



République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de  
l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Chahid chikh Larbi Tébessi –Tébessa–

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

Département de Biologie Appliquée



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master LMD

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

Thème :

*Evaluation de l'effet protecteur de l'extrait de Ginkgo biloba sur les perturbations biochimiques et neurobiologiques induits par le stress chronique de contention chez un model animal*

**Présenté par :**

-Sassi Zineb

-Touaitia Maroua

**Devant le jury composé de :**

Mr. Ben Aycha brahim	M.C.B Université de Tébessa	Examineur
Mme. Bouzzeraa Hayete	M.C.A Université de Tébessa	Présidente
Mme. Guedri Kamilia	M.C.A Université de Tébessa	Promotrice

Date de soutenance : 05/ 06 / 2023.

Note :

Mention :



## Résumé

Le stress est une problématique actuelle très importante aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Chaque individu, humain et animal, est confronté dans sa vie quotidienne à des situations stressantes, l'exposition chronique au stress est responsable de l'apparition de plusieurs pathologies, l'immobilisation forcée est l'un des modèles de stress les mieux explorés chez le rat. En raison de plusieurs effets secondaires de médicaments chimiques, de nombreux spécialistes et patients préfèrent la thérapie à base de plantes comme les extraits de *Ginkgo biloba* (GBE) pour soigner les maladies et les troubles associés au stress.

Dans cette étude, nous nous concentrerons sur l'évaluation des effets d'amélioration possibles d'Extrait des feuilles de la *Ginkgo biloba* sur l'oxydation et les perturbations biochimiques et neurocomportementales induites par le stress chronique de contention pendant 21 jours chez les ratte femelles Wistar.

L'application du stress chronique de contention à raison de (3h/jour/21jours) consécutifs, provoque d'une part, des réponses anxio-dépressives détectées par le test de l'EPM et FST et une détérioration de l'activité exploratoire et locomotrice au niveau du test de l'OF associée à une déficience mémorative révélée par le test de TRO et déclenchement d'un stress oxydatif cérébral révélé par la diminution de l'activité de la glutathion-S-transférase (GST), l'augmentation du taux du malondialdéhyde (MDA) et d'autre part des perturbations hématologiques (Leucocytose) et biochimiques (Hyperglycémie, hypercholestérolémie et augmentation de l'ACTH cérébrale).

Par ailleurs, Le traitement des rats stressés par l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de la *Ginkgo biloba* a amélioré les troubles cognitifs de la mémoire spatiale, diminué le degré d'anxiété, réduit la dépression et amélioré le statut redox cérébral.

Ces résultats témoignent du pouvoir antioxydant, anxiolytique, antidépresseur de la *Ginkgo biloba* contre les effets délétères du stress chronique d'immobilisation.

**Mots clés :** Stress chronique de contention, *Ginkgo biloba*, Comportement, Stress oxydant, Rat.

## **Abstract**

Stress is a very important current problem both in humans and in animals. Each individual, human and animal, is confronted in his daily life with stressful situations, chronic exposure to stress is responsible for the appearance of several pathologies, forced immobilization is one of the best-explored stress models in rats. Due to several side effects of chemical medications, many specialists and patients prefer herbal therapy like *Ginkgo Biloba* (GBE) extracts to cure diseases and disorders associated with stress.

In this study, we will focus on evaluating the possible ameliorative effects of *Ginkgo biloba* leaf extract on oxidation and biochemical and neurobehavioral disturbances induced by chronic restraint stress for 21 days in female Wistar rats.

The application of chronic restraint stress for (3h/day /21days) consecutive, causes on the one hand, anxio-depressive responses detected by the EPM and FST test and a deterioration of exploratory and locomotor activity at the level of the OF test associated with a memory deficiency revealed by the TRO test and triggering of cerebral oxidative stress revealed by the decrease in the activity of glutathione-S-transferase (GST), the increase in the rate malondialdehyde (MDA) and on the other hand hematological (Leukocytosis) and biochemical (Hyperglycemia, hypercholesterolemia and increased cerebral ACTH) disturbances.

In addition, the treatment of stressed rats with the methanolic extract of *Ginkgo biloba* leaves improved cognitive disorders of spatial memory, decreased the degree of anxiety, reduced depression and improved cerebral redox status.

These results testify to the antioxidant, anxiolytic and antidepressant power of *Ginkgo biloba* against the deleterious effects of chronic stress of immobilization.

**Keywords:** Chronic restraint stress, *Ginkgo biloba*, Behavior, Oxidative stress

## الملخص

الإجهاد مشكلة حالية مهمة للغاية في كل من الإنسان والحيوان، يواجه كل فرد، بشري وحيواني، في حياته اليومية مواقف مرهقة، والتعرض المزمن للتوتر هو المسؤول عن ظهور العديد من الأمراض، وشلل الحركة القصري هو أحد أفضل نماذج الإجهاد المكتشفة عند الفئران. نظرا للعديد من الآثار الجانبية للأدوية الكيميائية، يفضل العديد من المتخصصين والمرضى العلاج بالأعشاب مثل مستخلصات الجنكا لعلاج الأمراض والإضطرابات المرتبطة بالإجهاد.

في هذه الدراسة، سنركز على تقييم التأثيرات التحسينية المحتملة لمستخلص أوراق الجنكا على الأكسدة والاضطرابات الكيميائية الحيوية والسلوكية العصبية الناجمة عن إجهاد التقييد المزمن لمدة 21 يوما في إناث فئران ويستار.

تطبيق الإجهاد المزمن لضبط النفس بمعدل 3 ساعات لمدة 21 يوما متتاليا، يسبب من ناحية، استجابات القلق الإكتنابي المكتشفة بواسطة اختبار المتاهة المتقاطعة المرتفعة و السباحة القسرية وتدهور النشاط الاستكشافي والحركي على مستوى اختبار المجال المفتوح المرتبط بنقص الذاكرة الذي كشف عنه اختبار التعرف على الأشياء واثارة الاجهاد التأكسدي الدماغية عن طريق تقليل نشاط الجلوتاثيون ترانسفيراز وزيادة مستويات المالونالدهيد ومن ناحية أخرى أمراض الدم (زيادة عدد كريات الدم البيضاء) والاضطرابات الكيميائية الحيوية (ارتفاع نسبة السكر في الدم و فرط كوليسترول الدم وزيادة الهرمون المنشط لقشرة الكظرية الدماغية).

بالإضافة إلى ذلك، فإن علاج الفئران المجهدة بالمستخلص الميثاني لأوراق الجنكة بيلوبا يحسن الاضطرابات المعرفية للذاكرة المكانية، ويقلل من درجة القلق، ويقلل الاكتئاب ويحسن حالة الأكسدة الدماغية.

هذه النتائج تشهد على القوة المضادة للأكسدة و للقلق و الاكتئاب لعشبة الجنكا ضد الآثار المرضية للإجهاد المزمن

**الكلمات المفتاحية:** إجهاد النفس المزمن، الجنكا، السلوك، الإجهاد التأكسدي فار

# *Remerciement*

*Volonté à Dieu le Seigneur des deux mondes qui a accepté et nous a aidés dans*

*Ce cours d'étude à compléter ce mémoire avec détermination et volonté et à  
réaliser Les moyens de réussir.*

*Nous exprimons nos sincères remerciements et notre appréciation à notre chère*

*Promotrice, **Dr. GUEDRI KAMILIA**, pour ses efforts avec nous et pour son  
attention dans Les moindres détails dans cette étude et pour son bon traitement  
et la manière Dont elle a été hautement supervisée.*

Un merci particulier à notre président de jury, **Dr. Bouzeraa Hayete** de nous  
avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de mémoire.

Un Merci Particulier à l'examineur de ce mémoire **Dr. Ben Aycha brahim**  
pour avoir accepté d'examiner et évaluer notre travail

## *Dédicaces*

*Au nom de Dieu le Miséricordieux et que les prières et la paix de Dieu soient sur le Maître de l'intercession, notre Maître Muhammad le Noble Prophète, sa famille et ses proches compagnons, et ceux qui les ont suivis avec bonté jusqu'au Jour du Jugement et après.*

*Je dédie ce travail : A mes parents : "**Ramdane**" et "**Fatha**", pour leur sacrifice, leur amour, leur soutien et encouragements tout au long de mes études.*

*A mon frère : qui m'ont toujours soutenu et encouragé à la réussite,  
"Naoui "*

*A mes sœurs : qui m'ont montré ce qu'il y a de plus beau que la vie,  
**Malek, Mariem, Sidra***

*A mon binôme **Marroua**, La meilleure amitié que je tirerai de cette note Je n'oublierai pas tous ceux qui m'ont soutenu dans ce travail  
(**Mouchira...**)*

*Sassi Zineb*

## *Dédicaces*

*Je dédie mon succès à ceux qui ont été la raison pour laquelle j'ai atteint ce haut niveau :*

*À la prunelle de mes yeux et à la lumière qui éclaire mon chemin. À qui sa supplication à Dieu était la raison de mon succès aujourd'hui, ma mère, mon amour éternel*

*A celui qui attendait mon succès et ne l'a pas vu car il est décédé et son absence m'a fait perdre le sens de la joie. Mon cher père, mais je sais qu'il m'accompagne et qu'il est fier de moi*

*A mon bras caché et mon soutien solide qui ne m'abandonne pas A celle qui mérite le titre de sœur, la chérie de mon cœur, ma sœur*

*A mes deux ailes, mes frères **Amjed Sohaib et Ayoub***

*A mon cher grand père et bien aimé de mon cœur et mon deuxième père.*

*A mon meilleur ami et plus proche de mon cœur, qui a mérité le titre d'amie **Sassi Zineb***

*Je me le dédie parce que je suis très fier de moi et que je m'honore, malgré les circonstances difficiles, je suis arrivé et j'ai réussi.*

*Maroua Touaitia*



## Liste des abréviations

**ACTH** : Adrenocorticotropin hormone

**ANOVA** : Analyse de la variance

**AVP**: noyau para ventriculaire

**CRF**: Corticotrophin Releasing Factor

**EPM**: elevated place maze

**EGB** : Extrait de *Ginkgo biloba*

**GABA**: Acid gamma aminobutyrique

**GBE**: *Ginkgo Biloba*

**GRS** : récepteurs, minéralocorticoïdes

**HPA** : L'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien

**LC** : locus coeruleus

**MRS** : récepteurs glucocorticoïdes

**OF** : Open Field

**SE** : système endocrinien

**SGA** : syndrome d'adaptation généralisée

**SL** : système limbique

**SNC** : système nerveux central

**SNP** : système nerveux périphérique

**SNVOS** : système nerveux orthosympathique

**T** : Témoin

**TRO** : Teste de reconnaissance des objets

## Liste des figures

N° Figure	Titre	Page
<b>01</b>	<i>Ginkgo Biloba</i>	<b>05</b>
<b>02</b>	Feuille de <i>Ginkgo Biloba</i>	<b>07</b>
<b>03</b>	Les souches males et femelles de <i>Ginkgo Biloba</i>	<b>07</b>
<b>04</b>	FRUITS VDE GINKGO BILOBA	<b>08</b>
<b>05</b>	Structure de base des flavonoïdes (phényl-2-benzopyrane).	<b>09</b>
<b>06</b>	Les structures des différents ginkgolides	<b>10</b>
<b>07</b>	Structure de bilobalide	<b>11</b>
<b>08</b>	Tanins condensés	<b>11</b>
<b>09</b>	Acides ginkgoliques	<b>12</b>
<b>10</b>	Triade typique de la phase de réaction du syndrome général d'adaptation de Selye	<b>17</b>
<b>11</b>	Activation de l'axe corticotrope suite au stress	<b>23</b>
<b>12</b>	Activation de l'axe sympathique lors du stress (Kalvez, 2010)	<b>24</b>
<b>13</b>	Les animaux d'expérimentation	<b>30</b>
<b>14</b>	La <i>Ginkgo Biloba</i>	<b>30</b>
<b>15</b>	Application du stress de contention	<b>31</b>
<b>16</b>	Lotissement des animaux	<b>32</b>
<b>17</b>	Plan de préparation de l'extrait méthanolique	<b>33</b>
<b>18</b>	Etape de préparation de l'extrait méthanolique	<b>34</b>
<b>19</b>	Photographie du test d'open Field	<b>35</b>

<b>20</b>	Dispositif du test de la nage forcée	<b>36</b>
<b>21</b>	Test de reconnaissance des objets	<b>37</b>
<b>22</b>	Dispositif utilisé dans PM (photo personnel)	<b>38</b>
<b>23</b>	Prélèvement du veine retro-orbitale	<b>38</b>
<b>24</b>	Dissection et prélèvement des organes	<b>39</b>
<b>25</b>	Un glucomètre	<b>40</b>
<b>26</b>	Préparation de l'homogénats de cerveau	<b>42</b>
<b>27</b>	Dosage des protéines tissulaires	<b>43</b>
<b>28</b>	Figure représentant le mécanisme réactionnel de l'MDA (Ligor et al.,2011)	<b>43</b>
<b>29</b>	Dosage de l'activité de la glutathion S-transférase (GST)	<b>45</b>
<b>30</b>	Chaine de Elisa	<b>47</b>
<b>31</b>	Variations du poids relative des surrénale (A) et du cerveau (B) chez les rats témoins, stressé et traités	<b>50</b>
<b>32</b>	Variations du cholestérol (A) et de la glycémie (B) chez les rats témoins, stressé et traités	<b>51</b>
<b>33</b>	Variation de l'MDA et du GST chez les rats témoins, Stressés et Traités	<b>53</b>
<b>34</b>	Variation de L'ACTH cérébrale chez les rats témoins, Stressés et traités	<b>54</b>
<b>35</b>	Variation des paramètres de l'FST chez les rats témoins, Stressés et Traités	<b>57</b>

## Liste des tableaux

<b>N° Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Evolution du concept de stress	<b>17</b>
<b>02</b>	Réactifs utilisés dans le dosage de cholestérol	<b>41</b>
<b>03</b>	Réactifs de travail	<b>41</b>
<b>04</b>	Les Variations du gain du poids chez les rats témoins, stressés et traités	<b>49</b>
<b>05</b>	Variation du poids absolu des organes chez les rats témoins, stressés et traités	<b>49</b>
<b>06</b>	Variation des paramètres biochimique chez les rats témoins, stressés et traités	<b>51</b>
<b>07</b>	Variation des paramètres hématologiques chez les rats témoins, stressés et traités	<b>52</b>
<b>08</b>	Variation du taux du malondialdéhyde et de l'activité de la glutathion-S-transférase(GST) au niveau hépatique chez le lot témoin, stressé et traité	<b>53</b>
<b>09</b>	Variation de l'ACTH chez les rats témoins, Stressés et traités	<b>54</b>
<b>10</b>	Variation des paramètres de l'EPM chez les rats témoins, Stressés et traités	<b>55</b>
<b>11</b>	Variation des paramètres de l'OF chez les rats témoins, Stressés et traités	<b>56</b>
<b>12</b>	Variation des paramètres de TRO chez les rats témoins, Stressés et traités	<b>56</b>

## Table des matières

Résumé	
المخلص	
Summary	
Dédicaces	
دédicaces	
Remerciements	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1
<b>Synthèse bibliographique</b>	
Chapitre I : Ginkgo Biloba.....	4
1. Définition .....	5
2. Classification.....	5
2.1. Nom commun .....	5
2.2. Nom botanique .....	6
3. Description .....	7
4. Composition chimique.....	8
4.1. Les flavonoïdes.....	9
4.2 Les Terpènes.....	10
4.3. Tanins.....	11
4.4. Acides Ginkgoliques :.....	12
4.5. Ginkgotoxines :.....	12
5. Effets biologiques.....	12
5.1. Amélioration du flux.....	12
5.2. Antagonisme et effet anti-inflammatoire .....	13
5.3. Antioxydant (radical scavenging) et son bénéfique.....	13
6. Pharmacologie.....	13

Chapitre II : Stress .....	
2. Notion Générale sur le Stress .....	16
2.1. Définition du stress .....	16
2.2. L’histoire du concept de stress .....	16
2.3. Les stressseurs.....	18
2.3.1. Stress aigu et stress chronique .....	19
2.3.2. Le stress chronique.....	19
2.4. Les types de stress.....	19
2.4.1. Stress de Séparation .....	19
2.4.2. Stress traumatique .....	19
2.4.3. Stresse cumulatif.....	19
2.5. L’anxiété et la peur .....	19
2.6. La dépression.....	20
2.7. Physiologie du stress.....	20
2.8. Réponse au stress (syndrome général d’adaptation (SGA)).....	20
2.9. Les mécanismes du stress.....	22
2.10. Le rôle du stress, ses effets aigues et chroniques .....	24
2.10.1. Effets du stress à court terme (stress aigue) .....	25
2.10.2. Effets du stress à long terme (stress chronique).....	26
2.11. Modulation des systèmes de stress en cas de stress chronique .....	26
2.12. Conséquences Pathologiques d’un stress chronique.....	26

### **Etude expérimentale**

Matériels et méthode .....	30
3.1. Matériels.....	30
3.1.1. Matériel Animal .....	30
3.1.2. Matériel végétal.....	30
3.2. Méthodes .....	31
3.2.1. Entretien des animaux .....	31
3.2.2. Application du stress de contention.....	31
3.2.3. Choix de la dose et répartition des animaux.....	31
3.2.4. Préparation de l’extrait méthanolique de la plante.....	32

3.2.5. Etude comportementale .....	34
3.2.5.1. Test du champ ouvert (Open Field) .....	34
3.2.5.2. Test de la nage forcée (FST).....	35
3.2.5.3. Test de reconnaissance des objets (ORT).....	36
3.2.5.4. Test de labyrinthe en croix surélevé.....	37
3.2.6. Prélèvement .....	38
3.6.1.1. Prélèvement sanguin.....	38
3.6.1.2. Prélèvement des organes.....	38
3.2.7. Etude des paramètres hématologiques .....	39
3.2.8. Etude des paramètres biochimiques .....	40
3.2.9. Evaluation des paramètres du stress oxydant cérébral .....	42
3.2.10. Dosage de GST .....	44
3.2.11. Mesure de l'ACTH cérébral .....	45
3.2.12. Analyses statistiques.....	47
Résultats .....	
4.1. Effet de stress de contention et le traitement par le <i>Ginkgo Biloba</i> sur l'évolution pondérale.....	49
4.2. Effet de stress de contention et le traitement par le <i>Ginkgo Biloba</i> sur Poids Absoludes organes.....	49
4.3. Effet du stress de contention et le traitement par le <i>Ginkgo Biloba</i> sur les paramètres biochimique.....	50
4.4. Effet de stress et le traitement par le <i>Ginkgo Biloba</i> sur les paramètres hématologiques.....	52
4.5. Effet de stress et le traitement par le <i>Ginkgo Biloba</i> sur le statut redox.....	52
4.6. Effet de stress et le traitement par le <i>Ginkgo Biloba</i> sur le niveau de l'ACTH cérébrale.....	54
4.7. Effet de stress et le traitement par le <i>Ginkgo Biloba</i> sur le comportement.....	54
Discussion.....	59
Conclusion et perspective .....	69
Références bibliographiques .....	71

# Introduction



## Introduction

Au cours des trois ou quatre dernières décennies, l'incidence des troubles liés au stress et dépression a augmenté de façon alarmante avec le rythme rapide de la vie, en particulier dans les populations urbaines (**Chrousos et Gold, 1992, Andrews et al., 2000**).

La condition de stress est une réponse hautement personnalisée du corps aux facteurs internes et externes. C'est l'un des facteurs importants qui affectent une population de personnes partout. Elle entraîne une contrainte sur l'endurance émotionnelle et physique, qui a été identifiée comme un facteur clé dans l'étiologie de nombreux problèmes psychologiques et physiques (**Moore et Cunningham, 2012 ; Stojanovich et Marisavljevich, 2008**).

Le premier à nous avoir ouvert ce vaste champ dans l'étude du stress est Hans Selye en 1936. L'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (HPA) est une hormone clé de résistance au stress qui joue également un rôle important dans la physiopathologie des maladies mentales liées au stress comme la dépression et l'anxiété (**De Kloete et al., 2005**).

Le stress chronique se traduit par une hyperactivité de l'axe Corticotrope (hypothalamo-hypophysio-surrénalien) et de l'axe sympathique, ce qui provoque une libération importante de catécholamines et de glucocorticoïdes aux niveaux central et périphérique. Cela est dû à un déficit dans le contrôle de rétroaction négative que les glucocorticoïdes exercent sur les différents tissus et centres nerveux du corps, ce qui serait la cause de nombreux changements physiologiques.

Le type de stress le plus intense dans les modèles rongeurs qui a également un effet comparable sur l'être humain est le stress de contention, qui était le type de stress utilisé dans la présente étude.

Il a été démontré que l'exposition chronique des rats à la pression de contention altère les fonctions cognitives telles que l'apprentissage et la mémoire dans le test du labyrinthe aquatique de Morris (**Kazushige et al., 2000; Venero et al., 2002**), et certains paramètres comportementaux chez la souris, comme l'anxiété et la dépression.

La situation actuelle de prise en charge de ces troubles est totalement insuffisante. Le problème est que le mésusage des médicaments psychiatriques comporte de nombreux inconvénients et effets néfastes et pourtant on constate l'utilisation courante d'anxiolytiques ou de sédatifs pour gérer le stress.

Il est de plus en plus évident que les humains courent un risque élevé de surdosage de

médicaments psychoactifs pendant les périodes de stress aigu. Ces agents ne doivent être utilisés qu'en cas d'agitation extrême, et leur usage thérapeutique n'est pas la meilleure solution et ne constitue pas une bonne pratique clinique (**Robert et Fawzy, 1989**).

Des problèmes peuvent survenir et les risques de traitement du stress sont exacerbés, de sorte que les personnes qui souffrent vraiment de stress doivent faire particulièrement attention à ces risques, ce qui fait de l'utilisation de produits naturels sûrs (comme les plantes médicinales) une option idéale. L'utilisation de ressources naturelles, comme les plantes médicinales, peut s'avérer une approche utile pour gérer les problèmes de santé mentale liés au stress. Il est certain que les composants nutritionnels et chimiques des plantes ont un rôle important dans l'amélioration des déséquilibres neurologiques (**Youdim et Joseph, 2001**).

Et nous avons choisi le Ginkgo pour rechercher de tels effets car il a récemment été démontré que cette plante médicinale populaire possède des propriétés pharmacologiques très intéressantes qui sont pertinentes pour l'étude actuelle.

*Ginkgo biloba* est le plus vieil arbre (fossile vivant) originaires des chaînes de montagnes de l'est de la Chine (**Singh et al., 2008**). L'extrait de feuilles de *G. biloba* est communément connu comme EGb 761 et est largement utilisé comme phytomédicament dans plusieurs pays (**Chan et al., 2007**). Les métabolites secondaires isolés de l'extrait comprennent des terpénoïdes, des polyphénols, allylphénols, acides organiques, glucides les acides gras, les lipides, les sels inorganiques et les acides aminés ; mais son activité pharmacologique est due aux flavonoïdes glycosides et trilactones terpéniques (**Ude et al., 2013**). Le flavonoïde les glycosides comprennent le kaempférol, la quercétine, la myricétine, apigénine, isorhamnétine, lutéoline et tamarixétine. Les trilactones terpéniques sont les ginkgolides A, B, C, J, M, K, L, P et Q, et bilobalides (**Van Beek et Montoro., 2009 ; Liao et al., 2011**). Ces constituants traverser la barrière hémato-encéphalique et agir sur système nerveux central (**Ude et al., 2013**). EGb 761 est utilisé non seulement comme agent neuroprotecteur contre la perte de mémoire, diminution de la vitesse cognitive, démence d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, les accidents vasculaires cérébraux et le vieillissement (**Diamond et al., 2000; Gertz et Kieter., 2004**), mais aussi comme hépato-protecteur, réparateur de l'ADN, anticancéreux, antioxydant, anti-inflammatoire et agent antiagrégant plaquettaire Son action biologique a été suggéré de piéger les radicaux libres et abaisser le stress oxydatif (**Mohanta et al., 2014**). Une étude récente sur l'importance phytochimique et médicinale de l'EGb 761a été faite par (**Mohanta et al., 2014**) et avec une attention particulière référence à la démence d'Alzheimer et à la maladie de Parkinson maladie par **Tan et al (2015)** et **Tanaka et al (2013)** respectivement.

La présente enquête, se concentre sur les effets d'atténuation possibles d'Extrait de *Ginkgo biloba* sur l'oxydation et les perturbations biochimiques et comportementales induisent par le stress chronique de contention chez les rats Wistar.

# Synthèse Bibliographique

# Chapitre I :

# Ginkgo Biloba

## 1. Définition

Le *Ginkgo biloba* est la plus ancienne espèce d'arbre vivant au monde, arbre dioïque à caduques C'est le seul membre d'un ordre largement représenté jusqu'à la fin de l'ère tertiaire D'origine orientale, il se distingue par des organes reproducteurs uniques et un fruit à l'odeur désagréable (ovule fusionné et pulpé). Il a été introduit en Europe au début du XVIIème siècle et est maintenant largement planté aux États-Unis en raison de sa valeur ornementale ainsi que de sa capacité à résister aux ravageurs et à la pollution. Il est également cultivé en Chine, en Corée et dans le sud-est de France (**Pasteur, 2013**).

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



**Figure 01 :** *Ginkgo biloba*

## 2. Classification

### 2.1. Nom commun

Le *Ginkgo biloba* comme beaucoup de végétaux peut se reconnaître sous différentes dénominations, comme l'arbre aux quarante écus, ou l'arbre aux mille écus. Ce nom est dérivé du jaune automnal que les feuilles de l'arbre tourneront en tombant, créant un tapis jaune orné

à la base de l'arbre. On le retrouve aussi sous les noms plus opportuns de noyer japonais, abricotier d'argent ou petit *ginkgo*.

## 2.2 Nom botanique

Cette plante appartient à :

- Classe : Gymnospermes

- Ordre : Ginkgoales, A

- Famille : *Ginkgoaceae*

- Genre : *Ginkgo*

- Espèce : *biloba* L (Cadet, 2017).

## 3. Description

Le *Ginkgo* est un arbre pouvant atteindre jusqu'à 15 mètres. Son tronc gris foncé se jeunes rameaux portent des feuilles partiellement divisées en deux formes dites fissure et se cannelle avec l'âge. Ses feuilles présentent deux formes bien distinctes. Les flabelliforme, tandis que sur les rameaux plus âgés, elles ont plutôt la forme d'un éventail chinois (plant femelle) ou encore de deux lobes (plants mâles). Au printemps, la feuille est d'un vert clair, à l'été le vert devient plus foncé pour finalement prendre une teinte d'un beau jaune or à l'automne. L'arbre est dioïque, c'est-à-dire qu'il y a des arbres mâles et des arbres femelles. Les chatons mâles portent de nombreuses étamines qui produisent une grande quantité de pollen. Les ovules femelles apparaissent à l'extrémité des rameaux. La floraison a lieu au début mai, mais peut varier selon les régions. L'ovule, faussement appelé « fruit » est de la grosseur d'une petite prune de 2 cm de diamètre, il est vert, puis jaune et dégage une odeur rance. Il est comestible.

### 3. 1. Les Feuilles

Les feuilles vertes caractéristiques de l'arbre *ginkgo* facilitent l'identification de cet arbre. Le nom « biloba » vient de leur structure bilobée en forme d'Eve, qui se compose d'une feuille. Le long pétiole, qui n'a pas de nerf central et peut atteindre une longueur de dix à cinq centimètres, sert de point de départ aux nerfs parallèles en forme de ciseau qui enroulent la plume. Ils sont nocturnes et se transforment en une couleur jaune-orange vibrante à l'automne (Cadet, 2017).



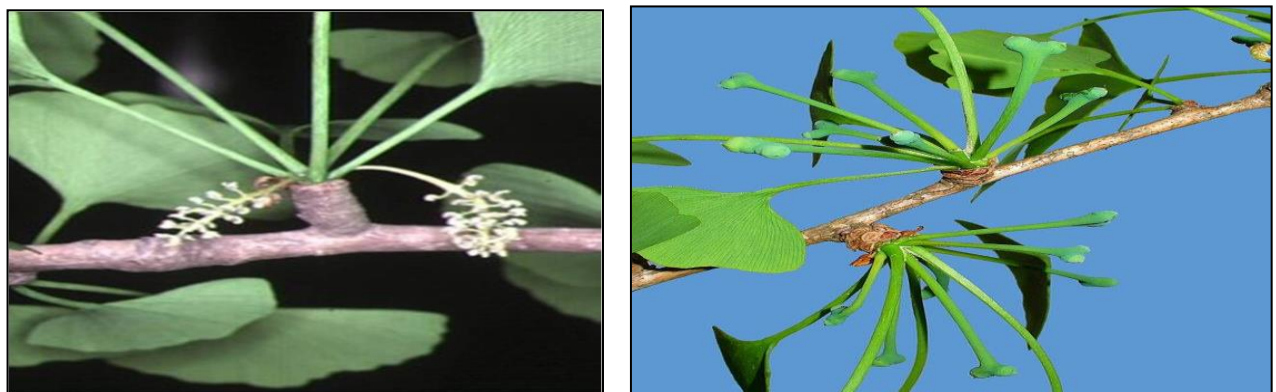
**Figure 02 :** Feuille de *Ginkgo biloba*

### 3. 2. L'écorce

L'écorce, dit-elle, est passée au fil du temps du brun au gris, de la lisse au fendu, puis sinueux (Cadet, 2017).

