



République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi –Tébessa-

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

Département : Biologie appliquée

Mémoire de fin d'étude obtenue en vue de l'obtention du diplôme de master

Domaine : Sciences biologiques

Filière : Biologie Appliquée

Option : Biochimie Appliquée

Thème :

*Etude de l'effet du stress chronique de contention sur les paramètres biologiques et biochimiques chez les Hamsters syriens*

Elaboré par :

*Melle Brahmi Salima*

Devant le jury :

Mm.Messadia Amira	M.C.B	Université de Tébessa	Présidente
Mr. Gasmi Salim	M.A.B	Université de Tébessa	examineur
Mm. Guedri kamilia	M.C.A	Université de Tébessa	promotrice

Date de soutenance : 17 /06/2019

Note :.....

Mention :.....



Université Larbi Tébessi - Tébessa

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Larbi Tébessi - Tébessa  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

**Déclaration sur l'honneur de non-plagiat**  
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : Brohmi Salma

Régulièrement inscrit(e) en **Master** au département : Biologie Appliquée

N° de carte d'étudiant : 14/3402/1713/2014

Année universitaire : 2018/2019

Domaine : Science de la Nature et vie

Filière : Biologie Appliquée

Spécialité : Biochimie

Intitulé du mémoire : Etude de l'effet du stress chronique de

contient sur les paramètres biochimiques et biochimiques chez  
les hamsters Syrien.

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

**Sanctions en cas de plagiat prouvé :**

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : 27

Signature de l'étudiant(e) :



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ




رَبِّ أَوْزَعْنِي أَنْ أَشْكُرَ نِعْمَتَكَ الَّتِي  
أَنْعَمْتَ عَلَيَّ وَعَلَى وَالِدَيَّ وَأَنْ أَعْمَلَ  
صَالِحًا تَرْضَاهُ وَأَصْلِحْ لِي فِي ذُرِّيَّتِي إِنِّي  
تَبْتُ إِلَيْكَ وَإِنِّي مِنَ الْمُسْلِمِينَ



الأحقاف: 15





## REMERCIEMENT

*Tout d'abord, je remercie Dieu de m'avoir donné la santé, le courage et la patience et de m'avoir mis sur le chemin du savoir.*

*Je tiens tout particulièrement à exprimer mes plus vifs remerciements et ma profonde Gratitude madame le docteur Guedri kamilia , pour le temps conséquent qu'il m'a accordée, ses qualités pédagogiques et scientifiques, sa franchise, sa sympathie, sa bonne humeur, qui ont fait de ce semestre une aventure incroyable. J'ai beaucoup appris à ses côtés et je lui adresse ma gratitude pour tout cela ;  
"Merci beaucoup, madame !»*

*Je remercie, très vivement monsieur le docteur Gasmi Salim pour l'intérêt et l'attention qu'il a accordé a ce travail , accepté de faire partie du jury et d'apporter ses critiques constructives.*

*Mes remerciements s'adressent aussi au docteur Mesaadia Amira de m'avoir accordé le privilège de participer à ce jury et d'examiner avec soin ce mémoire*

*Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à madame Aoun Souad la technicienne qui m'a accueillie au sein de son laboratoire biochimique. Il y a de cela de semestre. Je le remercie pour sa compétence et sa disponibilité.*

*Ma plus grande gratitude va à Mm. Zeghib Asia, pour ces encouragements et ces nombreux conseilset à Monsieur Selatnia Faride de Laboratoire al Amal pour son aide au dosage de l'ACTH et de l' FNS.*

*Je voudrai remercie chaleureusement Brahmi Halima compagnon le plus cher pour sa bonne honneur qui ont fait de ces années une aventure incroyable.*

*Je voudrais aussi remercier à tous mes collègue et a tous les étudiantes de la 2eme année master biochimie et pharmacologie, promotion 2019 ainsi qu'à tous mes collègues(es) à l'université de Larbi Tebessi*



## DEDICACE

*Je dédie ce travail :*

*A mon père Saddek et ma mère Elhadba qui m'ont soutenu moralement et tout au long de mes études.*

*Aussi je dédie ce travail :*

*A mes frères : lazhar ,Abdkhani ,Samir, belkhir et*

*A mes sœurs : Malika, AMEL*

*A mon compagnon le plus cher : Halima*

*A tous mes amis (es) un par un avec qui j'ai passé de merveilleux moments et avec qui j'ai partagé malheur et bonheur en particulier :*

*« yousra , Anoud , bekkir , Abderrahim , Mofida , kaouther ,zakiyaManel ,Nardjess djouhayna , romayssa, Nassima ,Anas , Hanène .... » .je souhaite un avenir plein de joie, de réussite et de bonheur pour eux.*

*L'université de Tébessa (département de biologie)*

*A tous que personnes qui ont participé de près ou loin à l'élaboration de ce projet.*

## liste d'abréviations et symboles

---

**HHS** : L'axe hypothalamo-hypophysé-surrénalien

**MRS** : récepteurs glucocorticoïdes

**GRS** : récepteurs mineralocorticoïdes

**TRO** : teste de reconnaissance des objets

**SGA** : syndrome d'adaptation généralisée

**SNC** : système nerveux central

**SNP** : système nerveux périphérique

**SE** : système endocrinien

**SNVOS** : système nerveux orthosympathique

**SL** : système limbique

**CRF** : Corticotrophin Releasing Factor

**AVP** : noyau para ventriculaire

**LC** : locus coeruleus

**ANOVA** : Analyse de la variance

**GABA** : Acid gamma aminobutyrique

**ACTH** : Adrenocorticotrophinormon

**OF** : Open Field

**EPM** : elevated place maze

**T** : Témoin

## Liste des figures

N°	Titre	Page
<b>1</b>	De l'équilibre (homéostasie) au stress	<b>5</b>
<b>2</b>	Activation de l'axe corticotrope suite au stress.	<b>9</b>
<b>3</b>	Activation de l'axe sympathique lors du stress (Kalvez, 2010).	<b>10</b>
<b>4</b>	les hamsters dans les cages. (Photos personnel)	<b>15</b>
<b>5</b>	Protocol expérimentale	<b>16</b>
<b>6</b>	Procédure du stress de contention	<b>17</b>
<b>7</b>	Etude de l'activité locomotrice	<b>18</b>
<b>8</b>	Les instruments du test de labyrinthe classique	<b>19</b>
<b>9</b>	Etude de la mémorisation (test TRO)	<b>19</b>
<b>10</b>	Prélèvement sanguin et des organes	<b>20</b>
<b>11</b>	Un automate d'Abacus 380 à 19 paramètres	<b>21</b>
<b>12</b>	Courbe standard pour le calcul d'MDA	<b>27</b>
<b>13</b>	dosage de MDA	<b>27</b>
<b>14</b>	dosage de GSH	<b>28</b>
<b>15</b>	courbe d'étalonnage du sérum albumine bovine	<b>29</b>
<b>16</b>	Dosage des protéines	<b>30</b>
<b>17</b>	dosage de l'acétylcholinestérase	<b>31</b>
<b>18</b>	Variation du poids corporel chez hamsters témoins et stressés	<b>33</b>
<b>19</b>	variation de l'évaluation relative de cerveau et surrénale chez les hamsters témoins et stressé durant 16 jours de stress .	<b>33</b>
<b>20</b>	Variation des données de test de Labyrinthe Classique chez les hamsters stressés durant 16 jours .	<b>35</b>
<b>21</b>	Variation des données du test Open Field chez les hamsters stressés durant 16 par le stress de contention.	<b>36</b>
<b>22</b>	Variation des données du test ORT des objets chez les hamsters stressés durant 16 par le stress de contention .	<b>37</b>



## Liste des figures

<b>23</b>	<i>les variations de cholestérol et la glycémie chez les groupe de hamster témoins et stressé</i>	<b>38</b>
<b>24</b>	Variation des paramètres hématologiques chez les hamsters témoins et Stressé	<b>39</b>
<b>25</b>	<i>variationde l'ACTH chez les hamsters témoins et stressé</i>	<b>39</b>
<b>26</b>	variation de l'AchE chez les hamsters témoins et stressé	<b>40</b>
<b>27</b>	<i>variation de MDA chez les hamsters stressés et témoins</i>	<b>40</b>
<b>28</b>	les variations de GSH chez les groupes d'hamsters stressés et témoins	<b>41</b>
<b>29</b>	<i>les variations de GPx chez les groupes des hamsters stressés et témoins</i>	<b>41</b>

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
<b>1</b>	les variations relative de cerveau et surrénale chez les hamsters témoins et stressé	<b>34</b>
<b>2</b>	Les variations de labyrinthe classique chez les hamsters témoins et stressants.	<b>34</b>
<b>3</b>	Les variations d'open Field chez les hamsters témoins et stressants.	<b>35</b>
<b>4</b>	Les variations de reconnaissance des objets (ORT) chez les groupes d'hamsters stressé et témoins.	<b>36</b>
<b>5</b>	Les variations des paramètres biochimique chez les hamsters stressants et témoins.	<b>37</b>
<b>6</b>	Variation des paramètres hématologiques chez les hamsters témoins et Stressé	<b>38</b>
<b>7</b>	Les variations de l'ACTH chez les hamsters témoins et stressé	<b>39</b>
<b>8</b>	Les variations de l'AchE chez les hamsters témoins et stressés	<b>40</b>
<b>9</b>	Les variations cytosolique de glutathion (GSH), l'activité de la glutathion peroxydase (GPx), Malonyldaldéhyde(MDA) chez les hamsters stressé et témoins. Les valeurs sont exprimé en moyen et $\pm$ ES :* différence significative comparées aux témoins P 0,05et	<b>42</b>

# Table des matières

Remerciements
Dédicace
Résumé
Abstract
صغلا م
Liste des abréviations et symboles
Liste des tableaux
Liste des figures
Table des matières

Introduction.....	01
-------------------	----

## Première partie : Recherche bibliographique

<b>1. Notion Générale sur le Stress .....</b>	<b>03</b>
<b>1.1. Définition.....</b>	<b>03</b>
<b>1.4. Les types de stress.....</b>	<b>04</b>
<b>1.4.1. Stress de l'expatriation.....</b>	<b>05</b>
<b>1.4.2. Stress traumatique .....</b>	<b>05</b>
<b>1.4.3. Stress cumulatif.....</b>	<b>06</b>
<b>1.5. Physiologie de stress.....</b>	<b>06</b>
<b>1.6. Réponse au stress (syndrome général d'adaptation (SGA)).....</b>	<b>07</b>
<b>1.7. Les mécanismes du stress.....</b>	<b>08</b>
<b>1.8. Le rôle du stress, ses effets .....</b>	<b>10</b>
<b>1.8.1. Effets du stress aigue .....</b>	<b>10</b>
<b>1.8.2. Effets du stress chronique .....</b>	<b>11</b>
<b>1.9. Modulation des systèmes de stress en cas de stress chronique.....</b>	<b>12</b>
<b>1.10. Conséquences Pathologiques d'un stress chronique.....</b>	<b>12</b>
<b>Deuxième partie : partie expérimentale</b>	
<b>Matériels et méthode : .....</b>	<b>15</b>
<b>1. Matériel biologique.....</b>	<b>15</b>
<b>1.1. Animaux d'élevage.....</b>	<b>15</b>
<b>1.2. Lotissement des animaux.....</b>	<b>15</b>
<b>2- Méthodes.....</b>	
<b>2.1. Application du stress de contention.....</b>	<b>17</b>
<b>2.2. Etude comportementale.....</b>	<b>17</b>

# Table des matières

2.2.1. Test du champ ouvert (Open Field.....	18
2.2.2. Test de labyrinthe classique.....	18
2.2.3. Test de reconnaissance des objets (ORT.....	19
2.3. sacrifice.....	21
2.3.1. Prélèvement sanguin.....	21
2.3.2. Prélèvement des organ.....	21
2.4. réalisés des paramètres biologiques.....	21
2.4.1. Dosages des paramètres hématologique.....	21
2.4.2. Dosage des paramètres biochimiques.....	21
2.4.2.1. Mesure de la glycémie.....	21
2.4.2.2. dosage de cholestérol .....	22
2.4.2.3. Mesure de l'ACTH .....	23
2.4.3. Dosage des paramètres du stress oxydant.....	26
2.4.3.1. MDA.....	26
2.4.3.2. GSH.....	27
2.4.3.3. protéines.....	28
2.4.3.3. AchE.....	30
2.4.3.5. GPx.....	31
2.5. Traitements statistique .....	32
4.Résultats .....	
4.1.Effet de stress de contention sur l'évolution pondérale.....	33
4.2.Effet de stress de contention sur Poids relative de cerveau et surrénale.....	33
4.3.Effet du stress de contention sur le comportement.....	34
4.4.L'effet de stresse sur les paramètres biochimique.....	37
4.5.L'effet de stresse sur la neurotransmission.....	40
4.6.L'effet de stresse sur le statu redox.....	40
5.Discussion.....	13
Conclusion.....	50
Référence bibliographique .....	

### Résumé

Le stress est une problématique actuelle très importante aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Chaque individu, humain et animal, est confronté dans sa vie quotidienne à des situations stressantes. L'exposition chronique entraîne une modification comportementale et immunitaire chez l'homme et chez le rongeur. Expérimentalement, cette modification est en fonction de l'intensité et du type de stress employé.

Nous visons par cette expérimentation à étudier les effets de l'exposition chronique au stress de contention sur les l'axe Neuro-Immuno-Endocrinien chez un modèle animale.

L'étude a été menée sur des Hamster syriens, ces dernières ont subi un stress chronique de contention (3h/jour/16jours). Des tests comportementaux ont été réalisés après le stress notamment le test du labyrinthe classique pour mesurer le degré de l'anxiété , test des champs ouverts pour évaluer l'activité locomotrice , le test de reconnaissance des objets pour mesurer la capacité mémoratif et le teste de reconnaissance olfactif pour évaluer l'olfaction , ainsi des prélèvements rétro-orbitaires ont été réalisé en vue d'étudier les paramètres biochimiques (glycémie, cholestérol et paramètres du stress oxydants), hormonaux (ACTH) et la formule de numération sanguine (leucocytes totaux, globules rouges, lymphocytes, granulocytes, monocytes et plaquettes). Les animaux ont été décapitées pour la mesure du poids relatif des organes (Le cerveau et les surrénales).

Nos résultats ont montré chez les hamsters stressés une :

- Diminution du poids du cerveau et augmentation du poids de la glande surrénale.
- Perturbation du métabolisme énergétique (augmentation de la glycémie et du cholestérol)
- Augmentation de l'anxiété avec diminution de l'activité exploratrice évaluée dans les tests du Labyrinthe classique et du champ ouvert.
- Déficience de la mémoire.
- Perturbation des paramètres hématologiques et hormonaux
- Stress oxydatif cérébrale qui s'installe.

Mots clés : Stress de contention, cholestérol, ACTH, comportement, hamster, anxiété.

### Abstract

Stress is a very important issue today in both humans and animals. Every individual, human and animal, is confronted in his daily life with stressful situations. Chronic exposure causes behavioral and immune modification in humans and rodents. Experimentally, this change is based on the intensity and type of stress used.

We aim by this experiment to study the effects of chronic exposure to restraint stress on the Neuro-Immuno-Endocrine axis in an animal model.

The study was conducted on Syrian Hamsters, the latter suffered chronic stress of contention (3h / day / 16 days). Behavioral tests were performed after the stress including the classic labyrinth test to measure the degree of anxiety, open field test to assess locomotor activity, the object recognition test to measure the memory capacity and the test of Olfactory recognition to evaluate the olfaction, thus retro-orbital samples were made to study the biochemical parameters (glycemia, cholesterol and oxidative stress parameters), hormonal (ACTH) and the Blood count formula (WBC, GR, lymphocytes, granulocytes, monocytes and platelets)

The animals were decapitated for the measurement of the relative weight of the organs (the brain and the adrenals).

Our results showed in stressed hamsters:

- Decreased brain weight and increased weight of the adrenal gland.
- Disturbance of energy metabolism (increase of blood sugar and cholesterol)
- Anxiety increase with decreased exploratory activity assessed in the Classic Labyrinth and Open Field tests.
- Deficiency of memory.
- Disturbance of hematological and hormonal parameters
- Brain oxidative stress increases.

Keywords : Restraint stress, cholesterol, ACTH, behavior, hamster, anxiety.

## الملخص

يواجه كل فرد، بشر أو حيوان، في حياته اليومية أوضاعاً مرهقة. بحيث ان التعرض المزمن يسبب اضطرابات سلوكية و مناعية لدى البشر والقوارض. من الناحية التجريبية ، يعتمد هذا التغيير على شدة ونوع الضغط المستخدم .

نهدف من خلال هذه التجربة إلى دراسة آثار التعرض المزمن للتوتر على محور الجهاز العصبي- المناعي- الغدد الصماء ا في نموذج حيواني.

وقد أجريت الدراسة على الهامستر السوري، حيث خضع هذا الأخير الى توتر متكرر (3 ساعات / يوم/ 16 يوماً). أجريت الاختبارات السلوكية بعد الإجهاد بما في ذلك اختبار المناهضة الكلاسيكي لقياس درجة القلق ، واختبار المجال المفتوح لتقييم النشاط الحركي ، واختبار التعرف على الأشياء لقياس سعة الذاكرة ، و تم إستخلاص عينات دموية من العين لدراسة المعلمات البيو كيميائية (نسبة السكر في الدم والكوليسترول ومعلومات الضغط المؤكسد) ، الهرمونية(الهورمون الموجه لقشر الكظر) وصيغة حساب الدم (الخلايا اللمفاوية ،المحبية ،الخلايا الوحيدة والصفائح الدموية .تم ذبح الحيوانات لقياس الوزن النسبي للأعضاء (الدماغ والغدد الكظرية)

وأظهرت نتائجنا في الهامستر الخاضع للتوتر ما يلي:

- انخفاض وزن المخ وزيادة وزن الغدة الكظرية
- اضطراب استقلاب الطاقة (زيادة نسبة السكر في الدم والكوليسترول)
- زيادة القلق مع انخفاض النشاط الاستكشافي الذي تم تقييمه في الاختبارات الكلاسيكية للمتاهات والمجال المفتوح
- نقص الذاكرة
- اضطراب المؤشرات الدموية والهرمونية
- الإجهاد التأكسدي

**الكلمات الرئيسية:** السلوك ،، ضبط النفس ،الهورمون الموجه لقشر الكظر، الهامستر التوتر.

# **Introduction**



### Introduction

Le stress est une condition de réponse hautement individualisée de l'organisme à des facteurs externes et internes. C'est l'un des facteurs importants qui agissent sur une population humaine dans tout les payés. Il induit une contrainte sur l'endurance émotionnelle et physique qui a été considérée comme le facteur fondamental dans l'étiologie de nombreux troubles psychiques et physiques (**Moore et Cunningham 2012 ; Stojanovich et Marisavljevich,2008**).

En réponse aux facteurs de stress, il se produit une série de changements comportementaux, neurochimiques et immunologiques qui devraient servir dans une capacité d'adaptation.

L'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (HPA) est un adaptateur endocrinien clé contre les facteurs de stress et joue un rôle important dans la physiopathologie des maladies psychiatriques liées au stress, telles que la dépression et les troubles anxieux (**De Kloet *al.*, 2005**).

