



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE

جامعة باجي مختار - عنابة

UNIVERSITE BADJI-MOKHTAR-ANNABA



FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

THESE EN VUE DE L'OBTENTION D'UN DIPLOME DE DOCTORAT ES

EN BIOLOGIE

Option : BIOLOGIE ANIMALE

Intitulé

***Etude des ripostes neuro immuno endocriniennes dans des conditions aversives chez le rat Wistar***

Présentée par : M<sup>me</sup> SANSRI Soraya

Devant le jury :

M TAHRAOUI Abdelkrim

Professeur

Président

Université d'Annaba

M BAIRI Abdelmadjid

Professeur

Directeur

Université d'Annaba

Mme TADJINE Aïcha

Professeur

Examinatrice

Université d'El Tarf

M BELHAMRA Mohamed

Professeur

Examinateur

Université de Biskra

Année universitaire 2014 / 2015

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce travail*

*A mes chers parents, pour leur aide morale et affective toutes les années de mes études. Que dieu les préserve et leur accord santé et bonheur.*

*A mon mari Abd el kader mes enfants Line et Marya, en témoignage de leur affection.*

*A mes soeurs Ghania et Habiba*

*A mon frère Cherif*

*Avec toute mon affection*

## REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer mes remerciements et ma profonde gratitude avant tout à Dieu qui m'a donné la force, le courage et la volonté d'élaborer ce travail scientifique.

Je tiens à exprimer ici toute ma reconnaissance à ceux ou celle qui, d'une manière ou d'une autre, ont permis d'entreprendre, de réaliser et d'achever cette thèse. Ce travail a été réalisé au laboratoire de neuro immunologie appliquée de l'université d'Annaba sous la direction de **Mr TAHRAOUI** (professeur au département de Biologie, Université d'Annaba). Qu'il me permette de lui exprimer ma profonde reconnaissance pour avoir bien voulu m'accueillir dans son laboratoire, m'encourager durant toutes mes études, m'avoir appris la méthodologie de recherche, le savoir et d'accepter de me faire un grand honneur en président de jury. *« La simplicité est la sophistication suprême » Leonardo Da Vinci*

Ma profonde et sincère gratitude et reconnaissance s'adresse à mon directeur de thèse **Mr BAIRI** (Professeur au département de Biologie Animale d'Annaba) pour avoir accepté de diriger mes recherches. Je ne serai le remercier pour sa disponibilité permanente, pour ses conseils qui m'ont été très précieux et pour son infinie gentillesse. Je le prie d'accepter l'expression de mon respect et de ma profonde considération. *« La valeur d'un homme tient dans sa capacité à donner et non dans sa capacité à recevoir » - Albert Einstein*

Je remercie profondément le Professeur, **Mme TADJINE** (professeur, Université D'el taref) qui m'a fait l'honneur de participer au Jury de soutenance.

*« On fait la science avec des faits, comme on fait une maison avec des pierres : mais une accumulation de faits n'est pas plus une science qu'un tas de pierres n'est une maison » - Henri Poincaré*

Mes plus vifs remerciements et toute ma considération à **Mr BELHAMRA** (professeur, Université de Biskra) et **Mr BOULAKOUD** (Professeur université d'Annaba) qui ont bien

voulu accepter d'être membres de ce même jury et de me faire l'honneur de juger ce travail.

Je leur témoigne mes sentiments de considération et de respect.

*"La vérité scientifique sera toujours plus belle que les créations de notre imagination  
et que les illusions de notre ignorance" Claude Bernard*

## RESUME

Le stress est une problématique actuelle importante aussi bien chez l'homme que chez l'animal et mettre en place des stratégies de lutte permettant de limiter ces effets parfois néfastes. En outre, l'exposition à un stress entraîne une modification comportementale et immunitaire chez l'homme et chez le rongeur. Expérimentalement, cette modification est en fonction de l'intensité et du type de stress employé.

L'objectif de notre travail est d'étudier l'effet de trois types de stress : stress aigu de contention, prédation et stress chronique de séparation pour évaluer les variations immunitaires et comportementales chez le rat Wistar. Il s'agit par la suite d'établir un comparatif entre ces trois types de stress. Les modifications comportementales et adaptatives chez le rat se veut une tentative de cerner les paramètres comportementaux évalués à partir de l'open field et plus maze,

Nos résultats ont montré chez les rats stressés une :

- ✦ Augmentation de l'anxiété avec apparition de la dépression évaluée dans les tests du labyrinthe en croix surélevée, et du champ ouvert.
- ✦ Altération de la mémoire spatiale.
- ✦ Perturbation des cellules du système immunitaire entrant dans la réponse cellulaire et humorale (monocytes, lymphocytes).

**Mots clés :** rats-stress-séparation-contention-prédation--immunité- plus maze- l'open field.

## **ABSTRACT**

Stress is a major current problem both in humans and in animals and implement strategies to limit sometimes adverse effects. In addition, exposure to stress causes behavioral and immune disorder in rodents. Experimentally, this modification is based on the intensity and type of exerted stress.

The objective of this work is to study the effect of three types of stresses, acute restraint, and predation by separation to assess immune and behavioral changes in the Wistar rat. Comparison between the three types of stresses, Behavioral and adaptive changes in the rat are an attempt to identify the behavioral parameters evaluated from the open fields and maze.

Our results on stressed rats showed the following:

- ✦ Increased anxiety with onset of depression evaluated in tests in an elevated cross maze and open field.
- ✦ Impairment of spatial memory.
- ✦ Disturbance of the immune system cells and humoral response (monocytes and lymphocytes).

**Keywords:** rats-separation-restraint stress-predation - immunity- more maze- the open field.

## الملخص:

الإجهاد هو المشكلة الحالية الكبرى على حد سواء عند البشر والحيوانات ولتنفيذ استراتيجيات للحد من هذه الآثار السلبية. وبالإضافة إلى ذلك، فإن التعرض للإجهاد يسبب تغيرات سلوكية ومناعية لدى الإنسان والقوارض. تجريبياً يستند هذا التعديل على شدة ونوع التوتر الموظف.

والهدف من عملنا هو دراسة تأثير ثلاثة أنواع من الإجهاد ألا و هي : الإجهاد النفسي المؤقت ، والإجهاد النفسي المزمّن والافتراس وذلك لتقييم التغيرات المناعية والسلوكية في الفئران ويستار. وهذا ما وضع في وقت لاحق مقارنة بين ثلاثة أنواع من الضغوطات. التغيرات السلوكية والتكيف لدى الفئران وهي محاولة لتحديد المعايير السلوكية في الحقل المفتوح والمتاهة،

وأظهرت نتائجنا على الفئران ما يلي:

- زيادة القلق مع بداية الاكتئاب المقيمة في الاختبارات في المتاهة وحقل مفتوح.
- ضعف الذاكرة المكانية.
- اضطراب في خلايا الجهاز المناعي الداخلة في الاستجابة الخلوية والهرمونية (الخلايا وحيدات النواة، الخلايا اللمفاوية).

**الكلمات المفتاحية:** الفئران ، الإجهاد،فصل ، الافتراس ، مناعة ، المتاهة الحقل المفتوح

## **LISTE DES SYMBOLES**

<b>A</b>	: Adrénaline
<b>Acc</b>	: Noyau accumbens
<b>ACTH</b>	: Hormone adrénocorticotrope
<b>ADH</b>	: antidiurétique hormone
<b>ADNc</b>	: ADN complémentaire
<b>AHN</b>	: Noyau hypothalamique antérieur
<b>ANOVA</b>	: Analyse de la variance
<b>ARC</b>	: Noyau arqué de l'hypothalamus
<b>ARNm</b>	: ARN messenger
<b>AVP</b>	: Vasopressine
<b>BF</b>	: fermés, dans le test du labyrinthe en croix surélevé
	:
<b>β-LPH</b>	Lipotropine-β
<b>BO</b>	Bras ouverts, dans le test du labyrinthe en croix surélevé
<b>BSS</b>	Behavioral satiety sequence=Séquence comportementale de satiété
<b>CCK</b>	: Cholécystokinine
<b>Cm</b>	: Centimètre
<b>CRF</b>	: Corticolibérine
<b>CRF1 et 2</b>	: Récepteurs 1 et 2 au CRF
<b>CV</b>	: Organes circumventriculaires
<b>DMH</b>	: Noyau dorsomédian de l'hypothalamus
<b>g</b>	: Gramme
<b>GABA</b>	: Acide γ-aminobutyrique
<b>GnRH</b>	: Gonadolibérine
<b>GR</b>	: Récepteurs aux glucocorticoïdes
<b>GRE</b>	: Élément de réponse aux glucocorticoïde
<b>h</b>	: Heure
<b>IL-1</b>	: Interleukine-1
<b>J</b>	: Jour
<b>L</b>	: Litre
<b>LC</b>	: Locus coeruleus



## Liste des tableaux

<b>Tableaux</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau1</b>	Evolution du concept de stress.	<b>20</b>
<b>Tableau2</b>	Syndrome de stress : adaptation comportementales et physiques.	<b>24</b>
<b>Tableau3</b>	Paramètres comportementaux des lots témoins et traités enregistrés plus maze.	<b>77</b>
<b>Tableau4</b>	Paramètres comportementaux des lots témoins et traités enregistrés en open field.	<b>79</b>

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>page</b>
<b>Figure 1</b>	Triade typique de la phase de réaction du syndrome générale d'adaptation de Selye.	<b>18</b>
<b>Figure 2</b>	Activation de l'axe corticotrope suite au stress.	<b>28</b>
<b>Figure 3</b>	Interactions entre les neurones CRF du noyau PVN de l'hypothalamus et les noyaux noradrénergiques du système LC/NA du tronc cérébral (cerveau de rat).	<b>41</b>
<b>Figure 4</b>	Organisation du système nerveux autonome sympathique et parasympathique.	<b>43</b>
<b>Figure 5</b>	Activation de l'axe sympathique lors du stress.	<b>44</b>
<b>Figure 6</b>	Synthèse des catécholamines (dopamine, noradrénaline, adrénaline).	<b>46</b>
<b>Figure 7</b>	Test du labyrinthe en croix surélevée.	<b>63</b>
<b>Figure 8</b>	Test du champ ouvert (open Feild).	<b>65</b>
<b>Figure 9</b>	Illustration d'un stress de contention chez le rat.	<b>66</b>
<b>Figure10</b>	Comportement locomoteur enregistré dans le dispositif plus-maze des rats témoins et ce ayant subi un stress de contention.	<b>70</b>

<b>Figure11</b>	Comportement locomoteur enregistré dans le dispositif Plus-maze des rats témoins et ceux ayant subi un stress de Prédation.	<b>71</b>
<b>Figure12</b>	Comportement locomoteur enregistré dans le dispositif plus-maze des rats témoins et ceux ayant subi un stress de séparation.	<b>72</b>
<b>Figure13</b>	Comportement locomoteur enregistré dans le dispositif open field des rats témoins et ce ayant subi un stress de contention.	<b>73</b>
<b>Figure14</b>	Comportement locomoteur enregistré dans le dispositif openfield des rats témoins et ceux ayant subi un stress de prédation.	<b>74</b>
<b>Figure15</b>	Comportement locomoteur enregistré dans le dispositif openfield des rats témoins et ceux ayant subi un stress de séparation.	<b>75</b>
<b>Figure16</b>	Le taux des lymphocytes des rats témoins et ceux ayant subi un stress de contention, prédation et de séparation.	<b>80</b>
<b>Figure17</b>	Principales actions du stress sur l'axe neuro-endocrine, le système immunitaire et inflammatoire et sa régulation.	<b>89</b>

# **TABLE DES MATIERES**

**Page**

<b>1. INTRODUCTION.....</b>	<b>13</b>
<b>2. LE STRESS : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>17</b>
<b>3. MATERIELS ET METHODES.....</b>	<b>60</b>
<b>4. RESULTATS.....</b>	<b>69</b>
<b>5. DISCUSSION.....</b>	<b>81</b>
<b>6. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>90</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>92</b>

**PUBLICATIONS**

**COMMUNICATIONS**

## 1. INTRODUCTION

Chaque individu, humain et animal, est confronté dans sa vie quotidienne à des situations stressantes. Chez l'homme, le stress est omniprésent dans la vie personnelle et professionnelle. Le stress touche aussi le monde animal et représente un problème éthique et économique chez les animaux d'élevage. Une problématique importante en élevage est celle du bien-être animal. De nombreux concepts peuvent définir le bien-être, mais il se réfère principalement à l'état psychologique subjectif d'un animal en relation avec son environnement interne et externe (Rushen, 2003 ; Calvez, 2010 ; Yong *et al.*, 2012).

D'après l'Organisation mondiale de la santé, les troubles mentaux devraient augmenter de 50 % en 2020, devenant sur le plan international l'une des cinq principales causes de morbidité chez l'enfant. Cet accroissement est évoqué comme la crise du XXI<sup>e</sup> siècle (Lordi *et al.*, 2000).

La santé mentale est une composante essentielle de la santé humaine. Une proportion non négligeable d'enfants et d'adolescents (environ 22 % dans le monde) souffrent de troubles mentaux, c'est-à-dire de troubles de certaines de leurs activités mentales, qui interfèrent avec leur développement, freinent leurs apprentissages scolaires et compromettent leur devenir par une répercussion sur la qualité de vie au quotidien (Arnold *et al.*, 2009). Par exemple les périodes comme le développement prénatal, la petite enfance, l'enfance ou l'adolescence, sont des périodes de forte vulnérabilité au stress. L'exposition à des agents stressants pendant ces périodes peut conduire à une hypersensibilité aux stressseurs durant l'âge adulte permettant une survenue plus rapide et sévère des pathologies corrélées (Charmandari *et al.*, 2008).

C'est les troubles affectifs et l'anxiété qui constituent selon le même rapport l'essentiel de ce pourcentage. On estime globalement qu'un enfant sur quatre souffre de problèmes affectifs et des troubles de la personnalité pour des raisons diverses (les guerres, les séparations, décès des parents et les divorces etc.....) (Huot *et al.*, 2007) Les conséquences d'une hyperactivation

des systèmes de stress sont physiques et comportementales et ont des manifestations physiologiques, comportementales et neuropsychiatriques. De même, suivant des facteurs génétiques et environnementaux, l'hyperactivation des systèmes de stress peut conduire à l'anorexie ou à l'obésité (Chrousos *et al.*, 1992 ;Arnold *et al.*,2002 ;Yong *et al.*,2012 ). La réponse au stress comprend un volet comportemental qui permet à l'individu de contrôler son environnement et des mécanismes neuroendocriniens qui assurent le maintien de l'homéostasie. Ces deux versants de la réponse sont étroitement interdépendants. La nature et l'intensité des activations neuroendocriniennes et des conséquences pathologiques sont très variables, selon la situation et les possibilités de contrôle comportemental. (Dugovic *et al.*, 1999). Par ailleurs, on peut mettre en évidence chez les animaux de laboratoire des profils de réactivité comportementale, tout comme les psychologues ont décrit des profils de tempéraments. Cette variabilité a des origines multiples, dépendantes du patrimoine génétique, des influences précoces de l'environnement et des expériences de vie et peut expliquer les vulnérabilités individuelles aux pathologies liées au stress comme les troubles de l'humeur (anxiété, dépression) ou des comportements consommatoires (toxicomanies, troubles du comportement alimentaire). (Koehl *et al.*, 1997-1999; Van *et al.*, 1998).

Lorsque le stress est perçu, la réponse est coordonnée par le cerveau. Notre évaluation cognitive d'une situation dans le cerveau interagit avec les signaux corporels de la circulation sanguine comme les hormones, les nutriments et les molécules inflammatoires, ainsi qu'avec l'information provenant des nerfs périphériques et rendant compte de l'état des organes vitaux et des sensations. Le cerveau intègre ces informations pour produire une série de réponses graduées et spécifiques. Notre compréhension de ces mécanismes provient d'études de neuroendocrinologie. (Peters, 1988-1990).

Le stress dérègle le bon fonctionnement du système nerveux. Il accentue les états d'anxiété, d'angoisse et de dépression, de même que les attaques de panique. Il favorise

l'insomnie. Il trouble le sommeil en accentuant les cauchemars. Il provoque des maux de tête. Il engendre des tensions musculaires, notamment à la région du cou et du trapèze. Il peut conduire aux abus d'alcool et de drogues. (Takahashi *et al.*, 1992; Day *et al.*, 1998).

Selon le type de stresser, le stress soit accroit ou affaiblit le système immunitaire, par l'action des hormones corticosurrénales. Les stresser chroniques entraînent un affaiblissement, et devient ainsi plus sensible aux rhumes, aux gripes et à l'ensemble des maladies infectieuses (Archer, 2011). Les troubles viraux, comme l'herpès, peuvent aussi se manifester plus fréquemment. De plus, des réactions allergiques peuvent également être provoquées. On a constaté que les malades les moins stressés supprimaient quatre fois plus de virus que les autres. (Hans, 2010). Il est toutefois admis que selon les types de stresser la riposte est différente (Arumugam *et al.*, 2007) .les stress cognitifs semblent affecter plus spécialement la sphère comportementale (Baibazarova *et al.*, 2013).

La séparation mère - enfant est depuis une décennie désignée comme principale cause de troubles recensés chez les adolescents. La compréhension des mécanismes induits par ce stress a poussé un grand nombre de chercheurs à évaluer cette situation chez l'animal introduisant expérimentalement un stress dit stress de séparation. Cela a été possible par l'introduction de nouvelles approches essentiellement neurobiologiques et comportementales (Conte *et al.*, 1998; Champagne *et al.*, 2008).

Ainsi, des périodes critiques pourraient être identifiées pendant le développement, et l'intervention de facteurs stressants pendant ces périodes, comme la séparation de la mère et l'isolement, serait impliquée dans le développement de troubles visibles à long terme (Champagne *et al.*, 2008). La période de croissance cérébrale qui se place en particulier dans le dernier trimestre de la gestation chez l'homme posséderait son équivalent entre le cinquième et le quinzième jour de développement embryonnaire chez le rat » (Tecoma *et al.*,

1989) Il a été mis en évidence, chez les rats mâles séparés devenus adultes, par rapport aux rats adultes non séparés :

- une réaction comportementale exacerbée face à différents stress : stress acoustique (Caldji *et al.*, 2000 ; Kalinichev *et al.*, 2002), courant d'air (Huot *et al.*, 2007), confinement dans un nouvel environnement (Meaney *et al.*, 2002), stress doux de manipulation (Kalinichev *et al.*, 2002).

- une peur et une anxiété accrues face à différents environnements nouveaux : labyrinthe en croix surélevée

- un dysfonctionnement de l'axe HHS hypothalamo-hypophysé-surrénalien: les réponses accrues en ACTH (adénocorticotrope hormone) et en corticostérone suite à un stress (Plotsky *et al.*, 1993 ; Huot *et al.*, 2007 ; Caldji *et al.*, 2000 ; Kalinichev *et al.*, 2002) seraient liées à une diminution du rétrocontrôle négatif normalement exercé par les glucocorticoïdes sur l'axe HHS, et à une augmentation, dans l'hippocampe, des taux d'ARNm du CRH (corticolibérine) basal ou induit par un stress (Plotsky *et al.*, 1993 ; Seiden *et al.*, 2001).

Il semble intéressant de noter ici que certaines classes de déprimés chez l'homme présentent une perturbation de la régulation des hormones du stress allant dans le même sens (Nathan *et al.*, 1995 ; Seiden *et al.*, 2001).

- le développement d'une préférence à l'alcool (Huot *et al.*, 2007).

Ce modèle de séparation pourrait donc servir aux recherches menées sur l'alcoolisme chez l'homme.

L'objectif de notre travail est d'étudier l'effet de trois types de stress : stress aigu de contention, de prédation et stress de séparation pour évaluer les variations immunitaires et comportementales chez le rat Wistar. Il s'agit par la suite d'établir un comparatif entre un stress cognitif (séparation et prédation) et un stress mécanique (contention). Les modifications comportementales et adaptatives chez le rat se veut une tentative de cerner les paramètres



comportementaux évalués à partir de l'open field et plus maze et les niveaux immunitaires à travers des taux lymphocytaires perturbés.

## **2. LE STRESS : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES**

Le stress touche non seulement l'homme, mais aussi le monde animal et représente un problème éthique et économique chez les animaux d'élevage. Une problématique importante en élevage est celle du bien-être animal. De nombreux concepts peuvent définir le bien-être, mais il se réfère principalement à l'état psychologique subjectif d'un animal en relation avec son environnement interne et externe (Fraser, 1999; Rushen, 2003). De manière schématique, le bien-être animal peut se définir de 3 façons différentes : l'absence de mortalité et de morbidité, l'absence de stress ou la possibilité d'exprimer les comportements naturels de l'espèce (Larrère, 2007). Le stress induit donc une diminution du bien-être. Ainsi, une mesure classique consiste à évaluer les marqueurs physiologiques de stress (Mormede *et al.*, 2007). Le maintien du bien-être animal est une obligation réglementaire permettant de respecter l'animal comme un être sensible mais est également d'une utilité économique car une baisse du bien-être engendre souvent une baisse de la productivité en élevage (Veissier *et al.*, 2007). La question du bien-être animal et de l'absence de stress dans les élevages est donc fondamentale.

### **A. LE STRESS**

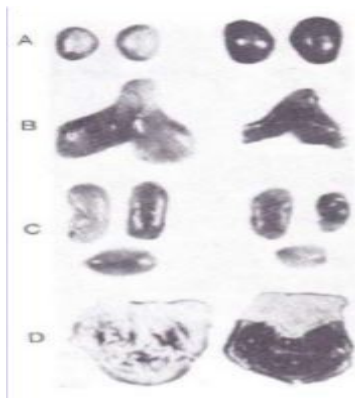
#### **1. Définition du stress :**

Le mot stress est aujourd'hui largement répandu et utilisé. Malgré l'universalité de ce terme, la notion de stress reste subjective et il est difficile de décrire précisément ce qu'il est et d'en

donner une définition précise. Le stress est donc une notion complexe et bien qu'elle ait vu le jour il y a plus de 100 ans, aucune définition n'est encore unanimement reconnue.

## 2. L'histoire du concept de stress :

Hans Selye (1907-1982), endocrinologue canadien d'origine austro-hongroise, est considéré comme le père du concept de stress. Il introduit et popularise le stress en tant qu'idée scientifique et médicale dans les années trente (Selye, 1936). Pour Selye, le stress est un ensemble de réponses physiologiques non spécifiques à des agents nocifs divers, destinées à mobiliser les défenses de l'organisme pour maintenir ou rétablir un équilibre menacé. Il décrit plus précisément cette réponse et la nomme « syndrome d'adaptation généralisée » (SGA). Le SGA est une succession de 3 phases (la phase d'alarme, la phase de résistance et la phase d'épuisement) caractérisée par des changements mesurables au niveau de certains organes et par des manifestations physiologiques quantifiables.



Les organes à gauche sont ceux de rats normaux et les organes à droite sont ceux de rats exposés à un stress chronique d'immobilisation. On note un élargissement et une coloration foncée des glandes surrénales (A), un rétrécissement important du thymus (B) et des ganglions lymphatiques (C) ainsi que l'apparition d'ulcères au niveau de l'estomac (D).

*(D'après Selye 1976)*

**Figure 1. Triade typique de la phase de réaction du syndrome général d'adaptation de Selye.**

Bien que la définition énoncée par Selye soit toujours aujourd'hui largement répandue, elle semble incomplète car elle ne corrobore pas toutes les données expérimentales (Pacak & Palkovits, 2001). De nouvelles définitions du concept de stress ont donc été élaborées au fil des années et dans l'évolution de ce concept, l'aspect psychologique, les émotions mais également des facteurs environnementaux et génétiques ont été de plus en plus pris en

compte. Le concept de stress est devenu largement multidimensionnel, ce qui complique l'élaboration d'une définition claire.

Actuellement, beaucoup d'opinions sur ce qu'est le stress et comment le définir et le mesurer existent mais aucune définition n'est unanimement acceptée, Aujourd'hui, le stress peut être toutefois résumé comme une situation perturbée où l'homéostasie est menacée. La réponse adaptative vise à maintenir un équilibre et est influencée par des facteurs psychologiques, génétiques et innés, l'expérience mais aussi l'environnement et le style de vie. Même s'il est clair que la réponse de stress implique l'activation du système commun à tous les agents stressants, elle ne semble pas exclusivement non spécifique comme l'avait énoncé Selye et chaque stressor induit également une réponse spécifique (Chrousos & Gold, 1992).

**Tableau 1. Evolution du concept de stress.**

AUTEURS	ANNEE	DEFINITIONS
Bernard	1878	introduit de la notion de milieu intérieur.
Cannon	1932	introduit de la notion d'homéostasie. Définit le comportement de fight or flight » suite à un événement perturbant.
Selye	1936	introduit le concept de stress et le syndrome général d'adaptation, et définit le stress comme la réponse non spécifique de l'organisme à toute demande qui lui est faite.
Mason	1971	critique la notion de non spécificité du stress de Selye, considère l'anxiété et la peur comme les déterminants de la réponse non spécifique engendrée par un stressueur.
Weiner	1991	définit le stress comme une pression sélective provenant de l'environnement physique et social qui menace l'organisme et provoque une réponse compensatoire adaptative (s'appuie sur les théories de Darwin).
Levine et Ursin	1991	définissent le stress comme composé de trois éléments principaux : le stimulus, l'évaluation par le système d'intégration de ce stimulus et la réponse correspondante de l'organisme, et définissent le stress comme partie intégrante d'un système biologique adaptatif.
Chrousos et Gold	1992	définissent le stress comme un état d'homéostasie menacée engendrant une réponse adaptative spécifique et non spécifique, et caractérisent les réponses comme spécifiques ou non spécifiques suivant l'intensité de l'agent stressant et intègrent l'importance du polymorphisme génétique, des altérations de l'expression de gènes et des facteurs environnementaux dans la réponse individuelle au stress.
Golstein	1995	définit le stress comme une condition où il existe une inadéquation entre les attentes (programmées génétiquement, établies par un apprentissage préalable ou déduites des circonstances) et les perceptions (observées ou ressenties) engendrant une réponse compensatoire.

(Adapté d'après Pacak et Palkovits, 2001)

### **3. Les stresseurs :**

Pour bien définir le concept de stress, il est important de caractériser ce que le stress n'est pas. Le stress n'est pas le stimulus déclenchant la réponse adaptative de l'organisme c'est-à-dire le stressor, et le stress est différent des conséquences qu'il peut entraîner comme la maladie, l'anxiété ou la dépression.

Un stressor est défini comme un stimulus engendrant une réponse adaptative, le stress. Dans toutes les définitions existantes du concept, le stress est à distinguer du stressor mais le langage courant emploie généralement les 2 mots comme synonymes. Ainsi, on parle de stress de froid, de stress de contention, de stress infectieux pour se référer au froid, à la contention ou à l'infection induisant un stress. Bien que ces expressions soient acceptées et largement employées, il faut garder à l'esprit la distinction entre les notions de stress et stressor. Les stressors sont divisés en 2 catégories, physiques et psychologiques (Sawchenko *et al.*, 2000; Dayas *et al.*, 2001; Herman *et al.*, 2003). Les stressors physiques également appelés stressors systémiques représentent une perturbation réelle et effective de l'homéostasie comme par exemple l'hypoxie, l'exercice intense, l'hémorragie ou le froid. Les stressors psychologiques ou émotionnels reflètent une menace prédite issue de prédispositions conditionnées basées sur la mémoire et les expériences passées ou par des prédispositions innées spécifiques à chaque espèce. Les réponses sont générées au niveau central en l'absence de perturbations physiologiques réelles et représentent une anticipation à la perturbation potentielle de l'homéostasie. Ces stressors sont divers et spécifiques de chaque individu.

### **4. L'anxiété et la peur :**

L'anxiété et la peur sont des émotions normales. L'anxiété est cliniquement définie comme un sentiment pénible d'attente, une peur sans objet, la crainte d'un danger imprécis. Ces caractéristiques distinguent l'anxiété de la peur, émotion analogue mais qui est liée à un

danger objectif et réel (Viveros *et al.*, 2005). L'anxiété et la peur sont des composantes adaptatives cruciales du stress et suite à l'exposition à un stressor, elles sont considérées comme des émotions positives car protectives (Millan, 2003). L'anxiété transitoire provoquée par un stressor provoque une réponse appropriée généralement la fuite ou l'évitement et est d'une importance fondamentale dans les stratégies de survie. Néanmoins, si l'anxiété induite est disproportionnée ou prolongée par rapport au stressor alors ce comportement devient mal adapté et pathologique correspondant à des troubles anxieux.

