

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

CENTRE DE RECHERCHE ET
DE FORMATION DOCTORALE
EN SCIENCES DE LA VIE,
SANTÉ ET ENVIRONNEMENT

UNITE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE
EN SCIENCE DE LA VIE



UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

CENTRE FOR RESEARCH AND
TRAINING IN GRADUATE
STUDIES IN LIFE, HEALTH AND
ENVIRONMENTAL SCIENCES

DOCTORAL RESEARCH AND
TRAINING UNIT IN LIFE SCIENCE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES

DEPARTMENT OF BIOLOGY AND ANIMAL PHYSIOLOGY

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE ANIMALE ET RECHERCHE THERAPEUTIQUE

LABORATORY OF ANIMAL PHYSIOLOGY AND THERAPEUTIC RESEARCH

Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* L. (Rutaceae) sur un modèle d'addiction à la cocaïne chez la souris Albinos

Mémoire

Rédigé en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie des Organismes Animaux

Option : Physiologie Animale

Par

METOU TATIEKAM Kelly Pavlov

Matricule : 19C2933

Licenciée ès-Sciences

Sous la codirection de :



NGOUATEU Omer Bébé

*Chargé de Cours
Université de Yaoundé I*

KANDEDA KAVAYE Antoine

*Maître de Conférences
Université de Yaoundé I*

Année académique 2024-2025

DEDICACE

A mes parents

TATIEKAM Innocent et WAZE DJOUASSU TAGNE Constance

REMERCIEMENTS

Je remercie Dieu tout-puissant et miséricordieux pour tout ce qu'il a fait dans ma vie et pour m'avoir permis de mener à bien ce travail dans de bonnes conditions.

La réalisation de ce mémoire a été rendue possible grâce à l'intervention de plusieurs personnes. Je tiens également à exprimer mes plus sincères remerciements :

- au Professeur **KANDEDA KAVAYE Antoine**, pour avoir accepté de diriger ce travail, ainsi que pour sa disponibilité et sa rigueur malgré ses multiples occupations ;
- au Docteur **NGOUATEU Omer Bébé**, pour sa patience, ses conseils et son encadrement du travail ;
- au Professeur **DZEUFJET DJOMENI Paul Désiré**, responsable du Laboratoire de Physiologie Animale de l'Université de Yaoundé I, pour m'avoir accueillie et permis de travailler en toute liberté dans le laboratoire dont il a la charge ;
- à tous les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales, pour les enseignements dispensés tout au long de mon cursus universitaire ;
- à tous les docteurs du laboratoire, en particulier au Docteur **OWONA Pascal** et au Docteur **TCHEUTCHOUA Yanick**, pour leurs conseils pratiques et leur encadrement lors de ce travail ;
- à mes aînés de laboratoire, en particulier à **DJIENCHEU Jean-Philippe**, **TSAKEM Jaures**, **MABOU TALOM Symphorien**, **AMBANI OMGBA Jeanne**, **AKONO Harold**, **WAGA Gaston** et **MEULADJE TAMEU Ferdinand**, pour leur aide, leur assistance, la lecture et la correction de ce travail ;
- à mes camarades **APO MVOGO Victorine**, **MAKAMWE KAMTE Sylvia**, **AYOUONEGNIGNI Mounirou** et **NDJONGOUET Napoléon**, pour leur aide et leur soutien, ainsi qu'à tous mes autres camarades de promotion pour leur sympathie et leur collaboration tout au long de ce travail ;
- à tous mes frères et sœurs pour leur soutien physique et moral tout au long de ces années d'études; Je tiens à remercier spécialement mon grand frère, le Docteur **FOKA TATIEKAM Ebenezer**, pour son soutien et ses nombreux encouragements.

SOMMAIRE

DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
SOMMAIRE.....	iii
LISTE DES FIGURES.....	v
LISTE DES TABLEAUX.....	vi
LISTE DES ABREVIATIONS.....	vii
RESUME.....	viii
ABSTRACT.....	ix
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	3
I. Organisation du système nerveux.....	3
I.2 Communications entre neurones.....	5
I.3 Anatomie du système limbique.....	6
I.4 Bio- marqueurs de l’addiction.....	6
1.5 Différentes formes d’addiction.....	8
I.6 Neurobiologie de l’addiction aux drogues.....	8
I.7 Addiction à la cocaïne.....	10
I.7.1 Définition et prévalence.....	10
I.7.2 Etiologie.....	11
I.7.3 Sémiologie.....	11
I.8 Physiopathologie de l’addiction à la cocaïne.....	12
I.9 Modèles animaux de l’addiction aux drogues.....	13
I.10 Traitement.....	14
I.11 Etude botanique de Citrus medica.....	15
I.11.1 Description.....	15
I.11.2 Taxonomie.....	15
I.11.3 Usages traditionnelles et pharmacologiques.....	15
I.11.4 Phytochimie.....	16
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	15
II.1 Matériel.....	17
II.1.1 Matériel végétal.....	17
II.1.2 Matériel animal.....	17
II.1.3 Produits chimiques.....	17
II.1.4 Dispositif expérimental.....	17

II.2 Méthodes.....	19
II.2.1 Préparation de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de <i>Citrus medica</i>	19
II.2.2 Détermination des doses de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de <i>Citrus medica</i>	20
II.2.3 Préparation des solutions de travail.....	21
II.2.4 Traitement et suivi des animaux.....	22
II.2.5 Évaluation de quelques médiateurs biochimiques.....	24
II.2.6 Evaluation des marqueurs du statut oxydant.....	25
II.2.7. Analyses histologiques.....	26
II.2.8 Analyses statistiques des données.....	28
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....	29
III.1. Résultats.....	29
III.1.1 Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de <i>Citrus medica</i> sur la préférence d'une place associée à la cocaïne.....	29
III.1.2. Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de <i>Citrus medica</i> sur les comportements désordonnés et répétés dans l'arène ouverte.....	31
III.1.3. Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de <i>Citrus medica</i> sur quelques paramètres de l'anxiété.....	32
III.1.4 Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de <i>Citrus medica</i> sur quelques paramètres biochimiques du cerveau après traitement.....	33
III.1.5 Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de <i>Citrus medica</i> sur quelques paramètres du stress oxydant.....	37
III.1.6 Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de <i>Citrus medica</i> sur la microarchitecture du complexe amygdalien.....	39
III.2. Discussion.....	39
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	43
REFERENCES.....	49

LISTE DES FIGURES

Figure 1	: Anatomie du système nerveux central chez l'homme.....	3
Figure 2	: Schéma d'un neurone.....	4
Figure 3	: Gliocytes du système nerveux central.....	4
Figure 4	: Diagramme de la structure du système limbique montrant la localisation de ses zones avec ses structures voisines.....	6
Figure 5	: Principales structures du système de récompense.....	8
Figure 6	: Feuilles, fruits et tige d'un citronnier.....	15
Figure 7	: Dispositif de l'arène ouverte.....	18
Figure 8	: Dispositif du test de préférence de place conditionnée.....	18
Figure 9	: Dispositif du test de la croix surélevée.....	19
Figure 10	: Protocole d'extraction hydro-éthanolique des fruits de <i>Citrus medica</i>	20
Figure 11	: Protocole expérimental des différentes activités.....	23
Figure 12	: Effets de la cocaïne sur les animaux lors de la phase d'habituation et la phase de test de la préférence de place conditionnée.....	30
Figure 13	: Effet de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de <i>Citrus medica</i> sur le temps mis dans les bras préféré et discriminé lors du test de la préférence de place conditionnée.....	31
Figure 14	: Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de <i>Citrus medica</i> sur le nombre de stéréotypies dans l'arène ouverte.....	32
Figure 15	: Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits du <i>Citrus medica</i> sur la concentration du GABA dans le striatum.....	34
Figure 16	: Effets du <i>Citrus medica</i> sur la concentration des mono amines noradrénaline et dopamine dans le complexe amygdalien et le cortex.....	36
Figure 17	: Effets de l'extrait hydroéthanolique des fruits du <i>Citrus medica</i> sur la concentration de sérotonine dans le striatum et le cortex	37
Figure 18	: Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de <i>Citrus medica</i> sur la concentration du MDA dans l'amygdale et le cortex préfrontal.....	38
Figure 19	: Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de <i>Citrus medica</i> sur la concentration de la GSH dans l'amygdale.....	38
Figure 20	: Présentation des effets du traitement curatif à l'extrait hydro-éthanolique des fruits de <i>Citrus medica</i> sur la microarchitecture du cortex préfrontal, de l'hippocampe et des amygdales	39

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	:	Critères diagnostiques de l'addiction selon le DSMIV.....	12
Tableau 2	:	Protocole de batteries de déparaffinage.....	27
Tableau 3	:	Étapes de coloration à l'hématoxyline et l'éosine.....	28
Tableau 4	:	Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de <i>Citrus medica</i> sur quelques paramètres de l'anxiété	33

LISTE DES ABREVIATIONS

5-HT	:	5-hydroxytryptamine ou sérotonine
ATV	:	Aire tegmentale ventral
GLT	:	“Glutamatergic transporter”
DA	:	Dopamine
DAT	:	Transporteur de dopamine
DOPA	:	Dihydroxyphenylalanine
GABA	:	“Gamma-Aminobutyric Acid”
GSH	:	Glutathion réduit
LDOPA	:	L- dihydroxyphenylalanine
MDA	:	Malondialdéhyde
MFB	:	“Medial Forebrain Bundele”
NAC	:	Noyau Accumbens
Po	:	<i>Per os</i>
Ip	:	Intrapéritonéale
NET	:	“Noradrenergic transporter”
ERO	:	Espèces réactives d’oxygène

RESUME

La consommation abusive des drogues constitue un problème majeur de santé publique. On constate une augmentation constante du trafic, de la consommation et des décès liés à la cocaïne. Des études visant à identifier les mécanismes neuronaux à l'origine des effets à long terme des drogues restent limitées. La présente étude visait à évaluer les effets anti-addictifs de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur un modèle d'addiction à la cocaïne chez la souris Albinos. Pour cette étude, 42 souris males ont été initialement répartis en deux lots de – souris pour le groupe témoin normal recevant du NaCl 0,9% (10 ml/kg, *i.p*) et 36 souris qui ont reçues en dose quotidienne unique pendant 19 jours de la cocaïne (5 mg/kg, *i.p*). Au terme de cette période expérimentale, les souris ont été sevré pendant cinq jours et les 36 souris restantes ont été réparties en six groupes de six animaux chacun. Elles étaient traitées comme suit : deux groupes témoins (normal et négatif) recevant de l'eau distillée (10 ml/kg, *p.o.*), un groupe témoin positif recevait du baclofène (5 mg/kg, *p.o*) et trois groupes recevant les différentes doses de l'extrait de *C. medica* (160, 320 et 640 mg/kg, *p.o*). Trente jours après le début de l'expérience, l'état des animaux a été évalué grâce aux tests de préférence de place conditionnée, d'arène ouverte, de labyrinthe en croix surélevé et de sociabilisation à trois chambres. Vingt-quatre heures après ces tests comportementaux, les animaux ont été sacrifiés et le cortex préfrontal, l'hippocampe, le complexe amygdalien et le striatum ont été prélevés afin de quantifier les niveaux de neurotransmetteur inhibiteur (GABA), de la sérotonine, de la dopamine, de la noradrénaline, ainsi que des marqueurs du stress oxydant, notamment le malondialdéhyde (MDA) et le glutathion réduit (GSH). Enfin, une analyse histologique du cortex, de l'hippocampe et du complexe amygdalien a été réalisée. Les résultats obtenus ont montré que l'injection de cocaïne a induit une addiction chez les souris témoins négatives, en augmentant le temps qu'elles passaient dans le compartiment associé à la cocaïne (compartiment discriminé). L'extrait, à la dose de 160 mg/kg, a entraîné une augmentation du temps passé par les souris dans le compartiment associé au NaCl (compartiment préféré). Cette augmentation était de 75 % ($p < 0,05$). Le sevrage à la cocaïne a entraîné une augmentation de 76,38 % ($p < 0,001$) du nombre de stéréotypies, de 10,20 % ($p < 0,001$) du nombre de toilettings et de 23,00 % ($p < 0,01$) du nombre de redressements, ainsi qu'une réduction de 3,25 % ($p < 0,001$) du nombre d'entrées des souris dans les bras ouverts et de 14,5 % ($p < 0,001$) du temps passé par les souris dans les bras ouverts. Ces troubles ont été corrigés par les différentes doses de l'extrait. Le dosage des marqueurs biochimiques a révélé que le sevrage de la cocaïne avait d'une part réduit la concentration en GABA, de dopamine, de noradrénaline et de glutathion réduit, d'autre part, elle a augmenté la concentration de sérotonine et du malondialdéhyde. L'extrait de *C. medica* a induit une augmentation des concentrations de dopamine, de noradrénaline, de glutathion réduit par rapport au témoin négatif. De plus, elle a diminué les concentrations de sérotonine, de malondialdéhyde et a protégé le cerveau de la perte neuronale en comparaison au témoin négatif. Ces résultats suggèrent que l'extrait aurait les propriétés anti-addictives se traduisant par une amélioration des comportements addictifs, des propriétés anxiolytiques et neuroprotecteur résultants de ses effets sur les taux de neurotransmetteurs et de ses propriétés antioxydants. Tout ceci justifierait en partie l'utilisation de cette plante dans le traitement des pathologies du système nerveux.

Mots clés : addiction, cocaïne, souris Albinos, antioxydant, *Citrus medica*, neurotransmetteur

ABSTRACT

Drug abuse is a major public health issue. There has been a steady increase in cocaine trafficking, consumption, and related deaths. Studies aimed at identifying the neural mechanisms underlying the long-term effects of drugs remain limited. The present study aimed to evaluate the anti-addictive effects of hydro-ethanolic extract from *Citrus medica* fruit on a model of cocaine addiction in albino mice. For this study, 42 male mice were initially divided into two groups: mice in the normal control group receiving 0.9% NaCl (10 ml/kg, *i.p*) and 36 mice that received a single daily dose of cocaine (5 mg/kg, *i.p*) for 19 days. At the end of this experimental period, the mice were weaned for five days and the remaining 36 mice were divided into six groups of six animals each. They were treated as follows: two control groups (normal and negative) receiving distilled water (10 ml/kg, *p.o.*), one positive control group receiving baclofen (5 mg/kg, *p.o*) and three groups receiving different doses of *C. medica* extract (160, 320 and 640 mg/kg, *p.o*). Thirty days after the start of the experiment, the animals' condition was assessed using conditioned place preference, open field, elevated plus maze, and three-chamber sociability tests. Twenty-four hours after these behavioral tests, the animals were sacrificed, and the prefrontal cortex, hippocampus, amygdala complex, and striatum were removed to quantify levels of the inhibitory neurotransmitter GABA, serotonin, dopamine, norepinephrine, and markers of oxidative stress, including malondialdehyde (MDA) and reduced glutathione (GSH). Finally, a histological analysis of the cortex, hippocampus, and amygdala complex was performed. The results showed that cocaine injection induced addiction in negative control mice, increasing the time they spent in the compartment associated with cocaine (discriminated compartment). The extract, at a dose of 160 mg/kg, caused an increase in the time spent by the mice in the compartment associated with NaCl (preferred compartment). This increase was 75% ($p < 0.05$). Cocaine withdrawal led to a 76.38% ($p < 0.001$) increase in the number of stereotypies, a 10.20% ($p < 0.001$) increase in the number of grooming behaviors, and a 23.00% ($p < 0.01$) in the number of re-erectations, as well as a reduction of 3.25% ($p < 0.001$) in the number of entries by mice into the open arms and 14.5% ($p < 0.001$) in the time spent by mice in the open arms. These disorders were corrected by the different doses of the extract. Biochemical marker measurements revealed that cocaine withdrawal reduced the concentration of GABA, dopamine, norepinephrine, and reduced glutathione, while increasing the concentration of serotonin and malondialdehyde. *C. medica* extract induced an increase in dopamine, norepinephrine, and reduced glutathione concentrations compared to the negative control. In addition, it decreased serotonin and malondialdehyde concentrations and protected the brain from neuronal loss compared to the negative control. These results suggest that the extract has anti-addictive properties, resulting in improved addictive behaviors, anxiolytic and neuroprotective properties resulting from its effects on neurotransmitter levels and its antioxidant properties. All of this would partly justify the use of this plant in the treatment of nervous system disorders.

Keywords: addiction, cocaine, albino mice, antioxidant, *Citrus medica*, neurotransmitters.

INTRODUCTION

L'addiction est un trouble neuropsychiatrique chronique et récidivante, caractérisé par une compulsion à rechercher et à consommer une substance malgré des conséquences négatives variées (Rharbaoui, 2024). D'un point de vue neurobiologique, il s'agit d'une maladie multifactorielle progressive, complexe, associée à des dysfonctionnements des circuits cérébraux de la récompense, de la motivation et du contrôle inhibiteur (Jean-François, 2017). Les addictions à une substance psychoactive concernent généralement les substances licites (tabac, alcool, médicaments psychotropes) et illicites (cocaïne, cannabis, opiacés, amphétamines) (Rozaire *et al.*, 2009).

La cocaïne est une drogue au pouvoir addictif élevé, et c'est la quatrième substance illicite la plus consommée dans le monde (ONU DC, 2024). Elle se présente sous deux formes : le chlorhydrate de cocaïne et la cocaïne base (Pinto *et al.*, 2008). Désormais plus accessible et plus pure, la cocaïne bénéficie d'une image positive, malgré les risques sanitaires et sociaux importants liés à sa consommation. Une fois absorbée, elle se lie fortement aux transporteurs de recapture de la dopamine, ce qui permet son accumulation dans la fente synaptique et augmente sa concentration. Cette dopamine continue de stimuler les neurones adjacents, produisant ainsi l'effet « high » caractéristique de la cocaïne. De plus, sa prise provoque une vasoconstriction et peut affecter presque n'importe quel organe, entraînant des séquelles telles que l'ischémie cérébrale, l'infarctus du myocarde ou l'hémorragie (Gerald et Rika, 2024). Par ailleurs, ces effets ne concernent pas l'ensemble des consommateurs, mais un nombre restreint de sujets à risque (Jean-François, 2017).

Selon l'Office des Nations Unies contre la drogue et le crime (ONU DC), on estimait à environ 25 millions le nombre de consommateurs de cocaïne dans le monde en 2023 (ONU DC, 2025). En Afrique il y avait 43 % de personnes âgées de moins de 35 ans qui ont consommées de la cocaïne (ONU DC, 2023). Le rapport d'enquête sur la consommation de drogue en milieu scolaire qui avait été mené au Cameroun montrait que 40,64% de Camerounais d'âge compris entre 16 et 20 ans ont déclaré avoir consommé des stupéfiants dans les 18 derniers mois avec 4,7% qui consommaient de la cocaïne (Elisabeth *et al.*, 2023). Selon les statistiques du Comité national de lutte contre la drogue (CNLD), 21 % de la population camerounaise en âge scolaire aurait déjà consommé de la drogue au cours de sa vie (Mendoza et Kombe, 2022).

La littérature scientifique établit que l'addiction à la cocaïne résulte d'un dysfonctionnement de l'équilibre entre les circuits qui gèrent la valeur motivationnelle de la drogue et ceux impliqués dans le contrôle cognitif inhibiteur. Ces circuits seraient donc au cœur de processus motivationnels pathologiques et d'une difficulté à inhiber l'envie irrésistible de consommer la drogue (Jean-François, 2017). Pour la soigner, plusieurs approches ont été mises en place, dont les préventions primaire et secondaire à destination des nouveaux consommateurs (Pinto *et al.*, 2008). Les usagers potentiels peuvent bénéficier d'une association de psychothérapie à une médication susceptible de réduire le « craving », ainsi que d'un traitement d'une comorbidité psychiatrique (Murthy et Chand, 2012). Les médicaments

susceptibles de réduire ce « craving » peuvent être le baclofène, le méthylphénidate, les anticonvulsivants, les neuroleptiques ou le modafinil (Gorelick *et al.*, 2004). Aucun de ces médicaments n'a révélé d'efficacité significative chez les patients dépendants à la cocaïne et n'a obtenu l'approbation des agences de pharmacovigilance, ce qui aurait justifié une mise sur le marché (Gorelick *et al.*, 2004).

Traditionnellement, les populations de plusieurs pays ont recours à des préparations à base d'agrumes (tel que le *Citrus*) pour traiter et prévenir les troubles du système nerveux et les maladies cardiovasculaires (Hernandez *et al.*, 1984). De plus, elle est utilisée par le tradithérapeute pour traiter l'addiction à l'alcool. C'est dans cette même optique que s'inscrit notre recherche d'un traitement alternatif contre l'addiction à la cocaïne à base de *Citrus*. *Citrus medica* est une plante appartenant à la grande famille des agrumes, originaire de Perse, retrouvée en Asie du Sud et en Inde. C'est un fruit qui contient de nombreux composés bioactifs tels que des flavonoïdes, des terpènes (li monoïde) et les vitamines notamment la vitamine C (Carvalho *et al.*, 2005). Grâce à ses différents composés bioactifs, ce cédrat est devenu l'objet de recherche de différents chercheurs, car il pourrait prévenir ou inverser les processus dérégulateurs responsables de certaines maladies chez l'être humain (Navnidhi *et al.*, 2018). Ses fruits possèdent de nombreux bienfaits nutraceutiques, tels qu'une puissante action antioxydante, analgésique, anticancéreuse, antiulcéreuse et cardioprotectrice (Navnidhi *et al.*, 2018).