Le stress chronique induit une hyper activation de l'axe Corticotrope (hypothalamo-hypophysio-surrénalien) et de l'axe Sympathique ce qui induit une importante sécrétion de catécholamine et de glucocorticoïdes au niveau central et périphérique qui est du au déficit dans le rétrocontrôle négative exercés par les glucocorticoïdes sur les centres nerveux et les différents tissus de l'organisme qui seraient à la base de l'apparition de nombreux changements physiologiques et psychologiques, ces changements pathologiques se révèlent dans les jours, les semaines, voire les années qui suivent les événements stressants par une dérégulation de l'axe du stress, des changements au niveau des régulations géniques, une désensibilisation des récepteurs nucléaires MRS et GRS. Qui mènent a des troubles cardiaque, digestive, tumeur ,hypertension ....etc.

Le stress de contention est le type de stress le plus intense dans les modèles de rongeurs et qu'il a un effet comparatif chez l'homme ; ce type de stress a été utilisé dans la présente étude.

Il a été démontré que l'exposition au stress de contention chronique chez le rat modifiait les fonctions cognitives telles que l'apprentissage et la mémoire, ainsi que les performances altérées dans le test de labyrinthe aquatique de **Morris (Kazushige et al .,2000 ; Veneroet *al.*, 2002)**, ainsi que certains paramètres comportementaux chez la souris, tels que les troubles anxieux. Par ailleurs, certaines études ont montré que les fonctions de reproduction sont supprimées dans diverses conditions de stress

Dans notre étude, nous avons opté pour une démarche expérimentale en se basant sur l'hypothèse du rôle central des glucocorticoïdes dans l'apparition des troubles neurocomportementales et cognitifs en basant sur le recrutement des testes Neurocomportementaux, notamment le teste de labyrinthe classique pour mesurer le degré d'anxiété, le teste de reconnaissance des objets (TRO) pour apprécier les capacités mémoratives, le teste de reconnaissance olfactif pour évaluer la capacité de l'animale à reconnaître et à s'orienter vers les odeurs familières et le teste des champs ouverts pour évaluer l'activité locomotrice chez un modèle animale le Hamster Syrien.

En plus des investigations sur l'effet du stress de contention sur l'axe immuno-endocrinien ont été évalué.

# **Synthèse Bibliographiques**

---

## Synthèse bibliographique

### 1. Notion Générale sur le Stress

Le stress touche non seulement l'homme, mais aussi le monde animal et représente un problème éthique et économique chez les animaux d'élevage. Une problématique importante en élevage est celle du bien-être animal. De nombreux concepts peuvent définir le bien-être, mais il se réfère principalement à l'état psychologique subjectif d'un animal en relation avec son environnement interne et externe (**Fraser, 2005 ; Rushen, 2003**). De manière schématique, le bien-être animal peut se définir de 3 façons différentes : l'absence de mortalité et de morbidité, l'absence de stress ou la possibilité d'exprimer les comportements naturels de l'espèce (**Larrère, 2007**). Le stress induit donc une diminution du bien-être. Ainsi, une mesure classique consiste à évaluer les marqueurs physiologiques de stress (**Mormede et al., 2007**). Le maintien du bien-être animal est une obligation réglementaire permettant de respecter l'animal comme un être sensible mais est également d'une utilité économique car une baisse du bien-être engendre souvent une baisse de la productivité en élevage (**Veissier et al., 2007**). La question du bien-être animal et de l'absence de stress dans les élevages est donc fondamentale.

#### 1.1. Définition du stress

Le mot stress est aujourd'hui largement répandu et utilisé. Malgré l'universalité de ce terme, la notion de stress reste subjective et il est difficile de décrire précisément ce qu'il est et d'en donner une définition précise. Le stress est donc une notion complexe et bien qu'elle ait vu le jour il y a plus de 100 ans, aucune définition n'est encore unanimement reconnue.

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

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

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

également des facteurs environnementaux et génétiques ont été de plus en plus pris en compte. Le concept de stress est devenu largement multidimensionnel, ce qui complique l'élaboration d'une définition claire.

Actuellement, beaucoup d'opinions sur ce qu'est le stress et comment le définir et le mesurer existent mais aucune définition n'est unanimement acceptée. Aujourd'hui, le stress peut être toutefois résumé comme une situation perturbée où l'homéostasie est menacée. La réponse adaptative vise à maintenir un équilibre et est influencée par des facteurs psychologiques, génétiques et innés, l'expérience mais aussi l'environnement et le style de vie. Même s'il est clair que la réponse de stress implique l'activation du système commun à tous les agents stressants, elle ne semble pas exclusivement non spécifique comme l'avait énoncé Selye et chaque stressor induit également une réponse spécifique (**Chrousos et Gold, 1998**).

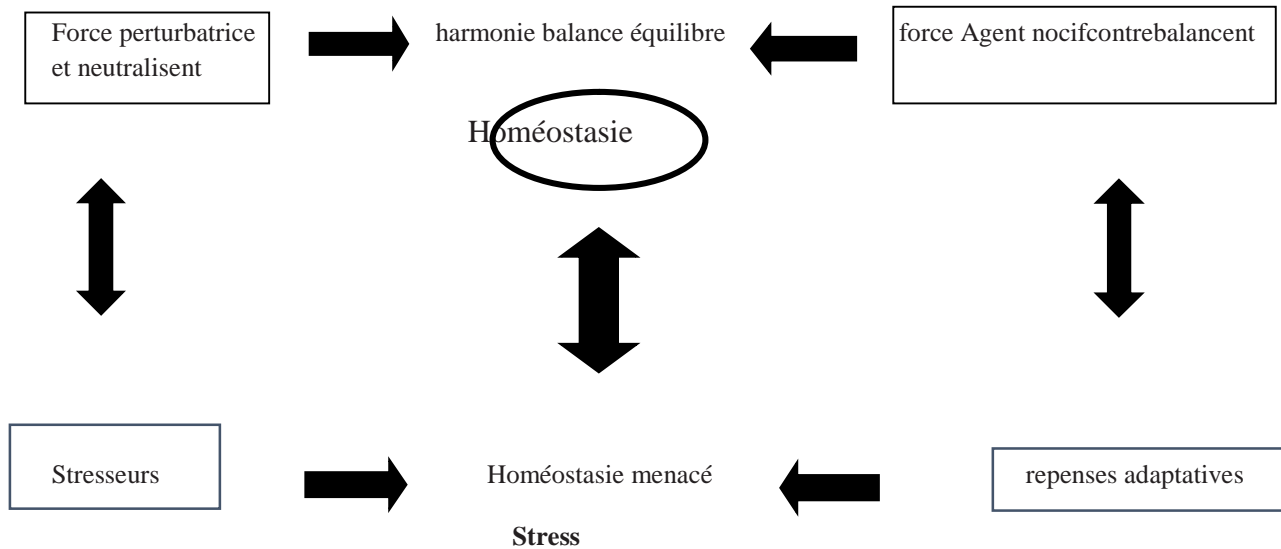
### 1.3. Les Stresseurs

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

Un stressor est défini comme un stimulus engendrant une réponse adaptative, le stress. Dans toutes les définitions existantes du concept, le stress est à distinguer du stressor mais le langage courant emploie généralement les 2 mots comme synonymes. Ainsi, on parle de stress de froid, de stress de contention, de stress infectieux pour se référer au froid, à la contention ou à l'infection induisant un stress. Bien que ces expressions soient acceptées et largement employées, il faut garder à l'esprit la distinction entre les notions de stress et stressor.

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

Les stressors physiques également appelés stressors systémiques représentent une perturbation réelle et effective de l'homéostasie comme par exemple l'hypoxie, l'exercice intense, l'hémorragie ou le froid. Les stressors psychologiques ou émotionnels reflètent une menace prédite issue de prédispositions conditionnées basées sur la mémoire et les expériences passées ou par des prédispositions innées spécifiques à chaque espèce. Les réponses sont générées au niveau central en l'absence de perturbations physiologiques réelles et représentent une anticipation à la perturbation potentielle de l'homéostasie. Ces stressors sont divers et spécifiques de chaque individu.



**Figure 1 : De l'équilibre (homéostasie) au stress**

(Weiss, 1971a et b ; MacLean, 1972).

### 1.3.1. Stress aigu et stress chronique

Dans les deux cas, la réponse de l'organisme se fait au niveau physique, psychologique et biologique. Elle est responsable de perturbations des différents métabolismes et de l'équilibre biochimique.

**1.3.2. Le stress chronique** correspond à des agressions violentes ou modérées, mais répétées et rapprochées dans le temps. Il entraîne un épuisement psychologique et glandulaire progressif responsable des maladies dites d'adaptation. La répétition de phénomènes de stress exige une adaptation fréquente et constitue à la longue une dose totale excessive dépassant le seuil de résistance de l'individu (Boudarene *et al.*, 1997).

### 1.4. Les types de stress

Il existe 3 types de stress

#### 1.4.1. Stress de Séparation

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

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

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

### 1.4.3. Stress cumulatif

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

### 1.5. Physiologie du stress

Selye fut le premier à proposer une véritable théorie concernant le stress et ses effets sur l'organisme. Il remarqua que des perturbations différentes provoquaient un certain nombre de réponses similaires chez les animaux. D'après lui, ces réponses constituaient la base de ce qu'il appela le Syndrome Général d'Adaptation (SGA) (**Selye, 1956**). Le SGA comprend trois étapes. Une phase d'alarme ou phase initiale de la réponse, suivie par une phase de résistance au cours de laquelle l'organisme essaie de s'adapter à la perturbation et de rétablir l'homéostasie. Si l'organisme ne parvient pas à rétablir un équilibre, il entre dans une phase d'épuisement, qui peut conduire à l'apparition de diverses pathologies ou à la mort (**Selye, 1974**).

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

Sous le terme de "réponse au stress", on désigne aujourd'hui un ensemble de réactions Comportementales et physiologiques permettant de maintenir l'homéostasie de l'organisme face à une situation défavorable (**Chrousos et Gold, 1992**). Les réactions comportementales ont pour but de stimuler l'attention, la vigilance, voire l'agressivité de l'animal.

Les réactions physiologiques servent à rediriger l'énergie vers le système nerveux central, certains muscles et les parties éventuellement lésées de l'organisme de façon à faciliter son adaptation. Au cours de la réponse au stress, on assiste notamment à une augmentation de la fréquence cardiaque, de la fréquence respiratoire, de la pression sanguine, de la lipolyse, de la glycolyse et de la gluconéogenèse de façon à augmenter les quantités circulantes de substrats vitaux (oxygène et glucose notamment). Les fonctions physiologiques qui ne sont pas immédiatement nécessaires (croissance, reproduction, certaines fonctions immunitaires) sont inhibées (**Chrousos et Gold, 1992**). La capacité d'un organisme à s'adapter à une perturbation ne dépend pas uniquement de la rapidité et de l'efficacité avec lesquelles il met en place une réponse de stress. Elle dépend aussi en grande partie de sa capacité à générer une contre-réaction qui le protège d'une réponse au stress disproportionnée. En absence de contre-réaction, la réponse au stress perd ses propriétés adaptatives et contribue à l'apparition de troubles pathologiques. Chez l'homme par exemple, une absence d'inhibition de la réponse au stress peut engendrer une anxiété chronique, une dépression, des troubles obsessionnels compulsifs ou une anorexie nerveuse (**Chrousos et Gold, 1992**).

La réponse de l'organisme au stress met en jeu le système nerveux central (SNC), Système nerveux périphérique (SNP) et système endocrinien (SE) qui prennent en charge les stress selon trois phases (**Boudarene et al., 1997**) : Réception du stress par les organes sensoriels

et leurs innervations afférentes ; Programmation de la réaction au stress au niveau du cortex et du système limbique (SL) (amygdale, bulbe olfactif, hippocampe, septum, corps mamillaire...). Le couple cortex/SL est un système d'analyse comparative utilisant comme banque de données des "souvenirs" issus d'expériences affectives et de l'apprentissage. Ainsi, le cerveau compare la situation nouvelle (le stress) à des expériences passées afin d'élaborer une réponse adaptée ; et enfin, déclenchement de la réponse de l'organisme via l'amygdale et l'hippocampe qui agissent sur l'hypothalamus et la formation réticulée du tronc cérébral afin d'activer le système nerveux orthosympathique (SNVOS) et le système endocrinien (SE) (glandes surrénales). La formation réticulée déclenche plus particulièrement la réaction d'alarme dont l'amplitude est modulée par le SL.

Le SGA représente toutes les modifications non spécifiques, c'est à dire indépendantes du type de stress, qui se développent dans l'organisme et dans le temps au cours de l'exposition continue à un stress. C'est la réponse apportée au facteur de stress. Elle se traduit par un ensemble de modifications biologiques responsables des différentes manifestations symptomatiques fonctionnelles et organiques (**Selye, 1974**).

Le SGA se déroule dans sa forme typique en trois phases : (une phase d'alarme ; une phase de résistance et une phase d'épuisement). Nous présentons, ci-après, les trois phases citées précédemment. Elles s'expriment par une répercutions au niveau neurobiologique et somatique, et au niveau comportemental et psychologique.

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

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

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

### 1.7. Les mécanismes du stress

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

Le contrôle central du stress est situé dans l'hypothalamus et le tronc cérébral. Les principaux acteurs de ce contrôle central sont les neurones sécrétant du CRF et de la vasopressine (AVP) localisés dans le noyau para ventriculaire de l'hypothalamus (PVN) et le locus coeruleus (LC) associé à d'autres groupes de neurones à noradrénaline du tronc cérébral formant le système LC/NA du système nerveux **sympathique (Chrousos et Gold,1992 ; Tsigos et Chrousos,2002)**. L'axe corticotrope et les efférences du système sympathique vers la médullosurrénale représentent les 2 principales branches effectrices périphériques



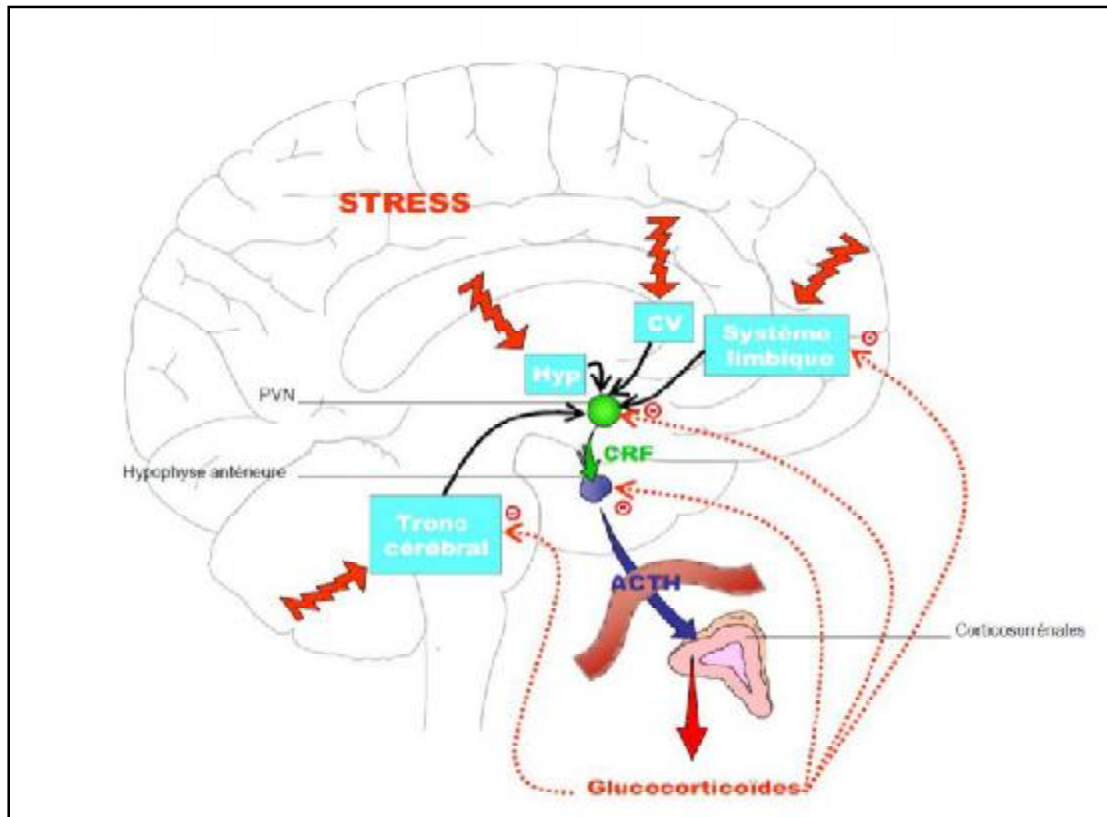
permettant le contrôle par le cerveau des différents organes durant l'exposition au stress (Tsigos et Chrousos, 2002).

### a. Axe corticotrope

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

L'activité de l'axe corticotrope est importante aussi bien en conditions non stressantes qu'en conditions stressantes. Ainsi, en conditions non stressantes, le CRF et l'AVP sont sécrétés de manière pulsatile et synchronisée dans le système porte hypophysaire suivant un rythme circadien (Charmandari *et al.*, 2005). Ce rythme est contrôlé par les noyaux suprachiasmatiques de l'hypothalamus antérieur qui représentent le siège de la régulation des rythmes de nombreux comportements et processus physiologiques (Saper *et al.*, 2005).

L'augmentation de l'amplitude et de la fréquence des sécrétions pulsatiles durant les premières heures de la phase d'activité (le matin pour les espèces diurnes comme l'homme, le début de la nuit pour les espèces nocturnes comme le rat) entraîne une augmentation de la sécrétion d'ACTH et de glucocorticoïdes (Gudmundsson et Carnes, 1997 ; Lightman *et al.*, 2008). Ainsi, les glucocorticoïdes sont sécrétés suivant un rythme précis au cours de la journée. Ce rythme permet de coordonner les événements circadiens comme les phases de glucocorticoïdes sont sécrétés suivant un rythme précis au cours de la journée. Ce rythme permet de coordonner les événements circadiens .



