

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi - Tébessa -



Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Appliquée

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de MASTER

En : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

**Intitulé : Effet de l'extrait standardisé du
Ginkgo biloba sur la production des nitrites lors
des maladies inflammatoires.**

Par

Menassel Hanane

Zemouli radhia

Devant le jury

Dr. GOUDJIL.T

Mme. BELGUANDOUZ.K

Mr. LAHMER.EM

M.C.B

M.A.A

M. A. A

Université de Tébessa

Université de Tébessa

Université de Tébessa

Président

Rapporteur

Examineur

Date de soutenance : 24 / 06 / 2020

ملخص

أحادي أكسيد الازوت (NO) هو جذر طبيعي حر غير مستقر ، ينتج عن الاختزال البكتريولوجي للنترات والنترت في التربة والمياه ، إضافة الى الأوكسدة الإنزيمية للأرجنين في الحيوانات. يتم تصنيعه حيويًا بواسطة أنظمة إنزيم منظمة بدقة تسمى (NOS) ، تتم أكسدة أحادي أكسيد الازوت تمامًا إلى النترت ، حيث يظل مستقرًا لعدة ساعات كما يمكن أن يتأكسد (NO) والنترت بسرعة للنترات في الدم الكامل.

الالتهاب هو استجابة غير نوعية للكائن الحي لمحفز مادي أو كيميائي أو سم ميكروبي ضار يساهم في العديد من الأمراض مثل أمراض الأمعاء الالتهابية و يتكون من عدة مراحل في كل منها يلعب أحادي أكسيد الازوت دورًا مختلفًا . يقال أن أحادي أكسيد الازوت له تأثير معقد ، مؤيد ومضاد للالتهابات اعتمادًا على تركيزه والبيئة الخلوية.

إن زيادة في نسبة إنتاج (NO) ، توضح الدور المركزي في الدفاع ضد الالتهابات ، ولكن التأثيرات السامة المفترضة له تكون في البداية على العوامل المعدية و ترتبط أيضًا بالأنسجة التي حولها وتؤدي إلى تدمير الأنسجة ، أو يمكن أن تؤدي إلى تثبيط نشاط عامل تعبير. (iNOS)

يحتوي مستخلص الجنكة (GBE) على العديد من جليكوسيدات الفلافون المختلفة . أظهرت العديد من الدراسات السابقة أن (GBE) لديه مجموعة متنوعة من الأنشطة البيولوجية ، بما في ذلك العمل المضاد للأوكسدة والخصائص المضادة للالتهابات.

في هذه الدراسة ، بعد ذكر تأثير مستخلص الجنكة على إنتاج النترتات خلال الأمراض الالتهابية المختلفة ، فإن (EGb) له تأثير وقائي ، والذي قد يرتبط بخصائصه المضادة للأوكسدة وقمع تراكم الخلايا المناعية وتوليد (NO) التي يسببها (iNOS) ، كما أنه يؤثر على التعبير الجيني لـ (iNOS) الناتج لأنه يحتوي على مضادات الأوكسدة ، التي تعمل على مقاومة الجذور الحرة التي يمكن أن تسرع ظهور الشيخوخة ، وتلف الخلايا والأنسجة ، مما يساعد في علاج الالتهابات ، وخاصة تلك المرتبطة بالعدوى.

الكلمات الرئيسية: أحادي أكسيد الازوت ، نيتريت، الجنكة بيلوبا ، الأمراض الالتهابية.

Abstract

Nitrogen monoxide is a natural, radical free and unstable compound, produced by the bacteriological reduction of nitrates and nitrites in soil and water, and the enzymatic oxidation of L-arginine in animals. It is biosynthesized by finely regulated enzyme systems called NO-synthases, the NO is oxidized almost completely to nitrite, where it remains stable for several hours. NO and nitrite are rapidly oxidized with nitrate in the whole blood.

Inflammation is an organism's non-specific response to a harmful physical or chemical stimulus or microbial toxin and is involved in many pathologies such as inflammatory bowel diseases, consisting of several stages in each of which NO plays a role. Nitric oxide would have a complex effect, both pro- and anti-inflammatory depending on its concentration and cellular environment.

an increase in the production of NO, illustrating the central role in the defense against infections, but the cytotoxic effects of NO initially assumed directly on infectious agents also relate to host tissues and result in tissue destruction, Or results in the inhibition of factor activity of iNOS expression.

Ginkgo biloba extract (GBE) contains many different glycosides and terpenoides flavone. Several previous studies have shown that GBE exhibits a variety of biological activities, including antioxidant action and anti-inflammatory properties.

In this study, after mentioning the effect of Ginkgo biloba on the production of nitrites during various inflammatory diseases, EGb 761 has a protective effect, which may be related to its anti-oxidant properties and suppressions of immune cell accumulation and iNOS-induced NO generation. It also affects the genetic expression of iNOS that produces NO. because it contains antioxidants, which work to resist free radicals that can accelerate the onset of aging, and damage to cells and tissues, help in the treatment of infections, especially those associated with infections.

Keywords: Nitrogen monoxide, Nitrite, Ginkgo Biloba, Inflammatory disease.

Résumé

Le monoxyde d'azote est un composé naturel, radical libre et instable, produit de la réduction bactériologique des nitrates et nitrites dans le sol et les eaux, et de l'oxydation enzymatique de la L-arginine chez les animaux. Il est biosynthétisé par des systèmes enzymatiques finement régulés appelés NO-synthases, le NO est oxydé presque complètement au nitrite, où il reste stable pendant plusieurs heures. Le NO et le nitrite sont rapidement oxydés en nitrate dans le sang entier.

L'inflammation est la réponse non spécifique d'un organisme à un stimulus physique ou chimique nocif ou à une toxine microbienne et est impliquée dans de nombreuses pathologies comme les maladies inflammatoires intestinales, elle est composée de plusieurs étapes dans chacune desquelles NO joue un rôle. L'oxyde nitrique aurait un effet complexe, à la fois pro- et anti-inflammatoire en fonction de sa concentration et de l'environnement cellulaire.

une augmentation de la production de NO , illustrant le rôle central dans la défense contre les infections , mais les effets cytotoxiques du NO initialement supposés directement sur les agents infectieux portent aussi sur les tissus hôtes et entraînent des destructions tissulaires ,Ou entraîne l'inhibition de l'activité de facteurs de l'expression d'iNOS.

L'extrait de ginkgo biloba (GBE) contient de nombreux glycosides et terpenoïdes flavone différents. Plusieurs études antérieures ont démontré que GBE présente une variété d'activités biologiques, y compris une action antioxydant et des propriétés anti-inflammatoires. Dans cette étude, après avoir mentionné l'effet du Ginkgo biloba sur la production des nitrites lors des différentes maladies inflammatoires, l'EGB 761 a un effet protecteur, qui peut être liée à sa propriété anti oxydative et aux suppressions de l'accumulation des cellules immunitaires et de la génération de NO induite par l iNOS. Elle affecte également à l'expression génétique de i NOS qui produit de NO. Car il contient des antioxydants, qui travaillent à résister aux radicaux libres qui peuvent accélérer l'apparition du vieillissement, et des dommages aux cellules et aux tissus, aider dans le traitement des infections, en particulier ceux associés aux infections.

Mots clés: Le monoxyde d'azote, Nitrite, Ginkgo Biloba, Les maladie inflammatoire.

Remerciements

Tout d'abord, nous commençons ce travail par le nom d'Allah, et dieu merci qui nous a aidés et nous a donné patience, force et défi, pour terminer notre étude pendant cinq ans et conclure avec ce travail.

Nous remercions notre promotrice madame LAHMER, BELGUANDOUZ KARIMA, pour son attention, sa sympathie et sa générosité, nous la remercions beaucoup de nous avoir donné son temps et ses efforts pour gérer ce travail, madame, merci pour toute votre expérience scientifique et tout ce que vous nous avez donné dans cette période.

Nous remercions les membres du jury : le Dr GOUDJIL.T et Mer LAHMER.EM pour leurs efforts et les remercions donc d'avoir jugé ce travail. Nous remercions également tous nos enseignants et tous ceux qui ont contribué directement ou indirectement à fournir des conseils pour réaliser ce travail.

Enfin, aux membres de notre famille, que nous ne pouvons pas remercier assez pour leur soutien continu au cours de ce travail, leur soutien et leurs encouragements tout au long de notre vie à l'école et à l'université, et pour leur exprimer toutes les formes de gratitude pour leur amour et tout ce qu'ils ont fait pour nous .

Merci infiniment ...

Table de matière

ملخص

Abstract

Résumé

Remerciement

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

Chapitre 1 : Le monoxyde d'azote (NO)

I. Généralités	5
II. Le monoxyde d'azote (NO.....	5
1. Définition	5
2. Propriétés physico-chimiques du NO	6
3. Transport du NO.....	6
4. Origine exogène et endogène du NO	7
5. NO synthase (NOS)	7
5.1. Définition	7
5.2. Les isoformes de la NO synthase	7
5.3. Structure des NO synthases	9
5.4. Types de régulation de NOS	10
5.5. Régulation de l'expression et de l'activité iNOS	10
6. Biosynthèse de NO	10
7. Formation de Nitrite/Nitrate à partir du NO.....	11

Chapitre 2 : NO et les cellules impliquées dans la réponse inflammatoire

I. La réaction inflammatoire.....	13
II. Les cellules de l'inflammation.....	14
1. Les cellules phagocytaires	14
1.1. Les polynucléaires neutrophiles	14
1.2. Les macrophages	14
1.3. Les cellules dendritiques	14

2. Les lymphocytes	15
3. Les mastocytes, polynucléaires basophiles et éosinophiles	16
4. Les fibroblastes	16
5. Les cellules endothéliales	16
6. Les plaquettes	16
III. Les médiateurs de l'inflammation	17
1. Les amines vasoactives	17
2. Les médiateurs lipidiques	17
3. Les cytokines	17
IV. NO et systèmes immunitaires	18
1. Source de NO dans le système immunitaire	18
2. Fonctions immunes du NO	18
NO et contrôle du processus infectieux	19
Régulation des facteurs de l'inflammation par le NO	19
NO et polynucléaire neutrophile	19
V. Implication physiopathologique Au niveau du processus de l'inflammation	20

Chapitre 3 : Ginkgo biloba

I. Définition	22
II. Composés et effets biologiques	23
1. Composés	23
a. Trilactones terpéniques	23
b. Flavonoïdes	23
c. acides ginkgoliques	24
d. Ginkgotoxines	24
2. effets biologiques	25
2.1 Amélioration du flux sanguin	25
2.2 Antagonisme et effet anti-inflammatoire	26
2.3. Antioxydant (Radical Scavenging) et son bénéfique	26
Effets sur la santé	26
Activité antitumorale	27
2.4. Effets protecteurs contre les drogues, les produits chimiques et les métaux lourds ..	27
Toxicité induite	27
Activité antimicrobienne	27

III. Pharmacocinétiques.....	27
IV. Pharmacologie.....	28
V. Toxicité.....	29
VI. Extraits commerciaux de ginkgo biloba.....	29

Chapitre 4 : Ginkgo biloba et le traitement des maladies inflammatoires

I. les maladies inflammatoires	31
II. Thérapie naturelle.....	32
III. traitement des maladies inflammatoires par Ginkgo biloba	32
1. la maladie parodontale inflammatoire chronique	32
1.1. Définition	32
1.2. Les médiateurs inflammatoires	33
1.3. Traitement de parodontite par GB	33
a. l'activité anti-inflammatoire d'EGB contre des réactions inflammatoires provoquées dans les cellules RAW 264.7 par P. gingivalis LPS	33
b. capacité inductive d'EGB sur les expressions de protéine et d'ARNm de HO-1 par la régulation de Nrf-2	36
c. Un lien entre les effets inhibiteurs sur le statut inflammatoire et les effets inductibles sur l'expression HO-1 d'EGB	36
2. La maladie inflammatoire de l'intestin (IBD).....	37
2.1. Définition	37
2.2. Traitement de la maladie inflammatoire de l'intestin (IBD) par GB.....	37
a. L'activité anti-inflammatoire d'EGB contre des réactions inflammatoires d'IBD	38
b. Effet d'EGB sur les cellules immunitaires.....	40
3. La maladie des lésions pulmonaires induites par l'ischémie intestinale/reperfusion...42	
3.1 Définition	42
3.2. Traitement de maladie des lésions pulmonaires induites par l'ischémie intestinale/reperfusion par GB	43
a. Effet de ginkgo biloba sur la production de l'oxyde nitrique.....	44
b. Effet de ginkgo biloba sur l'expression de NOS.....	46

Conclusion

Références Bibliographiques

Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
01	structure de la molécule NO	5
02	Formule semi-développée du monoxyde d'azote. Formule brute : NO. Masse molaire : 30 g/mol. Le NO est constitué d'un atome d'azote (N) lié à un atome d'oxygène (O) par une double liaison. La nature radicalaire du NO est due à la présence d'un électron libre non apparié	6
03	Structure d'une sous-unité d'une NO synthase	9
04	Mécanisme de biosynthèse du NO	11
05	Déroulement de l'inflammation	13
06	Différenciation des lymphocytes T CD4 naïfs, principales sous- populations, cytokines majeures produites et fonctions immunitaires principales	15
07	les cytokines anti et pro-inflammatoire	18
08	Lien entre la rupture de l'homéostasie de l'oxyde nitrique et des situations pathologiques	20
09	<i>Ginkgo biloba</i> L. (feuille).	22
10	structures chimiques des trilactonesterpène de Ginkgo biloba (a bilobalide, b ginkgolide), des flavonoïdes Ginkgo biloba (c, d), des acides ginkgoliques (e), de la ginkgotoxine (f)	25
11	Effets inhibiteurs de l'EGB sur la production de médiateurs pro- inflammatoires dans <i>Porphyromonas gingivalis</i> LPS-stimulés cellules RAW 264.7	34
12	EGB 761 supprime les joueurs impliqués dans l'inflammation (iNOS, Cox-2 et TNF-a) et le stress inflammatoire (p53 et p53-phospho-serine 15)	39
13	Observation microscopique légère des tissus pulmonaires après II./R avec prétraitement d'EGB 761 chez les rats	44
14	Analyse occidentale de l'iNOS dans le poumon de rat	46

Liste des Tableaux

Tableau N°	Titre	Page
	Caractéristiques des trois types de NO-synthase humaine	8

Liste des abréviations

- Abeta:** peptides bêta-amyloïdes.
- ADN :** Acide désoxyribonucléique.
- Bb:** bilobalide.
- BH4 :** Tétrahydrobioptérine.
- Ca²⁺:** Calcium.
- CD:4** Cluster of Differentiation.4
- CD:8** Cluster of Differentiation8 .
- CD:** la maladie de Crohn.
- CO:** monoxyde de carbone.
- DSS:** dextran sulfate de sodium.
- E NOS:** oxide nitrique synthase endothéliale.
- ecNOS:** oxyde nitrique synthase constitutif endothélial.
- EDRF:** facteur relaxant dérivé de l'endothélium.
- EGb 761:** ginkgo biloba E normalisé.
- FAD:** Flavine adénine dinucléotide.
- FMN:** Flavine mono nucleotide.
- GKA:** ginkgolide A.
- GKB:** ginkgolide B.
- GKC:** ginkgolide C.
- GKJ:** ginkgolide J.
- IBD:** maladies inflammatoires de l'intestin.
- IFN:** Interféron.
- Ig :** Immunoglobulines.
- II/R:** L'ischémie intestinale / reperfusion.
- IL :** Interleukine.
- IL-10:** l'interleukine-10.
- IL-1MD:** l'interleukine-1.
- IL-4:** l'interleukin4.
- IL-6:** l'interleukine-6.
- iNOS :** oxide nitrique synthase inductible.
-

- LI 1370:** ginkgo biloba E normalisé.
- LPS :** Lipopolysaccharide.
- LPS/IFN- γ :** par l'interféron lipopolysaccharide/gamma.
- LPS:** lipopolysaccharide.
- MCV:** maladies cardio-vasculaires.
- NAD :** Nicotinamide Adénine Dinucléotide.
- NADPH:** Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.
- NF-KB:** Nuclear Factor-kappa B.
- NK :** Natural Killer.
- nNOS :** oxide nitrique synthase neuronale..
- NO:** oxyde nitrique.
- NO₂:** Dioxyde d'azote.
- NO₃:** Ion nitrate .
- NOS :** oxide nitrique synthase.
- PKC:** kinase de protéine C.
- PNN :** polynucléaire neutrophile.
- ROS:** espèces réactives d'oxygène.
- SNC:** sistem nerveux central.
- SNP:** nitroprusside de sodium.
- Tc :** lymphocytes T cytotoxyque.
- TF, NF-B:** facteur tumorale, facteur de nécrose B.
- TGF- β :** Transforming Growth Factor beta.
- Th1:** Lymphocytes T helper de type 1.
- Th2:** Lymphocytes T helper de type 2.
- TNF-1:** facteur de nécrose tumorale 1.
- TNF-a:** facteur de nécrose tumorale a.
- TNF-MD:** facteur-alpha de nécrose tumorale.
- TNF- α :** Tumor Necrosis Factor alpha.
- TNF- β :** Tumor Necrosis Factor beta.
- TTL:** terpènes trilactones.
- UC:** La colite ulcéreuse.
-

Introduction

Introduction

Le NO, considéré comme la plus petite biomolécule inorganique, est un gaz instable, qui joue un rôle important dans le cerveau en général, et dans les fonctions neuroendocrines en particulier. Il est synthétisé à partir de la L-arginine par l'enzyme NO synthase (NOS) et diffuse rapidement de son lieu de production selon un gradient de concentration. Le NO peut agir comme neurotransmetteur / neuromodulateur de la plupart des fonctions biologiques du système nerveux central) (**Gharbi et al., 2004**). NO, réagit dans l'eau avec de l'oxygène et ses intermédiaires réactifs pour produire d'autres radicaux (par exemple NO₂), des anions modérément stables (NO₂), des anions très stables (NO₃), des oxydes plus élevés instables (par exemple N₂O₃) et des peroxydes instables (par exemple ONOO). À faible pH, l'accumulation de nitrite (NO₂) peut être protoné à l'acide nitreux, qui peut se désactiver pour refournir NO. NO peut réagir avec des thiols pour donner des formes de stockage (RSNO) qui peuvent redonner un réactif à l'électron, sulfhydryphile, nitrosonium (NOC). Dans les milieux biologiques, la plupart de ces formes sont susceptibles d'apparaître en quelques secondes après NOS devient catalytiquement actif. Stamler a décrit les conditions qui peuvent conduire l'un ou l'autre à prédominer dans certains paramètres (**MacMicking et al., 1997**).

