

## Effet du Kétoconazole sur le temps d'immobilité et la réponse immunitaire au cours de la nage forcée chez le rat Wistar

Bachir Ali Rachedi<sup>1</sup>, Aziez Chettoum<sup>1</sup>, Rédha Djenidi<sup>1</sup>, Kamel Khellili<sup>1</sup> et Hacène Frih<sup>2</sup>

<sup>1)</sup> *Laboratoire d'Ecophysiologie Animale, Faculté des Sciences, Département de Biologie, Université Badji Mokhtar, BP 12, Annaba23000, Algérie.*

<sup>2)</sup> *Laboratoire de Neuro-Endocrinologie Appliquée, Faculté des Sciences, Département de Biologie, Université Badji Mokhtar, BP 12, Annaba23000, Algérie.*

Accepté le 13/12/2009

### ملخص

يحدث الاكتئاب بعد اختلال نتيجة اضطرابات نشاطات محور كورتيكوتروف والجهاز المناعي. والهدف من هذه الدراسة هو استكشاف آثار الكيتوكونازول (KTCZ)، وهو مشتق من الإيميدازول، ومانع لتشكل الستيرويدات الكظرية، على التغيرات في إجمالي تعداد الكريات البيض والنسب المئوية من مجموعات الكريات البيض، أثناء السباحة القسرية للفئران، نموذج حيواني يستعمل لدراسة الاكتئاب. غرزت أنابيب في الوريد الوداجي الأيمن تحت تخدير عام وأخذت عينات دم (0.2 ملل) على فترات زمنية مقدرة بـ 15 دقيقة، في حين تصرفت الحيوانات بحرية خلال التجارب. قيست درجة القلق والنشاط الحركي للفئران في المتاهة. تحسن سلوك الفئران المعاملة بالكيتوكونازول تشير إلى أن الكورتيكوستيرون هو الوسيط الأكثر أهمية المسبب للاكتئاب.

**الكلمات المفتاحية:** السباحة القسرية؛ الكورتيكوستيرون؛ السيتوكينات.

### Résumé

La dépression est installée suite aux perturbations des activités de l'axe corticotrope et du système immunitaire. L'objectif de cette étude est d'explorer les effets du ketoconazole (KTCZ), un dérivé d'imidazole, inhibiteur de stéroïdogénèse surrénalienne, sur les variations du nombre de globules blancs totaux et des pourcentages des sous-populations leucocytaires, au cours de la nage forcée chez le rat, modèle animal de dépression. Des cathéters ont été implantés sous anesthésie générale dans la veine jugulaire droite et des prises de sang (0.2 ml) ont été réalisées à des intervalles de temps de 15 minutes, alors que les animaux se comportaient librement pendant les expériences. Le degré d'anxiété et de l'activité locomotrice des rats ont été mesurés au labyrinthe en croix surélevé. L'amélioration des comportements des rats traités au KTCZ suggérerait que le corticostérone soit le médiateur le plus important dans la pathogénie de la dépression.

**Mots clés :** nage forcée ; corticostérone ; cytokines.

### Abstract

Abnormal activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune system response has often been reported to induce depression in clinical use. The aims of this study was to explore the effects of ketoconazole (KTCZ), an imidazole derivative, inhibitor of adrenal steroidogenesis, on changes of total and differential white blood cells counts using the forced swim test in the Rats, an animal model of depression. Catheters was implantated under anesthesia within the right jugular vein and blood samples (0.2 ml) were collected at the end of each 15-min interval, while animals were freely behaving during experiments. Anxiety behaviours were scored by elevated plus maze. Amelioration of anxious behaviors would suggest that corticosterone is an important mediator in the pathogenesis of depression.

**Key words:** swimming test, corticosterone, cytokines.

## 1. INTRODUCTION

Depuis l'avènement de la Psycho-Neuro-Immunologie [1], une série de travaux de recherches croissantes ont démontré que les désordres mentaux, en l'occurrence la dépression, peuvent provoquer des modifications des fonctions immunitaires et inflammatoires, et affecter les réponses de l'organisme aux agressions de tout ordre [2-6].

En effet, les malades déprimés ont fait et font toujours l'objet de nombreuses études en Psycho-Neuro-Immunologie. Au départ, il s'agissait essentiellement de tester l'hypothèse d'une relation entre la dépression mentale et la baisse des défenses immunitaires. Effectivement, certains auteurs ont pu observer que les patients déprimés présentent en général une lymphopénie, une réduction des réponses lympho-prolifératives aux mitogènes non spécifiques et une baisse de l'activité cytotoxique des cellules *Natural Killer* (NK) [7]. Des données récentes montrent que, malgré la relative disparité des résultats obtenus, les patients déprimés ne présentent cependant pas une immunodépression généralisée, comme le laissent penser les travaux sur les effets du stress sur les réponses immunes, puisqu'on peut parfois noter des signes d'activation du système immunitaire au niveau de l'immunité acquise [5]. Ces observations, jointes aux données disponibles sur les effets sur l'humeur et le comportement des cytokines pro inflammatoires libérées par les monocytes et les macrophages, ont permis de proposer la théorie macrophagique de la dépression, qui attribue à cette activation immunitaire un rôle dans la physiopathologie de la dépression [8].

Dans ce contexte, il serait intéressant de savoir comment se manifestent ces variations immunitaires chez un modèle animal valide de dépression. Il s'agit du modèle de nage forcée ou *Porsolt swimming test* [9]. Le test de la nage forcée (FST) est un modèle animal de dépression pharmacologiquement validé [10]. Les

résultats obtenus par ses mesures permettent la classification des traitements antidépresseurs [11-13].

Il est tout à fait admis que des niveaux élevés du cortisol peuvent jouer un rôle dans les anomalies observées dans la dépression [14, 15] et que les antidépresseurs peuvent atténuer ces anomalies [16]. En conséquence, l'inhibition de la biosynthèse de cortisol, par exemple, par le kétoconazole (KTCN), a été employée comme stratégie de traitement des épisodes dépressifs [17, 18].