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

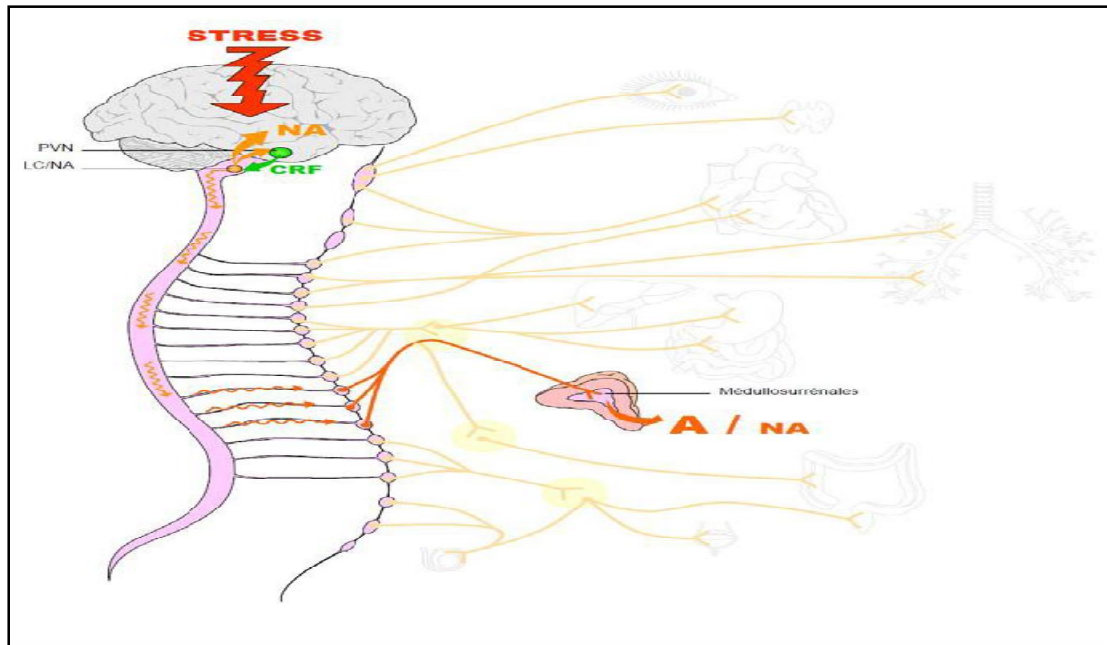
## b. Axe sympathique

### -Activation du système LC/NA

Le locus coeruleus (LC), situé dans le pont du tronc cérébral, est le plus important noyau noradrénergique (A6) du système nerveux central. Avec les noyaux noradrénergiques A1 et A2 respectivement situés dans la formation réticulée ventrolatérale du bulbe rachidien, le LC constitue le système LC/NA (Carrasco et Van de Kar, 2003 ; Itoi, 2008). Les neurones du système LC/NA possèdent des projections entre eux et vers le système limbique, l'hypothalamus, le tronc cérébral et la moelle épinière notamment (Itoi et Sugimoto, 2010). Il semble que ce système contribue à la majorité de la noradrénaline présente dans le cerveau car la noradrénaline plasmatique est hydrosoluble et ne peut pas traverser la barrière hématoencéphalique (Habib *et al.*, 2001).

Lors du stress, les informations d'ordre émotionnel ou physique sont intégrées par les structures appropriées (amygdale et hippocampe ou noyau parabrachial du tronc cérébral par exemple) et peuvent réguler directement le système LC/NA, engendrant une libération massive et très rapide de noradrénaline au niveau central. Le système LC/NA reçoit des fibres nerveuses de neurones CRF du PVN de l'hypothalamus et innerve réciproquement le PVN avec des fibres nerveuses noradrénergiques. L'activation du PVN par le stress entraîne alors une stimulation du système LC/NA grâce à la fixation du CRF sur des récepteurs du type 1.

Cette stimulation est réciproque car la libération de noradrénaline active le PVN via des récepteurs  $\alpha_1$ -noradrénergiques (Kiss et Aguilera, 2000 ; Charmandari *et al.*, 2005 ; Dunn et Swiergiel, 2008). Comme pour les neurones CRF, les neurones noradrénergiques sont influencés par d'autres systèmes centraux. Les systèmes GABAergiques et opioïdes l'inhibent alors que les systèmes sérotoninergiques et cholinergiques le stimulent (Szafarczyk *et al.*, 1993 ; Kyrou et Tsigos, 2009).



**Figure 3.** Activation de l'axe sympathique lors du stress (Kalvez, 2010).

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

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

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

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

Les principales adaptations comportementales incluent un état d'éveil, d'alerte, de vigilance et des capacités cognitives accrues combinés avec une attention focalisée, une

analgésie augmentée et une inhibition de comportements liés aux fonctions végétatives concurrentes comme l'alimentation et la reproduction. Ces adaptations sont permises par une facilitation ou une inhibition au niveau central de voies nerveuses modulant ces fonctions. En parallèle, des adaptations physiques permettent de promouvoir en périphérie une redirection adaptative de l'énergie. L'oxygène et les nutriments sont sélectivement dirigés vers le système nerveux central et les sites de l'organisme impliqués dans la réponse de stress comme le cœur ou les muscles, où le besoin est transitoirement augmenté. Cette redirection de l'énergie se fait grâce à la modification du tonus cardiovasculaire menant à l'augmentation du rythme cardiaque et de la pression artérielle, ainsi qu'à l'augmentation du rythme respiratoire.

L'augmentation du métabolisme intermédiaire (glycolyse, néoglucogenèse, lipolyse) permet de promouvoir la disponibilité des substrats vitaux. En corollaire, les fonctions consommant de l'énergie comme la digestion, la croissance, l'immunité sont temporairement supprimées permettant une utilisation optimale de l'énergie. Le succès de ces adaptations tient non seulement à la rapidité de mise en place de celles-ci mais également à la capacité de l'organisme à contenir la réponse de stress en quantité et dans le temps. Ainsi, tous les éléments de la réponse de stress sont contre-régulés et les fonctions de détoxification au niveau cellulaire sont activées pour éliminer de l'organisme les métabolites produits durant la réponse adaptative. Bien que les réponses adaptatives face aux agents stressants soient bénéfiques à court terme, elles peuvent engendrer des manifestations désagréables (**Chrousos, 2009**). En effet, il est fréquent que ces réponses entraînent des manifestations allergiques, des migraines, des épisodes d'hypertension, des douleurs abdominales, des indigestions, des diarrhées ou des constipations. Malgré ces manifestations possiblement gênantes, la réponse de l'organisme à un stressor est positive à court terme car elle maximise la survie de l'organisme. Toutefois, la capacité à limiter quantitativement et dans le temps ces réponses adaptatives est également cruciale pour la survie de l'individu. Si les processus de régulation de la réponse de stress échouent ou si l'exposition aux agents stressants est répétée trop fréquemment les changements adaptatifs peuvent devenir chroniquement excessifs et les effets cataboliques, anti-reproductifs, anti-croissance et immunosuppresseurs contribuent au développement d'effets néfastes et de pathologies.

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

C'est par ces changements pathologiques appelés maladies de l'adaptation que Selye a commencé à étudier le stress (**Selye, 1998**). L'hyperactivation des systèmes de stress est impliquée dans un grand nombre de problèmes de santé chez l'homme. Comme (**Chrousos et Gold, 1992**) l'expliquent, le stress a une composante non spécifique et les réponses mal adaptées donc inappropriées peuvent être considérées comme des stressors alimentant alors un cercle vicieux. Il est alors difficile de distinguer la cause et l'effet d'une hyperactivation des systèmes de stress. Ainsi, on retrouve une hyperactivité des systèmes de stress dans des situations aussi diverses que le stress chronique, la dépression, l'anorexie nerveuse, les troubles obsessionnels compulsifs, les troubles paniques, l'alcoolisme, l'addiction aux narcotiques, le diabète du type 2, le syndrome métabolique ou l'obésité viscérale (**Chrousos, 2009**) sans pouvoir dissocier les causes du stress de leurs conséquences. Les conséquences d'une hyper activation des systèmes de stress sont physiques et comportementales et ont des

manifestations physiologiques, comportementales et neuropsychiatriques. Il existe un grand nombre de pathologies et manifestations liées à cette hyperactivation. Elles sont en fonction de facteurs exogènes et endogènes comme des facteurs génétiques ou environnementaux, l'état de santé des individus, leur période de développement, leur mode de vie, leur alimentation, etc. (Chrousos, 2009).

### 1.9. Modulation des systèmes de stress en cas de stress chronique

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

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

Depuis les travaux pionniers de Selyé, de nombreuses études, dans divers modèles animaux, ont montré qu'un stress chronique était capable d'entraîner des modifications complexes susceptibles de conduire à des pathologies chroniques tels que :

**a. Les troubles mentales :** Les données épidémiologiques montrent qu'il existe un lien entre des situations de stress chronique et des altérations de la santé mentale : *burnout* (Ahola *et al.*, 2006 ; Twellaar *et al.*, 2008), troubles de l'humeur (anxiété, dépression) (Godin *et al.*, 2005 ; Melchior *et al.*, 2007 ; Netterstrøm *et al.*, 2008 ; Bonde, 2008 ; Siegrist, 2008), troubles du sommeil (Akerstedt, 2006 ; Armon *et al.*, 2008), troubles des comportements consommatoires (toxicomanies, alcool) (Head *et al.*, 2004 ; Siegrist et Rödel, 2006). Des anomalies circadiennes telles des avances de phase du rythme de cortisol et des réductions de l'amplitude des rythmes sont également évoquées comme un des liens possibles reliant stress chronique et dépression (Souëtre *et al.*, 198 ; Keller *et al.*, 2006 ; Wirtz-Justice, 200).

**b. Les Maladies métaboliques et affections cardiovasculaires :** Les liens entre maladies cardiovasculaires et état de stress chronique (appréhendé principalement par les modèles de *job strain* de Karasek et ERI (*Effort-Reward Imbalance*) de Siegrist ont fait l'objet de

nombreuses études épidémiologiques et sont aujourd'hui bien établis (**Belkic et al., 2004**). Les résultats épidémiologiques récents montrent également que le stress chronique est associé à une augmentation de l'incidence de l'obésité viscérale et du syndrome métabolique (**Chandola et al., 2006**). C'est à nouveau beaucoup moins clair pour les mécanismes physiopathologiques. En cas de stress chronique, les troubles métaboliques occasionnés par la réponse neuroendocrinienne vont agir de concert pour conduire à l'expression clinique d'un certain nombre de comorbidités associant obésité viscérale, hypertension artérielle (HTA), dyslipidémie et dysfonction endothéliale qui sont les composants du syndrome métabolique et font le lit de l'athérosclérose.

Évoquée en 2002 par l'étude transversale de (**Brunner et al., 2002**), la première évidence scientifique que le stress chronique au travail, via l'hyperactivité de l'axe corticotrope et l'hypersécrétion de catécholamines, pouvait induire un syndrome métabolique a été apportée par les travaux de (**Chandola et al., 2006**). Le syndrome métabolique est un facteur de risque de diabète de type 2, de maladies cardiovasculaires et d'accidents vasculaires cérébraux (**Chandola et al., 2006**).

**c.Cancer:** Aujourd'hui, il existe des études suggérant que les changements physiologiques associés au stress chronique pourraient jouer un rôle dans le déclenchement et la progression des tumeurs (**Kiecolt-Glaser et Glaser, 1999 ; Chida et al., 2008**). Les arguments scientifiques en faveur d'un rôle du stress dans l'étiologie des cancers sont cependant controversés. De nombreux biais méthodologiques sont relevés dans les études épidémiologiques, expliquant des résultats souvent inconsistants voire contradictoires (**Reiche et al., 2004 ; Schraub et al., 2009 ; Lopez et al., 2010**).

**d.Immunité :** Les stressseurs psychosociaux affectent la circulation et l'activité des cellules du système immunitaire à travers la libération de médiateurs neuroendocriniens et via des actions neurales directes du système sympathique, parasympathique et peptidergique. Les voies neuronales majeures, à partir desquelles le stress peut affecter les fonctions immunitaires périphériques, sont l'axe néocortico-sympathique, l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et la voie tronc cérébral - nerf vague - acétylcholine induisant la libération des médiateurs majeurs : noradrénaline, cortisol et acétylcholine. Ces hormones et neurotransmetteurs peuvent moduler les processus inflammatoires dans les maladies auto-immunes telles que l'arthrite rhumatoïde, la sclérose en plaque ou les pathologies de la peau, ainsi qu'affecter la réponse immunitaire lors d'infection et influencer le développement et la progression de tumeur (**Kemeny et Schedlowski, 2007**).

Plusieurs études ont montré l'influence du stress sur la progression du virus VIH par la perte plus rapide de cellules T CD4. Des études chez le macaque ont appuyé ces données montrant que des stressseurs sociaux telles que des séparations ou des changements de logement de macaques inoculés avec le virus de l'immunodéficience simienne (VIS) accélèrent la progression de la maladie et les altérations immunes associées. La noradrénaline, plutôt que le cortisol, semble impliquée dans ce processus en stimulant la réplication du virus VIH (**Miller et al., 2009**). Des interventions psychologiques de gestion du stress chez des patients séropositifs ont résulté par exemple, en une réduction des titres

d'anticorps contre des virus de l'herpès (EBV pour *Epstein-Barr Virus*, HSV-2 pour *Herpes Simplex Virus 2*) ainsi que des humeurs dépressives (**Carrico et Antoni, 2008**).

**e. Stress oxydant :** Le stress chronique est associé à une surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (**Mariola et al., 2017**), plusieurs études ont été démontrées que le stress chronique est lié au stress oxydatif. La principale source de formation de ROS est l'échec mitochondrial, c'est-à-dire associé à la neurodégénérescence (**Ballatori et al., 2009**). Dans les troubles dépressifs liés au stress, le taux de conversion de l'oxygène en ROS peut augmenter et peut entraîner un dysfonctionnement métabolique grave et oxydatif, dommages aux lipides membranaires subcellulaires et cellulaires et des enzymes.

Deuxième Partie

**Etudes  
expérimentales**



## Matériel et méthodes

### 1. Matériel biologique

#### 1.1 Animaux d'élevage

Notre matériel biologique de base est le Hamster doré ou syrien (*Mesocricetus auratus*), provenant de l'Institut Pasteur d'Alger. À leur arrivée, au début de l'expérimentation, ils pesaient en moyenne 100 grammes.

#### Conditions d'élevage

Les hamsters sont élevés dans des cages en polyéthylène. La litière, composée de copeaux de bois, est changée tous les deux jours. Ils sont acclimatés dans des conditions standardisées de l'animalerie, de température 18 à 21°C et d'hygrométrie de 50 à 70 %. La nourriture apportée aux animaux est composée de maïs, carotte, d'orge. Quant à l'eau de boisson, elle est servie dans des biberons.

#### 1.2 Lotissement des animaux

Après une période d'adaptation de 15 jours, 10 hamsters sont divisés en **2 lots** expérimentaux :

- La premier lot **Témoin** : composé de 5 hamsters qui reçoivent uniquement de l'eau de boisson et nutriment.
- La deuxième lot **stressés** : composé d'un effectif de 5 hamsters subissent un stress de contention (3h/j) pendant 16 jours successives .



*Figure 4 : les animaux d'expérimentation. (Photos personnel)*

1-3-Protocole

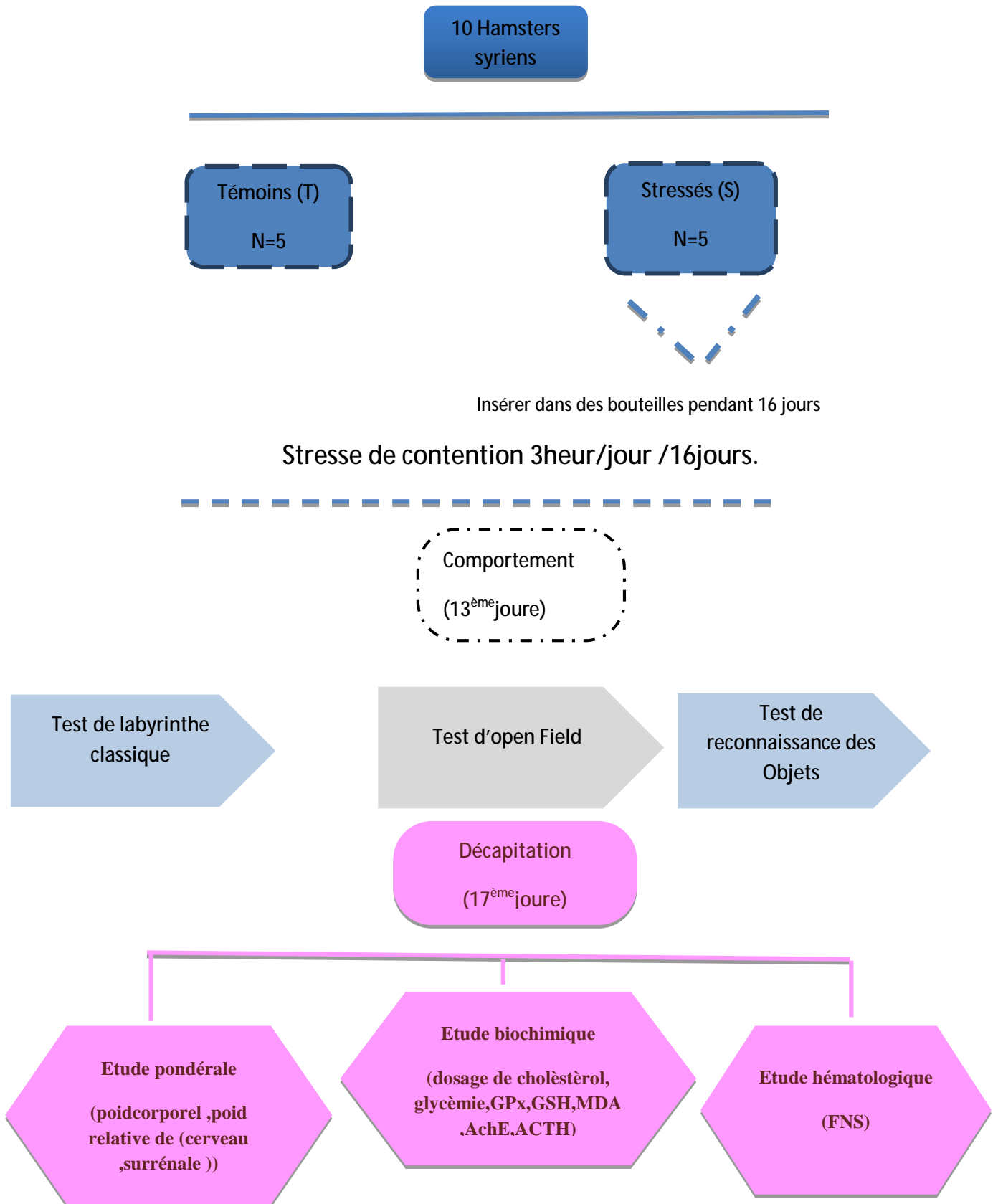


Figure5 : illustration schématique de l'expérimentation

## 2. Méthodes

### 2.1. Application du stress de contention (Bardinet *al.*, 2009)

Le modèle du stress de contention que nous utilisons dans notre laboratoire est celui de (Bardinet *al.*, 2009). Il consiste à introduire le rat dans une bouteille cylindrique en plastique, de sorte que l'animal ne puisse bouger c'est-à-dire impuissant à se retourner sur place et capable de respirer sans difficulté.

Après l'application du stress de contention, toutes les hamsters ont été ramenées dans leurs cages d'élevage et leurs poids est mesurés à l'aide d'une balance (Alston).



**Figure 6.** Procédure du stress de contention

### 2.2. Etude comportementale

Cette étude est disponible dans notre laboratoire ayant pour but évalué l'effet de stress de contention sur l'activité locomotrice, sur l'état de l'anxiété, l'olfaction, la capacité de mémorisation et plusieurs tests ont été élaborés tels que : test d'Open Field (OF), test de labyrinthe classiques et test de reconnaissance des objets (TRO). Ces tests réalisés au 13<sup>ème</sup> jour du stress de contention.

