

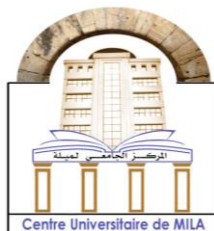
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERRIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المركز الجامعي عبد الحفيظ
بوالصوف ميله



Centre Universitaire Abdel Hafid
Boussouf Mila

Institut des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

En Biochimie Appliquée

Thème

Propriétés et effets antioxydants du gingembre sur la santé

Filière : Sciences Biologiques

Présenté par :

Boukeria Ahlem
Zabat Yousra
Sendelezrag Loubna

DEVANT LE JURY

Président :	BOUGUERIA Hassiba	M.C.B Centre Universitaire de Mila.
Encadreur :	KADECHE Lilia	M.C.A Centre Universitaire de Mila.
Examineur :	BOUSBIA Sabri	M.C.A Centre Universitaire de Mila.

Année universitaire : 2022/2023



Au Nom d'Allah, Le Tout Clément, Le Très Miséricordieux.

REMERCIEMENT

يقول النبي محمد ﷺ: (من لم يشكر الناس لم يشكر الله)

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et nos vives reconnaissances à Mademoiselle KADECHE Lilia. Maître de conférences à Centre universitaire Abdelhafid Boussouf de Mila pour avoir accepté de diriger et de réaliser ce travail. Nous vous remercions pour votre confiance, votre soutien et votre disponibilité. Vos qualités morales, intellectuelles et surtout votre intérêt pour la science forcent le respect et l'admiration.

Nous exprimons également nos vifs remerciements à Mademoiselle BOUGUERIA Hassiba. Maître de conférences à Centre universitaire Abdelhafid Boussouf de Mila d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury de notre mémoire. Votre simplicité et votre modestie sont à la dimension de votre envergure scientifique.

Nous tenons à exprimer notre vive reconnaissance à Monsieur BOUSBIA Sabri. Maître de conférences à Centre universitaire Abdelhafid Boussouf de Mila pour avoir accepté de juger ce travail et nous honorer de sa présence.

Nous tenons également à exprimer notre reconnaissance à ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Avant toutes choses, je remercie ALLAH, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience pour réaliser ce travail.

Je dédie ce mémoire à : mes chers parents, qui tiennent une place immense dans mon cœur. Papa, Maman vous resterez toujours une vraie école de la vie, je ne cesse d'apprendre tous les jours avec vous.

Vous avez toujours été là pour moi, et à aucun moment vous n'avez cessé de me couvrir de votre tendresse.

Pour votre patience dans les moments difficiles et votre amour constant, recevez ce mémoire en guise de remerciement et témoignage de ma plus profonde gratitude.

À ma chère soeur Imane

À mes chers frères Zino et Houssam

À mon chère fiancé Farid

À toutes mes amies Yousra ; Chima ; Marwa ; Hadil ; Nihad et Ibtihef

À toute la famille

À tous ceux qui me sont chers

À tous ceux qui m'aiment

À tous ceux que j'aime.

AHLAM

Dédicace

*Avant toutes choses, je remercie ALLAH, le tout puissant, pour m'avoir donné
la force et la patience pour réaliser ce travail.*

*Je dédie ce modeste travail en signe de respect, de reconnaissance et de gratitude :
À mes très chers parents, que j'admire, qui m'ont toujours aidé dans ma vie et qui
n'ont cessé de m'encourager et de me soutenir tout au long
de mes études.*

*Vous m'avez appris la rigueur, la ténacité et surtout l'humilité. Puisse ce travail
témoigner de ma reconnaissance à cette éducation. Papa Maman, que ce travail
témoigne ma fierté de reprendre le flambeau.*

*Que ALLAH vous garde et vous
Protège.*

*À mes chères sœurs et mes chers frères
À toute la famille
À tous ceux qui me sont chers
À tous ceux qui m'aiment
À tous ceux que j'aime.*

LOUBNA

Dédicace

*Avant toutes choses, je remercie ALLAH, le tout puissant, pour m'avoir donné
la force et la patience pour réaliser ce travail.*

*Je dédie ce mémoire aux êtres les plus chers de ma vie, mes parents pour leurs
encouragements, leur soutien inconditionnel et leurs sacrifices consentis tout au
long de ma scolarité afin de faire moi ce que je suis aujourd'hui.*

Papa, Maman :

Quoi que je dise je ne saurai point les remercier comme il se doit.

À ma chère soeur Chaima

À mes chers frères Abd elghafour ; Walid et sa femme Aya

À toute la famille surtout ma chère grand-mère

À toutes mes amies Ḳhadidja ; Dounia ; Ahlam ; Chima et Marwa

À tous ceux qui me sont chers

À tous ceux qui m'aiment

À tous ceux que j'aime.

YOUSRA

RÉSUMÉS

الملخص

الجزور الحرة هي مركبات كيميائية غير مستقرة تتشكل بشكل طبيعي في جسم الانسان ويتم إنتاجها أيضاً بسبب تعرض الجسم لعوامل بيئية ضارة مثل التدخين أو التلوث. يحدث الإجهاد التأكسدي، وهو السبب الرئيسي للعديد من الأمراض، عندما تتجاوز كمية الجزور الحرة قدرة الجسم على التعامل معها من خلال آلياته الطبيعية (مضادات الأكسدة) المكافحة للجزور الحرة. لمكافحة الإجهاد التأكسدي، أكدت العديد من الدراسات مساهمة الاطعمة المضادة للأكسدة مثل الزنجبيل في تقليل التأثيرات السامة التي تسببها الجزور الحرة. الزنجبيل هو، في الواقع، أحد أقوى الاطعمة المضادة للأكسدة، فهو يحتل المرتبة الثالثة من بين 1000 نوع من الاطعمة المضادة للأكسدة التي تم تحليلها. في هاته الأطروحة، نحن مهتمون بفهم ماهية الإجهاد التأكسدي وعواقبه. فيما بعد قدمنا الزنجبيل كمثال لمضادات الأكسدة الطبيعية وناقشنا نتائج الدراسات التي تبرز دور هذا الغذاء كوسيلة لمكافحة الإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية: الجزور الحرة، أنواع الأكسجين التفاعلية، الإجهاد التأكسدي، مضادات الأكسدة، مضادات الأكسدة الطبيعية، البوليفينول، النباتات الطبية، الزنجبيل.

ABSTRACT

Free radicals are unstable chemical compounds that form naturally in the human body and are also produced due to the body's exposure to harmful environmental factors such as smoking and pollution. Oxidative stress, the primary root cause of many diseases, occurs when the amount of free radicals exceeds the body's ability to deal with them through its natural (antioxidant) free radical fighting mechanisms. To fight against oxidative stress, several studies have confirmed the contribution of antioxidant foods such as ginger in reducing the toxic effects induced by free radicals. Ginger is, in fact, one of the most powerful antioxidant foods: it ranks third among the most antioxidant foods, out of 1000 foods analyzed. In this thesis, we are particularly interested in understanding what oxidative stress is and its consequences. We then want to focus on presenting ginger as an example of a natural antioxidant, and to discuss the results of studies that seem to highlight this food as a means to fight against oxidative stress.

Key words: Free radicals, Reactive oxygen species, Oxidative stress, Antioxidants, Natural antioxidants, Polyphenols, Medicinal Plants, Ginger.

RÉSUMÉ

Les radicaux libres sont des composés chimiques instables qui se forment naturellement dans le corps humain et sont également produits en raison de l'exposition du corps à des facteurs environnementaux nocifs tels que le tabagisme et la pollution. Le stress oxydant, la principale cause initiale de plusieurs maladies, se produit lorsque la quantité de radicaux libres dépasse la capacité du corps à les gérer par ses mécanismes naturels (antioxydants) de lutte contre les radicaux libres. Pour lutter contre le stress oxydant, plusieurs études ont confirmé la contribution des aliments antioxydants comme le gingembre dans la réduction des effets toxiques induits par les radicaux libres. Le gingembre est, en effet, l'un des plus puissants aliments antioxydants : il se situe au troisième rang des aliments les plus antioxydants, sur 1000 aliments analysés. Dans ce mémoire, nous nous sommes intéressés en particulier, à comprendre ce qu'est le stress oxydant et ses conséquences. Nous désirons ensuite nous intéresser à présenter le gingembre comme un exemple d'antioxydant naturel, et à discuter les résultats des études qui semblent mettre en évidence cet aliment comme un moyen pour lutter contre le stress oxydant.

Mots clé : Radicaux libres, Espèces réactives de l'oxygène, Stress oxydant, Antioxydants, Antioxydants naturels, Polyphénols, Plantes médicinales, Gingembre.

TABLES DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE**INTRODUCTION** 01**CHAPITRE I. Stress oxydant**

I. Stress oxydant	03
1. Radicaux libres	03
1.1. Généralité sur les radicaux libres	03
1.2. Les radicaux libres biologiques	03
2. Définition du stress oxydant	04
3. Mécanismes de production des principales ERO	05
3.1. L'anion superoxyde $O_2^{\cdot -}$	05
3.2. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2	05
3.3. Le radical hydroxyle $HO^{\cdot}$	06
3.4. L'oxygène singulet 1O_2	07
4. Sources des ERO ou ROS	07
4.1. Sources endogènes	07
4.2. Sources exogènes	10
5. Cibles biologiques des ROS	11
5.1. Peroxydation lipidique	11
5.2. Oxydation des protéines	13
5.3. Oxydation de l'ADN	13
6. Antioxydants	14
6.1. Définition	14
6.2. Mode d'action des antioxydants	15
6.3. Les systèmes de défense antioxydants	15
6.3.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques	15
6.3.2. Les systèmes antioxydants non enzymatiques	18
6.3.2.1. Antioxydants non enzymatiques endogène	18
6.3.2.2. Antioxydants non enzymatiques exogènes	21
7. Les maladies liées au stress oxydant	22

CHAPITRE II. Polyphénols du Gingembre

II. Polyphénols en tant qu'antioxydants	24
1. Présentation générale sur les polyphénols	24

1.1. Diversité structurale, sources alimentaires et classification des polyphénols	24
1.2. Propriétés biologiques des polyphénols	28
1.2.1. Activité antioxydante des polyphénols	29
1.2.1.1. Piégeage direct de radicaux libres	29
1.2.1.2. Chélation des ions métalliques	30
1.2.1.3. Inhibition enzymatique	31
2. Le gingembre (<i>Zingiber officinale</i>) : molécule modèle	31
2.1. Historique	31
2.2. Etymologie	31
2.3. Classification	32
2.4. Description botanique du gingembre	32
2.4.1. Aspect général	32
2.4.2. Partie aérienne	33
2.4.3. Partie souterraine	34
2.5. Composition chimique du gingembre	34
3. Activités biologiques et utilisation du gingembre	35
4. Toxicité du gingembre	37

CHAPITRE III : Méthodes de dosage des biomarqueurs et Discussion d'études

I. Méthodes de dosage des biomarqueurs du stress oxydatif	38
1. Le choix des biomarqueurs du stress oxydant	38
2. Méthodes de dosage des principaux biomarqueurs du stress oxydatif	39
2.1. Dosage du glutathion réduit (GSH)	39
2.1.1. Dosage des protéines	40
2.2. Dosage de malondialdéhyde (MDA)	41
2.3. Dosage de l'activité de la GPx	42
2.4. Dosage de la catalase (CAT)	43
2.4.1. Mode opératoire	44
2.4.2. Calcul de l'activité de CAT	44
II. Discussion des études	45

<i>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</i>	48
--	----

<i>BIBLIOGRAPHIE</i>	51
-----------------------------	----

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ABRÉVIATIONS

Enzymes/ions/substances :

AA	: Acide ascorbique
ADN	: Acide désoxyribonucléique
AGE	: Produit de glycation
AGPI	: Acide gras polyinsaturés
ATP	: Adénosine Tri-Phosphate
BSA	: Albumine sérique bovine
CAT	: Catalase
Coq10	: Coenzyme Q10
Cu	: Cuivre
CYP450	: Cytochrome P450
Cyt C	: Cytochrome C
DHA	: Acide déhydroascorbique
DO	: Densité optique
DTNB	: Dithio-bis2-nitrobenzoïque
DO	: Densité optique
DTNB	: Acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman
ERO	: Espèces réactives oxygénées
FADH2	: Flavine adénosine dinucléotide
Fd	: Facteur de dilution
Fe²⁺	: Ion ferreux
Fe³⁺	: Ion ferrique
Gpx	: Glutathion peroxydase
GR	: Glutathion réductase

LISTE DES ABRÉVIATIONS

GSH	: Glutathion réduit
GSHPX	: Glutathion peroxydase
GSSG	: Glutathion oxydé
GST	: Glutathion-S-transférase
H₂O	: Eau
H₂O₂	: Peroxyde d'hydrogène
Hclo	: Acide hypchloreux
HO°	: Radical hydroxyl
HO₂°	: Hydroperoxyde
L	: Largeur de la Cuve ou longueur du trajet optique
LPO	: La peroxydation lipidique
MDA	: Malondialdehyde
Mn	: Manganèse
Mn-SOD	: Superoxyde dismutase associée au manganèse
NAD⁺	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide
NADH	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduite
Ni	: Nickel
NO°	: Monoxyde d'azote
NO₂°	: Dioxyde d'azote
O₂	: Oxygène ou Dioxygène
O₂°	: Anion superoxyde
O₃	: Ozone
OMS	: Organisation mondial de la santé
ONOO⁻	: Peroxynitrite
ONOOH	: Nitroperoxyde
RL	: Radical libre
RLO	: Radiaux libre oxygénés

RO[•]	: Alkoxye
RO₂[•]	: Peroxyle
ROO[•]	: Radicaux peroxye
ROS	: Reactive Oxygen Speaces
Se	: Sélénium
Se-GPx	: Glutathion peroxydase séléno dépendante
SO	: Stress oxydant ou stress oxydatif
SOD	: Superoxyde dismutase
TBA	: Thiobarbiturique
UQ	: Ubiquinone
UV	: Ultra-Violet
XD	: Xanthine déshydrogénase
XO	: Xanthine oxydase
XOR	: Xanthine oxydoréductase
Zn	: Zinc
α-TOH	: α-tocophérol

Unités

%	: Pourcentage
°C	: Degré Celsius
Cm	: Centimètre
h	: Heure
g	: Gramme
L	: Litre
M	: Molaire
mg	: Milligramme

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Min	:	Minute
mL	:	Millilitre
mMol	:	Millimole
Mol	:	Mole
nm	:	Nanomètre
nmol	:	Nanomole
µl	:	Microlitre
µM	:	Micromolaire

TABLES DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES FIGURES

FIGURE	TITRE	PAGE
Figure 1	Mécanismes de production des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie	06
Figure 2	Fuite d'électrons source de ROS au sein de la chaîne de transport d'électrons	08
Figure 3	Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène	11
Figure 4	Réactions de la peroxydation lipidique	12
Figure 5	Nature de quelques modifications des chaînes d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire	13
Figure 6	Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules	14
Figure 7	Représentation schématique des mécanismes de défenses enzymatiques antioxydantes	17
Figure 8	État d'oxydation du glutathion	19
Figure 9	Structure chimique des ubiquinones	20
Figure 10	Structure chimiques des vitamines E	21
Figure 11	Différentes pathologies associées au stress oxydant	23
Figure 12	Structure du noyau phénol	24
Figure 13	Structure générale du noyau des flavonoïdes	25
Figure 14	Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques	27
Figure 15	Structures chimiques des acides hydroxycinnamiques	27
Figure 16	Structure d'un stilbène, le resvératrol	28
Figure 17	Structure et numérotation des atomes de carbone du phénylpropane (1) et des lignanes (2) (liaison β - β' ou 8,8')	28
Figure 18	Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques	29
Figure 19	Les caractéristiques structurales des flavonoïdes avec une activité de piégeage des radicaux libres élevée	30
Figure 20	Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques	30
Figure 21	Plante de Zingiber officinale	33
Figure 22	Rhizome de Zingiber officinale	34
Figure 23	Principe de dosage du glutathion	39
Figure 24	la gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1 mg/ml) pour le dosage des protéines	41
Figure 25	Principe de dosage du malondialdéhyde	41

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU	TITRE	PAGE
Tableau 1	Principales ERO radicalaires et non-radicalaires	04
Tableau 2	Les grandes familles de polyphénols	28

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUES

INTRODUCTION

Introduction

L'oxygène, élément essentiel pour les organismes multicellulaires, permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique (Meziti, 2007). À la fin de ce processus, le dioxygène est réduit en eau. Cette réduction nécessite l'ajout de quatre électrons, qui peuvent s'additionner un par un, entraînant ainsi la formation d'intermédiaires plus réactifs appelés espèces réactives de l'oxygène (EROs). Ces intermédiaires participent à divers processus physiologiques comme la défense immunitaire, l'apoptose ou encore les voies de signalisation cellulaire (Socrier, 2017).

Du fait de leur très grande réactivité, ces dérivés de l'oxygène (ERO) peuvent également réagir avec la plupart des composés cellulaires, entraînant ainsi des dommages cellulaires et tissulaires (Valavanidis et al., 2005). La nature instable des EROs, les rend, en effet, hautement réactives envers les substrats biologiques (ADN, protéines, lipides) et capables d'induire des modifications oxydatives néfastes potentiellement impliquées dans l'apparition de pathologies (Haleng et al., 2007).

Pour se protéger des effets délétères des EROs, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes puissant (Haleng et al., 2007). On distingue deux sources d'antioxydants. L'une est endogène et se compose d'enzymes notamment : la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase (Kozarski et al., 2015 ; Ighodaro et Akinloye, 2018). L'autre est exogène non enzymatique et est apportée par l'alimentation. Ce sont les caroténoïdes, les oligo-éléments (cuivre, zinc, sélénium, magnésium), les polyphénols ainsi que les vitamines A, C et E (Favier, 2003).

Cependant, il arrive que ces systèmes soient submergés par une production excessive d'EROs. En fait, certains facteurs externes comme l'exposition aux rayonnements et à la pollution ou encore la consommation d'alcool et de tabac peuvent entraîner une surproduction d'EROs, créant ainsi un déséquilibre entre les EROs et les antioxydants appelé stress oxydant.

Bien que le stress oxydant ne soit pas une maladie, la dégradation des macromolécules biologiques, en particulier des lipides membranaires, crée un contexte favorisant l'apparition de maladies diverses comme l'athérosclérose, la maladie de parkinson ou encore certains cancers. Ainsi, plus de 200 pathologies en lien avec le stress oxydant ont été recensées (Socrier, 2017).

Pour prévenir ce type de situations, la recherche sur la supplémentation en antioxydants naturels a été le sujet de plusieurs études. L'attention s'est portée, ces dernières années, surtout sur l'activité antioxydante des plantes médicinales en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques, en combattant le stress oxydant (Meddour et al., 2013).