La réaction inflammatoire est la réponse de l'organisme à une agression ayant pour origine des éléments physiques : chaleur, froid, rayonnements ionisants... ou des éléments solides exogènes ou endogènes : pathogènes microbiens, piqûre d'insecte, produits chimiques ou biologiques, composés issus de la réaction immunitaire (complexes immuns, anticorps cytotoxiques, cytokines...)

Suite à une plaie avec une brèche vasculaire on observe une réaction locale immédiate (douleur, phase vasculaire) ainsi que la mise en jeu du système de l'hémostase et le recrutement des cellules inflammatoires (**Zerbato, 2010**).

L'oxyde nitrique aurait un effet complexe, à la fois pro- et anti-inflammatoire en fonction de sa concentration et de l'environnement cellulaire. En effet, NO à faibles concentrations inhibe l'expression des molécules d'adhésion, la synthèse des cytokines ainsi que l'adhésion et la migration des leucocytes (**Parent, 2012**).

Le ginkgo biloba est un arbre originaire de la Chine, où il existe depuis des milliers d'années, et un des arbres les plus anciens de la planète. Cet arbre produit un fruit qui porte une graine en son centre. A l'origine, l'extrait de ginkgo était préparé à la fois à l'aide de cette graine et des feuilles de l'arbre. Aujourd'hui, l'extrait de ginkgo biloba que l'on retrouve partout est préparé uniquement à partir des feuilles. La préparation uniformisée, appelée « EGb 761 », contient des glucosides de ginkgo-flavonol et des lactones terpéniques (6 %), comme les ginkgolides A, B, C, J et le bilobalide! L'engouement de la population générale pour le ginkgo biloba est attribuable aux allégations selon lesquelles le ginkgo biloba améliore la concentration et la mémoire. Parce que le ginkgo biloba contient plusieurs composés, ses effets sont divers, à savoir : Effets antioxydants, Effets vasodilatateurs et Effets antiplaquettaires. **(Peter Lin, 2001.** GBE est prescrit pour les maladies vasculaires cérébrales et périphériques, GBE a été rapporté pour affecter l'agrégation de plaquettaire, les dommages endothéliaux et l'inflammation **(Kim et al., 2005).**

Dans ce travail, nous avons étudié le rôle efficace joué par la ginkgo biloba dans les maladies inflammatoires où nous allons mentionner certaines de ces maladies et les traiter en utilisant Ginkgo biloba et prouver son efficacité comme un anti-inflammatoire d'une part et aider le système immunitaire et sa relation avec les cellules immunitaires.

Chapitre 1

Le monoxyde d'azote (NO).

Chapitre 1 : Le monoxyde d'azote (NO)

I. Généralités :

Le NO est un élément radicalaire présent sous forme gazeuse, lui conférant ainsi un fort pouvoir de diffusion dans les milieux biologiques. Sa demi-vie est courte, de moins de 5 secondes, du fait de sa rapide oxydation par l'oxyhémoglobine en nitrates et nitrites, le NO est produit dans un nombre important de types cellulaires, tels que les cellules du système immunitaire (leucocytes, macrophages, lymphocytes et cellules dendritiques), mais aussi les neurones, les hépatocytes, les cardiomyocytes, les cellules musculaires squelettiques... Par sa nature radicalaire, le NO réagit très activement avec de nombreuses substances, dont les dérivés radicalaires de l'oxygène et les métalloprotéines possédant un noyau hémique. De ce fait, il possède une forte affinité pour l'hémoglobine, et est donc un puissant régulateur de son activité biologique (**Besnier et al., 2015**).

II. Le monoxyde d'azote (NO) :

1. Définition :

Le monoxyde d'azote est un composé naturel, radical libre et instable, produit de la réduction bactériologique des nitrates et nitrites dans le sol et les eaux, et de l'oxydation enzymatique de la L-arginine chez les animaux. Il est bio synthétisé par des systèmes enzymatiques finement régulés appelés NO-synthase. C'est un médiateur biologique ubiquitaire dont les fonctions passent de fonctions physiologiques à des mécanismes pathophysiologiques. Dans les conditions normales de température et de pression, le monoxyde d'azote (NO) est un gaz incolore à l'état pur. NO est un radical constitué d'un atome d'azote et d'un atome d'oxygène liés par une double liaison (Figure1) (**Blibek, 2009**).

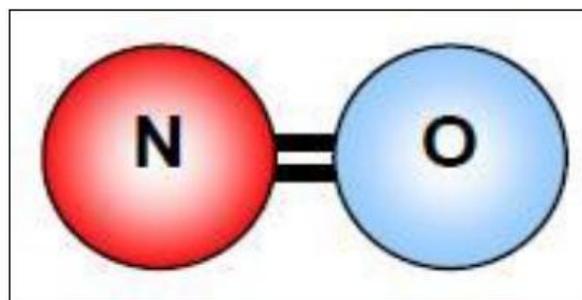


Figure 1 : structure de la molécule NO (Blibek, 2009).

2. Propriétés physico-chimiques du NO :

Le NO a une faible solubilité dans l'eau, 57 mg/L. Cependant, il est soluble dans les solvants apolaires ce qui lui permet de traverser les membranes cellulaires. Il diffuse rapidement à travers les tissus où il réagit avec de nombreuses espèces. Dans les milieux biologiques, le NO a une demi-vie très courte allant de 1 à 5 secondes. Sa faible solubilité et sa demi-vie courte expliquent son action locale (Figure 2) (Genestier, 2016).

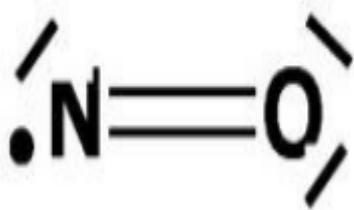


Figure 2 : Formule semi-développée du monoxyde d'azote. Formule brute : NO. Masse molaire : 30 g/mol. Le NO est constitué d'un atome d'azote (N) lié à un atome d'oxygène (O) par une double liaison. La nature radicalaire du NO est due à la présence d'un électron libre non apparié (Genestier, 2016).

3. Transport du NO :

Dans les conditions physiologiques, le transport du NO s'effectue par couplage à des protéines ou à des peptides porteurs de groupements thiols. Ce couplage permet de stabiliser et de former des molécules biologiquement actives sa faible solubilité lui permet de diffuser à travers les membranes cellulaires.

- ❖ **S-nitrosohémoglobine :** La S-nitrosohémoglobine est produite par S-nitrosation. Le groupement NO se fixe sur un groupement thiol de l'hémoglobine par une liaison covalente.
- ❖ **S-nitrosoglutathion :** Le S-nitrosoglutathion est un tripeptide composé d'un résidu L- γ -glutamyl, d'un résidu glycine et enfin d'un résidu L-cystéinyl où se trouve le groupement thiol. Il peut être obtenu par métal-nitrosation ou par addition directe du NO sur le glutathion réduit. Le tripeptide est dégradé dans le sang grâce à une

cascade de réactions. Il en découle une libération du NO. Le glutathion sert de réservoir endogène de NO.

- ❖ **S-nitrosoalbumine** : La S-nitrosoalbumine est formée par fixation du NO sur un résidu cystéine de l'albumine. La S-nitrosoalbumine est un S-nitrosothiol possédant une demi-vie de quelques heures et une activité vasodilatatrice. Ce complexe est le principal réservoir de NO au niveau du plasma (**Genestier, 2016**).

4. Origine exogène et endogène du NO :

La synthèse endogène du NO a lieu à partir d'un acide aminé grâce à une famille d'enzyme, le nitrique oxide synthase (NOS). Il peut également provenir de la réduction des ions nitrites déjà présents dans l'organisme.

Toutefois, dans l'environnement extérieur, l'air peut être un vecteur exogène du NO. En effet, il peut provenir des installations de chauffage, des centrales thermiques de production électrique, des usines d'incinération et des automobiles (**Genestier, 2016**).

5. NO synthase (NOS) :

5.1. Définition :

Les NOS permettent la production du NO et de citrulline à partir de la L-arginine, d'oxygène et de NADPH via un processus enzymatique impliquant un certain nombre de cofacteurs indispensables (tétrahydrobioptérine BH₄, flavine adénine dinucléotide FAD et flavine mononucléotide FMN). Ces enzymes possèdent un site catalytique de type réductase permettant le transfert d'électrons à partir du NADPH vers l'hème du site oxygénase. Ce dernier entraîne la transformation en tant que telle de l'arginine en citrulline et NO (**Besnier et al., 2015**).

5.2. Les isoformes de la NO synthase :

Identifiées pour la première fois en 1989, les trois isoformes de la NO synthase ont été clonés et purifiés entre 1991 et 1994 (Tableau1) (**Magali, 2013**).

Tableau 01 : Caractéristiques des trois types de NO-synthase humaine (Blibek, 2009).

	NOS-I	NOS-II	NOS-III
Type	Constitutive	Inductible	Constitutive
Localisation cellulaire	Cytosol	Cytosol	Cytosol, Membrane, Mitochondries
Masse Moléculaire en kDa	160	130	133
Localisation du gène humain	Chromosome 12, région 12q24	Chromosome 17, région 17 q11.2	Chromosome 7, région 7q35-36
Activation	Augmentation de la Ca^{2+} [Ca ²⁺]	Expression stimulée par cytokines et/ou endotoxines	Augmentation de la Ca^{2+} [Ca ²⁺]

- La NOS neuronale exprimée de manière constitutive et prédominante dans le cytoplasme des cellules du système nerveux central. Elle est activée par l'augmentation de la concentration calcique intracellulaire ;

- La NOS inductible présente dans le cytoplasme des macrophages (mais aussi, en moindre mesure, dans les hépatocytes, les neutrophiles, les cellules pancréatiques et les cellules endothéliales). Elle aussi est activée par l'augmentation de la concentration calcique intracellulaire, après action d'un stimulus inflammatoire (TNF α , IL-1, lipopolysaccharide bactérien...). Précisent que c'est la stimulation des lipopolysaccharides, des cytokines et d'autres agents qui induit l'expression de la NOS inductible des macrophages ;

- La NOS endothéliale, exprimée de façon constitutive et associée aux membranes plasmiques et à l'appareil de Golgi des cellules endothéliales, des plaquettes et des cellules mésangiales rénales. Elle est également activée par une augmentation de la concentration calcique intracellulaire (**Magali, 2013**).

5.3. Structure des NO synthase :

Les NOS sont associés en dimères et donc, formées de deux sous unités. Chaque sous unité, possède deux domaines : un domaine réductase à l'extrémité C-terminale et un domaine oxydase à l'extrémité N-terminale. Le domaine réductase possède deux flavines (FMN pour flavine mono nucléotide et FAD pour flavine adénine dinucléotide) et un site de fixation pour le NADPH. Le domaine oxydase possède un hème, un coenzyme particulier ; la tétrahydrobioptérine (BH4) et un site de fixation pour la L-arginine. Les deux domaines sont reliés par un pont protéique capable de fixer une molécule de calmoduline (Figure3) (Magali, 2013).

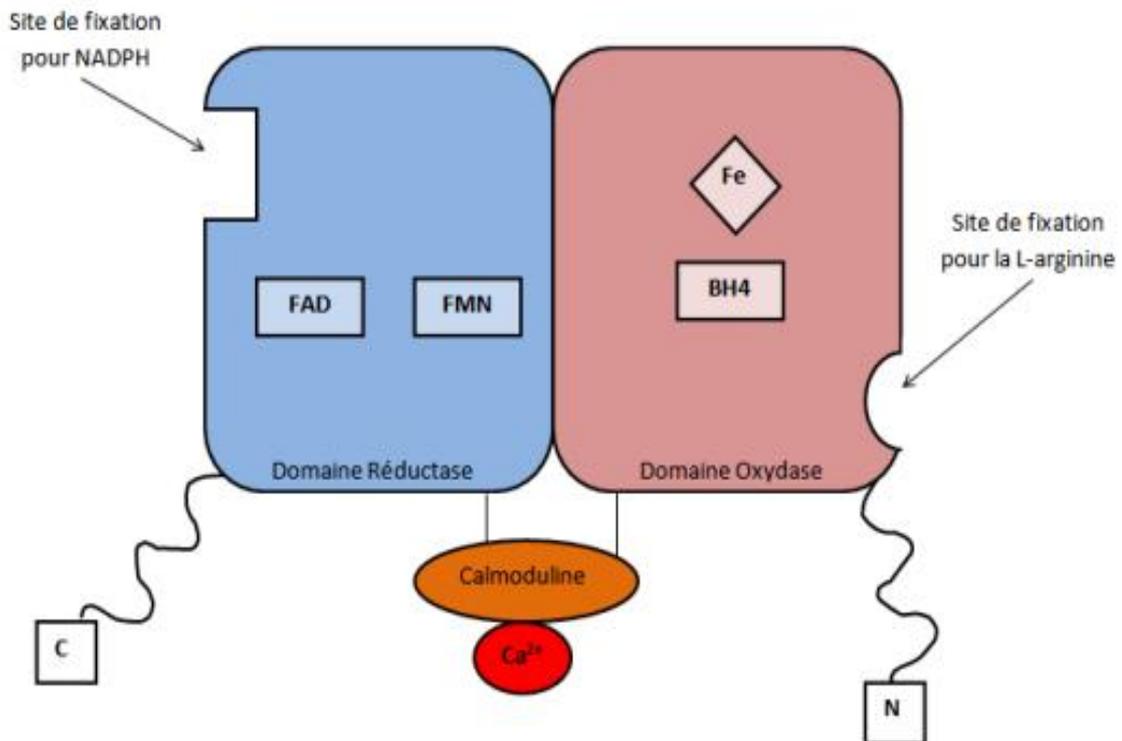


Figure 3 : Structure d'une sous-unité d'une NO synthase(Magali, 2013).

5.4. Types de régulation de NOS :

La NOS II est régulée par l'activation de la transcription de son gène par des associations de cytokines (INF γ , TNF α , IL-1) et/ou par des molécules d'origine bactérienne (lipopolysaccharide LPS), l'activité de la NOS inducible (NOS II) est indépendante des ions calcium, car elle est fortement couplée à la calmoduline.

L'induction est inhibée par les glucocorticoïdes, les TGF β et les interleukines IL-4, IL-10 ou l'IL-13. L'action de l'IL-6 et de l'IL-8 semblent rester sans effet.

Les NOS I et III ne sont actives qu'après couplage à la calmoduline, qui intervient comme interrupteur permettant le flux d'électrons au sein de l'enzyme, ce qui explique que l'activité de ces deux isoformes soit régulée par la concentration en Ca²⁺ qui assure le couplage à la calmoduline (**Blibek, 2009**).

