



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine Des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biodiversité et conservation des écosystèmes

Thème

**Effet réparateur d'un extrait d'algue marine *Peyssonnelia*
sp sur deux modèles de stress: CMS et ligature du nerf
sciatique. Etude comportementale et histologique.**

Présenté par : HIRECHE Imene
LALAMI Fatiha

Devant le jury :

Président :	M.T. BELHADJ	M.A.A.	(Univ: Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A).
Encadrant:	Mme F. FELLAH	M.A.A.	(Univ: Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A).
Co- Encadrant:	Dr R.DJENIDI	M.C.A.	(Univ: Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A).
Examineur :	Dr A.DHIAFAT	M.C.B.	(Univ: Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A).

Année universitaire : 2015/2016

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu Tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.

Nous remercions, Monsieur le Dr BELHADJ, pour avoir accepté de présider le jury, ainsi qu'à l'intérêt qu'il a porté à ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre encadreur Mme F. FELLAH, qui nous fait l'honneur d'avoir dirigé ce travail. Ses conseils pertinents nous ont permis de mener à terme notre mémoire.

Nous remercions vivement notre co-encadreur le Dr R. DJENIDI MCA, pour sa disponibilité, ses conseils, sa patience et ses efforts immenses.

Nos sincères remerciements s'adressent plus spécialement au Dr A. DHIAFAT MCB, qui nous a fait l'honneur de critiquer et d'analyser ce travail. Soyez assuré de notre profond respect.

Nous exprimons nos plus vifs remerciements et notre reconnaissance toute particulière à M. le Dr F. BENBACHA, médecin en Anatomie –pathologique et cytologie à l'hôpital Lakhdar BOUZIDI de BBA, et toutes les techniciennes de son service, pour l'aide précieuse et chaleureuse qu'elles nous ont apportée au sein du laboratoire.

Nous remercions également les personnes sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour, et en particulier M. le Doyen de la Faculté de ST de l'Université de BBA, qui nous a offert un espace de travail que nous n'avons pas obtenu au département de Biologie, le Pr. H. FRIH de l'Université d'Annaba, M. Mohamed FELLAH de l'Hôpital de Ain Naadja d'Alger, Mme A. ZABOUDJ chef de Département des sciences biologiques de l'environnement de l'Université de Béjaia pour leur aide matérielle ou scientifique.

Dédicace

A ceux qui sont les plus chers au monde, mes parents :

A mon père « Saïd », pour m'avoir soutenu moralement et matériellement jusqu'à ce jour.

Père, ce travail est le tien.

A ma mère « Safia », voici l'aboutissement de tes nombreuses nuits de prières, de ta sagesse et ta générosité pour ta petite fille. Chère mère, ce travail est le fruit de tes efforts.

A ma sœur « Souad » le chemin est dur et encore long, il faudrait du courage et beaucoup de chance, que Dieu te garde.

J e n'oublie jamais la générosité illimitée de mes frères : « Hocine » ; « Abdelmalek », « Mohamed » et « Younes ».

Pour leur soutien moral et financier, sans lesquels je n'aurais pu continuer mes études dans de bonnes conditions, je voudrais leur dire tout simplement que je les aime de tout mon cœur.

...

A mes belles sœur : « Fatima » et « Ibtisem »

A mon beau frère : « Salim ».

A mes neveux et nièces : « Abderrahim », « Malek », « Rama », « Khalil » et « Ayoub »

A mes grands-pères, mes grands-mères et toute la famille.

Mes chères amies : Amina, Selma, Yasmina, Ilhem, Rahma, Houda et Abir.

Tous mes camarades de Biodiversité, notamment mes très chères amies Fatiha, Houda et Nora., collègues pour ce travail, avec qui j'ai passé de très bons moments inoubliables en réalisant ce travail dans une ambiance d'amitié. Merci pour vos encouragements et votre soutien moral depuis le jour où nos chemins se sont croisés.

Je vous souhaite beaucoup de chance. J'espère que vous allez suivre les pas de votre tante, que Dieu vous protège.

....Imene

Dédicace

Avec l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a donné le courage de surmonter toutes les difficultés durant nos années d'études, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A ma très chère mère « AICHA », affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager.

Tes prières et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

A mon très cher père « LAMRI », rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon bien-être.

Ce travail est le fruit des sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes très chères cousines AMINA et BOUCHRA, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je vous porte, un remerciement particulier et sincère pour votre soutien, votre aide, vos conseils. Mes chères sœurs présentes dans tous mes moments d'éducation par leur soutien moral.

Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité. A mon ange AFAF, je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour, que Dieu te protège.

A mes collègues de la promo de Biodiversité,

A mes chères amies, IMEN, NORA , HOUDA et SOUMIA: Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères et des sœurs.

A tous les membres de la famille LALAMI et GHEBOULI, petits et grands : je dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

.... FATIHA

SOMMAIRE

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction	1
1 ^{ère} partie : Revue bibliographique.....	5
Chapitre 1. Généralités sur les algues.....	5
I.1.1. Généralités.....	5
I.1.2. Classification.....	5
I.1.3. Principales utilisations des algues.....	7
I.1.4. Composition chimique.....	9
I.1.5. Conditions de vie.....	10
I.1.6. Mode de reproduction.....	10
I.1.7. Caractéristiques générales de l'algue <i>Peyssonnelia sp</i>	11
Chapitre 2. Le stress.....	13
I.2.1. Généralité.....	13
I.2.2. Les différentes étapes de la réponse au stress.....	13
I.2.3. Stress biologique et psychique.....	15
I.2.4. Stress aigu et stress chronique.....	15
I.2.5. Stress cognitif et stress non cognitif.....	16
I.2.6. Le système nerveux central.....	17
I.2.7. La barrière hémato encéphalique.....	17
I.2.8. L'inflammation.....	20
I.2.9. Les lymphocytes.....	20
I.2.10. Les cytokines.....	21
I.2.11. Le Tumor Necrosis Factor (TNF).....	22
I.2.12. Les neurotransmetteurs.....	22
I.2.13. Communications bidirectionnelles entre le système immunitaire et le système nerveux.....	23
I.2.14. Le système immunitaire et ses fonctions.....	24
I.2.15. Effet du stress sur le système immunitaire.....	24
Chapitre 3. Le stress oxydative et l'activité antioxydant.....	25

I.3.1. Les composés phénoliques.....	25
I.3.2. Propriétés biologiques des polyphénols.....	27
I.3.3. Radicaux libres et pouvoir antioxydant.....	27
I.3.4. Le stress oxydant.....	28
I.3.5. Les conséquences du stress oxydant.....	29
I.3.6. Antioxydant et activité antioxydante.....	29
I.3.7. Mécanismes d'action des antioxydants.....	30
I.4. Les tests comportementaux.....	31
I.4.1. Procédure de la nage forcée (Forced Swimming Test).....	31
I.4.2. Test du labyrinthe en croix surélevée (Plus-maze test).....	31
I.4.3. Test des champs ouverts (Open Field test).....	31
2 ^{ème} partie : Matériel et méthodes.....	32
II.1. matériel biologique.....	32
II.1.1. Echantillonnage.....	32
II.1.2. préparation de l'extrait aqueuse	33
II.1.3. Animaux et élevage.....	33
II.2. Formation des lots expérimentaux.....	33
II.3. Détermination de la dose de l'extrait d'algue.....	34
II.4. Protocole expérimental.....	35
II.5. Méthodes.....	36
II.5.1. Le chronic mild stress (CMS).....	36
II.5.2. Ligature du nerf sciatique.....	37
II.6. traitements.....	39
II.7. Les tests comportementaux.....	40
II.7.1. Procédure de la nage forcée (Forced Swimming Test).....	40
II.7.2. Test du labyrinthe en croix surélevée (<i>Plus-maze test</i>).....	41
II.7.3. Test des champs ouverts (Open Field test).....	42
II.7.4. Test de préférence sucrée.....	43
II.8. Suivi du poids des rats.....	44
II.9. Les prélèvements sanguins.....	45
II.10. Dissection et prélèvement des organes.....	45
II.11. Etude histologique.....	45
II.12. Etude statistique.....	48

3 ^{ème} partie : Résultats	49
III.1.variation du poids corporel moyen.....	49
III.2. Gain de poids corporel chez les rats.....	50
III.3. Poids relatives moyen des organes.....	52
III.4. Analyse des paramètres hématologiques.....	55
III.5. Test du saccharose.....	69
III.6. Résultats d'étude histologique.....	60
III.7. Tests comportementaux.....	66
III.7.1.Nage forcée (forced swimming test).....	66
III.7.2. Test des champs ouverts (open field).....	69
III.7.3.Labyrinthe en croix surélevée (plus mase test).....	73
4 ^{ème} partie : Discussion	76
Conclusion	85
Références bibliographiques	

Liste des abréviations

SNC : Système nerveux central

CRH : Cortico-releasing hormone

ACTH : Adrénocorticotrophine

HPA : Axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien

BHE : Barrière hémato-encéphalique

CECCs : Cellules endothéliales des capillaires cérébraux

JA : Jonctions adhérentes

JS : Jonctions serrées

JAM : Junctional adhesion molecules

MMP : Matrix metallo-protéinases

TNF- α : Tumor Necrosis Factor

IFN- γ : Gamma interferon

Thp : *T helper precursors*

IL-1 : Interleukines-1

IL-2 : Interleukines -2

IL-4 : Interleukines -4

IL-5 : Interleukines -5

IL-6 : Interleukines-6

IL-10 : Interleukines-10

Th : Lymphocytes T régulateurs

TGF- β : *Transforming Growth Factor β*

kDa : kiloDalton

GMCSF : Granulocyte-macrophage colony stimulating factor

GABA : Acide gamma amino butyrique

AMPc : Adénosine Mono Phosphate cyclique

CMS : Chronic Mild Stress

L : Ligature du nerf sciatique

UV : Ultra-violet

ERO : Espèces réactives oxygénées

O₂^{•-} : Anion superoxyde

•OH : Radical hydroxyle

NO• : Monoxyde d'azote

ROO• : Radical peroxyde

RO• : Radical alkoxyde

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

ONOOH : Nitroperoxyde

SOD : Superoxyde dismutase

GPx : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion

M : Extrait de l'algue *Peyssonnelia sp*

FST : Forced Swimming Test

EMP : Elevated plus-maze

OF : Open Field.

Sec : Seconde

FNS : Formule de numération sanguine

HE : Hématéine-Eosine

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit

Liste des figures

N°	Titre des figures	Page
1	Distribution des algues (Leclerc, 2010).	10
2	Photographie de <i>Peyssonnelia sp</i> (Fellah, 2015).	12
3	Schéma de la réponse au stress par le SNC et l'axe HPA (Glaser et Kiecolt-Glaser., 2005).	14
4	Schéma représentatif de la barrière hématoencéphalique sur une coupe coronale d'un capillaire cérébral d'après (Loscher et Potschka, 2005).	18
5	La balance lymphocytaire Th1/Th2 (Koshino <i>et al.</i> , 1996).	21
6	Structure de base des flavonoïdes (Di Carlo <i>et al.</i> , 1999).	25
7	Structure chimique des tanins (Guigniard, 1996).	26
8	Balance radicaux libres /antioxydants (Shimizu, 2004).	28
9	Image satellite de la station de récolte (Google Earth, 2016).	32
10	Protocole expérimental.	35
11	Photos de la procédure chirurgicale de la ligature de nerf sciatique.	38
12	Photographie des rats en période de post-chirurgie.	39
13	Test de la nage forcée (Forced Swimming Test) (Porsolt <i>et al.</i> , 1977).	41
14	Test du labyrinthe en croix surélevée (Elevated plus-maze test) (Handley et Mithami, 1984).	42
15	Test du champ ouvert (Open field test) (Hall, 1934).	43
16	Test de préférence au sucrose (Casarotto et Andreatini, 2007).	44
17	Dissection.	45
18	Etapas de la réalisation des coupes histologiques (Martoja et Martoja 1967).	46
19	Evolution du poids corporel moyen (g) chez les rats mâles des différents lots expérimentaux (n= 5).	49
20	Evolution du poids corporel moyen (g) chez les rats femelles des différents lots expérimentaux (n=5).	50
21	Variation de gain de poids (g) chez les rats mâles des lots expérimentaux (n=5).	51
22	Variation du gain de poids corporel moyen (g) chez les femelles des lots expérimentaux (n=5).	51
23	Poids relatif moyen des organes chez les rats mâles des lots expérimentaux (n=5) (g/100g de rat) : poids relatif de la rate (A), poids relatif du cerveau (B), poids relatif des surrénales (C), poids relatif des testicules (D).	53
24	Poids relatif moyen des organes chez les rats femelles des lots expérimentaux (n=5) (g/100g de rat) : poids relatif de la rate (A), poids relatif du cerveau (B), poids relatif des surrénales (C).	54
25	Résultats de la FNS chez les rats mâles des lots expérimentaux (n=5): taux de leucocytes (A), taux de lymphocytes (B), taux de granulocytes (C), taux de globules rouges (D), taux de plaquettes (E).	56
26	Résultats de la FNS chez les rats femelles des lots expérimentaux (n=5): taux de leucocytes (A), taux de lymphocytes (B), taux de granulocytes (C), taux de globules rouges (D), taux de plaquettes (E).	58
27	Observation au microscope optique des coupes histologiques des testicules des rats témoins G : x 10 (A) et G : x 40 (B) (Coloration à H-E).	61

28	Observation au microscope optique des coupes histologiques des testicules des rats du lot M (G : x 4) (Coloration à H-E).	61
29	Observation au microscope optique des coupes histologiques des testicules de rat CMS (A) et de rat L (B) (Coloration à H-E, Gr x10).	61
30	Observation au microscope optique des coupes histologiques des testicules de rat CMS +M (A) et de rat L+M (B) (Coloration à l'H-E, Gr: x10).	62
31	Observation au microscope optique des coupes histologiques des surrénales chez un rat Témoin (Coloration à l'H-E, A : Gr x10 ; B : Gr x4).	62
32	Observation au microscope optique des coupes histologiques des surrénales chez les rats CMS (A), L (B) (Gr x10), M (C) (Gr x40) (Coloration à l'H-E).	63
33	Observation au microscope optique des coupes histologiques des surrénales chez les rats L+M (A) Gr x 40) et les rats CMS+M (B) (Coloration à l'H-E, Gr x10).	64
34	Observation au microscope optique des coupes histologiques de la rate chez les rats Témoins (A) (Gr x4) et les rats M (B) (Gr x40) (Coloration à l'H-E).	64
35	Observation au microscope optique des coupes histologiques de la rate chez les rats L+M (A) (Gr x40), les rats CMS (B) (Gr x 4) et les rats L (C) et CMS+M (D) (Gr x10) (Coloration à l'H-E).	65
36	(A) Temps d'immobilité (sec), (B) Temps d'escalade (sec), (C) Temps de nage (sec) au test de la nage forcée chez les rats mâles (n=5).	67
37	Test de la nage forcée chez les femelles (n=5): (A) Temps d'immobilité (sec), (B) Temps d'escalade (sec), (C) Temps de nage (sec).	68
38	Open field test chez les rats mâles (n=5): (A) Temps passé au centre, (B) Temps passé en périphérie, (C) Nombre de redressements, (D) Distance parcourue, (E) Nombre d'entrées au centre.	70
39	Résultats de l'Open field test chez les femelles (n=5) : (A) temps passé au centre, (B) Temps passé en périphérie, (C) Nombre de redressements, (D) Distance parcourue, (E) Nombre d'entrées au centre.	72
40	Résultats du Plus maze test chez les rats mâles (n=5) : (A) Temps passé au centre, (B) Temps passé dans les bras ouverts, (C) Temps passé dans les bras fermés, (D) Nombre d'estimations de la profondeur.	74
41	Résultats du Plus mase test chez les rats femelles (n=5) : (A) Temps passé au centre, (B) Temps passé dans les bras ouverts, (C) Temps passé dans les bras fermés, (D) Nombre d'estimations de la profondeur	75

Liste des tableaux

N°	Titre des tableaux	Page
I	Caractéristiques importantes des groupes d'algues Demoulin G. et Leymergie C., (2009).	6
II	Liste et durée des agents de stress utilisés pendant le stress chronique (CMS) selon le jour.	36
III	Programme des injections.	40
IV	Résultats du test de saccharose chez les rats mâles des lots expérimentaux (n=5).	59
V	Résultats du test de saccharose chez les rats femelles des lots expérimentaux (n=5).	59

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 à un stress entraîne une modification comportementale et immunitaire chez l'homme et chez le rongeur. Plusieurs protocoles de stress ont été développés pour étudier les conséquences de la ligation du nerf sciatique et le stress chronique léger (CMS) sur l'état de la dépression et l'anxiété chez les rat Wistar. Expérimentalement, cette modification est fonction de l'intensité et du type de stress employé.

L'objectif de ce travail est d'étudier les troubles de la dépression suite à l'exposition au CMS et la ligation du nerf sciatique. Et dans le cadre de la recherche de nouveaux composés naturels biologiquement actifs, nous nous sommes intéressés à étudier l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait d'algue rouge *Peyssonnelia sp* de la côte de Bejaia.

Nos résultats ont montré que :

- Le stress biologique (ligature de nerf sciatique) et psychologique (CMS) induisent des symptômes dépressifs, une réduction de l'activité locomotrice, augmentation de l'état anxieux ainsi que l'immobilité et l'anhédonie.
- Le stress (CMS et la ligation de nerf sciatique) provoque une inflammation au niveau des organes avec une réaction immunitaire.
- l'administration de l'extrait d'algue a exercé un effet réparateur chez les lots L+M et CMS+M dans certains paramètres.

Il ressort de la présente étude que l'algue rouge *Peyssonnelia sp* paraît jouer un effet réparateur sur la nocivité du deux types de stress (CMS et ligation). Donc, elles peuvent être utilisées comme une source naturelle d'agents antioxydants (capacité de détruire les radicaux libres).

Mots-clés : Ligation du nerf sciatique, Stress chronique léger, CMS, Rat Wistar, *Peyssonnelia sp*, Activité anti-oxydante, Algues.

Abstract

Stress is a very important current issue both in humans and in animals. Every individual, human and animal faces in his daily life to stressful situations. Exposure to stress causes behavioral and immune changes in humans and in rodents. Several stress protocols have been developed to study the consequences of the sciatic nerve ligation and chronic mild stress (CMS) on the state of depression and anxiety in Wistar rats. Experimentally, this change is based on the intensity and stress of employee type.

The objective of this work is to study the problems of depression following exposure to a CMS and sciatic nerve ligation. And as part of the search for new biologically active natural compounds, we are interested in studying the evaluation of the antioxidant activity of *Peyssonnelia sp* red seaweed extracts the coast of Bejaia.

Our results showed that:

- The biological stress (nerve ligation sciatica) and psychological (CMS) induce depressive symptoms, decreased locomotor activity, increased state of anxiety and, immobility, and anhedonia.
- Stress (CMS; the sciatic nerve ligation) causes inflammation in organs with an immune response.
- The administration of the seaweed extract has had a restorative effect in lots L + M and CMS+M in some settings.

It appears from this study that *Peyssonnelia sp* red algae appear to play a restorative effect on the harmfulness of the two types of stress (CMS; ligation). So they can be used as a natural source of antioxidants (capacity to destroy free radicals).

Keywords: Sciatic nerve injury, Chronic mild stress CMS, Wistar rat, *Peyssonnelia sp*, Antioxidant activity.

ملخص

الإجهاد هو مسألة في غاية الأهمية لكل من البشر والحيوانات حالياً. يواجه كل فرد، الإنسان والحيوان، في حياته اليومية إلى المواقف العصبية. التعرض للإجهاد يسبب تغيرات سلوكية ومناخية في الإنسان والقوارض. وقد وضعت عدة بروتوكولات الإجهاد لدراسة الآثار المترتبة على ربط العصب الوركى والإجهاد المزمن الخفيف (CMS) على حالة من الاكتئاب والقلق في فئران ويستار. تجريبياً، يستند هذا التغيير على شدة نوع الإجهاد الموظف.

والهدف من هذا العمل هو دراسة مشاكل الاكتئاب عقب التعرض للإجهاد المزمن الخفيف وربط العصب الوركى. وكجزء من البحث عن المركبات الطبيعية النشطة بيولوجياً جديدة، ونحن مهتمون في دراسة تقييم النشاط المضاد للأكسدة من مستخلصات من الأعشاب البحرية الحمراء *peyssonnella sp* من سواحل بجاية.

وأظهرت النتائج التي توصلنا إليها:

- الإجهاد البيولوجي (العصب ربط عرق النسا) والنفسي (CMS) حمل أعراض الاكتئاب، وانخفاض النشاط الحركي، وزيادة حالة القلق و، والجمود، وانعدام التلذذ.
- الإجهاد (CMS)، وربط العصب الوركى) يسبب التهاباً في الأجهزة مع استجابة مناعية.
- خلاصة الأعشاب البحرية تمارس تأثير مصلح عند مجموعته CMS+M ; L+M في بعض الإعدادات.

ويبدو من هذه الدراسة أن الطحالب الحمراء *peyssonnella sp* تلعب تأثير مصلح على أضرار هذين النوعين من الإجهاد (CMS)، الوركى ربط الأعصاب). بحيث يمكن استخدامها كمصدر طبيعي لمضادات الأكسدة (القدرة على تدمير الجذور الحرة).

كلمات البحث: ربط العصب الوركى ، الإجهاد المزمن الخفيف CMS، الفئران ويستار ، *peyssonnella sp*، النشاط المضاد للأكسدة.

Introduction

INTRODUCTION

La Terre est la planète bleue où l'eau recouvre plus de 70% de sa surface. Elle abrite des organismes marins riches en composés bioactifs à diverses activités biologiques présentant une énorme ressource de nouveaux composés (**Yong-Xin et al., 2011**).

L'étude des produits d'origine marine a débuté à la fin des années 1970 et a conduit à l'isolement d'environ 21855 substances. Beaucoup d'extraits isolés présentent une potentialité pharmacologique, bien supérieure à celle de produits naturels provenant de plantes ou d'organismes terrestres (**Blunt et al., 2012**).

Parmi les organismes marins, les algues sont des sources de composés bioactifs. Récemment, les chercheurs ont indiqué que certains composés extraits d'algues marines montrent diverses activités biologiques à savoir : des activités antioxydantes, antimicrobiennes et anti- inflammatoires (**Balboa et al., 2013**).

Bien que les algues soient exposées à des conditions environnementales défavorables telles que les rayons ultraviolets et les concentrations élevées en oxygène qui mènent à la formation des radicaux libres, et à d'autres oxydants forts, elles ne subissent aucun dommage sérieux. Ainsi, l'algue produit des métabolites secondaires à caractère antioxydant, tels que les caroténoïdes, fucoxanthine, phlorotanins et tocophérols (**Widjaja-Adhi et al., 2010**).

Le stress peut se définir comme une réponse de l'organisme aux facteurs d'agressions psychologiques et physiologiques qui nécessitent une adaptation. Le stress biologique implique l'intervention d'agents physiques induisant une réponse non spécifique du système hypothalamo-hypophyso-surrénalien. Le stress psychique est défini comme l'état dans le quel se trouve l'organisme placé dans des situations qui menacent le bien-être, l'intégrité physique ou psychique de l'individu (**Troxler et Schwertner, 1985**).

La dépression est une maladie dévastatrice et un contributeur majeur à la charge mondiale de morbidité (**Greden, 2001 ; Greenberg et al., 2005**). Le traitement des troubles dépressifs reste un défi, en dépit de plusieurs classes d'antidépresseurs disponibles. Le stress peut être mieux défini comme un processus psycho-physiologique généralement ressenti comme un état émotionnel négatif (**Agarwal, 2001**). Il active la réponse inflammatoire, comme la libération des cytokines pro-inflammatoires TNF- α , IL-6 et IL-1 (**Capuron et al., 2004 ; Dunn et al., 1999; Maier et al., 1998**). Ces cytokines pénètrent dans le cerveau *via* les régions qui fuient dans la barrière hémato-encéphalique, puis participent à des voies impliquées dans le développement de la dépression ; et parce que les cytokines activent l'axe corticotrope tout en altérant le bon fonctionnement des systèmes monoaminergiques, en

particulier sérotoninergique, il pourrait exister une relation de cause à effet entre cytokines et dépression (**You et al., 2011**).

En psychiatrie expérimentale, les modèles animaux sont un outil important pour étudier les théories neuropsychologiques de troubles spécifiques, tels que la dépression (**Willner, 1997**). En conséquence, un modèle animal a été développé par **Willner et al. (1997)** en utilisant une variété de stress chroniques communément appelés *chronic mild stress* (CMS) chez les rongeurs pour imiter les modifications physiopathologiques associées à des événements stressants qui peuvent invoquer le comportement de dépression (*depression-like*).

La douleur peut être considérée comme participant à une fonction protectrice, un signal d'alarme, à la suite d'une lésion ou d'un traumatisme d'un tissu périphérique de l'organisme, engendrant une réaction de défense inflammatoire. **Kuner (2010)** a rapporté que la douleur est un des symptômes les plus courants rencontrés à la clinique, et la douleur inflammatoire représente un type important de douleur. Cette dernière peut se prolonger dans le temps et engendrer des douleurs inflammatoires chroniques, mais peut aussi concerner un tissu nerveux engendrant une lésion neuropathique, et donc des douleurs neuropathiques chroniques. La douleur perd alors sa signification de signal d'alarme pour devenir une maladie en soi, un véritable syndrome (**Kuner, 2010**).

Par ailleurs, plus de la moitié des patients qui souffrent de douleur neuropathique développent des troubles de l'humeur tels que la dépression et l'anxiété étant donné que le stress externe est largement reconnu comme étant un facteur prédisposant et facteur déclenchant de la dépression (**Dellarole et al., 2014; Ali Rachedi et al., 2015**). En effet, il est maintenant prouvé que la dépression est accompagnée par l'activation du système immunitaire, inflammatoire et de stress oxydatif (**Kubera et al., 2011**). Il a été démontré également que la dépression est une des causes primaires d'une hyperactivité de l'axe Hypothalamo-Hypophysio-Surrénalien (HPA) caractérisée par une résistance au rétrocontrôle négatif des glucocorticoïdes de cet axe (**Frih et al., 2009**). Ce dernier serait un des acteurs principaux de la réponse au stress (**Rubin et al., 1966**).

Cependant, il a été rapporté que parmi la multitude de facteurs impliqués dans la physiopathologie de la dépression, le stress oxydatif occupe une place importante. La théorie du stress oxydant dans la dépression peut être expliquée par le concept suivant lequel des quantités excessives de radicaux libres sont toxiques pour les cellules neuronales et peuvent affecter l'activité physiologique du cerveau (**Filomeni et Ciriolo, 2006**). Les espèces

réactives oxygénées sont très instables par nature et ont le potentiel d'endommager les protéines cellulaires, les lipides et les acides nucléiques. Les enzymes antioxydants endogènes sont des piègeurs des radicaux libres (**Filomeni et Ciriolo, 2006**). Cependant, l'accumulation accrue de radicaux libres dans le cerveau qui aboutit à l'élaboration de déficits psychologiques tels que la dépression (**Vargas et Arnett, 2013**).

Le stress oxydant peut être défini comme un déséquilibre prononcé entre les prooxydants et les antioxydants (**Barouki, 2006**). Lorsqu'un des systèmes projectifs de l'organisme contre la toxicité des radicaux libres montre un échec, l'action des radicaux libres devient incontrôlable, ce qui conduit à des dommages au niveau des molécules, des cellules, des organes et potentiellement à la mort de l'organisme (**Durackova et al., 2008**).

Pour se protéger des effets délétères des ERO, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. On distingue deux sources d'antioxydants: l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathionperoxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (**Haleng et al., 2007**).

Actuellement, les scientifiques favorisent le développement d'une nouvelle génération de substances antioxydantes d'origine végétale comme les algues pour remplacer celles de synthèse. De même, un certain nombre de secteurs industriels se tournent de nouveau vers l'incorporation de ces molécules aux caractéristiques biologiques intéressantes dans leurs formulations (**Taviano et al., 2013**).

Notre étude vise à mettre en évidence les effets du stress physiologique *chronic mild stress* et le stress biologique *la ligature de nerf sciatique* sur les rats Wistar et la comparaison entre les deux stress, afin de savoir s'ils ont les mêmes effets secondaires sur la mémoire spatiale, l'apprentissage, l'activité locomotrice. En parallèle, l'objectif de notre étude s'intéresse à l'évaluation des potentiels antioxydants d'une algue rouge : *Peyssonnelia sp* afin d'observer l'existence d'un effet réparateur sur les dommages causés par le stress (physiologique et biologique) sur les organes, l'étude histologique, le poids corporel et l'étude hématologique, tout en réalisant une batterie de tests comportementaux :

- Le test du champ ouvert (Open Field).
- La nage forcée (Forced Swimming Test).
- Le labyrinthe en croix surélevé (Plus Maze).
- Test de préférence sucrée.

1^{ère} partie :

Revue

bibliographique

Chapitre 1. Généralités sur les algues

I.1.1. Généralités

Les algues sont des organismes aquatiques primitifs qui vivent naturellement dans les plans d'eau, elles sont capables de produire leur propre matière organique par photosynthèse (**Rivard-Sirois, 2005**). Dépourvues de racines, de tiges et de feuilles, elles possèdent de la chlorophylle ainsi que d'autres pigments accessoires pour réaliser la photosynthèse productrice d'oxygène. La plupart des algues se développent en milieu aquatique d'eau douce, saline ou saumâtre, sur des rochers humides, ou sur un sol mouillé, mais certaines sont terrestres et sont capables de se développer sur le sol ou sur le tronc des arbres (**Michel, 2000**).

Les algues sont classées dans le groupe des Thallophytes puisque leur corps est un thalle, mais du fait de la diversité des formes, certaines espèces phytoplanctoniques sont classées dans le règne des Protistes qui regroupe les Eucaryotes unicellulaires. La taille des algues peut varier de la cellule microscopique unique, à quelques cellules en colonie et jusqu'à 7,5 m (laminaires des Sargasses) pour certaines formes multicellulaires (**Hervé, 2012**).