### 3. 3. Les souches mâles et femelles

Étant donné que le *ginkgo* est une espèce dioïque, des feuilles mâles et femelles sont présentes. L'inflorescence mâle se présente sous la forme de châtons cylindriques qui contiennent des sacs polliniques et assurent la reproduction. Les inflorescences femelles reconnaissables comprennent deux petits ovules libres, ovales, vert jaunâtre qui, lors de la fécondation, donnent un ovule ayant la consistance d'une drupe et ont une odeur nauséabonde caractéristique lorsqu'ils sont écrasés. On ne sait pas quel adulte on aura avant la floraison car il est difficile de faire la différence entre les plans du mâle et de la femelle quand ils sont jeunes. Avant de recevoir les fleurs, il faut attendre vingt à trente ans (Cadet, 2017)



**Figure 03 :** Les souches mâle et femelles de *Ginkgo biloba*

### 3. 4. Les fleurs

Les fleurs sont de sexe neutre. Les petites fleurs mâles sont regroupées en inflorescences (chaton). Les fleurs femelles sont réduites à un ou deux ovules nuls (Mingeon, 2014).

### 3. 5. Les fruits

Les fruits se distinguent par un arôme désagréable. Il s'agit en fait de drupes charnues qui sont le résultat de la fécondation d'un ovule, seuls les arbres femelles peuvent en porter



(Mingeon, 2014).



**Figure 04 :** Fruit de *Ginkgo biloba*

#### 4. Composition chimique

Les feuilles contiennent des lactones terpénoïdes comme les ginkgolides A, B et C, des sesquiterpènes lactones comme les bilobalides, des flavonoïdes, des tanins, des acides organiques comme l'acide ginkgolique et des lignanes (**Grussenmeyer, 2019**)

Le *Ginkgo Biloba* contient différents composants tels que les flavonoïdes, les trilactones terpéniques, les proanthocyanidines, les ginkgolicacids, les biflavones, les polyflavones et les ginkgotoxines. Les variations de la quantité des différents composants de la plante sont principalement liées aux périodes de récolte, au processus de séchage et au stockage. Cependant, le GBE normalisé (exemple EGb761 et LI 1370) Représente le médicament utilisé et recommandé forme de Ginkgo biloba.

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

##### 4. 1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes ou bioflavonoïdes ou encore appelés polyphénols font partie des composésphénoliques (**Cadet, 2017**).

##### A. Définition

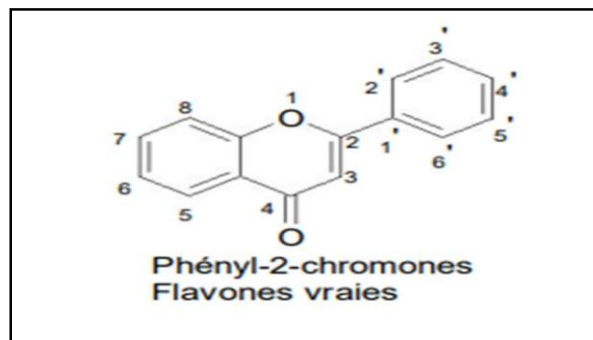
Le groupe de plus de 6 000 composés naturels connus sous le nom de flavanols est presque

universel parmi les plantes vasculaires. Ce sont les pigments qui donnent à certains organes végétaux leurs couleurs jaune, orange et rouge. Les fruits et légumes contiennent des composés flavonoïdes. De nombreuses boissons, notamment le vin rouge, le thé, le café et la bière, contiennent également des quantités importantes de cette substance. Les flavonoïdes peuvent également être trouvés dans plusieurs plantes médicinales (**Ghedira, 2005**).

Les flavonoïdes sont apparus jusqu'à présent comme de forts composés anti-inflammatoires *in vitro* et *in vivo* en raison de leur capacité pléiotropie à récupérer ROS et RNS pour réduire les activités des enzymes arachidoniques de métabolisation de l'acide (phospholipase A2, COX, LOX), pour déprimer l'expression et l'activité d'oxyde nitrique synthase NOS et pour moduler la production de cytokines pro-inflammatoires et l'expression des gènes pro-inflammatoires (**Izzi et al., 2012**).

### B. Structure chimique

La structure chimique connue sous le nom de phényl-2- benzopyrène est composée de 15 atomes de carbone organisés en configuration C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Il est divisé en deux unités aromatiques A et B (C<sub>6</sub>) reliées par une chaîne C. (C<sub>3</sub>) Chacun de ces cycles a un nom unique ; le cycle A est appelé phloroglucinol, le cycle B est appelé catéchol si un atome d'hydrogène est en position 5' ou cycle pyrogalloyle si un groupement hydroxyle est impliqué, et le cycle C est appelé pyrane (**Bouras, 2015**).



**Figure 05** : Structure de base des flavonoïdes (phényl-2-benzopyrane)

### 4. 2. Les Terpènes

Les ginkgolides sont l'un des ingrédients médicinaux importants de Ginkgo Biloba. Beaucoup d'études ont vérifié que les ginkgolides ont des effets anti-plaquettes- activateur, anti apoptotique, antioxydant, neurotrophique, et neuro-immuno modulateurs (**Bruneton, 1993**)

Il a été démontré que l'EGb761 protège les mitochondries des dommages liés à l'âge et améliore la fonction mitochondriale et le métabolisme énergétique cette action est principalement due aux ginkgolides et Bb (**Christian et al., 2013**).



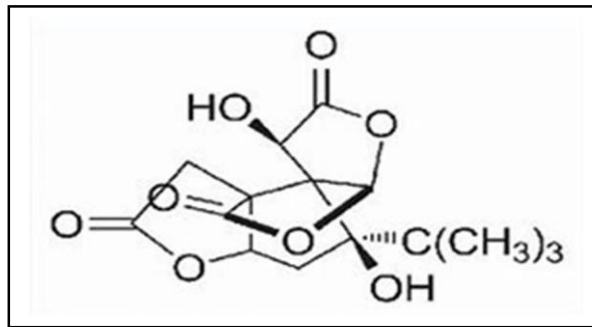


Figure 07 : Structure de bilobalide

#### 4. 3. Tanins

Ce sont des composés feuille à haut poids moléculaire, comprenant des métabolismes végétaux secondaires et des structures polyphénoliques. Ils sont solubles dans les solvants polaires comme l'eau ou l'alcool, et leur solubilité est plus importante à des températures chaudes qu'à des températures froides ou même lorsque le degré de polymérisation diminue. Leur affinité pour les protéines, en particulier les fibres de collagène présentes dans la matrice extracellulaire des organismes vivants (Bruneton, 1993).

Les tanins sont appréciés pour leurs propriétés astringentes, antiparasitaires et vasoconstrictrices, ainsi que leurs effets antidiarrhéiques et cicatrisants.

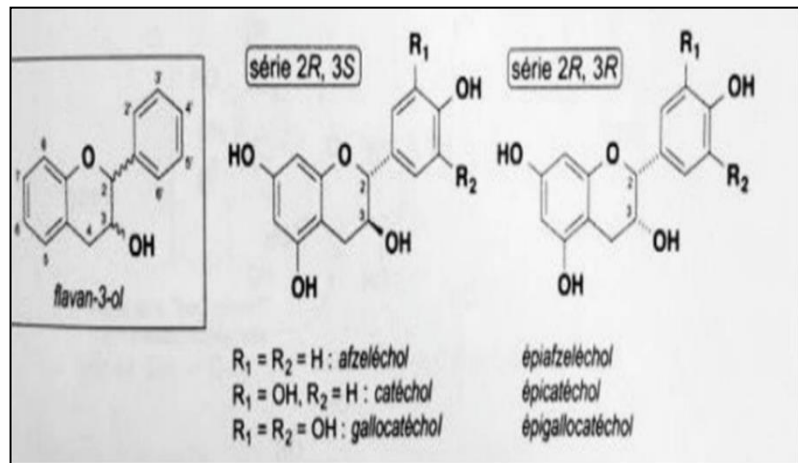
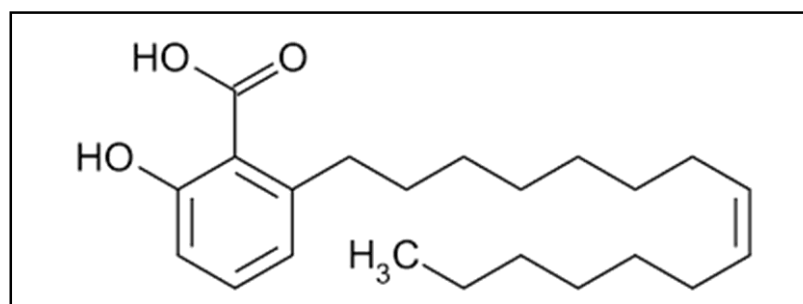


Figure 08 : Tanins condensés

#### 4.4. Acides ginkgoliques

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



**Figure 09 :** Acides ginkgoliques

#### 4.5. Ginkgotoxines

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

#### 5. Effets biologiques

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

##### 5.1. Amélioration du flux sanguin

Il est allégué que l'extrait de *Ginkgo biloba* peut améliorer le flux sanguin en augmentant la déformabilité des globules rouges et en diminuant l'agrégation des globules rouges, et ainsi, améliore la fluidité des globules rouges et diminue la viscosité sanguine entière. Les effets vasculaires de l'extrait de *Ginkgo biloba* peuvent également être médiés par le facteur relaxant dérivé de l'endothélium (EDRF), présumé être de l'oxyde nitrique (NO), qui détend les cellules musculaires des vaisseaux sanguins. L'oxyde nitrique a été montré pour inhiber la libération des prostacyclines des cellules d'endothéliums bovins cultivées. En récupérant l'oxyde nitrique, l'extrait de *Ginkgo biloba* pourrait potentialiser les effets des prostacyclines. Cependant, un excès de l'oxyde nitrique de radical libre est un facteur délétère et peut entraîner divers désordres de SNC, l'extrait de *Ginkgo biloba* (EGb761) protège et sauve des cellules hippocampiques contre la toxicité nitrique induite par l'oxyde (**Chan et al., 2007**).

##### 5.2. Antagonisme et effet anti-inflammatoire

Il a été prétendu que l'administration de l'extrait de *Ginkgo biloba* a entraîné des diminutions de l'agrégation plaquettaire, la réaction allergique, la réponse inflammatoire

générale, la décharge radicale d'oxygène et d'autres fonctions pro inflammatoires des macrophages. Les effets semblent être attribués aux actions combinées des ginkgolides et des flavonoïdes. Une augmentation du facteur d'agrégation des plaquettes se produit dans l'asthme, le rejet de greffe et dans les désordres immunitaires qui induisent le choc toxique. Ginkgolides ont été montrés pour posséder l'activité antagoniste très spécifique et puissante contre le facteur d'agrégation des plaquettes, qui peut entraîner une augmentation du flux sanguin périphérique. Les flavonoïdes dans l'extrait de ginkgo biloba inhiberaient la cyclooxygénase et la lipo-oxygénase qui sont impliquées dans le métabolisme arachidonique d'acide. L'activité de cyclooxygénase produit la thromboxane A<sub>2</sub>, un agrégateur de plaquettes puissant et lipo-oxygénase est concernée par la formation de leucotriènes, les substances associées à l'inflammation.

L'augmentation du flux sanguin et l'effet anti-inflammatoire de l'extrait de *Ginkgo biloba* peut être liée à l'inhibition de la cyclo-oxygénase et l'activité lipo-oxygénase (**Chan et al., 2007**).

### 5.3. Antioxydant (Radical Scavenging) et son bénéfique

#### \* Effets sur la santé

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

#### \*Activité antitumorale

La croissance des tumeurs a été retardée et il n'y avait aucune amélioration des dommages de rayonnement dans le tissu normal. La radiosensibilité des cellules de tumeurs a été augmentée probablement en améliorant le flux sanguin de tumeur et la diminution de la fraction hypoxique dans la tumeur. L'activité anticarcinogénique des flavonoïdes a également été rapportée. EGb présente un effet chimio préventif bénéfique contre la carcinogenèse gastrique induite par BP chez la souris (**Chan et al., 2007**).

## 6. Pharmacologie

Les riches vitamines et le carotène du fruit jouent un certain rôle dans le retard du vieillissement, la promotion du métabolisme de notre peau et l'effet blanchissant. Entre-temps, le fruit de *G. biloba* a également une très bonne valeur officinale et est une matière

première médicale importante qui prévient et guérit l'hypertension et les maladies cardiaques. Les personnes âgées mangent souvent des fruits de *G. biloba* peuvent mieux prévenir les maladies cardiovasculaires. Le fruit de *G. biloba* a également pour fonction de réguler les organes respiratoires et ses composants hydrosolubles dans la peau externe des graines ont de bons effets antitussifs et expectorants. En raison de la présence d'acide *G. biloba*, il a un effet inhibiteur plus fort contre les bacilles de la tuberculose et les champignons de la peau qui peuvent être utilisés pour traiter la tuberculose et les maladies de la peau. L'extrait d'exocarpe de *G. Biloba* ont un impact très important sur la lutte contre les maladies des plantes. Le fruit de *G. biloba* a également pour effet d'abaisser la graisse sanguine, de lutter contre les tumeurs et d'inhiber l'activité de croissance des cellules cancéreuses (Gao et al., 2020). Les GBE sont largement utilisés pour améliorer les symptômes du déclin cognitif lié à l'âge dans des conditions allant de troubles de la mémoire légers et de l'insuffisance cérébrale à la démence, y compris la maladie d'Alzheimer. Le GBE est par conséquent utilisé dans la phytothérapie moderne comme une alternative à base de plantes aux médicaments anti-démence classiques. En outre, de récentes études pharmacologiques in vitro conduisent à l'hypothèse que différents ingrédients de *Ginkgo biloba* peut protéger contre la dégénérescence neuronale résultant d'événements ischémiques (Christian et al., 2013).

# Chapitre II :

## Stress



## 2. Notion Générale sur le Stress

Le stress affecte non seulement les humains mais aussi les autres animaux et pose un problème éthique et pratique pour les animaux en développement. La question du bien-être animal est importante dans l'euthanasie. Plusieurs idées peuvent être utilisées pour définir le bien-être, mais il fait surtout référence à l'état psychologique subjectif d'un animal en lien avec son environnement interne et externe (**Fraser, 2005 ; Rushen, 2003**). Mathématiquement, il existe trois manières différentes de définir le bien-être d'un animal : l'absence de mortalité et de morbidité, l'absence de stress ou la capacité à présenter des comportements typiques de l'espèce (**Larrère, 2007**). Ainsi, le stress entraîne une baisse du bien - être. Par conséquent, une mesure traditionnelle consiste à évaluer les signes physiologiques du stress (**Mormede et al., 2007**). En plus d'être une nécessité légale pour traiter les animaux avec respect en tant qu'être sensibles, le maintien du bien-être d'un animal sert des objectifs économiques, car la baisse du bien-être entraîne souvent une baisse de la productivité des brebis (**Veissier et al., 2007**). Cela rend cruciale la question du bien-être animal et de l'absence de stress dans les ascenseurs.

### 2.1. Définition du stress

Le mot « stress » est largement utilisé et répandu aujourd'hui. Bien que ce terme soit largement utilisé, le concept de stress reste subjectif, ce qui rend difficile de définir précisément ce qu'il est. En conséquence, le stress est un concept compliqué sans définition universellement acceptée malgré le fait qu'il existe depuis plus d'un siècle.

### 2.2. L'histoire du concept de stress

L'endocrinologue canadien **Hans Selye (1907-1982)** est considéré comme l'initiateur de la notion de stress. Dans les années 1930, il introduit et popularise l'idée de stress en tant que concept scientifique et médical (**Selye, 1936**). Selon Selye, le stress est un ensemble de réactions physiologiques générales à divers agents nocifs destinés à mobiliser les défenses de l'organisme afin de maintenir ou de rétablir un équilibre menacé. Il fournit une explication plus détaillée de cette réponse et donne le terme « syndrome d'adaptation généralisé » (SGA). Le SGA est une série de trois phases (la phase d'alerte, la phase de résistance et la phase d'épuisement) caractérisées par des changements mesurables au niveau d'organes spécifiques et par des manifestations physiologiques. Malgré le fait que la définition de Selye a maintenant été considérablement élargie, elle semble encore incomplète car toutes les données expérimentales ne sont pas étayées par elle (**Pacak et Palkovits, 2001**). Ainsi, de nouvelles

définitions du terme « stress » se sont développées au fil du temps, et au fur et à mesure que cette notion s'est développée, la composante psychologique, les émotions, ainsi que les facteurs environnementaux et génétiques, ont été de plus en plus pris en compte. Il est difficile de développer une définition claire du stress tant il est devenu multidimensionnel quantifiables.



**Figure 10 :** Triade typique de la phase de réaction du syndrome général d'adaptation de Selye.

**Tableau 01 :** Evolution du concept de stress (Adapté d'après Pacak et Palkovits, 2001)

AUTEURS	ANNEE	DEFINITIONS
Bernard	1878	Introduit de la notion de milieu intérieur.
Cannon	1932	Introduit de la notion d'homéostasie. Définit le comportement de fight or flight » suite à un événement perturbant.
Selye	1936	Introduit le concept de stress et le syndrome général d'adaptation, et définit le stress comme la réponse non spécifique de l'organisme à toute demande qui lui est faite.
Mason	1971	Critique la notion de non spécificité du stress de Selye, considère l'anxiété et la peur comme les déterminants de la réponse non spécifique engendrée par un stresseur.
Weiner	1991	Définit le stress comme une pression sélective provenant de l'environnement physique et social qui menace l'organisme et provoque une réponse compensatoire adaptative (s'appuie sur les théories de Darwin).
Levine et Ursin	1991	Définissent le stress comme composé de trois éléments principaux : le stimulus, l'évaluation par le système d'intégration de ce stimulus et la réponse correspondante de l'organisme, et définissent le stress comme partie Intégrante d'un système biologique adaptatif.
Chrousos Et Gold	1992	Définissent le stress comme un état d'homéostasie menacée engendrant une réponse adaptative spécifique et non spécifique, et caractérisent les réponses comme spécifiques ou non spécifiques suivant l'intensité de l'agent stressant et intègrent l'importance du polymorphisme génétique, des altérations de L'expression de gènes et des facteurs environnementaux dans la réponse individuelle au stress.

Golstein	1995	Définit le stress comme une condition où il existe une inadéquation entre les attentes (programmées génétiquement, établies par un apprentissage préalable Ou déduites des circonstances) et les perceptions (observées ou ressenties) Engendrant une réponse compensatoire.
----------	------	--

Il existe maintenant de nombreuses définitions différentes de ce qu'est le stress et de la manière de le définir et de le mesurer, mais aucune définition n'a été universellement acceptée. Pourtant le stress aujourd'hui pourrait se résumer à un état instable où l'homéostasie est menacée. La réponse adaptative vise à maintenir l'équilibre et est influencée par des facteurs psychologiques, génétiques et héréditaires, l'expérience, ainsi que par l'environnement et le mode de vie d'une personne. Bien qu'il soit évident que la réponse au stress implique l'activation du système commun à tous les facteurs de stress, il ne semble pas que ce soit la seule réponse qui se produise en réponse au stress, comme Selye l'avait affirmé, et chaque facteur de stress semble également résulter dans une réponse unique (**Chrousos et Gold, 1998**).

### 2.3. Les Stresseurs

Il est nécessaire de définir ce que le stress n'est pas afin de définir efficacement le stress. Le stress est différent des effets qu'il peut avoir, comme la maladie, l'anxiété ou la dépression, car le stress n'est pas le stimulus qui amène le corps à réagir de manière adaptative.

Un stimulus qui provoque une réponse adaptative, comme le stress, est appelé stresseur. Le stress est distinct du facteur de stress dans chaque définition de l'idée qui est maintenant utilisée, bien que dans le langage courant, les deux termes soient généralement utilisés de manière interchangeable. Par conséquent, les termes « stress dû au froid », « stress de tension » et « stress infectieux » sont utilisés pour désigner les conditions qui causent le stress. Malgré le fait que ces termes soient largement acceptés, il est important de se souvenir de la différence entre les concepts de stress et de facteur de stress.

Les stresseurs sont divisés en 2 catégories, physiques et psychologiques (**Sawchenko et al. 2000** ; Dayas et al., 2001 ; Herman et al., 2003).

Les facteurs de stress physiques, également appelés facteurs de stress systémiques, tels que l'hypoxie, l'exercice intense, l'hémorragie ou le froid, représentent une perturbation réelle et efficace de l'homéostasie. Les facteurs de stress psychologiques ou émotionnels reflètent une menace imminente provoquée par des tendances enracinées propres à chaque espèce ou par un Conditionnement provoqué par des souvenirs et des expériences passés. En l'absence de perturbations physiologiques réelles, les réponses sont produites au niveau central et servent d'anticipation d'éventuels bouleversements de l'homéostasie. Ces facteurs de stress varient et

sont propres à chaque personne.

### 2.3.1. Stress aigu et stress chronique

Dans les deux situations, le corps réagit aux niveaux physiques, psychologique et biologique. Elle est chargée de perturber plusieurs processus métaboliques ainsi que l'équilibre biochimique.

### 2.3.2. Le stress chronique

Correspond à des niveaux répétés et croissants d'agressivité violente ou modérée dans le temps. Elle provoque un épuisement psychologique et glandulaire progressif qui est à l'origine de maladies dites d'adaptation. Des événements stressants répétés nécessitent des adaptations fréquentes, qui se traduisent au fil du temps par une dose totale excessive qui dépasse le seuil de résistance de l'individu (**Boudarene et al., 1997**).

## 2.4. Les types de stress

Il existe 3 types de stress

### 2.4.1. Stress de Séparation

C'est le stress sous-jacent, Il se manifeste surtout au début et à la fin de la mission, en principe, il diminue avec l'adaptation.

### 2.4.2. Stress traumatique (ex : contention)

Ce stress est secondaire à un événement violent. L'intégrité physique et psychique de la personne est brutalement agressée ou menacée, ce type de stress n'engendre pas une habitude.

### 2.4.3. Stresse cumulatif

Dans ce type on observe une compassion fatigue, l'épuisement émotionnel d'avoir trop vécu dans la souffrance. Si le stress cumulatif n'est pas identifié, il peut conduire au surmenage et à l'épuisement professionnel. En raison de l'accumulation de plusieurs facteurs de stress (l'environnement causant des frustrations) avec exposition prolongée à ces facteurs. Dépassant le seuil de résistance de l'individu (**Boudarene et al., 1997**).

## 2.5. L'anxiété et la peur

L'anxiété et la peur sont des émotions normales. L'anxiété est cliniquement définie comme un sentiment pénible d'attente, une peur sans objet, la crainte d'un danger imprécis. Ces caractéristiques distinguent l'anxiété de la peur, émotion analogue mais qui est liée à un danger objectif et réel (**Viveros et al., 2005**). L'anxiété et la peur sont des composantes adaptatives cruciales du stress et suite à l'exposition à un stressor, elles sont considérées comme des émotions positives car protectives (**Millan, 2003**). L'anxiété transitoire provoquée

par un stressueur provoque une réponse appropriée généralement la fuite ou l'évitement et est d'une importance fondamentale dans les stratégies de survie. Néanmoins, si l'anxiété induite est disproportionnée ou prolongée par rapport au stressueur alors ce comportement devient mal adapté et pathologique correspondant à des troubles anxieux.

## 2.6. La dépression

La dépression est un trouble psychique connu depuis l'antiquité. Elle se présente comme une caractéristique de la nature humaine, depuis la tristesse passagère jusqu'à la dépression profonde (**Kleftaras, 2004**). Il existe de nombreux types de dépression. La dépression se définit par ses manifestations psychologiques, comportementales, cognitives et biologiques. Ainsi, les symptômes dépressifs incluent des perturbations psychologiques comme une tristesse latente, des sentiments de désespoir, d'impuissance, d'inutilité et une incapacité à éprouver du plaisir, des difficultés cognitives comme des problèmes de concentration, des changements comportementaux telles des modifications du comportement alimentaire (perte de goût, d'appétit) et sexuel (absence de libido), des ralentissements de l'activité psychomotrice, et des manifestations physiques regroupant par exemple des perturbations du sommeil et une perte de poids (**Klerman & Weissman, 1988**). Il a clairement été mis en évidence un lien entre le stress et la dépression (**Hammen, 2005**). La dépression peut être une des conséquences de l'exposition répétée à des agents stressants (**Chrousos & Gold, 1992**) et les symptômes de la dépression sont souvent identiques aux manifestations du stress chronique. Comme souvent en biologie ou en médecine, un phénomène se décrit plus facilement par ses effets. Ainsi, bien que le concept de stress ait évolué et que plusieurs définitions soient aujourd'hui énoncées mais qu'aucune ne soit unanimement acceptée, les effets du stress à court et long terme sont bien définis et les recherches sur le stress n'ont à ce jour fait qu'étoffer les découvertes de Selye.

## 2.7. Physiologie du stress

Selye a été le premier à mettre en place une théorie complète concernant les effets du stress sur le corps. Il a été noté que diverses perturbations provoquaient une variété de réponses similaires chez les animaux. Il a affirmé que ces réponses ont servi de fondement au syndrome général d'adaptation (SGA) (**Selye, 1956**). Le SGA se compose de trois étapes. Une première phase d'alarme ou de réaction, suivie d'une période de résistance pendant laquelle l'organisme tente de s'adapter à la perturbation et de rétablir l'homéostasie. Le corps entre dans une phase d'épuisement s'il est incapable de rétablir l'équilibre, ce qui peut entraîner le développement de diverses maladies ou même la mort (**Selye, 1974**).

## 2.8. Réponse au stress (syndrome général d'adaptation (SGA))

Sous le terme « réponse au stress », on désigne désormais un ensemble de réponses comportementales et physiologiques permettant à un organisme de maintenir son homéostasie face à une condition défavorable (**Chrousos et Gold, 1992**). Le but des réponses comportementales est d'augmenter la vigilance, l'agressivité ou l'attention de l'animal.

Le but des réactions physiologiques est de diriger l'énergie vers le système nerveux central, des muscles spécifiques et peut-être des parties du corps en laisse pour faciliter l'adaptation. Afin d'augmenter la quantité de substances vitales qui circulent dans le corps (telles que l'oxygène et le glucose), la réponse du corps au stress comprend une augmentation de la fréquence cardiaque, de la fréquence respiratoire, de la pression artérielle, de la lipolyse, de la glycogénolyse et de la gluconéogenèse. Les fonctions physiologiques qui ne sont pas immédiatement nécessaires (croissance, reproduction, certaines fonctions du système immunitaire) sont interdites (**Chrousos et Gold, 1992**). La capacité d'un corps à s'adapter à un changement de circonstances ne dépend pas seulement de la rapidité et de la qualité de la réponse au stress. Elle compte également beaucoup sur sa capacité à produire une contre-réaction qui la protégera d'une réaction incontrôlable au stress. Sans contre-réaction, la réponse au stress perd ses qualités adaptatives et contribue au développement de problèmes pathologiques. Par exemple, chez les hommes, un manque de régulation de la réponse au stress peut entraîner une anxiété chronique, une dépression, des troubles obsessionnels compulsifs ou une anorexie nerveuse (**Chrousos et Gold, 1992**).

Les trois systèmes qui gèrent le stress selon trois phases sont le système nerveux central (SNC), le système nerveux périphérique (SNP) et le système endocrinien (SE) dans le cadre de la réaction du corps au stress (**Boudarene et al., 1997**) : réception du facteur de stress par les organes sensoriels et leurs innervations correspondantes ; La programmation de la réponse du corps au stress au niveau du cortex et du système limbique (SL) affecte l'amygdale, le bulbe de l'odorat, l'hippocampe, le septum et la masse corporelle. La paire cortex/SL est un système d'analyse de comparaison qui utilise les souvenirs et l'apprentissage des expériences émotionnelles comme source de données.

