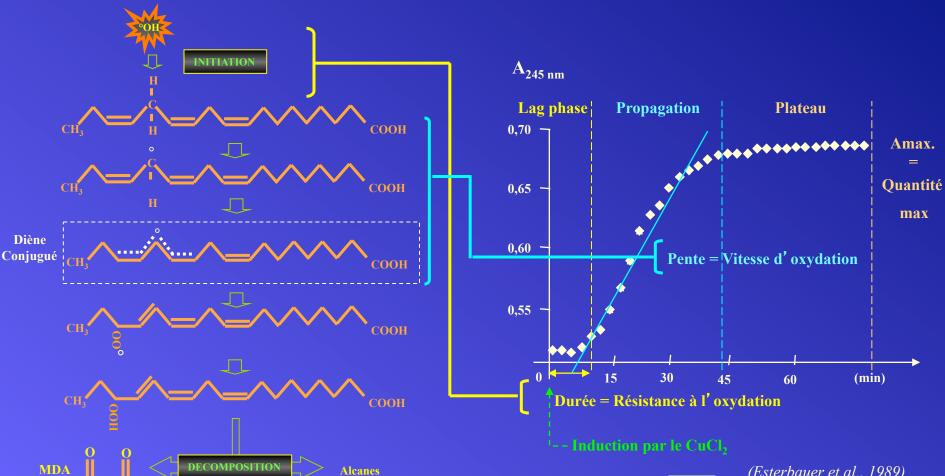






Cinétique de production des diènes conjugués

(Schnitzer et al., 1995)



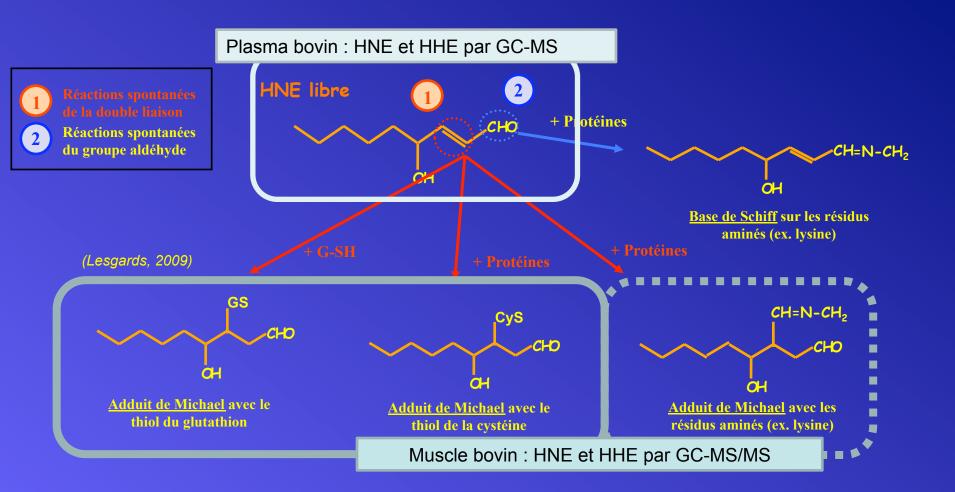
(Esterbauer et al., 1989)



Réactions spontanées du 4-HNE (idem pour HHE)



(d'après Veronneau, 2001 ; Uchida, 2003 ; Schaur, 2003 ; Bacot, 2006)







Utilisation de la puce à ADN dédiée « Qualité de la viande du ruminant »



développée dans le cadre du programme GENOTEND (J.F. Hocquette, I. Cassar-Malek et al.)



Protéines antioxydantes	GPX1, GPX2, GPX3, GPX4, GPX5, GPX6, GPX7, GSTZ1, PRDX1, PRDX2, PRDX3, PRDX4, PRDX5, PRDX6, CAT, CSDE1, CYGB, DUOX1, DUOX2, EPX, GPR156, LPO, MGST3, MPO, PIP3-E, PTGS1, PTGS2, PXDN, PXDNL, TPO, TTN, ALB, AKR7A2, APOE, GSR, MT3, SELS, SOD1, SOD 2, SOD3, SRXN1, TXNDC2, TXNRD1, TXNRD2
Protéines pro-oxydantes	ALOX12, CCS, CYBA, GTF2I, NCF1, NCF2, NOS2A, NOX5, PREX1, PRG3 Nad oxd, CYT P 450, CYT oxd, LOX, COX
Protéines du métabolisme des espèces réactives à l'oxygène	AOX1, BNIP3, EPHX2, MPV17, SFTPD
Protéines de la réponse au stress oxydatif	ANGPTL7, ATOX1, CCL5, DGKK, DHCR24, DUSP1, EPX, FOXM1, GLRX2, GPR156, GSS, KRT1, LPO, BL2, MSRA, MTL5, NME5, NUDT1, OXR1, OXSR1, PDLIM1, PNKP, PRNP, RNF7, SCARA3, SEPP1, SGK2, SIRT2, SRXN1, STK25, HSP,