I.1.2. Classification

La classification des algues se fait selon des caractéristiques spécifiques telles que les composantes de la paroi cellulaire, les pigments présents (la couleur), le cycle de vie et le type de composés utilisés pour l'entreposage de la nourriture. En effet, les algues sont un groupe d'organismes très diversifiés qui varient en forme et en grosseur : unicellulaire, pluricellulaire, coloniale, filamenteuse, amas de protoplastes. La classification des algues repose sur cinq critères (**Memory, 2006**):

- **Trois critères biochimiques** qui sont:
 - ✓ La nature des pigments photosynthétiques;
 - ✓ La nature des polyholosides de réserve ;
 - ✓ La nature des polyholosides de soutien.
- **Deux critères morphocytologiques** qui concernent:
 - ✓ Le type de flagelles;
 - ✓ Certains détails de la structure cellulaire.

À partir de ces critères, les algues sont réparties en plusieurs divisions, parmi lesquelles trois grandes divisions d'algues marines macroscopiques qui sont: les Chlorophycées (algues vertes), les Phéophycées (algues brunes) et les Rhodophycées (algues rouges) (**Tab. I**).

Tableau I. Caractéristiques importantes des groupes d'algues **Demoulin G. et Leymergie C., (2009).**

Embranchement (Règne)	Nom commun	Nombre d'espèces	Pigments	Habitat
Chlorophytes (Protistes)	Algues vertes	7500 espèces	Chlorophylles (a,b) Xanthophylles Carotènes	Eau douce, saumâtre, salée et terrestre
Phéophytes (Plantae)	Algues brunes	1500 espèces	Chlorophylles (a,c) Xanthophylles Carotènes	Eau salée et saumâtre
Rhodophytes (Plantae)	Algues rouges	3900 espèces	Chlorophylle a, rarement d Xanthophylles Carotènes Zéaxanthine Phycocyanine C Phycoérythrine	Eau douce, saumâtre et salée
Cyanophytes (Procarvotés)	Cyanobactéries algues bleues	15000 espèces	Chlorophylle a Allophycocyanines Phycocyanine Phycoérythrine Phycoérythrocyanine	Eau riche en minéraux

I.1.2.1. Les algues vertes (Chlorophycophytes)

Les Chlorophycophytes forment un groupe très homogène en ce qui concerne la composition pigmentaire et le métabolisme glucidique. Toutes les algues appartenant à cet Embranchement renferment les chlorophylles *a* et *b*, du β -carotène et des oxycarotènes (lutéines, zéaxanthines, violaxanthines) (**Bezanger et al., 1990**).

I.1.2.2. Les algues rouges (Rhodophycophytes)

Les Rhodophycophytes sont d'une couleur rouge plus ou moins nette, due à la présence de phycoérythrine dans leur appareil plastidial. Dans les cellules de ce groupe, les

réserves glucidiques figurées sont des grains de rhodamylon (amidon extraplastidial) colorable en brun et non en bleu par l'iode (**Gayral, 1975**).

I.1.2.3. Les algues brunes (Phéophycophytes)

Ce sont des algues de couleur brune ou olivâtre, jamais unicellulaires, à appareil végétatif souvent complexe. Les cellules, uninucléées, renferment des plastes (phéoplastes) pourvus de chlorophylles a et c et des quantités notables de caroténoïdes (fucoxanthines en particulier) (**Ozenda, 2000**).

I.1.2.4. Les algues bleues (Cyanobactéries)

Ces organismes, unicellulaires ou pluricellulaires, ont longtemps été inclus dans les algues et nommés algues bleues en raison, en particulier, de leur habitat aquatique et de leur coloration bleu-vert. Il est actuellement admis que leur ultrastructure, de type procaryote, indique une parenté certaine avec les bactéries, justifiant le terme de Cyanobactéries qui leur est désormais appliqué. Ce sont des organismes formés de cellules ou de filaments microscopiques, mais qui se développent souvent simultanément pour constituer soit des colonies visibles à l'œil nu, soit des populations très importantes formant des « fleurs d'eau » exploitées depuis longtemps dans certaines régions (spirulines au Tchad ou au Mexique) (**FAO, 1987 ; Donadieu, 1985**).

I.1.3. Principales utilisations des algues

Les algues sont exploitées industriellement tant dans l'alimentation que dans l'agriculture, la médecine et beaucoup d'industries (**Naegelé et Naegelé, 1967**). La quantité d'algues produite annuellement par culture ou récoltée dans le monde est de l'ordre de neuf millions de tonnes d'algues fraîches. Les producteurs principaux sont la Chine, la Corée et le Japon (**Marfaing et Lerat, 2007 ; Dhargalkat et Verlecar, 2009**) qui, à eux seuls, totalisent les quatre cinquièmes de la production (**Marfaing et Lerat, 2007**).

I.1.3.1 Utilisation alimentaire

Les algues sont consommées en Asie depuis la préhistoire (**Burtin, 2003 ; Marfaing et Lerat, 2007**). En Occident, cette consommation directe d'algues est plus récente. Des études épidémiologiques menées en Asie mettent en évidence une incidence plus faible des cancers du sein, du côlon et de la prostate liée à la consommation régulière d'algues. Ces résultats seraient en faveur du rôle possible de facteurs nutritionnels multiples, en particulier liés à la présence simultanée, dans les algues, de différents nutriments comme les protéines, polysaccharides plus ou moins sulfatés, minéraux et oligoéléments, mais également de métabolites secondaires tels que les polyphénols, caroténoïdes, stérols, et bétaines (**Marfaing**

et **Lerat, 2007**). La France est le premier pays européen à établir une réglementation spécifique concernant l'utilisation des algues pour la consommation humaine en tant que substances alimentaires non traditionnelles (**Burtin, 2003**).

I.1.3.2. Utilisation industrielle

Si les algues sont utilisées à l'état naturel comme produit final pour l'alimentation et l'agriculture, c'est surtout leurs dérivés qui ont pris un très grand intérêt industriel : ce sont les alginates, l'agar-agar et les carraghénanes (**Naegelé et Naegelé, 1967**). La forte affinité de ces polysaccharides à l'eau les qualifie d'hydrocolloïdes (**Venugopal, 2009**). Ils sont extraits de différentes macroalgues rouges et brunes (**Naegelé et Naegelé, 1967 ; Barsanti et Gualtieri, 2006 ; Venugopal, 2009**). Ces hydrocolloïdes jouent un rôle important comme agents gélifiants, épaississants, texturants, stabilisants et émulsifiants (**Venugopal, 2009**).

I.1.3.3. Utilisation agricole

Une autre utilisation intéressante des algues, pratiquée de longue date et très répandue est celle du goémon, comme engrais formé principalement d'algues brunes : les Fucus et les Laminaires (**Naegelé et Naegelé, 1967**). La biodisponibilité de quantités adéquates de potassium, d'azote, d'hormones végétales et de micronutriments, la teneur élevée en matière organique, notamment en fibres, ainsi que la forme soluble dans l'eau des éléments minéraux et oligo-éléments dans les algues, font d'elles un excellent engrais (**Venugopal, 2009**). La pulvérisation d'engrais liquide sur les plantes, technique récemment adoptée, a augmenté l'efficacité d'absorption des nutriments par les plantes (par les feuilles) dans les 10 à 15 minutes de son application (**Dhargalkar et Pereira, 2005**). Cette méthode montre des résultats positifs en termes de santé des plantes, l'augmentation des taux de croissance, la résistance aux ravageurs et des rendements plus élevés de 25 à 30% (**Dhargalkar et Pereira, 2005 ; Venugopal, 2009**).

I.1.3.4. Utilisation médicale et pharmaceutique

Les pays proches de la mer ont recours aux algues comme vermifuge, anesthésique et pour le traitement de la toux, des blessures, de la goutte et du goitre (**Dhargalkar et Pereira, 2005**). Sur le marché pharmaceutique, environ 40 médicaments sont déjà fabriqués à partir de substances extraites d'algues. En ce qui concerne l'agar-agar, son usage est répandu dans la préparation de milieux de cultures pour la microbiologie. Il est aussi employé avec succès dans le traitement de la constipation. Le carraghénane est administré contre les irritations du tube digestif et dans le cas de dysenterie. En pharmacologie, il est employé comme agent émulsionnant dans l'homogénéisation des huiles et comme l'agar, c'est un hémostatique efficace. L'alginate comme le carraghénane, joue un rôle dans la prévention des ulcères. Un

médicament appelé communément : mousse de Corse est connu pour son usage comme excellent vermifuge contre les oxyures et les ascaris (Naegelé et Naegelé, 1967).

I.1.4. Composition chimique

La composition biochimique des macro-algues est très variable selon les espèces, la saison, les conditions de croissance et le stress. Les algues se composent généralement de protéines, d'une faible quantité de lipides comparée au fort pourcentage de glucides, qui sont essentiellement sous forme de polysaccharides tels que les alginates, les carraghénanes et les ulvanes (Person J., et al 2010).

Les algues marines ont une grande valeur biologique due à leur richesse en :

- **Fibres:** de 33 à 61% (Lahaye, 1991).
- **Calcium:** les algues sont une source abondante de Calcium qui peut aller jusqu'à 34% de la matière sèche (Frestedt *et al.*, 2008).
- **Vitamines:** c'est surtout la vitamine B12 à des teneurs assez importantes, contrairement aux plantes terrestres (Watanabe *et al.*, 1999).
- **Iode:** la teneur en iode des algues brunes est exceptionnelle et peut atteindre jusqu'à 14,3 g/kg de matière sèche (Maro *et al.*, 1999).
- **Protéines:** Les phycobiliprotéines sont les principaux pigments des algues rouges (phycoérythrine) et bleues (Phycocyanines), possédant des propriétés antioxydantes, et utilisées dans les traitements de certains cancers et maladies inflammatoires liées au stress oxydatif (Gonzalez *et al.*, 1999 ; Padula et Boiteux, 1999 ; Ramirez *et al.*, 1999).
- **Caroténoïdes:** ce sont de puissants antioxydants. Les algues brunes en sont riches, en plus de la fucoxanthine, du β -carotène et de la violaxanthine. De nombreuses études ont démontré l'activité antioxydante des caroténoïdes et leurs effets préventifs contre les pathologies liées au stress oxydatif (Yan *et al.*, 1999).
- **Les composés phénoliques (polyphénols):** La plupart des algues marines contiennent des polyphénols algaux aussi appelés phlorotannins. Les phlorotannins constituent un groupe très hétérogène de molécules (structure et degré de polymérisation) fournissant ainsi une grande variété d'activités biologiques potentielles. Les teneurs les plus élevées sont retrouvées dans les algues brunes qui en contiennent entre 5 et 15 % du poids sec (Glombitza et Keusgen, 1995). L'activité antioxydante d'extraits de

polyphénols d'algues brunes et rouges a été mise en évidence par des études *in vitro* (Nakamura *et al.*, 1996).

I.1.5. Conditions de vie

Il y a des algues pratiquement partout sur Terre. Très peu exigeantes, il leur suffit d'un peu de lumière et d'un soupçon d'eau pour se développer. La plupart des algues vivent en effet dans les océans, elles y représentent plus de 90% des végétaux. Les grandes algues vivent plutôt le long des côtes rocheuses, depuis la zone balayée par les marées jusqu'à 150, voire 200 mètres de profondeur (**Fig.1**) (Leclerc, 2010).

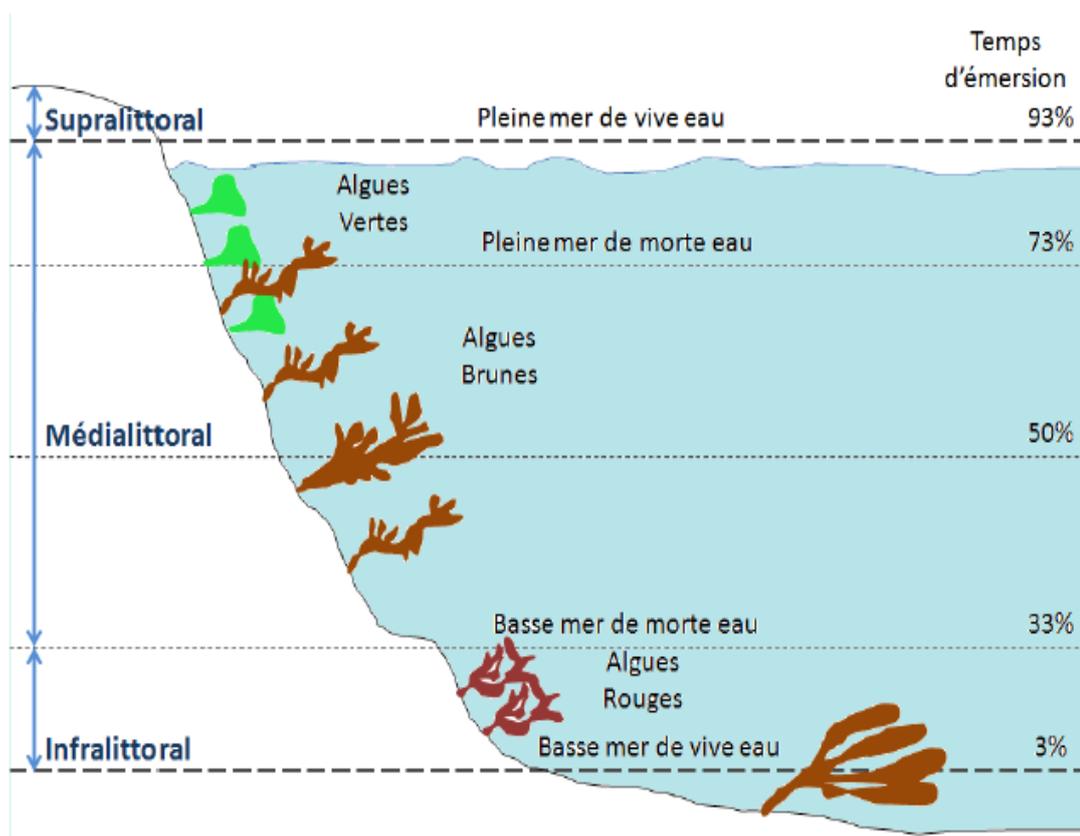


Figure 1. Distribution des algues (Leclerc, 2010).

I.1.6. Mode de reproduction

La reproduction des algues s'effectue par multiplication végétative. Il s'agit d'une multiplication asexuée qui consiste soit en sporulation : des spores peuvent être formées dans

les cellules végétatives ordinaires ou dans des structures spécialisées appelées sporanges, soit en une fragmentation de thalles: le thalle se sépare en deux parties qui redonneront chacune un nouveau thalle, soit en scission binaire : division du noyau puis du cytoplasme. Dans la reproduction sexuée, il y a fusion des gamètes mâle et femelle pour produire un zygote diploïde. Des œufs se forment dans les cellules réceptrices identiques aux cellules somatiques (Spirogyra) ou dans des cellules végétatives femelles peu modifiées nommées oogones (Fucus). Les spermatozoïdes sont produits dans des structures mâles spécialisées appelées anthéridies (Michel, 2000).

I.1.7. Caractéristiques générales de l'algue *Peyssonnelia sp*

- **Morphologie**

C'est un genre extrêmement diversifié avec de multiples espèces très proches. *Peyssonnelia* se présente sous forme de lames aplaties de couleur pourpre ou vineux. Certaines d'entre elles sont carbonatées. L'identification des espèces *Peyssonnelia* est difficile, ce qui entraîne un certain nombre d'espèces généralement sous-estimés ou surestimés (Dixon et Saunders, 2013). *Peyssonnelia sensu stricto* représente les espèces caractérisées par un hypothalle qui coupe les cellules supplémentaires formant des rhizoïdes multicellulaires (Krayesky et al., 2009).

- **Ecologie**

Peyssonnelia sp est une espèce sciaphile qui peuple les rochers peu éclairés en mode calme (Fig.2), de l'étage infralittoral et du circalittoral en Méditerranée et en Atlantique. Les algues rouges du genre *Peyssonnelia* forment les algues crustacées qui ont des distributions pantropes dans des habitats des récifs coralliens. *Peyssonnelia spp* sont généralement trouvées incrustant divers substrats durs sous les rebords et dans les grottes de profondeur dépassant 20 m (Littler et Littler, 2000 ; Littler et Littler, 2003).

Certaines *Peyssonnelia* ont été trouvées à plus de 274 m, ce qui en fait les plus profonds organismes photosynthétiques connus sur Terre (Littler et Littler, 1994).

Compte tenu de la difficulté de la collecte, il y a peu de rapports d'études chimiques de *Peyssonnelia spp.* et leurs métabolites secondaires restent largement inconnus, bien que huit composés ont été rapportés représentant le terpène hydroquinone et des classes structurales dérivées d'acides gras (Lane et al., 2010 ; Mc Phail et al., 2004 ; Talpir et al., 1994).

- **L'utilisation dans le domaine scientifique**

Le dépistage initial des extraits fractionnés de *Peyssonnelia* sp. A montré une bonne activité anti-prolifération contre côlon humain et du sein des lignées cellulaires de cancer, ainsi que l'activité antibactérienne (Littler et Littler, 2003)

- **Position systématique de *Peyssonnelia***

- **Empire:** Eukaryota
- **Règne :** Plantae
- **Sous-règne:** Biliphyta
- **Phylum :** Rhodophyta
- **Sous-phylum:** Eurhodophytina
- **Classe :** Florideophyceae
- **Sous-classe :** Rhodymeniophycidae
- **Ordre :** Peyssonneliales
- **Famille :** Peyssonneliaceae
- **Genre :** *Peyssonnelia*
- **Espèce:** *Peyssonnelia* sp

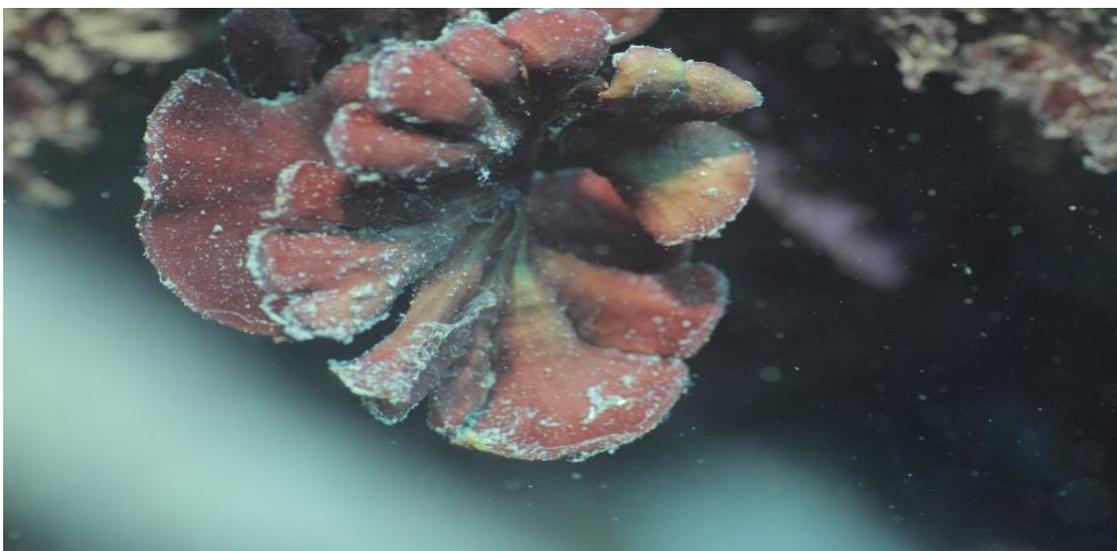


Figure 2. Photographie de *Peyssonnelia* sp (Fellah, 2015).

Chapitre 2. Le stress

I.2.1. Généralité

Le stress peut se définir comme une réponse de l'organisme aux facteurs d'agressions psychologiques et physiologiques qui nécessitent une adaptation. La réponse de l'organisme à une situation de stress entraîne l'activation d'une voie nerveuse et d'une voie endocrine. La voie nerveuse est responsable de la libération de catécholamines (noradrénaline et adrénaline) et la voie endocrine entraîne la libération de glucocorticoïdes (cortisol, cortisone). Les catécholamines ont un effet sur le cœur (augmentation du rythme cardiaque), le foie, etc. Les glucocorticoïdes ont plusieurs, dont une inhibition de la réponse inflammatoire (**Henry, 2015**).

I.2.2. Les différentes étapes de la réponse au stress

Si les facteurs de stress sont nombreux et différents pour chaque individu, les mécanismes de réponse neuroendocriniens qui provoquent la sécrétion d'hormones et leurs conséquences sur l'organisme sont identiques. Le corps induit une réponse physiologique bien spécifique consécutive à un agent stressant perçu par les récepteurs sensoriels. Selon le syndrome général d'adaptation défini par **Selye (1974)**, la réponse adaptative de l'organisme est un processus actif qui va se dérouler en trois étapes : phase d'alarme, de résistance et d'épuisement.

- **La première réaction, ou phase d'alarme**

Elle est caractérisée par les réponses immédiates, locales et neurovégétatives. Elle est de courte durée, survient en quelques secondes et favorise la mobilisation des stocks énergétiques d'utilisation rapide. La réaction physiologique correspond à la libération dans le système sanguin, de catécholamines, adrénaline et noradrénaline, par les glandes surrénales. Cette première réponse est responsable de l'augmentation de la pression artérielle, du rythme cardiaque et de la concentration plasmatique en acides gras libres et en glucose (**Márquez et al., 2004 ; Bouwknecht et al., 2007**). La noradrénaline va également stimuler le système nerveux central (SNC) et induire une augmentation de la vigilance et du fonctionnement cérébral, ce qui va permettre à l'individu de s'adapter vis-à-vis de la situation stressante (**Tafet et Bernardini, 2003**).

- **La seconde réaction, ou phase de résistance**

Elle va se mettre en place si le stress perdure. Elle se développe en quelques minutes et correspond à l'activation de l'hypothalamus par les centres supérieurs et conduit à la sécrétion de cortico-releasing hormone (CRH) ou corticolibérine (Shekhar *et al.*, 2007).

L'hypophyse répond à la libération de CRH par la sécrétion d'adrénocorticotrophine (ACTH) dans le sang, ce qui aboutit à la libération, par les glandes surrénales, de minéralocorticoïdes et de glucocorticoïdes (Fig. 3). Les minéralocorticoïdes, comme l'aldostérone, interviennent dans l'homéostasie ionique, tandis que les glucocorticoïdes, comme le cortisol chez l'Homme ou la corticostérone chez les rongeurs, ont pour fonction de relayer et d'amplifier l'action des catécholamines, au niveau énergétique, en favorisant la production de glucides. Ces hormones lipophiles vont passer facilement la barrière hémato-encéphalique et agir au niveau du SNC pour réguler l'activité de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (HPA) en contrôlant l'activité sécrétrice de la CRH par l'hypothalamus permettant ainsi un rétrocontrôle. La corticostérone va se fixer sur les récepteurs aux glucocorticoïdes seulement lorsqu'ils sont présents en forte concentration, c'est-à-dire lors du pic journalier et lors d'un stress (Korte, 2001).

La durée de cette phase va dépendre de l'intensité du stress et des capacités d'adaptation de l'organisme. Lorsque suffisamment d'hormones de stress ont été sécrétées et qu'elles ont rempli leurs fonctions, un rétrocontrôle négatif va se mettre en place pour stopper le mécanisme de réponse (Glaser et Kiecolt-Glaser., 2005).

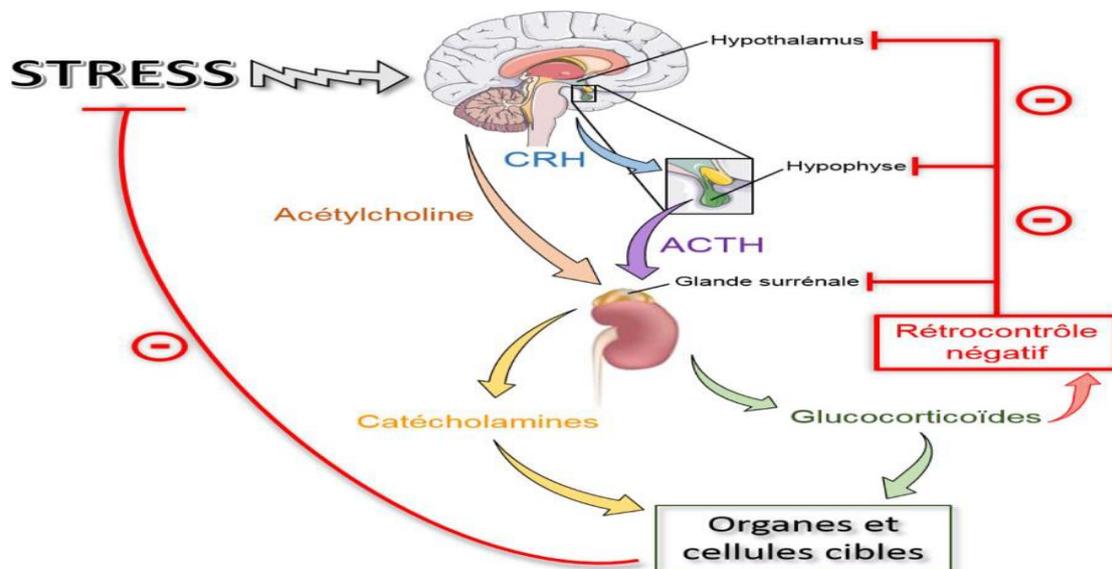


Figure 3. Schéma de la réponse au stress par le SNC et l'axe HPA (Glaser et Kiecolt-Glaser., 2005).

- **La troisième réaction, ou phase d'épuisement**

Elle va intervenir lorsque le stimulus stressant se répète trop souvent ou dure trop longtemps. L'organisme ne peut plus s'y adapter, il va alors subir des conséquences délétères. En effet, la réponse prolongée au stress va entraîner une diminution des défenses immunitaires et une consommation des ressources énergétiques lipidiques et protéiques, mais également une dérégulation physiologique globale, pouvant expliquer l'épuisement de l'organisme. Cet épuisement peut se manifester de plusieurs manières : des ulcérations gastro-intestinales, une augmentation de la taille du cortex surrénalien, une absence de prise de poids (Marin, 2007), un niveau plasmatique élevé de glucocorticoïdes du à l'altération de leur rétrocontrôle négatif sur l'axe HPA (Mizoguchi et al., 2002) ou encore une réduction de la taille des organes lymphoïdes (Filaretova et al., 2013). Des modifications comportementales peuvent également être observées telles que l'anxiété ou encore la dépression si le stress est trop aigu ou s'il perdure (Mizoguchi et al., 2002).

I.2.3. Stress biologique et psychique

- **Le stress biologique**

Implique l'intervention d'agents physiques induisant une réponse non spécifique du système hypothalamo-hypophyso-surrénalien (Troxler, Schwertner 1985).

- **Le stress psychique**

Défini comme l'état dans lequel se trouve l'organisme placé dans des situations qui menacent le bien-être, l'intégrité physique ou psychique de l'individu. La différence entre stress biologique et stress psychique concerne surtout les facteurs intervenant dans le déclenchement du stress. (Troxler, Schwertner 1985).

L'état de stress qu'il soit biologique ou psychique, implique ensuite une réponse de l'organisme dans sa globalité (Troxler, Schwertner 1985).

I.2.4. Stress aigu et stress chronique

- **Le stress aigu**

C'est aussi le stress occasionnel qui provoque une réponse intense correspondant à la phase d'alarme précédemment décrite. Ce type de stress découle d'événements ou de situations spécifiques pour lesquelles l'individu va ressentir une perte de contrôle et qui impliquent des éléments d'imprévisibilité et de nouveauté (Gaignier et al., 2014).

Le stress aigu n'est pas nécessairement délétère, puisqu'il stimule la sécrétion d'hormones qui aident à gérer la situation et à rétablir l'homéostasie de l'organisme (Gaignier et al., 2014).

- **Le stress chronique**

Il vient de l'exposition prolongée et/ou répétée à un ou plusieurs facteurs stressants. Il est récurrent, plutôt de faible intensité et dont les conséquences sur l'organisme sont de plus grande ampleur et de plus longue durée que celles observées lors d'un stress aigu. Il peut aboutir au stade d'épuisement si l'organisme ne parvient pas à se rééquilibrer. Ses conséquences font donc l'objet de nombreuses études autant chez l'humain que chez les animaux d'élevage ou de laboratoire. Les stress chroniques affectent notamment le système immunitaire, ce qui peut mener au développement de pathologies graves, notamment des pathologies infectieuses ou tumorales (Gaignier et al., 2014).

I.2.5. Stress cognitif et stress non cognitif

On considère aujourd'hui que les facteurs de stress se répartissent en deux groupes : le groupe des stimuli cognitifs et celui des stimuli non-cognitifs (Blalock, 1984).

➤ **Les stimuli cognitifs** sont des facteurs de stress perceptibles par les organes des sens. Ils sont de nature abiotique (qualité de l'air ou de l'eau : température, quantité d'oxygène, salinité, présence de polluants, pratiques agricoles ou aquacoles) ou biotique (quantité ou qualité de nourriture, compétition, présence de prédateurs, surpopulation).

➤ **La notion de stimulus non-cognitif** a été introduite par **Blalock (1984)**, en soulignant que le système immunitaire et le système neuroendocrine secrètent un ensemble de molécules identiques et répondent à des messagers communs (neuropeptides, catécholamines et cytokines notamment). Il propose que le système immunitaire peut assurer une fonction d'organe sensoriel réagissant à des facteurs de stress qui ne sont pas perçus par les organes des sens classiques. En effet, les cellules immunitaires reconnaissent divers antigènes (virus, bactéries, protozoaires) qui menacent l'intégrité de l'organisme mais ne sont pas détectés par les organes des sens ou le système nerveux. Cette information est alors transmise au système neuroendocrine *via* des messagers hormonaux sécrétés par les cellules immunitaires ce qui déclenche une réponse au stress.

I.2.6. Le système nerveux central

Le système nerveux central (SNC) est un organe sensible et un système suffisamment complexe et important pour que les cellules et neurones qu'il contient soient séparés du sang et du liquide céphalo-rachidien par des structures physico-chimiques qui maintiennent ainsi un environnement ionique stable indispensable à l'activité neuronale (**Kim et al., 2006**).