### **5. La dépression :**

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

effets du stress à court et long terme sont bien définis et les recherches sur le stress n'ont à ce jour fait qu'étoffer les découvertes de Selye.

## **6. Le rôle du stress, ses effets aigus et chroniques :**

Chez l'homme comme chez l'animal, si le stress a un rôle bénéfique à court terme, appliqué à long terme ses conséquences sont souvent néfastes.

### **6.1. Effets du stress à court terme : une réponse adaptative bénéfique :**

L'activation aiguë des systèmes de stress mène à un ensemble de changements comportementaux et physiques définis comme le syndrome de stress (tableau 2) (Chrousos & Gold, 1992). Ces changements sont adaptatifs et normalement limités dans le temps car ils ont pour but d'optimiser les chances de survie d'un individu en mobilisant ses forces physiques et mentales. Ils sont modulés par les médiateurs du stress que sont des neuropeptides et hormones régulateurs de l'homéostasie sécrétés par l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (que l'on appellera axe corticotrope) et le système nerveux sympathique associé aux glandes médullosurrénales : la corticolibérine (CRF), l'hormone adrénocorticotrope (ACTH), les glucocorticoïdes et les catécholamines.

## **Tableau 2. Syndrome de stress : adaptations comportementales et physiques.**

---

### Adaptations comportementales

---

Augmentation de l'éveil et de l'état d'alerte.

Augmentation des capacités de cognition, de la vigilance, de l'attention.

Suppression du comportement alimentaire.

Suppression de la libido.

Limitation de la réponse comportementale de stress dans le temps.

---

### Adaptations physiques

---

Redirection adaptative de l'énergie.

Redirection de l'oxygène et des nutriments vers le système nerveux central, le coeur et les muscles.

Modification du tonus cardiovasculaire, augmentation de la pression artérielle et du rythme cardiaque.

Augmentation du rythme respiratoire.

Augmentation de la glycogénolyse, de la gluconéogenèse et de la lipolyse.

Inhibition de la croissance et du système reproductif.

Inhibition de la digestion et stimulation de la mobilité du colon.

Inhibition de la réponse immunitaire et inflammatoire.

Limitation de la réponse de stress dans le temps.

(Adapté d'après *Chrousos & Gold, 1992*)



Les principales adaptations comportementales incluent un état d'éveil, d'alerte, de vigilance et des capacités cognitives accrues combinés avec une attention focalisée, une analgésie augmentée et une inhibition de comportements liés aux fonctions végétatives concurrentes comme l'alimentation et la reproduction. Ces adaptations sont permises par une facilitation ou une inhibition au niveau central de voies nerveuses modulant ces fonctions. En parallèle, des adaptations physiques permettent de promouvoir en périphérie une redirection adaptative de l'énergie. L'oxygène et les nutriments sont sélectivement dirigés vers le système nerveux central et les sites de l'organisme impliqués dans la réponse de stress comme le cœur ou les muscles, où le besoin est transitoirement augmenté. Cette redirection de l'énergie se fait grâce à la modification du tonus cardiovasculaire menant à l'augmentation du rythme cardiaque et de la pression artérielle, ainsi qu'à l'augmentation du rythme respiratoire. L'augmentation du métabolisme intermédiaire (glycolyse, néoglucogenèse, lipolyse) permet de promouvoir la disponibilité des substrats vitaux. En corollaire, les fonctions consommant de l'énergie comme la digestion, la croissance, l'immunité sont temporairement supprimées permettant une utilisation optimale de l'énergie. Le succès de ces adaptations tient non seulement à la rapidité de mise en place de celles-ci mais également à la capacité de l'organisme à contenir la réponse de stress en quantité et dans le temps. Ainsi, tous les éléments de la réponse de stress sont contre-régulés et les fonctions de détoxification au niveau cellulaire sont activées pour éliminer de l'organisme les métabolites produits durant la réponse adaptative. Bien que les réponses adaptatives face aux agents stressants soient bénéfiques à court terme, elles peuvent engendrer des manifestations désagréables (Chrousos, 2009). En effet, il est fréquent que ces réponses entraînent des manifestations allergiques, des migraines, des épisodes d'hypertension, des douleurs abdominales, des indigestions, des diarrhées ou des constipations. Malgré ces manifestations possiblement gênantes, la réponse de l'organisme à un stressor est positive à court terme car elle maximise la survie de

l'organisme. Toutefois, la capacité à limiter quantitativement et dans le temps ces réponses adaptatives est également cruciale pour la survie de l'individu. Si les processus de régulation de la réponse de stress échouent ou si l'exposition aux agents stressants est répétée trop fréquemment les changements adaptatifs peuvent devenir chroniquement excessifs et les effets cataboliques, anti-reproductifs, anti-croissance et immunosuppresseurs contribuent au développement d'effets néfastes et de pathologies.

## **6.2. Effets de l'hyperactivation des systèmes de stress : les maladies de l'adaptation.**

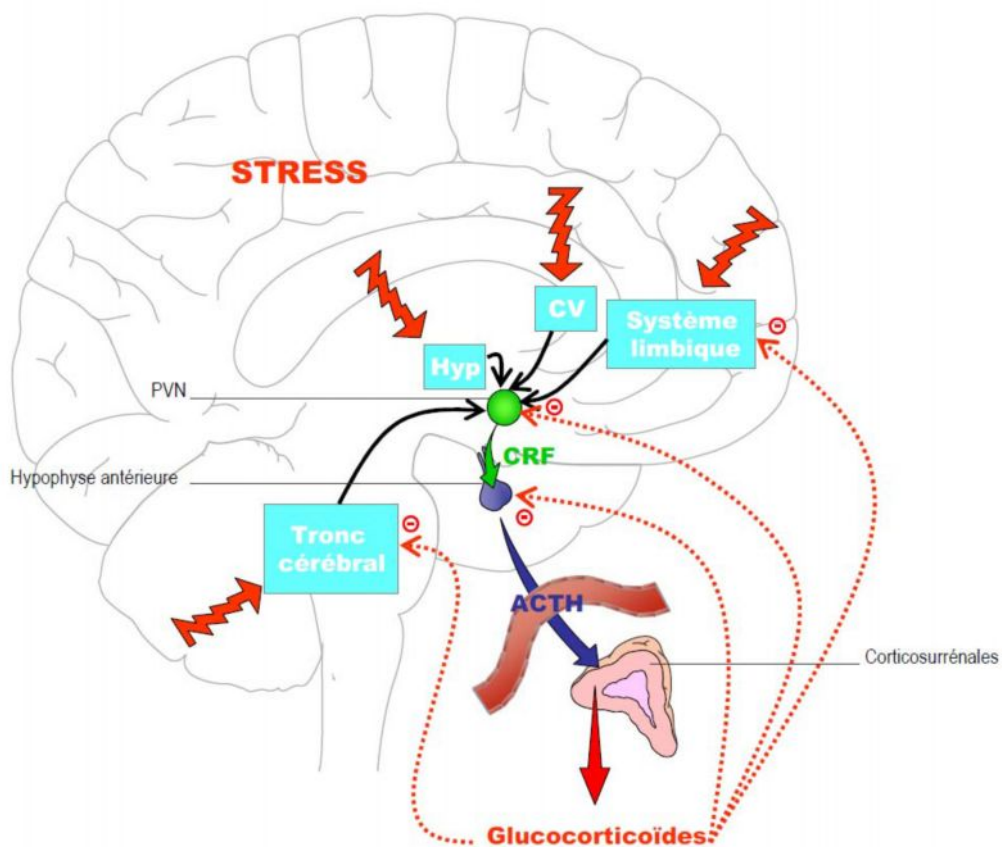
C'est par ces changements pathologiques appelés maladies de l'adaptation que Selye a commencé à étudier le stress (Selye, 1998). L'hyperactivation des systèmes de stress est impliquée dans un grand nombre de problèmes de santé chez l'homme. Comme (Chrousos & Gold, 1992) l'expliquent, le stress a une composante non spécifique et les réponses mal adaptées donc inappropriées peuvent être considérées comme des stressors alimentant alors un cercle vicieux. Il est alors difficile de distinguer la cause et l'effet d'une hyperactivation des systèmes de stress. Ainsi, on retrouve une hyperactivité des systèmes de stress dans des situations aussi diverses que le stress chronique, la dépression, l'anorexie nerveuse, les troubles obsessionnels compulsifs, les troubles paniques, l'alcoolisme, l'addiction aux narcotiques, le diabète du type 2, le syndrome métabolique ou l'obésité viscérale (Chrousos, 2009) sans pouvoir dissocier les causes du stress de leurs conséquences. Les conséquences d'une hyperactivation des systèmes de stress sont physiques et comportementales et ont des manifestations physiologiques, comportementales et neuropsychiatriques. Il existe un grand nombre de pathologies et manifestations liées à cette hyperactivation. Elles sont en fonction de facteurs exogènes et endogènes comme des facteurs génétiques ou environnementaux, l'état de santé des individus, leur période de développement, leur mode de vie, leur alimentation, etc. (Chrousos, 2009). Par exemple les périodes comme le développement

prénatal, la petite enfance, l'enfance ou l'adolescence, sont des périodes de forte vulnérabilité au stress. L'exposition à des agents stressants pendant ces périodes peut conduire à une hypersensibilité aux stressors durant l'âge adulte permettant une survenue plus rapide et sévère des pathologies corrélées (Charmandari *et al.*, 2003). De même suivant des facteurs génétiques et environnementaux, l'hyperactivation des systèmes de stress peut conduire à l'anorexie ou à l'obésité (Chrousos & Gold, 1992; Dallman, 2009). Parmi les manifestations de l'hyperactivation des systèmes de stress, on retrouve classiquement les troubles anxieux, la dépression, des dysfonctionnements cognitifs et des troubles du sommeil. Des problèmes cardiovasculaires peuvent apparaître comme par exemple l'hypertension ou l'athérosclérose. Les troubles métaboliques sont également très fréquents incluant l'obésité, le syndrome métabolique, le diabète du type 2. Il existe un grand nombre d'autres manifestations et pathologies liées notamment au pouvoir immunosuppresseur du stress (Tsigos & Chrousos, 1994; Tsigos & Chrousos, 2002). En résumé, le stress maximise la survie de l'organisme en permettant l'accomplissement d'un répertoire complexe de réponses adaptatives grâce à des médiateurs centraux et périphériques. Ces réponses sont régulées par l'activation de l'axe corticotrope mais aussi du système nerveux sympathique.

### **7. Les mécanismes du stress :**

L'axe corticotrope et le système nerveux sympathique sont des systèmes neuroendocriniens de régulation de l'homéostasie. Lors du stress, ces axes sont mobilisés pour permettre la réponse de stress. Le contrôle central du stress est situé dans l'hypothalamus et le tronc cérébral. Les principaux acteurs de ce contrôle central sont les neurones sécrétant du CRF et de la vasopressine (AVP) localisés dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (PVN) et le locus coeruleus (LC) associé à d'autres groupes de neurones à noradrénaline du tronc cérébral formant le système LC/NA du système nerveux sympathique (Chrousos & Gold, 1992; Tsigos & Chrousos, 2002). L'axe corticotrope et les efférences du

système sympathique vers la médullosurrénale représentent les 2 principales branches effectrices périphériques permettant le contrôle par le cerveau des différents organes durant l'exposition au stress (Tsigos & Chrousos, 2002). Le cerveau active également une partie des efférences vagales parasympathiques qui modulent les réponses au stress du tractus gastro-intestinal (Habib *et al.*, 2001; Ulrich-lai & Herman, 2009). Ainsi l'axe corticotrope et le système LC/NA associé aux efférences sympathiques du système nerveux autonome vers la médullosurrénale (que l'on appellera par la suite axe sympathique) constituent les 2 principaux systèmes effecteurs de la réponse de stress, des sites d'interaction existent entre les différents composants de ces 2 systèmes.



**Figure 2. Activation de l'axe corticotrope suite au stress.**

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

d'ACTH, mais également au niveau du tronc cérébral et du système limbique permettant de limiter la réponse de stress (traits pointillés rouges)(Kalvez,2010).

### **7.1. Axe corticotrope :**

Le CRF est le premier régulateur hypothalamique de l'axe corticotrope. Il est libéré au niveau de l'éminence médiane dans le système porte hypophysaire par des terminaisons nerveuses provenant de la zone parvocellulaire du PVN de l'hypothalamus suite à une stimulation du PVN par d'autres structures. Il agit sur les cellules corticotropes de l'hypophyse antérieure pour stimuler la libération d'ACTH dans la circulation générale. Suite à sa libération par l'hypophyse, l'ACTH stimule la corticosurrénale permettant la libération de glucocorticoïdes. Les glucocorticoïdes sont les effecteurs finaux de l'axe corticotrope et jouent un rôle majeur dans la réponse adaptative du stress (Sapolsky *et al.*, 2000). Ils sont également d'une importance fondamentale dans l'arrêt de la réponse de stress car ils exercent un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus et l'hypophyse permettant d'inhiber la libération de CRF et d'ACTH.

L'activité de l'axe corticotrope est importante aussi bien en conditions non stressantes qu'en conditions stressantes. Ainsi, en conditions non stressantes, le CRF et l'AVP sont sécrétés de manière pulsatile et synchronisée dans le système porte hypophysaire suivant un rythme circadien (Charmandari *et al.*, 2005). Ce rythme est contrôlé par les noyaux suprachiasmatiques de l'hypothalamus antérieur qui représentent le siège de la régulation des rythmes de nombreux comportements et processus physiologiques (Saper *et al.*, 2005). L'augmentation de l'amplitude et de la fréquence des sécrétions pulsatiles durant les premières heures de la phase d'activité (le matin pour les espèces diurnes comme l'homme, le début de la nuit pour les espèces nocturnes comme le rat) entraîne une augmentation de la sécrétion d'ACTH et de glucocorticoïdes (Gudmundsson & Carnes, 1997; Lightman *et al.*, 2008). Ainsi, les glucocorticoïdes sont sécrétés suivant un rythme précis au cours de la journée. Ce rythme permet de coordonner les événements circadiens comme les phases de

sommeil et d'éveil ou la prise alimentaire et est impliqué dans les processus sous-jacents au maintien de l'attention et à l'intégration d'informations sensorielles (De kloet *et al.*, 1998). L'exposition à un stressor entraîne une modification du rythme circadien de sécrétion de CRF et d'AVP due à une forte augmentation de leurs sécrétions pulsatiles (Herman *et al.*, 2003; Charmandari *et al.*, 2005; Kyrou & Tsigos, 2009).

- **Stimulation du PVN de l'hypothalamus :**

Suivant le type de stressor, physique ou psychologique, les voies de stimulation du PVN de l'hypothalamus diffèrent. En effet, les informations liées aux stressors physiques, correspondant à une perturbation réelle de l'homéostasie, sont intégrées par des voies somatiques, viscérales ou par les organes circumventriculaires alors que les informations émotionnelles sont liées à la mémoire des stressors psychologiques sont intégrées par les structures limbiques comprenant l'hippocampe, l'amygdale et le cortex préfrontal (Herman *et al.*, 2003; Herman *et al.*, 2005). Le PVN de l'hypothalamus reçoit directement les terminaisons nerveuses d'un nombre restreint de structures nerveuses et ces structures reçoivent les informations des nocicepteurs somatiques, des afférences viscérales ou des voies hormonales sensorielles permettant de détecter rapidement une perturbation de l'homéostasie. Ces structures comprennent le noyau du faisceau solitaire (NTS) et le noyau parabrachial du tronc cérébral qui relayent les informations véhiculées par le système nerveux autonome, le système constitué de l'organe subfornical et l'organe vasculaire de la lamina terminalis qui régule l'équilibre électrolytique et hydrique et différents noyaux hypothalamiques comme le noyau dorsomédial, l'aire préoptique médiale, l'aire hypothalamique latérale, le noyau arqué (ARC) entre autres, qui relayent les signaux d'ordre autonome, métabolique, immunitaire ou d'excitation (Herman *et al.*, 2003).

Suivant les neuromédiateurs mis en jeu (GABA pour acide  $\gamma$ -aminobutyrique, sérotonine, glutamate, catécholamines, etc.), ces structures ont un rôle inhibiteur ou stimulateur sur le

PVN. Le système limbique n'est pas directement connecté avec le PVN de l'hypothalamus et ses signaux de régulation sur l'axe corticotrope sont donc relayés par des structures directement connectées au PVN. Ces structures sont intra et extra-hypothalamiques, elles correspondent aux structures citées ci-dessus auxquelles viennent s'ajouter d'autres structures centrales comme par exemple le noyau du lit de la strie terminale. L'hippocampe et le cortex préfrontal sont inhibiteurs alors que l'amygdale est un activateur de l'axe corticotrope (Herman *et al.*, 2003; Herman *et al.*, 2005). Les voies d'activation du PVN sont donc très spécifiques de l'agent stressant (Sawchenko *et al.*, 2000; Dayas *et al.*, 2001).

- **De l'hypothalamus à l'hypophyse :**

Lors de l'exposition à un stresser, le CRF est libéré par les neurones de la zone parvocellulaire du PVN très rapidement. Le CRF est le principal effecteur de la sécrétion d'ACTH par l'hypophyse antérieure. Le CRF est un neuropeptide de 41 acides aminés qui ne peut pas passer la barrière hémato-encéphalique (Chrousos, 2009). Au niveau du système nerveux central, il se retrouve dans de nombreux noyaux extra et intra-hypothalamiques. Le CRF provenant de la zone parvocellulaire du PVN a un rôle endocrine (Habib *et al.*, 2001). Environ 50 à 90 % des neurones du PVN de l'hypothalamus projetant dans l'éminence médiane contiennent du CRF et sont responsables de la libération de ce neurotransmetteur en réponse au stresser (Miller & O'callaghan, 2002). Beaucoup des neurones de la zone parvocellulaire du PVN produisant le CRF produisent également de l'AVP qui constitue un puissant facteur synergique du CRF mais seule, l'AVP ne stimule que très peu la libération d'ACTH (Abou-Samra *et al.*, 1987; Charmandari *et al.*, 2005). Il existe une interaction positive entre le CRF et l'AVP au niveau de l'hypothalamus, chaque neuropeptide stimulant la sécrétion de l'autre (Chrousos, 1998). Le CRF stimule la sécrétion d'ACTH par les cellules corticotropes (3 à 10 % de la quantité totale de cellules) de l'hypophyse antérieure via des

récepteurs spécifiques au CRF du type I (CRF1). Les récepteurs au CRF sont des récepteurs membranaires de 2 types, CRF1 et CRF2, issus de gènes distincts et couplés aux protéines G (Bale & Vale, 2004). L'AVP potentialise l'effet du CRF par l'intermédiaire de récepteurs à vasopressine V1b (Tanoue *et al.*, 2004). La stimulation des cellules corticotropes de l'hypophyse antérieure par le CRF entraîne la transcription de la proopiomélanocortine (POMC) (Lightman, 2008). La POMC est un polypeptide qui peut subir de nombreuses modifications post-traductionnelles permettant la libération de fragments biologiquement actifs incluant les mélanocortines, la lipotropine- $\beta$  ( $\beta$ -LPH) et la  $\beta$ -endorphine. L'ACTH, l' $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -mélanotropine (MSH) constituent la famille des mélanocortines. Le clivage de la POMC est spécifique au tissu considéré du fait de la présence ou non d'enzyme spécifique (Coll & Loraine Tung, 2009). Dans les cellules corticotropes, l'enzyme proconvertase 1 (PC-1) permet le clivage de la POMC en ACTH et  $\beta$ -LPH (Pritchard & White, 2007). En plus de stimuler la transcription de la POMC, le CRF agirait également sur les niveaux d'expression de PC-1 (Kageyama & Suda, 2009). Les neurones de la zone magnocellulaire du PVN et du noyau supraoptique de l'hypothalamus se projettent au niveau du lobe postérieur de l'hypophyse via l'éminence médiane. Ces neurones synthétisent de l'AVP et de l'oxytocine. Ces peptides peuvent être sécrétés dans l'hypophyse postérieure et entrer dans la circulation générale. L'AVP et l'oxytocine ainsi sécrétée peuvent atteindre l'hypophyse antérieure par voie systémique ou par le système porte reliant l'hypophyse antérieure et postérieure et peuvent agir en synergie avec le CRF afin de potentialiser la libération d'ACTH. La stimulation du PVN lors de la réponse de stress entraîne une libération d'oxytocine et d'AVP, cependant en fonction du type de stress, il se peut que seuls les neurones à oxytocine ne soient excités (Engelmann *et al.*, 2004).



- **De l'hypophyse à la corticosurrénale :**

Suite à la stimulation des cellules corticotropes de l'hypophyse antérieure par le CRF, l'ACTH est libérée dans la circulation générale en moins de 1 minute (Sapolsky *et al.*, 2000). L'ACTH est un peptide de 39 acides aminés responsable de la sécrétion basale et de l'hypersécrétion liée au stress des glucocorticoïdes par les glandes corticosurrénales (Miller & O'callaghan, 2002; Charmandari *et al.*, 2005; Kyrou & Tsigos, 2009). Les glandes surrénales sont 2 glandes endocrines situées aux pôles supérieurs de chaque rein. Elles sont divisées en 2 structures fonctionnellement et embryologiquement distinctes : la médullosurrénale au centre et la corticosurrénale qui l'entoure (Rosol *et al.*, 2001). La corticosurrénale est divisée en 3 zones concentriques : la zone glomérulée externe, la zone fasciculée intermédiaire et la zone réticulée interne (Rosol *et al.*, 2001). La zone glomérulée constitue 15 % de la masse de la glande surrénale, la zone fasciculée 50 % et la zone réticulée 7 % (Ganong, 2004). La corticosurrénale sécrète des corticostéroïdes : la zone fasciculée sécrète essentiellement les glucocorticoïdes, la zone réticulée les androgènes surrénaliens et la zone glomérulée les minéralocorticoïdes (principalement l'aldostérone) (Pocock & Richards, 2004). L'activité des mélanocortines est modulée par 5 récepteurs couplés aux protéines G (MCR1 à 5) et l'ACTH stimule la synthèse de glucocorticoïdes au niveau de la zone fasciculée de la corticosurrénale par l'intermédiaire du récepteur MCR2 (Abdel-malek, 2001). La liaison de l'ACTH avec le MCR2 permet d'augmenter la disponibilité en cholestérol grâce à la conversion du cholestérol estérifié dans des gouttelettes lipidiques en cholestérol libre dans la cellule, précurseur des glucocorticoïdes (Rosol *et al.*, 2001). Le cholestérol libre est alors disponible pour permettre la chaîne de réactions de déshydrogénation et d'hydroxylation ayant lieu dans la mitochondrie ou le réticulum endoplasmique lisse et mener à la transformation en glucocorticoïdes (Ganong, 2004). Chez l'homme, le cortisol est le principal glucocorticoïde biologiquement actif alors que chez le rongeur, c'est la corticostérone. Les

glucocorticoïdes sont les effecteurs finaux de l'axe corticotrope. Suite à l'exposition à un stress, les glucocorticoïdes sont libérés dans la circulation sanguine en quelques minutes (Sapolsky *et al.*, 2000). Bien que l'ACTH soit le principal modulateur de la libération de glucocorticoïdes, des efférences du système nerveux autonome et des hormones ou cytokines venant de la médullosurrénale ou de la circulation générale peuvent également participer à la régulation de la sécrétion de glucocorticoïdes (Chrousos, 1998; Habib *et al.*, 2001; Ulrich-lai & Engeland, 2002).

#### **8. Effets des différents acteurs de l'axe corticotrope :**

- **Le CRF :**

Le CRF et les récepteurs au CRF sont présents dans de nombreux sites centraux intra et extra-hypothalamiques. Les corps cellulaires de neurones sécrétant du CRF sont notamment présents dans le système limbique (noyau central de l'amygdale, hippocampe), le noyau du lit de la strie terminale, le cortex cérébral, le tronc cérébral permettant l'activation du système nerveux autonome et l'élaboration de réponses cognitives et comportementales (Habib *et al.*, 2001; Bale & Vale, 2004). Au sein du PVN, à côté des neurones projetant vers l'éminence médiane de l'hypophyse et sécrétant du CRF en tant que neurohormone, un petit nombre de neurones CRF projette vers le tronc cérébral notamment et est impliqué dans la régulation du système nerveux autonome (Dunn & Swiergiel, 2008). Le stress est un puissant activateur de la libération de CRF au niveau central (Owens & Nemeroff, 1991; Habib *et al.*, 2000) et il a été mis en évidence qu'en plus de son effet sécrétagogue de l'ACTH au niveau de l'hypophyse, le CRF module de nombreuses réponses comportementales et physiologiques du stress (Owens & Nemeroff, 1991; Koob & Heinrichs, 1999; Heinrichs & Koob, 2004) et ses effets s'expriment très rapidement, en moins d'une minute (Sapolsky *et al.*, 2000). Parmi les réponses comportementales modulées au niveau central (Koob & Heinrichs, 1999; Habib *et al.*, 2001; Heinrichs & Koob, 2004), le CRF participe à l'état d'éveil et de vigilance via des

processus de stimulation de l'éveil et de modification des cycles de sommeil. De plus, le CRF est un neuropeptide anxiogène et inhibe le comportement sexuel et la prise alimentaire. Concernant les effets physiologiques du CRF, il active le système nerveux sympathique et inhibe le système nerveux parasympathique participant alors aux réponses cardiovasculaires, digestives et métaboliques du stress (Tache *et al.*, 1990; Owens & Nemeroff, 1991; Tache & Bonaz, 2007; Stengel & Tache, 2009). Enfin, le CRF influence également le système reproducteur en inhibant les neurones à gonadolibérine (GnRH) de l'ARC et la croissance et le développement en stimulant la sécrétion de somatostatine, inhibitrice de l'hormone de croissance (Tsigos & Chrousos, 2002; Charmandari *et al.*, 2005).

- **Les glucocorticoïdes**

- ❖ **Mécanismes d'action des glucocorticoïdes :**

Les glucocorticoïdes ont des effets pléiotropiques, ils agissent sur quasiment tous les organes et tissus, incluant le cerveau, grâce à des récepteurs nucléaires présents dans toutes les cellules (Munck *et al.*, 1984). Les récepteurs sont de 2 types, les récepteurs aux minéralocorticoïdes (MR) et les récepteurs aux glucocorticoïdes (GR). Les GR sont largement exprimés en périphérie et dans le système nerveux central notamment dans l'amygdale, l'hippocampe, l'hypothalamus et le LC. La distribution des MR est plus restreinte, notamment au niveau central car les MR ne sont presque essentiellement exprimés dans l'hypothalamus, l'hippocampe et le septum latéral (Buckingham, 2006; Fietta, 2007; de Kloet *et al.*, 2008). L'affinité des 2 récepteurs à leur ligand est différente : les MR ont une grande affinité avec les glucocorticoïdes alors que les GR présentent une affinité dix fois plus faible (De kloet *et al.*, 1998). Ces différences de distribution et d'affinité confèrent aux MR et aux GR des fonctions distinctes. Lorsque les concentrations plasmatiques de glucocorticoïdes sont basses, c'est-à-dire en l'absence de stress, seuls les MR sont occupés alors qu'en cas de stress,

l'augmentation de concentration plasmatique de glucocorticoïdes entraîne une saturation des MR et les GR sont occupés (De Kloet *et al.*, 1998). Lors du stress, les glucocorticoïdes agissent via des mécanismes génomiques modulés par les MR et les GR mais également par des mécanismes plus rapides non génomiques (Makara & Haller, 2001; Buckingham, 2006; de Kloet *et al.*, 2008; Fietta *et al.*, 2009). Les mécanismes génomiques des glucocorticoïdes s'expriment à partir de 15 min après le début de la réponse de stress et peuvent durer des heures voire des jours (Sapolsky *et al.*, 2000). Ils sont majoritairement transcriptionnels mais peuvent également être posttranscriptionnels (Stellato, 2004; Barnes, 2006; van der Laan & Meijer, 2008). Les MR et les GR sont présents dans le cytoplasme sous forme inactive. Les glucocorticoïdes sont des composés lipophiles et diffusent facilement à travers les membranes cellulaires pour se lier à leurs récepteurs. Une fois le complexe glucocorticoïde-récepteur formé, ce dernier entre dans le noyau de la cellule où il agit sur l'expression du génome en activant ou inhibant la transcription (Munck *et al.*, 1990; Barnes, 2006). Pour activer la transcription de gènes, le complexe glucocorticoïde-récepteur se fixe sous forme de dimère à une séquence d'ADN spécifique appelée « élément de réponse aux glucocorticoïdes » (GRE). Des sites GRE négatifs existent également et permettent une inhibition de la transcription (Barnes, 2006; van der Laan & Meijer, 2008). Le complexe glucocorticoïde-récepteur peut également interagir avec d'autres facteurs de transcription comme le « nuclear factor- $\kappa$ B » ou l'« activating protein-1 » et réduire l'activité de ces derniers (van der Laan & Meijer, 2008). Au niveau post-transcriptionnel, les glucocorticoïdes agissent sur la stabilité des ARNm, leur traduction en protéines, leur dégradation et la libération des protéines par de multiples mécanismes (Bergmann *et al.*, 2004; Stellato, 2004; Barnes, 2006). Les mécanismes non génomiques sont basés sur la liaison des glucocorticoïdes avec des protéines membranaires spécifiques (lipoprotéines des membranes synaptiques, récepteurs aux neurotransmetteurs ou

récepteurs spécifiques aux glucocorticoïdes différents des récepteurs génomiques) et les actions rapides de modulations de voies cellulaires qui s'en suivent (Makara & Haller, 2001).

