1 .Définition du stress oxydatif

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives oxygénées (ERO) et leurs destructions par des systèmes de défense antioxydants. **(Rousselo t et *al*., 2003)**

Les espèces réactives oxygénées (ERO) peuvent engendrer des dommages importants dans la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles: protéines, lipides et acides nucléiques. **(Pincemail et *al*., 1999)**

Dans les conditions quotidiennes normales, les espèces réactives oxygénées (ERO) sont produites en faible quantité comme des médiateurs tissulaires ou des résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cela sous le contrôle de systèmes de défense adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces conditions, on dit que la balance pro-oxydant/antioxydants est en équilibre. Cette dernière peut être rompue pour diverses raisons en faveur du système pro-oxydant, et est alors à l'origine d'un stress oxydant. **(Favier, 2003)**

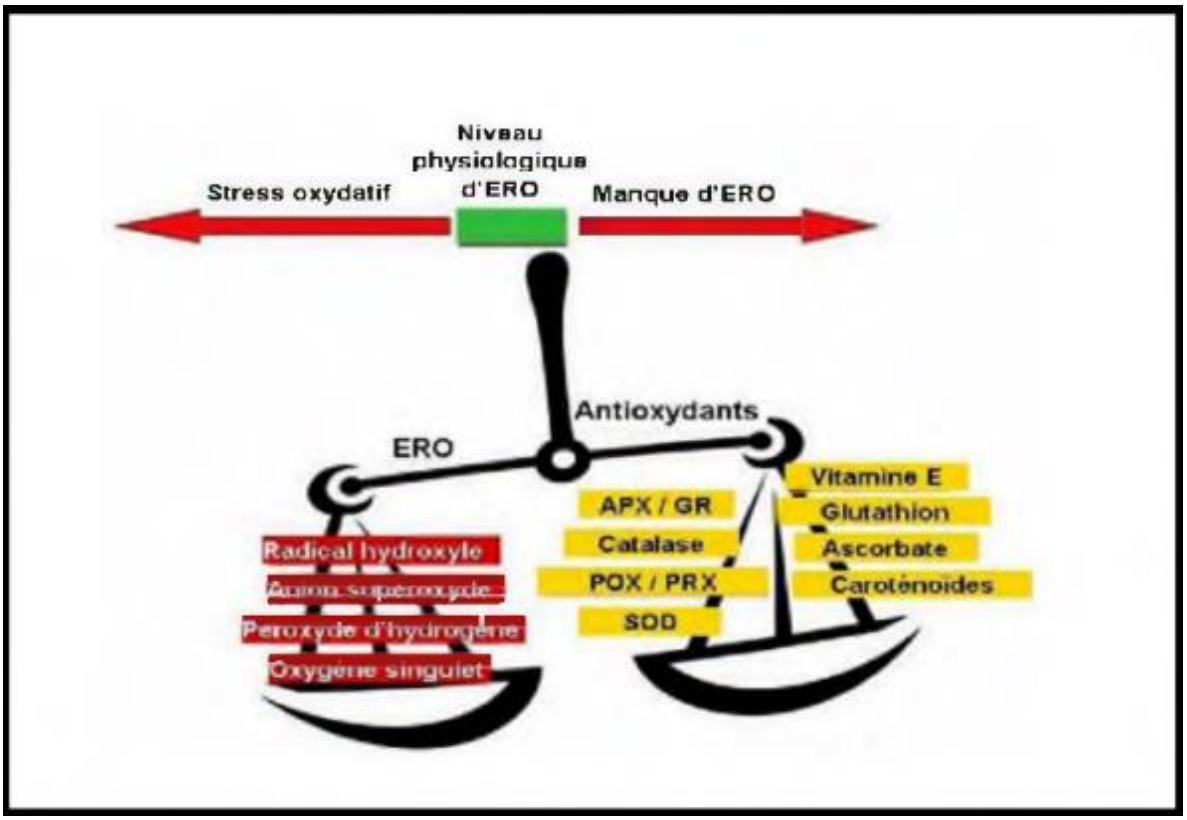


Figure 2 : Schématisation de la balance entre les espèces réactives oxygénées (ERO) et les antioxydants. **(Pourrut et *al*. , 2008)**