Le système nerveux central (SNC) est séparé du compartiment sanguin par deux barrières qui assurent l'homéostasie cérébrale (**Engelhardt et Sorokin, 2009**). Le système vasculaire est isolé du parenchyme cérébral par la barrière hémato-encéphalique (BHE) et du liquide céphalo-rachidien (LCR) par la barrière hémato-liquidienne (**Alam et al., 2010**).

I.2.7. La barrière hémato encéphalique

La BHE est une barrière biologique qui sépare physiquement le cerveau de la circulation sanguine (**Hawkins et Davis, 2005 ; Weiss et al., 2009**).

La BHE existe dans presque toutes les régions du cerveau chez tous les tétrapodes (Vertébrés terrestres). La BHE isole physiquement le SNC du reste de l'organisme, dont le système sanguin. Elle constitue un élément clé dans la protection du SNC de par sa faible et relative perméabilité (**Ballabh et al., 2004**).

La BHE est constituée de cellules endothéliales des capillaires cérébraux (CECCs) qui expriment un phénotype unique caractérisé par 1) la présence de jonctions serrées intracellulaires qui limite le passage paracellulaire, et 2) l'expression de plusieurs transporteurs et récepteurs pour réguler le passage intracellulaire (**Abbott et al., 2010**). La lame basale, les péricytes et les pieds astrocytaires situés à proximité des CECCs participent indirectement à la cohésion de la structure de la BHE, et forment avec les CECCs l'unité neurovasculaire (**Fig.4**). L'homéostasie cérébrale dépend de l'interaction entre ces éléments (**Hawkins et Davis., 2005; Weiss et al., 2009**).

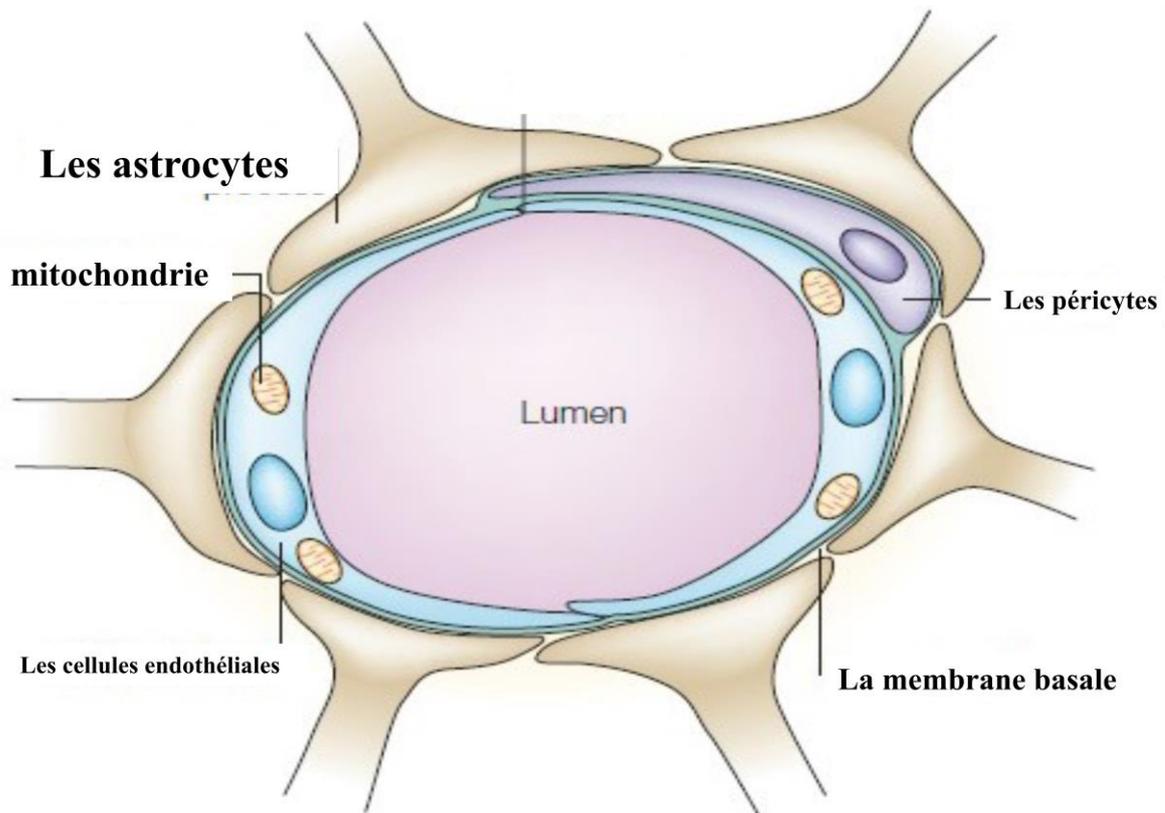


Figure 4. Schéma représentatif de la barrière hématoencéphalique sur une coupe coronale d'un capillaire cérébral d'après (Loscher et Potschka, 2005).

I.2.7.1. Constitution de la BHE

- **Les cellules endothéliales**

Elles sont définies comme étant le siège anatomique de la BHE. Elles présentent des caractéristiques structurales et métaboliques qui différencient l'endothélium des capillaires cérébraux de celui des autres organes. (Oldendorf et al., 1977).

- **Les péricytes**

Les péricytes apporteraient un soutien structurel aux cellules endothéliales cérébrales (Ballabh et al., 2004), réguleraient le flux sanguin des capillaires (Bandopadhyay et al., 2001) et participeraient à l'entretien des vaisseaux sanguins (Ramsauer et al., 2002). Les péricytes, qui partagent avec les cellules endothéliales la membrane basale, sont capables d'induire des propriétés de la BHE sur des cellules endothéliales cérébrales en culture (Hori et al., 2004 ; Dohgu et al., 2005).

- **La membrane basale**

Elle sert de support aux cellules endothéliales. Elle est produite par les cellules endothéliales elles-mêmes et par les péricytes qui y sont inclus. Elle est composée essentiellement de collagène de type IV, de laminine et de fibronectine (**Tilling et al., 1998**).

- **Les jonctions serrées**

Il existe plusieurs types de jonctions au niveau de la BHE, se formant entre deux cellules endothéliales adjacentes. On trouve les jonctions adhérentes (JA) et les jonctions serrées (JS ou *zonula occludens*) et peut-être des jonctions gap. Ces dernières, si elles sont présentes, permettent la communication intercellulaire. En revanche, les JS et JA ont pour rôle de limiter la perméabilité de l'endothélium (**Hawkins et Davis, 2005**).

Une jonction serrée est composée de protéines transmembranaires (occludines, claudines et JAM ou junctional adhesion molecules) qui sont reliées au cytosquelette d'actine par les protéines d'ancrage/accessoires (ZO-1, ZO-2 et ZO-3) (**Persidsky et al., 2006**).

- **Les astrocytes**

Les astrocytes entourent, avec leurs prolongements, les cellules endothéliales et les péricytes (**Kacem et al., 1998**). Ils interviendraient également dans la régulation du diamètre des vaisseaux cérébraux (**Gordon et al., 2007**) et participeraient à la dégradation de la matrice via l'activation des MMP (matrix metallo-protéinases) (**Green et Friedland, 2007**). De par leur forme et leur situation, étant à la fois proches des neurones et des cellules endothéliales, les astrocytes pourraient être un moyen de communication entre ces deux types cellulaires (**Kim et al., 2006**). Ils joueraient également un rôle dans l'immunité et l'inflammation, puisqu'ils peuvent reconnaître le non-soi, promouvoir le recrutement leucocytaire, et réguler la neuro-inflammation (**Farina et al., 2007**).

I.2.7.2. Rôle de la BHE

La BHE est une barrière sélective formée par les cellules endothéliales cérébrales, limitant et régulant les échanges moléculaires entre le plasma et le parenchyme cérébral. La BHE exerce un important contrôle sur la composition du microenvironnement immédiat des cellules cérébrales et veille à produire un milieu extracellulaire stable et optimal pour la fonction neuronale (**Zlokovic, 2008**).

I.2.8. L'inflammation

C'est aussi la réaction inflammatoire, qui est la réponse des tissus vivants vascularisés, à une agression d'origine physique, chimique ou biologique dans le but de maintenir son intégrité. L'inflammation est un processus habituellement bénéfique : son but est de mobiliser le système immunitaire afin d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, ou encore de régulations anormales du processus inflammatoire (Hellal, 2007).

I.2.9. Les lymphocytes

Il existe deux populations de lymphocytes (B et T) dont les rôles sont fondamentalement différents. Les lymphocytes B sont essentiellement impliqués dans la synthèse d'anticorps et dans l'immunité spécifique. Les précurseurs des lymphocytes T donnent naissance à des lymphocytes CD4 (régulateurs) et CD8 (cytotoxiques ou suppresseurs). Les lymphocytes CD8 exercent des fonctions cytotoxiques qui leur permettent d'éliminer les cellules infectées par les pathogènes intracellulaires. Ils libèrent essentiellement de l'IFN- γ et du TNF- α . Leur implication dans les maladies inflammatoires est mal connue, et semble *a priori* mineure (Koshino et al., 1996).

Les lymphocytes CD4 jouent en revanche un rôle régulateur majeur dans la réponse immunitaire et inflammatoire par la libération de cytokines spécifiques. Différentes sous-populations de lymphocytes T ont été identifiées : les cellules *T helper precursors* (Thp) qui se différencient, selon l'environnement cytokiniques, en cellules de type Th1 avec un profil de sécrétion pro-inflammatoire (IL-2, IFN- γ , TNF- α), Th2 avec un profil anti inflammatoire (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10) ou Th3 (encore appelées Tr1 ou lymphocytes T régulateurs), libérant du *Transforming Growth Factor* β (TGF- β) et de l'IL-10 (Fig. 5) (Koshino et al., 1996).

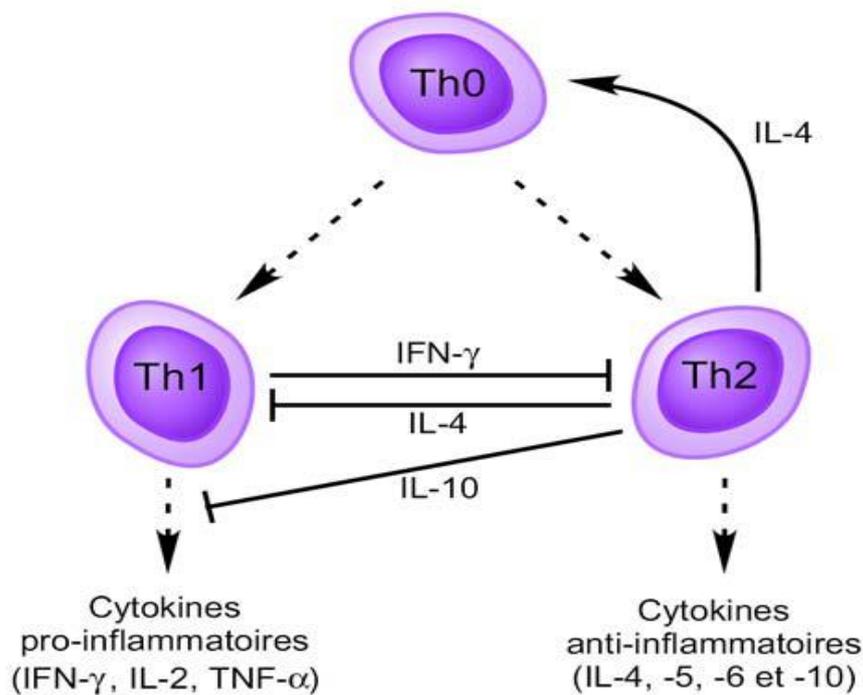


Figure 5. La balance lymphocytaire Th1/Th2 (Koshino *et al.*, 1996).

I.2.10. Les cytokines

Les cytokines constituent une famille de médiateurs pro-inflammatoires et immuns régulateurs, sécrétées principalement par les cellules effectrices du système immunitaire. Seuls le TNF- α (Tumor Necrosis Factor) et les interleukines IL-1 β , IL-6 et IL-8, jouent vraisemblablement un rôle majeur dans la plupart des maladies inflammatoires. Plus de 100 cytokines ont été identifiées à ce jour (Rothwell et Luheshi, 2000). Elles ont une taille comprise entre 8 et 26 kDa, sont souvent libérées pour agir localement en modifiant la fonction des tissus, et elles sont plus généralement produites en réponse à une inflammation ou un dommage des tissus (Rothwell *et al.*, 1996).

Les cytokines ne sont pas seulement impliquées dans la réponse immunitaire. Elles possèdent également des rôles physiologiques et pathologiques (Szelenyi, 2001). Il existe dans le cerveau une expression constitutive des cytokines qui semblent contribuer dans ce cas aux fonctions physiologiques normales du SNC (Pollmacher *et al.*, 2002). Les cytokines, aussi bien au niveau du système nerveux central que du système nerveux périphérique, sont des immunorégulateurs et des neuromodulateurs. Elles sont en général classées en deux groupes : les cytokines stimulantes soit pro- inflammatoires, et les inhibitrices, soit anti-inflammatoires (Szelenyi, 2001).

Parmi les cytokines pro-inflammatoires se trouvent l'interleukine (IL)-1, le TNF (Tumor Necrosis Factor), le gamma interferon (IFN γ), IL-12, IL-18 et GMCSF (granulocyte-macrophage colony stimulating factor). Seuls le TNF- α (Tumor Necrosis Factor - α) et les interleukines IL-1 β , IL-6 et IL-8, jouent vraisemblablement un rôle majeur dans la plupart des maladies inflammatoires, les activités biologiques d'autres cytokines intervenant dans la régulation des processus inflammatoires (**Aggarwal et al., 1985 ; Black et al., 1998.**)

Les cytokines anti-inflammatoires comportent : IL-4, IL 10, IL-13, IFN et TGF β (transforming growth factor beta) (**Cavaillon, 2001**). A l'état basal dans le cerveau, il y a un équilibre entre les cytokines pro-inflammatoires et les cytokines anti-inflammatoires, et ainsi un équilibre entre des signaux neuro-dégénératifs et neuro-protecteurs (**Szelenyi, 2001**).

I.2.11. Le Tumor Necrosis Factor (TNF)

Le TNF α (tumor necrosis factor alpha ou facteur alpha nécrosant des tumeurs) est une cytokine pléiotropique synthétisée par une grande variété de cellules et agissant comme médiateurs de la réponse inflammatoire dans grand nombre de tissus. Dans le SNC, les macrophages résidents ainsi que les astrocytes et la microglie peuvent synthétiser cette cytokine pro-inflammatoire et destructrice de tissus (**Lieberman et al., 1989; Righi et al., 1989**). Le TNF α peut en effet induire l'apoptose des tissus extraneuronaux ou faciliter la régénération des axones endommagés (**Brenneman et al., 1992; Cheng et al., 1994; Schwartz et al., 1991**).

I.2.12. Les neurotransmetteurs

Ils sont aussi appelés neuromédiateurs. Ce sont des substances chimiques libérées par l'élément présynaptique après stimulation qui active les récepteurs postsynaptiques. Environ 50 neuromédiateurs interviennent dans la communication chimique entre neurones, plusieurs coexistent parfois dans un même neurone. Le neurotransmetteur se fixe sur une protéine réceptrice de la membrane post-synaptique, appelée récepteur. Le GABA est un neurotransmetteur inhibiteur (la fixation du GABA sur le récepteur entraîne l'ouverture des canaux chlore, et donc l'hyperpolarisation de la cellule par l'entrée des ions Cl. Parfois il existe un second messenger intracellulaire, comme l'AMPc (AMP cyclique ou Adénosine Mono Phosphate cyclique) (**Alain, 2001**).

I.2.13. Communications bidirectionnelles entre le système immunitaire et le système nerveux

Les signaux mis en jeu au cours du développement des réactions de défense de l'organisme (inflammation, comportement maladie) trouvent leur origine dans l'activation du système immunitaire : ils informent le SNC et le système nerveux périphérique par l'intermédiaire de messagers chimiques. Ces messagers chimiques sont principalement les trois cytokines inflammatoires (IL1, IL6 et TNF α) (Allaz, 2007).

La synthèse et la libération des cytokines dans l'environnement extracellulaire en réponse à des stimuli pathogènes sont des événements rapides qui interviennent dans une constante de temps de l'ordre de la minute, leur temps de demi-vie dans le plasma étant de l'ordre de quelques minutes (Allaz, 2007).

Le SNC et le système immunitaire constituent donc un réseau de transmission d'information bidirectionnel, réseau qui joue un rôle prépondérant dans les réactions de défense de l'organisme contre une infection ou au cours du développement d'une lésion inflammatoire. Il reçoit l'information de la périphérie l'informant de l'occurrence de l'infection ou de l'inflammation et de la progression des réponses immunitaires intervenant pour contrer l'infection ou l'inflammation et en retour contrôle les processus mis en jeu à la périphérie par l'intermédiaire de voies de communication telles que le système immunitaire et/ou le système sympathique. La régulation de la douleur et de l'hyperalgésie constitue une partie intégrante des réactions de défense de l'organisme, activées par les signaux périphériques issus du système immunitaire (par l'intermédiaire du système vagal afférent ou des organes circum-ventriculaires). La mise en jeu des cytokines dans la sensibilisation des nocicepteurs au cours de l'inflammation et l'hypothèse selon laquelle la modulation de la sensibilité des nocicepteurs pourrait résulter de l'activité du système sympathique peuvent constituer des composantes essentielles de ces systèmes de défense (Allaz, 2007).

Le système nerveux est susceptible de moduler l'activité du système immunitaire, mais aussi en retour le système immunitaire peut moduler le fonctionnement du système nerveux, principalement par l'intermédiaire des cytokines aussi bien dans le compartiment périphérique et dans le compartiment du SNC, qu'à l'interface entre les deux. Ces messagers chimiques sont donc susceptibles de considérablement modifier le comportement (Allaz, 2007).

I.2.14. Le système immunitaire et ses fonctions

L'immunité correspond à l'ensemble des mécanismes biologiques qui permettent à un organisme de maintenir son intégrité. Le système immunitaire est composé d'un ensemble de cellules et de molécules qui assurent la défense de l'organisme lorsqu'il perçoit une menace. Celle-ci peut être externe lorsqu'il s'agit de substances étrangères ou d'agents infectieux, comme les microorganismes pathogènes ; ou interne, lorsque les propres constituants de l'organisme s'altèrent, comme les cellules tumorales. Pour ce faire, il doit apprendre à reconnaître et à tolérer ce qui lui appartient, le Soi, et à reconnaître et à rejeter ce qui lui est étranger, le Non Soi (**Kimzey et al., 1976**).

I.2.15. Effet du stress sur le système immunitaire

Divers modèles de stress chroniques ont été mis en place afin de comprendre leur impact sur le système immunitaire et le système nerveux central. Parmi ceux-ci, le modèle de stress chronique léger ou Chronic Mild Stress (CMS) (**Willner et al., 1987**) a permis l'étude chez les rongeurs, de l'impact d'une exposition chronique à une combinaison de facteurs de stress environnementaux et sociaux de faible intensité associés à une privation de nourriture. Le CMS est généralement utilisé pour engendrer les principaux symptômes retrouvés lors de la dépression chez l'Homme, tels qu'une anhédonie, une perte de la masse corporelle (**Willner, 1997**), des troubles du sommeil (**Moreau et al., 1995**), et des perturbations de l'activité locomotrice selon le rythme circadien (**Gorka et al., 1996**). **Silberman et al. (2004)** ont montré qu'il induisait aussi une diminution de la réponse proliférative des lymphocytes T *in vitro* et une plus faible réponse humorale *in vivo* associées à une modification de la réactivité des lymphocytes T en réponse aux hormones de stress et à la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (**Silberman et al., 2004**).

Chapitre 3. Le stress oxydative et l'activité antioxydant

I.3.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal, étant présents dans tous les fruits et les légumes et dans toutes les parties des plantes, mais avec une répartition quantitative qui varie entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées (**Waksmundzka-Hajnos et Sherma, 2011**) allant de simples molécules comme les acides phénoliques, à des substances hautement polymérisées comme les tannins (**Dai et Mumper, 2010**). Ils sont synthétisés par l'ensemble des végétaux et ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnement UV, faible température, carences). Les polyphénols contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux : couleur, astringence, arôme et amertume (**Visioli et al., 2000**).

I.3.1.1. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasi-universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (**Pietta, 2000 ; Ghedira, 2005**) (fig. 6).

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont: flavones, isoflavandiols, flavanols, flavondiols, aurones, chalcones, anthocyanines (**Effendi et al., 2008**).

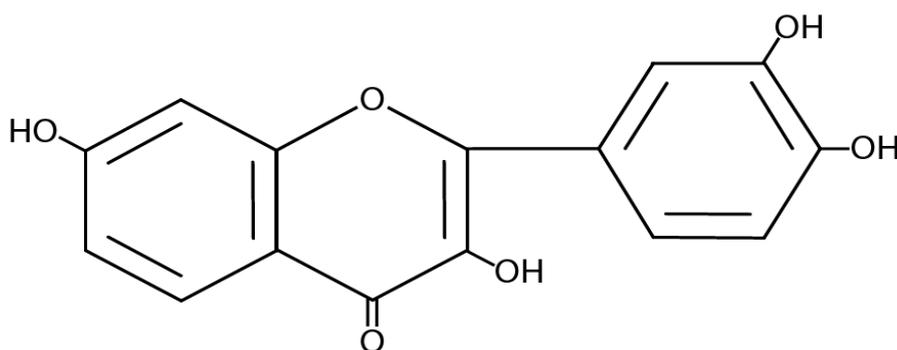


Figure 6. Structure de base des flavonoïdes (**Di Carlo et al., 1999**).

- **Structure**

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-y-pyranne (Skerget *et al.*, 2005). Leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C (Dacosta, 2003).

I.3.1.2. Les tannins

Les tannins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est lié à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Dalton (Paris et Hurabielle, 1981). On distingue habituellement deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien par leur origine biogénétiques: Les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Bruneton, 1999) (fig. 7).

Les tannins condensés et hydrolysables sont 15 à 30 fois plus efficaces que les phénols simples (Hagerman *et al.*, 1998). Les tannins hydrolysables inhibent la peroxydation des lipides et les tannins condensés inhibent la formation des superoxydases (Derbel et Ghedira, 2005).

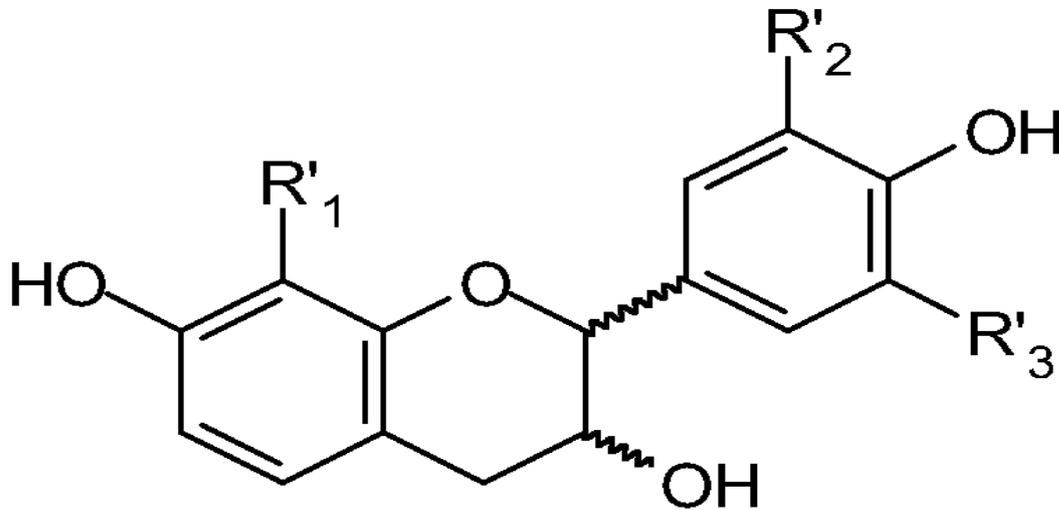


Figure 7. Structure chimique des tanins (Guigniard, 1996).

I.3.1.3. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont caractérisés par la présence d'un groupement carboxyle. Ils sont subdivisés en deux groupes principaux, les acides hydroxybenzoïques (C6—C1) et les acides hydroxycinnamiques (C6—C3), ils sont rares sous forme libre (Fraga, 2010).

L'activité antioxydante des acides phénoliques augmente avec l'augmentation du degré d'hydroxylation comme c'est le cas de l'acide gallique trihydroxylé, qui montre une activité antioxydante élevée (**Balasundram *et al.*, 2006**).

I.3.2. Propriétés biologiques des polyphénols

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en général et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-arthérogénique, anti-inflammatoire, antioxydante, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotectrice et vasodilatatoire (**Middleton *et al.*, 2000 ; Ksouri *et al.*, 2007**). Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est dû à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (**Nijveldt *et al.*, 2001**).

I.3.3. Radicaux libres et pouvoir antioxydant

Les cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agression physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène (**Walker *et al.*, 1982**).

I.3.3.1. Différents types des radicaux libres

Un radical libre est une espèce caractérisée par une instabilité et /où un pouvoir oxydant fort, il se différencie par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe. Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et appelés radicaux primaires, à savoir : l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle ($\bullet OH$), le monoxyde d'azote ($NO\bullet$), le radical peroxyde ($ROO\bullet$) et le radical alkoxyde ($RO\bullet$). Les autres radicaux libres, ou radicaux secondaires telles que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Favier, 2003**).

1.3.3.2. Origine de production des ERO

Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal. Cette production augmente en rapport avec l'élévation de la consommation d'oxygène (Gauche et Hausswirth, 2007).

1.3.4. Le stress oxydant

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si ce n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant (Favier, 2003).

Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit (Delattre et al., 2005). L'importance des dommages du stress oxydant dépend de la cible moléculaire, de la sévérité de l'effort et du mécanisme par lequel l'effort oxydant est imposé (Fig. 8) (Aruoma, 1999).



Figure 8. Balance radicaux libres /antioxydants (Shimizu, 2004).

I.3.5. Les conséquences du stress oxydant

L'attaque des radicaux libres au sein des doubles liaisons lipidiques membranaires, induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane, altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information (**Koechlin Ramonatxo, 2006**). La toxicité des EOR s'exerce également sur les protéines. Les EOR sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, l'histidine, la cystéine et la méthionine. Les EOR sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques. Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogenèse, malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppressions (**Favier, 2003**).

I.3.6. Antioxydant et activité antioxydante

Un antioxydant est défini comme une substance ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation.

Cette définition peut être élargie et le terme antioxydant englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (**Shimizu, 2004**). Les antioxydants arrêtent la réaction, la plupart du temps parce que la structure des antioxydants est relativement stable (**Haton, 2005**).

L'intérêt des antioxydants a été mis en évidence dans de nombreuses études médicales portant sur la réduction des effets néfastes liés au stress oxydatif sur l'organisme. Des sources multiples d'antioxydants naturels ont été testées dont les fruits et légumes de l'alimentation traditionnelle. Le régime alimentaire asiatique, riche en algues utilisées comme légumes, a attiré l'attention sur ces végétaux dont les teneurs en antioxydants se sont révélées très intéressantes (**Waksmundzka-Hajnos et Sherma, 2011**).

On distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule:

I.3.6.1. Antioxydants endogènes

Un système de défense primaire composé d'enzymes et de substances antioxydantes

- ✓ Superoxyde dismutase (SOD) : diminue la durée de vie de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$;
- ✓ Catalase : transforme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en simple molécule d'eau;
- ✓ Glutathion peroxydase (GPx) détruit le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes Lipidiques.

Les molécules piégeuses : le glutathion (GSH), l'acide urique, les protéines à groupement thiols, ubiquinone, etc (**Mika et al., 2004**).

Un système de défense secondaire composé d'enzymes protéolytiques, des phospholipases, des ADN endonuclease et ligase, des macroxyprotéinases (**Mika et al., 2004**).

I.3.6.2. Antioxydants exogènes

Ils sont présents dans l'alimentation telle que les vitamines A, C, E et les polyphénols en particulier les flavonoïdes, ainsi que les cofacteurs des enzymes impliquées dans les systèmes antioxydants endogènes comme le sélénium, le zinc et le manganèse. Ces antioxydants nutritionnels sont indispensables mais leur action est limitée jusqu'à ce qu'ils soient régénérés (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

I.3.7. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (**Favier, 2006**).

Les activités chimiques des polyphénols en terme de leur propriétés réductrices prédits leur potentiel pour une action antioxydante (**Rice-Evans et al., 1997**) due à leur capacité à piéger les ERO, donner des atomes d'hydrogènes ou d'électrons, chélater les ions métalliques (**Tsao et Deng, 2004 ; Balasundram et al., 2006 ; Rodrigo et Bosco, 2006**) et moduler l'activité des enzymes (**Rodrigo et Bosco, 2006**). L'efficacité antioxydative des polyphénols dépend de leur structure chimique (**Hagerman et al., 1998 ; Moure et al., 2001**). Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres agissent en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur (**Yaacoub, 2009 ; Hellal, 2011**).

I.4. Les tests comportementaux

I.4.1. Procédure de la nage forcée (Forced Swimming Test)

Des conditions stressantes augmentent la vulnérabilité aux épisodes dépressifs chez l'homme et seraient un des facteurs étiologiques de la dépression. En effet, des modèles animaux basés sur l'hypothèse que la dépression est causée par un stress non contrôlé par l'animal, ont été proposés. Ces modèles sont donc étudiés pour tenter de décrire les conséquences neurobiologiques et comportementales néfastes du stress sur le plan émotionnel et comportemental chez les rongeurs. Des altérations fonctionnelles similaires ont été décrites dans le cas de la dépression chez l'homme, où il a été suggéré que le modèle de la nage forcée (FST) permettrait de modéliser certaines formes de dépression. Il s'agit du test de la nage forcée décrit par **Porsolt *et al.* (1977)**.