Parmi ces plantes médicinales, le gingembre "*Zingiber officinale*" qui est consommé dans le monde entier comme une épice et un agent aromatisant de l'ancien temps (Gigon, 2012), est un puissant antioxydant naturel qui contribue à éliminer l'excédent des EROs présents dans l'organisme et à contrer les dommages cellulaires causés par le stress oxydatif. L'activité antioxydante du gingembre est attribuée en grande partie à ces composés phénoliques (Priyanka et al., 2022 ; Shekarforoush et al, 2020 ; Gabr et al., 2019 ; Ahd et al., 2019 ; Abd El Fadil et al., 2018 ; Hussein et al., 2017).

À partir de ces connaissances, nous nous sommes intéressés dans ce mémoire de faire une recherche bibliographique sur le phénomène du stress oxydatif et les systèmes de défense antioxydants, d'une part, et de discuter les résultats de recherches précédentes, qui ont été menées dans le but de comprendre et de lutter contre ce phénomène, d'autre part.

Cette recherche est subdivisée en deux parties essentielles, dans la première partie, le premier chapitre est une revue de littérature introduisant le concept du stress oxydant. Les sources des EROs et leurs conséquences biologiques sont abordées dans un premier temps, les propriétés des molécules antioxydantes et leur utilisation dans la lutte contre le stress oxydant, sont ensuite présentés. Le second chapitre est quant à lui dédié à la présentation générale des composés phénoliques (polyphénols) et de leurs propriétés biologiques et antioxydantes et à la connaissance de l'utilisation et des effets biologiques du gingembre (*Zingiber officinale*).

Dans la deuxième partie, nous avons exposé les principales méthodes utilisées pour le dosage des marqueurs du stress oxydant suivi d'une discussion des résultats issus des précédentes études portant sur le stress oxydatif et l'action protectrice du gingembre. Enfin, les perspectives envisagées dans la continuité de cette recherche sont également présentées.

CHAPITRE I.
STRESS OXYDANT

I. Stress oxydant

1. Radicaux libres

1.1. Généralité sur les radicaux libres

Un radical libre (RL) est une entité chimique (atome, molécule ou fragment de molécule) capable d'exister sous forme indépendante, et contenant au moins un électron célibataire ou non apparié sur sa couche électronique externe (Bonnetfont-Rousselot et al., 2003 ; Finaud et al., 2006). Cette propriété lui confère une grande instabilité et par là même une extrême réactivité chimique (Halliwell et Gutteridge, 1992). De ce fait, les radicaux libres doivent donner un électron non apparié ou arracher un électron à une molécule avoisinante, afin de tendre vers un état moins excité, donc plus stable (Fang et al., 2002).

En fait, un radical libre est symbolisé par un point ($R^\bullet$) qui indique où l'électron libre se situe et il peut se former par trois procédés (Bonnetfont-Rousselot et al., 2003) :

- Addition d'un électron libre à un non radical ($NR + e^- \rightarrow R^\bullet$) ;
- Perte d'un électron par un non radical ($NR - e^- \rightarrow R^\bullet$) ;
- Scission homolytique d'une liaison covalente ($A-B \rightarrow A^\bullet + B^\bullet$).

Les radicaux libres peuvent déclencher des réactions en chaîne très rapides conduisant souvent à la formation d'un nouveau radical (Carrière et al., 2006). La durée de vie d'un radical libre est extrêmement très courte de la nano à la milliseconde (Jacob, 1995).

1.2. Les radicaux libres biologiques

En biologie, les radicaux libres sont formés le plus souvent par gain d'électron à partir de $l'O_2$ (Droge, 2002). Les radicaux dérivés d'oxygène représentent, en effet, la classe la plus importante d'espèces radicalaires générées dans les systèmes vivants à cause de l'importance de leur métabolisme aérobie (Valko et al., 2007). Cependant, d'autres espèces radicalaires sont encore à considérer, à savoir les espèces réactives de l'azote (Palmer et al., 1988).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer (Favier, 2003) :

Des radicaux primaires : dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tel l'anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$, et le radical hydroxyle $OH^\bullet$; ou de l'azote tel le monoxyde d'azote $NO^\bullet$;

Des radicaux secondaires : se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule ;

D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites :

Espèces actives de l'oxygène : comme l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux.

L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (ERO), ou de l'anglais reactive oxygen species (ROS) (tab.1)

Tableau 1 : Principales ERO radicalaires et non-radicalaires (Favier, 2003)

Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	
Radicalaire	Non radicalaire
- Anion superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$)	- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)
- Hydroxyle ($\text{OH}^{\cdot}$)	- Acide hypochlorique (HOCl)
- Hydroperoxyle ($\text{HO}_2^{\cdot}$)	- Ozone (O_3)
- Peroxyle ($\text{RO}_2^{\cdot}$)	- Oxygène singulet ($^1\text{O}_2$)
- Alkoxy ($\text{RO}^{\cdot}$)	- Hydroperoxyde (ROOH)
- Dioxyde de carbone ($\text{CO}_2^{\cdot-}$)	- Peroxynitrite (ONOO^-)

Dans les circonstances quotidiennes normales, ces ERO sont produites en faible quantité comme des médiateurs tissulaires ou des résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cela sous le contrôle de systèmes de défense dits antioxydants, adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents (Favier, 2003). Cependant, les EROs provoquent des dommages cellulaires si elles sont produites d'une manière incontrôlée et sont alors à l'origine d'un stress oxydant (SO) (Kim et al., 2009).

2. Définition du stress oxydant

Comme cité précédemment, un stress oxydatif (ou stress oxydant) est un type d'agression des constituants de la cellule du aux espèces réactives oxygénées et aux espèces réactives azotées oxydantes qui vont s'attaquer aux membranes cellulaires, aux protéines et à l'ADN. Il

peut être induit lors de la surproduction d'espèces réactives et /ou par suite de l'inhibition des systèmes antioxydants qui peuvent être inactivés soit directement, soit par défaut de synthèse. Le stress oxydant correspond donc à un déséquilibre entre molécules pro-oxydantes (espèces réactives oxygénées) et molécules de défenses antioxydants (vitamines, enzymes) au niveau cellulaire (Peltier et al., 2004).

3. Mécanismes de production des principales ERO

Parmi les ERO, on peut distinguer quatre espèces principales (fig.1) : l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle ($OH^{\cdot}$) et l'oxygène singulet (1O_2) :

3.1. L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$

C'est l'une des premières ERO à être formées, l'espèce la plus couramment générée par la cellule (Cai et Harrison, 2000). L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ constitue également le précurseur de la plupart des EROs et induit les réactions oxydatives en chaîne (Abele et al., 2002).

Il est formé par l'acquisition d'un électron par l'oxygène moléculaire (Gardès-Albert et al., 2005). En réalité, l'oxygène moléculaire est un élément bi-radicalaire parce qu'elle possède deux électrons non appariés sur des orbitales différentes. En présence d'une quantité d'énergie suffisante, il est capable de capter un électron pour donner le radical superoxyde $O_2^{\cdot-}$ qui est un radical modérément réactif (Gardès et al., 2005) :



L'anion superoxyde est peu réactif car il n'est pas capable de traverser les membranes. Ainsi, il se retrouve piégé dans le compartiment où il a été formé. La demi-vie de l'anion superoxyde en milieu aqueux est très courte car il peut se dismuter spontanément en dioxygène et peroxyde d'hydrogène (Thannickal et Fanburg, 2000).

3.2. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (appelé également eau oxygénée) est formé par l'addition d'un second électron sur l' $O_2^{\cdot-}$ donnant comme intermédiaire l'anion peroxyde O_2^{2-} , qui se protone facilement pour donner H_2O_2 . Toutefois, la principale production de H_2O_2 résulte de la dismutation de l' $O_2^{\cdot-}$ selon la réaction suivante (Daum-Badouard, 2006) :



Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 n'est pas une espèce radicalaire et peut donc diffuser très facilement à travers les membranes. De ce fait, son action n'est pas restreinte à son lieu de

production mais peut se dérouler dans différents compartiments cellulaires tel que le noyau, ce qui en fait une ERO assez toxique (Barouki, 2006).

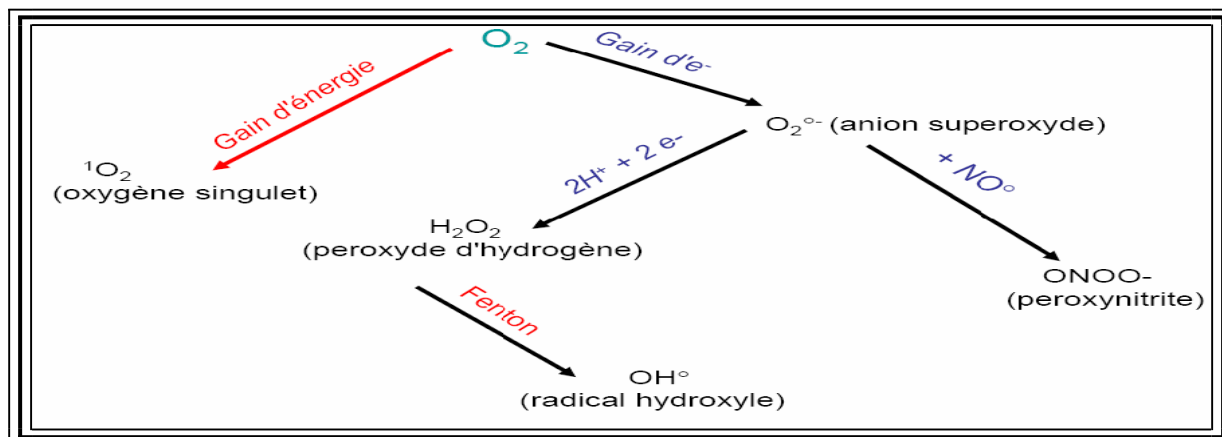


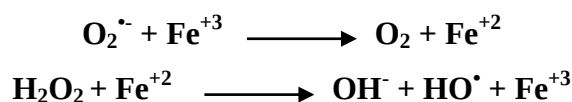
Figure 1 : Mécanismes de production des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Behrend et al., 2003)

3.3. Le radical hydroxyle HO•

Le radical hydroxyle, est généré par la réaction du peroxyde d'hydrogène avec l'anion superoxyde (réaction d'Haber-Weiss), engendrant alors un ion OH⁻ inoffensif et un radical hydroxyle HO• (Comhair et Erzurum, 2002) :



Cette réaction est lente et probablement inopérante dans les tissus vivants. Mais, en revanche, en présence de métaux de transition (fer, cuivre), l'H₂O₂ donne naissance in vivo via la réaction de Fenton à un radical hydroxyle HO• hautement réactif (Goldstein et al., 1993) :

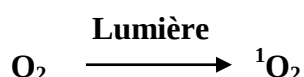


Les réactions en chaîne représentent l'un des plus grands dangers du radical OH•. En revanche, l'H₂O₂ et l'O₂•⁻ ne sont pas suffisamment réactifs pour déclencher des réactions en chaîne (Lau et al., 2008 ; Aprioku, 2013). En fait, le radical hydroxyle a une demi-vie extrêmement courte et une capacité à diffuser restreinte, il est capable de réagir très rapidement avec la plupart des molécules biologiques comme l'ADN, les protéines, les sucres et les lipides membranaires (Delattre et al., 2005), en transformant la molécule cible en radical libre très

réactif. Ce radical nouvellement formé peut alors interagir avec d'autres molécules cibles déclenchant ainsi des réactions en chaîne. Le radical hydroxyle apparaît donc comme l'espèce réactive ayant une responsabilité majeure dans la cytotoxicité des radicaux libres (Gutteridge, 1993).

3.4. L'oxygène singulet $^1\text{O}_2$

L'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), une autre espèce réactive de l'oxygène, est principalement produit dans le vivant suite à une exposition à des rayons lumineux (Freinbichler et al., 2011) :



L'état "excité" de l'oxygène singulet lui confère un potentiel oxydant supérieur à celui de l'oxygène (Bonnefont-Rousselot et al., 2003), qui peut directement oxyder des protéines, d'ADN et des lipides et causer des dommages tissulaires (Halliwell, 2006).

Toutefois, il existe d'autres ERO tel que le monoxyde d'azote ($\text{NO}^\bullet$), qui a un rôle dans de multiples fonctions physiologiques (De Backer, 2006). Mais, à forte concentration, le $\text{NO}^\bullet$ devient délétère pour les cellules notamment en réagissant avec $\text{O}_2^\bullet$ pour former un puissant oxydant le peroxynitrite ($\text{ONOO}^\bullet$), qui peut secondairement se décomposer en d'autres oxydants comme $^\bullet\text{NO}_2$ et le $\text{OH}^\bullet$ (Densiov et Afanas'ev, 2005).

4. Sources des ERO ou ROS

Les systèmes endogènes pouvant induire la production de ROS sont en général des processus biologiques utiles pour les cellules (Wolff et al., 1991). Les différents types des ROS sont, en effet, produits d'une manière endogène lors du métabolisme mitochondrial, dans le peroxysome ainsi que par une variété de système d'enzymes cytosoliques. Cependant, certain nombre d'agents extérieurs peuvent déclencher la production de ROS (Taibur et al., 2012).

4.1. Sources endogènes

- **Mitochondrie**

La mitochondrie est considérée comme une des principales sources de ROS dans la cellule par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire (fig.2). Elle produirait, en effet, 90% des ROS cellulaires (Balaban et al., 2005). Cette production centralisée de ROS est due au fait que la mitochondrie est le lieu central de consommation de l'oxygène au cours de la phosphorylation oxydative (Qutub et Popel, 2008).

Cet organe produit la majeure partie de l'énergie cellulaire grâce aux processus de phosphorylation oxydative où l'oxydation de divers substrats métaboliques (tels les glucides et les acides gras en particulier) produit de l'eau et de l'adénosine triphosphate (ATP), avec l'oxygène (O_2) comme accepteur final d'électrons (Nicholls et Ferguson, 2002).

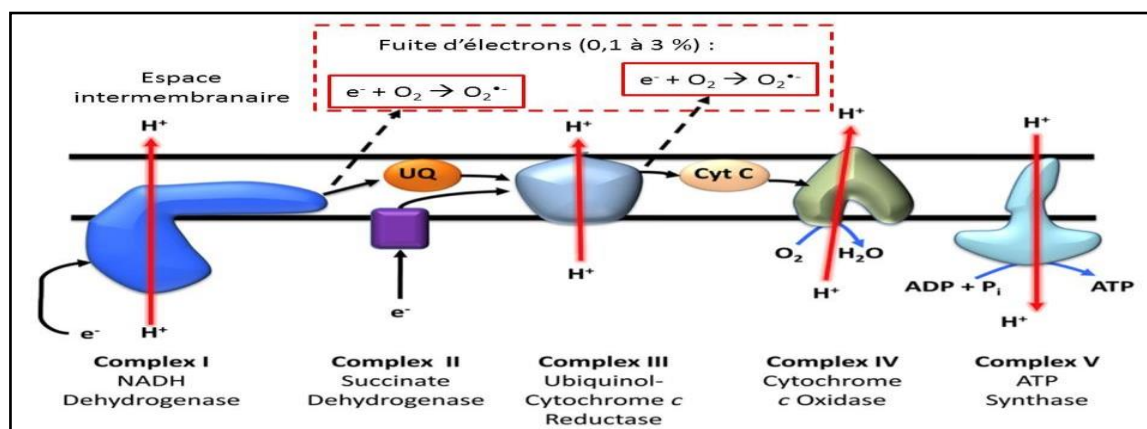


Figure 2 : Fuite d'électrons source de ROS au sein de la chaîne de transport d'électrons D'après (Ghoulé et al., 2011) : (UQ : Ubiquinone ; Cyt C : Cytochrome

Comme le montre la figure 2, la réduction de l'oxygène en eau nécessite l'apport de quatre électrons (Beckman et Ames, 1998). Or, des réductions à un seul électron, produisant des anions superoxyde, peuvent aussi survenir (Abele et al., 2002). Cette réduction partielle d'oxygène dans la mitochondrie est due à la fuite d'électrons dans la chaîne respiratoire qui a lieu dans la membrane interne mitochondriale.

Cette fuite se produit principalement au niveau des complexes I (NADH deshydrogénase) et III (ubiquinone – cytochrome c réductase) et mène à la production du radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le précurseur des ROS (McLennan et Degli Esposti, 2000). Selon les sources, cette fuite d'électrons représente entre 0,1 et 3% du flux total de la chaîne respiratoire (Beckman et Ames, 1998).

• Peroxysomes

Les peroxisomes sont des organites intracellulaires catalysant des réactions essentielles pour la cellule comme la bêta-oxydation de certains acides gras et l'alpha-oxydation de l'acide phytanique. Toutes ces réactions d'oxydation conduisent à la production de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), neutralisé ensuite par la catalase peroxisomale (enzyme antioxydante) afin de réaliser des réactions de peroxydation d'autres substrats. Ces réactions sont importantes dans le processus de détoxification présent dans le foie et le rein (Schrader et Fahimi, 2004).

- **Réticulum endoplasmique**

Le réticulum endoplasmique lisse contient des enzymes qui catalysent une série de réactions pour détoxifier les molécules liposolubles et d'autres produits métaboliques toxiques (Turrens et al., 1982 ; Freeman et al., 1983). La plus connue de ces enzymes est le cytochrome P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques, tout en produisant des ROS (Morel et Barouki, 1999).

Ainsi, il existe de nombreuses autres sources de ROS, parmi lesquelles l'autooxydation des petites molécules, la xanthine oxydase et la NADPH oxydase :

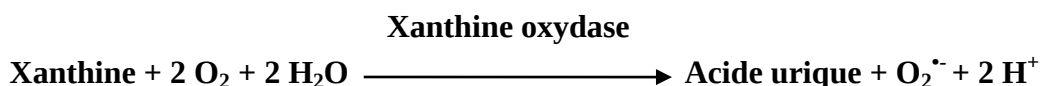
- **L'autooxydation de molécules**

L'auto-oxydation de molécules telles que la dopamine, l'adrénaline, les flavines et les hydroquinones est une importante source de ROS (Freeman et Crapo, 1981). Le produit direct de ces auto-oxydations est souvent l' $O_2^{\cdot -}$ (Thannickal et Fanburg, 2000).

- **Xanthine oxydase**

Il existe deux types de xanthine oxydase inter-convertibles également connus sous le nom de xanthine oxydoréductase (XOR) qui diffèrent par leur forme et par leur mode d'action. Elles peuvent être soit de type xanthine oxydase (XO), dépendantes de l' O_2 , soit de type xanthine déshydrogénase (XD), dépendantes du NAD^+ (Favier, 2003).