2 .Les espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont utilisées pour la description des formes d'oxygène qui sont énergétiquement plus réactives que l'oxygène moléculaire. Elles regroupent l'ensemble des dérivés radicalaires de l'oxygène mais également d'autres composés non radicalaires très réactifs. **(Asada , 2000 ; Foyer et Noctor , 2003 ; Edreva , 2005)**

Certaines espèces réactives de l'azote (ERA ou RNS en anglais pour Réactive Nitrogène Species) sont parfois mentionnées comme appartenant à cette classification puisqu'elles possèdent un atome d'oxygène et qu'elles se comportent de manière similaire (espèces généralement radicalaires, pouvoir oxydant important, générées et régulées par l'organisme) aux ERO vis-à-vis du stress oxydant. **(Smirnoff et *al*., 2005)**

Même si les ROS sont formées au cours du métabolisme normal de la plante, l'augmentation de leur concentration intracellulaire est souvent synonyme de stress. En effet, de nombreux stress (par exemple, la sécheresse, la salinité, les chocs thermiques, l'attaque d'un pathogène, les UV, les polluants atmosphériques ou encore les ETM) sont capables d'induire une production accrue de ROS**. (Noctor et al. , 1998 ; Breusegem et *al*., 2001)**

2.1 .Formation des espèces réactives de l'oxygène

Le métabolisme cellulaire chez les végétaux produit à l'état physiologique plusieurs variétés d'ERO .Dans le cas d'un stress oxydatif, ces ERO peuvent être modulés qualitativement et quantitativement. Tous les ERO ne sont pas extrêmement réactifs, cette réactivité étant très variable selon la nature du radical. Parmi les radicaux formés chez les végétaux on distingue. **(Smirnoff et *al*., 2005)** :

- Anion super oxyde (O^{2-}) ;
- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ;
- Radical hydroxyle (OH^-).

2.2 .Sources des espèces réactives de l'oxygène (ROS)

Chez les plantes, il existe plusieurs sources cellulaires d'espèces réactives de l'oxygène localisées à divers endroits de la cellule **(Bertrand , 2008**), et qui sont produites de façon permanente durant le métabolisme normale et durant les périodes de stress. Ces sources incluent :

- ❖ Les chaînes de transport d'électrons (CTE) des chloroplastes;
- ❖ Les chaînes de transport d'électrons (CTE) des mitochondries;
- ❖ Certaines enzymes comme le glycolate oxydase, la xanthine oxydase et les enzymes de l'oxydation des acides gras dans le peroxysome;
- ❖ L'amine oxydase et l'oxalate oxydase dans l'apoplaste;
- ❖ Les molécules photosensibilatrices comme la chlorophylle**.(Bertrand , 2008).**

Tableau 02: Origines et localisations des espèces réactives de l'oxygène**. (Smirnoff et *al.* , 2005)**

Origine	Localisation	ERO
Photosynthèse, PSI ou PSII	Chloroplaste	O_2°
Respiration(transport d'électrons)	Mitochondrie	O_2°
Glycolate oxydase	Peroxysome	H_2O_2
Chlorophylle excitées	Chloroplaste	O_2°
NADPH oxydase	Membrane cellulaire	O_2°
B-oxydation des acides gras	peroxysome$_2$	H_2O_2
Oxalate oxydase	Apoplaste	H_2O_2
Xanthine oxydase	Peroxysome	O_2°
Peroxydase, Mn^{2+} et NADH	Membrane cellulaire	H_2O_2
Amine oxydase	Apoplaste	H_2O_2, O_2°

2.2.1 .Chloroplastes et l'appareil photosynthétique

Le chloroplaste est souvent considéré comme étant la principale source d 'ERO chez les organismes photosynthétiques. **(Foyer et Noctor, 2003; Edreva , 2005 ; Asada, 2006)**