5.5. Régulation de l'expression et de l'activité iNOS :

Considérant les multiples effets physiologiques et pathologiques liés à l'activité iNOS, il est d'une importance capitale de comprendre au mieux les mécanismes par lesquels les cellules régulent son expression. Si l'activité iNOS est régulée (comme les autres NOS) par la disponibilité en substrat et en cofacteurs, la régulation de son expression intervient en tout premier lieu et constitue le déterminant majeur de la synthèse de NO par cette enzyme. En effet, et contrairement aux NOS constitutives, la iNOS synthétise habituellement du NO en continu jusqu'à ce que l'enzyme soit dégradée. Ainsi, chez les mammifères, un nombre considérable de mécanismes contrôlant l'expression de la iNOS ont été mis en place (**Aimeric, 2017**).

6. Biosynthèse de NO :

La réaction de biosynthèse du NO et de la citrulline à partir de L-arginine et de l'oxygène est sous la dépendance d'une famille d'enzymes : les NO synthase (**Tadie, 2010**).

En présence de NADPH, d'oxygène, de tétrahydrobioptérine (BH₄), de FAD et de FMN, les NOS catalysent dans une première étape l'oxydation de L-arginine (acide aminé semi essentiel) en N.G-hydroxy-L-arginine. Cet intermédiaire peut être libéré du site actif de l'enzyme et exercé des effets autocrines ou paracrines. Dans une deuxième étape, la Nohydroxy-L-arginine est transformée en citrulline et NO (Figure4) (**Mamadou, 2004**).

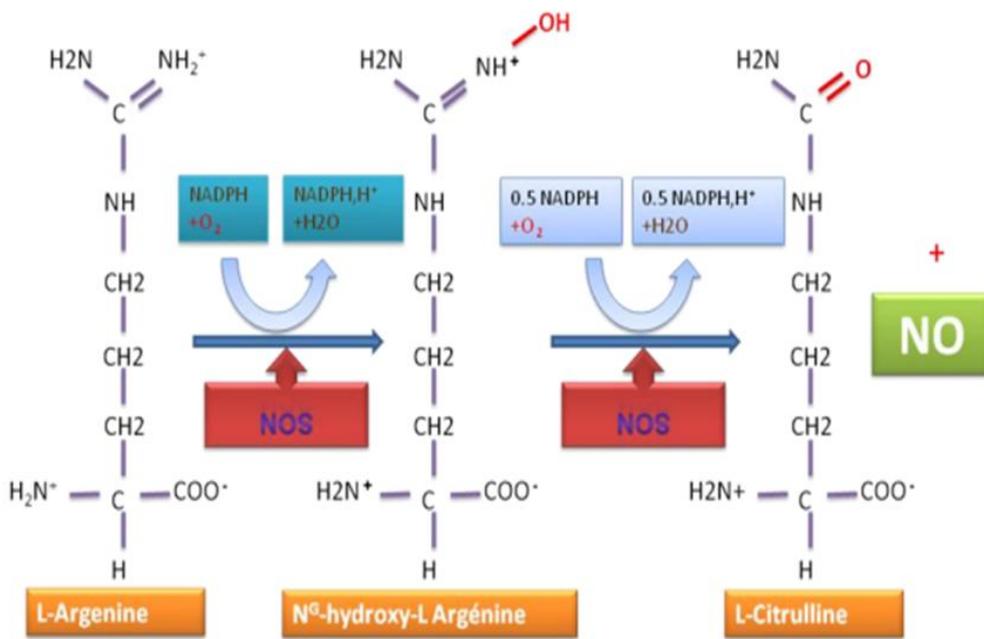


Figure 4 : Mécanisme de biosynthèse du NO (Blibek, 2009).

7. Formation de Nitrite/Nitrate à partir de NO :

La voie principale pour le métabolisme NO est l'oxydation progressive du nitrite et du nitrate. Quantitativement, le principal mécanisme pour le métabolisme NO chez l'homme in vivo est par réaction avec l'oxyhémoglobine. Dans le plasma ou d'autres fluides physiologiques ou tampons, le NO est oxydé presque complètement au nitrite, où il reste stable pendant plusieurs heures. Le NO et le nitrite sont rapidement oxydés en nitrate dans le sang entier (Nathan et Joseph., 2011).

La demi-vie du nitrite (NO₂) dans le sang humain est d'environ 110 s. Nitrate (NO₃) d'autre part a une demi-vie circulante de 5-8 h. Pendant des années, le nitrite et le nitrate ont été utilisés comme marqueurs de substitution de la production du NO dans les tissus biologiques. Dans des conditions de jeûne avec une faible prise de nitrite/nitrate, la formation enzymatique de NO par la NOS explique la majorité du nitrite, et le nitrite plasmatique reflète l'activité eNOS. Sur la base de ces études et d'autres, on croyait que le NO est gravement interrompu par l'oxydation au nitrite et au nitrate ; cependant, il est maintenant apprécié que le nitrite ou le nitrate peut récapituler la physiologie de NO (Nathan et Joseph., 2011).

Chapitre 2

NO et les cellules impliquées dans la réponse inflammatoire

Chapitre 2 : NO et les cellules impliquées dans la réponse inflammatoire :

I. La réaction inflammatoire :

La réaction inflammatoire est la réponse de l'organisme à une agression ayant pour origine des éléments physiques : chaleur, froid, rayonnements ionisants... ou des éléments solides exogènes ou endogènes : pathogènes microbiens, piqûre d'insecte, produits chimiques ou biologiques, composés issus de la réaction immunitaire (complexes immuns, anticorps cytotoxiques, cytokines...). Quelle que soit la nature du facteur déclenchant, les manifestations de la réponse inflammatoire seront les mêmes mais avec des intensités et des durées variables. La réaction inflammatoire peut être aiguë, voire suraiguë ; se manifeste immédiatement après l'intrusion des micro-organismes et dure jusqu'à 48 h environ. Elle est la réponse typique du système immunitaire inné. Pour exemple, on observe des états infectieux sévères lors de pancréatites aiguës, de brûlures... La réaction inflammatoire peut aussi être chronique et ainsi durer des semaines, voire des années (Figure 5) (Zerbato, 2010).

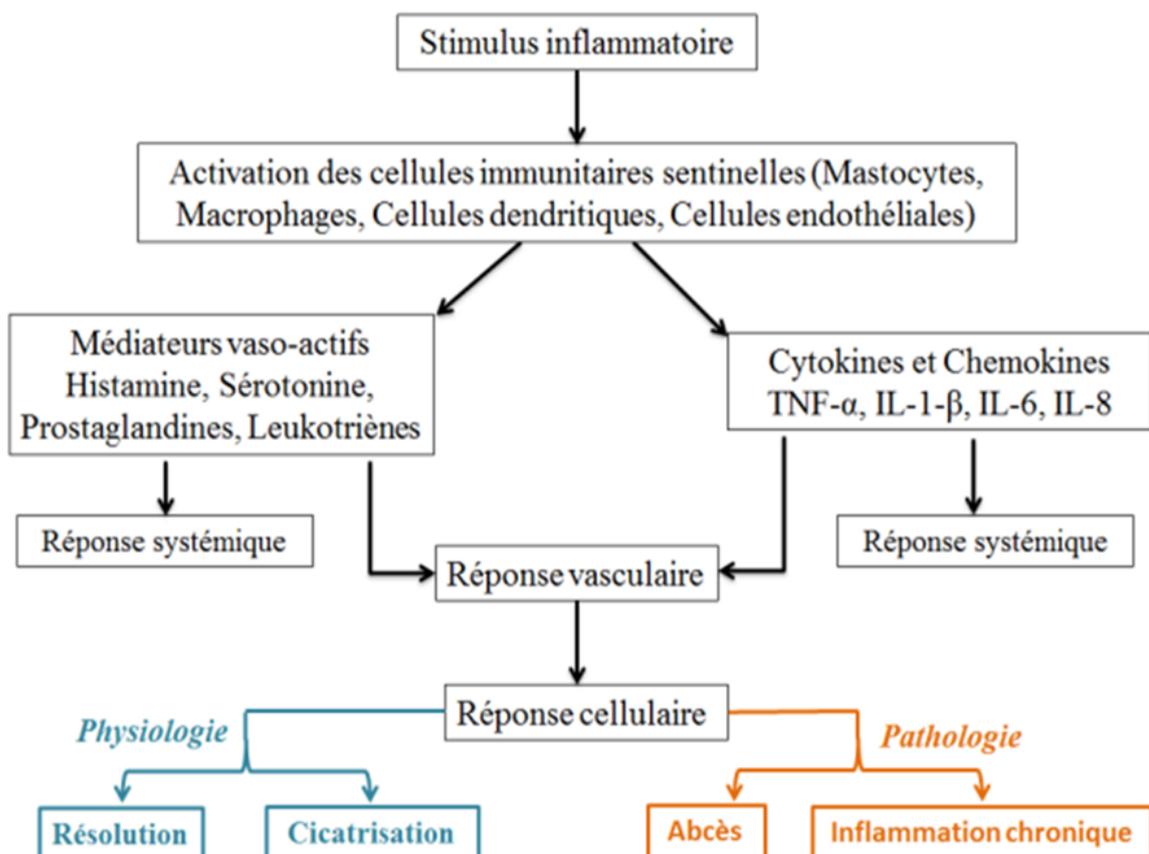


Figure 5 : Déroulement de l'inflammation (Victor et Lapalun., 2013).

II. Les cellules de l'inflammation :

Les cellules de l'inflammation comprennent à la fois des cellules sanguines circulantes : polynucléaires neutrophiles, monocytes, polynucléaires éosinophiles, basophiles, plaquettes et lymphocytes ; et des cellules résidentes tissulaires : macrophages, histiocytes, mastocytes, cellules endothéliales, fibroblastes (**Bony, 2010**).

1. Les cellules phagocytaires :

Les cellules phagocytaires comprennent les polynucléaires neutrophiles, les macrophages et les cellules dendritiques. Elles sont capables de reconnaître des micro-organismes et de les ingérer (**Bony, 2010**).

1.1. Les polynucléaires neutrophiles :

Représentent 60 à 70 % des leucocytes du sang agissent par l'intermédiaire de récepteurs de surface. Les récepteurs chimiotactiques vont générer la migration des polynucléaires neutrophiles vers le site de l'inflammation, la production de radicaux libres oxygénés et l'expression de molécules d'adhésion. Les récepteurs aux opsonines et aux molécules d'adhésion des cellules endothéliales interviennent également. Une fois activés, les polynucléaires neutrophiles synthétisent de nombreux produits agissant soit sur les substances phagocytées, soit dans le milieu extra-cellulaire (**Bony, 2010**).

1.2. Les macrophages :

Ont un rôle de surveillance immunitaire des tissus. Ils dérivent des monocytes circulants du sang. L'activation des macrophages entraîne la phagocytose qui constitue une composante majeure de la réponse immunitaire innée. L'activation des macrophages entraîne également la sécrétion de nombreux médiateurs inflammatoires. Les macrophages jouent également un rôle dans la réponse immunitaire acquise lorsqu'ils sont activés par des lymphocytes T ou par des anticorps produits par les cellules B (**Bony, 2010**).

1.3 Les cellules dendritiques :

Sont principalement impliquées dans l'immunité acquise et n'ont pas un rôle de destruction comme les macrophages. Dans les tissus périphériques, elles sont retrouvées sous leur forme immature et ont un rôle de phagocytose. Puis, au niveau des tissus lymphoïdes secondaires, les cellules dendritiques matures ont pour but la présentation de l'antigène aux lymphocytes T (**Bony, 2010**).

2. Les lymphocytes :

Les lymphocytes, cellules de l'immunité spécifique, humorale et cellulaire, sont de type B (CD20), T (CD3) ou NK (Natural Killer). La différenciation des lymphocytes B aboutit aux plasmocytes qui sont responsables de la sécrétion des anticorps. Les cellules NK ont une action cytotoxique par reconnaissance et destruction des cellules infectées et de certaines cellules tumorales.

Les lymphocytes T sont responsables de la sécrétion de cytokines, certains sont dits cytotoxiques (CD8), d'autres auxiliaires ou « helper » (CD4), encore subdivisés en Th1, Th2, Th17 et TREG. Les sous-populations de cellules Th ont des fonctions immunitaires différentes en fonction des cytokines produites et activent ou inhibent par conséquence différents types cellulaires (Figure 6) (Bony, 2010).

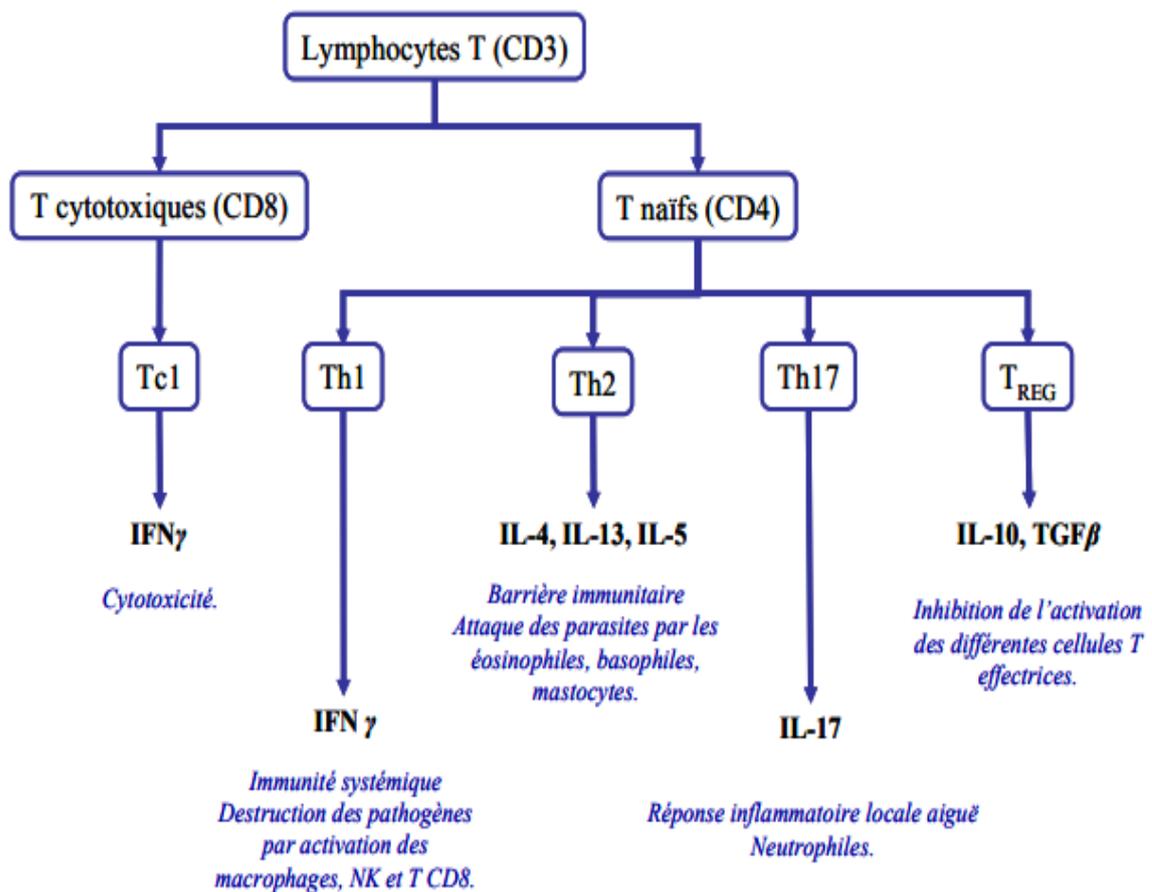


Figure 06 : Différenciation des lymphocytes T CD4 naïfs, principales sous-populations, cytokines majeures produites et fonctions immunitaires principales (Bony, 2010).

3. Les mastocytes, polynucléaires basophiles et éosinophiles :

Les basophiles, mastocytes et éosinophiles jouent un rôle de protection contre les parasites par libération des médiateurs inflammatoires contenus dans leurs granules.

Les mastocytes sont présents dans les tissus périphériques et les polynucléaires basophiles représentent 1 % des leucocytes du sang. Ils comportent des granulations qui contiennent plusieurs médiateurs chimiques impliqués dans l'inflammation et l'allergie tels que l'histamine, la sérotonine et les leucotriènes. Ils possèdent à leur surface des récepteurs de haute affinité pour le fragment constant des Immunoglobulines E (IgE) ce qui entraîne leur dégranulation et la libération des médiateurs de l'inflammation, en présence de leur antigène respectif.