I.4.2. Test du labyrinthe en croix surélevée (*Plus-maze test*)

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

I.4.3. Test des champs ouverts (Open Field test)

Le test des champs ouverts est réalisé pendant 5 minutes. L'animal est placé au centre du dispositif, son déplacement permet de mesurer le nombre de carrés traversés ainsi que le temps passé dans chaque zone. De ce fait, ce test indique l'activité locomotrice et le comportement anxieux respectivement. Ce dernier est d'autant plus prononcé quand le rat passe plus de temps dans la bordure. Quant à la zone centrale, son exploration représente un signe de moindre anxiété (**Hall, 1934 ; 1938**).

2^{ème} partie :
Matériel et
méthodes

II. matériel et méthodes

II.1. matériel biologique

II.1.1. Echantillonnage

- **Site d'étude**

La récolte des échantillons a été effectuée pendant le mois d'Octobre 2015 à l'îlot Tiskerth (Ilot de l'ail) (36°48'N, 4°58'E) dans la région de Boulimat située à 16,4 Km à l'Ouest de la ville de Bejaïa. C'est une station caractérisée par un substrat rocheux, et un mode moyennement battu à calme (**fig. 9**).

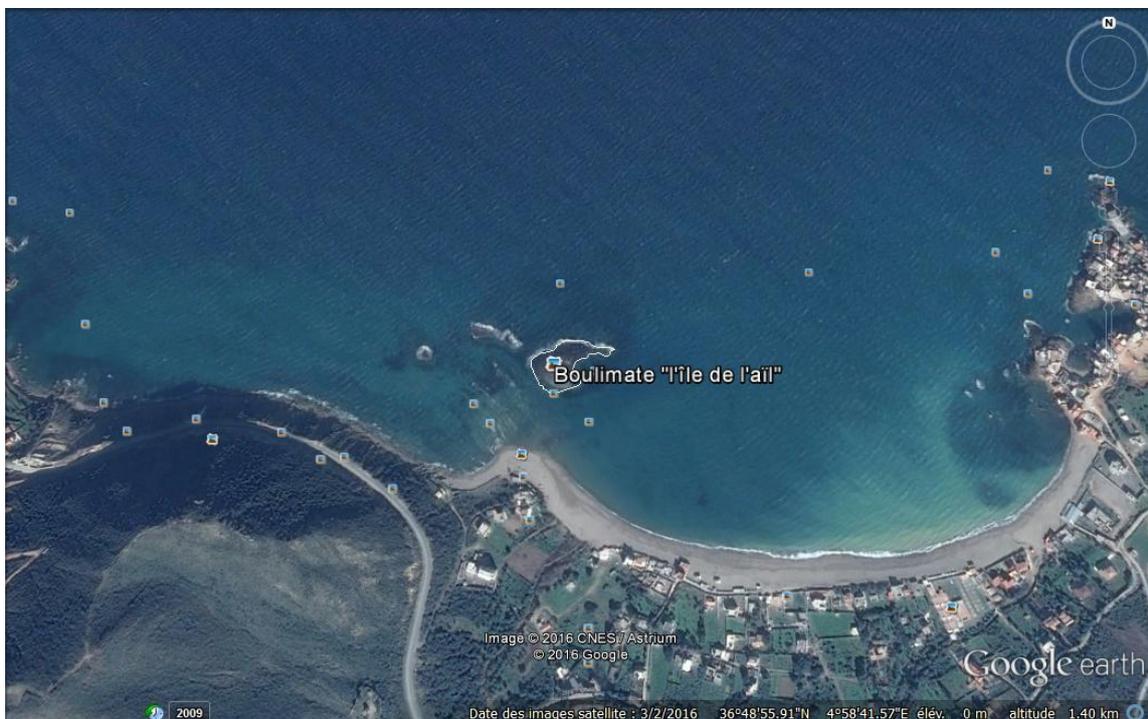


Figure 9. Image satellite de la station de récolte (**Google Earth, 2016**).

- **La récolte**

Les échantillons de l'algue *Peyssonnelia sp* ont été récoltés manuellement sur des supports rocheux. La récolte a été effectuée sur une ceinture de profondeur allant de 0 à 3 m. Les échantillons récoltés ont été placés dans des sacs en plastiques en présence d'une petite quantité d'eau.

Au niveau de laboratoire, les échantillons d'algue ont été triés à la main pour écarter les plantes épiphytes et les organismes parasites, lavés avec d'eau douce plusieurs fois et un dernier rinçage a été fait avec de l'eau distillée. Les échantillons ont été mis à l'ombre à une température ambiante jusqu'à la déshydratation complète. Après le séchage à l'étude à 40°C,

les échantillons sont coupés en petits morceaux, broyés, tamisé pour obtenir une poudre très fine (diamètre inférieur à 125 μm). La poudre a été conservée dans des flacons opaques jusqu'à son utilisation ultérieure.

II.1.2. préparation de l'extrait aqueuse

Pour extraire les polyphénols par macération, nous avons opté pour le protocole décrit par **Romani et al. (2006)** en y apportant quelques modifications :

500 mg de poudre algale sont macérés dans 50 ml d'eau distillée sous agitation. Après 1 heure, le mélange a été filtré et conservé.

II.1.3. Animaux et élevage

Le matériel biologique de base que nous avons choisi est le rat de la souche Wistar (*Rattus rattus*) provenant de l'Institut Pasteur d'Alger. Les rats ont été acclimatés aux conditions standard de photopériode naturelle, à une température moyenne de $20 \pm 5^\circ\text{C}$. Après une période d'adaptation de trois semaines, les rats pesaient au moment de l'expérimentation entre 153 et 319 g.

Les animaux sont élevés dans des cages translucides en polyéthylène. Celles-ci sont tapissées d'une litière composée de copeaux de bois. Tous les deux jours, les cages sont nettoyées et la litière changée. La nourriture apportée aux animaux est présentée sous forme de bouchons constitués de maïs, d'orge, remoulage et soja, Provenant de la société de production des aliments d'animaux, Groupe Avicole El-kseur Bejaia. Quant à l'eau de boisson, elle est présentée dans des biberons *ad libitum*.

II.2. Formation des lots expérimentaux

A l'issue de la période d'acclimatation, 60 rats (30 mâles et 30 femelles) sont répartis en six (6) lots expérimentaux, avec pour les rats mâles :

- Lot Témoin (n=5) ;
- Lot M = Témoin + extrait d'algue (n=5) ;
- Lot L = Ligature du nerf sciatique (n=5) ;
- Lot L+M = Ligature du nerf sciatique + extrait d'algue (n=5) ;
- Lot CMS = Chronic Mild Stress (n=5);
- Lot CMS + M = Chronic Mild Stress + extrait d'algue (n=5).

La même répartition est faite pour les rats femelles :

- Lot Témoin (n=5) ;
- Lot M = Témoin + extrait d'algue (n=5) ;

- Lot L = Ligature du nerf sciatique (n=5) ;
- Lot L+M = Ligature du nerf sciatique + extrait d'algue (n=5) ;
- Lot CMS = Chronic Mild Stress (n=5);
- Lot CMS + M = Chronic Mild Stress + extrait d'algue (n=5).

II.3. Détermination de la dose de l'extrait d'algue

Pour détecter la dose de l'extrait de l'algue appropriée nous avons choisi 3 doses de 15, 25 et 35 mg/Kg de rat. La détermination de la dose est effectuée en utilisant : Forced Swimming Test ou Nage forcée qui se déroule sur deux jours :

- 1^{ier} jour: un pré-test (nage) pendant 15 minutes, puis une demi-heure après la nage, une injection intra péritonéale de l'extrait d'algue est administré aux animaux.
- 2^{eme} jour : on a applique deux injections : 1^{ere} injection : 5 heures avant le test
2^{eme} injection: 1 heure avant le test.

Selon les résultats du test de la nage forcée, et au regard du temps d'immobilité, la dose optimale a été sélectionnée, la meilleure étant la dose de 15 mg/Kg de rat.

II.4. Protocole expérimental

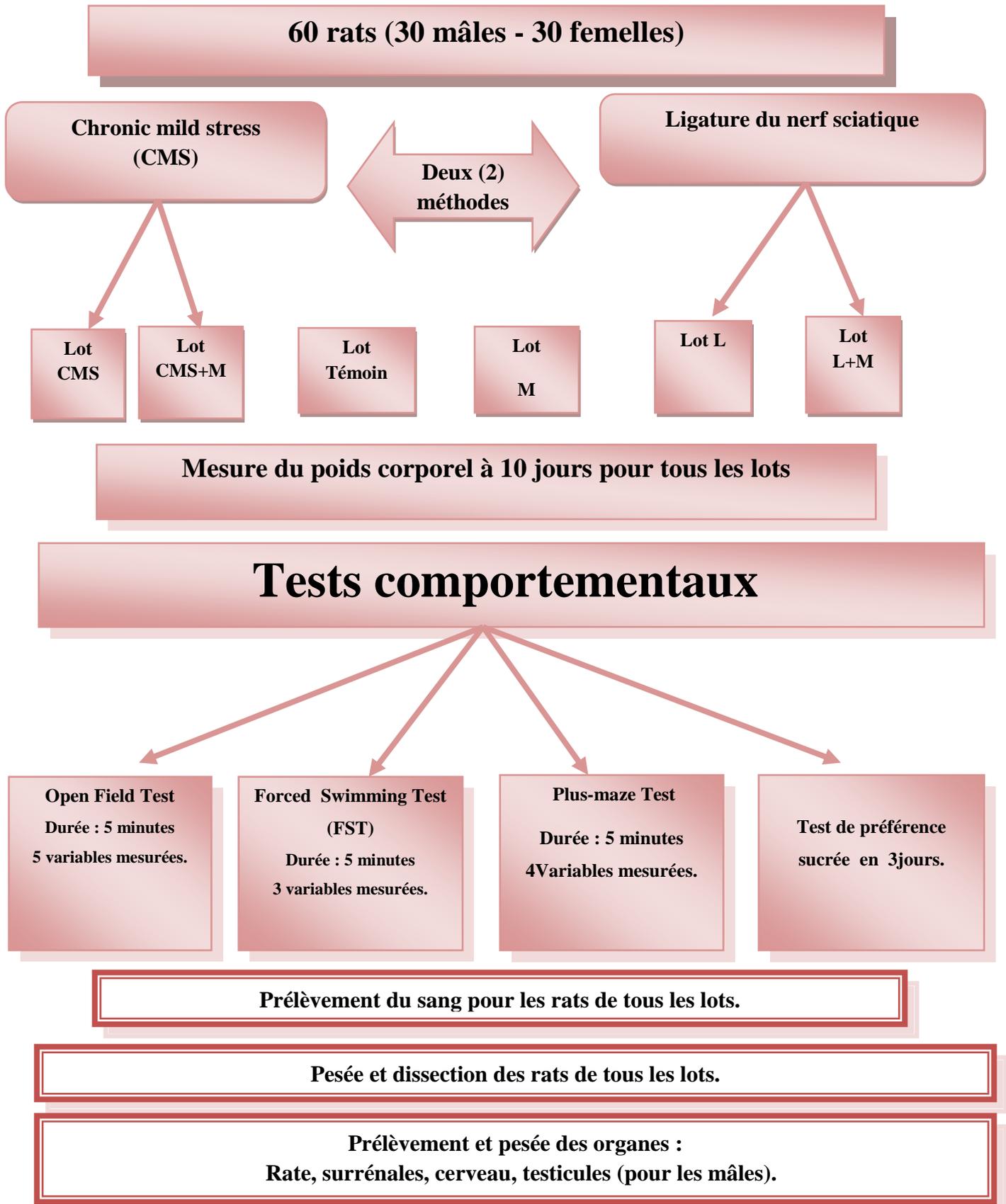


Figure 10. Protocole expérimental.

II.5. Méthodes

II.5.1. Le chronic mild stress (CMS)

Le stress chronique léger (CMS) du protocole a été utilisé conformément à la littérature (**Gamaro et al. 2003**). Les 2 lots CMS et CMS + M ont été soumis à 37 jours de stress chronique léger (**Tab. 1**). Les facteurs de stress qui ont été utilisés sont : privation de nourriture, privation d'eau, nage forcée, lumière clignotante, isolement, litière humide et litière humide à 4°C. À chaque facteur de stress pour un laps de temps déterminé qui peut varier de quelques heures à une journée, en fonction du type de stress.

Le programme pour chaque agent stressant et la durée de temps appliquée chaque jour sont énumérés dans le **Tableau II** pour les 2 lots concernés.

Tableau II. Liste et durée des agents de stress utilisés pendant le stress chronique (CMS) selon le jour

Jours	Stress utilisé	Durée
Jour1	Privation de l'eau	24h
Jour2	Privation de nourriture	24h
Jour3	Isolement	24h
Jour4	Isolement	24h
Jour5	Isolement	24h
Jour6	Lumière clignotante	3h
Jour7	Privation de nourriture	24h
Jour8	Nage forcée	10min
Jour9	Litière humide	1h
Jour10	Privation de l'eau	24h
Jour11	Aucun stress	-
Jour12	Aucun stress	-
Jour13	Litière humide+4°C	2h
Jour14	Lumière clignotante	2h30
Jour15	Privation de nourriture	24h
Jour16	Nage forcée	15min
Jour17	Isolement	24h
Jour18	Isolement	24h
Jour19	Isolement	24h
Jour20	Privation de l'eau	24h
Jour21	Privation de nourriture	24h
Jour22	Lumière clignotante	3h
Jour23	Litière humide	1h
Jour24	Isolement	24h
Jour25	Isolement	24h
Jour26	Isolement	24h
Jour27	Nage forcée	10min
Jour28	Lumière clignotante	3h30

Jour29	Aucun stress	-
Jour30	Privation de nourriture	24h
Jour31	Litière humide	1h
Jour32	Lumière clignotante	2h
Jour33	Privation de l'eau	24h
Jour34	Litière humide +4°C	2h
Jour35	Nage forcée	10min
Jour36	Isolement	24h
Jour37	Isolement	24h

II.5.2. Ligature du nerf sciatique

Les rats ont subi une ligature du nerf sciatique tandis que le nerf sural est laissé intact. Les résultats des lésions dont l'hypersensibilité est marquée dans la zone latérale de la patte qui est innervée par le nerf sural à été épargnée. Le côté non opéré du rat a été utilisé comme contrôle. Suite à cette opération, les rats ont bénéficié d'un traitement antibiotique à une dose de 0,3 ml/250g de rat durant 5 jours par injection intra-péritonéale (*Zaafour et al., 2015*).

a) Protocole expérimental

2 heures avant l'intervention, les rats reçoivent une injection d'antibiotique, l'Ampicilline, à raison de 0,3ml par 250g de rat.

b) Anesthésie

- **15 min avant l'intervention :** Les rats sont anesthésiés par une injection intra-péritonéale de Kétamine à 0,3ml/100gde rat + Largactil (Chlorpromazine) à 10% dans la même seringue que la Kétamine.
- **Pendant l'intervention :**
 - ✓ Les animaux sont placés dans un endroit calme et tranquille.
 - ✓ Vérification des réflexes des rats en pinçant le bout de la queue et des pattes avec une pincette afin de s'assurer de l'immobilité des animaux avant toute intervention chirurgicale.
 - ✓ Epilation du champ opératoire légèrement en dessous de la zone du genou à la région de la hanche.
 - ✓ Application d'une pommade ophtalmique pour les yeux.
 - ✓ Animal placé sur son côté droit ou gauche et placement du membre postérieur gauche ou droit sur une petite plate-forme afin de la tenir élevée. Fixation de la jambe avec du ruban adhésif.

- ✓ Désinfection du champ opératoire avec de l'alcool et de l'extérieur avec de la Bétadine sur le site chirurgical.

c) Chirurgie

- ✓ On fait une incision de quelques cm dans le sens longitudinal proximal du genou.
- ✓ Ouverture de la peau par dissection en utilisant la pointe de ciseaux stérilisés.
- ✓ On cherche le nerf sciatique et on le tient avec une pince au-dessus de la peau (**Fig.11**).
- ✓ Il faut stériliser à l'aide d'un coton bourgeon corps pour absorber le sang en appuyant dessus jusqu'à ce que le saignement s'arrête.
- ✓ On attache le nerf sciatique avec le fil chirurgical en mettant 2 nœuds.
- ✓ On met une goutte d'anesthésiant local.
- ✓ On suture le muscle à l'aide d'un nœud.
- ✓ On suture la peau en mettant 2 nœuds, 2 à 3 fois.
- ✓ Nettoyage avec de la Bétadine.
- ✓ Ajout de poudre cicatrisante.

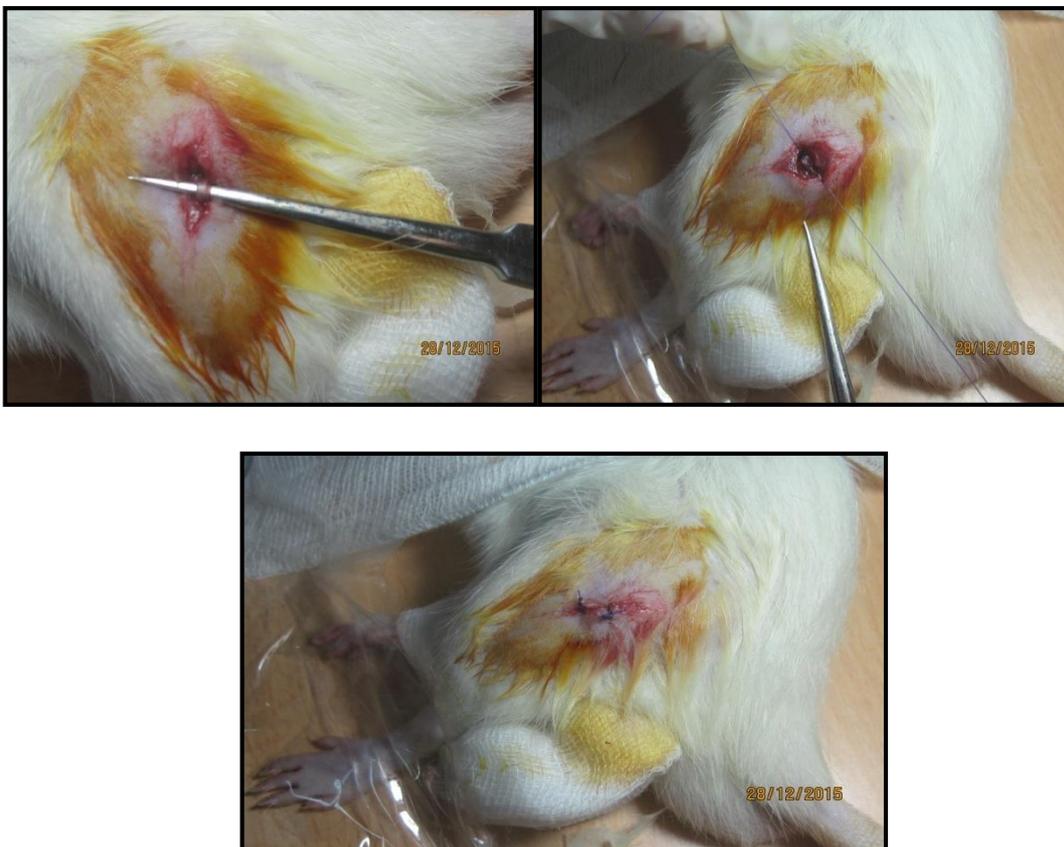


Figure 11. Photos de la procédure chirurgicale de la ligature de nerf sciatique.

- **Période post-chirurgie**

- ✓ Rat placé dans une cage propre sous une serviette de papier dans une posture confortable à une température ambiante.
- ✓ Injection intra-péritonéale d'antibiotique à une dose de 0,3ml/250g de rat durant 5 jours après l'intervention chirurgicale (**Fig.12**).

Réalisation d'une batterie de tests comportementaux (douleur neuropathique et mesures d'anxiété et de dépression), 10 jours après la chirurgie (**Zaafour et al., 2015**).



Figure 12. Photographie des rats en période de post-chirurgie.

II.6. traitements

- **Injection intra péritonéale de la solution de l'extrait d'algue**

La technique s'exécute seul ou à deux. On insère au complet l'aiguille avec un angle de 45° dans les cadrans inférieurs droits et gauches de l'abdomen en évitant les cadrans supérieurs et la ligne médiane au bas de l'abdomen où se situe la vessie.

Après la détermination de la dose de l'extrait d'algue par le test de la nage forcée (Forced Swimming Test) nous avons choisi la dose de 15 mg/kg de rat de l'extrait de l'algue.

Les animaux ont été repartis au hasard en six groupes expérimentaux de 5 rats chacun (chez les mâles et chez les femelles) (**Tab. III**) et ont reçu les traitements suivants:

Tableau III. Programme des injections.

Lots	Traitement
Témoins	Témoin sans injection.
M	Injection intra péritonéale de l'extrait d'algue (15 mg/kg de rat).
L	Ligature sans injection.
L+M	Ligature + injection intra péritonéale quotidiennes l'extrait d'algue (15 mg/kg de rat) à partir de 7 ^{ème} jour.
CMS	CMS sans injection.
CMS+M	CMS + Injection intra péritonéale quotidiennes l'extrait d'algue (15 mg/kg de rat) à partir de 29 ^{ème} jour.

II.7. Les tests comportementaux

II.7.1. Procédure de la nage forcée (Forced Swimming Test)

La FST ou Forced swimming test, est un modèle comportemental qui permet de prédire l'efficacité d'un traitement antidépresseur (**Porsolt et al., 1977**). Ce modèle animal, utilisé aussi bien chez le rat que chez la souris, présente cependant des différences de procédure selon l'espèce utilisée. Le test consiste à placer individuellement le rat dans un aquarium de 40cm de haut sur 30 cm de large (**Fig.13**). Ces dimensions permettent de s'assurer que le rat ne pourra pas s'enfuir en s'agrippant aux bordures du dispositif. L'aquarium est rempli d'eau à 25°C. La hauteur de l'eau atteint 35 cm, pour s'assurer que le rat ne se serve pas de ses membres inférieurs pour se maintenir à la surface, et donc l'obliger à nager. Après une phase d'activité vigoureuse (temps d'adaptation), l'animal cesse de nager et se fige, adoptant un comportement de désespoir. On considère que l'animal est immobile lorsqu'il flotte en position horizontale et ne réalise que des mouvements de faible amplitude, suffisant à maintenir sa tête hors de l'eau (**Porsolt et al., 1977**).

La FST se déroule chez le rat en deux phases, le pré-test (FST1) et le test(FST2), séparées par un intervalle de 24 heures au cours duquel le traitement est administré. Lors du pré-test, le rat est placé pendant 15 minutes dans l'aquarium rempli d'eau dont il ne peut s'échapper. A la fin de la session, l'animal est immobile. Le jour suivant, l'animal est replongé dans l'aquarium pendant 5 minutes, période pendant laquelle le temps d'immobilité est enregistré. Un traitement antidépresseur efficace diminue le temps d'immobilité, seulement lors du jour du test (**Porsolt et al., 1978 et 1979**). Une amélioration du test a été par la suite validée. Cette modification propose chez le rat, non seulement d'évaluer

l'immobilité posturale, mais aussi les deux comportements actifs impliqués directement dans la diminution de cette immobilité, à savoir : la nage et l'escalade.



Figure 13. Test de la nage forcée (Forced Swimming Test).

Variables mesurées

- Temps d'immobilité: indique que l'animale se laisse mourir.
- Le temps de Nage : Indique la voie noradrénergique est sollicitée.
- Le temps d'escalade : Indique la voie sérotoninergique est sollicitée.

II.7.2. Test du labyrinthe en croix surélevée (*Plus-maze test*)

- **Dispositif utilisé**

Le labyrinthe en croix surélevée est utilisé pour mesurer le degré d'anxiété chez les rongeurs (**Handley et Mithami, 1984**). Le labyrinthe surélevé de 50cm du sol est composé de quatre bras en bois, deux bras ouverts (50×10cm) s'opposant perpendiculairement à deux bras fermés (50×10cm) avec un bord de plexiglas haut de 45cm. L'intersection des quatre bras (plate-forme centrale) mesure 10cm de côté (**fig.14**) (**Montgomery, 1955 ; Roy, 2002**).



Figure.14 Test du labyrinthe en croix surélevée (Elevated plus-maze test).

- **Procédure**

Le test dure 5 minutes et débute lorsque le rat est placé au centre du labyrinthe, face à un bras ouvert. Cette procédure est celle employée initialement par **Pellow *et al.* (1985)**.

Ainsi le principe du test repose sur le conflit d'approche et l'évitement des bras ouverts. Un animal qui explore les bras ouverts sera décrit comme étant peu anxieux et un animal qui reste confiné dans les bras fermés du dispositif, sera lui, décrit comme étant anxieux (**Pellow *et al.* 1985**).

Variables mesurées

Durant ce test, les variables mesurées sont :

- Temps passé au centre (Seconde) : activité locomotrice réduit
- Temps passé dans les bras ouverts (Seconde) : animale peu anxieux
- Temps passé dans les bras fermés (Seconde) : Animale très anxieux
- Nombre d'estimation de la profondeur : capacité d'exploration des rats

II.7.3. Test des champs ouverts (Open Field test)

- **Dispositif utilisé**

Le dispositif se compose d'une base entourée par des parapets en plexiglas dont les mesures sont respectivement de 100cm×100cm×40cm. Le plancher est sous forme de carrés de 14.28cm×14.28cm, et est divisé en trois zones : zone centrale et zone périphérique et bordure (**Fig.15**).

- **Principe**

Il consiste à placer le rat doucement en le prenant par la queue, au centre du champ puis de filmer l'évolution de son comportement durant 5 mn. A la fin de chaque épreuve, le rat est retiré de l'enceinte qui est nettoyée complètement avec une solution d'alcool à 70% et séchée avant l'introduction d'un nouvel animal.

Variables mesurées

- Temps passé au centre (sec.) : animale peu anxieux.
- Temps passé dans la partie périphérique (sec.) : animale anxieux.
- Nombre de redressements : activité exploratrice.
- Distance parcourue (cm) : estimation de l'activité locomotrice.
- Nombre d'entrées au centre : anxiété peu anxieux.



Figure 15. Test du champ ouvert (Open field test).

II.7.4. Test de préférence sucrée

Un symptôme caractéristique des troubles dépressifs est l'incapacité, ou tout du moins la diminution de la capacité à éprouver du plaisir dans des situations ordinaires. Il semble donc important, dans l'objectif de modéliser la dépression, de pouvoir reproduire ce symptôme chez le rongeur. C'est ce qu'a réalisé **Willner (1992)** en validant ce test comme détecteur d'un comportement mimant la dépression chez le rat. Le principe est assez simple et est basé sur la préférence qu'ont les rongeurs, tout comme les Hommes, envers les aliments/boissons ayant un goût sucré. Dans leurs cages, les animaux peuvent accéder à deux bouteilles contenant de l'eau pour l'une et pour la seconde une solution sucrée (saccharose) (**Fig. 16**) (**Papp et al., 1991; Willner et al., 1992**).

Le test se fait sur une durée de 3 jours :

- 1^{er} jour : deux bouteilles contenant une solution de saccharose à 10 % sont mises à la disposition des rats, sans nourriture ;
- 2^{ème} jour : les rats disposent de deux bouteilles d'eau et de nourriture ;
- 3^{ème} jour: deux bouteilles contenant de l'eau pour l'une et pour la seconde une solution sucrée (saccharose à 1%), sont mises à la disposition des rats durant 1 heure, puis elles sont retirées.

La consommation d'eau et de saccharose est déterminée par la pesée des bouteilles avant et après le test.

Préférence sucrée = [Consommation de l'eau sucrée sucrose/ Consommation de l'eau sucrée sucrose + eau douce] X100.



Figure 16. Test de préférence au sucrose.

II.8. Suivi du poids des rats

Les rats sont pesés tous les 10 jours. Les résultats sont exprimés en tant que différence de poids (g) entre la première pesée (to) et le moment où ils sont pesés.

Gain de poids corporel (g) = poids final – poids de départ.

II.9. Les prélèvements sanguins

Les prélèvements sanguins se font par ponction rétro orbitaire pour les rats de tous les lots. Les échantillons sanguins sont recueillis grâce à des tubes capillaires dans des tubes à EDTA et feront l'objet d'une formule de numération sanguine (FNS).

II.10. Dissection et prélèvement des organes

Les rats ont été sacrifiés sous une légère anesthésie à l'éther. L'animal est fixé en décubitus dorsal, une incision est pratiquée depuis l'orifice urogénital jusqu'au manubrium sternal (**Fig.17**). Les organes (testicules, rate et surrénales) sont délicatement prélevés et pesés au moyen d'une balance de précision. En outre, le cerveau est rapidement prélevé sous glace à l'aide de pinces fines. Les testicules, la rate et les surrénales sont fixés au Formol dilué (10%) pour la réalisation des coupes histologiques.

Le poids relatif de l'organe = poids de l'organe x 100/ poids de l'animal.



Figure 17. Dissection

II.11. Etude histologique

La réalisation des coupes histologiques a été effectuée au niveau du Laboratoire d'anatomie pathologique de l'Hôpital de Bordj Bou Arreridj et sont lisez par le Docteur Benbachr Faycal.

Les organes prélevés sur les rats des différents lots, conservés dans du Formol, ont fait l'objet de coupes histologiques. La technique histologique utilisée est celle décrite par **Martoja et Martoja (1967)**.

- **Fixation**

La fixation représente le moment essentiel de la technique histologique. Elle a pour but d'immobiliser les structures en respectant leur morphologie et en les conservant. Le fixateur utilisé est le formol à 10%. L'utilisation de ce fixateur a pour avantage de durcir l'échantillon étudié sans le contracter et de ce fait sans l'abimer.

- **Déshydratation**

Une fois le fixateur éliminé par un rinçage à l'eau distillée, la déshydratation est réalisée dans un automate qui immerge les échantillons successivement dans:

- ✓ 5 packs d'Alcool à 100% pendant 1h 30min ;
- ✓ 1 pack d'Alcool à 100% durant 2 h;
- ✓ 3 pack de Xylène pendant 1 h 30 min ;
- ✓ 1 pack vide de 15 min ;
- ✓ 2 packs de paraffine chauffée à 70°C durant 1 h 30 min.

