



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-SCIENCE

EN BIOLOGIE ANIMALE

Intitulé

***Effet du stress de séparation (Mère-progéniture) sur les capacités adaptatives et comportementales chez le rat Wistar***

Présentée par : M<sup>me</sup> RE'TEM Chahira

Devant le jury :

M <sup>r</sup> BAIRI Abdelmadjid	Professeur	Directeur	Université d'Annaba
M <sup>r</sup> TAHRAOUI Abdelkrim	Professeur	Président	Université d'Annaba
M <sup>me</sup> TADJINE Aïcha	Professeur	Examinatrice	Université d'El Tarf
M <sup>elle</sup> GRARA Nedjoud	MCA	Examinatrice	Université de Guelma

Année universitaire 2015 / 2016

# Remerciements

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

*Le travail présenté dans cette thèse a été réalisé au sein du Laboratoire de Neuro- Endocrinologie appliqué de l’Université d’Annaba. Je profite de l’occasion qui m’est offerte pour adresser mes vifs remerciements à Monsieur le Professeur **Tahraoui Abdelkrim** pour sa disponibilité et son souci constant de manière à ce que cette thèse se passe dans les meilleures conditions possibles, et d’accepter de me faire un grand honneur en président de jury.*

*J’exprime mes remerciements au Professeur **Bairi Abdelmadjid** 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.*

*Mes plus vifs remerciements et toute ma considération à M<sup>elle</sup> **Grara Nodjoud** (Maitre de conférence à l’Université de Guelma) d’avoir répondu favorablement et de m’avoir fait l’honneur d’être rapporteur de cette thèse. J’espère pouvoir montrer ici le signe de ma reconnaissance la plus sincère.*

*Je tiens aussi à remercier M<sup>me</sup> le Professeur **Tadjine Aïcha** (Université d’El Tarf) d’avoir bien voulu évaluer ce travail et de participer au jury de ma*

## **REMERCIEMENTS**

---

*soutenance de thèse. Qu'elle trouve ici l'expression de ma gratitude et de l'estime que je lui porte.*

*Je souhaite également remercier très chaleureusement :*

*Tous mes **collègues** de l'Université du Guelma avec une mention particulière à :  
Sourour Zidi, Rania Yozman*

*Leila Hamdi (Université de Sétif), Samira Gaid (Université d'El Tarf), Salima Chouahda (Université d'Annaba)*

# Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail*

*A mes chers **parents** à qui je dois tout.*

*A mon mari **Aouragh Fateh** pour leur soutien et encouragements.*

*A mes enfants : **Loudjaine, Ahmed Jad et Nazim***

*A mes sœurs : **Lynda, Yasmina et Manel** et son enfants*

*A mes frères : **Farouk, Taher et Abd El Kader** et son enfants*

*A ma belle mère **Mazouni Zina** et ma belle sœur **Aouragh Amel***

*A Tous mes amis toujours disponibles*



---

## SUMMARY

In humans, genetic and environmental factors influence susceptibility to many diseases. In particular, the quality of relationships between a child and his mother plays a key role in the harmonious development and the subsequent balance of this individual. The animal experimental designs are developed to determine the neurobiological disturbances underlying vulnerability to these disorders. The modeling in animals remains relative.

The work presented in this thesis was conducted on a mother/newborn separation design in rats at juvenile age. Rats are separated from their mother and isolated from their counterparts every day during 5 min, 30 min and one hour from their 3th to their 14th day of life.

It was this time to analyze the behavior of rats in juvenile age and adulthood. The first part presents the general context in which the subject is registered, and includes bibliographical data concerning the separation model mother / newborn.

The second part presents the specific objectives of the work. It will be followed by a third section describing the experimental work in part divided into two: the first is a study on glucose and lipid metabolite in juvenile age rats after decapitation, but 2nd is a study on the different behavioral tests (open field test, test of the cross, test of water sweet consumption) adulthood.

Then the results will be discussed and compared to those of the literature review.



## الملخص

عند البشر، العوامل الوراثية والبيئية تؤثر على القابلية لكثير من الأمراض. وعلى وجه الخصوص، نوعية العلاقات بين الطفل وأمه حيث تلعب دورا هاما في نموه الهرموني وتوازنه. و عدم التوازن في هذه العلاقات يمكن أن يؤدي إلى مثل هذه الاضطرابات النفسية الخطيرة. على نحو متزايد، يتم تطوير النماذج الحيوانية التجريبية من أجل معرفة الاضطرابات العصبية التي تكمن وراء التعرض لهذه الاضطرابات.

العمل المقدم في هذه المذكرة عبارة عن نموذج من الانفصال بين الأم / الفئران الحديثين الولادة. ، يتم فصل الفئران عن أمهاتهم لمدة 5 دقائق، 30 دقيقة وساعة، يوميا من اليوم الثالث إلى يومهم الرابع عشر من الولادة.

كان اختيارنا لهذا المجال من الوقت لتحليل سلوك الفئران في سن الولادة و في سن البلوغ. الجزء الأول يعرض السياق العام لهذا الموضوع، ويتضمن البيانات البيلوغرافية نماذج الانفصال الأم / الفئران الرضع.

الجزء الثاني يعرض الأهداف المحددة للعمل. وسيعقب ذلك طرف ثالث يصف العمل التجريبي المقسم بدوره إلى قسمين: الأول يضم دراسة على الكربوهيدرات ودهون الأيض عند الفئران الحديثين الولادة، الثاني سيتم فيه شرح اختبارات سلوكية مختلفة (اختبار الحقل المفتوح، اختبار المتاهة، اختبار استهلاك الفئران للمياه المحلاة) عند الفئران البالغة.

سيتم مناقشة النتائج، مقارنة مع تلك الموجودة في الأعمال السابقة.



## RESUME

Chez l'homme, les facteurs génétiques et environnementaux influent sur la susceptibilité à de nombreuses maladies. En particulier, la qualité des relations entre un enfant et sa mère joue un rôle important pour le développement harmonieux et l'équilibre ultérieur de cet individu. Des perturbations de ces relations peuvent conduire notamment à des désordres psychiatriques graves. De plus en plus, des modèles expérimentaux animaux se développent afin de connaître les perturbations neurobiologiques qui sous-tendent une vulnérabilité à ces troubles. La modélisation chez l'animal reste cependant relative.

Le travail présenté dans cette thèse a été réalisé sur un modèle de séparation mère/nouveau-né chez le rat à l'âge juvénile. Les rats sont séparés de leur mère et isolés de leurs congénères quotidiennement pendant 5 min, 30min et une heure de leur troisième à leur quatorzième jour de vie.

Il s'agissait cette fois d'analyser le comportement de rats à l'âge juvénile et à l'âge adulte. Une première partie présente le contexte général dans lequel s'inscrit le sujet, et regroupe des données bibliographiques concernant les modèles de séparation mère/nouveau-né.

La deuxième partie présente les objectifs précis du travail. Elle sera suivie d'une troisième partie décrivant le travail expérimental qui subdivisé en 2 sous partie : la 1<sup>ère</sup> est une étude sur le métabolite glucidique et lipidique des rats à l'âge juvénile après décapitation, mais la 2<sup>ème</sup> est une étude sur les différents tests comportementaux (l'open field, labyrinthe en croix surélevé et la consommation d'eau sucrée) à l'âge adulte.

Puis les résultats obtenus seront discutés, comparés à ceux de la littérature.



### *Liste des Figures*

Figure	Titres	Pages
1	Traitement des rats des lots (T, 5, 30 et 1).	12
2	Décapitation et prélèvement sanguin.	13
3	<b>1<sup>ère</sup> partie</b> : Traitement des rats à l'âge juvénile.	14
4	Les étapes du dosage du glucose.	16
5	<b>2<sup>ème</sup> partie</b> : Traitement des rats à l'âge adulte.	23
6	Illustration schématique du test du champ ouvert (open field).	25
7	Illustration schématique du test du labyrinthe en croix surélevée (Elevated plus-maze)	26
8	Taux du poids corporel (g) chez le lot témoin et les lots stressés par séparation. ( $m \pm s$ , $n=8$ ).	29
9	Taux du glucose plasmatique (g/l) chez le lot témoin et les lots stressés par séparation ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	30
10	Variation des teneurs en cholestérol et en triglycérides sanguins en (g/l) chez le lot témoin et les lots traités ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	31



<b>11</b>	Temps passé dans la périphérie (s) des lots témoin et traités enregistré-t-on test d'openfield ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>33</b>
<b>12</b>	Temps (s) : passé dans le centre, de redressement et le nombre de défécation des lots témoin et traités enregistré-t-on test d'openfield ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>33</b>
<b>13</b>	Nombre d'entrées dans les BO et BF des lots témoin et traités enregistré dans le test du labyrinthe en croix surélevé ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>35</b>
<b>14</b>	Temps (s) : passé dans le centre, passé dans les BF et BO des lots témoin et traités enregistré dans le test du labyrinthe en croix surélevé ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>35</b>
<b>15</b>	Temps de redressement(s) et le nombre de redressement des lots témoin et traités enregistré dans le test du labyrinthe en croix surélevé ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>36</b>
<b>16</b>	Nombre de défécation et le nombre de miction (urines) des lots témoin et traités enregistré dans le test du labyrinthe en croix surélevé ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>36</b>
<b>17</b>	Quantités d'eaux sucrées consommées suite au stress de séparation dans le test de la consommation d'eau sucrée (ml) ( $n=4$ , $m \pm s$ ).	<b>37</b>
<b>18</b>	Taux des globules blancs et des lymphocytes des lots témoin et traités ( $10^3/\mu\text{l}$ ) ( $n=4$ , $m \pm s$ ).	<b>37</b>



<b>19</b>	Taux des monocytes des lots témoin et traités ( $10^3/\mu\text{l}$ ) (n=4, m $\pm$ s).	<b>39</b>
<b>20</b>	Taux des plaquettes des lots témoin et traités ( $10^3/\mu\text{l}$ ) (n=4, m $\pm$ s).	<b>39</b>
<b>21</b>	Différents facteurs génétiques et environnementaux sont à l'origine d'une vulnérabilité aux troubles mentaux.	<b>40</b>
<b>22</b>	Représentation du système limbique : cortex limbique et structures sous-corticales (amygdale, bulbe olfactif, hippocampe, septum, corps mamillaire...).	<b>42</b>
<b>23</b>	Stress et noyaux hypothalamiques, hypophyse.	<b>43</b>
<b>24</b>	Modifications de l'efficacité du rétrocontrôle négatif exercé par la corticostérone sur l'hippocampe de rats séparés, dès le lendemain de la naissance, 15 min ou 3 h par jour pendant 14 jours.	<b>45</b>
<b>25</b>	la physiologie du stress au niveau de l'axe Hypothalamo- hypophyso- Surrénalien.	<b>47</b>
<b>26</b>	Principales actions du stress sur l'axe neuro-endocrine, le système immunitaire et inflammatoire et sa régulation.	<b>53</b>



### *Liste des Tableaux*

<b>Tableau</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>1</b>	Représentation des différents tests et modèles d'anxiété développés chez les rongeurs.	<b>7</b>
<b>2</b>	Protocole utilisé pour le dosage du glucose par la méthode enzymatique.	<b>16</b>
<b>3</b>	Protocole utilisé pour le dosage du cholestérol.	<b>18</b>
<b>4</b>	Protocole utilisé pour le dosage des triglycérides.	<b>19</b>
<b>5</b>	Récapitulatif des évènements survenus dans la vie des rats étudiés, en fonction de leur âge.	<b>22</b>
<b>6</b>	Variation des taux du poids corporel chez le lot témoin et les lots stressés par séparation ( $m \pm s$ , $n=8$ ).	<b>Annexe</b>
<b>7</b>	Variation des taux du glucose plasmatique chez le lot témoin et les lots stressés par séparation ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>Annexe</b>
<b>8</b>	Variation des teneurs en cholestérol et en triglycérides sanguins en (g/l) chez le lot témoin et les lots traités ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>Annexe</b>
<b>9</b>	Paramètres comportementaux des lots témoin et traités enregistrés on openfield ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>32</b>



<b>10</b>	Paramètres comportementaux des lots témoin et traités enregistrés dans le test du labyrinthe en croix surélevé (m±s, n=4).	<b>Annexe</b>
<b>11</b>	Quantités d'eaux sucrées consommées suite au stress de séparation dans le test de l'eau sucrée (ml) (m±s, n=4).	<b>Annexe</b>
<b>12</b>	Paramètres immunitaires des lots témoin et traités (m±s, n=4)	<b>38</b>



## Liste des Abréviations

<b>ARNm</b> : Acide ribonucléique messenger.	<b>µl</b> : Microlitre.
<b>CRH</b> : Corticotropin-releasing hormone.	<b>ml</b> : Millilitre.
<b>HHS</b> : Hypothalamo-hypophyso-surrénalien.	<b>cm</b> : Centimètre.
<b>ACTH</b> : Hormone adrénocorticotrope.	<b>D.O</b> : Densité optique.
<b>CCK</b> : La cholécystokinine.	<b>g/l</b> : Gramme par litre.
<b>CCK1</b> : La cholécystokinine1.	<b>mol</b> : Mol.
<b>CCK2</b> : La cholécystokinine2.	<b>m mol</b> : Millimol.
<b>S</b> : Stress de séparation.	<b>L</b> : Litre.
<b>J</b> : Jour.	<b>FNS</b> : Formule numération sanguine.
<b>5</b> : Séparation pendant 5 minutes.	<b>EDTA</b> : Acide Ethylène Diamino Tétracétique.
<b>30</b> : Séparation pendant 30 minutes.	<b>h</b> : Heure.
<b>1</b> : Séparation pendant une heure.	<b>BF</b> : Bras fermés.
<b>g</b> : Gramme.	<b>BO</b> : Bras ouverts.
<b>mg</b> : Milligramme.	<b>s</b> : Seconde.
<b>%</b> : Pourcentage.	<b>m±s</b> : Moyenne ± écart type.
<b>n</b> : Effectif.	<b>Ns</b> : Variation non significative
<b>Lot T</b> : Lot témoin.	<b>Vs</b> : Versus.
<b>Lot 5</b> : Lot séparé pendant 5 mn.	<b>GB</b> : Globule blanc.
<b>Lot 30</b> : Lot séparé pendant 30mn.	<b>Lymph</b> : Lymphocyte.
<b>Lot 1</b> : Lot séparé pendant une heure.	<b>Mono</b> : Monocyte.
<b>glu</b> : Glucose.	<b>PLQ</b> : Plaquette.
<b>chol</b> : Cholesterol.	<b>PVN</b> : Noyau paraventriculaire.
<b>trig</b> : Triglycérides.	



**CRF** : Corticotropin-releasing factor.

**AVP** : Arginine vasopressine.

**ACTH** : Hormone adrénocorticotrope.

**POMC** : Proopiomélanocorticotropine.

**MSH** : Hormone mélanostimulante.

**SN** : Systèmes nerveux.

**SE** : Systèmes endocrinien.

**SI** : Systèmes immunitaire.

**IL-1** : Interleukine-1.

**mn** : Minute.



---

**TABLE DE MATIERES**

<b>INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
<b>MATERIEL ET METHODES</b>	<b>9</b>
1- Elevage	9
2- Conditions d'élevage	9
3-L'approche expérimentale	10
4- Animaux et protocole de séparation	10
5-Lotissement des animaux	12
<b>6-Première partie</b>	<b>13</b>
<b>6-1- Prélèvements sanguins</b>	<b>13</b>
<b>6-2-Dosages métaboliques</b>	<b>15</b>
<b>6-2-1 Le glucose plasmatique</b>	<b>15</b>
Principe	15
Mode opératoire	15
Calcul de la concentration	16
<b>6-2-2- Le cholestérol plasmatique</b>	<b>17</b>
Principe	17
Mode opératoire	17
Calcul de la concentration	18
<b>6-2-3-Les triglycérides plasmatiques</b>	<b>18</b>
Principe	18
Mode opératoire	19
Calcul de la concentration	20
<b>7-Deuxième partie</b>	<b>21</b>
<b>7-1-Tests de réponse non conditionnée (les tests classiques émotionnelle)</b>	<b>24</b>
<b>7-1-1-Evaluation d'un comportement d'exploration dans</b>	



un contexte stressant : test de l'open-field	<b>24</b>
<b>7-1-2-Evaluation d'un comportement d'anxiété dans le test</b>	
du labyrinthe en croix surélevé (plus maze)	<b>26</b>
<b>7-1-3-Evaluation du comportement d'appétence dans</b>	
le test de la consommation d'eau sucrée	<b>28</b>
<b>8- Prélèvements sanguins</b>	<b>28</b>
<b>9-Analyse statistique des résultats</b>	<b>28</b>
<b>RESULTATS</b>	<b>29</b>
<b>1- Effet de la séparation maternelle sur la croissance pondérale des ratons (g) chez le lot témoin et les lots traités</b>	<b>29</b>
<b>1<sup>ère</sup> PARTIE</b>	<b>30</b>
<b>1-Effet de la séparation maternelle sur le métabolisme glucidique et lipidique</b>	<b>30</b>
<b>1-1-Variation de la concentration du glucose plasmatique en (g/l) chez le lot témoin et les lots traités</b>	<b>30</b>
<b>1-2-Variation de la concentration du cholestérol et les triglycérides plasmatiques en (g/l) chez le lot témoin et les lots traités</b>	<b>31</b>
<b>2<sup>ème</sup> PARTIE</b>	<b>32</b>
<b>1-Effet de la séparation maternelle sur le comportement d'exploration évalué dans le test de l'open-field</b>	<b>32</b>
<b>2-Effet de la séparation maternelle sur le comportement d'anxiété évalué dans le test du labyrinthe en croix surélevé (plus maze)</b>	<b>34</b>
<b>3-Effet de la séparation maternelle sur le comportement d'appétence évalué dans le test de la consommation d'eau sucrée</b>	<b>34</b>
<b>4- Effet de la séparation maternelle sur les paramètres immunitaires</b>	<b>38</b>
<b>DISCUSSION</b>	<b>40</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b>	<b>54</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>56</b>
<b>ANNEXES</b>	
<b>LISTE DES PUBLICATIONS ET DES COMMUNICATIONS</b>	



## INTRODUCTION

Parmi les mammifères supérieurs, c'est le petit être humain qui présente le plus grand décalage entre sa naissance biologique et son éclosion psychique. S'il reçoit, avant même de naître, un flot de sensations inscrivant déjà des engrammes qui deviendront des souvenirs, puis des représentations, si sa manière d'être entraîne déjà des réactions particulières de son environnement dès le début de son existence, s'il a été rêvé et donc généré en tant qu'image avant même de naître, il est tout en confusion et fusion lorsqu'il surgit à la vie et va devoir entamer un long processus de séparation et d'individuation.

Ce n'est que vers les années soixante-dix qu'ont vu le jour des études spécifiques sur la séparation et son impact sur l'enfant (**Alber et al., 2000; Gunnar et Donzella, 2002**). L'accroissement rapide du phénomène a alors donné lieu à une littérature florissante sur le sujet. Dans l'ensemble, les écrits font ressortir que la séparation des parents entraîne inévitablement des répercussions sur l'enfant du fait qu'elle risque d'entraver le développement de sa personnalité et qu'elle perturbe à différents degrés divers aspects de son fonctionnement. Il est également reconnu que les réactions des enfants lors de la séparation de leurs parents varient considérablement en fonction de l'âge (**King et al., 2000 ; King et Bernstein, 2001**). De nombreuses études se sont intéressées aux différentes perturbations qui peuvent menacer l'organisme et il a été démontré que les réponses aux agressions sont très variables d'un individu à un autre et dépendent du type, de l'intensité et de la nature de l'agent stressant (**De Boer et al., 1990**).

**Le stress** en général est un fait naturel. Il affecte tous les organismes, de la simple bactérie et du protozoaire, aux complexes eucaryotes comme les mammifères. Dans les organismes unicellulaires et dans chacune des cellules de notre corps, des molécules se sont développées pour assurer une série de systèmes d'urgence qui protègent les fonctions cellulaires-clés des attaques externes inattendues et de leurs conséquences internes. (**Quitkin et al., 1996**)

Dans les organismes complexes, comme le nôtre, les systèmes de stress ont évolué en tant que processus hautement sophistiqués pour nous permettre de gérer les défis



hors de l'ordinaire qui peuvent nous affliger. Ces processus utilisent les mécanismes de protection cellulaire comme des blocs de construction dans un réseau plus vaste de protection contre le stress. (**Reul et al., 1993; Yau et al., 2002**)

Les travaux de recherche se sont multipliés et ont suivi schématiquement deux axes de recherche. Le premier s'est focalisé sur les aspects neurobiologiques du stress et le second sur les dimensions psychologiques selon trois approches : psychosociale, cognitive, et psychobiologique (**Boudarene et al., 1997**). Les études neurobiologiques ont permis de préciser la nature et le rôle des systèmes hormonaux et neuronaux qui sont impliqués dans la mise en œuvre et la régulation du stress. Tandis que les travaux psychologiques se sont intéressés aux aspects relationnels entre la réaction et l'agression. Ainsi, le concept du stress s'est élargi aux agressions psychologiques et sociales. Certains auteurs remarquent l'influence de l'environnement social comme étant le facteur déterminant les caractéristiques des réactions de stress. La réaction du stress n'est donc plus considérée comme une simple réponse limitée dans le temps mais devient une réponse adaptative, dynamique et qui est à la fois biologique et comportementale par la mise en jeu de l'axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien appelé axe corticotrope (**Mildred et al., 1994 ; Kasdallah et al., 2005 ; Antonijevic et al., 2000 ; Husum et al., 2002 ; Murakami et al., 2005**).

C'est ainsi que, chez l'animal comme chez l'homme, l'exposition périnatale, c'est-à-dire pré- ou post-natale, à un environnement stressant peut créer une fragilisation à long terme et favoriser l'émergence de troubles du comportement (**Bifulco et al., 1992**).

Chez l'homme, les facteurs génétiques et environnementaux influent sur la susceptibilité à de nombreuses maladies, comme des maladies cardio-vasculaires, le diabète de type II (**Russak et Schwartz, 1997**). Notamment, des perturbations relationnelles importantes entre la mère et le nouveau-né (longue séparation non compensé dès les premiers jours de la vie, manque de soins, affect négatif de la mère ..... ) jouent un rôle important pour le développement harmonieux et l'équilibre ultérieur de cet individu. Des perturbations de ces relations peuvent fragiliser l'individu et entraîner des maladies graves, telles que des psychoses, des troubles



comportementaux, se traduisant par des maladies anxieuses, des syndromes dépressifs, des conduites addictives (**Bifulco et al., 1992 ; Canetti et al., 1997**).