Enfin, la réponse de l'organisme est déclenchée par l'amygdale et l'hippocampe, qui agissent sur l'hypothalamus et provoquent la réticulation de la substance blanche du cerveau afin d'activer le système nerveux sympathique (SNVOS) et le système nerveux sympathique (SE) (glandes surrénales). Ces processus aident le corps à réagir de manière appropriée à la nouvelle situation (stress) et aux expériences passées. En particulier, le développement réticulé provoque une réaction d'alarme dont l'intensité est contrôlée par le SL.

Le terme « SGA » fait référence à toutes les altérations généralisées qui se produisent après une exposition continue à un facteur de stress dans le corps au fil du temps et qui sont indépendantes du type de facteur de stress. C'est la réponse au facteur de stress. Elle est représentée par un groupe de changements biologiques qui sont responsables des divers symptômes symptomatiques fonctionnels et spécifiques aux organes (Selye, 1974).

Le SGA typique est composé de trois phases : la phase d'alerte, la phase de résistance et la phase d'éjection. Les trois étapes mentionnées précédemment sont présentées ci-dessous. Elle se manifeste de diverses manières sur le plan neurobiologique, somatique, comportemental et psychologique.

**a. La phase d'alarme :** C'est la réaction immédiate à un stress. Face à un stress, les humains se sauvent ou combattent. À ce stade, l'énergie est mobilisée au dépend d'autres systèmes, comme le système immunitaire, ce qui nous rend vulnérable aux maladies.

**b. La phase de résistance :** Si la réaction d'alarme persiste, le corps s'adapte. Mais ceci est mauvais pour notre santé puisque toute l'énergie est concentrée sur la réaction au stress.

**c. La phase d'épuisement :** Ce dernier stade survient après une exposition prolongée au stress. La résistance de notre corps face au stress diminue et finalement cède car le système immunitaire devient déficient. Selon Hans Selye, les patients qui souffrent de stress depuis longtemps peuvent succomber à des crises cardiaques ou à de sévères infections en raison d'une plus grande vulnérabilité aux maladies.

## 2.9. Les mécanismes du stress

Lors du stress, deux axes sont mobilisés pour permettre la réponse au stress : l'axe corticotrope et axe sympathique.

L'hypothalamus et le thalamus cérébral sont les principaux centres de contrôle du stress. Les principaux acteurs de ce centre de contrôle sont le CRF et les neurones sécrétant de la vasopressine (AVP) situés dans le noyau paraventriculaire hypothalamique (PVN) et le locus coeruleus (LC), qui est connecté à d'autres groupes de neurones sécrétant de la noradrénaline dans les hémisphères cérébraux. Pour former le LC/NA système du système nerveux sympathique (Chrousos et al., 1992 ; Tsigos et al). Les deux principaux effecteurs périphériques qui permettent le contrôle de divers organes par le cerveau lors d'une exposition au stress sont l'axe corticotrope et les épanchements du système nerveux sympathique dans la médullo-surrénale (Tsigos et Chrousos, 2002).

### a. Axe corticotrope

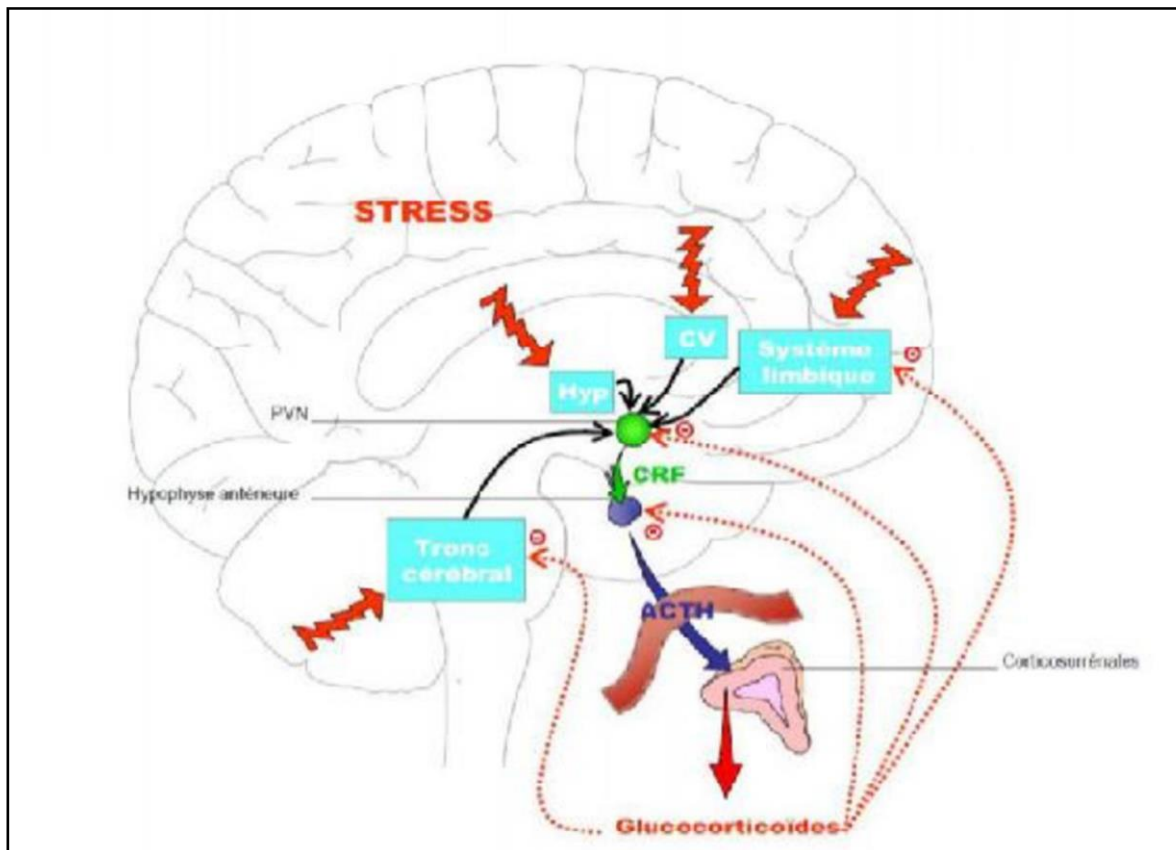
Le premier régulateur hypothalamique de l'axe corticotrope est le CRF. Il est libéré au

niveau de l'éminence médiale dans le système nerveux hypophysaire par des terminaisons nerveuses provenant de la région parvocellulaire du PVN de l'hypothalamus après que le PVN a été stimulé par d'autres structures. Il agit sur les cellules corticotropes de l'hypophyse antérieure pour stimuler la libération d'ACTH dans la circulation générale. Suite à sa libération par l'hypophyse, l'ACTH stimule la corticosurrénale, permettant la libération de glucocorticoïdes. Les derniers effets du corticotrope, les glucocorticoïdes, jouent un rôle important dans la réponse adaptative de l'organisme au stress (**Sapolsky et al., 2000**). Ils jouent également un rôle crucial dans l'inhibition des réponses au stress car ils exercent un contrôle de rétroaction négatif sur l'hypothalamus et l'hypophyse. Ils jouent également un rôle crucial dans la prévention de la réponse au stress car ils exercent un contrôle de rétroaction négatif sur l'hypothalamus et l'hypophyse, inhibant la libération de CRF et d'ACTH.

L'activité du corticotrope est significative à la fois dans des circonstances stressantes et non stressantes. Par conséquent, dans des situations non stressantes, le CRF et l'AVP sont synchronisés et pulsés dans le système valvulaire hypophysaire à un rythme circadien (**Charmandari et al., 2005**). Les nœuds suprachiasmatiques de l'hypothalamus antérieur, qui servent de centre pour la synchronisation de nombreux processus comportementaux et physiologiques, régulent ce rythme (**Saper et al., 2005**).

L'augmentation de l'amplitude et de la fréquence des pulsations pendant les premières heures de la phase active (tôt le matin pour les espèces nocturnes comme le rat, tôt le soir pour les espèces diurnes comme l'homme) entraîne une augmentation de la sécrétion de glucocorticoïdes et d'ACTH (**Gudmundsson et al., 1997 ; Lightman et al., 2008**). Ainsi, tout au long de la journée, les glucocorticoïdes se répartissent à un rythme précis. Ce rythme permet la coordination des événements circadiens, tout comme les transitions de phase des glucocorticoïdes se produisent à des intervalles spécifiques tout au long de la journée. Son rythme permet la coordination des événements quotidiens.





**Figure 11 :** Activation de l'axe corticotrope suite au stress.

Le stimulus stressant est intégré par le système limbique, les organes circumventriculaires (CV), des noyaux hypothalamiques (Hyp) et/ou des noyaux du tronc cérébral stimulant ensuite le PVN de l'hypothalamus. Le CRF est alors libéré au niveau de l'éminence médiane par des terminaisons nerveuses provenant de la zone parvocellulaire du PVN. Il agit sur les cellules corticotropes de l'hypophyse antérieure pour stimuler la libération d'ACTH dans la circulation générale. L'ACTH stimule ensuite la corticosurrénale permettant la libération de glucocorticoïdes. Les glucocorticoïdes sont les effecteurs finaux de l'axe corticotrope et exercent un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus et l'hypophyse permettant d'inhiber la libération de CRF et d'ACTH, mais également au niveau du tronc cérébral et du système limbique permettant de limiter la réponse de stress (traits pointillés rouges) (Kalvez, 2010)

### b. Axe sympathique

#### - Activation du système LC/NA

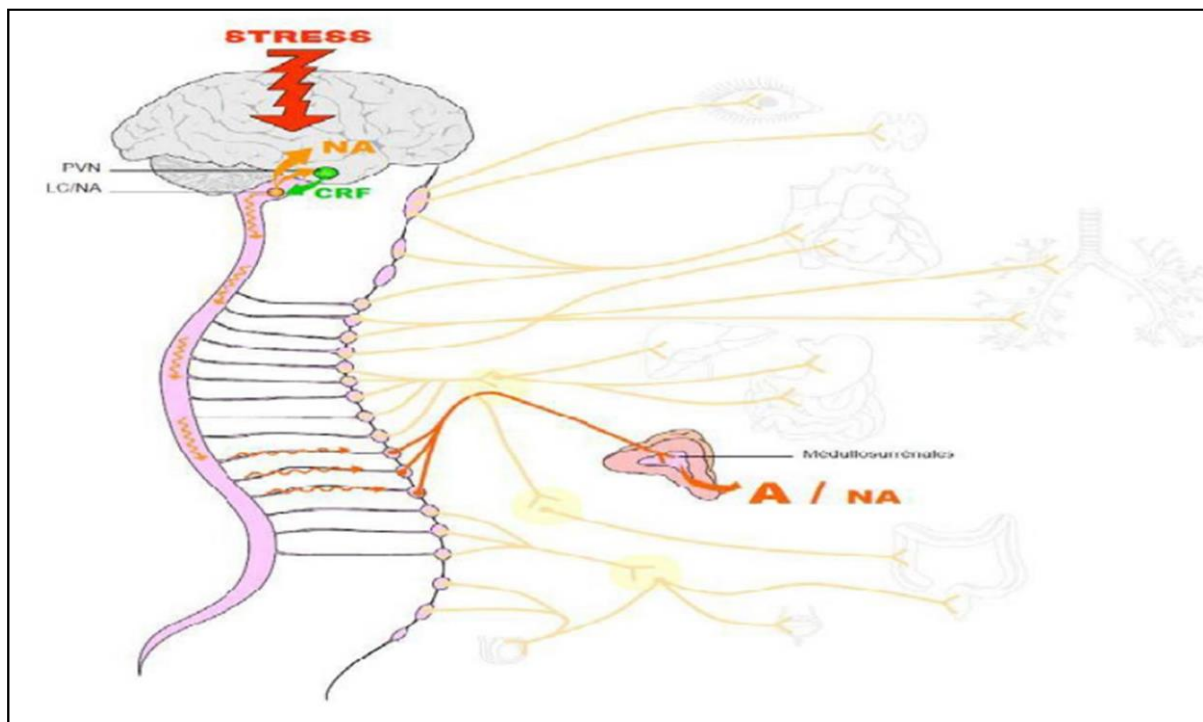
Le noyau noradrénergique (A6) le plus important du système nerveux central est le locus coeruleus (LC), qui est situé dans le septum du cerveau. Le LC forme le système LC/NA avec les noyaux noradrénergiques A1 et A2 situés respectivement dans la formation ventrolatérale réticulée du bulbe rachidien (Carrasco et Van de Kar, 2003 ; Itoi, 2008). Les neurones du

système LC/NA ont des connexions entre eux ainsi qu'avec le système limbique, l'hypothalamus, le thalamus cérébral et le lobe occipital, entre autres (Itoi et Sugimoto, 2010).

La majorité de la noradrénaline présente dans le cerveau semble être due à ce système car la noradrénaline plasmatique est hydrosoluble et ne peut pas traverser la barrière hémocéphalique (Habib et al., 2001).

En situation de stress, les structures appropriées (telles que l'amygdale et l'hippocampe ou le noyau parabrachial du cerveau) intègrent des informations émotionnelles ou physiques et peuvent réguler directement le système LC/NA, conduisant à une libération rapide et importante de noradrénaline au niveau central. Le système LC/NA reçoit les fibres neuronales CRF du PVN de l'hypothalamus et innerve réciproquement le PVN avec des fibres nerveuses noradrénergiques. En raison de l'activation du PVN par le stress, le système LC/NA est stimulé en raison de la fixation du CRF sur les récepteurs de type 1.

Cette stimulation est réciproque car la libération de noradrénaline active le PVN via les 1-norécepteurs (Kiss et Aguilera, 2000 ; Charmandari et al., 2005 ; Dunn et Swiergiel, 2008). Semblables aux neurones CRF, les neurones noradrénergiques sont influencés par d'autres systèmes nerveux centraux. Les opioïdes et les systèmes Gabaergiques l'inhibent tandis que les systèmes cholinergiques et somatosensoriels la stimulent (Szafarczyk et al., 1993 ; Kyrou et Tsigos, 2009).



**Figure 12 :** Activation de l'axe sympathique lors du stress (Kalvez, 2010)

## 2.10. Le rôle du stress, ses effets aigus et chroniques

Chez l'homme comme chez l'animal, le stress a un rôle bénéfique à court terme, mais l'exposition à long terme à des conséquences néfastes sur l'organisme.

### 2.10.1. Effets du stress à court terme (stress aigu) : une réponse adaptative bénéfique

Le syndrome de stress est un ensemble de changements comportementaux et physiques provoqués par l'activation anormale des systèmes de stress (**Chrousos et Gold, 1992**). Ces ajustements sont temporaires et généralement limités puisqu'ils visent à maximiser les chances de survie d'un individu en utilisant ses ressources physiques et psychologiques. Ils sont contrôlés par les médiateurs liés au stress, qui comprennent les neuropeptides et les hormones régulatrices de l'homéostasie, la corticolibérine (CRF), l'hormone de libération de l'adrénocorticotrophine (ACTH), les glucocorticoïdes et les catécholamines, tous situés dans l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien et le système nerveux sympathique, respectivement.

Les principaux ajustements comportementaux comprennent une vigilance accrue, une capacité cognitive accrue, ainsi qu'une concentration ciblée, une analgésie accrue et la suppression des comportements liés aux fonctions végétatives concurrentes telles que l'alimentation et la reproduction. Ces changements sont rendus possibles par la stimulation centrale ou l'inhibition des voies neuronales qui contrôlent ces fonctions. De plus, des modifications physiques permettent de favoriser une redirection adaptative périphérique de l'énergie. Le système nerveux central et les systèmes organiques impliqués dans la réponse au stress, tels que le cœur ou les muscles, reçoivent un apport préférentiel d'oxygène et de nutriments en raison d'une demande accrue temporaire. Cette redistribution d'énergie est rendue possible par une modification du tonus du cœur et des vaisseaux sanguins, ce qui augmente la fréquence cardiaque et la pression artérielle tout en augmentant la fréquence respiratoire.

L'augmentation du métabolisme intermédiaire (glycolyse, néoglucogenèse et lipolyse) contribue à augmenter la disponibilité des substrats vitaux. De plus, les processus consommateurs d'énergie comme la digestion, la croissance et l'immunisation sont momentanément suspendus pour permettre la meilleure utilisation possible de l'énergie. L'efficacité de ces adaptations dépend non seulement de la rapidité avec laquelle elles ont été mises en œuvre, mais également de la capacité de l'organisme à gérer la quantité et le moment de la réponse au stress. En conséquence, chaque composant de la réponse au stress est contre-régulé et les fonctions de détoxification cellulaire sont activées pour éliminer les déchets métaboliques créés lors de la réponse adaptative du corps. Même si les réponses adaptatives aux facteurs de stress sont bénéfiques à court terme, elles peuvent également

entraîner des symptômes désagréables (**Chrousos, 2009**). En effet, il est fréquent que ces réponses se traduisent par des réactions allergiques, des maux de tête, des épisodes d'hypertension, des douleurs abdominales, des indigestions, des souffrances ou de la constipation. Malgré ces symptômes potentiellement alarmants, la réponse d'un organisme au stress est bénéfique à long terme puisqu'elle augmente la probabilité de survie de l'organisme. Pourtant, la capacité de contrôler le nombre et la durée des réponses adaptatives est également essentielle pour la survie d'un individu. Les effets des processus cataboliques, anti-reproductifs, anti-croissance et immunosuppresseurs peuvent devenir chroniquement excessifs si les processus de régulation de la réponse au stress ont échoué ou si l'exposition aux facteurs de stress est répétée trop fréquemment, ce qui peut conduire au développement d'effets nocifs et pathologiques.

### **2.10.2. Effets du stress à long terme (stress chronique) : Les maladies de l'adaptation**

Selye a commencé ses recherches sur le stress en raison de ces changements pathologiques connus sous le nom de maladies d'adaptation (**Selye, 1998**). Plusieurs problèmes de santé qui affectent les gens sont liés à la suractivation des systèmes de stress. Selon (**Chrousos et Gold, 1992**), le stress a une composante non spécifique et des réponses inappropriées ou mal adaptées peuvent être considérées comme des facteurs de stress qui alimentent un cycle malsain. Par conséquent, il est difficile de faire la distinction entre une hyperactivation de la source et de l'effet des systèmes de stress. Par conséquent, le stress chronique, la dépression, l'anorexie, les troubles obsessionnels compulsifs, les attaques de panique, l'alcoolisme, la toxicomanie, le diabète de type 2 et d'autres conditions ne sont que quelques exemples de situations où il y a une suractivité des systèmes de stress. Le syndrome métabolique ou obésité viscérale (**Chrousos, 2009**) sans pouvoir dissocier les sources de stress de ses effets. Une hyperactivation des systèmes de stress a des effets physiques et comportementaux ainsi que des symptômes physiologiques, comportementaux et neuropsychiatriques. De nombreuses maladies et symptômes sont liés à cette hyperactivation. Ils dépendent à la fois de facteurs exogènes et endogènes, tels que des facteurs génétiques et environnementaux, la santé d'un individu, son stade de développement, son mode de vie, son alimentation, etc. (**Chrousos, 2009**).

### **2.11. Modulation des systèmes de stress en cas de stress chronique**

Le stress chronique provoque des changements dans l'architecture et le fonctionnement des régions cérébrales impliquées dans la régulation de l'axe corticotrope et du système nerveux autonome. Le stress chronique entraîne des modifications structurelles du cortex préfrontal et de l'hippocampe (**Magarinos et Mcewen, 1995 ; Radley et al., 2008**). Au

niveau PVN, l'expression du CRF et de l'AVP est régulée positivement tandis que l'expression GR est régulée négativement (**Herman et al., 1995 ; Makino et al., 1995**), en plus d'une variété d'autres récepteurs altérés (**Cullinan, 2000 ; Ziegler et al., 2005**). Plusieurs voies de signalisation menant au PVN ont montré des changements dans la neurochimie, y compris une augmentation des niveaux du neurotransmetteur GABA dans l'hypothalamus et le nœud de la synapse terminale. (**Bowers et al., 1998**). Ces modifications sont à l'origine des effets délétères du stress chronique. De nombreux modèles de stress ont été étudiés afin de comprendre les mécanismes impliqués dans la réponse adaptative au stress. En effet, un objectif de l'étude du stress est de comprendre les mécanismes qui contribuent à l'activation des différents systèmes impliqués ainsi que les effets du stress sur ces mécanismes dans diverses circonstances métaboliques ou environnementales. Avoir une compréhension approfondie de ces mécanismes et comment les manipuler permet la création de programmes pour combattre les effets négatifs que le stress a actuellement sur notre société.

### 2.12. Conséquences Pathologiques d'un stress chronique

Depuis les recherches révolutionnaires de Selye, d'autres études sur divers modèles animaux ont démontré que le stress chronique peut entraîner des changements complexes pouvant entraîner des maladies chroniques, notamment :

- a. Les Maladies métaboliques et affections cardiovasculaires :** De nombreuses études épidémiologiques ont été menées et les liens entre stress chronique et maladies cardiaques sont maintenant bien établis. Ces liens sont mieux compris par les modèles de stress au travail développés par Karasek et Siegrist, ainsi que le modèle ERI (Effort-Reward Imbalance). Plusieurs études épidémiologiques ont également montré un lien entre le stress chronique et une augmentation de la prévalence de l'obésité viscérale et du syndrome métabolique (**Chandola et al., 2006**). Les mécanismes de la physiopathologie sont encore une fois beaucoup moins clairs. Des découvertes épidémiologiques récentes démontrent en outre que le stress chronique est lié à une augmentation de la prévalence de l'obésité viscérale et du syndrome métabolique (**Chandola et al., 2006**). Pour les mécanismes physiopathologiques, les choses sont encore une fois très floues. Dans le cas du stress chronique, les problèmes métaboliques provoqués par la réponse neuroendocrinienne agiront de concert pour provoquer la manifestation clinique d'un certain nombre de comorbidités, notamment l'obésité viscérale, l'hypertension artérielle (HTA), la dyslipidémie et la dysfonction endothéliale, qui font toutes partie de le syndrome métabolique et constituent une néphropathie athérosclérose.
- b. Les troubles mentaux :** Les données épidémiologiques montrent un lien entre les situations de stress chronique et la détérioration de la santé mentale, notamment le burnout

(Ahola et al., 2006 ; Twellaar et al., 2008), les troubles de l'humeur (anxiété, dépression) (Godin et al., 2005 ; Melchior et al., 2007 ; Netterstrom et al., 2008 ; Bonde, 2008 ; Siegrist, 2008), les troubles du sommeil (Akerstedt, 2006 ; Armon et al., 2008), troubles des comportements consommatoires (toxicomanies, alcool) (Head et al., 2004 ; Siegrist et Rödel, 2006). L'un des liens potentiels entre le stress chronique et la dépression est suggéré par des anomalies circadiennes telles que les changements de phase du rythme du cortisol et la diminution de l'amplitude du rythme (Souëtre et al., 198 ; Keller et al., 2006 ; Wirtz-Justice, 200).

La première preuve scientifique que le stress chronique lié au travail pouvait provoquer un syndrome métabolique par hyperactivité de l'axe corticotrope et l'hypersécrétion de catécholamines a été apportée par les travaux de (Brunner et al., 2002), inspirés d'une étude transversale (Chandola et al., 2006). Le syndrome métabolique augmente le risque de développer un diabète de type 2, une maladie cardiaque et des hémorragies cérébrales (Chandola et al., 2006)

**c. Cancer :** Il existe maintenant des études qui affirment que des modifications de la physiologie liées au stress chronique peuvent contribuer au développement et à la progression des tumeurs (Kiecolt-Glaser et Glaser, 1999 ; Chida et al., 2008). Les preuves scientifiques à l'appui d'un rôle du stress dans l'étiologie du cancer sont toutefois vivement débattues. De nombreux biais méthodologiques sont retrouvés dans les études épidémiologiques, expliquant des résultats souvent incohérents ou contradictoires (Reiche et al., 2004 ; Schraub et al., 2009 ; Lopez et al., 2010).

**d. Immunité :** Par la libération de médicaments neuroendocriniens et les effets neurologiques directs des systèmes sympathique, parasympathique et peptidergique, les facteurs de stress psychosociaux influencent le flux sanguin et l'activité des cellules du système immunitaire. Les principales voies neuronales par lesquelles la noradrénaline, le cortisol et l'acétylcholine sont libérés comprennent l'axe noradrénaline-sympathique, l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et la voie cérébrale - vasomotrice- acétylcholine. À partir de ces voies, le stress peut affecter les fonctions du système immunitaire périphérique. Ces hormones et neurotransmetteurs peuvent moduler les processus inflammatoires dans les maladies auto-immunes telles que la polyarthrite rhumatoïde, la sclérose en plaques ou les pathologies cutanées. Ils peuvent également affecter la réponse du système immunitaire à l'infection et affecter la croissance et la progression des tumeurs (Kemeny et Schedlowski, 2007). De nombreuses études ont démontré comment le stress affecte l'évolution du virus VIH en faisant disparaître plus rapidement les lymphocytes T. Des études sur des singes ont soutenu ces résultats, montrant que les facteurs de stress sociaux comme la séparation ou les

changements de logement pour les singes atteints du virus de l'immunodéficience simienne (VIS) accélèrent l'évolution de la maladie et les changements associés du système immunitaire. A la place du cortisol, la noradrénaline semble être impliquée dans ce processus en favorisant la réplication du virus VIH (**Miller et al., 2009**). Par exemple, les interventions de gestion du stress psychologique chez les personnes souffrant de dépression sévère ont entraîné une diminution des niveaux d'anticorps contre le virus de l'herpès (EBV pour Epstein-Barr Virus, HSV-2 pour Herpès Simplex Virus 2) ainsi que des humeurs dépressives (**Carrico et Antoni, 2008**).

**e. Stress oxydant :** Plusieurs études ont montré que le stress chronique est lié au stress oxydatif et qu'il provoque une augmentation de la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Mariola et al., 2017**). La principale cause de la production de ROS, qui est liée à la neurodégénérescence, est le dysfonctionnement mitochondrial (**Ballatori et al., 2009**). Les problèmes de dépression liés au stress peuvent entraîner une augmentation du taux de conversion de l'oxygène en ROS, ce qui peut entraîner un dysfonctionnement métabolique grave et endommager les enzymes, les lipides des membranes sous-cellulaires et les membranes cellulaires.

# Etude expérimentale



### 3.1. Matériels

#### 3.1.1. Matériel animal

Le matériel biologique de base dans notre étude est le rat blanc femelle *Rattus rattus* de la souche Wistar au nombre de 20 rats, provenant d'EL-Oued-Algérie, âgés de 06 à 08 semaines pesant environ 180-200g. Ces rongeurs sont des mammifères nocturnes, Il possède une large tête, de petites oreilles, des yeux rouges globuleux et une longue queue, Largement utilisés dans divers domaines de la recherche expérimentale.



Figure 13 : Les animaux d'expérimentation

#### 3.1.2. Matériel végétal

La plante utilisée dans ce travail expérimental est une espèce médicinale appartenant à la famille des Ginkgoaceae, qui est la *Ginkgo biloba*, la plante a été achetée chez un herboriste, la partie qui a été utilisé c'est la partie aérienne (les feuilles). Le matériel végétal a été séché à l'obscurité et à l'abri de l'humidité et à température ambiante, la plante est broyée et stockée soigneusement après séchage.



Figure 14 : la *Ginkgo Biloba*

### 3.2. Méthodes

#### 3.2.1. Entretien des animaux

Les rats ont été répartis en quatre lots à raison de cinq (05) rats par lot. Ils ont été soumis à une période d'adaptation de 30 jours dans l'animalerie de département de la biologie, La température ambiante est de 25°C et une photopériode naturelle 12/12H. Les rats sont élevés dans des cages en plastiques et ont un couvercle en acier inoxydable, munies de biberons d'une capacité de 250ml remplis d'eau, ces derniers sont tapissés d'une couche de litière composée de copeaux de bois, renouvelés quotidiennement avant le début de l'observation. Les animaux ont été nourris par l'aliment de bataille.

#### 3.2.2. Application du stress de contention

Le modèle du stress de contention que nous utilisons dans notre laboratoire est celui de **(Bardin et al., 2009)**. Il consiste à introduire le rat dans une bouteille cylindrique en plastique, de sorte que l'animal ne puisse bouger c'est-à-dire impuissant à se retourner sur place et capable de respirer sans difficulté. Le teste est appliquée 3h/j pendant 21jours successive le matin à la même heure de 9h-12h. Après l'application du stress de contention, tous les rats ont été ramenées dans leurs cages d'élevage et leurs poids est mesurés à l'aide d'une balance.



**Figure 15** : Application du stress de contention

### 3.2.3. Choix de la dose et répartition des animaux

Dans cette étude, nous avons utilisé l'extrait méthanolique du *Ginkgo biloba* a une dose de 100mg/Kg/j, elle a été administrée quotidiennement par voie orale chaque jour pendant 21 jours successives.