#### ❖ Effets des glucocorticoïdes :

Un des effets des glucocorticoïdes consiste à exercer un rétrocontrôle négatif sur l'axe corticotrope. L'effet adaptatif bénéfique du stress repose sur ce rétrocontrôle. Il est réalisé par des mécanismes rapides non génomiques et des mécanismes retardés, plus longs et génomiques. Le rétrocontrôle négatif génomique est majoritairement modulé par les GR suite au stress alors qu'il est régulé par les MR en condition basale d'activité de l'axe corticotrope (De Kloet *et al.*, 1998). Les premiers sites de rétrocontrôle des glucocorticoïdes par des mécanismes génomiques sont l'hypophyse et l'hypothalamus. Des sites GRE négatifs ont été identifiés au niveau du promoteur de gènes de la POMC et du CRF (Barnes, 2006; van der Laan & Meijer, 2008). Suite à un stress, les glucocorticoïdes inhibent l'expression de POMC et des récepteurs au CRF et à l'AVP des cellules corticotropes de l'hypophyse et contrôlent ainsi la quantité d'ACTH libérée (Tasker *et al.*, 2006). Au niveau de l'hypothalamus, les glucocorticoïdes inhibent l'expression de CRF et d'AVP dans le PVN (Tasker *et al.*, 2006). Au niveau de l'hippocampe, l'abondance des GR et des MR ainsi que des observations mettant en évidence un délai de la terminaison de la libération de glucocorticoïdes suite au stress lorsque l'hippocampe est lésé suggèrent un rôle de cette structure limbique dans le rétrocontrôle négatif de l'axe corticotrope par les glucocorticoïdes (Herman *et al.*, 2003; Jacobson, 2005). De même, l'amygdale et le cortex préfrontal pourraient être impliqués dans le rétrocontrôle des glucocorticoïdes (Herman *et al.*, 2003; Herman *et al.*, 2005; Jacobson, 2005). Le rétrocontrôle négatif de l'axe corticotrope par les glucocorticoïdes est également régulé par des mécanismes rapides et non génomiques (Tasker *et al.*, 2006). Les effets rapides des glucocorticoïdes s'exercent pour moitié par une inhibition de la libération d'ACTH au niveau de l'hypophyse et pour une autre moitié par des mécanismes au niveau du cerveau. Au

niveau du PVN, les glucocorticoïdes réduisent l'activité des neurones projetant vers l'éminence médiane, inhibent la libération d'AVP et facilitent les effets inhibiteurs des neurones GABAergiques projetant vers le PVN. De plus, au niveau de l'hippocampe, les glucocorticoïdes ont des effets non génomiques entraînant une excitation des neurones de l'hippocampe et une inhibition consécutive de l'axe corticotrope (Jacobson & Sapolsky, 1991; Jacobson, 2005). Parmi les autres effets des glucocorticoïdes lors de l'exposition à un stress, nous allons citer les principaux effets au niveau périphérique et central. Ces effets ont été classés en 4 grandes catégories par Sapolsky *et al.* (Sapolsky *et al.*, 2000) : les effets permissifs qui permettent d'augmenter les réponses aux stressors engendrés par d'autres médiateurs, les effets suppresseurs qui inhibent certaines fonctions, les effets stimulateurs permettant la mise en place de réponses adaptatives et les effets préparatifs permettant de préparer l'organisme à une nouvelle exposition à un stress. Au niveau périphérique, les effets des glucocorticoïdes sur le métabolisme intermédiaire sont permissifs et stimulateurs (Sapolsky *et al.*, 2000). En effet, suite au stress, les glucocorticoïdes ont tout d'abord un effet permissif en augmentant les effets rapides des catécholamines sur la stimulation de la néoglucogenèse, la glycogénolyse et la lipolyse. Toutefois, les glucocorticoïdes ont également un effet stimulateur car ils ont un effet direct sur la mobilisation de l'énergie. Ils stimulent la néoglucogenèse hépatique et mobilisent les acides aminés par inhibition de la synthèse protéique et stimulation de la protéolyse dans certains muscles. Ils mobilisent également les acides gras par lipolyse du tissu adipeux et inhibent le transport du glucose vers divers tissus périphériques. Ces effets stimulateurs permettent de faire perdurer la redirection de l'énergie nécessaire à la réponse adaptative du stress.

Les glucocorticoïdes ont un effet permissif sur l'activation cardiovasculaire et l'inhibition du système reproducteur engendré par le CRF et les catécholamines suite au stress (Galosy *et al.*, 1981). Les glucocorticoïdes entraînent une diminution du nombre de

récepteurs et de la sensibilité des ovaires à la luteinizing hormone (Sapolsky *et al.*, 2000). Par contre, les glucocorticoïdes ont un effet immunosuppresseur et anti-inflammatoire en réponse au stress majoritairement suppressif (Sapolsky *et al.*, 2000). Ils entraînent une altération de la circulation et de la fonction des leucocytes, une diminution de la production de cytokines et des médiateurs de l'inflammation et une inhibition des effets de ces derniers sur leurs tissus cibles (Chrousos, 1995). Au niveau central, les glucocorticoïdes ont de nombreux effets sur le comportement et les performances cognitives (Fietta *et al.*, 2009). Les glucocorticoïdes peuvent agir au niveau central sur l'hippocampe, l'amygdale et le cortex préfrontal influençant les capacités d'apprentissage et de mémorisation (de Kloet, 2000; Fietta *et al.*, 2009). D'un point de vue comportemental, les glucocorticoïdes stimulent l'appétit et la recherche de nourriture. L'effet orexigène des glucocorticoïdes est considéré comme préparatif car il permet de stocker l'énergie perdue lors de la réponse de stress et donc de permettre de répondre à une nouvelle exposition au stress (Sapolsky *et al.*, 2000; Fietta *et al.*, 2009). En parallèle de l'activation de l'axe corticotrope, l'axe constitué du système LC/NA, du système nerveux sympathique et des glandes médullosurrénales est également activé en situation de stress.

## **9. Axe sympathique**

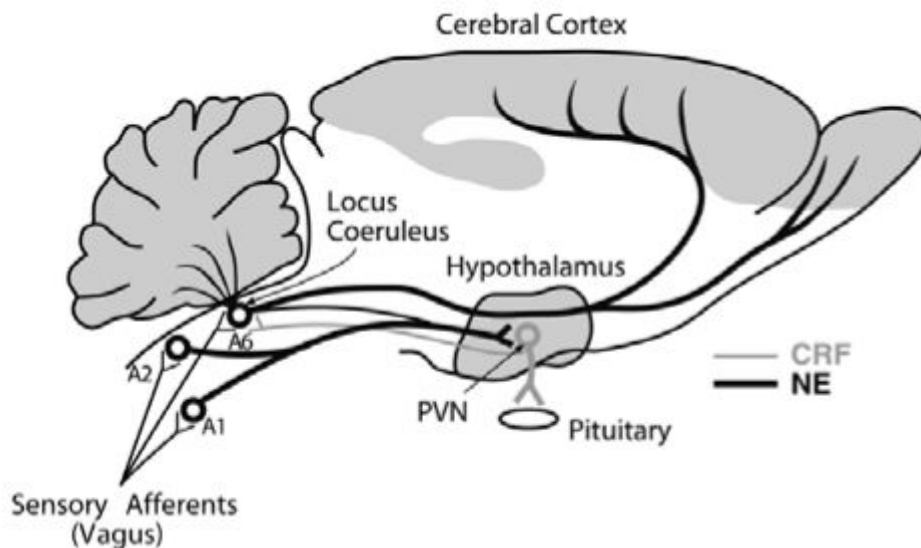
- **Activation du système LC/NA :**

Le locus coeruleus (LC), situé dans le pont du tronc cérébral, est le plus important noyau noradrénergique (A6) du système nerveux central. Avec les noyaux noradrénergiques A1 et A2 respectivement situés dans la formation réticulée ventrolatérale et le NTS du bulbe rachidien, le LC constitue le système LC/NA (Carrasco & Van de Kar, 2003; Itoi, 2008). Les neurones du système LC/NA possèdent des projections entre eux et vers le système limbique, l'hypothalamus, le tronc cérébral et la moelle épinière notamment (Itoi & Sugimoto, 2010). Il semble que ce système contribue à la majorité de la noradrénaline présente dans le cerveau car

la noradrénaline plasmatique est hydrosoluble et ne peut pas traverser la barrière hématoencéphalique (Habib *et al.*, 2001).

Lors du stress, les informations d'ordre émotionnel ou physique sont intégrées par les structures appropriées (amygdale et hippocampe ou noyau parabrachial du tronc cérébral par exemple) et peuvent réguler directement le système LC/NA, engendrant une libération massive et très rapide de noradrénaline au niveau central. Le système LC/NA reçoit des fibres nerveuses de neurones CRF du PVN de l'hypothalamus et innerve réciproquement le PVN avec des fibres nerveuses noradrénergiques. L'activation du PVN par le stress entraîne alors une stimulation du système LC/NA grâce à la fixation du CRF sur des récepteurs du type 1. Cette stimulation est réciproque car la libération de noradrénaline active le PVN via des récepteurs  $\alpha$ 1- noradrénergiques (Kiss & Aguilera, 2000; Charmandari *et al.*, 2005; Dunn & Swiergiel, 2008). Comme pour les neurones CRF, les neurones noradrénergiques sont influencés par d'autres systèmes centraux. Les systèmes GABAergiques et opioïdes l'inhibent alors que les systèmes sérotoninergiques et cholinergiques le stimulent (Szafarczyk *et al.*, 1993; Kyrou & Tsigos, 2009).





**Figure 3. Interactions entre les neurones CRF du noyau PVN de l'hypothalamus et les noyaux noradrénergiques du système LC/NA du tronc cérébral (cerveau de rat).**

*NE : norépinéphrine = noradrénaline. (D'après Dunn et al., 2004).*

- **Stimulation du système nerveux sympathique :**

Le système nerveux autonome est responsable de la régulation des fonctions automatiques assurant l'homéostasie inconsciente de l'organisme comme par exemple le fonctionnement des systèmes cardiovasculaires, respiratoire et digestif. Le système nerveux autonome possède 2 composantes desservants généralement les mêmes organes : le système nerveux sympathique et le système nerveux parasympathique (Figure 4). Le système nerveux sympathique fonctionne sur un modèle à 2 neurones, un neurone pré ganglionnaire dont le corps cellulaire est localisé dans la moelle épinière, fait synapse avec un neurone post-ganglionnaire dont le corps cellulaire est localisé dans un ganglion qui lui-même innervé le tissu cible. Le neurotransmetteur des neurones pré ganglionnaires est l'acétylcholine, tandis que celui des neurones post ganglionnaire est en général la noradrénaline. Les neurones sympathiques innervent les muscles lisses du système vasculaire, le cœur, les muscles

squelettiques, le rein, l'intestin, le tissu adipeux et beaucoup d'autres organes, tissus ou glandes dont notamment les glandes médullosurrénales (Ganong, 2004). Le système nerveux parasympathique a des effets opposés au sympathique permettant une régulation fine des organes, glandes et tissus innervés. Les fibres nerveuses du système parasympathique prennent leur origine dans les nerfs crâniens (nerf III, VII, IX et X) et de la moelle épinière. Comme le système sympathique, il fonctionne sur un modèle à 2 neurones. Le neurotransmetteur des fibres pré et post-ganglionnaires parasympathiques est l'acétylcholine (Ganong, 2004). Le système LC/NA possède des projections vers la moelle épinière et contrôle la stimulation du système nerveux sympathique et parasympathique lors du stress. En particulier, le système LC/NA stimule les efférences splanchniques du système nerveux sympathique permettant la libération d'adrénaline et de noradrénaline par les glandes médullosurrénales (Habib *et al.*, 2001; Carrasco & Van de kar, 2003). La réponse de stress inclut donc une activation du système nerveux sympathique mais également une modulation coordonnée du système parasympathique. La réponse parasympathique est notamment régulée par le noyau moteur dorsal du nerf vague par l'intermédiaire de signaux provenant du NTS ou du PVN (Ulrich-lai & Herman, 2009).

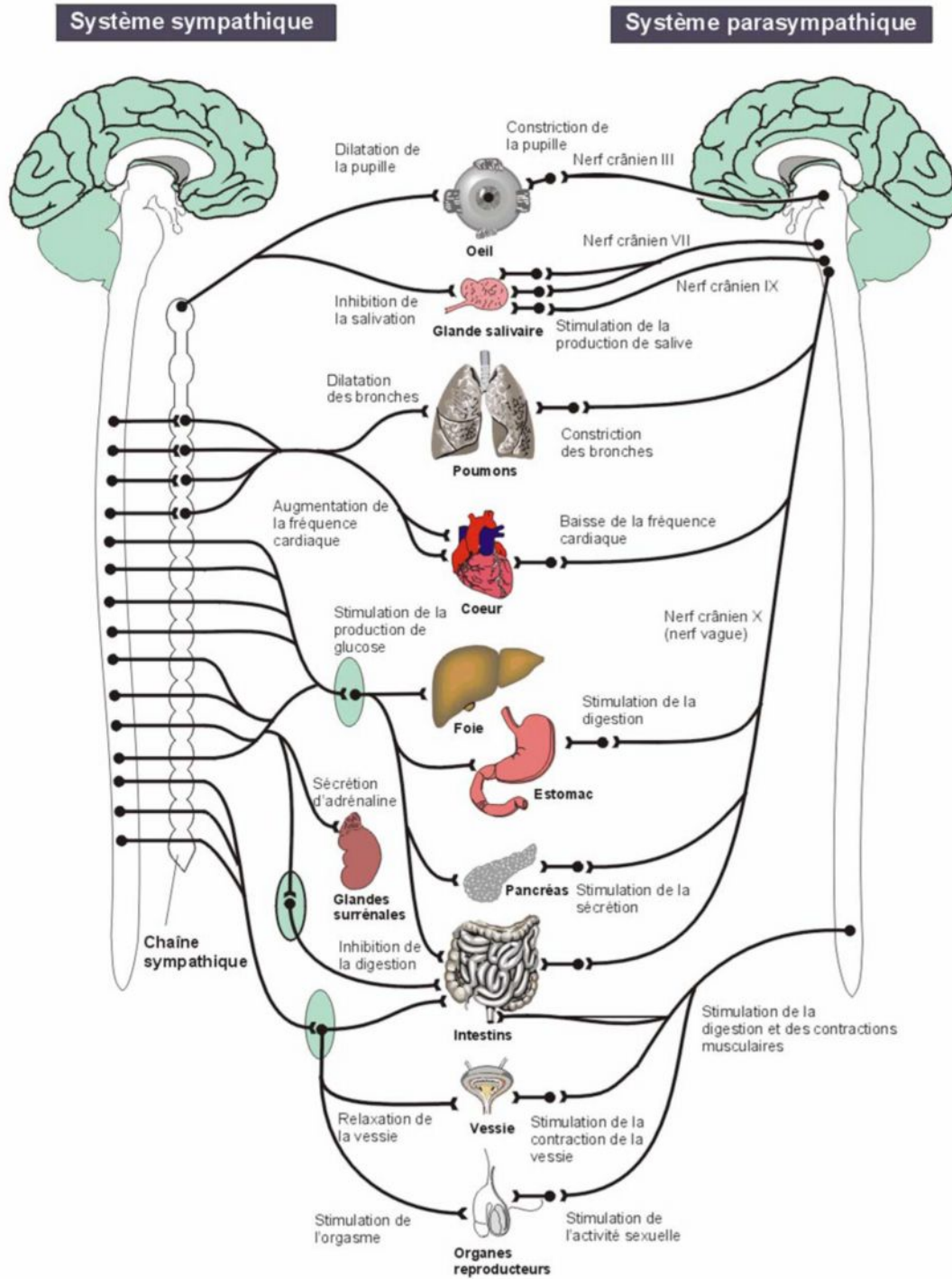
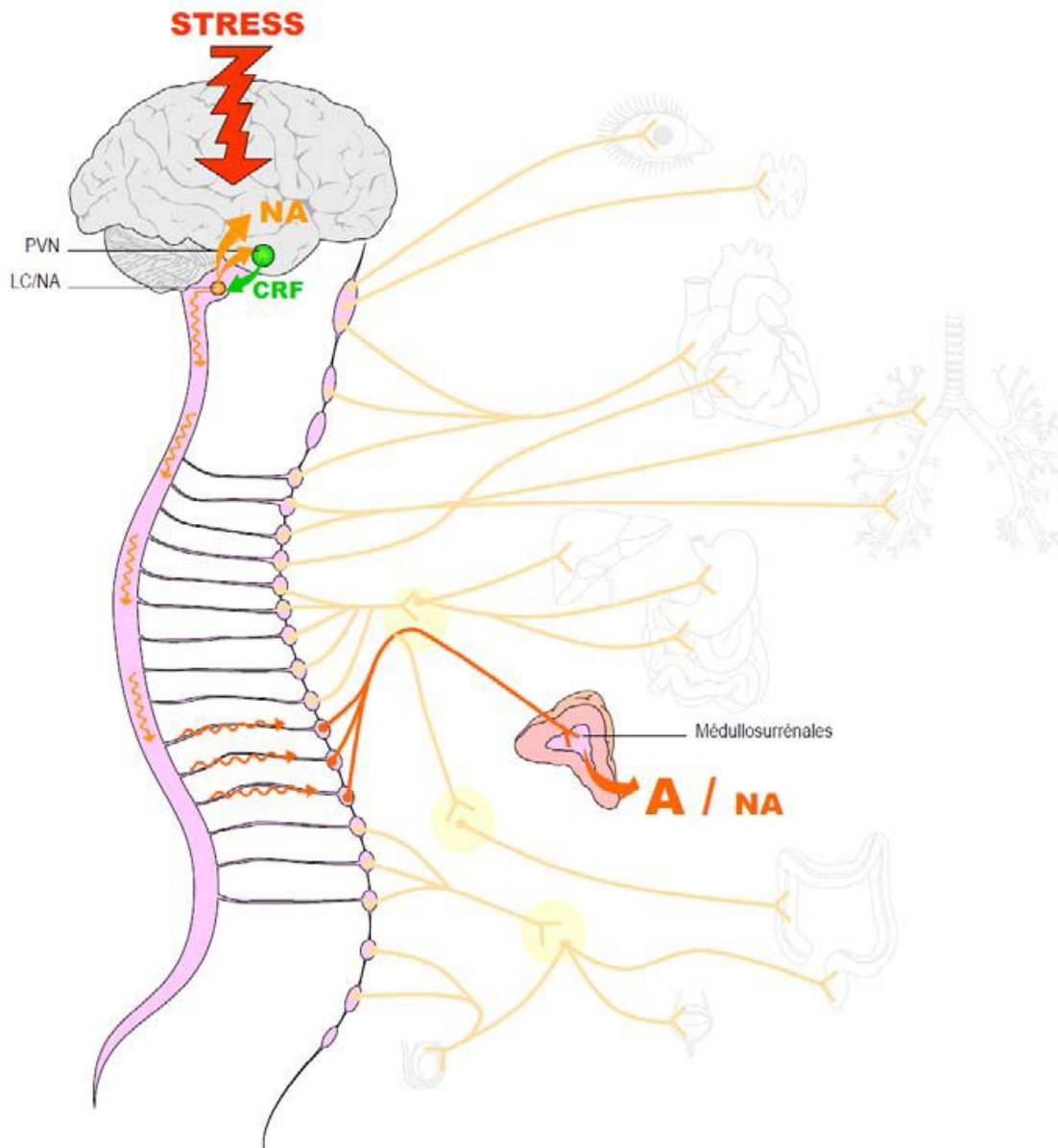


Figure 4. Organisation du système nerveux autonome sympathique et parasympathique (kalvez,2010).

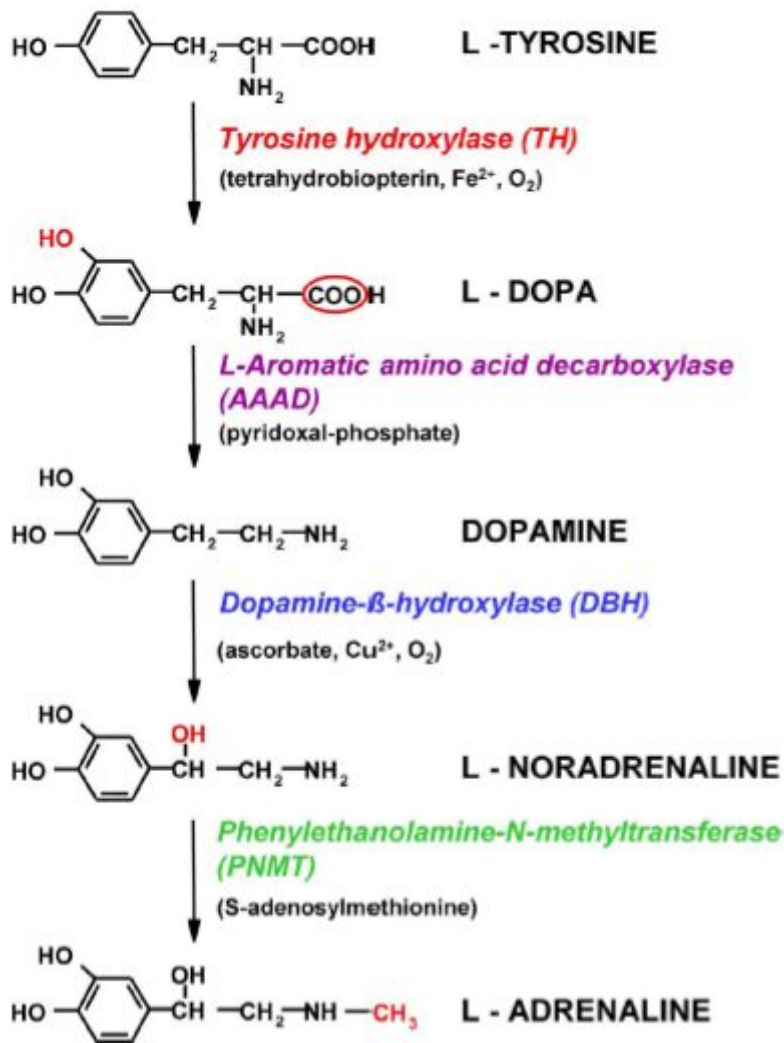


**Figure 5. Activation de l'axe sympathique lors du stress(Kalvez, 2010).**

Lors du stress, les informations d'ordre émotionnel ou physique sont intégrées par les structures appropriées. Ces structures peuvent réguler directement le système LC/NA au sein du tronc cérébral, engendrant une libération massive et très rapide de noradrénaline au niveau central. Une innervation réciproque existe entre les neurones CRF du PVN de l'hypothalamus et les neurones noradrénergiques du système LC/NA, permettant une activation du système LC/NA par le CRF suite à l'activation du PVN engendrée par les stimuli stressants. Le système LC/NA stimule ensuite le système nerveux sympathique engendrant une libération par les glandes médullosurrénales d'adrénaline et de noradrénaline dans la circulation générale. De plus l'activation du système sympathique induit une libération de noradrénaline dans la circulation générale et au niveau des organes qu'il innerve permettant la régulation de nombreuses fonctions. A : adrénaline ; NA : noradrénaline.

- **Libération de catécholamines par les médullosurrénales :**

La médullosurrénale est principalement composée de cellules chromaffines. Chez l'homme, ces cellules contiennent à la fois des granules à adrénaline et à noradrénaline alors que chez les rongeurs, certaines cellules contiennent uniquement l'adrénaline et d'autres la noradrénaline (Rosol *et al.*, 2001). L'adrénaline est synthétisée à partir de la noradrénaline par N-méthylation, ce processus étant catalysé par l'enzyme phényléthanolamine N methyltransferase (PNMT). Les médullosurrénales contiennent également des cellules ganglionnaires sympathiques présynaptiques provenant des fibres nerveuses splanchniques sympathiques. La médullosurrénale peut être considérée comme un ganglion hypertrophié et ses cellules comme des neurones sympathiques post-ganglionnaires spécialisés sécrétant dans le sang des catécholamines (adrénaline et noradrénaline).



**Figure 6. Synthèse des catécholamines (dopamine, noradrénaline, adrénaline).**  
(D'après Kvetnansky *et al.*, 2009)

La sécrétion de catécholamines en situation basale est faible mais en situation de stress, l'acétylcholine libérée par les terminaisons nerveuses sympathiques préganglionnaires se lie à ses récepteurs sur la membrane des cellules chromaffines de la médullosurrénale engendrant une dépolarisation de la membrane qui induit l'exocytose des granules contenant l'adrénaline ou la noradrénaline (Kvetnansky *et al.*, 2009). L'adrénaline et la noradrénaline sont alors sécrétées dans la circulation générale. Comme ces mécanismes sont nerveux, la libération des catécholamines suite au stress est de l'ordre de la dizaine de secondes (Sapolsky *et al.*, 2000). La libération d'acétylcholine engendre également une induction de l'activation de certaines enzymes nécessaires à la biosynthèse d'adrénaline et de noradrénaline (Rosol *et al.*, 2001). Le

« pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide » (peptide PACAP) est un neuropeptide libéré avec l'acétylcholine par les terminaisons nerveuses sympathiques splanchniques dans les médullosurrénales. Le peptide PACAP est considéré comme un co-neurotransmetteur nécessaire au maintien de la biosynthèse et à la sécrétion d'adrénaline durant le stress (Hamelink *et al.*, 2002). Une grande partie de l'apport sanguin à la médullosurrénale se fait par un système porte provenant des corticosurrénales. Les glucocorticoïdes libérés lors du stress par la corticosurrénale passent dans ce système porte traversant la médullosurrénale pour être libérés dans la circulation générale et jouent un rôle important dans la synthèse de l'adrénaline. Ils sont nécessaires à la synthèse de l'enzyme PNMT contrôlant la N-méthylation de la noradrénaline en adrénaline (Wurtman, 2002; Ehrhart, 2008). L'adrénaline correspond à 80 % des catécholamines sécrétées par les médullosurrénales (Pocock & Richards, 2004). En cas de stress, les médullosurrénales sécrètent 95 % de l'adrénaline plasmatique et 30 % de la noradrénaline plasmatique. Les 70 % de noradrénaline plasmatique restant sont sécrétées par les terminaisons nerveuses du système sympathique (Kvetnansky *et al.*, 2009).

- **Terminaison de la réponse de l'axe sympathique :**

La réponse de l'axe sympathique est, comme l'axe corticotrope, sous rétrocontrôle négatif. Le CRF stimule le système LC/NA et par conséquent la libération de noradrénaline et d'adrénaline au niveau des terminaisons sympathiques et des médullosurrénales. Lorsque le CRF est inhibé par rétrocontrôle négatif des glucocorticoïdes, une inhibition de la réponse adrénergique est conséquente. Le système LC/NA possède des récepteurs GR et les glucocorticoïdes sont susceptibles de réguler directement l'activation de celui-ci (Kvetnansky *et al.*, 1995; Makino *et al.*, 2002). Une élévation aiguë des glucocorticoïdes inhibe l'activation de l'axe sympathique. Par contre, une élévation chronique entraîne une diminution de cette inhibition (Makino *et al.*, 2002) voire une stimulation (Kvetnansky *et al.*, 1995).