Malgré l'utilisation de cette plante pour traiter les maladies répertoriées ci-dessus, aucune étude pharmacologique n'a été menée sur un modèle d'addiction à la cocaïne. C'est pourquoi l'objectif principal de cette étude est d'étudier les effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* (Rutaceae) sur un modèle d'addiction à la cocaïne chez la souris Albinos. Concrètement, il s'agissait pour nous :

- d'évaluer les effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur les troubles comportementaux induits par la cocaïne chez la souris ;
- de déterminer les effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur la concentration de quelques neurotransmetteurs dans le cortex, l'hippocampe, le striatum et le complexe amygdalien;
- d'évaluer les effets de l'extrait sur le statut oxydant ainsi que sur quels que altérations au niveau du cortex préfrontal, de l'hippocampe et du complexe amygdalien suite à l'administration chronique de cocaïne.

**CHAPITRE I : REVUE DE LA
LITTERATURE**

I. Organisation du système nerveux

Le système nerveux est un réseau complexe de cellules (neurones, cellules gliales) qui constituent le centre de régulation et d'échange de notre organisme avec son environnement. Il recueille d'abord les informations sensorielles provenant de terminaisons nerveuses spécialisées et localisées qui sont ensuite conduites à la moelle épinière et à l'encéphale, par l'intermédiaire des nerfs périphériques (Purves *et al.*, 2018). Il est divisé en deux parties : le système nerveux central (SNC) et le système nerveux périphérique (SNP) (Touam, 2024). Le système nerveux central, ou névraxe, est constitué de l'encéphale et de la moelle épinière (Bachiri et Haddam, 2022). L'encéphale est constitué à son tour de trois parties majeures reliées entre elles par des fibres nerveuses (Figure 1) (Bachiri et Haddam, 2022). Ces parties sont le cerveau ou le prosencéphale, le cervelet et le tronc cérébral. Le système nerveux périphérique, quant à lui, comprend principalement les nerfs provenant de l'encéphale et de la moelle épinière, ainsi que les ganglions et les organes sensoriels, auxquels s'ajoutent le système nerveux somatique et le système nerveux autonome (Purves *et al.*, 2012).

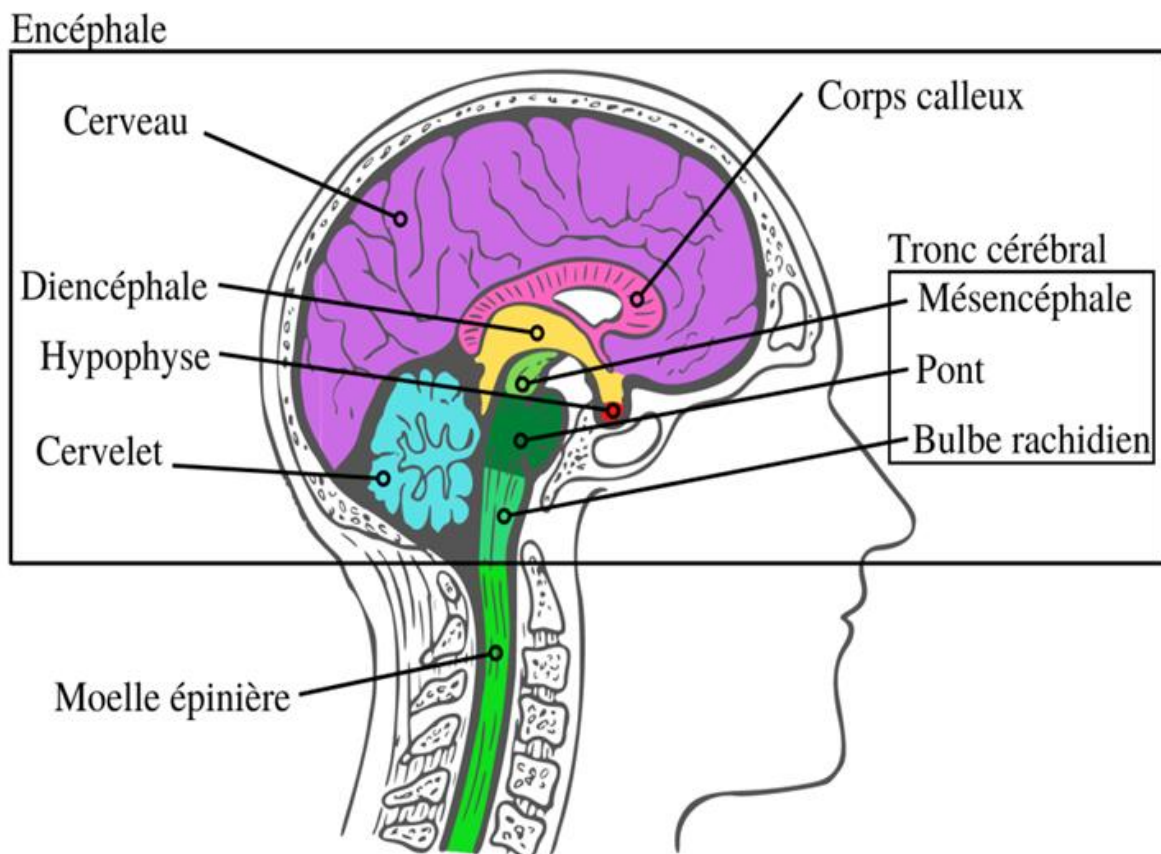


Figure 1 : Anatomie du système nerveux central chez l'homme (Touam, 2024)

I.1 Le tissu nerveux

Le tissu nerveux bien que très complexe comprend plusieurs cellules donc les deux grands types sont les neurones représentant l'unité fonctionnelle de transfert d'information et les cellules gliales jouant un rôle de soutien mécanique et métabolique (Marieb et Hoehn, 2016).

◆ Neurones

Les neurones sont des unités structurales et fonctionnelles du tissu nerveux qui sont impliquées dans le traitement, l'intégration, la transmission et l'émission des messages nerveux (Bourourou, 2016). Ils sont constitués d'un corps cellulaire ou soma ou péricaryon, ainsi que des prolongements (l'axone, les nombreuses dendrites, et une arborisation terminale) (Kandel *et al.*, 2012).

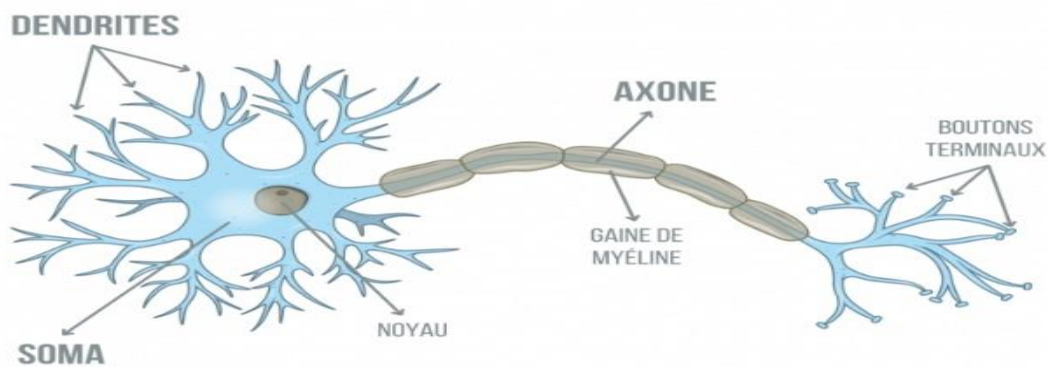


Figure 2: Schéma d'un neurone (Bear *et al.*, 2007).

◆ Cellules gliales

Elles représentent 90% des cellules du cerveau de l'homme. Tous les neurones sont associés à des cellules gliales, qui se répartissent en quatre types : les oligodendrocytes, les astrocytes, les cellules microgliales et les épendymocytes. Ces cellules sont présentes aussi bien dans le SNC que dans le SNP. Les principaux types de cellules gliales présents dans le SNC sont les astrocytes, les cellules épendymaires, les microglies et les oligodendrocytes. Dans le SNP, ce sont les cellules de Schwanns. Leur fonction la plus connue est de soutenir physiquement les neurones, notamment en formant des gaines de myéline autour de certains axones, ce qui permet une propagation rapide de l'influx nerveux chez l'adulte. Cette myéline est interrompue à intervalles réguliers au niveau des nœuds de Ranvier permettant une conduction saltatoire du message tout au long de l'axone (Conductier *et al.*, 2013).

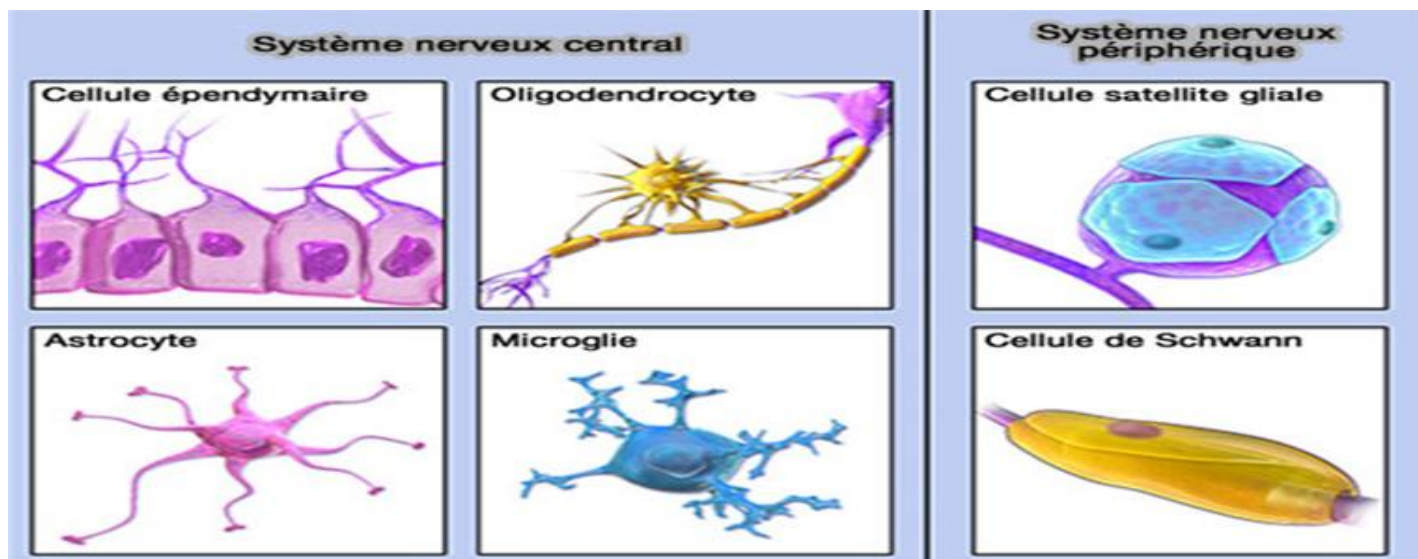


Figure 3: Gliocytes du système nerveux central (Bruce, 2014).

I.2 Communications entre neurones

Découvertes par Furshpan et Potter en 1959, les synapses sont des zones de jonction par lesquelles le neurotransmetteur (messenger chimique) passe d'un neurone à un autre. Il s'agit d'une structure spéciale et importante dans laquelle le signal neuronal peut être renforcé (par une augmentation de la libération de neurotransmetteur ou du nombre de récepteurs présents sur la membrane post-synaptique) ou réduit/diminué (par une augmentation du nombre de récepteurs présynaptiques) : c'est ce qu'on appelle « la plasticité synaptique » (Thérèse et Laurent, 2012). En fonction de leurs modes de fonctionnement, il existe deux types de synapses :

◆ Les synapses électriques

Dans une synapse électrique, les canaux ioniques permettent une interaction continue et réciproque par le passage direct d'ions entre deux neurones couplés modifiant ainsi instantanément le potentiel de membrane du deuxième neurone (Pfeuty, 2004).

◆ Les synapses chimiques

La communication synaptique au niveau des synapses chimiques commence par la naissance d'un potentiel d'action (PA) dans le neurone présynaptique, qui se propage jusqu'au terminal présynaptique et provoque l'exocytose des neurotransmetteurs dans la fente synaptique qui dépolarise ou hyperpolarise le neurone postsynaptique, propageant ainsi l'influx nerveux à un deuxième neurone (Pfeuty, 2004 ; Nestler, 2005). Ceci en diffusant dans la fente synaptique et en se liant à leurs récepteurs situés à la surface de la membrane du neurone post-synaptique entraînant l'ouverture des canaux ioniques et modifiant la conductance de la membrane (Pfeuty, 2004).

I.3 Anatomie du système limbique

Les puissantes propriétés renforçantes des psychotropes sont attribuées à l'activation de processus motivationnels localisés dans le système limbique (Antoine et Derek, 1989).

Le système limbique désigne un ensemble de structures cérébrales situées latéralement au thalamus, en dessous du cortex cérébral et au-dessus du tronc cérébral (Torrice et Abdijadid, 2023). Il est important pour la mémoire, l'assimilation, ainsi que pour le comportement émotionnel et orienté vers un but. Il est composé du cortex limbique comprenant le gyrus limbique et le gyrus parahippocampique, de la formation hippocampique comprenant le gyrus denté, l'hippocampe et le complexe subiculaire, de l'amygdale, de la zone septale et de l'hypothalamus (Figure 4) (Banwinkle *et al.*, 2022).

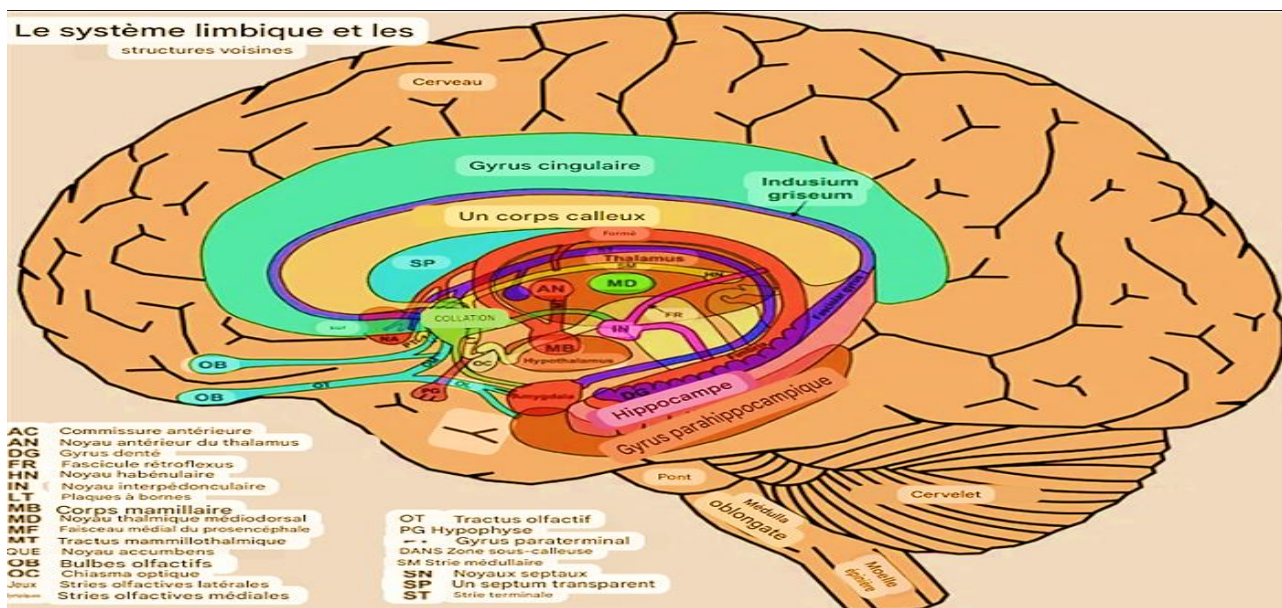


Figure 4: Diagramme de la structure du système limbique montrant la localisation de ses zones avec ses structures voisines (Hulatt, 1970).

I.4 Bio- marqueurs de l'addiction

Toutes les substances psychoactives agissent de manière directe ou indirecte sur un réseau semblable de neurones du système nerveux central, comprenant le système de la récompense (ou système mésocorticolimbique), ainsi que des systèmes comprenant plusieurs neurotransmetteurs (sérotonine, noradrénaline, acide gamma-aminobutyrique (GABA), glutamate) (Kalivas, 2004). Tous interviennent dans le système hédonique, mais aussi dans certains effets secondaires de l'addiction à la cocaïne, comme les perturbations du système de motivation, de la mémoire, ou encore certaines crises, telles que l'épilepsie (Karila *et al.*, 2012).

➤ Rôles des neurones dopaminergiques

Découverte par Arvid Carlsson en 1958, la dopamine est un neurotransmetteur dérivé d'un acide aminé, la tyrosine, qui est transformée en L-DOPA grâce à la tyrosine hydroxylase. Sous l'action de la

DOPA décarboxylase, la L-DOPA donne la DA. Elle est indispensable au fonctionnement des comportements vitaux, car elle induit la motivation et récompense l'individu par une sensation de plaisir. La consommation de substances psychostimulantes provoque une augmentation de son taux dans la fente synaptique, puis dans le cerveau, ce qui provoque un flash de plaisir intense, appelé « high » (Thouvenin, 2012). De plus, cette augmentation de la quantité de dopamine conduit à une accumulation de celle-ci dans le milieu extracellulaire, avec une stimulation des récepteurs post-synaptiques, ce qui active de manière très forte le circuit de la récompense et induit une réponse intense du neurone postsynaptique (Kervella, 2021). Dans le cas de la cocaïne, l'effet s'observe directement sur les neurones dopaminergiques grâce au transporteur neuronal de la dopamine (DAT), marqueur spécifique de ces neurones. Ce transporteur est un acteur clé de la transmission dopaminergique, car il assure la recapture de ce neurotransmetteur dans la fente synaptique (Ciliax *et al.*, 1999). La cocaïne présente une forte affinité pour les DAT, ce qui inhibe la recapture de la dopamine, d'où son taux élevé dans l'espace extracellulaire. Avec le temps, on observe une diminution des récepteurs dopaminergiques D2 ainsi que de la libération de dopamine, ce qui peut conduire à une désensibilisation du circuit de la récompense (Volkow *et al.*, 1993).

➤ **Rôle de la noradrénaline et de la sérotonine**

La noradrénaline, notamment son récepteur $\alpha 1b$ -adrénergique, et la sérotonine, notamment ses récepteurs 5-HT_{2A} et 5-HT_{1B}, sont également impliquées dans les réponses comportementales, tout comme le phénomène de récompense induit par les drogues addictives. Suite à l'administration de substances psychostimulantes, ces deux systèmes se retrouvent découplés, ce qui crée une hyperactivité et une sensibilité accrues des neurones noradrénergiques et sérotoninergiques (Thouvenin, 2012), conduisant ainsi à une forte réaction dopaminergique ainsi qu'à un phénomène de sensibilisation comportementale (l'organisme réagit au produit de façon de plus en plus intense) (Tassin, 2008).

➤ **Rôle des interneurones GABAergiques**

Les neurones dopaminergiques constituant le système de récompense sont en particulier sous l'effet excitatrice des neurones glutamatergiques provenant du cortex préfrontal, ainsi que sous l'effet inhibitrice des interneurones GABAergiques présentes dans l'aire tegmentale ventrale (ATV) (Noble, 2008). De plus, l'activité des inters neurones GABAergiques de l'ATV serait également sous l'influence du système sérotoninergique endogène (Noble, 2008). En effet, l'ATV reçoit une innervation 5-HT relativement dense provenant du raphé médian et dorsal, et la sérotonine peut agir au niveau présynaptique des terminaisons GABAergiques pour inhiber la libération de GABA et réduire l'activation des récepteurs GABA_B. Il a été démontré que cette inhibition met en jeu les récepteurs 5-HT_{1B} (Johnson *et al.*, 1992). Par ailleurs, l'activation des récepteurs 5-HT_{2C}, via l'activation des

interneurones GABA de l'aire tegmental ventrale, est capable de diminuer la libération de dopamine dans le cortex (Millan *et al.*, 1998).

1.5 Différentes formes d'addiction

Il existe deux grands types d'addiction : l'addiction aux substances psychoactives et l'addiction sans substance ou addiction comportementale. Dans le premier cas, les substances psychoactives concernées sont la cocaïne, le tabac, l'alcool, certains médicaments (amphétamine, morphine) et les dérivés de synthèse (méthamphétamine) (Assurance, 2025). Le second type fait référence à une addiction sans prise de substance. Il est lié à un comportement irrépressible et incontrôlé envers les jeux de hasard, d'argent et les jeux vidéo (Assurance, 2025).