Ainsi, quatre lots de rats sont répartis comme suit :

- Le 1<sup>er</sup> groupe de rats a reçu par gavage de l'eau (1.5 ml/jour). Il s'agit de **groupes Témoins (T)**.
- Le 2<sup>ème</sup> groupe de rats a reçu par gavage une solution de l'extrait méthanolique des feuillettes *Ginkgo biloba* à raison de 100 mg/Kg/j de poids corporel. Il s'agit de **groupes G**.
- Le 3<sup>ème</sup> groupe de rats a subi un stress de contention 3h/j/ pendant 21jours successives, le matin de 09 :00h - 12 :00h. Il s'agit des **groupes S**
- Le 4<sup>ème</sup> groupe de rats a subi le stress chronique 3h et reçu par gavage l'extrait de *Ginkgo biloba* 100mg/kg/j pendant 21jours. Il s'agit du **groupe S+G**.



Figure 16 : Lotissement des animaux

### 3.2.4. Préparation de l'extrait méthanolique de la plante

Une prise d'essai de 37,5g de la matière végétale (la poudre fine du *Ginkgo biloba*) a été mise à macérer dans 500ml de méthanol absolu pendant 24H à température ambiante. Après filtration du mélange, l'extrait a été évaporé à sec sous pression réduite à et à 52°C grâce à un évaporateur rotatif pour obtenir un extrait sec (**Bougandoura et Bendimerad, 2012**).

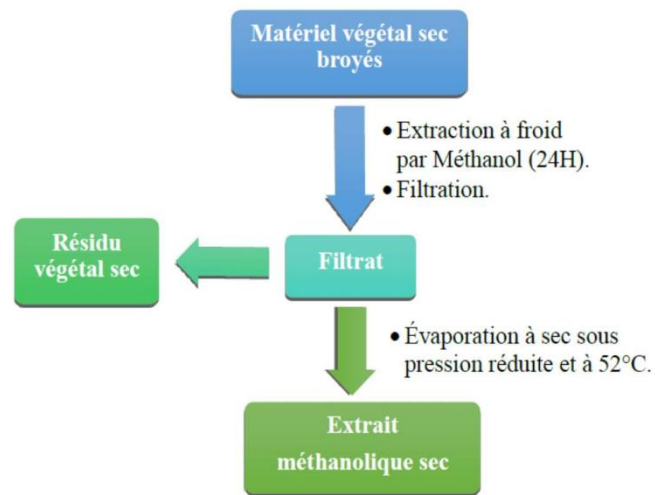
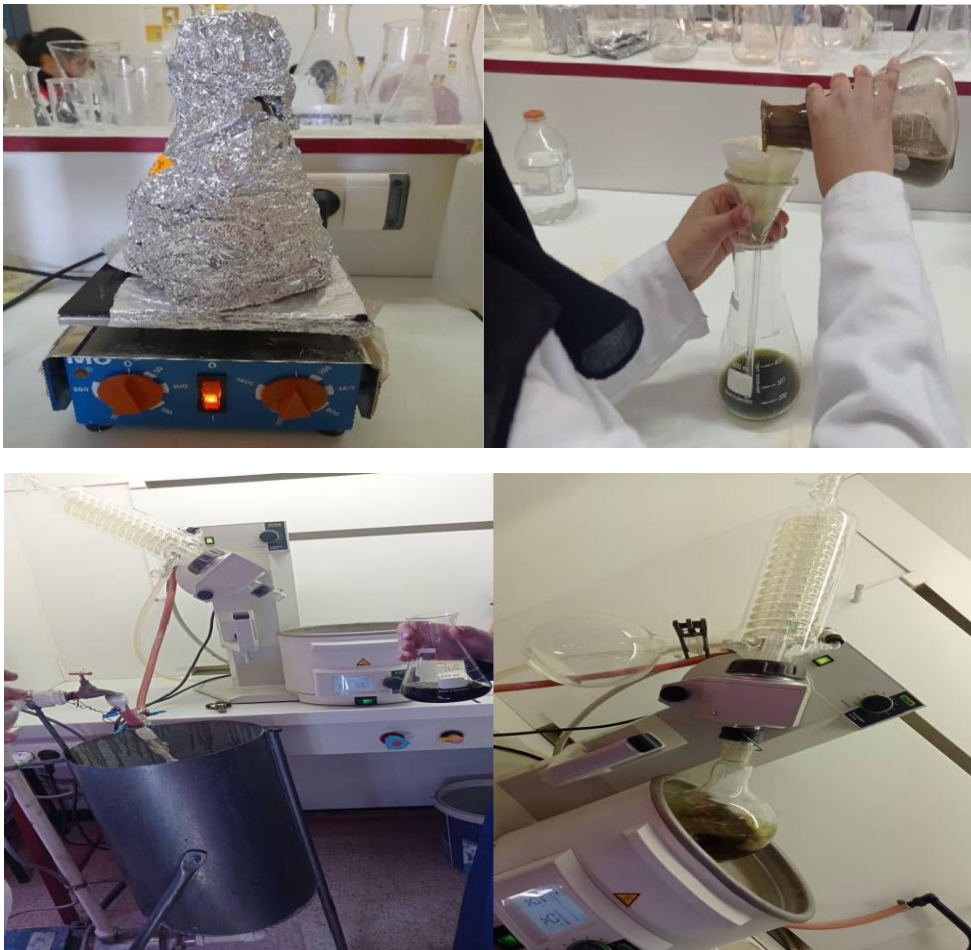


Figure 17 : Plan de préparation de l'extrait méthanolique du G. biloba





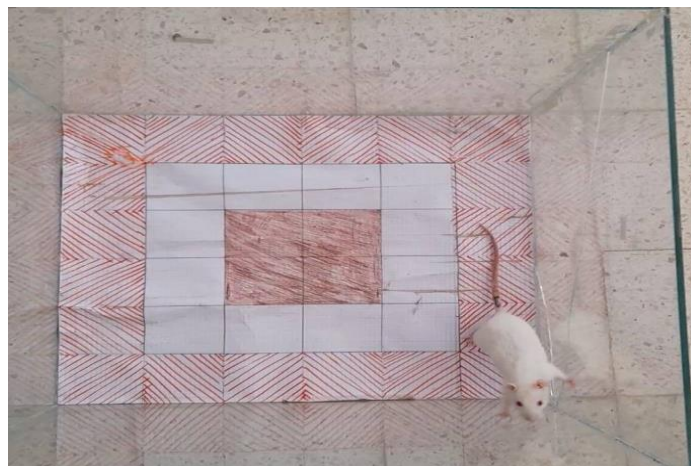
**Figure 18 :** Etape de préparation de l'extrait méthanolique

### 3.2.5. Etude comportementale

#### 3.2.5.1. Test des champs ouverts (OF)

Le test de l'OF, initialement décrit par **Hall (1934)**, a été développé dans le but de mesurer des différences de réactivités émotionnelles chez les rongeurs. L'OF permet donc d'évaluer les comportements ambulatoires ainsi que la néophobie environnementale des rats. Brièvement, l'OF est une unité en plexiglas (70 cm × 70 cm × 40 cm) dont le plancher est divisé en zones centrale et périphérique.

Chaque rat est placé individuellement au centre du compartiment et laissé pendant 5 min d'exploration (**Sáenz et al., 2006**). Un animal anxieux au rat en dace à préférer la zone périphérique tout en évitant l'entrée dans la zone centrale. Chaque session est filmée, La distance totale parcourue, Le nombre de redressements, Le temps passé dans la zone centrale et périphérique et le temps d'immobilité sont mesurés. Le dispositif est essuyé après chaque session avec une solution alcoolique pour pallier aux effets polarisants dus aux odeurs laissées par le rat précédent.



**Figure 19 :** photographie du test d'open Field.

### 3.2.5.2. Test de la nage forcé (FST)

Le FST ou Forced Swimming test, est un modèle comportemental qui permet de prédire l'efficacité d'un traitement antidépresseur (**Porsolt et al., 1977**). Ce modèle animal, utilise aussi bien chez le rat que chez la souris, présente cependant des différences de procédure selon l'espèce utilisée.

Le test consiste à placer individuellement le rat dans un aquarium de 40 cm de haut sur 30 cm de large. Ces dimensions permettent de s'assurer que le rat ne pourra pas s'enfuir en s'agrippant aux bordures du dispositif. L'aquarium est rempli d'eau à 25 C°. La hauteur de l'eau atteint 35 cm, pour s'assurer que le rat ne se serve pas de ses membres inférieurs pour se maintenir à la surface, et donc l'obliger à nager. Après une phase d'activité vigoureuse (temps d'adaptation), l'animal contrôle cesse de nager et se fige, adoptant un comportement de désespoir. On considère que l'animal est immobile lorsqu'il flotte en position horizontale et ne réalise que des mouvements de faible amplitude, suffisant à maintenir sa tête hors de l'eau.

Le FST se déroule chez le rat en deux phases, le pré-test (FST1) et le test (FST2), séparées par un intervalle de 24 heures au cours duquel le traitement est administré. Lors du pré-test, le rat est placé pendant 15 minutes dans l'aquarium rempli d'eau dont il ne peut s'échapper. A la fin de la session, l'animal est immobile. Le jour suivant, l'animal est replongé dans l'aquarium pendant 5 minutes, période pendant laquelle le temps d'immobiliste est enregistré. Un traitement antidépresseur efficace diminue le temps d'immobilité seulement lors du jour du test (**Porsolt et al., 1978 et 1979**). Récemment, une amélioration du test a été validée. Cette modification propose chez le rat, non seulement d'évaluer l'immobilité posturale, mais aussi les deux comportements actifs impliquent directement dans la diminution de cette immobilité, à savoir la nage et l'escalade. Les variables mesurées sont : temps d'immobilité (seconde), temps de la nage (seconde), temps d'escalade (seconde).



**Figure 20** : Dispositif du test de la nage forcée.

### **5.2.5.3. Test de reconnaissance des objets (TRO)**

Le test de reconnaissance des objets permet d'étudier la mémoire déclarative chez les rongeurs. Cette tâche évalue la capacité de la souris à reconnaître un nouvel objet par rapport à un objet familier dans un environnement connu (tendance naturelle des rongeurs à explorer préférentiellement un nouvel élément) (**David et al.,2011**). Ce test est réalisé dans une boîte (40\*40cm) où sont déposés deux objets identiques pendant deux jours les rats sont laissés explorer 10 min. Au troisième jour l'un des deux objets est remplacé par un nouvel objet, l'animal est replacé dans l'enceinte pendant 10 min pour explorer à nouveau les objets (Entre chaque essai on nettoie l'enceinte avec l'éthanol 10%).

Les variables mesurées sont : temps de latence (sec), temps d'exploration d'objet familier (sec), temps d'exploration du nouvel objet (sec).



**Figure 21** : Test de reconnaissance des objets

#### 5.2.5.4. Teste de labyrinthe en croix surélevé (EPM)

L'EPM est un test largement étudié pour mettre en évidence les propriétés anxiolytiques ou anxiogènes des composés pharmacologiques. Le dispositif consiste en un labyrinthe surélevé ayant la forme d'une croix avec deux bras ouverts ( $50 \times 10$ cm) et deux bras fermés ( $50 \times 10 \times 45$  cm). L'appareil se situe à une hauteur de 50 cm au-dessus du sol (**Patin et al., 2005**). Chaque rat est placé individuellement au centre de l'EPM dirigé vers un des bras ouverts et son comportement en exploration libre est enregistré et examiné pendant 5 min. Une visite était comptabilisée lorsque le rat avait les quatre pattes dans un bras. Le temps passé et le nombre d'entrée dans les bras ouverts et fermés sont mesurés. L'expérience exploite le conflit, chez les rongeurs, entre la peur des espaces ouverts et le désir d'explorer un nouvel environnement. Les bras fermés représentent une sécurité, alors que les bras ouverts offrent une valeur exploratoire. Un animal anxieux aura naturellement tendance à préférer les espaces clos et sombres par rapport aux espaces ouverts et éclairés. Ainsi, l'anxiété comportementale est mesurée par le degré d'évitement des espaces ouverts du labyrinthe. A la fin de chaque session, l'animal est retourné à sa cage et le dispositif est essuyé avec une solution alcoolique.

Les variables mesures sont : temps passé au centre, temps passé au bras ouverts, temps passé au partie distale et proximale du bras ouvert, nombre d'entré au bras ouvert, temps passé au bras fermé, temps passé au partie distale et proximale du bras fermé, nombre d'entré au bras fermé, nombre redressement.



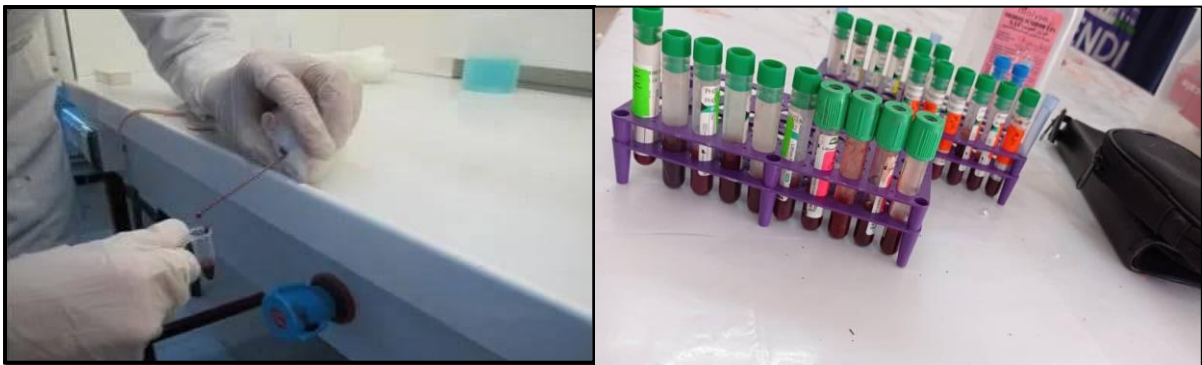


**Figure 22** : Dispositif utilisé dans EPM (photo personnel)

### 3.2.6. Prélèvements

#### 3.2.6.1. Prélèvement sanguin

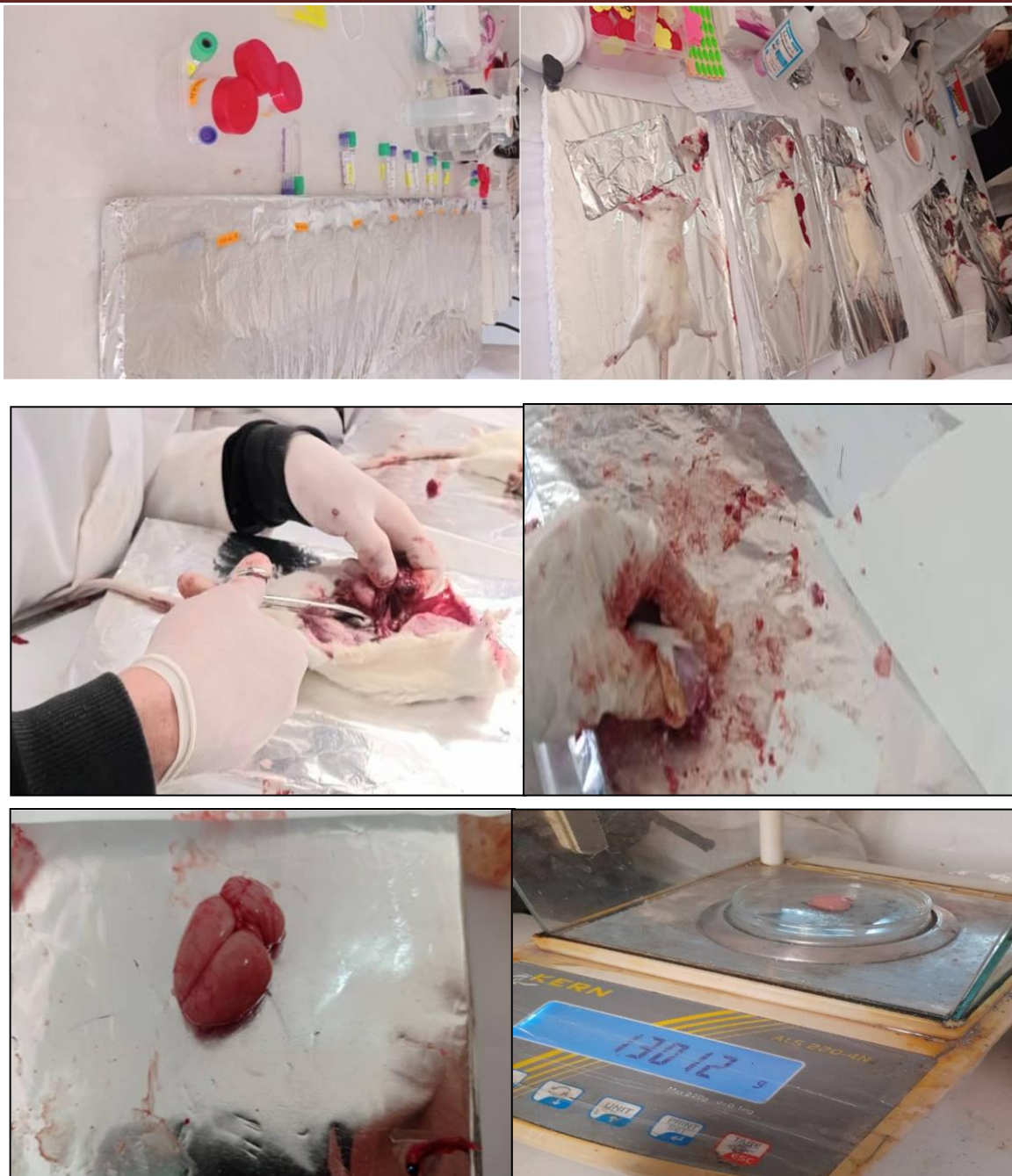
Le prélèvement du sang est effectué à l'aide d'un tube capillaire d'hématocrite à travers le sinus rétro-orbital au niveau de la veine orbitale des rats anesthésiés au départ par l'éther par voie ophtalmique. Nous recueillons le sang dans un tube EDTA pour la FNS, et dans un tube héparine pour les paramètres biochimique. Nous centrifugeons les tubes héparines à 4000 g/5min. à 4°C. Le plasma obtenu est aliquote et conservé à une température de  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'au moment des analyses biochimiques.



**Figure 23** : Prélèvement du veine retro-orbitale

#### 3.2.6.2. Prélèvement des organes

A l'issue de la période expérimentale, les animaux sont pesés, sacrifiés puis ouverts ventralement pour le prélèvement des organes. Le foie et le cerveau et les surrénales sont prélevés, pesés. Et rincés dans le tampon de lavage à froid (NaCl 9%), puis séchés à basse température ( $4^{\circ}\text{C}$ ) par un papier semi absorbant et pèses à l'aide d'une balance de précision.



**Figure 24 :** Dissection et prélèvement des organes.

### 3.2.7. Etude des Paramètres hématologiques

La numérotation sanguine a été faite par un automate compteur de type (d'Abacus 380) à 19 paramètres. Pour Estimer les éléments figurés du sang (nombre des globules rouges, le nombre des globules blancs et le taux d'hémoglobines lymphocytes, monocytes, granulocyte, cette analyse est effectuée sur le sang conservé dans des tubes avec EDTA ou héparine ont été déterminés à la fin de l'expérience, le Comptage a été réalisé au niveau du laboratoire Elite (Tébessa).

### 3.2.8. Etude des paramètres biochimiques

#### a. Mesure de la Glycémie

##### \*Principe

Le dosage du glucose sanguin a été effectué par un glucomètre qui utilise des bandelettes réactives. Ces dernières sont destinées à un usage diagnostique in vitro (externe) pour le test de la glycémie. Elles sont conçues pour mesurer le glucose dans le sang total capillaire. La bandelette réactive contient de la glucose-oxydase, une enzyme qui oxyde le glucose dans le sang et qui produit de l'acide D-gluconique et du peroxyde d'hydrogène.

##### \*Mode opératoire

- Le lecteur se met en marche automatiquement par simple insertion de la bandelette Réactive Accu-Cheek (dans le sens des flèches et jusqu'à la butée).
- Le symbole d'une goutte clignote.
- Déposer la goutte de sang sur la zone de dépôt orange de la bandelette. Le résultat s'affiche en 5 secondes. La glycémie est donnée en g/dl.

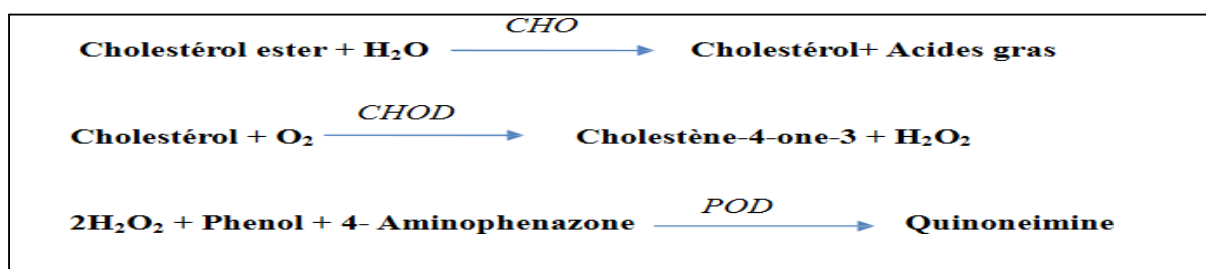


Figure 25 : Un glucomètre

#### b. Mesure du Cholestérol totale

##### \*Principe

Le Dosage ce fait selon la fiche technique Biomaghreb (Fasce, 1982 ; Richmond, 1973 ; Trinder, 1969). Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon la réaction ci-dessous :



<b>Réactif 1 :</b> tampon	PIPES pH 6.9	90 mmol/l
	Phénol	26 mmol/l
<b>Réactif 2 :</b> Enzymes	Cholestrol esterase (CHE)	300 U/L
	Cholesterol oxidase (CHOD)	300 U/L
	Peroxidase	1250 U/L
	4-Aminophenazone (4-AP)	0.4 mmol/l
<b>Etalon</b>	Cholesterol aqueous (standard)	2g/l

**Tableau 02 :** Réactifs utilisés dans le dosage de cholestérol totale

**Réactif de travail :** dissoudre le contenu de réactif 2 dans le flacon de réactif 1 et mélanger légèrement

**Echantillon :** Plasma.

**Tableau 03 :** Réactifs de travail

	Blanc	Etalon	Echantillon
<b>Réactif de travail (ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Etalon (µl)</b>	--	10	--
<b>Echantillon (µl)</b>	--	--	10

**\*Mode opératoire**

Mélanger, incuber pendant 5min à 37°C, ou 15-20 min à une température ambiante. Lire les absorbances des échantillons et de l'étalon contre le blanc réactif à 505 nm. La coloration finale est stable au moins 30 minutes.

**Calcul de la concentration :**

$$\text{Cholestérol (g/l)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 2\text{g/l}$$

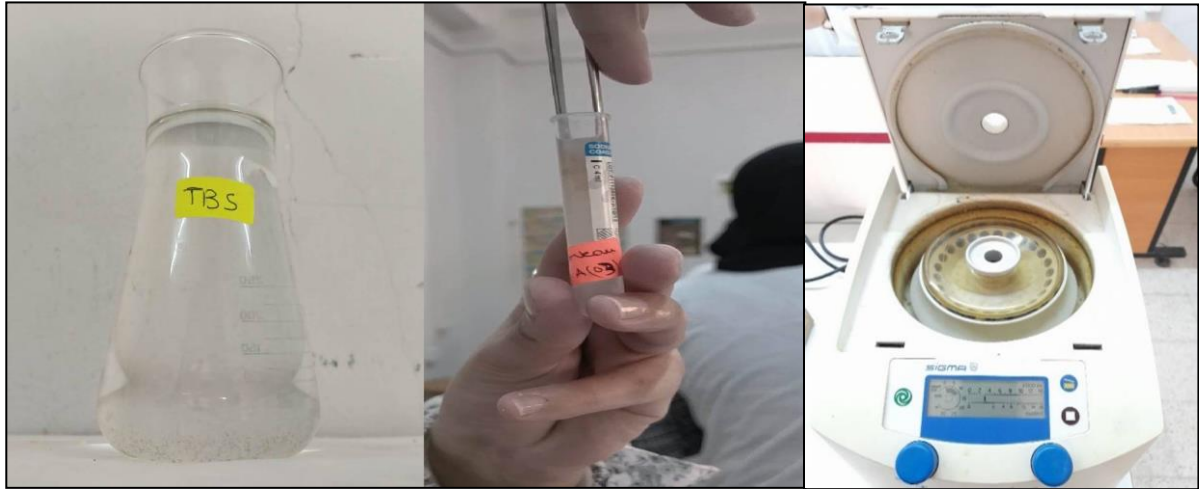
A: Densité optique

**3.2.9. Evaluation des paramètres du stress oxydant cérébral.**

**a. Préparation de l'homogénats des organes :**

Pour préparer l'homogénats, 1g du cerveau est broyé dans la solution de TBS (Tris 50 mM, NaCl 150m M, pH 7.4) jusqu'à l'obtention d'une solution homogène pour chaque rat. L'homogénat est centrifugé à 3000 t/min pendant 15 minutes. Le surnageant obtenu est récupéré

puis conservés à  $-20^{\circ}\text{C}$ . Cette surnageant est utilisé pour le dosage des paramètres de stress oxydatif.

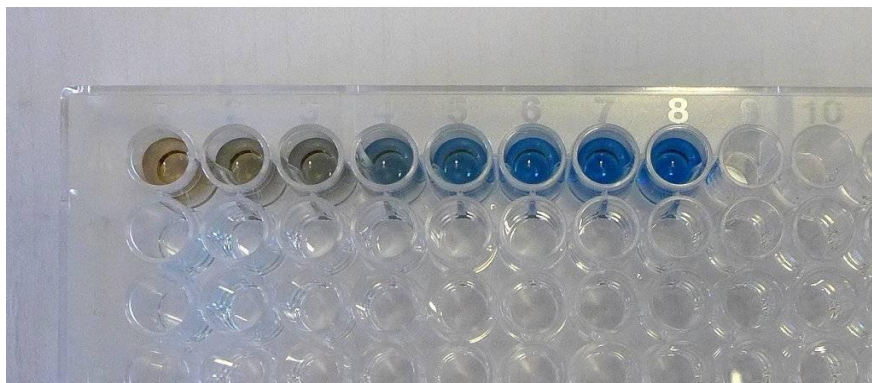


**Figure 26 :** Préparation de l'homogénats de cerveau

### **b. Dosage des protéines tissulaires**

#### **\*Principe**

Les protéines tissulaires ont été déterminés suivant une méthode colorimétrique par un spectrophotomètre en utilisant le bleu de Coomassie qui est réagi avec les groupements amine(-NH<sub>2</sub>) Des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).L'absorption est mesurée à 595nm (**Bradford, 1976**).

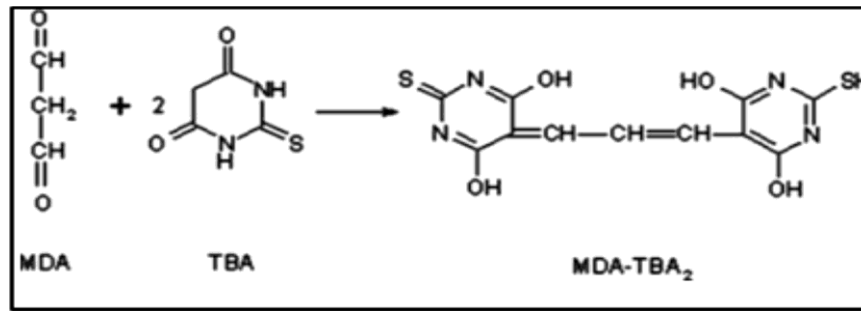


**Figure 27 :** Dosage des protéines tissulaires

### **c. Mesure du Malone dialdéhyde (MDA)**

#### **\*Principe**

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de **MDA** en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique. La réaction entraîne la formation d'un complexe de couleur rose entre deux molécules d'acide thiobarbiturique qui peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 532 nm (**Yagi, 1976**).