Dans notre étude, nous avons opté pour une démarche expérimentale en se basant sur l'hypothèse du rôle central de la boucle de régulation corticostéroïde-cytokines pro-inflammatoires dans l'apparition des troubles anxieux. Nous avons procédé à l'administration orale sub-chronique (14 jours successifs) d'un cortico-bloquant, le kétoconazole (KTCZ), chez des rats Wistar mâles subissant subséquentement le test de nage forcée (FST). Le KTCN est un agent antifongique à large spectre d'activité et de basse toxicité qui est approuvé pour le traitement d'un certain nombre d'infections fongiques superficielles et systémiques (par exemple histoplasmose, candidiase). Le KTCN abaisse le cortisol plasmatique chez l'homme et la corticostéroïde plasmatique chez le rat, en empêchant de diverses étapes de la synthèse surrénalienne de corticoïdes et en agissant en tant qu'antagoniste des récepteurs stéroïdes [19, 20].

Notre travail vise à démontrer que le comportement animal et les systèmes de communications intercellulaires (système nerveux central, système endocrinien et système immunitaire) sont interdépendants et interliés de manière multifactorielle où l'axe corticotrope (corticostéroïde) joue le rôle de chef d'orchestre.

## 2. METHODES

### 2.1. Matériel biologique

#### 2.1.1 Elevage et lotissement des animaux

##### - Animaux d'élevage

Notre étude expérimentale a porté sur des rats mâles Wistar adultes (âgés de 6 mois) et pesant ( $250g \pm 10g$ ). Les animaux sont élevés dans des cages en polyéthylène. Après une période d'adaptation de 4 semaines environ, nous avons réparti les rats en deux lots expérimentaux : lot Témoin ( $n=8$ ) et lot traité par un cortico-bloquant, le kétoconazole (KTCZ) ( $n=8$ ) où chaque rat est logé individuellement dans une petite cage de ( $35,6 \text{ cm} \times 15,2 \text{ cm}$ ). Les rats sont soumis à un régime photopériodique naturel. En raison de l'extrême susceptibilité des systèmes de riposte au stress à toutes sortes d'agressions, nous avons attaché la plus grande importance aux conditions de manipulations journalières et à l'environnement où les bruits sonores sont atténués. Les animaux sont manipulés par le même expérimentateur.

#### 2.2.1 Traitement des animaux et prélèvements sanguins

##### - Administration du kétoconazole

Le kétoconazole (KTCZ), dérivé de l'imidazole, est un agent antifongique et un inhibiteur potentiel de la stéroïdogénèse surrénalienne et gonadique [21]. Une dose élevée ( $24 \text{ mg/kg}$ ) KTCZ augmente significativement le taux plasmatique d'ACTH chez les rats normaux et inhibe la production des stéroïdes surrénaliens (cortisol et corticostérone). Dans notre étude, le KTCZ ( $24 \text{ mg/kg}$ ) dilué dans du NaCl 0.9 % a été administré par gavage tous les jours, le matin à la même heure, pendant

14 jours. Au cours de la nage forcée, les rats vont subir 2 sessions de tests espacées de 24 heures : le pré-test (d'une durée de 15 minutes) et le test (5 minutes). Les rats reçoivent une première dose de KTCN  $\frac{1}{2}$  heure après le pré test ; une seconde dose 5 heures avant le test, et enfin une 3<sup>ème</sup> dose une heure avant le test [22, 23].

##### - Canulation intra carotidienne et prélèvements sanguins

La canulation est pratiquée au cours du traitement 5 jours avant la première nage forcée. Des cathéters se composant de tuyauterie médicale siliconée spécifique au rat ont été implantés soigneusement sous anesthésie (10cc d'Imalgène 500 et du Rompun 2% (5cc) à raison de 0.05 ml/100g de rat) dans la veine jugulaire droite et fixés aux muscles pectoraux avec du fil chirurgical. Les cathéters sont rincés quotidiennement avec 0.2 ml d'une solution saline (NaCl 0.9%) héparinée pour éviter l'obstruction du cathéter. Des prises de sang de 0.2 ml sont réalisées au moment de l'expérimentation à des intervalles de 15 minutes avant et après la nage forcée, pendant que les animaux se comportent librement dans le dispositif. Un volume égal de solution saline est réinjecté via le cathéter après chaque prélèvement. Le sang est recueilli dans des tubes héparinés. L'estimation des leucocytes est effectuée au multi paramètres (18 paramètres) ERMA INC (Full automatic blood cell counter PCE-210 (N).

### 2.3 Etude comportementale

#### 2.3.1 Procédure de la nage forcée

Le test de la nage forcée chez les rats est un modèle comportemental pré clinique qui possède une bonne validité prédictive. Il est largement utilisé pour déterminer l'efficacité des médicaments antidépresseurs (ADS) [11]. Le test de la nage forcée [9] est un test comportemental

qui consiste à induire chez le rat le désespoir. Il s'agit d'introduire un animal naïf pendant quinze minutes dans un aquarium rempli d'eau (l'aquarium mesure 54cm de hauteur sur (34×60cm) de surface de base). Cette dimension permet de s'assurer que le rat ne peut pas s'échapper en s'agrippant aux bordures du dispositif. L'aquarium est rempli d'eau (à 26 C°) jusqu'à une hauteur de 40 cm, dans le but de s'assurer que le rat ne se servira pas de ses membres inférieurs pour se maintenir à la surface et donc l'obliger à nager. La procédure de la nage forcée (FST) chez le rat se déroule en deux phases : le pré test (FST1) et le test (FST2), séparés par un intervalle de 24 heures. Lors du pré-test, le rat est placé pendant quinze minutes dans l'aquarium rempli d'eau. A la fin de la session, l'animal s'immobilise. Le jour suivant, l'animal est replongé dans l'aquarium pendant cinq minutes. Le comportement de l'animal dans le dispositif est filmé à l'aide d'une camera vidéo. Ensuite on procède à la lecture des séquences et la mesure du temps d'immobilité, de nage et d'escalade. Le test de la nage forcée est associé à un autre test l'open field pour confirmer le faux positif et le faux négatif.

### 2.3.2 Test des champs ouverts

L'activité locomotrice des rats est mesurée dans le test de l'Open field grâce à un dispositif fréquemment utilisé en expérimentation. Le dispositif utilisé est une enceinte carrée en plexiglas de 1 mètre de côté et 50 cm de haut. Il est divisé en 7 parties de même superficie : une partie centrale et six parties périphériques. La partie centrale sert de point de départ pour les animaux à chaque test. Les animaux sont placés dans le dispositif pendant 10 minutes. La locomotion dans l'Open field est évaluée en relevant le nombre total des parties périphériques traversées, le nombre d'entrées dans la partie centrale et le nombre de redressements. Ces indices

cumulés nous donnent l'indice de locomotion totale dans le dispositif.