Chez l'homme, le diagnostic de l'addiction à la cocaïne à court terme, lors des premières prises, présente des effets tels que la sensation de bien-être et d'euphorie, associés à un effet psychostimulant. Il s'agit précisément d'une euphorie intellectuelle, avec exaltation de l'humeur, un sentiment de facilité et de maîtrise, associé à un éveil des sens. Le sujet éprouve une impression de confiance en soi et de puissance mentale et physique croissante. On observe également une plus grande efficacité mentale, une impression de clarté de la pensée et un discernement plus vif (Charles-Nicolas *et al.*, 2009). À ce sentiment de plaisir s'associe une stimulation de la vigilance, avec disparition de la sensation de fatigue, augmentation de l'énergie, disparition du besoin de sommeil et insomnie (Charles-Nicolas *et al.*, 2009). La cocaïne (Sigma Aldrich, Saint-Louis, Etats-Unis) entraîne également une baisse des inhibitions sociales, une facilitation de la communication et une augmentation de la libido. Il est souvent possible d'observer, dès les premières prises, des manifestations anxieuses et un sentiment de perte de contrôle. De même, les premières prises de cocaïne peuvent s'accompagner d'un comportement agressif, d'un sentiment de méfiance et d'idées d'oppression. Après la fin des effets euphorisants, on observe une phase de descente avec inversion de l'humeur (Charles-Nicolas *et al.*, 2009). L'anxiété prend alors le relais, ainsi que la dépression, l'irritabilité, le manque de confiance en soi. Le consommateur de cocaïne est alors pris d'un désir irrépressible de rechercher une nouvelle dose (Charles-Nicolas *et al.*, 2009).

1.6 Neurobiologie de l'addiction aux drogues

Toutes les substances toxicomanogènes agissent sur le circuit de récompense et stimulent la libération de dopamine au niveau du noyau accumbens, mais ont des cibles pharmacologiques différentes. Cette stimulation et les effets de renforcement positif qui en résultent sont nettement plus puissants que ceux induits par les récompenses naturelles (manger, boire) (Scuvée-Moreau, 2013). La consommation répétée de drogues entraîne des modifications neurobiologiques durables au sein du circuit de récompense et des régions associées. Cela aboutit à une reprogrammation des circuits neuronaux impliqués dans le plaisir, la motivation, la mémoire, le conditionnement, les fonctions

exécutives, le jugement et le contrôle de soi. Une tolérance aux effets renforçant des récompenses naturelles est observée, en même temps qu'une sensibilisation aux effets motivationnels des drogues et des stimuli associés à leur consommation (Scuvée-Moreau, 2013). Le comportement s'oriente alors de plus en plus exclusivement vers la recherche et la consommation de drogue. L'absence de drogue s'accompagne de sensations émotionnelles négatives, de signes de manque et d'une envie intense de consommer «craving», qui sont des éléments clés de la rechute (Scuvée-Moreau, 2013).

Le circuit de la récompense (Figure 5), découvert par Olds et Milner en 1954, joue un rôle dans les effets de la récompense positive. Il comprend notamment les neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale (ATV) et le « Media Forebrain Bundle» (MFB) (Koob, Volkow, 2010).

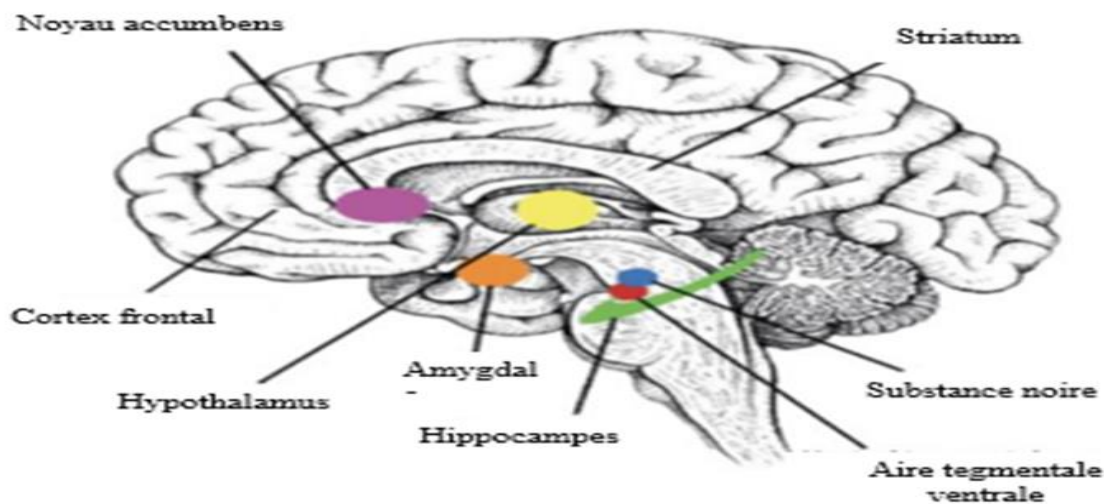


Figure 5 : Principales structures du système de récompense (Lam et Jadavji, 2018).

Les neurones dopaminergiques de l'ATV jouent un rôle important dans le circuit de la récompense. L'activation du système de récompense via l'ATV est caractérisée par une libération de dopamine dans la voie dopaminergique mésolimbique dans le noyau accumbens (NA) et dans le cortex préfrontal. La libération de dopamine par l'ATV est inhibée par les neurones GABAergiques du cortex préfrontal (Mukhara et al., 2018).

Le noyau accumbens est au cœur du processus d'addiction en convertissant les signaux émotionnels en actions motivées (Scuvée-Moreau, 2013).

Le cortex préfrontal est impliqué dans la motivation, le jugement, la planification, la focalisation de l'attention et la mise en œuvre de comportements adaptés à chaque situation rencontrée (Thérèse et Laurent, 2012).

L'amygdale, centre des émotions est impliqué dans le ressenti du caractère plaisant ou non des expériences faites par une personne (Thérèse et Laurent, 2012)

I.7 Addiction à la cocaïne

I.7.1 Définition et prévalence

L'addiction est une maladie neuropsychiatrique de rechute persistante, caractérisée par la recherche et la consommation compulsive et incontrôlée d'une substance psycho-active, associée à l'émergence d'un état émotionnel négatif lors d'un sevrage à cette substance (Puig, 2012).

Selon le National Institute on Drug Abuse (NIDA), la tranche d'âge la plus exposée au risque de consommation de cocaïne est celle des jeunes adultes, âgés de 18 à 25 ans. Certaines théories suggèrent que les femmes ressentent les effets de la cocaïne plus intensément que les hommes, ce qui les rendrait plus susceptibles de devenir dépendantes (Miller, 2025). En 2022, l'Office des Nations unies contre la drogue et le crime (ONUDD) recensait environ 23 millions de consommateurs de cocaïne dans le monde (ONUDD, 2024).

L'arrêt de la prise de cocaïne ne provoque pas de symptômes physiques marquants, mais peut entraîner des symptômes psychiques dont l'évolution varie au cours de la période de sevrage. Chez l'homme, on observe cliniquement trois phases dans la symptomatologie de la période d'abstinence : la première phase, ou « crash », se caractérise par un effondrement dépressif associé à des manifestations anxieuses, à des sensations de fatigue et de sommeil. Cette phase peut durer plusieurs jours (Gawin et Kleber, 1986).

La deuxième phase peut se prolonger pendant plusieurs semaines et se caractérise par un état d'anhédonie, c'est-à-dire un manque de motivation et une anxiété élevée (Gawin et Kleber, 1986).

La troisième phase, quant à elle, se caractérise par une stabilisation de l'humeur et des émotions, mais elle peut être marquée par des envies épisodiques et irrésistibles de drogue, déclenchées par le stress ou par des indices environnementaux liés à la consommation de drogue (Gawin et Kleber, 1986). Ces envies irrésistibles peuvent même survenir des années après l'arrêt de la consommation de drogue. Les rongeurs présentent également des symptômes similaires à ceux observés chez l'homme (anxiété, anhédonie, troubles du sommeil, etc.).

Chez le rongeur, on observe une augmentation du niveau d'anxiété suite à l'administration aiguë ou chronique de cocaïne, et ce dans plusieurs paradigmes expérimentaux, ainsi que l'apparition d'un état d'anhédonie pendant la période de sevrage chez des rats exposés à la cocaïne (Gawin et Kleber, 1986).

En cas d'intoxication aiguë, la cocaïne peut provoquer des crises cardiaques. À long terme, elle peut entraîner des atteintes physiques graves au niveau du cœur et de ses vaisseaux (troubles du rythme cardiaque, thromboses artérielles et veineuses, etc.), des atteintes respiratoires (bronchospasmes, pneumothorax, hémorragies), des atteintes ORL (lésions de la cloison nasale), des atteintes neurologiques (AVC), des atteintes psychiatriques (psychoses, paranoïa, crises de panique, dépression) et des atteintes dermatologiques (Nutt *et al.*, 2007).

I.7.2 Etiologie

De vastes études épidémiologiques ont démontré que le risque de développer une addiction à la cocaïne était en grande partie (environ 50%) génétique au quel on associe la sensibilité propre de l'individu avec son environnement social (Comings *et al.*, 1997 ; Nestler et Malenka, 2004).

I.7.3 Sémiologie

L'addiction constitue un processus complexe d'installation progressive. D'après le manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux (DSM IV), il existe trois types de consommations de substances psychoactives qui sont définies par un usage, l'abus de substance et l'addiction. En effet, lors des premières prises de cette dernière, elle est généralement utilisée à titre récréatif. L'usage de cette dernière renvoie à une consommation occasionnelle n'entraînant ni complications somatiques ni dommages physique (Karila *et al.*, 2012).

L'abus de la cocaïne survient lors d'un usage plus régulier et entraîne des conséquences psychoaffectives et sociales néfaste sur la vie de l'individu. Elle est caractérisée par une compulsion de recherche et de la prise de drogue, une perte de la capacité à contrôler sa consommation avec l'émergence d'un état émotionnel négatif (les symptômes d'anxiété, d'irritabilité...) lors du sevrage (Koob *et al.*, 2004).

Par ailleurs, l'addiction s'accompagne d'une augmentation du risque de complications cardiovasculaires (troubles du rythme cardiaque), neurobiologiques (accident vasculaire cérébral), infectieuses ou psychiatriques (attaques de panique) (Karila *et al.*, 2012). Le tableau 1 ci-dessous représente les critères diagnostiques de l'addiction selon le DSMIV (Rappeneau, 2013).

Tableau 1 : Critères diagnostiques de l'addiction selon le DSMIV

Compulsion de recherche et de prise de drogue	Désir puissant, compulsif et irrésistible d'utilisation d'une substance psycho-active (« craving »)
	Beaucoup de temps consacré à des activités nécessaires pour obtenir ou utiliser la substance, ou récupérer des effets de la substance
	Abandon ou réduction des activités sociales, professionnelles ou des loisirs, à cause de l'utilisation de la substance
Perte de contrôle de la capacité à contrôler sa consommation	Substance prise en quantité plus importante ou pendant une période plus longue que prévue
	Utilisation de la substance malgré la prise de conscience des problèmes psychologiques ou physiques persistants ou récurrents, susceptibles d'avoir été causés ou exacerbés par la substance
Phénomène de tolérance	Besoin de quantités plus importantes de la substance pour obtenir une intoxication ou l'effet désiré
	Effets notablement réduits en cas d'utilisation continue d'une même quantité de substance
Emergence d'un état émotionnel négatif quand la drogue n'est pas disponible	Syndrome de sevrage caractéristique de la substance
	La même substance (ou une substance proche) est prise pour soulager ou éviter les symptômes de sevrage

I.8 Physiopathologie de l'addiction à la cocaïne

De nombreuses théories ont été proposées pour expliquer le passage progressif d'une consommation contrôlée de la drogue à l'addiction à la cocaïne (Robinson et Berridge, 2003). Ces théories sont :

i) Théorie du renforcement positif

Selon cette théorie, la cocaïne serait initialement prise pour le plaisir qu'elles donnent (Wise, 1996). Cependant, la reprise de consommation induirait des processus neuroadaptatifs, conduisant à une diminution des effets plaisants (la tolérance) et progressivement à l'addiction. Lors de l'arrêt de la consommation, les symptômes de sevrage apparaissent. Ce sont des symptômes déplaisants, ce qui permet un maintien de la consommation compulsive de la drogue pour éviter le mal-être ainsi que les effets négatifs liés à ce dernier (Koobs et Bloom, 1988).

ii) Théorie des processus opposants

La théorie des processus opposants, tout comme la précédente, est fondée sur le fait que la drogue serait initialement consommée pour ses effets plaisants, puis pour éviter les effets du mal-être. Cette théorie dit que la consommation de drogue activerait de manière dose-dépendante un processus plaisant

dans le circuit de la récompense, qui en retour déclenche l'activation d'un processus opposé avec pour but de restaurer l'homéostasie cérébrale. La somme de ces deux processus définit l'état ressenti par l'individu (Solomon et Corbit, 1978).

iii) Théorie de l'apprentissage aberrante

La théorie de l'apprentissage aberrante émerge du constat que l'exposition répétée aux drogues facilite certaines formes d'apprentissages (Harmer et Phillips, 1998 et 1999) et quelle est capable d'induire, dans les neurones impliqués dans la récompense des processus neuroadaptatifs similaires à ceux observés lors d'un apprentissage (Hyman et Malenka, 2001).

iv) Théorie de la sensibilisation de la motivation

Selon cette théorie, on peut dissocier la valeur hédonique que propose la drogue de sa valeur motivationnelle puisque ces deux valeurs ne font pas intervenir les mêmes réseaux neuronaux (Robinson et Berridge, 1993). La valeur hédonique serait sous-tendue par la neurotransmission opioïde du noyau accumbens alors que la valeur motivationnelle dépendrait du système dopaminergique (Berridge, 2003).

I.9 Modèles animaux de l'addiction aux drogues

Les modèles animaux constituent un élément fondamental des protocoles expérimentaux chez l'animal pour permettre de simuler la progression d'une maladie, son diagnostic et un traitement similaire à celui de l'humain (Mukherjee et al., 2022).

Comme modèles animaux, on utilise ceux qui permettent d'identifier les différentes phases des troubles liés à l'usage de cocaïne, ainsi que ceux qui permettent de mesurer les effets motivationnels incitatifs d'un environnement.

i) Préférence de place conditionnée

La préférence de place est un modèle de conditionnement Pavlovien qui est constitué d'une phase d'entraînement pendant laquelle les environnements associés aux injections de drogue ou de liquide physiologique sont différents. Lors de la phase de test, aucune solution n'est administrée aux animaux et la préférence de l'animal pour un des environnements est déterminée par le temps qu'il va passer dans chaque compartiment du dit environnement. Une augmentation du temps passé dans le compartiment associé à la drogue (la cocaïne) permet de rendre compte de l'effet renforçant de la drogue (Bardo et Bevins, 2000).

ii) Auto-administration

Dans ce modèle, l'animal doit effectuer un comportement comme appuyer sur un levier pour recevoir de la drogue. Celle-ci peut être donnée soit par voie intraveineuse grâce à un cathéter ou soit par

voie orale à l'aide des biberons ou des pipettes. Ce modèle se base sur un acte volontaire (Lenoir *et al.*, 2007).

iii) La sensibilisation comportementale ou tolérance inverse

La sensibilisation comportementale correspond à l'élévation progressive de l'activité locomotrice de l'animal au fur et à mesure des injections d'une même dose de drogue. C'est un phénomène qui se maintient au long-terme, puisque l'activité maximale atteinte peut être retrouvée avec une nouvelle injection de drogue après au moins un mois de sevrage (Salomon *et al.*, 2006).

I.10 Traitement

Le traitement de l'addiction à la cocaïne se fait en utilisant les médicaments (pharmacothérapie) auquel on assoie les thérapies comportementales (psychothérapie) (Gothuey, 2006).

➤ **Cas des médicaments**

Plusieurs médicaments ont été proposés, mais aucun n'a été concrètement accepté pour le traitement de cette maladie, en raison des résultats peu encourageants (Murthy et Chand, 2012). Parmi eux, on compte les agents GABAénergétiques (le baclofène), les médicaments dopaminergiques (le disulfiram, le manzindol), l'approche substitutive (le méthylphénidate LP), les agents glutamatergiques (la N-Acétyl Cystéine) et l'immunothérapie avec le vaccin anticocaïne (Karila et Reymaud, 2009) ; (Martell *et al.*, 2005). Le Manzindol, par exemple, agit contre l'appétit en se liant aux récepteurs de la dopamine plus fermement que la cocaïne (Marieb et Hoehn, 2015). Le baclofène possède une structure qui est équivalente à celle du GABA, c'est un agoniste récepteur GABA_B et est particulièrement localisé dans la structure cérébrale du système limbique (Labat et Mégarbane, 2019).

De plus, certaines plantes sont aussi utilisées pour traiter l'addiction. C'est le cas de *l'Iboga* qui grâce à son principe actif l'ibogaïne, qui est un psychotrope utilisé au Gabon pour réduire les symptômes de manque (Nuwer, 2023).

➤ **Cas des thérapies comportementales**

Les thérapies comportementales correspondent aux thérapies cognitivo-comportementales, qui, selon des recherches, ont fait preuve de leur efficacité en association avec différentes pharmacothérapies. Leur fondement théorique est la théorie de l'apprentissage social, qui repose sur trois composantes : le conditionnement opérant, le modeling et le conditionnement classique (Karila *et al.*, 2009).

I.11 Etude botanique de *Citrus medica*

I.11.1 Description

Citrus medica est un arbre originaire de la région orientale de l'Asie du Sud-Est (Wu *et al.*, 2018). C'est une espèce d'agrumes largement utilisée dans la médecine traditionnelle indienne. Le fruit est un arbuste vivace qui atteint généralement une hauteur de 4 à 8 m avec des branches poivrées (Carvalho *et al.*, 2005). *Citrus medica* est une plante de la famille des Rutaceae dont les fruits jaunes-orange sont oblongs/rond de taille variant entre 20 cm et 30 cm de long (Choden *et al.*, 2023).



Figure 6: Feuilles, fruits et tige d'un citronnier (Navnidhi *et al.*, 2018)

I.11.2 Taxonomie

La classification systématique de *Citrus medica* L. est la suivante d'après Niary Iriantsoa en 2015 :

Règne	Plantae
Embranchement	Angiospermes
Classe	Equisetopsida
Sous-classe	Magnoliidae
Super-ordre	Rosanae
Ordre	Sapindales
Famille	Rutaceae
Genre	<i>Citrus</i>
Espèce	<i>Citrus medica</i>

I.11.3 Usages traditionnelles et pharmacologiques

En raison de son parfum excellent, le *Citrus medica* est utilisé dans les domaines de la parfumerie, de la cosmétique, de l'alimentation et des boissons (Navnidhi *et al.*, 2018). Les bénéfices santé des fruits d'agrumes ont été attribués à la présence de composés bioactifs tels que les composés phénoliques (les flavonoïdes et les polyphénols), la vitamine C et les caroténoïdes (Nouria, 2023). Ils présentent de nombreux avantages nutraceutiques : antihypertenseur, diurétique, prébiotique, antifongique, vermifuge,

antimicrobien, analgésique, anticancéreux, antidiabétique, œstrogénique, antiulcéreux, cardioprotecteur, antidiabétique, antiprolifératif (Chhikara *et al.*, 2018 ; Eliaz *et al.*, 2008).

Des études précliniques ont démontré le potentiel neuroprotecteur des flavonoïdes d'agrumes grâce à leurs propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes (Flanagan *et al.*, 2020 ; Vauzour *et al.*, 2017). Les polyphénols grâce à leurs propriétés anti oxydantes aident à protéger le corps des maladies neurologiques telles que la maladie d'Alzheimer et la démence (Guifei, 2025). De plus, une étude toxicologique sur un mélange permettant de soigner l'hypertension a montré que *C. medica* en toxicité aiguë et subaiguë n'a entraîné aucun décès chez les animaux testés (Nsangou *et al.*, 2025).

I.11.4 Phytochimie

Les études phytochimiques menées sur *Citrus medica* ont montrés la présence des métabolites tels que: l'isolimonène, le citral, le limonène, les composés phénoliques, les flavonones, la vitamine C, la pectine, les tanins, le linalol, le décanal et le nonanal qui lui confèrent de nombreux bienfaits pour la santé (Chhikara *et al.*, 2018).

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel végétal

Le choix de *Citrus medica* comme matériel végétal a été fait sur la base de nombreuses études scientifiques notamment sur les effets anti oxydants et neuroprotecteur (Flanagan *et al.*, 2020 ; Vauzour *et al.*, 2017). Le matériel végétal était constitué de fruits frais mur de *Citrus medica* L. collectés en novembre 2024 dans la localité de Ntui, Région du Centre. L'identification botanique de l'échantillon a été réalisée dans le cadre d'études antérieures par comparaison avec le spécimen N° 65106 de la collection d'herbier National du Cameroun.