**Figure 28** : Figure représentant le mécanisme réactionnel de l'MDA (Ligor *et al.*,2011).

#### \*Protocole

Pour le réactif, 20g d'acide trichloracétique (**TCA**) ; 375 mg d'acide thiobarbiturique (**TBA**) ; 0,01g de Butylhydroxytoluène (**BHT**) ; 25 ml de Chlorure d'hydrogène (**HCl**) 1N et 50 ml d'eau distillée ont été introduit dans un bécher. La solution obtenue a été chauffée à 40°C dans un bain Marie de type Nuve NB9, jusqu'à dissolution complète du **TBA**, puis transférée dans une fiole de 100 ml et complété le volume par l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

Le dosage du **MDA** se fait par prélèvement de 100ul d'échantillon (homogénat) et 400ul de réactif **TBA** dans des tubes à essai en verre qui seront fermé hermétiquement et chauffer au bain Marie à 100° C pendant 15 minutes, puis refroidis dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Après centrifuger à 3000 tr/mn pendant 5 minute, l'absorbance du surnageant est déterminée à une longueur d'onde de 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

La concentration de la substance réactive à l'acide thiobarbiturique (TBARS) a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ( $\epsilon = 1,53 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Les résultats ont été exprimé en  $\mu\text{mol}$ .

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/mg de Prot}) = (\text{Do échantillon} / 1.53 \times 10^5) / \text{mg de Prot}$$

### 3.2.10. Dosage de l'activité de la glutathion S-transférase (GST)

#### \*Principe

Les glutathion-S-transférases appartiennent à une famille d'enzymes multifonctionnelles essentiellement cytosoliques, impliqués dans le transport et la biosynthèse intracellulaire. Elles catalysent des réactions de conjugaison entre un peptide endogène, en présence d'un cofacteur le glutathion, et des molécules réactives comportant des sites électrophiles. La conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle ; 1-S-Glutathionyle 2-4 Dinitrobenzène permettant de mesurer l'activité de **GST**. La technique que nous avons utilisée pour doser l'activité de **GST** est celle de **Habig et al (1974)**. Elle mesure la cinétique de formation entre un substrat modèle, le chlorodinitrobenzene (**CDNB**) et le glutathion, qui absorbe la lumière à

340 nm.

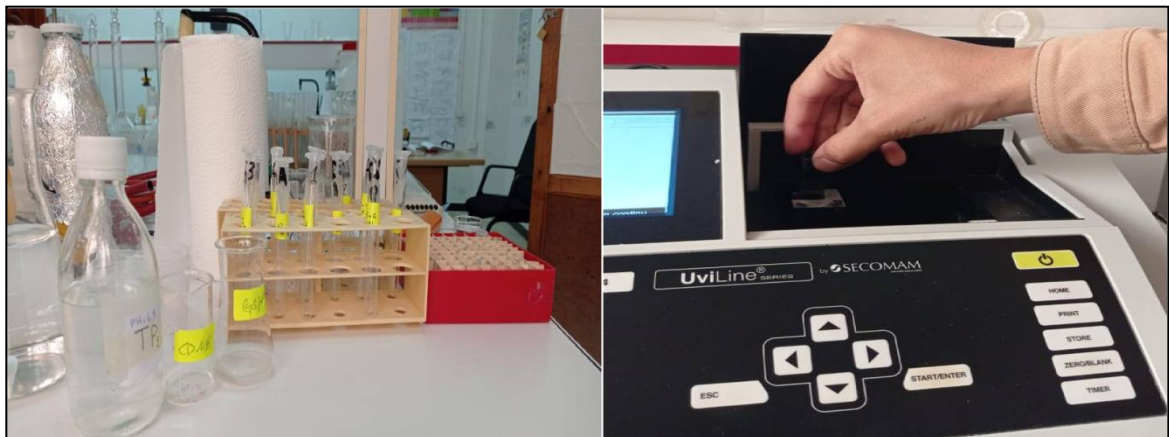
### \*Mode opératoire

Les échantillons sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (0.1M, pH6). L'homogénat est centrifugé à 1400 t/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes. Le dosage consiste à faire réagir 200 µl du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB. La lecture des absorbances est effectuée toutes les minutes pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340nm dans un spectrophotomètre UV/visible contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité du surnageant.

$$\text{GST (nmol C-DNB/min/mg prot)} = \frac{\Delta \text{ DO échantillon} - \Delta \text{ DO Blanc}}{\epsilon \times L \times \text{mg prot}}$$

L'activité de la GST exprimée en nanomoles de C-DNB par minute par milligramme de protéines (nmol C-DNB/min/ Prot) selon la formule suivante :

- $\Delta \text{ DO échantillon} - \Delta \text{ DO blanc}$  : moyenne des **DO** des échantillons par minute – moyenne des **DO** des Blancs par minute
- $\epsilon$  : Coefficient d'extinction moléculaire du C-DNB,  $\epsilon \text{ CDNB} = 9.6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
- **L** : Trajet optique de la cuve = 1cm



**Figure 29** : Dosage de l'activité de la glutathion S-transférase (GST)

### 3.2.11. Mesure de l'ACTH cérébrale

L'ACTH (hormone corticotrope) ou corticotrophine est une hormone composée d'un Peptide de 39 acides aminés (PM = 4500) sécrétée par la glande pituitaire pour réguler la production d'hormones stéroïdes par le cortex surrénal. La sécrétion d'ACTH par l'antéhypophyse est déterminée à la fois par un mécanisme de rétrocontrôle négatif Classique et un système de contrôle induit par le stress au niveau du système nerveux central 1. Divers types de stress ou de douleur perçus dans des parties supérieures du Cerveau modulent la sécrétion de l'hormone neurosécrétrice de l'hypothalamus, la corticolibérine ou **CRH**, un

peptide de 41 acides aminés. La CRH stimule la sécrétion d'ACTH pituitaire qui est régulée également par un deuxième peptide, la vasopressine (AVP).

### \*Principe :

Le dosage immunologique de l'ACTH se fait par le test ELISA [Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay] à deux sites « en sandwich » ; servant à mesurer la chaîne d'ACTH biologiquement active, constituée de 39 acides aminés. Un anticorps poly clonal de chèvre anti-ACTH humaine, purifié par chromatographie d'affinité et un anticorps monoclonal de souris anti-ACTH humaine sont appliqués spécifiquement à des régions bien définies de la molécule d'ACTH. Un des anticorps, biotinylé, est préparé pour se lier uniquement à la séquence 34 à 39 de l'ACTH dans le fragment C-terminal.

L'autre anticorps est préparé pour se lier uniquement à la section 1 à 24 de l'ACTH dans les fragments N-terminal et région centrale et est marqué à la peroxydase de raifort (HRP) pour la détection. Dans ce dosage, les étalons, les contrôles ou les échantillons des patients ont été simultanément incubés avec l'anticorps marqué à l'enzyme et avec un anticorps couplé à la biotine dans un puits à microplaques recouvert de streptavidine. À la fin de l'incubation, les composants libres sont retirés du puits par lavage et l'enzyme liée à la phase solide est incubée avec le substrat, le tétraméthylbenzidine (TMB). On ajoute alors une solution bloquante acide pour arrêter la réaction dont la couleur devient. L'intensité de la couleur jaune est directement proportionnelle à la concentration en ACTH dans l'échantillon. À l'aide des résultats fournis par les étalons, on crée une courbe dose-réponse indiquant l'unité d'absorbance en fonction de la concentration.

Les concentrations d'ACTH présentes dans les contrôles et les échantillons des patients sont directement déterminés à partir de cette courbe.

Procédure de dosage préparé pour se lier uniquement à la séquence 34 à 39 de l'ACTH dans le fragment C-terminal. L'autre anticorps est préparé pour se lier uniquement à la section 1 à 24 de l'ACTH dans les fragments N-terminal et région centrale et est marqué à la peroxydase de raifort (HRP) pour la détection.

Dans ce dosage, les étalons, les contrôles ou les échantillons des patients ont été simultanément incubés avec l'anticorps marqué à l'enzyme et avec un anticorps couplé à la biotine dans un puits à microplaques recouvert de streptavidine. À la fin de l'incubation, les composants libres sont retirés du puits par lavage et l'enzyme liée à la phase solide est incubée avec le substrat, le tétraméthylbenzidine (TMB). On ajoute alors une solution bloquante acide pour arrêter la réaction dont la couleur devient jaune. L'intensité de la couleur jaune est directement proportionnelle à la concentration en ACTH dans l'échantillon. À l'aide des résultats fournis par les étalons, on crée une courbe dose-réponse indiquant l'unité



d'absorbance en fonction de la concentration.

Les concentrations d'ACTH présentes dans les contrôles et les échantillons des patients sont directement déterminés à partir de cette courbe.

### \*Procédure de dosage

-Placer un nombre suffisant de bandelettes recouvertes de streptavidine dans un support pour tester tous les six (6) étalons d'ACTH, les étalons A à F d'ACTH (la concentration exacte est indiquée sur l'étiquette de la fiole), le plasma de contrôle qualité et les échantillons de patients.

-Pipeter 200 µl d'échantillon dans le puits approprié. Congeler (à -20 °C) les étalons et contrôles restants dès que possible après emploi.

-Ajouter ou administrer 25 µl de Réactif 1 (anticorps biotinylé) dans chaque puits contenant l'échantillon.

-Ajouter ou administrer 25 µL de Réactif 2 (anticorps marqué à l'enzyme) dans chacun des mêmes Puits. Recouvrir la plaque ou les plaques d'une feuille d'aluminium ou avec un plateau afin d'éviter l'exposition à la lumière. La (ou les) placer sur un agitateur orbital ou rotateur réglé à  $170 \pm 10$  tr/min pendant 4 heure  $\pm$  30 minutes à température ambiante (22°C-28°C).

-Aspirer tout le fluide, puis laver ou aspirer chaque puits cinq (5) fois avec la solution de lavage Active (préparée avec le Réactif A) dans un laveur de microplaques automatique. Il est recommandé de limiter le volume de solution de lavage à verser dans chaque puits à 0,35 ml.

-Ajouter ou administrer 150 µl de réactif B **ELISA** (substrat TMB) dans chacun des puits.

-Après avoir recouvert la plaque ou les plaques afin d'éviter l'exposition à la lumière, la (ou les) placer sur un agitateur orbital réglé à  $170 \pm 10$  tr/min pendant  $30 \pm 5$  minutes à température ambiante (22 °C-28 °C).

-Ajouter ou administrer 100 µl de solution bloquante dans chacun des puits. Mélanger délicatement

-Lire l'absorbance de la solution dans les puits au bout de 10 minutes avec un lecteur de microplaques réglées à 450 nm par rapport à 250 µl d'eau distillée ou déminéralisée.

La mesure des résultats se fait à l'aide d'un lecteur **ELISA TECAN** Magellan muni d'un logiciel informatique qui calcul automatiquement la gamme étalon et donne directement valeur de la testostérone à l'unité désirée.



**Figure 30** : chaine d'Elisa

### 3.2.12. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart-type ( $m \pm s$ ) et illustrés par des tableaux et histogrammes. Le traitement statistique des résultats est exploité en réalisant une analyse de variance à un facteur contrôle (ANOVA), le test de Tukey a été utilisé pour comparer les groupes traités avec le groupe témoin et avec le groupe stressé. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel statistique Mini tab 17.1 et Excel16.0 (Microsoft, Inc.). Le niveau de signification statistique était fixé à  $p < 0,05$ .

\*: Différence significative ( $p \leq 0.05$ )

\*\* : Différence hautement significative ( $p \leq 0.01$ )

\*\*\* : Différence très hautement significative ( $p \leq 0.001$ )

Résultats

## Résultats

### 4.1. Effet du stress de contention et le traitement par le *Ginkgo biloba* sur l'évolution pondérale

Les résultats de l'évaluation du poids corporel montrent une diminution de poids corporel chez les rats stressants comparativement aux témoins. Par contre le traitement des rats stressés au *Ginkgo biloba* augmente cette diminution.

**Tableau 04 :** Les Variations du gain du poids chez les rats témoins, stressés et traités :

Poids/groupes	T	S	G	S+G
<b>Poids initial (g)</b>	209,4 ± 8,56	207 ±10,41	195,4 ± 6,65	209,6 ± 7,46
<b>Poids final (g)</b>	224 ± 6.67	194 ± 4,79	198,2 ± 5,80	210,2 ± 7,29
<b>Gain de poids (%)</b>	7.17%	-8,57%	01%	0,30%

### 4.2. Effet du stress de contention et le traitement par le *Ginkgo biloba* sur le poids absolu des organes

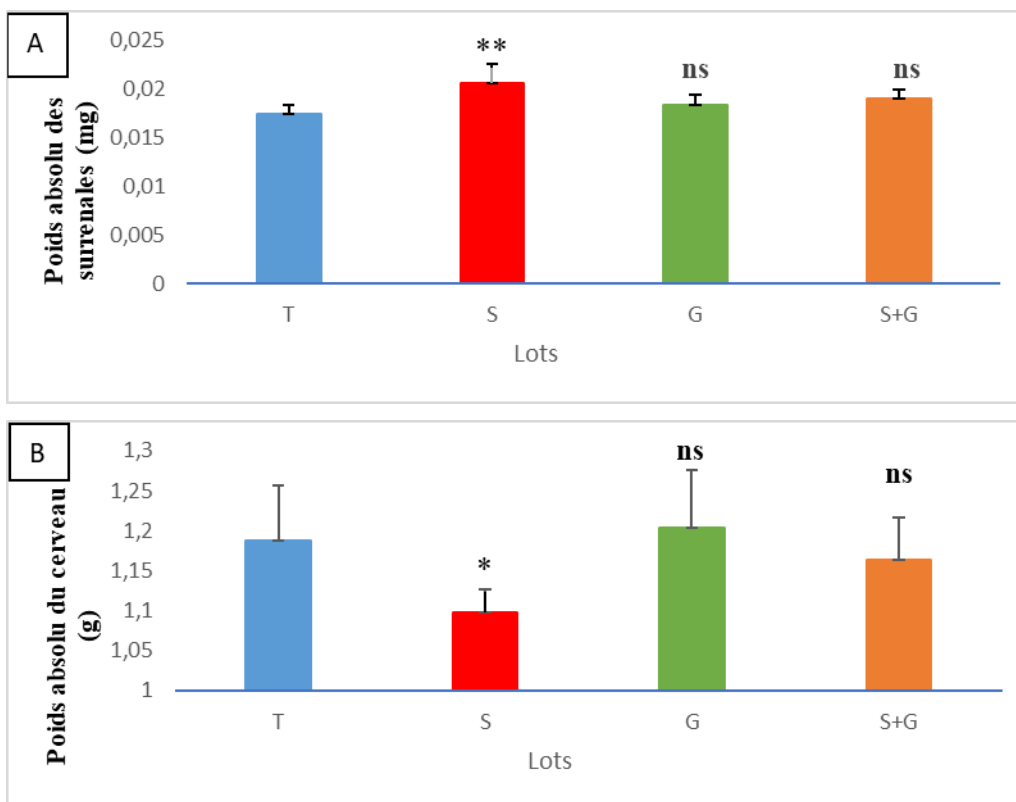
Les résultats de l'évaluation du poids absolu des surrénales montrent une augmentation significative ( $P \leq 0,01$ ) chez les rats stressants comparativement aux témoins. Par contre le traitement des rats stressés au *Ginkgo biloba* diminue cette augmentation.

Les résultats de l'évaluation du poids absolu du cerveau montrent une diminution significative ( $P \leq 0,05$ ) chez les rats stressants comparativement aux témoins. Par contre le traitement des rats stressés au *Ginkgo biloba* a augmenté cette diminution.

**Tableau 05 :** Variation du poids absolu des organes chez les rats témoins, stressés et traités :

Poids/groupes	T	S	G	S+G
<b>Poids absolu des Surrénales(g)</b>	0,0174 ± 0,001	0,0206± 0,002 **	0,0184± 0,001 ns	0,019 ± 0,001 ns
<b>Poids absolu du cerveau (g)</b>	1,1880 ± 0,069	1,0980 ± 0,029 *	1,2040 ± 0,072 ns	1,1640 ± 0,053 ns

(\*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  ; \*\*\*  $p < 0.001$  ns ; non significative (comparaison vs T ; n=5).



**Figure 31 :** Variations du poids relative des surrénales (A) et du cerveau (B) chez les rats témoins, stressé et traités.

### 4.3. L'effet du stress de contention et le *Ginkgo biloba* sur les paramètres biochimique

#### 4.3.1. Le cholestérol

Les résultats obtenus montrent une augmentation significative ( $p \leq 0,001$ ) du cholestérol chez les rats stressants comparativement aux témoins. Par contre le traitement des rats stressés au *Ginkgo biloba* diminue cette augmentation.

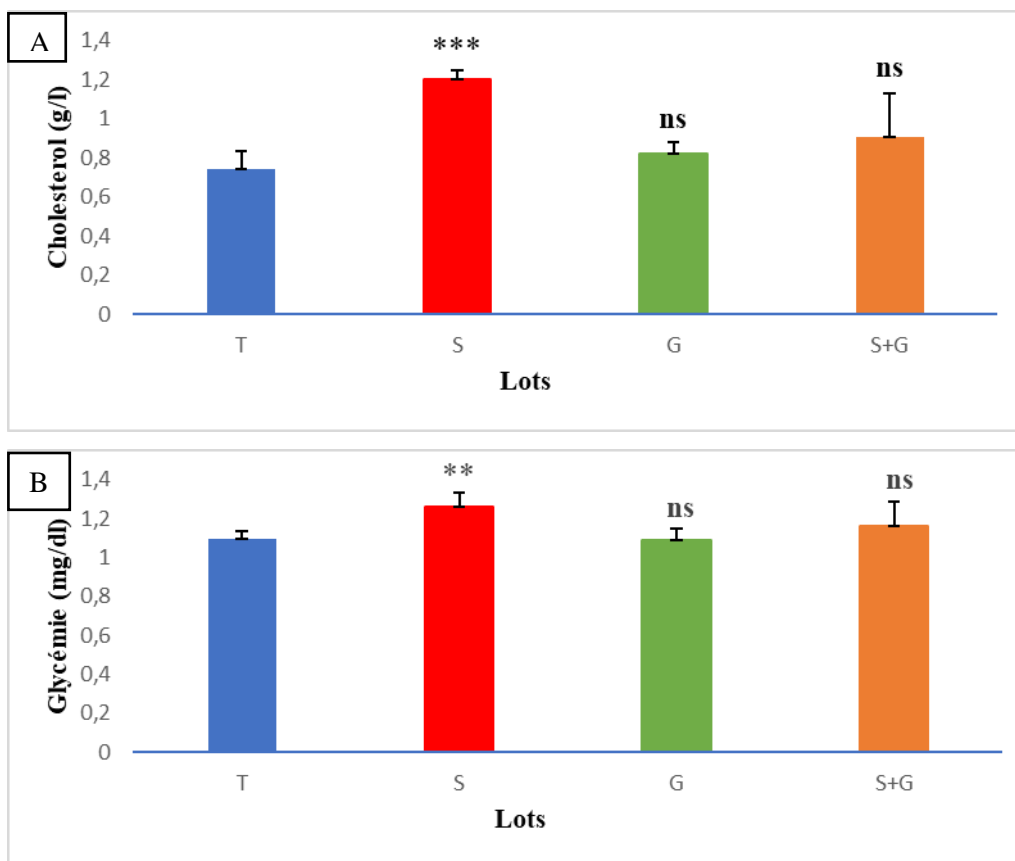
#### 4.3.2. La glycémie

Nos résultats montrent une augmentation hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) de la glycémie chez les rats stressants comparativement aux témoins. Par contre le traitement des rats stressés au *Ginkgo biloba* diminue cette augmentation.

**Tableau 06 :** Variation des paramètres biochimique chez les rats témoins, stressé et traités :

Paramètres	T	S	G	S+G
Glycémie (mg/dl)	1,098 ± 0,0363	1,264 ± 0,068 **	1,088 ± 0,060 ns	1,164 ± 0,120 ns
Cholestérol (g/l)	0,740 ± 0,096	1,204 ± 0,047 ***	0,824 ± 0,055 ns	0,904 ± 0,227 ns

(\*  $p < 0,05$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*\*\*  $p < 0,001$  ns ; non significative (comparaison vs T ; n=5).



**Figure 32 :** Variations du cholestérol (A) et de la glycémie (B) chez les rats témoins, stressés et traités.

#### 4.4. L'effet du stress de contention et le *Ginkgo biloba* sur les paramètres hématologiques

Les résultats affichés dans le tableau montrent une augmentation hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) de WBC, Lymphocytes et Eosinophiles. Et une augmentation significative ( $p \leq 0,001$ ) de Monocyte et Neutrophiles. Et une augmentation significative ( $P \leq 0,05$ ) de GR chez les rats stressés comparativement aux témoins. Par contre le traitement des rats stressés au *Ginkgo biloba* diminue cette augmentation.

**Tableau 07 :** Variation des paramètres hématologiques chez les rats témoins, stressés et traités :

Parameters/groups	T	S	G	S+G
<b>WBC (<math>10^3/\mu\text{l}</math>)</b>	9,540 ± 0,677	10,980 ± 0,936 **	8,954 ± 2,286 ns	9,474 ± 1,700 ns
<b>Lymphocytes (<math>10^3/\mu\text{l}</math>)</b>	8,160 ± 0,673	9,698 ± 0,839 **	8,3440 ± 0,628 ns	7,756 ± 1,092 ns
<b>Monocyte (<math>10^3/\mu\pm\text{l}</math>)</b>	0,272 ± 0,052	0,568 ± 0,162 ***	0,298 ± 0,080 ns	0,450 ± 0,169 *
<b>Neutrophiles (<math>10^3/\mu\text{l}</math>)</b>	1.795 ± 0.061	1,874 ± 0,175 ***	1,112 ± 0,263 ns	1,358 ± 0,411 ns

<b>Eosinophiles (10<sup>3</sup>/μl)</b>	0,210 ± 0,086	0,490 ± 0,185 **	0,222 ± 0,079 ns	0,340 ± 0,176 ns
<b>GR (10<sup>6</sup>/μl)</b>	8,556 ± 0,317	9,020 ± 0,207 *	8,266 ± 0,421 ns	8,790 ± 0,468 ns

(\* p<0.05 ; \*\* p<0.01 ; \*\*\* p<0.001 ns ; non significative (comparaison vs T ; n=5).

#### 4.5. Effet du stress de contention et d'extrait du *Ginkgo biloba* sur le statut redox cérébral

##### 4.5.1. Pour Taux du Malondialdéhyde (MDA)

Nous avons constaté une élévation significative de l'MDA cérébral (p≤0,01) chez les rats subissent le stress de contention par rapport au groupe témoin, par contre le traitement par le *Ginkgo biloba* a atténué significativement cette élévation comparativement avec le groupe stressé (p≤0,01).

##### 4.5.2. Activité de la glutathionne S Transférase (GST)

L'analyse statistique de nos résultats montre une diminution significative (p≤0,01) de la glutathion-s-transférase (GST) chez le lot stressé, et une augmentation significative chez le lot traité par *Ginkgo biloba* (P≤0,05) comparativement aux témoins.

Intéressamment, le lot de traitement combine S+G a modulé significativement (P≤0,05) cette diminution de la GST comparativement au lot stressé.

**Tableau 08 :** Variation du taux du malondialdéhyde et de l'activité de la glutathion-S-transférase (GST) au niveau hépatique chez le lot témoin, stressé et traité :

Paramètres/lots	T	S	G	S+G
<b>MDA (nmol/mg Prot)</b>	0,250 ± 0,038	0,372 ± 0,083 **	0,216 ± 0,024 ns	0,284 ± 0,024 <b>a<sup>ns</sup> ; b*</b>
<b>GST (nmol/min/mg Prot)</b>	0,220 ± 0,020	0,178 ± 0,019 **	0,282 ± 0,049 *	0,210 ± 0,015 <b>a<sup>ns</sup> ; b*</b>

(\* p<0.05 ; \*\* p<0.01 ; \*\*\* p<0.001 ns ; non significative (comparaison a vs T et b vs S ; n=5)

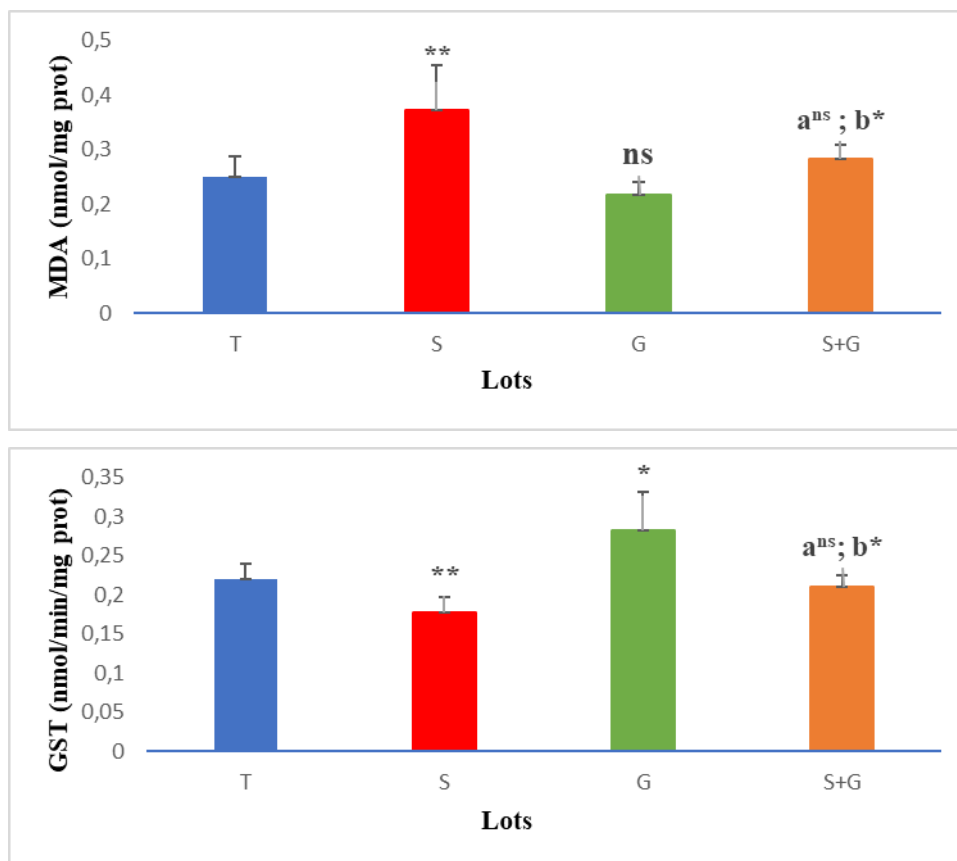


Figure 33 : Variation de l’MDA et du GST chez les rats témoins, Stressés et traités

#### 4.6. Effet du stress de contention et d’extrait du *Ginkgo biloba* sur le niveau de l’ACTH cérébrale :

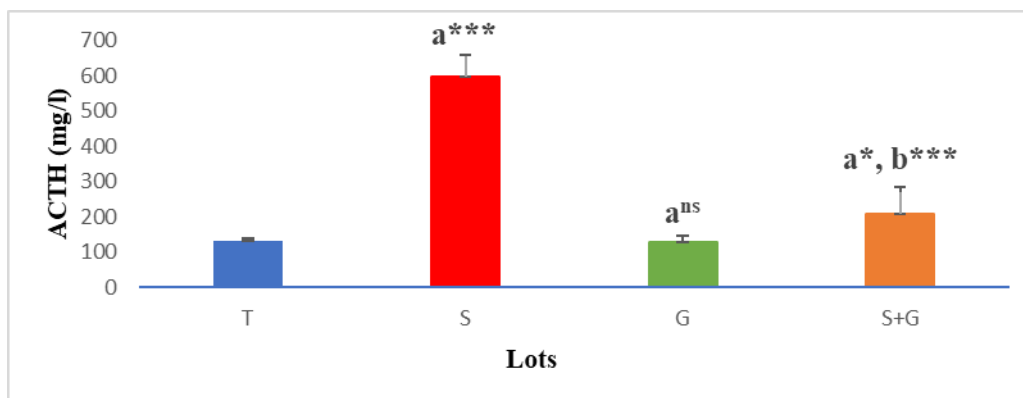
L’analyse statistiques de nos résultats montrent augmentation significative ( $p \leq 0,001$ ) de l’ACTH chez le rat stressé par rapport au groupe témoin. Par contre le traitement par le *Ginkgo biloba* a atténué significativement cette augmentation comparativement avec le groupe stressé ( $p \leq 0,001$ ).