## 10. Effets périphériques et centraux des catécholamines :

L'adrénaline et la noradrénaline agissent via des récepteurs membranaires adrénergiques  $\alpha$  et  $\beta$  couplés à des protéines G et qui comprennent de nombreux sous types ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ ). L'adrénaline stimule principalement les récepteurs  $\beta$  et la noradrénaline les récepteurs  $\beta_1$  et  $\alpha$ . Les effets physiologiques des catécholamines circulantes médullosurréaliennes sont très rapides et doivent être envisagés dans le cadre global de la réponse sympathique car la sécrétion de ces hormones est toujours associée à une libération de noradrénaline par les terminaisons sympathiques post-ganglionnaires (Pocock & Richards, 2004). Parmi leurs effets principaux, l'adrénaline et la noradrénaline stimulent le rythme cardiaque et la force contractile du myocarde via des récepteurs  $\beta_1$ , ce qui aboutit à un accroissement du débit cardiaque. La stimulation sympathique produit également une augmentation de la tension artérielle par une stimulation directe du cœur et une stimulation des muscles lisses artériolaires produisant une vasoconstriction des vaisseaux grâce aux récepteurs  $\alpha$ . L'adrénaline et la noradrénaline modulent également les flux sanguins en diminuant les flux cutanés et rénaux et en augmentant les flux musculaires et coronaires. La stimulation sympathique entraîne le relâchement du muscle lisse bronchiolaire permettant ainsi une meilleure oxygénation grâce à une plus importante dilatation des bronches (Pocock & Richards, 2004).

Le muscle lisse gastro-intestinal se relâche avec l'adrénaline. Le tonus général et l'amplitude des contractions spontanées sont réduits par l'intermédiaire des récepteurs  $\beta$  engendrant une diminution de l'activité motrice du tube digestif (Pocock & Richards, 2004). L'adrénaline et la noradrénaline agissent également au niveau du métabolisme (Nonogaki, 2000). Ainsi, l'adrénaline participe à l'activation de la glycolyse et de la néoglucogenèse dans le foie permettant la libération de glucose dans la circulation générale. L'adrénaline



circulante stimule la sécrétion de glucagon et inhibe la sécrétion d'insuline par le pancréas. L'augmentation de la glycogénolyse dans le foie est alors modulée par le glucagon et l'effet direct de l'adrénaline sur les cellules hépatiques. L'adrénaline et la noradrénaline stimulent la glycogénolyse dans les muscles entraînant une libération de lactate dans la circulation ce qui, combiné à leur action directe sur le foie de l'adrénaline, induit la néoglucogenèse hépatique. L'adrénaline et la noradrénaline stimulent également la lipolyse au niveau des adipocytes via des récepteurs  $\beta$ . Le couplage des catécholamines aux récepteurs  $\beta$  entraîne l'activation de l'hormone-sensible lipase et de la périlipine, 2 hormones impliquées dans la lipolyse (Jocken & Blaak, 2008). Le système nerveux parasympathique est également mis en jeu durant le stress. Ainsi, la plupart des effets du système nerveux sympathique, et donc de l'adrénaline et de la noradrénaline, sont appuyés par une inhibition centrale (par le CRF notamment) du système parasympathique (Habib *et al.*, 2001). Par exemple, en réponse au stress, les efférences vers l'estomac du nerf vague sont inhibées par le CRF entraînant un ralentissement de la vidange gastrique alors que les efférences au niveau du côlon sont stimulées par le CRF de manière indirecte via le système LC/NA et engendrant une augmentation du transit au niveau du côlon (Stengel & Tache, 2009).

Sécrétée au niveau central, la noradrénaline joue principalement le rôle de système d'alarme et entraîne une diminution des fonctions neurovégétatives, comme le sommeil et l'alimentation par exemple (Habib *et al.*, 2001). Elle contribue également à augmenter les réponses autonomes et neuroendocrines au stress incluant l'activation de l'axe corticotrope grâce à l'innervation réciproque du système LC/NA et du PVN de l'hypothalamus (Habib *et al.*, 2001; Carrasco & Van de kar, 2003; Itoi & Sugimoto, 2010). La noradrénaline active aussi l'amygdale qui est le centre à l'origine de la peur et est donc anxiogène (Habib *et al.*, 2001; Carrasco & Van de kar, 2003; Aston & Cohen, 2005; Itoi, 2008; Itoi & Sugimoto, 2010).

## **11. Modulation des systèmes de stress en cas de stress chronique :**

L'exposition à un stress chronique entraîne une altération des structures et des fonctions des régions du cerveau impliquées dans le contrôle de l'axe corticotrope et du système nerveux autonome. Le stress chronique induit des modifications structurelles au niveau de l'hippocampe et du cortex préfrontal (Magarinos & Mcewen, 1995; Radley *et al.*, 2008). Au niveau du PVN, une augmentation de l'expression de CRF et d'AVP et une diminution de l'expression des GR sont mises en évidence (Herman *et al.*, 1995; Makino *et al.*, 1995) ainsi qu'une altération de nombreux autres récepteurs (Cullinan, 2000; Ziegler *et al.*, 2005). Des changements neurochimiques sont également démontrés dans de nombreuses voies de signalisation projetant vers le PVN, notamment une augmentation des niveaux de neurotransmetteurs GABA dans l'hypothalamus et le noyau du lit de la strie terminale (Bowers *et al.*, 1998). Ces changements sont à l'origine des effets délétères du stress chronique. Pour connaître les mécanismes impliqués dans la réponse adaptative du stress, de nombreux modèles de stress ont été étudiés. En effet, un des objectifs de l'étude du stress est de connaître les mécanismes sous-jacents à l'activation des différents systèmes impliqués et les effets du stress sur ces mécanismes dans différentes situations métaboliques ou conditions environnementales. Connaître précisément ces mécanismes et leur modulation permet de mettre en place des programmes de lutte contre l'impact négatif qu'a actuellement le stress sur notre société.

## **12. Modélisation du stress :**

Pour étudier le stress, il est pertinent d'étudier le sujet cible. Dans le cas de l'homme, les études mécanistiques restent limitées et manipuler son environnement demeure difficile. Le modèle rongeur est plus malléable et permet d'avoir accès à un grand nombre de données. On peut également étudier le stress pour essayer d'améliorer les conditions de vie des animaux de rente dans une optique d'amélioration du bien-être animal et/ou d'optimisation de

la productivité. Il est alors possible d'utiliser les animaux en question dans des modèles expérimentaux.

- **Catégorisation des modèles expérimentaux de stress :**

il existe 2 grands types de stressseurs : physiques et psychologiques.

Cette distinction se fait sur une perturbation réelle et effective ou prédite et anticipée de l'homéostasie. La différence entre les 2 types de stressseurs est importante car bien que tous les 2 entraînent une activation de l'axe corticotrope et/ou du système nerveux sympathique, les voies nerveuses d'activations sont différentes (Sawchenko *et al.*, 2000; Dayas *et al.*, 2001). Dans beaucoup de modèles expérimentaux de stress, la différence entre physiques et psychologiques n'est pas toujours claire, mais généralement, l'une des 2 composantes est prédominante.

- **Modèles de stress chez l'homme :**

Chez l'homme, les modèles de stress utilisés en laboratoire ont souvent pour objectif de mimer des situations de la vie courante afin de pouvoir extrapoler les résultats à la vie réelle. Les stressseurs sont souvent d'ordre psychosocial mais peuvent également être physiques. Un modèle de stress est jugé pertinent lorsqu'il est assez intense pour activer l'axe corticotrope ou/et le système nerveux sympathique (Kajantie & Phillips, 2006). Les stressseurs psychosociaux les plus couramment utilisés sont ceux basés sur la prise de parole en public ou la performance de tâches mentales, comme par exemple des exercices mathématiques (Earle *et al.*, 1999) effectués dans un laps de temps précis et/ou sous la pression de l'investigateur. Le modèle le plus connu est le « Trier Social Stress Test » (Kirschbaum *et al.*, 1993). Ce test consiste à faire tout d'abord parler le sujet de ses compétences durant 5 min puis à le soumettre à une tâche arithmétique devant un public de quelques personnes tout en étant filmé. Parmi les stressseurs physiques, l'épreuve au froid ou « cold pressor test » consistant à plonger sa main durant quelques minutes dans un bac d'eau glacée (Duncko *et al.*, 2007) ou

l'exercice physique par exemple (Deuster *et al.*, 1998) sont connus pour entraîner une activation de l'axe corticotrope et/ou du système nerveux sympathique.

- **Modèles de stress chez le rongeur :**

Chez le rat ou la souris, de très nombreux modèles de stress ont été développés sur la base de stressseurs psychologiques, physiques ou mixtes.

- ❖ **Stresseurs physiques :**

Parmi les stressseurs purement physiques classiquement utilisés chez les rongeurs de laboratoire, on trouve le stress opératoire consistant à opérer un animal (Varma *et al.*, 1999) et donc à engendrer des dommages tissulaires et une hémorragie limitée. L'hémorragie seule constitue un autre stressseur physique lors duquel une quantité conséquente de sang est prélevée à l'animal (Dayas *et al.*, 2001). Enfin, on peut également citer l'injection de produit toxique comme la formaline (Pacak, 2000), le LiCl (Rinaman, 1999a) ou le LPS (Valles *et al.*, 2000) ou le placement du rongeur dans un caisson hypobare (Simler *et al.*, 2007) comme autres stressseurs physiques souvent utilisés.

- ❖ **Stresseurs mixtes, psychologiques et physiques :**

Il est parfois difficile de classer les stressseurs entre physiques et psychologiques. Certains stressseurs présentent les caractéristiques à la fois d'un stressseur physique et d'un stressseur psychologique, la menace pour l'homéostasie est alors réelle mais il existe également une menace prédite. C'est le cas des stressseurs comme la nage forcée dans l'eau froide, les chocs électriques à la patte, prédation, ou le stress de froid. La nage forcée dans l'eau froide consiste à placer le rat ou la souris dans un bac d'eau froide pendant une dizaine de minutes (Dal *et al.*, 2000). Lors du stress de chocs électriques à la patte, l'animal est placé dans un compartiment dont le sol est électrifié et reçoit des chocs électriques réguliers durant quelques minutes (Retana *et al.*, 2003). Le stress de froid consiste à placer l'animal dans une chambre froide à 4°C (Dronjak *et al.*, 2004). Le fait d'être immergé dans l'eau froide, de subir

des chocs électriques, prédation, en l'opposant sans possibilité de fuite à un chat. d'être dans un environnement froid sont des stressseurs physiques mais le fait de ne pouvoir s'échapper de cet environnement néfaste engendre un stress psychologique important (Sawchenko *et al.*, 2000; Dayas *et al.*, 2001).

#### ❖ **Stresseurs psychologiques :**

Certains stressseurs psychologiques impliquent un aspect physique engendrant une confusion concernant leur classement en tant que stressseurs psychologiques. Par exemple, la manipulation des animaux par les investigateurs (Kvetnansky *et al.*, 1992), le stress de contention et d'immobilisation sont des stressseurs incluant une limitation du mouvement des animaux. Le stress de contention consiste à placer dans un tube en plastique, un grillage ou encore un cône en plastique souple ajusté à son corps (Buynitsky & Mostofsky, 2009) et le stress d'immobilisation consiste à attacher les pattes et le cou de l'animal par des sangles en métal (Ricart *et al.*, 2002). La composante physique de ces stressseurs n'est pas à l'origine du stress car elle ne constitue pas une menace réelle de l'homéostasie. Par contre, lors de l'exposition à ces stressseurs, le fait de ne pas pouvoir s'échapper est à l'origine d'un stress psychologique pour l'animal (Dayas *et al.*, 2001).

Ainsi le stress de séparation, mère/nouveau-née. Ces derniers ont été utilisés pour essayer de décrire les conséquences de ce stress précoce sur le développement des petits. La mère sert de lien premier entre l'environnement et l'animal en développement ; la séparation maternelle pourrait donc avoir des conséquences néfastes visibles à long terme, entraîner des altérations des fonctions neuronales, qui se manifestent. La privation maternelle altère à la fois le comportement et les systèmes de neurotransmission, dans de nombreuses espèces (Hall, 1998 ; Anisman *et al.*, 1998 ; Guillermo *et al.*, 2011).

### ❖ **Stresseurs sociaux :**

Parmi les stresseurs psychologiques, les stresseurs sociaux sont classés à part et méritent une attention particulière. La plupart des modèles de stress psychologiques et physiques sont limités car ils ne représentent pas de situations rencontrées en milieu naturel et les résultats obtenus peuvent être critiquables. Le contexte social est à l'origine de stress important chez l'homme et les animaux vivant en société, comme le rat. Chez de nombreuses espèces, la capacité à gérer les défis sociaux au sein de leur habitat naturel détermine largement la survie de l'individu et des mécanismes de défenses envers les semblables sont mis en place pour cela. La mise en échec de ces mécanismes de défense est à l'origine de stress psychologique intense. Les modèles de stress impliquant une interaction sociale sont donc éthologiquement pertinents car ils miment des situations naturelles et sont très efficaces (Blanchard *et al.*, 2001).

Les 2 principaux modèles de stress sociaux sont la défaite sociale et la subordination dans un système appelé « Visible Burrow System » (VBS). La défaite sociale consiste à placer le rat à stresser, appelé rat intrus, dans la cage d'un rat plus gros, entraîné à être dominant, appelé rat résident (Tamashiro *et al.*, 2007). Rapidement, le résident impose son statut de dominant et met en situation de soumission l'intrus, c'est la défaite sociale de l'intrus. Le VBS est un terrier fait de plastique opaque et divisé en différentes salles et tunnels, où sont réparties des mangeoires et des points d'eau. Une colonie mâle et femelle est hébergée au sein du VBS et les mâles présents dans le VBS sont donc en compétition lors de la recherche de nourriture, d'eau, de partenaire sexuelle.

### **13. Intensité du stressueur :**

Les stressueurs sont d'intensité variable, de faible à très sévère. Les stressueurs les plus faibles sont la manipulation ou le pincement à la queue et sont considérés comme anxiolytiques car ils induisent une diminution de l'anxiété (Meerlo *et al.*, 1999; Maslova *et al.*, 2002; Sinno *et al.*, 2009). Les stressueurs les plus sévères sont souvent physiques et sociaux, comme par exemple l'injection de toxines ou la défaite sociale et la prédation, mais des stressueurs psychologiques comme l'immobilisation peuvent également être très intenses (Koolhaas *et al.*, 1997; Valles *et al.*, 2000; Marquez *et al.*, 2002).

### **14. Modèles de stress chez les animaux d'élevage, exemple de la poule :**

Il existe également des modèles expérimentaux de stress chez les animaux de rente comme les poules, les vaches et les cochons. Dans la plupart des cas, les modèles de stress ont pour objectif de reproduire des conditions stressantes d'élevage et possèdent donc des composantes mixtes physiques, psychologiques et sociales. Chez la poule, la chaleur (Debut *et al.*, 2003), le transport (Debut *et al.*, 2003), la contention (Korte *et al.*, 1997; Bedanova *et al.*, 2007) et la modification des conditions d'hébergement (nombre de poules par cage, enclos versus cage, etc.) (Cheng & Fahey, 2009) sont des stressueurs classiques.

### **15. Application du stressueur dans le temps**

- **Application aiguë ou chronique :**

Expérimentalement, le stressueur peut être appliqué de manière aiguë c'est-à-dire une ou plusieurs fois, de manière discontinue et limitée dans le temps. L'application aiguë est à opposer à l'application chronique lorsque le stressueur est appliqué soit de manière intermittente mais répétée dans le temps sur une longue période, soit de façon continue dans le temps. Entre l'application aiguë et chronique, certains stressueurs peuvent être appliqués de manière répétée, c'est-à-dire de façon intermittente mais répétée un nombre restreint de fois. Pour étudier le stress chronique chez l'homme, l'utilisation de questionnaires (« Life Stress

Inventory, Perceived Stress Scale » ou « Social Readjustment Rating Scale » (Noble, 2002) permet de sélectionner des individus dont la vie quotidienne est une source continue de stress.

- **L'habitation au stress :**

Chez l'animal, l'application répétée du même stressor (homotypique) tel que la contention (Girotti *et al.*, 2006; Jaferi & Bhatnagar, 2006), l'immobilisation (Garcia *et al.*, 2000), le froid (Bhatnagar & Meaney, 1995), la manipulation (Dobráková *et al.*, 1993), entraîne un phénomène d'habitation. L'habitation dans la neurobiologie du stress se réfère à la réduction des réponses physiologiques de l'axe corticotrope induites par la répétition de l'exposition à un stressor homotypique en comparaison avec les réponses importantes induites par l'exposition aiguë à ce stress (Grissom & Bhatnagar, 2009). Les stressors physiques n'engendrent habituellement pas d'habitation. L'habitation à un agent stressant psychologique appliqué de manière répétée est fonction de l'intensité de cet agent et du nombre de répétitions : plus un stressor est faible, plus l'habitation est rapide et certains stressors psychologiques très intenses n'engendrent pas d'habitation (Cyr & Romero, 2009; Grissom & Bhatnagar, 2009). Le processus d'habitation est dû à des mécanismes complexes impliquant d'une part les mécanismes de rétrocontrôle négatif des glucocorticoïdes (Jaferi *et al.*, 2003; Jaferi & Bhatnagar, 2006) et d'autre part l'activation de circuits spécifiques du système limbique liés à l'apprentissage et à la mémoire par l'intermédiaire du PVN et du thalamus (Herman *et al.*, 2003; Patel & Hillard, 2008; Grissom & Bhatnagar, 2009). L'axe sympathique n'est pas sensible à l'habitation (Kvetnansky *et al.*, 1995; Makino *et al.*, 2002; Sabban & Serova, 2007). Ce phénomène semble être dû au fait qu'une élévation aiguë des glucocorticoïdes inhibe la réponse catécholaminergique au stress alors qu'une élévation chronique diminue cette inhibition (Kvetnansky *et al.*, 1995; Makino *et al.*, 2002).

Afin d'étudier les effets du stress à long terme, il est utile d'avoir des modèles expérimentaux de stress chronique n'induisant pas d'habitation, mais ces modèles sont



restreints. L'exposition répétée à des stressseurs du types physiques comme l'hémorragie (Smith *et al.*, 1988) et certains stressseurs à la fois physiques et psychologiques comme les chocs électriques à la patte, la prédation (Pitman *et al.*, 1990) n'induisent pas d'habituation. Les stressseurs sociaux considérés comme plus éthologiques comme le VBS (Tamashiro *et al.*, 2007) ou la défaite sociale (Keeney *et al.*, 2001; Keeney *et al.*, 2006; Barnum *et al.*, 2007) ne sont également pas sensibles à l'habituation. Pour ne pas induire d'habituation, une méthode consiste à appliquer de manière répétée des stressseurs hétérotypiques. Ce modèle est appelé stress chronique variable (SCV) et consiste à l'application aléatoire et imprévisible d'une variété de stressseurs d'intensité moyenne. L'aspect imprévisible du type de stress, de sa durée et du moment auquel il est appliqué prévient l'habituation du rongeur au stress. Ce modèle est à l'origine un modèle animal de la dépression humaine car son application engendre les symptômes classiques de l'état dépressif (perte de poids, hyperactivation de l'axe corticotrope, etc.) (Willner, 2005).

- **Le phénomène de facilitation :**

L'application d'un stressseur de manière chronique, qu'il induise (Bhatnagar & Dallman, 1998; Bhatnagar & Vining, 2003; Tauchi *et al.*, 2008) ou non une habituation (Marti *et al.*, 1999; Garcia *et al.*, 2000; Marin *et al.*, 2007), permet d'augmenter la sensibilité des systèmes de stress et ainsi d'accroître la réponse à un nouvel agent stressant. Ce phénomène est appelé facilitation (Dallman & Jones, 1973). La facilitation n'est probablement pas due à des modifications du rétrocontrôle négatif exercé par les glucocorticoïdes car la surrénalectomie et l'administration constante de glucocorticoïdes de remplacement ne modifient pas ce phénomène (Akana *et al.*, 1996). En outre, des changements dans l'expression de CRF et d'AVP au niveau du PVN de l'hypothalamus et la régulation des récepteurs à ces 2 neuropeptides semblent jouer un rôle dans l'hypersensibilité à un nouveau stressseur dans le

cadre d'un stress chronique (Aguilera, 1998). Il est également possible que la facilitation soit modulée par une action des glucocorticoïdes au niveau de la synthèse de CRF dans le noyau central de l'amygdale (Akana & Dallman, 1997; Dallman, 2009; Ulrich-Lai & Herman, 2009). Toutefois, les mécanismes de la facilitation ne sont pas encore clairement élucidés.

## **16. Les marqueurs de stress :**

Les marqueurs de stress sont nombreux. Chez l'animal (rongeurs, animaux de rente), les marqueurs invasifs sont largement utilisés alors que chez l'homme, les marqueurs non invasifs sont préférés.

### **• Principaux marqueurs de stress :**

Les médiateurs de l'activation des axes corticotrope et sympathique peuvent être considérés comme des marqueurs de stress. Chez l'animal, les concentrations plasmatiques de corticostérone, d'ACTH, de catécholamines, d'AVP et d'oxytocine et l'expression de neurotransmetteurs comme le CRF, l'AVP et la noradrénaline dans divers zones du cerveau sont souvent utilisés (Hargreaves, 1990; Marti & Armario, 1998; Mormede *et al.*, 2007). Chez l'homme, le cortisol salivaire est généralement mesuré pour évaluer le stress car son prélèvement est non invasif (Rosmond *et al.*, 1998; Duncko *et al.*, 2007). Pour étudier l'effet du stress, il est également possible de mesurer différents facteurs issus de la régulation par le stress de systèmes de l'organisme comme le système cardiovasculaire et immunitaire ou le métabolisme du glucose en dosant les concentrations plasmatiques de cytokines et de glucose ou en mesurant le rythme cardiaque (Hargreaves, 1990). En cas de stress chronique, des modifications morphologiques peuvent apparaître et l'évaluation du poids corporel, des glandes surrénales, du thymus peuvent être des indices intéressants de l'état de stress de l'animal (Selye, 1976).

Enfin, le stress engendre des modifications comportementales. Le stress induit notamment une augmentation du niveau d'anxiété et des tests comportementaux ont été

élaborés pour le mettre en évidence chez le rongeur comme le test de l'« open field » ou de l'« elevated-plus maze » (Schmitt & Hiemke, 1998; Prut & Belzung, 2003).

- **Particularités de la poule, notion du picage :**

Les marqueurs de stress classiques chez les volailles sont la concentration plasmatique de corticostérone mais également le rapport du nombre d'hétérophiles sur lymphocytes du sang total (Gross & Siegel, 1983; de Jong *et al.*, 2002; Post *et al.*, 2003), indice de l'immunosuppression induite par le stress. D'un point de vue comportemental, la survenue de comportements anormaux indiquant un mal-être peut être un marqueur de stress. Dans les élevages de volailles, le comportement jugé anormal le plus fréquent et le plus gênant est le picage. Chez une poule, le picage est un comportement consistant à donner des coups de bec, voire à arracher les plumes de ses congénères. Il peut être divisé en 2 catégories, le picage des plumes (« feather pecking ») et le picage agressif (« aggressive pecking ») (Sedlackova *et al.*, 2004; Buitenhuis *et al.*, 2009). Bien que ces 2 formes de picage soient différentes dans leur motivation et leur réalisation, elles sont à l'origine d'une diminution du bien-être due à des blessures et à une hausse de la mortalité dans les élevages (Beaumont *et al.*, 2010). Le picage des plumes est orienté vers la croupe, la queue ou l'abdomen du congénère et consiste en des picages répétés tirant les plumes, n'entraînant généralement pas de réactions de l'animal piqué mais pouvant aboutir à l'arrachage des plumes. L'origine de ce picage n'est pas claire mais il se pourrait que ce comportement soit issu d'une redirection du picage au sol (Rodenburg *et al.*, 2004). Le picage agressif est dirigé vers la tête et le cou, il est vigoureux et rapide et induit une fuite de l'animal piqué. Ce picage est connecté à l'établissement de la hiérarchie au sein des élevages, (Sedlackova *et al.*, 2004) car les animaux haut en hiérarchie initient le plus grand nombre de picage agressif (Buitenhuis *et al.*, 2009). De nombreux facteurs influencent le picage, comme le statut nutritionnel, l'environnement physique, des facteurs sociaux, des facteurs génétiques, l'âge, etc. (Hughes & Duncan, 1972). Mais le picage peut également être

une conséquence du stress et sa fréquence est augmentée suite à un stress (El-Iethey *et al.*, 2000; Buitenhuis *et al.*, 2004).

### **3. MATERIEL ET METHODES**

#### **1. Matériel**

- **Animaux d'élevage :**

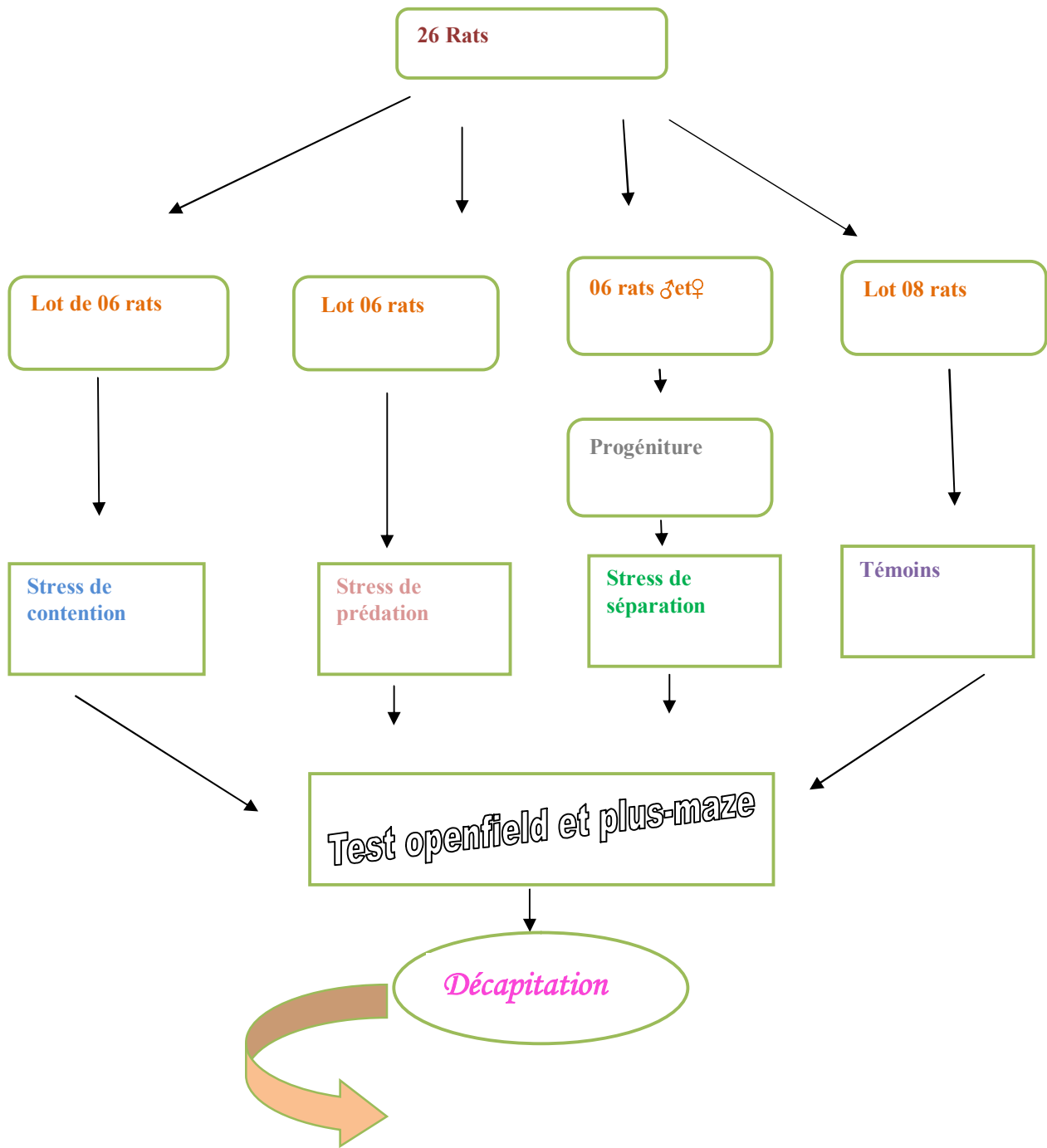
Notre matériel biologique de base est le rat WISTAR (*Rattus rattus*), provenant de l'Institut Pasteur d'Alger. À leur arrivée, au début de l'expérimentation, ils pesaient en moyenne 200 grammes.

- **Conditions d'élevage :**

Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène. La litière, composée de copeaux de bois, est changée tous les deux jours. Les rats sont acclimatés dans des conditions standardisées de photopériode naturelle, de température moyenne de  $20 \pm 4^{\circ}\text{C}$  et d'hygrométrie de 50 à 70 %. La nourriture apportée aux animaux est composée de maïs, d'orge, de lait et de compléments vitaminés (GAE: Groupe Agricole de l'Est, El Harrouch). Quant à l'eau de boisson, elle est servie dans des biberons.