II.1.2 Matériel animal

Les animaux utilisés pour l'expérimentation étaient des souris mâles Albinos de race Swiss provenant de l'animalerie du laboratoire de Biologie et Physiologie Animales de l'Université de Yaoundé I. Âgées de 8 à 12 semaines, elles ont été acclimatées pendant 2 semaines, puis placées dans des cages en plastique fermées à l'aide d'un grillage, contenant des copeaux de bois avec chaque cage contenant au maximum six souris. Les souris étaient toutes gardées à l'animalerie du Laboratoire de Physiologie Animale et Recherche Thérapeutique de l'Université de Yaoundé I, où elles étaient entretenues et nourries régulièrement avec un aliment dont la composition était la suivante : 60 % de maïs, 10 % de blé, 5 % de poudre d'arachide, 4 % de poudre d'os, 20 % de poisson et 1 % de complexe vitaminique, pour un sac de 50 g.

II.1.3 Produits chimiques

Les substances chimiques utilisées pour induire et traiter la pathologie provenaient de Sigma Aldrich (Saint-Louis, États-Unis). Ces substances étaient la cocaïne (poudre 5 mg/kg) et le baclofène (comprimé 5mg/kg). Pour la quantification du GABA, de la sérotonine, du MDA, de la SOD, les réactifs ont été obtenus auprès de Sigma-Aldrich (ASA).

II.1.4 Dispositif expérimental

Pour évaluer les troubles comportementaux liés au sevrage à la cocaïne, les dispositifs expérimentaux utilisés dans cette étude étaient les suivants : l'arène ouverte, le labyrinthe en croix surélevé, le dispositif de préférence de place conditionné et le dispositif des trois chambres.

➤ L'arène ouverte

L'arène ouverte est un dispositif en forme carrée aux bords élevés, éclairée en son centre avec le plancher et les murs faites de bois. Sa surface d'exploration est divisée en carreaux de dimensions égales. Les côtés mesurent 40 cm avec une hauteur de 45 cm et possède un carreau central dont les côtés font 10

cm (Figure 7) (Luikinga *et al.*, 2019). Il s'agit d'un dispositif utilisé pour évaluer l'activité exploratoire et dans une certaine mesure l'anxiété des rongeurs (Luikinga *et al.*, 2019).

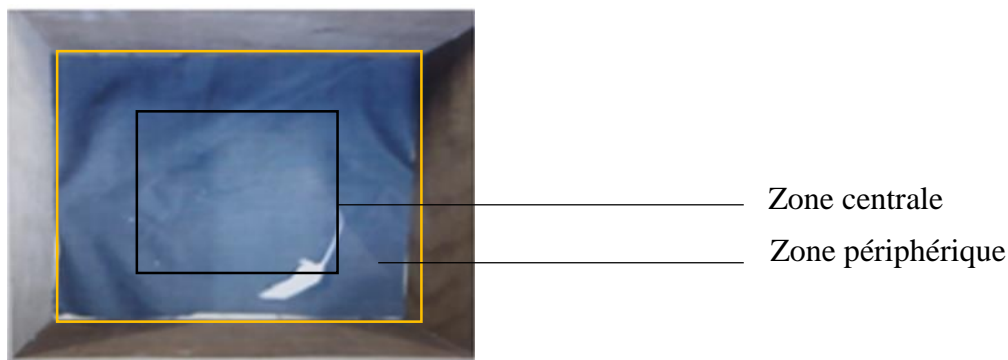


Figure 7 : Dispositif de l'arène ouverte

◆ Principe

Dans le dispositif de l'arène ouverte, le comportement naturel d'une souris est l'exploration spontanée de l'environnement nouveau et spacieux dans lequel elle est placée. La motricité (déplacement) et le cabrage (se lever sur ses pattes arrière) sont appréciés. Cependant, le caractère nouveau, ouvert et éclairé de l'environnement déclenche des comportements d'anxiété se traduisant par la préférence des souris pour les zones périphériques par rapport à la zone centrale qui est moins sécurisante.

La stéréotypie, marque l'activité locomotrice dans l'arène ouverte, correspond à des mouvements, des gestes et des actions désordonnés et répétés, associés à une forte activité psychomotrice et à une augmentation du tonus dopaminergique, sous l'effet d'une dose élevée de cocaïne (Schlussman *et al.*, 2005).

➤ Dispositif de la préférence de place conditionnée

Le dispositif de préférence de place conditionné (PPC), est une enceinte rectangulaire avec les plancher et les murs fait en bois. Il comprend une enceinte rectangulaire divisée en trois compartiments : deux latéraux de même dimensions ($19 \times 19 \times 13$ cm) de couleurs différentes, et un compartiment central ($9 \times 9 \times 13$ cm) qui les sépare (Rademacher *et al.*, 2015). Il s'agit d'un dispositif utilisé pour évaluer manuellement ou automatiquement la préférence de place et l'aversion chez les souris (Figure 8) (Taylor *et al.*, 2016).



Figure 8: Dispositif du test de préférence de place conditionnée

Ce test permet d'évaluer la mémoire des effets plaisants de l'addiction à une substance. En effet, ce modèle permet d'évaluer les effets renforçant des différentes substances comme la cocaïne (Rademacher *et al.*, 2015).

Principe

Le test s'appuie sur le conditionnement pavlovien. Il évalue les propriétés hédoniques (plaisir ou aversion) d'une substance. En effet, dans le dispositif à trois chambres, une souris placée dans la chambre centrale a tendance à aller séjourner plus longtemps dans la chambre où son séjour préalable a été associé de façon répétitive à l'administration d'une substance qui lui a procuré du plaisir, que la chambre dans laquelle elle a eu moins de plaisir.

➤ Dispositif du labyrinthe en croix surélevé

Le labyrinthe en croix surélevé est un dispositif en forme de croix comprenant quatre bras, deux ouverts et deux fermés. Les bras se trouvaient à 50 cm du sol avec des bras qui mesurent 15 cm de long sur 5 cm de large. Les rebords des bras fermés ont une hauteur de 15 cm. Les bras ouverts ont un rebord de 2,5 cm de hauteur (Figure 9). Un animal anxieux aura tendance à rester dans les bras fermés, tandis qu'un animal hyperactif explorera de manière importante les bras ouverts (Macedo *et al.*, 2018).

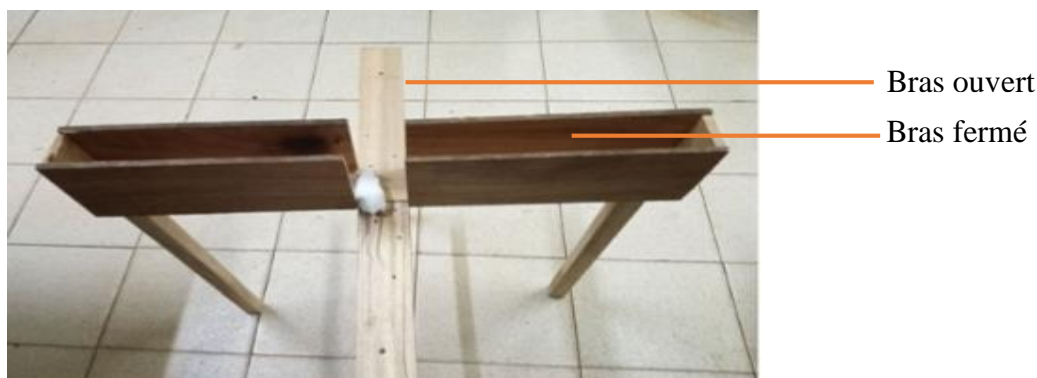


Figure 9: Dispositif du test de la croix surélevée

◆ Principe

Les souris sont naturellement craintives des endroits ouverts et en hauteur. Par ailleurs, elles ont tendance à explorer de nouveaux environnements. Dans le labyrinthe en croix surélevé, les souris sont exposées à un environnement ambivalent qui crée un conflit entre l'aversion de l'espace ouvert en altitude et l'envie d'explorer. Le temps passé dans les bras fermés du labyrinthe est un indicateur de l'anxiété. Plus il est long plus l'animal est anxieux.

II.2 Méthodes

II.2.1 Préparation de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica*

Les fruits de *Citrus medica* ont été soigneusement lavés, découpés et le jus a été recueilli après un pressage manuel puis mis de côté. La pulpe et la peau fraîches restante ont été séchées à l'ombre à température ambiante puis, réduites en poudre fine à l'aide d'une machine. Une quantité de 1300 g de

poudre de *Citrus medica* a été obtenue et introduit dans 5 L d'un mélange hydro-éthanolique (70 :30, V/V) pendant 48 heures. Cette opération a été répétée une fois de plus pour maximiser le rendement d'extraction. Le macérât obtenu a été filtré à l'aide d'un papier Whatman N°3. L'évaporation du macérât filtré sous pression réduite (rotavapor, 70 °C) a permis d'obtenir un extrait concentré qui a été séché à l'étuve à 45 °C. Le schéma du protocole d'extraction est illustré à la figure 10.

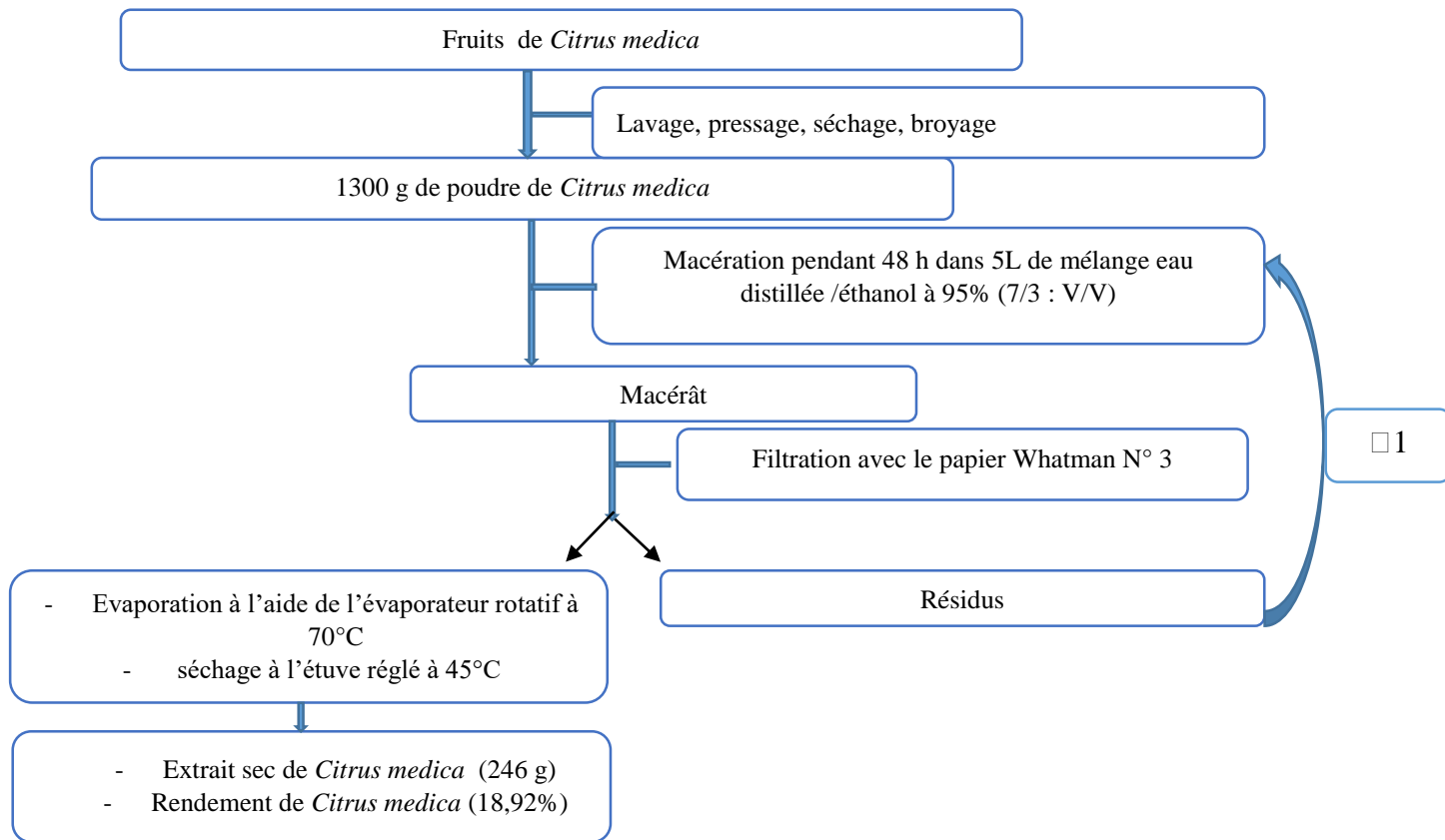


Figure 10: Protocole d'extraction hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica*

Ce processus a permis d'obtenir l'extrait hydro-éthanolique des fruits du *Citrus medica* dont le rendement d'extraction a été déterminé suivant la formule :

$$Rendement(\%) = \left(\frac{\text{masse de l'extrait sec}}{\text{masse de la poudre sèche}} \right) 100$$

II.2.2 Détermination des doses de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica*

Les doses d'extrait hydro-éthanolique sec de fruits de *Citrus medica* testées dans cette étude ont été calculées sur la base des informations recueillies auprès du tradipraticien. En effet, après avoir préparé sa macération, il recommande à ses patients de prendre un verre à café dans lequel une cuillerée de poudre *Citrus medica* est mis par jour et pendant deux semaines. Pour quantifier cette dose traditionnelle, le contenu d'un verre à café (représentant une prise quotidienne) a été évaporé à l'étuve jusqu'à l'obtention d'un extrait hydro-éthanolique sec pesant 1,803 g. Cette masse a été divisée par 70 kg qui représente le poids moyen d'un individu afin de déterminer la dose équivalente humaine (DHE) comme suite ;

$$DHE = \frac{\text{masse de l'extrait hydro - éthanolique se (g)}}{70}$$

Cette formule a permis d'obtenir une DHE de 25,75 mg/kg. En multipliant la DHE par 12,3 qui est le facteur de conversion adapté pour les souris, on a pu obtenir la dose de l'extrait à administrer à l'animal. Cette dose d'extrait a été déterminée à l'aide de la formule d'interpolation de doses inter-espèces qui s'expriment en multipliant la dose humaine équivalente par un facteur de conversion décrit par Nair et Jacob (2016).

$$DA = DHE \times 12,3$$

DA : Dose à administrer (mg/kg) ; DHE : Dose humaine équivalente ; 12,3 : Facteur de conversion adapter aux souris.

Cette dernière formule a permis d'obtenir une dose animale (DA) ou dose thérapeutique de 320 mg/kg qui a été encadrée par deux autres doses : une dose inférieure de 160 mg/kg (obtenue en divisant la DA par 2) et une dose supérieure de 640 mg/kg (obtenue en multipliant la DA par 2).

Vu que la dose animal DA (mg/kg) a administré est connue, ainsi que le poids P (kg) de l'animal et le volume V (ml) de la solution à administrer, les concentrations C (mg/kg) des différentes solutions à préparer ont été déterminées à partir de la formule suivante :

$$C = (DA \times P) / V$$

V = volume de la solution à administrer (ml) ; DA = dose de l'extrait à administrer (mg/kg) ; C = concentration de l'extrait (mg/ml) ; P = masse de l'animal (kg).

II.2.3 Préparation des solutions de travail

➤ Solution de NaCl 0,9 %

Pour préparer une solution de NaCl 0,9 %, 9 g de NaCl ont été dissous dans de l'eau 500 ml. Le volume de la solution a été complété à 1000 ml par ajout d'eau distillée.

➤ Solution de cocaïne (5 mg/kg)

La poudre de cocaïne provenant de Sigma Aldrich a été administrée aux animaux à la dose de 5 mg/kg. Pour préparer cette solution, 50 mg de cocaïne ont été pesés, puis introduits dans une fiole jaugée de 100 ml. Le tout a été solubilisé par ajout de la solution de NaCl, donnant ainsi une solution de concentration 0,5 mg/ml.

➤ Solution de Baclofène

Le baclofène a été administré aux animaux à la dose de 5 mg/kg dans le cadre d'un traitement de l'addiction. Pour préparer cette solution, trois comprimés de baclofène 5 mg/kg (fabriqué par Advacare Pharma) ont été broyés et introduits dans une fiole jaugée de 60 mL. Le volume a ensuite

été ajusté à 60 ml avec de l'eau distillée, après s'être assuré de la solubilisation complète du principe actif.

➤ **Solution de formaldéhyde (formol 4 %) ;**

Pour préparer un litre de formol 4 % (V/V), 6,5 g de phosphate disodique ($\text{Na}_2 \text{HPO}_4$) et 4 g de phosphate monosodique ($\text{NaH}_2 \text{PO}_4$) ont été pesés puis dissous dans 867 ml d'eau distillée. Après agitation pour assurer une dissolution complète, 133 ml d'une solution mère de formaldéhyde (30 %) ont été ajoutés dans le mélange. Il a ensuite été complété à un volume final de 1 000 ml avec de l'eau distillée.

II.2.4 Traitement et suivi des animaux

II.2.4.1 Administration de cocaïne aux animaux

Pour cette expérience, 44 souris (poids moyen : 25 ± 5 g) ont été utilisées, réparties en trois lots : un lot témoin (lot 1) de six souris, un lot cocaïne (lot 2) de 36 souris et un lot de souris sentinelles (lot 3) constitué de 2 souris. Tous les animaux à l'exception des souris du lot 3 ont reçu une injection intrapéritonéale de NaCl ainsi que de cocaïne une fois par jour et cela pendant 19 jours. Le lot 1 recevant du NaCl (0,9%, *i.p*) et le lot 2 de la cocaïne (5 mg/kg, *i.p*) (protocole modifié de Zheng *et al.*, 2017) dissoute dans du NaCl 0,9% (Bruneel, 2018). Les comportements de sevrage ont été observés lors des tests de préférence de place et de l'arène ouverte après les 19 jours d'administration de cocaïne.

II.2.4.2 Répartition et traitement des animaux

Dans cette étude, sur 44 souris au total, six sont mortes après avoir reçu des injections intrapéritonéales de cocaïne. Les 38 souris restantes ont été réparties en sept groupes de la manière suivante : un groupe témoin normal (6 souris) recevait de l'eau distillée (10 ml/kg, *p.o*); un groupe témoin négatif (6 souris) recevait de l'eau distillée (10 ml/kg, *p.o*); un groupe témoin positif (6 souris) recevait le baclofène (5 mg/kg, *p.o*); trois groupes tests de six souris chacune recevait les doses de 160, 320 et 640 mg/kg, *p.o* ; un groupe de souris sentinelle (2 souris) ne recevant aucune substance. Le schéma récapitulatif de l'expérience est représenté à la figure 11 après

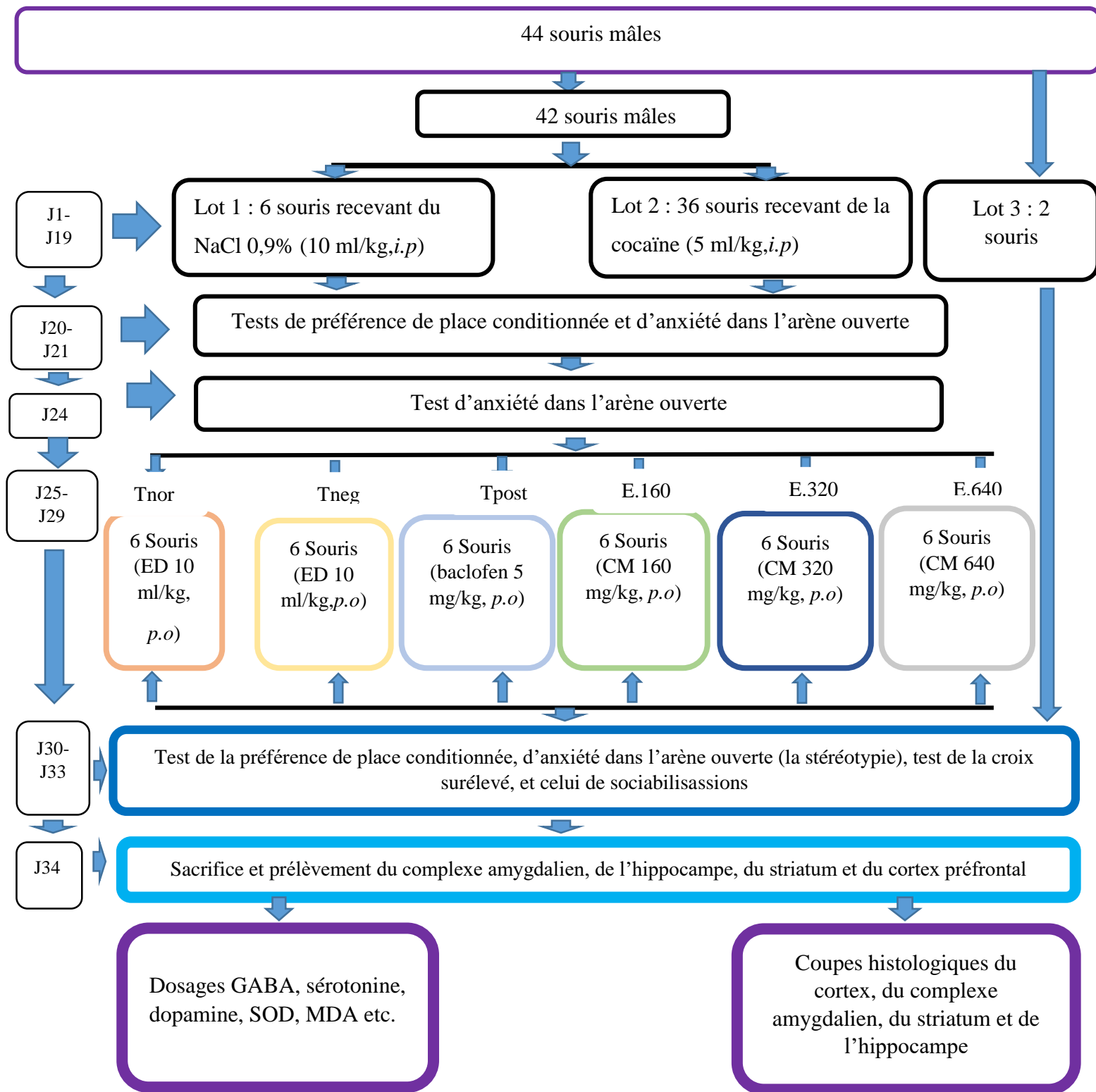


Figure 11 : Protocole expérimental des différentes activités

p.o = per os, i.p = intrapéritonéale, J = jour, ED = eau distillée, Tnor = témoins normale, Tneg = témoins négatif, Tpost = témoins positif, CM = *citrus medica*, GSH = glutathion réduit, MDA = malondialdéhyde, SOD = superoxyde dismutase.