Tableau 09 : Variation de l’ACTH chez les rats témoins, Stressés et traités :

Paramètres/lots	T	S	G	S+G
ACTH cérébrale (mg/l)	133,20 ± 6,65	599,20 ± 61,85 <b>a***</b>	128,80 ± 16,05 <b>a<sup>ns</sup></b>	209,40 ± 73,73 <b>a*, b***</b>

(\*  $p < 0,05$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*\*\*  $p < 0,001$  ns ; non significative (comparaison a vs T et b vs S ; n=5)





**Figure 34 :** Variation de L’ACTH cérébrale chez les rats témoins, Stressés et traités.

#### 4.7. Effet de stresse et le traitement par le *Ginkgo biloba* sur le comportement

##### 4.7.1. Effet du stress de contention et du *Ginkgo biloba* sur les paramètres du teste de labyrinthe en croix surélève :

Les résultats des rats stressés montrent une augmentation significative ( $p \leq 0,001$ ) du temps passé dans les bras fermés ( $p \leq 0,001$ ) ainsi que le nombre d’entrée dans ces bras ( $p \leq 0,01$ ) comparativement aux témoins. Par contre, une diminution significative ( $p \leq 0,001$ ) du temps passé dans les bras ouverts ( $p \leq 0,001$ ) ainsi que le nombre d’entrée dans ces bras ( $p \leq 0,01$ ) comparativement aux témoins. Cependant, un traitement des rats stressés par le *Ginkgo biloba* a modulé le temps d’exploration dans les deux bras.

Concernant le temps passés au centre, aucune différence significatives a été enregistré chez tous les groupes.

Concernant, le nombre de redressements, les rats stressés montrent une diminution significative du nombre de redressements ( $p \leq 0,001$ ) par rapport aux témoins.

Cependant, un traitement par notre plante a augmenté cette diminution d’une manière significative ( $P \leq 0,05$ ) par rapport aux rats stressés.

**Tableau 10 :** Variation des paramètres de l’EPM chez les rats témoins, Stressés et traités :

Paramètres/lots	T	S	G	S+G
<b>Temps passé au centre (sec)</b>	28,800 ± 5,495	35,400 ± 5,413 a <sup>ns</sup>	33,40 ± 14,77 a <sup>ns</sup>	26,20 ± 6,017 a <sup>ns</sup> , b <sup>ns</sup>
<b>Temps passé dans les bras ouverts (sec)</b>	173,80 ± 6,53	74,00 ± 19,08 a <sup>***</sup>	158,20 ± 31,30 a <sup>ns</sup>	113,40 ± 8,23 a <sup>***</sup> , b <sup>**</sup>
<b>Temps passé dans la partie distale du bras ouverts (sec)</b>	66,00 ± 2,739	6,200 ± 2,588 a <sup>***</sup>	58,00 ± 7,450 a <sup>*</sup>	48,400 ± 6,841 a <sup>**</sup> , b <sup>***</sup>

<b>Nombre d'entrée au bras ouverts</b>	2,400 ± 1,1402	0,800 ± 0,447 a**	1,600 ± 0,547 a <sup>ns</sup>	1,00 ± 0,707 a*, b*
<b>Temps passé dans les bras fermé (sec)</b>	86,86 ± 4,45	131,80 ± 38,58 a***	80,60 ± 16,56 a <sup>ns</sup>	97,00 ± 10,49 a* ; b***
<b>Temps passé dans la partie distale du bras fermé (sec)</b>	77,80 ± 7,85	126,60 ± 5,22 a***	69,80 ± 17,18 a <sup>ns</sup>	99,60 ± 7,86 a**, b***
<b>Nombre d'entrée au bras fermé</b>	1,800 ± 0,4472	1,200 ± 0,447 a*	1,400 ± 0,547 a <sup>ns</sup>	1,300 ± 0,5477 a <sup>ns</sup> , b <sup>ns</sup>
<b>Nombre de redressement</b>	20,200 ± 1,789	11,20 ± 2,387 a***	18,00 ± 5,701 a <sup>ns</sup>	14,80 ± 2,864 a**, b*

(\* p<0.05 ; \*\* p<0.01 ; \*\*\* p<0.001 ns ; non significative (comparaison a vs T et b vs S ; n=5)

#### 4.7.2. Effet du stress de contention et du *Ginkgo biloba* sur les paramètres du teste des champs ouverts

L'analyse statistique des différentes variables mesurés dans ce test a révélé une différence significative entre les différents groupes. Nous avons noté une diminution significative dans les groupes stressés par rapport au groupes témoins en ce qui concerne la distance totale parcourue (p≤0,001), temps passé au centre (p≤0,001) et le nombre d'entré au centre (p≤0,01) et le nombre de redressement (P≤0,05), Cependant, le traitement des rats stressés par le *Ginkgo biloba* a prévenu cette augmentation avec une différence significative (p≤0,001) par rapport aux rats stressés. Par contre, nous avons enregistré une augmentation significative du temps d'immobilité (p≤0,001) et du temps passé au périphérique (p≤0,001) comparativement aux témoins.

Intéressement, aucune différence significative n'a été notée entre les rats traités par le *Ginkgo biloba* et les rats témoins.

**Tableau 11** : Variation des paramètres de l'OF chez les rats témoins, Stressés et traités :

<b>Paramètres/lots</b>	<b>T</b>	<b>S</b>	<b>G</b>	<b>S+G</b>
<b>Distance totale parcourue (cm)</b>	564,80 ± 22,31	200,40 ± 7,83 a***	744,4 ± 01,2 a <sup>ns</sup>	398,60 ± 90,08 a**, b***
<b>Temps d'immobilité (sec)</b>	168,20 ± 8,29	402,60 ± 13,70 a***	175,40 ± 28,09 a <sup>ns</sup>	209,20 ± 25,33 a**, b***
<b>Temps passé dans la</b>	202,60 ± 10,16	252,60 ± 32,49 a**	222,20 ± 19,24 a <sup>ns</sup>	243,80 ± 34,67 a**, b***

périphérie (sec)				
<b>Temps passé au centre (sec)</b>	46,40 ± 13,83	15,00 ± 7,00 a**	25,80 ± 4,82 a*	7,20 ± 4,32 a***, b*
<b>Nombre de redressement</b>	10,800 ± 1,304	2,400 ± 1,673 a***	14,000 ± 2,345 a*	7,000 ± 3,162 a*, b**
<b>Nombre d'entrés au centre</b>	3,400 ± 1,342	1,200 ± 0,447 a**	2,200 ± 1,304 a <sup>ns</sup>	1,400 ± 0,548 a**, b <sup>ns</sup>

(\*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  ; \*\*\*  $p < 0.001$  ns ; non significative (comparaison a vs T et b vs S ; n=5)

#### 4.7.3. Effet du stress de contention et du *Ginkgo biloba* sur les paramètres du teste de reconnaissance du nouvel objet :

D'après nos résultats, Les rats stressés ont passé moins de temps à explorer le nouvel objet par rapport à l'objet familiale contrairement au groupe témoins indiquant que ces derniers ne se souvenaient pas l'objet familiale l'étude statistique confirme effectivement qu'il y a une différence significative ( $p \leq 0,01$ ). Par contre le traitement des rats stressés par *Ginkgo biloba* améliore la mémoire des rats pour l'objet familiale donc ils ont passé beaucoup de temps a exploré le nouvel objet.

**Tableau 12 :** Variation des paramètres de TRO chez les rats témoins, Stressés et traités.

Paramètres/lots	T	S	G	S+G
<b>Temps de latence (sec)</b>	6,200 ± 1,643	15,200 ± 4,65 a**	4,600 ± 2,074 a <sup>ns</sup>	8,600 ± 2,074 a <sup>ns</sup> , b**
<b>Temps d'exploration de l'objet familiale (sec)</b>	21,20 ± 7,530	34,80 ± 8,349 a**	29,20 ± 7,155 a <sup>ns</sup>	23,80 ± 5,215 a <sup>ns</sup> ; b **
<b>Temps d'exploration du nouvel objet (sec)</b>	49,00 ± 20,36	13,40 ± 4,16 a**	39,80 ± 12,74 a <sup>ns</sup>	30,60 ± 5,13 a* ; b ***

(\*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  ; \*\*\*  $p < 0.001$  ns ; non significative (comparaison a vs T et b vs S ; n=5)

#### 4.7.4. Effet du stress de contention et du *Ginkgo biloba* sur les paramètres du teste de la nage forcée (FST) :

D'après nos résultats, l'application du stress de contention induit une augmentation significative ( $p \leq 0,001$ ) du temps d'immobilité comparativement au témoin. Ainsi, le traitement de ce groupe par le *Ginkgo biloba* a diminué remarquablement cette augmentation ( $p \leq 0,001$ ) par rapport le groupe stressé.

Concernant le temps de la nage et d'escalade, les rats stressés montrent une diminution significative ( $p \leq 0,001$ ) du temps de nage et d'escalade ( $p \leq 0,001$ ) par rapport aux témoins. Un traitement au *Ginkgo biloba* a augmenté remarquablement le temps de nage et d'escalade de manière significative comparativement au groupe stressé.

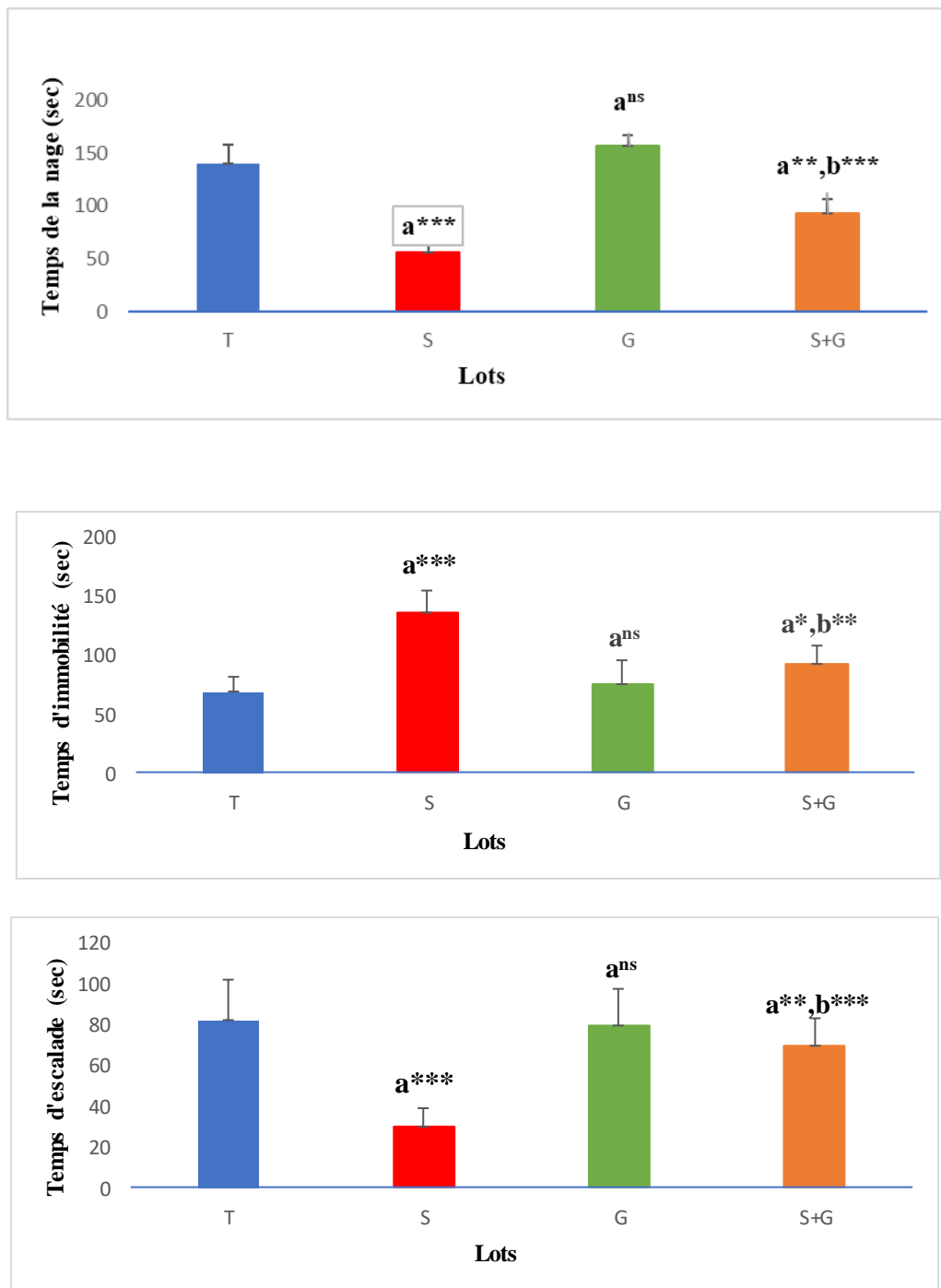


Figure 35 : Variation des paramètres de l’FST chez les rats témoins, Stressés et traité

# Discussion

## Discussion

Le stress est connu pour altérer systématiquement les systèmes nerveux immunitaire, cardiovasculaire, neuroendocrinien et autonome, ainsi que l'activité cérébrale. Axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA) est connu pour être une voie majeure d'adaptation ou de mésadaptation au stress psycho-émotionnel (**Stratakis et Chrousos, 1995**). Ainsi, Extrait de *Ginkgo biloba* (EGb) a une variété d'activités biologiques et différents effets pharmacologiques, à savoir la régulation de la réponse anti-oxydant, anti-inflammatoire et immunitaire, et a également pour effet de réduire l'inflammation et de prévenir la fibrose hépatique (**Pehlivan M1, et al 2002**). EGB761 est largement connu pour son activité neuroprotectrice et sa promotion de l'amélioration de la mémoire. Ces deux facteurs sont directement liés à ses propriétés anti-oxydantes. Les composants de l'EGB761 jouent de multiples rôles dans la régulation du stress oxydatif, dont le principal mécanisme est le piégeage des radicaux libres et l'inhibition indirecte de la formation de radicaux libres (**Gabriela, et al 2020**).

### 1. Effet du stress de contention et le traitement par le *Ginkgo biloba* sur l'évolution pondérale

Dans notre étude, nous avons enregistré une diminution de poids corporel chez les rats stressants comparativement aux témoins (T : 7.17% vs Stressé : -8,57%) qui est due à la diminution de la consommation de la nourriture sous l'influence du stress et pourrait aussi avoir été associé à l'augmentation induite par le stress des demandes métaboliques, la digestion réduite, et l'augmentation de la sécrétion des stéroïdes surrénaliens (**Nayanatara et al., 2012**). Nos résultats sont en accord avec celles de (**Christaki et al., 2013; Katzer et Bradshaw., 2008 ; Manzoni et al., 2009 ; Guedri et al., 2017**). Par contre, une légère acquisition du gain du poids a été remarqué chez les rats traités par la *Ginkgo biloba* pendant 21 jours ceci est due à l'effet anti-obésogène de la plante, il a été démontré que la *Ginkgo b* stimule le système sérotoninergique qui induit une hypophagie (**Banin et al., 2017**), nos résultats sont en accord avec celle de (**Hirata et al., 2015 ; Bruna et al., 2019**).

### 2. Effet du stress de contention et le traitement par le *Ginkgo biloba* sur le poids absolu des Surrénales

Dans cette étude, nous avons enregistré l'augmentation significative ( $P \leq 0,01$ ) du poids surrénal chez les stressé par rapport les témoins (T :  $0,0174 \pm 0,001$  vs Stressé :  $0,0206 \pm 0,002$ ) ce qui est expliqué par le taux élevé des glucocorticoïdes sécrété par le cortex surrénalien due

à l'exposition prolongé au stress chronique (**Herman et al., 1995 ; Ulrich-Lai et al., 2006 ; Davy et al., 2022**). Par contre le traitement des rats stressés au *Ginkgo biloba* diminue cette augmentation. Récemment, il a été démontré que l'extrait de EGb761 inhibe la sécrétion de corticostérone chez le rat et qu'il agit directement au niveau de la glande surrénale par une diminution du nombre de récepteurs périphériques aux benzodiazépines (**Marcilhac et al., 1998 ; Walesiuk et al., 2006 ; Walesiuk et Braszko., 2009**).

### **3. Effet du stress de contention et le traitement par le *Ginkgo biloba* sur le poids absolu des cerveaux**

Dans notre étude, l'évaluation du poids absolu du cerveau montrent une diminution significative ( $P \leq 0,05$ ) chez les rats stressés comparativement aux témoins (T :  $1,1880 \pm 0,069$  vs Stressé  $1,0980 \pm 0,029$ ), cela est due à l'action des glucocorticoïdes qui induisent une atrophie au plusieurs régions cérébrales tels qu'hippocampe et le cortex préfrontal. Le Stress chronique peut produire une atrophie neuronale et la mort cellulaire dans l'hippocampe tout en laissant les autres régions du cerveau intactes (**Magarinos et al., 1997**).

Par contre, le traitement des rats stressés au *Ginkgo biloba* a augmenté cette diminution, ceci est dû à l'effet neuroprotecteur des feuilles de la *Ginkgo biloba*. Il a été démontré l'effet neuroprotecteur du *Ginkgo biloba* (**Smith et al., 1996**) ainsi que l'actions bénéfiques de la plante contre les lésions d'ischémie/reperfusion, l'hypoxie, maladies vasculaires et **cardiovasculaires** (**Curtis-Prior et al., 1999**), les déficits cognitifs et la démence (**Kanowski et al., 1996**) ont également été décrites. Il a été démontré que l'EGB 761 améliore la fluidité et diminuer la déformabilité des membranes neuronales qui peut être altéré par le vieillissement et plusieurs pathologies situation (**Ramassamy et al., 1992**).

### **4. L'effet du stress de contention et le *Ginkgo biloba* sur les paramètres biochimique4-1-Bilan lipidique**

Dans notre recherche, nous avons enregistré une augmentation significative ( $p \leq 0,001$ ) du cholestérol chez les Rats stressés comparativement aux témoins (T :  $0,740 \pm 0,096$  vs Stressé :  $1,204 \pm 0,047$ ), cette augmentation est due à l'activité accrue d'axe hypothalamo-hypophysaire entraînant libération accrue de catécholamines et corticostéroïdes (**Lakshmi et Sudhakar, 2009**). Il est bien connu que les catécholamines activent la lipolyse le tissu adipeux et augmenter le flux d'acide gras libre au foie où la synthèse accrue de triglycérides et la sécrétion se produit. Aussi les surrénales lors du stress chronique pour continuer de produire le cortisol vont envoyer Des signaux au foie pour augmenter sa production de cholestérol. Nos résultats sont en accord avec les travaux de (**Guedri et al., 2017**)

Par contre le traitement des rats stressés par la *Ginkgo biloba* diminue cette augmentation.

Le traitement répété de rats avec l'extrait standardisé bioactif le ginkgolide B, réduit spécifiquement la liaison du ligand et l'expression des protéines et de l'ARN messager du récepteur mitochondrial surrénal périphérique de benzodiazépines PBR, un élément clé dans la régulation du transport de cholestérol, entraînant une diminution des taux de corticostérone circulante (**Amir et al., 1997**). Il a été publié que le traitement à l'EGP a abaissé le cholestérol libre circulant et inhibé la production de la protéine précurseur bêta-amyloïde cérébrale et du peptide bêta-amyloïde dans la maladie d'Alzheimer (**Zhi-Xing et al., 2004**)

### 4.1. Bilan glucidique

Dans notre étude, une augmentation hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) de la glycémie chez les rats stressants comparativement aux témoins (T :  $1,098 \pm 0,0363$  vs S :  $1,264 \pm 0,068$ ). Ce qui est traduit par l'effet des glucocorticoïdes ont une action hyperglycémiant par stimulation de la néoglucogénèse et par une diminution de la consommation du glucose par les tissus périphériques. Le métabolisme du glucose est un facteur résultant de l'activation des systèmes de l'organisme après une situation stressante (**Hargreaves, 1990**). De nombreuses études ont montré une augmentation de la concentration du glucose aussi bien après la contention que la nage forcée chez les rats (**Rafter, 2001**). La corticostérone est un véritable initiateur et régulateur métabolique. Cette hormone stimule l'augmentation du glucose sanguin et qui permet donc de libérer de l'énergie à partir des réserves de l'organisme.

Par contre le traitement des rats stressés au *Ginkgo biloba* diminue cette augmentation, plusieurs études ont montré que la *Ginkgo biloba* réduit la glycémie et améliore l'intolérance au glucose (**Tanaka et al., 2004 ; Zhou, et al., 2011**). Outre, Le GbE a stimulé à la fois la fonction des cellules bêta pancréatiques et production d'insuline chez des sujets sains avec une tolérance au glucose alors qu'il réduisait significativement le taux d'hémoglobine des patients DT2 après une période de 3 mois de traitement (**Kudolo, 2000, Kudolo et al., 2006**). De plus notre plante est riche en Ginkgolide B et Bilobalide qui réduisent la progression d'endothéliale et dysfonctionnement vasculaire chez le rat diabétique par l'augmentant de l'activité du système antioxydants et l'augmentant de l'expression de CBS et CSE (**Wang et al., 2015**). Le bilobalide a abaissé le risque de développer un diabète type 2 par se protéger contre l'hypoxie induite par inflammation (**Priyanka et al., 2017**).

### 4.2. Bilan Hormonale

Dans notre étude nous avons enregistré une augmentation significative du niveau de L'ACTH cérébral ( $p \leq 0,001$ ) chez le rat stressé par rapport au groupe témoin (T :  $133,20 \pm 6,65$  vs Stressé  $599,20 \pm 61,85$ ) cette augmentation traduit par l'hyperactivation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et le déficit du rétrocontrôle négative exercé par les



glucocorticoïdes sur les cellules corticotropes de l'hypophyse antérieure. Par contre le traitement par le *Ginkgo biloba* a atténué significativement cette augmentation comparativement avec le groupe stressé ( $p \leq 0,001$ ). (Stressé :  $599,20 \pm 61,85$  vs S+G :  $209,40 \pm 73,73$ ).

Le traitement des rats stressés par la *Ginkgo b* a diminué de manière significative le niveau élevé de l'ACTH cérébral ceci est due à l'effet anti-stress de la plante. Il a été montré que l'administration chronique d'EGB 761 inhibe hypersécrétion de corticostérone induite par le stress grâce à une réduction du nombre de réceptions périphériques surréaliennes de benzodiazépines. Et la suppression de son gène (**Weizman et al., 1997, Amri et., 1997, Amri et al., 2003**). L'exposition chronique au stress ou aux corticostéroïdes peut altérer l'hippocampe inhibant le tonus en régulant les propriétés pharmacologiques de récepteurs GABA (**Orchinik et al., 2001**). Il existe des données suggérant que le composant de l'EGB 761 exercent des effets spécifiques sur les cellules corticosurrénales en inhibant l'expression de l'ARNm et des protéines de PBR, limitant ainsi la quantité de cholestérol mitochondrial disponible pour la synthèse des corticostéroïdes (**Amri et al., 2003**).

### 5. Effet du stress de contention et le *Ginkgo biloba* sur les paramètres hématologique

Plusieurs études ont montré que le stress émotionnel pourrait affecter la réponse immunitaire chez les animaux et les humains (**Nascimento et al., 2004 ; Leandro et al., 2006 ; Ribas et al., 2011**). Et induit des altérations dans les paramètres hématologiques.

Notre résultat, montrent une augmentation significative ( $P \leq 0,01$ ) des leucocytes totaux, des Lymphocytes et des Eosinophiles. La diminution des globules blancs pourrait être causée par leur redistribution dans les tissus périphériques comme la peau et les ganglions lymphatique où par la destruction des cellules souches et de l'immunosuppression exercée par les glucocorticoïdes et même par les catécholamines (Activité anti-inflammatoire et immunomodulatrice), en inhibant la prolifération des lymphocytes T, diminuent l'activité bactéricide des macrophages et suppriment l'activité cytotoxique des cellules tueuses naturelles (NK). Cependant, les glucocorticoïdes peuvent aussi exercer des propriétés immunostimulantes sur les lymphocytes B jouer un rôle tantôt Immunostimulant, tantôt immunosupresseur (**Steele, 2002**).

Effets de L'extrait de *Ginkgo biloba* sur la circulation sanguines tels que l'activité vasorégulatrice des artères, des capillaires des veines (augmentation du débit sanguin) et les effets rhéologiques (diminution de la viscosité antagoniste des récepteurs de facteur d'activation plaquettaires).

## 6. Effet du stress de contention et d'extrait du *Ginkgo biloba* sur le statut redox cérébral

Plusieurs études ont montré que le stress de contention induit un stress oxydatif dans le cerveau et une altération de ses fonctions (Buynitsky et Mostofsky, 2009; Kumar et al., 2012). Le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre les facteurs de stress oxydatifs et la capacité antioxydant. Les mammifères ont développé un système antioxydant constitué de composants non enzymatiques et enzymatiques, notamment la catalase, la SOD et le GSH (Storz et Imlay, 1999). Dans la présente étude, la capacité antioxydant des tissus cérébraux a été modérément réduite par un stress de contention répété, comme la montre une diminution significative ( $p \leq 0,01$ ) de la glutathion-s-transférase (GST) chez le lot stressé et une augmentation significative du taux de l'MDA. Ceci due l'augmentation des taux de glucocorticoïdes ont été associée à une inhibition de l'expression du gène Nrf2 conduisant à une réduction de l'expression et de l'activité des enzymes antioxydantes (Ki et al., 200). Les études récentes ont montré que l'administration exogène de glucocorticoïdes et l'application du stress de contention chronique ont également montré qu'ils ont induit une diminution des facteurs enzymatiques et non enzymatiques, notamment la SOD, le CAT, la glutathion transférase et le glutathion réduit dans les échantillons du cerveau du rat. De plus, la génération accrue de radicaux libres induite par les glucocorticoïdes a été considérablement atténuée par le traitement aux antioxydants exogènes (Manikandan, et al., 2006, McIntosh et al., 1998).

En outre, il a également été montré que les espèces réactives de l'oxygène (ROS) provoquent une stimulation de la production d'hormone adrénocorticotrophine (ACTH) par l'hypophyse, ce qui accroît l'activité de l'axe HPA via une réduction de la rétro-control négative, susceptible d'exacerber davantage le stress oxydatif induit par les glucocorticoïdes (Lacoste et al., 2001, Amber et al., 2018).

Intéressamment, le lot de traitement combine S+G a modulé significativement ( $P \leq 0,05$ ) cette diminution du GST et l'augmentation de l'MDA comparativement au lot stressé (stressé :  $0,178 \pm 0,019$  vs S+G :  $0,210 \pm 0,015$ ). L'extrait de *Ginkgo biloba*, dans notre étude ici, a inversé les niveaux accrus d'MDA, et la diminution des activités du GST dans le cerveau des rats exposés stress d'immobilisation, confirmant que le *Ginkgo biloba* en tant qu'agent potentiel dans la protection des neurones souffrant du stress oxydatif.

L'extrait de *Ginkgo biloba* (GbE) est un antioxydant naturel bien connu. Les métabolites secondaires isolés de l'extrait comprennent des terpénoïdes, des polyphénols, allylphénols, acides organiques, glucides, les acides gras, les lipides, les sels inorganiques et les acides aminés ; mais son activité pharmacologique est due aux flavonoïdes glycosides et trilactones terpéniques (Singh et al., 2013). Le flavonoïde les glycosides comprennent le kaempférol, la

quercétine, la myricétine, apigénine, isorhamnétine, lutéoline et tamarixétine. Les trilactones terpéniques sont les ginkgolides A, B, C, J, M, K, L, P et Q, et bilobalides (**Van Beek et Montoro, 2009 ; Liao et al., 2011**). Ces constituants traverser la barrière hémato-encéphalique et agir sur système nerveux central. EGb 761 est utilisé non seulement comme agent neuroprotecteur contre la perte de mémoire, diminution de la vitesse cognitive, démence d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, les accidents vasculaires cérébraux et le vieillissement (**Diamond et al., 2000 ; Gertz et Kieter 2004**), mais aussi comme hépato-protecteur, photo-protecteur, réparateur de l'ADN, anticancéreux, antioxydant, anti-inflammatoire et agent antiagrégant plaquettaire. (**Mohanta et al., 2014**) Son action biologique a été suggéré de piéger les radicaux libres et abaisser le stress oxydatif (**Chan et al., 2007 ; Mohatana et al., 2014**). Une étude récente sur l'importance phytochimique et médicinale de l'EGb 761 a été faite par **Mohanta et al (2014)** et avec une attention particulière référence à la démence d'Alzheimer et à la maladie de Parkinson maladie par **Tanaka et al. (2013)** respectivement. L'EGb 761 s'est également avéré protéger contre les effets de l'aluminium (**Gong et al., 2005**) cadmium (**de Souza et al., 2011**) organostannique (**Kaur et al., 2013**) et uranium (**Yapar et al., 2010**).

### 7. Effet du stress de contention sur le comportement

#### 7.1. Effet du stress de contention et du *Ginkgo biloba* sur les paramètres du teste de labyrinthe en croix surélève :

Le comportement exploratoire est l'un des préliminaires de l'apprentissage. Ce dernier peut être défini comme un processus d'acquisition de nouvelles connaissances ou de nouvelles compétences. Cette acquisition est à l'origine d'une nouvelle représentation de l'environnement et de changements comportementaux spécifiques et persistants (**Vann et Albasser, 2011**).