- **Lotissement des animaux :**

Après une période d'adaptation de trois semaines, nous avons choisi 26 rats en fonction du poids (approximativement 200 grammes) que nous avons séparés en quatre lots expérimentaux expliqués dans le schéma suivant :



***Dosage des lymphocytes et monocytes***

## 2. Méthodes

### 1. Etudes comportementales

- **Procédure du labyrinthe en croix surélevée de (*Plus-maze test*)**

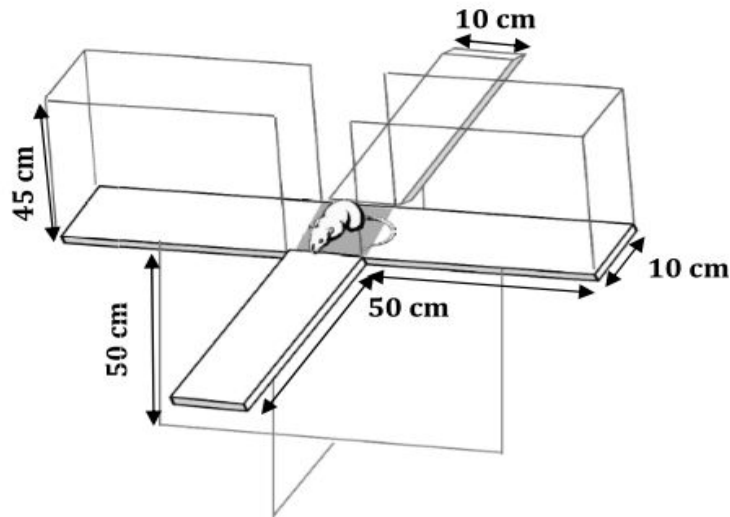
- ❖ **Description du test :**

(Montgomery, 1955) décrit l'aversion des rongeurs pour l'espace vide et la hauteur lors des séances d'exploration libre à partir d'un milieu familier. Sur cette base, (Handley ; Mithani., 1984) développent le labyrinthe en croix surélevé, qui sera rapidement validé chez le rat (Pellow *et al.*, 1985) puis chez la souris (Lister, 1987) comme un dispositif de mesure de l'anxiété chez les rongeurs.

- ❖ **Dispositif utilisé :**

Le labyrinthe en croix surélevée est utilisé pour mesurer le degré d'anxiété chez les rongeurs (Handley & Mithami, 1984).

Le labyrinthe surélevé de 50cm du sol est composé de quatre bras en bois, deux bras ouverts (50×10cm) s'opposant perpendiculairement à deux bras fermés (50×10cm) avec 45cm de plexiglas haut bord. L'intersection des quatre bras (plate-forme centrale) mesurait 10cm (Montgomery, 1955 ; Roy, 2002).



**Figure 7. Test du labyrinthe en croix surélevée (Elevated plus-maze) (Handley & Mithami, 1984).**

❖ **Procédure :**

Le test dure 5mn et débute lorsque le rat est placé au centre du labyrinthe, face à un bras ouvert. Cette procédure est celle employée initialement par (Pellow *et al.*,1985). D'autres auteurs placent l'animal face à un bras fermé et ce sont des observations préliminaires qui nous amènent à choisir la première possibilité. En effet, dans nos conditions de test, le fait de placer des rats face à un bras ouvert augmente la latence de la première entrée dans un bras, mais également le nombre d'entrées dans les deux bras par la suite. Ainsi, nous nous sommes placés dans les conditions qui maximisent le nombre d'entrés dans les bras ouverts, afin d'éviter un effet plancher et, compte tenu de l'aversion des rongeurs pour les espaces vides et la hauteur, les bras ouverts du dispositif sont plus anxiogènes que les bras fermés. Ainsi le principe du test repose sur le conflit d'approche et l'évitement des bras ouverts. Un animal qui explore les bras ouverts sera décrit comme étant « peu anxieux » et un animal qui reste confiné dans les bras fermés du dispositif, sera lui, décrit comme étant « anxieux ».

### ❖ Variables mesurées :

Durant ce test, les variables mesurées sont :

- Temps passé au centre (Seconde).
- Temps passé dans les bras ouverts (Seconde).
- Temps passé dans les bras fermés (Seconde).
- Nombre d'entrées dans les parties distales des bras ouverts (Seconde).
- Nombre d'entrées dans les parties proximales des bras ouverts (Seconde).
- Nombre d'entrées dans les parties distales des bras fermés (Seconde).
- Nombre d'entrées dans les parties proximales des bras fermés (Seconde).
- Nombre de toilettage.
- Nombre de defecations.
- Nombre de redressement
- Les variables éthologiques (nombre d'urine)

### • Open field test

#### ❖ Le but :

Le test a été décrit par (Hall, 1934-1938) dans le but de mesurer des différences de réactivité émotionnelle. Le dispositif se compose d'une base entourée par des parapets en plexiglas dont les mesures sont respectivement de 70cm×70cm×40cm. Le plancher est sous forme de carrés de 10cm×10cm de diamètre, il a été divisé en trois zones : zone centrale et zone périphérique et la bordure. Le test de champ ouvert est réalisé pendant 5mn, l'animal est placé au centre du dispositif, son déplacement permet de mesurer le nombre de carrés traversés ainsi que le temps passé dans chaque zone. De ce fait, ce test indique l'activité locomotrice et le comportement anxieux respectivement. Ce dernier est d'autant plus



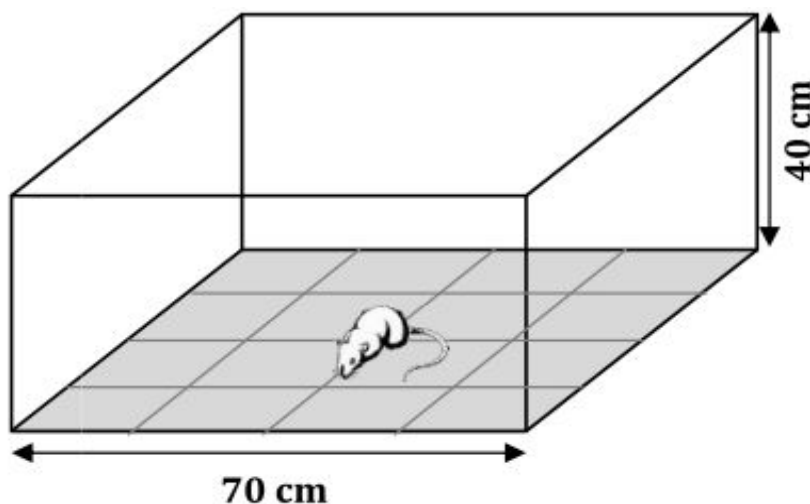
prononcé quand le rat passe plus de temps dans la bordure. Quant à la zone centrale, son exploration représente un signe de moindre anxiété.

❖ **Principe :**

Il Consiste à placer le rat doucement en le prenant par la queue, au centre du champ puis filmer l'évolution de son comportement durant 5 mn, la fin de chaque épreuve, enlever le rat et nettoyer complètement avec la solution d'alcool à 70% et sécher avec du papier absorbant.

❖ **Variables mesurées :**

La locomotion dans l'openfield a été évaluée en relevant le nombre de parties périphériques traversées et la bordure ainsi que le nombre d'entrer dans la partie centrale. Ces trois indices cumulés nous donnent l'indice de locomotion total dans le dispositif, ces paramètres sont à la base des processus d'exploration et de réactivité émotionnelle. On peut aussi relever le nombre et temps de redressement, le nombre de défécations et le temps d'immobile.



**Figure8. Test du champ ouvert (open field) (Hall, 1934).**

## 2. Stress de contention

- **Le but :**

Réaliser un stress chez les rats en l'immobilisant de tous mouvements durant un temps connu.

- **Le principe :**

Il consiste à introduire le rat dans un tube cylindrique en plastique ou en plexi glace, de sorte que l'animal ne puisse bouger c'est-à-dire impuissant à se retourner sur place et capable de respirer sans difficulté. On utilise dans notre expérience des bouteilles en plastique comme tube à contenir le rat.



**Figure 9. Illustration d'un stress de contention chez le rat.**

- **Mode opératoire :**

- Commencer à étiqueter les bouteilles en plastique (tube cylindrique) à l'aide des bandes adhésives.
- Indiquer sur chaque tube le lot du rat et le numéro du rat (ou couleur).
- Prendre le rat par la queue et essayer doucement mais surement de persuader le rat d'entrer dans le tube sans le bousculer.

- Une fois le museau dans l'ouverture de la bouteille ; à l'aide d'un journal serrer l'animal en l'immobilisant le plus étroitement possible sans prendre le risque de l'asphyxier.
- Mettre ensuite les rats au calme.
- Attendre 5 minutes.
- Une fois le temps écoulé les rats seront remis chacun dans sa cage respective.
- Le test dure 3 jours sans interruptions suivi d'openfield et plus-maze test
- Après une interruption de 2 jours, on reprend le test pendant 8 jours successifs mais cette fois le test de plus-maze et openfield se fait le dernier jour de l'opération.

### **3. Stress de prédation :**

- **Le but :**

Provoquer un stress chez des rats en l'opposant sans possibilité de fuite à un chat, en veillant à ce que les deux animaux soient séparés par un grillage.

- **Principe :**

Consiste à mettre les rats chacun dans une cage et l'affronter à un chat, 5mn chaque jour pendant une semaine, la vue et l'olfaction d'un prédateur entraîne chez le rat un comportement anxieux.

#### **4. Stress de séparation**

- **Protocole de séparation**

Pour tenter de reproduire le plus étroitement possible les circonstances connues pour favoriser les maladies prédites chez l'homme, se sont développés de nombreux modèles expérimentaux animaux, et c'est l'importance fondamentale, dans toutes les espèces, des liens entre la mère et le nouveau-né dans le développement harmonieux de ce dernier qui sous-tend la pertinence des modèles de séparation mère/nouveau-né.

Ces derniers ont été utilisés pour essayer de décrire les conséquences de ce stress précoce sur le développement des petits. La mère sert de lien premier entre l'environnement et l'animal en développement ; la séparation maternelle pourrait donc avoir des conséquences néfastes visibles à long terme, entraîner des altérations des fonctions neuronales, qui se manifestent. La privation maternelle altère à la fois le comportement et les systèmes de neurotransmission, dans de nombreuses espèces.

Il existe plusieurs modèles de séparation mère/nouveau-né chez le rat. Ils diffèrent essentiellement par le temps de séparation (cinq minutes, trente minutes, une heure). Les modifications induites sont différentes selon le protocole de séparation utilisé. Quatre femelles gestantes ont été élevée individuellement. Le jour (J) de la naissance des petits a été nommé J0. Le protocole de séparation a commencé dès J3 (5mn 30mn 1h). A J3, on a effectué des lots de 5 à 12 ratons, cette procédure est répétée pendant 7 jours. On a quatre groupes expérimentaux :

Le lot T : aucun traitement.

Le lot 5 : séparation de 5 mn.

Le lot 30 : séparation de 30 mn.

Le lot 1 : séparation d'une heure.

## **5. Prélèvement de sang :**

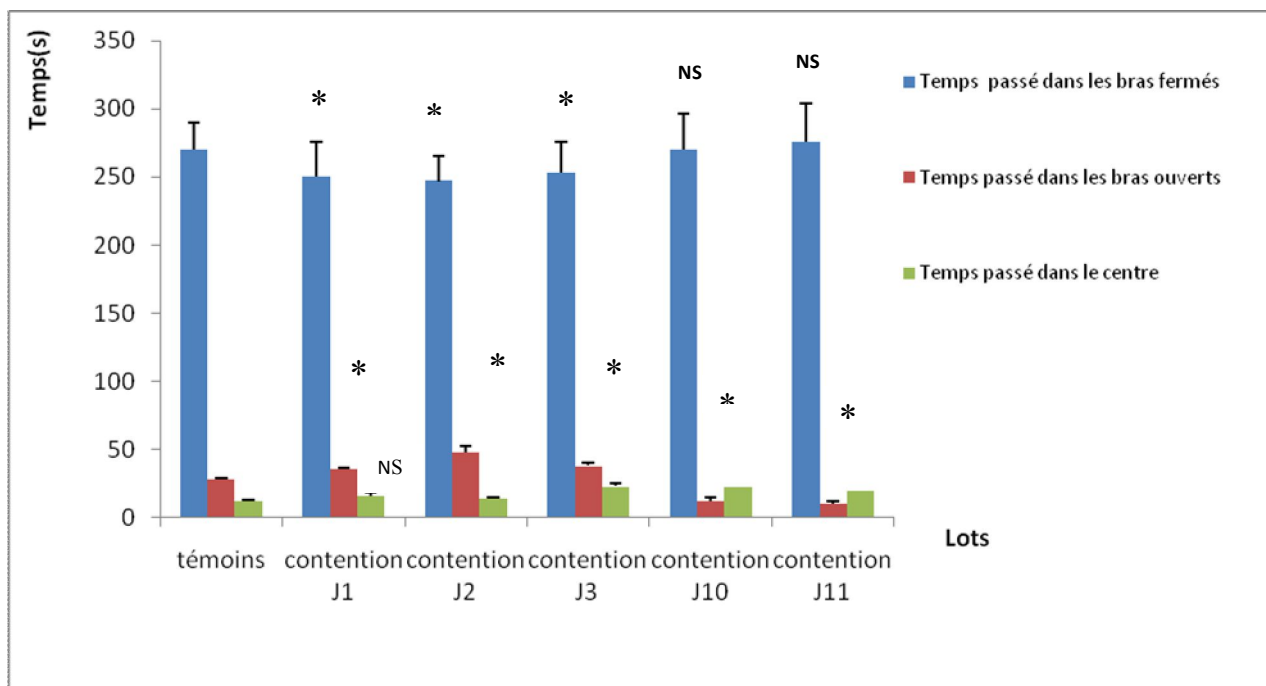
Elle permet de sacrifier le rat rapidement tout en facilitant la collecte du sang veineux et artériel en réalisant auparavant une anesthésie par l'éther éthylique, la technique consiste à pratiquer une section du coup avec un ciseau ,on place aussitôt le rat au-dessus d'un entonnoir adapté afin de récolter le sang dans les tubes héparinés, qui sera utilisé pour les différents dosages.

## **6. Analyse statistique :**

A l'aide du test ANOVA nous avons comparé les moyennes pour chaque variable en fonction du traitement utilisé.ces calculs ont été effectués à l'aide du logiciel MINITAB d'analyse et de traitement statistiques des données, et illustrés par des tableaux et des histogrammes.

## **4. RESULTATS**

Les résultats obtenus seront expliqués par le test plus maze, qui est un test de mémorisation en mesurant le temps des paramètres : (temps passé dans bras fermés, bras ouverts, et le centre), et le test open field, qui est un test de l'activité motrice en mesurant le temps des paramètres : ( temps passé dans la bordure , la périphérie et le centre) ; La moyenne et l'écart type sont calculés par le logiciel MINITAB (statistique test T).



**Figure 10 : Comportement locomoteur enregistré dans le dispositif plus-maze des rats témoins et ceux ayant subi un stress de contention.**

Les données sont représentées en moyenne ( $m \pm s$ ;  $n$  témoin=06,  $n$  stressé=06). (NS :différence non significative  $p > 0.05$  ; différence significative  $*p < 0.05$ ).

Les résultats obtenus montrent que les rats stressés passent plus de temps dans les bras ouverts du dispositif pendant les premiers jours de stress, J1 ( $32.4s \pm 1.52$ ), J2 ( $48.2s \pm 2.52$ ), J3 ( $36.12s \pm 3.56$ ) par rapport aux témoins. ( $26s \pm 7.73$ ), et moins de temps dans les bras fermés J1 ( $248s \pm 25.1$ ), J2 ( $236.4s \pm 13.2$ ), J3 ( $248.33s \pm 16.53$ ) que les rats témoins ( $270,5s \pm 7,4$ ).

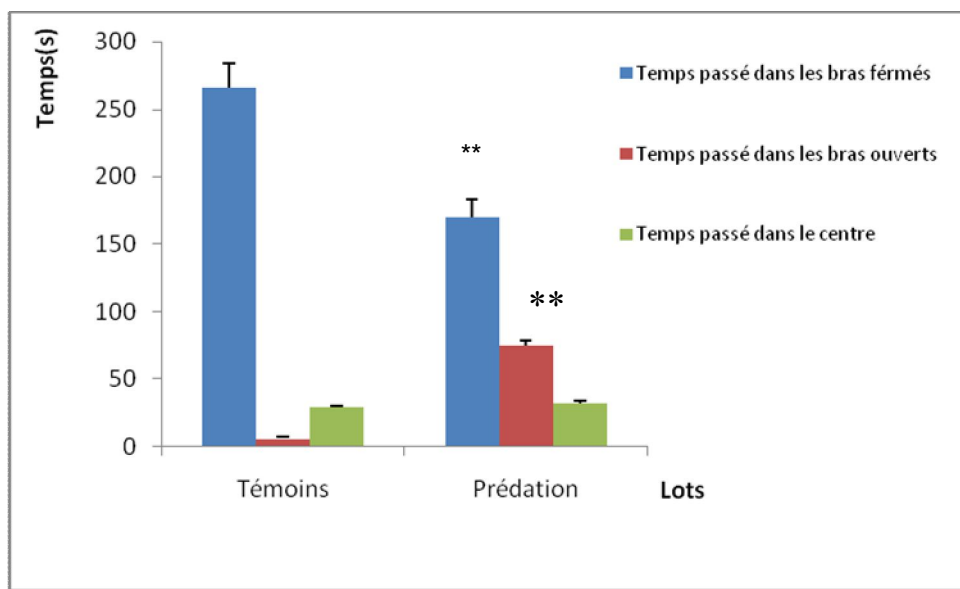
Par contre nous n'avons pas constaté de différence significative de temps passé dans le centre, chez les rats stressés en comparaison avec les rats témoins.

Après le septième jour, on remarque que les stressés passent moins de temps dans les bras ouverts, J10 ( $06.8s \pm 1.23$ ), J11 ( $06.0s \pm 2.12$ ) par rapport aux témoins ( $26.6s \pm 7.73$ ). et nous n'avons pas constaté de différence de temps passé dans les bras fermés, J10 ( $272s \pm 12.3$ ), J11 ( $274,33s \pm 9,45$ ) par rapport aux rats témoins ( $270,5s \pm 7,4$ ).

L'analyse statistique de ces résultats a révélé une augmentation significative ( $*p < 0.05$ ) de temps passé dans les bras ouverts du dispositif chez les rats stressés pendant les

premiers jours du stress par rapport aux rats témoins, et par conséquent une diminution significative ( $*p < 0.05$ ) de temps passé dans les bras fermés chez les rats stressés par rapport aux rats témoins.

Après le septième jour, l'analyse statistique des résultats a montré une diminution significative ( $*p < 0.05$ ) de temps passé dans les bras ouverts du dispositif et pas de différence significative ( $p > 0.05$ ) de temps passé dans les bras fermés chez les stressés par rapport aux rats témoins.



**Figure 11 : Comportement locomoteur enregistré dans le dispositif plus-maze des rats témoins et ceux ayant subi un stress de prédation.**

Les données sont représentées en moyenne ( $m \pm s$ ;  $n$  témoin=06,  $n$  stressé=06).(NS : différence non significative  $p > 0.05$  ; différence significative  $*p < 0.05$  ;  $**p < 0.01$ ).

Les résultats obtenus dans notre étude ont montré que les rats stressés passent plus de temps dans les bras ouverts ( $75.3s \pm 6,0$ ) par rapport aux témoins ( $6,0s \pm 1,0$ ), et moins de temps dans les bras fermés ( $170s \pm 14.3$ ) par rapport aux témoins ( $260s \pm 21.3$ ).

Par contre nous n'avons pas constaté de différence significative de la moyenne de temps passé dans le centre.

L'analyse statistique de ces résultats a révélé une augmentation hautement significative (\*\*p < 0.01) de temps passé dans les bras ouverts, et une diminution hautement significative (\*\*p < 0.01) de temps passé dans les bras fermés chez les rats stressés par rapport aux rats témoins.

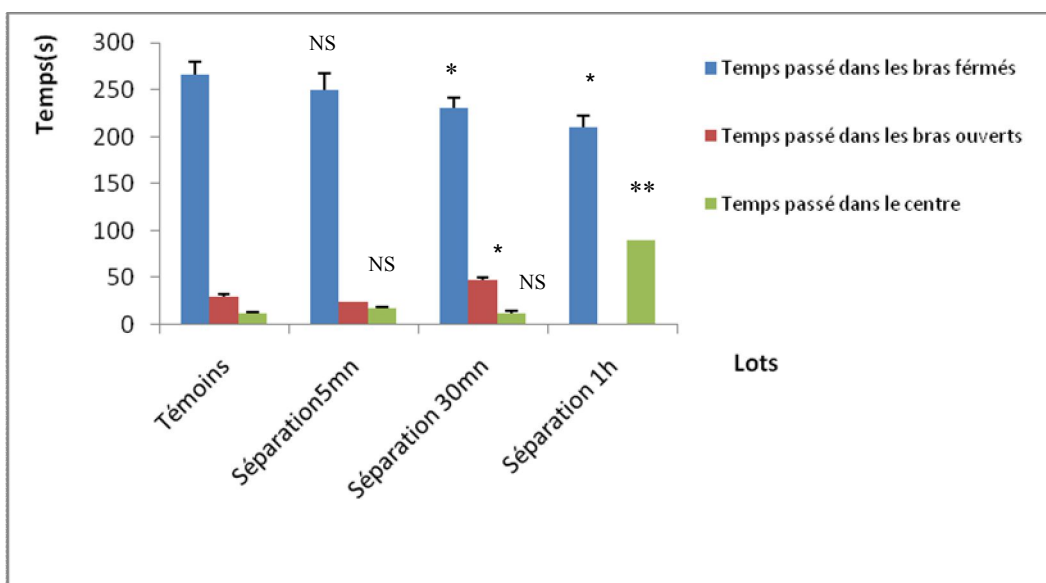


Figure 12 : comportement locomoteur enregistré dans le dispositif plus-maze des rats témoins et ceux ayant subi un stress de séparation.

Les données sont représentées en moyenne ( $m \pm s$ ; n témoin=06, n stressé=06).(NS : différence non significative  $p > 0.05$  ; différence significative \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ).

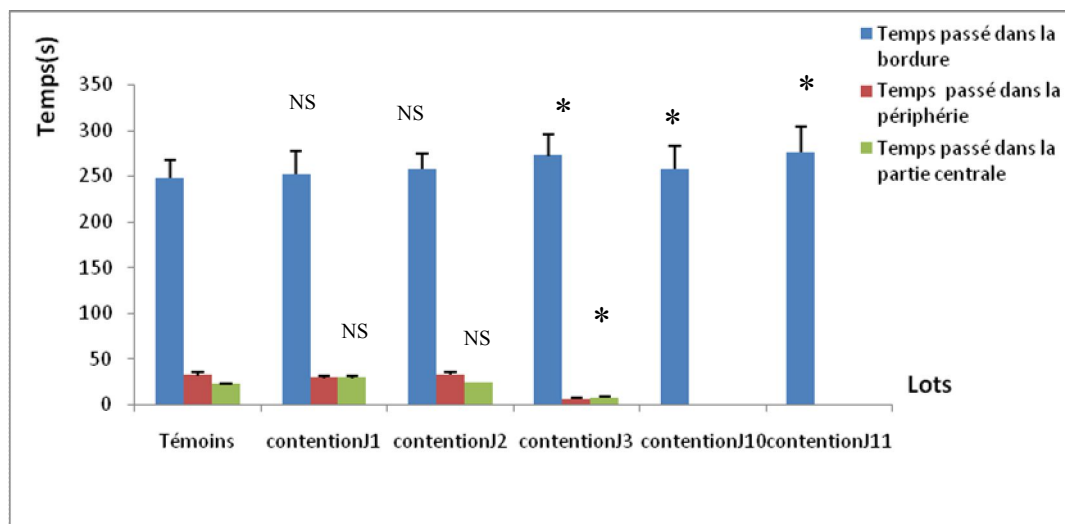
D'après ces résultats on remarque que, les rats séparés 30mn passent plus de temps dans les bras ouverts ( $48.33s \pm 7.23$ ) par rapport aux témoins ( $30.56s \pm 5.23$ ), et moins de temps dans les bras fermés ( $230.2s \pm 17.23$ ) par rapport aux témoins ( $260.56s \pm 12.45$ ), par contre nous n'avons pas constaté de différence significative de temps passé dans le centre.

Alors que les rats stressés une heure du temps passent plus du temps dans la partie centrale ( $90.12s \pm 2.52$ ) par rapport aux témoins ( $9.05s \pm 1.23$ ), et moins de temps dans les bras fermés ( $220.14s \pm 13.21$ ) par rapport aux témoins ( $260.56s \pm 12.45$ ), et leur absence totale dans



les bras ouverts ( $00s\pm 00$ ) par rapport aux témoins ( $30.56s\pm 5.23$ ). Par contre nous n'avons pas constaté de différence significative de temps passé dans les bras fermés, bras ouverts, et le centre chez les stressés cinq minutes par rapport aux témoins.

L'analyse statistique de ces résultats a révélé une augmentation significative ( $*p < 0.05$ ) de temps passé dans les bras ouverts de dispositif chez les rats séparés trente minutes par rapport aux témoins, et une diminution significative ( $*p < 0.05$ ) de temps passé dans les bras fermés, et pas de différence significative de temps passé dans le centre. Le stress chronique de séparation une heure de temps montre une augmentation hautement significative ( $**p < 0.01$ ) de temps passé dans la partie centrale par rapport aux témoins, et une diminution significative ( $*p < 0.05$ ) de temps passé dans les bras fermés.



**Figure 13: Comportement locomoteur enregistré dans le dispositif openfield des rats témoins et ceux ayant subi un stress de contention.**

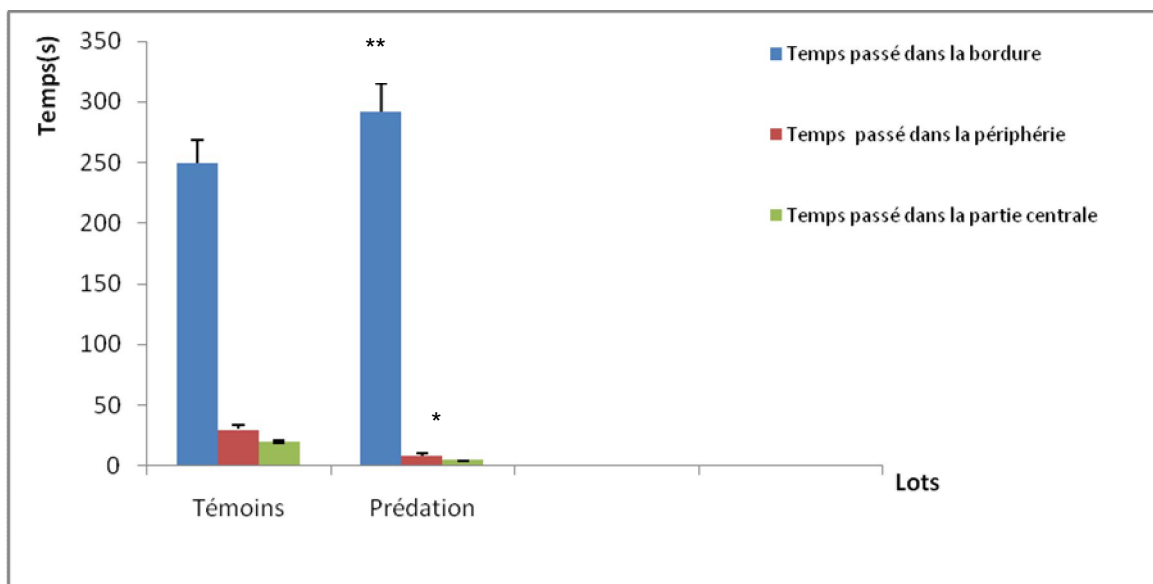
Les données sont représentées en moyenne ( $m \pm s$ ;  $n$  témoin=06,  $n$  stressé=06). (NS : différence non significative  $p > 0.05$  ; différence significative  $*p < 0.05$ ).

D'après ces résultats on remarque que, à partir de troisième jour de contention, les rats passent plus de temps dans la bordure ( $272.13s\pm 23.52$ ) et moins de temps dans la périphérie ( $06.25s\pm 1.23$ ) et la partie centrale ( $06.85s\pm 1.98$ ) par rapport aux témoins, la

bordure(248.12s±15.23), la périphérie (32.25s±6.23), et la partie centrale (22.52s±4.75). Le dixième et le onzième jour de contention les rats passent leur temps uniquement dans la bordure.