La xanthine oxydase est une enzyme cytosolique qui génère des ROS en réduisant l'hypoxanthine en xanthine ainsi que la xanthine en acide urique (Harrison, 2002). Au cours de cette oxydation, elle utilise l'oxygène moléculaire comme un accepteur d'électrons tout en produisant l' $O_2^{\cdot -}$ (O'Mahony et al., 2013) :



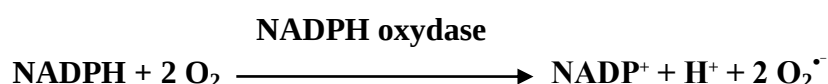
La xanthine oxydase est surtout présente dans le foie mais peut se retrouver dans la circulation en cas d'atteinte hépatique. La production de ROS par la xanthine oxydase est faible en condition physiologique mais jouerait un rôle important lors de l'ischémie-reperfusion. Dans le cas de l'ischémie, la grande consommation de l'ATP conduit à une accumulation d'hypoxanthine et de xanthine et donc une production de ROS plus importante.

L'activité de la xanthine oxydase a aussi été détectée dans le cytosol des cellules endothéliales bovines (Jarasch et al., 1981), sur la surface cellulaire de cellules endothéliales humaines (Rouquette et al., 1998), dans le plasma circulant (Tan et al., 1995) et dans les cardiomyocytes (Abadeh et al., 1992).

- **NADPH oxydase**

La nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase (ou NADPH-oxydase) est un complexe enzymatique membranaire. Les NADPH oxydases (Nox) ont d'abord été considérées comme des enzymes uniquement exprimées dans les cellules immunitaires (macrophages et monocytes). Il a ensuite été découvert qu'il existait 7 isoformes de NADPH oxydase exprimées dans divers tissus et impliquées dans divers processus biologiques (Paravicini et Touyz, 2008).

Les NADPH oxydases catalyse la réduction monoélectronique de l'oxygène en $O_2^{\cdot-}$, en utilisant le NADH et le NADPH comme donneur d'électrons selon la réaction (Bennamara, 2017) :



Après sa production, l'anion superoxyde se dismute hors la cellule en H_2O_2 (Hala, 2008). La NADPH oxydase a la particularité de présenter des domaines intra-, trans- et extra-membranaires, cette particularité va permettre la libération de l'anion superoxyde à l'intérieur ou à l'extérieur de la cellule (Souza et al., 2001) et joue un rôle fondamental dans la réponse immunitaire précisément dans la lutte contre les micro-organismes (Babior, 1999). Il existe aussi les NOX dans des cellules non phagocytaires où elles ont une activité de 10 à 100 fois moins élevée que celle des cellules phagocytaires et les ERO qu'elles produisent jouent un rôle dans la signalisation intracellulaire (Favier, 2003).

4.2. Sources exogènes

À côté de ces productions endogènes, il existe également des sources exogènes qui sont à l'origine d'une augmentation de la production de ROS dans notre organisme et sont générateurs du stress oxydant.

Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux, pollutions diverses, produits chimiques ainsi que des contaminations par des métaux lourds

(Priyadarsini, 2005). Les nombreuses sources potentielles de ROS exogènes comprennent également les radiations, les infections pathogènes, les pesticides, les toxines, les UV et la fumée de cigarette (Kregel et Zhang, 2007). La surproduction de ROS peut être aussi liée à des carences en certains nutriments (Vitamines, oligoéléments,...) essentiels (Priyadarsini, 2005).

5. Cibles biologiques des ROS

En plus des fonctions biologiques, la réactivité particulière des ROS ajoute des propriétés toxiques et diversifiées (Barouki, 2006 ; Valko et al., 2007). Le stress oxydatif dû aux radicaux libres entraîne des dégâts tissulaires (fig.3) essentiellement par l'oxydation des protéines, de l'ADN ou des lipides (Laight et al., 2000).

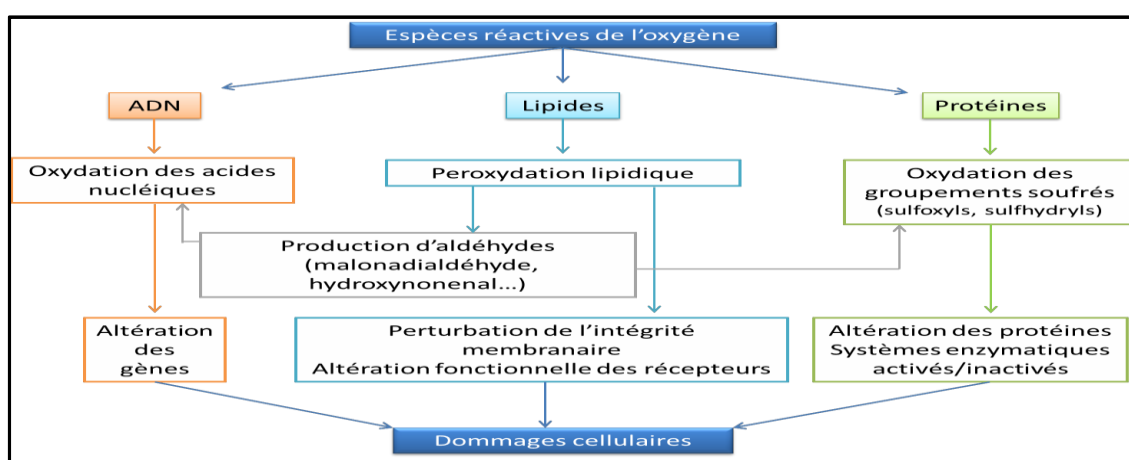


Figure 3 : Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène (Monteil et al., 2004)

5.1. Peroxydation lipidique

Les premières cibles des ERO sont les lipides, notamment ceux présents dans les membranes cellulaires et subcellulaires (Hulbertl, 2005 ; Pamplona et al., 2000). Au sein des lipides, les espèces les plus sensibles sont les acides gras polyinsaturés (AGPI) (Acar et al., 2007).

En fait, plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé (Halliwell et Gutteridge, 1989). La position d'un ou plusieurs groupements méthylène entre leurs doubles liaisons les rend particulièrement sensibles à l'oxydation par les métaux et les radicaux libres oxygénés, cette oxydation est appelée "peroxydation lipidique" (Therond, 2006). Le mécanisme radicalaire comporte trois étapes successives (fig.4) :

❖ **L'initiation** : qui consiste en la rupture homolytique, occasionnée par un initiateur radicalaire (tel que le radical hydroxyle $\text{OH}^\bullet$), d'une liaison C-H de la chaîne d'un acide gras, ce qui en fait un composé radicalaire (diène conjugué) très réactif vis-à-vis de l'oxygène et qui va donc se transformer en radical peroxyde ($\text{LOO}^\bullet$).

❖ **La propagation** : au cours de laquelle le radical peroxyde va arracher un hydrogène à un autre acide gras, créant un nouveau radical et entretenant ainsi une réaction en chaîne, pour se transformer en hydroperoxyde.

❖ **La terminaison** : les hydroperoxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution, être réduits et neutralisés par la vitamine E (antioxydant) intercalée dans la bicouche lipidiques des membranes (Luc et al., 1991 ; Halliwell, 1996 ; Favier, 2003), ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en produits secondaires c'est-à-dire en aldéhydes très réactifs, pouvant être considérés comme des messages secondaires toxiques qui augmente les dommages initiaux dus aux radicaux libres (Marnett, 1999).

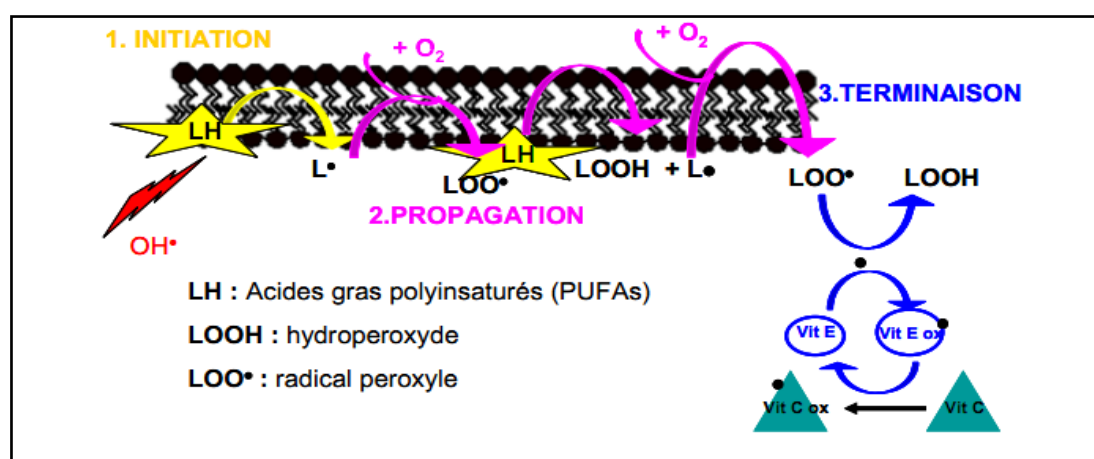


Figure 4 : Réactions de la peroxydation lipidique (Daum-Badouard, 2006)

Parmi les aldéhydes formés : l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE), sont très étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique (Echtay et al., 2003). Les deux derniers produits (MDA, 4HNE) réagissent avec les protéines et l'ADN, une fois fixé à la molécule d'ADN, le MDA semble être le produit le plus mutagène, alors que le 4-HNE est le plus toxique pour la cellule (Marnett, 1999).

La peroxydation lipidique est suivie d'un changement structural des membranes biologiques (Pacifici et al., 1994), ou d'autres éléments contenant des lipides (Niki et al., 2005 ;

Stark, 2005 ; Al-Mutairi et al., 2007). Ces perturbations fonctionnelles peuvent aboutir à la mort des cellules (Bonnefont-Rousselot, 1994).

5.2. Oxydation des protéines

Les protéines étant abondantes au sein des cellules, elles constituent une cible importante des ERO (fig.5). Ces dernières peuvent attaquer les protéines à plusieurs endroits : au niveau de leur squelette ou au niveau des chaînes latérales des acides aminés. Les ERO, en particulier le radical hydroxyle, sont capables d'extraire un atome d'hydrogène sur les carbone- α de la chaîne polypeptidique, entraînant la formation de radicaux peroxydes. Ces derniers vont ensuite former des dérivés carbonés ou des amides, entraînant la fragmentation des protéines (Höhn et al., 2013).

Le radical hydroxyle peut aussi attaquer les acides aminés de manière individuelle. Ainsi, la méthionine et la cystéine sont particulièrement sensibles à ce dernier. L'attaque des groupements thiols de ces acides aminés entraîne la formation de sulfoxydes de méthionine et de ponts disulfures (Phaniendra et al., 2015).

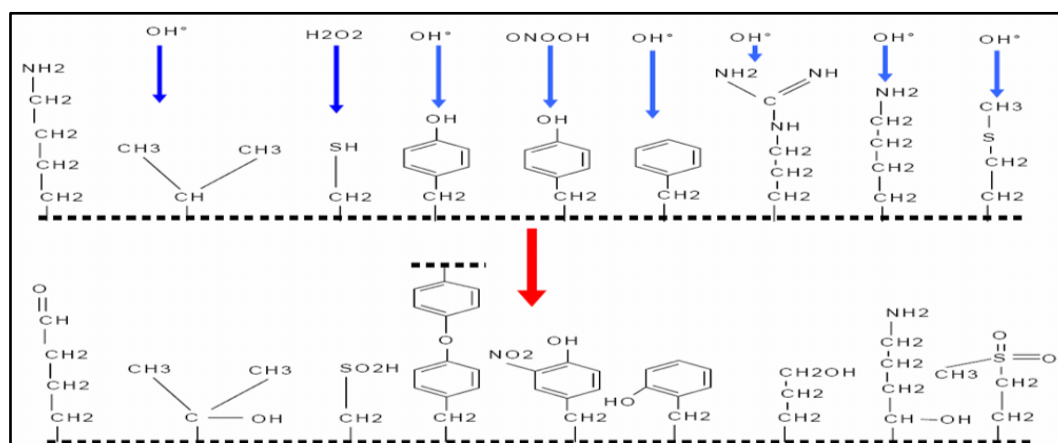


Figure 5 : Nature de quelques modifications des chaînes d'acides aminées des protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003)

5.3. Oxydation de l'ADN

Les ADN nucléaires et mitochondriaux constituent une cible cellulaire importante (fig.6). Les bases qui composent l'ADN sont sensibles à l'oxydation. Ces attaques sont essentiellement causées par le $\text{HO}^\bullet$ (Cadet et al., 2002). Elles sont de différents types (Grandjean, 2005) :

- Modification de base azotée, en particulier la guanine qui peut être transformée en 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OHdG) ou encore la thymine en thymine glycol. Cela entraîne

un non-appariement des bases, ou un mauvais appariement, ou encore un blocage de la réplication de l'ADN ;

- Destruction de la liaison entre la base et le désoxyribose, à l'origine d'un site dépourvu de base ou « abasique », qui s'avère être non fonctionnel ;
- Destruction du désoxyribose, responsable d'une cassure de brin, létale pour la cellule ;
- Formation de pontages avec des protéines, ou avec des dérivés d'oxydation lipidique (des aldéhydes mutagènes tel que le MDA, formant des adduits sur les bases de l'ADN de type MDA-guanine).

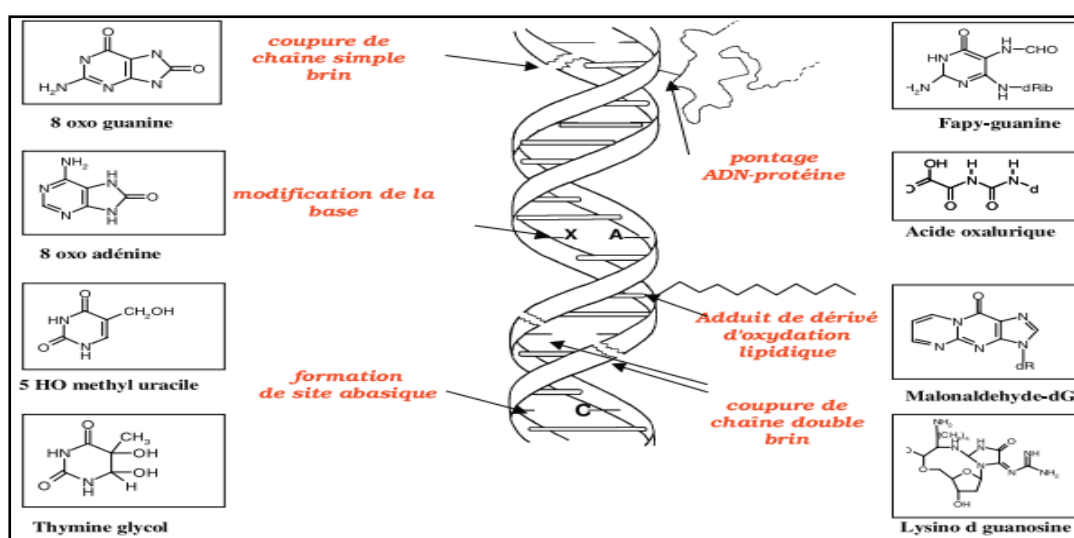


Figure 6 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003)

Ces altérations de la molécule d'ADN peuvent conduire à une mutagenèse, à un arrêt des divisions cellulaires par blocage des mécanismes de réplication, à un arrêt de la synthèse protéique par blocage des mécanismes de transcription/traduction, et enfin à une mort cellulaire (Grandjean, 2005).

6. Antioxydants

L'organisme est capable, dans une certaine mesure, de limiter les dommages dus aux radicaux libres, grâce à des mécanismes de défense enzymatiques et chimiques (Hennebelle, 2006). Les molécules ou microconstituants capables d'interférer avec les radicaux libres sont appelés antioxydants (Valko et al., 2006).

6.1. Définition

Du point de vue biologique, les antioxydants sont toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat, et dont les produits de réaction avec l'oxydant ne sont pas toxiques (Durackova et al., 2008).

Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi aux petites molécules hydro- ou liposolubles (Delattre et al., 2005). Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous organismes, qu'ils soient intracellulaire, membranaires ou extracellulaires (Cano et al., 2006).

6.2. Mode d'action

Indépendamment de leur localisation, les antioxydants peuvent agir à deux niveaux : en prévenant la formation de radicaux libres oxygénés ou en épurant les radicaux libres oxygénés. (Penna et al., 2009). En fait, en fonction de leur mécanisme d'action on distingue des antioxydants inhibiteurs des radicaux libres, décomposeurs des peroxydes, désactivateurs des ions métalliques, ou des piègeurs d'oxygènes (Dziezak, 1986). En complément de ces mécanismes, l'organisme est en outre capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire (Penna et al., 2009).

6.3. Les systèmes de défense antioxydants

Les systèmes antioxydants présents dans l'organisme sont, soit d'origine endogène, soit exogène. On distingue également les antioxydants enzymatiques des antioxydants non enzymatiques (Niki, 2010). Les antioxydants peuvent donc être produits de façon endogène ou provenir de sources exogènes, comme l'alimentation ou les suppléments antioxydants (Vertuani et al., 2004) :

6.3.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques

Les systèmes antioxydants enzymatiques sont d'origine endogène. Ces différentes enzymes sont en interrelation dans la régulation du stress oxydant intracellulaire (Matés et al., 1999). Les enzymes antioxydantes sont les premières lignes de défenses contre les entités oxydantes. Leur rôle est de diminuer la quantité de ROS présentes dans la cellule. Parfois ces enzymes nécessitent des oligo-éléments (Cu, Zn, Mn, Se, Fe) comme cofacteurs pour pouvoir exercer leur activité enzymatique.

Les principales enzymes antioxydantes sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) (Garrel et al., 2007). Ces enzymes ont une action complémentaire (fig.7) sur la cascade radicalaire au niveau de l' $O_2^{\cdot-}$ et du H_2O_2 , conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (Lehucher-Michel et al., 2001).

- ***La Superoxyde dismutase (SOD)***

La SOD est une enzyme essentielle de défense contre les ERO. Elle est capable de transformer par dismutation de l'anion superoxyde, première espèce toxique en une molécule d'oxygène et de peroxyde d'hydrogène qui est beaucoup moins réactif (Zelko et al., 2002).



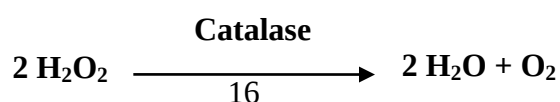
Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au centre de l'enzyme dont la nature permettra de distinguer (Favier, 2003) : les superoxydes dismutases à manganèse (MnSOD) protégeant la mitochondrie ; des superoxydes dismutases à cuivre-zinc protégeant le cytosol (cCu-Zn SOD), la face externe de la membrane des cellules endothéliales (ecCu- Zn SOD) ou le plasma sanguin (pCu-Zn SOD).

Cependant, le peroxyde d'hydrogène généré par les SODs est notamment impliqué dans la réaction de Fenton qui produit un radical très réactif, le radical hydroxyle ($OH^{\cdot}$). Ainsi, le peroxyde d'hydrogène est détoxifié par une seconde ligne de défenses composée d'autres enzymes telles que la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) (Ganther, 1999).