### 2.3.3 Procédure du Plus maze test (test de labyrinthe en croix surélevée).

Le dispositif est sous forme de croix élevée à une hauteur de 40 à 60 cm du sol. Le dispositif se compose d'une partie centrale (10 × 10 cm), de deux bras protégés ouverts sans parois de (50 × 10) chacun. Les deux autres bras, qui leur sont perpendiculaires, sont fermés par des parois. Le test qui dure 10 minutes débute lorsque le rat est placé au centre du labyrinthe, face à un bras ouvert. Un animal qui explore les bras ouverts sera décrit comme étant « peu anxieux » et un animal qui reste confiné dans les bras fermés du dispositif sera lui décrit comme étant « anxieux ». Deux types de variables sont relevés : des variables classiques [24, 25] et des variables plus éthologiques tirées du répertoire comportemental défensif des rongeurs [26].

## 3. ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS

Les résultats sont représentés 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 MINITAB où nous avons sollicité le modèle linéaire généralisé pour faire une comparaison statistique globale des moyennes des échantillons (test ANOVA). Ce module nous donne automatiquement le résultat du test de comparaison des moyennes des traités par rapport aux moyennes des contrôles.

## 4. RESULTATS

### 4.1 Labyrinthe en croix surélevée

Les animaux traités au KTCZ passent plus de temps dans les bras ouverts du dispositif (Tab. 1) (KTCZ :  $35,2 \pm 6.06$  vs

T :  $23,05 \pm 1,46$ ) et y pénètrent plus fréquemment (nombre d'entrées) (KTCZ :  $7,2 \pm 0,94$  vs T :  $1,75 \pm 1,332$ ). Les animaux traités au KTCZ passent également plus de temps dans les parties distales des bras ouverts (KTCZ :  $10,55 \pm 1,8$  vs T :  $3,2 \pm 0,71$ ) et au centre du dispositif (KTCZ :  $149,6 \pm 28,37$  vs T :  $48,6 \pm 10,22$ ). Par contre, les animaux contrôles passent plus de temps dans les bras fermés du labyrinthe (KTCZ :  $430,25 \pm 58,90$  vs T :  $524,95 \pm 32,52$ ). La locomotion des animaux traités au KTCZ est supérieure à celle des animaux contrôles. Ceci est observable par le nombre total d'entrées dans les bras (KTCZ :  $19,7 \pm 6,60$  vs T :  $8,25 \pm 1,517$ ) ainsi que par le nombre de secteurs traversés dans le dispositif (KTCZ :

$25 \pm 4,491$  vs T :  $11 \pm 2,25$ ). Cette différence est due, en particulier, à des entrées fréquentes dans les bras ouverts du dispositif des animaux traités au KTCZ. Cependant, ils font plus de retours dans les bras fermés (KTCZ :  $3,166 \pm 1,65$  vs T :  $1,75 \pm 0,61$ ). Enfin, les animaux traités au KTCZ effectuent plus de redressement que leurs homologues contrôles (KTCZ :  $10,00 \pm 1,55$  vs T :  $5 \pm 1,69$ ). Pour ce qui est des variables éthologiques, le nombre de prises d'informations sur les profondeurs est supérieur chez les animaux traités au KTCZ (KTCZ :  $8,25 \pm 0,85$  vs T :  $5,55 \pm 0,435$ ). Pour le nombre de SAPs, ils sont plus fréquents chez les animaux contrôles (KTCZ :  $1,65 \pm 0,181$  vs T :  $3,5 \pm 0,184$ ).

**Tableau 1.** Evolution des paramètres du labyrinthe en croix surélevée chez le rat Wistar mâle traité à une forte dose de kétoconazole (KTCZ) pendant 14 jours.

Comportement/Lot	KTCZ	T
Temps au centre (Sec)	$149,6 \pm 28,37$ ***	$48,6 \pm 10,22$
Temps dans les bras ouverts (Sec)	$35,2 \pm 6,06$	$23,05 \pm 1,46$
Temps dans les parties distales des bras ouverts (Sec)	$10,55 \pm 1,8$ ***	$3,2 \pm 0,71$
Temps dans les bras fermés (Sec)	$430,25 \pm 58,90$ *	$524,95 \pm 32,52$
Temps dans les parties distales des bras fermés (Sec)	$195,05 \pm 26,66$	$234 \pm 29,4$
Entrées dans les bras ouverts	$7,2 \pm 0,94$ **	$1,75 \pm 1,332$
Entrées dans les bras fermés	$8,7 \pm 0,1$	$5,5 \pm 2,35$
Retour dans les bras fermés	$3,166 \pm 1,65$	$1,75 \pm 0,61$
Nombre total d'entrées dans les bras	$19,7 \pm 6,60$ **	$8,25 \pm 1,517$
Nombre total de secteurs traversés	$25 \pm 4,491$ **	$11 \pm 2,25$
Nombre de redressements	$10,00 \pm 1,55$	$5 \pm 1,69$
Nombre de prises d'information sur les profondeurs	$8,25 \pm 0,85$	$5,55 \pm 0,435$
Nombre de postures d'attention étirée (SAPs)	$1,65 \pm 0,181$	$3,5 \pm 0,184$

(n=8 ; \* p < 0,05, \*\* p < 0,01, \*\*\* p < 0,001)

#### 4.2 Effets sur les temps d'immobilité, de nage et d'escalade

L'analyse du test (Tab. 2) a révélé que les rats traités au kétoconazole se distinguent des rats contrôles, le premier jour du test (1<sup>ère</sup> FST), par un comportement actif agité et poussant des cris. D'autre part, le comportement des rats s'est avéré très sensible à la répétition

du test (réalisés à un jour d'intervalle), les animaux étant de plus en plus immobiles.

Dans nos résultats, nous avons démontré que les rats contrôles étaient immobiles pendant plus de 60% du temps durant le deuxième jour du test (T :  $266 \pm 20,11$  sec) indiquant que dans nos conditions expérimentales, la FST a été bien contrôlée. Par ailleurs, le temps d'immobilité des rats traités au KTCZ est court par rapport au temps mesuré chez

les contrôles durant le deuxième jour du test (Immobilité, T :  $266 \pm 20.11$  sec vs KTCZ :  $130 \pm 44.22$  sec).