En effet, de nombreuses situations de stress abiotiques entraînent une inhibition de la photosynthèse et les électrons qui ne participent plus à la fixation du CO2 vont entraîner la production et l'accumulation de ROS. Durant les conditions de photo inhibition, la carboxylation du ribulose 1,5-biphosphate (RuBP) est inhibée, favorisant son oxygénation et entraînant la production de phosphoglycolate. Celui-ci est transporté vers le peroxysome où il est converti en glyoxylate par la glycolate oxydase, produisant ainsi le peroxyde d'hydrogène. Les chloroplastes et les peroxysomes sont ainsi considérés comme «capteurs» des changements environnementaux Les ROS se comportent donc comme signaux «rédox», dérivés des chloroplastes, et sont susceptibles de réguler l'expression de gènes de la réponse et de l'adaptation au stress. **(Parent et *al*., 2008)**

2.2.2 .Peroxysomes

Les peroxysomes sont des vésicules cytoplasmiques minuscules (0,5 |im de diamètre) entourées d'une membrane simple contenant des oxydases et des enzymes spécifiques du métabolisme du peroxyde d'hydrogène.

Ils sont le siège d'une forte activité métabolique très centrée sur le métabolisme oxydatif **(Corpas et *al*., 2001 ; Nyathi et Baker, 2006)**,et ils possèdent de nombreux systèmes antioxydants et pro-oxydants.

2.2.2.1 .β -oxydation

La β-oxydation est un processus fondamental et commun chez les animaux, les levures et les plantes. Les composés dérivés de la β -oxydation sont impliqués dans un très grand nombre de processus cellulaires parmi lesquels l'oxydation de l'acyl CoA par la l'acyl CoA-oxydase qui entraîne la réduction du FAD en FAH2 **(Baker et *al*., 2006) ,** La régénération du cofacteur s'effectue par la réduction d'une molécule d'O2 entraînant la formation d'H2O2. **(Foerster et *al*., 1981; Baker et *al*., 2006)**





2.2.2.2 .Photo respiration

La photorespiration est un processus vital pour les plantes. Bien q u 'il apparaisse comme un mécanisme coûteux en énergie et peu rentable, ce mécanisme physiologique remplit le rôle de «soupape de sécurité» du photosystème, en évitant la saturation de la CTE chloroplastique**. (Bertrand , 2008).**

La photorespiration est un processus complexe illustrant bien les échanges de métabolites entre les différents composants cellulaires. Elle se déroule dans quatre compartiments cellulaires : chloroplastes, peroxysomes, mitochondries , auxquels s'adjoint le cytosol en tant qu'un milieu de transit. **(Bertrand , 2008)**

2.2.3 .Mitochondries et chaîne respiratoire

Chez les animaux, les mitochondries constituent la source principale de ROS. Chez les plantes, la production de ROS par les mitochondries a été historiquement minimisée par rapport à celle des chloroplastes. Cependant, avec l'identification de l'alternative oxydase (AOX), la mitochondrie pourrait devenir un facteur important dans la régulation du stress oxydatif chez les plantes. **(Parent et *al*., 2008)**

3. Cibles cellulaires des ERO

Du fait de leur grande réactivité, les ERO peuvent endommager les constituants biologiques essentiels tels que l'ADN, les lipides et les protéines et sont donc potentiellement toxiques. **(Haton , 2005)**

3.1 .Peroxydation lipidique (lipoperoxydation)

La Peroxydation lipidique est un effet majeur des radicaux libres. La plupart des membranes des cellules sont riches en acides gras polyinsaturés, et sont donc très sensibles au stress oxydant. La plupart des aldéhydes produits après lipopéroxydation sont très réactifs et peuvent être considérés comme des seconds messagers toxiques qui augmentent les dommages initiaux dus aux radicaux libres. Les aldéhydes les plus étudiés sont le 4-hydroxynonénal (4-H N E) et le dialdéhyde malonique (MDA). Certains produits de la peroxydation contribuent à l'adaptation des organismes aux conditions de l'environnement ou encore à la différenciation cellulaire. **(Haton, 2005) ,** Ce processus se déroule en trois phases : **(Spiteller, 1998)**

- Phase d'initiation
- Phase de propagation
- Phase de terminaison

3.2 .Oxydation des protéines

Les ERO sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les protéines les plus touchées sont celles comportant un groupement sulfhydrile (-SH), comme c'est le cas pour de nombreuses enzymes et protéines de transport. **(Stadtman et Levine , 2000)**