- ***La Catalase (CAT)***

La catalase est parmi les antioxydants puissants les plus connus dans la nature (Ratnam et al., 2006). Cette enzyme est localisée principalement dans les peroxysomes et les mitochondries (Deaton et Marlin, 2003). Elle se produit en abondance dans le corps, avec la plus grande activité dans le foie, suivie par les érythrocytes, puis les poumons (Ratnam et al., 2006).

C'est une enzyme héminique capable de transformer par dismutation le peroxyde d'hydrogène (généralement produit par les SOD) en eau et oxygène moléculaire (Bonfont-Rousselot et al., 2003) :



De ce fait, la CAT a un rôle essentiel dans l'acquisition de la tolérance au stress oxydatif et dans la réponse adaptative des cellules (Góth et al., 2004). Elle joue, en effet, un rôle significatif en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse s'amplifier (Cantin, 1999). Ainsi, divers états pathologiques et anomalies sont associés à la carence ou à la mutation de cette enzyme (Góth et al., 2004).

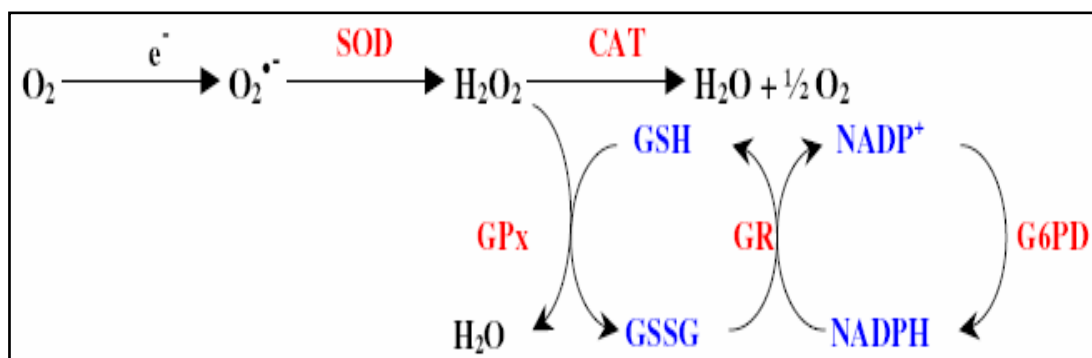
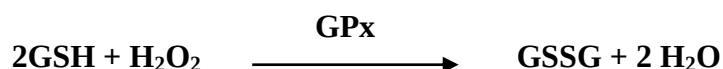


Figure 7 : Représentation schématique des mécanismes de défenses enzymatiques antioxydantes (Mate et al., 1999)

- ***La Glutathion peroxydase (GPx) et reductase (GR)***

La glutathion peroxydase ou GPx est une enzyme tétramérique permettant également la décomposition du H_2O_2 . Elle agit plus lentement que la catalase mais elle a une meilleure affinité pour le H_2O_2 que cette dernière. La GPx est donc essentielle à la décomposition du H_2O_2 produit de manière continue et à des niveaux physiologiques dans la cellule.

Les GPx sont des enzymes sélénium-dépendantes ou sélénium-indépendantes et sont soit cytosoliques, comme c'est le cas de la première GPx identifiée (Mills, 1957), soit extracellulaires. Les GPx permettent la décomposition de H_2O_2 par l'oxydation de son co-substrat le glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG) qui sera réduit par la suite par l'action de la glutathion réductase.



La glutathion réductase ou GR n'est pas une enzyme antioxydante à proprement parler dans le sens où elle n'a pas d'action directe sur les ROS. En revanche, elle a un rôle très important dans la réduction du glutathion, puissant antioxydant et co-substrat de la GPx.

En effet, le fonctionnement de la GPx nécessite un flux de glutathion recyclé par la coopération de plusieurs enzymes dont la glutathion réductase (GR) qui réduit le glutathion oxydé en consommant du NADPH, lui-même régénéré grâce à la glucose 6 phosphate deshydrogénase (G6PDH) alimentée par le shunt des pentoses phosphates (fig.6) (Mate et al., 1999).

Les GPx permettent aussi la détoxification des cellules de certains hydroperoxydes (ROOH) qui sont les ROOH des esters de cholestérol, des phospholipides des membranes cellulaires, des lipoprotéines et de l'ADN (Delattre et al., 2005 ; Schrader et Fahimi, 2006 ; Valko et al., 2007). Ces hydroperoxydes vont alors se transformer en alcools (ROH) selon la réaction suivante (Halliwell et Gutteridge, 2008) :



6.3.2. Les systèmes antioxydants non enzymatiques

Dans ce groupe d'antioxydants on peut distinguer deux types : les antioxydants endogènes et les antioxydants exogènes (Ribeiro et al., 2001) :

6.3.2.1. Antioxydants non enzymatiques endogènes

Ce groupe d'antioxydants renferme de nombreuses molécules endogènes synthétisées par les cellules :

- **Le Glutathion (GSH)**

Le glutathion est un tripeptide (acide γ -glutamique-cystéine-glycine) connu par son puissant pouvoir antioxydant (Menon et Goswani, 2007). Le foie est la principale source de la synthèse du glutathion (Sies, 1999), il est également abondant dans le cytosol, les noyaux et les mitochondries. Il est le principal antioxydant soluble dans ces compartiments cellulaires (Rahman, 2007). Le groupement actif de glutathion est le sulfhydryle (-SH) de la cystéine (Sies, 1999 ; Deaton et Marlin, 2003), qui peut aisément accommoder la perte de l'électron unique (Rahman, 2007).

Le glutathion (GSH) est impliqué dans de nombreux processus métaboliques, parmi lesquels le maintien des communications intercellulaires (Barhoumi et al., 1993) et la prévention de l'oxydation des groupements thiols grâce à son pouvoir réducteur. Il piège les espèces réactives de l'oxygène car il réagit notamment avec le radical hydroxyle (Bump and Brown, 1990). Il est intéressant de noter que le GSH peut chélater les ions Cu^+ et ainsi limiter leur participation à la génération de radicaux libres par la réaction de Fenton (Hanna and Mason, 1992). Dans certaines conditions physiologiques, le GSH protège l'ADN contre $^1\text{O}_2$ (Lafleur et al., 1994).

Comme citée précédemment, le glutathion réduit (GSH) est aussi le substrat indispensable aux réactions qui éliminent les peroxydes à partir de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) et de la glutathion réductase (GR). Au cours de l'oxydation du glutathion (fig.8), deux molécules de GSH se lient en formant un pont disulfure (S-S) par l'oxydation du groupement -SH de chaque cystéine. De cette réaction résulte la formation de glutathion oxydé ou disulfide (GSSG) (Dwassy, 2014).

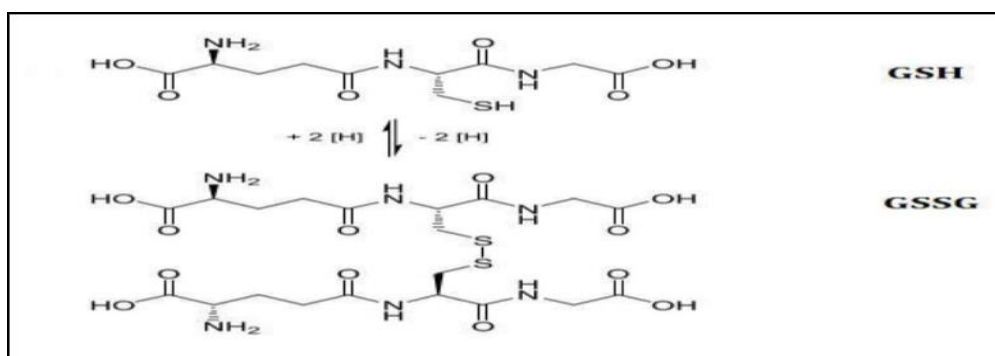


Figure 8 : État d'oxydation du glutathion (Raman et Berry, 2011)

Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car, plus le flux d' H_2O_2 est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté (Ji et Fu, 1985).

- ***L'Acide urique***

Issu du catabolisme des purines, l'acide urique (AU) joue un rôle important dans le système antioxydant. Il apparaît comme étant l'antioxydant plasmatique le plus réactif avec les ROS, contribuant à lui seul à 60 % de la capacité antioxydante du plasma grâce à sa concentration élevée (Zhao et al., 2009).

Au début des années 80, Ames et al ont proposé que l'AU puisse avoir une signification biologique en tant qu'antioxydant et ont montré, par des expériences in vitro, qu'il est un puissant capteur de radicaux peroxy ($\text{RO}_2^\bullet$), de radicaux hydroxyle ($\text{OH}^\bullet$) et d'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$). Il est également un neutralisant puissant de l'ozone, de l'acide hypochloreux et du radical superoxyde (Sekli-belaidi, 2011 ; Mimouni, 2020). Après réaction avec les ERO et d'autres agents oxydants, l'acide urique peut être oxydé en différents produits dont le prédominant est l'allantoïne (Hellsten et al., 2001), puis est régénéré par la vitamine C (Vasconcelos et al., 2007).

- **La bilirubine**

La bilirubine est le produit terminal de la dégradation de l'hème de plusieurs protéines hémiques d'intérêt biologique comme l'hémoglobine des hématies et la myoglobine des muscles (Halliwell et Gutteridge, 2008 ; Paredi et al., 2002).

Elle est fortement liée aux protéines et lipoprotéines plasmatiques et potentialise la défense antioxydante sanguine (notamment avec l'albumine) (Halliwell et Gutteridge, 2008). La bilirubine est capable de piéger les radicaux peroxy, l'oxygène singulet et le radical hydroxyle, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (Algeciras-schimmich et al., 2007). Elle trouve donc toute son expression dans la protection des membranes cellulaires contre la peroxydation lipidique (notamment des cellules sanguines) et des protéines plasmatiques (Paredi et al., 2002).

- **La Coenzyme Q10**

Découvert en Angleterre par Morton, le coenzyme Q, aussi appelé ubiquinone en raison de son ubiquité dans les cellules, est une molécule antioxydante qui se singularise par un comportement particulier (Pincemail et Defraigne, 2003). Il s'agit d'un dérivé benzoquinonique avec une longue chaîne latérale isoprénique (fig.9). Dans la majorité des tissus des mammifères, cette chaîne possède dix unités isoprénoïdes (d'où le nom de CoQ10) mais, dans d'autres organismes, elle n'est formée que de six (CoQ6) ou huit (CoQ8) unités.

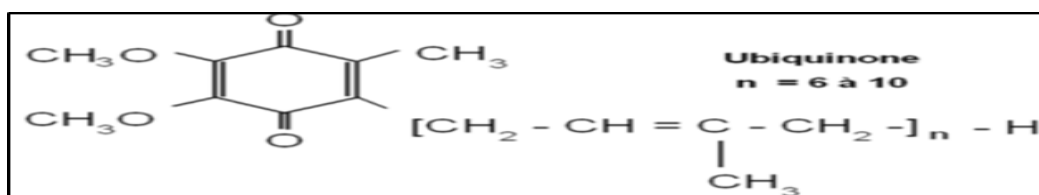


Figure 9 : Structure chimique des ubiquinones (Haleng et al., 2007) (n peut varier de 6 à 10)

Cette chaîne latérale confère à la molécule un caractère lipophile important qui lui permet de s'insérer dans toutes les membranes cellulaires, subcellulaires et les lipoprotéines sériques (Pincemail et Defraigne, 2003).

La coenzyme Q10 exerce à la fois un rôle de transporteur d'électrons et un rôle d'antioxydant. Sous sa forme réduite, elle limite la peroxydation lipidique en réagissant directement avec les hydroperoxydes ou indirectement en régénérant la vitamine E (Beyer, 1994). Son effet anti-oxydant s'exerce aussi au niveau de l'ADN et des protéines, étant donné que le coenzyme Q est le seul anti-oxydant liposoluble endogène (Bentinger et al., 2010).

6.3.2.2. Antioxydants non enzymatiques exogènes

En outre, le système oxydant du corps humain comprend des molécules exogènes, c'est-à-dire apportées par l'alimentation, telle que la vitamine E, le b-carotène (provitamine A), la vitamine C (acide ascorbique), les polyphénols et autres phytonutriments. Les polyphénols seront particulièrement développés par la suite.

- **La Vitamine E**

La vitamine E (fig.10) regroupe la famille des tocophérols (alpha, bêta, gamma, delta) avec une activité anti-oxydante variable. L'alpha tocophérol est la forme la plus active de la classe des tocophérols. Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines, où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique (elle capte le radical lipidique peroxyde $\text{LOO}^{\bullet}$) induite par le stress oxydant (Khalil, 2002 ; Vertuani, 2004).

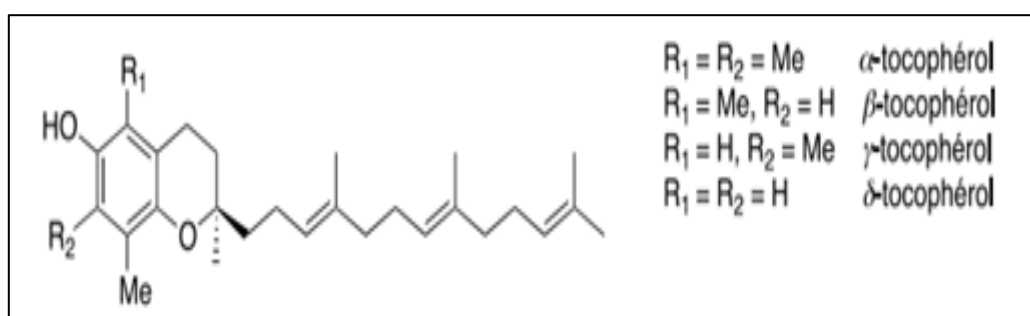


Figure 10 : Structure chimiques des vitamines E (Desmier, 2016)

La régénération de l'alpha tocophérol se fait selon 2 voies : soit via la vitamine C, soit en mettant en jeu la tocophéryle réductase qui en présence de GSH redonne de l' α -tocophérol (Brigelius-Flohe et al., 1999).

- ***La Vitamine C***

La vitamine C (acide ascorbique) est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles, présent dans les fluides intra et extracellulaires. Ces activités biologiques viennent de son puissant potentiel réducteur, agit principalement en piégeant directement et très efficacement les radicaux superoxydes et hydroxyles, elle peut aussi recycler la vitamine E pour l'aider à prévenir l'oxydation des lipides (Packer et al., 1997 ; Evans, 2000).

- ***La Vitamine A***

La vitamine A est un nom générique pour les rétinoïdes (rétinol, rétinal et acide rétinoïque) et les provitamines A ou les caroténoïdes (bêta-carotène, lutéines, lycopènes,...). Le β -carotène est le principal précurseur de la vitamine A. Les autres caroténoïdes peuvent être de puissants antioxydants, mais ils sont moins connus et abondants. Les caroténoïdes piègent les molécules d'oxygène singulet formées par les radiations solaires. Grâce à leur longue chaîne carbonée, riche en doubles liaisons, ils sont également de bons piègeurs de radicaux peroxydes. Une molécule de caroténoïde peut piéger plusieurs espèces radicalaires avant d'être détruite (Goudable et Favier, 1997).

Ils existent également toute une série de composés naturellement apportés par l'alimentation, comme par exemple les polyphénols et les différents thiols (Vamecq et al., 2004). Les polyphénols sont retrouvés sous forme de dérivés glucosidiques dans de nombreux fruits et légumes ; ils se répartissent en flavonoïdes, acides phénoliques, lignanes et stilbènes qui ont un pouvoir antioxydant important (Urquiaga et Leighton, 2000).

7. Les maladies liées au stress oxydant

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution (Favier, 2003). La multiplicité des conséquences médicales de ce stress oxydant vient du fait que de nombreux organes ou tissus peuvent devenir la cible d'un stress oxydant (Bonnefont-Rousselot et al., 2001 ; sohal et al., 2002 ; Delattre et al., 2005).

De nombreuses pathologies (fig.11), à savoir les maladies neurologiques, les cancers, les processus inflammatoires ou encore le vieillissement accéléré, sont associées au stress oxydant.

Ce dernier est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tels le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaire (Zhang et Jope, 1999 ; Favier, 2003).

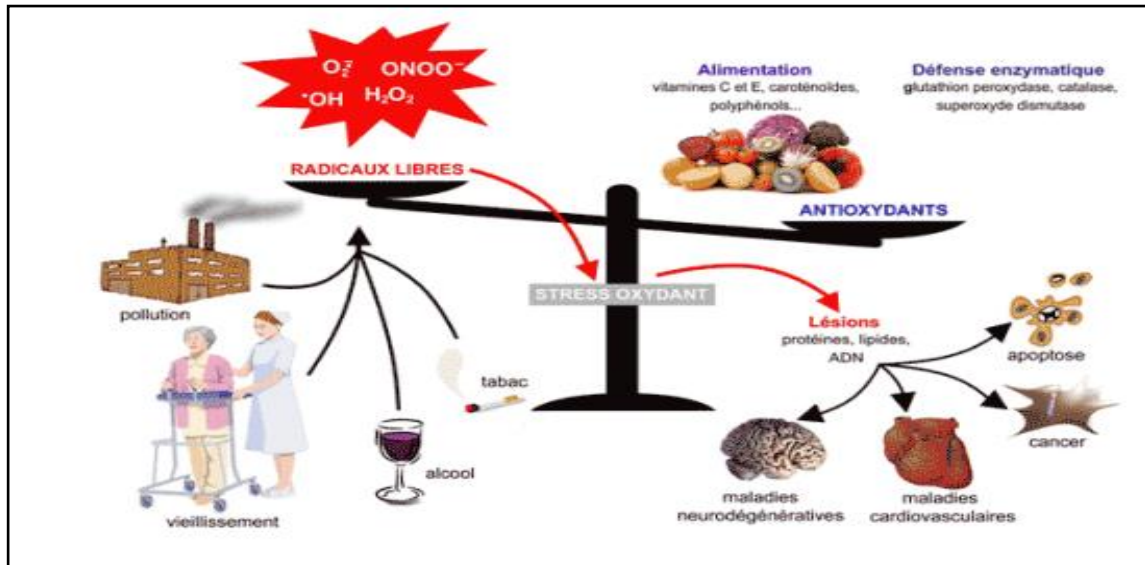


Figure 11 : Différents pathologies associées au stress oxydant (Morandat et al., 2013)

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux. L'augmentation de l'apport nutritionnel en antioxydant visera donc essentiellement à prévenir ces maladies, de même, une consommation régulière en antioxydant pourrait avoir un effet bénéfique, mais essentiellement préventif (Favier, 2003).

CHAPITRE II.

POLYPHÉNOLS DU GINGEMBRE

II. Polyphénols en tant qu'antioxydants

Comme nous l'avons décrit, le stress oxydant peut être induit par un dysfonctionnement des défenses antioxydantes et/ou une surproduction d'EROs. L'apport d'antioxydants dans notre alimentation est susceptible d'améliorer le niveau des défenses antioxydantes et par conséquent de prévenir l'apparition des pathologies associées au stress oxydant. A ce titre, l'utilisation d'antioxydants comme les polyphénols a été particulièrement étudiée.