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. 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 vie chez le rat (**Bayer et al., 1993**).

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 (**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 réponse de 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**)

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 (**Hall, 1998 ; Anisman *et al.*, 1998**).

Il existe plusieurs modèles de séparation mère/nouveau-né chez le rat. Ils diffèrent essentiellement par le temps de séparation (quinze minutes, trois heures, six heures, vingt-quatre 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 ; Vallee *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**). En revanche, des durées de séparation plus longues (supérieures ou égales à trois heures) augmentent les réponses comportementales et l'activité de l'axe HHS en réponse au stress (**Meaney *et al.*, 1989 ; Kuhn *et al.*, 1990 ; Francis *et al.*, 1999**). Une séparation maternelle d'une durée supérieure ou égale à trois heures pendant les deux premières semaines de la vie augmente la réponse au stress et diminue la sensibilité de l'axe HHS au rétrocontrôle négatif normalement exercé par les glucocorticoïdes sur celui-ci (**Plotsky et Meaney, 1993 ; Ladd *et al.*, 1996 ; De Kloet *et al.*, 1996 ; Helga *et al.*, 1998**). Il est intéressant de constater que l'on retrouve ces mêmes altérations fonctionnelles dans la dépression chez l'homme (**Francis *et al.*, 1999**). Il est également observé une diminution des récepteurs aux glucocorticoïdes dans le noyau



paraventriculaire des rats adultes, et une augmentation significative de l'ARNm (acide ribonucléique messenger) du CRH (corticotropin-releasing hormone). Ces animaux semblent garder des altérations permanentes de la régulation de l'axe HHS et de leur système dopaminergique (**Hansen et al., 1993 ; Rots et al., 1996**). Une séparation maternelle de 24 heures sur des rats âgés de 12 jours entraîne une densité accrue des sites de liaison du CRH dans les structures limbiques (le système limbique intervient dans le comportement, la mémoire, l'humeur, la vigilance, les émotions). Ces modifications reflèteraient une sensibilisation au stress (**Anisman et al., 1998**). De nombreuses études ont rapporté un lien entre le comportement de la mère et les mécanismes dopaminergiques centraux (**Hansen et al., 1993**). La privation maternelle entraîne des altérations des systèmes dopaminergiques en fonction de la durée de séparation et de l'âge des animaux étudiés (**Kehoe et al., 1998 ; Hall et al., 1999**). Une séparation maternelle de six heures entre le cinquième et le sixième jour de vie entraîne une réponse comportementale diminuée aux amphétamines et aux agonistes dopaminergiques, malgré une augmentation apparente de la fonction dopaminergique dans le noyau accumbens (**Hall et al., 1999**). Ainsi, les effets chez l'adulte d'une séparation maternelle au cours d'une période d'intense plasticité neuronale peuvent être différents selon le protocole utilisé. La majorité des travaux ont étudié les modifications permanentes de l'axe HHS. Une longue séparation provoque une augmentation de l'anxiété et une diminution en amplitude et en durée des taux d'ACTH (adrenocorticotropin hormone ou hormone adrénocorticotrope) et de corticostérone plasmatiques en réponse au stress, tandis qu'une séparation courte provoque, chez l'adulte, une diminution des réponses comportementale et endocrine au stress.

Les données de la littérature montrent en effet que le système opioïdergique est très impliqué dans la mise en place des relations entre la mère et l'enfant. Les opioïdes entraînent des effets renforçants dès le plus jeune âge. L'allaitement, qui induit la libération d'opioïdes, représenterait une récompense pour le petit, et favoriserait les associations entre la mère, la tétée, et l'état de récompense (**Agmo et al., 1995 ; Agmo et al., 1997**). La séparation maternelle pourrait donc altérer l'association mère/état de récompense, et le fonctionnement du système opioïdergique. Il était également intéressant d'étudier le système



cholécystokinérgique, car de nombreuses études pharmacologiques ont conduit à présenter ce système comme modulateur et antagoniste physiologique du système opioïdérique. La cholécystokinine (CCK) est un neuropeptide qui, selon le type de récepteur par l'intermédiaire duquel il agit (CCK1 ou CCK2), est impliqué dans la satiété, le nociception, l'anxiété, et les processus cognitifs (mémoire, apprentissage, état de vigilance) (Crawley et Corwin, 1994). Elle intervient dans la digestion, le métabolisme, et la croissance de l'enfant en développement, et semble aussi participer aux aspects non nutritifs des relations entre l'enfant en développement et sa mère (Uvnas-Moberg, 1989). L'administration de CCK diminue les vocalisations ultrasonores induites par la séparation maternelle, et l'administration d'un antagoniste sélectif du récepteur CCK1 produit l'effet opposé, suggérant ainsi que les antagonistes du récepteur CCK1 altèrent les interactions entre un jeune rat et sa mère (Weller et Dubson, 1998).

Les tests utilisés pour évaluer l'état anxieux chez les rongeurs (anxiété d'état) sont classés en deux catégories : les tests basés sur des aversions naturelles (ou tests non conditionnés) et les tests basés sur des aversions apprises (ou tests conditionnés). Les tests non conditionnés sont basés sur la réaction innée et spontanée de l'animal face à une situation anxiogène alors que les tests conditionnés nécessitent une phase d'apprentissage ou de conditionnement durant laquelle un stimulus neutre (protocoles de peur conditionnée) ou récompensant (nourriture, boisson ou drogue ; protocoles de conflit) est associé à un stimulus aversif (choc électrique par exemple).

Les principaux tests conditionnés et inconditionnés utilisés chez les rongeurs pour évaluer un état anxieux sont récapitulés (**Tableau1**). Dans ce même tableau sont aussi présentés certains des modèles animaux créés par manipulations génétiques ou environnementales afin de produire un état d'anxiété pathologique (anxiété de trait ou modèles de troubles anxieux).



**Tableau 1 :** Représentation des différents tests et modèles d'anxiété développés chez les rongeurs (Sartori *et al.*, 2011).

Tests d'évaluation de l'état anxieux aigu (anxiété d'état).	Modèles d'anxiété chronique exagérée (anxiété de trait).
<p><b>Tests non conditionnés</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Tests basés sur le conflit approche- évitement:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Open-field</li> <li>– Boîte claire/obscur</li> <li>– Labyrinthe en croix surélevé</li> <li>– Confinement dans un bras ouvert</li> </ul> </li> <li>• <i>Tests sociaux:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Interactions sociales</li> <li>– Compétitions sociales</li> </ul> </li> <li>• <i>Autres:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Marbleburying</li> <li>– Hyponéophagie</li> <li>– Vocalisations induites par le stress</li> <li>– Hyperthermie induite par le stress</li> </ul> </li> </ul> <p><b>Tests conditionnés</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Tests basés sur le conflit:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Test de Geller-Seifter</li> <li>– Test de Vogel</li> </ul> </li> <li>• Test d'aversion de place conditionnée</li> <li>• <i>Autres:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Peur conditionnée</li> <li>– Enfouissement défensif</li> </ul> </li> </ul>	<p><b>Anxiété innée</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Différences de souches</i></li> <li>• <i>Différences interindividuelles</i></li> <li>• <i>Modèles génétiques</i></li> </ul> <p><b>Manipulations environnementales</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Elevage en conditions défavorables</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Séparation maternelle</li> <li>– Sevrage précoce</li> <li>– Isolement social</li> </ul> </li> <li>• <i>Exposition chronique au stress</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Stress chronique léger</li> <li>– Stress chronique social</li> </ul> </li> <li>• <i>Modèles nutritionnels</i></li> </ul> <p>Déficiences en magnésium</p> <p><b>Modèles pharmacologiques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Traitement chronique à la corticostéroïde</i></li> <li>• <i>Sevrage à une drogue</i></li> </ul> <p><b>Etat d'anxiété aigu</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Modèle pharmacologique</i></li> </ul>



L'objectif de ce travail de thèse est de répondre à certaines questions suspendu dans le domaine du stress de séparation mère/nouveau-né (5min, 30min et 1h) du troisième au quatorzième jour de vie n'a pour l'instant fait l'objet que d'études sur les rats devenus adultes. Le but est de répondre à l'ensemble de ces questions:

A quel moment apparaissent les effets induits par la séparation maternelle ? Sont-ils visibles dès la fin de la séparation ? Ou bien sont-ils déclenchés au moment de l'acquisition de la maturité sexuelle, à l'âge juvénile ? Faut-il que les animaux soient devenus complètement adultes ? Si des modifications existent à ces âges plus jeunes, sont-elles identiques ou différentes de celles observées à l'âge adulte ? Concernent-elles les mêmes comportements, les mêmes systèmes de neurotransmission ? Se manifestent-elles de la même façon ?

Pour répondre à l'ensemble de ces questions, nous avons choisi dans :

- Un premier temps, de peser tous les animaux pendant la période de séparation (J3-J14) de vie.

- Ainsi, après avoir suivi le protocole habituel de séparation du laboratoire, nous avons étudié les animaux à l'âge juvénile (la période se situant juste après la fin de la séparation, c'est-à-dire à partir du quinzième jour de vie), et d'en étudier les paramètres biochimiques du sang par le dosage du glucose, cholestérol et les triglycérides.

- Puis nous avons analysé le comportement des rats à l'âge adultes, grâce à différents tests. Nous avons étudié successivement:

- Le comportement d'exploration dans un contexte stressant, dans le test de l'open-field.
- Le comportement d'anxiété dans le test du labyrinthe en croix surélevé (Plus maze test).
- Le comportement d'appétence dans le test de la consommation d'eau sucrée.
- Les variations immunitaires appréciées à travers le taux des : globules blancs, lymphocytes, monocytes et même les plaquettes.



## MATERIEL ET METHODES

### 1- Elevage

Les animaux utilisés dans notre expérimentation sont des rats blancs adultes Ratus ratus de la souche Wistar, classe des mammifères nocturnes de l'ordre des rongeurs provenant d'institut Pasteur d'Alger et pèsent  $250 \pm 50$ g chacun. La gestation dure 20-23 jours et les portées sont de 8-14 jeunes. Ceux-ci pèsent 5-7g, ils sont glabres et aveugles et ouvrent les yeux entre le 12<sup>ème</sup> et le 16<sup>ème</sup> jour ; Le pelage se développe complètement aux 10<sup>ème</sup> jours. Les jeunes peuvent être séparés de la mère à partir des 20<sup>ème</sup> jours environ.

Les rats sont pubères entre 50 et 60 jours après la naissance chez les deux sexes, la descente des testicules se produit bien avant la puberté, habituellement autour de l'âge de sevrage. Un rat en santé peut vivre de 2 à 3 ans avec de sensibles variations dépendant de la souche, du sexe, des conditions environnementales et autres variables. Les animaux se reconnaissent entre eux par l'odorat. Les rats également marquent leurs territoires avec leur urine.

Dès leurs arrivées, les animaux sont élevés dans des cages de polyéthylène faciles à nettoyer ; ces dernières sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois que l'on change tous les 2 jours. En raison de l'extrême susceptibilité de l'animal à toutes sortes d'agressions, nous avons attaché la plus grande importance à l'environnement et aux conditions de manipulations journalières. Elles ont été réalisées par le même expérimentateur pour minimiser l'état de stress (**Ader et Friedman, 1965**).

### 2- Conditions d'élevage

L'expérimentation a lieu après une période d'acclimatation de 20 jours pendant laquelle les rats soumis à une température de 25°C, une hygrométrie de 50% et de la photopériode naturelle. L'aliment distribué se présente sous forme de pellettes. L'eau de boisson est fournie dans des biberons. La nourriture et l'eau sont fournies ad libitum, ceci permet de répondre aux besoins de l'animal.



### 3-L'approche expérimentale

L'ensemble des traitements et des protocoles expérimentaux ont été réalisés en conformité avec les principes et recommandations de santé animale. (**NIH publication No. 85-23 révisée 1985**).

### 4- Animaux et 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 comportement et les systèmes de neurotransmission, dans de nombreuses espèces (**Hall, 1998 ; Anisman *et al.*, 1998**)

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 (**Hall, 1998**).

Dix femelles gestantes *Ratus ratus* de la souche Wistar ont été hébergées individuellement.

Le jour de la naissance des petits a été nommé J0. Le protocole de séparation maternelle a commencé dès J3.

A J3, on a effectué des lots de 8 à 14 ratons, seuls les mâles ont été conservés, qui ont été attribués à des mères de façon aléatoire de façon à ce que toutes les mères aient le même nombre de petits (n=8), et répartis en quatre groupes expérimentaux, toujours de façon aléatoire :



-Le lot Témoin (T) : les rats non séparés (n=8).

-Le lot 5 : les rats séparés pendant 5 mn (n=8).

-Le lot 30 : les rats séparés pendant 30 mn (n=8).

-Le lot 1 : les rats séparés pendant une heure (n=8).

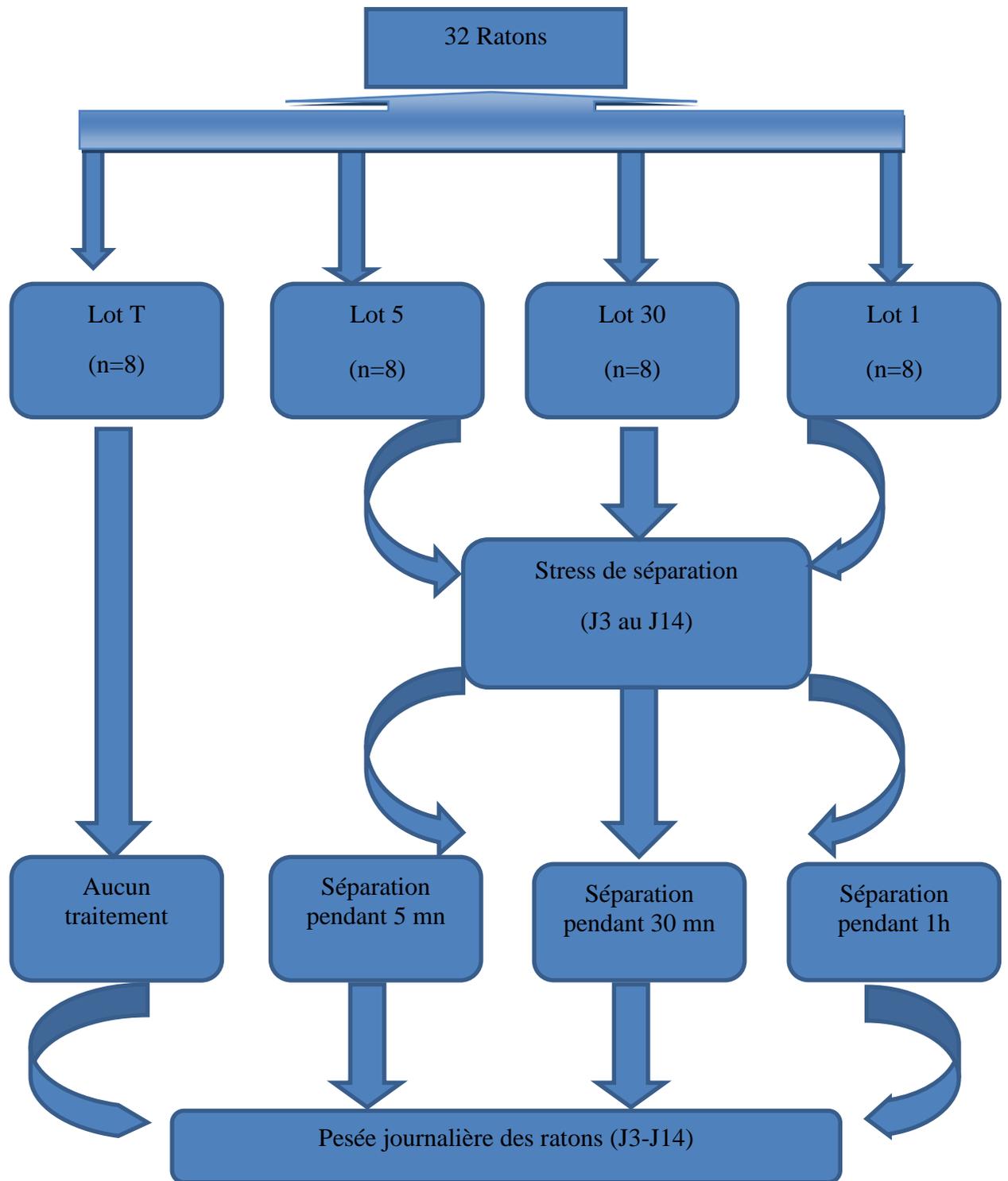
Le groupe des animaux séparés a été traité de la façon suivante : de J3 à J14, chaque mère était tout d'abord retirée de la cage d'habitation et à sa portée, et placée, le temps de la séparation qui se déroulait à 10h00 quotidiennement, dans une autre cage avec eau et nourriture (cette cage resta la même pendant les douze jours de séparation quotidienne de 5 mn, 30 mn et une heure). Chaque nouveau-né était alors placé dans leur cage d'habitation pendant la période de séparation.

Le groupe des animaux T n'a pas du tout été manipulé pendant les 12 jours, excepté au moment des nettoyages des cages.

Au moment de traitement (J3 au J14), nous allons peser les rats de chaque lot quotidiennement avant la séparation chez les lots 5, 30, 1 et même le lot T.



## 5-Lotissement des animaux



**Figure 1 :** Protocole expérimentale et traitement des ratons des lots (T, 5, 30 et 1)



## 6-Première partie

L'objectif visé dans cette première partie est la confirmation de l'hypothèse relative à l'effet de séparation consistant en une séparation maternelle quotidienne de 5 mn, 30 mn et une heure de leur troisième à leur quatorzième jour de vie de rats à l'âge juvénile sur les paramètres biochimiques du sang, c'est la période se situant juste après la fin de la séparation, c'est-à-dire à partir du vingtième jour de vie.

Pour cela nous avons utilisé le protocole suivant :

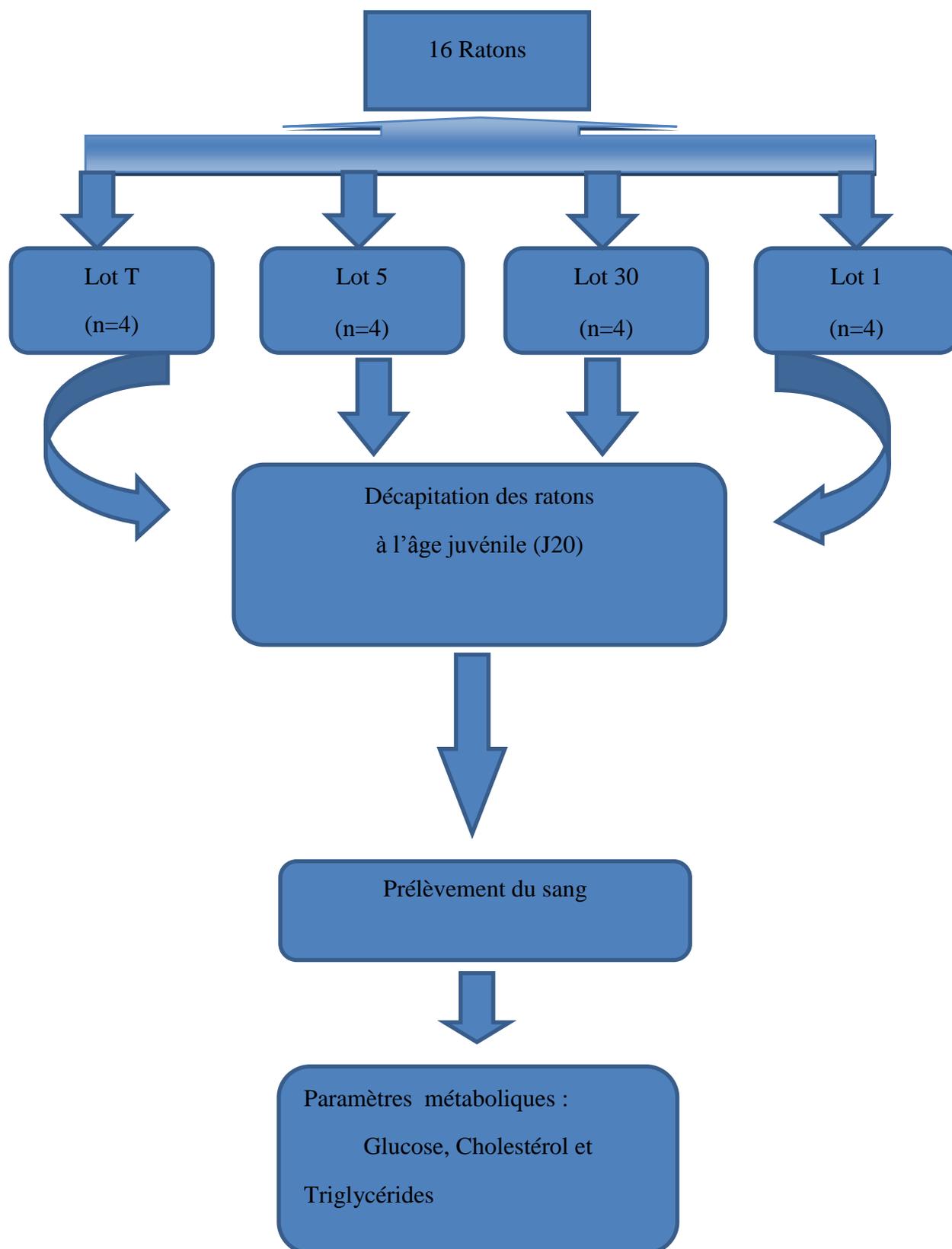
Au moment de décapitation 4 rats (n=4) ont été choisis dans chaque lot (T, 5, 30, 1), après avoir été pesé entre 16-21 g.

### 6-1-Prélèvements sanguins

Les prélèvements sanguins ont été réalisés après sacrifice des animaux (**Aubert *et al.*, 1980**). Le sang est collecté dans des tubes héparinés sous glace et d'emblée centrifugé à 5000 tours / minute pendant 15 minutes. Le plasma obtenu est aliquoté dans des tubes eppendorf puis conservé au congélateur à une température de - 20°C pour les dosages du glucose, cholestérol et triglycérides (**Figure2**).