II.2.4.3 Sacrifice et prélèvement des cerveaux pour préparation des homogénats et réalisation des coupes histologiques

Après anesthésie au coton imbibé d'éther, les souris ont été décapitées et le cerveau de chacune d'elle prélevé. Certains cerveaux ont été fixés dans du formol 4% pour la réalisation des coupes

histologiques. Par contre, d'autres cerveaux ont été emballés dans du papier aluminium, mis dans de la glace (pour solidification), puis disséqués sur une plaque à dissection maintenue à froid (afin d'extraire facilement ces structures). Les zones tels que le cortex, le complexe amygdalien, l'hippocampe et le striatum ont été isolées et utilisées pour la préparation des homogénats.

Pour la préparation des homogénats 20 %, les parties du cerveau isolées préalablement ont été pesé puis broyées à l'aide d'un mortier et d'un pilon. Ensuite, 2 ml de tampon Tris (pH = 7,1 ; 0,1 M) ont été ajoutés aux parties broyées. Le mélange a été centrifugé à 10 000 tours/minute pendant 15 min. Le surnageant obtenu a ensuite été préalablement pipeté puis mis dans des cryotubes étiquetés et conservé à -20 °C au congélateur pour des dosages ultérieurs.

II.2.5 Évaluation de quelques médiateurs biochimiques

II.2.5.1 Dosage de la dopamine

Principe

En présence de l'acide chlorhydrique, la dopamine va s'oxyder pour donner un dérivé de l'indole qui va s'associer aux trihydroxyindoles. Ce mélange forme un complexe fluorescent, dont l'absorbance à 485 nm est proportionnelle à la concentration de la dopamine.

La concentration de dopamine a été exprimée en fg/ml de tissu grâce à la formule suivante :

$$C = \frac{A}{\epsilon l}$$

Pour la dopamine, $\epsilon = 2800 \text{ L/mol/cm}$.

A= absorbance (sans unité) ; ϵ = coefficient d'extinction molaire (en L/mol/cm) ; I= longueur du trajet parcouru par la lumière (en cm); C= concentration de la substance (en fg/ml).

II.2.5.2 Dosage de la sérotonine

Principe

En présence de l'acide chlorhydrique, la sérotonine va s'oxyder pour donner un dérivé de l'indole. Ce dérivé va s'associer à l'O-phthaldialdéhyde pour donner un complexe fluorescent. L'absorbance a été observé à 450 nm proportionnellement à la concentration de la sérotonine dans l'homogénat.

La concentration de sérotonine a été exprimée en fg/ml de tissu grâce à la formule suivante :

$$C = \frac{A}{\epsilon l}$$

Pour la sérotonine, $\epsilon = 5500 \text{ L/mol/cm}$.

A= absorbance (sans unité) ; ϵ = coefficient d'extinction molaire (en L/mol/cm) ; I= longueur du trajet parcouru par la lumière (en cm) ; C= concentration de la substance (en fg/ml).

II.2.5.3 Dosage de l'acide gamma-amino butyrique

Principe :

En milieu basique, la réaction entre la ninhydrine et l'acide gamma-amino butyrique (GABA) donnera une coloration rouge violacée. L'absorbance mesurée à 530 nm est proportionnelle à la concentration de GABA dans l'homogénat.

La concentration de GABA a été exprimée en ng/ml de tissu grâce à la formule suivante :

$$C = \frac{A}{\epsilon l}$$

A= absorbance (sans unité) ; ϵ = coefficient d'extinction molaire (en L/mol/cm) ; I= longueur du trajet parcouru par la lumière (en cm); C= concentration de la substance (en ng/ml).

II.2.5.4 Dosage de la noradrénaline

Principe

En présence de la ferricyanide de potassium, la noradrénaline s'oxyde pour donner la noradrénohrome ; cette dernière en présence d'une solution d'ascorbate alcaline est convertie en noradréno-lutine fluorescente dont l'absorbance entre 395 et 485 est proportionnelle à la concentration de la noradrénaline.

Mode opératoire

La concentration de noradrénaline a été exprimée en fg/ml de tissu grâce à la formule suivante :

$$C = \frac{A}{\epsilon l}$$

A= absorbance (sans unité) ; ϵ = coefficient d'extinction molaire (en L/mol/cm) ; I= longueur du trajet parcouru par la lumière (en cm); C= concentration de la substance (en fg/ml).

II.2.6 Evaluation des marqueurs du statut oxydant

II.2.6.1 Dosage de malondialdéhyde

Principe

En milieu acide et à chaud (100°C), le malondialdéhyde (MDA) forme l'aldéhyde malonique. Ce composé réagit avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe rose. L'absorbance de ce complexe à 535 nm rend compte de la quantité de MDA présent dans le milieu réactionnel.

Les différentes concentrations de MDA dans les échantillons, ont été déterminées à l'aide de la formule suivante:

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/g de tissu}) = \frac{\text{DO} \times \text{Vt}}{\epsilon \times l \times \text{Vi} \times m} \times 10^6$$

DO = densité optique ; V_t = volume total de surnageant (ml) ; V_i = volume utilisé pour le dosage (ml) ; m = masse de tissu (g) ; l = longueur de la cuve = 1 cm ; ϵ = coefficient d'extinction molaire = $1,56 \cdot 10^5 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

II.2.6.2 Dosage de glutathion réduit

Principe

La réaction entre l'acide 2,2'-dithio-5,5'-dinitrobenzoïque (DTNB) et les groupements thiols (-SH) du glutathion produit un complexe coloré jaune qui est absorbé à 412 nm.

La concentration de la GSH exprimée en ng/g de tissu a été calculée grâce à la formule suivante :

$$\text{GSH}(\mu\text{mol/g de tissu}) = \frac{\text{DO} \times \text{Vt}}{\varepsilon \times \text{L} \times \text{Ve} \times \text{m}} \times 10^6$$

DO = densité optique ; V_t = volume total de surnageant (ml) ; V_e = volume utilisé pour le dosage (ml) ; m = masse de tissu (g) ; l = longueur de la cuve = 1 cm ; ε = coefficient d'extinction molaire = 13600 mol⁻¹.cm⁻¹.

II.2.7. Analyses histologiques

L'analyse histologique est la technique de préparation des tissus en vue de leur observation au microscope. L'analyse histologique a été réalisée selon la méthode décrite par Kim et Christopher (2019). Très succinctement, elle comprend les étapes suivantes : la fixation, la recoupe ou « trimming », la déshydratation, l'inclusion, la coupe, la coloration, le montage et l'observation.

- **Fixation**

L'objectif de la fixation est de maintenir les cellules et les constituants tissulaires dans un état aussi proche que possible de celui du vivant. Ainsi, après avoir euthanasié les animaux, les cerveaux ont été prélevés et conservés immédiatement dans du formol à 4%.

- **Recoupe**

Une fois fixés dans du formol pendant un mois, ces cerveaux ont été « trimmés ». À cette étape, il a été question de couper le tissu de manière à lui donner une épaisseur inférieure à celle des cassettes de déshydratation. Les tissus coupés ont été déposés dans des cassettes étiquetées et ont été plongés pour une durée de 1 heure, dans un premier bain d'alcool 70°, première étape du processus de déshydratation.

- **Déshydratation**

La déshydratation, s'est déroulée en trois étapes successives : La déshydratation proprement dite ; l'éclaircissement ; et l'imprégnation.

➤ **Déshydratation proprement dite**

Cette étape a pour but de débarrasser les échantillons de toute trace d'eau avant leur inclusion dans de la paraffine. Elle a consisté à laisser les tissus dans des bains d'alcool de concentrations croissantes respectives de 7% (1 h), 95% (1 h), 95% (1 h 30), 100% (1 h), 100% (1 h 30), 100% (2 h).

➤ **Éclaircissement**

L'éclaircissement a consisté à remplacer la solution de déshydratation qui est l'alcool par le solvant miscible dans le milieu d'inclusion. Les cassettes ont séjourné dans deux bains de xylène consécutifs. Un premier bain de deux heures et un deuxième bain "over night".

➤ **Imprégnation**

Cette étape a consisté à introduire les organes dans un bain de paraffine en fusion pendant 4 h 30 min dans la station d'enrobage de marque Microm Heidelberg.

- **Inclusion**

L'inclusion est le procédé qui fournit un support externe aux tissus, ce qui permet la réalisation de fines coupes au microtome. Les tissus ont été placés selon une orientation précise (en diagonale) dans des moules en inox qui ont par la suite été remplis de paraffine en fusion. L'ensemble a été mis à solidifier sur une plaque réfrigérée pour en obtenir des blocs.

- **Coupe**

La coupe des blocs de paraffine contenant les tissus a été réalisée à l'aide d'un microtome de marque Reichert-Jung 2030. L'épaisseur des rubans après coupe était de 7 µm. Une fois coupées, les sections de rubans ont été mises à déplier dans un bain-marie contenant de l'eau gélatinée à environ 45°C. Elles ont été récupérées sur des lames de verre étiquetées et séchées à l'étuve à 45 °C, pendant 24 heures avant coloration.

- **Coloration**

La coloration a pour but de mettre en évidence les différents éléments tissulaires et de les différencier entre eux afin de permettre l'étude de leur structure, de leur morphologie et des éventuelles modifications pathologiques. Avant l'étape de la coloration, les coupes ont d'abord été déparaffinées. Le protocole de déparaffinage est consigné dans le tableau 2. Immédiatement après l'étape de déparaffinage, les lames portant les coupes de tissus ont été colorées à l'hématoxyline et à l'éosine. Les étapes de cette coloration sont résumées dans le tableau 3.

Tableau 2: Protocole de batteries de déparaffinage.

Ordre	Solution	Temps de séjour	Ordre	Solution	Temps de séjour
1	Xylène	10 min	5	Ethanol 100°	3 min
2	Xylène	10 min	6	Ethanol 100°	3 min
3	Xylène	10 min	7	Eau distillée	10 min
4	Ethanol 100°	3 min			

Tableau 3 Etapes de coloration à l'hématoxyline et l'éosine

Ordre	Solution	Temps de Séjour	Ordre	Solution	Temps de séjour
8	Hématoxyline de Mayer	10 min	14	Ethanol 100%	1 min
9	Rinçage à l'eau courante	10 min	15	Ethanol 100%	1 min
10	Carbonate de sodium 0,5%	15 s	16	Xylène	5 min
11	Rinçage à l'eau distillée	5 min	17	Xylène	5 min
12	Eosine à l'alcool 0,5%	5 min	18	Xylène	5 min
13	Ethanol 100%	1 min	19	Montage sous résine	

➤ **Montage**

L'étape de montage entre lame et lamelle a directement suivi la coloration. Pour ce faire, quelques gouttes de résine synthétique de marque Eukit ont été déposées sur la lame portant la coupe colorée avant apposition d'une lamelle. Les coupes de tissus sur les lames ont ainsi été protégées et conservées. Les lames colorées à l'hématoxyline et l'éosine puis montées ont été observées à différents grossissements, à l'aide d'un microscope optique de marque Scientico STM-50 muni d'une caméra digitale de marque Celestron 44421 connectée à un ordinateur pour la prise des photomicrographies. Le logiciel image J a permis le comptage du nombre de cellules dans les cornes d'Ammon 1 (CA1) et 3 (CA3), du Gyrus denté de l'hippocampe ainsi que dans le noyau basolatéral de la région amygdalienne avec le cortex préfrontal.

II.2.8 Analyses statistiques des données

Toutes les données générées au cours de cette expérience ont été analysées à l'aide de Graph Pad Prism version 8.4.3 et Microsoft Office Excel 2016. Les résultats sont exprimés en moyenne de \pm erreur standard sur la moyenne (SEM) ou sous forme de pourcentages. Les différences statistiques entre les groupes de traitement moyens ont été testées à l'aide de l'ANOVA, suivie du test de comparaison multiple de Tukey. Pour les valeurs de $p < 0,05$, les différences entre les traitements ont été considérées comme significatives.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Résultats

III.1.1 Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur la préférence d'une place associée à la cocaïne

➤ Effets de la cocaïne sur la préférence d'une place associée à la cocaïne

La figure 12 ci-dessous représente les effets de la cocaïne sur le temps passé par l'animal dans la chambre associée à une récompense (la cocaïne) par rapport à un environnement associé au NaCl au cours de deux phases (la phase d'habituation et la phase de test).

Il en ressort que, le temps des souris testées à la cocaïne dans le compartiment associé à la cocaïne était réduit de 77,65% ($p < 0,001$) en comparaison au temps passé par le témoin normal dans ce même compartiment. De plus, le temps passé par les souris testées à la cocaïne dans le compartiment associé au NaCl avait aussi baissé de 26,47% ($p < 0,05$) en comparaison au temps passé par les souris normales dans le même compartiment (figure 12A).

La figure 12B présente la préférence de souris testées à la cocaïne pour les compartiments discriminé et préféré en comparaison au témoin normal pendant la phase test du test de préférence de place conditionnée. Le sevrage à la cocaïne a entraîné une augmentation du temps passé par les souris testées à la cocaïne dans le compartiment associé à la cocaïne de 20,52% ($p < 0,05$) en comparaison au temps passé par les souris normales dans le même compartiment. De plus, le temps passé par les souris testées à la cocaïne dans le compartiment préféré (compartiment associé au NaCl) a été réduit de 43,42% ($p < 0,01$) en comparaison au temps passé par les souris normales dans le même compartiment.

En comparant le temps passé par le même groupe de souris dans les différents compartiments lors des deux phases, il en ressort que les souris du groupe témoin normal ont passé légèrement moins de temps dans le compartiment discriminé et le compartiment préféré pendant la phase de pré-test et de test. Ces temps étaient respectivement de 5,57% (phase de pré-test) et de 16,58% (phase de test). S'agissant du temps passé par les souris testées à la cocaïne, il a été observé une diminution de 68,71% du temps passé par ces dernières lors de la phase de pré-test, ainsi qu'une augmentation du temps passé par elles lors de la phase de test. Ce temps était de 76,75%.

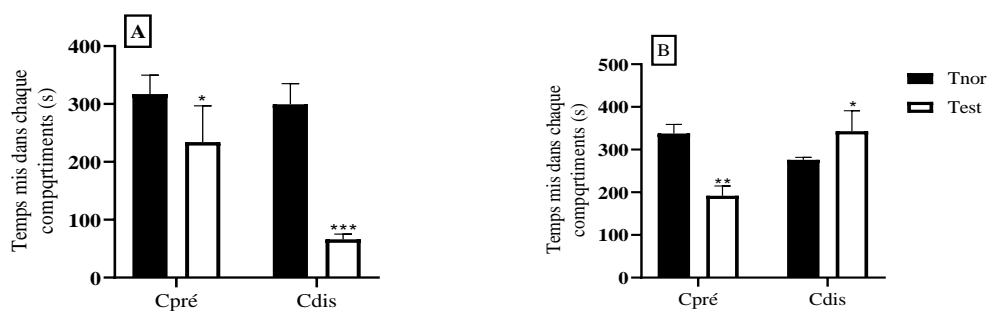


Figure 12: Effets de la cocaïne sur les animaux lors de la phase d'habituation (A) et la phase de test (B) de la préférence de place conditionnée.

Chaque barre ci-dessus représente la moyenne de chaque groupe \pm ESM ; $6 \leq n \leq 30$. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ et *** $p < 0,001$: différences significatives des groupes témoins normaux par rapport au groupe test. Tnor : témoin normal (0,09% de NaCl, *ip*) ; Test : groupes de souris testées à la cocaïne (5 mg/kg, *ip*). Cpré : compartiment préféré (compartiment où les souris recevaient le NaCl). Cdis : compartiment discriminé (compartiment où les souris recevaient de la cocaïne).

➤ Effets de l'extrait sur la préférence de place conditionnée

La figure 13 présente les effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur la préférence de place conditionnée. Il a été observé une augmentation significative de 43,17 % ($p < 0,01$) du temps passé par les souris témoins négatives dans le compartiment discriminé par rapport au temps passé par les témoins normaux dans le même compartiment.

Le traitement à l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* à 160 mg/kg, a entraîné une augmentation significative du temps passé par les souris dans le compartiment préféré de 75% ($p < 0,001$), par rapport au temps passé par les souris du groupe témoin négatif dans ce même compartiment. S'agissant du temps passé par les souris dans le compartiment discriminé, il a été observé une réduction de 12,90% du temps passé par ces souris dans le compartiment discriminé en comparaison au temps passé par les souris du groupe témoins négatif dans le même compartiment.

Les autres doses de l'extrait ainsi que le baclofène n'ont pas modifié le temps passé par les souris dans les compartiments préféré et discriminé en comparaison au temps passé par les témoins négatifs dans ces deux compartiments.

En comparant les différents temps passé par les souris dans chaque compartiment du dispositif par rapport au groupe témoin normal, il en ressort que : dans le compartiment préféré, il y a une diminution du temps passé par les animaux notamment chez le groupe témoin positif et le groupe test (les doses de 320 et 640 mg/kg), ainsi qu'une augmentation significative de ce temps chez les souris traitées à la dose de 160 mg/kg. Ces diminutions étaient respectivement de 5,65% ; 11,85% et 16,75%. Par ailleurs, l'augmentation observée était de 64,5% ($p < 0,001$). S'agissant du temps passé par ces souris dans le compartiment discriminé chez le groupe témoin positif et les groupes tests, il a été observé une augmentation de ce temps avec la présence de significativité chez certains. Ces augmentations étaient respectivement de 36,94% ($p < 0,01$) ; 19,80% ; 20,36% et 29,57% ($p < 0,05$).

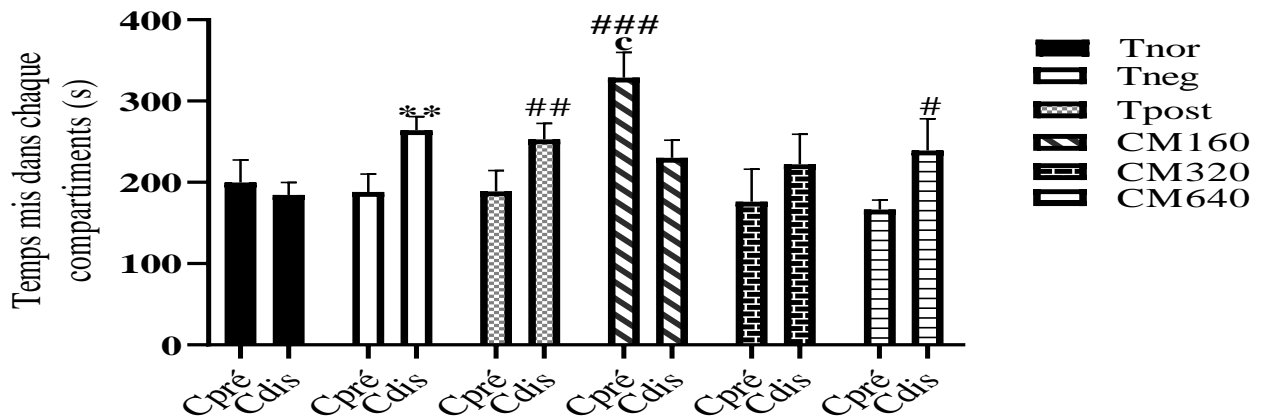


Figure 13: Effet de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur le temps mis dans les bras préféré et discriminé lors du test de la préférence de place conditionnée.