1. Présentation générale sur les polyphénols

1.1. Diversité structurale, sources alimentaires et classification des polyphénols

Les polyphénols, dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (He et al., 2008). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (Richter, 1993). Ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences).

Le terme “ phénol ” englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés (Martin et Andriantsitohaina, 2002 ; Druzyńska et al., 2007). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (fig.12), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (Balasundram et al., 2006).

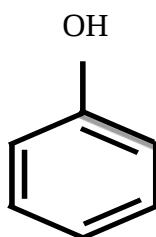


Figure 12 : Structure du noyau phénol (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

Les polyphénols sont répartis de façon ubiquitaire dans les fruits et légumes qui en constituent les principales sources alimentaires, avec de fortes variations selon les espèces (Scalbert et Williamson, 2000). A ces aliments s'ajoutent d'autres végétaux, les plantes aromatiques ou les huiles ainsi que les boissons comme le thé, le café et le vin (Socynska-Kordala et al., 2001). Les épices telles le gingembre, le curcuma, le poivre noir, la muscade et

la vanille constituent également une source importante de polyphénols (Balasundram et al., 2006).

Il est possible de classer les polyphénols selon le nombre de cycles phénoliques qu'ils contiennent et selon les éléments structuraux qui lient différents cycles entre eux. Ainsi, on distingue (tab.2) quatre grands groupes de polyphénols : les flavonoïdes, les acides phénoliques, les stilbènes et les lignanes (Manach et al., 2004).

- **Les Flavonoïdes**

Les flavonoïdes constituent le plus grand groupe de composés phénoliques, avec plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Knežević et al., 2012). Ces composés possèdent tous un squelette de base de quinze atomes de carbone (fig.13) constitué de deux unités aromatiques ; deux cycles en C6 (A et B), reliés par un hétérocycle en C3 (Pietta, 2000).

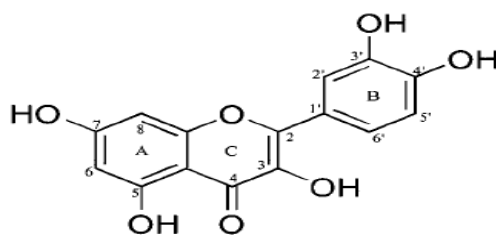


Figure 13 : Structure générale du noyau des flavonoïdes (Heim et al., 2002)

Structuralement les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C (Pietta, 2000), 14 groupes différents ont été identifiés dont six groupes (tab.2) sont particulièrement les plus répandus et les mieux caractérisés ; flavones, isoflavones, flavanones, flavanols, flavonols, anthocyanidines (Heim et al., 2002 ; Hendrich, 2006).

Les flavonoïdes sont rencontrés dans les fruits (notamment du genre Citrus où ils représentent jusqu'à 1 % des fruits frais) et les légumes. Des boissons telles que le vin rouge, le thé, le café et la bière en contiennent également des quantités importantes. Ils sont retrouvés également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant des flavonoïdes ont été (et sont) utilisés en médecine traditionnelle de par le monde (Ghedira, 2005).

Tableau 2 : Les grandes familles de polyphénols (Defraigne et Pincemail, 2008) :

Famille	Principaux composés	Origine
Acide hydroxy- benzoïques	Acide vanillique Acide gallique	Vanille Feuilles de thé
Acides hydro- cinnamiques	Acide caféique Acide férulique Acide chlorogénique	Café Riz, blé, asperges Pelure de pomme de terre, pomme, artichaut
Stilbène	Resvératrol	Raisin, vin
Flavanoïdes		
- Flavonols	Quercétine, kaempférol	Oignon, brocoli
- Flavones	Luéoline, apigénine	Céleri
- Flavanones	Naringénine	Agrumes
- Flavones-3-ols	Catéchine, épicatechine	Raisin, thé vert, chocolat,
- Isoflavones	Génistéine, daidzéine	Soja
- Anthocyanidines	Cyanidine	Fruits rouges, raisin
Lignines	Lignane	Bois

- ***Les Acides phénoliques***

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique) :

✓ **Acide phénoliques dérivés de l'acide benzoïque**

Les acides phénols en C6-C1, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque (fig.14), sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside. L'acide gallique et son dimère (l'acide hexahydroxydiphénique) sont les éléments constitutifs des tannins hydrolysables. D'autres aldéhydes correspondants à ces acides, comme la vanilline, est très utilisé dans le secteur pharmaceutique (Bruneton, 1993).

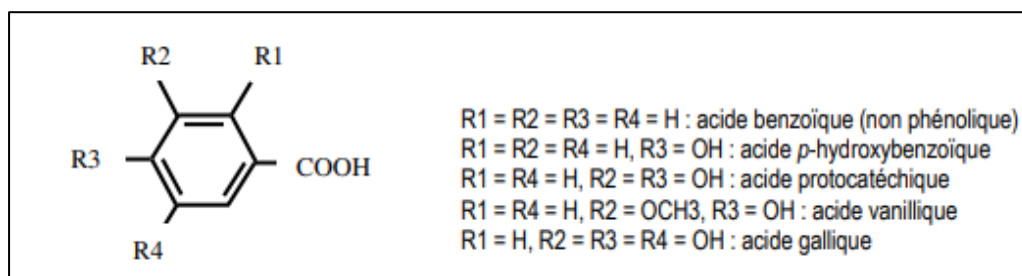


Figure 14 : Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques (Bruneton, 2007)

✓ **Acide phénoliques dérivés de l'acide cinnamique**

La plupart des acides phénols en C6-C3 (acides *p*-coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large ; les autres (acides *o*-coumarique, *o*-férulique) sont peu fréquents (Bruneton, 1993). Les acides cinnamique et caféique (fig.15) sont des représentants communs du groupe de dérivés phénylpropaniques qui diffère par son degré d'hydroxylation et de méthylation (Cowan, 1999).

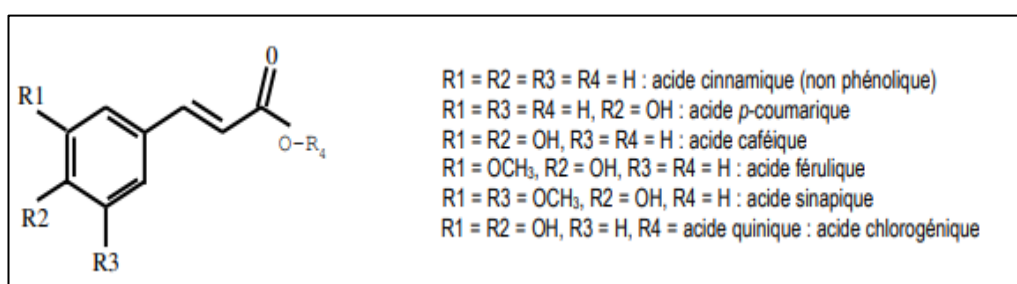


Figure 15 : Structures chimiques des acides hydroxycinnamiques (Chira et al., 2008)

• **Les Stilbènes**

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par un double liaison, formant un système conjugué (fig.16). Ces composés

sont en très petite quantité dans notre alimentation, le plus connu d'entre eux est le resvératrol (Kundu et Surh, 2008).

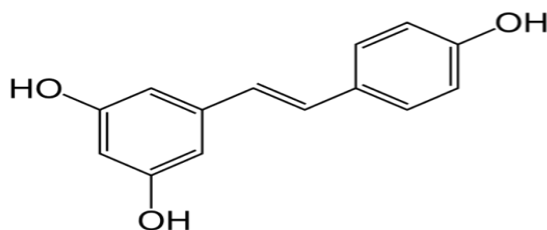


Figure 16 : Structure d'un stilbène, le resvératrol (Harmatha et al., 2011)

Les stilbènes sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (Crozier et al., 2006).

- **Les lignanes**

Les lignanes constituent une classe importante de métabolites secondaire dans le règne végétal. Ce sont des composés dont le squelette résulte de l'établissement d'une liaison entre les carbones β des chaînes latérales de deux unités dérivées du phénylpropane (fig.17). Bien qu'ils entrent dans la composition de certaines graines, céréales, fruits et autres légumes, ils sont environ 1000 fois plus concentrés dans les graines de lin (El Gharra, 2009).

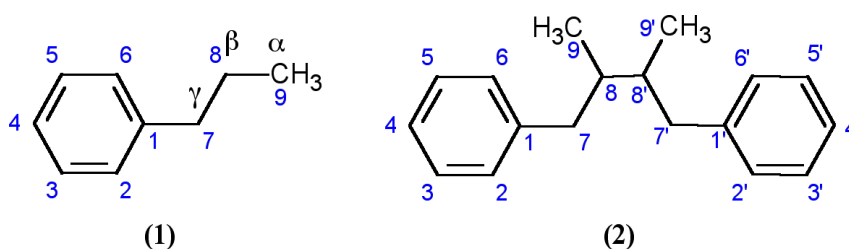


Figure 17 : Structure et numérotation des atomes de carbone du phénylpropane (1) et des lignanes (2) (liaison β - β' ou 8,8') (Sainvitu et al., 2011)

1.2. Propriétés biologiques des polyphénols

Les activités biologiques relatives à ce type de composés sont relativement diversifiées. Chaque classe chimique de polyphénols semble être utilisée pour ses vertus spécifiques (Martin et Andriantsitohaina, 2002). Les composés phénoliques sont principalement reconnus pour leur activité antimicrobienne (Karakaya, 2004). Certains d'entre eux, tel que les flavonoïdes,

possèdent des propriétés antiinflammatoires (Middleton et al., 2000). D'autres, tel que les lignanes, possèdent des propriétés cytostatiques (Habtemariam, 2003). Certains possèdent également des propriétés anti-allergiques, hépatoprotecteurs, hypocholestérolémiants, diurétiques, antibactériens, antiviraux et parfois antispasmodiques (Bruneton, 1993). Toutefois, l'activité antioxydante, au sens large, est considérée comme responsable des propriétés "préventives" des polyphénols (Gordon, 1996 ; Rohdewald, 2002).

1.2.1. Activité antioxydante des polyphénols

Les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger directement les radicaux libres, d'inhiber les ions métalliques et les enzymes impliqués dans la production des EOR et de protéger les systèmes de défense antioxydants (Halliwell, 1994).

1.2.1.1. Piégeage direct de radicaux libres

Les composés phénoliques ont des propriétés antioxydantes en raison de leur capacité à piéger les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène, le processus est radicalaire. Ils interfèrent avec l'oxydation des lipides et d'autres molécules par la donation rapide d'un atome d'hydrogène aux radicaux libres selon un mécanisme proposé dès 1976 par Sherwin : l'antioxydant cède formellement un radical hydrogène, qui peut être un transfert d'électrons suivi, plus ou moins rapidement, par un transfert de proton, pour donner un radical intermédiaire (fig.18). Il est stabilisé par ses structures mésomères conjuguées (Portes, 2008).

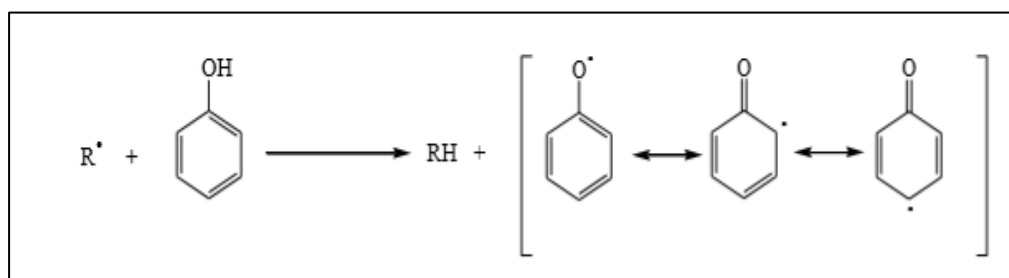
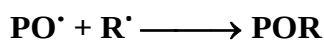


Figure 18 : Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques (Boubekri, 2014)

Les radicaux intermédiaires phénoxy ($PO^{\bullet}$) sont relativement stables en raison de la résonance et donc une nouvelle réaction en chaîne n'est pas facile à initié (Dai et al., 2010). Par ailleurs, ils peuvent agir avec d'autres radicaux libres selon la réaction :



Les flavonoïdes en général et les flavan-3-ols en particulier sont de bons piégeurs des radicaux libres (fig.19). A cause la présence de 3',4'-dihydroxy et la présence du groupe o-dihydroxy (structure des catéchol) sur le noyau aromatique B ; ils possèdent la propriété de donneur d'électrons. En outre, la présence du 3-OH du cycle C est également bénéfique pour l'activité antioxydante des flavonoïdes. La présence de la double liaison C2-C3 conjuguée avec le groupe 4-céto est responsable de la délocalisation des électrons du noyau B, ce qui améliore encore l'activité antiradicalaire (Amić et al., 2003 ; Khazai et al., 2011).

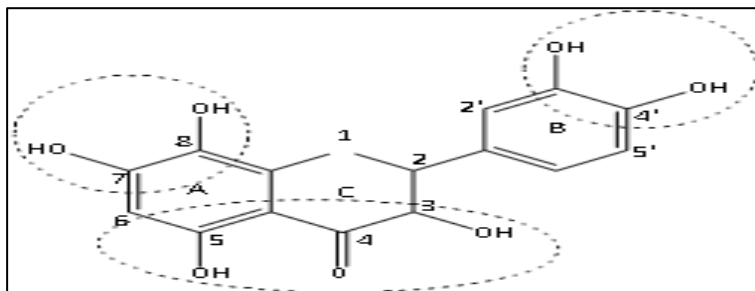


Figure 19 : Les caractéristiques structurales des flavonoïdes avec une activité de piégeage des radicaux libres élevée (Boubekri, 2014)

1.2.1.2. Chélation des ions métalliques

Les polyphénols contribuent à l'inhibition de la formation des radicaux libres par la chélation de métaux de transition tels que le fer (Fe^{2+}) et le cuivre (Cu^+), qui sont essentiels pour de nombreuses fonctions physiologiques. Ils entrent notamment dans la composition des hémoprotéines et sont de cofacteurs d'enzymes du système de défense antioxydant (Fe^{2+} pour la catalase et Cu^+ pour la superoxyde dismutase). Cependant, ils peuvent aussi être responsables de la production des radicaux hydroxyles très réactifs (Pietta, 2000 ; Heim et al., 2002). Les polyphénols abondants dans l'alimentation, notamment les flavonoïdes, séquestrent ces ions métalliques au niveau de différents sites (fig.20).

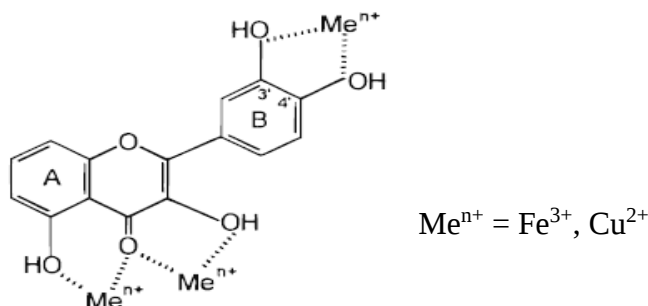


Figure 20 : Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (Pietta, 2000)

1.2.1.3. Inhibition enzymatique

Les polyphénols possèdent une affinité pour une grande variété de protéines (Havsteen, 2002 ; Dangles et Dufour, 2008), via des interactions de van der Waals (cycles aromatiques) et des liaisons hydrogènes (groupements OH phénoliques). Par exemple, les aglycones des flavonoïdes, essentiellement les flavones et les flavonols (noyaux tricycliques plans et polarisables), ont une capacité de se lier avec beaucoup de protéines globulaires, notamment des enzymes, des récepteurs et transporteurs (Dangles, 2012).

L'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres dans les systèmes biologiques est un mécanisme important d'effet antioxydant pour les polyphénols. Plusieurs travaux ont rapporté que les flavonoïdes sont les molécules les plus susceptibles d'être impliquées dans cet effet (Lin et al., 2002), par formation de complexe inhibiteur-enzyme et/ou par piégeage direct des ERO. C'est le cas de la xanthine oxydase, qui est considéré comme une source biologique importante de radical superoxyde (Dangles et Dufour, 2008).

2. Le gingembre (*Zingiber officinale*) : molécule modèle

2.1. Historique

Le gingembre est une plante dont l'origine exacte est inconnue, mais de nombreux pays du continent asiatique l'utilisent depuis des millénaires à la fois comme condiment, et comme plante médicinale. De là, le gingembre s'est ensuite rapidement répandu grâce à son commerce à partir de toute l'Asie du Sud-Est, jusqu'en Afrique de l'Ouest et aux Caraïbes. Cette épice orientale a probablement traversé la première fois la mer Méditerranée grâce aux Phéniciens pour gagner l'Europe durant l'Empire romain dès le 1^{er} siècle (Gigon, 2012). Plusieurs revues ont été publiées dans la littérature à propos de cette plante, ce qui peut refléter la popularité de son utilisation comme une épice et une plante médicinale (Ali et al., 2008).

2.2. Etymologie

Le nom *Zingiber officinale* et sa traduction française « gingembre » proviennent du mot sanskrit *shringavera*, qui signifie « en forme de bois de cerf », en allusion à la forme des jeunes pousses sortant de son rhizome.

Apparaît ensuite le nom grec *ziggiberis*, qui découlerait du nom arabe *zangabîl*. Le terme latin *zingiber* apparaît plus tard, et est à l'origine du nom de genre botanique *Zingiber*. Il est adapté en vieux français en « gingibre », pour finalement s'écrire « gingembre » à partir du XIII^e siècle (Pinson, 2012).

2.3. Classification

Le gingembre, dont le binôme latin est *Zingiber officinale*, appartient à :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermatophyte

Sous-embranchement : Angiospermes (Magnoliophyta)

Classe : Monocotylédones (Liliopsida)

Sous-classe : Zingiberidae

Ordre : Zingibérales

Famille : Zingiberaceae

Genre : *Zingiber*

Espèce : *Zingiber officinale* Roscoe.

La famille des Zingiberaceae est une importante famille botanique qui regroupe plus de 1000 espèces différentes. Ce sont toutes des plantes herbacées de grande taille, vivaces, à rhizome souterrain ramifié à l'origine de racines formant souvent des tubercules, et de plusieurs tiges aériennes portant des feuilles distiques, c'est à dire disposées sur deux rangs opposés (Botineau, 2010 ; Xu et al., 2017).

Zingiber officinale est l'espèce la plus connue dans la famille des Zingiberaceae, toute fois, il existe d'autres espèces qui ont montré d'intéressantes propriétés, tel que le *Curcuma longa* connu sous le nom de curcuma (très utilisés comme épice). Une autre espèce connue dans la famille des zingibéracées est connue sous le nom de gingembre rouge (lavande rouge). Il s'agit de l'espèce *Alpinia purpurata* appartenant au genre *Alpinia* et non au genre *Zingiber* ; elle est utilisée comme plante ornementale (Alpinia, 2016 ; Meutia et al., 2018).