En outre, nous avons trouvé que les temps de nage et d'escalade mesurés chez les animaux traités au KTCZ sont plus importants que ceux mesurés chez les animaux contrôles (Nage, T :  $40,56 \pm 10.44$  sec vs KTCZ :  $46,22 \pm 10.32$  sec ;

Escalade, T :  $36,83 \pm 8.6$  sec vs KTCZ :  $90,23 \pm 22$  sec).

#### 4.3 Effets du traitement au cours du test des champs ouverts

Les résultats de l'Open field test (Tab. 3) n'ont pas relevé une variation de l'activité locomotrice suite au traitement au KTCZ.

**Tableau 2.** Evolution des différents temps d'immobilité, de nage et d'escalade (seconde) chez le rat mâle Wistar témoin et traité au kétoconazole suite la nage forcée.

Lot/Nage (sec)	Temps d'immobilité (sec)	Temps de nage (sec)	Temps d'Escalade (sec)
T	$266 \pm 20.11$	$40,56 \pm 10.44$	$36,83 \pm 8.6$
KTCZ	$150 \pm 44.22$ ***	$46,22 \pm 10.32$ **	$90,23 \pm 22$ ***

(n=8 ; \* p < 0,05, \*\* p < 0,01, \*\*\* p < 0,001)

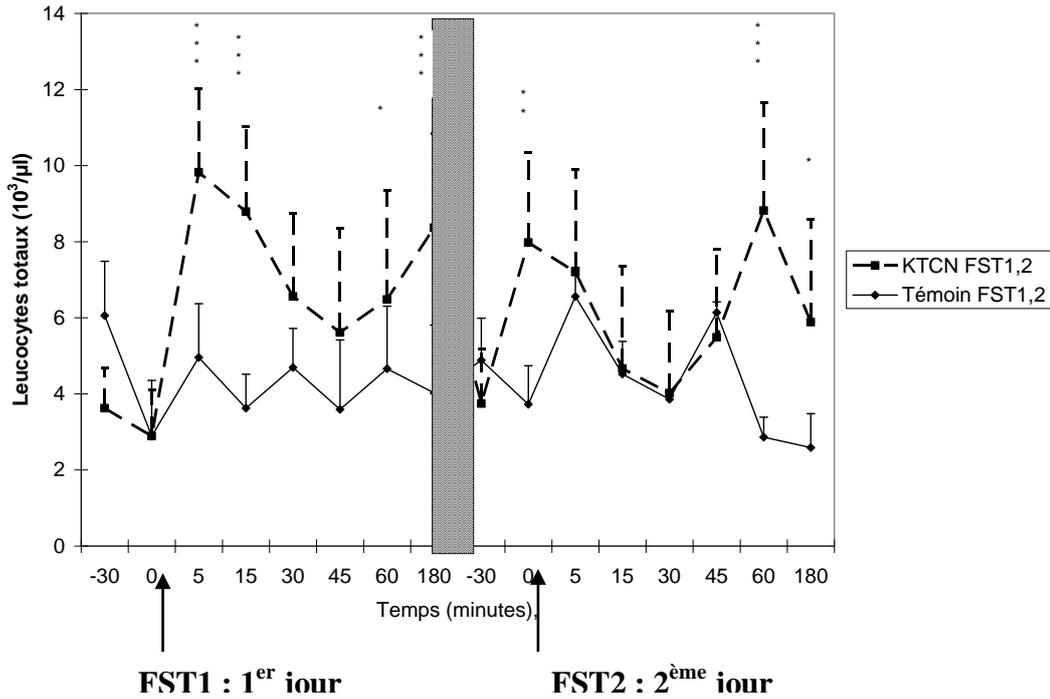
**Tableau 3 :** Variation de l'activité locomotrice à l'Open field test chez le rat mâle Wistar témoin et traité au kétoconazole.

Lot/Paramètres	Distance totale parcourue (cm)	Nombre de redressement	Nombre d'entrées au centre
T	$6134 \pm 722.63$	$63.50 \pm 10.52$	$7.50 \pm 2.04$
KTCZ	$6784.89 \pm 532.2$	$61.00 \pm 9.98$	$8.30 \pm 1.80$

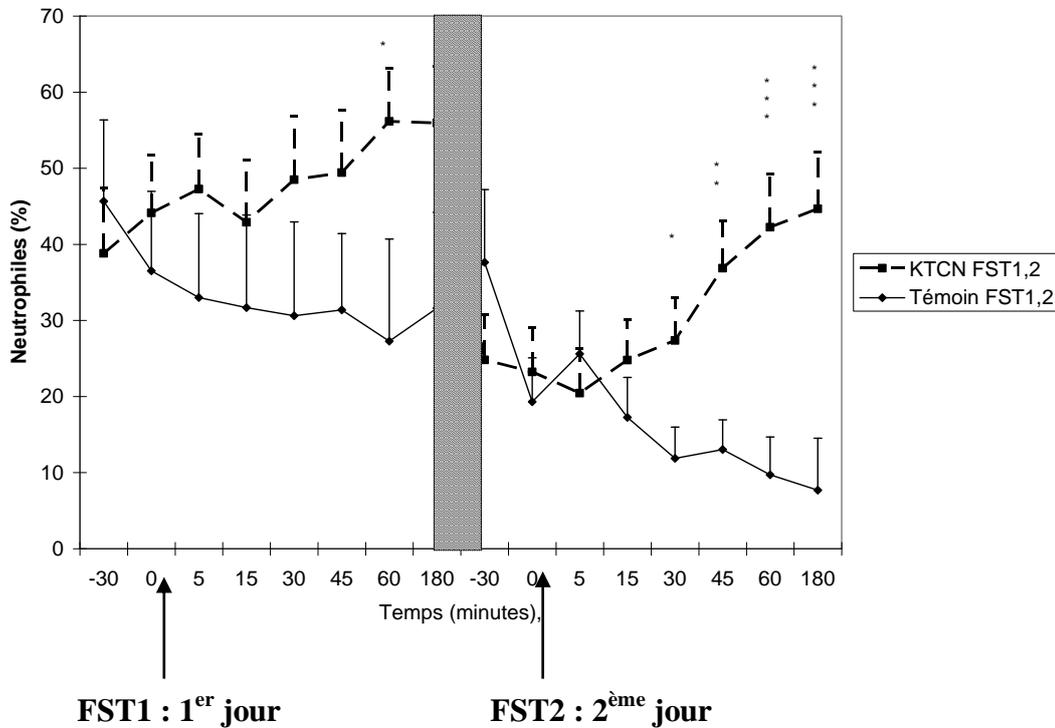
#### 4.4 Variation des taux de globules blancs