Les éosinophiles sont des cellules circulantes qui représentent 3 % des leucocytes du sang. Elles possèdent des granules cytoplasmiques qui libèrent après activation des médiateurs inflammatoires cytotoxiques (**Bony, 2010**).

4. Les fibroblastes :

Les fibroblastes jouent à la fois un rôle dans la réaction inflammatoire par production d'enzymes de destruction de la matrice extracellulaire du tissu conjonctif, et un rôle dans la cicatrisation par production des différents constituants de cette même matrice (collagène, fibronectine (**Bony, 2010**)).

5. Les cellules endothéliales :

Les cellules endothéliales jouent un rôle important dans le tonus vasculaire, la vasomotricité, la jonction intercellulaire, l'équilibre fibrinof ormation/fibrinolyse, la migration des leucocytes et la réparation post-inflammatoire. L'activation des cellules endothéliales va entraîner le déclenchement des cascades des kinines et de la coagulation, en plus des modifications d'adhérence et de perméabilité qui permettent l'afflux de cellules et de protéines au niveau du site inflammatoire (**Bony, 2010**).

6. Les plaquettes :

Les plaquettes participent aux phénomènes de coagulation et de réparation (fibronectine, facteurs de croissance). La dégranulation des plaquettes par agrégation de leurs récepteurs libère des médiateurs pro-inflammatoires (**Bony, 2010**).

III. Les médiateurs de l'inflammation :

On retrouve un grand nombre de médiateurs chimiques à tous les stades de l'inflammation, dans le plasma sous forme de précurseurs qui acquièrent leurs propriétés après activation

(Bony, 2010).

1. Les amines vasoactives :

Les amines vasoactives (histamine, sérotonine) sont stockées sous la forme de granules cytoplasmiques dans les mastocytes, les polynucléaires basophiles, les plaquettes, et sont libérées lors de la phase vasculo-exsudative. Elles produisent une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité vasculaire responsable de la congestion active et de l'œdème inflammatoire **(Bony, 2010).**

2. Les médiateurs lipidiques :

Les médiateurs lipidiques sont des dérivés des phospholipides des membranes cellulaires, ils comprennent les métabolites de l'acide arachidonique et le facteur d'activation plaquettaire **(Bony, 2010).**

3. Les cytokines :

Les cytokines sont des peptides ou des glycoprotéines produites par de nombreuses cellules, parmi lesquelles les lymphocytes et les monocytes-macrophages. Parmi les cytokines, on retrouve les interleukines (IL), les interférons (IFN), les chimiokines, les facteurs de croissance hématopoïétiques, les tumor necrosis factor (TNF) et les facteurs de croissance transformants. Elles agissent, par l'intermédiaire de récepteurs membranaires sur la cellule qui les produit (effet autocrine), sur des cellules proches (effet paracrine), et sur des cellules situées à distance (effet endocrine).

Certaines cytokines sont pro-inflammatoires (IL-1, IL-6 et TNF α), d'autres sont anti-inflammatoires (IL-4, IL-10, et IL-13). Le type de la réaction inflammatoire est déterminé par les cytokines sécrétées par les lymphocytes T (Figure7) **(Bony, 2010).**

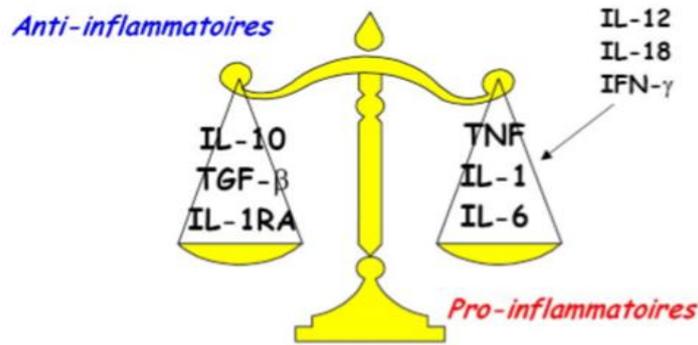


Figure 7 : les cytokines anti et pro-inflammatoire (Zerbato, 2010).

IV. NO et systèmes immunitaires :

L'expression de la NOS II est généralement le résultat de la réponse inflammatoire localisée ou diffuse, suite à une infection ou à une altération tissulaire. Le NO produit par les NOS II, joue par conséquent un rôle important dans la régulation, l'initiation et le développement des mécanismes de défense immunitaire de l'hôte. L'activation des macrophages par les cytokines ou des endotoxines provoque l'expression de la NOS II. Le NO produit peut alors agir sur les cellules tumorales, des bactéries ou des parasites intracellulaires par son action cytotatique et cytotoxique.

Le NO est impliqué dans d'autres fonctions du système immunitaire tel que : le chimiotactisme, l'agrégation et l'apoptose des polynucléaires neutrophiles, elles même productrices de NO (Blibek, 2009).

1. Source de NO dans le système immunitaire :

De nombreuses cellules du système immunitaire produisent du NO : cellules dendritiques, cellules NK, monocytes, macrophages, polynucléaires neutrophiles et éosinophiles 191. D'autres cellules impliquées dans les réactions immunes produisent elles aussi du NO : cellules endothéliales, cellules épithéliales, cellules musculaires lisses vasculaires ou bronchiques. De plus, plusieurs études ont retrouvé la NOS-2 et la NOS-3 dans les macrophages, les cellules dendritiques et des cellules dérivées des lignées B et T. Enfin, les trois isoformes de NOS ont été retrouvées dans les cellules B et T (Tadie, 2010).

2. Fonctions immunes du NO :

Les fonctions immunes du NO sont multiples et une description exhaustive n'est pas envisageable. Cependant, nous avons distingué trois grandes parties :

- NO et contrôle du processus infectieux.
- Régulation des facteurs de l'inflammation par le NO.
- NO et polynucléaire neutrophile (**Tadie, 2010**).

❖ **NO et contrôle du processus infectieux :**

L'exposition de cellules immunitaires à des composés bactériens comme le LPS, peptidoglycane, de l'ADN bactérien voire des bactéries intactes entraînent une augmentation de l'expression de la NOS-2 et une augmentation de la production de NO. Ainsi, la formation de NO par la NOS-2, illustrant le rôle central de cette molécule dans la défense contre les infections virales, bactériennes ou fongiques. Cependant, le rôle de la NOS-2 dans les réactions antimicrobiennes est moins bien établi. Les effets cytotoxiques du NO initialement supposés directement sur les agents infectieux portent aussi sur les tissus hôtes et entraînent des destructions tissulaires (**Tadie, 2010**).

❖ **Régulation des facteurs de l'inflammation par le NO :**

Voie NF- κ B : Cette voie joue un rôle essentiel dans la réponse inflammatoire/immunitaire cellulaire chez l'homme : prolifération des cellules B et T, expression et synthèse cytokinique et des molécules d'adhésion, régulation de l'apoptose. L'activation de NF- κ B est essentielle à l'expression de la NOS-2 et le NO peut réguler de différentes façons NF- κ B. En effet, le NO peut inhiber l'activité de NF- κ B (**Tadie, 2010**).

❖ **NO et polynucléaire neutrophile :**

La synthèse de NO par le polynucléaire neutrophile (PNN) et son action diffèrent en fonction de l'espèce étudiée. Chez l'homme, la production de NO par le PNN est plus controversée. Plusieurs études n'ont pas retrouvé de production de NO par le PNN. Cependant, les PNN isolés dans la cavité buccale et dans l'urine de patients présentant une infection urinaire exprimaient la NOS-2. De plus, les PNN ayant phagocyté des bactéries semblaient exprimer la NOS-2. Enfin, il semblerait que, même si les PNN activés ne peuvent pas synthétiser directement du NO, ils peuvent convertir la N-hydroxy-L-arginine en nitrite, nitrate et citrulline (**Tadie, 2010**).

V. Implication physiopathologique Au niveau du processus de l'inflammation :

Dans les situations physiologiques, ce sont la plupart du temps les NOS constitutives qui sont mises en jeu, avec production de NO, afin de maintenir l'homéostasie de l'organisme

(Figure 8) (Parent, 2012).

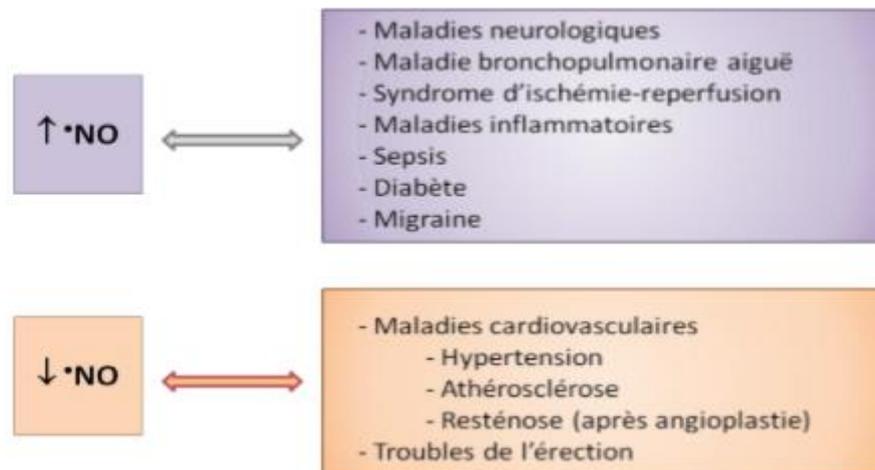


Figure 8 : Lien entre la rupture de l'homéostasie de l'oxyde nitrique et des situations pathologiques (Parent, 2012).

L'inflammation est la réponse non spécifique d'un organisme à un stimulus physique ou chimique nocif ou à une toxine microbienne et est impliquée dans de nombreuses pathologies comme les maladies inflammatoires intestinales. Elle a pour but d'éliminer la cause par inactivation et/ou destruction du pathogène, d'éliminer les substances irritantes et de préparer le terrain pour la reconstruction tissulaire. Elle est composée de plusieurs étapes dans chacune desquelles NO joue un rôle. L'oxyde nitrique aurait un effet complexe, à la fois pro- et anti-inflammatoire en fonction de sa concentration et de l'environnement cellulaire. En effet, NO à faibles concentrations inhibe l'expression des molécules d'adhésion, la synthèse des cytokines ainsi que l'adhésion et la migration des leucocytes. Au contraire, lors d'une réaction inflammatoire, NO produit en forte quantité a une action pro-inflammatoire et pro-apoptotique. Ceci pourrait permettre le nettoyage de la zone inflammée. Il module en effet la fonction des leucocytes, notamment en stimulant la mobilité du cytoplasme des macrophages ou en induisant leur apoptose, en modulant l'adhésion des neutrophiles et la synthèse des cytokines (Parent, 2012).

Chapitre 3

Ginkgo biloba

Chapitre: Ginkgo biloba

I. Définition

Ginkgo biloba (famille : Ginkgoaceae) a été utilisé en Chine et dans ses pays d'origine comme cuisine orientale, médecine traditionnelle et suppléments nutritionnels depuis plus de 5000 ans. Le Ginkgo Biloba n'a été introduit en Europe et en Amérique que depuis 1980 dans le cadre du répertoire à base de plantes. C'est parmi les toniques à base de plantes les plus vendus avec d'autres plantes médicinales (Figure 9) (**Salman et al., 2019**).

Le Ginkgo biloba (Ginkgoaceae) est considéré comme la seule espèce d'arbre survivante de l'ordre des Ginkgoales. Il existe depuis environ 280 millions d'années et est utilisé à des fins pharmaceutiques et médicales en Chine depuis plusieurs centaines d'années pour traiter diverses maladies. Cette utilisation, cependant, n'a été fondée sur aucun fond scientifique. Aujourd'hui, les extraits de Ginkgo biloba sont devenus l'un des médicaments à base de plantes (HMP) les plus courants et les mieux explorés (**Christian et al., 2013**).

Le Ginkgo biloba, un arbre à feuilles caduques, est la plus ancienne gymnosperme survivante. Il convient à la croissance dans la zone de mousson subtropicale et présente de bonnes conditions hydrothermales. Il est largement distribué dans de nombreux pays et régions du monde.

La branche de G. biloba est plate, les feuilles sont en éventail, la couronne de l'arbre est elliptique ordonnée et les feuilles peuvent devenir jaune doré en automne, ce qui fait de G. biloba une grande valeur ornementale. Et les feuilles et les fruits de G. biloba sont des produits d'exportation importants à haute valeur économique. Le fruit de G. biloba est riche en nutrition et est un fruit comestible avec une fonction de soins de santé (**Gao et al., 2020**).



Figure 9 :Ginkgo biloba L. (feuille). (Soussi, 2015).

II. Composés et effets biologiques

1. Composés

Le ginkgo biloba contient différents composants tels que les flavonoïdes, les trilactones terpéniques, les proanthocyanidines, les ginkgolicacids, les biflavones, les polyflavones et les ginkgotoxines. Les variations de la quantité des différents composants de la plante sont principalement liées aux périodes de récolte, au processus de séchage et au stockage. Cependant, le GBE normalisé (par exemple EGb 761 Et LI 1370) Représente le médicament utilisé et recommandé forme de Ginkgo biloba.

Le GBE standardisé comprend, entre autres, deux fractions principales avec des profils pharmacologiques spécifiques: les terpènes trilactones (TTL) (ginkgolide A (GKA), B (GKB), C (GKC), J (GKJ) et bilobalide (Bb) (voir Figure 10 a et 10 b) à une concentration de 5,4–6,6% (GKA, GKB et GKC ensemble 2,8–3,4% et Bb 2,6–3,2%), et les flavonoïdes, qui représentent 22–27% de l'extrait. La fraction flavonoïde est composé principalement de trois flavonols (voir Figure 10 c), qui sont combinés avec au moins un fragment sucre (voir Figure 10 d). Elle est incontestée aujourd'hui que les composés pharmacologiquement actifs du GBE sont le TTL et les flavonoïdes (**Christian et al., 2013**).

a. Trilactones terpéniques

La classe des composés TTL est très rare dans le règne végétal ; il n'a été trouvé jusqu'à présent que dans le Ginkgo biloba. Les structures détaillées du TTL sont représentées sur la Figure 10.

Il a été démontré que l'EGb 761 protège les mitochondries des dommages liés à l'âge et améliore la fonction mitochondriale et le métabolisme énergétique ; cette action est principalement due aux ginkgolides et Bb Figure 10 b (**Christian et al., 2013**).

b. Flavonoïdes

Les flavonols sont une grande famille de composés poly phénoliques présents dans le règne végétal et sont donc absorbés par les humaines et les animaux avec leur régule sanguin. Plus de 30 véritables flavonoïdes sont connus dans le Ginkgo biloba. La diversité des différents flavonoïdes ne résulte pas de la variabilité de la structure du 2-phénylchromane mais des différents glycosides trouvés dans Ginkgo biloba. La fraction sucre est constituée de glucose et / ou rhamnose dans divers mono-, di- ou tri-glycosides avec différents schémas de liaison (voir Figure 10 d).

Certaines données épidémiologiques suggèrent un effet préventif sur les maladies cardiovasculaires par un apport élevé en flavonoïdes

De plus, les glycosides flavonoïdes sont également considérés comme efficaces dans le traitement de l'insuffisance veineuse chronique. On pense que les effets protecteurs positifs sont dus aux effets antioxydants et piègeurs radicaux des flavonoïdes (**Christian et al., 2013**). Les flavonoïdes sont apparus jusqu'à présent comme de forts composés anti-inflammatoires in vitro et in vivo en raison de leur capacité pléiotropie à récupérer ROS et RNS pour réduire les activités des enzymes arachidoniques de métabolisation de l'acide (phospholipase A2, COX, LOX), pour déprimer l'expression et l'activité d'oxyde nitrique synthase NOS et pour moduler la production de cytokines pro-inflammatoires et l'expression des gènes pro-inflammatoires (**Izzi et al., 2012**).

c. acides ginkgoliques

Les acides ginkgoliques sont un mélange de composés d'acide n-alkyl-phénolique structurellement apparentés de Ginkgo biloba (voir figure 10 e). Ce sont de puissants allergènes capables de provoquer des réactions allergiques graves. En plus de leur propriété allergique, ils possèdent des propriétés cytotoxiques, mutagènes, cancérigènes et génotoxiques possibles. La quantité d'acides ginkgoliques dans le GBE doit être inférieure à 5 ppm en raison des effets secondaires décrits (**Christian et al., 2013**).

d. Ginkgotoxines

Les ginkgotoxines (voir Figure 10 f) sont tenues responsables des effets secondaires tels que les crises d'épileptiforme, l'inconscience et la paralysie des jambes. Il faut cependant garder à l'esprit que les ginkgotoxines se trouvent principalement dans les graines de Ginkgo biloba et non dans les feuilles utilisées pour la production de GBE. Les données publiées indiquent qu'aucun effet toxique n'est attendu après une application de GBE à la dose recommandée (**Christian et al., 2013**).