Les pièces sont ensuite placées à l'étuve pour laisser s'évaporer progressivement le xylène. La durée de la déshydratation est de 17 heures.

- **Inclusion**

Les pièces sont immergées dans de la paraffine fondue dans une étuve pendant 8 heures. Les blocs sont congelés immédiatement pour faire les coupes (**Fig. 18**).

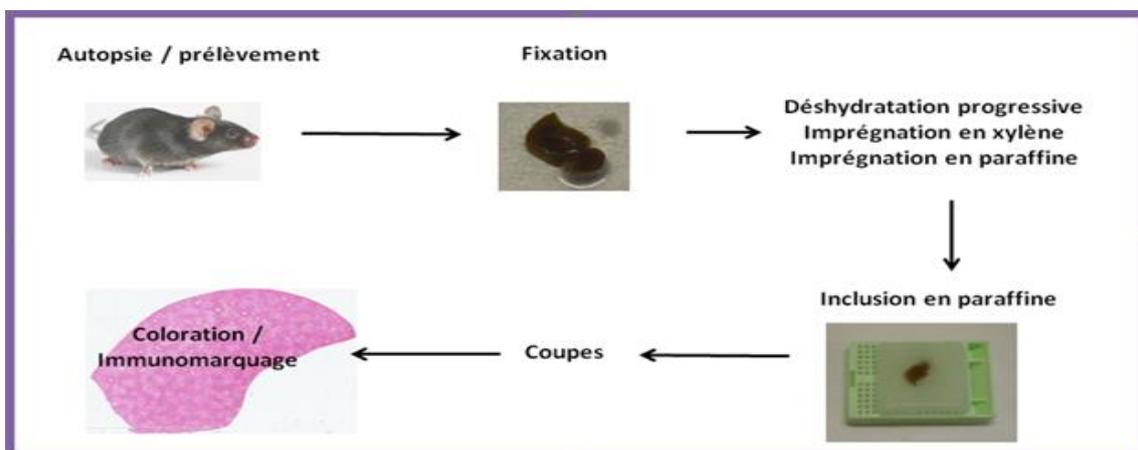


Figure 18. Etapes de la réalisation des coupes histologiques.

- **Confection des coupes**

Les blocs de paraffine sont préalablement dégrossis avant de subir la coupe au microtome (GTU. Tissue-Tek) d'une épaisseur de 4µm. Les pièces incluses doivent être débitées en coupes aussi fines et régulières que possible.

Les coupes sont mises dans de l'eau froide (10 °C) et ensuite collées sur des lames préalablement recouvertes de gélatine, puis au bain-marie. Les lames sont placées sur une plaque chauffante afin de déplier le ruban de coupe avant d'être placées à l'étuve à 37 °C pendant 17 à 20 h. Après refroidissement, on procède à la coloration.

- **Coloration**

Il existe plusieurs techniques de coloration qui varient en fonction des tissus. La méthode à l'Hématoxyline et à l'Eosine (H E) est la plus utilisée à cause de la distinction qui peut être faite entre le cytoplasme et le collagène: le cytoplasme apparaît en rose, tandis que le collagène se colore en jaune orange.

Solution :

- 8 packs de xylène : 2 min.
- 3 packs d'Alcool : 2 min.
- 1 pack d'eau courante : 2 min.
- 1 pack d'hémalum d'Harris : 2 min.
- 1 pack d'eau courante : 2 min.
- 1 pack d'eau ammoniacale : 2 min.
 - Eau distillée: 1000ml
 - Ammoniaque: 2ml
 - 1 pack d'éosine : 20 min.
 - 1 pack d'eau courante : 2 min
 - 4 packs d'Alcool : 2 min.
- 4 packs de Xylène : 2 min.

- **Montage**

Le montage lame-lamelle se fait en déposant une goutte résine de montage (Eukit) sur la lame, une lamelle est appliquée de façon à ce que la résine recouvre l'ensemble de la coupe. Les lames sont placées sur une hotte pour le séchage, avant d'être observées au microscope.

II.12. Etude statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne plus ou moins écart-type ($m \pm s$) et illustrés par des tableaux et figures. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel statistique Graph Pad Prism 7 pour Windows. Les résultats sont soumis à une analyse de la variance ANOVA1, suivie par le test Tukey. Ils sont considérés comme étant significatifs à $p < 0,05$.

3^{ème} partie :

Résultats

III. Résultats

III.1. variation du poids corporel moyen

Le poids corporel moyen (g) des rats mâles des différents lots expérimentaux est donné dans la **figure 19**.

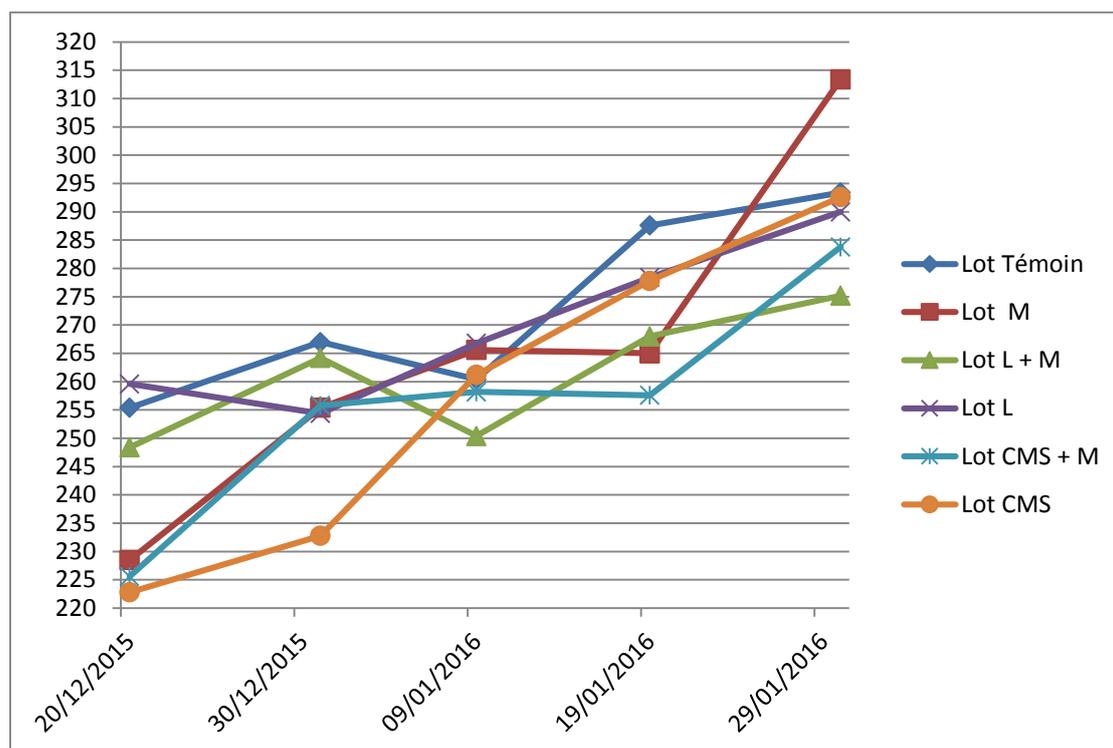


Figure 19. Evolution du poids corporel moyen (g) chez les rats mâles des différents lots expérimentaux (n= 5).

Pour les rats mâles, il y a une augmentation progressive du poids corporel moyen avec le temps, chez tous les lots. Le lot traité à l'extrait d'algue (M) montre un poids corporel moyen plus élevé suivi par le lot Témoin.

Le poids corporel le plus faible est enregistré chez le lot L+M (ligaturé traité par l'extrait d'algue), suivis par lot CMS+ M.

Chez les femelles, le poids corporel moyen (g) pour les mêmes lots que les rats mâles, est présenté dans la **figure 20**.

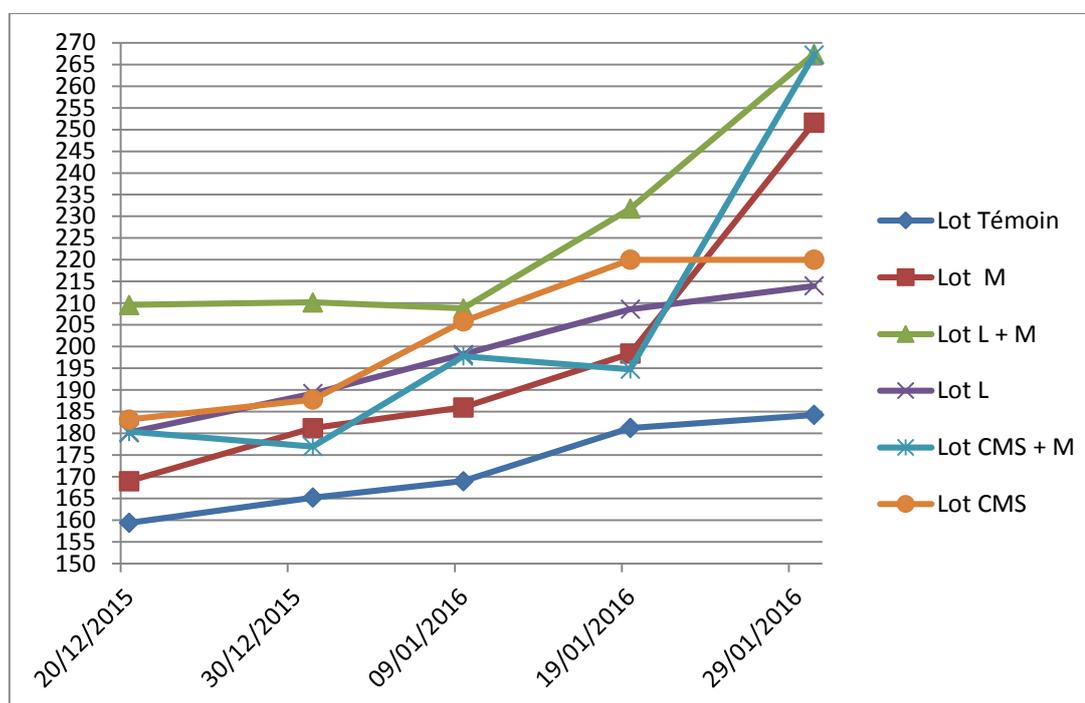


Figure 20. Evolution du poids corporel moyen (g) chez les rats femelles des différents lots expérimentaux (n=5).

Durant les 37 jours d'expérimentation chez les rats femelles des lots expérimentaux, on a remarqué que l'évolution pondérale a augmenté avec le temps pour tous les lots. Le poids corporel le plus faible est enregistré pour les rats du lot Témoin. Le lot L+M montre un poids corporel plus élevé, suivi par le lot CMS+M (**Fig. 20**). Le poids corporel pour le lot L est le plus.

L'estimation du poids corporel a montré une augmentation pour les lots ligaturés (ligature du nerf sciatique) par rapport aux lots du CMS.

III.2. Gain de poids corporel chez les rats

La variation du gain du poids des rats mâles de tous les lots expérimentaux a montré que chez le lot CMS il est le plus élevé par rapport aux autres lots, et présente une différence hautement significative comparativement au lot T ($P < 0,01$), suivi par le lot traité à l'extrait d'algue (M) qui a montré une différence non significative vis-à-vis du lot Témoin ($P < 0,05$).

L'estimation du gain du poids a montré une réduction pour le lot stressé biologiquement (ligature du nerf sciatique). Cette diminution reste cependant non significative par rapport au lot T ($P < 0,05$). De plus, l'analyse statistique de l'ANOVA à un critère de

classification a indiqué un effet hautement significatif entre les deux types de stress ($P < 0,01$). Ceci montre que le stress psychologique et l'extrait d'algue seul provoque une augmentation du gain de poids corporel (**Fig. 21**).

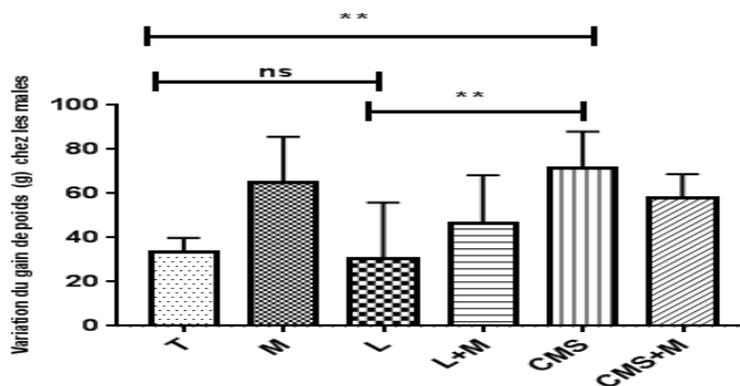


Figure 21. Variation de gain de poids (g) chez les rats mâles des lots expérimentaux (n=5): (ns) non significatif ($P < 0,05$), (*) significatif ($P < 0,05$), (**) hautement significatif ($P < 0,01$).

Chez les femelles, il apparait une augmentation du gain du poids pour tous les lots par rapport au Témoin. Le traitement par l'extrait d'algue (lot M) provoque une augmentation très hautement significative du gain du poids par rapport au lot Témoin ($P < 0,001$), et une augmentation chez les lots stressés et traités (CMS+M vs L+M) ; cette augmentation est hautement significative entre les deux lots ($P < 0,01$). Nous avons également constaté un effet non significatif du CMS et ligature de nerf sciatique sur le gain de poids CMS et L ($P < 0,05$). Ceci montre que l'extrait d'algue stimule l'augmentation du gain de poids (**Fig. 22**).

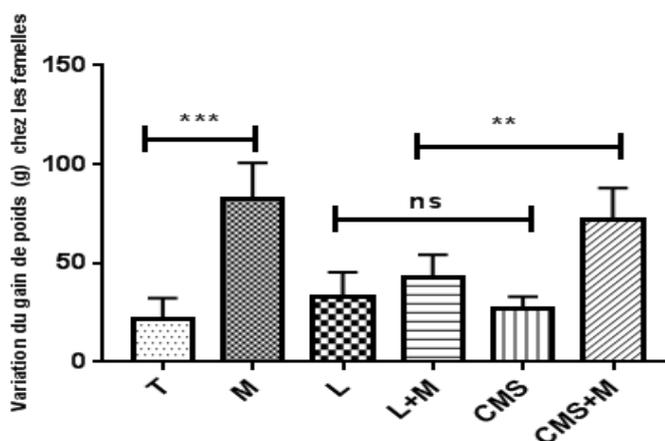


Figure 22. Variation du gain de poids corporel moyen (g) chez les femelles des lots expérimentaux (n=5): (ns) non significatif ($P < 0,05$), (**) hautement significatif ($P < 0,01$), (***) très hautement significatif ($P < 0,001$).

III.3. Poids relatif moyen des organes

D'après nos résultats, on remarque que le poids relatif de la rate a augmenté chez tous les lots comparativement au lot Témoin, le poids relatif de la rate le plus élevé est enregistré chez les lots traités par l'extrait d'algue M, CMS+M et L+M, avec une différence hautement significative entre les lots : M vs T ($P<0,01$) et une différence très hautement significative chez lot L+M vs T, et lot CMS+M comparativement au lot T ($P<0,001$). Nous avons remarqué également que la différence est non significative entre le lot L+M et CMS+M ($P<0,05$). Ceci indique que l'extrait d'algue et le stress (biologique et psychologique) provoquent une augmentation du poids relatif de la rate. Ce phénomène est défini par la splénomégalie.

Le poids des surrénales le plus élevé se rencontre chez les lots : M et CMS+M, l'ANOVA à un critère de classification a montré que la différence entre les lots n'est pas significative ($P<0,05$). Le poids de cerveau le plus élevé a montré chez lot de l'extrait d'algue M, suivi par le lot Témoin. Statiquement, ces différences entre les lots aussi ne sont pas significatives ($P<0,05$). Le poids relatif des testicules est plus élevé chez le lot L+M par rapport aux autres lots. Le poids relatif des testicules le plus faible est observé chez le lot CMS+M. L'analyse statistique de ces résultats ne montre aucune différence significative ($P<0,05$). Ce qui traduit que le stress et l'extrait d'algue ne montrent aucun effet sur le poids des testicules (**fig. 23**).

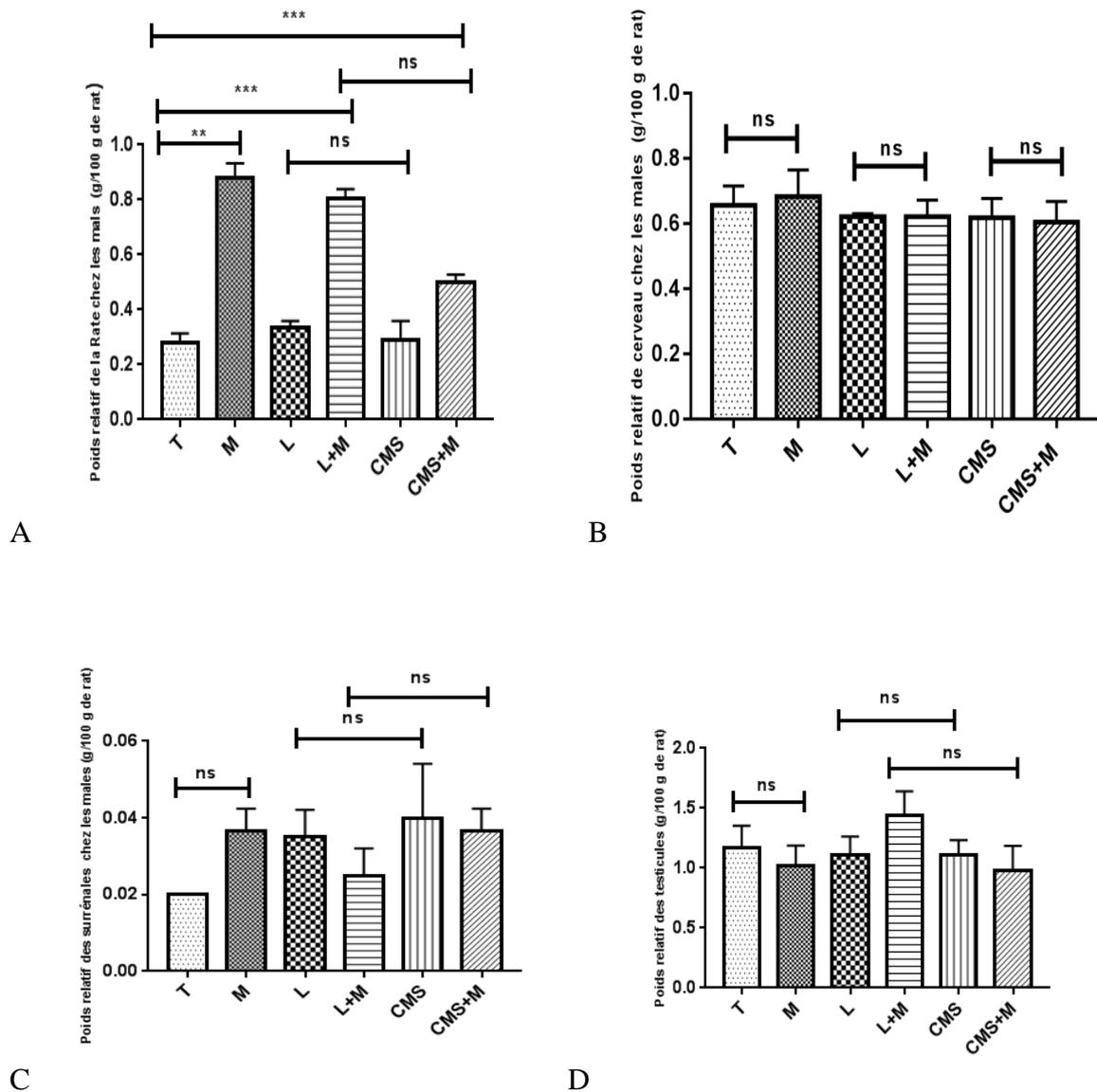


Figure 23. Poids relatif moyen des organes chez les rats mâles des lots expérimentaux (n=5) (g/100g de rat) : poids relatif de la rate (A), poids relatif du cerveau (B), poids relatif des surrénales (C), poids relatif des testicules (D) : (ns) non significatif ($P < 0,05$), (*) significatif ($p < 0,05$), (**) hautement significatif ($p < 0,01$), (***) très hautement significatif ($p < 0,001$).

Chez les femelles, le poids relatif moyen des organes (g/100g de rat) des animaux des lots expérimentaux est illustré dans **la figure 24**.

D'après ces résultats, nous remarquons que le poids de la rate le plus élevé se situe chez le lot M. La différence étant très hautement significative entre les lots: T vs M ($P < 0,001$), l'augmentation apparaît aussi chez les lots soumis à un stress et traités par l'extrait d'algue (CMS+M vs L+M) mais d'une manière non significative entre eux ($P < 0,05$). Ainsi,

nous n'observons pas de différence significative entre les lots L vs CMS. Ce qui indique que l'extrait d'algue seul stimule l'augmentation du poids de la rate.

Les résultats présentent un changement léger du poids des surrénales entre les lots. Le poids relatif des surrénales est plus faible chez le lot CMS+M. L'analyse statistique a montré une différence non significative ($P < 0,05$) entre tous les lots : T vs M, T vs L, T vs CMS, L vs CMS. Ceci indique que l'extrait d'algue et le stress ne montrent aucun effet sur les rats. Nos résultats montrent aussi que le poids du cerveau le plus élevé se manifeste chez le lot Témoin, suivi par le lot CMS qui ne sont pas statistiquement significatifs ($P < 0,05$). En revanche, la combinaison entre le CMS et l'extrait d'algue provoque une réduction significative du poids des surrénales chez les lots T vs CMS+M et une différence significative entre T vs L+M ($P < 0,05$) (Fig. 24).

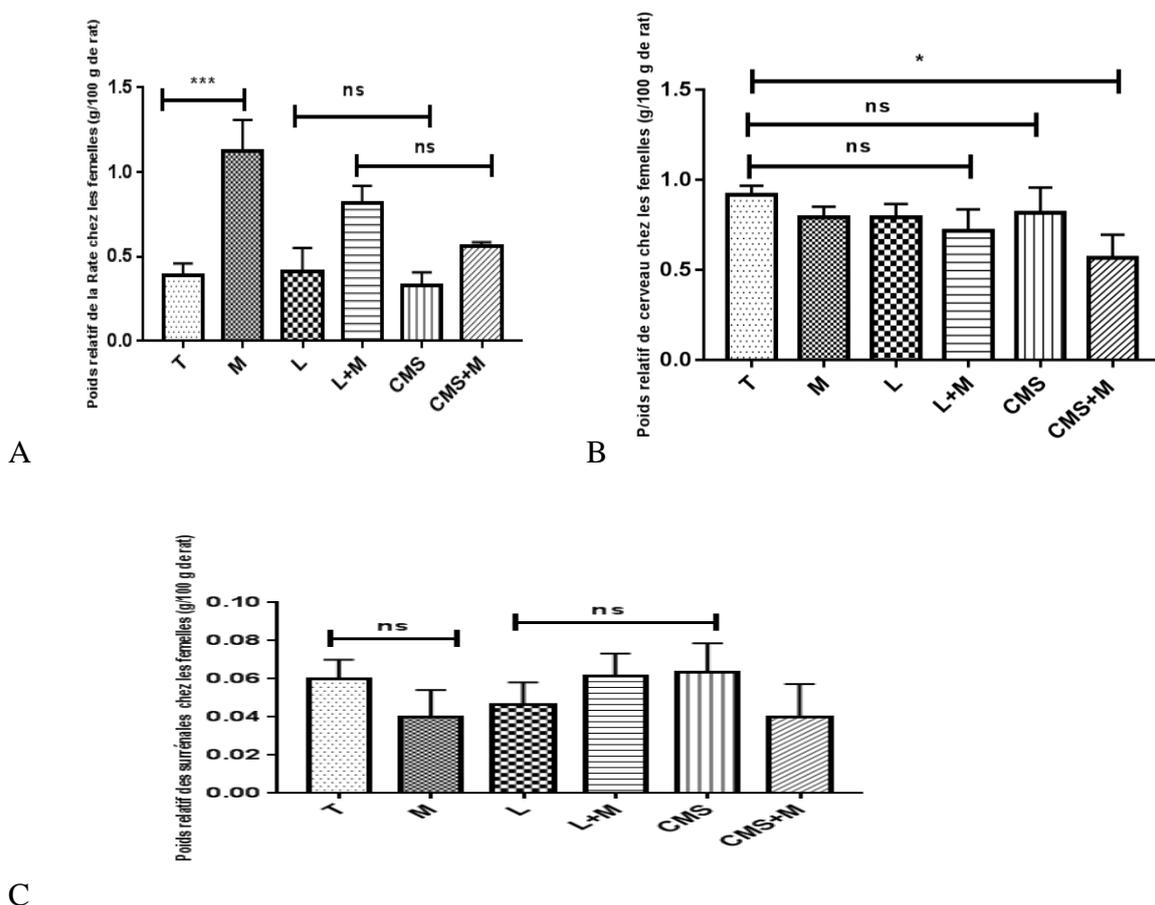


Figure 24. Poids relatif moyen des organes chez les rats femelles des lots expérimentaux (n=5) (g/100g de rat) : poids relatif de la rate (A), poids relatif du cerveau (B), poids relatif des surrénales (C) : (ns) non significatif ($P < 0,05$), (*) significatif ($P < 0,05$), (**) hautement significatif ($P < 0,01$), (***) très hautement significatif ($P < 0,001$).

III.4. Analyse des paramètres hématologiques

Chez les males :

D'après nos résultats, les leucocytes totaux sont augmenté d'une manière très hautement significative ($P < 0,001$) chez le lot ligaturé et traité par l'extrait d'algue (L+M) par rapport au lot Témoin (T) et le lot M, et d'une manière non significative chez le lot CMS+M vis-à-vis du lot CMS ($P < 0,05$). D'autre part, le lot traité à l'extrait d'algue ne montre aucune différence significative ($P < 0,05$) par rapport aux autres lots, c'est-à-dire que le stress et le traitement par l'extrait d'algue donne une réponse immunitaire importante.

Nos résultats montrent que le taux de lymphocytes a diminué chez le lot M par rapport au lot Témoin, mais cette différence n'est pas significative ($P < 0,05$). Les lots soumis à un stress sans traitement et les lots traités par l'extrait d'algue (CMS+M ; L+M) présentent une augmentation très hautement significative par rapport au lot M ($P < 0,001$). Ceci indique que le stress induit une augmentation du taux de lymphocytes. Concernant les granulocytes, nous avons remarqué une augmentation du taux de granulocytes chez le lot L+M par rapport au lot Témoin. Ce dernier a révélé le taux le plus faible. Cette augmentation pour le lot L+M présente une différence hautement significative ($P < 0,01$) comparativement au lot L, et une augmentation hautement significative chez le lot CMS+M par rapport au lot CMS ($P < 0,01$). D'autre part, nous avons observé une différence non significative entre le lot M et le lot T ($P < 0,05$). Les résultats statistiques du taux de globules rouges montrent une diminution hautement significative chez le lot M par rapport au lot T ($P < 0,05$). En plus, les lots stressés sans traitement ne présentent aucune différence significative entre eux (L vs CMS) ($P < 0,05$), alors que les lots traités par l'extrait d'algue montrent une réduction hautement significative comparativement au lot T ($P < 0,01$) (CMS+M ; L+M vs T). Ceci veut dire, que l'extrait d'algue provoque une diminution du taux de globules rouges. Le taux de plaquettes sanguine augmente de manière très hautement significative entre le lot M et le lot témoin ($P < 0,001$). Lorsque le traitement est absent, les lots stressés présentent une différence non significative ($P < 0,05$): (CMS ; L). Concernant les lots traités par l'extrait d'algue, le lot L+M montre une différence significative ($P < 0,05$) avec le lot M et une différence non significative ($P < 0,05$) entre le lot CMS+M et le lot M. Ceci indique que le stress (biologique et psychologique) n'a aucun effet chez l'organisme. Par contre l'extrait d'algue provoque une augmentation du taux de plaquettes (**Fig. 25**).

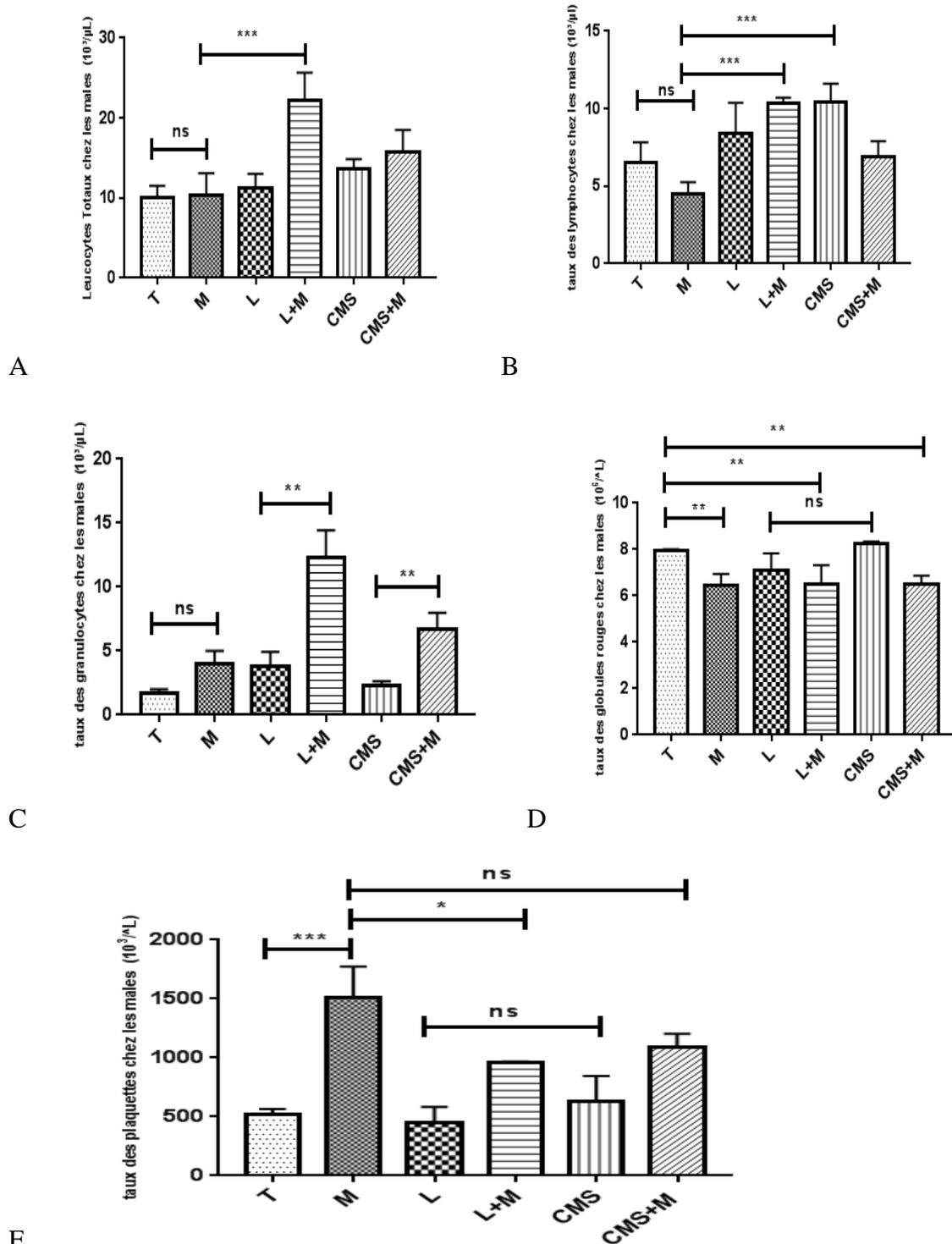


Figure 25. Résultats de la FNS chez les rats mâles des lots expérimentaux (n=5): taux de leucocytes (A), taux de lymphocytes (B), taux de granulocytes (C), taux de globules rouges (D), taux de plaquettes (E) : (ns) non significatif (P<0,05), (*) significatif (P<0,05), (**) hautement significatif (P<0,01), (***) très hautement significatif (P<0,001).