**Figure 2** : Décapitation et prélèvement sanguin.



**Figure 3 : 1<sup>ère</sup> partie : Traitement des rats à l'âge juvénile.**

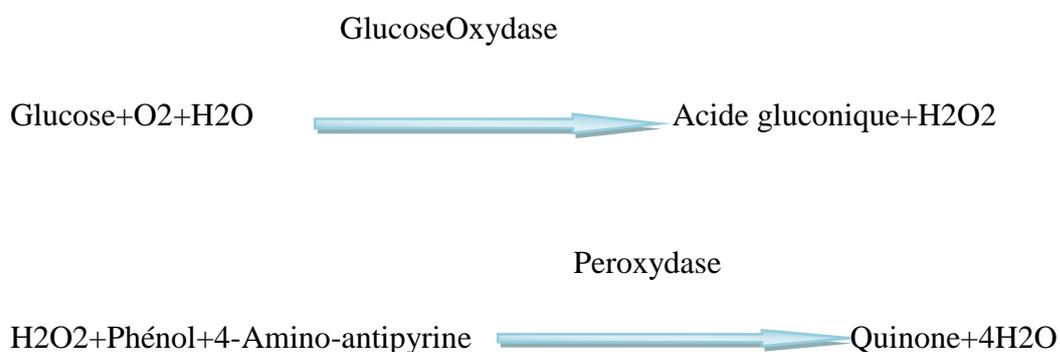


## 6-2-Dosages métaboliques

### 6-2-1 Le glucose plasmatique

- **Principe**

Le dosage du glucose plasmatique a été effectué par la méthode de glucose oxydase selon **(Barham et Trinder, 1972)**. Le glucose est oxydé en acide gluconique et l'eau oxygénée libérée, réagit sous l'action d'une peroxydase avec le phénol et l'4-amino-antipyrine, pour former le quinonéimine qui est un complexe coloré en rose, l'intensité de la coloration étant proportionnelle à la concentration du glucose dans l'échantillon.



- **Mode opératoire**

Longueur d'onde : .....505nm (492-550)

Température : .....37°C (20-25°C)

Cuve : .....1cm d'épaisseur.

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.



	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	--	10 µl	--
Echantillon	--	--	10 µl
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml

On mélange à l'aide d'un agitateur et on laisse incuber pendant 10 minutes à 37°. La lecture de la densité optique (DO) se fait à 505 nm contre le blanc réactif. La coloration est stable pendant 30 minutes à l'abri de la lumière. (**Figure4**)



**Figure 4** : Les étapes du dosage du glucose.

- **Calcul de la concentration**

$$\text{Glucose} = \frac{D.O_{\text{Echantillon}}}{D.O_{\text{Standard}}} \times n$$

$$\text{mg /dl} \quad n= 100$$

$$\text{g /l} \quad n=1$$

$$\text{mmol/l} \quad n=5, 56$$



## 6-2-2- Le cholestérol plasmatique

- **Principe**

Le cholestérol et ses esters sont libérés à partir des lipoprotéines par les détergents. La cholestérol estérase hydrolyse les esters et le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) est formé dans la réaction d'oxydation enzymatique du cholestérol sous l'action du cholestérol oxydase, ce dernier réagit avec le phénol pour produire le quinonéimine selon les réactions ci-dessous (**Thomas et Labor, 1992**).

Détermination enzymatique selon les réactions suivant

Cholestérol estérase



Cholesterol oxydase



Peroxydase



- **Mode opératoire**

Longueur d'onde : .....546nm (500-550)

Température : .....37°C

Cuve : .....1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.



	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	--	10 µl	--
Echantillon	--	--	10 µl
Réactif de travail	1ml	1 ml	1ml

On mélange à l'aide d'un vortex et on laisse incuber pendant dix minutes à 37°. On lit la densité optique DO à 546 nm contre le blanc réactif. La coloration est stable pendant trente minutes à l'abri de la lumière.

- **Calcul de la concentration**

$$\text{Cholestérol} = \frac{D.O.Echantillon}{D.O.Standard} \times n$$

mg /dl :                    n= 200

g /l :                        n=2

mmol /l :                  n=5 ,17

### 6-2-3-Les triglycérides plasmatiques

- **Principe**

Les triglycérides sont enzymatiquement hydrolysés en glycérol et en acides gras libres par la lipoprotéine-lipase. Le glycérol sous l'effet du glycérol kinase forme le glycérol – 3-phosphate qui est oxydé en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> selon les quatre réactions suivantes: (**Fossati, 1982**).



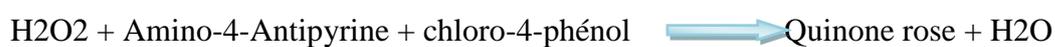
## Lipoprotéine lipase

Glycérokinase, Mg<sup>++</sup>

## Glycérol -3- Phosphate oxydase



## Péroxydase



- **Mode opératoire**

Longueur d'onde : ..... 546nm (490-550)

Température: ..... 37°C

Cuve: ..... 1cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	--	10 µl	--
Echantillon	--	--	10 µl
Réactif de travail	1ml	1 ml	1ml



On mélange à l'aide d'un agitateur et on laisse incuber 10 minutes à 37°. La lecture de la densité optique « DO » est effectuée à 546 nm contre le blanc réactif. La coloration est stable pendant 60 minutes à l'abri de la lumière.

- **Calcul de la concentration**

$$\text{Triglycérides} = \frac{D.O_{\text{Echantillon}}}{D.O_{\text{Standard}}} \times n$$

mg /dl:                    n= 200

g /l:                        n=2

mmol /l:                  n=2.28



## 7-Deuxième partie

Le modèle de séparation mère/nouveau-né (5, 30, 1) du troisième au quatorzième jour de vie n'a concerné que les rats devenus adultes. La séparation maternelle néonatale précoce entraîne, à l'âge adulte, des altérations du comportement, et des dysfonctionnements des systèmes de neurotransmission.

Ainsi, notre objectif dans la 2<sup>ème</sup> partie est d'étudier et d'analyser le comportement des rats à l'âge adulte, grâce à différents tests. Nous avons étudié successivement :

- le comportement d'exploration dans un contexte stressant, dans le test de l'open-field.
- le comportement d'anxiété dans le test du labyrinthe en croix surélevé (plus maze test).
- le comportement d'appétence dans le test de la consommation d'eau sucrée.

Nous avons choisi dans cette partie 4 rats dans chaque lot soit traité, soit non traité.

A partir de J14 à J21, les rats sont restés avec leur mère respective. A J21, les animaux ont dès lors été hébergés, par lots de quatre frères, dans des cages de polyéthylène, dans des conditions standards, avec eau et nourriture *ad libitum*

Plus tard, ces rats ont été testés à différents tests de comportements à l'âge adulte J70 (la dixième semaine d'âge). De J71 à J93 inclus, pour divers tests comportementaux. Ceux-ci ont été réalisés dans un certain ordre, afin d'aller du moins stressant au plus stressant (**Olivier *et al.*, 2003**).

Le tableau 5 récapitule le planning suivi pour l'ensemble des manipulations effectuées sur le lot de rats étudié.



**Tableau 5** : Récapitulatif des évènements survenus dans la vie des rats étudiés, en fonction de leur âge

Jour	Evénement	
J0	-Mise-bas des femelles gestantes -Naissance des petits rats	
J3 À J14	<b>1-Lots :</b> <b>T</b> : Aucune manipulation <b>5</b> : Séparation pendant 5 mn <b>30</b> : Séparation pendant 30 mn <b>1</b> : Séparation pendant une heure <b>2-Pesée journalière de tous les rats</b>	
J14 À J21	les rats sont restés avec leur mère	J20 : Décapitation des rats (les moitiés des rats) →Dosage métabolique
J21	4 rats de chaque lot été hébergé seul	
J71 À J73	Test de l'open-field	Tests comportementaux effectués sur les rats adultes
J74 À J76	Plus maze test	
J79 À 93	Test de la consommation d'eau sucrée	
J94	Décapitation des rats	Prélèvement du sang (FNS)

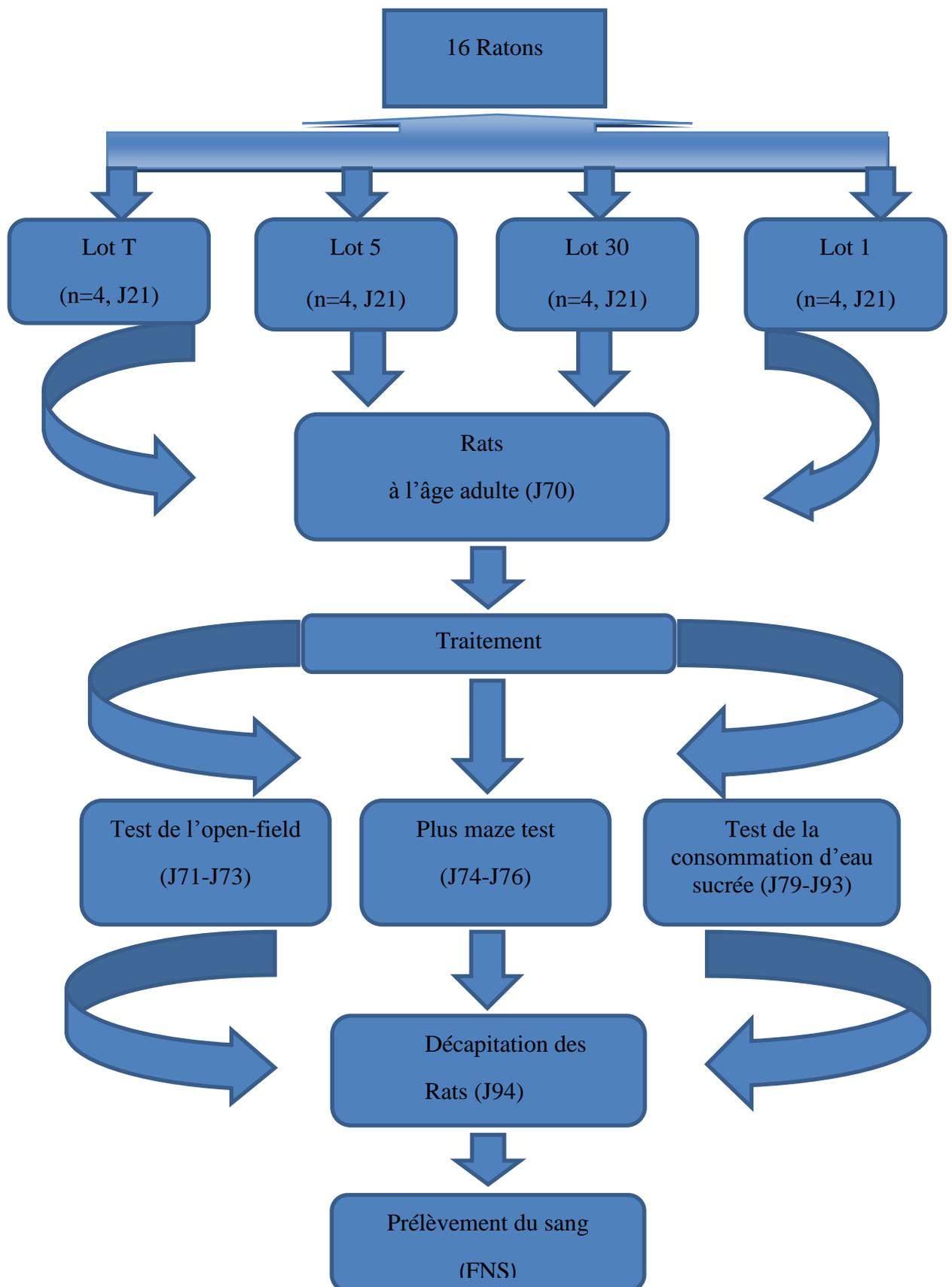


Figure 5: 2<sup>ème</sup> partie : Traitement des rats à l'âge adulte.



## 7-1-Tests de réponse non conditionnée (les tests classiques émotionnels)

La principale catégorie de ces tests est celles des tests d'exploration. De façon générale, ces tests consistent à confronter l'animal à une situation nouvelle provoquant des réponses comportementales non conditionnées. L'animal peut être confronté de façon forcée à cette situation. C'est le cas du labyrinthe en croix surélevé et l'open field, (**Berlyne, 1950**).

### 7-1-1-Evaluation d'un comportement d'exploration dans un contexte stressant : test de l'open-field (Figure 6)

L'openfield utilisé était une large boîte généralement de forme carrée, rectangulaire ou de forme circulaire (35 cm de long, 25 cm de large et 35cm de haut).L'openfield est également souvent utilisé pour évaluer l'anxiété, y compris par des mesures supplémentaires de: la défécation, le temps passé au centre si le champ, et les cinq premières minutes d'activité (**Wahlsten et al., 2006**)

C'est le plus courant. Il consiste à placer l'animal dans un environnement nouveau inconnu, pauvre en stimulation, ne comportant aucune possibilité d'abri ou de fuite.

L'animal est alors en situation d'isolement sociale, ce qui en soit représenté déjà en situation de stress, ou en situation éthologique. Le premier à l'avoir utilisé est **Hall en 1934**.lors de travaux sur les rongeurs.

Chaque rat était initialement placé dans un des quatre coins de l'openfield, la tête orientée vers le coin. Son comportement était observé pendant 5 minutes. Cinq paramètres étaient mesurés par l'expérimentateur : (**Careau et al., 2012**)

1-temps passé dans le centre exprimé en secondes.

2- temps passé dans le préféré exprimé en secondes.

3-temps de redressements en secondes (animal positionné sur ses deux pattes, postérieures, droit, en équilibre dans le vide ou contre une paroi).

4-le nombre total de miction.

5- le nombre total de défécations.

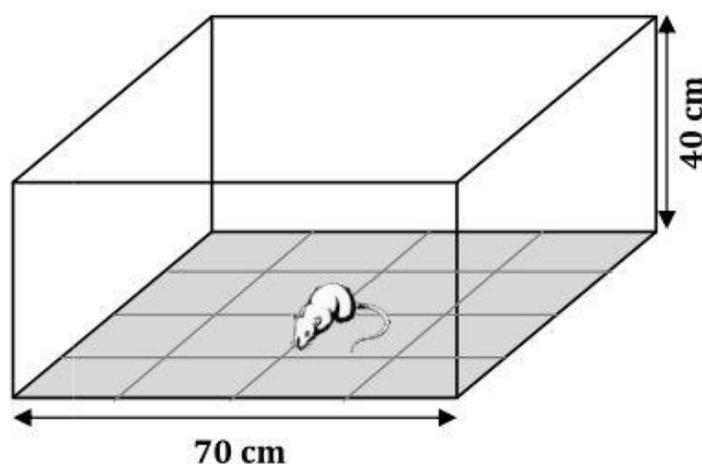


Ce test permet de prédire une activité de type anxiolytique. Les variables mesurées dans l'open field sont l'activité ambulatoire totale, le nombre d'entrées et le temps passé dans l'aire centrale (aire virtuelle représenté par un carré de 12,3cm) ainsi que les redressements (**Dulawa et al., 2004**).

Le nombre de partie périphérique, et le nombre d'entrée dans la partie centrale, ces deux indices cumulés nous donnent l'indice de locomotion totale dans le dispositif (l'indice de réactivité émotionnelle).

Le nombre défécation et le temps d'immobilité, ces paramètre est a notre sens intéressant pour évaluer la réactivité émotionnelle puisqu'il représente la principale réaction défensive chez les lignées des rats de laboratoire, comme souligne (**denenberg, 1969**), c'est un paramètre qui caractérise initialement tout animal placé dans une situation menaçante ou potentiellement menaçante, avant la locomotion ou tout autre variable.

Les expériences ont été réalisées entre 10h et 12h pendant 3 jours (J71 à J73). Quatre rats adultes T, 5, 30et 1 ont été testés.



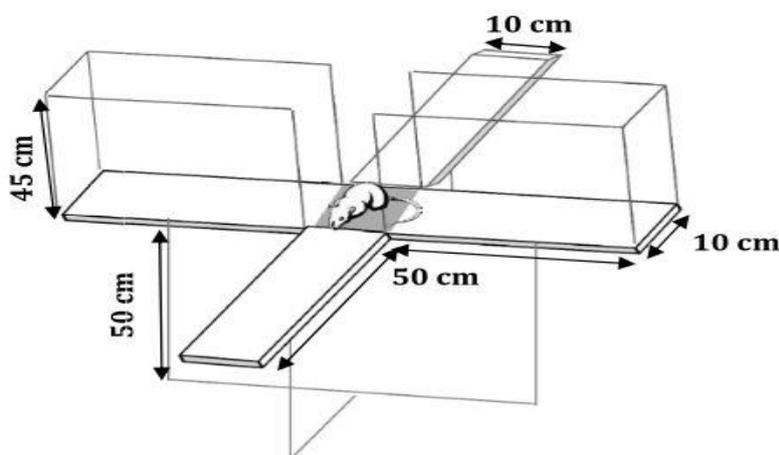
**Figure 6 :** Illustration schématique du test du champ ouvert (open field) (**Hall, 1934**).



### 7-1-2-Evaluation d'un comportement d'anxiété dans le test du labyrinthe en croix surélevé (plus maze) (Calenco-Choukroun *et al.*, 1991)

Ce test est basé sur la peur du vide.

Le labyrinthe en croix surélevé utilisé était un dispositif en polyéthylène, composé de quatre bras mesurant chacun 50 cm de long et 10 cm de large, et se faisant face. Deux des bras, nommés « bras fermés » (notés BF), et opposés, étaient cloîtrés par trois murs hauts de 40 cm. Les deux autres bras, nommés « bras ouverts » (notés BO), également opposés, étaient totalement ouverts, et constituent la zone aversive du système (un rat « normal » passe 70 à 80% du temps passé dans le labyrinthe dans les BF, et effectue 70 à 80% de ses visites dans les différents bras dans les BF). Le labyrinthe se situait à une hauteur de 50 cm au-dessus du sol (**Figure 7**).



**Figure 7 :** Illustration schématique du test du labyrinthe en croix surélevée (Elevated plus-maze) (Handley et Mithami, 1984).

Dans le test, chaque rat était initialement positionné au centre du labyrinthe situé à l'intersection des quatre bras, la tête orientée vers l'un des bras ouverts ; il avait libre accès aux quatre bras pendant une durée de 5 min. Le labyrinthe était disposé dans une pièce isolée du bruit. L'expérimentateur visualisait le comportement du rat de l'extérieur de la pièce, grâce à une caméra vidéo ; il relevait les nombres de visites et



temps passés respectivement dans les BO et dans les BF ; une visite était comptabilisée lorsque le rat avait les quatre pattes dans un bras (**Olivier *et al.*, 2003**).

Les résultats ont été exprimés en :

1-nombre d'entrée dans les bras ouvert et les bras fermés.

2-nombre de redressement.

3- temps passés (s) dans le centre.

4- temps passés (s) dans les bras ouverts (BO) et bras fermés (BF).

5- temps de redressement(s).

6- nombre de défécations.

7-nombre de miction (urine).

Parmi les variables classiques, nous avons mesuré le temps passé dans les différentes parties du dispositif, les nombres d'entrées dans les bras fermes et dans les bras ouverts. A partir de ces données, nous avons calculé le nombre totale d'entrées dans les bras, de plus, pour obtenir une mesure de la locomotion totale plus précise. (**Olivier *et al.*, 2003 ; Weiss *et al.*, 1998**).

Le nombre d'entrées et le temps passé dans les bras ouverts sont généralement calculés par rapport au nombre d'entrées totale au temps totale dans les bras (ouverts, fermes) afin de rendre compte de « l'anxiété » indépendamment de la locomotion (**pellow *et al.*, 1985**).

Les expériences ont été réalisées entre 10h et 12h pendant 3 jours (J74 à J76). Quatre rats adultes T, 5, 30 et 1 ont été testés.



### **7-1-3-Evaluation du comportement d'appétence dans le test de la consommation d'eau sucrée\_ (Lamouraux, 2001)**

Le Processus de test de la consommation d'eau sucrée est le suivant:

Les animaux étaient placés dans des cages individuelles, sans eau ni nourriture, pour une durée de 20 heures (J78).Le lendemain (à j79, un biberon standard, contenant soit de l'eau (pour le lot d'animaux témoins, 5, 30, 1), soit une solution d'eau sucrée (à la concentration de 40mg de sucre/ L d'eau), leur était mis à disposition pour une durée de 20 heure pendant 15jours ( J79 à J93), on mesure la quantité d'eau dans les biberons avant et après la consommation , après quoi les rats étaient remis ensemble. afin d'évaluer les quantités respectives bues.

A chaque fois, la consommation de liquide (en ml) se déroulait entre 10h et 12h pendant 15 jours (J79 à J93). Quatre rats adultes T, 5, 30et 1 ont été testés.

### **8- Prélèvements sanguins**

A J94, les prélèvements sanguins ont été effectués par sacrifice de l'animal. On prélève de sang dans des tubes EDTA pour faire l'analyse de FNS (L'hémogramme), L'hémogramme, ou hémato gramme, est une étude quantitative et qualitative des différents éléments cellulaires du sang : les globules blancs (ou leucocytes), les globules rouges (ou hématies) et les plaquettes sanguines. Il est souvent associé à la Numération de la Formule Sanguine qui est la partie qualitative (et non quantitative) de l'hémogramme. (Bléyééré *et al.*, 2007 ; Silva *et al.*, 2007).

### **9-Analyse statistique des résultats**

Les résultats expérimentaux sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  écart-type ( $m \pm s$ ).La significativité des résultats est estimée par une analyse de variance à un critère de classification (ANOVA). Les résultats obtenus exprimés par une autre analyse **Dunett** (un test qui compare les moyenne testés une à une par rapport au témoin).La différence entre les groupes expérimentaux est considérée comme significative pour  $p < 0,05$ .