Les résultats des rats stressés montrent une augmentation significative ( $p \leq 0,001$ ) du temps passé dans les bras fermés ( $p \leq 0,001$ ) ainsi que le nombre d'entrée dans ces bras ( $p \leq 0,01$ ) comparativement aux témoins. Par contre, une diminution significative ( $p \leq 0,001$ ) du temps passé dans les bras ouverts ( $p \leq 0,001$ ) ainsi que le nombre d'entrée dans ces bras ( $p \leq 0,01$ ) comparativement aux témoins. Ces résultats montrent l'effet anxiogène du stress de contention. Cela est due à l'hyperactivation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA) qui conduit à l'augmentation plasmatique des glucocorticoïdes dans le cerveau qui conduisent à l'activation neuronale du système dopaminergique et cholinergique ce qui résulte une réduction dans la concentration de la sérotonine. Ainsi, l'hyperactivation de l'axe sympathique stimule le système immunitaire ce qui augmente les cytokines pro inflammatoires cérébrale qui a son tour réagissent sur ces récepteurs neuronaux et altèrent le métabolisme de tryptophane ce qui

induisent la diminution de la sérotonine. Différents travaux ont en effet montré que le stress chronique de contention induit une augmentation du niveau d'anxiété évalué au teste de labyrinthe en croix surélevé (place maze test) (Guedri et al., 2017 ; Huynh et al., 2011 ; Cliona et al., 2011 ; Shuichi et al., 2012 ; sansri et al, 2014). Le stress chronique de contention induit un comportement anxieux et chez les rongeurs (Huynh et al., 2011 ; Cliona et al., 2011 ; Shuichi et al., 2012) et une diminution du nombre d'entrée dans les bras ouverts indique une diminution de l'activité motrice générale (Brummelte et al., 2012), ce qui est en accord avec nos résultats. Cependant, d'autres études n'ont pas confirmé de tels changements suite au CRS (Gregus et al., 2005 ; Swiergiel et al., 2007).

Cependant, un traitement des rats stressés par le *Ginkgo biloba* a modulé le temps d'exploration dans les deux bras chez les rats stressés ce qui montre l'effet anxiolytique de la plante. Les effets de type anxiolytique de l'extrait de *Ginkgo biloba* (GBE) est due à la richesse de la plante en ginkgolide-A, il a été montré que l'administration quotidienne de ginkgolide-A (1 ou 2 mg/kg, po) a entraîné un effet anxiolytique chez les souris, l'effet maximal étant observé après la cinquième administration (Yoshihama et Maruyama., 2003), le EGP Régule la baisse d'absorption de la 5-HT, et de la domapine par un mécanisme peu clair (Deravi et al., 2022). Nos résultats sont en accord avec celle de (Kuribara et al.2003).

Il a été rapporté que l'EGb 761 améliore fonction émotionnelle et stabilise l'humeur chez les patients âgées souffrant de troubles cognitifs et soulageait les symptômes d'anxiété chez les personnes souffrant de détérioration mentale, y compris les symptômes anxieux (Woelk et al., 2007). Les structures chimiques et synergie de divers composants chimiques trouvés dans EGb 761 sont capable de produire des effets neuroprotecteurs, médiés par les effets antioxydants et la régulation de la neurotransmission, la signalisation neuroendocrinienne et les facteurs neurotrophiques (Montes et al., 2015), entraînant un soulagement des symptômes anxieux (Nordqvist, 2017).

### **7.2. Effet du stress de contention et du *Ginkgo biloba* sur les paramètres du teste des champs ouverts (Open Field test)**

L'analyse statistique des différentes variables mesurés dans ce test a révélé une différence significative entre les différents groupes. Nous avons noté une diminution significative dans les groupes stressés par rapport au groupes témoins en ce qui concerne la distance totale parcourue ( $p \leq 0,001$ ), temps passé au centre ( $p \leq 0,001$ ) et le nombre d'entré au centre ( $p \leq 0,01$ ) et le nombre de redressement ( $P \leq 0,05$ ). En effet, le stress de contention appliquées de manière aiguë ou répétées sont habituellement considérées comme très intense et engendre une augmentation de la concentration plasmatique de corticostérone (Bhatnagar et al., 2006; Marini et al., 2006; Barnum et al., 2007) et une augmentation des comportements indiquant un niveau d'anxiété

élevé au sein de l'open Field, (Regenthal et al., 2009) et donc une réduction du nombre de cases traversées dans l'open Field, indique une diminution de l'activité motrice caractéristique d'un niveau d'anxiété plus élevé chez ces animaux (Prut et Belzung, 2003). (Meerlo et al., 1996 ; Marini et al., 2006 ; Kin et al., 2008 ; Kalvez, 2010). (Carli et al., 1989 ; Kasar et al., 2009) ; (sansri et al., 2014) ; (Guedri et al., 2017).

Cependant, le traitement des rats stressés par le *Ginkgo biloba* a prévenu cette augmentation avec une différence significative ( $p \leq 0,001$ ) par rapport aux rats stressés. Des études antérieures ont rapporté que l'extrait de *G. Biloba* réduit les dommages neuronaux causés par l'intoxication au méthyl parathion et préserve l'organisation cellulaire de la couche granulaire du cervelet chez le rat (Cardenas et al., 2010). L'effet des flavonoïdes sur le cerveau et la fonction cellulaire comprend la neuroprotection, la réduction de la neuro-inflammation et l'amélioration de la mémoire, de l'apprentissage et de la fonction cognitive (Lu et al., 2007). De plus, les flavonoïdes contribuent à la perméabilité à la nutrition, à l'absorption d'oxygène et à la synthèse d'ATP (Mahadevan et Park, 2008). Les flavonoïdes de l'extrait de *G. Biloba* produisent une activité antioxydante et neutralisent l'oxygène libre et les radicaux hydroxyles augmentés lors des dommages cérébraux suivis de l'ischémie (Blecharz-Klin et al., 2009). Par contre, nous avons enregistré une augmentation significative du temps d'immobilité ( $p \leq 0,001$ ) et du temps passé au périphérique ( $p \leq 0,001$ ) comparativement aux témoins.

Intéressamment, aucune différence significative n'a été notée entre les rats traités par le *G. biloba* et les rats témoins.

Bien que le mécanisme par lequel les extraits de *Ginkgo biloba* exercent un effet protecteur contre les troubles moteurs n'ait pas été exploré, cela pourrait être dû à la teneur élevée en flavonoïdes, qui agissent comme des agents neuroprotecteurs (Christoph et al., 2015). Il a également été démontré que l'extrait de *G. biloba* est riche en flavonoïdes (Quercetin, kaempferol, and isorhamnetin) (Chan, et al., 2007)

### **7.3. Effet du stress de contention et du *Ginkgo biloba* sur les paramètres du teste de reconnaissance du nouvel objet (TRO) :**

Les modèles de stress chronique de contention sont les plus populaires pour l'étude des mécanismes de déficiences ou les perturbations cognitives (Chen et al., 2010 ; Yi et al., 2013). Les réponses physiologiques principales du stress chronique incluent l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (HPA) et le système sympathico-médullosurrénale, par lesquels les niveaux de corticostérone et des catécholamines pourraient être modifiés (Cohen et Hamrick, 2003 ; Yi et al., 2013). Ce qui en résulte une modification des fonctions cognitives incluant l'apprentissage et la mémoire spatiale (Yi et al., 2013). Les troubles :

apprentissage/mémoire spatiale sont à mettre en lien avec les altérations spécifiques de l'hippocampe dont dépendent largement ces tâches comportementales (Vann et Albasser., 2011).

Le test de reconnaissance de l'objet (ORT) est un test comportemental couramment utilisé pour l'étude des divers aspects de l'apprentissage et la mémoire chez les souris. L'ORT est assez simple et peut être complété sur une période de 3 jours : jour d'accoutumance, journée de formation et jour du test. Au cours de la formation, les rats est autorisée à explorer 2 objets identiques. Le jour du test, l'un des objets formation est remplacé par un nouvel objet. Parce que les rats ont une préférence innée pour la nouveauté, D'après nos résultats, Les rats stressés ont passé moins de temps à explorer le nouvel objet par rapport à l'objet familiale contrairement au groupe témoins indiquant que ces derniers ne se souvenaient pas l'objet familiale l'étude statistique confirme effectivement qu'il y a une différence significative ( $p \leq 0,01$ ). Donc le stress chronique de contention altère la mémoire de reconnaissance. Qui est dû à l'augmentation des glucocorticoïdes endogènes qui induisent une altération anatomique et fonctionnelle d'hippocampe ce qui induisent une atrophie. Cette atrophie hippocampique serait liée notamment aux effets neuronaux du stress, qui induit une augmentation de la libération de glutamate. L'hippocampe semble également être un site anatomique en corrélation avec la dépression (Zhang et al., 2007 ; Nasuti et al., 2013).

Par contre le traitement des rats stressés par *G. biloba* améliore la mémoire des rats pour l'objet familiale donc ils ont passé beaucoup de temps a exploré le nouvel objet. L'EGb a montré une efficacité positive dans le traitement des déficiences et de la démence liée à l'âge, de l'insuffisance cérébrale (Søholm 1998). Conformément à l'efficacité clinique, l'EGb a montré une efficacité dans des modèles animaux établis sur la libération des troubles de l'apprentissage et de la mémoire. Il existe des preuves claires montrant que l'EGb peut améliorer le déficit d'apprentissage et de mémoire induit à la fois par le vieillissement (Wang et al., 2006) et divers stimuli, tels que le stress chronique (Walesiuk et al., 2006 ; 2005), l'ischémie (Paganelli et al., 2006), l'amyloïde (Tang et al., 2002), la scopolamine (Naik et al., 2006), et aluminium (Gong et al., 2005) chez les rats mâles.

#### **7.4. Effet du stress de contention et du *Ginkgo biloba* sur les paramètres du teste de la nage forcée (FST) :**

Le FST, ou le test de l'efficacité des antidépresseurs représente une situation aversive et stressante où le rat ne peut pas s'échapper et produit l'immobilité, comportement de désespoir (Porsolt et al., 1977 ; Kirby et Lucki, 1997). Chez les animaux, l'immobilité est interprétée comme un manque de volonté à survivre et considérée comme un signe de dépression chez la

souris et le rat (**Porsolt et al., 1977 ; Petit-Demouliere et al., 2005**)

D'après nos résultats, l'application du stress de contention induit une augmentation significative ( $p \leq 0,001$ ) du temps d'immobilité et une diminution significative du temps d'immobilité et le temps d'escalade comparativement au témoin. Ceci montre l'effet dépressogène du stress de contention. Des études récentes ont montré que l'Exposition prolongé au stress pourrait augmenter la mort neuronale et astrocytaire et entraînant une atrophie hippocampique et une diminution en glutamate et en glutamine, qui à leur tour altèrent l'activité neuronale et contribuent donc à la dépression (**Seewoo et al., 2020 ; Hwang et al., 2020**).

Ainsi, le traitement du groupe stressé par le *Ginkgo biloba* a diminué remarquablement l'augmentation du temps d'immobilité ( $p \leq 0,001$ ) par rapport le groupe stressé et augmentant significativement le temps d'escalade et de la nage. Ceci reflète l'effet anti-dépresseur de la plante

L'effet protecteurs de EGP 761 n'est pas lié aux effets excitateurs ou inhibiteurs de l'activité locomotrice et a également été associé à la modulation de la neurotransmission sérotoninergique et dopaminergique (**Rojas et al, 2011**). De plus, *G. biloba* est riche en Diterpène ginkgolides (DGs) qui joue un rôle dans la réduction des symptômes dépressifs et exerçant un effet neuroprotecteur sur le cortex préfrontal par changement de différentiel métabolites principalement impliqués dans les acides aminés, énergie et la métabolisme des lipides (**Hu et al., 2018**).

# Conclusion Et Perspective



### Conclusion et perspective

Nous pouvons conclure que l'exposition répétée des rats femelles Wistar pendant 21 jours consécutifs au stress chronique de contention à raison de 3h/j induit des réponses anxio-dépressives associées à des altérations de l'activité exploratrice et mémorative. Ces perturbations neuro-comportementales sont associées, d'une part, au développement d'un stress oxydatif cérébral, et d'autre part, à la perturbation des paramètres biochimiques (glycémie, cholestérol et ACTH).

Par ailleurs, Le traitement des rats stressés par l'extrait méthanolique des feuilles de la *Ginkgo biloba* à alléger le comportement anxio-dépressif, la déficience de la mémoire spatial, l'hypoactivité, le désordre oxydatif cérébral et la variation des paramètres biochimiques.

A partir de ces résultats, il serait intéressant de dégager les perspectives suivantes :

- Investiguer les performances mémoratives dans le test aquatique de Morris
- Une analyse par screening phytochimique de la plante pour identifier qualitativement et quantitativement les grandes familles de métabolites
- Une étude histologique pour permettra la recherche d'éventuelles lésions tissulaires pathologiques
- Dosage de l'interleukine et les cytokines pro inflammatoires : IL1b et IL6 et IL10
- Prolonger la durée du stress de contention.

# Références bibliographiques

## Références et Bibliographiques

**Ahola, K., Honkonen, T., Kivimäki, M., Virtanen, M., Isometsä, E., Aromaa, A., & Lönnqvist, J. (2006).** Contribution of burnout to the association between job strain and depression: the health2000 study. *Journal of occupational and environmental medicine*, 1023-1030.

**Åkerstedt, T. (2006).** Psychosocial stress and impaired sleep. *Scandinavian journal of work, environment & health*, 493-501.

**Amri, H., Drieu, K., & Papadopoulos, V. (1997).** Ex vivo regulation of adrenal cortical cell steroid and protein synthesis, in response to adrenocorticotrophic hormone stimulation, by the Ginkgo biloba extract EGb 761 and isolated ginkgolide B. *Endocrinology*, 138(12), 5415-5426.

**Amri, H., Drieu, K., & Papadopoulos, V. (2003).** Transcriptional suppression of the adrenal cortical peripheral-type benzodiazepine receptor gene and inhibition of steroid synthesis by ginkgolide B. *Biochemical pharmacology*, 65(5), 717-729.

**Andrews, G., Sanderson, K., Slade, T., & Issakidis, C. (2000).** Why does the burden of disease persist? Relating the burden of anxiety and depression to effectiveness of treatment. *Bulletin of the World Health Organization*, 78, 446-454.

**Armon, G., Shirom, A., Shapira, I., & Melamed, S. (2008).** On the nature of burnout–insomnia relationships: A prospective study of employed adults. *Journal of psychosomatic research*, 65(1), 5-12.

**Arnaud Lacoste, Fabienne Jalabert, Shelagh K Malham, Anne Cueff, Serge A Poulet. (2001),** Le stress et les changements neuroendocriniens induits par le stress augmentent la sensibilité des huîtres juvéniles (*Crassostrea gigas*) au *Vibrio splendideus* *Microbiologie appliquée et environnementale* 67 (5), 2304-2309.

**Arnaud Lacoste, Shelagh K Malham, Anne Cueff, Serge A Poulet. (2001),** Modifications des catécholamines induites par le stress dans l'hémolymphe de l'huître *Crassostrea gigas* *Endocrinologie générale et comparée* 122 (2), 181-188,

**Ballatori, N., Krance, S. M., Notenboom, S., Shi, S., Tieu, K., & Hammond, C. L. (2009).** Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases.

**Ballatori, N., Li, N., Fang, F., Boyer, J. L., Christian, W. V., & Hammond, C. L. (2009).**

OST alpha-OST beta: a key membrane transporter of bile acids and conjugated steroids. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*, 14, 2829.

**Banin, R. M., de Andrade, I. S., Cerutti, S. M., Oyama, L. M., Telles, M. M., & Ribeiro, E. B. (2017).** Ginkgo biloba Extract (GbE) stimulates the hypothalamic serotonergic system and attenuates obesity in ovariectomized rats. *Frontiers in Pharmacology*, 605.

**Bardin, L., Malfetes, N., Newman-Tancredi, A., & Depoortere, R. (2009).** Chronic restraint stress induces mechanical and cold allodynia, and enhances inflammatory pain in rat: Relevance to human stress-associated painful pathologies. *Behavioural brain research*, 205(2), 360-366.

**Barnum, C. J., Blandino Jr, P., & Deak, T. (2007).** Adaptation in the corticosterone and hyperthermic responses to stress following repeated stressor exposure. *Journal of neuroendocrinology*, 19(8), 632-642.

**Bhatnagar J, Shinyama H, Morton N, Mullins J, Seckl J, Flier J.(2006),** A transgenic model of visceral obesity and the metabolic syndrome. *Science.*; 294: pp.2166-70

**Bonde, J, P,E. (2008).** Psychosocial factors at work and risk of depression: a systematic review of the epidemiological evidence. *Occupational and environmental medicine*, 65(7), 438-445.

**Boudarene M., Timsit-Berthier M., & Legros J.J. (1997).** Qu'est-ce que le stress ? *Rev. Med.Liège*, vol. 52, n° 8 : 541-549

**Bougandoura, N & Bendimerad, N. (2012).** Effet antifongiques des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp (*Nepeta*) briq. *Revue des Bio Ressources*, 2(1), 1-7.

**Bouras, M (2015).** Etude comparative et optimisation de prétraitements des écorces de bois pour l'extraction des composés phénoliques. (Thèse de Doctorat, Université de Technologie de Compiègne). 264p.

**Bowers, G., Cullinan, W. E., & Herman, J. P. (1998).** Region-specific regulation of glutamic acid decarboxylase (GAD) mRNA expression in central stress circuits. *Journal of Neuroscience*, 18(15), 5938-5947.

**Bradford, M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye intetaction. *Anal biochem*, 72, 248-254.

**Brummelte, S., Lieblich, S. E., & Galea, L. A. (2012).** Gestational and postpartum corticosterone exposure to the dam affects behavioral and endocrine outcome of the offspring

in a sexually- dimorphic manner. *Neuropharmacology*, 62(1), 406-418.

**Bruna K. S. Hirata 1, Maysa M. Cruz 1, Roberta D. C. C. de Sá 1, Talita S. M. Farias 1, Meira M. F. Machado 1, Allain A. Bueno 2, Maria Isabel C. Alonso-Vale 1 et Monica M. Telles. (2019).** Potential Anti-obesogenic Effects of Ginkgo biloba Observed in Epididymal White Adipose Tissue of Obese Rats *Frontiers in endocrinology*.10:284

**Bruneton, J. (1993).** *Pharmacognosie : phytochimie plantes médicinales* (No. 581.634 B7).

**Budki, P., Rani, S., & Kumar, V. (2012).** Persistence of circannual rhythms under constant periodic and aperiodic light conditions: sex differences and relationship with the external environment. *Journal of Experimental Biology*, 215(21), 3774-3785.

**Buynitsky, T. & Mostofsky, D. I. (2009).** Restraint stress in biobehavioral research: recent developments. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 33(7), 1089-1098.

**Cadet, E. (2017).** Etude phytochimique et emplois de plantes veinotoniques. Thèse de Doctorat, Université de Lorraine. p99.

**Calvez, J. (2010).** *Stress et prise alimentaire-Application à l'étude de l'effet anti-stress d'un extrait de levure chez le rat* (Doctoral dissertation, Agro Paris Tech).

**Carli, M., Prontera, C., & Samanin, R. (1989).** Effect of 5-HT<sub>1A</sub> agonists on stress-induced deficit in open field locomotor activity of rats: evidence that this model identifies anxiolytic-like activity. *Neuropharmacology*, 28(5), 471-476.

**Carrasco, G.A., Van de Kar. (2003).** Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharmacol*, 463, 235-272.

**Carrico, A.W., & Antoni, M.H. (2008).** The effects of psychological interventions on neuroendocrine hormone regulation and immune status in HIV-positive persons: A review of randomized controlled trials. *Psychosomatic medicine*, 70(5), 575.

**Chan, P. C., Xia, Q., & Fu, PP. (2007).** Ginkgo biloba leave extract: biological, medicinal, and toxicological effects. *Journal of environmental science and health part C*, 25(3), 211-244.

**Chan, P. C., Xia, Q., & Fu, P. P. (2007).** Ginkgo biloba leave extract: biological, medicinal, and toxicological effects. *Journal of environmental science and health part C*, 25(3), 211-244.

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

**Chandola T, Brunner E, & Marmot M. (2006).** Chronic stress at work and the metabolic syndrome: prospective study. *BMJ.*; 521-525. Epub

**Charmandari, E., Tsigos, C., & Chrousos, G (2005).** Endocrinology of the stress response. *Annu. Rev. Physiol.*, 67, 259-284.

**Chen, Y., Mao, Y., Zhou, D., Hu, X., Wang, J., & Ma, Y. (2010).** Environmental enrichment and chronic restraint stress in ICR mice: effects on prepulse inhibition of startle and Y-maze spatial recognition memory. *Behavioural brain research*, 212(1), 49-55.

**Chiba, S., Numakawa, T., Ninomiya, M., Richards, M. C., Wakabayashi, C., & Kunugi, H. (2012).** Chronic restraint stress causes anxiety-and depression-like behaviors, downregulates glucocorticoid receptor expression, and attenuates glutamate release induced by brain-derived neurotrophic factor in the prefrontal cortex. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 39(1), 112-119.

**Chida, Y., Hamer, M., Wardle, J., & Steptoe, A. (2008).** Do stress-related psychosocial factors contribute to cancer incidence and survival? *Nature clinical practice Oncology*, 5(8), 466-475.

**Christaki, E., Kokkinos, A., Costarelli, V., Alexopoulos, E. C., Chrousos, G. P., & Darviri, C. (2013).** Stress management can facilitate weight loss in Greek overweight and obese women: a pilot study. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 26, 132-139

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

**Christoph, H. Julia, L. Helene, & Jochen, K (2015).** Effects of ginkgo biloba extract EGb 761, donepezil and their combination on central cholinergic function in aged rats, *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 18,

**Chrousos and Gold, (1992) George P Chrousos, Philip W Gold Jama** Les concepts de stress et de troubles du système de stress : aperçu de l'homéostasie physique et comportementale 267 (9), 1244-1252,

**Chrousos, G. P. (2009).** Stress and disorders of the stress system. *Nature reviews endocrinology*, 5(7), 374-381.

**Chrousos, G. P., & Gold, P. W. (1992).** The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis. *Jama*, 267(9), 1244-1252.

**Chrousos, G. P., Torpy, D. J., & Gold, P. W. (1998).** Interactions between the

hypothalamic- pituitary-adrenal axis and the female reproductive system: clinical implications. *Annals of internal medicine*, 129(3), 229-240.

**Cliona, M. et al., (2011).** Strain differences in the neurochemical response to chronic restraint stress in the rat: relevance to depression. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 97, 690-699.

**Cullinan, W. E. (2000).** GABAA receptor subunit expression within hypophysiotropic CRH neurons: a dual hybridization histochemical study. *Journal of Comparative Neurology*, 419(3), 344-351.

**CURTISPRIOR, P. E. T. E. R., Vere, D., & Fray, P. (1999).** Therapeutic value of Ginkgo biloba in reducing symptoms of decline in mental function. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 51(5), 535-541.

**Dayas, C. V., Buller, K. M., Crane, J. W., Xu, Y., & Day, T. A. (2001).** Stressor categorization: acute physical and psychological stressors elicit distinctive recruitment patterns in the amygdala and in medullary noradrenergic cell groups. *European Journal of Neuroscience*, 14(7), 1143-1152.

**De Kloet, E. R., Joëls, M., & Holsboer, F. (2005).** Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nature reviews neuroscience*, 6(6), 463-475.

**De Souza Predes, F, Monteiro, J,C, Matta, S. L. P., Garcia, M. C., & Dolder, H. (2011).** Testicular histomorphometry and ultrastructure of rats treated with cadmium and Ginkgo biloba. *Biological trace element research*, 140, 330-341.

**Deravi N, Rahmannia M, Ghapanchian LJ, Baymani Nejad S Etedali A, Rajabalipour S, Bagheri kelayeh S, Pourmontaseri H. (2022).** Ginko Biloba Leaves Extract for the Treatment of Anxiety, Stress, and Depression *ASEAN Journal of Psychiatry*, 23(4): 1-7

**Diamond, B. J., Shiflett, S. C., Feiwel, N., Matheis, R. J., Noskin, O., Richards, J. A., & Schoenberger, N. E. (2000).** Ginkgo biloba extract: mechanisms and clinical indications. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, 81(5), 668-678.

**Dunn, A. J., & Swiergiel, A. H. (2008).** The role of corticotropin-releasing factor and noradrenaline in stress-related responses, and the inter-relationships between the two systems. *European journal of pharmacology*, 583(2-3), 186-193.

**Eric Souêtre, Edouard Salvati, Jean-Luc Belugou, Dominique Pringuey, Mirande Candito, Bernard Krebs, Jean-Louis Ardisson, Guy Darcourt ,(1989),** Rythmes circadiens dans la dépression et la récupération : preuves d'une amplitude émoussée comme

principale anomalie chronobiologique Recherche en psychiatrie 28 (3), 263-278,

**Fraser E, Phifer C, Berthoud H., (2005).** Brain stem melanocortinergeric modulation of meal size and identification of hypothalamic POMC projections. *American journal of physiology*, 289: R247-58.

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

**Gertz HJ, Kieter M. (2004)** Review about Ginkgo biloba special extract EGB 761 (Ginkgo). *CurrPharma Des.*;10(3):261–4

**Godin, I., Kittel, F., Coppieters, Y., & Siegrist, J. (2005).** A prospective study of cumulative jobstress in relation to mental health. *BMC public health*, 5(1), 1-10.

**Gong, Q. H., Wu, Q., Huang, X. N., Sun, A. S., & Shi, J. S. (2005).** Protective effects of Ginkgo biloba leaf extract on aluminum-induced brain dysfunction in rats. *Life sciences*, 77(2), 140-148.

**Gregus, A., Wintink, A. J., Davis, A. C., & Kalynchuk, L. E. (2005).** Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. *Behavioural brain research*, 156(1), 105-114.

**Grussenmeyer, V. (2019).** Phytothérapie en clinique vétérinaire canine : quelques clés pour commencer (Doctoral dissertation).

**Gudmundsson, A., & Carnes, M. (1997).** Pulsatile adrenocorticotrophic hormone: an overview. *Biological Psychiatry*, 41(3), 342-365.

**Guedri, K., Frih, H., Chettoum, A., & Rouabhi, R. (2017).** Chronic restraint stress induced neurobehavioral alterations and histological changes in rat. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 9, 123-129.

**Habib, K. E., Gold, P. W., & Chrousos, G. P. (2001).** Neuroendocrinology of stress. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 30(3), 695-728.

**Habig, W. H., Pabst, M. J., Fleischner, G., Gatmaitan, Z., Arias, I. M., & Jakoby, W. B. (1974).** The identity of glutathione S-transferase B with ligandin, a major binding protein of liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 71(10), 3879-3882.

**Hall, C. S. (1934).** Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative psychology*, 18(3), 385.



- Hammen, C. (2005).** Stress and depression. *Annu. Rev. Clin. Psychol.*, 1, 293-319.
- Hans Selye (1907–1982):** Founder of the stress theory. *Singapore medical journal*, 59(4), 170.
- Hargreaves, A. L., & Hutson, G. D. (1990).** An evaluation of the contribution of isolation, up- ending and wool removal to the stress response to shearing. *Applied animal behaviour science*, 26(1-2), 103-113.
- Head, J., Stansfeld, S. A., & Siegrist, J. (2004).** The psychosocial work environment and alcohol dependence: a prospective study. *Occupational and environmental medicine*, 61(3), 219-224.
- Herman, J. P., Adams, D., & Prewitt, C. (1995).** Regulatory changes in neuroendocrine stress-integrative circuitry produced by a variable stress paradigm. *Neuroendocrinology*, 61(2), 180-190.
- Herman, J. P., Figueiredo, H., Mueller, N. K., Ulrich-Lai, Y., Ostrander, M. M., Choi, D. C., & Cullinan, W. E. (2003).** Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo–pituitary–adrenocortical responsiveness. *Frontiers in neuroendocrinology*, 24(3), 151-180.
- Hirata, B. K. S., Banin, R. M., Dornellas, A. P. S., de Andrade, I. S., Zemdegs, J. C. S., Caperuto, L. C., ... & Telles, M. M. (2015).** Ginkgo biloba extract improves insulin signaling and attenuates inflammation in retroperitoneal adipose tissue depot of obese rats. *Mediators of Inflammation*, 2015.
- Hirata, B. K. S., Banin, R. M., Dornellas, A. P. S., de Andrade, I. S., Zemdegs, J. C. S., Caperuto, L. C., ... & Telles, M. M. (2015).** Ginkgo biloba extract improves insulin signaling and attenuates inflammation in retroperitoneal adipose tissue depot of obese rats. *Mediators of Inflammation*, 2015.
- Hu, Q., Shen, P., Bai, S., Dong, M., Liang, Z., Chen, Z & Xie, P. (2018).** Metabolite-related antidepressant action of diterpene ginkgolides in the prefrontal cortex. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 999-1011.
- Huynh, T. N., Krigbaum, A. M., Hanna, J. J., & Conrad, C. D. (2011).** Sex differences and phase of light cycle modify chronic stress effects on anxiety and depressive-like behavior. *Behavioural brain research*, 222(1), 212-222.
- Hwang, D. J., Kwon, K. C., Hwang, D. Y., Seo, M. S., Kim, K. S., Jung, Y. S., & Cho, J. Y. (2020).** Comparative analysis of restraint stress-induced depressive-like phenotypes in

C57BL/6N mice derived from three different sources. *Laboratory Animal Research*, 36(1), 1-9.