Chez les femelles :

D'après les résultats statistiques du taux de leucocytes (GB), nous avons observé une différence non significative ($P < 0,05$) entre les lots : (T vs M) ; (L vs CMS). Ceci montre que le stress n'induit aucune réponse immunitaire, alors que les lots stressés et traités par l'extrait d'algue montrent une augmentation très hautement significative entre le CMS+M et le CMS ($P < 0,001$) et une augmentation hautement significative entre L et L+M ($P < 0,01$). Nous pouvons constater que la combinaison du stress avec l'extrait d'algue provoque une réponse immunitaire chez l'organisme. Concernant le taux de lymphocytes, nous remarquons que le taux le plus élevé est enregistré chez le lot CMS qui augmente d'une manière hautement significative (CMS vs CMS+M). ($P < 0,01$), alors que la différence entre les autres lots est non significative ($P < 0,05$).

D'après l'analyse de la variance, nous constatons aussi une augmentation très hautement significative ($P < 0,001$) du taux de granulocytes chez les lots L+M et CMS+M par rapport au lot Témoin. Cependant, le lot M manifeste une augmentation hautement significative par rapport au lot Témoin ($P < 0,01$). Les lots stressés montrent une différence non significative entre eux (CMS vs L) ($P < 0,05$). Donc, le traitement des rats stressés par l'extrait d'algue produit une réponse immunitaire chez l'organisme expliqué par l'augmentation du taux de granulocytes.

En outre, nous observons une diminution du taux de globules rouges chez le lot M comparativement au lot T, mais cette diminution n'est pas significative ($P < 0,05$). Pour les lots stressés, il apparaît une différence non significative par rapport au lot Témoin (T vs L ; CMS). En parallèle, les lots CMS+M et L+M présentent une réduction non significative entre eux ($P < 0,05$), et une diminution non significative entre les lots ligaturés (L vs L+M) et significative entre les (CMS+M vs CMS) ($P < 0,05$). Cela nous amène à déduire que la combinaison entre le stress et le traitement par l'extrait d'algue M a un effet négatif sur le taux de globules rouges circulants.

Nos résultats concernant le taux des plaquettes indiquent une augmentation hautement significative chez le lot M par rapport au lot T (M : $1258,33 \pm 215,52$ vs T : $549,00 \pm 42,93$). Par ailleurs, chez les lots stressés sans traitement, le lot L a montré une déplétion hautement significative ($P < 0,01$) comparativement au lot M et une différence non significative entre le lot M et le lot CMS ($P < 0,05$).

En comparant les taux de plaquettes chez les lots stressés, nous avons observé une différence hautement significative entre CMS et L ($P < 0,01$) (**Fig. 26**).

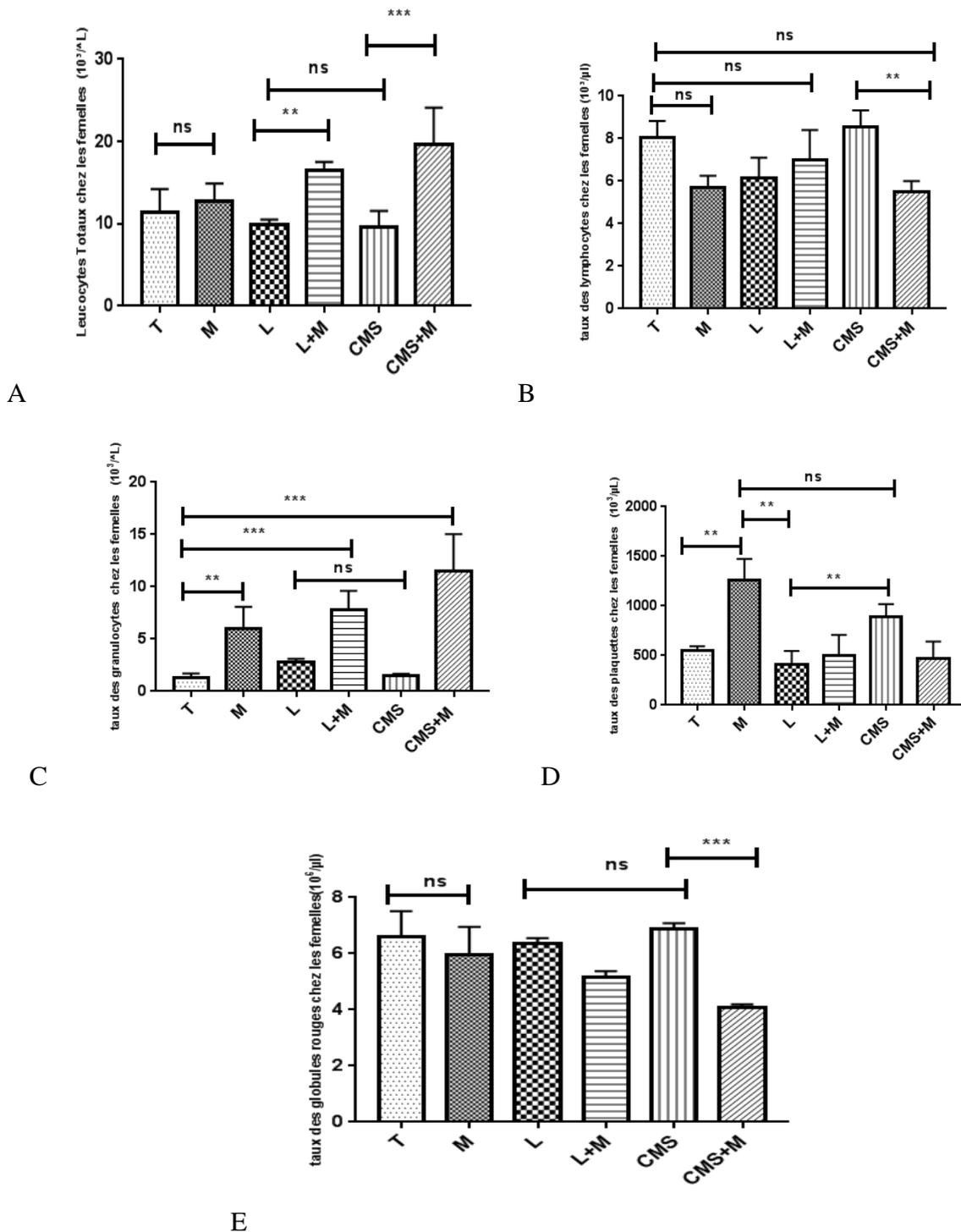


Figure 26. Résultats de la FNS chez les rats femelles des lots expérimentaux (n=5): taux de leucocytes (A), taux de lymphocytes (B), taux de granulocytes (C), taux de globules rouges (D), taux de plaquettes (E) : (ns) non significatif ($P < 0,05$), (*) significatif ($P < 0,05$), (**) hautement significatif ($P < 0,01$), (***) très hautement significatif ($P < 0,001$).

III.5. Test du saccharose

Les résultats du test de la préférence sucrée chez les rats mâles des différents lots expérimentaux sont présentés dans le **Tableau IV**.

Tableau IV. Résultats du test de saccharose chez les rats mâles des lots expérimentaux (n=5).

Lots	T	M	L	L+M	CMS	CMS+M
Consommation de saccharose (%)	96%	8%	71%	50%	50%	93,75%

Nos résultats montrent une augmentation de la consommation de saccharose chez le lot Témoin (96%), et une réduction chez les rats du lot M (8%). Ce taux de consommation est également important chez le lot L (71%) alors que les rats du lot CMS ont consommé moins de saccharose que les rats du lot L (50%). Ceci indique que le stress (CMS et douleur chronique) provoque la diminution de la consommation de saccharose.

En revanche la consommation de saccharose pour le lot CMS+M est plus élevée (93,75%) par rapport au lot M et CMS, ce qui signifie qu'il y a une réparation par la combinaison entre les deux : CMS et traitement à l'extrait d'algue.

Les résultats du test de saccharose chez les rats femelles des différents lots expérimentaux sont présentés dans le **Tableau V**.

Tableau V. Résultats du test de saccharose chez les rats femelles des lots expérimentaux (n=5).

Lots	T	M	L	L+M	CMS	CMS+M
Consommation de saccharose (%)	96%	95%	98%	100%	9,09%	25%

Chez le lot témoin et lot M, il y a une tendance vers une augmentation de la consommation de saccharose (T : 96%) (M : 95%).

La consommation de saccharose atteint les 100% chez le lot L+M, donc l'extrait d'algue fait une réparation très importante chez le lot ligaturé. Par contre, on remarque que le lot CMS a montré la plus faible consommation (9,09%), et le lot M ne montre aucune réparation importante (25%). On constate en outre que le CMS provoque une diminution de la consommation de saccharose.

III.6. Résultats de l'étude histologique

Dans le but de vérifier l'effet du stress et de l'extrait d'algue sur l'architecture tissulaire des organes, nous avons réalisé des coupes histologiques au niveau des testicules, de la rate et des surrénales chez les rats Wistar Témoins et traités.

III.6.1. Effet du stress et l'extrait d'algue sur les testicules

Les coupes histologiques réalisées sur les animaux Témoins montrent une architecture normale et conservée. Les cellules germinales sont dans l'ordre de la périphérie vers la lumière du tube séminifère, les spermatogonies, les spermatocytes I, les spermatocytes II, les spermatides et les spermatozoïdes (**Fig. 27**).

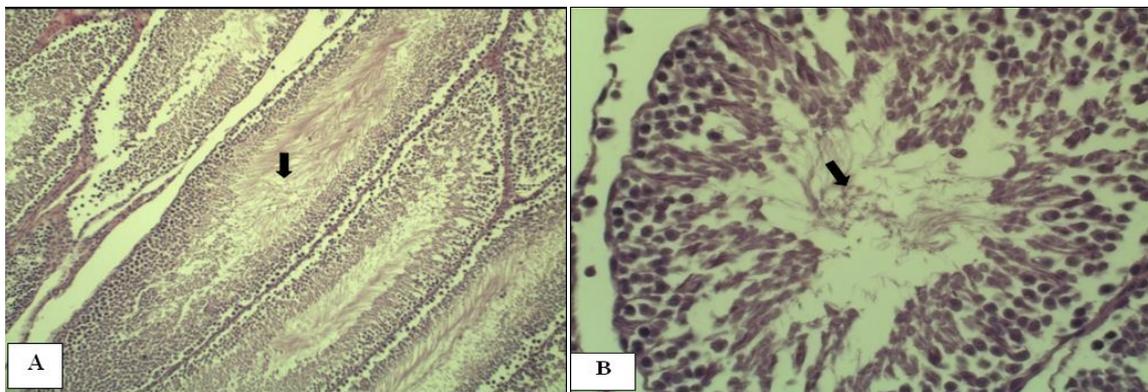


Figure 27. Observation au microscope optique des coupes histologiques des testicules des rats témoins G : x 10 (A) et G : x 40 (B). Spermatozoïdes (↓). (Coloration à H-E).

Par contre, l'observation microscopique des testicules des rats traités par l'extrait d'algue sans stress (lot M) montre une congestion et la spermatogénèse est inférieure à celle du Témoin (10% de moins de spermatogénèse) (**Fig. 28**).

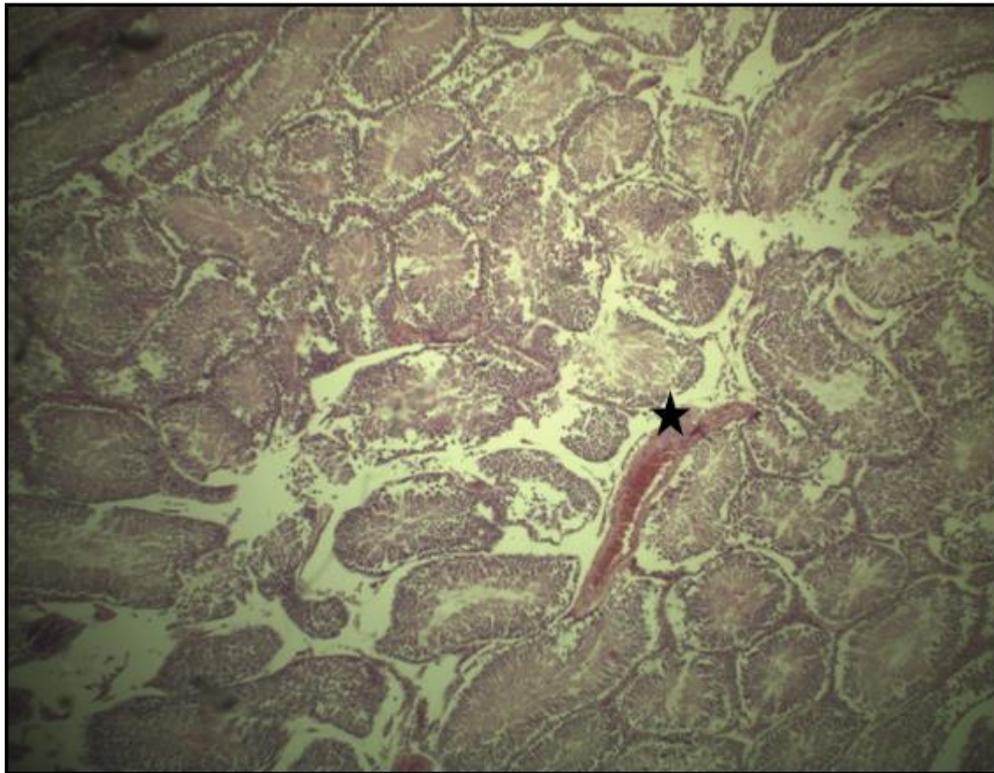


Figure 28. Observation au microscope optique des coupes histologiques des testicules des rats du lot M (G : x 4). Congestion (★). (Coloration à H-E).

De plus, l'analyse des coupes histologiques des rats stressés (CMS et L) sans traitement montre des altérations : la spermatogénèse est plus faible comparativement aux lots Témoin et M, chez le lot ligaturé (L). L'analyse présente une architecture plus ou moins conservée, une diminution de la spermatogénèse avec une inflammation périphérique chez le lot CMS (**Fig. 29**).

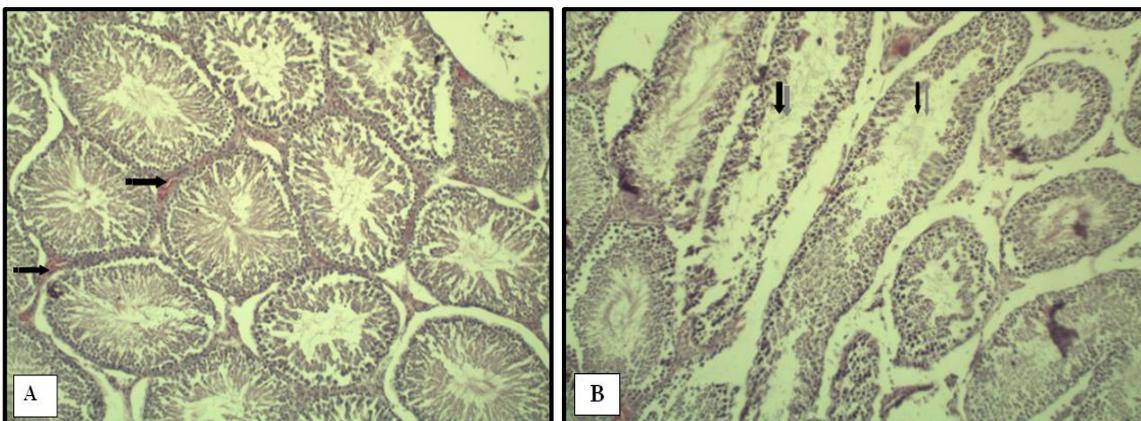


Figure 29. Observation au microscope optique des coupes histologiques des testicules de rat CMS (A) et de rat L (B) (Coloration à H-E, Gr x10). Diminution de la spermatogénèse (↓).

Chez les lots ayant subi un stress et traités par l'extrait d'algue, nous avons observé une spermatogénèse conservée (CMS+M et L+M), avec une réaction inflammatoire autour des testicules chez les animaux du lot CMS+M (**Fig. 30**).

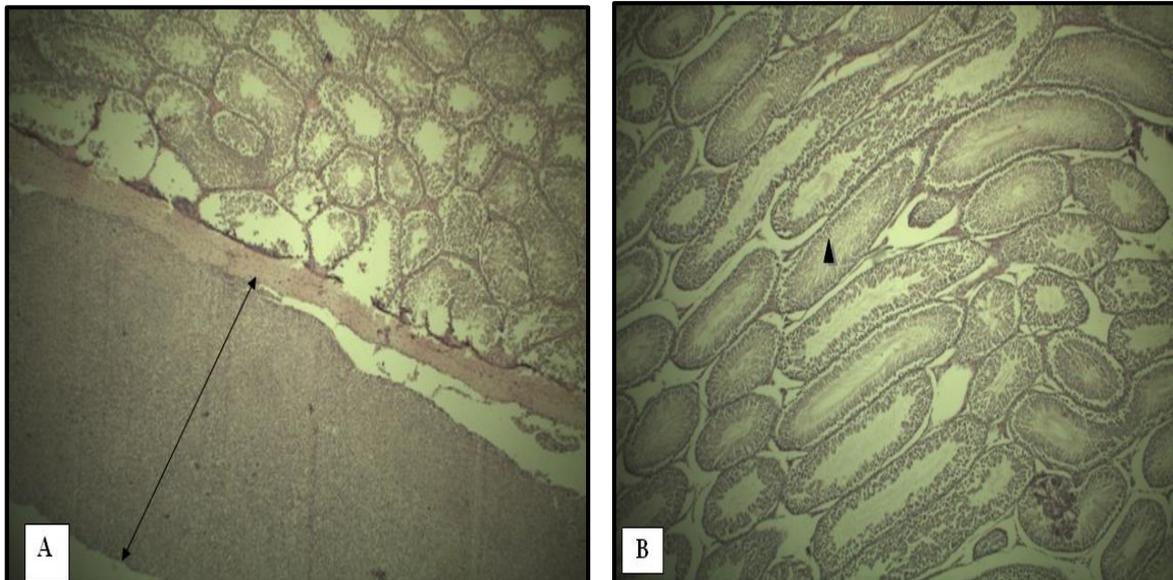


Figure 30. Observation au microscope optique des coupes histologiques des testicules de rat CMS +M (A) et de rat L+M (B) (Coloration à l'H-E, Gr: x10). Réaction inflammatoire: (↕) Spermatogénèse conservée : (▲).

III.6.2. Effet du stress et de l'extrait d'algue sur les surrénales

La **Figure 31** montre une vue générale des surrénales d'un rat témoin. On distingue la zone médullaire, la zone corticale et la capsule (une architecture normale) chez les mâles et les femelles.

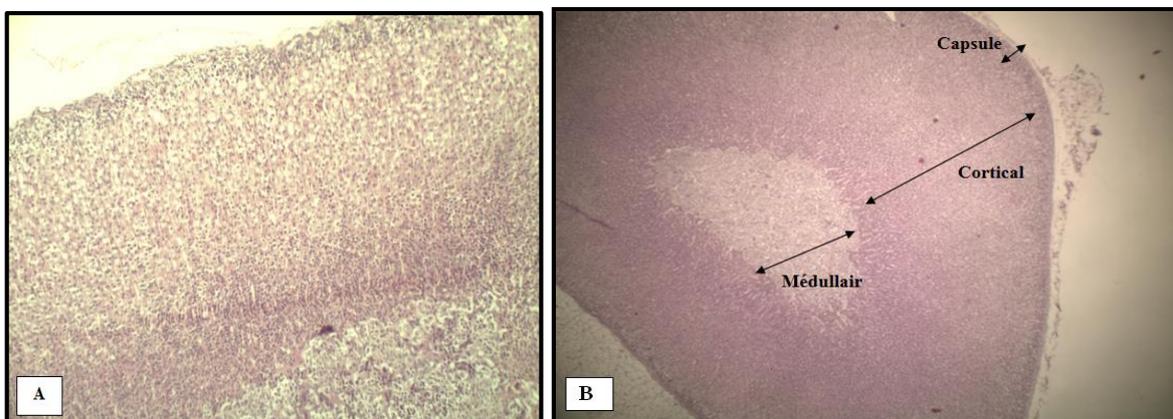


Figure 31. Observation au microscope optique des coupes histologiques des surrénales chez un rat Témoin (Coloration à l'H-E, A : Gr x10 ; B : Gr x4).

Par contre, le traitement à l'algue, chez lot M, a provoqué une congestion de la zone glomérulée, c'est-à-dire une hyper activité dans cette zone chez les deux sexes. Cependant, les coupes histologiques montrent une congestion chez les lots L et CMS, cette congestion étant plus importante chez les femelles que chez les mâles pour le lot CMS (**Fig. 32**).

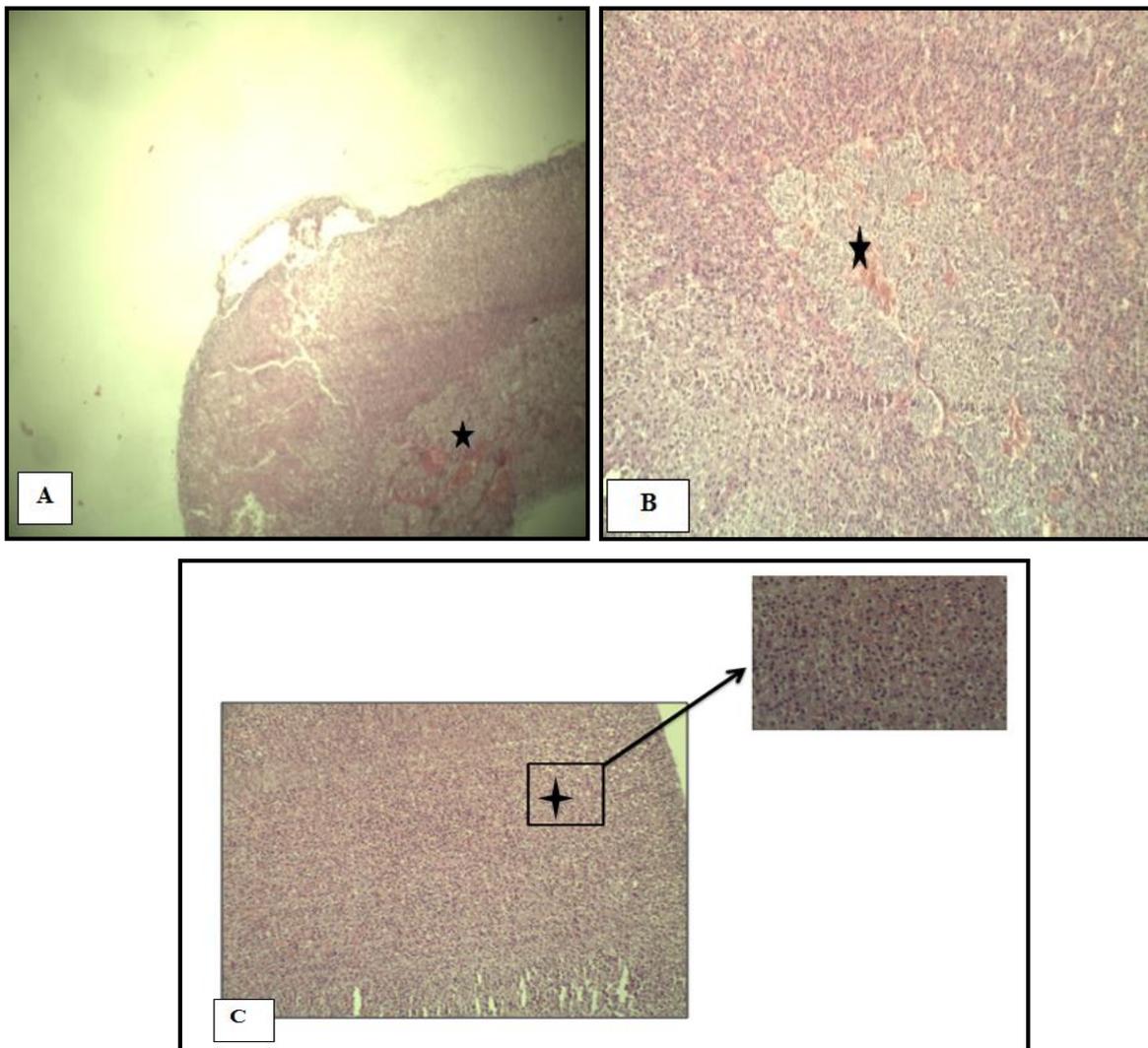


Figure 32. Observation au microscope optique des coupes histologiques des surrénales chez les rats CMS (A), L (B) (Gr x10), M (C) (Gr x40) (Coloration à l'H-E).

Zone glomérulée (✦) congestion : (★).

De plus, chez les animaux stressés aussi bien par CMS que par la ligature, et traités à l'extrait d'algue, on observe une congestion plus importante chez les femelles du lot L+M que chez les mâles. Par contre, chez le lot CMS on observe une inflammation périphérique chez les femelles et une congestion chez les mâles (**Fig. 33**).

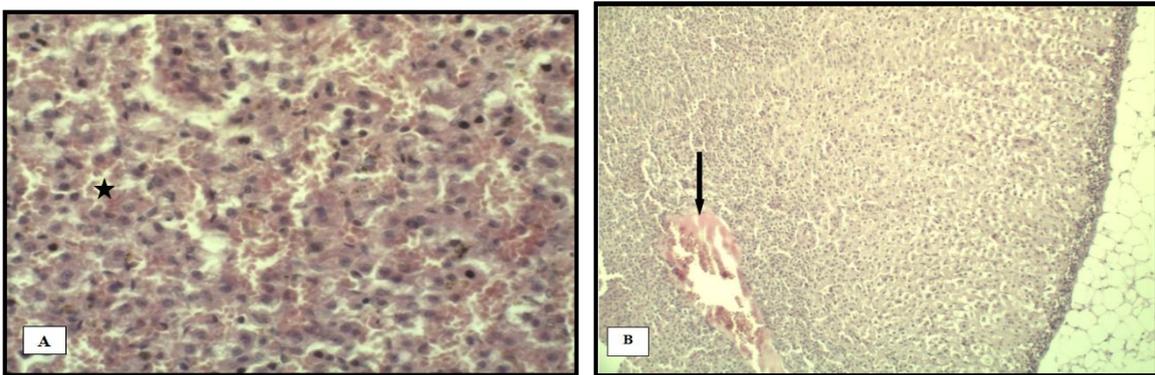


Figure 33. Observation au microscope optique des coupes histologiques des surrénales chez les rats L+M (A) Gr x 40) et les rats CMS+M (B) (Coloration à l’H-E, Gr x10). Congestion (★), inflammation (➡).

III.6.3. Effet du stress et de l’extrait d’algue sur la rate

L’observation microscopique réalisée sur coloration topographique des coupes histologiques de la rate révèle un aspect histologique et une taille normale de la pulpe rouge et la pulpe blanche chez les rats mâles et femelles du lot Témoin. Par contre, chez le lot M, l’analyse montre un granulome inflammatoire autour de la congestion de la pulpe blanche et une hyperplasie de pulpe blanche pour les mâles. Chez les femelles en revanche, on observe une congestion importante avec une réaction inflammatoire pré-capsulaire (**Fig. 34**).