## RESULTATS

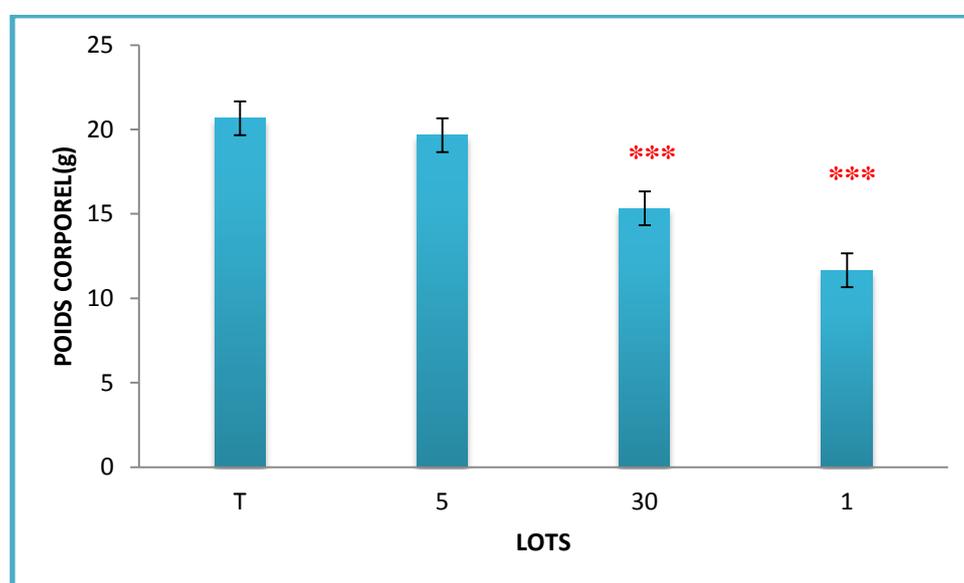
A la fin des deux modes expérimentaux (l'âge juvéniles et l'âge adultes) du stress de séparation chez des rats males Wistar, on remarque une perturbation sur :

- le poids corporel (g) des ratons pendant le traitement (l'âge juvéniles).
- le métabolisme glucidique et lipidique après le traitement (l'âge juvénile).
- le comportement des rats à l'âge adulte, grâce à différents tests (test de l'open-field, plus maze test et le test de la consommation d'eau sucrée).
- la variation immunitaire des rats à l'âge adulte, grâce à le taux des : globules blancs, lymphocytes, monocytes et même les plaquettes.

### 1- Effet de la séparation maternelle sur la croissance pondérale des ratons (g) chez le lot témoin et les lots traités

Tous les ratons mâles des trois groupes d'animaux (5, 30 et 1) montrent une diminution très hautement significative ( $f=155,00$  ;  $p<0,001$ ) par rapport au témoin entre le J3 à J14.

L'analyse de Dunett exprime qu'il n'y avait pas de différence significative entre le lot 5 et le lot témoin. (**Tableau 6, figure 8**).



**Figure 8:** Variation du poids corporel (g) chez le lot témoin et les lots stressés par séparation. (m±s, n= 8).

$p<0,001=***$  : T vs 30, 1.

ns : T vs 5.



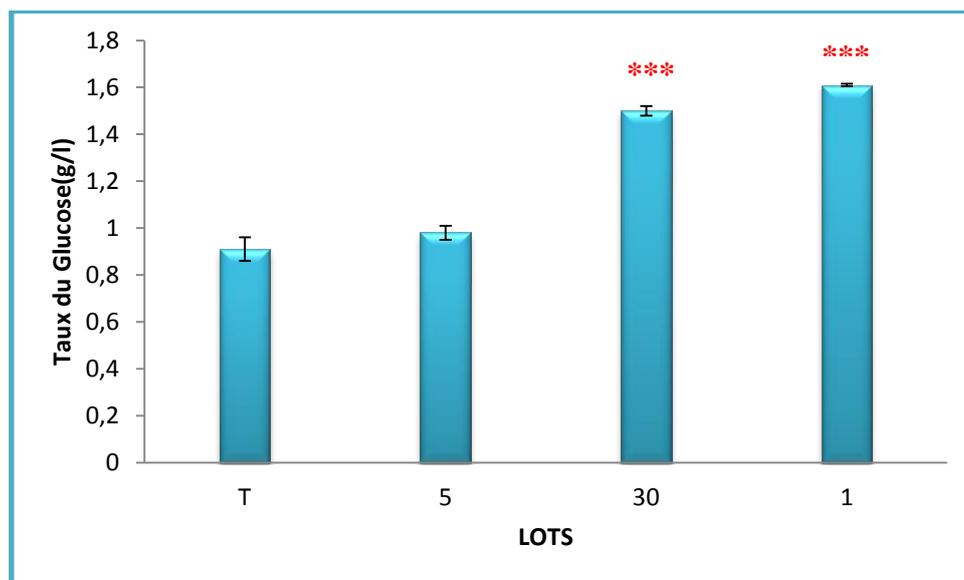
## 1<sup>ère</sup> PARTIE

### 1- Effet de la séparation maternelle sur le métabolisme glucidique et lipidique

#### 1-1- Variation de la concentration du glucose plasmatique en (g/l) chez le lot témoin et les lots traités

Le métabolisme glucidique est perturbé chez les animaux des tout les lots traités (**Tableau 7, figure 9**), et ceci est reflété par une augmentation très hautement significative de la concentration en glucose dans le sang (T vs 5, 30 et 1 /  $f=374.96$  ;  $p<0.001$ ).

En ce qui concerne l'analyse de Dunnett, on constate que le lot 5 n'induit pas une différence significative par rapport aux témoins.



**Figure 9:** Taux du glucose plasmatique (g/l) chez le lot témoin et les lots stressés par séparation ( $m\pm s$ ,  $n=4$ ).

$p<0,001=***$  : T vs 30, 1.

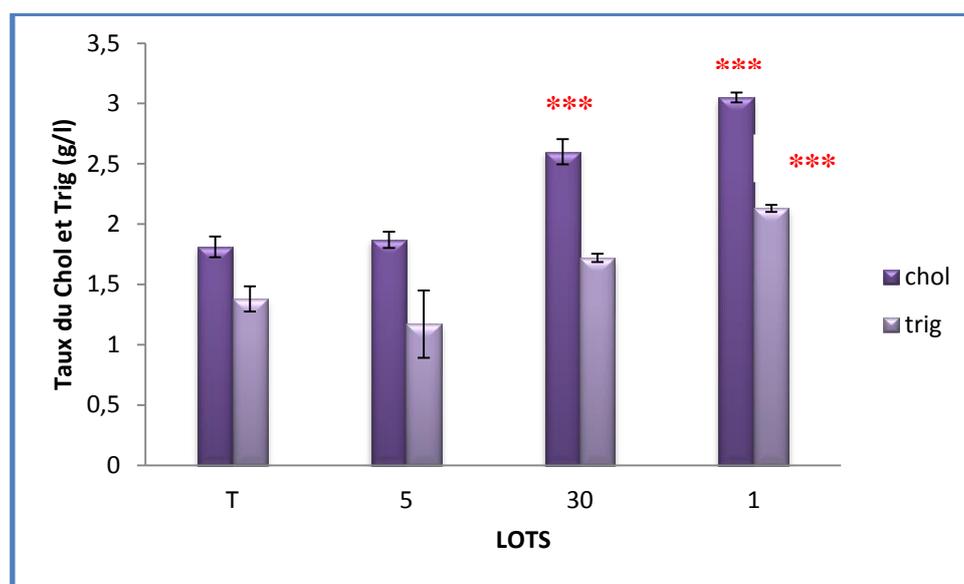
ns : T vs 5.



## 1-2- Variation de la concentration du cholestérol et les triglycérides plasmatiques en (g/l) chez le lot témoin et les lots traités

En ce qui concerne le métabolisme lipidique (**Tableau 8, figure 10**), il se caractérise chez les rats du lot 5, 30 et 1 par une élévation très hautement significative du taux du cholestérol comparable au témoin ( $f=196.08$  ;  $p<0.001$ ). En revanche, l'analyse de Dunnett ne montre pas d'effet significatif du taux du cholestérol dans le sang chez le lot 5 par rapport aux témoins.

L'analyse de la variance à un seul critère de classification (ANOVA) a montré une différence très hautement significative du taux des triglycérides sanguin chez les rats 5, 30 et 1 ( $f=23.08$  ;  $p<0.001$ ). Par contre, cette différence n'a pas été constatée chez les rats 5 et 30 par le test statistique de Dunnett.



**Figure 10:** Variation des teneurs en cholestérol et en triglycérides sanguins en (g/l) chez le lot témoin et les lots traités ( $m\pm s$ ,  $n=4$ ).

Chol :  $p<0,001=***$  : T vs 30, 1.

ns : T vs 5.

Trig ;  $p<0,001=***$  : T vs 1.

ns : T vs 5, 30.



## 2<sup>ème</sup> PARTIE

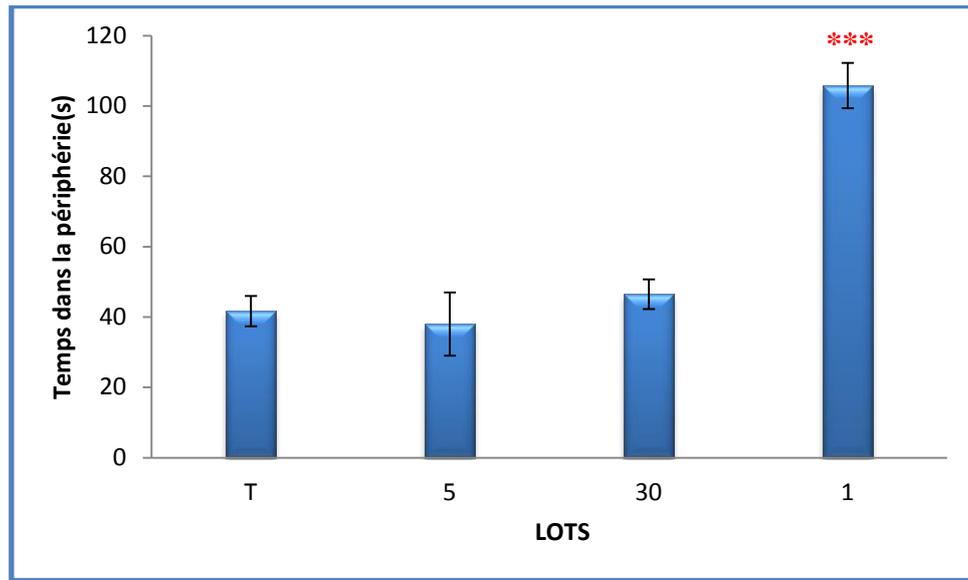
### 1- Effet de la séparation maternelle sur le comportement d'exploration évalué dans le test de l'open-field

D'après ces résultats au dessus, on constate une différence entre les moyennes des quatre lots (5, 30, 1 et T) pour les paramètres : temps dans la périphérie, temps dans la le centre, temps de redressement, nombre de défécation. En revanche, nous n'avons pas constaté de différence significative entre les moyennes des quatre lots (5, 30, 1 et T) pour le paramètre : nombre de miction (urines). (**Tableau 9**)

L'analyse de la variance à un seul critère de classification (ANOVA) et de Dunett de ces résultats a révélé que, le stress de séparation (5mn, 30mn, 1h) entraine une augmentation très hautement significative ( $p < 0.001$ ) pour le paramètre : temps dans la périphérie chez le lot 1, mais nous n'avons pas enregistré de différence significative chez les lots 5 et 30. (**Figure 11**) En revanche, une diminution très hautement significative ( $p < 0.001$ ) pour les 3 paramètres : temps dans le centre, temps de redressement et nombre de défécation chez le lot 1 par rapport au témoin, mais il n'existe pas une différence significative chez les lots 5 et 30. (**Figure 12**) Par contre nous n'avons pas enregistré de différence significative pour le paramètre : nombre de miction (urines) chez tous les lots traités.

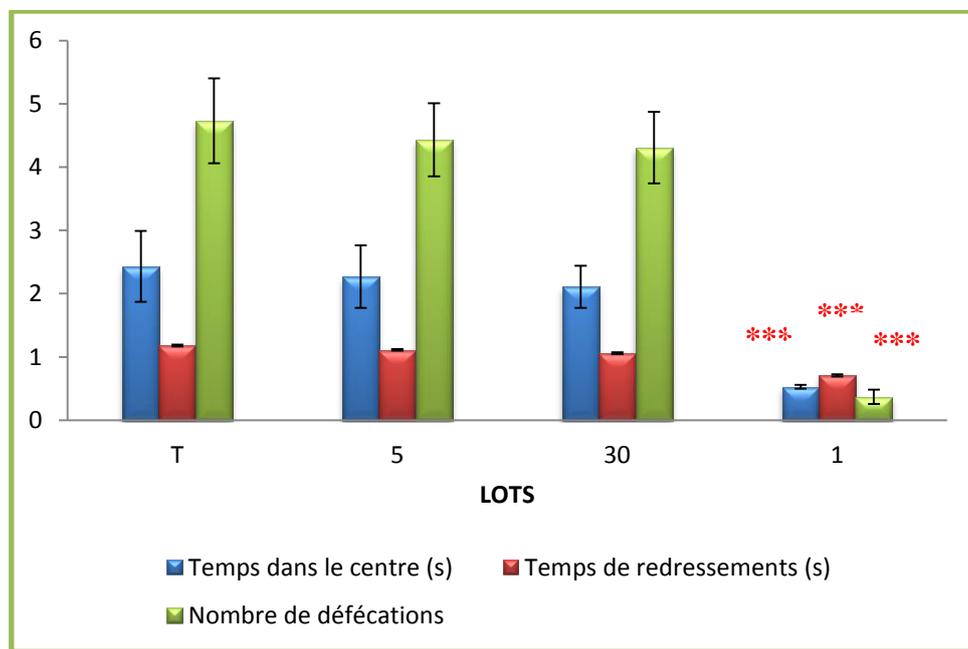
**Tableau 09:** Paramètres comportementaux des lots témoin et traités enregistrés on openfield (m±s, n=4)

Lots	T	5	30	1
Temps dans la périphérie (s)	41,66 ± 4,311	38,01 ± 8,967 <sup>ns</sup>	46 ,47 ± 4,239 <sup>ns</sup>	105,78±6,466 <sup>***</sup>
Temps dans le centre (s)	2,43 ± 0,561	2,27 ± 0,494 <sup>ns</sup>	2,11 ± 0,333 <sup>ns</sup>	0,53± 0,031 <sup>***</sup>
Temps de redressements (s)	1,18 ± 0,015	1,11 ± 0,012 <sup>ns</sup>	1,06± 0,014 <sup>ns</sup>	0,71 ± 0,017 <sup>***</sup>
Nombre de défécations	4,73 ± 0,672	4,43 ± 0,577 <sup>ns</sup>	4,31 ± 0,565 <sup>ns</sup>	0,37 ± 0,112 <sup>***</sup>
Nombre de miction(urines)	0,25 ± 0,064	0,24 ± 0,031 <sup>ns</sup>	0,25 ± 0,051 <sup>ns</sup>	0,25 ± 0,005 <sup>ns</sup>



**Figure 11:** Temps passé dans la périphérie (s) des lots témoin et traités enregistré-t-on test d'openfield ( $m \pm s$ ,  $n=4$ ).

$p < 0,001 = ***$  : T vs 1.      ns : T vs 5, 30.



**Figure 12:** Temps (s) : passé dans le centre, de redressement et le nombre de défécation des lots témoin et traités enregistré-t-on test d'openfield ( $m \pm s$ ,  $n=4$ ).

$p < 0,001 = ***$  : T vs 1.      ns : T vs 5, 30.



## **2- Effet de la séparation maternelle sur le comportement d'anxiété évalué dans le test du labyrinthe en croix surélevé (plus maze)**

D'après ces résultats (**Tableau 10, figures 13/14/15/16**), on constate une différence entre les moyennes des quatre lots (5, 30, 1 et T) pour tous les paramètres qui nous allons traiter. Les tests statistiques ANOVA et Dunnett ont montré que le traitement de séparation (5mn, 30mn, 1h) entraîne une augmentation très hautement significative ( $p < 0.001$ ) pour les paramètres : nombre d'entrées dans les BO et BF, temps dans le centre, temps dans BO, le nombre de défécation et le nombre de miction (urines) chez les 2 lots 30 et 1 comparable au témoin, mais il n'existe pas une différence significative chez le lot 5.

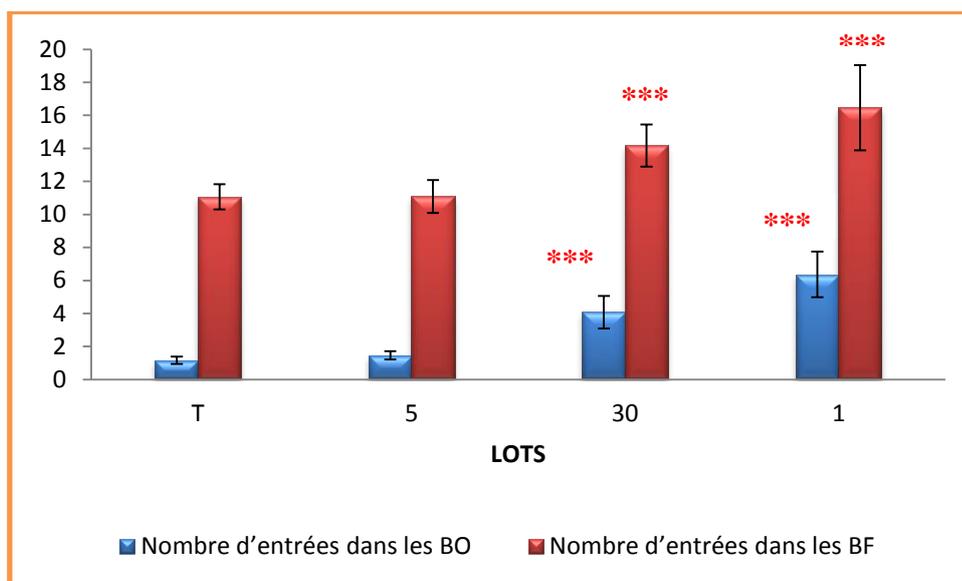
En revanche, une diminution très hautement significative ( $p < 0.001$ ) pour les 3 paramètres : temps dans BF, temps de redressement(s) et le nombre de redressement pour le lot 30 et le lot 1, par contre, cette différence n'a pas été constatée chez le lot 5 par rapport au témoin.

## **3- Effet de la séparation maternelle sur le comportement d'appétence évalué dans le test de la consommation d'eau sucrée**

On a mesuré, chez les rats des lots traités et le lot témoin la consommation d'eau sucrée et la consommation de l'eau potable sans rajout (ml) à l'âge adulte. (**Tableau 11, figure 17**) Les rats 1 ont eu un comportement tellement différent des autres qu'il n'a pas été pris en compte dans les résultats.

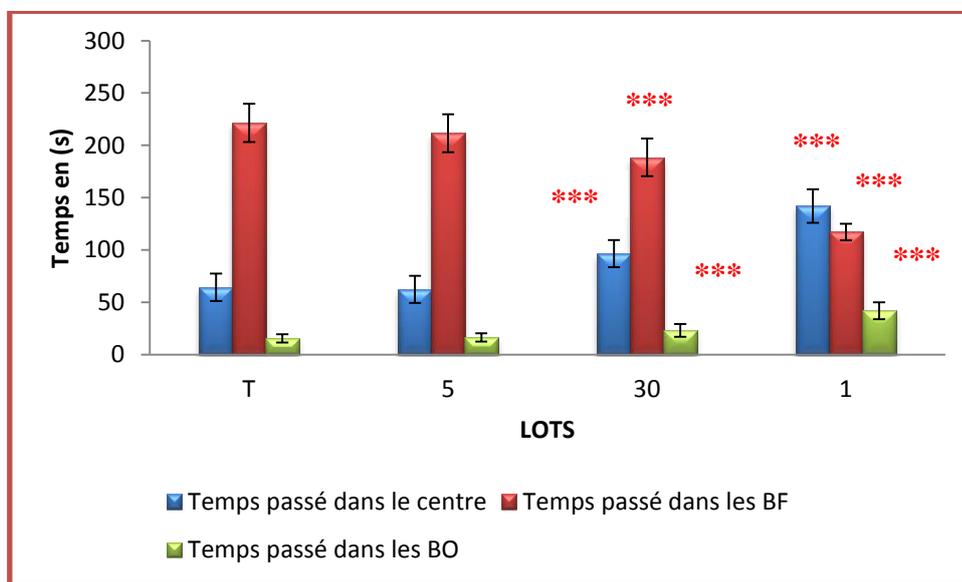
L'analyse de variance à un facteur et l'analyse de Dunnett montre que les rats de lot 1 ayant reçu de l'eau sucrée ont bu une quantité très hautement significativement supérieure de liquide que leurs témoins respectifs ayant reçu une quantité très hautement significativement inférieure de l'eau potable sans rajout ( $p < 0.001$ ).

Par contre, cette différence n'a pas été constatée chez les rats 5 et 30 par rapport au témoin.



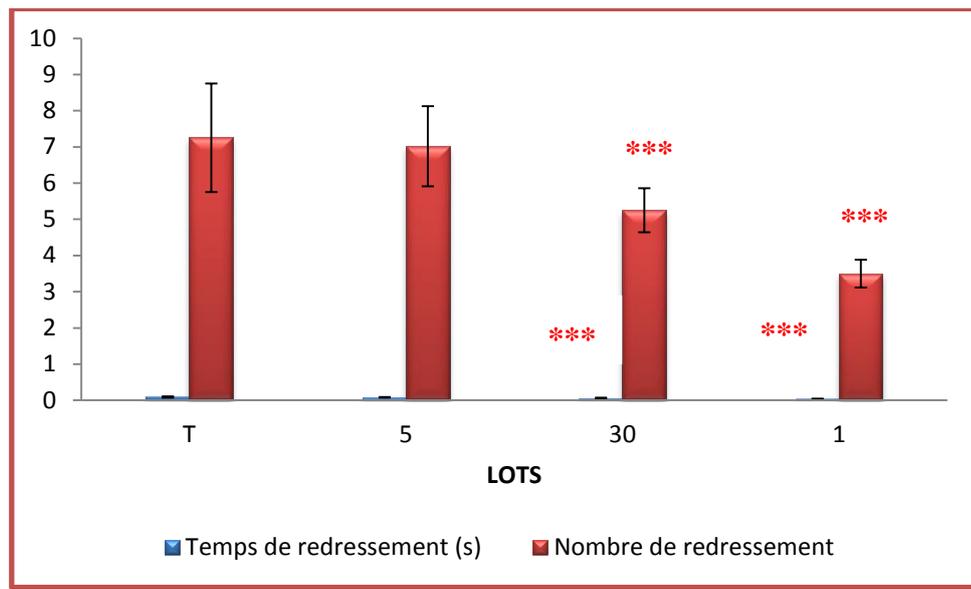
**Figure 13:** Nombre d'entrées dans les BO et BF des lots témoin et traités enregistré dans le test du labyrinthe en croix surélevé ( $m \pm s$ ,  $n=4$ ).

$p < 0,001 = ***$  : T vs 30, 1.      ns : T vs 5.