2.4. Description botanique du gingembre

2.4.1. Aspect général

Zingiber officinale (fig.21) est une plante vivace tropicale herbacée, dont le port fait penser à celui d'un roseau, et mesure environ 1m30 de haut. Il s'agit d'une plante stérile : les quelques graines et fruits produits n'entraînent pas de reproduction sexuée. La multiplication de la plante se fait grâce aux bourgeonnements de son rhizome à l'origine de nouveaux plants.

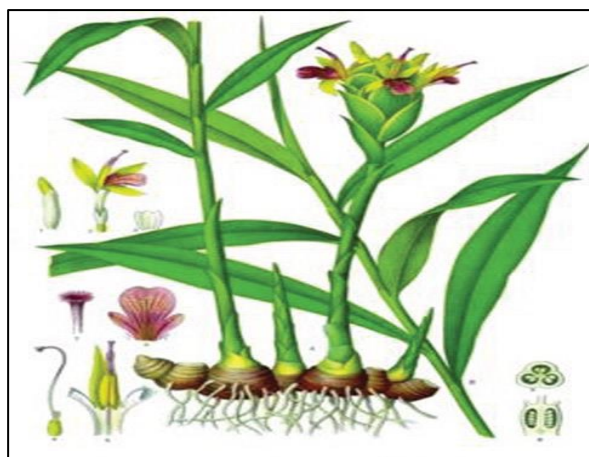


Figure 21 : Plante de Zingiber officinale (Gigon, 2012)

Le Zingiber officinale est divisé en deux parties :

2.4.2. Partie aérienne

Cette partie est composée de tige, de fleurs et de feuilles :

✓ La tige

La tige est en moyenne de 1,50 mètre de hauteur et peut atteindre 3 mètres (Braga et al., 2006 ; Gigon, 2012 ; Wang, 2020). Elle se forme annuellement à la suite du bourgeonnement du rhizome. On distingue deux sortes de tiges :

- Les hautes tiges sont stériles et servent à l'assimilation (capter la chlorophylle) et portent des feuilles alternes, longues et étroites ;
- Les basses tiges sont d'environ 20 cm de long portent les fleurs et servent à la reproduction et ne présentent pas de feuilles (Faivre et al., 2006 ; Braga et al., 2006).

✓ Les fleurs

Les fleurs sont parfumées de couleur blanche et jaune, avec des traînées rouges sur les lèvres. La floraison a lieu entre les mois d'août et novembre. Après la floraison, un court épi axillaire renfermant les graines noires enfermées dans des capsules trivalves apparaît au bout d'une tige couverte d'écailles (Faivre et al., 2006 ; Wang, 2020).

✓ Les feuilles

Les feuilles de Zingiber officinale sont longues d'environ 20 cm, engainantes, lancéolées, persistantes et odorantes (Wikipidia, 2021). Comme toutes les Zingiberaceae, elles sont

lancéolées et alternes. Le limbe des feuilles est dit penninervé, c'est à dire que les nervures secondaires partent de la nervure centrale de façon oblique, comme les barbes d'une plume (Faivre et al., 2006 ; Wang et al., 2020).

2.4.3. Partie souterraine

La partie souterraine est la partie utilisée de la plante, elle est appelée le rhizome (fig.22). Ce dernier est tubéreux, charnu et ramifié. Il se divise dans un seul plan et il est constitué de tubercules globuleux et ramifiés. Il mesure en moyenne 10 cm de longueur, jusqu'à 2 cm de largeur et 1,5 cm d'épaisseur.



Figure 22 : Rhizome de *Zingiber officinale* (Oreka, 2016)

La peau du rhizome est de couleur beige pâle et sa chair est jaune pâle juteuse chez les jeunes rhizomes. En vieillissant, il se couvre d'épaisses écailles et devient plus fibreux. L'odeur du gingembre est aromatique avec une saveur chaude et piquante (Gigon, 2012). Les rhizomes sont récoltés après 9 à 10 mois de culture après dessèchement des parties vertes, le goût devient plus prononcé ce qui annonce leur maturité (Faivre et al., 2006 ; Sharifi-Rad, 2017).

2.5. Composition chimique du gingembre

Zingiber officinale Roscoe est abondant en composants actifs, tels que les composées phénoliques et terpéniques. En outre, il existe également les composants d'huile volatiles qui sont principalement composées hydrocarbonés sesquiterpènes, prédominés par le zingibérène (35%), curcumène (18%) et farnesène (10%). Ces composants volatiles sont responsables de l'arôme et le gout qui définit le gingembre (Patil et al., 2018 ; Mao et al., 2019).

✓ Les polyphénols

Les principaux composés polyphénoliques du gingembre sont les gingérols. On trouve également les produits de la dégradation des gingérols après séchage et stockage - les shogaols, les paradols et le zingérone (Pinson, 2012).

✓ L'huile essentielle

L'huile essentielle de gingembre est obtenue par distillation du gingembre à la vapeur d'eau. On l'utilise en cuisine, mais surtout en aromathérapie, pour sa saveur particulière et pour ses vertus thérapeutiques. Elle contient des monoterpènes, des sesquiterpènes et des cétones (ces composés peuvent varier selon les rhizomes utilisés, leur provenance et les lots) (Pinson, 2012).

3. Activités biologiques et utilisation du gingembre

L'activité biologique de *Zingiber officinale* Roscoe a été démontrée par des études in vivo et in vitro depuis des années et des années en raison de sa longue histoire d'utilisation comme phytothérapie pour traiter une variété de maladie. Le gingembre possédait des effets antibactériens, antifongiques, analgésiques, anticonvulsivants, anticancéreux, antispasmodiques, antiscrétaires gastriques, antihyperglycémiques, antiallergiques, anti-inflammatoires et antioxydantes (Li et al., 2012 ; Patil et al., 2018).

✓ Effets antibactériens et antiviraux

Les recherches récentes sur l'huile, les oléorésines, les extraits et les molécules actives du gingembre présentent diverses propriétés, soit activité antivirale respiratoire, anti VIH1 (Schnitzler et al., 2007 ; Lee et al., 2008 ; Chang et al., 2013), soit activité antibactérienne. Il réduit les symptômes de la fièvre, les états grippaux, la toux, les angines, l'asthme et les allergies (Platel et Srinivazan, 2004).

✓ Effets anticancéreux

L'effet chimio préventif du gingembre sur le cancer a été observé dans les recherches sur le cancer de la peau, le cancer gastro-intestinal, le cancer du côlon et le cancer du sein. Son effet implique un mécanisme qui aide à piéger les radicaux libres, aux voies antioxydantes, à l'altération des expressions géniques et à l'induction de l'apoptose, entraînant ainsi une diminution de l'initiation, de la promotion et de la progression tumorale (Ramakrishnan, 2013 ; Ghasemzadeh et al., 2015).

✓ Effets anti-inflammatoires

Les composants anti-inflammatoires du gingembre sont le gingérol, le shogaol, le paradol et la zingérone, ils permettent d'abaisser certaines douleurs (Bartels et al., 2015), les douleurs musculaires et articulaires (l'arthrite, l'arthrose et les rhumatismes) ; les blessures et les fractures ; les oedèmes et les douleurs intestinales (Grzanna et al., 2005) ; les gingérols

inhiberaient la synthèse des prostaglandines et des leucotriènes augmentant ainsi l'aspect antiulcéreux et anti-inflammatoire (Faivre et al., 2006).

✓ Effets hypoglycémiants

Le gingembre baisse la glycémie et permet une meilleure résistance à l'insuline, de ce fait, il est conseillé pour les personnes diabétiques (Mobasser et al., 2013 ; Mozaffari et al., 2014). Il a montré ses effets antidiabétiques en aidant le foie et le pancréas à se décongestionner et à bien fonctionner à la fabrication de la bile donc c'est un très bon remède pour le diabète de type II (Semwal et al., 2015). Par conséquent, le gingembre aide à stabiliser le taux de sucre dans le sang en protégeant les cellules β pancréatiques, en augmentant la synthèse et la sensibilité de l'insuline (Srinivasan, 2017).

✓ Effets antiémétique

En Asie, le gingembre est utilisé comme plante médicinale pour soigner les problèmes d'estomac et la diarrhée (Platel et Srinivazan, 2004). Plusieurs essais cliniques sur des femmes enceintes, ont démontré que le gingembre était plus efficace que la vitamine B6 et aussi efficace qu'un traitement sur les nausées et les vomissements pendant la grossesse. Cette propriété antiémétique s'est confirmée pour la prévention des patientes en chirurgie postopératoire (gynécologie, laparoscopie) (Gigon, 2012).

✓ Effets antioxydants

Le gingembre contient jusqu'à 12 composés importants qui lui offrent une activité antioxydant 40 fois plus élevée que la vitamine E. Le gingembre a révélé avoir d'excellentes propriétés anti oxydantes (Nair et al., 1998 ; Rababah et al., 2004 ; Chohan et al., 2008 ; Shimoda et al., 2010 ; Singh et kaur, 2012).

Le gingembre est très intéressant sur le plan cosmétique puisqu'il contient plusieurs composés antioxydants. Ces derniers protégeant les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres. Il contient également du cuivre, nécessaire à la formation du collagène, des études ont montré son effet sur les rides et l'élasticité de la peau (Baobab, 2011).

Ainsi, la consommation du gingembre aide à lutter contre l'action des radicaux libres et de prévenir les maladies neurodégénératives et certains cancers comme le cancer de la prostate (Aggarwal et Shishodia, 2006 ; karna et al., 2012). L'intérêt supplémentaire est que certains de ces antioxydants résistent à la cuisson, et sont même activés par la chaleur ce qui pourrait expliquer l'augmentation de l'activité antioxydante du gingembre cuit (Shobana et Naidu, 2000).

4. Toxicité du gingembre

Le gingembre est généralement considéré comme une plante médicinale sans danger (Rong et al., 2009). La littérature scientifique abondante sur le gingembre ne met pas en évidence de toxicité particulière concernant cette plante. Les précautions d'emploi résident, comme d'habitude, dans la prévention des risques encourus par l'emploi de l'huile essentielle concentrant des principes aromatiques par hydrodistillation, comme les carbures mono- et sesquiterpéniques (Gigon, 2012).

CHAPITRE IV.
MÉTHODES DE DOSAGE ET
DISCUSSION D'ÉTUDES

I. Méthodes de dosage des biomarqueurs du stress oxydatif

1. Le choix des biomarqueurs du stress oxydatif

Les scientifiques se sont intéressés, dès le début, des recherches sur le stress oxydant, à la découverte d'un marqueur biologique qui identifierait à coup sûr la présence d'un stress oxydant dans diverses situations expérimentales ou cliniques.

Toutes les méthodes proposées, qu'elles que soient, présentent toujours leurs propres spécificités et limites, montrant qu'il serait utopique de croire en l'existence d'un marqueur idéal et unique de stress oxydant (Favier, 1997 ; Pincemail et al., 1999). Donc, les critères d'un bon biomarqueur peuvent être définis comme suit (Carine Badouard, 2006) :

- ✓ Un produit majeur de modification oxydative qui peut être directement impliqué dans le développement de la maladie ;
- ✓ Un produit stable non susceptible d'induction artéfactuelle ou de perte durant la conservation des échantillons ;
- ✓ Représentatif de la balance entre la génération des dommages oxydatifs et leur élimination ;
- ✓ Déterminé par une analyse spécifique, sensible, reproductible et robuste ;
- ✓ Libre des facteurs confondants venant d'une prise alimentaire ;
- ✓ Accessible dans un tissu cible comme les lymphocytes et cellules mononuclées ;
- ✓ Mesurable dans les limites de détection d'une procédure analytique fiable.

Ainsi,

- ✓ Les dosages des biomarqueurs en fonction du matériel dont nous disposons au sein de notre établissement et les réactifs disponibles.

Selon ces critères, nous allons nous intéresser dans ce chapitre aux méthodes employées pour déterminer les principaux paramètres du stress oxydatif:

2. Méthodes de dosage des principaux biomarqueurs du stress oxydatif

2.1. Dosage du glutathion réduit (GSH)

La méthode de Wekbeker et Cory (1988) a été appliquée pour le dosage du glutathion dans les tissus. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela, une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion.

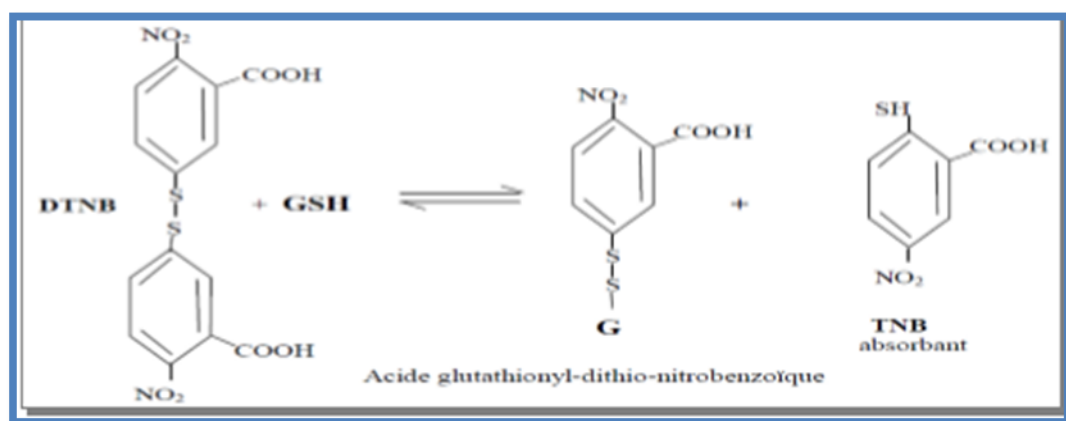


Figure 23 : Principe de dosage du glutathion

Pour l'homogénat, une préparation obtenue après broyage et homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4), la suspension est centrifugée à 9000 tours par minute pendant 15 minutes à 4°C. Le surnageant est alors récupéré pour le dosage.

La procédure expérimentale du dosage du glutathion est la suivante:

- ✓ Prélever 0.8 ml de l'homogénat.
- ✓ Ajouter 0.2 ml de la solution d'acide sulfosalicylique (0.25%).

Après agitation durant 15 mn dans un bain de glace:

- ✓ Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- ✓ Prélever 0.5 ml du surnageant. Ajouter 1 ml du tampon Tris, pH 9.6. Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01 M.

Après 5 min d'incubation, la lecture de l'absorbance s'effectue à $\lambda = 412$. La concentration en glutathion (GSH) est évaluée selon la formule :

$$\text{GSH (nmol GSH/ mg protéine)} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg protéine}}$$

- DO : Densité optique ;
- 1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation ;
- 1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant ;
- 13100 : Coefficient d'absorbance du groupement –SH à 412 nm ;
- 0.8 : Volume de l'homogénat ;
- 0.5 : Volume du surnageant.

La concentration de la forme réduite du glutathion (GSH) est mesurée par apport à 1mg de protéines. Ce dosage doit donc être accompagné par le dosage des protéines.

2.1.1. Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode de Bradford (1976), qui utilise le Bleu Brillant de Coomassie et l'albumine de bœuf comme standard.

Le bleu de Coomassie réagit avec les groupements amines (-NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. L'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines dans l'échantillon.

Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- ✓ Prélever 0.1 ml de l'homogénat ;
- ✓ Ajouter 5 ml du bleu de Coomassie ;
- ✓ Agiter et laisser reposer 5 minutes ;
- ✓ Lire à 595 nm les densités optiques contre le blanc.

La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée. La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (BSA à 1 mg/ml), réalisée dans les mêmes conditions (fig.24) :

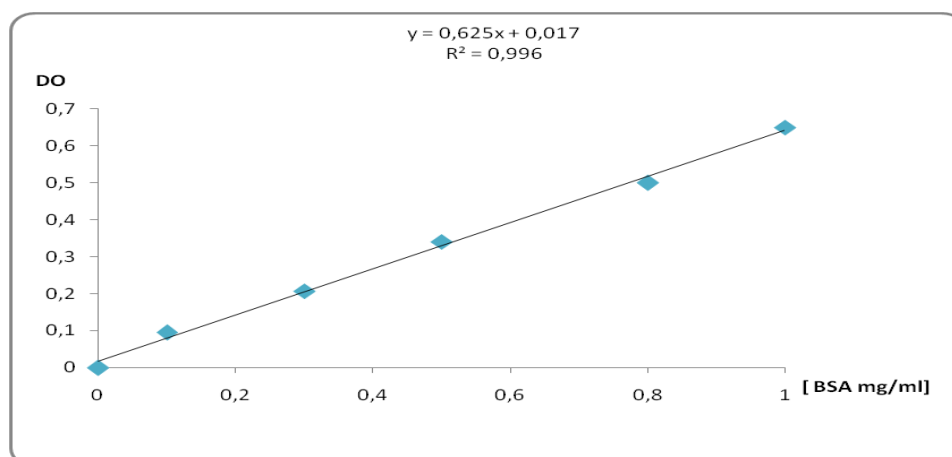


Figure 24 : la gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1 mg/ml) pour le dosage des protéines.

2.2. Dosage de malondialdéhyde (MDA)

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) médiées par les radicaux libres.

La peroxydation des lipides est estimée par mesure du malondialdéhyde (MDA) produit, capable de réagir avec l'acide thiobarbiturique (TBA). La réaction de dosage du malondialdéhyde, décrite par Esterbauer et al en 1992, repose sur la formation en milieu acide et à chaud entre le malondialdéhyde et deux molécules d'acide thiobarbiturique, d'un pigment absorbant à 530 nm.

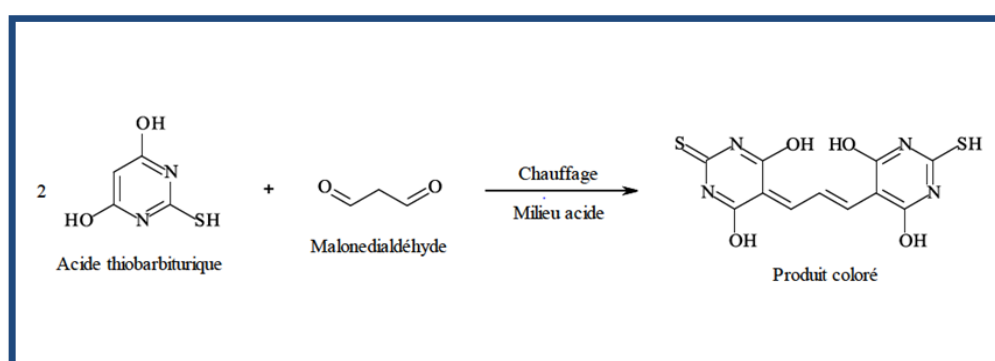


Figure 25 : Principe de dosage du malondialdéhyde

La procédure s'est déroulée de la façon suivante :

- ✓ Prélever 375 μ l de l'homogénat (surnageant) ;
- ✓ Ajouter 150 μ l de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4) ;

- ✓ Ajouter 375 µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%) ;
- ✓ Vortexer et Centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min ;
- ✓ Prélever 400 µl du surnageant. Ajouter 80 µl du HCl 0.6 M ;
- ✓ Ajouter 320 µl de la solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120 mM) ;
- ✓ Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80 °C pendant 10 minutes.