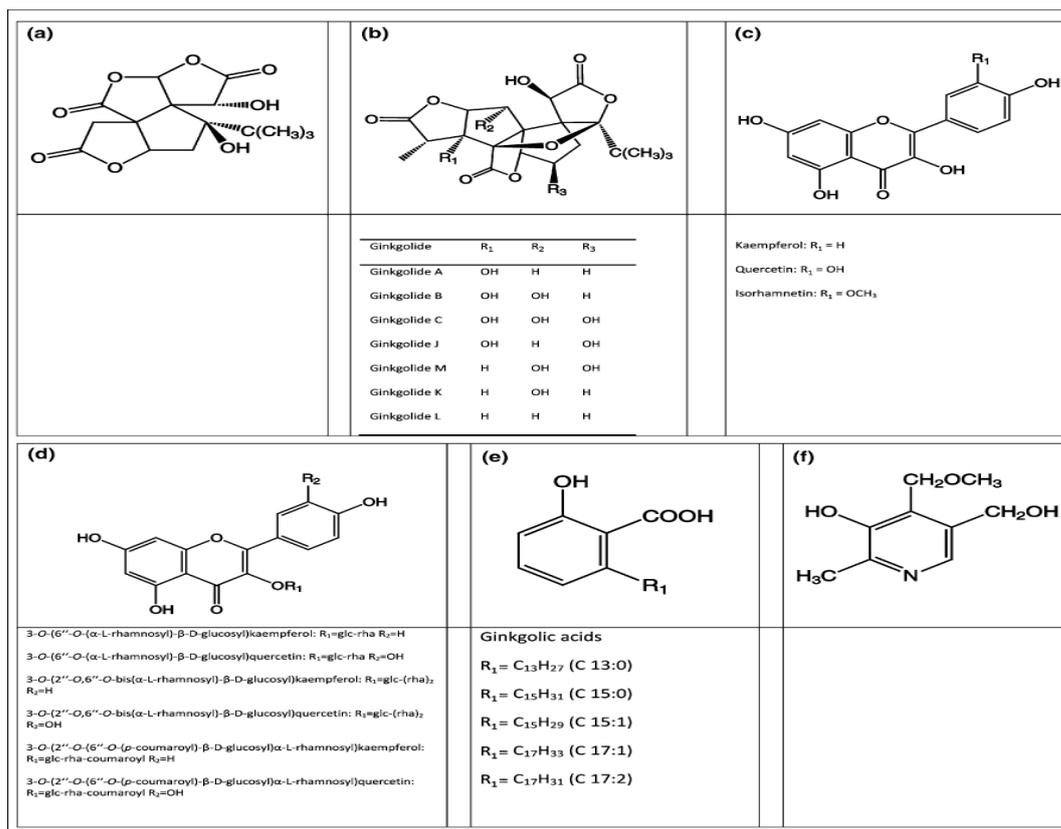


Figure 10 : structures chimiques des trilactonesterpène de *Ginkgo biloba* (a bilobalide, b ginkgolide), des flavonoïdes *Ginkgo biloba* (c, d), des acides ginkgoliques (e), de la ginkgotoxine (f)(Christian et al., 2013).

2. effets biologiques :

Ses composants flavonoïdes sont censés agir en protégeant contre la fragilité capillaire, comme antioxydants, en tant qu'agents anti-inflammatoires, en réduisant l'œdème causé par des lésions tissulaires. Leurs effets biologiques comprennent les suivants (Chan et al., 2007).

2.1 Amélioration du flux sanguin

Il est allégué que l'extrait de *Ginkgo biloba* peut améliorer le flux sanguin en augmentant la déformabilité des globules rouges et en diminuant l'agrégation des globules rouges, et ainsi, améliore la fluidité des globules rouges et diminue la viscosité sanguine entière. Les effets vasculaires de l'extrait de *Ginkgo biloba* peuvent également être médiés par le facteur relaxant dérivé de l'endothélium (EDRF), présumé être de l'oxyde nitrique (NO), qui détend les cellules musculaires des vaisseaux sanguins. L'oxyde nitrique a été montré pour inhiber la libération des prostacyclines des cellules d'endothéliums bovins cultivées. En récupérant l'oxyde nitrique, l'extrait de *Ginkgo biloba* pourrait potentialiser les effets des

prostacyclines. Cependant, un excès de l'oxyde nitrique de radical libre est un facteur délétère et peut entraîner divers désordres de SNC, l'extrait de Ginkgo biloba (EGb 761) protège et sauve des cellules hippocampiques contre la toxicité nitrique induite par l'oxyde (**Chan et al., 2007**).

2.2 Antagonisme et effet anti-inflammatoire

Il a été prétendu que l'administration de l'extrait de ginkgo biloba a entraîné des diminutions de l'agrégation plaquettaire, la réaction allergique, la réponse inflammatoire générale, la décharge radicale d'oxygène et d'autres fonctions pro inflammatoires des macrophages. Les effets semblent être attribués aux actions combinées des ginkgolides et des flavonoïdes. Une augmentation du facteur d'agrégation des plaquettes se produit dans l'asthme, le rejet de greffe et dans les désordres immunitaires qui induisent le choc toxique. Ginkgolides ont été montrés pour posséder l'activité antagoniste très spécifique et puissante contre le facteur d'agrégation des plaquettes, qui peut entraîner une augmentation du flux sanguin périphérique. Les flavonoïdes dans l'extrait de ginkgo biloba inhiberaient la cyclooxygénase et la lipo-oxygénase qui sont impliquées dans le métabolisme arachidonique d'acide. L'activité de cyclooxygénase produit la thromboxane A₂, un agrégateur de plaquettes puissant et lipo-oxygénase est concernée par la formation de leucotriènes, les substances associées à l'inflammation. L'augmentation du flux sanguin et l'effet anti-inflammatoire de l'extrait de Ginkgo biloba peut être liée à l'inhibition de la cyclo-oxygénase et l'activité lipo-oxygénase (**Chan et al., 2007**).

2.3. Antioxydant (Radical Scavenging) et son bénéfique

Effets sur la santé

Les glycosides flavanol et les proanthocyanidines ont une activité de charognards radicaux libres, et peuvent donc jouer un rôle protecteur dans la prévention des processus athérosclérotiques et l'amélioration des conditions résultant du stress oxydatif. Le superoxyde, l'hydroxyle, et les radicaux pyroxyles et l'oxyde nitrique peuvent affecter la transduction de signal. Attribuant à ses propriétés antioxydantes et free-radical-scavenging, l'extrait de Ginkgo biloba peut affecter les systèmes neurosensoriels (**Chan et al., 2007**).

Activité antitumorale

La croissance des tumeurs a été retardée et il n'y avait aucune amélioration des dommages de rayonnement dans le tissu normal. La radiosensibilité des cellules de tumeurs a été augmentée probablement en améliorant le flux sanguin de tumeur et la diminution de la fraction hypoxique dans la tumeur. L'activité anticarcinogénique des flavonoïdes a également été rapportée.

EGb présente un effet chimiopréventif bénéfique contre la carcinogenèse gastrique induite par BP chez la souris (**Chan et al., 2007**).

2.4. Effets protecteurs contre les drogues, les produits chimiques et les métaux lourds

Toxicité induite

Le potentiel de l'extrait de ginkgo biloba EGb 761 sur la mort cellulaire produite par les peptides bêta-amyloïdes (Abeta) et le stress oxydatif, et son rôle délétère dans les troubles neurologiques liés à l'âge. Ils ont constaté que EGb 761 protégeait les cellules hippocampiques contre les effets toxiques induits par les peptides Abeta, et ont suggéré que cet effet se faisait par les propriétés antioxydantes. De ses constituants flavonoïdes. Tandis que les cellules hippocampiques de rat exposé à l'oxyde nitrique (NO) donneur de sodium nitroprusside (SNP) ont eu comme conséquence la cytotoxicité et l'accumulation d'espèces réactives d'oxygène (ROS), L'EGb 761 a inhibé ces événements par leurs activités antioxydant et bloquant l'activité stimulée par le SNP de la kinase de protéine C (PKC). EGb 761 inhibé l'agrégation bêta amyloïde in vitro et atténue ROS dans le ver rond *Caenorhabditis elegans* (**Chan et al., 2007**).

Activité antimicrobienne

Bilobalide a des propriétés insecticides et peut être impliqué dans la protection contre les insectes herbivores ou les mammifères (**Chan et al., 2007**).

III. Pharmacocinétiques

Les caractéristiques pharmacocinétiques du TTL et des flavonoïdes sont connues même si le nombre d'analyses pharmacocinétiques du TTL et des flavonoïdes du Ginkgo biloba est faible.

Ont démontré que GKA, GKB et Bb ainsi que les flavonoïdes atteignent le SNC et le cerveau, le tissu cible, après application orale d'EGb 761 En concentrations adéquates (**Christian., 2013**).

IV. Pharmacologie

Les riches vitamines et le carotène du fruit jouent un certain rôle dans le retard du vieillissement, la promotion du métabolisme de notre peau et l'effet blanchissant. Entre-temps, le fruit de G. biloba a également une très bonne valeur officinale et est une matière première médicale importante qui prévient et guérit l'hypertension et les maladies cardiaques. Les personnes âgées mangent souvent des fruits de G. biloba peuvent mieux prévenir les maladies cardiovasculaires. Le fruit de G. biloba a également pour fonction de réguler les organes respiratoires et ses composants hydrosolubles dans la peau externe des graines ont de bons effets antitussifs et expectorants. En raison de la présence d'acide G. biloba, il a un effet inhibiteur plus fort contre les bacilles de la tuberculose et les champignons de la peau qui peuvent être utilisés pour traiter la tuberculose et les maladies de la peau. L'extrait d'exocarpe de G. Biloba ont un impact très important sur la lutte contre les maladies des plantes. Le fruit de G. biloba a également pour effet d'abaisser la graisse sanguine, de lutter contre les tumeurs et d'inhiber l'activité de croissance des cellules cancéreuses (**Gao et al., 2020**).

Les GBE sont largement utilisés pour améliorer les symptômes du déclin cognitif lié à l'âge dans des conditions allant de troubles de la mémoire légers et de l'insuffisance cérébrale à la démence, y compris la maladie d'Alzheimer. Le GBE est par conséquent utilisé dans la phytothérapie moderne comme une alternative à base de plantes aux médicaments anti-démence classiques. En outre, de récentes études pharmacologiques in vitro conduisent à l'hypothèse que différents ingrédients de Ginkgo biloba[le bilobalide (Bb)] peut protéger contre la dégénérescence neuronale résultant d'événements ischémiques (**Christian et al., 2013**).

Cliniquement, les extraits de Ginkgo biloba sont utilisés dans le traitement des maladies vasculaires et avasculaires, y compris la maladie d'Alzheimer, les maladies cérébrovasculaires comme les accidents vasculaires cérébraux, les maladies vasculaires périphériques comme la claudication intermittente, la migraine, la dysfonction érectile, les dysfonctionnements sexuels induits par les antidépresseurs. Il est très populaire chez la femme pour améliorer les symptômes associés à la ménopause ou au syndrome prémenstruel. Il possède une forte propriété anti-âge (**Salman et al., 2019**).

Probablement l'inhibition de l'expression de l'iNOS par l'extrait de Ginkgo biloba de « manière dépendante de la dose » explique la congestion rénale chez les fœtus. L'oxyde nitrique (NO), synthétisé par la NO synthase endothéliale, joue un rôle essentiel dans la

stabilisation de la microcirculation rénale et protège le rein des lésions oxydatives (**Salman et al., 2019**).

Il a été démontré que l'extrait de Ginkgo biloba possède des propriétés polyvalentes, notamment l'anti-oxydation, l'anti-apoptose et l'anti-inflammatoire qui seraient les principaux mécanismes de la neuroprotection (**Xu et al., 2015**)

V. Toxicité

La toxicité peut être attribuée à ses constituants qui comprennent les acides ginkgoliques, les bilobalides, les biflavones et la quercétine Le ginkgo biloba est excrété par les reins (21%) ou expiré par les poumons (16%) (**Salman et al., 2019**).

VI. Extraits commerciaux de ginkgo biloba

EGB 761 est un extrait standardisé et concentré de feuilles de ginkgo produite par la société pharmacologique. La synthèse de ce produit standardisé EGB 761 nécessite un processus d'extraction en 27 étapes.

EGB 761, également appelé Tebonin, Tanakan, Rokan, ou Kaveri, est commercialisé en Europe comme un médicament pour les maladies cardiovasculaires (**Chan et al., 2007**).

Chapitre 4

Ginkgo biloba et le traitement des maladies inflammatoires

Chapitre 4 : Ginkgo biloba et le traitement des maladies inflammatoires

I. les maladies inflammatoires :

L'inflammation est une réponse importante de défense d'hôte aux dommages, à l'ischémie tissulaire, aux réponses immunitaires automatiques ou aux agents infectieux. La fonction de l'inflammation peut être aigue ou chronique. L'inflammation aigue est bénéfique car il est une défense primaire contre l'infection et un grand stimulus dans le processus de guérison. Il commence rapidement, et devient sévère. Les signes et symptômes pourraient durer quelques jours, mais dans certains cas, peuvent persister pendant quelques semaines, par exemple certaines affections de la maladie qui peuvent entraîner une inflammation aigue comprennent une bronchite aigue, un mal de gorge du rhume ou de la grippe, une appendicite aigue, une dermatite aigue, une méningite aigue et une sinusite aigue. L'inflammation aigue est causée par des dommages à n'importe quel tissu ou par des bactéries nocives, et les principales cellules impliquées dans l'inflammation aigue sont les neutrophiles, les basophiles, les éosinophiles et les cellules mononucléaires (macrophages, monocytes) En revanche, l'inflammation chronique n'est pas favorable au système, car elle représente une réaction inflammatoire qui se poursuit pendant un temps prolongé jusqu'à plusieurs mois ou années. L'inflammation chronique peut se produire après l'attaque de l'inflammation aigue qui agit d'une manière auto-perpétuant, comme ce cycle continue sans relâche. L'inflammation continue, à son tour, est la genèse de la maladie chronique et a un effet significatif sur le développement de l'athérosclérose, le diabète sucré, la colite ulcéreuse, la maladie de Crohn, le cancer, les troubles du SNC comme la dépression et la maladie de Parkinson et les troubles cognitifs. L'inflammation chronique peut également être causée par des agents pathogènes non dégradables (p. ex. virus) et des réactions excessives du système immunitaire. Les principaux médiateurs dans l'inflammation chronique sont les espèces réactives d'oxygène, les enzymes hydrolytiques, les cytokines, l'INF- et d'autres facteurs de croissance (Laveti et al., 2013).

II. Thérapie naturelle :

Il existe un certain nombre de composés photochimiques trouvés dans le royaume végétal, avec une gamme tout aussi vaste d'activités. Certains des photochimiques trouvés dans certaines plantes sont rapportés pour réduire l'inflammation, et sont censés fonctionner en bloquant les voies de cyclooxygénase et de lipoxygénase et peut-être par d'autres mécanismes aussi bien. Un large éventail de bioflavonoïdes, qui sont capables de réduire l'inflammation en bloquant la cyclooxygénase et les voies de lipoxygénase, se trouve dans les agrumes, le thé et le vin. Plusieurs études in vivo ont trouvé des flavonoïdes pour agir comme des substances favorisant la santé avec des propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes, par exemple, on a observé que la quercétine pour supprimer l'arthrite induite expérimentalement chez les rats.

Des études récentes ont montré que les composés efficaces clés sont les isoflavones et les flavonols avec les composés flavonoïdes qui sont capables d'inhiber la production de NO induite par LPS et l'expression iNOS (**Laveti et al., 2013**).

III. traitement des maladies inflammatoires par Ginkgo biloba :

1. la maladie parodontale inflammatoire chronique :

1.1. Définition :

La parodontite est une maladie parodontale chronique dans la cavité buccale humaine qui est causée par l'infection bactérienne. Les bactéries parodontales, telles que *Porphyromonas gingivalis*, sécrètent un certain nombre de facteurs de virulence comme le lipopolysaccharide (LPS), attaquent le tissu enveloppant les dents, et finalement conduisent à la perte de dents. Ces bactéries pathogènes orales ou cytokines pro-inflammatoires sécrétées et médiateurs circulent dans tout le corps dans la circulation sanguine (**Ryu et al., 2012**).