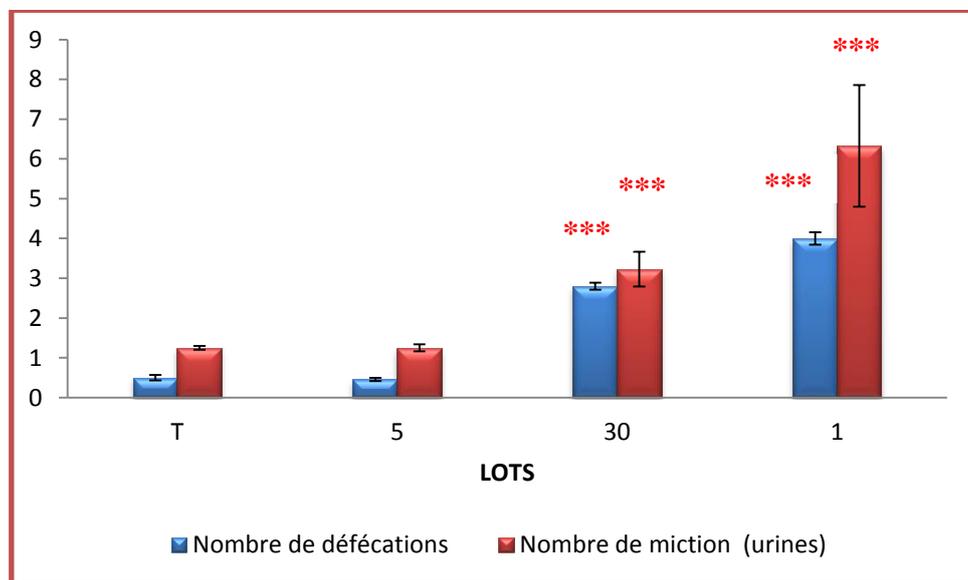
**Figure 14:** Temps (s) : passé dans le centre, passé dans les BF et BO des lots témoin et traités enregistré dans le test du labyrinthe en croix surélevé ( $m \pm s$ ,  $n=4$ ).

$p < 0,001 = ***$  : T vs 30, 1.      ns : T vs 5.



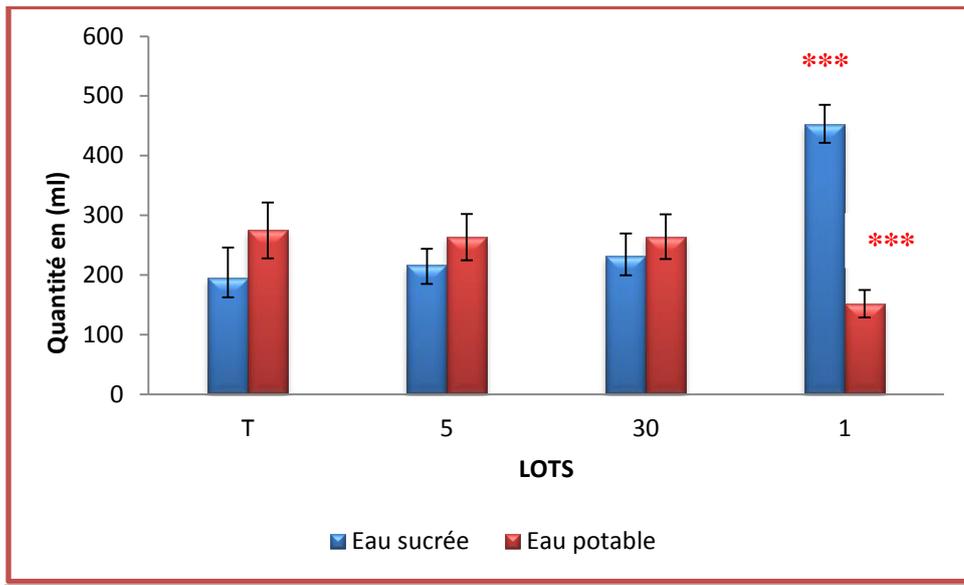
**Figure 15:** Temps de redressement(s) et le nombre de redressement des lots témoin et traités enregistré dans le test du labyrinthe en croix surélevé ( $m \pm s$ ,  $n=4$ ).

$p < 0,001 = ***$  : T vs 30, 1.      ns : T vs 5.



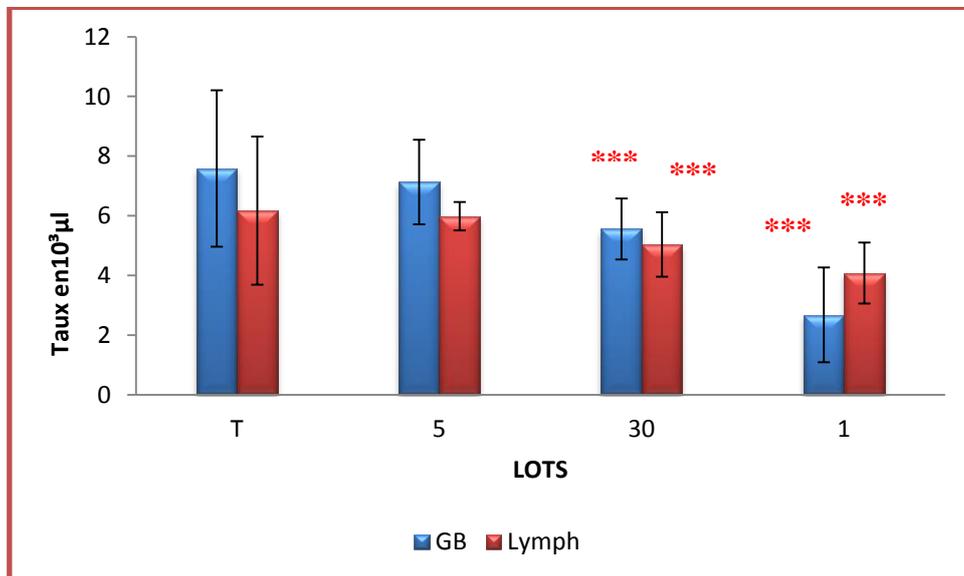
**Figure 16:** Nombre de défécation et le nombre de miction (urines) des lots témoin et traités enregistré dans le test du labyrinthe en croix surélevé ( $m \pm s$ ,  $n=4$ ).

$p < 0,001 = ***$  : T vs 30, 1.      ns : T vs 5.



**Figure 17 :** Quantités d’eaux sucrées consommées suite au stress de séparation dans le test de la consommation d’eau sucrée (ml) (n=4, m±s).

p<0,001= \*\*\* : T vs 1.                      ns : T vs 5, 30.



**Figure 18 :** Taux des globules blancs et des lymphocytes des lots témoin et traités (10<sup>3</sup>/μl) (n=4, m±s).

p<0,001= \*\*\* : T vs 30, 1.                      ns : T vs 5.



#### 4- Effet de la séparation maternelle sur les paramètres immunitaires

Nous avons constaté une diminution très hautement significative du taux des globules blanc, les lymphocytes, les monocytes et même les plaquettes ( $p < 0,001$ ) chez les lots 30 et 1 par rapport au témoin (l'analyse de la variance a un critère de classification), par contre, cette différence n'a pas été constatée chez les rats 5 par rapport au témoin.

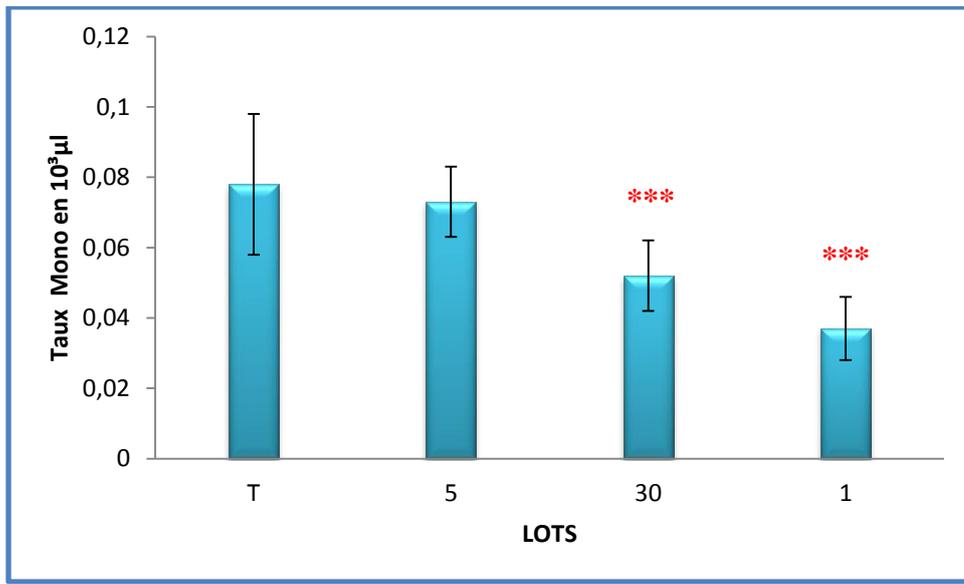
(Tableau 12, figure 18/19/20)

**Tableau 12** : Paramètres immunitaires des lots témoin et traités (m±s, n=4)

Lots	T	5	30	1
<b>GB</b> 10 <sup>3</sup> /μl	7,585 ± 2,62	7,132 ± 1,42 <sup>ns</sup>	5,555 ± 1,02 <sup>***</sup>	2,68 ± 1,59 <sup>***</sup>
<b>Lymph</b> 10 <sup>3</sup> /μl	6,171 ± 2,48	5,987 ± 0,48 <sup>ns</sup>	5,041 ± 1,08 <sup>***</sup>	4,081 ± 1,02 <sup>***</sup>
<b>Mono</b> 10 <sup>3</sup> /μl	0,078 ± 0,02	0,073 ± 0,01 <sup>ns</sup>	0,052 ± 0,01 <sup>***</sup>	0,037±0,009 <sup>***</sup>
<b>PLQ</b> 10 <sup>3</sup> /μl	771,3 ± 101,41	721,5 ± 98,11 <sup>ns</sup>	654,3±91,25 <sup>***</sup>	564,1±100,2 <sup>***</sup>

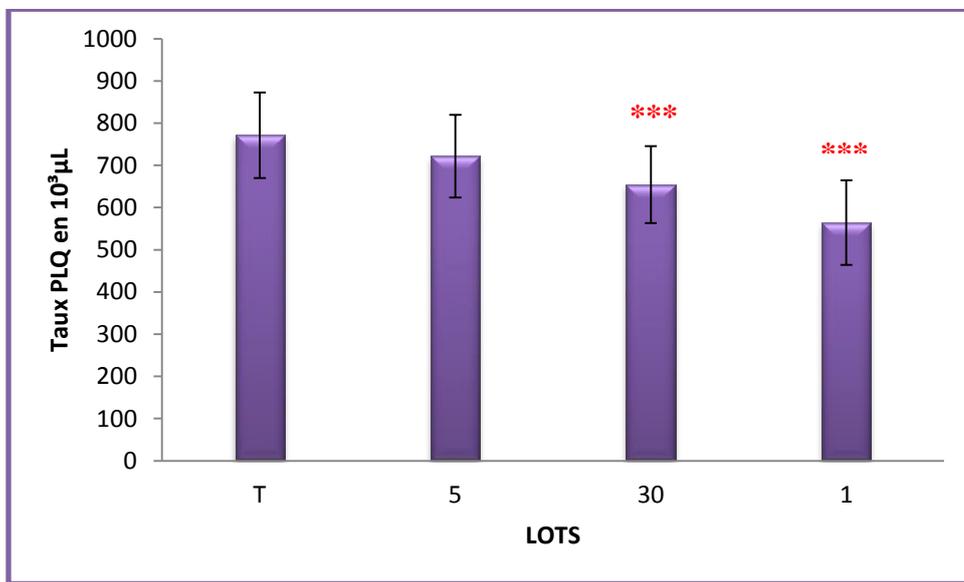
$p < 0,001 = ***$  : T vs 30, 1.

ns : T vs 5.



**Figure 19** : Taux des monocytes des lots témoin et traités (10<sup>3</sup>/µl) (n=4, m±s).

p<0,001= \*\*\* : T vs 30, 1.                      ns : T vs 5.



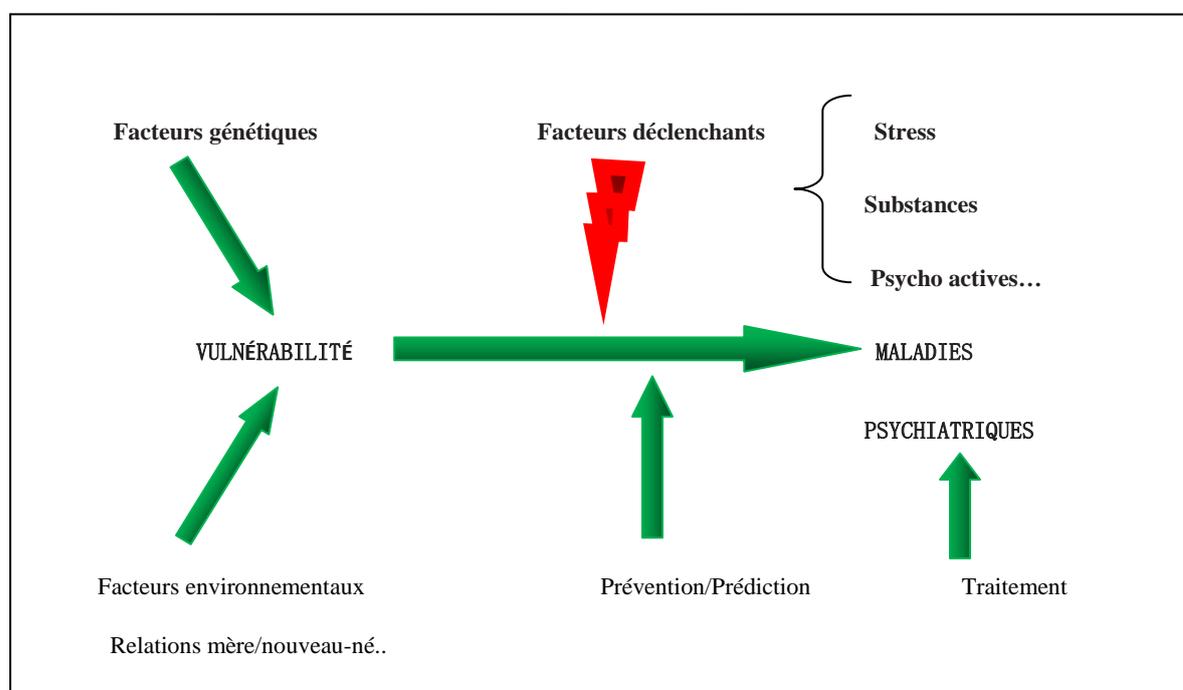
**Figure 20** : Taux des plaquettes des lots témoin et traités (10<sup>3</sup>/µl) (n=4, m±s).

p<0,001= \*\*\* : T vs 30, 1.                      ns : T vs 5.



## DISCUSSION

À travers cet aperçu des données de la littérature, on entrevoit la notion de vulnérabilité à des troubles comportementaux créée par des stress précoces, comme une longue séparation mère/nouveau-né chez l'animal. Ces derniers modèles engendrent des perturbations telles qu'une augmentation de l'anxiété et de la dépendance aux psychostimulants. Les analyses neurobiologiques effectuées chez l'animal adulte montrent que de nombreux systèmes neuronaux (hormones du stress, dopamine, noradrénaline, GABA, peptides) de certaines structures du système limbique sont perturbés (Kalinichev *et al.* , 2001 ; Caldji *et al.* , 2000 ; Meaney *et al.* , 2002) . Des études sur l'impact d'un stress précoce sur le développement cérébral devraient permettre de mieux comprendre l'incidence de ce type de stress sur le comportement mental pathologique, sans négliger l'importance de facteurs déclenchants susceptibles de faire basculer l'individu de la vulnérabilité à la pathologie (**Figure 21**). La mise en place de modèles prenant en compte ces facteurs permettrait d'accéder à une meilleure connaissance des intrications entre vulnérabilité, facteurs déclenchants et pathologie, contribuant ainsi à une meilleure prévention/prédiction des troubles mentaux et, à plus long terme, à une mise en place de stratégies thérapeutiques alternatives. (**Daugé, 2003**)



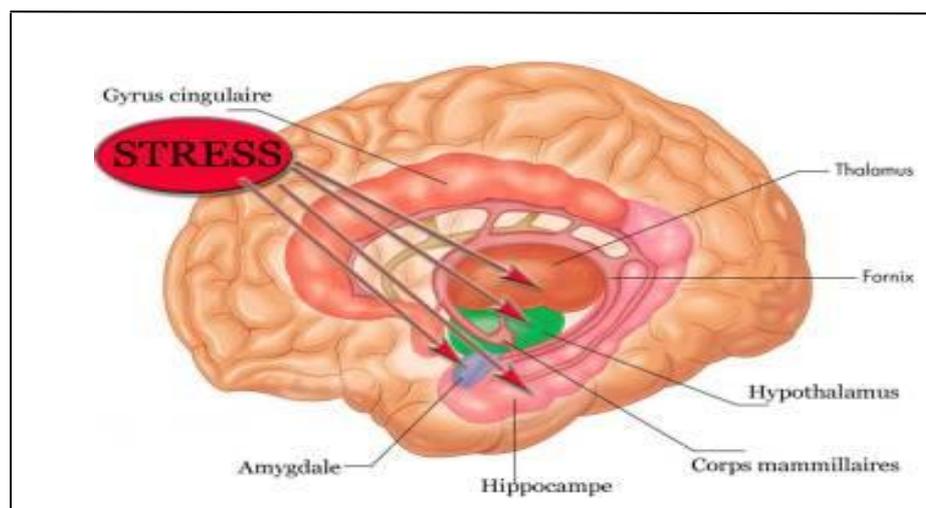
**Figure 21** : Différents facteurs génétiques et environnementaux sont à l'origine d'une vulnérabilité aux troubles mentaux. (**Daugé, 2003**)



Le concept de vulnérabilité appliquée à la pathologie mentale implique l'intervention de facteurs génétiques et/ou environnementaux. C'est ainsi que, chez l'animal comme chez l'homme, l'exposition périnatale, c'est-à-dire pré- ou post-natale, à un environnement stressant peut créer une fragilisation à long terme et favoriser l'émergence de troubles du comportement (**Russak et Schwartz, 1997**). Il tient également une part importante dans l'apparition des troubles alimentaires (**Rojo et al., 2006**).

Chez l'homme, des perturbations relationnelles importantes entre la mère et le nouveau-né (longue séparation non compensée dès les premiers jours de la vie, manque de soins, affect négatif de la mère...) augmentent le risque de survenue de maladies graves telles que des psychoses, des troubles comportementaux ou anxieux, des syndromes dépressifs ou encore des conduites addictives (**Bifulco et al., 1992**). 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 animaux de séparation mère/nouveau-né qui sont actuellement développés. Cette séparation constitue un stress précoce qui, parce qu'il survient pendant une période de développement neuronal intense, est susceptible d'engendrer un fonctionnement cérébral anormal de façon durable. Ces modèles sont donc étudiés pour tenter de décrire les conséquences neurobiologiques et comportementales néfastes de ce stress précoce sur le développement des petits (**Expertise collective, 2002**).

Le système limbique (**Figure 22**) est la partie du système nerveux central qui se situe à la base du cerveau, il comprend la région septale, le fornix, l'hippocampe, le complexe amygdalien et les cortex insulaire et fronto-orbitaire postérieur. Il contrôle le comportement, les émotions, la motivation. Il intervient également dans la régulation de conditions internes de l'organisme tel que la température corporelle, la sensation de faim et de soif, l'équilibre osmotique. C'est une zone de perception des stimuli externes qui joue un rôle dans le déclenchement des réactions en stimulant l'hypothalamus auquel il est lié par un ensemble de neurones. (**Antonijevic et al., 2000 ; Husum et al., 2002 ; Murakami et al., 2005**).



**Figure 22** : Représentation du système limbique : cortex limbique et structures sous-corticales (amygdale, bulbe olfactif, hippocampe, septum, corps mamillaire...).  
(Murakami *et al.*, 2005)

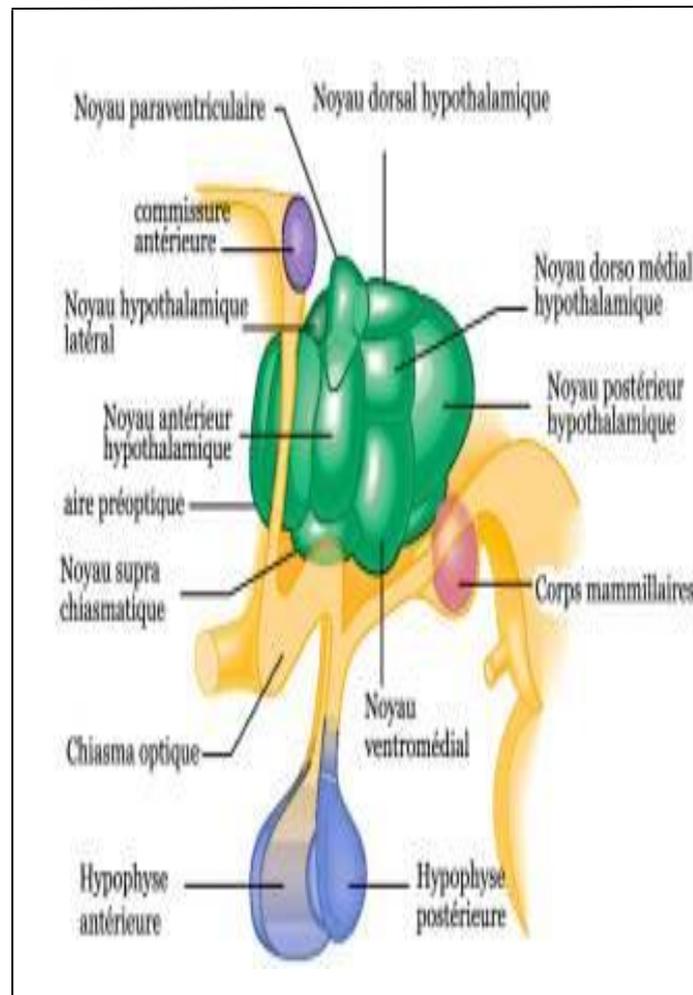
Le système limbique régule l'hypothalamus (**Figure 23**), qui assure le lien entre le système nerveux et le système hormonal, et il joue un rôle primordial dans les fonctions végétatives et endocrines de l'organisme ainsi que dans les comportements émotionnel et alimentaire. Il intervient dans le maintien de l'homéostasie hormonale et dans les réponses adaptatives du système endocrinien face aux situations de stress (Jessop *et al.*, 1997 ; Slominski *et al.* , 2001) . Sous l'effet du stress, l'hypothalamus est stimulé au niveau du noyau paraventriculaire (PVN) dont les neurones disposent des propriétés neurosécrétoires. Certains de ces neurones sont en connexion avec l'éminence médiane de l'hypothalamus. Sous l'effet du stress, le corticotropin-releasing factor (CRF) est libéré dans l'éminence médiane. La sécrétion de CRF s'accompagne de la production d'un autre neuropeptide hypothalamique : arginine vasopressine (AVP), principal cofacteur qui a une action synergique du CRF. L'ocytocine est également sécrétée à ce niveau avec une action inhibitrice. Ces deux substances permettent une action modulatrice de la sécrétion de l'hormone adrénocorticotrope (ACTH) par l'hypophyse (Middlekauff *et al.* , 2002).