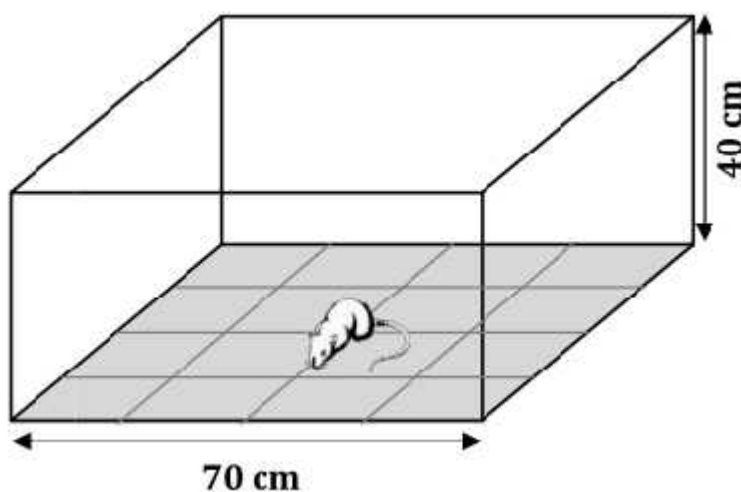
#### 2.2.1. Test du champ ouvert (Open Field) (Hall, 1934)

Le test de l'Open Field, initialement décrit par Hall en (1934), a été développé dans le but de mesurer les différences de réactivité émotionnelle chez le rat.

Le dispositif est une enceinte carrée fabriquée en plexiglas de 70cm de coté avec des parois latérales de 40 cm de haut. Le plancher de ce dispositif est divisé en deux parties de même superficie, une partie périphérique et une autre centrale.

Donc, un animal anxieux évite le centre du terrain qui est ouvert et reste au périphérique, bien sûr en mesure le nombre d'entrées dans la partie centrale, le temps d'immobilité et la distance totale parcourue sont enregistrés

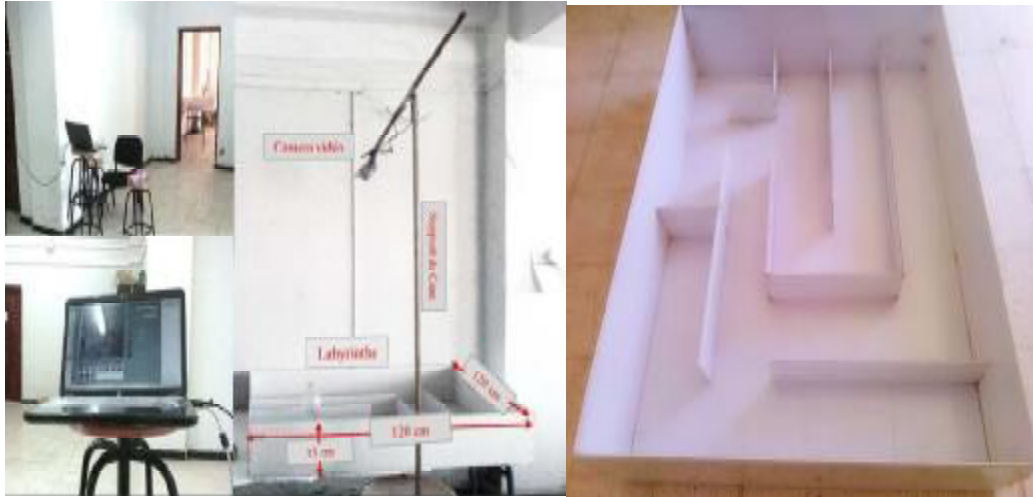
Le test de champ ouvert est réalisé pendant 10 min et l'animal est placé au centre du dispositif. Son déplacement permet de mesurer le nombre de carrés traversés ainsi que le temps passé dans chaque zone. De ce fait, ce test indique l'activité locomotrice et le comportement anxieux respectivement. Ce dernier est d'autant plus prononcé quand l'animale passe plus de temps dans la zone périphérique. Quant à la zone centrale, son exploration représente un signe de moindre anxiété.



**Figure 7 :** Etude de l'activité locomotrice

### 2.2.2. Test de labyrinthe classique (Gasmi, 2017)

Pour élucider le comportement de mémorisation et d'apprentissage en cas de l'animal stressé, nous avons procédé à la réalisation d'une expérimentation d'anxiété (test de labyrinthe classique). Ce test est réalisé dans une enceinte de forme carré (120x120x35 cm) en pastique comportant plusieurs passages en labyrinthe de taille identique (25x35 cm) de longueur variable selon le croisement, comportant aussi une zone de départ et une autre d'arrivée. Le principe du test repose sur le fait qu'un animal qui explore plus de temps les coins ou les places de dépôt initial, est considéré comme anxieux. La durée du test est de 20min, et entre chaque essai le labyrinthe est nettoyé avec de l'éthanol 10%.



*Figure 8 : Les instruments du test de labyrinthe classique (Gasmi, 2017)*

### 2.2.3. Test de reconnaissance des objets (TRO)

Le test de reconnaissance des objets permet d'étudier la mémoire déclarative chez les rongeurs. Cette tâche évalue la capacité de la souris à reconnaître un nouvel objet par rapport à un objet familier dans un environnement connu (tendance naturelle des rongeurs à explorer préférentiellement un nouvel élément) (David et al., 2011). Ce test est réalisé dans une boîte (40\*40cm) où sont déposés deux objets identiques. Les souris sont laissées explorer 10 min. Après 2 min de rétention, l'animal est replacé dans l'enceinte pendant 5 min pour explorer à nouveau les objets dont l'un a été remplacé. (Entre chaque essai on nettoie la quarrière avec l'éthanol 10%.)



*Figure 9 : étude de la mémorisation (test TRO)*

## 2.3. Prélèvements

### 2.3.1. Prélèvement sanguin

Les prélèvements sanguins se font par ponction rétro orbitaire à l'aide des tubes hématocrites au 17<sup>ème</sup> jours d'expérimentation pour les deux lots. le sang est immédiatement recueilli dans deux tubes étiquetés, l'un sec et l'autre contient l'héparine comme anticoagulant :

-Les tubes héparines serviront pour la détermination de la formule de numération sanguine (FNS).

-Les tubes secs sont centrifugés à 5000 tours/minute pendant 15 minutes, les sérums récupérés dans les tubes eppendorf serviront à la détermination des paramètres biochimiques (cholestérol)

### 2.3.2. Prélèvement des organes

À l'issue de la période expérimentale, les animaux sont sacrifiés par décapitation le cerveau et les surrénales ont été prélevés rapidement et rincés dans le tampon de lavage à froid (NaCl 9%), Puis séchés à basse température (4°C) par un papier semi absorbant et pesés à l'aide d'une balance de précision (SCALTEC SBC 51) .

Le poids relatif des organes est calculé selon la formule :

Poids relatif (g /100gPV) = (Poids de l'organe/Poids corporel individuel) x100



**Figure 10 : Prélèvement sanguin et des organes(Photos personnel)**

## 2.4. Réalisé du dosage des paramètres biologiques

### 2.4.1. Dosage des paramètres hématologiques

La formule de numération sanguine (FNS) a été réalisée par automate compteur de type (d'Abacus 380) à 19 paramètres. Le tube du sang total avec l'héparine ou EDTA (anticoagulant) est placé dans l'automate ; et la mesure de la FNS commence. Les résultats s'affichent automatiquement sur l'écran, et sont ensuite imprimés. Les paramètres déterminés sont : globule rouge (GR), globule blanc (GB), hémoglobine (Hb), hématocrite (HT), plaquettes (PLT), lymphocytes (LY), monocytes (MO), volume globulaire moyen des hématies (VGM) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH). Concernant la méthémoglobine, le dosage a été réalisé au niveau du laboratoire el Amal (Tébessa) suivant la méthode d'Evelyne et Malloy (1938).



Figure 11 : Un automate d'Abacus 380 à 19 paramètres

### 2.4.2. Dosage des paramètres biochimiques

#### 2.4.2.1. Mesure de la glycémie

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

#### Mode opératoire

- Le lecteur se met en marche automatiquement par simple insertion de la bandelette

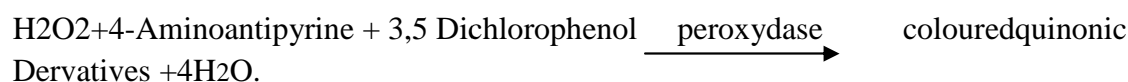
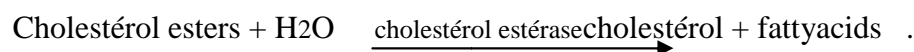
Réactive Accu-Chek (dans le sens des flèches et jusqu'à la butée).

-Le symbole d'une goutte clignote.

-Deposer la goutte de sang sur la zone de dépôt orange de la bandelette. Le résultat s'affiche en 5 secondes. La glycémie est donnée en g/dl.

#### 2.4.2.2. Mesure du cholestérol

Ceci a été estimé en utilisant la méthode de (Fredrickson et al., 1967). En principe, la méthode implique les réactions suivantes :



Un kit déjà préparé (Quinicaclinica applicada) a été utilisé. Le contenu comprenait de la cholestérol oxydase, de la cholestérol estérase, de la peroxydase, des stabilisants non réactifs, du tampon phosphate, du phénol, du 2,5-dichlorophénol et du 4-aminoantipyrone. Le stockage était à 28 ° C, à l'abri de la lumière. Trois éprouvettes 1, 2, 3 ont été utilisées et le contenu des éprouvettes de texte produites a été

	Blank	Sample (M/s)	Standard (m/s)
	1	2	3
Sample (m/s)	-	0.02	-
Standard (m/s)	-	-	0.02
Working reagent (m/s)	2.00	2.00	2.00

Le contenu de chaque mélange a été bien mélangé et incubé pendant 15 min à 37 ° C et lu à une longueur d'onde de 546 nm. La teneur en cholestérol (mg / dl) a été calculée comme suit :

$$\frac{\text{OD}_{\text{sample}}}{\text{OD}_{\text{standard}}} \times 200 = \text{mg of cholesterol / dl serum}$$

Les unités en mg / dl peuvent être converties en mmol / litre en les multipliant par 0,0259.



### 2.4.2.3. Mesure de l'ACTH plasmatique

L'ACTH (hormone corticotrope) ou corticotrophine est une hormone composée d'un Peptide de 39 acides aminés (PM = 4500) sécrétée par la glande pituitaire pour réguler la production d'hormones stéroïdes par le cortex surrénal. La sécrétion d'ACTH par l'antéhypophyse est déterminée à la fois par un mécanisme de rétrocontrôle négatif Classique et un système de contrôle induit par le stress au niveau du système nerveux central<sup>1</sup>. Divers types de stress ou de douleur perçus dans des parties supérieures du Cerveau modulent la sécrétion de l'hormone neurosécrétoire de l'hypothalamus, la corticolibérine ou CRH, un peptide de 41 acides aminés. La CRH stimule la sécrétion d'ACTH pituitaire qui est régulée également par un deuxième peptide, la vasopressine (AVP). :

#### Principe

Le dosage immunologique de l'ACTH se fait par le test ELISA [Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay] à deux sites (« en sandwich »), servant à mesurer la chaîne d'ACTH biologiquement active, constituée de 39 acides aminés. Un anticorps polyclonal de chèvre anti-ACTH humaine, purifié par chromatographie d'affinité et un anticorps monoclonal de souris anti-ACTH humaine sont appliqués spécifiquement à des régions bien définies de la molécule d'ACTH. Un des anticorps, biotinylé, est préparé pour se lier uniquement à la séquence 34 à 39 de l'ACTH dans le fragment C-terminal. L'autre anticorps est préparé pour se lier uniquement à la section 1 à 24 de l'ACTH dans les fragments N-terminal et région centrale et est marqué à la peroxydase de raifort (HRP) pour la détection.

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

## Procédure de dosage

### DOSAGE

1. Placer un nombre suffisant de **bandelettes recouvertes de streptavidine** dans un support pour tester tous les six (6) étalons d'ACTH, les étalons A à F d'ACTH (la concentration exacte est indiquée sur l'étiquette de la fiole), le plasma de contrôle qualité et les échantillons de patients.
2. Pipeter **200 µl** d'échantillon dans le puits approprié. *Congeler (à -20 °C) les étalons et contrôles restants dès que possible après emploi.*
3. Ajouter ou administrer **25 µl** de Réactif 1 (anticorps biotinylé) dans chaque puits contenant l'échantillon.
4. Ajouter ou administrer **25 µl** de Réactif 2 (anticorps marqué à l'enzyme) dans chacun des mêmes puits. Recouvrir la plaque ou les plaques d'une feuille d'aluminium ou avec un plateau afin d'éviter l'exposition à la lumière. La (ou les) placer sur un **agitateur orbital ou rotateur** réglé à  $170 \pm 10$  tr/min pendant **4 heures**  $\pm$  30 minutes à température ambiante (22 °C-28 °C).
5. Aspirer tout le fluide, puis laver ou aspirer chaque puits cinq (5) fois avec la solution de lavage active (préparée avec le Réactif A) dans un laveur de microplaques automatique. Il est recommandé de limiter le volume de solution de lavage à verser dans chaque puits à 0,35 ml.
6. Ajouter ou administrer **150 µl** de **réactif B ELISA** (substrat TMB) dans chacun des puits.
7. Après avoir recouvert la plaque ou les plaques afin d'éviter l'exposition à la lumière, la (ou les) placer sur un agitateur orbital réglé à  $170 \pm 10$  tr/min pendant **30  $\pm$  5 minutes** à température ambiante (22 °C-28 °C).
8. Ajouter ou administrer **100 µl** de solution bloquante dans chacun des puits. Mélanger délicatement.
9. Lire l'absorbance de la solution dans les puits au bout de 10 minutes avec un lecteur de microplaques réglé à **450 nm** par rapport à 250 µl d'eau distillée ou déminéralisée.

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

### 2.4.3. Dosage des paramètres du stress oxydant

#### 2.4.3.1. Mesure du malone-dialdéhyde (MDA)

##### Principe

le MDA est un produit des réactions de peroxydation lipidique qui se forme lors de l'attaque des lipides polyinsaturés par des espèces réactives de l'oxygène générées par certains contaminants. Dans notre étude, les taux du MDA de cerveau a été évalués selon la méthode d'Ohkawa *et al* (1979). Le dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud (100 °C) entre le MDA et l'acide Thio barbiturique (TBA) d'un pigment colore absorbant a 530 nm, extractible par les solvants organiques comme le butanol.

**Préparation de l'homogénat :** 500 mg du cerveau des deux lots sont broyés a froid a l'aide d'un homogénéisateur ultrason en présence de 5 ml d'une solution de tampon phosphate (0,1 M, pH 7.4) pour obtenir un homogénat.

##### Mode opératoire

- \_ Prélever 0,5 ml de l'homogénat.
- \_ Ajouter 0,5 ml d'acide trichloracétique (TCA) 20 %.
- \_ Ajouter 1 ml d'acide Thio barbiturique (TBA) 0,67 %.
- \_ Mélanger et incuber au bain marie à une température de 100 °C durant 15 min.
- \_ Refroidir et additionner 4 ml de *n*-butanol.
- \_ Centrifuger pendant 15 minutes a 3000 tours/min.
- \_ Récupérer le surnageant, et lire la densité optique a 530 nm contre le blanc.

**Calcul de la concentration du MDA :** la quantité du MDA dans l'échantillon est exprimée en nmol/gramme de tissu (foie ou reins). Elle est obtenue grâce a une courbe standard réalisée avec du 1,1',3,3'-tetraethoxypropane faite dans les mêmes conditions (figure 13).

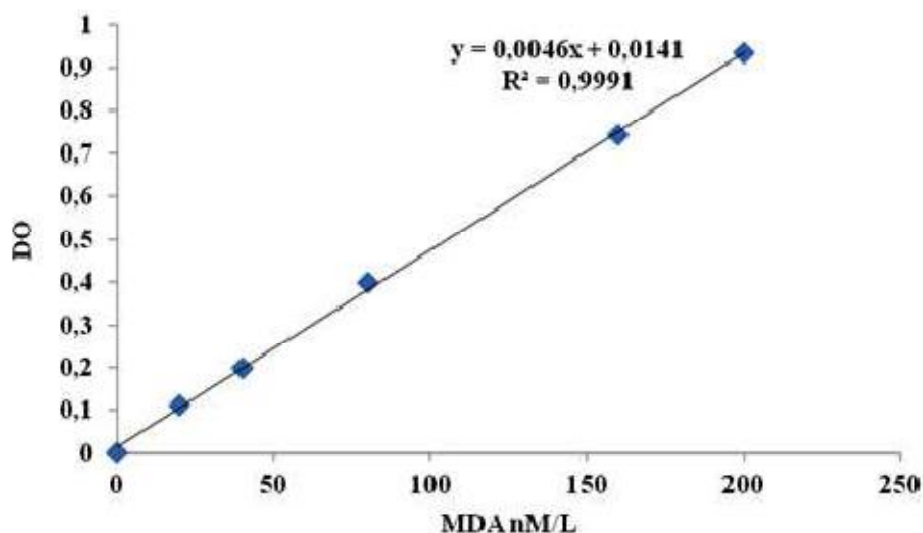


Figure 12: Courbe standard pour le calcul d'MDA



Figure 13 : dosage de MDA

#### 2.4.3.2. Mesure du Glutathion réduit (GSH)

**Principe :** le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de (Wekbeker et Cory, 1988). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela une deproteïnisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion.

#### Mode opératoire

- \_ Prélever 0,8 ml de l'homogénat.
- \_ Deproteïniser en ajoutant 0,2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique 0,25 %.
- \_ Agiter le mélange et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- \_ Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.

- \_ Prélever 0,5 ml du surnagent.
- \_ Ajouter 1 ml du tampon Tris + EDTA (0.02 M d'EDTA), pH 9,6.
- \_ Mélanger et ajouter 0,025 ml de DTNB a 0,01 M (dissous dans le méthanol absolu).
- \_ Laisser pendant 5 min a température ambiante pour la stabilisation de la couleur  
Qui se développe instantanément.
- \_ Lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

**Calcul :** la concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante

$$[\text{GSH}] (\text{nM GSH/mg protide}) = (\text{DO} \times 1 \times 1,525) / (13100 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg protide})$$

**DO:** Density optique a 412 nm.

**1 :** Volume total des solutions utilisées dans la deproteinisation (0,8 ml homogénat + 0,2 ml SSA).

**1.525 :** Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH (0,5 ml Surnagent + 1 ml Tris EDTA + 0,025 ml DTNB).

**13100 :** Coefficient d'absorbance du groupement (-SH) a 412 nm.

**0.5 :** Volume du surnagent trouve dans 1,525 ml.

**0.8 :** Volume du l'homogénat trouve dans 1 ml.

On note que la concentration du GSH est mesurée par apport a 1 mg de protéines. C'est pour cela ce dosage doit être accompagne par le dosage des protéines.



**Figure 14 :** dosage de GSH

### 2.4.3.3. Dosages des protéines

**Principe :** la concentration de protéines est déterminée selon la méthode de Bradford(1976) qui utilise le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif. Les groupements amines (-NH<sub>2</sub>) des protéines réagissent avec un réactif à base de l'acide ortho phosphorique, de l'éthanol et de bleu de Coomassie pour former un complexe de couleur bleue. L'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité établit la concentration des protéines dans l'échantillon.