Chaque barre représente la moyenne de chaque groupe \pm ESM ; $n = 4 - 6$. ** $p < 0,01$: différences significatives du groupe témoin normal par rapport aux témoins négatifs. $^c p < 0,001$: différences significatives du groupe traité à l'extrait par rapport aux témoins négatif ; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$: différences significatives des groupes de souris traité aux différentes doses d'extrait ainsi qu'au baclofène par rapport au témoin normal. Tnor : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ; Tpost : témoin positif ; CM160 ; CM320 ; CM640 : extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* aux doses respectives de 160 mg/kg, 320 mg/kg et 640 mg/kg. CM160-CM640 : groupes tests traités aux différentes doses de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica*. Cpré : compartiment préféré (associé au NaCl). Cdis : compartiment discriminé (associé à la cocaïne).

III.1.2. Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur les comportements désordonnés et répétés dans l'arène ouverte

La figure 14 montre le nombre de stéréotypies (comportements désordonnés et répétés) des souris traitées à l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica*.

En effet, après dix jours de sevrage, il a été observé une augmentation significative du nombre de stéréotypies dans l'arène ouverte. Cette augmentation significative chez le groupe témoin négatif était de 76,38 % ($p < 0,001$) en comparaison à celui du groupe témoin normal.

L'administration de l'extrait aux doses de 160 ; 320 et 640 mg/kg, ainsi que le baclofène, ont entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) de ce nombre de stéréotypie respectivement de 97,77 % ; 91,11 % et 79,16 % avec 76,38% par rapport au nombre de stéréotypies faites par les souris du groupe témoin négatif.

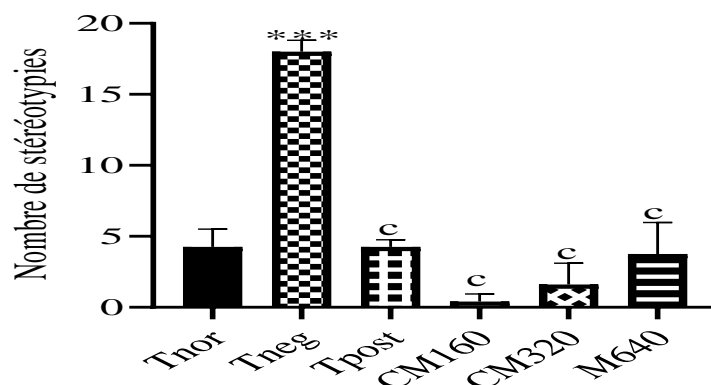


Figure 14 : Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur le nombre de stéréotypies dans l'arène ouverte

Chaque barre représente la moyenne de chaque groupe \pm ESM ; $n = 4 - 6$. *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au témoin normal. $^c p < 0,001$: différences significatives par rapport au témoin négatif. Tnor : témoin normal; Tneg : témoin négatif; Tpost : témoin positif. CM160, CM320, CM 640 : extrait hydro éthanolique des fruits de *Citrus medica* aux doses respectives de 160 mg/kg, 320 mg/kg et 640 mg/kg. CM160-CM640 : groupes tests traités aux différentes doses de l'extrait des fruits de *Citrus medica*

III.1.3. Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur quelques paramètres de l'anxiété

Les effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur le nombre de redressement, du temps et le nombre d'entrées dans les bras ouverts ainsi que le nombre de toilettages dans le labyrinthe en croix surélevé sont résumés dans le tableau 4 ci-dessous.

S'agissant du nombre de redressements dans le labyrinthe en croix surélevé, il a été observé une augmentation chez le groupe témoin négatif par rapport au nombre fait par le groupe témoin normal. Cette augmentation significative était d'environ 1,5 fois ($p < 0,01$). L'administration de l'extrait, aux doses de 160 et 320 mg/kg, a diminué ce nombre de 46,73 % ($p < 0,01$) et de 35,86 % par rapport au nombre fait par le groupe témoin négatif. L'administration du baclofène a également diminué de manière significative ce nombre de 40,21 % ($p < 0,05$) par rapport au nombre fait par le groupe témoin négatif.

Concernant le temps passé par les souris dans les bras ouverts, il a été observé une diminution significative de ce temps passé par les témoins négatifs par rapport au temps passé par le témoin normal. Cette diminution était de 91,23 % ($p < 0,001$). Les souris traitées aux doses de 160, 320 et 640 mg/kg présentaient une augmentation significative de ce temps passé dans le bras ouvert en comparaison à celui passé par le groupe témoin négatif. Cette augmentation était de 81,96 % ($p < 0,001$) pour la dose de 160 mg/kg, de 76,38 % ($p < 0,01$) pour la dose de 320 mg/kg et de 77,52 % ($p < 0,001$) pour la dose de 640 mg/kg. L'administration du baclofène a quant à lui augmenté ce temps de manière non significative de 46,69 % par rapport à celui du groupe témoin négatif.

S'agissant du nombre d'entrées dans les bras ouverts, il a été observé une diminution significative de 82,95 % ($p < 0,001$) chez le groupe témoin négatif par rapport à celui du groupe témoin normal. Le

traitement avec l'extrait à la dose de 160,320 et 640 mg/kg ainsi qu'au baclofène a augmenté ce nombre d'entrée dans les bras par rapport au groupe témoin négatif, de 49,74 % ; 55,60 % ($p < 0,05$) et 69,04 % ($p < 0,001$) ; ainsi que de 45,83 %.

Concernant le nombre de toilettes, il a été observé une augmentation significative ($p < 0,001$) de près d'une fois chez le groupe témoin négatif par rapport à celui du groupe témoin normal. Le traitement avec l'extrait aux doses de 160, 320 et 640 mg/kg, ainsi qu'au baclofène, a diminué le nombre de toilettes par rapport au groupe témoin négatif, de 54,90 % ($p < 0,001$), 54,90 % ($p < 0,001$) et 32,11 % ($p < 0,001$), ainsi que de 45,09 % ($p < 0,001$).

Tableau 4: Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur quelques paramètres de l'anxiété

	Nombre de redressements	Temps dans le bras ouvert (s)	Nombre d'entrée dans le bras ouvert (s)	Nombre de toilette
Tnor	9,75±1,50	160,40 ± 1,49	19,07 ±0,97	4,20±0,83
Tneg	23,00±5,41**	14,50 ±2,41***	3,25 ±0,47***	10,20±2,28***
Tpost	13,75±0,50 ^a	27,20 ± 8,75	6 ±0,46	5,60±0,54 ^c
CM160	12,25±4,99 ^b	80,39 ± 8,35 ^c	6,46 ±1,27	4,60±1,51 ^c
CM320	14,75±3,86	61,39 ± 5,54 ^b	7,32 ±0,35 ^a	4,60±1,51 ^c
CM640	27,00±3,80	64,53 ± 4,13 ^c	10,50 ±1,44 ^c	2,60±0,54 ^c

Chaque valeurs représente la moyenne de chaque groupe ± ESM ; n = 4 - 6. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au témoin normal. ^a $p < 0,05$; ^b $p < 0,01$; ^c $p < 0,001$: différences significatives pa rapport au témoin négatif. Tnor : témoin normal; Tneg : témoin négatif; Tpost : témoin positif. CM160, CM320, CM 640 : extrait hydro éthanolique des fruits de *Citrus medica* aux doses respectives de 160 mg/kg, 320 mg/kg et 640 mg/kg. CM160-CM640 : groupes tests traités aux différentes doses de l'extrait des fruits de *Citrus medica*.

III.1.4 Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur quelques paramètres biochimiques du cerveau après traitement

III.1.4.1 Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur la concentration de GABA dans le striatum

La figure 15 illustre les effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur la concentration de GABA dans le striatum. Il en ressort que le sevrage à la cocaïne a induit chez le témoin

négatif une diminution de 22,52% de la concentration de GABA dans le striatum en comparaison au témoin normal. L'administration de l'extrait aux différentes doses ainsi que l'administration du baclofène n'ont eu aucun effet significatif sur cette concentration de GABA en comparaison au groupe témoin négatif. Néanmoins, l'on note une tendance de baisse significative pour les groupes traités à l'extrait ($p < 0,001$) et non significatif pour le groupe traité au baclofène. Cette diminution était respectivement de 45,02% (160 mg/kg); 44,98% (320 mg/kg); 47,47% (640 mg/kg) et de 24,16% (baclofène). De même, il a été observé une diminution significative de ces concentrations aux différentes doses d'extrait ainsi qu'au baclofène en comparaison au groupe témoin normale. Ces diminutions étaient respectivement de 35,12% ($p < 0,001$) ; 35,04% ($p < 0,001$) ; 54,04% ($p < 0,001$) et de 33,05% ($p < 0,01$).

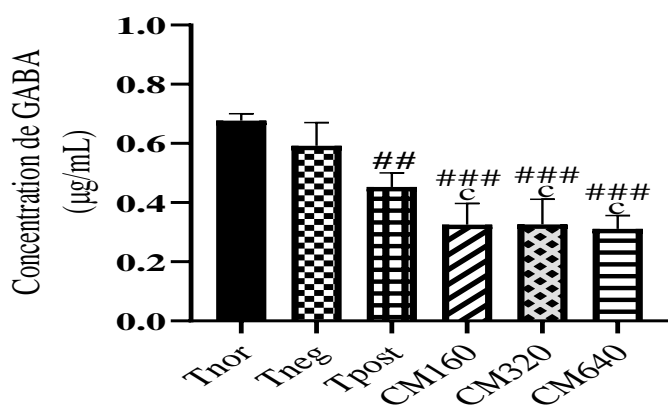


Figure 15: Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits du *Citrus medica* sur la concentration du GABA dans le striatum.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM du groupe, $n = 4 - 6$. ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$: différences significatives des groupes de souris traité aux différentes doses d'extrait ainsi qu'au baclofène par rapport au témoin normal ; ° $p < 0,001$: différences significatives par rapport au témoin négatif. Tnor : témoin normal ; Tneg : témoin négatif; Tpost : témoins positif. CM160 ; 320 ; 640 : groupe tests traités aux différentes doses de l'extrait. GABA : *Gamma-Aminobutyric Acid*.

III.1.4.2 Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur le système monoaminergique dans le complexe amygdalien, le striatum et le cortex

➤ Effet de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur la concentration de noradrénaline et de dopamine dans le complexe amygdalien et le cortex

La figure 16A illustre l'effet de l'extrait hydro-éthanolique des fruits du *Citrus medica* sur la concentration de noradrénaline dans le complexe amygdalien. Il en ressort que le sevrage à la cocaïne a induit chez le témoin négatif une baisse significative de 42,06 % ($p < 0,05$) de la concentration de noradrénaline dans le complexe amygdalien en comparaison au témoin normal. L'administration de l'extrait aux doses de 160 mg/kg, 320 mg/kg et 640 mg/kg a induit une augmentation de la concentration de noradrénaline dans le complexe amygdalien de 47,16 %, 34,55 % et 37,70 % en comparaison au témoin négatif. Le baclofène a entraîné chez le témoin positif une augmentation significative de la concentration

de noradrénaline dans le complexe amygdalien de 71,95 % ($p < 0,001$) en comparaison au témoin négatif. De plus, il a été observé une augmentation significative de cette concentration chez le groupe témoin positif en comparaison au groupe témoin normal. Cette augmentation était respectivement de 77,60% ($p < 0,01$).

De même, la figure 16B montre que le sevrage à la cocaïne a provoqué une baisse non significative de 27,64 % de la concentration de la noradrénaline dans le cortex en comparaison au témoin normal. L'administration de l'extrait aux doses de 160 mg/kg, 320 mg/kg et 640 mg/kg a induit une augmentation respectivement de près d'une fois ($p < 0,05$) et de 76,32 % avec 76,34 % en comparaison au témoin négatif. Le baclofène a également augmenté cette concentration de noradrénaline dans le cortex de 40,29 % en comparaison au témoin négatif.

La figure 16C illustre l'effet de l'extrait hydro-éthanolique des fruits du *Citrus medica* sur la concentration de dopamine dans le complexe amygdalien. Il en ressort que le sevrage à la cocaïne a induit chez le témoin négatif une baisse de 30,84 % de la concentration de dopamine dans le complexe amygdalien en comparaison au témoin normal. L'administration de l'extrait aux doses de 160 mg/kg, 320 mg/kg et 640 mg/kg a induit une augmentation significative de la concentration de dopamine dans le complexe amygdalien respectivement de près de deux fois ($p < 0,01$), d'une fois ($p < 0,01$) et de deux fois ($p < 0,001$) en comparaison au témoin négatif. De plus, il a été observé une augmentation significative de cette concentration en comparaison au groupe témoin normal. Cette augmentation était respectivement de 59,23% ($p < 0,001$). Le baclofène a entraîné chez le témoin positif une augmentation significative de la concentration de dopamine dans le complexe amygdalien de près d'une fois ($p < 0,05$) en comparaison au témoin négatif.

De même, la figure 16D montre que le sevrage à la cocaïne a provoqué une baisse significative de 60,72% ($p < 0,05$) de la concentration de la dopamine dans le cortex en comparaison au témoin normal. L'administration de l'extrait aux doses de 160 mg/kg et 320 mg/kg a induit une augmentation respectivement de près de deux fois ($p < 0,001$) et près d'une fois en comparaison au témoin négatif. Aussi, il a été observé pour la dose de 640 mg/kg une diminution de cette concentration en comparaison au groupe témoin normal. Cette diminution était de 76,95% ($p < 0,001$). Le baclofène a quant à lui augmenté cette concentration de près d'une fois en comparaison au témoin négatif.

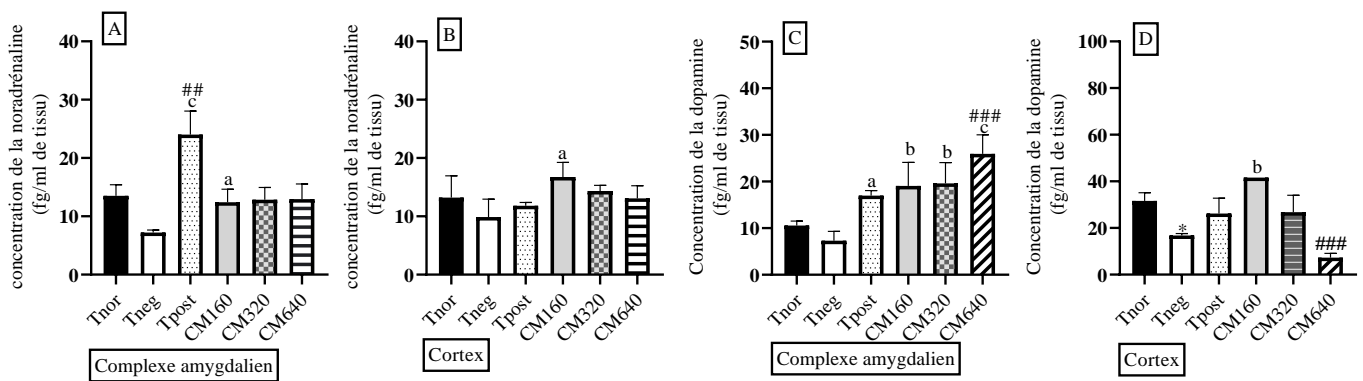


Figure 16 : Effets du *Citrus medica* sur la concentration des mono amines (noradrénaline (A, B) et dopamine (C, D)) dans le complexe amygdalien et le cortex

Chaque barre représente la moyenne de chaque groupe \pm ESM ; $n = 4 - 6$. * $p < 0,05$: différence significative par rapport au témoin normal. ^a $p < 0,05$; ^b $p < 0,01$; ^c $p < 0,001$: différences significatives par rapport au témoin négatif ; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$: différences significatives des groupes de souris traité aux différentes doses d'extrait ainsi qu'au au baclofène par rapport au témoin normal. Tnor : témoin normal ; Tneg : témoins négatifs ; Tpost : témoins positif. CM160, CM320, CM640 : extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* aux doses respectives de 160 mg/kg, 320 mg/kg et 640 mg/kg. CM160 - CM640 : Groupes tests traités aux différentes doses de l'extrait des fruits de *Citrus medica*.

➤ **Effet de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur la concentration de sérotonine dans le striatum et le cortex**

La figure 17A illustre l'effet de l'extrait hydro-éthanolique des fruits du *Citrus medica* sur la concentration de sérotonine dans le striatum. Il en ressort que le sevrage à la cocaïne a induit chez le témoin négatif une augmentation significative de 70,78% ($p < 0,001$) de la concentration de sérotonine dans le striatum en comparaison au témoin normal. L'administration de l'extrait aux doses de 160 mg/kg et 320 mg/kg a induit une baisse significative ($p < 0,001$) de la concentration de sérotonine dans le striatum respectivement de de 81,25 % et 73,92 % en comparaison au témoin négatif. De plus, il a été observé une diminution significative ($p < 0,05$) de cette concentration à la dose de 160 mg/kg avec une augmentation significative ($p < 0,01$) à la dose de 640 mg/kg en comparaison à celle du groupe témoin normal. Ces diminution et augmentation était respectivement de deux fois et de 80,64%. Le baclofène a quant à lui entraîné chez le témoin positif une baisse significative de la concentration de sérotonine dans le striatum de 71,22 % ($p < 0,001$) en comparaison au témoin négatif.

De même, la figure 17B montre que le sevrage à la cocaïne a provoqué une augmentation significative de 70,93% ($p < 0,001$) de la concentration de la sérotonine dans le cortex en comparaison au témoin normal. L'administration de l'extrait aux doses de 160 mg/kg ; 320 mg/kg et 640 mg/kg a induit une baisse respectivement de près de 57,22 % ; 88,67 % et 81,73 % en comparaison au témoin négatif. Assi, il y a eu une augmentation significative de cette concentration à la dose de 160 mg/kg ($p < 0,01$) avec une diminution significative ($p < 0,05$) pour celle de 320 mg/kg en comparaison à la concentration du groupe témoin normal. Cette augmentation et diminution étaient respectivement de 67,85% et de 60,82%.

Le baclofène a également baissé significative cette concentration de sérotonine dans le cortex de 65,77 % ($p < 0,001$), en comparaison au témoin négatif.



Figure 17: Effets de l'extrait hydroéthanolique des fruits du *Citrus medica* sur la concentration de sérotonine dans le striatum (A) et le cortex (B).

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM du groupe, $n = 4 - 6$. *** $p < 0,001$; différence significative par rapport au témoin normal. ^c $p < 0,001$: différence significative comparée au groupe témoin négatif ; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$: différences significatives des groupes de souris traité aux différentes doses d'extrait par rapport au témoin normal Tnor : témoin normal ; Tneg: témoin négatif ; Tpost : témoins positif; CM160 ; 320 et 640 mg/kg : groupe tests traités aux différentes doses de l'extrait.

III.1.5 Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur quelques paramètres du stress oxydant

III.1.5.1 Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur la concentration du malondialdéhyde dans l'amygdale et le cortex

La figure 18A illustre l'effet de l'extrait hydro-éthanolique des fruits du *Citrus medica* sur la concentration de MDA dans l'amygdale. Il en ressort que le sevrage à la cocaïne a induit chez le témoin négatif une augmentation significative de 79,96% ($p < 0,01$) de la concentration de MDA dans l'amygdale en comparaison au témoin normal. L'administration de l'extrait aux doses de 160 mg/kg, 320 mg/kg et 640 mg/kg a induit une baisse significative ($p < 0,01$) de la concentration de MDA dans l'amygdale de 76,95% ; 90,23% et de 67,77% en comparaison au témoin négatif. Le baclofène a entraîné chez le témoin positif une baisse significative de la concentration de MDA dans l'amygdale de 95,10% ($p < 0,001$) en comparaison au témoin négatif.

De même, la figure 18B montre que le sevrage à la cocaïne a provoqué une augmentation de 67,91% de la concentration de MDA dans le cortex en comparaison au témoin normal. L'administration de l'extrait à la dose de 160 mg/kg a induit une baisse significative de 88,87% ($p < 0,05$) en comparaison au témoin négatif. Le baclofène a également baissé la concentration de MDA dans le cortex de 26,61% en comparaison au témoin négatif.