Nous avons enregistré des profils de la réponse immunitaire antagonistes en fonction du traitement (contrôle ou traité au KTCZ) et du moment de la nage (FST1 ou FST2). Cet antagonisme est attesté par la divergence de la courbe des neutrophiles (Fig. 2) et des lymphocytes (Fig. 4) : de 0 à 180 minutes au cours de la FST1 et de 10 à 180 minutes au cours de la FST2. Ceci témoigne de l'efficacité du traitement au KTCN au cours de notre expérimentation.

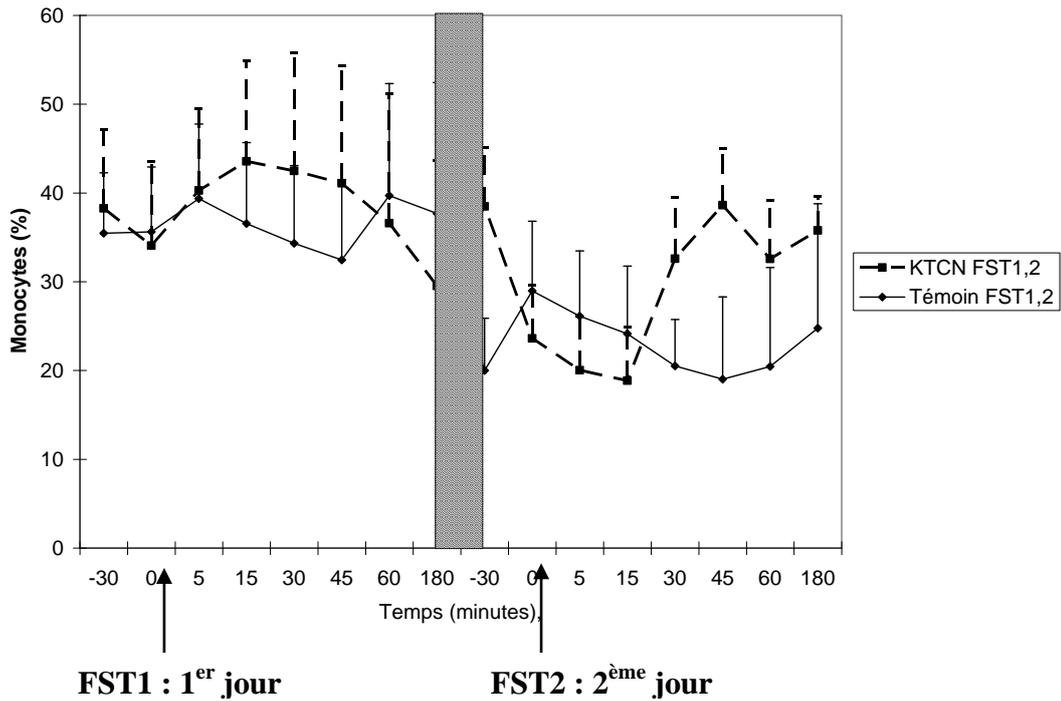
Si l'on se réfère au profil (cinétique) des variations des sous populations leucocytaires pris ensemble (Neutrophiles, Monocytes et Lymphocytes) au cours de la FST2: chez les animaux traités au KTCN, on remarque une mobilisation rapide des lymphocytes (40 minutes) (Fig. 4), suivie d'une augmentation des neutrophiles (Fig. 2) accompagné d'une lymphopénie (Fig. 4), par contre chez les animaux témoins le nombre des leucocytes totales a diminué au bout de 120 minutes (Fig. 1).



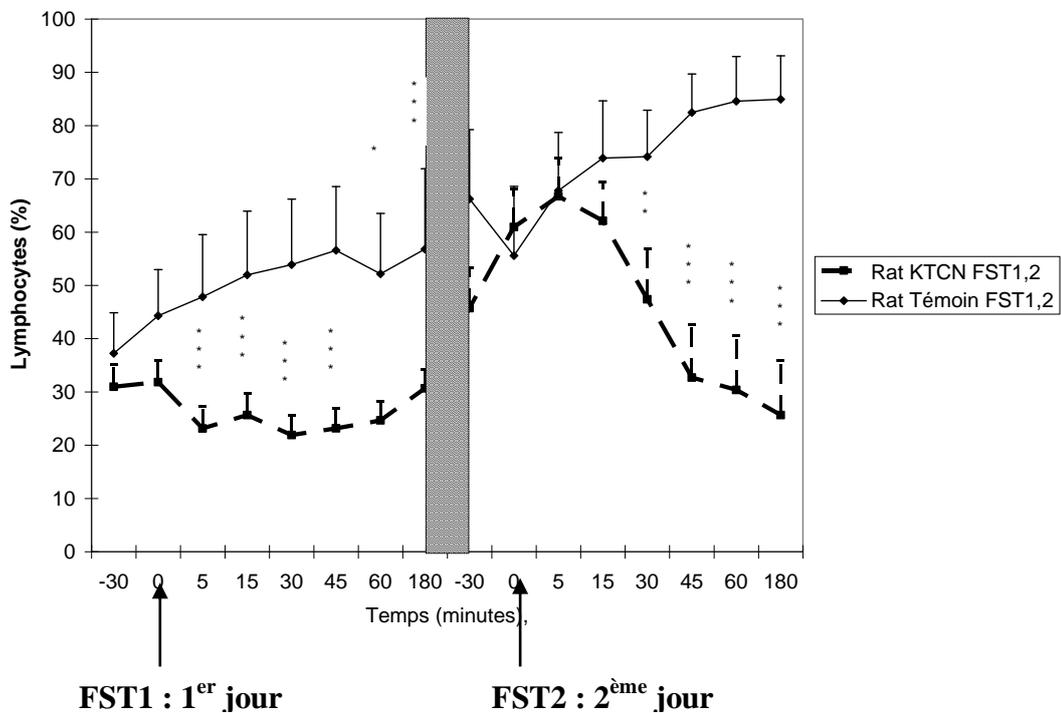
**Figure 1.** Cinétique des leucocytes totaux (10<sup>3</sup>/μl) au cours de deux nages forcées (FST1 et FST2) chez le rat témoin et traité au KTCN (24 mg/kg). (n=8 ; \* p < 0,05, \*\* p < 0,01, \*\*\* p < 0,001).