L'hypophyse est une glande endocrine de petite taille, pesant moins de un g, l'hypophyse est située à la base du crâne dans une loge appelée "selle turcique", en rapport anatomique direct avec le chiasma optique. Elle est attachée au cerveau (diencéphale) par la tige pituitaire.



On distingue trois zones, ou lobes, dans l'hypophyse : L'antéhypophyse (adénohypophyse) située en avant ; la post-hypophyse (neuro-hypophyse) située en arrière et le lobe intermédiaire. L'antéhypophyse sécrète un certain nombre d'hormones parmi elles, l'ACTH.

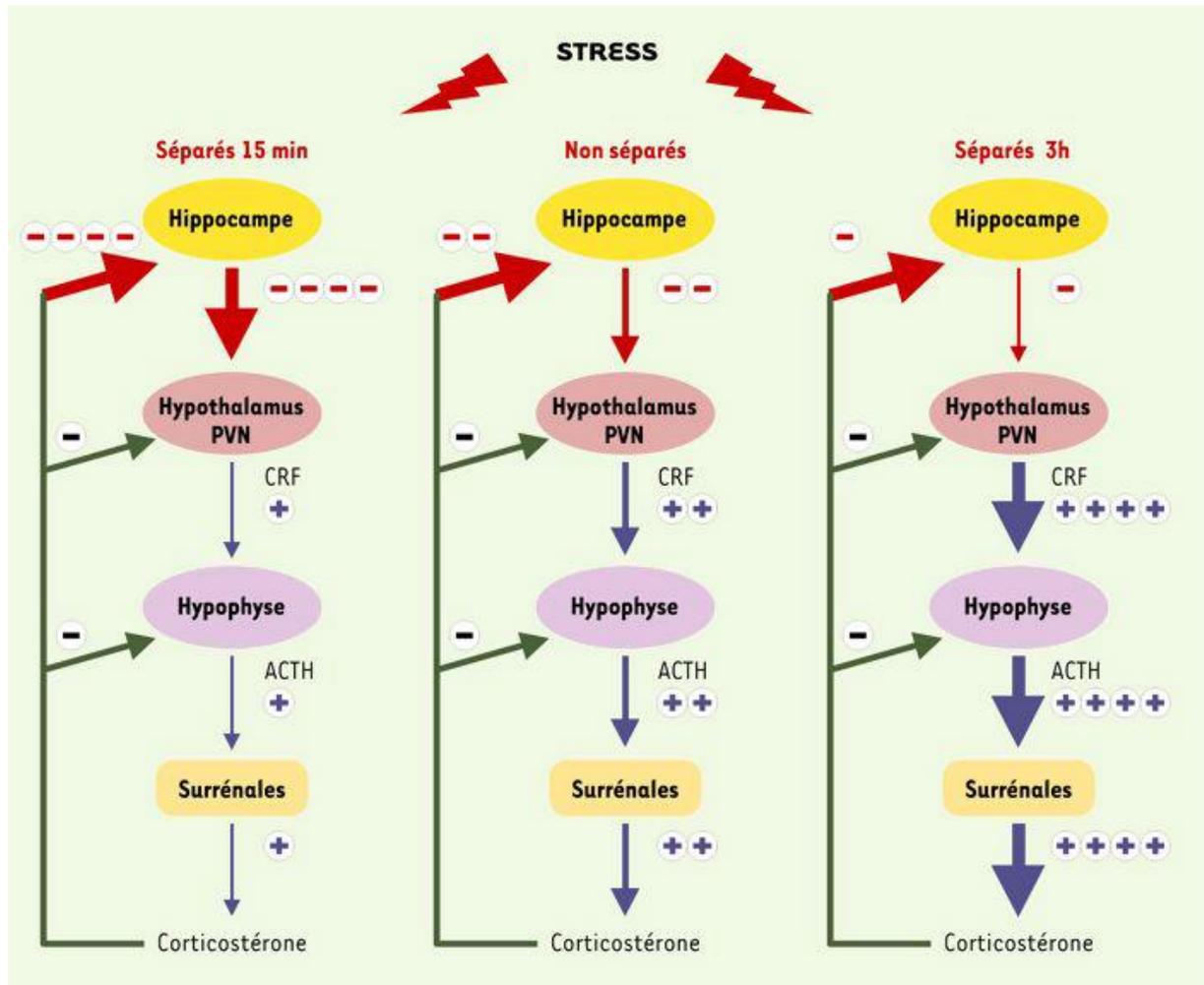
Le CRF stimule la sécrétion d'ACTH au niveau de l'hypophyse antérieure par le biais du système porte hypothalamo-hypophysaire. En effet, à ce niveau il active la production d'une prohormone : proopiomélanocorticotropine (POMC), qui se clive ensuite en ACTH et en hormone mélanostimulante (MSH). L'ACTH agit au niveau du cortex surrénalien en stimulant la production et la sécrétion des corticostéroïdes. (**Antonijevic et al., 2000 ; Husumet et al., 2002 ; Murakami et al., 2005**).



**Figure 23** : Stress et noyaux hypothalamiques, hypophyse. (**Murakami et al., 2005**)



L'axe hypothalamo-hypophyso surrénalien du stress (HHS) est activé chez tous les animaux lors d'une exposition au stress. Une libération accrue de CRF hypothalamique en résulte tout d'abord, suivie par celle d'ACTH hypophysaire et de corticostérone à partir des glandes surrénales. La corticostérone exerce alors un rétrocontrôle négatif sur l'hippocampe, l'hypothalamus et l'hypophyse, situation observée chez les rats non séparés. L'hippocampe exercerait un effet inhibiteur sur la synthèse de CRF par l'hypothalamus, dont les mécanismes restent à déterminer. Le rétrocontrôle négatif de la corticostérone est augmenté chez les rats séparés pendant 15 min. Les sécrétions diminuées d'ACTH et de corticostérone à la suite d'un stress seraient liées à une augmentation des récepteurs des glucocorticoïdes dans l'hippocampe. Le rétrocontrôle négatif de la corticostérone est diminué chez les rats séparés pendant 3 h au moins. Les réponses accrues en ACTH et en corticostérone après un stress seraient liées à une diminution des récepteurs des glucocorticoïdes dans l'hippocampe et à une augmentation de la quantité d'ARNm du CRF dans l'hypothalamus. (**Kalinichev *et al.* ., 2001 ; Caldji *et al.* ., 2000 ; Huot *et al.* ., 2001**)



**Figure 24 :** Modifications de l'efficacité du rétrocontrôle négatif exercé par la corticostérone sur l'hippocampe de rats séparés, dès le lendemain de la naissance, 15 min ou 3 h par jour pendant 14 jours. (Daugé, 2003)

Après avoir analysé les données concernant le poids chez les juvéniles, les rats des quatre groupes d'animaux ont été pesés chaque jour pendant 12 jours (entre le J3- J14). Nous obtenons, une diminution très hautement significative du poids des rats 30 et 1 par rapport au groupe contrôle (30, 1 :  $15,33 \pm 0,577$  ;  $11,66 \pm 0,577$  vs T :  $20,66 \pm 0,577$ ), ce qui est en accord avec la littérature (Mcintosh *et al.*, 1999 ; Lamouraux, 2001). Ce poids diminué serait dû à une diminution de l'hormone de croissance circulante (Meaney *et al.*, 1993), et/ou à la différence de disponibilité du lait maternel (Valee *et al.*, 1996), toutes deux conséquences de la séparation maternelle.

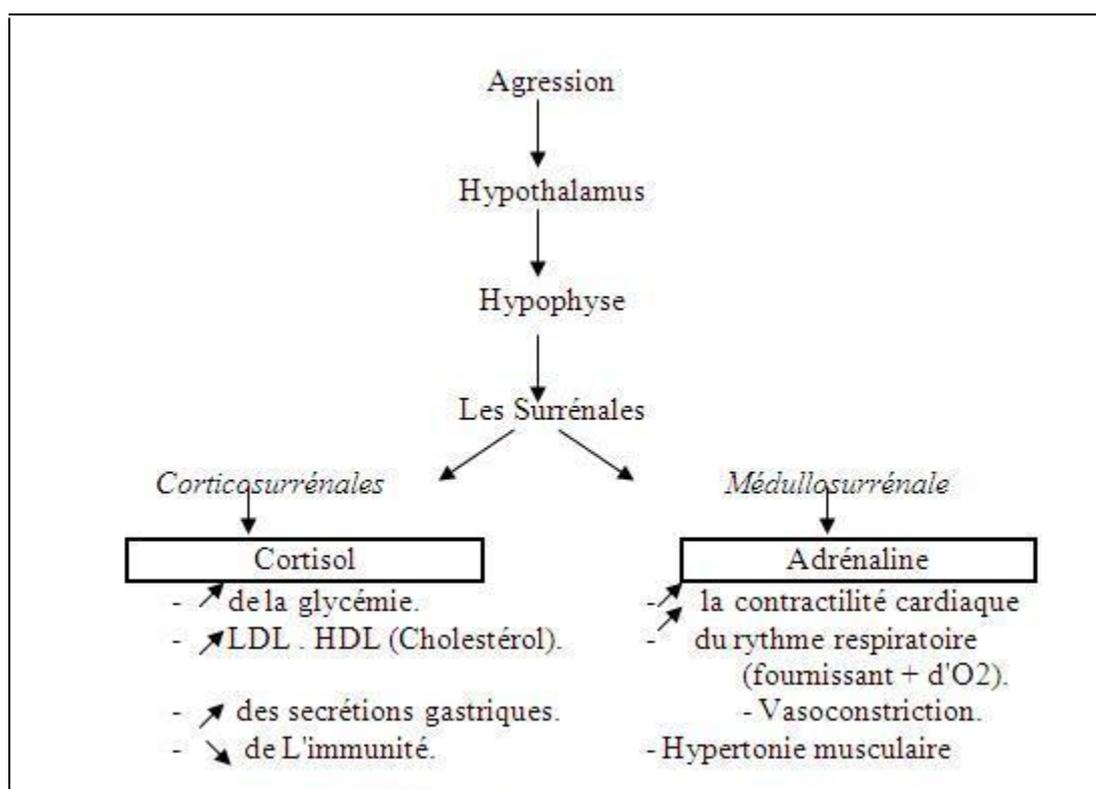


certaines études mettent en évidence une diminution plus faible du poids suite à un stress répété ou chronique (**Pecoraro et al., 2004 ; Teegarden et Bale, 2008 ; Legendre et Harris, 2006 ; Kyrou et Tsigos, 2009**).

Les résultats obtenus dans la 1<sup>ère</sup> partie (chez les juvéniles) montrent que le métabolisme glucidique est perturbé chez les animaux séparés pendant 30 minutes et une heure et ceci est reflété par une augmentation très hautement significative de la concentration en glucose dans le sang par rapport à celui des témoins (30, 1 : **1,50 ± 0,02 ; 1,61±0,005** vs T : **0,91 ± 0,051**). En ce qui concerne le métabolisme lipidique, il se caractérise chez les rats traités (30 et 1) par une augmentation très hautement significative de la concentration en cholestérol (30, 1 : **2,60 ± 0,104 ; 3,05 ± 0,04** vs T : **1,81 ± 0,086**) et en triglycérides chez les rats du lot 1 par rapport aux témoins (1 : **2,13±0,028** vs T : **1,38± 0,104**).

La stimulation électrique de l'hypothalamus ventromédian entraîne une hyperglycémie avec diminution des réserves hépatiques en glycogène (**Shi et al., 2005**). **Nonogaki (2000)** : a montré que ces modifications métaboliques sont liées à l'activation du système nerveux sympathique (libération de la noradrénaline par les terminaisons nerveuses, et l'adrénaline par la médullosurrénale). En effet, l'activation du système nerveux sympathique dans diverses conditions de stress ou au cours d'un exercice physique intense provoque une stimulation de la sécrétion de glucagon et l'apparition d'une hyperglycémie (**Calender, 2010**). **Yamada et al., (1993)** : en travaillant sur des rats intacts et d'autres dépourvus de médullosurrénale, on constate que lors de l'application d'un stress de contention, l'augmentation de la concentration plasmatique de glucose est nettement moins importante chez le dernier groupe de rats. Ceci démontre l'importance de la présence de l'adrénaline dans le développement de l'hyperglycémie et la sécrétion des hormones pancréatiques. (**Marchand et Letarte, 2004**)

Dans quelques procédures de stress, telles que l'effort chirurgical ou de contrainte, l'augmentation de glucose est particulièrement connexe aux taux des corticostéroïdes en raison de l'activation de l'axe HHS et de la réaction de système nerveux sympathique au stress (**Sapolsky et al., 2000; Vallee et al., 1996**). Le stress est également connu pour l'augmentation relative du sucre sanguin dû au sécrétions des corticostéroïdes (**Kioukia et al., 2002**). (**Figure 25**)



**Figure 25 :** la physiologie du stress au niveau de l'axe Hypothalamo-hypophyso-Surrénalien. (Calender, 2010)

En ce que concernent les lipides, qui jouent un rôle essentiel et une modification des taux lipidiques dans le sang ou les tissus peuvent se révéler extrêmement dommageable pour l'organisme.

Les agents stressants sont multiples et variables, mais ils mènent tous à un sentiment d'insécurité, de peur. La réaction du cerveau est de préparer le corps à une situation critique pour faire face aux dangers (Calender, 2010). L'hyper activation de l'axe corticotrope s'accompagne d'une hypersécrétion de cortisol. En effet, le cortisol est responsable d'une augmentation de la dégradation des protéines: pour produire des substrats énergétiques, l'organisme ne puise plus seulement dans ses réserves, il attaque ses propres structures. Par ailleurs, cette production de composants énergétiques se traduit par une augmentation du glucose, des triglycérides et du cholestérol sanguin (Zudaire *et al.*, 2003), donc une hyper utilisation de cholestérol comme substance mère de synthèse des glucocorticoïdes ce qui conduit à un épuisement de son taux plasmatique par sa redirection pour la synthèse des hormones dérivées ou par l'utilisation de l'acétyl coenzyme A à la synthèse d'autres substrats que le cholestérol. (Stocco and Clark, 1996; Galman *et al.*., 2002). Il a été rapporté que les



taux du cholestérol sont utilisés comme des marqueurs sanguins dans la dépression et dans l'anxiété (**Rafter, 2001 ; Scanlon et al ., 2001 ; Terao et al ., 2000**).

Une relation entre le cholestérol, les triglycérides et les agressions dans la population humaine a été mise en évidence (**Fowkes et al., 1992**). L'augmentation des triglycérides est un indicateur d'un syndrome métabolique (**Sarwar et al ., 2007**). Ils présentent donc une forte relation avec la dépression (**Cornel et al ., 2011**). Le profil biochimique de la dépression est souvent caractérisé par une élévation des taux sanguins des triglycérides. L'hypertriglyceridemie est considérée comme cause métabolique de la dépression, il a aussi été démontré dans des essais cliniques contrôlés qu'une diminution des triglycérides améliorerait les symptômes de la dépression. (**Balon, 2000 ; Huang et al ., 2003 ; Vevera et al ., 2003**)

Les animaux devenus adultes dans la 2<sup>ème</sup> partie montrent une réaction comportementale exacerbée face à différents stress, ainsi qu'une anxiété et une peur accrues face à différents environnements nouveaux. Ils développent une augmentation de réponse de l'axe HHPS au stress. Il consiste à placer un animal dans un environnement nouveau et clos, brillamment éclairé et à mesurer la fréquence de défécation. L'animal est devant un conflit entre sa peur d'un espace ouvert et l'activité exploratoire. D'autres mesures comportementales se sont peu à peu ajoutées : mesure de l'activité locomotrice, localisation, ... (**Stanford, 2007**).

Les résultats obtenus dans Open-field montrent chez les rats de lot 1 qu'une augmentation très hautement significative pour le paramètre : temps dans la périphérie (1 : **105,78±6,466** vs T : **41,66 ± 4,311**). Par contre, une diminution très hautement significative pour les paramètres : temps dans le centre, temps de redressement et nombre de défécation par rapport aux rats contrôles (1 : **0,53± 0,031 ; 0,71 ± 0,017 ; 0,37 ± 0,112** vs T : **2,43 ± 0,561 ; 1,18 ± 0,015 ; 4,73 ± 0,672**).

Le test en open-field a également été utilisé pour mesurer les réponses de peur des animaux domestiques (ovins :**Romeyer et Bouissou, 1992** ; porcs : **Andersen et al., 2000b**). Chez le porc, **Andersen et al., (2000b)** :comparent les relations entre les réponses de peur des animaux soumis à quatre tests de nouveauté différents dont l'open-field. Ils observent une relation négative entre l'activité et la peur de la nouveauté, facteurs tous deux mesurés par ce test. La fréquence de défécation n'apparaît pas comme un indicateur de peur dans cette espèce contrairement aux ovins ou aux chevaux (**Romeyer et Bouissou, 1992 ; Viérin et Bouissou, 2001**).



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 et 30 mn 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 une heure appliqué de manière aiguë ou répétées sont habituellement considérées comme très intense et engendre une augmentation de la concentration plasmatique de corticostérone (Ramos *et al.*, 1997; Bhatnagar *et al.*, 2006; Marini *et al.*, 2006) 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 ; Marini *et al.*, 2006; Kinn *et al.*, 2008 ; Kalvez, 2010 ; Careau *et al.*, 2012).

D'après notre résultats dans le test de plus maze, on constate une différence entre les moyennes des quatre lots (5, 30, 1 et T) pour tous les paramètres qui nous allons traités, exprimés par une augmentation très hautement significative pour les paramètres : nombre d'entrées dans les BO (30, 1 :  $4,08 \pm 0,98$  ;  $6,37 \pm 1,39$  vs T :  $1,17 \pm 0,23$ ) et BF (30, 1 :  $14,17 \pm 1,28$  ;  $16,46 \pm 2,58$  vs T :  $11,07 \pm 0,76$ ), temps dans le centre (30, 1 :  $96,37 \pm 12,98$  ;  $141,95 \pm 16,11$  vs T :  $64,21 \pm 13,11$ ), temps dans BO (30, 1 :  $23,17 \pm 6,15$  ;  $41,88 \pm 8,19$  vs T :  $15,47 \pm 3,98$ ), le nombre de défécation (30, 1 :  $2,80 \pm 0,09$  ;  $4,00 \pm 0,16$  vs T :  $0,5 \pm 0,07$ ) et le nombre de miction (urines) (30, 1 :  $3,23 \pm 0,44$  ;  $6,33 \pm 1,53$  vs T :  $1,25 \pm 0,05$ ) chez les lots 30 et 1 comparable au témoin, mais il n'existe pas une différence significative chez le lot 5.

En revanche, une diminution très hautement significative pour les paramètres : temps dans BF (30, 1 :  $188,39 \pm 18,06$  ;  $117,15 \pm 7,93$  vs T :  $221,37 \pm 18,29$ ), temps de redressement(s) (30, 1 :  $0,06 \pm 0,01$  ;  $0,04 \pm 0,01$  vs T :  $0,09 \pm 0,02$ ) et le nombre de redressement (30, 1 :  $5,25 \pm 0,61$  ;  $3,5 \pm 0,38$  vs T :  $7,25 \pm 1,5$ ) pour le lot 30 et le lot1, par contre, cette différence n'a pas été constatée chez le lot 5 par rapport au témoin.

Le test de la croix surélevé est depuis une quinzaine d'années un des tests le plus utilisé pour mesurer la peur chez les rongeurs. Il est basé sur l'étude du comportement spontané de l'animal ce qui lui confère une grande validité éthologique (Darwish *et al.*, 2001).



Des analyses factorielles permettent l'interprétation des données en terme d'anxiété, d'exploration et de locomotion, facteurs qui ne sont pas corrélés entre eux (**Pellow et al., 1985**). Pour interpréter les comportements en terme de peur ou d'absence de peur, plusieurs auteurs utilisent des substances anxiolytiques et anxiogènes. Ils observent, dans le premier cas, une augmentation du pourcentage de temps passé dans les branches ouvertes ainsi que du nombre d'entrée dans ces branches et, dans le second cas, l'effet inverse (**Lister, 1987 ; Rodgers et al., 2010**). De plus, **Pellow et al., (1985)** : rapportent que le confinement d'un rongeur dans les parties ouvertes du dispositif est associé à des comportements reliés à la peur et le taux de corticostérone plasmatique est supérieur à celui d'animaux confinés dans les parties fermées. Ni la nouveauté du test ni l'éclairage ne semblent modifier le comportement des animaux dans ce test (**Becker et Grecksch, 1996**).

Des travaux récents suggèrent que ce test puisse être utilisé pour mesurer l'anxiété d'autres animaux comme le porc (**Pellow et al., 1985 ; Treit et al., 1993**). **Andersen et al., (2000a)** : examinent l'effet du diazépam (anxiolytique) sur le comportement des porcs dans un dispositif en croix surélevé modifié. Ils observent que les animaux traités entrent plus souvent dans les branches ouvertes et y restent plus longtemps que des animaux non traités (**Nic Dhonnchadha et al., 2003**). Ces variables peuvent donc être interprétées comme des mesures d'anxiété chez les porcs. De plus, **Andersen et al., (2000b)** : montrent que l'évitement des branches ouvertes représente une mesure exclusive de la peur de la nouveauté et que le nombre d'entrée dans les branches fermées est une mesure exclusive de l'activité (**Cohen et al., 2006**). Ainsi que, le stress de la séparation entraîne une inhibition de la prise alimentaire induite par une augmentation du rassasiement ainsi qu'une augmentation du toilettage et de défécation (**Llobera, 2002**). 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 (**Xu et al., 2009**).