La perturbation résultante de l'endothélium vasculaire et des tissus d'organes éloignés sous-tend l'association de la maladie parodontale chronique comme l'un des principaux facteurs de risque pour les inflammations systémiques, les maladies cardio-vasculaires (MCV), le diabète, l'athérosclérose.

L'extrait de Ginkgo biloba a été rapporté pour avoir des avantages thérapeutiques dans ces conditions en vertu de la circulation sanguine améliorée, le développement

restreint de caillot, et la protection cellulaire contre le stress oxydatif (**Ryu et al., 2012**).

1.2. Les médiateurs inflammatoires :

HO-1 est une enzyme catabolique limitant les taux de l'hème. La présence de composés stimuloires tels que son substrat, son hème, ses espèces réactives d'oxygène (ROS), le LPS, les cytokines et l'oxyde nitrique (NO) entraîne une dégradation de l'hème en monoxyde de carbone (CO), le fer et la biliverdine. Ce dernier est rapidement réduit à la bilirubine. HO-1 et ses sous-produits ont des propriétés anti-inflammatoires. L'induction de HO-1 entraîne une réponse de survie adaptative qui protège les cellules contre le stress oxydatif et réduit l'expression de composés pro-inflammatoires.

Le gène ho-1 a une séquence ARE dans sa région de promoteur et son expression est réglementée par Nrf-2 (**Ryu et al., 2012**).

1.3. Traitement de parodontite par GB :

a. l'activité anti-inflammatoire d'EGB contre des réactions inflammatoires provoquées dans les cellules RAW 264.7 par P. gingivalis LPS :

P. gingivalis est une bactérie orale gram-négative bien connue, qui a LPS sur sa surface. Il stimule les macrophages, induit les réponses immunitaires et produit des médiateurs inflammatoires. LPSa une forme unique de lipide A,

LPS de *gingivalis* a stimulé l'induction de la voie de signalisation MAPK dans les cellules RAW 264.7, qui a précédé la translocation nucléaire des TF, NF-B et AP-1, impliquées dans l'expression des molécules pro-inflammatoires, et la sécrétion du nitrite et des cytokines pro-inflammatoires TNF-1, et IL-6. Cependant, EGB a été constamment suppressif, diminuant la quantité de ces médiateurs pro-inflammatoires.

L'effets inhibiteurs de l'EGB sur la production de médiateurs pro-inflammatoires dans *Porphyromonas gingivalis* (Figure11), l'inhibition de la phosphorylation des MAPK et la réduction de la translocation et de la transactivité nucléaires de TF. Les résultats ont démontré que les composants actifs solubles des feuilles de *G. biloba* ont l'activité de contrôle contre plusieurs réponses inflammatoires produites par LPS de *P. gingivalis* dans les cellules RAW264.7 (**Ryu et al., 2012**).

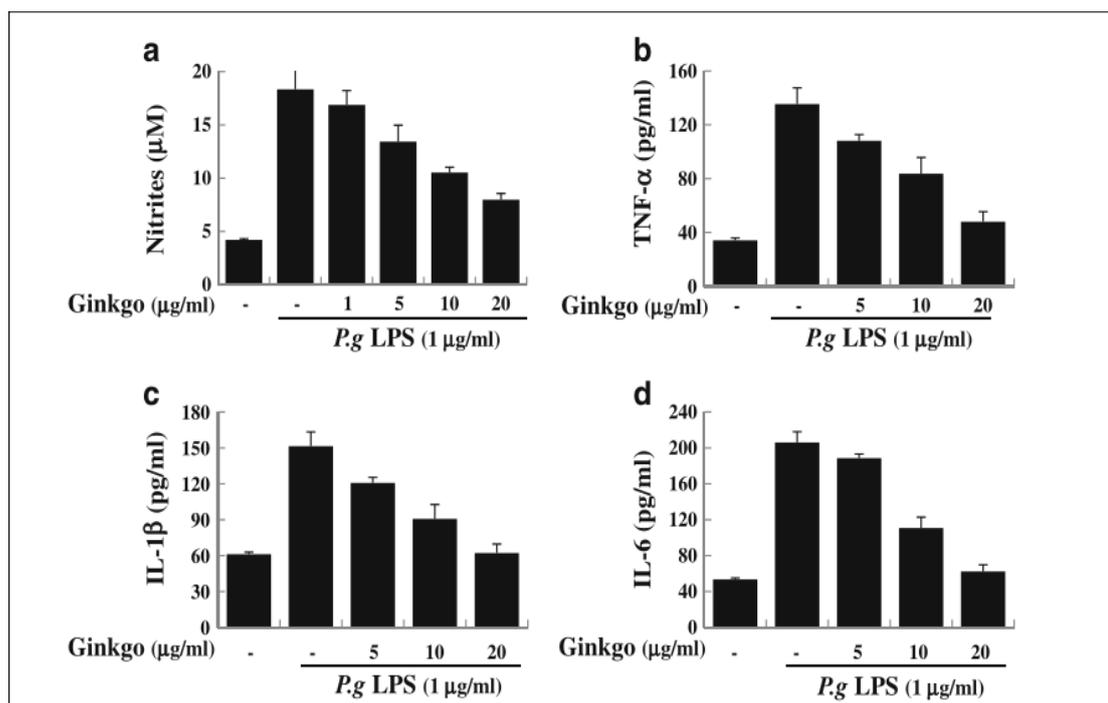


Figure 11 : Effets inhibiteurs de l'EGB sur la production de médiateurs pro-inflammatoires dans *Porphyromonas gingivalis* LPS-stimulés cellules RAW 264.7 (Ryu et al., 2012).

Les cellules ont été incubées avec EGB à diverses doses pendant 1 h et traitées avec *P. gingivalis* LPS (1 g/ml) pendant 24 h. Le volume sécrété de nitrite (a), de TNF (b), d'IL-1 β (c) et d'IL-6 (d) a été mesuré dans la culture collectée super par la méthode Griess et l'ELISA, respectivement. Chaque barre représente la moyenne de se de trois expériences indépendantes dans chaque groupe. 0,05 P contre le groupe traité par LPS (Ryu et al., 2012).

L'administration de lipopolysaccharide bactérienne (LPS) aux animaux de laboratoire et aux macrophages RAW 264,7 cultivés est connue pour induire la production d'oxyde nitrique (NO) à partir de d'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS). Ici, nous montrons que le prétraitement avec l'extrait de *Ginkgo biloba* (EGB 761 le composant flavonoïde, la quercétine supprime la production in vivo de NO. Les deux substances ont récupéré le NO généré par la décomposition de l'nitroprusside de

sodium. L'analyse occidentale a montré qu'EGb 761 et quercétine inhibaient les niveaux induits par le LPS de la protéine iNOS. Et démontré qu'EGb 761 et quercétine ont diminué les niveaux d'ARNm de la iNOS induits par LPS sans altérer la demi-vie. L'activation des kinases de protéines activées par le mitogène (MAPK) et les facteurs de transcription sensibles au redox, le facteur nucléaire B (NF-B) et la protéine activateur 1 (AP-1) sont des événements clés dans les voies de transduction du signal qui pédiment l'induction iNOS. Dans nos études, EGb 761 et quercétine ont inhibé l'activité p38 MAPK, qui est nécessaire pour l'expression d'iNOS dans les macrophages RAW 264.7 stimulés par le LPS. Cependant, les différences dans la réponse de NF-B, AP-1, et Jun N-terminal kinase/stress activé kinase protéine (JNK / SAPK) et ses substrats en aval à EGb 761 et quercétine suggèrent que la quercétine n'est pas le seul composant responsable de l'inhibition in vivo de l'activation iNOS induite par LPS (**Wadsworth et Dennis., 2001**).

Le traitement de GBE in vivo a diminué les concentrations de protéines et de NO dans l'humour aqueux des rats EIU. L'effet anti-inflammatoire de 1 mg GBE était aussi fort que celui de la même dose de prednisolone. Il a également réduit de manière significative la concentration de la prostaglandine E2 (PGE2), le facteur de nécrose de tumeur- α (TNF- α) et l'oxyde nitrique NO dans le milieu des cellules RAW 264.7 par rapport à celle du groupe LPS in vitro. L'expression de la protéine iNOS dans les 1000 gml21 des cellules traitées GBE a diminué de façon significative. Les résultats actuels indiquent que GBE supprime l'inflammation de l'EIU en bloquant l'expression de la protéine iNOS et son effet anti-inflammatoire sur l'œil est comparable à l'effet de la prednisolone utilisée à des doses similaires (**Ilieva et al., 2004**).

EGb 761 a inhibé la production de nitrite et de nitrate, prise comme index pour NO, d'une manière dépendante de la concentration. L'IC50 pour l'inhibition de la production de nitrite par les macrophages activés était d'environ 100 μ g/ml de EGb 761. L'inductible (iNOS) des préparations cytosoliques des cellules RAW 264.7 activées a été inhibée par le traitement avec EGb 761. En outre, l'analyse inverse de la réaction en chaîne de transcription-polymérase (RT-PCR) a révélé que l'expression de l'ARNm d'iNOS dans les macrophages activés a été supprimée par des concentrations élevées d'EGb 761. Toutefois, l'activité de liaison d'ADN NF-KB induite par l'activation avec LPS/IFN- γ n'a pas été inhibée par EGb 761. Ces résultats indiquent

que non seulement EGb 761 agit directement comme un charognard NO, mais aussi qu'il inhibe la production de NO dans les macrophages activés par LPS/IFN- γ par l'inhibition concomitante de l'induction de l'ARNm d'iNOS et l'activité enzymatique de l'iNOS. Ainsi, EGb 761 peut agir comme un inhibiteur puissant de la production de NO dans des conditions inflammatoires tissu-dommageables (**Kobuchi et al., 1997**).

b. capacité inductive d'EGB sur les expressions de protéine et d'ARNm de HO-1 par la régulation de Nrf-2 :

Plusieurs rapports ont décrit que les extraits standard de G. biloba induisent l'expression HO-1 pour protéger des cellules. Ont montré que l'expression HO-1 par EGB761 diminue l'activation des macrophages de souris associés au cancer du côlon in vitro, ont suggéré que l'expression HO-1 négociée par EGB a des effets hépato protecteurs et des effets de suppression contre les dommages oxydatifs induits par l'éthanol. Ont rapporté que l'expression et la production ho-1 induites par EGB761 de ses sous-produits ont des effets antioxydants dans les cellules corticales primaires de souris impliquées dans l'ischémie et la maladie d'Alzheimer. Les G biloba peuvent avoir des effets inhibiteurs sur les dommages résultant des contraintes oxydatives.

L'expression protéique de HO-1 a été réprimée dans les cellules inhibitrices traitées. EGB a affecté les niveaux d'expression HO-1 ARNm et protéine ainsi que son activité (**Ryu et al., 2012**).

c. Un lien entre les effets inhibiteurs sur le statut inflammatoire et les effets inductibles sur l'expression HO-1 d'EGB :

Les résultats étayent la conclusion selon laquelle EGB induit l'expression HO-1 en régulant la transcription Nrf-2-négoiée et en présentant des effets anti-inflammatoires (**Ryu et al., 2012**).

2. La maladie inflammatoire de l'intestin (IBD) :

2.1. Définition :

La colite ulcéreuse (UC) et la maladie de Crohn (CD) sont les deux principales catégories de maladies inflammatoires de l'intestin (IBD). Bien que l'étiologie et la pathophysiologie restent floues, le dysfonctionnement immunitaire joue un rôle crucial dans le développement de l'UC. Les médiateurs inflammatoires, y compris les espèces réactives d'oxygène (ROS) et les cytokines, contribuent à la cascade inflammatoire en modulant le système immunitaire de l'IBD. Cytokines pro inflammatoires tels que le facteur-alpha de nécrose tumorale (TNF- α), l'interleukine-1 (IL-1) et l'interleukine-6 (IL-6) dans la muqueuse du côlon a considérablement augmenté et les cytokines anti-inflammatoires telles que l'interleukin4 (IL-4) et l'interleukine-10 (IL-10) ont diminué de manière significative dans UC (Zhou et al., 2006).

La maladie inflammatoire de l'intestin (IBD) est une affection inflammatoire chronique qui est souvent débilitante et associée à un risque accru de cancer du côlon. Le risque de cancer du côlon augmente avec la longueur et la gravité de la maladie. Le traitement conventionnel de la colite peut réduire les périodes de maladie active et aider à maintenir la rémission, mais ces traitements apportent souvent des résultats marginaux, les patients deviennent réfractaires et il y a des effets secondaires. Les patients atteints de colite, traitements non conventionnels dans l'espoir d'atténuer les symptômes de la maladie active (Kotakadi et al., 2008).

2.2. Traitement de la maladie inflammatoire de l'intestin (IBD) par GB :

Bien qu'il y ait eu des percées dans le traitement des IBD, ces stratégies de traitement apportent souvent des effets secondaires avec des résultats marginaux et ont une efficacité spécifique à la population. Beaucoup de patients se tournent donc vers un traitement alternatif. La fréquence des patients atteints d'IBD prenant EGb 761 est inconnue. Dans une petite étude pilote, 33% des patients présentant la colite ulcéreuse traitées avec un extrait de ginkgo ont atteint la remise de la maladie. Bien qu'il n'y ait qu'une seule étude des effets des extraits de ginkgo dans la colite humaine, plusieurs études plus récentes ont trouvé une protection de G. biloba ou EGb 761 contre la colite de rat induite par l'acide acétique ou 2,4,6-trinitrobenzene acide sulfonique. Bien que G. biloba est considéré comme sûr, atteignant la toxicité

seulement à des centaines de fois la dose quotidienne recommandée, il est également utilisé des niveaux d'EGB 761 compatible avec les doses actuellement recommandées à l'homme comme suppléments (120–240 mg par jour). Il est constaté que les doses (75 p.p.m) équivalentes à 58 mg par jour chez l'homme ont réussi à prévenir et, plus important encore, ont causé une rémission de la colite murine établie (**Kotakadi et al., 2008**).

a. L'activité anti-inflammatoire d'EGB contre des réactions inflammatoires d'IBD :

Pathologiquement, EGb 761 a réduit l'inflammation et l'ulcération associée au dextran sulfate de sodium (DSS) Pour le modèle de souris. Ainsi que les résultats immunofluorescents et immun histochimiques (figure 12) indiquent que les marqueurs inflammatoires tels que TNF-a, iNOS et Cox-2 sont également réduits par EGb 761.

De plus, les marqueurs de stress inflammatoire sont réduits. Ceci est compatible avec les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires connues d'EGB 761 (**Kotakadi et al., 2008**).

De plus, les marqueurs de stress inflammatoire (p53 et phosphorylation de p53 à la sérine 15) sont réduits. Il est intéressant de noter qu'il y avait une cohérence remarquable dans les schémas de coloration entre ces deux points finaux, ainsi qu'avec iNOS et TNF-a (figure 12) Ceci est compatible avec la compréhension que TNF-a conduit l'induction de l'oxyde nitrique, qui provoque la phosphorylation de la sérine 15 de p53, qui conduit à la stabilisation et à l'activation de type sauvage p53 L'IBD est une maladie inflammatoire hétérogène, chronique, récurrente qui est médiée par un système immunitaire hyperactif (**Kotakadi et al., 2008**).