**Itoi, K. (2008).** Ablation of the central noradrenergic neurons for unraveling their roles in stress and anxiety. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1129(1), 47-54.

**Itoi, K., & Sugimoto, N. (2010).** The brainstem noradrenergic systems in stress, anxiety and depression. *Journal of neuroendocrinology*, 22(5), 355-361.

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

**Juan Carlos Brenes Sáenz, Odir Rodríguez Villagra, Jaime Fornaguera Trías (2006)** Analyse factorielle du test de nage forcée, du test de préférence au saccharose et du test en plein champ sur des rats élevés en milieu enrichi, social et isolé Recherche sur le cerveau comportemental 169 (1), 57-65.

**Kamilla Blecharz-Klin, Agnieszka Piechal, Iona Joniec, Justyna Pyrzanowska, Ewa Widy-Tyszkiewicz (2009)** Effets pharmacologiques et biochimiques de l'extrait de Ginkgo biloba sur l'apprentissage, la consolidation de la mémoire et l'activité motrice chez les rats âgés *Acta Neurobiol Exp (Guerres)* 69 (2), 217-231,

**Kanowski, S., Herrmann, W. M., Stephan, K., Wierich, W., & Hörr, R. (1996).** Proof of efficacy of the ginkgo biloba special extract EGb 761 in outpatients suffering from mild to moderate primary degenerative dementia of the Alzheimer type or multi-infarct dementia. *Pharmacopsychiatry*, 29(02), 47-56.

**Kaur, S., Chhabra, R., & Nehru, B. (2013).** Ginkgo biloba extract attenuates hippocampal neuronal loss and cognitive dysfunction resulting from trimethyltin in mice. *Phytomedicine*, 20(2), 178-186.

**Keller, J., Flores, B., Gomez, R. G., Solvason, H. B., Kenna, H., Williams, G. H., & Schatzberg, A.F. (2006).** Cortisol circadian rhythm alterations in psychotic major depression. *Biological psychiatry*, 60(3), 275-281.

**Kemeny, M.E., & Schedlowski, M. (2007).** Understanding the interaction between psychosocial stress and immune-related diseases: a stepwise progression. *Brain, behavior, and immunity*, 21(8), 1009-1018.

**Kiecolt-Glaser, J.K., & Glaser, R. (1999).** Psychoneuroimmunology and cancer: fact or fiction? *European Journal of Cancer*, 35(11), 1603-1607.

- Kirby, L.G., Chou-Green, J. M., Davis, K., & Lucki, I. (1997).** The effects of different stressors on extracellular 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid. *Brain research*, 760(1-2), 218-230.
- Kiss, A., & Aguilera, G. (2000).** Role of alpha-1-adrenergic receptors in the regulation of corticotropin-releasing hormone mRNA in the paraventricular nucleus of the hypothalamus during stress. *Cellular and molecular neurobiology*, 20, 683-694.
- Kleftaras, G. (2004).** La dépression : Approche cognitive et comportementale. *La dépression*, 1-255.
- Klerman, G., & Weissman, M.M. (1988).** The changing epidemiology of depression. *Clinical chemistry*, 34(5), 807-812.
- Kudolo, G. B. (2000).** The effect of 3month ingestion of Ginkgo biloba extract on pancreatic  $\beta$  cell function in response to glucose loading in normal glucose tolerant individuals. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 40(6), 647-654.
- Kudolo, G.B., Wang, W., Javors, M., & Blodgett, J. (2006).** The effect of the ingestion of Ginkgo biloba extract (EGb 761) on the pharmacokinetics of metformin in non-diabetic and type 2 diabetic subjects—a double blind placebo-controlled, crossover study. *Clinical Nutrition*, 25(4), 606-616.
- Kuribara, H., Weintraub, S. T., Yoshihama, T., & Maruyama, Y. (2003).** An anxiolytic-like effect of Ginkgo biloba extract and its constituent, ginkgolide-A, in mice. *Journal of natural products*, 66(10), 1333-1337.
- Kyrou, I., & Tsigos, C. (2009).** Stress hormones: physiological stress and regulation of metabolism. *Current opinion in pharmacology*, 9(6), 787-793.
- Lakshmi, M Sudhakar J ,(2009).** Activité adaptogène de *Lagenaria siceraria* : une étude expérimentale utilisant des modèles de stress aigu chez le rat BVS *Pharmacol Toxicol* 4, 300-306.
- Larrère, R. (2007).** Justifications éthiques des préoccupations concernant le bien-être animal. *INRAE Productions Animales*, 20(1), 11-16.
- Liao, H. J., Zheng, Y. F., Li, H. Y., & Peng, G. P. (2011).** Two new ginkgolides from the leaves of Ginkgo biloba. *Planta medica*, 77(16), 1818-1821.
- Lightman, S. L., Wiles, C. C., Atkinson, H. C., Henley, D. E., Russell, G. M., Leendertz, J. A., & Conway-Campbell, B. L. (2008).** The significance of glucocorticoid pulsatility.

*European journal of pharmacology*, 583(2-3), 255-262.

**Liu, Y., Zhuang, X., Gou, L., Ling, X., Tian, X., Liu, L & Yin, X. (2013).** Protective effects of nifedipine administration on the cognitive impairments induced by chronic restraint stress in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 103(3), 474-480.

**Ljudmila Stojanovich, Dragomir Marisavljević .(2008).** Le stress comme déclencheur de maladies auto-immunes *Revue d'auto-immunité* 7 (3), 209-213,

**Lynn G Kirby, Irwin Lucki .(1997).** Interaction entre le test de la nage forcée et le traitement à la fluoxétine sur la 5-hydroxytryptamine extracellulaire et l'acide 5-hydroxyindoleacétique chez le rat *Journal de pharmacologie et thérapeutique expérimentale* 282 (2), 967-976

**M Kasar, M Mengi, EA Yildirim, E Yurdakos .(2009).** Différents effets du prétraitement à la tianeptine chez des rats exposés à un stress aigu et à un stress sévère répété., *Méthodes et découvertes en pharmacologie expérimentale et clinique* 31 (3), 157,

**Magarinos AM. McEwen BS. (1995).** Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 neurons: comparison of stressors. *Neuroscience*; 69, pp.83-88.

**Magariños, A. M., Verdugo, J. M. G., & McEwen, B. S. (1997).** Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(25), 14002-14008.

**Makino, S., Smith, M. A., & Gold, P. W. (1995).** Increased expression of corticotropin-releasing hormone and vasopressin messenger ribonucleic acid (mRNA) in the hypothalamic paraventricular nucleus during repeated stress: association with reduction in glucocorticoid receptor mRNA levels. *Endocrinology*, 136(8), 3299-3309.

**Marc J. Millan, (2003).** *Neurobiologie* et le contrôle des états anxieux, *Progress en neurobiologie* 70 (2), 83-244.

**Marcilhac, A., Dakine, N., Bourhim, N., Guillaume, V., Grino, M., Drieu, K., & Oliver, C. (1998).** Effect of chronic administration of Ginkgo biloba extract or Ginkgolide on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat. *Life Sciences*, 62(25), 2329-2340.

**Melchior, M., Caspi, A., Milne, B. J., Danese, A., Poulton, R., & Moffitt, T. E. (2007).** Work stress precipitates depression and anxiety in young, working women and men. *Psychological medicine*, 37(8), 1119-1129.

**Miller, G., Chen, E., & Cole, S. W. (2009).** Health psychology: Developing biologically

plausible models linking the social world and physical health. *Annual review of psychology*, 60, 501-524.

**Mingeon, C. (2014).** La place de la phytothérapie dans la prise en charge de l'insuffisance veineuse : étude de six plantes médicinales. (Thèse de Doctorat, Université Joseph Fourier). 99p

**Mingeon, C. (2014).** La place de la phytothérapie dans la prise en charge de l'insuffisance veineuse : étude de six plantes médicinales. (Thèse de Doctorat, Université Joseph Fourier). 99p

**Mizoguchi, K., Yuzurihara, M., Ishige, A., Sasaki, H., Chui, D. H., & Tabira, T. (2000).** Chronic stress induces impairment of spatial working memory because of prefrontal dopaminergic dysfunction. *Journal of Neuroscience*, 20(4), 1568-1574.

**Mohanta, T. K., Tamboli, Y., & Zubaidha, P. K. (2014).** Phytochemical and medicinal importance of Ginkgo biloba L. *Natural product research*, 28(10), 746-752.

**Monica M. Telles. (2019).** Potential Anti-obesogenic Effects of Ginkgo biloba Observed in Epididymal White Adipose Tissue of Obese Rats *Frontiers in endocrinology*.10:284

**Montes, P., Ruiz-Sanchez, E., Rojas, C., & Rojas, P. (2015).** Ginkgo biloba extract 761: a review of basic studies and potential clinical use in psychiatric disorders. *CNS & Neurological Disorders- Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, 14(1), 132-149.

**Moore, C. J., & Cunningham, S. A. (2012).** Social position, psychological stress, and obesity: a systematic review. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 112(4), 518-526

**Mormède, P., Andanson, S., Aupérin, B., Beerda, B., Guémené, D., Malmkvist, J., ... & Veissier, I. (2007).** Exploration of the hypothalamic–pituitary–adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiology & behavior*, 92(3), 317-339.

**MP Viveros, Eva M Marco, Sandra E File ,2005,** Système endocannabinoïde et réponses au stress et à l'anxiété, *Pharmacologie Biochimie et Comportement* 81 (2), 331-342

**Naik, S. R., Pilgaonkar, V. W., & Panda, V. S. (2006).** Neuropharmacological evaluation of Ginkgo biloba phytosomes in rodents. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(10), 901- 905.

**Nash, K. M., & Shah, Z. A. (2015).** Current perspectives on the beneficial role of Ginkgo biloba in neurological and cerebrovascular disorders. *Integrative medicine insights*, 10, IMI-S25054.

**Nash, Kevin M, & Zahoor A. Shah. (2015).** Current Perspectives on the Beneficial Role of Ginkgo biloba in Neurological and Cerebrovascular Disorders. *Integrative Medicine Insights*, vol.10, p. 1-9

**Nasuti, C., Carloni, M., Fedeli, D., Gabbianelli, R., Di Stefano, A., Serafina, C.L & Ciccocioppo, R. (2013).** Effects of early life permethrin exposure on spatial working memory and on monoamine levels in different brain areas of pre-senescent rats. *Toxicology*, 303, 162-168.

**Nazzareno Ballatori, Suzanne M Krance, Sylvia Notenboom, Shujie Shi, Kim Tieu, Christine L. 2009** Dysrégulation du glutathion et étiologie et progression des maladies humaines *Walter de Gruyter* 390 (3), 191-214,

**Netterstrøm, B., Conrad, N., Bech, P., Fink, P., Olsen, O., Rugulies, R., & Stansfeld, S. (2008).** The relation between work-related psychosocial factors and the development of depression. *Epidemiologic reviews*, 30(1), 118-132.

**Nordqvist, J. (2017).** Health benefits of Ginkgo biloba. *Medical news and health news*, 2017, 1- 10.

**Orchinik, M., Carroll, S. S., Li, Y. H., McEwen, B. S., & Weiland, N. G. (2001).** Heterogeneity of hippocampal GABAA receptors: regulation by corticosterone. *Journal of Neuroscience*, 21(1),330-339.

**Pacak, K., & Palkovits, M. (2001).** Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocrine reviews*, 22(4), 502-548.

**Pacak, K., & Palkovits, M. (2001).** Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocrine reviews*, 22(4), 502-548.

**Paganelli, R. A., Benetoli, A., & Milani, H. (2006).** Sustained neuroprotection and facilitation of behavioral recovery by the Ginkgo biloba extract, EGb 761, after transient forebrain ischemia in rats. *Behavioural brain research*, 174(1), 70-77.

**Pasteur, L. (2013).** La maladie d'Alzheimer : intérêt des molécules d'origine naturelle. (Thèse de doctorat en sciences pharmaceutiques, Université de Toulouse 3 Paul Sabatier faculté des sciences pharmaceutiques).113p

**Patin, B. (2005).** Le jeu de rôles : pratique de formation pour un public d'adultes. *Les cahiers internationaux de psychologie sociale*, (3), 163-178.

**Patin, V., Lordi, B., Vincent, A., & Caston, J. (2005).** Effects of prenatal stress on anxiety and social interactions in adult rats. *Developmental Brain Research*, 160(2), 265-274.

**Porsolt, R. D., Bertin, A., Blavet, N., Deniel, M., & Jalfre, M. (1979).** Immobility induced by forced swimming in rats: effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. *European journal of pharmacology*, 57(2-3), 201-210.

**Porsolt, R. D., Bertin, A., Blavet, N., Deniel, M., & Jalfre, M. (1979).** Immobility induced by forced swimming in rats: effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. *European journal of pharmacology*, 57(2-3), 201-210.

**Porsolt, R. D., Le Pichon, M., & Jalfre, M. L. (1977).** Depression: a new animal model sensitiveto antidepressant treatments. *Nature*, 266(5604), 730-732.

**Priyanka, A., Sindhu, G., Shyni, G. L., Rani, M. P., Nisha, V. M., & Raghu, K. G. (2017).** Bilobalide abates inflammation, insulin resistance and secretion of angiogenic factors induced by hypoxia in 3T3-L1 adipocytes by controlling NF- $\kappa$ B and JNK activation. *International immunopharmacology*, 42, 209-217.

**Prut, L., & Belzung, C. (2003).** The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European journal of pharmacology*, 463(1-3), 3-33.

**Radley, J. J., Rocher, A. B., Rodriguez, A., Ehlenberger, D. B., Dammann, M., McEwen, B. S., ... & Hof, P. R. (2008).** Repeated stress alters dendritic spine morphology in the rat medial prefrontal cortex. *Journal of Comparative Neurology*, 507(1), 1141-1150.

**Ramassamy, C., Girbe, F., Christen, Y., & Costentin, J. (1993).** Ginkgo biloba extract EGb 761 or trolox C prevent the ascorbic acid/Fe<sup>2+</sup> induced decrease in synaptosomal membrane fluidity. *Free radical research communications*, 19(5), 341-350.

**Regenthal, R., Koch, H., Köhler, C., Preiss, R., & Krügel, U. (2009).** Depression-like deficits in rats improved by subchronic modafinil. *Psychopharmacology*, 204, 627-

**Reiche Em, Nunes So, Morimoto Hk. 2004.** Stress, depression, the immune system, and cancer. *Lancet Oncol.*; 5:617-625.

**Reyhanditya, D., Hikmawati, V. F., Kurnianingsih, N., & Fatchiyah, F. (2022).** Restraint Stress Impacts on Behavioral Changes and Adrenal and Kidney Tissue Histopathology of Adult Mice. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*.

- Rushen, J. (2003).** Changing concepts of farm animal welfare: bridging the gap between applied and basic research. *Applied Animal Behaviour Science*, 81(3), 199-214
- Sáenz, J. C. B., Villagra, O. R., & Trías, J. F. (2006).** Factor analysis of forced swimming test, sucrose preference test and open field test on enriched, social and isolated reared rats. *Behavioural brain research*, 169(1), 57-65.
- Sanderson, D.J., Hindley, E., Smeaton, E., Denny, N., Taylor, A., Barkus, C & Bannerman, D.M. (2011).** Deletion of the GluA1 AMPA receptor subunit impairs recency-dependent object recognition memory. *Learning & memory*, 18(3), 181-190.
- Saper, C.B., Lu, J., Chou, T.C., & Gooley, J. (2005).** The hypothalamic integrator for circadian rhythms. *Trends in neurosciences*, 28(3), 152-157.
- Sapolsky R, Romero L, Munck A., (2000).** How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr Rev.*; 21, 55-89.
- Sawchenko, P. E., Li, H. Y., & Ericsson, A. (2000).** Circuits and mechanisms governing hypothalamic responses to stress: a tale of two paradigms. *Progress in brain research*, 122, 61-78.
- Schraub, S., Sancho-Garnier, H., & Velten, M. (2009).** Should psychological events be considered cancer risk factors? *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, 57(2), e7-e16.
- Seewoo, B. J., Hennessy, L. A., Feindel, K. W., Etherington, S. J., Croarkin, P. E., & Rodger, J. (2020).** Validation of chronic restraint stress model in young adult rats for the study of depression using longitudinal multimodal MR imaging. *eneuro*, 7(4).
- Selye H. (1939).** The stress of life, 2d edition ed: Papermark Edition
- Selye, 1956** Selye, H. (1956). The stress of life. New York, NY, US: McGraw-Hill.
- Selye, H. (1998).** A syndrome produced by diverse noxious agents. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, 10(2), 230a-231.
- Selye.1976**-The stress of life, 2d edition ed: Papermark Edition.
- Shuichi C, Tadahiro N, Midori N, Misty C R, Chisato W, Hiroshi K., (2012).** Chronic restraint stress causes anxiety- and depression-like behaviors, downregulates glucocorticoid receptor expression, and attenuates glutamate release induced by brain-derived neurotrophic factor in the prefrontal cortex. *Progress in NeuroPsychopharmacology and Biological Psychiatry*; 39, pp.112- 119.



**Siegrist Jet Rödel A. (2006).** Work stress and health risk behavior. *Scand J Work Environ Health*.32(6):473-81

**Siegrist, J. (2008).** Chronic psychosocial stress at work and risk of depression: evidence from prospective studies. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 258, 115-119.

**Singh, B., Kaur, P., Singh, R. D., & Ahuja, P. S. (2008).** Biology and chemistry of Ginkgo biloba. *Fitoterapia*, 79(6), 401-418.

**Singh, B., Kaur, P., Singh, R. D., & Ahuja, P. S. (2008).** Biology and chemistry of Ginkgo biloba. *Fitoterapia*, 79(6), 401-418.

**Smith, P. F., Maclellan, K., & Darlington, C. L. (1996).** The neuroprotective properties of the Ginkgo biloba leaf: a review of the possible relationship to platelet-activating factor (PAF). *Journal of ethnopharmacology*, 50(3), 131-139.

**Søholm, B. (1998).** Clinical improvement of memory and other cognitive functions by Ginkgo biloba: review of relevant literature. *Advances in therapy*, 15(1), 54-65.

**Souêtre, E., Salvati, E., Belugou, J. L., Pringuey, D., Candito, M., Krebs, B., & Darcourt, G. (1989).** Circadian rhythms in depression and recovery: evidence for blunted amplitude as the main chronobiological abnormality. *Psychiatry research*, 28(3), 263-278.

**Steele, T. A. (2002).** Chemotherapy-induced immunosuppression and reconstitution of immune function. *Leukemia Research*, 26(4), 411-414.

**Stojanovich, L., & Marisavljevic, D. (2008).** Stress as a trigger of autoimmune disease. *Autoimmunity reviews*, 7(3), 209-213.

**Storz, G., & Imlay, J. A. (1999).** Oxidative stress. *Current opinion in microbiology*, 2(2), 188- 194.

**Stratakis, C. A., & Chrousos, G. P. (1995).** Neuroendocrinology and pathophysiology of the stress system. *Annals new York academy* 771, 1-18.

**Sundaramahalingam Manikandan, Moorthy K Padma, Ramasundaram Srikumar, Narayanaperumal Jeya Parthasarathy, Arumugam Muthuvel, Rathinasamy Sheela Devi 2006** Effets du stress sonore chronique sur la mémoire spatiale des rats en relation avec l'altération dendritique neuronale et le déséquilibre des radicaux libres dans l'hippocampe et le cortex préfrontal médial, *Lettres des neurosciences* 399 (1-2), 17-22

**Swiergiel, A. H., Zhou, Y., & Dunn, A. J. (2007).** Effects of chronic footshock, restraint and corticotropin-releasing factor on freezing, ultrasonic vocalization and forced swim behavior in

rats. *Behavioural brain research*, 183(2), 178-187.

**Szafarczyk et al., (1993)** Szafarczyk A, Ixart G, Gaillet S, Siaud P, Barbanel G, Malaval F, Assenmacher I. Stress. Neurophysiologic studies. *Encephale*. 19 Spec No 1; 137-142.

**Tan, M. S., Yu, J. T., Tan, C. C., Wang, H. F., Meng, X. F., Wang, C & Tan, L. (2015).** Efficacy and adverse effects of ginkgo biloba for cognitive impairment and dementia: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Alzheimer's disease*, 43(2), 589-603.

**Tanaka, K., S-Galduroz, R.F., Gobbi, L. T.B., & Galduróz, J.C. F. (2013).** Ginkgo biloba extract in an animal model of Parkinson's disease: a systematic review. *Current neuropharmacology*, 11(4), 430-435.

**Tanaka, S., Han, L. K., Zheng, Y. N., & Okuda, H. (2004).** Effects of the flavonoid fraction from Ginkgo biloba extract on the postprandial blood glucose elevation in rats. *Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 124(9), 605-611.

**Tang, F., Nag, S., Shiu, S. Y. W., & Pang, S. F. (2002).** The effects of melatonin and Ginkgo biloba extract on memory loss and choline acetyltransferase activities in the brain of rats infused intracerebroventricularly with  $\beta$ -amyloid 1-40. *Life Sciences*, 71(22), 2625-2631.

**Tatyana Buynitsky, David Ier Mostofsky 2009** Stress de contention dans la recherche bio comportementale : développements récents Neurosciences et revues bio comportementales. 33 (7), 1089-1098,

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

**TRACY K McINTOSH, Marianne Juhler, Tadeusz Wieloch 1998** Nouvelles stratégies pharmacologiques dans le traitement des lésions cérébrales traumatiques expérimentales : *Journal of neurotrauma* 15 (10), 731-769.

**Tsigos, C., & Chrousos, G. P. (2002).** Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of psychosomatic research*, 53(4), 865-871.

**Tsigos, C., & Chrousos, G. P. (2002).** Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of psychosomatic research*, 53(4), 865-871.

**Twellaar, M., Winants, Y., & Houkes, I. (2008).** How healthy are Dutch general practitioners? Self-reported (mental) health among Dutch general practitioners. *The European journal of general practice*, 14(1), 4-9.

**Ude, C., Schubert-Zsilavec, M., & Wurglics, M. (2013).** Ginkgo biloba extracts: a review

- of the pharmacokinetics of the active ingredients. *Clinical pharmacokinetics*, 52, 727-749.
- Ulrich-Lai, Y. M., Figueiredo, H. F., Ostrander, M. M., Choi, D. C., Engeland, W. C., & Herman, J. P. (2006).** Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *American journal of physiology-endocrinology and metabolism*, 291(5), E965- E973.
- Van Beek, T. A., & Montoro, P. (2009).** Chemical analysis and quality control of Ginkgo biloba leaves, extracts, and phytopharmaceuticals. *Journal of chromatography A*, 1216(11), 2002-2032
- Vann, S. D., & Albasser, M.M. (2011).** Hippocampus and neocortex: recognition and spatial memory. *Current opinion in neurobiology*, 21(3), 440-445.
- Veissier, I., & Boissy, A. (2007).** Stress and welfare: Two complementary concepts that are intrinsically related to the animal's point of view. *Physiology & behavior*, 92(3), 429-433.
- Venero, C., Tilling, T., Hermans-Borgmeyer, I., Schmidt, R., Schachner, M., & Sandi, C. (2002).** Chronic stress induces opposite changes in the mRNA expression of the cell adhesion molecules NCAM and L1. *Neuroscience*, 115(4), 1211-1219.
- Walesiuk, A., & Braszko, J. J. (2009).** Preventive action of Ginkgo biloba in stress-and corticosterone-induced impairment of spatial memory in rats. *Phytomedicine*, 16(1), 40-46.
- Walesiuk, A., Trofimiuk, E., & Braszko, J. J. (2005).** Ginkgo biloba extract diminishes stress- induced memory deficits in rats. *Pharmacol Rep*, 57(2), 176-187.
- Walesiuk, A., Trofimiuk, E., & Braszko, J. J. (2006).** Ginkgo biloba normalizes stress-and corticosterone-induced impairment of recall in rats. *Pharmacological Research*, 53(2), 123-128.
- Wang, Y., Wang, L., Wu, J., & Cai, J. (2006).** The in vivo synaptic plasticity mechanism of EGb761induced enhancement of spatial learning and memory in aged rats. *British journal of pharmacology*, 148(2), 147-153.
- Wang, Y., Wang, R., Wang, Y., Peng, R., Wu, Y., & Yuan, Y. (2015).** Ginkgo biloba extract mitigates liver fibrosis and apoptosis by regulating p38 MAPK, NF- $\kappa$ B/I $\kappa$ B $\alpha$ , and Bcl-2/Bax signaling. *Drug design, development and therapy*, 9, 6303.
- Weizman, R., Leschiner, S., Schlegel, W., & Gavish, M. (1997).** Peripheral-type benzodiazepinereceptor ligands and serum steroid hormones. *Brain research*, 772(1-2), 203-208.

**William H Habig, Michael J Pabst, Gerald Fleischner, Zenaida Gatmaitan, Irwin M Arias, William B Jakoby 1974** L'identité du glutathion S -transférase B avec la ligandine, une protéine de liaison majeure du foie Actes de l'Académie nationale des sciences 71 (10), 3879-3882,

**William H Habig, Michael J Pabst, William B Jakoby 1974** Les glutathion S-transférases : la première étape enzymatique de la formation de l'acide mercapturique Journal de chimie biologique 249 (22), 7130-7139,

**Wistar AK Nayanatara, Y Tripathi, HS Nagaraja, PS Jeganathan, C Ramaswamy, B Ganaraja, Sheila R Pai, Asha Kamath ,2012,** Effet du stress d'immobilisation chronique sur certains paramètres physiologiques, biochimiques et lipidiques sélectionnés chez les rats albinos Journal de recherche des sciences pharmaceutiques, biologiques et chimiques 3 (1), 34-42.

**Woelk, H., Arnoldt, K. H., Kieser, M., & Hoerr, R. (2007).** Ginkgo biloba special extract EGb 761® in generalized anxiety disorder and adjustment disorder with anxious mood: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of psychiatric research*, 41(6), 472-480.

**Yapar, K., Çavuşoğlu, K., Oruc, E., & Yalcin, E. (2010).** Protective role of Ginkgo biloba against hepatotoxicity and nephrotoxicity in uranium-treated mice. *Journal of medicinal food*, 13(1), 179-188.

**Yoshihama T and Maruyama Y. (2003).** An Anxiolytic-Like Effect of Ginkgo biloba Extract and Its Constituent, Ginkgolide-A, in Mice. *J. Nat. Prod*, 66: 1333–1337.

**Youdim, K. A., & Joseph, J. A. (2001).** A possible emerging role of phytochemicals in improving age-related neurological dysfunctions: a multiplicity of effects. *Free Radical Biology and Medicine*, 30(6), 583-594.

**Zhang, H. T., Huang, Y., Masood, A., Stolinski, L. R., Li, Y., Zhang, L & O'donnell, J. M. (2008).** Anxiogenic-like behavioral phenotype of mice deficient in phosphodiesterase 4B (PDE4B). *Neuropsychopharmacology*, 33(7), 1611-1623.

**Zhi-Xing Yao, Zeqiu Han, Katy Drieu, Vassilios Papadopoulos, (2004),** L'extrait de Ginkgo biloba (Egb 761) inhibe la production de  $\beta$ -amyloïde en abaissant le taux de cholestérol libre, Le Journal de la biochimie nutritionnelle 15 (12), 749-756.

**Zhou, L., Meng, Q., Qian, T., & Yang, Z. (2011).** Ginkgo biloba extract enhances glucose tolerance in hyperinsulinism-induced hepatic cells. *Journal of natural medicines*, 65, 50-56.

## **Références bibliographiques**

---

**Ziegler, D. R., Cullinan, W. E., & Herman, J. P. (2005).** Organization and regulation of paraventricular nucleus glutamate signaling systems: N methyl D aspartate receptors. *Journal of Comparative Neurology*, 484(1), 43-56.