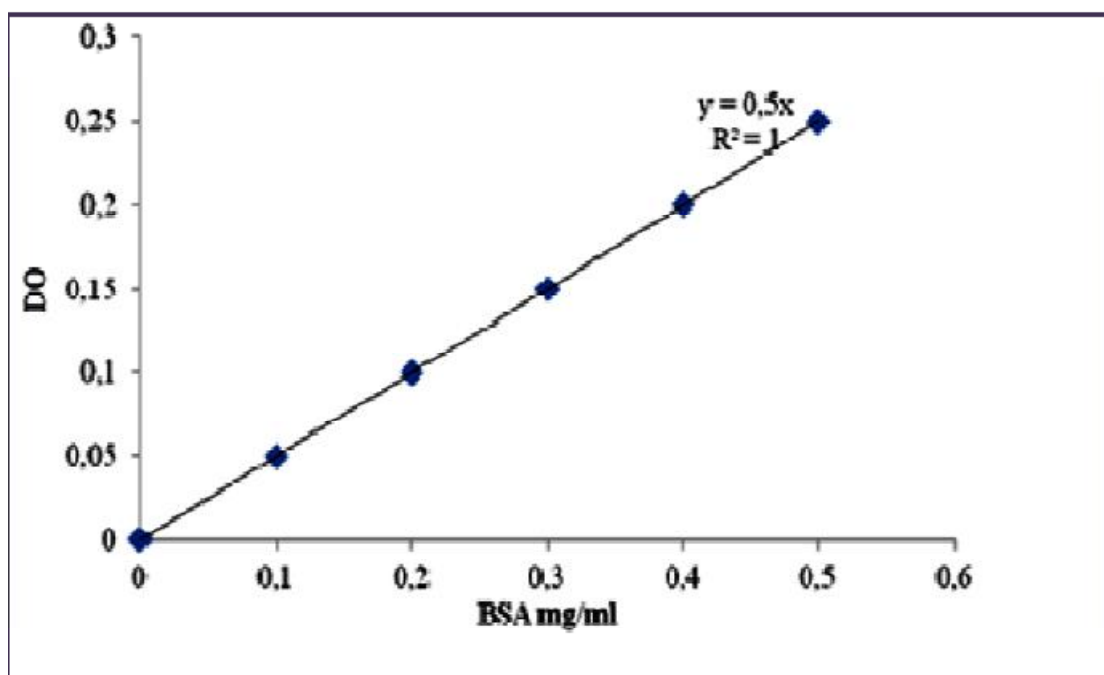
#### Mode opératoire

- \_ Prélever 0,1 ml de l'homogénat.
- \_ Ajouter 5 ml du réactif de Bradford.
- \_ Agiter et laisser reposer 5 min pour la stabilisation de la couleur.
- \_ Lire la densité optique a 595 nm, contre le blanc.
- \_ La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage

Préalablement tracée.

La concentration des protéines est déterminée par comparaison a une gamme étalon

D'albumine sérique bovine (BSA) (1 mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions (figure 16).



**Figure 15** : courbe d'étalonnage du sérum albumine bovine**Figure 16** : dosage des protéines

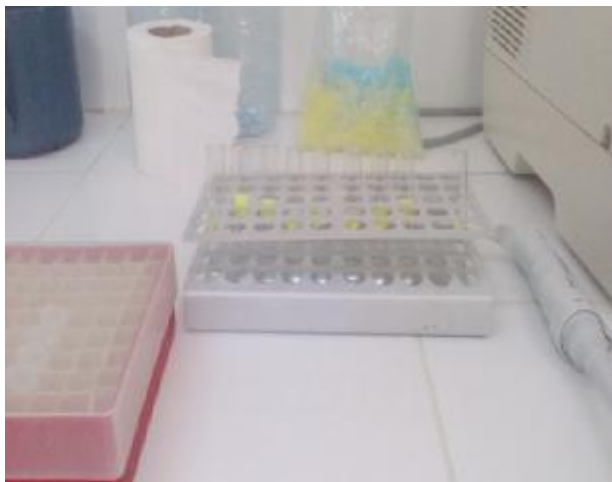
#### 2.4.3.4. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) cérébral

La mesure de l'activité de l'AChE a été évaluée selon la méthode (Ellman, 1961). Ainsi, l'acétylcholinestérase contenue dans la fraction des tissus va réagir avec l'acétylthiocholine (ASCh) en libérant l'acétate et la Thio choline (SCh). Cette dernière réagit à son tour avec le 5-5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoate) (DTNB) en donnant du TNB produit decouleur jaune qui est absorbée à 412 nm et dont la concentration est proportionnelle à la quantité d'enzymes présente dans le milieu. Brièvement, 50 µl de surnageant sont ajoutés au 50 µl de l'acétylthiocholine (ASCh), 50 µl 5-5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoate) (DTNB) et 1000 µl Tampon phosphate (PBS) (0.1 M, pH 7.4). La lecture de l'absorbance se fait à 410 nm à un intervalle de temps de 15 min (lecture de la DO chaque 3 min) contre la solution blanc. L'activité de l'AChE en nano moles par minutes par milligrammes de protéines se calcule selon la formule suivante :

$$\text{AChE} = \frac{\Delta \text{Do}/\text{mn} \times 1000 \times (\text{Volume total}/\text{volume échantillon})}{13.6 \times 0.779 \times \text{mg de protéines}}$$

$\Delta \text{DO}/\text{min}$  : variation de la densité optique par minute

0.779 : longueur en cm du puits



**Figure 17** : dosage de l'acétylcholinestérase

#### 2.4.3.5. Mesure de l'activité enzymatique du Glutathion Peroxydase (GPx)

**Principe** : L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de **(Flohe et Gunzler,1984)**. Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est

Transforme en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



#### Mode opératoire

- \_ Prélever 0,2 ml de l'homogénat.
- \_ Ajouter 0,4 ml de GSH (0,1 mM).
- \_ Ajouter 0,2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4).
- \_ Incuber au bain marie a 25°C, pendant 5 min.
- \_ Ajouter 0,2ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1,3 mM) pour initier la réaction, laisser agir 10 minutes.
- \_ Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction.
- \_ Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
- \_ Centrifuger durant 10 minutes a 3000 tours /minutes.
- \_ Prélever 0,48 ml du surnageant.
- \_ Ajouter 2,2 ml de la solution tampon TBS.
- \_ Ajouter 0,32 ml de DTNB (1,0 mM)
- \_ Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques a 412 nm.



**Calcul** : la détermination de l'activité enzymatique de la GPx se fait à l'aide des formules suivantes :

$$X = \frac{(DO \text{ échantillon} - DO \text{ étalon}) \times 0.04}{DO \text{ étalon}}$$

$$GPx (\mu\text{mol GSH}/\text{mg protéine}) = \frac{\text{Quantité GSH disparu}}{[\ ] \text{ de protéine}}$$

**X** : Quantité de GSH réduit disparu (oxyde) dans 0.2 ml extrait dans 1 ml.

**DO échantillon** : Densité optique de l'échantillon.

**DO étalon** : Densité optique de l'étalon.

**0.04** : Concentration de substrat (GSH).

## 2.5. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart-type ( $m \pm s$ ) et illustrés par des tableaux et figures. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'un logiciel statistique Excel 2013 pour présenter les résultats en graphes et secteurs, MINITAB-13 ou nous avons sollicité le modèle linéaire généralisé pour faire une comparaison statistique globale des moyennes des échantillons (Test ANOVA). Ce modèle nous donne automatiquement le résultat du test de comparaison des moyennes par rapport à la moyenne du sain (Test de Fisher).

Les différences sont considérées significatives à  $P < 0,05$ , très significatives à  $P < 0,01$  et très hautement significative à  $P < 0,001$ .

# **RESULTATS**

### 3 RESULTATS

#### 3.1. Effet de stress de contention sur l'évolution pondérale

Les résultats de l'évaluation du poids corporel montrent une diminution significative ( $p \leq 0,05$ ) de poids corporel chez le hamster stressant par rapport aux hamsters témoins.

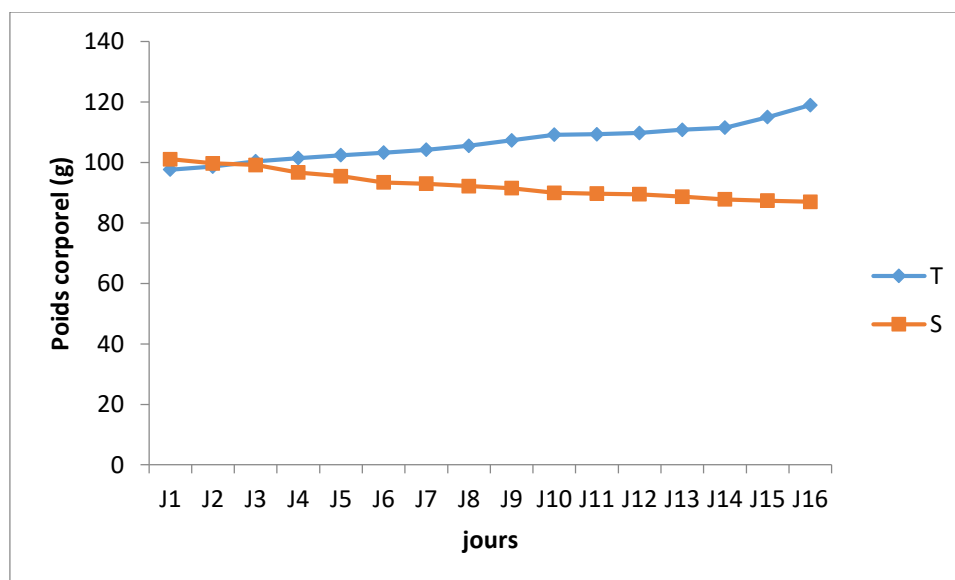


Figure 18 : Variation du poids corporel chez hamsters témoins et stressés

#### 3-2- Effet de stress de contention sur Poids relative de cerveau et surrénale

Les résultats de l'évaluation du poids relative de cerveau montrent une diminution significative ( $p \leq 0,05$ ) contrairement une augmentation hautement significative ( $p \leq 0,01$ ) de poids relative surrénale chez les hamsters stressé par rapport aux hamsters témoins. **Tableau1**

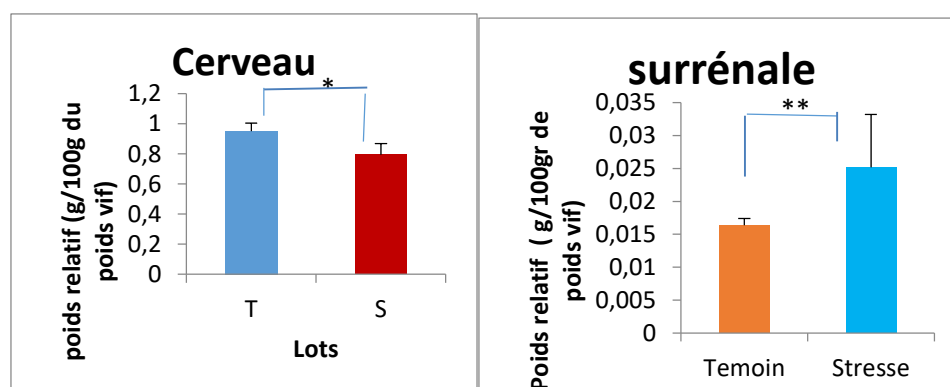


Figure 19 : variation de l'évaluation relative de cerveau et surrénal chez les hamsters témoin et stressé durant 16 jours de stress.

**Tableau1** : les variation relative de cerveau et surrénale chez les hamsters témoins et stressé .

Poids relative	Témoin	Stressé
Surrénale (g/100gr de poids vif)	0,0164 ± 0,001	0,0252 ± 0,008 **
Cerveau (g/100g de poids vif)	0,95 ± 0,0552	0,794 ± 0,075 *

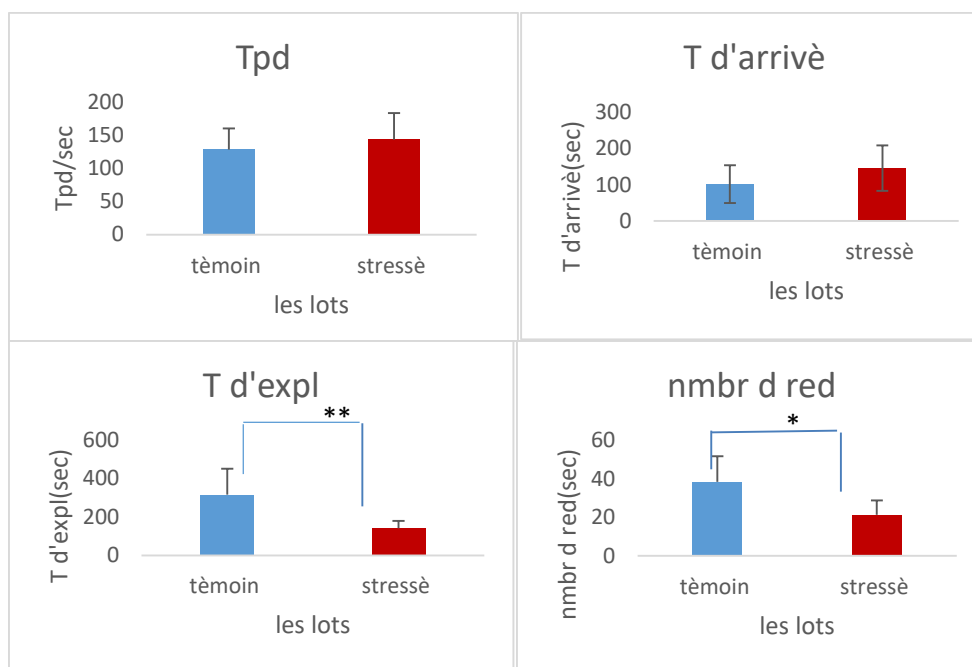
### 3.3. Effet du stress de contention sur le comportement

#### 3.3.1. Test de labyrinthe classique

L'analyse statistique de ces résultats a montré une diminution hautement significative ( $p \leq 0,01$ ) du temps d'exploration et une diminution significative ( $p \leq 0,05$ ) du nombre de redressement pour les stressant quand ils sont comparés aux témoins . pour les le temps passé dans le point de départ et le temps d'arrivé aucun différence significative a été enregistré .

**Tableau 2** : variation de donne de teste de labyrinthe classique chez les hamsters témoins et stressants.

	Temps dans le point de départ / sec	Temps d'arrivé/sec	Temps d'exploration	Nbre de redressement
témoin	128,20 ± 31,66	101,60 ± 51,95	316,40 ± 134,41	38,40 ± 13,26
stressé	143,20 ± 40,06ns	145,60 ± 62,26ns	141,20 ± 37,28 **	21,20 ± 7,53 *



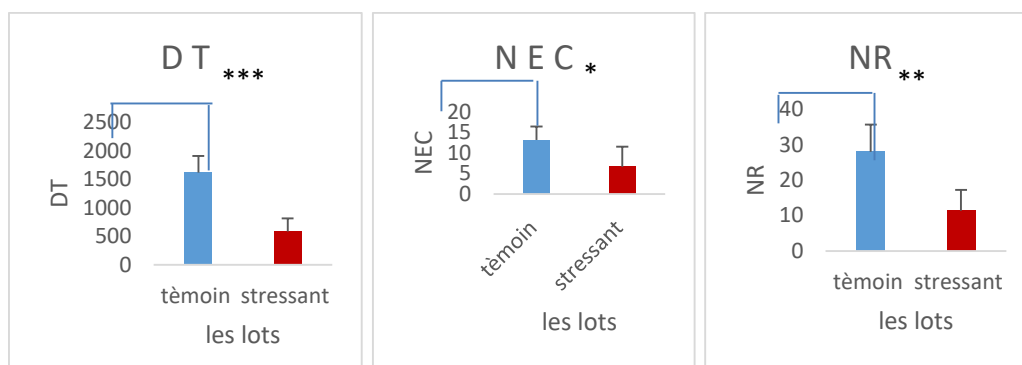
**Figure 20** : Variation des données de test de Labyrinthe Classique chez les hamsters stressé durant 16jours. : Temps d'arrivé au point final dans labyrinthe (B) : Temps d'exploration : Nombre de redressement

### 3.3.2. Test d'open Field

Le résultat affiché dans le tableau montre une diminution significative de la distance totale parcourue ( $P \leq 0.001$ ) et dans le nombre d'entrée au centre ( $p \leq 0,05$ ) ainsi que le nombre de redressement ( $p 0.01$ ) les hamsters stressées comparativement au témoins.

**Tableau 3** : variation de paramètre d'open Field chez les hamsters témoins et stressants.

	Distance totale (cm)	Nbre d'entre au centre	Nbre de redressement
témoin	1620,4 ± 291,5	13,200 ± 3,271	28,000 ± 7,649
stressé	586,2 ± 231,1 ***	6,600 ± 4,930 *	11,400 ± 5,899 **



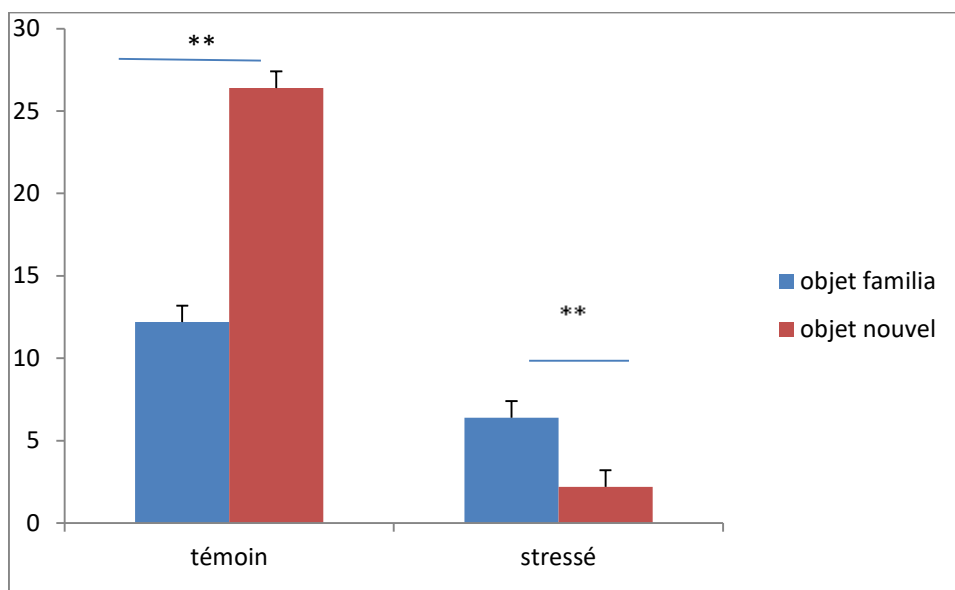
**Figure 21 :** Variation des données du test Open Field chez les hamsters stressé durant 16 par le stress de contention : Nombre total de redressement : Distance du mouvement total ; : Mouvement dans la zone central.

### 3.3.3. Test de reconnaissance des objets (ORT)

Les hamsters stressés ont passé moins de temps à explorer le nouvel objet par rapport à l'objet familiale contrairement au groupe témoins indiquant que ces derniers ne se souvenaient pas l'objet familiale. étude statistique confirme effectivement qu'il y a une différence significative ( $p \leq 0,01$ ).

**Tableau 4 :** variation des paramètres de (TRO) chez les groupes d'hamsters stressé et témoins.

	Temps d'exploration d'Objet familiale (sec)	Temps d'exploration d'Objet nouveau (sec)
témoin	12,200 ± 7,362	26,400 ± 8,295 **
stressé	6,400 ± 2,702	2,200 ± 1,304 **



**Figure 22 :** Variation des données du test ORT des objet chez les hamsters stressé durant 16 par le stress de contention : Objet familiale (OF) : objet nouveau (ON).