Le peroxyde d'hydrogène, mais surtout le radical hydroxyle sont capables d'oxyder ces groupements, conduisant à l'inactivation de certaines enzymes. En particulier, la présence de radicaux hydroxyles est à l'origine de dégradations irréversibles des protéines, par la formation de groupements carbonyles sur la chaîne latérale de certains acides aminés. **(Stadtman et Levine , 2000)**

3.3 .Oxydation de l'ADN

L'oxydation des différents constituants de l'ADN induit la formation de 4 grandes classes de lésions:

- Les modifications des bases nucléiques.
- Les sites abasiques.
- Les pontages et les cassures de chaines (simple et double brins).

Les ERO sont à l'origine d'une grande variété de dommage des bases, comme la 8-oxo-7,8-dihydroxy-guanine (8-oxoG).

Par ailleurs, dans la chaine des réactions, des méthylations au niveau des bases sont observées. La conséquence de ces altérations sera une erreur de lecture lors de la transcription. **(Haton , 2005)**

4 .Mécanismes de défense contre le stress oxydatif

Le stress oxydant, conséquence naturelle du métabolisme de l'oxygène, est normalement contrôlé par des systèmes endogènes de défense antioxydant. Les antioxydants cellulaires peuvent être enzymatiques ou non-enzymatiques. Généralement, l'augmentation des activités des enzymes

impliquées dans les réactions de défense semble être liée à l'espèce ou à la variété végétale utilisée, aux conditions physiologiques de la plante utilisée, ou encore au type de stress oxydant appliqué. **(Dalila, 2009)**

4.1 .Systèmes antioxydants enzymatiques:

- Le superoxyde dismutase
- Catalase
- L a glutathion peroxydase (GPX)
  - L'ascorbate peroxydase (APX)
  - L a glutathion réductase (GR)

4.2 .Systèmes antioxydants non enzymatiques

Avant d'introduire les systèmes enzymatiques, il est important de noter qu'il existe également des systèmes non-enzymatiques de dégradation des EOR. Il s'agit le plus souvent du glutathion, de l'ascorbate, les Flavonoïdes, et des caroténoïdes. **(Gama, 2010)**

4.2.1 .Flavonoïdes

Les flavonoïdes, classe importante des poly phénols, sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques telles que: les activités antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses. Ces activités sont attribuées, en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres. Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant par :

• Capture directe des espèces réactives de l'oxygène,

• Chélation de métaux de transition comme le fer (empêchant ainsi la réaction de Fenton),

• Inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des ERO. **(Fatiha, 2010)**

4.2.2 .Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont divisés en deux familles: les carotènes qui sont formés de 40 atomes de carbone et les xanthophylles qui, en plus, comportent un ou deux atomes d'oxygène. Au niveau du chloroplaste, les caroténoïdes, en plus de capter l'énergie lumineuse protègent les photosystèmes. **(Vincent, 2006)**

4.2.3 .L'acide ascorbique

L'acide ascorbique, communément appelé vitamine C, joue plusieurs rôles au sein de la cellule. Il se retrouve tant au niveau du chloroplaste, du cytoplasme, de la mitochondrie **(Horemans et *al.*, 2000)** ,C'est un antioxydant puissant qui réagit rapidement avec le radical super oxyde, l'oxygène singlet, l'ozone et le peroxyde d'hydrogène. **(Vincent, 2006).**

4.2.4 .Le glutathion

Le glutathion (GSH) est un tri-peptide formé dans l'ordre des acides aminés suivants: l'acide glutamique, la cystéine et la glycine. Son pouvoir réducteur réside dans le groupement thiol (SH) de la cystéine. Le glutathion est présent au niveau du cytosol et du chloroplaste où il réagit avec l'oxygène singlet, l'anion super oxyde et le radical hydroxyl en plus d'être utilisé comme coenzyme afin d'exploiter son pouvoir réducteur.

Le glutathion agit de deux façons, soit par l'activité de la glutathion S-transférase qui catalyse l'échange intermoléculaire des groupements thiols entre une protéine dont les thiols sont oxydés et le glutathion selon le mécanisme suivant : **(Vincent, 2006)**