La lecture se fait par spectrophotométrie, l'absorbance est directement proportionnelle à la quantité de MDA formé, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés.

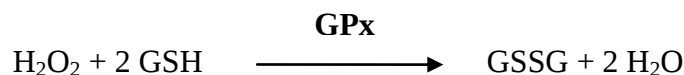
La concentration du MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert ($DO = E.C.L$) :

$$C \text{ (nmol/mg protéine)} = \frac{DO \cdot 10^6}{\varepsilon \cdot \chi \cdot L \cdot Fd}$$

- C : Concentration en nmoles/mg de protéines ;
- DO : Densité optique lue à 530 nm ;
- E : Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$;
- L : Longueur du trajet optique = 0.779 cm ;
- X : Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml) ;
- Fd : Facteur de dilution : Fd = 0.2083.

2.3. Dosage de l'activité de la GPx

Le dosage de l'activité de la GPx tissulaire a été réalisé selon la méthode décrite par Flohe et Gunzler (1984), fondée sur l'oxydation du glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG) par la GPx parallèlement à la réduction de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau :



Ce dosage a été fait selon les étapes suivantes :

- ✓ Prélever 0.2 ml de l'homogénat (surnageant);
- ✓ Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM);

- ✓ Ajouter 0.2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4);
- ✓ Incuber au bain Marie à 25 °C, pendant 5 min;
- ✓ Ajouter 0.2 ml de H₂O₂ (1.3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes;
- ✓ Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction.

Après incubation pendant 30 minutes dans la glace:

- ✓ Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes;
- ✓ Prélever 0.48 ml du surnageant. Ajouter 2.2 ml de la solution tampon TBS;
- ✓ Ajouter 0.32 ml de DTNB (1.0 mM), puis mélanger l'ensemble.

Après 5 minutes, l'activité de la GPx a ensuite été déterminée par spectrophotométrie à 412 nm selon la formule :

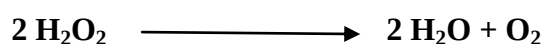
$$\text{GPx (nmol GSH/mg)} = \frac{\text{DO}_{\text{échantillon}} \times \text{DO}_{\text{étalon}} \times 0.04}{\text{DO}_{\text{étalon}}}$$

- DO_{échantillon} : Densité optique de l'échantillon ;
- DO_{étalon} : Densité optique de l'étalon ;
- 0.04 : Concentration de substrat (GSH).

2.4. Dosage de la catalase (CAT)

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus. Ce sont des enzymes tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en éliminant les espèces réactives et en accélérant la réaction spontanée de l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) toxique pour la cellule en eau et en oxygène (Aebi, 1984).

La réaction se fait en deux étapes. La réaction bilan est :



L'activité de la CAT est mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

2.4.1. Mode opératoire

Réactifs	Blanc (ul)	Essai (ul)
Tampon phosphate (PBS) (0.1 M, pH 7.4)	800	780
H_2O_2 (0.5 M)	200	200
Homogénat	-	20

On note que :

- ✓ Le zéro de l'appareil est réalisé par le tampon phosphate ;
- ✓ La quantité du surnageant (S9) doit être déterminée en fonction de la quantité de protéines qui doit être comprise entre 1 et 1,5 mg/mL, soit une quantité de 10 à 20 μL de S9 dilué ;
- ✓ L'activité décroît rapidement, il est important de mettre toujours le même temps de pipetage et le moment où on place la cuve au spectrophotomètre ;
- ✓ La lecture de l'absorption se fait après 15 secondes de délai et durant 60 secondes de mesure.

2.4.2. Calcul de l'activité de CAT :

$$\text{L'activité de la CAT (uM } \text{H}_2\text{O}_2/\text{min/mg protéines (50 mg/dl))} = \frac{\Delta\text{DO} \times 10}{\epsilon \times L \times X \times \text{Fd}}$$

- ΔDO : Variation de la densité optique par minutes ;
- ϵ : Coefficient d'extinction du H_2O_2 (0,04 $\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) ;
- L : Largeur de la cuve ou longueur du trajet optique (1 cm) ;
- X : Quantité des protéines en mg/ml ;
- Fd : Facteur de dilution du H_2O_2 dans le tampon (0,02).

II. Discussion

Les composés antioxydants sont nombreux et appartiennent à diverses familles moléculaires. De nombreux fruits et épices en contiennent. Le gingembre, qui contient plus d'une quarantaine de composés antioxydants appartenant aussi bien à la classe des polyphénols (gingérols, shogaols) qu'à celle des sesquiterpènes, est ainsi une plante très prisée pour lutter contre le stress oxydatif et le vieillissement prématuré de l'organisme. Grâce à son pouvoir antioxydant, le gingembre ne cesse de faire l'objet de nouvelles études scientifiques.

Dans cette partie de notre travail, nous présenterons à travers des exemples d'études, les résultats portant sur le lien entre la consommation de gingembre et le risque engendré par certains agents pro-oxydants. Plusieurs études ont utilisé des modèles animaux afin de déterminer les effets toxiques des agents environnementaux pro-oxydants comme les pesticides et les métaux lourds et d'étudier le pouvoir antioxydant du gingembre (Priyanka et al., 2022 ; Hussein et al., 2017 ; Gabr et al., 2019 ; Shekarforoush et al., 2020 ; Ahd et al., 2019 ; Abd El Fadil et al., 2018).

L'étude de (Priyanka et al., 2022), a pour objet d'évaluer la toxicité rénale du diméthoate (un insecticide de la famille des organophosphorés destiné à lutter contre les insectes piqueurs suceurs) chez les rats de la souche Wistar. Au travers de cette étude, les auteurs ont montré que l'exposition à une dose de 3,10 mg/kg de poids corporel du diméthoate, administré par gavage, a provoqué une augmentation de la peroxydation lipidique (augmentation du taux de MDA), indiquant que les effets délétères du diméthoate chez les rats sont associés à un stress oxydant au niveau des reins. Ce résultat a permis aux auteurs de suggérer que le diméthoate agit au niveau des reins via des phénomènes oxydatifs liés à la production d'espèces réactives de l'oxygène, conduisant à la libération de différents aldéhydes toxiques comme le malondialdéhyde (MDA), qui représente un bio marqueur de la peroxydation lipidique.

Ainsi, le pouvoir pro-oxydant du diméthoate, a été également confirmé par des modifications dans l'activité des enzymes antioxydantes (SOD, GPx, GR et CAT), qui sont souvent considérées comme les marqueurs les plus significatifs du stress oxydant cellulaire, chez les rats contaminés par le diméthoate.

Toutefois, ces mêmes auteurs ont montré le pouvoir protecteur du gingembre contre la toxicité rénale induite par le diméthoate. Grâce à ses propriétés antioxydantes, le traitement

des rats par l'extrait de gingembre a empêché l'augmentation des niveaux de MDA et a amélioré significativement le taux de SOD, GPx, GR et CAT dans les reins des rats traités par le diméthoate.

Une autre étude utilisant également le rat comme modèle expérimental, confirme également l'effet pro-oxydant des pesticides. Les paramètres du stress oxydant pris en considération sont : l'MDA, l'activité enzymatique de (SOD et CAT) et le glutathion (GSH). En effet, l'étude d'Hussein et ses collaborateurs en 2017, a montré que le traitement des rats par le métalaxyl (un fongicide systémique indiqué pour le contrôle et la prévention de certaines maladies causées par les phycomycètes), a entraîné dans le foie des rats une augmentation du taux de MDA et une réduction des défenses antioxydantes (SOD, CAT et GSH), après 3 semaines de traitement.

Hussein et ses collaborateurs en 2017, ont aussi montré l'effet protecteur que le gingembre peut exercer vis-à-vis des dommages hépatiques causés par le métalaxyl. Dans cette étude, le gingembre administré par voie orale aux rats, a abouti à une amélioration significative du taux de MDA, du GSH et d'enzyme antioxydante (CAT et SOD), à une dose de 100 mg/kg de poids corporel.

D'autres travaux, ont été aussi réalisés pour évaluer l'effet pro-oxydant des métaux lourds. En 2019, Gabr et ses collaborateurs ont par exemple montré qu'après une exposition par voie orale à une dose de 5 mg/kg de cadmium pendant une période de 30 jours, ce métal est capable d'induire des effets délétères chez le rat. Le cadmium induit, en effet, un stress oxydatif dans les reins, se traduisant par une diminution de la capacité antioxydante totale et une augmentation du taux de MDA.

D'après les résultats de cette étude, il apparaît que le traitement des rats par le cadmium entraîne des modifications importantes dans les reins. Par ailleurs, le gingembre de part ses propriétés antioxydantes aurait contribué à une amélioration significative du taux de MDA et de la capacité antioxydante totale dans les reins des rats traités par le cadmium. L'effet protecteur des extraits de gingembre vis-à-vis de la toxicité de cadmium, a été prouvé par des différentes doses (100 et 200 mg/kg).

D'autres substances chimiques peuvent être également responsables d'un stress oxydatif plus ou moins important. En fait, une récente étude publiée dans le journal (Jordan Journal of Biological Sciences), dirigée par Shekarforoushet al en 2020 a constaté que le

métabisulfite de sodium, administrée par gavage, est à l'origine d'un stress oxydant chez des rats mâles de la souche Wistar.

En fait, le métabisulfite de sodium ou pyrosulfite de sodium est un sel inorganique largement utilisés comme conservateurs dans l'industrie pharmaceutique et alimentaire. Malgré leurs utilisations courantes, les sulfites sont des molécules toxiques et peuvent réagir avec une variété de composants cellulaires, y compris les protéines, les lipides, l'ADN, etc.

L'étude d' Shekarforoushet et ses collaborateurs en 2020, montre que le traitement par le métabisulfite de sodium, à une dose de 260 mg/kg de poids corporel, a entraîné une augmentation du taux de MDA et une diminution des défenses antioxydantes enzymatiques (GPx, CAT et GR) et non enzymatique (GSH), dans le sérum des rats, après 28 jours de traitement. Dans cette même étude, Shekarforoushet et al montrent également une présence d'effet bénéfique du gingembre sur la toxicité de métabisulfite de sodium, à une dose de 500 mg/kg/jours.

Les polychlorobiphényles, plus communément appelés PCB, sont également des produits chimiques largement utilisés par l'industrie et capables d'induire un stress oxydant. Après 6 semaines de traitement, Ahd et al. (2019), ont affirmé l'existence d'un effet pro-oxydant de PCB, se traduisant par une diminution de l'activité des enzymes antioxydantes (superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase) et une augmentation du taux de MDA hépatique. Toujours selon cette même étude, la consommation d'extraits de gingembre (200 mg/kg) a mené à une diminution des taux de malondialdéhyde (MDA) et une augmentation de l'activité d'enzymes antioxydantes, des rats traités avec les PCB.

De même, le gingembre a également présentée un profil thérapeutique très intéressant avec une activité antihépatotoxique contre la toxicité hépatique du paracétamol, médicament étudié du fait de son action déjà connue sur le foie (Abd El Fadil et al., 2018). Au travers de cette étude, Abd El Fadil et al. ont montré que le traitement des rats par le paracétamol a provoqué une augmentation de la peroxydation lipidique et une réduction des défenses antioxydantes enzymatiques comme la CAT, la SOD et la GPx, indiquant que les effets délétères du paracétamol chez les rats sont associés à un stress oxydant au niveau du foie. En outre, ces perturbations oxydatives sont nettement diminuées par l'administration d'antioxydants naturels (gingembre).

Enfin, ces données expérimentales montrent dans leur ensemble que le gingembre était capable de protéger les structures cellulaires des altérations oxydatives et stimulait l'activité des défenses antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques face au stress oxydant induit par les agents pro-oxydant.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion générale et perspectives

Dans des conditions physiologiques, la production des ERO est parfaitement maîtrisée par les systèmes de défense de notre organisme : la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse leurs capacités antioxydantes. Ce stress oxydant sera impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications. Face à l'émergence de nouvelles maladies chroniques notamment les maladies liées au stress oxydant, certaines plantes thérapeutiques telle que le gingembre (*Zingiber officinale*), ont suscité ces dernières décennies, un intérêt croissant en raison de leurs précieuses propriétés antioxydantes.

À la suite d'une étude bibliographique sur le phénomène du stress oxydant, notre recherche apporte un éclairage sur les études faites précédemment, montrant qu'une exposition à des agents exogènes (pro-oxydants) pouvant provoquer des effets néfastes sur l'organisme. Ainsi, les résultats de ces études ont permis d'affirmer que le gingembre, est un puissant antioxydant naturel capable, grâce à ses composés phénoliques, de lutter contre les effets néfastes des ERO.

Cette recherche documentaire que nous avons menée nous a permis également d'identifier plusieurs perspectives :

1) intensifier les recherches sur les sources de stress oxydant qui sont l'un des éléments essentiels pour répondre à des questions relatives à la compréhension de ces mécanismes délétères ;

2) étudier les effets toxiques des divers agents prooxydants (e.g métaux lourds et pesticides) chez le rat ou d'autres espèces de mammifères, par le dosage de marqueur enzymatique (GPx, SOD, CAT) ou non enzymatique (GSH, MDA) ;

3) déterminer les effets d'une exposition (court et long termes) à des agents pro-oxydants, afin de mettre en évidence des relations dose-effet et les éventuels risques potentiels pour la santé de l'homme et de l'animal ;

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

4) Contribution à l'identification des composés phénoliques du gingembre et la confirmation de leur action antioxydante par une supplémentation de ces composés naturels à l'organisme.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abd El Fadil H., Edress N.A., Khorshid N., Amin N. (2018). Valuation of Hepatoprotective Impact of Ginger Extract Against Paracetamol-Induced Hepatotoxicity in Albino Rats. *BVMJ*. 35 (2) : 302-316.

Abele D., Heise K., Pörtner H.O., Puntarelo S. (2002). Ternperature-dependence of mitochondrial function and production of reactive oxygen species in the intertidal mud clam *Mya arenaria*. *J Exp Biol*. 205: 1831-41.

Aebi H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol*. 105: 121-126.

Aggarwal B.B., Shishodia S. (2006). Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem Pharmacol* May. 14 (10): 1397-421.

Ahd A., Dhibi S., Akermi S., Bouzenna H., Samout N., Elfekib A., Hfaiedhab N. (2019). Protective effect of ginger (*Zingiber officinale*) against PCB-induced acute hepatotoxicity in male rats. *RSC Adv*. 9 : 29120-29130.

Algeciras-Schimmich A., Cook W.J., Milz T.C., Saenger A.K., Karon B.S. (2007). Evaluation of hemoglobin interference in capillary heel-Stick samples collected for determination of neonatal bilirubin. *Clinical Biochemistry*. 40: 1311-1316.

Ali M.S., Kang G.H., Joo S.T. (2008). A review: Influences of pre-slaughter stress on poultry meat quality. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 21 (6): 912-916.

Aprioku J.S. (2013). Pharmacology of free radicals and the impact of reactive oxygen species on the testis. *J Reprod Infertil*. 14 (4): 158-172.

Babior B.M. (1999). NADPH oxidase: an update. *Blood*. 93: 1464-1476.

Balaban R.S., Nemoto S., Finkel T. (2005). Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell*. 120: 483-495.

Balasundram N., Sundram K., Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. 99: 191-203.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Baobab S. (2011). Fiche technique de la poudre gingembre. Sénégal Beagehold MA. (1998). Heterogeneity of endothelial function within the circulation. *Curr Opin Nephrol Hypert.* 7:71-8.

Barouki R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/sciences.* 22 (3): 266-72.

Bartels E.M., Folmer V.N., Bliddal H.R.D. Altman Juhl C., Tarp S., Zhang W., Christensen R. (2015). Efficacy and safety of ginger in osteoarthritis patients: a meta analysis of randomized placebo-controlled trials. *Osteoarthritis and cartilage.* 23: 13-21.

Beckman K.B., Ames B.N. (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev.* 78: 547-581.

Behrend L., Henderson G., Zwacka R.M. (2003). Reactive oxygen species in oncogenic transformation. *Biochem Soc Trans.* 31: 1441-4.

Ben Amara I., Soudani N., Troudi A., Bouaziz H., Boudawara T., Zeghal N. (2011). Antioxidant effect of vitamin E and selenium on hepatotoxicity induced by dimethoate in female adult rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 74: 811-819.

Bentinager M., Tekle M., Dallner G. (2010). Coenzyme Q –biosynthesis and function. *Biochem Biophys Res Commun.* 396 (1) : 74-79.

Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., Delattre J. (2003). Radicaux libres et anti-oxydants. In Delattre J, Durand G, Jardillier JC. *Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires.* Médecine-sciences Flammarion Paris. 59-81

Botineau M. (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Lavoisier Ed.

Boubekri C. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. These de Doctorat de l'Université Mohamed Khider, Biskra, Algérie. p : 57-58.

Braga M.E., Moreschi S., Meireles M.A. (2006). Effects of supercritical fluid extraction on *Curcuma longa* L. and *Zingiber officinale* R. starches. *Carbohydrate Polymers.* 63 : 340-346.

Bruneton J. (1999). Phytochimie. Plantes medicinales. Pharmacognosie 3ème édition, Paris.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bruneton J. (2008). Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. p : 198-260.

Bruneton J. (1993). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 2^{ème} édition. Tec & Doc. Paris.

Cadet J., Bellon S., Berger M., Bourdat A.G., Douki T., Duarte V., Frelon S., Gasparutto D., Ravanat J.L., Sauvaigo S. (2002). Recent aspects of oxidative DNA damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases. *Biol.Chem.* 383 (6): 933-943.

Carine B. (2006). Les lésions des acides nucléiques: détection par CLHP-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation. These de Doctorat de l'Université Joseph-Fourier - Grenoble I, France. p: 51.

Chang J.S., Wang K.C., Yeh C.F., Shieh D.E., Chiang L.C. (2013). Fresh Ginger (*Zingiber officinale*) has Anti-viral Activity Against Human Respiratory Syncytial Virus in Human Respiratory Tract Cell Lines. *Ethnopharmacology.* 145: 146-151.

Chira K., Such J., Saucier C., Teissèdre L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie.* 6 : 75-82.

Comhair S.A.A., Erzurum S.C. (2002). Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 283 (2): 246-55.

Cowan M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12(4): 564-582.

Crozier A., Clifford M.N., Ashihara H. (2006). Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Ed: Blackwell Publishing. p: 372.

Dai J. Mumper R.J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer. Proprieties. *Molecules.* 15 (10): 313-52.

Dangles O., Dufour C. (2006) Flavonoid-protein interactions. In: Andersen ØM, Markham KR (ed.) *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications*, 1st ed., New York. P: 443-469.