Nous n'avons pas constaté de différence significative de temps passé dans la bordure, la périphérie, et le centre chez les rats stressés pendant le premier et le deuxième jour de contention par rapport aux témoins.

L'analyse statistique de ces résultats a révélé que, à partir de troisième jour de contention, il ya une augmentation significative (\*p < 0.05) de temps passé dans la bordure, et une diminution significative (\*p < 0.05) de temps passé dans la périphérie et la partie centrale par rapport aux témoins.



**Figure 14 : Comportement locomoteur enregistré dans le dispositif openfield des rats témoins et ceux ayant subi un stress de prédation.**

Les données sont représentées en moyenne (m ± s ; n témoin=06, n stressé=06).(NS : différence non significative p > 0.05 ; différence significative \*p <0.05).

D'après ces résultats, on constate que les rats qui ont subi un stress de prédation passent plus de temps dans la bordure (292.56s±23.56) et moins de temps dans la partie périphérique (08.56s±0.23) et la partie centrale(05.55s±0.12) par rapport aux témoins ; la bordure (270s±19.56) la périphérie (12.23s±1.58),et le centre(10.23s±1.48).

L'analyse statistique de ces résultats a montré que, le stress de prédation entraîne une augmentation hautement significative (\*\* $p < 0.01$ ) de temps passé dans la bordure, et une diminution significative (\* $p < 0.05$ ) de temps passé dans la périphérie et la partie centrale par rapport aux témoins.

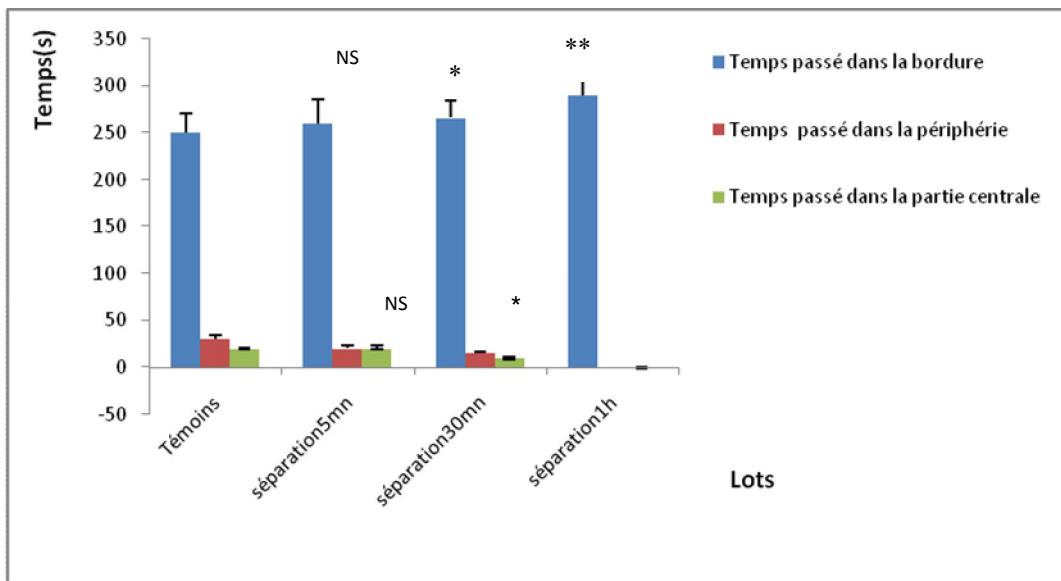


Figure 15 : Comportement locomoteur enregistré dans le dispositif openfield des rats témoins et ceux ayant subi un stress de séparation.

Les données sont représentées en moyenne ( $m \pm s$ ;  $n$  témoin=06,  $n$  stressé=06).(NS : différence non significative  $p > 0.05$  ; différence significative \* $p < 0.05$ ).

D'après ces résultats, on constate que les rats qui ont subi un stress de séparation pendant 30mn passent plus de temps dans la bordure ( $274.58s \pm 23.56$ ) et moins de temps dans la périphérie ( $11.56s \pm 3.59$ ) et la partie centrale ( $08.59s \pm 2.15$ ) par rapport aux témoins, la bordure ( $249.23s \pm 23.54$ ), la périphérie ( $26.56s \pm 3.59$ ) et le centre ( $18.54s \pm 5.12$ ). Alors que les séparés une heure de temps passent leur temps uniquement dans la bordure

(294.56s±21.56) par rapport aux témoins. Par contre nous n'avons constaté aucune différence significative pour le lot cinq minutes.

L'analyse statistique de ces résultats a révélé que, le stress de séparation trente minutes entraîne une augmentation significative (\*p < 0.05) de temps passé dans la bordure, et une diminution significative (\*p < 0.05) de temps passé dans la périphérie et la partie centrale par rapport aux témoins, et une augmentation hautement significative (\*\*p < 0.01) de temps passé dans la bordure pour les séparés une heure de temps par rapport aux témoins. En revanche nous n'avons pas constaté aucune différence significative (p > 0.05) pour le lot cinq minutes.

**Tableau 3. Paramètres comportementaux des lots témoins et séparés enregistrés en plus maze.**

variables	rats				
	Lot5mn(n=9)	Lot30mn(n=5)	Lot1h(n=4)	Lot t(n=4)	P
Nombre d'entrés dans les bras ouverts	3.555 ± 1.943	2.8±2.387	2.75 ± 2.5	2.25 ± 05	0.718ns
Nombre d'entrés dans les bras fermés	3.777 ± 3.855	2.4±2.073	2.5 ± 1.290	2.75±0.957	0.430ns
Nombre d'entrés dans les parties proximales des bras ouverts	5.777 ± 3.032	4.00±3.535	3.75±3.304	3.75±0.95	0.533ns
Nombre d'entrés dans les parties proximales des bras fermés	8.00 ± 4.795	6.2 ± 5.263	5.00± 3.651	5.5±1.732	0.633ns
Nombre d'entrés dans les parties distales des bras ouverts	2.333 ± 1.5	1.4 ± 1.140	1.00 ± 0.81	1.75±0.95	0.315ns
Nombre d'entrés dans les parties distales des bras fermés	5.666 ± 3.082	3.8 ±3.033	3.25± 2.217	3 ± 0.816	0.289ns
Temps passé dans le centre(s)	15.396±0.272	12.54±0.068	90.01± 2.52	9.517±1.2	0.013*
Temps passé dans les bras fermés (s)	250.54±0.581	260.76±2.060	210.4± 0.59	266.3±1.24	0.047*
Temps passé dans les bras ouverts (s)	19.973±0.779	23.536±2.021	0. ± 0.00	28.172±0.79	0.033*
Temps de redressement(s)	0.074 ± 0.051	0.144 ± 0.111	0.057±0.04	0.092±0.022	0.221ns
Nombre de redressement	0.666 ± 1.118	1.00 ± 5.612	0.5 ± 2.380	1.25±1.5	0.468ns
Nombre de défécations	1.222 ± 0.440	2.80 ± 3.033	4.00± 2.160	0.5±0.577	0.027 *
Nombre de miction (action d'urines)	6.333 ± 3.535	0.2 ± 0.447	0.25 ± 0.5	1.25±0.957	0.35ns

Les données sont représentées en moyenne ( $m \pm s$  ;  $n =$  effectif). (NS : différence non significative  $p > 0.05$  ; différence significative  $*p < 0.05$ ).

### **Interprétation de tableau :**

D'après ces résultats, on constate une différence entre les moyennes des quatre lots (séparés 5mn, séparés 30mn, séparés 1h, et lot témoins) pour les paramètres : temps passé dans le centre, temps passé dans les bras fermés, temps passé dans les bras ouverts et le nombre de défécation.

En revanche, nous n'avons pas constaté de différence significative entre les moyennes des quatre lots (séparés 5mn, séparés 30mn, séparés 1h, et lot témoins) pour les paramètres : nombre d'entrés dans les bras ouverts, nombre d'entrés dans bras fermés, nombre d'entrés dans les parties proximales des bras ouverts, nombre d'entrés dans les parties proximales des bras fermés, nombre d'entrés dans les parties distales des bras ouverts, nombre d'entrés dans les parties distales des bras fermés, nombre de redressement, nombre de miction.

L'analyse statistique de ces résultats a révélé que, le stress de séparation (5mn, 30mn, 1h) entraîne une différence significative ( $*p < 0.05$ ) pour les paramètres : temps passé dans le centre, temps passé dans les bras fermés, temps passé dans les bras ouverts et le nombre de défécation.

**Tableau 4. Paramètres comportementaux des lots témoins et séparés enregistrés en open field.**

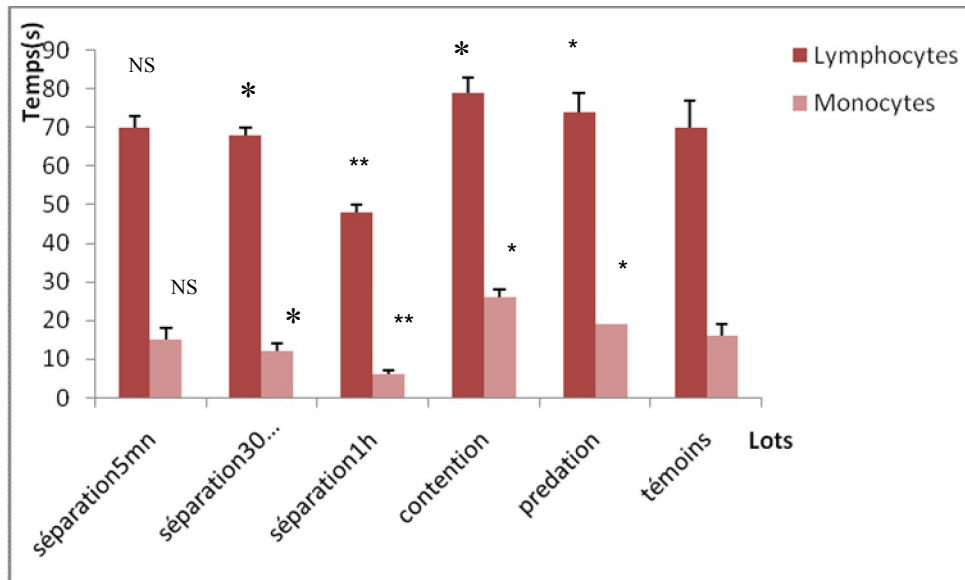
Variables	Lot5mn(n=9)	Lot30mn(n=5)	Lot1h (n=4)	Lot t (n=4)	P
Temps dans la bordure (s)	260.34±0.332	265.56±4.049	299 .00 ± 0	250.12±0.029	0.016*
Temps dans la périphérie (s)	20.358±0.033	15.935±0.536	0.589±0.107	10.758±1.790	0.036*
Temps dans le centre (s)	13.260±0.329	11.038±0.037	00 ± 00	25.07± 0.034	0.038*
Temps de redressement(s)	0.0675±0.069	0.144 ± 0.105	0.062±0.105	1.182 ± 0.029	0.26ns
Nombre de défécations	2.75 ± 2.121	3.8 ± 2.489	4.00 ± 2.160	1.5 ± 2.380	0.022*
Nombre de toilettage	1.875±2.160	2.850±3.030	3.375±2.132	1.50±2.150	0.031*
Nombre de miction (action d'urines)	0.25 ± 0.462	00 ± 00	0.25 ± 0.5	0.25 ± 0.5	0.721ns

Les données sont représentées en moyenne ( $m \pm s$ ;  $n =$  effectif). (NS : différence non significative  $p > 0.05$  ; différence significative  $*p < 0.05$ ).

D'après ces résultats, on constate une différence entre les moyennes des quatre lots (séparés 5mn, séparés 30mn, séparés 1h, et lot témoins) pour les paramètres : temps dans la bordure, temps dans la périphérie, temps dans la le centre, nombre de défécation, nombre de toilettages. En revanche, nous n'avons pas constaté de différence significative entre les moyennes des quatre lots (séparés 5mn, séparés 30mn, séparés 1h, et lot témoins) pour les paramètres : temps de redressement, nombre de miction.

L'analyse statistique de ces résultats a révélé que, le stress de séparation (5mn, 30mn, 1h) entraîne une différence significative ( $*p < 0.05$ ) pour les paramètres : temps dans la bordure, temps dans la périphérie, temps dans la le centre, nombre de défécation, nombre de

toiletage. Par contre nous n'avons pas enregistré de différence significative ( $p > 0.05$ ) pour les paramètres : temps de redressement, nombre de miction.



**Figure 16: Le taux des lymphocytes et des monocytes des rats témoins et ceux ayant subi un stress de contention, prédation et de séparation.**

Les données sont représentées en moyenne ( $m \pm s$ ;  $n =$  effectif). (NS : différence non significative  $p > 0.05$  ; différence significative  $*p < 0.05$ ).

D'après ces résultats, on constate que les rats qui ont subi un stress de contention "lymphocytes" ( $79.67\% \pm 13.67$ ), "monocytes" ( $26.33\% \pm 5.66$ ), prédation "lymphocytes" ( $73.67\% \pm 14.67$ ), "monocytes" ( $19.33\% \pm 4.66$ ), ont des taux supérieurs par rapport aux témoins "lymphocytes" ( $70.67\% \pm 17.67$ ), "monocytes" ( $14.33\% \pm 2.66$ ). Par contre, le stress de séparation pendant trente minutes "lymphocytes" ( $66.10\% \pm 10.71$ ), "monocytes" ( $11.66\% \pm 1.66$ ) et une heure de temps "lymphocytes" ( $48.67\% \pm 13.67$ ), "monocytes" ( $06.70\% \pm 1.66$ ), ont des taux inférieurs par rapport aux témoins, et nous n'avons pas enregistré de différence pour le lot cinq minutes.

L'analyse statistique de ces résultats a montré que, le stress de prédation et de contention entraînent une augmentation significative ( $*p < 0.05$ ) du taux de lymphocytes et



monocytes par rapport aux témoins, par contre, le stress de séparation trente minutes entraîne une diminution significative ( $*p < 0.05$ ) du taux de lymphocytes et monocytes, et une diminution hautement significative ( $**p < 0.01$ ) pour les séparés une heure de temps par rapport aux témoins.

## 5. DISCUSSION

Le stress serait responsable, chez l'homme, de nombreux troubles psychiatriques tels que la dépression ou les troubles de l'anxiété (Barros *et al.*, 2008). Il tient également une part importante dans l'apparition des troubles alimentaires (Rojo *et al.*, 2006). Le stress peut aussi influencer l'agressivité (Barreto *et al.*, 2007).

Dans cette thèse de recherche, on a étudié deux types de stress, physique, contention et psychologique prédatrice, et séparation mère nouveau née.

Chez les mammifères, les liens entre la mère et le nouveau-né sont d'une importance fondamentale dans le développement harmonieux de la progéniture. Cela rend les modèles murins de séparation mère/nouveau-né d'un grand intérêt dans le cadre des hypothèses neuro-développementales des affections psychiatriques. Des séparations longues tendent à installer, chez le raton devenu adulte, des troubles anxieux, « dépressifs », et une conduite de dépendance aux drogues. Les analyses neurobiologiques montrent une perturbation de nombreux systèmes neuronaux limbiques, en particulier neuro-peptidergiques, dont l'explication pourrait se trouver dans l'impact du stress précoce sur le développement cérébral. La mise en place de modèles prenant en compte les facteurs environnementaux précoces pourrait contribuer à une meilleure prévention/prédiction des troubles mentaux et améliorer nos stratégies thérapeutiques (Daug *et al.*, 1992). Il existe plusieurs modèles de séparation mère/nouveau-né chez le rat. Ils diffèrent essentiellement par le temps de

séparation (quinze minutes, 30 minutes, 1heure, trois heures), et l'âge des petits au moment de cette séparation (du deuxième au vingt-et-unième jour de vie). Les modifications induites sont différentes selon le protocole de séparation utilisé. (Levine, 1957) a montré que des rats isolés de leur mère et de leurs congénères trois minutes par jour de leur premier à leur vingtième jour de vie étaient plus résistants au stress dans leur vie adulte. Des études rendent compte d'une augmentation de l'activité de l'axe hypothalamo hypophyso surrénalien (HHS) proportionnelle à la durée de séparation (Kuhn *et al.*, 1990). Une courte séparation maternelle de 15 minutes par jour pendant 22 jours entraîne une protection des déficits liés à l'âge (Meaney *et al.*, 1988 ; Vallée *et al.*, 1999), une diminution de l'anxiété, et une augmentation du rétrocontrôle négatif de l'axe HHS (Levine *et al.*, 1967 ; Meaney *et al.*, 1989 ; Ogawa *et al.*, 1994 ; Francis *et al.*, 1999).

D'autre part, il faut souligner l'importance que pourraient avoir les soins maternels dans la régulation sexe spécifique de la réponse au stress (Champagne *et al.*, 2003). En effet, les mères passent plus de temps à lécher la région ano-génitale des petits (Moore, 1979) et le léchage ano-génital apparaît particulièrement efficace pour maintenir la concentration en corticostérone à un niveau relativement bas au cours du développement postnatal des rongeurs (Vazquez, 1998; Van *et al.*, 1999). Les résultats obtenus manifestent que le léchage et les toilettes maternels favorisent la croissance et le développement. Des études passées ont signalé que la progéniture ayant profité d'un haut niveau de léchage et de toilette montre un développement cognitif supérieur quant à l'apprentissage spatial et à la reconnaissance.

Lors d'un stress le rat devient d'abord anxieux. Ses fonctions digestives sont perturbées. Il développe des comportements pathologiques de substitution, souvent répétitifs, comme chercher frénétiquement à marquer son territoire, manger ou boire trop, faire un toilette excessif, développer de l'hyperactivité, agresser son environnement, etc. Si la situation de stress se prolonge encore, le rat devient dépressif ou bien régressif. Il va se replier sur lui-

même pour échapper à la cause de ses problèmes. Il ne bouge plus, cesse de s'alimenter et reste indifférent aux sollicitations de son entourage. Il devient aussi beaucoup plus sensible aux maladies. (Maccari *et al.*, 1995; Koehl *et al.*, 1999).

Lors d'un stress de contention ou prédation ou de séparation, les catécholamines (adrénaline et noradrénaline) sont libérées en quelques secondes par les terminaisons du système nerveux orthosympathique et par les glandes médullo-surrénales. La CRH (corticotropin-releasing hormone), généralement considérée comme le principal médiateur hypothalamique de la réponse au stress déclenche une activation de l'axe hypothalamo hypophyso corticosurrénalien qui conduit à la libération d'ACTH et de glucocorticoïdes (cortisol). En plus de ces deux voies, l'activation de l'hypothalamus entraîne la libération par l'hypophyse d'hormone antidiurétique (ADH) ou vasopressine, de prolactine, de thyroid-stimulating hormone (TSH), d'hormone de croissance, de bêta endorphines et une diminution de la sécrétion des hormones gonadotropes. (Slominski *et al.*, 2000 ; Jessop *et al.*, 1997). Libération aussi de VIP (Vasoactive Intestinal Peptide) qui est une neurohormone sécrétée par les terminaisons nerveuses.

Le stress de contention prédation et de séparation, induit une augmentation de toilettage. Ce qui indique que ce comportement est dû au stress proprement dit et non à des caractéristiques spécifiques liées aux stressseurs (Rask *et al.*, 2002 ; Huynh *et al.* , 2011; Cliona *et al.*, 2011; Shuichi *et al.*, 2012). Ce qui concorde avec nos résultats pour les rats séparés ( $3.375 \pm 2.132$  vs  $1.50 \pm 2.150$ ) (tableau 4, page 71). Il joue un rôle fondamental dans l'adaptation au stress et notamment dans la diminution de l'excitation induite par un agent stressant (Sachs, 1988; Spruijt *et al.*, 1992). Ainsi, suite à une exposition aiguë au stress, une augmentation de toilettage est souvent observée (Katz, 1979; van Erp *et al.*, 1994; Kalueff, 2005). L'analyse de la (BSS) behavioral satiety sequence ou séquence comportementale de satiété suggère que l'augmentation de toilettage induite par le stress coïncide avec la réduction

d'autres comportements, en particulier le repos et l'activité. L'augmentation du toilettage réduit obligatoirement le temps disponible pour les autres comportements et il est donc probable que le toilettage entre en compétition avec la prise alimentaire engendrant une diminution de celle-ci (Rodgers *et al.*, 2010). Le stress de contention de prédation, ainsi que le stress de la séparation entraînent une inhibition de la prise alimentaire induite par une augmentation du rassasiement ainsi qu'une augmentation du toilettage et de défécation ( $4.00 \pm 2.160$  défécation vs  $1.5 \pm 2.38$ ) (tableau 4, page 71) (Llobera, 2002).

Chez le rat, le comportement exploratoire apparaît avec la marche quadrupède et la vision entre le 12ème et le 15ème jour postnatal bien qu'à cet âge, les processus de traitement de l'information spatiale soient encore immatures (Ricceri *et al.*, 2000). Ainsi, contrairement à l'adulte, le rat juvénile ne présente pas de comportement d'alternance spontanée (Egger *et al.*, 1973), test expérimental utilisé pour étudier le comportement exploratoire et la mémoire spatiale (Chen *et al.*, 2010; Yi *et al.*, 2013).

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

L'apprentissage est le seul processus qui permette à l'organisme de modifier son potentiel comportemental en tenant compte de ses expériences antérieures de telle manière qu'il soit en mesure d'éviter de répéter les mêmes erreurs, perfectionnant ainsi son comportement (Lassalle, 2004). L'apprentissage contribue donc à la régulation et à l'adaptation des comportements (Xu *et al.*, 2009).

Différents travaux ont en effet montré que le stress chez les rats peut faciliter les processus d'apprentissage et de mémorisation (Sandi *et al.*, 1997; Cordero *et al.*, 1998; Bowman *et al.* 2001; Bartolomucci *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2007). ou au contraire induire des défauts des capacités mnésiques (Ohl & Fuchs., 1999; Wagenmaker *et al.*, 2009). En effet, le stress chronique de séparation (Touyarot *et al.*, 2004).ou la prédation (Sandi *et al.*, 2005) se traduit par des défauts d'apprentissage dans un labyrinthe en croix surélevée.les rats séparés une heure du temps se présentent dans le centre ( $90s \pm 2.52$  vs  $9.517s \pm 1.23$ )(figure 12,page63), donc une augmentation significative du temps de latence ce qui explique un état d'épuisement des rats (Xu *et al.* ., 2009). Aussi la prédation installe une dépression apparente par une présence des rats stressés dans les bras ouverts ( $70.33s \pm 1,0$  vs  $28,3s \pm 3,2$ ). Par ailleurs, un stress de contention appliquée pendant 7 jours à des rats n'induit aucun effet sur les performances dans un test de mémorisation spatiale. Par contre, 10 jours de contention induisent une augmentation des performances des animaux stressés (Luine *et al.*, 1996 ;Haenisch *et al.* ., 2009 ; Hageman *et al.* ., 2009; Huynh *et al.* ., 2011; Shuichi *et al.* ., 2012).

Nous avons enregistré dans cet axe des modifications comportementales inhérentes aux changements induits par le stress de contention où le temps passé dans les bras ouverts est augmenté par rapport aux témoins ce qui indique une possible dépression installée. En situation normale, l'animal montre une préférence pour les bras fermés, moins stressantes que les bras ouverts et en surplomb. Une augmentation de l'anxiété se traduit par des séjours plus longs ou plus fréquents dans les bras fermés. C'est bien le cas pour les rats ayant subits un stress de contention pendant 10 jours : ils passent plus de temps dans les bras fermés que les rats non stressés ( $266,5s \pm 7,4$  vs  $278,33s \pm 9,45$ ),(figureb10,page60). Leur niveau d'anxiété est en phase des niveaux des témoins ce qui dénote des capacités adaptatives de l'animal.

Le test de l'open field est un test mesurant le niveau d'anxiété. En plaçant les rats dans un environnement nouveau, ce test induit un stress. Il est possible que dans certains cas où l'intensité du stress n'est pas importante, le test de l'open field ne soit pas suffisamment sensible pour mettre en évidence des différences entre les traitements. En revanche, une augmentation des concentrations plasmatiques de corticostérone et d'ACTH suite à l'exposition aux stressseurs (Kalvez, 2010) ces résultats concordent avec ceux publiés dans de nombreuses études sur la séparation de courte durée, (Dal-Zotto *et al.*, 2000; Kelliher *et al.*, 2000; Harris *et al.*, 2002b; Retana-Marquez *et al.*, 2003). De plus, le stress de séparation 5mn ne modifie pas le niveau d'anxiété mesuré lors du test de l'open field (Dal-Zotto *et al.*, 2000; Kelliher *et al.*, 2000). Ces résultats indiquent que ce modèle ne peut être validé et qu'il n'induit pas de réponse de stress aussi intense que dans la littérature. En effet, le stress de séparation 30mn et 1h, et prédation et contention appliquées de manière aiguë ou répétées sont habituellement considérées comme très intense et engendre une augmentation de la concentration plasmatique de corticostérone (Bhatnagar *et al.*, 2006; Marini *et al.*, 2006; Barnum *et al.*, 2007) et une augmentation des comportements indiquant un niveau d'anxiété élevé au sein de l'open field, (Regenthal *et al.*, 2009). et donc une réduction du nombre de cases traversées dans l'open field, indique une diminution de l'activité motrice caractéristique d'un niveau d'anxiété plus élevé chez ces animaux (Prut & Belzung, 2003). (Meerlo *et al.*, 1996a; Marini *et al.*, 2006; Kin *et al.*, 2008 ; Kalvez, 2010). (Carli *et al.*, 1989; Kasar *et al.*, 2009).

Le système immunitaire, ensemble de leucocytes et de cellules accessoires assurant la défense de l'organisme contre les microorganismes, a longtemps été considéré comme un système autonome. (Louvart *et al.*, 2005). Il fonctionne en réalité en interaction permanente avec le système nerveux central.

Les variations immunitaires appréciables à travers le taux de lymphocytes indiquent clairement un ensemble de pistes qui intègrent la place du système immunitaire dans la boucle de contrôle de l'homéostasie. Trois grands systèmes d'intégration permettant à l'organisme des vertébrés de fonctionner de façon adaptée à l'environnement extérieur et ils assurent également l'intégration des signaux et l'homéostasie à l'intérieur de l'organisme. Ce sont les systèmes nerveux (SN), endocrinien (SE) et immunitaire (SI). Le premier utilise une transmission de signaux du type électriques et utilise des neuromédiateurs ; le second utilise des molécules signal " hormones " qui circulent et transmettent des signaux spécifiques à distance ; le troisième transmet des messages grâce à des cellules qui circulent dans l'organisme et produisent localement des molécules actives ou " cytokines " et des anticorps. Des interactions fonctionnelles entre SN, SE et SI sont possibles grâce à la présence de médiateurs et de récepteurs communs (ex : IL-1 est un puissant modulateur du système immunitaire mais aussi des deux autres systèmes et elle met en jeu des boucles de régulation successives. (Stekalova et al., 2004). Ces différents médiateurs ont la capacité d'influencer les réactions immunitaires ou inflammatoires car d'importantes interconnexions existent entre la réaction endocrinienne et le système immunitaire, en particulier les cytokines (IL-1, IL-2, IL-6, TNF) (Roberts *et al.*, 2007). Des travaux menés depuis déjà une décennie ont démontré le rôle de l'IL<sub>2</sub> est généralement diminuée en cas de stress. Cette dernière joue un rôle important dans la régulation du système immunitaire en assurant la stimulation générale de l'immunité cellulaire, activant les cellules lymphocytaires et macrophagiques en permettant la différenciation des lymphocytes T en lymphocytes NK dont le nombre pourra donc être aussi diminué. (Abraham, 1991). L'interleukine 2 favorise ainsi spécifiquement la multiplication des lymphocytes T cytotoxiques. Elle est capable de stimuler la prolifération des lymphocytes T4 (CD4) et des lymphocytes T8 (CD8), l'activité des macrophages et la production d'anticorps par les lymphocytes B. Cependant, comme pour les cellules NK, en fonction du

stress, on pourra avoir soit une augmentation soit une diminution de l'interleukine 2. Ainsi le stress par rotation stimule la synthèse de l'ARNm de l'IL-2 dans les lymphocytes alors qu'elle sera inhibée de 30% lors d'un stress par immobilisation chez le rat (Korneva *et al.*, 2000). Et de 60% lors d'un stress de séparation chronique (Rojo *et al.*, 2006).