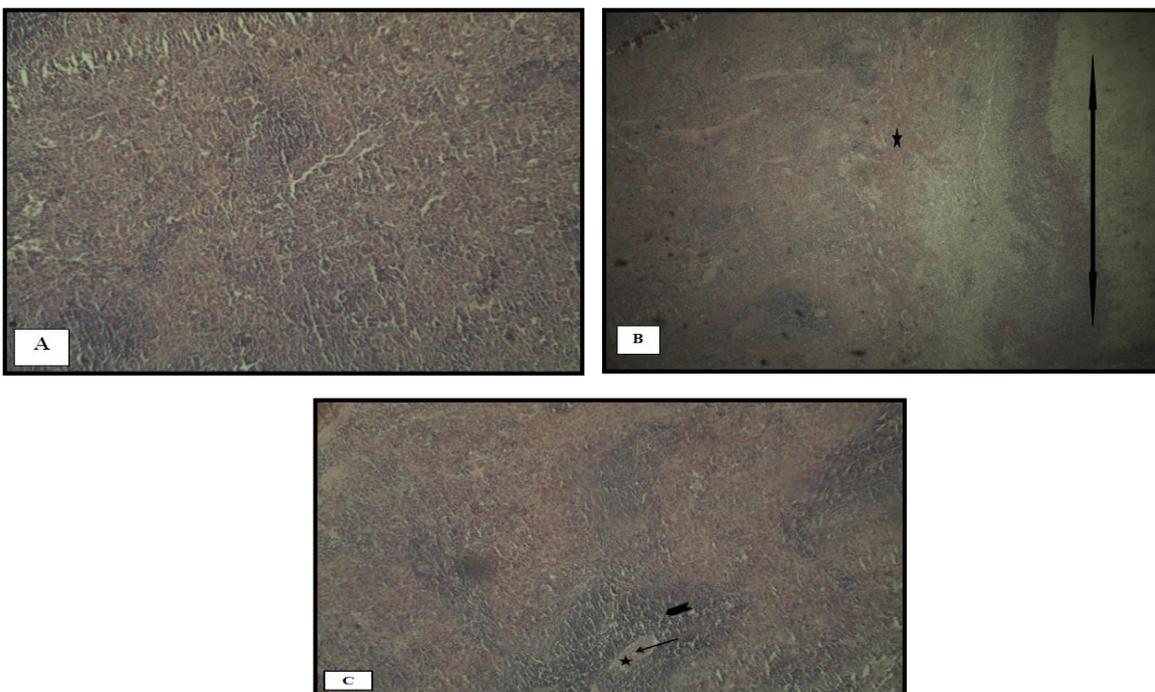


Figure 34. Observation au microscope optique des coupes histologiques de la rate chez les rats Témoins (A) (Gr x4) et les rats M (B) (Gr x40). Congestion (★), Inflammation pré-capsulaire (↔), Hyperplasie (➤), Granulome inflammatoire (↔). (Coloration à l'H-E).

De plus, les rats du lot ligaturé sans traitement montrent une congestion de la rate chez les mâles et les femelles, et les rats stressés par le CMS présentent une hyperplasie de la pulpe blanche chez les mâles et les femelles.

L'analyse des coupes histologiques des rats ligaturés et traités indique une congestion de la pulpe rouge et la pulpe blanche est conservée chez les deux sexes. D'autre part, chez les rats du lot CMS+M, on remarque une importante hyperplasie de la rate chez les mâles et les femelles (**Fig. 35**).

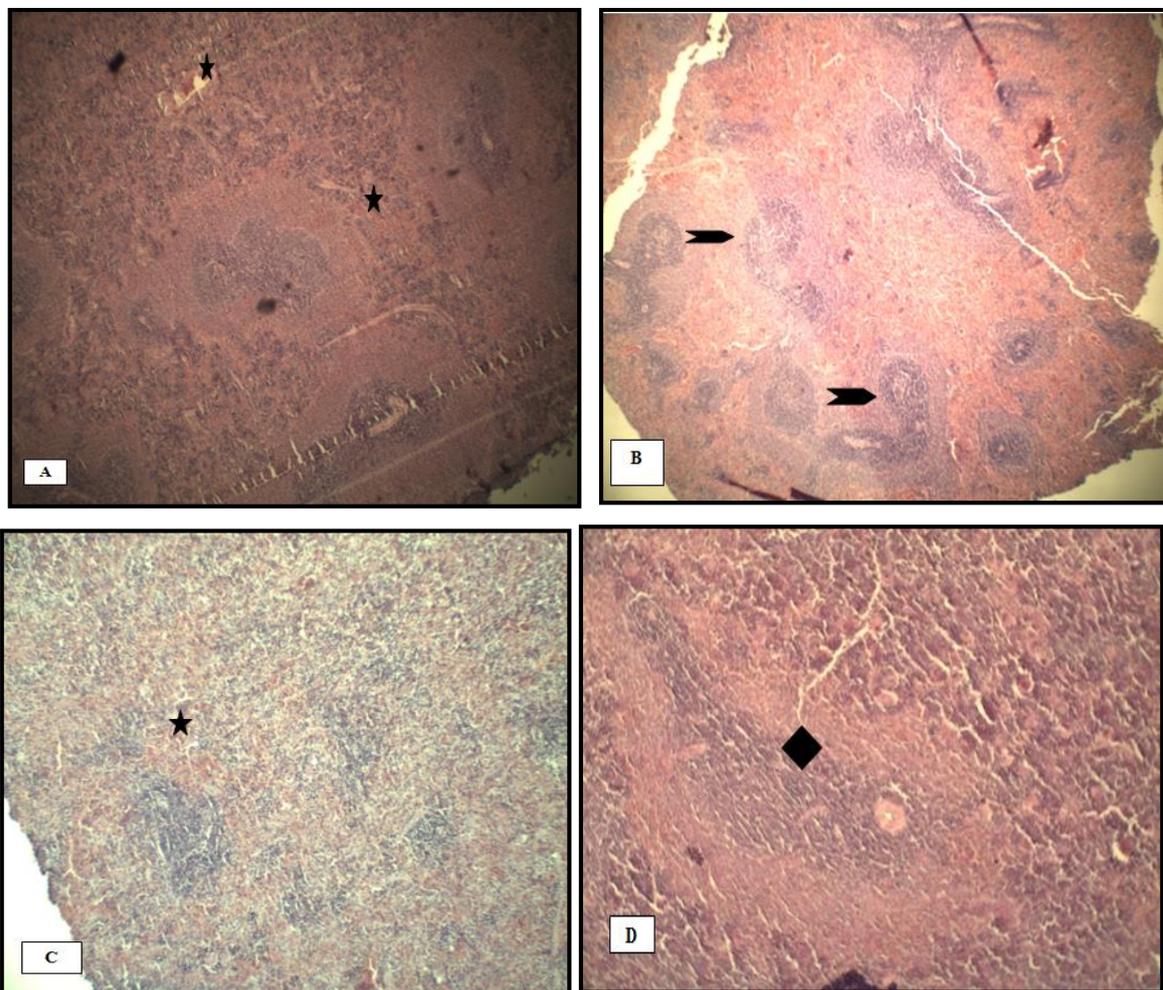


Figure 35. Observation au microscope optique des coupes histologiques de la rate chez les rats L+M (A) (Gr x40), les rats CMS (B) (Gr x 4) et les rats L (C) et CMS+M (D) (Gr x10). Hyperplasie (➤ ◆), Congestion (★). (Coloration à l'H-E).

III.7. Tests comportementaux

III.7.1. Nage forcée (Forced swimming test)

Chez les males

- **Temps d'immobilité**

La mesure du temps d'immobilité durant ce test a permis d'évaluer le niveau de dépression des rats. Le temps d'immobilité chez le lot CMS est plus élevé de manière hautement significative par rapport au lot L (CMS vs L) ($P < 0,01$). Le temps d'immobilité le plus bas est enregistré chez le lot M qui présente une différence très hautement significative ($P < 0,001$) par rapport au lot Témoin, se traduisant par une importante activité locomotrice chez le lot M.

Par ailleurs, l'analyse statistique montre une diminution très hautement significative de ce paramètre chez les lots stressés et traités par l'extrait d'algue CMS+M par rapport au lot CMS ($P < 0,001$). Par contre, le lot stressé par la ligature du nerf sciatique et traité L+M manifeste une différence non significative par rapport au lot L ($P < 0,05$). Ceci indique que le stress physiologique provoque une augmentation du temps d'immobilité comparativement à la ligature du nerf sciatique, c'est-à-dire que le CMS provoque une forte dépression, et que l'extrait d'algue fait une réparation avec le CMS uniquement.

- **Temps d'escalade**

D'après l'ANOVA1, nous avons constaté que le temps d'escalade montre une augmentation chez le lot M, et cette augmentation est très hautement significative comparativement au lot T ($P < 0,001$). D'autre part, le stress (CMS ; L) provoque une diminution du temps d'escalade d'une manière très hautement significative comparativement au lot M; ($P < 0,001$), mais d'une manière non significative entre eux (CMS vs L) ($P < 0,05$).

- **Temps de nage**

D'après nos résultats, il apparaît une augmentation du temps de nage chez les lots ligaturés, et une diminution très hautement significative chez le lot M par rapport au lot Témoin ($P < 0,001$). Les lots stressés et traités montrent une augmentation très hautement significative comparativement au lot M (CMS+M ; L vs M) (**Fig. 36**).

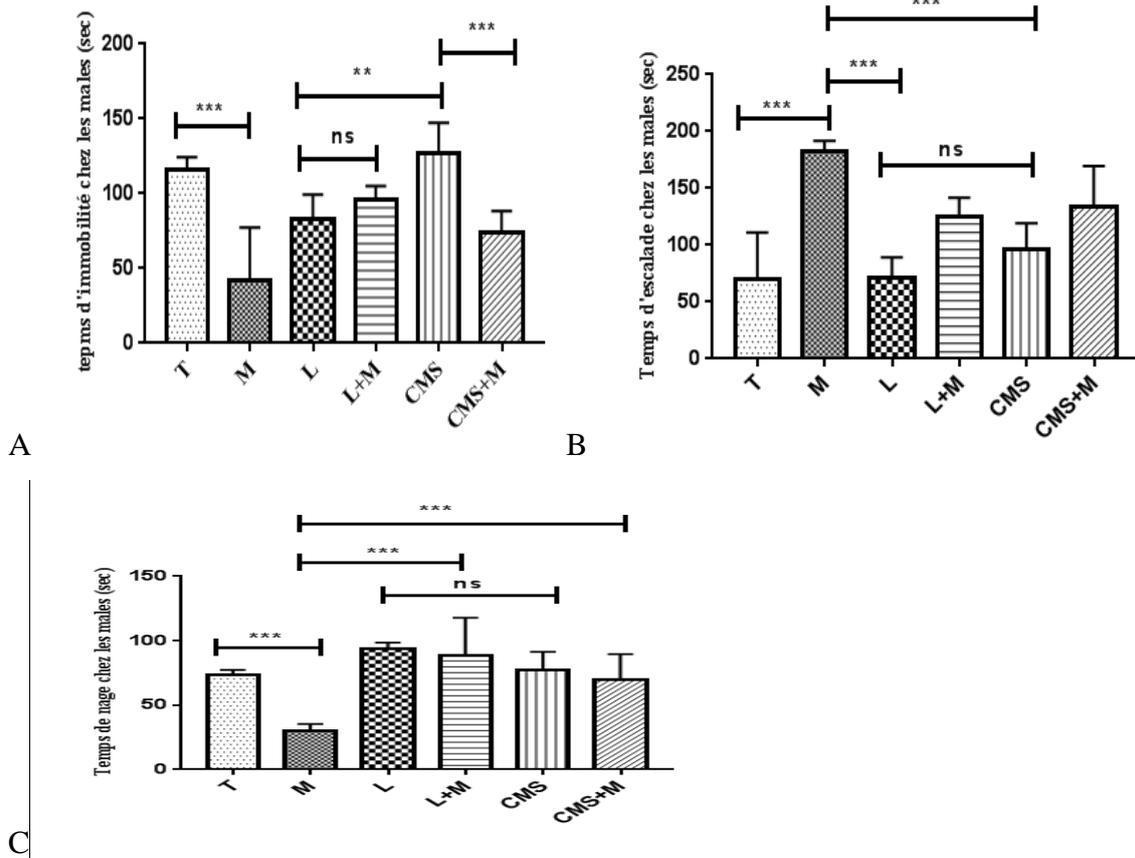


Figure 36. (A) Temps d'immobilité (sec), (B) Temps d'escalade (sec), (C) Temps de nage (sec) au test de la nage forcée chez les rats mâles (n=5) : (ns) non significatif ($P < 0,05$), (*) significatif ($P < 0,05$), (**) hautement significatif ($p < 0,01$), (***) très hautement significatif ($P < 0,001$).

Chez les femelles

- **Temps d'immobilité**

L'appréciation du temps d'immobilité chez les lots stressés (L et CMS) a montré une augmentation très hautement significative ($P < 0,001$) comparativement au lot, ce qui indique que le stress provoque une dépression chez les rats femelles. Le traitement par l'extrait d'algue diminue le temps d'immobilité, mais cette différence reste non significative statistiquement ($P < 0,05$) (L+M ; CMS+M).

- **Temps d'escalade**

Les résultats obtenus pour le temps d'escalade ont montré une augmentation hautement significative ($P < 0,01$) chez les lots M comparativement au lot T et une diminution chez les lots L et CMS d'une manière très hautement significative par rapport au lot M

($P < 0,001$). Cependant, il y a une différence très hautement significative ($P < 0,001$) entre le lot ligaturé et traité par l'extrait d'algue, et le lot ligaturé sans traitement (L+M vs L).

- **Temps de nage**

Concernant le temps de nage, nous avons observé une augmentation chez le lot L et cette augmentation est hautement significative comparativement au lot Témoin ($P < 0,01$). Par ailleurs, le CMS et le traitement par l'extrait d'algue provoque la diminution de temps de nage. Cette différence n'est pas significative par rapport au lot T ($P < 0,05$) (**Fig. 37**).

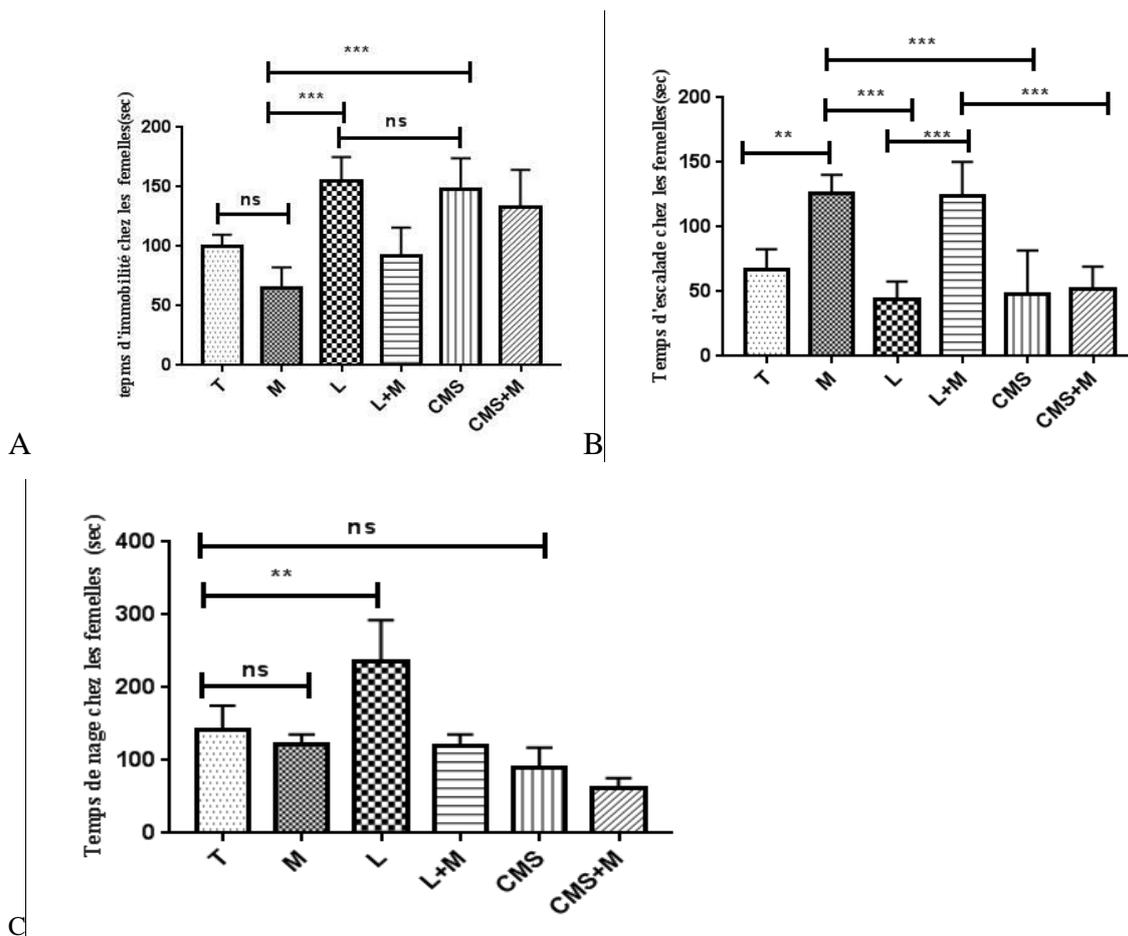


Figure 37. Test de la nage forcée chez les femelles (n=5): (A) Temps d'immobilité (sec), (B) Temps d'escalade (sec), (C) Temps de nage (sec) : (ns) non significatif ($P < 0,05$), (*) significatif ($P < 0,05$), (**) hautement significatif ($P < 0,01$), (***) très hautement significatif ($P < 0,001$).

III.7.2. Test des champs ouverts (Open field)

Le test des champs ouverts permet d'apprécier l'activité locomotrice (le nombre de cases traversées), exploratrice (nombre de redressements) et émotionnelle (anxiété) des rats.

Chez les mâles

D'après les résultats, les rats mâles qui passent le plus de temps dans la partie centrale sont les rats du lot M, cette différence étant très hautement significative ($P < 0,001$) par rapport aux autres lots. De plus, nous avons aussi constaté une différence très hautement significative ($P < 0,001$) entre les lots stressés (CMS vs L), avec une diminution chez le lot CMS + M comparativement au lot CMS sans traitement et une augmentation chez le lot ligaturé et traité L+M par rapport au lot ligaturé L, mais ces différences ne sont pas significatives statistiquement ($P < 0,05$) (CMS+M vs L+M).

Nos résultats montrent que le temps passé dans la partie périphérique est élevé chez tous les lots, sans différences significatives ($P < 0,05$) entre les lots. Concernant le nombre de redressements, nous avons constaté qu'il est plus élevé est marqué chez le lot T qui présente une différence très hautement significative avec le lot L ($P < 0,001$), et une différence non significative comparativement au lot CMS ($P < 0,05$). Le nombre de redressements le plus bas est enregistré chez les lots ligaturés (L, L+M). Statiquement, la différence entre le lot L et lot CMS est très hautement significative (CMS vs L) ($P < 0,001$). On remarque aussi que le traitement par l'algue provoque une diminution du nombre de redressements chez le lot M, cette diminution est hautement significative par rapport au lot T ($P < 0,01$).

L'analyse de nos résultats montre que l'activité locomotrice est diminuée chez les rats du lot M comparativement aux Témoins, d'une manière très hautement significative ($P < 0,001$). Ceci se traduit par le décroissement de la distance totale parcourue. En revanche, la distance parcourue chez le lot CMS augmente par rapport au lot L, et cette différence est très hautement significative ($P < 0,001$), alors que les lots stressés et traités par l'extrait d'algue ont une distance parcourue inférieure par rapport aux lots stressés, différence très hautement significative ($P < 0,001$) par rapport au lot CMS (CMS vs CMS+M) et non significative entre les lots ligaturés (L vs L+M). Cela nous amène à déduire que le traitement par l'extrait d'algue et le stress de ligature du nerf sciatique provoquent la diminution de l'activité locomotrice, montrant un état d'anxiété.

Par ailleurs, le nombre d'entrées au centre du dispositif est plus élevé chez le lot T, alors que les autres lots montrent une diminution très hautement significative ($P < 0,001$) chez les lots L et CMS comparativement au lot T et non significative entre les deux types de stress (L vs CMS) ($P < 0,05$) (**Fig. 38**).

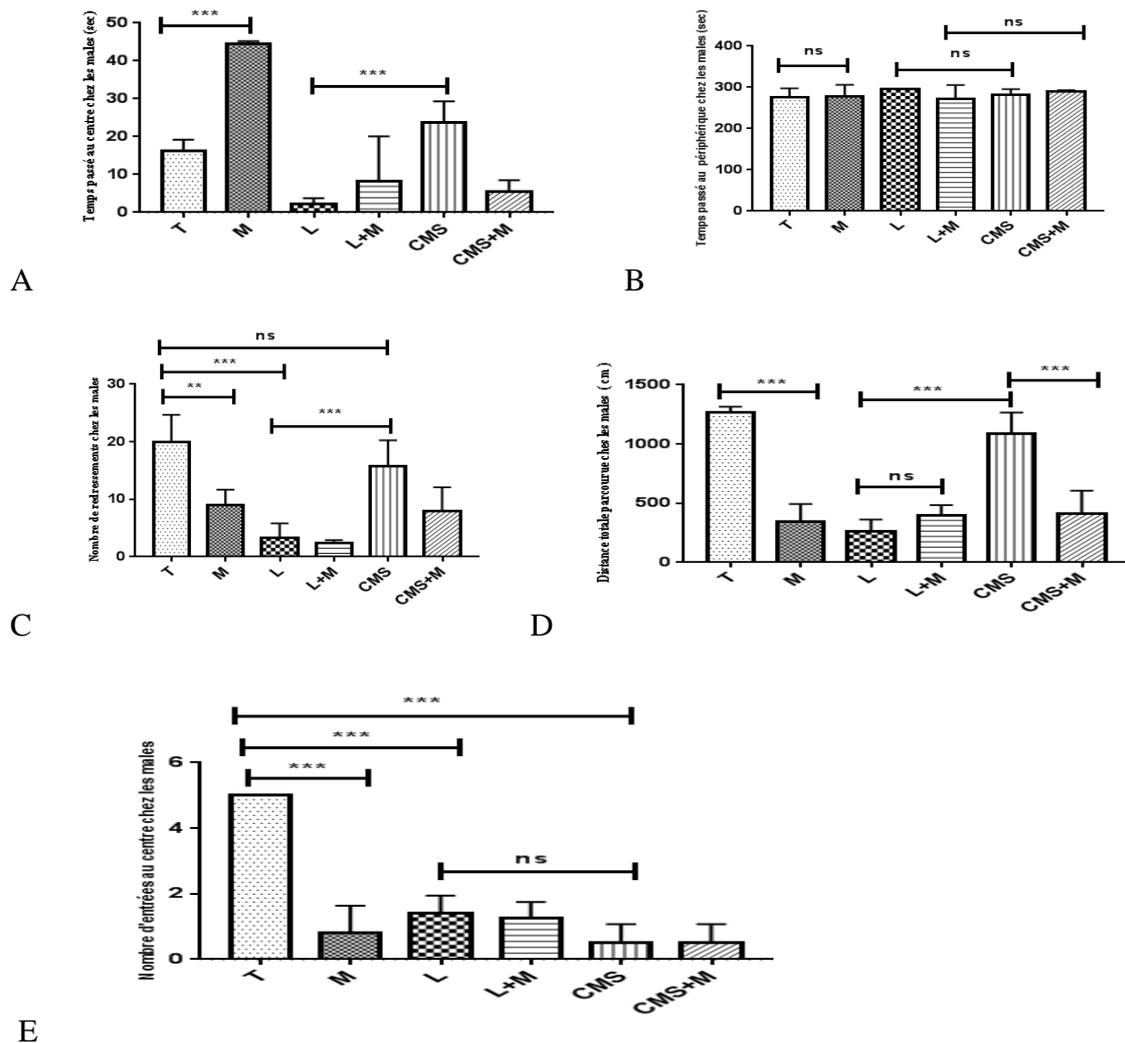


Figure 38. Open field test chez les rats mâles (n=5): (A) Temps passé au centre, (B) Temps passé en périphérie, (C) Nombre de redressements, (D) Distance parcourue, (E) Nombre d'entrées au centre : (ns) non significatif ($P < 0,05$), (*) significatif ($p < 0,05$), (**) hautement significatif ($p < 0,01$), (***) très hautement significative ($P < 0,001$).

Chez les femelles

D'après l'ANOVA à un critère de classification, le temps passé au centre du dispositif le plus élevé est enregistré chez le lot CMS+M, et cette augmentation est très hautement significative par rapport à L+M ($P < 0,001$), ce qui indique que les femelles du lot CMS+M ont un faible état d'anxiété. D'autre part, il y a une diminution hautement significative du temps passé au centre chez le lot M comparativement au lot T ($P < 0,01$). Les lots stressés ne montrent aucune différence significative par rapport au lot T ($P < 0,05$) (CMS ; L vs T).

Concernant, le temps passé dans la partie périphérique, nous avons observé que le lot L+M présente une augmentation très hautement significative par rapport au lot CMS +M ($P < 0,001$).

Les résultats du nombre de redressements chez les femelles montrent une diminution chez les lots traités par l'extrait d'algue comparativement aux autres lots, c'est-à-dire une diminution de la capacité d'exploration des rats. Le lot CMS+M présente une différence hautement significative par rapport au lot L+M ($P < 0,01$) et une réduction hautement significative chez le lot M par rapport au lot T ($P < 0,01$). Ceci indique que le traitement à l'extrait d'algue provoque une faible activité exploratrice, alors que le stress (CMS ; L) se manifeste par une augmentation non significative ($P < 0,05$).

A propos de la distance parcourue, il y a une diminution très hautement significative chez le lot M par rapport au lot T ($P < 0,001$). De plus, nous avons observé une différence hautement significative ($P < 0,01$) entre les lots CMS et L, alors que les lots soumis au stress et traités montrent une diminution très hautement significative comparativement au lot T ($P < 0,001$). On peut constater que le traitement induit une diminution de l'activité locomotrice, et donc une baisse de la capacité exploratrice, montrant un état d'anxiété.

Par ailleurs, le nombre d'entrées au centre du dispositif est plus faible chez les lots M et CMS, cette différence étant très hautement significative par rapport au lot T ($P < 0,001$). D'une autre part, le lot ligaturé (L) montre une différence hautement significative par rapport au lot T ($P < 0,01$) (**Fig. 39**).

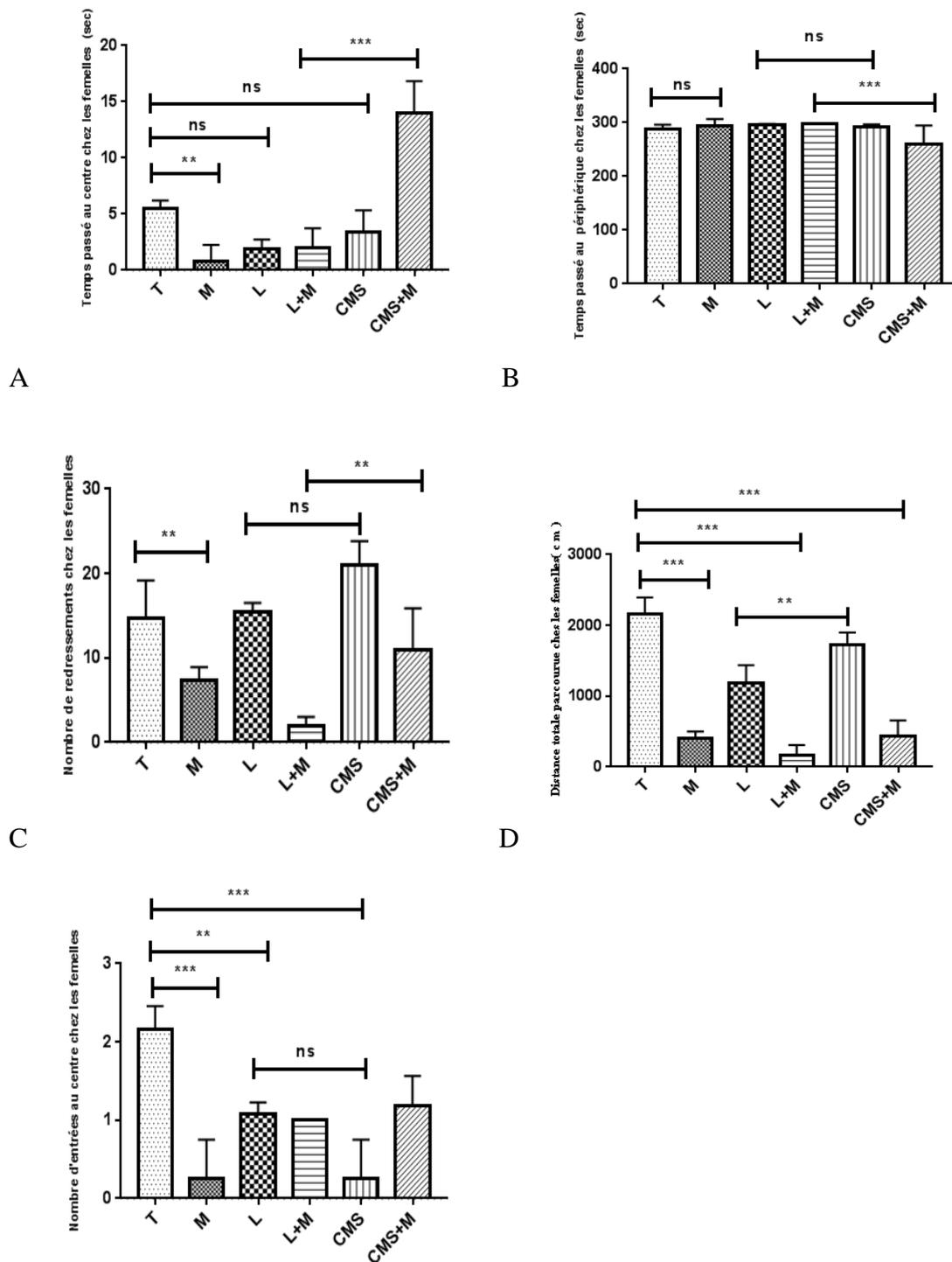


Figure 39. Résultats de l'Open field test chez les femelles (n=5) : (A) temps passé au centre, (B) Temps passé en périphérie, (C) Nombre de redressements, (D) Distance parcourue, (E) Nombre d'entrées au centre : (ns) non significatif ($P < 0,05$), (*) significatif ($p < 0,05$), (**) hautement significatif ($p < 0,01$), (***) très hautement significatif ($P < 0,001$).