Deaton C.H.M., Marlin D.J. (2003). Exercise-associated oxidative stress. *Clin Tech Equine Pract.* 2 (3): 278-91.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Defraigne J.O., Pincemail J. (2008). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. RevMed Liège. 63: 10-19.

Delattre J., Beaudeau J.L., Bonnefont-Rousselot D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant: Aspects biologiques et pathologiques (broché). L'actualité Chimique. 108-115.

Droge W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol Rev. 82 (1): 47-95.

Druzynka B., Stepniewska A., Wolosiak R. (2007). The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 6 (1) : 27-36.

Dwassy A. (2014). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. These de Doctorat de l'Université Mohammed V- Rabat. p : 7.

Dziezak J.D. (1986). Preservatives Antioxidants. The Ultimate Answer to Oxidation, Food Technology. 40 (9): 94-102.

El Gharras H. (2009). Polyphenols: Food sources, properties and applications. A review. International Journal of Food Science and Technology. 44 (12): 2512-2518.

Faivre C.I., Lejeune R., Staub H., Goetz P. (2006). Zingiber officinale Roscoe. Phytothérapie Monographie médicalisée. 4 : 99-102.

Fang Y.Z., Yang S., Wu G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. Nutrition. 18:872-879.

Favier A. (1997). Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. Annales de Biologie Clinique. 55 (1) : 9-16.

Favier A. (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Review. L'actualité chimique. 108-115.

Finaud J., Degoutte F., Scislowski V., Rouveix M., Durand D., Filaire E. (2006). Competition and food restriction effects on oxidative stress in judo. Int J Sports Med. 27 (10): 834-41.

Fraga C.G. (2007). Plant polyphenols: How to translate their in vitro antioxidant actions to in vivo conditions. *IUBMB Life*. 59 (4-5): 308-315.

Freeman B.A., Young S.L., Crapo J.D. (1981). Liposome-mediated augmentation of superoxide dismutase in endothelial cells prevents oxygen injury. *J Biol Chem*. 258: 12534-12542.

Gabr S.A., Alghadir A.H., Ghoniem G.A. (2019). Biological activities of ginger against cadmium-induced renal toxicity. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 26 : 382-389.

Ganther H.E. (1999). Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer Prevention: complexities with thioredoxin reductase. *Carcinogenesis*. 20 (19): 1657-1666.

Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D. (2003). Espèces Réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? L'actualité chimique.

Garrel C., Ceballos-Picot I., Germain G., Al-Gubory K.H. (2007). Oxidative stress inducible antioxidant adaptive response during prostaglandin F2 alpha-induced luteal cell death in vivo. *Free radical research*. 41: 251-259.

Ghasemzadeh A., Jaafer H.Z.E., Rahmat A. (2015). Optimization protocol for the extraction of 6-gingerol and 6-shogaol from *Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade and improving antioxidant and anticancer activity using response surface. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 15:1-10.

Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.

Ghouleh I.A., Khoo N.K.H., Knaus U.G., Griendling K.K., Touyz R.M., Thannickal V.J., Barchowsky A., Nauseef W.M., Kelley E.E., Bauer P.M., Darley-Usmar V., Shiva S., Cifuentes-Pagano E., Freeman B.A., Gladwin M.T., Pagano P.J. (2011). Oxidases and Peroxidases in Cardiovascular and Lung Disease : New Concepts in Reactive Oxygen Species Signaling. *Free Radic Biol Med*. 51 (7): 1271-88.

Gigon F. (2012). Le gingembre, une épice contre la nausée. *Phytothérapie*. 10 (2): 87-91.

Goldstein S., Meyerstein D., Czapski G. (1993). The Fenton reagents. *Free Rad Biol Med*. 15: 435-45.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Gordon M.H.** (1996). Dietary antioxidants in disease prevention. *Natural Product Reports*. 13 (4): 265-273.
- Goudable J., Favier A.** (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr.Clin.Metabol.* 11: 115-120.
- Grandjean D.** (2005). Comprendre le stress oxydatif cellulaire chez le chien. *Le Nouv. Prat. Vét.* 22: 11-15.
- Grzanna R., Lindmark L., Frondoza C.G.** (2005). Ginger an herbal medicinal product with broad anti-inflammatory actions. *Journal Medical of Food*. 125-132.
- Gutteridge J.M.** (1993). Free radicals in disease processes: a complication of cause and consequence. *Free Radic Res Commun.* 19 (3): 141-58.
- Habtemariam S.** (2003). Cytotoxic and cytostatic activity of erlangerins. *From Commiphoraerlangeriana.Toxicon*.41 (6): 723-7
- Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P.** (2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege*. 62 (10): 628-638.
- Halliwell B.** (1996). Uric acid: an example of antioxidant evaluation. In: Cadenas E, Packer L. Editors. *Handbook of antioxidants*. New York: Marcel Dekker.p: 243-256.
- Halliwell B., Gutteridge J.M.C.** (1990). *Free radical in biology and medicine*. 2nd Ed. Clarendon Press, Oxford University.
- Halliwell B., Gutteridge J.M.C.** (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*. In “Free radicals in biology and medicine”. 3rd Ed. Oxford. University Press. p: 1-543.
- Halliwell B., Cross C.E.** (1994). Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect.* 102 (10): 5-12.
- Harmatha J., Zidek Z., Kmoníčková E., Šmidrkal J.** (2011). Immunobiological properties of selected natural and chemically modified phenylpropanoids.*InterdiscToxicol*.4 (1): 5-10.
- Havsteen, B.H.** (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology and therapeutics*. 96 (2-3): 67-202.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

He Z., Xia W., Chen J. (2008). Isolation and structure elucidation of phenolics compounds in Chinese olive (*Cnarium album* L.) fruit. *European Food Research and Technology*. 226: 1191-1196.

Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 13: 572-584.

Hellsten Y., Svensson M., Sjödin B., Smith S., Christensen A., Richter E.A., Bangsbo J. (2001). Allantoin formation, urate, and glutathione exchange in human muscle during submaximal exercise. *Free Radic Biol Med*. 31(11): 1313- 1322.

Hendrich A.B. (2006). Flavonoid-membrane interactions: possible consequence for biological effects of some polyphenolic compounds. *Acta Pharmacologica Sinica*. 27: 27-40.

Hussein S.A., El Senosi Y.A., Mansour M.K., Hassan M.F. (2017). Role of antioxidant and anti-inflammatory of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) against metalaxyl induced oxidative stress in rats. *BVMJ*. 33 (2) : 504-516.

Jacob R.A. (1995). The integrated antioxidant system. *Nutrition Research*. 15 (5): 755-66.

Karakaya S. (2004). Bioavailability of phenolic compounds. *Crit Rev Food Sci. Nutr*. 44 (6): 453-64.

Karna P., Chagani S., Gundala S.R., Rida P.C., Asif G., Sharma V., Gupta M.V., Aneja R., Br.J. (2012). Benefits of whole ginger extract in prostate cancer. *Br J Nutr*. 107 (4): 473-84.

Khalil A. (2002). Molecular mechanisms of the protective effect of vitamin E against atherosclerosis. *Can. J. Physiol. Pharmacol*. 80 (7) : 662-669.

Khazai V., Piri K.H., Nazeri S., Karamian R., Zamani N. (2011). Free radical scavenging activity and phenolic and flavonoid contents of *Echinophora platyloba* DC. *Asian J. Med. Pharm. Res*. 1 (1): 09-11.

Kim D.W., Jeong H.J., Kang H.W., Shin M.J., Sohn E.J., Kim M.J., Ahn E.H., An J.J., Jang S.H., Yoo K.Y., Won M.H., Kang T.C., Hwang I.K., Kwon O.S., Cho S.W., Park J., Eum W.S., Choi S.Y. (2009). Transduced human PEP-1–catalase fusion protein attenuates ischemic neuronal damage. *Free Radic Biol Med*. 47 (7): 941-952.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Knežević S.V., Blazekwic B., Stefan M.B., Babac M. (2012). Plant polyphenols as antioxidants influencing the human health. In: *Phytochemicals as nutraceuticals- global approaches to their role in nutrition and health*. Edition Venketeshwer Rao. 155-180.

Kregel K.C. (2002). Heat shock proteins: Modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *Journal of Applied Physiology*. 92: 2177-2186.

Kundu J.K., Surh Y. (2008). Cancer chemopreventive and therapeutic potential of resveratrol: Mechanistic perspectives. *Cancer Letters*. 269 (2): 243-261.

Lau A.T., Wang Y., Chiu J.F. (2008). Reactive oxygen species: current knowledge and applications in cancer research and therapeutic. *J Cell Biochem*. 104 (2): 657-667.

Lee H.S., Kim S.S., Kim G.J., Lee J.S., Kim E.J., Hong K.J. (2008). Antiviral Effect of Ingenol and Gingerol during HIV-1 Replication in MT4 Human T Lymphocytes. *Antiviral Research*. 78: 44.

Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*. 79 (5): 727-47.

Martin S., Andriantsitohaina R. (2002). Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Ann Cardiol Angeiol*. 51 (6): 304-315.

Mates J.M., Perez-Gomez C., Nunez de Castro I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*. 32 (8): 595-603.

Mates J.M. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicol*. 153 (1-3): 83-104.

McLennan H.R., Degli Esposti M. (2000). The contribution of mitochondrial respiratory complexes to the production of reactive oxygen species. *J Bioenerg Biomembr*. 32 (2): 153- 62.

Menon S.G., Goswami P.C. (2007). A redox cycle within the cell cycle: ring in the old with the new. *Oncogene*. 26: 1101-1109.

Meutia Z., Mauizah H., Zalianda R. (2018). Identification of Zingiberaceae as medicinal plants in Gunung Cut Village, Aceh Barat Daya, Indonesia. *Journal of Tropical Horticulture*. 1 (1).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Middleton E., Kandaswami C., Theoharidies T.C. (2000). The effects of plant flavonoidson mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological reviews*. 52: 673-751.

Mobasseri M., Mahluji S.1., Attari V.E., Payahoo L., Ostadrahimi A., Golzari S.E. (2013). Effect of ginger (*Zingiber officinale*) on plasma glucose level, HbA1c and insulin sensitivity in type 2 Diabetic patients. *Int J Food Sci Nutr*. 64 (6) : 682-6.

Monteil C., Mulder P., Thuillez C. (2004). Stress oxydant et insuffisance cardiaque : une cible thérapeutique utopique?. *Médecine thérapeutique Cardiologie*. 2: 75-85.

Morandat S., Durand G., Polidori A., Desigaux L., Bortolato M., Roux B., Pucci B. (2003). PBN derived amphiphilic spin-traps, Synthesis and study of their miscibility with polyunsaturated phospholipids. *Langmuir*. 19 (23): 9699-9705.

Morel Y., Barouki R. (1999). Respression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J*. 3: 481-96.

Mozaffari-Khosravi H., Talaei B., Jalali B.A., Najarzadeh A., Mozayan M.R. (2014). The effect of ginger powder supplementation on insulin resistance and glycemic indices in patients with type 2 diabetes: a randomized, doubleblind, placebo-controlled trial. *Complement Ther Med*. 22 (1): 9-16.

Nicholls D.G., Ferguson S.J. (2002). *Bioenergetics*. 3rd edn, chs. Amsterdam: Academic Press. p: 297.

Niki L., Reynaert S.W., Aesif T., MCGovern A.B., Emiel F.M., Wouters Charles G. Irvin Yvonne M.W. Janssen-Heininger. (2007). Catalase Over expression Fails to Attenuate Allergic Airways Disease in the Mouse. *The Journal of Immunology*. 178: 3814-3821.

Oreka jardinage. (2016). Gingembre: savoir planter, tailler, entretenir, sur <https://jardinage.ooreka.fr/plante/voir/134/gingembre>.

Palmer R.M., Rees D.D., Ashton D.S., Moncada S. (1988). L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun*. 153 (3): 1251-6.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Pietta P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Production*. 63: 1035-1042.

Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J.O. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumon*. 4 (5).

Pinson C. Curcuma et gingembre – un concentré de bienfaits pour votre santé et votre beauté. Eyrolles Ed. 2012. 169 p.

Platel K., Srinivasan K. (2004). Digestive stimulant action of species: a myth or reality? *Indian J Med Res May*. 119 (5) : 167-79.

Portes E. (2008). Synthèse et études de tétrahydrocurcuminoïdes : propriétés photochimiques et antioxydantes, applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle. These de Doctorat de l'Université de BORDEAUX I, France. p : 18.

Priyanka S., Kumar Verma P., Sood S., Yousuf R., Raina R. (2022). Oxidative renal damage induced by fluoride and dimethoate and its mitigation by *Zingiber officinale* in Wistar rats. *Research Square*. 1-23.

Qutub A.A, Popel A.S. (2008). Reactive oxygen species regulate hypoxia-inducible factor 1 α differentially in cancer and ischemia. *Mol Cell Biol*. 28 (16): 5106-19.

Rahman K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging*. 2 (2): 219-36.

Ramakrishnan R. (2013). Anticancer properties of *zingiber officinale*–ginger. *Pharmaceutical Sciences (IJMPS)*, 3:11-20.

Raman V., Arjun V., Marla J.B. (2011). Selenoproteins in cellular redox regulation and signaling. *Oxidative Stress in Vertebrates and Invertebrates. Molecular Aspects of Cell Signaling*. 195-208.

Ratnam V.D., Ankola D.D., Bhardwaj V., Sahana D.K., Ravi Kumar M.N.V. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *J Control Release*. 113 (3): 189-207.

Ribeiro M.A., Bernardo-Gil M.G., Esquivel M.M. (2001). *Melissa officinalis*, L: study of antioxidant activity in supercritical residues. *J Supercritical Fluids*. 21 : 51-60.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Richter G. (1993). Composés phénoliques in Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie. Ed Presse polytechnique et universitaire romande. 317-339.

Rohdewald P. (2002). A review of the French maritime pine bark extract (Pycnogenol (R)), a herbal medication with a diverse clinical pharmacology. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 40 (4):158-168.

Rong X., Peng G., Suzuki T., Yang Q., Yamahara J., Li Y. (2009). A 35-day gavage safety assessment of ginger in rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology.* 54 (2): 118-123.

Sainvitu R., Nott K., Richard G., Blecker C., Jérôme C., Wathelet J.P., Paquot M., Deleu M. (2012). Structure, properties and obtention routes of flaxseed lignan secoisolariciresinol. A review, *Biotechnol. Agron.Soc.Environ.* 16 (1): 115-124.

Sarni-Manchado P., Cheynier V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Tec et Doc Lavoisier. p : 02-11.

Scalbert A., Williamson G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphénols. *J.Nutr.* 130: 2073S-2085S.

Schnitzler P., Koch C., Reichling J. (2007). Susceptibility of Drug-Resistant Clinical Herpes Simplex Virus Type 1 Strains to Essential Oils of Ginger, Thyme, Hyssop, and Sandalwood; Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 51: 1859-1862.

Semwal R.B., Semwal D.K., Combrinck S., Viljoen A.M. (2015). Gingerols and shogaols: Important nutraceutical principles from ginger. *Phytochemistry.* 117: 554-568.

Sharifi-Rad M., Varoni E.M., Salehi B., Sharifi-Rad J., Matthews K.R., Ayatollahi S. et al. (2017). Plants of the Genus Zingiber as a Source of Bioactive Phytochemicals: From Tradition to Pharmacy. *Molecules.* 22 (12): 2145.

Shekarforoush S., Fathabad A.A., Taheri A. (2020). Protective effect of Ginger against Sodium Metabisulfite induced Oxidative Stress in Rat. *Jordan Journal of Biological Sciences.* 13 (3) : 321-325.

Shobana S., Naidu A. (2000). Antioxidant activity of selected India spices. Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids. 62 (2): 107-110.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Sies H. (1999). Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic Biol Med.* 27 (9-10): 916-21.

Socynska-Kordala M., Bakowska A., Oszmiansky J., Gabrielska J. (2001). Metal-ion flavonoid associations in bilayer phospholipid membranes. *Cell Mol Biol Lett.* 6: 277-81.

Sökmen1 B.B., Aydın S., Kınalıoğlu K. (2012). Antioxidant and antibacterial properties of a lichen species *Diploschistes scruposus* (Schreb.) Norman. *IUFS Journal of Biology.* 71 (1): 43-51.

Srinivasan K. (2017). Ginger rhizomes (*Zingiber officinale*): A spice with multiple health beneficial potentials. *Pharma Nutrition*, 5:18-28. Speck B. Fotsch U. Fotsch C. 2014. Connaissance des herbes, Gingembre *Zingiber officinale*. E GK-caisse de santé. Siège principale Brislachstrasse 2 /4242 Laufon, 4 p.

Thannickal V.J., Fanburg B.L. (2000). Reactive oxygen species in cell signaling. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology.* 279: 1005-28.

Thérond P., Denis B. (2005). Cibles lipidiques des radicaux libres dérivés de l'oxygène et de l'azote: effets biologiques des produits d'oxydation du cholestérol et des phospholipides. In Delattre, J., Beaudeau, J.L, Bonnefont-Rousselot, D. Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales Internationales, Paris. 114-167.

Turrens J.F., Freeman B.A., Crapo J.D. (1982). Hyperoxia increases H₂O₂ release by lung mitochondria and microsomes. *Arch Biochem Biophys.* 217: 411-421.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D, Mazur M., Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 39 (1): 44-84.

Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions.* 160: 1 40.

Vasconcelos S.M.L., Goulart M.O.F., Moura J.B.F., Manfredini V., Benfato M., Kubota L.T. (2007). Espécies reativas d'oxigénio et de nitrogénio, antioxydants, marcadores de

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

dano oxidativo em sangue humano : principais métodos analiticoa parasua determinação .Quim Nova. 30 (5) : 1323-38.

Vertuani S., Angusti A., Manfredini S. (2004). The antioxidants and pro-antioxidants network: on averview. Curr. Pharm. Des. 10 (14): 1677-94.

Wang H. (2020). Introductory Chapter: Studies on Ginger. Ginger Cultivation and Its Antimicrobial and Pharmacological Potentials. EBOOK ISBN 978-1-83880-407-7

Xu D.P., Li Y., Meng X., Zhou T., Zhou Y., Zheng J., Zhang J.J., Li H.B. (2017). Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources. International journal of molecular sciences. 18 (1): 96.

Zelko I.N., Mariani T.J., Folz R.J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. Free Radic Biol Med. 33 (3): 337-49.

Zhang L., Joje R.S. (1999). Oxidative stress differentially modulates phosphorylation of ERK, p38 and CREB induced by NGF or EGF in PC12 cells. Neurobiol Aging. 20 (3): 271-8.

Zhao P., Wang J., Ma H., Xiao Y., He L., Tong C., Wang Z., Zheng Q., Dolence E.K., Nair S., Ren J., Li J.A. (2009). Newly synthetic chromium complex-chromium (D phenylalanine) 3 activates AMPactivated protein kinase and stimulates glucose transport. Biochem Pharmacol. 77 (6): 1002-10.