### 3.4. L'effet de stress sur les paramètres biochimique

#### 3.4.1. Pour le cholestérol

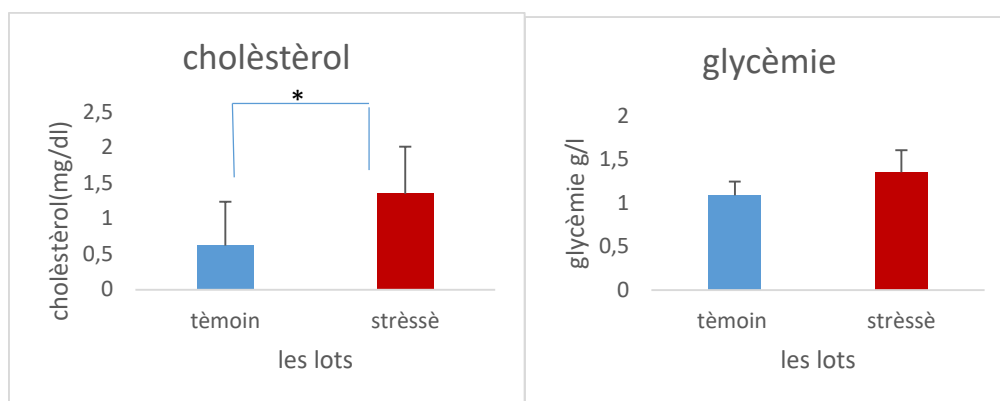
Les résultats obtenus montrent une augmentation significative ( $p \leq 0,05$ ) du cholestérol chez les hamsters stressants comparativement aux témoins.

#### 3.4.2. Pour la glycémie

Nos résultats montrent une augmentation non significative de la glycémie chez les hamsters stressées par rapport les témoins.

**Tableau 5 :** variation des paramètres biochimique chez les hamsters stressants et témoins.

lots	Témoins	stressés
Cholestérol (mg /dl)	0,6180 ± 0,2232	1,3480 ± 0,6612 *
Glycémie (g/l)	1,0900 ± 0,1570	1,3520 ± 0,2559ns



**Figure 23** : les variations de cholestérol et la glycémie chez les groupe de hamster témoins et stressé

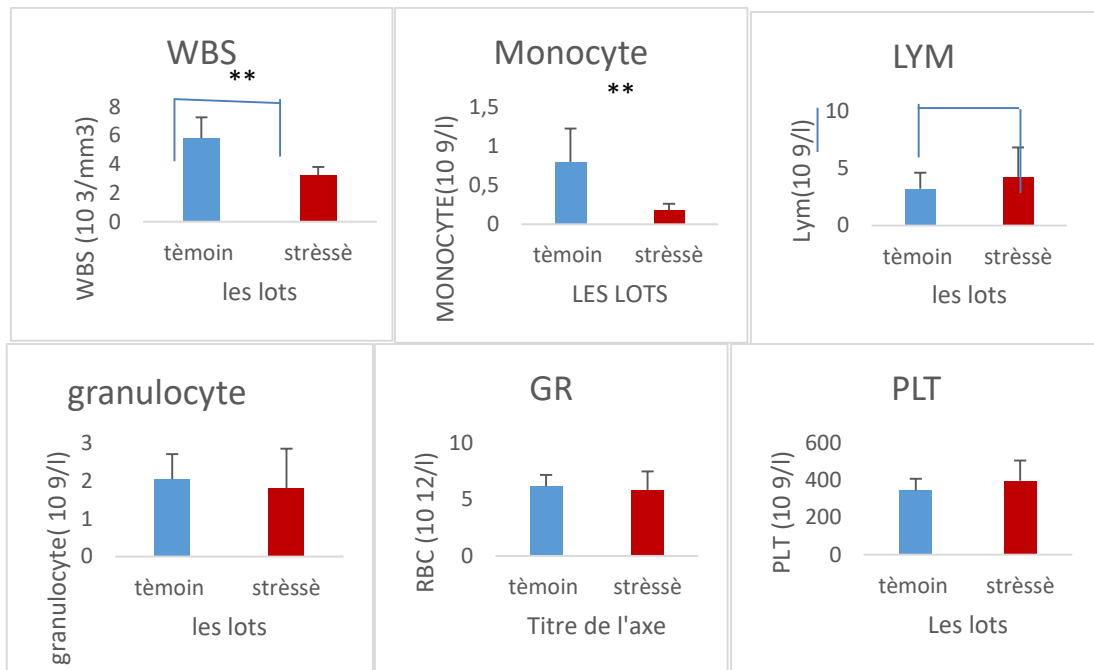
### 3.4.3. Pour les paramètres hématologique

Les résultats affichés dans le tableau montre une diminution hautement significative ( $p \leq 0,01$ ) de *WBC*, *Monocyte* chez les hamsters stressants comparativement aux témoins. Par contre les valeurs de *LYM*, Granulocyte, GR, PLT aucun différence significative a été enregistré.

**Tableau 6** : Variation des paramètres hématologiques chez les hamsters témoins et Stressé.

	Témoin	stressés
WBC (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	5,825 ± 1,457	3,244 ± 0,584 **
LYM (10 <sup>9</sup> /l)	3,200 ± 1,414	4,320 ± 2,580 ns
Monocyte 10 <sup>9</sup> /l	0,8000 ± 0,4243	0,1800 ± 0,0837 **
Granulocyte (10 <sup>9</sup> /l)	2,0500 ± 0,6557	1,8000 ± 1,0512 ns
GR(10 <sup>12</sup> /l)	6,145 ± 1,021	5,844 ± 1,641 ns
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	344,00 ± 64,97	397,40 ± 108,99 ns





**Figure 24:** Variation des paramètres hématologiques chez les hamsters témoins et

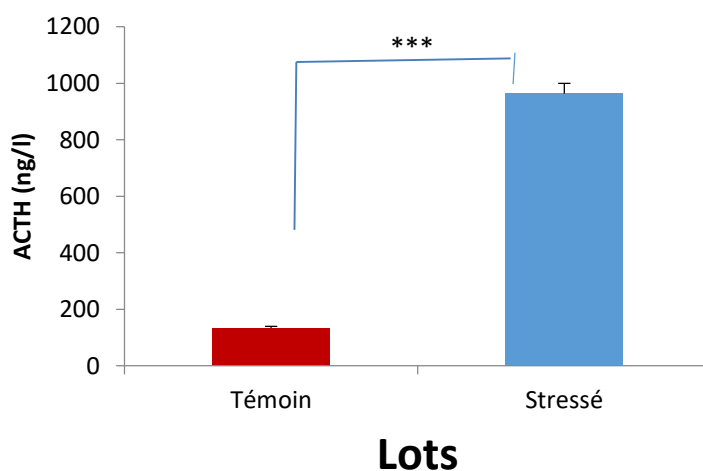
Stressé

### 3.4.4. Pour ACTH

Les résultats obtenus montrent une augmentation significative ( $p \leq 0,05$ ) d'ACTH chez les hamsters stressants comparativement aux témoins.

**Tableau 7 :** variation de l'ACTH chez les hamsters stressé et témoins.

lots	Témoin	Stressé
ACTH plasmatique ( ng /L)	133.666 ± 5.715	963.833 ± 35.470 ***



**Figure 25 :** variation de l'ACTH chez les hamsters témoins et stressé

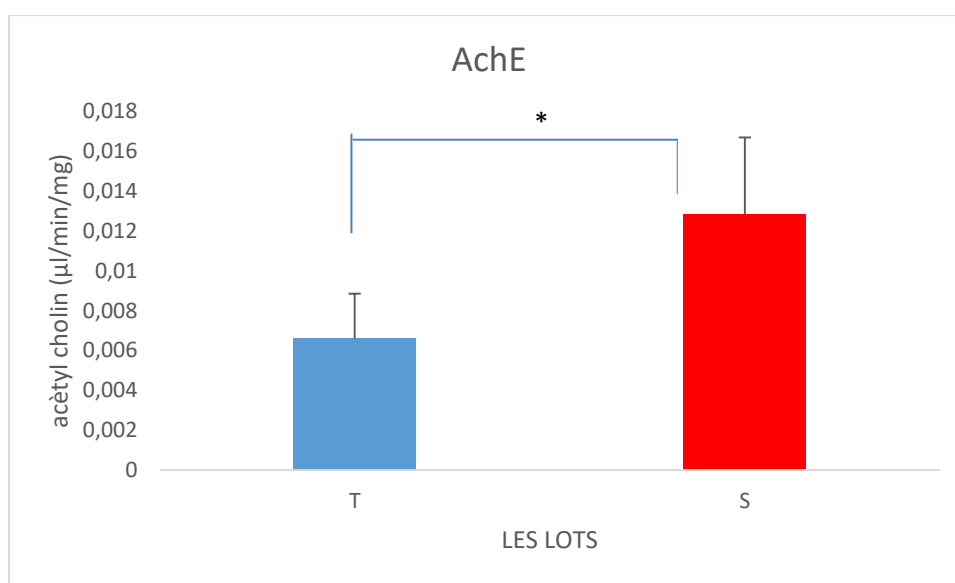
### 3.5. L'effet de stress sur la neurotransmission

#### 3.5.1. Pour l'acétylcholine

Le résultat affiché dans le tableau montre une diminution significative ( $p \leq 0,05$ ) de l'acétylcholine chez les hamsters stressés comparativement aux témoins.

**Tableau 8 :** la variation de l'AChE chez les hamsters témoins et stressés

Les lots	Témoin	Stressé
Acétylcholine nmol/min/mg	0,0065 ± 0,0022	0,0128 ± 0,0038 *

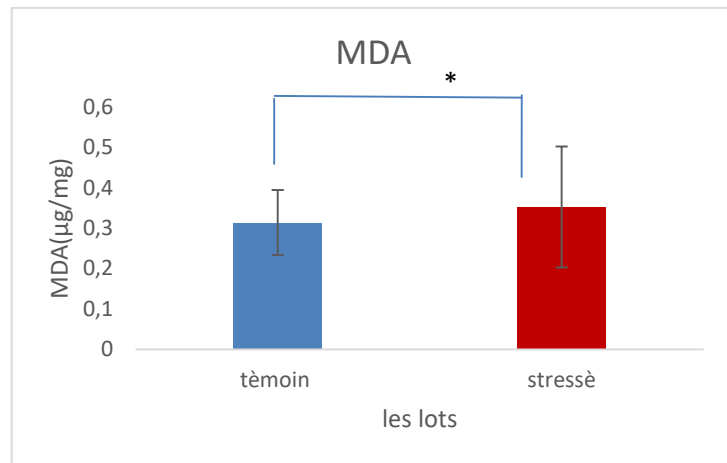


**Figure 26 :** variation de l'AChE chez les hamsters témoins et stressés

### 3.6. L'effet de stress sur le statut redox

#### 3.6.1. Pour MDA

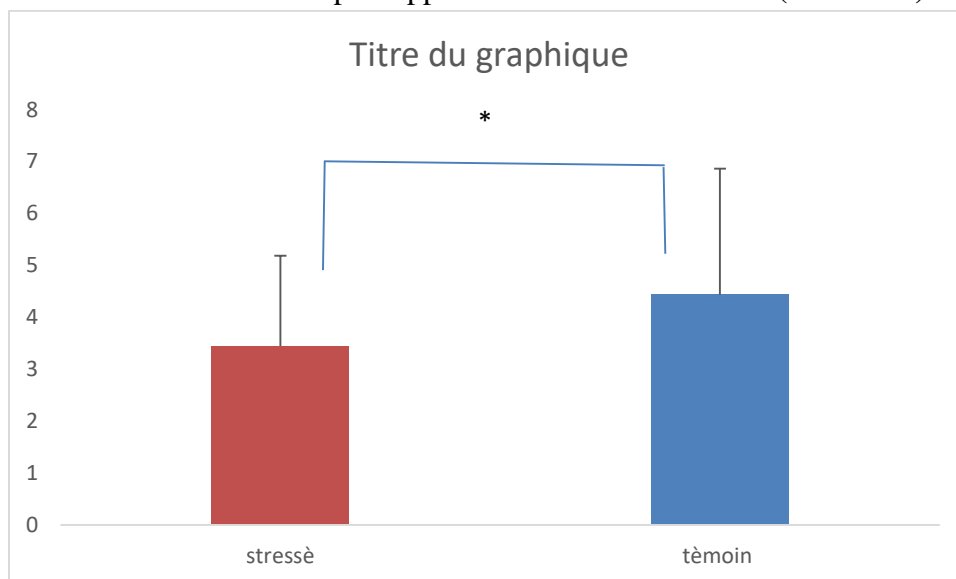
Les résultats de l'évaluation du MDA montrent une augmentation significative ( $p \leq 0,05$ ) chez le hamster stressant par rapport aux hamsters témoins. (Tableau 9)



**Figure 27** : variation de MDA chez les hamsters stressés et témoins

### 3.6.3. Pour GSH

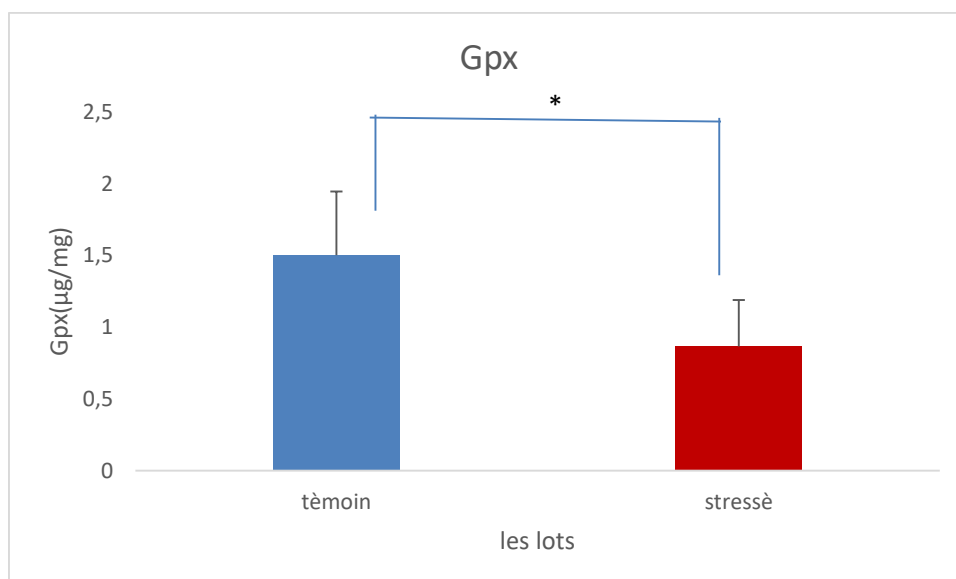
Les résultats de l'évaluation de GSH montrent diminution significative ( $p \leq 0,05$ ) chez le hamster stressant par rapport aux hamsters témoins. (**Tableau9**)



**Figure 28** : les variations de GSH chez les groupes d'hamsters stressés et témoins

### 3.6.4. Pour GPx

Les résultats de l'évaluation de GPx montrent diminution significative ( $p \leq 0,05$ ) chez le hamster stressant par rapport aux hamsters témoins. (**Tableau 9**)



**Figure 29** : les variations de GPx chez les groupes des hamsters stressés et témoins

**Tableau 9** : variation cytosolique de glutathion (GSH), l'activité de la glutathion peroxydase (GPx), Malonyldaldéhyde(MDA) chez les hamsters stressé et témoins .  
Les valeurs sont exprimé en moyen et  $\pm$ ES :\* différence significative comparées aux témoins P 0,05et

lots	Témoin	Stressé
MDA( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	0,3139 $\pm$ 0,0806	0,3521 $\pm$ 0,1497 *
GPx( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	0,8672 $\pm$ 0,4424	1,5025 $\pm$ 0,3214 *
GSH( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	4,4374 $\pm$ 2,4256	3,4480 $\pm$ 1,7412 *

# **Discussion**

## Discussion

Il est bien connu que le stress peut altérer de manière systémique le système immunitaire, système cardiovasculaire, système neuroendocrinien, et le système nerveux autonome, ainsi que l'activité cérébrale. L'axe hypothalamus-hypophyso-surrénalien (HPA) est connu pour être une voie principale pour l'adaptation ou la mauvaise adaptation au stress psycho-émotionnel (**Stratakis et Chrousos, 1995**).

Le stress serait responsable, chez l'homme, aux nombreux troubles psychiatriques tels que la dépression ((**Breier et al., 1987; Dolan et al., 1985; Gold et al., 1988; Post, 1992**) et les troubles de l'anxiété (Barros *et al.*, 2008), des troubles hépatiques et le cancer (**Balkaya et al., 2011; Conti et al., 2011; Low et al., 2009**). Il tient également une part importante dans l'apparition des troubles alimentaires (**Rojo et al., 2006**). Le stress peut aussi influencer l'agressivité (**Barreto et al., 2007**). Dans ce travail de recherche, on a appliqué un type de stress intense, le stress de contention qui est retenue selon le méthode de ( **Bardin et al., 2009**) chez un modèle animale le Hamster Syrien.

### -Dans le test de labyrinthe classique

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

Nos résultats montrent que les hamsters stressés devient anxieux par rapport les hamsters témoin cela est révélé d'une part par la diminution significative de temps d'exploration et du nombre de redressement et d'une part par l'augmentation de temps d'arrivée( $T : 101,60 \pm 51,95$  vs stressé :  $145,60 \pm 62,26$  ). Cela est due è l'hyperactivation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA) qui conduit à l'augmentation plasmatique des glucocorticoïdes dans le cerveau qui conduisent à l'activation neuronale du système dopaminergique et cholinergique ce qui résulte un réduction dans la concentration du sérotonine.

Ainsi, l'hyeractivation de l'axe sympathique stimule le système immunitaire ce qui augmente les cytokines pro inflammatoires cérébrale qui a son tour réagissent sur ces récepteurs neuronales et altèrent la métabolisme de tryptophane ce qui induisent la diminution du sérotonine.

Différents travaux ont en effet montré que le stress chronique de contention induit une augmentation du niveau d'anxiété évalué au teste de labyrinthe en croix surélevé ( place maze test) ( **Guedri et al., 2017 ; Huynh et al., 2011; Cliona et al., 2011; Shuichi et al., 2012 ; sansri et al, 2014**).

Le stress chronique de contention induit un comportement anxieux et chez les rongeurs (**Huynh et al., 2011 ; Cliona et al., 2011; Shuichi et al., 2012**) et une diminution du nombre d'entrée dans les bras ouverts indique une diminution de l'activité motrice générale (**Brummelte et al., 2012**), ce qui est en accord avec nos résultats. Cependant, d'autres études n'ont pas confirmé de tels changements suite au CRS (**Gregus et al., 2005 ; Swiergiel et al., 2007**) mais la contradiction dans les résultats pourrait être attribuée à la durée du CRS, aux procédures expérimentales (e.g., jour-nuit ; la méthode de l'application du stress) , aux facteurs génétiques et au sexe de l'animal (**Huynh et al., 2011**). Hauber Gameiro et al en 2006 n'a pas trouvé de telles différences entre les protocoles concernant l'apparition de l'anxiété quand il avait fait une comparaison entre le stress aigu, subchronique et chronique. Cependant, ils peuvent tous induire des niveaux significatifs d'anxiété dans le test de l'EPM.