**Figure 2 :** Cinétique des neutrophiles (%) au cours de deux nages forcées (FST1 et FST2) chez le rat témoin et traité au KTCN (24 mg/kg). (n=8 ; \* p < 0,05, \*\* p < 0,01, \*\*\* p < 0,001).



**Figure 3.** Cinétique des monocytes (%) au cours de deux nages forcés (FST1 et FST2) chez le rat témoin et traité au KTCN (24 mg/kg). (n=8 ; \* p < 0,05, \*\* p < 0,01, \*\*\* p < 0,001).



**Figure 4.** Cinétique des lymphocytes (%) au cours de deux nages forcés (FST1 et FST2) chez le rat témoin et traité au KTCN (24 mg/kg). (n=8 ; \* p < 0,05, \*\* p < 0,01, \*\*\* p < 0,001).

## 5. DISCUSSION

Dans nos résultats ci-dessus (Tab. 2), nous avons enregistré chez les rats traités au KTCZ une diminution du temps d'immobilité et une augmentation du temps de nage et d'escalade au cours de la 2<sup>ème</sup> FST. L'open field test (Tab. 3) n'a pas relevé une variation de l'activité locomotrice suite au traitement au KTCZ. Ceci témoigne d'une activité antidépressive-like du KTCZ. Par ailleurs, il est à souligner qu'il est plutôt plausible de référer la réduction de l'immobilité à l'inhibition de la corticostérone. En effet, il a été démontré qu'au cours de la nage forcée, les hormones corticoïdes régulent le temps d'immobilité [27]. Baèz et Volosin [28], notent une augmentation de la corticostérone accompagnée d'une augmentation du temps d'immobilité au cours de la nage forcée chez les rats. L'adrénalectomie chirurgicale entraîne une diminution du temps d'immobilité durant la période du re-test de 5 minutes de la 2<sup>ème</sup> FST [27, 29, 30]. En revanche, l'administration de la corticostérone (1mg/Kg) au premier jour du test après 15 minutes, augmente le temps d'immobilité, le jour du test (2<sup>ème</sup> FST). La dexaméthasone (dose dépendante) abolie cet effet [27, 30]. Le metyrapone (bloque la 11 beta-hydroxylase) (120mg/Kg) injecté 3h avant la 1<sup>ère</sup> FST (de 15 minutes) réduit significativement le temps d'immobilité. Cet effet est renversé par la corticostérone (dose-dépendante).

Des niveaux bas d'anxiété ont été souligné au labyrinthe en croix surélevée chez les animaux traités au KTCZ (Tab. 1), où ils manifestent des comportements anxiolytiques (passent plus de temps dans les parties bras ouverts, les parties distales des bras ouverts et au centre du dispositif, nombre d'entrées et locomotion importants,...). Cet effet pourrait également être le reflet de l'inhibition de la corticostérone. Des études récentes se sont intéressées à tester l'effet du KTCZ chez des rats exposés au

parfum de chat, ils ont noté que le traitement au KTCZ a supprimé les effets comportementaux anxieux chroniques du rat en réponse à l'exposition aiguë au parfum de chat. Cette variation du comportement, accompagnée d'une diminution des taux plasmatiques de corticostérone, nous démontre que la corticostérone pourrait être un médiateur important des troubles comportementaux [31].

Par ailleurs, dans nos résultats, le KTCZ, réduit le temps d'immobilité au dépend de l'augmentation du temps de la nage et d'escalade (Tab. 2). Cette tendance a été trouvée par Rex *et al.* [32], qui ont démontré qu'au cours de la FST, les rats manifestent un comportement actif, représenté par la nage et l'escalade, et des comportements passifs représentés par l'immobilité. Les molécules agissantes exercent un effet prédominant noradrénergique en augmentant le temps d'escalade et un effet sérotoninergique en augmentant le temps de la nage [23, 33].

Ces variations neurochimiques pourraient avoir pour origine l'implication des glucocorticoïdes surrénaliens. Il a été rapporté qu'un traitement court des souris au cours de la nage forcée par la corticostérone exogène a un effet antidépresseur-like. Ces hormones interviennent par la suppression de l'activité neuronale au niveau du circuit impliqué dans le phénomène du coping [34]. Connor *et al.* [35] ont démontré que la FST entraîne une activation de la corticostérone, augmente l'activité sérotoninergique au niveau du circuit impliqué dans ce phénomène (amygdale, du cortex frontal et l'hippocampe) et augmente le turn-over de la dopamine au niveau du striatum. Au cours de la 1<sup>ère</sup> session FST, la nage augmente la concentration extracellulaire de la 5-Hydroxytryptamine (5-HT) de 80% au niveau du striatum et de 40% au niveau du septum latéral. Le deuxième jour du test

reste sans effet au niveau des différentes régions. La corticostérone augmente de 950% le deuxième jour par rapport au premier jour du test [36].

Les réactions comportementales, neurochimiques et endocriniennes décrites ci-dessus sont concomitantes à de multiples réactions immunitaires. Effectivement dans nos résultats (Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4) nous avons enregistré des profils de la réponse immunitaire différents en fonction du traitement (contrôle ou traité au KTCZ) et du moment de la nage (FST1 ou FST2). Deux points intéressants ont été ressortis : l'intervention de l'immunité innée chez les animaux traités au KTCZ exprimée essentiellement par l'implication prédominante des neutrophiles à la place des lymphocytes au cours de la 1<sup>ère</sup> FST et l'obtention d'une réponse nette (pic décelée au bout de 5 minutes après la 2<sup>ème</sup> FST) et rapide (retour à la valeurs basales au bout de 45 minutes après la 2<sup>ème</sup> FST), toujours chez les animaux traités au KTCZ.