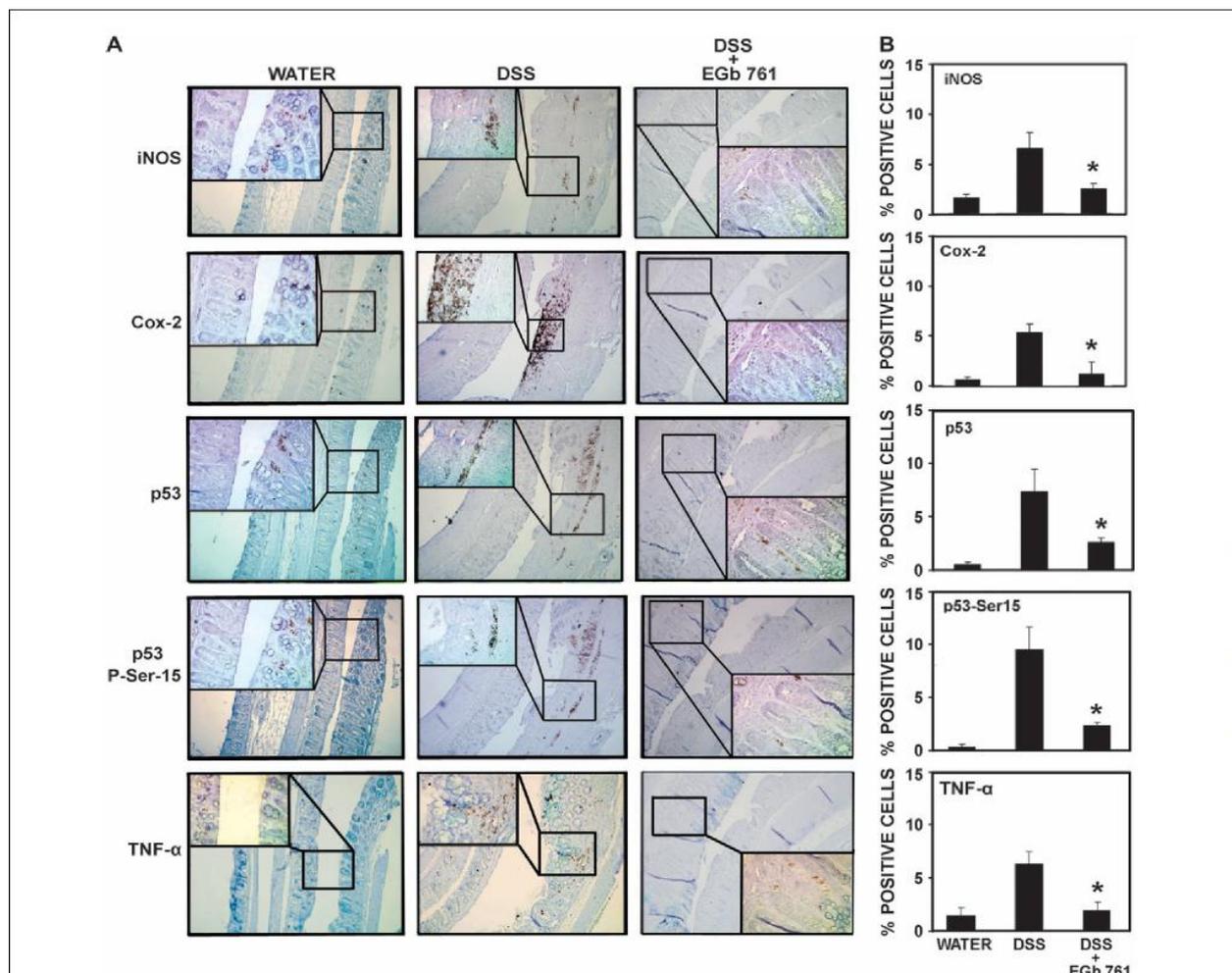


Figure 12 : EGb 761 supprime les joueurs impliqués dans l'inflammation (iNOS, Cox-2 et TNF-a) et le stress inflammatoire (p53 et p53-phospho-serine 15) (Kotakadi et al., 2008).

Les tissus des expériences réalisées pour la figure 12 ont été examinés pour iNOS (dilution :1 dans 10 000), Cox-2(dilution :1 dans 20 000), p53 (dilution :1 dans 1 000 000) et p53-P-ser-15 par immun histochimie, l'utilisation de l'Amplificateur d'anticorps MC (ProHisto, LLC) a secoué sur un rocker de laboratoire pour assurer même la coloration et les résultats reproductibles. (A) Coloration représentative des points d'extrémité indiqués dans les sections séries des groupes d'eau, DSS et DSS p EGb 761. L'encart est de 200 grossissements de l'indiquera du grossissement photomicrographie. (B) Quantification des points d'extrémité indiqués. Les cinq marqueurs ont été élevés dans le groupe traité par le DSS et supprimés lorsque le groupe traité par le DSS a été nourri EGb 761 (75 p.p.m.). Indique une réduction

significative du pourcentage de cellules positives dans le groupe EGb 761 + DSS par rapport au DSS (**Kotakadi et al., 2008**).

b. Effet d'EGB sur les cellules immunitaires :

Les réponses immunitaires commencent lorsque les cellules CD8 de lymphocyte T cytotoxiques ou les cellules T effecteurs de CD4 dans le lumen intestinal reconnaissent un antigène étranger. L'importance des lymphocytes T effecteur CD4/CD25 est soulignée par les résultats chez les animaux que le transfert adoptif de CD4/CD25. Les lymphocytes T effecteurs chez des animaux immunodéprimés provoquent une colite modérée à grave. Une cascade immunologique, y compris la production de cytokine et l'infiltration de cellules immunitaires innées, responsables de l'enlèvement du matériel antigénique, est alors lancée (**Kotakadi et al., 2008**).

Normalement, après l'enlèvement de l'antigène, l'activité des cellules immunitaires innées et adaptatives, telles que les macrophages et les lymphocytes T effecteurs, est supprimée par un certain nombre de mécanismes, y compris l'apoptose. L'échec de réguler ces réponses dans la muqueuse du côlon conduit à Ginkgo supprime la colite une réaction immunologique soutenue et entraîne des dommages muqueux. Un mécanisme clé pour la suppression immunitaire est l'apoptose des cellules T effecteur trop agressives et les défauts dans l'apoptose de cellules T muqueuses sont susceptibles d'être critiques dans la pathogénie de la colite. Nous avons montré que la population de cellules T d'effecteur CD4/CD25/Foxp3 est réduite dans les deux points des souris traitées par le DSS consommant et Gb 761 par rapport aux souris consommant uniquement du DSS. La constatation selon laquelle la population de lymphocytes T réglementaires ne change pas indique que ces les cellules ne sont pas nécessaires pour l'apparition de la colite ou une cible d'EGb 761 dans ce modèle particulier de souris de la colite. La constatation selon laquelle la population de CD8 β est réduite par le traitement du DSS et encore réduite par un traitement combiné avec EGb 761 et DSS ne peut pas pour l'instant être expliquée. Toutefois, des études ont révélé que la population de CD8 moins critique à la colite que la population de CD4 dans ce modèle animal et d'autres de colite (**Kotakadi et al., 2008**).

Mécaniquement, nous montrons qu'EGb 761 peut supprimer l'activation des macrophages. Conformément à cela, d'autres ont montré EGb 761 pour diminuer

l'expression de l'iNOS, la libération d'oxyde nitrique, ainsi que d'inhiber d'autres marqueurs de l'inflammation comme Cox-2 et le facteur nucléaire-kappa B. Ces résultats sont compatibles avec nos résultats d'immunohistochimie *in vivo* ici, indiquant que ces télégènes à partir de marqueurs sont supprimés par EGb 761 (figure 12). Fait important, nous montrons pour la première fois que EGb 761 conduit l'apoptose de la population de cellules T effecteur CD4. Des études récentes ont montré que EGb 761 peut induire l'apoptose dans les cellules cancéreuses de la cavité buccale. Fait intéressant, les principaux effets neuroprotecteurs de l'EGb 761 sont pensés pour être associés à sa capacité à inhiber l'apoptose sous radicaux libres. Ces résultats indiquent des effets sélectifs et divergents possibles d'EGb 761 sur différents types de cellules. Ont récemment montré que les effets de l'EGb 761 sur les populations de lymphocytes T dépendaient des concentrations. Ils ont également montré que EGb 761 conduit l'apoptose cellulaire, de cellules T, compatible avec nos résultats. De manière significative, ici, nous montrons que l'apoptose n'est pas seulement stimulée par EGb 761 *in vitro*, mais aussi EGb 761 stimule l'apoptose cellulaire CD4 T *in vivo*. Bien que la machinerie apoptotique conduisant ce processus soit actuellement inconnue, nous montrons ici un effet sur Bcl-2, faisant allusion à un mécanisme intrinsèque dans les cellules lymphoblastoïdes. Fait intéressant, p53 a également été montré pour être stabilisé par EGb 761 chez les hépatocytes, qui subissent l'apoptose lors de l'exposition à EGb 761. Dans les cellules neuronales PC12, les espèces réactives d'oxygène provoquent une augmentation des molécules pro-apoptotiques, telles que Bax et p53, tandis que les extraits de ginkgo inhibent cette augmentation (**Kotakadi et al., 2008**).

Une analyse plus poussée a révélé que le terpène, pas de part flavone, était responsable d'un tel effet anti-inflammatoire thérapeutique. L'addition du terpène aux macrophages lipopolysaccharide-traités a montré la suppression de la production d'oxyde nitrique (NO). Ces résultats suggèrent que le blocage de la production de NO des macrophages qui se sont infiltrés au site enflammé puisse être un mécanisme possible pour l'effet anti-inflammatoire thérapeutique (**Han, 2005**).

Les monocytes exprimant le récepteur 4 (TLR4) de péage jouent un rôle majeur dans la régulation de la réponse immunitaire innée et sont impliqués dans l'inflammation systémique. Les résultats d'essai immunosorbent liés enzymatique ont montré que le lipopolysaccharide (LPS) induit l'expression de la protéine chimiotaxique monocyte-1

(MIP-1), facteur de nécrose tumorale- α , et MIP-1 α , et cette induction peut être réprimée par le traitement de GBE dû au blocus de TLR4. L'analyse des réactifs ont montré que l'inhibition de l'expression TLR4 à médiation GBE était associée à l'activation de la kinase protéique activée par le mitogène et à la production d'oxyde nitrique (NO). Les expériences de chasse d'actinomycine ont démontré que GBE a diminué la stabilité de l'ARNm TLR4 dans les cellules. Le GBE induit l'expression de la tristetraproline intracellulaire (TTP). La transfection avec le siRNA de TTP a inversé les effets de GBE dans les cellules naïves ou TLR4. Le traitement par SNAP (un donneur NO) peut augmenter l'expression TTP intracellulaire dans les cellules. L'analyse d'immunoprécipitation a montré que GBE mésentente l'activation du TTP et augmente l'interaction du TTP avec la région non traduite (UTR) de l'ARNm TLR4 en réglémentant la production de NO. On indique que GBE pourrait diminuer la sensibilité des monocytes au LPS. L'utilisation de TTP pour contrôler l'expression TLR4 peut être une approche prometteuse pour contrôler l'inflammation systémique, et GBE peut avoir des applications potentielles dans le traitement clinique des maladies immunitaires (**Wen Lee et al., 2011**).

3. La maladie des lésions pulmonaires induites par l'ischémie intestinale/reperfusion :

3.1 Définition :

L'ischémie intestinale / reperfusion (II/R) est une condition grave résultant de l'ischémie mésentérique aiguë, du choc hémorragique, traumatique ou septique, ou des brûlures graves et quelques procédures chirurgicales comprenant la transplantation d'entrailles petites et la chirurgie aortique abdominale. Il est bien connu que II/R provoque non seulement des blessures de l'intestin lui-même, mais implique également la destruction sévère des organes éloignés et même le dysfonctionnement des organes multiples. De ces lésions d'organes éloignées, les lésions pulmonaires ont été bien caractérisées comme une inflammation aiguë avec la séquestration des leucocytes et de leurs produits enzymatiques dans les tissus pulmonaires, augmentation de la perméabilité microvasculaire, œdème périvasculaire et interstitiel, et œdème pulmonaire. Ces processus pulmonaires incités par les

blessures à distance II/R souvent conduire à l'image clinique du syndrome de détresse respiratoire aiguë (**Liu et al., 2007**).

Les mécanismes des lésions pulmonaires induites par II/R sont très complexes. Il est bien établi que la peroxydation lipidique est l'un des principaux facteurs causant des lésions pulmonaires. En outre, les preuves ont montré que la surproduction d'oxyde nitrique (NO) générée par l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) non seulement aggrave les dommages oxydatifs, mais conduit à un dysfonctionnement microvasculaire pulmonaire. Ainsi, la stratégie thérapeutique en éliminant les radicaux libres et en réduisant la surproduction de NO devrait être des stratégies efficaces potentielles pour la protection contre les lésions pulmonaires (**Liu et al., 2007**).

3.2. Traitement de maladie des lésions pulmonaires induites par l'ischémie intestinale/reperfusion par GB :

L'EGb 761 peut nettement améliorer et atténuer les lésions pulmonaires, manifestée par l'amélioration des dommages histologiques et des diminutions significatives de pulmonaire W / D et PPI (variables liées à des lésions pulmonaires). Ces résultats suggèrent que l'administration de EGb 761 peut être une approche thérapeutique efficace potentielle pour la prévention de II/R induit des dommages de poumon.

Les mécanismes des lésions pulmonaires après II/R sont complexes et mal compris. On pense que les dommages de la barrière muqueuse intestinale suivant II/R causent la dislocation des bactéries ou des endotoxines endogènes, menant aux réactions inflammatoires systémiques. Le neutrophile et leurs produits enzymatiques sont séquestrés dans les tissus pulmonaires, ce qui provoque une augmentation de la perméabilité microvasculaire, de l'œdème périvasculaire et interstitiel, et de l'œdème pulmonaire. L'observation microscopique légère des tissus pulmonaires après II/R avec prétraitement d'EGb 761 chez les rats (Figure 13) (**Liu et al., 2007**).

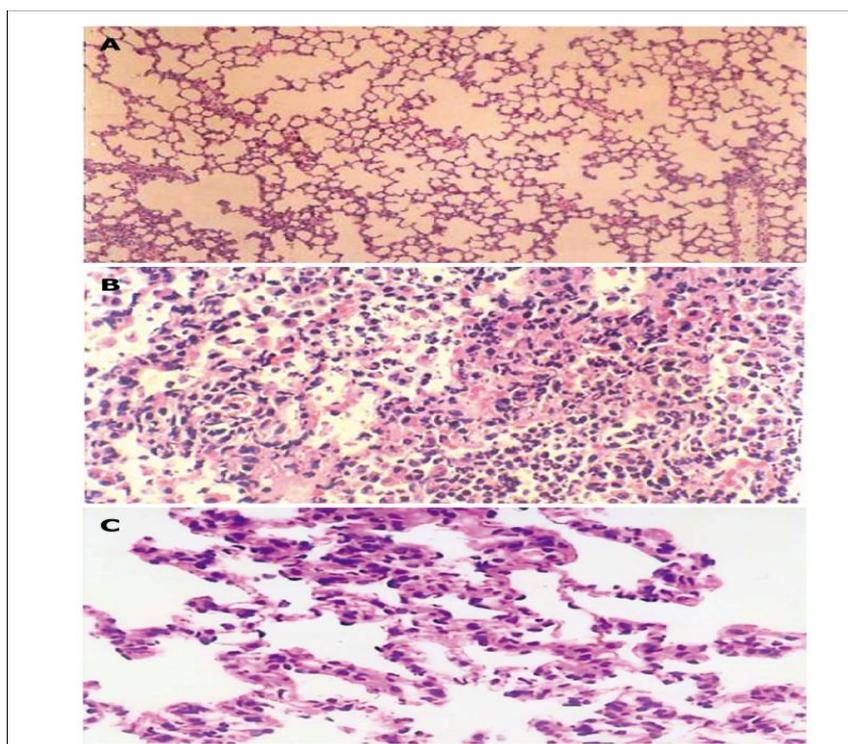


Figure 13 : Observation microscopique légère des tissus pulmonaires après II/R avec prétraitement d'EGb 761 chez les rats (Liu et al., 2007).

A : La structure normale de tissu pulmonaire a été trouvée dans le groupe (× 100) ; B : L'œdème pulmonaire, l'hémorragie et la séquestration inflammatoire des cellules ont été trouvés dans le groupe II/R (× 200) ; C : Des changements morphologiques diminués induits par II/R ont été trouvés dans le groupe EGb +II/R (× 200) (Liu et al., 2007).

a. Effet de ginkgo biloba sur la production de l'oxyde nitrique

Plusieurs observations récentes impliquent que le NO peut être un participant important à la réponse pulmonaire II/R. Il a été suggéré que le NO, produit à partir de L'oxyde nitriquesynthase constitutif endothélial (eNOS), puisse être une molécule protectrice importante au début de II/R. À cet égard, les inhibiteurs de la production endogène NO exacerbent considérablement l'augmentation de la perméabilité épithéliale et le dysfonctionnement cardio-vasculaire dans l'intestin postischémie reperfusé. La production excessive de NO a été attribuée au deuxième NOS (NOS inductible, iNOS) qui n'est pas présent dans des conditions normales mais peut être induit en réponse aux états inflammatoires systémiques, y compris II/R. L'induction

d'iNOS a été impliquée dans la pathogénie de II/R et il a été rapporté que les inhibitions de l'activité d'iNOS et de la production de NO pourraient atténuer II/R blessure (**Liu et al., 2007**).

Dans la présente étude, nous avons étudié la contribution de l'iNOS à II/R-induit des dommages pulmonaires. Les résultats ont montré que 60 min d'ischémie intestinale suivie de 180 min de reperfusion ont significativement régulé l'expression d'iNOS de poumon, accompagnée d'élévation marquée des niveaux de nitrate/nitrite pulmonaire (métabolites stables de NO). Ont démontré que l'activité pulmonaire d'iNOS chez les rats soumis à II/R a été sensiblement augmentée, qui ont montré que la réponse inflammatoire systémique et les dommages de poumon se produisent après II/R avec une surproduction de NO accompagnée par l'augmentation de l'expression d'iNOS et la formation de peroxynitrite dans les poumons. Les mécanismes des actions cytotoxiques de la production excessive de NO n'ont pas été entièrement compris (**Liu et al., 2007**).