#### **-Dans le test des champs ouverts (Open Field test)**

Nos résultats montrent une réduction de la distance totale parcourue et le nombre des cases traversées dans le dispositif chez les animaux stressés ce qui indique une diminution de l'activité exploratrice caractéristique d'un niveau d'anxiété plus élevé chez les hamsters stressés . La diminution de nombre de redressement et le temps passé au centre indique une diminution de la motivation à explorer un nouvel environnement, due à une augmentation du niveau d'anxiété des hamsters stressés (**Katz et al., 1987 ; Tobach, 1966**).

En effet, le stress de contention appliquées de manière aiguë ou répétées sont habituellement considérées comme très intense et engendre une augmentation de la concentration plasmatique de corticostérone (**Bhatnagar et al., 2006; Marini et al., 2006; Barnum et al., 2007**) et une augmentation des comportements indiquant un niveau d'anxiété élevé au sein de l'open Field, (**Regenthal et al., 2009**) et donc une réduction du nombre de cases traversées dans l'open field, indique une diminution de l'activité motrice caractéristique d'un niveau d'anxiété plus élevé chez ces animaux (**Prut et Belzung, 2003**). (**Meerlo et al., 1996; Marini et al., 2006; Kin et al., 2008 ; Kalvez, 2010**). (**Carli et al., 1989; Kasar et al., 2009**) ; (**sansri et al., 2014**) ; (**Guedri et al., 2017**).

#### **-Dans le Teste de reconnaissance des objets (ORT)**

Le stress est une expérience inévitable dans la vie qui peut perturber les processus cognitifs et la neuroplasticité. Dans notre étude, les ratte soumises au stress chronique de contention montrent une augmentation significative du temps de latence avec diminution du temps passé dans le quadrant cible dans le test aquatique de Morris. Ces derniers sont expliqués par la perturbation et les affaiblissements des capacités d'apprentissage et de mémorisation (**Xu et al., 2009**).

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

l'apprentissage et la mémoire spatiale (**Yi et al., 2013**). Les troubles :apprentissage/mémoire spatiale sont à mettre en lien avec les altérations spécifiques de l'hippocampe dont dépendent largement ces tâches comportementales (**Vann et Albasser, 2011**).

Le test de reconnaissance de l'objet (ORT) est un test comportemental couramment utilisé pour l'étude des divers aspects de l'apprentissage et la mémoire chez les souris. L'ORT est assez simple et peut être complété sur une période de 3 jours : jour d'accoutumance, journée de formation et jour du test. Au cours de la formation, les rats sont autorisés à explorer 2 objets identiques. Le jour du test, l'un des objets de formation est remplacé par un nouvel objet. Parce que les rats ont une préférence innée pour la nouveauté,

Dans nos résultats, les animaux stressés ont passé moins de temps à explorer le nouvel objet par rapport à l'objet familier contrairement au groupe témoin indiquant que ces derniers ne se souvenaient pas de l'objet familier. Donc le stress chronique de contention altère la mémoire de reconnaissance, qui est due à l'augmentation des glucocorticoïdes endogènes qui induisent une altération anatomique et fonctionnelle de l'hippocampe ce qui induit une atrophie.

Cette atrophie hippocampique serait liée notamment aux effets neuronaux du stress, qui induit une augmentation de la libération de glutamate. L'hippocampe semble également être un site anatomique en corrélation avec la dépression (**Zhang et al., 2007 ; Nasuti et al., 2013**)

## 2- l'effet de stress sur les paramètres biochimique

### 2-1 Bilan lipidique

Au cours de notre recherche nous avons enregistré une augmentation significative de cholestérol chez les hamsters stressés par rapport aux témoins ( $T : 0,6180 \pm 0,2232$  vs stressé :  $1,3480 \pm 0,6612$ ) est due à l'activité accrue de l'axe hypothalamo-hypophysaire entraînant la libération accrue de catécholamines et corticostéroïdes (**Lakshmi et Sudhakar, 2009**). Il est bien connu que les catécholamines activent la lipolyse dans le tissu adipeux et augmentent le flux d'acide gras libre au foie où la synthèse accrue de triglycérides et la sécrétion se produit. Aussi les surrénales lors du stress chronique pour continuer de produire le cortisol vont envoyer des signaux au foie pour augmenter sa production de cholestérol.

Nos résultats sont en accord avec ceux de (**Jain et al., 2000**) ; **Shabir Ahmad Rather et al., 2013**).

### 2-2-bilan glucidique

Le métabolisme du glucose est un facteur résultant de l'activation des systèmes de l'organisme après une situation stressante (**Hargreaves, 1990**). De nombreuses études ont montré une augmentation de la concentration du glucose aussi bien après la contention que la nage forcée chez les rats (**Rafter, 2001**). La corticostérone est un véritable initiateur et régulateur métabolique. Cette hormone stimule l'augmentation du glucose sanguin et qui permet donc de libérer de l'énergie à partir des réserves de l'organisme. Les glucides



représentent la principale source d'énergie nécessaire au métabolisme et au bon fonctionnement du cerveau et du système nerveux.

Dans notre étude, Une augmentation de la glycémie pour les stressé par apport les témoins ( T :  $1,0900 \pm 0,1570$  vs stressé :  $1,3520 \pm 0,2559$  ) ce qui est traduit par l'effet des glucocorticoïdes ont une action hyperglycémiant par stimulation de la néoglucogenèse et par une diminution de la consommation du glucose par les tissus périphérique. Au contraire la surrénalectomie provoque une tendance à l'hypoglycémie et une grande sensibilité à l'effet de l'insuline. En situation de surrenalectomie, l'organisme se trouve dans l'incapacité de mobiliser ses réserves pour maintenir une normo-glycémie en réponse à un stress (**Tempel et Leibowitz, 1994**).

### 2-3-Bilan hormonale

Dans notre étude nous avons enregistré une augmentation significative du niveau de L'ACTH plasmatique chez les animaux stressés par rapport aux animaux témoins( T :  $133.666 \pm 5.715$  vs stressé :  $963.833 \pm 35.470$  ), cette évaluation traduit par l'hyperactivation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et le déficit du rétrocontrôle négative exercé par les glucocorticoïdes sur les cellules corticotropes de l'hypophyse antérieure

Ces résultats sont en accords avec celle de (**Barden, 2004; Swaab et al., 2005; Lupien et al., 2009 ; S. LIANG et al., 2015**).

### 3-l'effet de stress sur la neurotransmission

Les glucocorticoïdes sont capables de moduler de nombreux processus cellulaires tels que le métabolisme des neurotransmetteurs (**Datson et al., 2008**). Dans notre recherche nous avons enregistré une augmentation significative dans l'activité de l'acétylcholine estérase chez les animaux stressé par rapport les témoins (T :  $0,0065 \pm 0,0022$  vs stressés  $0,0128 \pm 0,0038$  ) qui peut être due au altération du foctionnement des recepteurs cholinergique .

La Dysfonctionnement cholinergique de l'hippocampe tel que la dégradation accrue de l'acétylcholine et l'altération du fonctionnement du récepteurs cholinergiques a été rapporté précédemment à la suite du traitement au glucocorticoïdes ou au l'exposition au stress chronique (**Finsterwald, et al., 2014 ; Amber et al., 2018**)

### 4-Effet du stress de contention sur les paramètres hématologiques

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

Nous avons enregistré une diminution significative du taux des leucocytes totaux et les monocytes et non significatif pour les glubules rouges et granulocytes et chez les hamster stressés par rapport aux témoins .

La diminution des globules blancs pourrait être causée par leur redistribution dans les tissus périphériques comme la peau et les ganglions lymphatique où par la destruction des cellules souches et de l'immunosuppression exercée par les glucocorticoïdes et même par les catécholamines (activité anti-inflammatoire et immunomodulatrice), en inhibant la prolifération des lymphocytes T, diminuent l'activité bactéricide des macrophages et suppriment l'activité cytotoxique des cellules tueuses naturelles (NK). Cependant, les glucocorticoïdes peuvent aussi exercer des propriétés immunostimulantes sur les lymphocytes B jouer un rôle tantôt Immunostimulant, tantôt immunosuppresseur (Steele, 2002).

Les altérations du trafic et de la fonction des leucocytes, sont parmi les principaux effets immunosupresseurs des glucocorticoïdes.

En effet, le système immunitaire est sensible aux hormones libérées par l'axe hypothalamo-hypophysaire. (Maccari *et al.*, 2005). Cette hypothèse se confirme aussi bien pour le stress de contention où on note une augmentation non significative des taux de lymphocytes.

Aussi la diminution considérable des globules rouges chez les animaux stressés ( $T : 6,145 \pm 1,021$  vs stressés :  $5,844 \pm 1,641$  ) pourrait être expliquée par l'hyperventilation pulmonaire en réponse à l'exposition au stress avec une incapacité de combattre ou de s'enfuir (fight-or-flight) provoquée par le milieu restreint. L'absence de cette dernière conduit à une activité musculaire minime, et par conséquent un faible besoin en oxygène, ce qui aboutit à la production des érythrocytes microcytiques et hyperchromiques. L'hémoglobine participe au processus nutritif en transportant de l'oxygène nécessaire au phénomène d'oxydoréduction des nutriments (Barbosa *et al.*, 2009).

### 5-L'effet de stress sur l'évolution pondérale

En cas de stress chronique, des modifications morphologiques peuvent apparaître et le poids corporel peut être un indice intéressant des capacités de riposte de l'animal (Selye, 1976).

Pour le poids pondérale nous avons enregistré une diminution significative pour les animaux stressés par rapport les témoins, qui est due à la diminution de la consommation de nourriture sous l'influence du stress et pourrait aussi avoir été associé à l'augmentation induite par le stress des demandes métaboliques, la digestion réduite, et l'augmentation de la sécrétion des stéroïdes surrénaliens (Nayanatara *et al.*, 2012).

Nos résultats sont en accord avec celles de (Christaki *et al.*, 2013 ; Katzer et Bradshaw, 2008 ; Manzoni *et al.*, 2009 ; Guedri *et al.*, 2017 ).

### 6- l'effet de stress sur le poids relative de la glande surrénale

Dans cette étude, nous avons enregistré l'augmentation du poids surrénale chez les stressés par rapport les témoins, ce qui est expliqué par le taux élevé des glucocorticoïdes sécrétés par le cortex surrénalien due à l'exposition prolongé au stress chronique. )( Herman *et al.*, 1995;.. Ulrich-Lai *et al.*, 2006)

## 7- l'effet de stress sur le poids relative du cerveau

Le cerveau est l'organe clé de la réaction au stress, et un stress mal adapté pourrait induire des effets néfastes à l'activité du cerveau et induire un remodelage structurel du tissu cérébral associé à des lésions cérébrales oxydatives (Conrad, 2010; McEwan et Magarinos, 2001).

Dans notre étude, le poids relatif du cerveau est diminué chez les hamsters stressés comparativement aux témoins (T :  $0,95 \pm 0,0552$  vs stressés :  $0,794 \pm 0,075$ ) cela est dû à l'action des glucocorticoïdes qui induisent une atrophie au plusieurs régions cérébrales tels que l'hippocampe et le cortex préfrontal.

## 8- L'effet de stress sur le statut redox

Plusieurs études ont montré que le stress de contention induit un stress oxydatif dans le cerveau et une altération de ses fonctions (Buynitsky et Mostofsky, 2009 ; Kumar et al., 2012). Le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre les facteurs de stress oxydatifs et la capacité antioxydante. Les mammifères ont développé un système antioxydant constitué de composants non enzymatiques et enzymatiques, notamment la catalase, la SOD et le GSH (Storz et Imlay, 1999). Dans la présente étude, la capacité antioxydante des tissus cérébraux a été modérément réduite par un stress de contention répété, comme le montre la diminution de l'activité de GPx (T :  $0,8672 \pm 0,4424$  vs Stressé  $1,5025 \pm 0,3214$ ), de la teneur totale en GSH (T :  $4,4374 \pm 2,4256$  vs Stressé :  $1,4480 \pm 1,7312$ ). En revanche l'exposition au stress conduit à une augmentation de MDA comme étant indicateur de la lipoperoxydation médiée par les ROS (T :  $0,3139 \pm 0,0806$  vs stressés :  $0,3521 \pm 0,1497$ ) Il a été suggéré que le stress oxydatif dû à une exposition au stress est produit par l'activation de la transcription dépendante des glucocorticoïdes de facteurs pro-oxydants avec inhibition concomitante du mécanisme de défense antioxydant (A. Ceriello, et al, 199). La respiration mitochondriale est la principale cause du stress oxydatif cellulaire. Il a été rapporté que le traitement par glucocorticoïde induit un stress oxydatif en améliorant la respiration mitochondriale et la phosphorylation oxydative (Russell et al., 2002). Il a été observé que l'incubation de cultures neuronales de l'hippocampe avec les glucocorticoïdes synthétiques ont entraîné une augmentation de la génération de radicaux libres, une régulation négative de l'expression génique de l'enzyme antioxydante et une expression régulée positive de la NADPH-oxydase, ce qui a entraîné une augmentation significative du stress oxydatif.

L'administration exogène de glucocorticoïdes et l'application du stress de contention chronique ont également montré qu'ils ont induit une diminution des facteurs enzymatiques et non enzymatiques, notamment la SOD, le CAT, la glutathiontransférase et le glutathion réduit dans les échantillons du cerveau du rat. De plus, la génération accrue de radicaux libres induite par les glucocorticoïdes a été considérablement atténuée par le traitement aux antioxydants exogènes. (Manikandan, et al., 2006, L.J. McIntosh et al., 1998).

L'augmentation des taux de glucocorticoïdes ont été associée à une inhibition de l'expression du gène Nrf2 conduisant à une réduction de l'expression et de l'activité des enzymes antioxydantes (Ki et al., 200). En outre, il a également été montré que les espèces

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

**Conclusion**  
**et**  
**Perspectives**

### Conclusion et perspectives

Au terme de ce travail expérimental nous avons essayé d'apprécier les variations comportementales, biochimiques et immunitaires suite au stress chronique de contention chez un modèle animale.

En effet, Les résultats de notre étude montrent que le stress chronique de contention affecte l'homéostasie de l'organisme et induit des altérations neurocomportementales et biochimiques Ce qui montre que le système nerveux communique avec le système endocrinien et immunitaire de manière multifactorielle où les glucocorticoïdes jouent le rôle du chef d'orchestre.

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

- Dosage de l'interleukine et les cytokines pro inflammatoires: TNF $\alpha$
- Approfondir les batteries des tests neurocomportementaux
- Prolonger la durée du stress de contention
- Etude de l'effet protectif des extraits de certaine plantes médicinales sur troubles induit par le stress de contention

# Références Bibliographiques

## Références bibliographiques

-A-

**Akerstedt T, 2006** . Psychosocial stress and impaired sleep Scand J Work Environ Health.;32(6):493-501

**Ahola K, Honkonen T, Kivimaki M, Virtanen M, Isometsa E, et al., 2006**. Contribution of burnout to the association between job strain and depression: the health 2000 study. J Occup Environ Med. 48:1023-1030.

**Armon G, Shirom A, Shapira I, Melamed S. 2008**. On the nature of burnout-insomnia relationships: a prospective study of employed adults. J Psychosom Res.; 65:5-12

-B-

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

**Balkaya M, Prinz V, Custodis F, Gertz K, Kronenberg G, Kroeber J, Fink K, Plehm R, Gass P, Laufs U, Endres M. 2011**. Stress worsens endothelial function and ischemic stroke via glucocorticoids. Stroke. 42(11):3258-64..

**Ballatori N, Lin F, Fang F, Boyer JL, Christian WV, Hammond CL. 2009** . OST alpha-OST beta: a key membrane transporter of bile acids and conjugated steroids. FRONT Biosci (Landmark Ed). Jan 1 ;142829-44

**Barden, J., Maddux, W. W., Petty, R. E., & Brewer, M. B. 2004** . Contextual Moderation of Racial Bias: The Impact of Social Roles on Controlled and Automatically Activated Attitudes. *Journal of Personality and Social Psychology*, 87(1), 5-22.

**Barnum CJ, Blandino P Jr, Deak T . 2007**. Adaptation in the cortico-sterone and hyperthermic responses to stress following repeated stressor exposure. J Neuroendocrinol 19(8):632–642.



**Belkic KL, Landsbergis PA, Chnalle PL, Baker D. 20014.** Is job strain a major source of cardiovascular disease risk?. Scand J Work Environ Health. 30:85-128.

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

**Bonde JP.2008.** Psychosocial factors at work and risk of depression: a systematic review of the epidemiological evidence. Occup Environ Med.; 65:438445

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

**Bowers G, Cullinan WE, Herman JP.1998.** Region-specific regulation of glutamic acid decarboxylase(GAD) mRNA expression in central stress circuits. J Neurosci ; 18,pp.5938-5947

**Bradford M, 1976.** A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochemistry 72: 248-254

**Breier, A., Albus, M., Pickar, D., Zahn, T. P., Wolkowitz, O. M., & Paul, S. M.1987.** Controllable and uncontrollable stress in humans: Alterations in mood and neuroendocrine and psychophysiological function. American Journal of Psychiatry, 144, 1419-1425.

**Brummelte S,2012.** Lieblich SE, Galea LA.M. Gestational and postpartum corticosterone exposure to the dam affects behavioral and endocrine outcome of the offspring in a sexually-dimorphic manner. Neuropharmacology ; 62, 406e 418.

**Buynitsky T& Mostofsky DI.2009** .Restraint stress in biobehavioral research: Recent developments. Neurosci Biobehav Rev; 33, 1089-1098.

-C-

**Cohen S, Hamrick N.2003.** Stable individual differences in physiological response to stressors: implications of stress elicited changes in immune related health. Brain Behav Immun ; 17, 407-14.

**Carli M, Prontera C, Samanin R., 1989.** Effect of 5-HT1A agonists on stress-induced deficit in open field locomotor activity of rats: evidence that this model identifies anxiolytic-like activity. Neuropharmacology . 28,pp.471-476

**Carrasco GA , Van de Kar LD.2003.** Neuroendocrine pharmacology of stress. Eur J Pharmacol . 463, pp. 235 -272

**Carrico AW, 2008.** Antoni MH. Effects of psychological interventions on neuroendocrine hormone regulation and immune status in HIV-positive persons: a review of randomized controlled trials. Psychosom Med. .70(5):575-84.