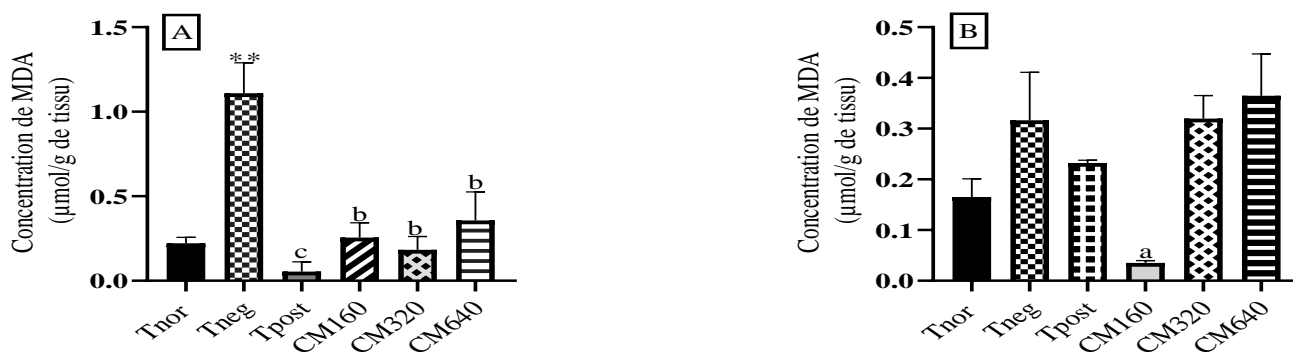


Figure 18: Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur la concentration du MDA dans l'amygdale (A) et le cortex préfrontal (B)

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM du groupe, $n = 4 - 6$. ** $p < 0,01$: différence significative avec le témoin normal. ^a $p < 0,05$; ^b $p < 0,01$; ^c $p < 0,001$: différences significatives par rapport au témoin négatif. Tnor : témoin normal ; Tneg : témoins négatif ; Tpost : témoins positif. CM160, CM320 et CM640 : extrait hydro éthanolique des fruits de *Citrus medica* aux doses respectives de 160 mg/kg, 320 mg/kg et 640 mg/kg. CM160 - CM640 : Groupes tests traités aux différentes doses de l'extrait des fruits de *Citrus medica*.

III.1.5.2 Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur la concentration du glutathion réduit dans le complexe amygdalien

La figure 19 illustre l'effet de l'extrait hydro-éthanolique des fruits du *Citrus medica* sur la concentration de la GSH dans le complexe amygdalien. Il en ressort que le sevrage à la cocaïne a induit chez le témoin négatif une baisse significative de 64,09% ($p < 0,001$) de la concentration de la GSH dans l'amygdale en comparaison au témoin normal. L'administration de l'extrait à la dose de 640 mg/kg a induit une augmentation de 30,70% de la concentration de GSH dans l'amygdale en comparaison au témoin négatif. De plus, il a été observé une diminution significative ($p < 0,001$) de cette concentration en comparaison au groupe témoin normal. Cette diminution était respectivement de 67,65% (160 mg/kg); 66,22% (320 mg/kg) et 48,18% (640 mg/kg).

Le baclofène n'a pas entraîné l'augmentation de la concentration de GSH chez le témoin positif en comparaison au témoin négatif. Il a entraîné une diminution significative de cette concentration en comparaison au groupe témoin normal. Cette diminution était de 69,52% ($p < 0,001$).

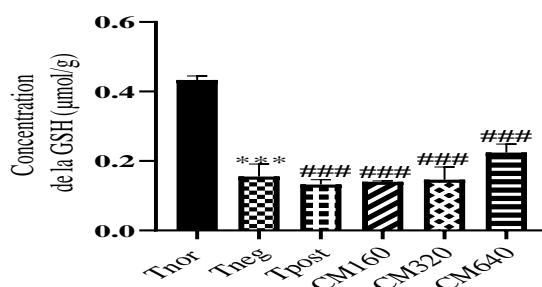


Figure 19: Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur la concentration de la GSH dans l'amygdale.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM du groupe, n= 4 - 6. ***p < 0,001 : différence significative comparé au groupe témoins normale ; ### p < 0,001 : différences significatives des groupes de souris traité aux différentes doses d'extrait ainsi qu'au baclofène par rapport au témoin normal. Tnor : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ; Tpost : témoins positif ; CM160 ; 320 ; 640 : groupe tests traités aux différentes doses de l'extrait.

III.1.6 Effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur la microarchitecture du complexe amygdalien

La figure 20 présente les effets du traitement curatif à l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur la microarchitecture du complexe amygdalien. Il ressort que l'inducteur a entraîné chez les souris du groupe négatif une perte neuronale dans la région amygdalienne. En comparaison avec les souris du groupe négatif, l'extrait de plante aux doses de 160 et 320 mg/kg, ainsi que le médicament de référence ont atténué ces altérations.

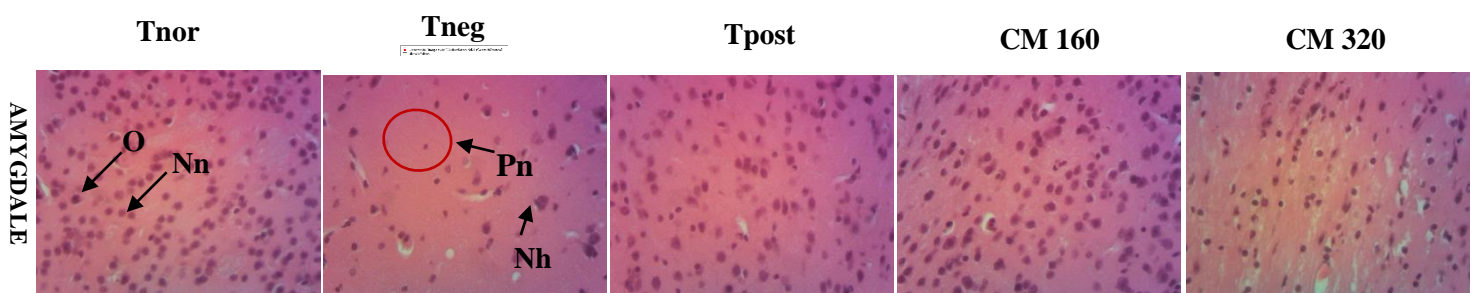


Figure 20 : Présentation des effets du traitement curatif à l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur la microarchitecture du cortex préfrontal, de l'hippocampe et des amygdales (200x, Hématoxyline-éosine)

Nh = Noyau hyperchromatique ; Nn = Neurone normal ; O = Oligodendrocyte ; Pn = perte neuronale. Tnor : Témoin normal ; Tneg : Témoin négatif ; Tpost : témoins positif traités au baclofène ; CM 160 ; 320: groupe tests traités aux différentes doses de l'extrait.

III.2. Discussion

L'addiction est une maladie chronique qui se développe en trois stades. Le premier stade se caractérise par une recherche de plaisir qui va conduire à l'activation du circuit cérébrale de la récompense sous le contrôle de la dopamine, lorsque cette dernière est répétée, des décharges de dopamine sont peu à peu libérées par anticipation (Charline, 2024). Un phénomène qui favorise la reproduction du comportement. Le second stade de l'addiction est caractérisé par une nécessité d'augmenter sa consommation pour obtenir les mêmes effets auquel on associe les symptômes de manques en cas de suspension de la prise. Le troisième stade renvoie à une perte de contrôle sur sa consommation avec une altération de la physiologie cérébrale (Charline, 2024). Chez les rongeurs, il a été montré que les animaux présentant une préférence de place conditionnée induite par la cocaïne renseignent sur leur sensibilité aux indices contextuels associés aux effets de la drogue (Rappeneau, 2013). La présente étude avait pour objectif d'évaluer les effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* (Rutaceae) sur un modèle d'addiction à la cocaïne chez la souris Albinos.

L'administration répétée d'une dose de cocaïne (5 mg/kg) pendant 19 jours a entraîné une apparition progressive de la préférence des souris pour le compartiment où ils recevaient de la cocaïne, grâce à une augmentation du temps passé par ces dernières dans le dit compartiment. En effet, les injections chroniques de cocaïne induisent une plasticité des récepteurs AMPA et NMDA du glutamate. L'augmentation de l'activité des récepteurs NMDA qui en résultent entraînent un flux de calcium dans les neurones qui va influencer les régions du cerveau impliquées dans la formation des souvenirs spatiaux et affectifs, renforçant ainsi l'association entre un environnement spécifique (compartiment associé à la cocaïne) et ses effets gratifiants (Russo *et al.*, 2010 ; Di Chiara, 1999 ; Leshner et Koob 1999). Nos résultats corroborent avec ceux de Prast *et al.*, 2014, qui ont montré que les souris avaient une préférence pour le compartiment où ils recevaient la cocaïne. L'administration de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *C. medica* à la dose de 160 mg/kg a significativement augmenté le temps passé par les souris dans le compartiment préféré et n'a pas eu d'effet sur le temps passé par ces animaux dans le compartiment discriminé en comparaison au groupe témoin négatif, suggérant que l'extrait aurait un effet anti addictive. Ces effets pourraient être dus à son action sur les mécanismes sous-jacents de l'addiction en facilitant l'atténuation de l'expression de la préférence de place conditionné induite par la cocaïne en bloquant la réactivation de la préférence de place conditionné induite par cette dernière après extinction. Cela suggère que le *C. medica* interférerait avec le maintien de l'apprentissage associatif induit par la cocaïne en modifiant la structure (la taille) des épines dendritiques, essentiel pour l'apprentissage et la mémoire (Tardif, 2009).

Selon Marcos *et al.* (2008), un sevrage de la cocaïne provoque une hyperactivité associée à la stéréotypie. Dans cette étude, il a été observé une augmentation du nombre de stéréotypies chez le témoin négatif par rapport au témoin normal. Les résultats de cette étude ne corroborent pas à ceux de Stephanie Puig en 2012, ou il a été observé une augmentation du nombre de stéréotypies chez les souris sevré pendant 14 jours de la cocaïne après une injection de dose rappel de cocaïne (Liu *et al.*, 2021). Ces troubles anxieux dans la présente étude se traduisaient par l'augmentation du nombre de redressements, de toilettages avec une diminution du temps passé dans les bras ouverts ainsi que le nombre d'entrées des témoins négatifs dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé. Ceci pourra s'expliquer par le fait que les afférences sérotoninergiques provenant du raphé dorsal vont activer les récepteurs 5-HT_{2C} situés dans le noyau de la strie terminale qui vont inhiber les afférences GABAergiques projetant vers l'aire tegmentale ventrale et l'hypothalamus latéral, connues pour être anxiolytiques, favorisant ainsi des comportements anxiogènes (anxiété et peur) (Jennings *et al.*, 2013). En effet, la sérotonine provenant du raphé dorsal active ses récepteurs 5HT_{2C} présents sur les interneurones CRF/GABA, entraînant un blocage des afférences GABAergiques vers les zones impliquées dans l'anxiété (l'amygdale) pouvant ainsi favoriser l'anxiété (Bockaert et Bécamel, 2017). Les résultats de la présente étude sont similaires à

ceux de Paine *et al.* (2022) qui ont montré que l'administration et le sevrage de cocaïne réduit le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts et le nombre d'entrées dans les bras ouverts.

L'extrait de *Citrus medica* à la dose de 160 mg/kg a entraîné une réduction du nombre de stéréotypie dans l'arène ouverte, ainsi qu'une augmentation du nombre et du temps passé par les souris dans le bras ouvert du labyrinthe en croix. Ces modifications du comportement suggèreraient un effet anxiolytique de cet extrait, probablement dû à la présence des composés bioactifs tels que les flavonoïdes qui a une activité anxiolytique médié par leur action sur le système sérotoninergique en modulant l'activité des récepteurs 5-HT_{1A} (noyau du raphé) en diminuant la libération de la sérotonine jouant ainsi le rôle d'auto-récepteur (Costa *et al.*, 2013). En effet, lorsque les récepteurs 5-HT_{1A} sont activés par la sérotonine, ils peuvent hyperpolariser la membrane des neurones sérotoninergiques, inhibant la libération de la sérotonine à la terminaison axonale freinant ainsi la quantité de sérotonine libérée réduisant l'anxiété. De plus, les résultats obtenus lors du test de l'EPM sont similaires à ceux de Rombolà *et al.* (2020), qui ont montré qu'une diminution du nombre d'entrées et du temps passé dans les bras fermés indiquerait une diminution de l'anxiété chez les rongeurs.

Plusieurs études ont montré que les récepteurs GABA_B étaient impliqués dans de nombreuses physiopathologies, telles que l'anxiété, la dépression et l'addiction. La cocaïne entraîne une diminution de la concentration de GABA dans le striatum et semble capable d'inhiber l'activité des récepteurs GABA_B (Cameron *et al.*, 1994). L'utilisation du baclofène (5 mg/kg), agoniste direct des récepteurs GABA_B, a été suggérée chez les cocaïnomanes car il diminue l'activité neuronale excitative et dans l'étude, elle n'a pas augmenté le taux de GABA dans le striatum de même que le traitement aux différentes doses de l'extrait. En effet, le mécanisme d'action du baclofène bien que n'étant pas encore complètement élucidé montre une stimulation des récepteurs GABA_B pré et post- synaptiques. Son action est basée sur l'augmentation de l'inhibition présynaptique freinant ainsi la transmission du stimulus sans pour autant augmenter la libération extra cellulaire du GABA (Breslow *et al.*, 1989). Une administration des doses élevées de *C. medica* pourrait aussi agir comme le baclofène.

Dans l'étude, il a été observé une diminution de la concentration de dopamine et de noradrénaline dans le cortex préfrontal et le complexe amygdalien avec une augmentation de la concentration de sérotonine dans le cortex et le striatum après sevrage à la cocaïne. En effet, la sérotonine possède un effet ambivalent car son dérèglement via un excès de sa production conduit à des conséquences négatives (syndrome sérotoninergique). Ainsi, un excès de sérotonine via son action sur les récepteurs 5-HT_{2C} qui va provoquer des altérations de l'état mental se manifestant par de l'anxiété (Birnbaumer *et al.*, 2025). Ces résultats sont similaires à ceux de Michael *et al.* (1994) ainsi que ceux de Bertrand Nalpas (2020), qui ont montré que le sevrage de la consommation chronique de cocaïne est associé à une diminution à long terme de la concentration de sérotonine dans le cortex préfrontal, et que chez les consommateurs chroniques de cocaïne, en raison des modifications neuronales dues à l'installation de la tolérance, les

taux de dopamine sont réduits. L'administration de l'extrait de *C. medica* a permis une augmentation de la concentration de la noradrénaline et de la dopamine dans le complexe amygdalien et cortex préfrontal avec une normalisation de la concentration de sérotonine dans le striatum et le cortex préfrontal. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que, *C. medica* grâce aux flavonoïdes agirait en se fixant sur les auto-récepteurs 5-HT_{1A} de la sérotonine au niveau du noyau du raphé, ce qui va diminuer la libération de la sérotonine (Costa *et al.*, 2013).

L'analyse des paramètres du stress oxydatif a montré que l'injection répétée de cocaïne a entraîné un stress oxydant se traduisant par une augmentation du taux de Malondialdéhyde (MDA), ainsi qu'une diminution de la concentration du glutathion réduit (GSH) au niveau tissulaire (complexe amygdalien et le cortex préfrontal) chez les animaux du groupe témoin négatif, comparativement au témoin normal. En effet, selon les travaux de Cunha-Oliveira *et al.* (2013), la cocaïne induit une augmentation de dopamine extracellulaire qui peut d'une part, être oxydé par la monoamine associée aux mitochondries oxydase qui va créer le peroxyde d'hydrogène et le superoxyde et d'autre part, s'auto-oxyder produisant ainsi la dopamine réactive quinone augmentant alors la production du superoxyde entraînant la production d'espèces réactives à l'oxygène. L'excès des radicaux libres va endommager les cellules entraînant un vieillissement prématuré, des inflammations, une dégradation de la fonction des organes et le développement des maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires (Kerrou, 2021). Les résultats obtenus dans l'étude corroborent avec ceux de Lucyna Pomierny *et al.* (2013) qui ont montré qu'après l'entraînement à l'extinction de la prise de cocaïne, une augmentation de la concentration de MDA avec une diminution de la concentration de GSH était observée.

L'administration de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *C. medica* a entraîné une diminution de la concentration de MDA avec une légère augmentation de la concentration de GSH (dose de 640 mg/kg). En effet, le *Citrus medica* présente une gamme d'activités biologiques telles que des effets anti-inflammatoires, antioxydants (Chhikara *et al.*, 2018 ; Peng *et al.*, 2015). L'activité antioxydant pourrait être attribuée à la présence de vitamine C et de composés phénoliques (Munwar *et al.*, 2015).

**CONCLUSION ET
PERSPECTIVES**

La présente étude avait pour principal objectif d'évaluer les effets de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* sur un modèle d'addiction induit par la cocaïne chez la souris albinos. Il en ressort que :

- La cocaïne administrée à la dose de 5 mg/kg de manière chronique a induit une installation progressive de l'addiction. Le traitement à l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica*, a protégé les animaux des effets néfastes induit par la cocaïne. Cette protection a été observé dans le présent travail par une augmentation du temps passé par les souris dans le compartiment qu'ils préféraient lors de la phase de pré-conditionnement du test de préférence de place conditionnée ;
- Les troubles anxieux induits par le sevrage à la cocaïne ont été significativement corrigés par l'extrait de *Citrus medica* en diminuant le nombre de mouvement stéréotypé, le nombre de toilettage, le nombre de redressement ainsi qu'en augmentant le nombre et le temps passé par les animaux dans le bras ouvert ;
- L'administration et le sevrage de la cocaïne a entraîné un syndrome sérotoninergique et l'extrait a réduit la concentration de sérotonine dans le cerveau.

Dans des études ultérieures, nous nous proposons de :

- Faire une analyse phytochimique en vue d'identifier les métabolites secondaires ;
- Déterminer les mécanismes d'action et les récepteurs spécifiques des métabolites de l'extrait hydro-éthanolique au niveau du système nerveux central ;
- Evaluer le profil toxicologique de l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *Citrus medica* en vue de l'élaboration d'un médicament traditionnel amélioré (MTA).

REFERENCES

- Alexis P.** (2024). Isolement social et addiction : quelles sont les conséquences. GAE Conseil. 1.
- Alghamdi S.A.** (2024). Effectiveness of vitamin D on neurological and mental disorders. *Diseases*. 12(6): 131.
- Antoine B., Derek V.** (1989). The tegmental pedunculopontine nucleus: a brain-stem output of the limbic system critical for the conditioned place preferences produced by morphine and amphetamine. *The Journal of Neuroscience*. 9(10): 3400-3409.
- Arvid C., Margit L., Tor M.** (1957). 3,4-dihydroxy-phenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. *Nature*. 180:1200.
- Assurance M.** (2025). Addiction : définition et facteurs favorisants. Ameli.fr. 2.
- Bachiri I., Haddam A.** (2022). Classification des anomalies cérébrales par le traitement de signal EEG. Mémoire de master en génie biomédicale. Université d'Abou Bakr Belkaid de Tlemcen. 1-2.
- Banwinkler M., Theis H., Prange S., Van E.T.** (2022). Imaging the limbic system in parkinson's disease. Review of limbic pathology and clinical symptoms. *Brain Science*. 12(9):1248.
- Bardo M., Bevins R.** (2000). Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward? *Psychopharmacology*. 153: 31-43.
- Bear M.F., Connors B.W., Paradiso M.A.** (2007). Neurosciences: exploring the brain (3rd ed). *Lippincott Williams & Wilkins Publishers*. 1.
- Benbouzid M., Pallage V., Rajalu M.** (2008). Sciatic nerve cuffing in mice: a model of sustained neuropathic pain. *European Journal of Pain*. 12: 591-599.
- Berridge C., Waterhouse D.** (2003). The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Research Reviews*. 42(1): 33-84.
- Bernardi R.E., Lattal K.M.** (2010). A role for alpha-adrenergic receptors in extinction of conditioned fear and cocaine conditioned place preference. *Behavioral Neuroscience*. 124(2): 204-10.
- Bockaert J., Bécamel C.** (2017). Contrôle de l'anxiété par les récepteurs de la sérotonine 5-HT_{2c} de la strie terminale. Institut de génomique fonctionnelle. *Université de Montpellier Cedex 5*. 1.
- Bourourou M.** (2016). L'acide Alpha-Linolénique, précurseur végétal des omega-3 pour lutter contre les dommages liés à l'accident vasculaire cérébral. Thèse de doctorat en Science Agricole *Université Côte d'Azur Nice France*. 196.
- Breslow M.F., Frankhauser M.P., Potter R.L., Meredith K.E., Misiaszek J., Hope D.G.,** (1989). Role of gamma-aminobutyric acid in antipanic drug efficacy. *The American Journal of Psychiatry*. 143(3): 353-356.
- Bruce B.** (2014). Galerie médicale de Blausen Medical 2014. *WikiJournal of Medicine*. 1(2).
- Cameron D.L., Williams J.T.** (1994). Cocaine inhibits GABA release in the VTA through endogenous 5-HT. *Journal of Neuroscience*. 14(11) : 6763-6767.
- Carrasco G.A., Battaglia G.** (2007). Le sevrage après une seule exposition à la cocaïne augmente le récepteur 5-HT_{2A} et la fonction de la protéine G. *Neuroreport*. 18(1):51-55.
- Carvalho R., Soares F., Brasileiro-Vidal A., Guerra M.** (2005). The relationships among lemons, limes and citron: a chromosomal comparison. *Cytogenetic and Genome Research*. 109:276-282.