Ainsi il apparaît que le stress de séparation mère progéniture, stress considéré comme cognitif entraîne une perturbation comportementale à la jonction de l'anxiété et stimule ou inhibe le système immunitaire (Gregus *et al.*, 2005; Swiergiel *et al.*, 2007). Les valeurs obtenues pour les animaux séparés sont significativement plus faibles que ceux du témoin concernant les lots 30mn (66.82%±10.71 lymphocyte vs 70.67%±17.67) et hautement significative pour le lot 1h (48.67%±13.67 lymphocyte vs 70.67%±17.7); et aussi une diminution des taux de monocytes qui est enregistré chez les deux lots, par contre le lot 5mn nous n'avons enregistré aucune différence significative. donc selon le temps de séparation, le stress soit accroit ou affaiblit le système immunitaire (Husum *et al.*, 2002 ; Barreto *et al.*, 2007).

En effet, le système immunitaire est sensible aux hormones libérées par l'axe hypothalamo-hypophysaire. (Maccari *et al.*, 2005). Cette hypothèse se confirme aussi bien pour le stress de prédation et de contention où on note une augmentation des taux de lymphocytes et monocytes (73.67%±14.67 lymphocytes vs 70.67%±17.67) pour le lot prédation ;et (79.67%±13.67 lymphocytes vs 70.67%±17.67) pour le lot contentio Ce stress agit plus nettement sur les sphères comportementales. Cela dénote que le stress de prédation est un stress chronique, l'installation de l'anxiété se développe avec le temps devant l'incapacité de l'animal à trouver une solution.



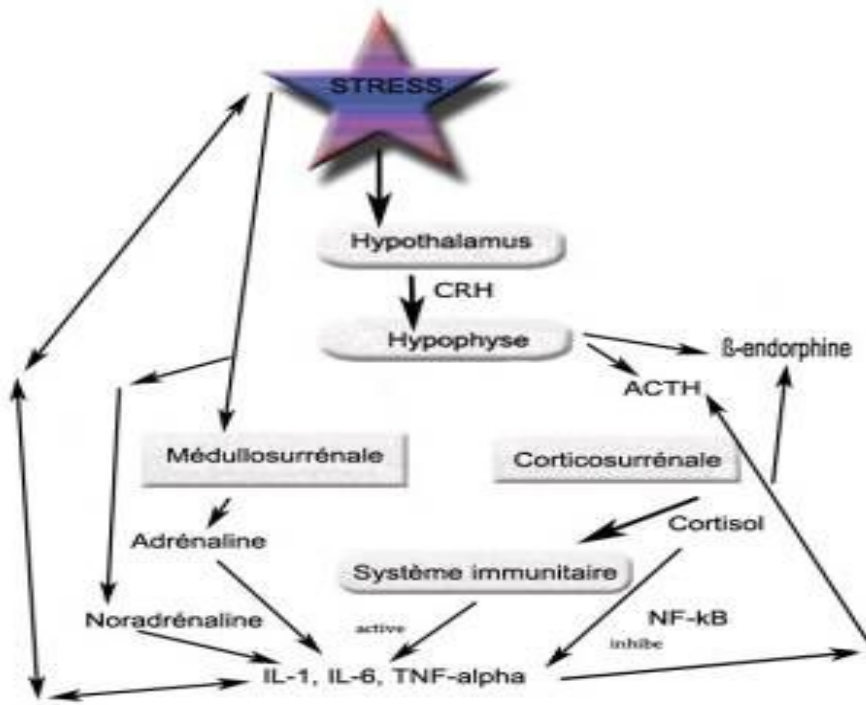


Figure 17: Principales actions du stress sur l'axe neuro-endocrine, le système immunitaire et inflammatoire et sa régulation. (Konstantinos *et al.*,2001).

## 6. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au terme de ce travail expérimental nous avons essayé d'apprécier les variations immunitaires et comportementales suite à des stress chez le rat. En effet, le stress chronique de séparation, et la prédation montrent des défauts d'apprentissage dans un labyrinthe en croix surélevée. Les rats séparés une heure du temps se présentent dans le centre, donc une augmentation significative du temps de latence ce qui explique un état d'épuisement des rats. Aussi la prédation installe une dépression apparente par une présence des rats stressés dans les bras ouverts. Par ailleurs, un stress de contention appliquée pendant 7 jours à des rats n'induit aucun effet sur les performances dans un test de mémorisation spatiale. Par contre, au-delà de 10 jours de contention induisent une augmentation des performances des animaux stressés.

Le stress de séparation 1h, et prédation et contention appliquées de manière aiguë ou répétées sont habituellement considérées comme très intense et engendrent une augmentation des comportements indiquant un niveau d'anxiété élevé au sein de l'open field, et donc une réduction du nombre de cases traversées. Ce qui indique une diminution de l'activité motrice caractéristique d'un niveau d'anxiété plus élevé chez ces animaux.

Le système immunitaire en relation avec les deux autres systèmes de régulation homéostatique réagit aux types de stress et déclare les états d'anxiété et de peur conditionnée. Le stress soit accroît ou affaiblit le système immunitaire. En effet, le système immunitaire est sensible aux hormones libérées par l'axe hypothalamo-hypophysaire. Cette hypothèse se confirme aussi bien pour le stress de prédation et de contention, où on note une augmentation des taux de lymphocytes et monocytes en revanche, le stress de séparation entraîne une diminution.

A partir de ces résultats, il serait souhaitable de réaliser les perspectives suivantes :

- ✚ Dosage de l'interleukine IL2 et les cytokines pro inflammatoires : IL1, IL6, TNF $\alpha$ .
- ✚ Dosage de la Prolactine, Corticostérone.
- ✚ Dosage de la GnRH, de la CRH et de l'ACTH.
- ✚ Dosage des neurotransmetteurs : Sérotonine, Dopamine.
- ✚ Voir les effets à long terme (sur au moins deux générations) de ces types de stress, et voir si leurs effets disparaissent par le temps ou développent d'autres maladies.

## **LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS**

### **Articles**

**Soraya Sansri, A/Madjid Bairi, Meriem Haloui, Chahira Rittem and A/Krim Tahraoui Behavioral Changes and Immune Responses in Response to Stress Separation in Wistar Rats.**

### **Communications**

**SANSRI Soraya Etude immunitaire chez les rats stressés communication affichée (Novembre 2013, Guelma ALGERIE).**

**SANSRI Soraya Etude comportementale chez les rats stressés(Mars 2014, Tabarka TUNIS).**

**SANSRI Soraya Effet du stress sur le comportement et la croissance pondérale chez le rat Wistar communication affichée (Novembre 2012,Maroc MARRAKECH).**

**SANSRI Soraya Les differents types de stresseurs et leurs effets sur le comportement chez le rat Wistar communication orale (Novembre 2012,Maroc MARRAKECH).**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES:

- ▶ Abdel-Malek ZA, Melanocortin receptors: their functions and regulation by physiological agonists and antagonists. *Cell Mol Life Sci.* 2001 ; **58**, pp.434-441.
- ▶ Abou-Samra AB, Harwood JP, Catt KJ & Aguilera G Mechanisms of action of CRF and other regulators of ACTH release in pituitary corticotrophs. *Ann N Y Acad Sci* ; 1987.**512**, 67-84.
- ▶ Abraham B,Rohner-Jeanrenaud F, Abramo F, Bestetti GE, Rossi GL and Jeanrenaud B. Abnormal regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the genetically obese fa/fa rat. *Endocrinology.*1991 ; 126:pp.1873-9.
- ▶ Agmo A, Barreau S, Lemaire V., Social motivation in recently weaned rats is modified by opiates. *Dev Neurosciences.* 1997; 19, pp. 505-20.
- ▶ Aguilera G Corticotropin releasing hormone, receptor regulation and the stress response. *Trends Endocrinol Metab* ; 1998.**9**, 329-336.
- ▶ Archer T. Effects of exogenous agents on brain development: stress, abuse and therapeutic compounds. *CNS Neuroscience, Therapeutics.* 2011; 17, pp. 470–489.
- ▶ Arnold JL, Siviy SM. Effects of Neonatal Handling and Maternal Separation on Rough-and-Tumble Play in the Rat. *Dev. Psychobiol.* **2009** ;41, pp.205-215.
- ▶ Arumugam T. Intravenous immunoglobulin (IVIG) protects the brain against experimental stroke by preventing complement-mediated neuronal cell death. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007; 104, pp. 14104–14109.
- ▶ Aston-Jones G , Cohen JD An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu Rev Neurosci* .2005 ;**28**,pp. 403-450.
- ▶ Baibazarova E, van de Beek C ,Peggy T. Kettenis C , Buitelaar J., Influence of prenatal maternal stress, maternal plasma cortisol and cortisol in the amniotic fluid on birth

outcomes and child temperament at 3 months. *Psychoneuroendocrinology*. 2013; 6, pp. 907–915.

- ▶ Bale TL, Vale WW., CRF and CRF receptors: role in stress responsivity and other behaviors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2004;44, pp.525-557.
- ▶ Barnes PJ., Corticosteroid effects on cell signalling. *Eur Respir J* 27, 413-426.
- ▶ Barreto J, Queiros A, Cabral JE, Ferreira E, Silva WT, Leandro CG, Deiró TC, Manhaes R, Machado CM., Stress/aggressiveness-induced immune changes are altered in adult rats submitted to neonatal malnutrition. *Neuroimmunomodulation*. 2007;14, pp.229-334.
- ▶ Barros k, Queiros A, Cabral JE, Ferreira E, Silva WT. An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu Rev Neurosci*.2008 ; 28, pp.403-450.
- ▶ Bhatnagar J, Shinyama H, Morton N, Mullins J, Seckl J, Flier J., A transgenic model of visceral obesity and the metabolic syndrome. *Science*.2006; 294:pp.2166-70.
- ▶ Beaumont C, Lebihan E, Mignon S, Leterrier C., The European experience in poultry welfare--a decade ahead. *Poult Sci*. 2010; 89, pp.825-831.
- ▶ Bergmann MW, Staples KJ, Smith SJ, Barnes PJ, Newton R., Glucocorticoid inhibition of granulocyte macrophage-colony-stimulating factor from T cells is independent of control by nuclear factor-kappaB and conserved lymphokine element 0. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004 ;30, pp.555-563.
- ▶ Blass E., Teicher H., Suckling Science.1980; 210, pp.15-22.
- ▶ Bowers G, Cullinan WE, Herman JP., Region-specific regulation of glutamic acid decarboxylase(GAD) mRNA expression in central stress circuits. *J Neurosci*. 1998 ; 18, pp.5938-5947.
- ▶ Bradbury MJ, Cascio CS, Scribner KA, Dallman MF., Stress-induced.1991.

- ▶ Brown R., Preferences of pre- and post-weanling Long-Evans rats for nest odors. *Physiol. Behav.* 1982; 29,pp. 865-874.
- ▶ Buckingham JC., Glucocorticoids: exemplars of multi-tasking. *Br J Pharmacol* 147 Suppl 1, S258-268.
- ▶ Calenco C, Gold P W. the concept of stress and stress system disorders .*JAMA* 1991 ; 267,(9) 1244.
- ▶ Carden S, Hofer M., Socially mediated reduction of isolation distress in rat pups is blocked by naltrexone. *Behav Neurosci* . 1990;104, pp. 457-64.
- ▶ Carli M, Prontera C, Samanin R., Effect of 5-HT1A agonists on stress-induced deficit in open fieldlocomotor activity of rats: evidence that this model identifies anxiolytic-like activity. *Neuropharmacology* .1989; 28,pp.471-476.
- ▶ Champagne F, Francis D, Mar A, Meaney M.J., Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. *Physiol. Behav.* 2003 ; 79, pp. 359-371.
- ▶ Charmandari E, Kino T, Souvatzoglou E, Chrousos GP., Pediatric stress: hormonal mediators and human development. *Horm Res.*2003 ;59, pp.161-179.
- ▶ Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G., Endocrinology of the stress response. *Annual review of physiology.* 2008 ;67:pp.259-84.
- ▶ Carrasco GA , Van de Kar LD., Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharmacol* .2003 ; 463, pp. 235 -272.
- ▶ Chen Y, Mao Y, Zhou D, Hu X, Wang J, Ma Y., Environmental enrichment and chronic restraint stress in ICR mice: effects on prepulse inhibition of startle and Y-maze spatial recognition memory. *Behav Brain Res.* 2010 ; 212, pp.49–56.

- ▶ Chrousos GP, Gold PW., The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *Jama* .1992 ; 267, pp.1244-1252.
- ▶ Chrousos GP., Stress and disorders of the stress system. *Nat Rev Endocrinol*.2009 ; **5**, pp.374-381.
- ▶ Cliona M, O'Mahony A, Gerard CB, Sinead GB, Timothy G, Dinan BC, John F. Strain differences in the neurochemical response to chronic restraint stress in the rat: Relevance to depression *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 2011 ; 97, pp.690–699.
- ▶ Coll AP, Loraine YC., Pro-opiomelanocortin (POMC)-derived peptides and the regulation of energy homeostasis. *Mol Cell Endocrinol*. 2009 ; 300, pp.147-151.
- ▶ Conte-Devolx B, Guillaume V, Grino M, Boudouresque F, Magnan E, Cataldi M, Oliver C.,[Stress. Neuroendocrine aspects. *Encephale* . 19 Spec 1998;1, pp.143-6.
- ▶ Cordero J, Garrido F, Carr D, Bode H., Hypercorticotestosteronuria and diminished pituitary responsiveness to corticotropinreleasing factor in obese Zucker rats. *Endocrinology*.1998 ; 118: pp.98-101.
- ▶ Cullinan WE., GABA(A) receptor subunit expression within hypophysiotropic CRH neurons: a dual hybridization histochemical study. *J Comp Neurol* 2000;419, pp.344-351.
- ▶ Cyr N, Romero L., Identifying hormonal habituation in field studies of stress. *Gen Comp Endocrinol*2009; 161, pp.295-303.
- ▶ Dallman MF, Jones MT., Corticosteroid feedback control of ACTH secretion: effect of stress-induced corticosterone secretion on subsequent stress responses in the rat. *Endocrinology*.1973 ; **92**, pp.1367-1375.
- ▶ Dallman MF., Stress-induced obesity and the emotional nervous system. *Trends Endocrinol Metab*.2009.

- ▶ Dal-Zotto S, Marti O, Armario A., Influence of single or repeated experience of rats with forced swimming on behavioural and physiological responses to the stressor. *Behav Brain Res* 2000 ;**114**, pp.175-181.
- ▶ Dauge V, Kalivas PW, Duffy T, Roques BP., Effect of inhibiting enkephalin catabolism in the VTA on motor activity and extracellular dopamine. *Brain res.* 1992; 599, pp.209-214.
- ▶ Dauge V, Rossignol P, Roques BP., Comparison of the behavioural effects induced by administration in rat nucleus accumbens or nucleus caudatus of selective mu and delta opioid peptides or ketorphan, an inhibitor of enkephalin metabolism. *Psychopharmacology.* 1989; 96, pp.343-352.
- ▶ Dayas CV, Buller KM, Crane JW, Xu Y, Day TA., Stressor categorization: acute physical and psychological stressors elicit distinctive recruitment patterns in the amygdala and in medullary noradrenergic cell groups. *Eur J Neurosci.* 2001 ;14, pp.1143-1152.
- ▶ Day T, Buller KM, Crane JW, Xu Y., Gastrointestinal hormones in mother and infant. *Acta Paediatr Scand.* 1998; 351: pp.88-93.
- ▶ Debut M, Berri C, Baeza E, Sellier N, Arnould C, Guemene D, Jehl N, Boutten B, Jégo Y, Beaumont C, LeBihan E., Variation of chicken technological meat quality in relation to genotype and preslaughter stress conditions. *Poult Sci.* 2003; 82, pp.1829-1838.
- ▶ De Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joels M., Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev.* 1998. **19**, pp.269-301.
- ▶ De Kloet ER., Stress in the brain. *Eur J Pharmacol* 405, pp.187-198.
- ▶ De Kloet ER, Karst H, Joels M., Corticosteroid hormones in the central stress response: quick-and-slow. *Front Neuroendocrinol.* 2008 ; **29**, pp.268-272.



- ▶ Deuster PA, Petrides JS, Singh A, Lucci EB, Chrousos GP, Gold PW., High intensity exercise promotes escape of adrenocorticotropin and cortisol from suppression by dexamethasone: sexually dimorphic responses. *J Clin Endocrinol Metab.*1998. **83**, pp.3332-3338.
- ▶ Dobrakovova M, Kvetnansky R, Oprsalova Z, Jezova D., Specificity of the effect of repeated handling on sympathetic-adrenomedullary and pituitary-adrenocortical activity in rats. *Psychoneuroendocrinology.*1993;18,pp.163-174.
- ▶ Dronjak S, Gavrilovic L, Filipovic D, Radojic MB., Immobilization and cold stress affect sympathoadrenomedullary system and pituitary-adrenocortical axis of rats exposed to long-term isolation and crowding. *PhysiolBehav.*2004;81, pp.409-415.
- ▶ Dugovic E, Gomez F, Houshyar H, Bell ME, Bhatnagar S, Laugero KD, Manalo S., Chronic stress and obesity: a new view of "comfort food". *Proc Natl Acad Sci U S A.*2003 ; **100**,11696-11701.
- ▶ Dulawa MS, Kippin TE, Bredy TW. Epigenetic mechanisms mediating vulnerability and resilience to psychiatric disorders. *Neuroscience Biobehavioral, Review.* 2004 ; 35, pp.1544–1551.
- ▶ Duncko R, Cornwell B, Cui L, Merikangas KR, Grillon C., Acute exposure to stress improves performance in trace eyeblink conditioning and spatial learning tasks in healthy men. *Learn Mem.* 2007 ; 14, pp.329-335.
- ▶ Dunn A, Swiergiel A., The role of corticotropin-releasing factor and noradrenaline in stress-related responses, and the inter-relationships between the two systems. *Eur J Pharmacol.*2004;583, pp.186-193

- ▶ Duncko R, Cornwell B, Cui L, Merikangas KR, Grillon C., Acute exposure to stress improves performance in trace eyeblink conditioning and spatial learning tasks in healthy men. *Learn Mem.*2007. 14, 329-335.
- ▶ Dunn AJ, Swiergiel AH., The role of corticotropin-releasing factor and noradrenaline in stress-related responses, and the inter-relationships between the two systems. *Eur J Pharmacol.* 2008 ;583, 186-193.
- ▶ Earle TL, Linden W, Weinberg J., Differential effects of harassment on cardiovascular and salivary cortisol stress reactivity and recovery in women and men. *J Psychosom Res.* ;1999, 46, pp.125-141
- ▶ Ehrhart-Bornstein M, Bornstein SR., Cross-talk between adrenal medulla and adrenal cortex in stress. *Ann N Y Acad Sci.* 2008 ; 1148, pp.112-117.
- ▶ Engelmann M, Landgraf R, Wotjak CT., The hypothalamic-neurohypophysial system regulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis under stress: an old concept revisited. *Front Neuroendocrinol.* 2004 ;25, pp.132-149.
- ▶ Fietta P., Glucocorticoids and brain functions. *Riv Biol.*2007 ; 100, pp.403-418.
- ▶ Fietta P, Delsante G., Central nervous system effects of natural and synthetic glucocorticoids. *Psychiatry Clin Neurosci.*2009 ; 63, pp. 613-622.
- ▶ Fraser E, Phifer C, Berthoud H., Brain stem melanocortinerpic modulation of meal size and identification of hypothalamic POMC projections. *American journal of physiology.* 2005,289:R247-58.
- ▶ Galosy R, Clarke L, Vasko M, Crawford I., Neurophysiology and neuropharmacology of cardiovascular regulation and stress. *Neurosci Biobehav Rev.*1981 ;5, pp.137-175.
- ▶ Ganong W., *Physiologie médicale*, 2ème édition ed. Bruxelles: De Boeck. 2004.

- ▶ Garcia A, Marti O, Valles A, Dal-Zotto S, Armario A., Recovery of the hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress. Effect of stress intensity, stress duration and previous stress exposure. *Neuroendocrinology*.2000; 72, pp.114-125.
- ▶ Girotti M, Pace TW, Gaylord RI, Rubin BA, Herman JP, Spencer RL., Habituation to repeated restraint stress is associated with lack of stress-induced c-fos expression in primary sensory processing areas of the rat brain. *Neuroscience*.2006; 138, pp.1067-1081.
- ▶ Gregus A, Wintink AJ, Davis AC, Kalunchuk L E., Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. *Behav Brain Res*. 2005 ; 156,pp.105-14.
- ▶ Grissom N , Bhatnagar S., Habituation to repeated stress: get used to it. *Neurobiol Learn Mem*.2009;92, pp.215-224.
- ▶ Gross WB, Siegel HS., Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian Dis* .1983;27, pp.972-979.
- ▶ Gudmundsson A, Carnes ., Pulsatile adrenocorticotrophic hormone: an overview. *Biol Psychiatry*.1997 ;41, pp..342-365
- ▶ Guillermo A, Ariza T, Celso RF., The CRH-R1 receptor mediates luteinizing hormone, prolactin, corticosterone and progesterone secretion induced by restraint stress in estrogen-primed rats. *Brain Research*. 2011 ; 1421,pp.11–19.
- ▶ Habib KE, Gold PW, Chrousos GP., Neuroendocrinology of stress. *EndocrinolMetabClin North Am*.2001;30, pp.695-728.
- ▶ Habib KE, Weld KP, Rice KC, Pushkas J, Champoux M, Listwak S, Webster EL, Atkinson AJ, SchulkinJ,Contoreggi C, Chrousos GP, McCann SM, Suomi SJ, Higley JD, Gold PW., Oral administration of acorticotropin-releasing hormone receptor antagonist significantly attenuates behavioral, neuroendocrine, andautonomic responses to stress in primates. *ProcNatlAcadSci U S A*.2000; 97, pp.6079-6084.

- ▶ Haenisch B, Bilkei-Gorzo A, Caron MG, Bönisch H., Knockout of the norepinephrine transporter and pharmacologically diverse antidepressants prevent behavioral and brain neurotrophin alterations in two chronic stress models of depression. *J Neurochem.* 2009 ; 111, pp.403–16.
- ▶ Hageman I, Nielsen M, Wortwein G, Diemer N H, Jorgensen M B., Electroconvulsive stimulations normalizes stress-induced changes in the glucocorticoid receptor and behaviour. *Behav Brain Res.* 2009 ; 196, pp.71–7.
- ▶ Hall C S., Emotional behavior in the rat. Defecation and urination as measures of individual difference in emotionality. *J.Comp Physical.* 1934 ; 18, pp.385-403.
- ▶ Hamelink C, Tjurmina O, Damadzic R, Young WS, Weihe E, Lee HW, Eiden LE., Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is a sympathoadrenal neurotransmitter involved in catecholamine regulation and glucohomeostasis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 ;99, 461-466.
- ▶ Handley SL, Mithani S., Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a mazeexploration model of 'fear'-motivated behaviour. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* 1984 ; 327, pp.1-5.
- ▶ Hans G, Smagin G, Ryan D., Failure to change exploration or saccharin preference in rats exposed to chronic mild stress. *Physiol Behav.*1997. 63, 91-100.7
- ▶ Hargreaves KM., Neuroendocrine markers of stress. *AnesthProg.*1990; 37, pp.99-105.
- ▶ Harris RB, Zhou J, Mitchell T, Hebert S, Ryan DH., Rats fed only during the light period are resistantto stress-induced weight loss. *PhysiolBehav.*2002b; 76, pp.543-550.
- ▶ Harris RB, Zhou J, Mitchell T, Hebert S, Ryan DH., Rats fed only during the light period are resistantto stress-induced weight loss. *PhysiolBehav.* 2002b;76, pp. 543-550.

- ▶ Harris RB, Zhou J, Youngblood BD, Rybkin, II, Smagin GN, Ryan DH., Effect of repeated stress on body weight and body composition of rats fed low- and high-fat diets. *Am J Physiol.*1998; 275, R1928-1938.
- ▶ Heinrichs S, Richard D., The role of corticotropin-releasing factor and urocortin in the modulation of ingestive behavior. *Neuropeptides.*1999 ; 33, pp.350-359.
- ▶ Heinrichs S, Koob G., Corticotropin-releasing factor in brain: a role in activation, arousal, and affect regulation. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004 ; 311, 427-440.
- ▶ Herman J, Figueiredo H, Mueller N, Ulrich-Lai Y, Ostrander M, Choi D, Cullinan W, Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Front Neuroendocrinol.*2003 ;24, 151-180
- ▶ Herman J, Ostrander M, Mueller N, Figueiredo H., Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2005 ;29, pp.1201-1213.
- ▶ Huot R, Thirvikraman K, Meaney M, Plotsky P., Development of adult ethanol preference and anxiety as a consequence of neonatal maternal separation in Long Evans rats and reversal with antidepressant treatment. *Psychopharmacology.* 2007;158: pp.366-73
- ▶ Huynh TN, Krigbaum AM, Hanna JJ, Conrad CD., Sex differences and phase of light cycle modify chronic stress effects on anxiety and depressive-like behavior. *Behav Brain Res.* 2011; 222, pp. 212–22.
- ▶ Huot M, Smart J, Qiu J, Rubinstein M, Ronnekleiv O, Low M, Kelly M., Hypothalamic proopiomelanocortin neurons are glucose responsive and express K(ATP) channels. *Endocrinolog.* 2003;y. 144, pp.1331-1340.

- ▶ Husum H, Mann J, Vlahos I, Martin A, Reznick R., Increased visceral fat distribution in drug-naive and drug-free patients with schizophrenia. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002 ; 26, pp.137-41.
- ▶ Itoi K., Ablation of the central noradrenergic neurons for unraveling their roles in stress and anxiety. *Ann N Y Acad Sci.* 2008 ; **1129**, 47-54.
- ▶ Itoi K, Sugimoto N., The brainstem noradrenergic systems in stress, anxiety, and depression. *J Neuroendocrinol.* 2010.
- ▶ Jacobson L, Sapolsky R., The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocr Rev.* 1991; 12, pp.118-134.
- ▶ Jacobson L., Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis regulation. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2005; 34, pp. 271-292,
- ▶ Jaferi A, Bhatnagar S., Corticosterone can act at the posterior paraventricular thalamus to inhibit hypothalamic-pituitary-adrenal activity in animals that habituate to repeated stress. *Endocrinology.* 2006; 147, pp.4917-4930.
- ▶ Jaferi A, Nowak N, Bhatnagar S., Negative feedback functions in chronically stressed rats: role of the posterior paraventricular thalamus. *Physiol Behav.* 2003; 78, pp.365-373.
- ▶ Jessop D, Vicennati V, Gambineri A, Colitta D, Ceroni L, Casimirri ., ACTH and cortisol response to combined corticotropin releasing hormone-arginine vasopressin stimulation in obese males and its relationship to body weight, fat distribution and parameters of the metabolic syndrome. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1997 ; 23, pp.419-24.
- ▶ Jocken JW, Blaak EE., Catecholamine-induced lipolysis in adipose tissue and skeletal muscle in obesity. *Physiol Behav.* 2008; 94, pp.219-230.
- ▶ Kageyama K, Suda T., Role and action in the pituitary corticotroph of corticotropin-releasing factor (CRF) in the hypothalamus. *Peptides.* 2009; 30, pp.810-816.

- ▶ Kajantie E, Phillips DI., The effects of sex and hormonal status on the physiological response to acute psychosocial stress. *Psychoneuroendocrinology*.2006; 31, pp.151-178.
- ▶ Kalinichev N, Campion, J, Milagro F, Lomba A, Marzo F, Martinez A., Chronic mild stress induces variations in locomotive behavior and metabolic rates in high fat fed rats. *Journal of physiology and biochemistry*. ,63:337-46.
- ▶ Kalueff AV, Tuohimaa P., The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neuro behavioral stress research. *J Neurosci Methods*.2005; 143, pp.169-177.
- ▶ Kalvez J. , Stress et prise alimentaire Application à l'étude de l'effet anti-stress d'un extrait de levure chez le rat. Paris, ABIES.2010 ;pp259.
- ▶ Kasar M, Mengi M, Yildirim EA, Yurdakos E., Different effects of tianeptine pretreatment in rats exposed to acute stress and repeated severe stress. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*.2009;31, pp.157-163.
- ▶ Katz RJ, Roth KA., Stress induced grooming in the rat--an endorphin mediated syndrome. *Neurosci Lett*.1979;13, pp.209-212.
- ▶ Keeney A, Jessop DS, Harbuz MS, Marsden CA, Hogg S, Blackburn-Munro RE., Differential effects of acute and chronic social defeat stress on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and hippocampal serotonin release in mice. *J Neuroendocrinol*.2006;18, pp.330-338.
- ▶ Keeney AJ, Hogg S, Marsden CA., Alterations in core body temperature, locomotor activity, and corticosterone following acute and repeated social defeat of male NMRI mice. *Physiol Behav*.2001; 74, pp.177-184.
- ▶ Kelliher P, Connor TJ, Harkin A, Sanchez C, Kelly JP, Leonard BE., Varying responses to the rat forced-swim test under diurnal and nocturnal conditions. *Physiol Behav*.2000;69, pp.531-539.