- Chandola T, Brunner E, Marmot M. 2006 Jan 20.** Chronic stress at work and the metabolic syndrome: prospective study .BMJ.; 521-525. Epub
- Christaki E, Kokkinos A, Costarelli V, Alexopoulos EC, Chrousos GP & Darviri C 2013.** Stress management can facilitate weight loss in Greek overweight and obese women: a pilot study. J Hum Nutr Diet 26 132 .
- Chen Y, Mao Y, Zhou D, Hu X, Wang J, Ma Y.2010.** Environmental enrichment and chronic restraint stress in ICR mice: effects on prepulse inhibition of startle and Y-maze spatial recognition memory. Behav Brain Res. : 212, pp.49–56.
- Chida Y, Hamer M, Wardle J, Steptoe A.2008.** Do stress-related psychosocial factors contribute to cancer incidence and survival?.Nat Clin Pract Oncol. ; 5:466-475.
- Chrousos GP, Gold PW.1992.** The concepts of stress and stress system désordres. Overview of physical and behavioral homeostasis.Jama : 267, pp.1244-1252.
- Chrousos. GP., Torpy. DJ. and Gold PW. 1998.** Interactions between the hypothalamic pituitary adrenal axis and the female reproductive system: Clinical implications. Annals of Internal Medicine.129 (3):229–240.
- Chrousos GP,2009.**Stress and disorders of the stress system. Nat Rev Endocrinol. ; 5, pp.374-381.
- Cohen S, Hamrick N 2003.** Stable individual differences in physiological response to stressors: implications of stress elicited changes in immune related health. Brain Behave Immun ;17, 407–14.
- Conrad DF, Pinto D, Redon R, Feuk L, Gokcumen O,Zhang Yand al, 2010.** Origins and functional impact of copy number variation in the human genome. Nature. 464(7289): 704–712.
- Conti V, Roncallo PF, Beaufort V, Cervigni GL, Miranda R, Jensen CA, Echenique VC.2011.** Mapping of main and epistatic effect QTLs associated to grain protein and gluten strength using a RIL population of durum wheat. J Appl Genet. ;52:287–298.
- Cliona, M. et al., 2011.** Strain differences in the neurochemical response to chronic restraint stress in the rat: relevance to depression. Pharmacol. Biochem. Behav. 97, 690-699 .
- Cullinan WE.2000.** GABA(A) receptor subunit expression within hypophysiotropic CRH neurons: a dual hybridization histochemical study. J Comp Neurol ; 419, pp.344-351.

-D-

**David J. Sanderson, Emma Hindley, Emily Smeaton, Nick Denny ,Amy Taylor, Chris Barkus, Rolf Sprengel, Peter H. Seeburg and David M. Bannerman.2011.** Deletion of the GluA1 AMPA receptor subunit impairs recency-dependent object recognition memory. *Learn. Mem.* . 18: 181-190.

**Datson, N.A., Morsink, M.C., Meijer, O.C., De Kloet, E.R. 2008.** Central corticosteroid actions: Search for genetargets , *Eur J Pharmacol*, 583(2-3):272-89

**Dayas CV, Buller KM, Crane JW, Xu Y, Day TA.2001.** Stressor categorization: acute physical and psychological stressors elicit distinctive recruitment patterns in the amygdala and in medullary noradrénergique cell groups. *Eur J Neurosci.* ;14, pp.1143-1152.

**De Kloet, E. R., Joëls, M. and Holsboer, F.2005.** Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat. Rev. Neuro. Sci.* 6, 463-475 .

**Dunn AJ, Swiergiel AH.2008.** The rôle of corticotropin-releasing factor and noradrénaline in stress-related responses, and the inter-relationships between the two systems. *Eur J Pharmacol* ; 583, 186-193.

-E-

**Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM 1961.** A new and rapid colorimetric détermination of acétylcholine estérase activity. *Biochem Pharmacol* 7(88)

**Evelyne KA, Malloy HT.1938.** Micro détermination of oxyhemoglobin methemoglobine and sulfhemoglobine in a single sample of blood. *J. Biol. Chem.* ; 126 : 655-662.

-F-

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

**Finsterwald C, Alberini CM.2014.** Stress and glucocorticoid receptor-dependent mechanisms in long-term memory: from adaptive responses to psychopathologies. *Neurobiol Learn Mem.* ;112C:17–29.

**Flohe & Gunzler .1984.** Analysis of glutathione peroxydase, *Méthodes Enzymol* 105: 114-121 .

**Fredrickson, D.S., Levil R. L., and Lee R. S.1967.** Fat transport in lipoproteins-An integration approach to mechanisms and disorders. *N. Engl. J. Med.*, 276: 273-281.

-G-

**Gasmi S.2018 .**Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltamethrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat. 51-52.

**Godin I, Kittel F, Coppieters Y, Sliegrist J.2005.** A prospective study of cumulative job stress in relation to mental health. *BMC Public Health* ; 15:67

**Gold, F, KGoodwin, G P Chrousos. N. Engl. J. Med, 1988.** 319, 348–353.

**Gregus et al., 2005 . Gregus A, Wintink AJ, Davis AC, Kalunchuk L E.,** Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. *Behav Brain Res.* ; 156,pp.105-14.

**Gudmundsson A, 1997.** Carnes ., Pulsatile adrenocorticotrophic hormone: an overview. *Biol Psychiatry.* ;41, pp..342-365

-H-

**Habib KE,Gold PW, Chrousos GP.2001.**Neuroendocrinology of stress. *EndocrinolMetabClin North Am.* ; 30, pp.695-728.

**Hall. CS. 1934.** Emotional behaviour in the Rat. I. Defecation and urination as mesures of individual differences in emotionality. *J. Comp. Psychol.* 385-403.

Ku lli Jaako-Movits et al., 2005).

**Hans Selye(1907–1982):** Founder of the stress theory. *Singapore Med J.* 59(4): 170–171

**Hargreaves KM,1990.** Neuroendocrine markers of stress. *AnesthProg* ; 37, pp.99-105

**Head J, Stansfeld SA, Siegrist J. 2004.**The psychosocial work environment and alcohol dependence: a prospective study. *Occup Environ Med.* ; 61:219-224.

**Herman, J.P. ; Adams, D. et Prewitt, C. 1995.**Regulatory changes in neuroendocrine stress-intégrative circuitry produced by a variable stress paradigm. *Neuroendocrinology* 61(2): 180–190. PMID: 775333

**Herman J, Figueiredo H, Mueller N, Ulrich-Lai Y, Ostrander M, Choi D, Cullinan W, 2003.**Central mechanisms of stress intégration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo pituitary-adrenocortical responsiveness. *Front Neuroendocrinol.* ;24, 151-180 .

**Huynh, T. N., Krigbaum, A. M., Hanna, J. J. & Conrad, C. D.2011.** Sex differences and phase of light cycle modify chronic stress effects on anxiety and depressive-like behavior. *Behav. Brain. Res.* 222, 212-222 .

-I-

**Itoi K., 2008.** Ablation of the central noradrenergic neurons for unraveling their roles in stress and anxiety. *Ann N Y Acad Sci.* ; 1129, 47-54

**Itoi K , 2010.**Sugimoto N., The brainstem noradrenergic systems in stress, anxiety, and dépression. *J Neuroendocrinol.*

-K-

**Kamilia Guedri1, Hacène Frih2, Aziez Chettoum3 & Rachid Rouabhi1. 2017.** Chronic Restraint Stress Induced Neurobehavioral Alterations and Histological Changes in Rat .*Toxicol. Environ. Health. Sci.* Vol. 9(2), 123-129.

**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,ABIÉS. ;pp259

**Katz RJ, Roth KA.1979.** Stress induced grooming in the rat--an endorphin mediated syndrome. *NeurosciLett.* ; 13, pp.209-212

**Katzer L, Bradshaw AJ, Horwath CC, Gray AR, O'Brien S, Joyce J. 2008.** Evaluation of a "nondiets" stress reduction program for overweight women: a randomized trial. *Am J Health Promot.* 22(4):264-74.

**Kazushige, M. et al., 2000.**Chronic Stress Induces Impairment of Spatial Working Memory Because of Prefrontal Dopaminergic Dysfunction. *J. Neurosci.* 20, 1568 -1574 .

**Keller J, Florez B, Gomez RG, Solvason HB, Kenna H, et al.,2006.** Cortisol circadian rhythm alterations in psychotic major depression. *Biol Psychiatry* ; 60:275-281.

**Kemeny ME, Schedlowski M.2007.** Understanding the interaction between psychosocial stress and immune-related diseases: a stepwise progression. *Brain Behav Immun.* 21(8):1009-18.

**Kiecolt-Glaser JK, Glaser R. 1999 Oct.** Psychoneuroimmunology and cancer: fact or fiction? *Eur J Cancer.*;35(11):1603-7.

**Kiss A, Aguilera G.2000 .**Role of alpha-1-adrenergic receptors in the regulation of corticotropin-releasing hormone mRNA in the paraventricular nucleus of the hypothalamus during stress. *Cell Mol Neurobiol*20, 683-694. Kiss A & Aguilera G (2000) Role of alpha-1-adrenergic receptors in the regulation of corticotropin releasing hormone mRNA in the paraventricular nucleus of the hypothalamus during stress. *Cell Mol Neurobiol.* ; 20, pp.683-694

**Kumar D, Puja B1, Sangeeta R1 and Vinod K.2012.** Persistence of Circannual Rhythms under Constant Periodic and Aperiodic Light 1 Conditions: Sex Differences and Relationship with the External Environment. *Journal of Experimental Biology.* 10.1242/jeb.065581.

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

-L-

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

**Lakshmi BVS et Sudhakar M.2009** Screening of *Psidium guajava* Leaf Extracts for Antistress Activity in Different Experimental Animal Models *Pharmacognoc Res.* 1 ( 6 ) : 359-366.

**Lightman SL, Wiles CC, Atkinson HC, Henley DE, Russell GM, Leendertz JA, Mckenna MA, Spiga F, Woodsa , Conway-Campbell BL.,2008.** The significance of glucocorticoid pulsatility. *Eur J Pharmacol*; 583, pp.255-262.

**Lopez M, Cauchi C, Sergi D, Amodio A, Paoletti G, et al.,2010.** Psyche and cancer. *Clin Ter* ; 161:69-75

**Lupien SJ, McEwen BS, Gunnar MR, Heim C. 2009.** Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nat Rev Neurosci* 10:434 – 445

- Maccari S, Korte, J.M.Koolhaas, J.C.Wingfield, and B.S.McEwen.2005.** The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 29 (2005) 3-38.
- Maclean PD.** Cerebral evolution and emotional processes: new findings on the striatal complex. *Ann N Y Acad Sci* 1972, 193 : 137-149
- Makino S, Smith M, Gold P.,** Increased expression of corticotropin-releasing hormone and vasopressin messenger ribonucleic acid (mRNA) in the hypothalamic paraventricular nucleus during repeated stress: association with reduction in glucocorticoid receptor mRNA levels. *Endocrinology.* 1995; 136, pp.3299-3309
- Magarinos AM. McEwen BS.1995.** Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 neurons : comparison of stressors. *Neuroscience* ; 69, pp.83-88.
- 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, pp.25-35.
- Mariola Herbet, Agnieszka Korga, Monika Gawrońska -Grzywacz, Magdalena Izdebska, Iwona Piątkowska-Chmiel, Ewa Poleszak, Andrzej Wróbel, Włodzimierz Matysiak, Barbara Jodłowska-Jędrych, and Jarosław Dudka<sup>.2017</sup>** Chronic Variable Stress Is Responsible for Lipid and DNA Oxidative Disorders and Activation of Oxidative Stress Response Genes in the Brain of Rats. *Oxid Med Cell Longev.* : 7313090.
- McEwen et Magarinos. 2001.** ( McEwen, B. S. & Sapolsky, R. M. Stress and cognitive function. *Curr. Opin. Neurobiol.* 5, 205-216 (1995).
- Meerlo P, De Boer S, Koolhaas J, Daan S , Hoofdakker R..1996.** Changes in daily rhythms of body temperature and activity after a single social defeat in rats. *PhysiolBehav* ; 59, pp.735-739.
- Melchior M, Caspi A, Milen BJ, DANESE A, POULTON R, MOFFITT TE.2007.** Work stress precipitates depression and anxiety in young, working women and men. *Psychol Med* ; 37:1119-112
- Miller G, Chen E, Cole SW.2009.** Health Psychology: Developing biologically plausible models linking the social world and physical health. *Annual Review of Psychology* ; 60:501-524
- Mormede P, Andanson S, Auperin B, Beerda B, Guemene D, Malmkvist J, Manteca X, Manteuffel G, Prunet P, van Reenen CG, Richard S , Veissier I .2007.** Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *PhysiolBehav.*; 92, pp.317-339.

**Moore, C. J. & Cunningham, S. A.2012.** Social position, psychological stress, and obesity: a systematic review. *J. Acad. Nutr. Diet.* 112, 518-526.

**Munck A, Guyre PM, Holbrook NJ.1984.** Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr Rev.*;5:25-44.

**Munck A, Guyre PM .1986.** Glucocorticoid physiology, pharmacology and stress. In: Chrousos GP, Loriaux DL, Lipsett MB, eds. *Steroid Hormone Resistance: Mechanisms and Clinical Aspects.* New York, NY: Plenum Press;:81-96.

-N-

**Nasuti C, Carloni M, Fedeli D et al. 2013.** Effects of early life permethrin exposure on spatial working memory and on monoamine levels in different brain areas of presenescent rats. *Toxicology* 303: 162-168

**Nayanatara AK, Tripathi Y, Nagaraja HS, Jeganathan PS, Ramaswamy C, Ganaraja B, Sheila R Pai ,Asha k. 2012.**Effect of Chronic Immobilization Stress on some selected Physiological, Biochemical and Lipid Parameters in Wistar Albino Rats. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 3(1):34-42

**Netterstrom B, Conrad N, Bech P, F P, Olsen O, et al.2008.** The relation between work-related psychosocial factors and the development of depression. *Epidemiol Rev.*; 30:118-132

-O-

**Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K.1979.** Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Ann. Biochem.* ; 95 : 351-358.

-P-

**Pacak K, Palkovits M.2001.** Stressor specificity of central neuroendocrine responses: Implications for stress related désordres. *Endocr Rev.* ; 22, pp.502-548

**Prut L, Belzung C.2003.** The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol* ;463, pp.3-33.



-R-

**Radley J, Rocher A, Rodriguez A, Ehlenberger D, Dammann M, McEwen B, Morrison J, Wearne S, Hof PR. 2008.** Repeated stress alters dendritic spine morphology in the rat medial prefrontal cortex. *J Comp Neurol.* ;507, pp.1141-1150 .

**Rafter. Psychiatry Res. 2001.** 103:93-96

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

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

**Ribas VR, De Lima Martins HA, Viana MT, do Nascimento Fraga S, De Oliveira Carneiro SM, De Galvão BHA, Bezerra AA, Barbosa De Castro CMM, Sougey EB, Manhães De Ricart-Jane D, Rodriguez-Sureda V, Benavides A, Peinado-Onsurbe J, Lopez-Tejero M D, Llobera M. 2002.** Immobilization stress alters intermediate metabolism and circulating lipoproteins in the rat. *Metabolism* ; 51, 925-931.

**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, pp.628–635.

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

-S-

**Saper C, Lu J, Chou T, Gooley J., 2005.** The hypothalamic integrator for circadian rhythms. *Trends Neurosci* ; 28, 152-157.

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

**Sawchenko P, Li H, Ericsson A. 2009.** Circuits and mechanisms governing hypothalamic Responses to stress : à tale of two paradigms. *Prog Brain Res* ; 122, pp. 61-78

**Schraub S, Sancho-Garnier H, Velten M. 2009.** Should psychological events be considered cancer risk factors?. *Rev Epidemiol Sante Publique.* ; 57:113-123

**Selye H. 1939.** The stress of life, 2d edition ed: Papermark Edition.

**Selye. 1976-** The stress of life, 2d edition ed: Papermark Edition.

- Selye, H. 1956.** The stress of life. New York, NY, US: McGraw-Hill.
- Selye H. 1998.** A syndrome produced by diverse nocuous agents. *J Neuropsychiatry ClinNeurosci.* ; 10, pp. 230-231.
- Shuichi C, Tadahiro N, Midori N, Misty C R, Chisato W, Hiroshi K., 2012.** Chronic restraint stress causes anxiety- and depression-like behaviors, downregulates glucocorticoid receptor expression, and attenuates glutamate release induced by brain-derived neurotrophic factor in the prefrontal cortex. *Progress in NeuroPsychopharmacology and Biological Psychiatry* ; 39, pp.112-119.
- Siegrist Jet Rödel A. 2006.** Work stress and health risk behavior. *Scand J Work Environ Health.*32(6):473-81
- Siegrist .J. 2008.** Chronic psychosocial stress at work and risk of depression: evidence from prospective studies. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 5:115-9.
- Steele TA. 2002.** Chemotherapy-duced immunossupression and reconstitution of immune function.*Leukemia Res* ; 26, 411-4.
- Storz, G., Imlay, J.A. (1999).** Oxidative stress. *Curr. Opin. Microbial.,* 2: 188194
- Stratakis, C.A. and Chrousos, G.P.1995.** Neuroendocrinology and Pathophysiology of the Stress System. *Annals of the New York Academy of Sciences,* 771, 1-18
- Swaab DF, van Pelt J, Hofman MA.** Introduction to the sixteenth C.U. AriÅ«ns Kappers lecture. *Progress in Brain Research.* 147: 39-41
- Swiergiel A, zhou Dunn A.2007.** effects of chronic footshok,restraint and corticotropin releasing factor on freezing,ultrasonic vocalization and forced swim behavior in rats. *Behav Brain Res* ; 183, pp. 178-87.
- Szafarczyk A, Ixart G, Gaillet S, Siaud P, Barbanel G, Malaval F, Assenmacher I. 1993.**Stress.Neurophysiologicstudies. *Encephale.*19 Spec No 1 ; 137-142.

-T-

- Tobach, E. 1966.** Manipulation effects, open-field experience and digestive transit time in wistar male and female rats. *Psychological Reports,* 19(2), 375-378
- Tsigos, C., et Chrousos, G. P. 2002.** Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of Psychosomatic Research,* 53(4), 865-871.
- Twellaar M, Winants Y, Houkes I. 2008.** How healthy are Dutch general practitioners? Self-reported (mental) health among Dutch general practitioners. *Eur J Gen Pract* ; 14:4-9.

-U-

**Ulrich-Lai, Y.M.; Figueiredo, H.F.; Ostrander, M.M.; et AL.2006.** Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 291(5):e965–e973, . PMID: 16772325

-V-

**Vann S, Albasser M.2011.** Hippocampus and neocortex: recognition and spatial memory. *Curr Opin Neurobiol.* ; 21(3) : pp.440-5.

**Veissier, I., and A. Boissy. 2007.** Stress and welfare: Two complementary concepts that are intrinsically related to the animal's point of view. *Physiol. Behav.* 92(3):429–433.

**Venero, C. et al. 2002.** Chronic stress induces opposite changes in the mRNA expression of the cell adhesion molecules NCAM and L1. *Neuroscience* 115, 12111219 .

-W-

**Weiss JM.** Effects of coping behavior with and without a feedback signal on stress pathology in rats. *J Comp Physiol Psychol* 1971a, 77 : 22-30 .

**Weiss JM.** Effects of coping behavior in different warning signal conditions on stress pathology in rats. *J Comp Physiol Psychol* 1971b, 77 : 1-13.

-X-

**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.* 2009; 57, pp.463–71

**Weckbercker G and Cory JG .1988 .** Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathionedependent mouse Leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letter* 40: 257-264

-Y-

**Yi L, Xuemei Z, Lingshan G, Xin L, Xia T, Ling L, Youguang Z, Ling Z, Xiaoxing Y.2013.** Protective effects of nifedipine administration on the cognitive impairments induced

by 118 chronic restraint stress in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* ; 103, pp.474–480.

-Z-

**Zhang HT, Huang Y, Massoud A, Stolinski LR, Li YF, Zhang L, Dlaboga D, Jin SLC, Conti M, O'donnell JM .2007.** Anxiogenic-like behavioral phenotype of mice deficient in phosphodiesterase 4B. *Neuropsychopharmacology* 33: 1611-1623.

**Ziegler D, Cullinan W, Herman J. 2005.** Organization and regulation of paraventricular nucleus glutamate signaling systems: N-methyl-D-aspartate receptors. *J Comp Neurol.* 2005 ; 484, pp. 43-56.