Les rats de lot 1 ayant reçu de l'eau sucrée ont bu une quantité supérieure est reflété par une différence très hautement significative de liquide que leurs témoins (1 : **453,43±31,76** vs T : **194,54±51,58**) respectifs ayant reçu une quantité inférieure est reflété par une différence très hautement significative de l'eau potable (1 : **151,92±22,93** vs T : **274,54±46,72**).



L'eau sucrée étant appétissante pour les rongeurs, la mesure de sa consommation permet d'évaluer l'état hédonique/ anhédonique des animaux. La consommation d'eau sucrée des rats séparés est augmentée, particulièrement lorsque les rats ont subi un stress supplémentaire d'isolement. Cette consommation d'eau sucrée par ces rats retourne à la normale après injection d'antidépresseur. Les rats nouveau-nés séparés présentent donc, à l'âge adulte, une hypersensibilité aux effets de récompense (eau sucrée). (**Roques *et al.* , 1993; Daugé, 2003 ; Lamouraux, 2001**)

La plus grande sensibilité des rats séparés aux effets de récompense pourrait s'expliquer par un hypofonctionnement du système opioïdérique endogène (diminution de synthèse ou de libération des opiacés...) (**Dauge *et al.*, 1989 ; Dauge *et al.*, 1992**). Contrairement à ce qui se passe chez les rats non séparés, incapable d'augmenter la consommation d'eau sucrée chez les rats séparés. Enfin, le niveau de base des enképhalines libérées dans le noyau accumbens est diminué chez les rats séparés par rapport aux animaux non séparés. (**Crawley et Corwin ,1994**)

Ce modèle de séparation mère/nouveau-né met donc non seulement en évidence l'importance des neuropeptides que sont les opioïdes et la CCK dans les relations s'établissant entre mère et nouveau-né, mais également le fait qu'une perturbation de ces relations conduit à un dysfonctionnement des systèmes opioïdérique et cholécystokinérgique. Le système opioïdérique endogène mésolimbique serait hypoactif à l'état basal et le système CCKérgique serait hyperactivé lors de situations stressantes. (**Crawley et Corwin ,1994 ; Weller et Dubson, 1998**)

Dans nos résultats concernant les paramètres immunitaires, nous avons constaté que le stress de séparation provoque une diminution très hautement significative du taux des globules blancs (30, 1 : **5,555 ± 1,02 ; 2,68 ± 1,59** vs T : **7,585 ± 2,62**), les lymphocytes (30, 1 : **5,041 ± 1,08 ; 4,081 ± 1,02** vs T : **6,171 ± 2,48**), les monocytes (30, 1 : **0,052 ± 0,01 ; 0,037±0,009** vs T : **0,078 ± 0,02**) et même les plaquettes (30, 1 : **654,3±91,25 ; 564,1±100,2** vs T : **771,3 ± 101,41**) chez les lots 30 et 1 par rapport au témoin.

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. (**Louvard *et al.*, 2005**). Il fonctionne en réalité en interaction permanente avec le système nerveux central.



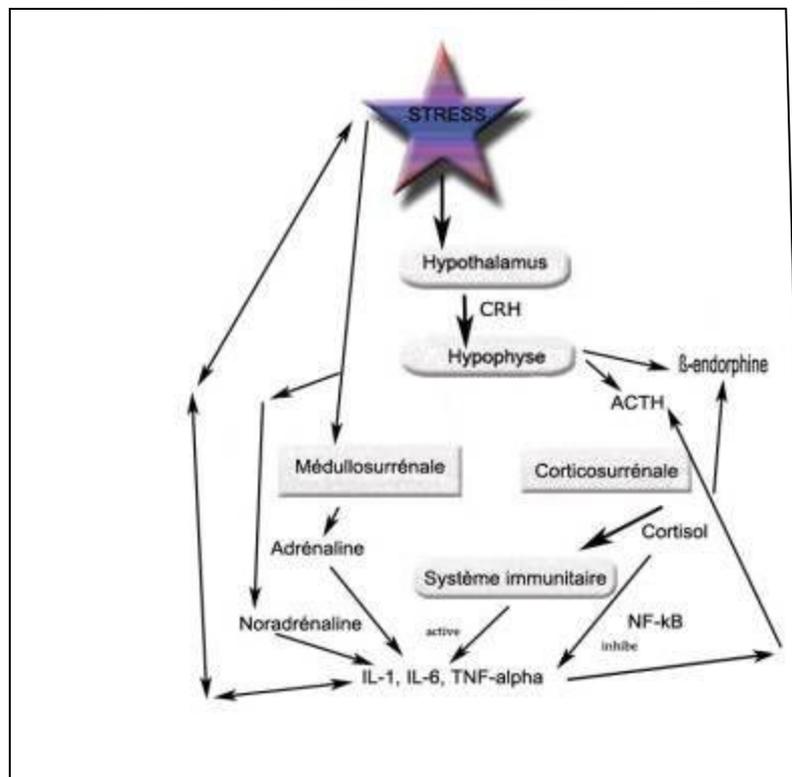
Les variations immunitaires appréciables à travers le taux de lymphocytes indiquent clairement un ensemble de pistes qui intègrent la place du système immunitaire dans la boucle de contrôle de l'homéostasie. Trois grands systèmes d'intégration permettant à l'organisme des vertébrés de fonctionner de 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. (Strekalova *et al.*, 2004 ; Sari *et al.*, 2006 ; Roberts *et al.*, 2007).

Des travaux menés depuis déjà une décennie ont démontré que le rôle de l'IL2 est généralement diminué 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). 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 globules blancs chez les animaux séparés sont significativement plus faibles que ceux du témoin chez les lots 30 et 1, 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 (5 :  $0,073 \pm 0,01$  vs T :  $0,078 \pm 0,02$ ). Donc selon le temps de séparation, le stress soit accroit ou affaiblit le système immunitaire (Husum *et al.*, 2002 ; Barreto *et al.*, 2007).



**Figure 26:** Principales actions du stress sur l'axe neuro-endocrine, le système immunitaire et inflammatoire et sa régulation. (Konstantinos *et al.*, 2001).



## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La qualité des relations entre un individu et sa mère pendant les premiers jours de vie est fondamentale pour son développement et son équilibre à l'âge adulte.

Nous avons entrepris l'analyse métabolique de rats juvéniles et l'analyse comportementale de rats adultes du modèle de séparation mère/nouveau-né où les rats nouveau-nés sont séparés de leur mère et isolés de leurs congénères quotidiennement pendant cinq minutes, trente minutes et une heure de leur troisième à leur quatorzième jour de vie, et de comparer les résultats à ceux précédemment obtenus par rapport à les résultats antérieurs. Le but est de savoir à quel moment apparaissent les troubles engendrés par la séparation maternelle précoce, et si ces troubles éventuels se manifestent de la même façon chez les juvéniles et chez les adultes.

Dans ce contexte, les résultats obtenus montrent que le stress de séparation chez les rats et les rats adultes Wistar induit une perturbation ainsi mis en évidence, chez les rats juvéniles séparés par rapport aux non séparés :

- Une diminution du poids corporel.
- Une perturbation sur les métabolites biochimique (glucose, cholestérol et triglycérides).

En ce que concernent les rats séparés par rapport aux non séparés à l'âge adultes, nous avons ainsi pu mettre en évidence :

- Une inversion du rythme circadien, lors de la mesure de l'activité motrice.
- Un état d'anhédonie, révélé dans le test de la consommation d'eau sucrée.
- Une perturbation au niveau des paramètres immunitaires (une diminution des taux des : globules blancs, lymphocytes, monocytes et même les plaquettes).

La réalisation de ce mini projet et à partir de ces résultats il serait intéressant de fixer ces points comme perspectives :

- L'élargissement de la gamme des espèces étudiées afin d'approfondir les résultats et pour arriver à comprendre bien les interactions entre les espèces.
- Prolonger la durée de séparation (plus de 1 heure).
- Etude pharmacologique, avec par exemple l'utilisation de traitements antidépresseurs.
- Analyser le comportement des rats du modèle dès le lendemain de la fin de la séparation.



- Etude sur l'effet renforçant de la morphine dans le test de la préférence de place conditionnée.
- Etude sur l'effet de la séparation sur le sexe féminin chez les espèces rongeurs.

L'objectif global est d'étudier les facteurs de vulnérabilité pouvant conduire à l'anxiété, la dépression, et aux conduites de dépendance.



---

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**Abraham B, Rohner-Jeanrenaud F, Abramo F, Bestetti G.E, Rossi G.L, Jeanrenaud B. (1991).** Abnormal regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the genetically obese fa/fa rat. *Endocrinology*; **126**:1873-9.

**Ader R, Friedman S.B. (1965).** Social factors affecting emotionality and resistance to disease in animal. v. early separation from the mother and response to a transplanted tumor in the rat. *Psychosom. Med*; **27**:119-122.

**Agmo A, Galvan A, Talamantes B. (1995).** Reward and reinforcement produced by drinking sucrose: Two processes that may depend on different neurotransmitters. *Pharmacol. Biochem. Behav*; **52**: 403-414.

**Agmo A, Barreau S, Lemaire V. (1997).** Social motivation in recently weaned rats is modified by opiates. *Dev. Neurosci*; **19**: 505-520.

**Albers E. M , Riksen-Walraven J. M, Sweep F. C. G. J, de Weerth C. (2008).** Maternal behavior predicts infant cortisol recovery from a mild everyday stressor. *Journ Child Psychology and Psychiatry*; **49(1)**: 97-103.

**Andersen I.L, Førevik G, Bøe K.E, Janczak A.M, Bakken M . (2000a).** Effects of, diazepam on the behaviour of weaned pigs in three putative models of anxiety. *Appl. Anim. Behav. Sci*; **68 (2)**: 121-130.

**Andersen I.L, Bøe K.E, Førevik G, Janczak A.M, Bakken M. (2000b).** Behavioural evaluation of methods for assessing fear responses in weaned pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci*; **69**: 227-240.

**Anisman H, Zaharia M.D, Meaney M.J, Meralis Z. (1998).** Do early life events permanently alter behavioral and hormonal responses to stressors? *Int. J. Dev. Neurosci*; **16**: 149–164.

**Antonijevic I.A, Murch H, Bohlhalter S, Frieboes R.M, Holsboer F, Steiger A.(2000).** Neuro-peptide Y promoter sleep and inhibits ACTH and cortisol release in young men. *Neuro.Pharmacology*; **39**:1474-1481.

**Aubert Ch, Janiaud P, Lecalvez J. (1980).** Effect of pinealectomy and melatonin on mammary tumor growth in sprague-dawley rats under different condition of lighting. *J. Neural. Transmission*; **47**:121-130.

**Balon R. (2000).** Cholesterol, mental illness and violence. *Psychiatry*; **2** : 83– 90.

**Barham D et Trinder P. (1972).** *Analyset*; **92**:142.

**Barreto J, Queiros A, Cabral JE, Ferreira E, Silva WT, Leandro CG, Deiró TC, Manhaes R, Machado CM. (2007).** Stress/aggressiveness-induced immune changes are



altered in adult rats submitted to neonatal malnutrition. *Neuroimmunomodulation*; **14**: 229-334.

**Bayer S.A, Altman J, Russo R.J, Zhang X. (1993)** .Time tables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicology*; **14**: 83-144.

**Becker A, Grecksch G. (1996)**. Illumination has no effect on rat's behavior in the elevated Plus-Maze. *Physiol. Behav*; **59 (6)**: 1175-1177.

**Berlyne D.E. (1950)**. Novelty and curiosity as determinants of exploratory behaviour. *British Journal of Psychology*; **41**: 68- 80.

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

**Bifulco A, Harris T, Brown G.W. (1992)**. Mourning or early inadequate care? Reexamining the relationship of maternal loss in childhood with adult depression and anxiety. *Dev. Psychopathol* ; **4**: 433-49.

**Bléyé N.M, Ekaza J.D, Angoué Y.P, Datté J.Y, Banga N.B, Cathy N.M.A, Vanga M, Koné M, Ehouan E.E. (2007)**. Hétérogénéité du statut en fer chez la femme au cours de la grossesse en Côte d'Ivoire. *Ann. Biol. Clin*; **65 (5)**: 525-532.

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

**Caldji C, Francis D, Sharma S, Plotsky PM, Meaney MJ. (2000)**. The effects of early rearing environment on the development of GABAA and central benzodiazepine receptors levels and novelty-induced fearfulness in the rat. *Neuropsychopharmacology*; **22**: 219-29.

**Calenco-Choukroun G, Dauge V, Gacel G, Feger J, Roques B.P. (1991)**. Opioid delta agonists and endogenous enkephalins induce different emotional reactivity than mu agonists after injection in the rat ventral tegmental area. *Psychopharmacology*; **103**: 493-502.

**Calender A. (2010)**. Réflexions biologiques autour du concept de STRESS et de sa prise en charge. Plateforme d'Oncologie et de Neurogénétique. Hôpital Edouard Herriot. LYON. France.

**Canetti L, Bachar E, Galili-Weisstub E, De-Nour A.K, Shalev A.Y.(1997)**. Parental bonding and mental health in adolescence. *Adolescence*; **32**: 381-394.

**Careau V.C; Bininda-Emonds O.R.P, Ordonez G, Garland T.J. (2012)**. Are voluntary wheel running and open-field behavior correlated in mice? Different answers from comparative and artificial selection approaches. *Behavior. Genetics*; **42**: 830–844.

**Cohen H, Zohar J, Gidron Y, Matar M.A, Belkind D, Loewenthal U, Kozlovsky N, Kaplan Z. (2006)**. Blunted HPA axis response to stress influences susceptibility to posttraumatic stress response in rats. *Biol. Psychiatry*; **1559**: 1208-1218.



- Cornel V.I, Juhani J, Hannu V. (2011).** Vital exhaustion, depressive symptoms and serum triglyceride levels in high-risk middle-aged men. *PsychiatryResearch*; **187**: 363–369.
- Crawley J, Corwin R.L. (1994).** Biological actions of cholecystokinin. *Peptides*; **15**: 731-755.
- Dal-Zotto S, Marti O, Armario A. (2000).** Influence of single or repeated experience of rats with forced swimming on behavioural and physiological responses to the stressor. *Behav Brain. Res*; **114**: 175-181.
- Darwish M, Korányi L, Nyakas C, Almeida O.F.X. (2001).** Exposure to a novel stimulus reduces anxiety level in adult and aging rats. *Physiol. Behav*; **72**: 403-407.
- Dauge V, Rossignol P, Roques B.p. (1989).** Comparison of the behavioural effects induced by administration in rat nucleus accumbens or nucleus caudatus of selective mu and delta opioid peptides or kelatorphan, an inhibitor of enkephalinmetabolism. *Psychopharmacology*; **96**: 343-352.
- Dauge V, Kalivas Pw, Duffy T, Roques Bp. (1992).** Effect of inhibiting enkephalin catabolism in the vta on motor activity and extracellular dopamine. *Brain. Res*; **599**: 209-214.
- Denenberg V. H. (1969).** Open-field behavior in the rat: What does it mean? *Ann. NY Acad. Sci*; **159**: 852-859.
- Daugé V. (2003).** Impact neurobiologique de la séparation mère/nouveau-né chez le rongeur. *Neurobiologie. Psychiatrie*; **19** : 607-11.
- De Boer S.F, Koopmans S.J, Slangen J.L, Van der Gugten J. (1990).** Plasma catecholamine, corticosterone and glucose responses to repeated stress in rats: effect of interstressor interval length. *Physiol. Behav*; **47(6)**: 1117–1124.
- De Kloet E.R, Rots N.Y, Cools R. (1996).** Brain-corticosteroid hormone dialogue : slow and persistent. *Cell. Mol. Neurobiol*; **16**: 345-356.
- Dugovic C, Maccari S, Weibel L, Turek F.W, Van Reeth O.(1999) .** High corticosterone levels in prenatally stressed rats predict persistent paradoxical sleep alterations. *J. Neurosci*; **19**:8656-8664.
- Dulawa S.C, Holick K.A, Gundersen. B, Hen. R. (2004).** Effects of chronic fluoxetine in animal models of anxiety and depression. *Neuropsychopharmacology*; **29(7)**: 21-30.
- Expertise collective (2002).** Facteurs de risque familiaux. Troubles mentaux. Dépistage et prévention chez l'enfant et l'adolescent. Paris: Éditions Inserm; 233- 49.
- Francis D.d, Caldji C, Champagne F, Plotsky P.M, Meaney M.j. (1999).** The role of corticotropin-releasing factor-norepinephrine systems in mediating the effects of early experience on the development of behavioral and endocrine responses to stress. *Biol. Psychiatry*; **46**: 1153-1166.



**Fraser D. (1999).** Animal ethics and animal welfare science: bridging the two cultures. *Appl. Anim. Behav. Sci*; **65**: 171-189.

**Fossati P. (1982).** Principe I. *Clin. Chem*; **28**: 2077.

**Fowkes F.G, Leng G.C, Donnan P.T, Deary I.J, Riemersma R.A, Housley E. (1992).** Serum cholesterol, triglycerides, and aggression in the general population. *Lancet*; **340(8826)**: 995-998.

**Galman C, Angeli B, Rudling M. (2002).** Prolonged stimulation of the adrenals by corticotropin suppresses hepatic low-density lipoprotein and high-density lipoprotein receptors and increases plasma cholesterol. *Endocrinology*; **143**: 1809-16.

**Gregus A, Wintink A.J, Davis A.C, Kalunchuk L.E. (2005).** Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. *Behav. Brain. Res*; **156**: 105-14.

**Gunnar M. R et Donzella B. (2002).** Social regulation of the cortisol levels in early human development. *Psychoneuroendocrinology*; **27**: 199-22.

**Hall C.S. (1934).** Emotional behavior in the rat. I : Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *J. Comp. Psychol*; **18**: 385-403.

**Hall F.S. (1998).** Social deprivation of neonatal, adolescent, and adult rats has distinct neurochemical and behavioral consequences. *Crit. Rev. Neurobiol*; **12**: 129-162.

**Hall F.S, Wilkinson L.S, Humby T, Robbins T.W. (1999).** Maternal deprivation of neonatal rats produces enduring changes in dopamine function. *Synapse*; **32**: 37-43.

**Handley S.L, Mithani S. (1984).** Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze exploration model of 'fear'-motivated behaviour. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*; **327**: 1-5.

**Hansen S, Bergvall H, Nyiredi S. (1993).** Interaction with pups enhances dopamine release in the ventral striatum of maternal rats: A microdialysis study. *Pharmacol. Biochem. Behav*; **45**: 673-676.

**Harris R.B, Zhou J, Mitchell T, Hebert S, Ryan D.H. (2002b).** Rats fed only during the light period are resistant to stress-induced weight loss. *Physiol. Behav*; **76**: 543-550.

**Helga J.J, Van Oers J, De Kloet R, Li C, Levine S. (1998).** The ontogeny of glucocorticoid negative feedback: Influence of maternal deprivation. *Endocrinology*; **439**: 2838-2846.

**Huang T.L, Wu S.C, Chiang Y.S, Chen J.F. (2003).** Correlation between serum lipid, lipoprotein concentrations and anxious state, depressive state or major depressive disorder. *Psychiatry. Research*; **118**: 147-153.



**Huot R.L, Thirivikraman K.V, Meaney M.J, Plotsky P.M. (2001).** Development of adult ethanol preference and anxiety as a consequence of neonatal maternal separation in Long Evans rats and reversal with antidepressant treatment. *Psychopharmacology*; **158**: 366-73.

**Husum H, Termeer E, Mathe A.A, Bolwig T.G, Ellenboek B.A. (2002).** Early maternal deprivation alters hippocampal levels of neuropeptide Y and calcitonin- gene related peptide in adult rats. *Neuro.Pharmacol*; **42**:798-806.

**Jessop D, Vicennati V, Gambineri A, Colitta D, Ceroni L, Casimirri . (1997).** 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*; **23**: 419-24.

**Kalinichev M, Easterling K.W, Holtzman S.G. (2001).** Early neonatal experience of Long-Evans rats results in long-lasting changes in morphine tolerance and dependence. *Psychopharmacology*; **157**: 305-12.

**Kalvez J. (2010).** Stress et prise alimentaire Application à l'étude de l'effet anti-stress d'un extrait de levure chez le rat. *Paris. ABIES*; p : 259.

**Kasdallah A.G, Mornagui B, Gharbi N, Machghoul S, El-Fazaa S. (2005) .** Effets métaboliques et endocriniens de la privation hydrique et/ou alimentaire chez le rat. *C.R. Biologies*; **328**: 463-470.

**Kehoe P, Shoemaker W.J, Arons C, Triano L, Suresh G. (1998).** Repeated isolation stress in the neonatal rat : Relation to brain dopamine systems in the 10-day old rat. *Behav. Neurosci*; **112**: 1466-1474.

**Kelliher P, Connor TJ, Harkin A, Sanchez C, Kelly JP, Leonard BE. (2000).** Varying responses to the rat forced-swim test under diurnal and nocturnal conditions. *Physiol. Behav*; **69**: 531-539.

**King N et Bernstein G. A. (2001).** School refusal in children and adolescents: A review of the past 10 years. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*; **40**: 197-205.

**King N.J, Tonge B.J, Mulln P, Myerson N, Heyne D, Rollings S, Martin R, Ollendick T.H.(2000).** Treating sexually abused children with posttraumatic stress symptoms: a randomized clinical trial. *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry*; **39(11)**:1347-55.

**Kinn A.M, Gronli J, Fiske E, Kuipers S, Ursin R, Murison R, Portas C.M. (2008).** A double exposure to social defeat induces sub-chronic effects on sleep and open field behaviour in rats. *Physiol. Behav*; **95**: 553-561.

**Kioukia-Fougia N, Antoniou K, Bekris S, Liapi C, Christofidis I, Papadopoulou-Daifoti Z. (2002).** The effects of stress exposure on the hypothalamic–pituitary–adrenal axis, thymus, thyroid hormones and glucose levels. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*; **26(5)**: 823– 830.



**Konstantinos L, Kant G, Lenox R, Bunnell B, Mougey E, Pennington L, Meyerhoff J.L. (2001).** Comparison of stress response in male and female rats: pituitary cyclic AMP and plasma prolactin, growth hormone and corticosterone. *Psychoneuroendocrinology*; **8**: 421-8.