Dans ce sens, Connor *et al.* [37] ont pu caractériser les réponses corticotrope et immunitaire et examiner les niveaux des neurotransmetteurs dans cinq régions du cerveau à des intervalles de temps de 5, 30, 60, 90 et 120 minutes suite à la nage forcée. Ils ont souligné une diminution significative et transitoire des concentrations de noradrénaline et 5-Hydroxytryptamine (5-HT) au niveau de l'hypothalamus, 15 minutes après FST. Le turn-over de la 5-HT a significativement augmenté entre 20 et 120 minutes au niveau du cortex frontal et de l'amygdale. La corticostérone a présenté un taux très important à 90 minutes, par contre le nombre des leucocytes totaux a diminué au bout de 120 minutes accompagné d'une réduction du pourcentage des lymphocytes entre 90 et 120 minutes.

Ces différences de réactivité du système immunitaire pourraient être tributaires de l'implication des cytokines pro-inflammatoires où leur rôle dans

l'apparition des troubles comportementaux a été longtemps contesté. Les cytokines sont des médiateurs importants de l'inflammation. Ces dernières années des études ont démontré que la dépression est concomitante de l'effet de l'IL-6. L'administration de l'IL-6 au niveau de l'amygdale et de l'hippocampe augmente le temps d'immobilité [38]. Yamada *et al.* [39] puis Simen *et al.* [40], ont démontré que le Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF-alpha) est un modulateur important au niveau du système nerveux central des réactions émotionnelles. L'IL-10 également joue un rôle probable [41]. L'interféron-alpha augmente l'immobilité au cours de la nage forcée chez le rat [43].

## 6. CONCLUSION

A la lumière de ces résultats nous pouvons émettre l'hypothèse que les différences de réactivité du système immunitaire chez les animaux traités au KTCZ par rapport aux animaux contrôles pourrait également être le reflet d'une dissociation de réponse à un niveau plus élevé, à savoir une rupture de « contact » entre le SNC et le SI suite à l'inhibition de la synthèse surrénalienne des glucocorticoïdes où la corticostérone jouerait un rôle clé dans la médiation des réponses immunes. Par conséquent l'effet de l'Adréno Cortico Trophic Hormone (ACTH) et du Corticotropin-Releasing Factor (CRF) sur le système immunitaire l'emporterait sur l'effet du taux bas de la corticostérone sur l'immunité. Ceci en faveur d'un pattern de réponse où les trois hormones agiraient en synergie pour moduler les réponses du système immunitaire.

Notre travail a permis de mettre en évidence une nouvelle voie d'approche, située à l'interface de la clinique psychiatrique et de l'immuno-endocrinologie. Cette approche a permis, grâce à l'étude du comportement, d'aboutir sur des conclusions d'ordre

endocriniennes et immunitaires. Ceci est bien démontré dans notre travail, principalement, par la mise en évidence de l'effet anti-dépresseur du KTCN et en même temps l'antagonisme qu'il suscite sur le plan immunitaire.

Il est souhaitable que d'autres travaux puissent prendre en charge ce schéma d'interactions multidirectionnelles afin de mieux cerner les manifestations mises en jeu.

## Références

- [1] R. Ader, *Interactions between the nervous system and the immune system*, Psychoneuroimmunology, New York Academic press, 1981.
- [2] E.S. Tecoma, L.Y. Huey, *Psychic distress and immune response*, Life Sci., Vol. 36, 1985, p. 1700-1712.
- [3] TB. Herbert et Cohen, *Depression and immunity: a meta-analytic review*, Psychol. Bull., Vol. 113, 1993, p. 472-486.
- [4] M. Makino et al, *Enhancement of immobility in mouse forced swimming test by treatment with human interferon*, Eur. J. Pharmacol., Vol. 356, 1998, p. 1-7
- [5] M. Maes, A.H. Lin, L. Delmeire, *Elevated serum interleukin-6 (IL-6) and IL-6 receptor concentrations in posttraumatic stress disorder following accidental man-made traumatic events*, Biol Psychiatry, Vol. 45, 1999, p. 833-839.
- [6] T. Deak, C. Bellamy, L.G. D'Agostino, *Exposure to forced swim stress does not alter central production of IL-1*, Brain Res., Vol. 972, Issue (1-2), 2003, p. 53-63.
- [7] E.P. Zorilla, L. Luborsky, JR. McKAY, *The relationship of depression and stressors to immunological assays : a meta-analytic review*, Brain Behav Immun, Vol. 15, 2001, p. 199-226.
- [8] R.S. Smith, *The macrophage theory of depression*, Med. Hypotheses, Vol. 35, 1991, p. 298-306.
- [9] RD. Porsolt, G. Anton, N. Blavet, M. Jalfre, *Behavioral despair in rats : A new model sensitive to antidepressant treatment*, Eur. J. Pharmacol., Vol. 47, 1978, p. 379-391.
- [10] K. Nakamura, Y. Tanaka, *Antidepressant-like effects of aniracetam in aged rats and its mode of action*, Psychopharmacology (Berl), Vol. 158, 2001, p. 205-212.
- [11] F. Borsini, A. Meli, *Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity?*, Psychopharmacology, Vol. 94, 1988, p. 147-160.
- [12] I. Lucki, *The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs*, Behav. Pharmacol., Vol. 8, 1997, p. 523-532.
- [13] M. Papp, E. Moryl, P. Willner, *Pharmacological validation of the chronic mild stress model of depression*, Eur. J. Pharmacol., Vol. 296, 1996, p. 129-136.
- [14] F. Holsboer, *Prospects for antidepressant drug discovery*, Biol. Psychol., Vol. 57, 2001, p. 47-65.
- [15] H. Frih, Sahraouil, N. Frih, L. Toumi, AM. Bairi, A. Tahraoui, D. Maurel, P. Siaud, *Facteurs prédictifs de la survenue du stress post traumatique chez des individus ayant vécu deux évènements de vie majeurs (tremblement de terre et terrorisme en Algérie): Réponse corticotrope et prolactinique à une faible dose de Dexamethasone (0.5mg)*,