- Charles-Nicolas A., Locoste J., Ballon N.** (2009). Le point sur l'addiction à la cocaïne et au crack. *Annales Medio-Psychologiques*. 167 : 504-507.
- Charline D.** (2024). Addiction à la cocaïne (cocaïnomanie). *Maladies Psychiatrie*.1-2.
- Chhikara N., Kour R., Jaglan S., Gupta P., Gat Y., Panghal A.** (2018). *Citrus medica*: nutritional, phytochemical composition and health benefits- a review. *Food & Function*. 9(4):1978-1992.
- Choden J., Gyeltshen C., Dorji T.** (2023). Himalayan fruits and berries. *Academic Press*. 8: 69-80.
- Choleris E., Thomas A.W., Kavaliers M., Prato F.S.** (2001). A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neuroscience & Biobehavioral*. 25(3): 235-260.
- Ciliax B.J., Drash G.W., Staley J.K., Haber I.L.** (1999). *Journal of comparative neurology*. 409(1): 38-59.
- Comings D.E., Muhleman D., Gade R., Johnson P., Verde R., Saucier G., Macmurray J.** (1997).Cannabinoid receptor gene (CNR1): association with i.v. drug use. *Molecular Psychiatry*. 2(2):161-168.
- Conductier G., Viola A., Troter A., Nahon J., Guyon A.** (2013). Flux de liquid céphalique céphalorachidien et cils épépendymaires. *Medécine Science*. 29 : 943-945.
- Costa C.A., Cury T.C., Cassettari B.O., Takahira R.K., Flório J.C., Costa M.** (2013). Citrus aurantium L. essential oil exhibits anxiolytic-like activity mediated by 5-HT 1A-receptors and reduces cholesterol after repeated oral treatment. *BMC complementary and Alternative Medicine*. 13(1): 1-10.
- Cunha-Oliveira T., Rego C.** (2013). Oxidative stress and drugs of abuse: an update. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*. 10: 321-334.
- Di Chiara G.** (1999). Drug addiction as dopamine-dependent associative learning disorder. *European Journal Pharmacology*. 375(1-3): 13-30.
- Elisabeth L., Vanessa K., Valerie L.** (2023). Délinquance, drogues et adolescence: perspectives complémentaires entre le Québec et le Cameroun. *Chroniques, Récits de Recherche, Magazine*. 9.
- Eliaz I., Hotchkiss A., Fishman M., Rode D.** (2006). The effect of modified *Citrus pectin* on urinary excretion of toxic elements. *Phytotheraie Resarch*. 20(10): 859-864.
- Ellman G.L.** (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives Biochemistry Biophysics*. 82(1):70- 77.
- Flanagan E., Lamport D., Brennan L., Burnet P., Calabrese V., Cunnane S., Martijn C., Louise D., Jonathan A., Nancy E., Tobias H., Thomas H., Marko K., Gunther G., Aleix S., Cécilia S., David S., Jeremy P., Sandrine T., David V.** (2020). Nutrition and the ageing brain: moving towards clinical applications. *Ageing Research Reviews*. 62: 101079.
- Furshpan E.J., Potter D.D.** (1995).Transmission at the giant motor synapses of the crayfish. *JournalofPhysiology*. 145: 289-325.
- Gawin F., Kleber H.** (1986). Abstinence symptomatology and psychiatric diagnosis in cocaine abusers: clinical observations. *Archives of General Psychiatry*. 43(2):107-113.
- Gerald F., Rika O.** (2024). Cocaine (crack). *Manuel MSD*. 2.

- Gorelick D.A., Gardner E.L., Xi Z.X.** (2004). Agents in development for the management of cocaine abuse. *64(14): 1527-1573.*
- Gothuey I.** (2006). La dépendance à la cocaïne: état des lieux. *Psychiatre-Psychothérapeute FMH. 5-8.*
- Guifei C., Yan S., Siyu C., Tiandong L., Xu Y.L.** *Food Science & Nutrition. 13-9.*
- Hernandez L., Munoz R.A., Miro G., Martinez M., Silva-Parra J., Chaves P.I.** (1984). Utilisation de plantes médicinales par les patients ambulatoires à Porto Rico. *American Journal of Hospital Pharmacy. 41(10): 2060-2064.*
- Hulatt L.** (1970). Système limbique. *StudySmarter. 4.*
- Hyman S., Malenka R.** (2001). Addiction and the brain: neurobiology of compulsion and its persistence. *Nature Reviews Neuroscience. 2(10): 695-703.*
- Itzhak Y., Martin L.** (2002). Cocaine-induced conditioned place preference in mice: induction, extinction and reinstatement by related psychostimulants. *Neuropsychopharmacology. 26(1) : 130-134.*
- Jean-François F.** (2017). . Electrophysiologie multi-site et optogénétique appliquées à l'étude de corrélats neurobiologiques de l'addiction à la cocaïne chez le rat se comportant. *Neurobiologie. Université de Bordeaux.These. 1.*
- Jennings J.H., Sparta D.R., Stamatakis A.M., Ung R.L., Pleil K.E., Kash T.L., Stuber G.D.** (2013). Distinct extended amygdal circuits for divergent motivational states. *Nature, 496 (7444): 224-228.*
- Johnson S.W., Mercuri N.B., North R.A.** (1992). 5-hydroxytryptamine_{1B} receptors block the GABA_B synaptic potential in rat dopamine neurones. *Journal of Neuroscience. 12(5): 2000-2006.*
- Kalivas P.** (2004). Glutamate systems in cocaine addiction. *Current Opinion in Pharmacology. 4:23-29.*
- Kandel E., Schwartz J., Jessell T., Siegelbaum S., Hudspeth A.** (2012). Principles of neural science. *McGraw Hill. 1747.*
- Karila L., Petit A., Lowenstein W., Reynaud M.** (2012).Diagnosis and consequences of cocaine addiction. *Current Medical Chemistry. 1.*
- Karila L., Lafaye J., Reynaud M.** (2009). Information psychiatrique. *Neuropsychologie. 85: 647-653.*
- Karila L., Reynaud M.** (2009). Therapeutic approaches to cocaine addiction. *Revue du Praticien. 59: 830-834.*
- Kerrou M.** (20021). Réaction inflammatoire. *Institut des Sciences Vétérinaire. 4.*
- Kervella F.** (2021). Les psychoses induites par la cocaïne. Mémoire. Université de Bretagne Occidentale. *Médecine et Sciences de la Santé. 1.*
- Kim S., Christopher L., John D.** (2019). Bancroft's theory and practice of histological techniques. *Elsevier.9: 537-557.*
- Koob G., Bloom E.** (1988). Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science (New York, N.Y.). 242(4879): 715-723.*

- Koob G.F., Serge H.A., Benjamin B., Scott A.C., Paul J.K., Athina M., Laura E.O., Loren H.P., Pietro P.S.** (2004). Neurobiological mechanisms in the transition from drug use to drug dependence. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 1.
- Koob G., Volkow N.** (2010). Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 35(1): 217-238.
- Labat L., Mégarbane B.** (2019). La toxicologie du baclofène. *Revue Francophone des Laboratoires*. 49-56.
- Lenoir M., Serre F., Cantin L., Ahmed S.** (2007). Intense sweetness surpasses cocaine reward. *PloS One*. 2(8):698.
- Leshner A.I., Koob G.F.** (1999). Les drogues et le cerveau. *Proceedings of the association of American Physicians*. 111: 99-108.
- Lister R.** (1987). The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology*. 92(2): 180-185.
- Liu H., Huang X., Xu J., Mao H., Li Y., Ren K., Ma G., Xue Q., Tao H., Wu S., Wang W.** (2012). Dissection of the relationship between anxiety and stereotyped self-grooming using the shank3B mutant autistic model, acute stress model and chronic pain model. *Neurobiology of stress*. 15.
- Lowe I.P., Eli R., Eyerman G.S.** (1958). The fluorimetric measurement of glutamic decarboxylase and its distribution in brain. *Journal of Neurochemistry*; 3(1): 8-18.
- Luikinga S., Perry C., Madsen H., Lawrence A., Kim J.** (2019). Effects of methamphetamine exposure on fear learning and memory in adult and adolescent rats. *Neurochemical Research*. 44: 2081-2091.
- Macedo G., Domingues L., Favoretto C., Suchecki D., Quadros I.** (2018). Consequences of continuous social defeat stress on anxiety- and depressive-like behaviors and ethanol reward in mice. *Hormones and Behavior*. 97: 154-161.
- Martell B., Mitchell E., Poling J., Gonsai K., Kosten T.** (2005). Vaccine pharmacotherapy for the treatment of cocaine dependence. *Biological Psychiatry*. 58(2): 158-164.
- Marieb E., Hoehn K.** (2015). Humain anatomy and physiology. *Kendalville: Pearson Educational Limited*. 1291.
- Marieb E., Hoehn K.** (2016). Humain anatomy and physiology. *Kendalville: Pearson Educational Limited*. 195.
- Mendoza P.V., Kombe C.S.** (2022). Au Cameroun, la lutte contre les stupéfiants en milieu scolaire. *Vatican News*. 1.
- Miller J.** (2025). Cocaine addiction statistics. *Addiction Help*. 1-4.
- Millan M.J., Dekeyne A., Gobert A.** (1998). Serotonin (5-HT) 2C receptors tonically inhibit dopamine (DA) and noradrenaline (NA), but not 5-HT, release in the frontal cortex in vivo. *Neuropharmacology* 37(7): 953-955.
- Mukhara D., Banks M., Neigh G.** (2018). Stress as a risk factor for substance use disorders: a mini-review of molecular mediators. *Front Behave Neurosci*. 12: 309.
- Mukherjee P., Roy S., Ghosh O., Nandi S.K.** (2022). Role of animal models in biomedical research: a review. *Laboratory Animal Research*. 38.

- Murthy P.E., Chand P.** (2012). Treatment of dual diagnosis disorders. *Current Opinion in Psychiatry*. 25(3), 194-200.
- Nadler J.J., Moy S.S., Dold G., Trang D., Simmons N., Perez A., Young N.B., Barbaro R.P., Piven J., Magnuson T.R., Crawley J.N.** (2004). Automated apparatus for quantitation of social approach behaviors in mice. *Genes, Brain, and Behavior*. 3(5): 303-314.
- Nair A.B., Jacob S.** (2016). A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*. 7(2): 27-31.
- Navnidhi C., Ragné K., Sandeep J., Pawan G., Yogest G., Anil p.** (2018). *Citrus medica* nutritional, phytochemical composition and health benefits food. *Food & Function*. 9: 1978-1992.
- Nestler E.J.** (2005). The neurobiology of cocaine addiction. *Science & practice perspectives*. 3(1): 4-10.
- Nestler E.J., Malenka R.C.** (2004). The addicted brain. *Scientific American*. 290(3): 78-85.
- Noble F.** (2008). Connaissances précliniques actuelles sur la neurobiologie de la cocaïne. *La Presse Médicale*. 37:1767-1772.
- Nouria M.** (2023). Etude comparative entre deux agrumes : la clémentine et le pamplemousse. Mémoire. Université d'Abdelhamid ibn badis mostaganem. 1.
- Nsangou M.A., Claude B.D., Thamadeu M.-C., Goufani B.R., Tcheutchoua Y.C., Owona P.E., Ngapout F.R., Mbolang N.L., Djientcheu D.F., Dzeufiet D.P., Kamtchouing P.** (2025). Safety evaluation of the aqueous Extract of the mixture of *Persea Americana* (Lauraceae), *Cymbopogon citratus* (Poaceae), fruits of *Citrus medica* (Rutaceae), and honey in wistar rat. *Journal of toxicology*. 11.
- Nutt D., King L.A., Saulsbury W., Blakemore C.** (2007). Development of a rational scale to assess the harm of drugs of potential misuse. *The Lancet*. 369: 1047–1053.
- Olds J., Milner P.** (1954). Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of the rat brain. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 47(6): 419-427.
- ONU DC (Office des Nations Unies contre la drogue et le crime)** (2023). Rapport mondial sur les drogues : messages clés sur l'Afrique de l'Ouest et du Sahel. Office des Nations Unies contre la drogue et le crime. *Press Release*. 1.
- ONU DC (Office des Nations Unies contre la drogue et le crime)** (2024). World drug report: harms of world drug problem continue to mount amid expansions in drug use and markets. Office on drug and crime. *Press Release*. 1.
- Pain T.A., Jackman S.L., Olmstead M.C.** (2002). Cocaine-induced anxiety: alleviation by diazepam, but not buspirone, dimenhydrinate or diphenhydramine. *Pharmacology Comportementale*. 13(7):511-523.
- Paule V., Christian K.** (2022). Au Cameroun, la lutte contre les stupéfiants en milieu scolaire. *Vatican News*. 1.
- Peng G.J., Tian J.S., Gao X.X., Zhou Y.Z., Qin X.M.** (2015). Research on the pathological mechanism and drug treatment mechanism of depression. *Current Neuropharmacology*. 13(4): 514-523.
- Père J.A.** (2017). Rapport d'enquête sur la consommation de la drogue en milieux scolaire à Yaoundé. *Association Foi & Justice*. 22-24.
- Pfeuty B.** (2004). Rôle des synapses électriques dans la synchronisation neurale: une étude théorique. Thèse de doctorat de l'université Paris VI. 12.

- Pinto E., Pitchot W., Anseau M.** (2008). Les psychostimulants. *Revue Medical de Liège*. 63(5-6): 411-416.
- Prast J.M., Schardl A., Sartori S.B., Singewald N., Saria A., Zerning G.** (2014). Increased conditioned place preference for cocaine in high anxiety related behaviour (HAB) mice is associated with an increased activation in the accumbens corridor. *Frontiers in Behavioural Neuroscience*. 8: 441.
- Puig S.** (2012). Etude intégrée des variations comportementales, neurochimiques et cellulaires de la cocaïne : Analyse des variations à court et à long terme : Importance du profil d'administration et anticipation de l'effet renforçant de la drogue. Université René Descartes-Paris V. *Hyper Articles en ligne*. 17.
- Purves D., Augusrine G.J., Fitzpatrick D., Hall W.C., Lamantia A.-S , Mooney R.D., Platt M.L., William M.** (2018). Neurosciences. *De Boeck Supérieurs*. Cinquième édition. 832.
- Rademacher D.J., Mendoza-Elias N., Meredith G.E.** (2015). Effects of context-drug learning on synaptic connectivity in the basolateral nucleus of the amygdala in rats. *The European Journal of Neuroscience*. 41(2): 205-215.
- Rharbaoui S.** (2024). Place des nouvelles technologies dans la thérapie de l'addiction, focus sur le rôle de conseil et d'orientation du pharmacien. Thèse en pharmacie. Faculté de pharmacie de Limoge. 16.
- Samuthpongton C., Chan A.A., Ma W., Wang F., Nguyen L.H., Wang D.D., Okereke O.I., Huttenhower C., Chan A.T., Mehta R.S.** (2024). *F. prausnitzii* potentially modulates the association between Citrus intake and depression. *Microbiome*. 12(1): 237.
- Spanagel R.** (2017). Animal models of addiction. *Dialogues in Clinical Neuroscience*. 19(3): 247-258.
- Robinson T.E., Berridge K.C.** (1993). The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Research Reviews*. 18(3): 247-291.
- Robinson T.E., Berridge K.C.** (2003). Addiction. *Annual Review of Psychology*. 54: 25-53.
- Rombolà L., Scuteri D., Watanabe C., Sakurada S., Hamamura K., Sakurada T., Tonin P., Corasaniti M.T., Bagetta G., Morrone L.A.** (2020). Role of 5-HT1A receptor in the anxiolytic-relaxant effects of Bergamot essential oil in rodent. *International Journal of Molecular Sciences*. 21(7): 2597.
- Rozaire C., Morgane G.L., Grall-Bronnec M., Rocher B., Jean-luc V.** (2009). Qu'est-ce que l'addiction. *Archives de Politique Criminelle*. 1(39) : 2-23.
- Russo S.J., Dietz D.M., Dumitriu D., Morrison J.H., Malenka R.C., Nestler E.J.** (2010) The addicted synapse : mechanisms of synaptic and structural plasticity in nucleus accumbens. *Trends in Neurosciences*. 2.
- Salomon L., Lanteri C., Glowinski J., Tassin J.P.** (2006). Behavioral sensitization to amphetamine results from an uncoupling between noradrenergic and serotonergic neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States America*. 103(19):7476– 7481.
- Samir R** (2024). Place des nouvelles technologies dans la thérapie de l'addiction, focus sur le rôle de conseil et d'orientation du pharmacien. Thèse en Pharmacie. Faculté de Pharmacie de Limoges, 16.
- Slattery D.A., Markou A, Froestl W, Cryan J.F** (2005). The GABAB receptor-positive modulator GS39783 and the GABAB receptor agonist baclofène attenuate the reward-facilitating effects of cocaine: intracranial self-stimulation studies in the rat. *In Neuropsychopharmacology*. 30: 2065-2072.
- Schlumpf M., Lichtensteiger W., Langemann H., Peter G., Waser H.F.** (1974). A fluorometric micromethod for the simultaneous determination of serotonin, noradrenaline and dopamine in milligram amounts of brain tissue, pergamon press, printed M Great Britain. *Biochemical Pharmacology*; 23(17): 2337-2446.

- Schlussman S.D., Zhou Y., Bailey A., Ho A., Kreek M.J.** (2005). Steady-dose and escalating-dose “binge” administration of cocaine alter expression of behavioural stereotypy and striatal preprodynorphin mRNA level in rats. *Brain research bulletin*. 67(3): 169-175.
- Scuvée-Moreau J.** (2013). Neurobiologie de l’addiction. *Revue Médicale de Liège*. 68(5-6): 211-217.
- Spilka S., Nézet O., Janssen E., Brissot A., Philippon A., Shah J., Chyderiotis S.** (2018). Les niveaux d’usage des drogues illicites en France en 2017. *TendancesN 128*, OFDT. 6.
- Taah YS., Djedoubouyom NE., Asta M., Nguedjo WM., Mediesse KF., Loabe PA., Ngo BE., Njan AM.** (2021). Affets de *Cyperus articulatus* L. (Cyperaceae) sur la mémoire des Souris blanches Suisses (Mus Musculus Swiss.). *European Scientific Journal*. 17(29): 184.
- Tardif C.** (2009). Etude des dynamiques spatio-temporelles de CaMKII dans les neurones. Université de Laval. Thèse.1.
- Taylor S.B., Watterson L.R., Kufahl P.R., Nemirovsky N.E., Tomek S.E., Conrad C.D., Olive M.F.** (2016). Chronic variable stress and intravenous methamphetamine self-administration-Role of individual differences in behavioral and physiological reactivity to novelty. *Neuropharmacology*. 108: 353-363.
- Thérèse B., Laurent K.** (2012). Livret « Quand mon cerveau devient accro » édité à l’occasion de la Campagne nationale du Neurodon – Edition 2012. Fondation pour la Recherche sur le Cerveau. 2.
- Torrico T.J., Abdijadid S.** (2023). Neuroanatomy, limbic system. *National Center for Biotechnology Information*. 1.
- Touam C.** (2024). Alimentation et santé mentale, application pratique à l’officine. *Sciences Pharmaceutiques*. 13.
- Vauzour D., Camprubi-Robles M., Miquel-Kergoat S., Andres-Lacueva C., Banati D., Barberger-Gateau P., Bowman G., Caberlotto L., Clarke R., Bowman G.L., Caberlotto L., Clarke R., Hogervorst E., Kiliaan A.J., Lucca U., Manach C., Minihane A.M., Mitchell E.S., Pernecky R., Perry H., Rousset A.M., Shuermans J., Sijben J., Ramirez M.** (2017). Nutrition for the ageing brain: towards evidence for an optimal diet. *Ageing Research Review*. 35: 222-240.
- Virginie R.** (203). Dépression et vulnérabilité aux conduites addictives: étude de leur relation dans un modèle animal de dépression. *Neurosciences*. Université de Claude Bernaed, Lyon I. 28-29.
- Vorspan F., Bellais L., Lepine JP.** (2009). Fréquence des stéréotypies chez des patients cocainomanes en centre de soins. *Annales Médico-Psychologiques, Revue Psychiatrique*. 167 : 1.
- Wilbur KM., Berheim F., Shapiro OW.** (1949). The thiobarbituric acid reagent as a test for the oxidation of unsaturated fatty acids by various agents. *Archives of Biochemistry*. 24(2): 305-313.
- Wise RA.** (1996). Neurobiology of addiction. *Current Opinion in Neurobiology*. 6(2): 243-251.
- Wuchen T., Joel L., Xiumin C., Javier D.-A., Jing Z., Samuel P., Roger A.C.** (2021). Synaptic memory requires CaMKII. *Elife*. 10.
- Wu G., Terol J., Ibanez V., Lopez-Garcia A., Pérez-Roman E., Borreda C., Domingo C., Tadeo F., Carbonell-Caballero J., Alonso R., Curk F.** (2018). Genomics of the Origin and Evaluation of Citrus. *Nature*. 554: 311-316.
- Zheng X., Zhou Z., Zhang T., Jin Z., Chen X., Deng J., Zhan C., Zheng F.** (2017). Effectiveness of a cocaine hydrolase for cocaine toxicity treatment in male and female rats. *The AAPS Journal*. 20(1): 3