**Korneva J, Haleem D, Kennett G, Curzon G.(2000).** Adaptation of female rats to stress: shift to male pattern by inhibition of corticosterone synthesis. *Brain. Res*; **458**: 339-4.

**Kuhn C, Paul J, Schanberg S. (1990).** Endocrine responses to mother-infant separation in developing rats. *Dev. Psychobiol*; **23**: 395-410.

**Kyrou I et Tsigos C. (2009).** Stress hormones: physiological stress and regulation of metabolism. *Curr. Opin. Pharmacol*; **9**: 787-793.

**Ladd C.O, Owens M.J, Nemeroff C.B. (1996).** Persistent changes in corticotropin-releasing factor neuronal systems induced by maternal deprivation. *Endocrinology*; **137**: 1212-1218.

**Lamouraux S. (2001).** Etudes pharmacologiques des systèmes enképhalinergique et cholécystokinergique dans le modèle de séparation mère/nouveau-né. Diplôme d'Etudes Approfondies de Pharmacochimie Moléculaire, Pharmacologie Expérimentale et Métabolisme, Université Paris V, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Paris.

**Larrère R. (2007).** Justifications éthiques des préoccupations concernant le bien-être animal. *INRA. Prod. Anim* ; **20** : 11-17.

**Legendre A et Harris R.B. (2006).** Exaggerated response to mild stress in rats fed high-fat diet. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*; **291**: 1288-1294.

**Levine S. (1957).** In infantile experience and resistance to physiological stress. *Science*; **126**: 405.

**Levine S, Haltmeyer G.C, Karas G.G, Denenberg V.H. (1967).** Physiological and behavioral effects of infantile stimulation. *Physiol. Behav*; **2**: 55-59.

**Lister M, Burda, Erin Paster. (1987).** Effects of prenatal stress on development in mice: maturation and learning. *Physiology. Behavior*; **71**: 543- 549.

**Llobera M. (2002).** Immobilization stress alters intermediate metabolism and circulating lipoproteins in the rat. *Metabolism*; **51**: 925-931.

**Louvard H, Maccari S, Darnaudery M. (2005).** Prenatal stress affects behavioral reactivity to an intense stress in adult female rats. *Brain. Res* ; **1031**: 67-73.

**Marchand A et Letarte A. (2004).** La peur d'avoir peur. *Psychologie populaire* ; p : 216.



**Marini F, Pozzato C, Andretta V, Jansson B, Arban R, Domenici E, Carboni L. (2006).** Single exposure to social defeat increases corticotropin-releasing factor and glucocorticoid receptor mRNA expression in the hippocampus. *Brain. Res*; **1067**: 25-35.

**McIntosh J, Anisman H, Merali Z. (1999).** Short- and long-periods of neonatal maternal separation differentially affect anxiety and feeding in adult rats: gender dependent effects. *Dev. Brain. Res*; **113**, 97-106.

**Meaney Mj, Aitken Dh, Van Berkel C, Bhatnagar S, Sapolsky Rm. (1988)** .Effect of neonatal handling on age-related impairments associated with the hippocampus. *Science*; **239**: 766-768.

**Meaney Mj, Aitken Dh, Sharma S, Viau V, Sarrieau A. (1989).** Postnatal handled increases hippocampus type II glucocorticoid receptors and enhances adrenocortical negative-feedback efficacy in the rat. *Neuroendocrinology*; **51**:597-604.

**Meaney M.J, Bhatnagar S, Larocque S, McCormick C, Shanks N, Sharma S et al. (1993).** Individual differences in the hypothalamic-pituitary-adrenal stress response and the hypothalamic CRF system. *Ann. N.Y. Acad. Sci*; **697**: 70-85.

**Meaney M.J, Brake W, Gratton A. (2002).** Environmental regulation of the development of mesolimbic dopamine systems: a neurobiological mechanism for vulnerability to drug abuse. *Psychoneuroendocrinology*; **27**: 127-38.

**Middlekauff H.R, Hui K, Yu J.L, Hamilton M.A, Fonarow G.C, Moriguchi J, Maclellan W.R, Hage A.(2002).** Acupuncture inhibits sympathetic activation during mental stress in advanced heart failure patients. *Journal of Cardiac Failure*; **8**: 399–406.

**Mildred S, Seelig M.D, Master A.C.N. (1994).** Consequences of deficiency on the enhancement of stress reactions; preventive and therapeutic implications. *J. Am. Coll. Nutr*; **13(5)**: 429– 446.

**Mormede P, Andanson S, Auperin B, Beerda B, Guemene D, Malmkvist J, Manteca X, Manteuffel G, Prunet P, van Reenen CG, Richard S et Veissier I. (2007).** Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiol. Behav* ; **92** : 317-339.

**Murakami Y, Uchida K, Rijli F.M, Kuratani.S. (2005).** Evolution of the brain developmental plan: insights from agnathans. *Dev.Biol*; **280**: 249-259.

**Nic Dhonnchadha BA, Bourin M, Hascoët M. (2003).** Anxiolytic-like effects of 5-HT<sub>2</sub> ligands on three mouse models of anxiety. *Behav. Brain. Res*; **140**: 203-214.

**Nonogaki K. (2000).**New insights into sympathetic regulation of glucose and fat metabolism. *Diabetologia*; **43**:533-549.

**Ogawa T, Mikuni M, Kuroda Y, Muneoka K, Mori KJ, Takahashi K. (1994).** Periodic maternal deprivation alters stress response in adult offspring; potentiates the negative



feedback regulation of restraint stress-induced adrenocortical response and reduces the frequencies of open field-induced behaviors. *Pharmacol. Biochem. Behav*; **49**: 961–967.

**Olivier B, Zethof T, Pttij T, Van Bogaert M, Van Oorshot R, Leahy C, Oosting R, Bouwknecht A, Veening J, Van der Gugten J, Groenink L.(2003).** Stress-induced-hyperthermia and anxiety: pharmacological validation. *Eur. J. Pharmacol*; **463**: 117-132.

**Pecoraro N, Reyes F, Gomez F, Bhargava A , Dallman M.F. (2004).**Chronic stress promotes palatable feeding,which reduces signs of stress: feedforward and feedback effects of chronic stress. *Endocrinology*; **145**: 3754-3762.

**Pellow S, Chopin P, File S.E, Briley M. (1985).** Validation of open-closed arm entries in a elevated plus-maze as a mesure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Methods* ; **14 (3)** : 149-167.

**Plotsky P.M, Meaney M.J. (1993)** .Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence content and stress induced release in adult rats. *Mol. Brain. Res*; **18**: 195-200.

**Prut L et Belzung C. (2003).** The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-likebehaviors: a review. *Eur. J. Pharmacol*; **463**: 3-33.

**Quitkin F.M, McGrath P.J, Stewart J.W, Taylor B.P, Klrin D.F. (1996).** Can the effects of anti-depressants be observed in the first two weeks of treatment. *Neuro.Psycho.Pharmacology*; **15**:390-394.

**Rafter D. (2001).** Biochemical markers of anxiety and depression. *Psychiatry. Res*; **103**: 93-96.

**Ramos A, Berton O, Mormede P, Chaouloff F. (1997).** A multiple-test study of anxiety related behaviours in six inbred rat strains. *Behavioural. Brain. Research*; **85**: 57–69.

**Regenthal R, Koch H, Köhler C, Preiss R, Krügel U. (2009).** Depression-like deficits in rats improved by subchronic modafinil. *Psychopharmacology*; **204**: 627–39.

**Retana S, Bonilla H, Vazquez G, Dominguez E, Martinez R, Velazquez J. (2003).** Body weight gain and diurnal differences of corticosterone changes inresponse to acute and chronic stress in rats. *Psychoneuroendocrinology*; **28**: 207-227.

**Reul J.M, Stec I, Soder M, Holsboer F. (1993).** Chronic treatment of rats with the anti-depressant amitriptyline attenuates the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system. *Endocrinology*; **133**:312-320.

**Roberts L, Nicolich M, Schreiner C. (2007).** Developmental and reproductive toxicity evaluation of toluene vapor in the rat II. *Developmental. Toxicity. Reproductive. Toxicology*; **23**: 521–531.



**Rodgers R, Holch P, Tallett A. (2010).** Behavioural satiety sequence (BSS): Separating wheat from chaff in the behavioural pharmacology of appetite. *Pharmacol. Biochem. Behav*; 86: 291-298.

**Rojo L, Conesa L, Bermudez O, Livianos L. (2006).** Influence of stress in the onset of eating disorders: data from a two-stage epidemiologic controlled study. *Psychosom. Med*; 68: 628-635.

**Romeyer A, Bouissou M.F. (1992).** Assessment of fear reactions in domestic sheep, and influence of breed and rearing conditions. *Appl. Anim. Behav. Sci*; 34 : 93-119.

**Roques B.P, Beaumont A, Daugé V, Fournié-Zaluski M.C. (1993).** Peptidase-inactivation of enkephalins: design of inhibitors, biochemical, pharmacological and clinical applications. In: Herz A, ed. *Handbook of experimental pharmacology. Part I, opioid*. New York: Springer- Verlag; 104: 545-82.

**Rots N.Y, De Jong J, Workel J.O, Levine S, Cools A.R, De Kloet E.R. (1996)** Neonatal maternally deprived rats have as adults elevated basal pituitary-adrenal activity and enhanced susceptibility to apomorphine. *J. Neuroendocrinol*; 57: 204-212.

**Rushen J, (2003).** Changing concepts of farm animal welfare: bridging the gap between applied and basic research. *Appl. Anim. Behav. Sci* ; 81 : 199-214.

**Russak L.G et Schwartz G.E. (1997).** Feelings of parental care predict health status in midlife: a 35-year follow-up of Harvard Mastery of Stress Study. *J. Behav. Med*; 20: 1-11.

**Sapolsky R.M, Romero L.M, Munck A.U. (2000).** How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr. Rev*; 21(1): 55-89.

**Sari D.K, Kuwahara S, Tsukamoto Y, Hori H, Kunugita N, Arashidani K, Fujimaki H, Sasaki F. (2006).** Effects of subchronic exposure to low concentration of toluene on the hypothalamo-pituitary-adrenal gland axis of female mice. *J. Jpn. Soc. Atmos. Environ* ; 41 :38-43.

**Sartori S.B, Landgraf R et al. (2011).** The clinical implications of mouse models of enhanced anxiety. *Future. Neurol*; 6: 531-571.

**Sarwar N, Danesh J, Eiriksdottir G, Sigurdsson G, Wareham N, Bingham S, Boekholdt S.M, Khaw K.T, Gudnason V. (2007).** Triglycerides and the risk of coronary heart disease : 10,158 incident cases among 262,525 participants in 29 Western prospective studies. *Circulation*; 115: 450-458.

**Scanlon S.M, Williams D.C, Schloss P. (2001).** Membrane cholesterol modulates serotonin transporter activity. *Biochemistry*; 3: 10507 - 10513.

**Shi H, Sui Y, Wang X, Luo Y, Ji L. (2005).** Hydroxyl radical production and oxidative damage induced by cadmium and naphthalene in liver of *Carassius auratus*. *Comp. Biochem. Physiol*; 140 (1): 115-121.



**Silva E.J.R, Concalves E.S, Aguiar F.J.S, Evencio L.B, Lyra M.M.A, Coelho M.C.O.C, Fraga M.C.C.A, Wanderley A.G. (2007).** Toxicological studies on hydroalcohol extract of *Calendula officinalis* L. *Phytotherapy. Research*; **21**: 332-336.

**Slominski S, Creighton D, McCarty R, Tapp W.N, Pitman D, Ottenweller J.E. (2001).** Adrenal hormonal indices of stress in laboratory rats. *Physiol. Behav*; **39**: 117-25.

**Stanford, S. C. (2007).**The open field test: reinventing the wheel. *J. Psychopharm*; **21**: 134-135.

**Stocco D.M, Clark B.J. (1996).** Regulation of the acute production of steroids in steroidogenic cells. *Endocr. Rev*; **17**: 221-44.

**Strekalova T, Spanagel R, Bartsch D, Henn F, Gass P. (2004).** Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and exploration. *Neuropsychopharmacology*; **29** : 2007–2017.

**Swiergiel A, Zhou Dunn A. (2007).** effects of chronic footshock, restraint and corticotropin-releasing factor on freezing, ultrasonic vocalization and forced swim behavior in rats. *Behav. Brain. Res*; **183**: 178-87.

**Teegarden S.L et Bale T.L. (2008).** Effects of stress on dietary preference and intake are dependent on access and stress sensitivity. *Physiol. Behav*; **93**: 713-723.

**Terao T, Nakamura J, Yoshimura R, Ohmori O, Takahashi N, Kojima H, Soeda S, Shinkai T, Nakano H, Okuno T. (2000).** Relationship between serum cholesterol levels and metachlorophenylpiperazine-induced cortisol responses in healthy men and women. *Psychiatry. Research*; **96**: 167–173.

**Thomas S.R et Labor. (1992).** Colorimetric method for biological analysis. *Lab. Diag*; **4**: 99-115.

**Treit D, Menard J, Royan C. (1993).** Anxiogenic stimuli in the elevated plus maze. *Pharmacol. Biochem. Behav*; **44**: 463–469

**Uvnas-Moberg K. (1989).** Gastrointestinal hormones in mother and infant. *Acta. Paediatr. Scand*; **351**: 88-93.

**Valee M, Mayo W, Maccari S, Le Moal M, Simon H. (1996).** Long-term effects of prenatal stress and handling on metabolic parameters: relationship to corticosterone secretion response. *Brain Res*; **712**: 287-292.

**Vallee M, Maccari S, Dellu F, Simon H, Le Moal M, Mayo W. (1999).** Long-term effects of prenatal stress and postnatal handling on age-related glucocorticoid secretion and cognitive performance: a longitudinal study in the rat. *Eur. J. Neurosci*; **11**: 2906–2916.



- Veissier I, Beaumont C, Lévy F. (2007).** Les recherches sur le bien-être animal : buts, méthodologie et finalité. *INRA. Prod. Anim*; **20**: 3-10.
- Vevera J, Zukov I, Morcine T, Papezova H. (2003).** Cholesterol concentrations in violent and nonviolent women suicide attempters. *European. Psychiatry*; **18**: 23–27.
- Vierin M, Bouissou M.F. (2001).** Pregnancy is associated with low fear reactions in ewes. *Physiol. Behav*; **72**: 579-587.
- Wahlsten D, Bachmanov A, Finn D.A, Crabbe J.C. (2006).** Stability of inbred mouse strain differences in behavior and brain size between laboratories and across decades. *Proc Natl Acad Sci*; **103**:16364–16369.
- Weiss. S. M, Wadsworth G, Fletcha A, Dourish C. T. (1998).** Utility of ethological analysis to overcome locomotor confounds in elevated maze models of anxiety. *Neurosci Biobehav. Rev*; **23**: 265-271.
- Weller A, Dubson L. (1998)** .A CCKA-receptor antagonist administered to the neonate alters mother-infant interactions in the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav*; **59**: 843-851.
- Xu Y, Lin D, Li S, Shyamala S, Barish P, Vernon M. (2009).** Curcumin reverses impaired cognition and neuronal plasticity induced by chronic stress. *Neuropharmacology*; **57** : 463–71.
- Yamada H, Chiba A, Endo T, Kobata A, Anderson L. V. B, Hori S, Fukuta-Ohi H, Kanazawa S, Campbell K.P, Shirnizu T, Matsumura K. (1996).** Characterization of Dystroglycan- Laminin Interaction in Peripheral Nerve. *J. Neurochem* ; **66** :1518- 1524.
- Yau J.L, Hibberd C, Noble J, Seckl J.R. (2002).** The effect of chronic fluoxetine treatment on brain corticosteroid receptor mRNA expression and spatial memory in young and aged rats. *Mol. Brain Res*; **106**: 117–123.
- Zudaire E, Cuttitta F, Martinez A. (2003).** Regulation of pancreatic physiology by adrenomedullin and its binding protein. *Regul. Pept*; **112(1-3)**: 121-130.



## ANNEXES

**Tableau 6** : Variation des taux du poids corporel chez le lot témoin et les lots stressés par séparation ( $m \pm s$ ,  $n=8$ ).

Lots	T	5	30	1
Taux du poids corporel(g) ( $m \pm s$ )	$20,66 \pm 0,577$	$19,66 \pm 0,577$ <sup>ns</sup>	$15,33 \pm 0,577$ <sup>***</sup>	$11,66 \pm 0,577$ <sup>***</sup>

$p < 0,001 = ***$  : T vs 30, 1.

ns : T vs 5.

**Tableau 7** : Variation des taux du glucose plasmatique chez le lot témoin et les lots stressés par séparation ( $m \pm s$ ,  $n=4$ ).

Lots	T	5	30	1
Taux du glucose plasmique ( $m \pm s$ , g /l)	$0,91 \pm 0,051$	$0,98 \pm 0,030$ <sup>ns</sup>	$1,50 \pm 0,02$ <sup>***</sup>	$1,61 \pm 0,005$ <sup>***</sup>

$p < 0,001 = ***$  : T vs 30, 1.

ns : T vs 5.



**Tableau 8** : Variation des teneurs en cholestérol et en triglycérides sanguins en (g/l) chez le lot témoin et les lots traités (m±s, n=4).

Lots	T	5	30	1
<b>Taux du cholestérol plasmique</b> (m ± s, g /l)	1,81 ± 0,086	1,87 ± 0,068 <sup>ns</sup>	2,60 ± 0,104 <sup>***</sup>	3,05 ± 0,04 <sup>***</sup>
<b>Taux des triglycérides plasmique</b> (m±s, g /l)	1,38± 0,104	1,17 ± 0,280 <sup>ns</sup>	1,72 ± 0,035 <sup>n.s</sup>	2,13±0,028 <sup>***</sup>

chol : p<0,001= <sup>\*\*\*</sup> : T vs 30, 1.

ns : T vs 5.

trig : p<0,001= <sup>\*\*\*</sup> : T vs 1.

ns : T vs 5, 30.



**Tableau 10 :** Paramètres comportementaux des lots témoin et traités enregistrés dans le test du labyrinthe en croix surélevé (m±s, n=4)

Lots	T	5	30	1
Nombre d'entrée dans les bras ouverts	1,17 ± 0,23	1,46 ± 0,25 <sup>ns</sup>	4,08 ± 0,98 <sup>***</sup>	6,37 ± 1,39 <sup>***</sup>
Nombre d'entrée dans les bras fermés	11,07 ± 0,76	11,09 ± 0,99 <sup>ns</sup>	14,17 ± 1,28 <sup>***</sup>	16,46 ± 2,58 <sup>***</sup>
Temps passé dans le centre (s)	64,21±13,11	62,33 ±13,05 <sup>ns</sup>	96,37±12,98 <sup>***</sup>	141,95±16,11 <sup>***</sup>
Temps passé dans les bras fermé (s)	221,37±18,29	211,47±18,17 <sup>ns</sup>	188,39±18,06 <sup>***</sup>	117,15± 7,93 <sup>***</sup>
Temps passé dans les bras ouvert (s)	15,47 ± 3,98	16,37 ± 4,09 <sup>ns</sup>	23,17 ± 6, 15 <sup>***</sup>	41,88±8,19 <sup>***</sup>
Temps de redressement (s)	0,09±0,02	0,08 ± 0,01 <sup>ns</sup>	0,06 ± 0,01 <sup>***</sup>	0,04 ± 0,01 <sup>***</sup>
Nombre de redressement	7,25±1,5	7,02 ± 1,11 <sup>ns</sup>	5,25 ± 0,61 <sup>***</sup>	3,5 ± 0,38 <sup>***</sup>
Nombre de défécations	0,5±0,07	0,46 ± 0,04 <sup>ns</sup>	2,80 ± 0,09 <sup>***</sup>	4,00 ± 0,16 <sup>***</sup>
Nombre de miction (urines)	1,25±0,05	1,25 ± 0,09 <sup>ns</sup>	3,23 ± 0,44 <sup>***</sup>	6,33 ± 1,53 <sup>***</sup>

Tout les paramètres : p<0,001= **\*\*\*** : T vs 30, 1.

ns : T vs 5.



**Tableau 11** : Quantités d'eaux sucrées consommées suite au stress de séparation dans le test de l'eau sucrée (ml) (m±s, n=4)

Lots	T	5	30	1
Eau sucrée (ml)	194,54±51,58	216,92±27,19 <sup>ns</sup>	231,15±38,52 <sup>ns</sup>	453,43±31,76 <sup>***</sup>
Eau potable (ml)	274,54±46,72	263,46±38,80 <sup>ns</sup>	264,37±37,5 <sup>ns</sup>	151,92±22,93 <sup>***</sup>

Eau sucrée + Eau potable :  $p < 0,001 = ***$  : T vs 1.

ns : T vs 5, 30.



## RESUME

Chez l'homme, les facteurs génétiques et environnementaux influent sur la susceptibilité à de nombreuses maladies. En particulier, la qualité des relations entre un enfant et sa mère joue un rôle important pour le développement harmonieux et l'équilibre ultérieur de cet individu. Des perturbations de ces relations peuvent conduire notamment à des désordres psychiatriques graves. De plus en plus, des modèles expérimentaux animaux se développent afin de connaître les perturbations neurobiologiques qui sous-tendent une vulnérabilité à ces troubles. La modélisation chez l'animal reste cependant relative.

Le travail présenté dans cette thèse a été réalisé sur un modèle de séparation mère/nouveau-né chez le rat à l'âge juvénile. Les rats sont séparés de leur mère et isolés de leurs congénères quotidiennement pendant 5 min, 30min et une heure de leur troisième à leur quatorzième jour de vie.

Il s'agissait cette fois d'analyser le comportement de rats à l'âge juvénile et à l'âge adulte. Une première partie présente le contexte général dans lequel s'inscrit le sujet, et regroupe des données bibliographiques concernant les modèles de séparation mère/nouveau-né.

La deuxième partie présente les objectifs précis du travail. Elle sera suivie d'une troisième partie décrivant le travail expérimental qui subdivisé en 2 sous partie : la 1<sup>ère</sup> est une étude sur le métabolite glucidique et lipidique des rats à l'âge juvénile après décapitation, mais la 2<sup>ème</sup> est une étude sur les différents tests comportementaux (l'open field, labyrinthe en croix surélevé et la consommation d'eau sucrée) à l'âge adulte.

Puis les résultats obtenus seront discutés, comparés à ceux de la littérature.

**Mots clés :** stress de séparation, tests comportementaux, immunités, métabolisme glucidique et lipidique, rat.

**RETEM CHAHIRA**

**Email :** retem\_chahira@yahoo.fr