- L'Evolution psychiatrique, Vol. 74, 2009, p. 581-591.
- [16] F. Holsboer, *The corticosteroid receptor hypothesis of depression*, Neuropsychopharmacology, Vol. 23, 2000, p. 477- 501.
- [17] B.E.P. Murphy, V. Dhar, A.M. Ghadirian, G. Chouinard, R. Keller, *Response to steroid suppression in major depression resistant to antidepressant therapy*, J. Clin. Psychopharmacol., Vol. 11, 1991, p. 121-126.
- [18] O.M. Wolkowitz, V.I. Reus, F. Manfredi, J. Ingbar, L. Brizendine, H. Weingartner, *Ketoconazole administration in hypercortisolaemic patients*, Am. J. Psychiatry, Vol. 150, 1993, p. 810-812.
- [19] Sonino, N. The use of ketoconazole as an inhibitor of steroid production. N. Engl. J. Med., Vol. 317, 1987, p. 812-818.
- [20] J.E. Bennett, *Antifungal agents*, In: J.G. Hardman, L.E. Limbird (Eds.), Goodman et Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, ninth ed. McGraw-Hill, New York, 1996, p. 1175-1190.
- [21] Rj Santen , Bossche HV-d Synons J .Brug;Ans J, de Coster R., *Site of action of low dose ketoconazole on androgen biosynthesis*, In : en .J clin endocrinology metabol, Vol 57, 1983, p. 732-736.
- [22] R.D. Porsolt, M. LePichon, M. Jalfre, *Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments*, Nature, Vol. 266, 1977, p. 730-732.
- [23] H. Alexandro Da Silva, S. Angela, B. Alethea Gatto, *Oxydative stress parameters in diabetic rats submitted to forced swimming test, the Clonazepam effect*, Brain Research., Vol. 1154, 2007, p. 137-143.
- [24] R.G. Lister, *The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse*, Psychopharmacology, Vol. 92, 1987, p. 180-185.
- [25] S. Pellow, P. Chopin, S.E. File et M. Briley, *Validation of open : closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat*, J Neurosci Methods, Vol. 14, 1985, p. 149-167.
- [26] R.J. Rodgers et N.J. Johnson, *Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures, in the murine elevated plus-maze test of anxiety*, Pharmacol. Biochem. Behav., Vol. 52, 1995, p. 297-303.
- [27] JB. Mitchell, MJ. Meaney, *Effects of corticosterone on response consolidation and retrieval in the forced swim test*, Behav. Neurosci., Vol. 105, Issue 6, p. 798-803.
- [28] M. Bâes, M. Volosin, *Corticosterone influences forced swim-induced immobility*, Pharmacol. Biochem. Behav., Vol. 49, Issue 3, 1994, p. 729-36.
- [29] HD Veldhuis, CC De Korte, ER De Kloet, *Glucocorticoids facilitate the retention of acquired immobility during forced swimming*, Eur J Pharmacol., Vol. 115, Issue 2-3, 1985, p. 211-7.
- [30] E.R. De Kloet, S. De Kock, V. Schild et H.D.Vedhuis, *Antiglucocorticoid RU 38486 attenuates retention of a behavior and disinhibits the hypothalamic-pituitary adrenal axis at different brain sites*, Neuroendocrinology, Vol. 47, Issue 2, 1988, p. 109-15.
- [31] H. Cohen, J. Zohar, Y. Gidron, M.A. Matar, D. Belkind, U. Loewenthal, N. Kozlovsky, Z. Kaplan, *Blunted HPA axis response to stress influences susceptibility to posttraumatic stress response in rats*, Biol. Psychiatry, 2006, Vol. 15, Issue 59, p. 1208-1218.

- [32] A. Rex, R. Schickert, H. Fink, *Antidepressant-like effect of nicotinamide adenine dinucleotide in the forced swimming test in rats*, Pharmacol. Biochem. Behav., Vol. 77, 2004, p. 303-307.
- [33] O.M. Wolkowitz, *Reus VI. Treatment of depression with antiglucocorticoid drugs*, Psychosom Med., Vol. 61, 1999, p. 698-711.
- [34] E.A. Stone, Y. Lin, *An anti-immobility effect of exogenous corticosterone in mice*, Eur. J. Pharmacol., Vol. 580, Issue (1-2), 2008, p. 135-42.
- [35] T.J. Connor, P. Kelliher, A. Harkin, J.P. Kelly, B.E. Leonard, *Reboxetine attenuates forced swim test-induced behavioural and neurochemical alterations in the rat*, Eur. J. Pharmacol., Vol. 379, Issue (2-3), 1999, p. 125-33.
- [36] L.G. Kirby, I. Lucki, *The effect of repeated exposure to forced swimming on extracellular levels of 5-hydroxytryptamine in the rat*, Stress, Vol. 2, Issue 4, 1998, p. 251-63.
- [37] T.J. Connor, J.P. Kelly, B.E. Leonard, *Forced swim test-induced neurochemical, endocrine, and immune changes in the rat*, Pharmacol. Biochem. Behav., 1997; Vol. 58, Issue 4, p. 961-7.
- [38] T.H. Wu, C.H. Lin, *IL-6 mediated alterations on immobile behaviour of rats in the forced swim test via ERK1/2 activation in specific brain region*, Behav. Brain Res., Vol. 193, Issue 2, 2008, p. 183-91.
- [39] K. Yamada, R. Iida, Y. Miyamoto, K. Saito, K. Sekikawa, M. Seishima, T. Nebeshima, *Neurobehavioral alterations in mice with targeted deletion of the tumor necrosis factor-alpha gene: implications for emotional behaviour*, J Neuroimmunol., Vol. 111, Issue (1-2), 2000, p. 131-8.
- [40] B.B. Simen, C.H. Duman, A.A. Simen, R.S. Duman, *TNFalpha signaling in depression and anxiety: behavioural consequences of individual receptor targeting*, Biol. Psychiatry., Vol. 59, Issue 9, 2006, p. 775-85.
- [41] A.R. Mesquita, M. Correia-Neves, S. Roque, A.G. Castro, J. Vieira, J.A. Palha, N. Sousa, *IL-10 modulates depressive-like behaviour*, J. Psychiatr. Res., 2008, [Epub ahead of print].
- [42] M. Makino, Y. Kitano, C. Komiyama, M. Hirohashi, M. Kohno, M. Moriyama, K. Takasuna, *Human interferon-alpha induces immobility in the mouse forced swimming test: involvement of the opioid system*, Brain Res., Vol. 852, Issue 2, 2000a, p. 482-4.
- [43] M. Makino, Y. Kitano, C. Komiyama, K. Takasuna, *Human interferon-alpha increases immobility in the forced swimming test*, Psychopharmacology, Vol. 148, Issue 1, 2000b, p. 106-10.