- ▶ Kinn AM, Gronli J, Fiske E, Kuipers S, Ursin R, Murison R, Portas CM., A double exposure to socialdefeat induces sub-chronic effects on sleep and open field behaviour in rats. *PhysiolBehav.*2008; 95, pp.553-561.
- ▶ Kirschbaum C, Pirke KM, Hellhammer DH., The 'Trier Social Stress Test'--a tool for investigatingpsychobiological stress responses in a laboratory setting. *Neuropsychobiology.*1993; 28, pp.76-81.
- ▶ Kiss A, Aguilera G., Role of alpha-1-adrenergic receptors in the regulation of corticotropin-releasinghormone mRNA in the paraventricular nucleus of the hypothalamus during stress. *Cell MolNeurobiol*20, 683-694. Kiss A& Aguilera G (2000) Role of alpha-1-adrenergic receptors in the regulation of corticotropin-releasinghormone mRNA in the paraventricular nucleus of the hypothalamus during stress. *Cell MolNeurobiol.*2000; 20, pp.683-694.
- ▶ Kleftras G., La dépression: approche cognitive et comportementale. Paris. 2004 ; L'harmattan.
- ▶ Klerman GL, Weissman MM., The changing epidemiology of depression. *Clin Chem.* 1988; 34, pp.807.
- ▶ Kloet G, Cropley M, Griffith J, Joekes K., The influence of abdominal obesity and chronic work stress on ambulatory blood pressure in men and women. *Int J Obes Relat Metab Disord.*1999 ; 23, pp.1184-91.
- ▶ Knuth et Etgen., 2005)
- ▶ Knuth J, S., The pulsatile characteristics of hypothalamo-pituitary-adrenal activity in female Lewis and Fischer 344 rats and its relationship to differential stress responses. *Endocrinology.*1998 ; 139:4044-52.



- ▶ Koehel F, Gosnell B, Levine A Morley J., Behavioral effects of corticotropin-releasing factor: localization and characterization of central effects. *Brain Res.* 1997-1999 ; pp.443, 63-69.
- ▶ Koob G, Heinrichs S., A role for corticotropin releasing factor and urocortin in behavioral responses to stressors. *Brain Res.* 1999 ; 848, pp. 141-152.
- ▶ Koolhaas JM, Meerlo P, De Boer SF, Strubbe JH , Bohus B., The temporal dynamics of the stress response. *Neurosci Biobehav Rev.* 1997; 21, pp.775-782.
- ▶ Korneva J, Haleem D, Kennett G, Curzon G., Adaptation of female rats to stress: shift to male pattern by inhibition of corticosterone synthesis. *Brain Res.* 2000 ; 458, pp.339-4.
- ▶ Konstantinos L, Kant G, Lenox R, Bunnell B, Mougey E, Pennington L, Meyerhoff JL., Comparison of stress response in male and female rats: pituitary cyclic AMP and plasma prolactin, growth hormone and corticosterone. *Psychoneuroendocrinology.* 2001 ; 8, pp.421-8.
- ▶ Korte SM, Beuving G, Ruesink W, Blokhuis HJ., Plasma catecholamine and corticosterone levels during manual restraint in chicks from a high and low feather pecking line of laying hens. *PhysiolBehav.* 1997; 62, pp.437-441.
- ▶ Kristensen H, Jones B, Schofield P, White P, Wathes M., The use of olfactory and other cues for social recognition by juvenile pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2001; 72, pp.321-333.
- ▶ Kvetnansky R, Goldstein DS, Weise VK, Holmes C, Szemeredi K, Bagdy G , Kopin IJ., Effects of handling or immobilization on plasma levels of 3,4-dihydroxyphenylalanine, catecholamines, and metabolites in rats. *J Neurochem.* 1992 ;58, pp.2296-2302.
- ▶ Kvetnansky R, Pacak K, Fukuhara K, Viskupic E, Hiremagalur B, Nankova B, Goldstein DS, Sabban E, Kopin IJ., Sympathoadrenal system in stress. Interaction with the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system. *Ann N Y AcadSci.* 1995;771, pp.131-158.

- ▶ Kvetnansky R, Sabban EL, Palkovits M., Catecholaminergic systems in stress: structural and molecular genetic approaches. *Physiol Rev.* 2009; 89, pp.535-606.
- ▶ Kvetnansky R, Sabban EL, Palkovits M., Catecholaminergic systems in stress: structural and molecular genetic approaches. *Physiol Rev.* 2009;89, pp.535-606.
- ▶ Kyrou I, Tsigos C., Stress hormones: physiological stress and regulation of metabolism. *Curr Opin Pharmacol.* 2009; 9, pp.787-793.
- ▶ Lalonde R., The neurobiological basis of spontaneous alternation. *Neurosci.Biobehav. Rev.* 2002; 26, pp.91-104.
- ▶ Lamproglou K, Yoshimura S, Sakamoto S, Kudo H, Sassa S, Kumai A, Okamoto R., Sex differences in adrenocortical responsiveness during development in rats. *Steroids;* 2009;68, pp.439-45.
- ▶ Larrère R., Justifications éthiques des préoccupations concernant le bien-être animal. *INRA Prod. Anim.* 2007 ;20, pp.11-17.
- ▶ Lethey H, Aerni V, Jungi TW, Wechsler B., Stress and feather pecking in laying hens in relation to housing conditions. *Br Poult Sci.* 2000; 41, pp.22-28.
- ▶ Lightman SL., The neuroendocrinology of stress: a never ending story. *J Neuroendocrinol.* 2008;20, pp.880-884.
- ▶ Lightman SL, Wiles CC, Atkinson HC, Henley DE, Russell GM, Leendertz JA, McKenna MA, Spiga F, Wood SA, Conway-Campbell BL., The significance of glucocorticoid pulsatility. *Eur J Pharmacol.* 2008;583, pp.255-262.
- ▶ Lister M, Burda, Erin Paster. Effects of prenatal stress on development in mice: maturation and learning. *Physiology & Behavior* 1987 ; 71, PP. 543- 549.
- ▶ Llobera M., Immobilization stress alters intermediate metabolism and circulating lipoproteins in the rat. *Metabolism.* 2002 ; 51, PP.925-931.

- ▶ Lordi B, Patin V, Protais P, Mellier D, Caston J., *Int J Psychophysiol.*2000 ; 37: pp.195-205.
- ▶ Maccari F, Xia L, Shanen D, Khabele D and Ferin M. Stimulatory effects of interleukin-induced activation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis on gonadotropin secretion in ovariectomized monkeys replaced with estradiol. *Endocrinology.*2005 ; 135, pp.2093-8.
- ▶ Magarinos AM., McEwen BS., Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3neurons: comparison of stressors. *Neuroscience.* 1995; 69, pp.83-88.
- ▶ Makara GB, Haller J., Non-genomic effects of glucocorticoids in the neural system. Evidence,mechanisms and implications. *ProgNeurobiol.*2001;65, pp.367-390.
- ▶ Makino S, Smith M, Gold P., Increased expression of corticotropin-releasing hormone and vasopressin messenger ribonucleic acid (mRNA) in the hypothalamic paraventricular nucleus during repeated stress: association with reduction in glucocorticoid receptor mRNA levels. *Endocrinology* .1995; 136, pp.3299-3309.
- ▶ Makino S, Smith M, Gold P., Regulatory role of glucocorticoids and glucocorticoid receptor mRNA levels on tyrosine hydroxylase gene expression in the locus coeruleus during repeated immobilization stress. *Brain Res.*2002; 943, pp.216-223.
- ▶ Marin MT, Cruz F, Planeta C., Chronic restraint or variable stresses differently affect the behavior, corticosterone secretion and body weight in rats. *PhysiolBehav.*2007;90, pp.29-35.
- ▶ Marini F, Pozzato C, Andretta V, Jansson B, Arban R, Domenici E, Carboni L., Single exposure to social defeat increases corticotropin-releasing factor and glucocorticoid receptor mRNA expression in rat hippocampus. *Brain Res* .2006; 1067, pp.25-35.
- ▶ Marquez C, Belda X, Armario A., Post-stress recovery of pituitary-adrenal hormones and glucose, but not the response during exposure to the stressor, is a marker of stress intensity in highly stressful situations. *Brain Res* 2002;926, pp.181-185.

- ▶ Marti O, Harbuz MS, Andres R, Lightman SL, Armario A., Activation of the hypothalamic-pituitaryaxis in adrenalectomised rats: potentiation by chronic stress. *Brain Res.* 1999; 821, pp.1-7.
- ▶ Marti O, Armario A., (1998) Anterior pituitary response to stress: time-related changes and adaptation. *Int J Dev Neurosci.*1998 ; 16, pp.241-260.
- ▶ Maslova L, Bulygina V, Markel A., Chronic stress during prepubertal development: immediate and long-lasting effects on arterial blood pressure and anxiety-related behavior. *Psychoneuroendocrinology.*2002; 27, pp.549-561.
- ▶ Meaney H., adaptation, and disease. Allostasis and allostatic load. *Ann N Y Acad Sci.*2002 ;840, pp.33-44.
- ▶ Meerlo P, De Boer S, Koolhaas J, Daan S , Hoofdakker R., Changes in daily rhythms of body temperature and activity after a single social defeat in rats. *PhysiolBehav.*1996a; 59, pp.735-739.
- ▶ Meerlo P, Horvath KM, Nagy GM, Bohus B , Koolhaas J., The influence of postnatal handling on adult neuroendocrine and behavioural stress reactivity. *J Neuroendocrinol.*1999; 11, pp.925-933.
- ▶ Millan M., The neurobiology and control of anxious states. *ProgNeurobiol.* 2003; 70, pp.83-244.
- ▶ Miller D, O'Callaghan J., Neuroendocrine aspects of the response to stress. *Metabolism.*2002;51, pp.5-10.
- ▶ Montgomery K., The relation on skip between fear induced by novel stimulation exploratory behaviour.*J.comp.physio.* 1955 ; 48, pp. 254-260.
- ▶ Moore C, Morelli G., Mother rats interact differently with male and female offspring. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 1979; 93, pp. 677-684.

- ▶ Mormede P, Andanson S, Auperin B, Beerda B, Guemene D, Malmkvist J, Manteca X, Manteuffel G, Prunet P, van Reenen CG, Richard S, Veissier I., Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiol Behav.* 2007; 92, pp.317-339.
- ▶ Munck A, Guyre P, Holbrook N, Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr Rev.* 1984;5, pp.25-44.
- ▶ Munck A, Mendel D, Smith L, Orti E., Glucocorticoid receptors and actions. *Am Rev Respir Dis.* 1990; 141, pp.S2-10.
- ▶ Nonogaki K., New insights into sympathetic regulation of glucose and fat metabolism. *Diabetologia.* 2000; 43, pp.533-549.
- ▶ Noble R., Diagnosis of stress. *Metabolism.* 2002.51, pp.37-39.
- ▶ Nyberg L., Any novelty in hippocampal formation and memory? *Curr. Opin. Neurol.* 2005; 18, pp.424-428.
- ▶ Ohl G, Fuchs I, Mormede P, Sarrieu A., Strain differences in corticosteroid receptor efficiencies and regulation in Brown Norway and Fischer 344 rats. *J Neuroendocrinol.* 1999 ; 11, pp.267-73.
- ▶ Owens M, Nemeroff C., Physiology and pharmacology of corticotropin-releasing factor. *Pharmacol Rev.* 1991; 43, pp.425-473.
- ▶ Pacak K, Palkovits M., Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocr Rev.* 2001; 22, pp.502-548.
- ▶ Pacak K., Stressor-specific activation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Physiol Res* 49Suppl .2000; 1, pp.11-17.
- ▶ Patel S, Hillard C., Adaptations in endocannabinoid signaling in response to repeated homotypic stress: a novel mechanism for stress habituation. *Eur J Neurosci.* 2008; 27, pp.2821-2829.

- ▶ Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M., Validation of open/closed arm entries in an elevated plus maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci.* 1985; 14, pp.149-167.
- ▶ Peters A, Schweiger U, Pellerin L, Hubold C, Oltmanns KM, Conrad M, Schultes B, Born J, Fehm HL., The selfish brain: competition for energy resources. *Neurosci Biobehav Rev.* 1988-1990 ;28, 1,pp.43-180.
- ▶ Pitman D, Ottenweller J, Natelson B., Effect of stressor intensity on habituation and sensitization of glucocorticoid responses in rats. *BehavNeurosci.*1990;104, pp.28-36.
- ▶ Plotsky T, Livingstone D, Eliasson M, Johnson O, Anatomy and regulation of the central melanocortin system. *Nature neuroscience.* 1993 ;8;pp.571-8.
- ▶ Pocock G, Richards C., *Physiologie humaine : les fondements de la médecine.* Paris: 2004 ; Masson.
- ▶ Post J, Rebel J, terHuurne A., Automated blood cell count: a sensitive and reliable method to study corticosterone-related stress in broilers. *PoultSci.*2003; 82, pp.591-595.
- ▶ Poucet B, Benhamou S., The neuropsychology of spatial cognition in the rat. *Crit. Rev. Neurobiol.* 1997;11,pp.101-120.
- ▶ Pritchard L, White., Neuropeptide processing and its impact on melanocortin pathways. *Endocrinology.*2007; 148, pp.4201-4207.
- ▶ Prut L, Belzung C., The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol.*2003;463, pp.3-33.
- ▶ Quitkin G, Ottosson M, Ahlberg AC, Eden S, Oden B, Okret S, Bronnegard M, Stierna P, Bjornorp P., Central and peripheral glucocorticoid receptor function in abdominal obesity. *J Endocrinol Invest.*1996 ; 25, pp.229-35.
- ▶ Radley J, Rocher A, Rodriguez A, Ehlenberger D, Dammann M, McEwen B, Morrison J, Wearne S, Hof PR., Repeated stress alters dendritic spine morphology in the rat medial prefrontal cortex. *J CompNeurol.*2008;507, pp.1141-1150.

- ▶ Raji S, Gaudichon C, Martin A, Morens C, Mathe V, Tome D, Huneau JF., A long-term high-protein diet markedly reduces adipose tissue without major side effects in Wistar male rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*.2001 ; 287,R934-42.
- ▶ Rask E, Walker B, Söderberg S, Livingstone D, Eliasson M, Johnson O, Andrew R, Olsson T., Tissue-specific changes in peripheral cortisol metabolism in obese woman: increased adipose 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* .2002 ; 87, pp.3330–3336.
- ▶ Regenthal R, Koch H, Köhler C, Preiss R, Krügel U., Depression-like deficits in rats improved by subchronic modafinil. *Psychopharmacology*. 2009 ; 204, pp.627–39.
- ▶ Retana S, Bonilla H, Vazquez G, Dominguez E, Martinez R, Velazquez J., Body weight gain and diurnal differences of corticosterone changes in response to acute and chronic stress in rats. *Psychoneuroendocrinology*.2003; 28, pp.207-227.
- ▶ Ricceri L, Colozza C, Calamandrei G., Ontogeny of spatial discrimination in mice: a longitudinal analysis in the modified open-field with objects. *Dev.Psychobiol*. 2000;37, pp.109-118.
- ▶ Rinaman L., A functional role for central glucagon-like peptide-1 receptors in lithium chloride-induced anorexia. *Am J Physiol*.1999a ;277, R1537-1540.
- ▶ Roberts L, Nicolich M, Schreiner C., Developmental and reproductive toxicity evaluation of toluene vapor in the rat II. *Developmental Toxicity Reproductive Toxicology*. 2007 ; 23, pp.521–531.
- ▶ Rodenburg T, Hierdenb Y, Buitenhuis A, Riedstrad B, Koenea P, Korteb S, Poelc J, Groothuisd T, Blokhuis H., Feather pecking in laying hens: new insights and directions for research? *ApplAnimBehavSci*.2004;86, pp.291-298.
- ▶ Rodgers R, Holch P, Tallett A, Behavioural satiety sequence (BSS): Separating wheat from chaff in the behavioural pharmacology of appetite. *PharmacolBiochemBehav*. 2010.

- ▶ Rojo L, Conesa L, Bermudez O, Livianos L., Influence of stress in the onset of eating disorders: data from a two-stage epidemiologic controlled study. *Psychosom. Med.* 2006 ; 68, pp.628–635.
- ▶ Rosmond R, Dallman M, Bjorntorp P., Stress-related cortisol secretion in men: relationships with abdominal obesity and endocrine, metabolic and hemodynamic abnormalities. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998; 83, pp.1853-1859.
- ▶ Rosol T, Yarrington J, Latendresse J, Capen C., Adrenal gland: structure, function, and mechanisms of toxicity. *Toxicol Pathol.* 2001; 29, pp.41-48.
- ▶ Roy V., Contribution à l'étude de conduites émotionnelles chez le rat : utilisation du handling prostratalet et de l'approche éthoexpérimental du comportement, thèse de doctorat université de Rouen, France. 2002.
- ▶ Ruder E , Terryl J , Jeffrey B, Goldman M., Oxidative stress and antioxidants: exposure and impact on female fertility. *Hum Rep Update AdvAcc.* 2008 ; 4 : pp.345-57.
- ▶ Rushen J., Changing concepts of farm animal welfare: bridging the gap between applied and basic research. *Appl Anim Behav Sci.* 2003; 81 199-214.
- ▶ Sabban E., Serova L., Influence of prior experience with homotypic or heterotypic stressor on stress reactivity in catecholaminergic systems. *Stress.* 2007; 10, pp.137-143.
- ▶ Sachs B., The development of grooming and its expression in adult animals. *Ann N Y Acad Sci* 5. 1988;25, 1-17.
- ▶ Sandi H, Davenport B, Clore JN, Stevens W., Lipid metabolism and resistin gene expression in insulin-resistant Fischer 344 rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 1997; 282, E626-33.
- ▶ Saper C, Lu J, Chou T, Gooley J., The hypothalamic integrator for circadian rhythms. *Trends Neurosci.* 2005; 28, 152-157.



- ▶ Sapolsky R, Romero L, Munck A., How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr Rev* .2000; 21, 55-89.
- ▶ Saraswathi C, sathyanarayan sreemantula D., wagh sagar prakash. Effect of chronic cold restraint and immobilization stress on estrous cycle in rats. *Pharmacologyonline*. 2010; 2: pp. 151-160.
- ▶ Sawchenko P, Li H, Ericsson A., Circuits and mechanisms governing hypothalamic responses to stress: a tale of two paradigms. *Prog Brain Res*.2000; 122, pp. 61-78.
- ▶ Schmitt U, Hiemke C., Combination of open field and elevated plus-maze: a suitable test battery to assess strain as well as treatment differences in rat behavior. *ProNeuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1998; 22, pp.1197-1215.
- ▶ Sedlackova M, Bilcik B, Kostal L., Feather Pecking in Laying Hens: Environmental and Endogenous Factors. *Acta Veterinaria Brno*. 2004; 73, pp.521-531.
- ▶ Seiden L, Rhodes M, Louis C, Skibicka G, Grill K., A potential role for hypothalamomedullary POMC projections in leptin-induced suppression of food intake. *American journal of physiology*.2001 ; 298:R720-8.
- ▶ Selye H., *The stress of life*, 2d edition ed: Papermark Edition 1936.
- ▶ Selye H., A syndrome produced by diverse noxious agents. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*.1998; 10, pp. 230-231.
- ▶ Shuichi C, Tadahiro N, Midori N, Misty C R, Chisato W, Hiroshi K., Chronic restraint stress causes anxiety- and depression-like behaviors, downregulates glucocorticoid receptor expression, and attenuates glutamate release induced by brain-derived neurotrophic factor in the prefrontal cortex. *Progress in NeuroPsychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2012 ; 39, pp.112-119.

- ▶ Simler N, Malgoyre A, Koulmann N, Alonso A, Peinnequin A, Bigard A., Hypoxic stimulus alters hypothalamic AMP-activated protein kinase phosphorylation concomitant to hypophagia. *J Appl Physiol.*2007;102, pp. 2135-2141.
- ▶ Sinno M, Do Rego J, Coeffier M, Bole C, Ducrotte P, Gilbert D, Tron F, Costentin J, Hokfelt T, Dechelotte P, Fetissov S., Regulation of feeding and anxiety by alpha-MSH reactive autoantibodies. *Psychoneuroendocrinology.*2009;34, pp.140-149.
- ▶ Slominski S, Creighton D, McCarty R, Tapp WN, Pitman D, Ottenweller JE., Adrenal hormonal indices of stress in laboratory rats. *Physiol Behav.*2001 ; 39, pp.117-25, 1987.
- ▶ Smith R, Lovelock M, Owens PC, Chan E, Falconer J., The effect of repetitive haemorrhage on plasma cortisol, beta-endorphin and N-terminal pro-opiomelanocortin in conscious sheep. *Horm Metab Res.* 1988;20, pp. 612-615.
- ▶ Spruijt B, van Hooff J, Gispen W., Ethology and neurobiology of grooming behavior. *Physiol Rev.*1992; 72, pp.825-852.
- ▶ Stellato C., Post-transcriptional and nongenomic effects of glucocorticoids. *Proc Am Thorac Soc.*2004;1, pp. 255-263.
- ▶ Stengel A, Tache Y., Neuroendocrine control of the gut during stress: corticotropin-releasing factor signaling pathways in the spotlight. *Annu Rev Physiol.*2009; 71, pp.219-239.
- ▶ Strelakova T, Spanagel R, Bartsch D, Henn F, Gass P., Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and exploration. *Neuropsychopharmacology* 2004 ; 29, pp. 2007–2017.
- ▶ Swiergiel A, Zhou Dunn A., effects of chronic footshock, restraint and corticotropin-releasing factor on freezing, ultrasonic vocalization and forced swim behavior in rats. *Behav Brain Res.* 2007; 183, pp. 178-87.

- ▶ Szafarczyk A, Ixart G, Gaillet S, Siaud P, Barbanel G, Malaval F, Assenmacher I., Stress.Neurophysiologicstudies. *Encephale*.19 Spec No 1.1993; 137-142.
- ▶ Tache Y, Bonaz B., Corticotropin-releasing factor receptors and stress-related alterations of gut motorfunction. *J Clin Invest* .2007; 117, pp.33-40.
- ▶ Tache Y, Garrick T, Raybould H., Central nervous system action of peptides to influence gastrointestinal motorfunction. *Gastroenterology*.1990;98, pp.517-528.
- ▶ Takahashi K, Oshikawa S, Kitagawa Y, Koshimizu TA, Mori T., Stress and the developing limbic-hypothalamic-pituitaryadrenal axis. *Psychoneuroendocrinology*.1992; 23, pp.663-700.
- ▶ Tamashiro K, Hegeman M, Nguyen M, Melhorn S, Ma L, Woods S, Sakai R., Dynamicbody weight and body composition changes in response to subordination stress. *PhysiolBehav*.2007; 91, pp.440-448.
- ▶ Tanoue A, Ito S, Honda K, Oshikawa S, Kitagawa Y, Koshimizu TA, Mori T, Tsujimoto G., The vasopressin V1b receptor critically regulates hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity under both stress and resting conditions. *J Clin Invest*. 2004;113, pp.302-309.
- ▶ Tasker J, Di S, Malcher R., Minireview: rapid glucocorticoid signaling via membrane associated receptors. *Endocrinology*.2006; 147, pp.5549-5556.
- ▶ Tauchi M, Zhang R, D'Alessio D, Seeley R, Herman J., Role of central glucagon-like peptide-1 in hypothalamo-pituitary-adrenocortical facilitation following chronic stress. *ExpNeurol*.2008; 210, pp.458-466.
- ▶ Thinus C, Bouzouba L, Chaix C, Chapuis N, Durup M, Poucet B., A study of spatial parameters encoded during exploration in hamsters. *J. Exp Psychol. Animal Behavior Processes* 1987 ;13, pp.418-427.

- ▶ Touyarot K, Matzinger O, Binnert C, Schneiter P, Chiolo R, Tappy L., Fish oil prevents the adrenal activation elicited by mental stress in healthy men. *Diabetes Metab.*, 2004 ; 29 pp.289-95.
- ▶ Tsigos C, Chrousos G., Physiology of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in health and dysregulation in psychiatric and autoimmune disorders. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1994;23, pp.451-466.
- ▶ Tsigos C, Chrousos G., Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res.* 2009; 53, pp.865-871.
- ▶ Ulrich-Lai Y, Engeland W, Adrenal splanchnic innervation modulates adrenal cortical responses to dehydration stress in rats. *Neuroendocrinology.* 2002; 76, pp.79-92.
- ▶ Ulrich-Lai Y, Herman J., Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci.* 2009;10, pp.397-409.
- ▶ Valles A, Marti O, Garcia A, Armario A., Single exposure to stressors causes long-lasting, stress-dependent reduction of food intake in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2000; 279, R1138-1144.
- ▶ Van der Laan S, Meijer O., Pharmacology of glucocorticoids: beyond receptors. *Eur J Pharmacol.* 2008; 585, pp.483-491.
- ▶ Van Erp A, Kruk M, Meelis W, Willekens D., Effect of environmental stressors on time course, variability and form of self-grooming in the rat: handling, social contact, defeat, novelty, restraint and fur moistening. *Behav Brain Res.* 1994;65, pp.47-55.
- ▶ Van L, Ribel U, Christjansen KN, Wulff BS, Clausen JT, Jensen PB, Madsen OD, Vrang N, Larsen PJ & Hastrup S Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nature.* 1998 ; 393, pp.72-76.
- ▶ Vann S, Albasser M., Hippocampus and neocortex: recognition and spatial memory. *Curr Opin Neurobiol.* 2011 ; 21(3): pp.440-5.

- ▶ Varma M, Chai J, Meguid M, Gleason J, Yang Z., Effect of operative stress on food intake and feeding pattern in female rats. *Nutrition*.1999; 15, pp.365-372.
- ▶ Vazquez D., Stress and the developing limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Psychoneuroendocrinology*.1998; 23, pp.663-700.
- ▶ Viveros M, Marco E, File S., Endocannabinoid system and stress and anxiety responses. *PharmacolBiochemBehav*.2005; 81, pp.331-342.
- ▶ Wagenmaker E, Breen K, Oakley A, Tilbrook A, Karsch F., Psychosocial stress inhibits amplitude of gonadotropin-releasing hormone pulses. Independent of cortisol action on the type II glucocorticoid receptor. *Endocrinology*. 2009 ; 150, pp.762-769.
- ▶ Wang S, Gaal D, Maranets I, Caldwell A, Kain Z., Acupressure and preoperative parental anxiety: a pilot study. *Anesth Analg* . 2005; 101(3): pp.666-9.
- ▶ Willner P., Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology*.2005; 52, pp.90-110.
- ▶ Woodson N, Miller A, McEwen B, Spencer R., Differential activation of adrenal steroid receptors in neural and immune tissues of Sprague Dawley, Fischer 344, and Lewis rats. *J Neuroimmunol*.2003 ; 56, pp.77-90.
- ▶ Wurtman R., Stress and the adrenocortical control of epinephrine synthesis. *Metabolism*.2002; 51, pp. 11-14.
- ▶ Xu Y, Lin D, Li S, Shyamala S, Barish P, Vernon M., Curcumin reverses impaired cognition and neuronal plasticity induced by chronic stress. *Neuropharmacology*. 2009; 57, pp.463–71.
- ▶ Yi L, Xuemei Z, Lingshan G, Xin L, Xia T, Ling L, Youguang Z, Ling Z, Xiaoxing Y., Protective effects of nifedipine administration on the cognitive impairments induced by

chronic restraint stress in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 2013 ; 103, pp.474–480.

- ▶ Yong T, Matsumoto T, Zhang K, Miyahara S, Shizuya K & Okazaki Y) Effects of single and repeated prolonged stress on mu-opioid receptor mRNA expression in rat gross hypothalamic and midbrain homogenates. *Brain Res*.2012 ; 980, pp.191-196.
  
- ▶ Ziegler D, Cullinan W, Herman J., Organization and regulation of paraventricular nucleusglutamate signaling systems: N-methyl-D-aspartate receptors. *J Comp Neurol*.2005; 484, pp. 43-56.