Il a été suggéré que les ions de superoxyde réagissent avec NO pour produire la peroxynitrite, qui provoque alors la peroxydation lipidique accentuée, les modifications protéiques et d'ADN ayant pour résultat des dommages cellulaires. Pris ensemble, la voie dépendante d'iNOS-NO-peroxynitrite peut être l'un des mécanismes de la lésion pulmonaire induite par II/R.

L'effet de l'EGB 761 sur la génération NO dans le tissu pulmonaire suivant II/R a été étudié pour la première fois dans la présente étude. Les résultats ont montré que EGB 761 a considérablement réduit la génération de NO accompagnée par la régulation vers le bas de l'expression iNOS. Ont montré que EGB 761 agit directement comme un charognard NO et inhibe de façon concomitante l'expression de l'ARNm iNOS dans les tissus myocardiques, améliorant ainsi la récupération de la fonction cardiaque postischémique après l'ischémie myocardique / reperfusion. En outre, EGB 761 inhibe la production de NO dans les macrophages activés par l'interféron lipopolysaccharide/gamma (LPS/IFN- γ) en récupérant de façon concomitante le NO et en inhibant l'ARNm iNOS et l'activité enzymatique. Bien que les modèles expérimentaux utilisés dans les études précédentes soient différents de la présente étude, ces résultats peuvent, au moins en partie, l'effet protecteur de l'EGB 761 sur les lésions pulmonaires peut être attribuable à sa suppression sur la voie dépendante

iNOS-NO. Il y a peu d'informations sur les mécanismes de l'effet de EGb 761 sur la voie dépendante iNOS-NO, l'analyse occidentale de l'iNOS dans le poumon de rat. Présenter dans le (figure 14) (Liu et al., 2007).

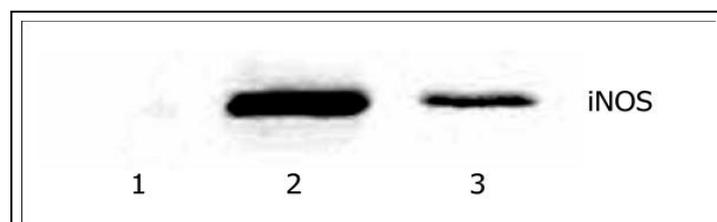


Figure 14 : Analyse occidentale de l'iNOS dans le poumon de rat.

1. Groupe de sham ; 2. Groupe II/R ; 3. Groupe EGb + II/R. L'intensité des bandes était plus élevée dans le groupe II/R que dans le groupe EGb +II/R. Une bande prééminente de la protéine iNOS a été démontrée à environ 70 Kd (Liu et al., 2007).

b. Effet de ginkgo biloba sur l'expression de NOS :

Les niveaux élevés de NO produits par les macrophages activés et d'autres cellules sont non seulement toxiques pour les microbes indésirables, mais nocifs pour les tissus sains environnants et les cellules. Les lésions cellulaires et tissulaires peuvent être liées au non radical lui-même ou à une interaction de NO avec O₂, conduisant à la formation de peroxy-nitrite (ONOO⁻). Toutefois, les preuves indiquent également que le NO inhibe la migration des neutrophiles et la production de cytokines, et que les inhibiteurs du NOS aggravent les lésions pulmonaires aiguës. Malgré les rôles contradictoires de NO dans la pathogénie des lésions pulmonaires aiguës, aucune production et les libérations de médiateur pro-inflammatoire en réponse à la stimulation de LPS dans les cellules RAW est un modèle bien défini pour évaluer les effets pharmacologiques des composés chimiques sur l'inflammation induite par le LPS. Bien que les ginkgolides possèdent les propriétés antioxydantes et les espèces réactives d'oxygène (ROS) sont réellement impliquées dans la production de médiateur pro-inflammatoire induite par le LPS, GB supprime de manière significative les expressions d'ARNm de TLR-4 et de NF-κB, diminue les niveaux de TNF-α, IL-1β, et IL-6, et réduit le nombre de cellules neuronales apoptotiques dans le

tissu cérébral de rat hémorragique, ont montré que la voie TLR4/NF-kB est probablement impliquée dans l'apoptose neuronale réduite par GB dans le cerveau traumatique du rat, ont démontré que l'inhibition de l'activation de NF-kB est associée aux effets anti-inflammatoires et anti-apoptotiques de GB dans un modèle de souris de blessure cérébrale d'ischémie/reperfusion, ont indiqué que la voie TLR4/NF-kB est impliquée dans l'apoptose de cellules neuronales réduites par GB dans le cerveau hémorragique de rat, ont montré que l'effet protecteur de GB en combinaison avec GA dans un modèle de rat de l'ischémie cérébrale focale permanente est associé à l'inhibition de la voie de signalisation NIK/IKK/IkB/NF-kB. Depuis une étude précédente a indiqué que EGB et ses terpénoïdes, y compris GA, GB, et bilobalide, sont capables de contrarier l'effet de l'homocystéine sur l'expression iNOS dans les macrophages par leur antioxydation ayant pour résultat l'atténuation de l'activation de NF-kB (**Wu et al., 2016**).

L'EGB 761 a un effet protecteur sur les lésions pulmonaires II/R, qui peut être liée à sa propriété antioxydative et aux suppressions de l'accumulation de neutrophiles et de la génération de NO induite par l'iNOS. EGB 761 semble être un agent thérapeutique efficace pour certains patients gravement malades présentant l'échec respiratoire lié à II/R, bien que ses mécanismes restent à élucider (**Liu et al., 2007**).

Conclusion

Conclusion

Ce travail vise à savoir quel genre d'effet de l'extrait standardisé de Ginkgo biloba sur la production de nitrites lors des maladies inflammatoires.

Nous avons donc parlé de NO, et de sa production et de sa conversion en nitrite, en plus de sa production par les différentes cellules impliquées dans la réponse inflammatoire.

Grâce à la présentation de la molécule de ginkgo biloba et de ses effets bénéfiques lors des maladies inflammatoires, il a été montré son effet positif comme un anti-inflammatoire, où dans diverses maladies inflammatoires présentées au travail on indique que l'EGB 761 a un effet protecteur sur la maladie inflammatoire, qui peut être liée à sa propriété anti oxydative et aux suppressions de l'accumulation des cellules immunitaires et de la génération de NO induite par l'iNOS. car il contient des antioxydants, qui travaillent à résister aux radicaux libres qui peuvent accélérer l'apparition du vieillissement, et des dommages aux cellules et aux tissus, aider dans le traitement des infections, en particulier ceux associés aux infections, et le syndrome du côlon. Articulations, maladies cardiaques, et diverses infections, EGB 761 semble être un agent thérapeutique efficace pour certains patients gravement malades, bien que ses mécanismes restent à élucider.

Références bibliographiques

A

Aimeric, C. 2017. Coopération entre les isoformes TAp73 et le TGF- β dans la régulation de l'expression de la NO Synthase inductible. Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay. Pp: 1-249.

B

Besnier, E. Delile, E. Coquerel, D. Tamion, F. 2015. Les voies du monoxyde d'azote dans le sepsis. Réanimation 24 (2). Pp: 191-200.

Bony, É. 2010. Composition chimique et propriétés anti-inflammatoires de l'huile de pulpe d'awara (*Astrocaryum vulgare* M.). Thèse. pour obtenir le grade de Docteur de l'Université Montpellier 2. Université Montpellier 2 Sciences et Techniques du Languedoc. Pp: 1-236.

Blibek, k. 2009. Etude de la modulation de la NO synthase 2 par l'extrait de pépins de raisin, au cours de l'hydatidose humaine: Impact sur la production du monoxyde d'azote (NO). These En vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'Etat en Biologie. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (U.S.T.H.B), Alger, Algérie. Pp: 1-79.

C

Chan, P. Qingsu, X. Peter, P. 2007. Ginkgo Biloba Leave Extract: Biological, Medicinal, and Toxicological Effects. Journal of environmental science and health part C 25 (3). Pp: 211-244.

Christian, U. Manfred, S. Mario, W. 2013. Ginkgo biloba Extracts: A Review of the Pharmacokinetics of the Active Ingredients. Clinical pharmacokinetics 52 (9). Pp: 727-749

G

Gao, X. Qiang, J. Bingqian, Z. Qimei, L. Dangquan, Z. 2020. Diverse bioactive components from Ginkgo biloba fruit. Thermal Science. Pp: 48-48.

Genestier, M. 2016. Avancées thérapeutiques des dérivés nitrés et donneurs de monoxyde d'azote. Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université de Lorraine. Pp: 1-117.

Gharb, N. Mornagui, B. el- faaa, S. kamoun, A. Gharbi, C. 2004. effet d'une déshydratation sur le monoxyde d'azote. L'axe vasopressinergique et l'axe cortitrope chez le rat. Comptes Rendus Biologies 327 (1). Pp: 12-20.

H

Han, Y. 2005. Ginkgo terpene component has an anti-inflammatory effect on Candida albicans-caused arthritic inflammation. International immunopharmacology 5 (6). Pp: 1049-1056.

I

Ilieva, I. Kazuhiro, O. Kenji, S. Yoshikazu, K. Kazuhiko, Y. Satoru, K. Hirokuni, K. Yuko, T. Kazunaga, Y. Shigeaki, O. 2004. The effects of Ginkgo biloba extract on lipopolysaccharide-induced inflammation in vitro and in vivo. Experimental eye research 79 (2). Pp: 181-187.

Izzi, V. Masuelli, L. Tresoldi, I. Sacchetti, P. Modesti, A. Galvano, F. Bei, R. 2012. The effects of dietary flavonoids on the regulation of redox inflammatory networks. Front Biosci (Landmark Ed) 17 (7). Pp: 2396-2418.

K

Kim, S. Eun, K. Lee, J. Won, K. Hyun, S. Soon, B. 2005. Effects of Ginkgo biloba on haemostatic factors and inflammation in chronic peritoneal dialysis patients. Phytotherapy Research 19 (6). Pp: 546-548.

Kobuchi, H. Marie, T. Yves, C. Lester, P. 1997. Ginkgo biloba extract (EGb 761): inhibitory effect on nitric oxide production in the macrophage cell line RAW 264.7. Biochemical pharmacology 53 (6). Pp: 897-903.

Kotakadi, S. Yu, J. Anne, B. Lei, Y. Xiangli, C. Suresh, V. Alexander, C. Patricia, A. Robert, L. Anna, M. Udai, P. Narendra, P. Mitzi, N. Prakash, S. Lydia, E. Karine, A. Michael, J. Wargovich, J. Hofseth, A. 2008. Ginkgo biloba extract EGb 761 has anti-

inflammatory properties and ameliorates colitis in mice by driving effector T cell apoptosis. *Carcinogenesis* 29 (9). Pp: 1799-1806.

L

Laveti, D. Manoj, K. Hemalatha, R. Ramakrishna, S. Naidu, V.G.M. Venu, T. Vinod, V. Navrinder, K. Ravinder, N. 2013. Anti-Inflammatory Treatments for Chronic Diseases: A Review . *Inflammation & Allergy-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Inflammation & Allergy)*.12. Pp: 349-361.

Liu, -K. Wei-Kang, W. Wei, H. Chui-Liang, L. 2007. Ginkgo biloba extract (EGb 761) attenuates lung injury induced by intestinal ischemia/reperfusion in rats: roles of oxidative stress and nitric oxide. *World journal of gastroenterology: WJG* 13 (2).Pp: 299.

M

Magali, M. 2013. Origine et conséquences du stress oxydant. Thèse Pour le Doctorat Vétérinaire. LA Faculté de Médecine de Créteil. Pp: 1-121.

Mamadou, S. 2004. Modulation de la biodisponibilité du monoxyde d'azote (no) en physiopathologie vasculaire: intérêt des stocks mobilisables de no et des antioxydants naturels. These Pour obtenir le grade de Docteur de l'Université Louis Pasteur. Université Louis Pasteur – Strasbourg. Pp: 1-188.

MacMicking, J. Qiao-wen, X. Carl, N.1997. Nitric oxide and macrophage function. *Annual review of immunology* 15 (1). Pp: 323-350.

N

Nathan, S. Joseph, L. 2011. Nitrite and nitrate in human health and disease. Humana Press. Pp: 1-36.

P

Parent, M. 2012. Caractérisation physicochimique du S-nitrosoglutathion, molécule à potentiel thérapeutique cardiovasculaire: Vers l'établissement d'une monographie. Thèse pour le Diplôme D'état de Docteur en Pharmacie. Université de Lorraine. Pp: 1-159.

Peter, L. 2001. Le ginkgo biloba et les autres thérapies complémentaires. La Revue canadienne de la maladie d'Alzheimer Décembre 2001. Pp: 9-11

R

Ryu, Eu, Park, A. Park, S Y. Park, S H. Eom, H. Kim, Y. Park, G. Joon Lee, S. 2012. Inhibitory Effects of Ginkgo biloba Extract on Inflammatory Mediator Production by Porphyromonas gingivalis Lipopolysaccharide in Murine Macrophages via Nrf-2 Mediated Heme Oxygenase-1 Signaling Pathways. Inflammation. Vol. 35, No. 4.Pp: 1477-1486.

S

Salman, A. Qureshi, AS. Khan , JA. Shahid, RU. Deebea, F. Azam, F. 2019. Influence of Ginkgo biloba on Birth Weight and Histomorphometric Characteristics of Neonatal Kidneys in Albino Rats. Journal of Animal and Plant Sciences 29 (5). Pp: 1262-1268.

Soussi, S. 2015. Les interactions entre les plantes médicinales et les médicaments des pathologies cardiovasculaires. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Toulouse III Paul Sabatier Faculté des Sciences Pharmaceutiques. Pp: 1-178.

T

Tadie, J. 2010. Rôles clinico-biologiques du monoxyde d'azote produit par les voies aériennes. These Présentée pour obtenir le titre de Docteur de l'université Paris. Université Paris est-creteil val de Marne. Pp: 1-114.

V

Victor, J. Lapalun, L. 2013. Réponse immunitaire induite par l'irradiation colrectale: manipulation thérapeutique des «toll like receptors». Thèse de Doctorat Pour obtenir le grade de Docteur de l'Université Pierre et Marie Curie. Paris. Pp: 1-246.

W

Wadsworth, T. Dennis, R. 2001. Effects of Ginkgo biloba extract (EGb 761) and quercetin on lipopolysaccharide-induced release of nitric oxide. *Chemico-biological interactions* 137 (1). Pp: 43-58.

Wen Lee, Y. Jui-An, L. Chuen, C. Yung-Hsiang, C. Po-Len, L. Ai-Wei, L. Jui-Chi, T. Chi, Y. Chien, S. Ta-Liang, C. Feng, Y. 2011. Ginkgo biloba extract suppresses endotoxin-mediated monocyte activation by inhibiting nitric oxide-and tristetraprolin-mediated toll-like receptor 4 expression. *The Journal of nutritional biochemistry* 22 (4). Pp: 351-359.

Wu, F. Wei, S. Guojun, Z. Hongyi, Y. Chengyun, X. Wei qiang, X. Junsong, W. Ximei, W. 2016. Ginkgolide B functions as a determinant constituent of Ginkgolides in alleviating lipopolysaccharide-induced lung injury. *Biomedicine & pharmacotherapy* 81. Pp: 71-78.

X

Xu, L. Zhiyong, H. Jianjun, S. Patrick, M. 2015. Effects of Ginkgo biloba extract on cerebral oxygen and glucose metabolism in elderly patients with pre-existing cerebral ischemia. *Complementary therapies in medicine* 23 (2). Pp: 220-225.

Z

Zerbato, M. 2010. Intérêt du dosage par microméthode de la Protéine C Réactive au cabinet de pédiatrie. these pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. UHP-Université Henri Poincaré. Pp: 1-75.

Zhou Yan, H. 1 Jie-Ping, Y. 1 Yi-Fei, L. Xiao-Jun, T. 1 Mei, M. 1 Peng, L. 1 Ping, A. 1 Shi-Quan, L. Hong, G. 2006. Effects of Ginkgobiloba Extract on Inflammatory Mediators (SOD, MDA, TNF- α , NF- κ Bp65, IL-6) in TNBS-Induced Colitis in Rats. *Mediators of inflammation* 2006. Pp: 1-9 .