III.7.3.Labyrinthe en croix surélevée (Plus maze test)

Chez les males

Le labyrinthe en croix surélevé permet d'évaluer l'activité locomotrice et exploratrice en réponse à un environnement nouveau. Nos résultats montrent que les rats qui passent le plus de temps au centre sont les rats du lot CMS, avec une différence très hautement significative par rapport au lot L ($P < 0,001$), suivi par lot Témoin, ce dernier montre une augmentation hautement significative ($P < 0,01$) par rapport au lot M. En plus, nous avons remarqué que le temps passé au centre le plus bas est enregistré chez lot L+M, cette diminution étant hautement significative ($P < 0,01$) comparativement au lot CMS+M. Ceci indique la ligature de nerf sciatique et le traitement par l'extrait d'algue provoquent une réduction du temps passé au centre.

Par ailleurs, le temps passé dans les bras ouverts du dispositif est plus important chez les rats du lot CMS+M, suivi par le CMS, ce qui implique un faible état d'anxiété. Par contre, les rats soumis à un stress biologique L+M et L passent moins de temps dans les bras ouverts, ce qui révèle un état d'anxiété. Statiquement, la différence entre le lot L+M et le lot CMS+M est très hautement significative ($P < 0,001$), et hautement significative ($P < 0,01$) entre lot CMS et L. D'autre part, les analyses statistiques, montre que le niveau d'anxiété est plus élevé chez les rats soumis à un stress biologique et les rats du lot M. Ceci est révélé par le temps passé dans les bras fermés plus grand chez le lot L ; M mais sans différence significative entre les lots expérimentaux ($P < 0,05$).

Concernant le nombre d'estimation de la profondeur, on peut constater une augmentation chez le lot L+M suivi par le lot L (les rats soumis à un stress biologique) mais, statiquement nous n'avons observé aucune différence significative chez tous les lots ($P < 0,05$) (Fig .40).

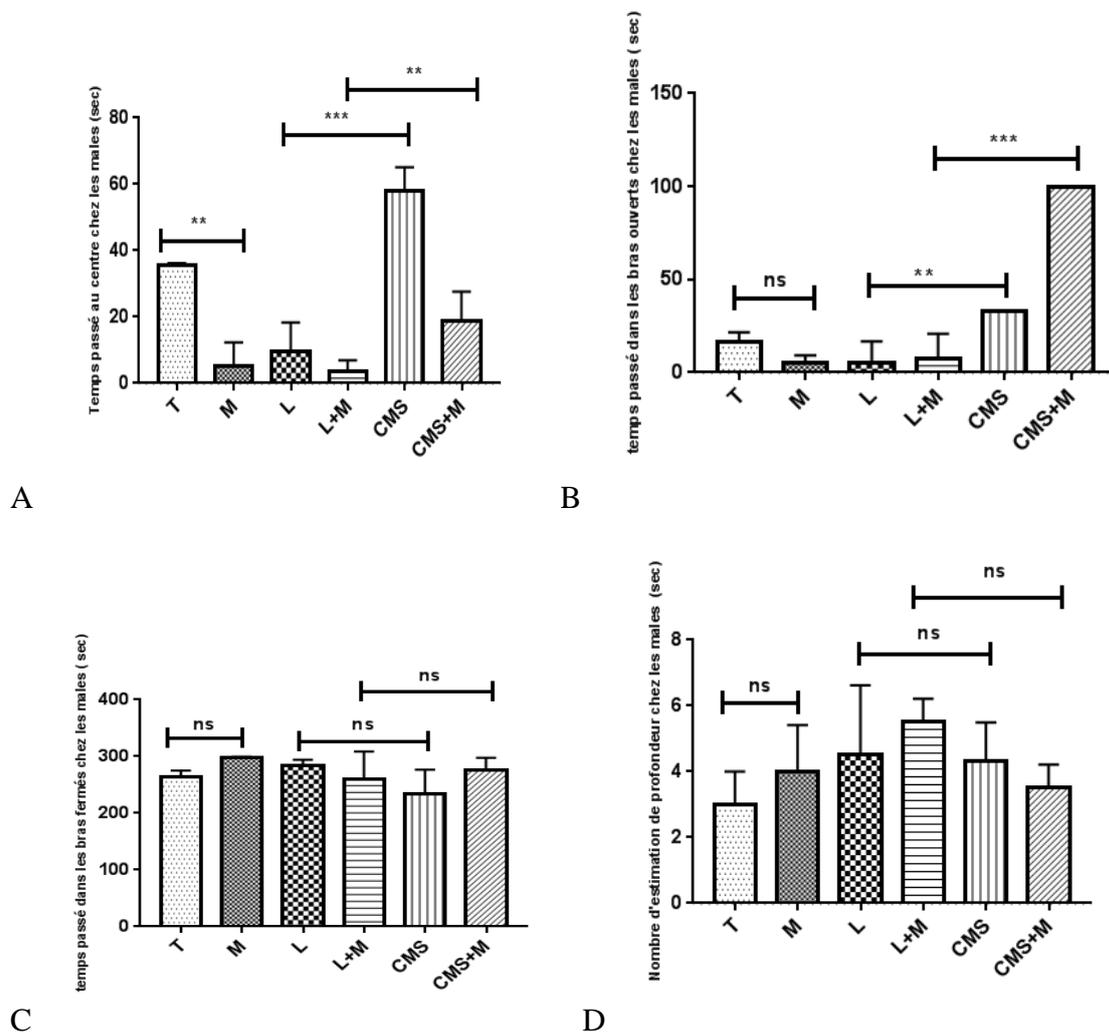


Figure 40. Résultats du Plus maze test chez les rats mâles (n=5) : (A) Temps passé au centre, (B) Temps passé dans les bras ouverts, (C) Temps passé dans les bras fermés, (D) Nombre d'estimations de la profondeur : (ns) non significatif ($P < 0,05$), (*) significatif ($p < 0,05$), (**) hautement significatif ($p < 0,01$), (***) très hautement significatif ($P < 0,001$).

Chez les femelles, on observe une augmentation du temps passé au centre chez les rats soumis au CMS. Cette augmentation est hautement significative comparativement au lot L ($P < 0,01$). En outre, le plus faible temps passé au centre s'observe chez le lot M et cette baisse est hautement significative par rapport au lot T ($P < 0,01$).

Les rats du lot CMS+M sont ceux qui passent le plus de temps dans les bras ouverts suivis par le lot M. Ces 2 lots (CMS+M et M) montrent une différence très hautement significative comparativement au lot CMS et au lot T ($P < 0,001$). En plus, on remarque que le temps le plus bas est enregistré chez les lots CMS et L mais la différence reste non significative ($P < 0,05$).

En parallèle, les rats du lot L+M passent plus de temps dans les bras fermés, et le temps le plus bas est enregistré chez les rats du lot CMS+M. Le test de Tukey révèle une différence hautement significative entre les deux lots ($P < 0,01$) (CMS+M vs L+M). En revanche, on n'observe aucune différence significative entre le lot M et T ($P < 0,05$). Donc les femelles stressées par le CMS et traitées par l'extrait d'algue présentent un niveau d'anxiété plus bas que les autres lots.

D'après nos résultats concernant le nombre d'estimation de la profondeur, nous avons remarqué qu'il est plus élevé chez le lot CMS+M, suivi par le lot T, mais statistiquement ces différences ne sont pas significatives ($P < 0,05$). (Fig. 41).

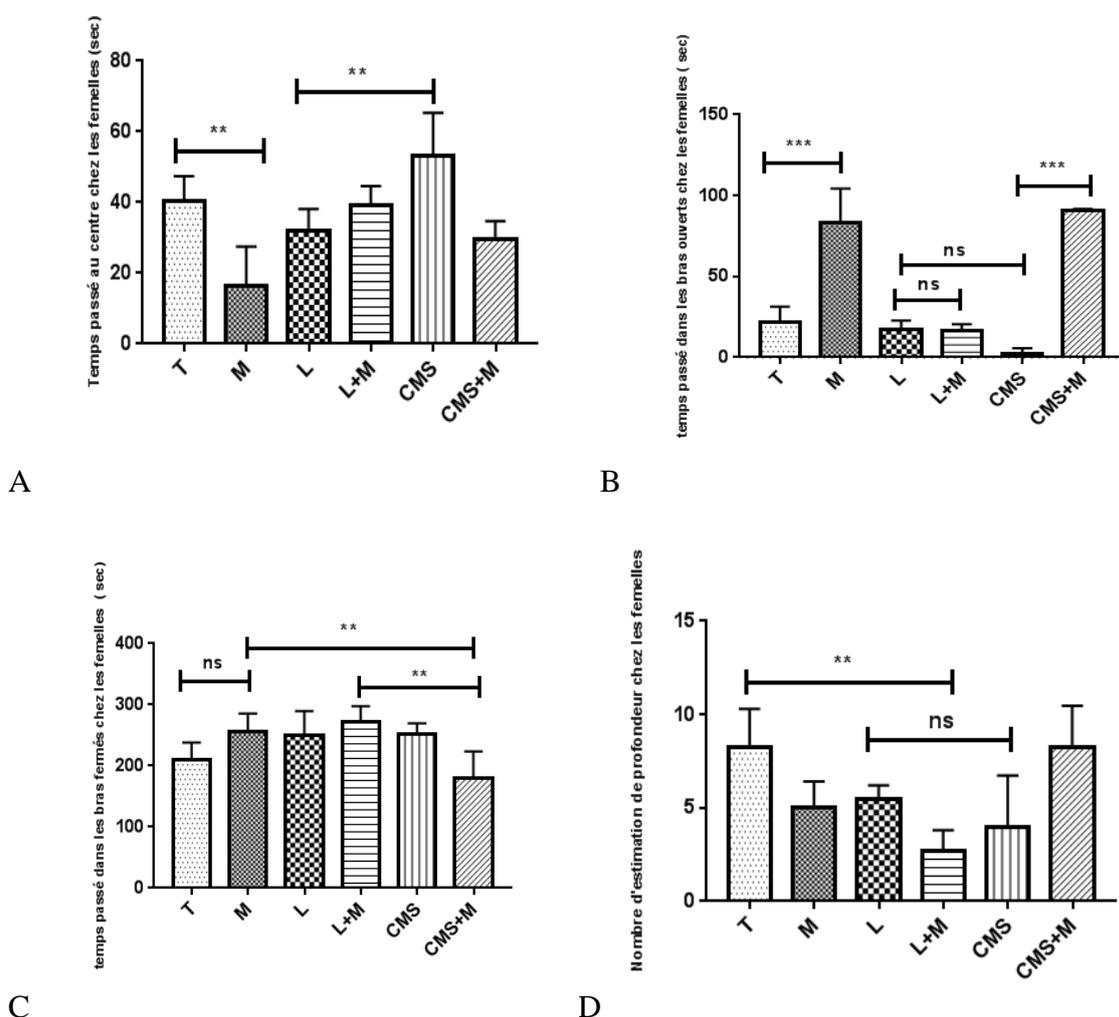


Figure 41. Résultats du Plus maze test chez les rats femelles (n=5) : (A) Temps passé au centre, (B) Temps passé dans les bras ouverts, (C) Temps passé dans les bras fermés, (D) Nombre d'estimations de la profondeur : (ns) non significatif ($P < 0,05$), (*) significatif ($p < 0,05$), (**) hautement significatif ($p < 0,01$), (***) très hautement significatif ($P < 0,001$).

4^{ème} partie :
Discussion

IV. Discussion

Le stress engendre des modifications comportementales et serait responsable chez l'homme de nombreux troubles psychiatriques tels que la dépression ou les troubles liés à l'anxiété (**Garcia-Bueno et al., 2008**). Le stress peut aussi influencer l'agressivité (**Barreto-Medeiros et al., 2007 ; Veenema et Neumann, 2007**).

Il est bien reconnu que la dépression est accompagnée d'une activation du système immunitaire inflammatoire et le stress oxydatif (**Kubera, 2011**), surtout quand cette inflammation neuronale est prolongée en raison d'une cause inconnue, en particulier non diagnostiquée, comme une infection chronique ancienne et symptomatique, elle implique les défenses cellulaires et humorales, créant une perturbation biologique générant un stress oxydatif. Par stress oxydatif, on entend une attaque chimique par oxydation, l'oxydation des constituants du corps en raison de l'excès en particulier des molécules nocives appelées radicaux libres d'oxygène (**Fraia et al., 2015**). Cette oxydation dénature les protéines, les lipides, les sucres et l'ADN et par là même les membranes cellulaires et, enfin, les cellules (**Djemli et al., 2015 ; Frih et al., 2009**). Il a également été démontré que la dépression est une des principales causes de l'hyperactivité de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS), caractérisée par une résistance de contre-réaction négative de l'axe glucocorticoïde (**Frih et al., 2009**). Ce serait un acteur majeur dans la réponse au stress (**Rubin et al., 1966**).

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la production des radicaux libres (ou espèces réactives) et la défense antioxydante de l'organisme. Les radicaux libres peuvent être classifiés en deux catégories, les espèces réactives oxygénées (ROS) ou nitrées (RNS). Dans le cerveau sain, les ROS ne sont produits qu'en faible quantité et constituent les sous-produits de divers processus physiologiques tels que la respiration mitochondriale, l'activité de synthèse de l'oxyde nitrique (NOS), de la monoamine oxydase et du NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit) oxydase (Nox) (**Siegel et al., 1989**). Ces ROS n'altèrent pas le statut redox de la cellule (**Droge, 2002**) et semblent impliqués dans de multiples voies de signalisation cellulaire (**Brown et Griendling, 2009**). L'oxyde nitrique (NO) possède plusieurs fonctions importantes dans le cerveau : c'est un second messenger exerçant principalement son action *via* la production de GMPc. Le NO est synthétisé par l'enzyme NOS *via* l'oxydation de l'arginine et du NADPH (**Siegel et al., 1989**). La particularité des iNOS est de produire de larges quantités de NO durant plusieurs heures ou jours ; ce NO joue un rôle dans l'immunité en tant qu'agent antimicrobien et en entraînant l'adhésion des leucocytes dans les vaisseaux (**Guix et al., 2005**). Les espèces réactives jouent

donc plusieurs rôles importants dans le cerveau sain. Toutefois, il est maintenant reconnu qu'en condition pathologique, la production de ROS et de RNS est souvent excessive, et ces derniers deviennent alors des agents neurotoxiques.

La douleur peut être considérée comme contribuant à une fonction de protection, un signal d'alarme, à la suite d'une blessure ou d'un traumatisme dans les tissus périphériques générant une réaction de défense inflammatoire. **Kuner (2010)** a rapporté que la douleur est l'un des symptômes les plus courants rencontrés en clinique et la douleur inflammatoire représente un important type de douleur. Celle-ci peut se prolonger dans le temps et causer de la douleur inflammatoire chronique, mais peut également impliquer un nerf, provoquant une lésion neuropathique et de la douleur neuropathique donc chronique. La douleur perd son sens de signal d'alarme pour devenir une maladie en soi, un véritable syndrome. En outre, plus de la moitié des patients souffrant de douleurs neuropathiques développent des troubles de l'humeur tels que la dépression et l'anxiété (**Kuner, 2010**).

Aujourd'hui, les douleurs qu'elles soient inflammatoires et neuropathiques, celles causées par des dommages au central ou du système nerveux périphérique sont les plus difficiles à traiter en raison de leur résistance aux traitements analgésiques standards. Il existe plusieurs modèles animaux de douleur neuropathique, surtout chez le rat, la plupart basés sur la production d'une lésion d'un nerf périphérique (principalement le sciatique) par un trauma physique ou chimique (**Mc Mahon et al., 2005 ; Ueda, 2008**). Ce modèle a vu le jour en 1988 (**Bennett et Xie, 1988**).

De nombreuses études ont été entreprises pour comprendre le rôle des différents facteurs contribuant au développement de la dépression et de l'anxiété (**Mc Ewen, 2005**). Le modèle expérimental le plus utilisé généralement pour évaluer les effets de la dépression chez les rongeurs est le CMS (Stress chronique imprédictible) à l'origine développé par **Willner (1997)** (**Zunszain et al., 2011 ; Dagyte et al., 2011**).

Les rats exposés au CMS pendant 37 jours ont montré une dépression caractérisée par le développement de comportements symptomatiques de la dépression des humains, comme la réduction significative de la locomotion (**Zunszain et al., 2011**).

Notre travail consiste à étudier l'effet de la ligature du nerf sciatique sur le degré de dépression des animaux (**Bennett et Xie, 1988**). Nous avons cherché dans un premier temps d'éventuelles relations entre la ligature du nerf sciatique et l'incidence de la dépression. Ce modèle permet également l'étude sur les conséquences de la douleur neuropathique anxio-dépressive. Ce travail examine aussi l'aspect comparatif entre deux méthodes de stress : le

Stress chronique léger (CMS) et la ligature du nerf sciatique (L). 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**).

Pendant la réalisation de notre protocole, chez les rats mâles, nous avons constaté que le CMS et la ligature du nerf sciatique ont induit des changements comportementaux cités ci-dessus. Pour le gain de poids corporel, les rats CMS montrent une augmentation du poids durant l'expérimentation, alors que les rats ligaturés ne montrent aucun changement dans le gain de poids corporel par rapport au Témoin.

Des études chez les animaux de laboratoire soumis à des conditions de stress, montrent que la prise alimentaire est soit stimulée, soit inhibée. La nature du stimulus, son intensité et sa durée déterminent la réponse observée (**Antelman et al., 1975**). Dès que le stress est interrompu, l'animal compense la consommation excessive induite par le stress par une hypophagie correctrice. D'autres types de stress, peu intenses et non douloureux, induisent le même comportement d'augmentation de la prise alimentaire chez plusieurs espèces animales. Si l'intensité du stress est forte, alors la réponse de l'animal est inverse : il cesse de manger. Cette hypophagie se prolonge même après l'élimination du stimulus agressif et peut entraîner une perte de poids significative (**Souquet et Fantino, 1993 ; Shimizu et Oomura, 1989 ; Marti et al., 1994**). En outre l'effet du stress sur la prise alimentaire et du gain de poids dépend aussi de l'heure à laquelle le stress est appliqué (**Rybkin et al., 1997**).

Dans notre cas, le CMS stimule la consommation d'aliment et provoque une augmentation du gain du poids. Ceci indique que ce modèle animal de dépression est en accord avec la littérature, et que le degré de stress est plus élevé chez les lots CMS par rapport au lot L.

Chez les femelles, nos résultats montrent que les deux types de stress (Chronic mild stress, et douleur neuropathique) n'ont aucun effet sur le gain du poids. Les rats mâles et femelles ayant reçu le traitement à base d'extrait d'algue comme antidépresseur (CMS+M ; L+M) accusent une élévation du gain de poids corporel. La modification du poids corporel ainsi que de la prise alimentaire indiquent évidemment que le stress est devenu une partie intégrale de la vie quotidienne (**Bowers et al., 2008 ; Frick et al., 2009**).

D'après nos résultats concernant le poids des organes, le stress a entraîné une diminution du poids des testicules associée à une dégénérescence testiculaire. A ce titre, l'administration de l'extrait d'algue provoque une congestion avec une réaction inflammatoire autour du testicule, ce qui confirme que les spermatozoïdes sont particulièrement sensibles aux dommages induits par un excès de ROS (**Aitken et Mc Laughlin, 2007 ; Agarwal et al.,**

2008). Les ROS peuvent attaquer les liaisons insaturées des lipides de la membrane. Ainsi, l'augmentation de radicaux libres dans les cellules peut induire la peroxydation lipidique par décomposition oxydante d'acides gras polyinsaturés dans les membranes des cellules. De toute évidence, la peroxydation des lipides du sperme détruit la structure de la matrice lipidique des membranes des spermatozoïdes, et elle est associée à une perte rapide de l'ATP intracellulaire menant à une diminution de la viabilité des spermatozoïdes et une inhibition de la spermatogenèse dans les cas extrêmes (**Misro et al., 1999; Türk et al., 2007**).

Concernant les surrénales, nous n'avons observé aucun changement de leur poids, alors que le stress et le traitement par l'extrait d'algue provoque une congestion dans la zone glomérulée au niveau du cortex surrénalien qui synthétise les minéralo-corticoïdes, principalement l'aldostérone.

La sécrétion de l'aldostérone est indépendante de l'ACTH hypophysaire dans les conditions physiologiques normales (**Mesiano et al., 1997**). Cette congestion indique une hyper activité de cette zone qui est responsable de la sécrétion de l'aldostérone. Certaines études observent une augmentation du poids des glandes surrénales et/ou une augmentation du thymus suite à l'exposition au stress chronique variable (**Gamaro et al., 2003; Ulrich-Lai et al., 2006; Choi et al., 2008**) alors que d'autres ne mettent aucun effet en évidence (**Ostrander et al., 2006; Marin et al., 2007**). Il a été montré que plus un stresser est intense, plus il y a augmentation du poids des glandes surrénales (**Martin et al., 1994**).

Le poids relatif de la rate et l'étude histologique montrent une splénomégalie généralisée chez les rats traités par l'extrait d'algue, due à des origines congestives (**Lacroix, et al., 1994 ; Guillermo, 1990**). Cette congestion est due à un débit sanguin augmenté d'un organe quand l'activité métabolique de cet organe augmente (**Gil, 2013**).

L'étiologie d'une splénomégalie peut être une anomalie de la FNS. Cette dernière est une aide précieuse pour le diagnostic des splénomégalies, en cas d'anémie (**Bastie J.N., 2006**). Nos résultats indiquent une diminution du taux de globules rouges chez les rats traités, avec une hyperleucocytose, associée à une augmentation du poids relatif de la rate, ce qui confirme que cette hypertrophie de la rate serait due à une anémie hémolytique auto-immune (AHAI).

Cette dernière est une maladie du sang qui se traduit par une baisse anormale du nombre de globules rouges, la durée de vie des globules rouges en circulation, qui est normalement de 120 jours, est nettement diminuée. La destruction accélérée des globules rouges (hémolyse) est due à la présence anormale dans le sang du malade de certains anticorps. Ces anticorps

sont des « auto-anticorps » car ils sont dirigés contre les propres globules rouges du malade (**Godeau et al., 2009**)

La numération sanguine est le résultat d'un dénombrement des différentes lignées de cellules par unité de volume sanguin (**Bastie J.N., 2006**). Nos résultats montrent une augmentation du taux des lymphocytes chez les lots stressés par rapport au lot témoin. Chez les mâles, il semblerait que le stress induit une diminution de la réponse proliférative des lymphocytes T *in vitro* et une plus faible réponse humorale *in vivo* associées à une modification de la réactivité des lymphocytes T en réponse aux hormones du stress et à la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (**Silberman et al., 2004**).

Les glucocorticoïdes stimulent l'érythropoïèse médullaire et augmentent le nombre de plaquettes sanguines mais inhibent l'agrégation plaquettaire (**Donald et Langston, 1995 ; Courouge, 2004**). Nos résultats sont en accord avec cette théorie.

Concernant le test de la préférence sucrée, une diminution de la consommation de saccharose dans un paradigme de l'accès limité a été utilisée précédemment pour déterminer les déficits hédoniques. Cependant, la consommation absolue de solution de saccharose dans un court laps de temps (par exemple 2 h) peut être influencée par de nombreux facteurs non liés à l'état hédonique. Ainsi, la consommation de saccharose peut être perturbée par des facteurs de stress subtils qui se produisent lors de l'essai de saccharose et par les effets prolongés de procédures de stress aiguë appliquées (**Pucilowski et al., 1993**), de la nourriture et de privation d'eau (**Forbes et al., 1996; Reid et al., 1997**). Nos résultats montrent que les animaux soumis à un stress physiologique et biologique marquent une diminution de la consommation des solutions sucrées agréables, alors que l'extrait d'algue fait une réparation peu importante chez les femelles des lots traités. Ce comportement est connu sous le terme d'anhédonie, qui est le caractère central de la dépression (**Willner, 1997**).

D'importantes différences liées au sexe ont été régulièrement signalées parce que son incidence sur la prévalence et le risque de morbidité est deux fois plus élevé chez les rates. Les symptômes de la dépression sont également sexuels et les perturbations dans les concentrations circulantes des hormones ovariennes produisent un comportement de dépression (**Frye et Walf, 2009**).

Le test comportemental de la nage forcée (FST) est fréquemment utilisé pour l'évaluation de la dépression et l'efficacité des antidépresseurs potentiels chez les rats. L'immersion dans l'eau des rats pendant une période de temps prolongée produit un comportement caractéristique de l'immobilité (**Lucki, 1997**). Les rats montrent des

comportements actifs, c'est-à-dire nage et escalade, aussi bien que le comportement passif, c'est-à-dire l'immobilité. Les molécules qui diminuent la durée d'immobilité dans la FST sont considérées comme étant des antidépresseurs efficaces (**Porsolt et al., 1977**). Cependant, un grand nombre d'études a porté sur l'association entre la dépression et l'inflammation (**Dantzer et al., 2008; Whooley et al., 2007**). L'interprétation classique est que l'animal a perdu tout espoir d'échapper à la situation, donc l'immobilité est considérée comme un signe de désespoir. La majorité des antidépresseurs retardent la période d'immobilisation et/ou réduisent le temps total d'immobilité (**Schweizer et al., 2009**).

Nous avons enregistré dans cette expérimentation que le CMS provoque une augmentation du temps d'immobilité chez les mâles, comparativement au stress provoqué par la ligature du nerf sciatique. Ceci montre que le CMS induit un large spectre de changements de comportement qui pourraient être considérés comme des symptômes de la dépression (**Schweizer et al., 2009**), ce qui est en accord avec nos résultats.

Chez les femelles nos résultats indiquent que l'effet du stress et le même chez le lot CMS que chez le lot ligaturé. Le stress neuropathique provoque une élévation du temps de nage et une déplétion du temps d'escalade chez les deux sexes. Cela implique que la voie noradrénergique est sollicitée. Contrairement, le CMS stimule une augmentation du temps d'escalade qui montre que la voie sérotoninergique est sollicitée. Théoriquement au cours de la FST, les antidépresseurs produisant une élévation noradrénergique ou dopaminergique prédominante, réduisent l'immobilité par l'augmentation du temps d'escalade et ceux qui produisent une élévation sérotoninergique réduisent le temps d'immobilité en augmentant le temps de nage (**Funkiewiez et al., 2004 ; Fujigaki et al., 2006**).

Puisque le test des champs ouverts n'est pas sensible aux composés normalement efficaces dans le traitement de certains troubles de l'anxiété, certains auteurs soutiennent que ce test serait seulement efficace pour mesurer l'anxiété normale exprimée chez des individus confrontés à une situation stressante, et non pour mesurer les qualités pathologiques de l'anxiété (**Prut et Belzung, 2003**). Nos résultats obtenus chez les deux sexes indiquent que le temps passé au centre et la distance parcourue sont plus bas chez les rats ligaturés par rapport aux rats soumis au CMS, donc le degré d'anxiété est plus élevé chez le lot L par rapport au lot CMS. En plus, ces résultats sont plus bas comparativement au lot Témoin.

Ce test permet d'évaluer la réaction d'un animal vis-à-vis d'un environnement nouveau et spacieux. Il crée une situation de conflit entre la tendance des rongeurs à chercher un endroit pour se cacher et leur aversion pour les espaces ouverts. De ce fait, les animaux anxieux ont tendance à passer plus de temps dans les coins et la périphérie du dispositif plutôt

que dans le centre (**Elizalde et al., 2008**). A partir des résultats et études précédentes sur le stress, nous pouvons confirmer que le stress cause une dépression caractérisée par une anxiété accrue associée à une diminution de la locomotion (**Gomes et al., 2009**)

Dans le test du labyrinthe en croix surélevée, les rats ont peur des hauteurs et prennent naturellement refuge dans les bras fermés du dispositif qui fournissent une plus grande sécurité. Les animaux moins anxieux circulent plus librement dans les bras ouverts du dispositif (**Elizalde et al., 2008**).

Le test du labyrinthe en croix surélevée a montré chez les mâles une augmentation du niveau d'anxiété quand ils sont soumis à un stress biologique (L) par rapport aux rats stressés par le CMS, qui s'exprime par une diminution du temps passé dans les bras ouverts. En outre, chez les femelles, le degré de stress est le même. Ceci signifie que le degré de stress est différent selon le sexe.

Parmi les hypothèses proposées pour expliquer la dégradation inhérente au CMS, il y a le neurotoxicité de quelques produits du stress, comme la production des neurotoxines, des médiateurs de l'inflammation, des cytokines pro inflammatoires, des radicaux libres par des monocytes et des astrocytes, de l'activation des récepteurs neuronaux glutamatergiques NMDA, de l'apoptose neuronale, du changement de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BHE), des cytokines circulants et le choc oxydant, responsables du dysfonctionnement neuronal suggéré comme convergence possible de ces facteurs à un chemin commun (**Mollace et al., 2001 ; Power et al., 2002 ; Pomerantz, 2004 ; Wallace, 2006**).

Depuis plus de 40 ans, la recherche sur la pathogenèse de la dépression et le développement de médicaments efficaces a été dominée par l'hypothèse monoaminergique : les antidépresseurs sont ainsi, le plus souvent, associés à une facilitation de la transmission des systèmes monoaminergiques. Bien que les neurotransmetteurs monoaminergiques (sérotonine (5-HT), noradrénaline et dopamine) soient impliqués de façon indiscutable, il est admis aujourd'hui que les modifications des taux de monoamines produites par les antidépresseurs et les processus adaptatifs qui en découlent, en particulier l'altération de la sensibilité de certains de leurs récepteurs, ne peuvent expliquer à eux seuls le mécanisme d'action des antidépresseurs (**Kompagne, 2008**).

L'état d'inflammation lié à la dépression, ne se limite pas aux altérations de la BHE, mais il est également trouvé dans le cerveau où l'expression des cytokines est différente par rapport à celle des tissus périphériques (**You et al., 2011**). Le stress induit des réponses inflammatoires dans diverses régions du cerveau en produisant des cytokines pro-

inflammatoires comme TNF- α , IL-6 et IL-1 (**Bian et al., 2012 ; Zunszain et al., 2011**). Cette production est associée à une diminution des BDNF (facteurs de différenciation des neurones) et de la neurogenèse (**Miller, 2010**). Les cytokines sont exprimées de façon constitutive dans le SNC, agissant en tant que modulateurs des fonctions de neurones et la survie neuronale, et dans le cas du stress chronique, elles deviennent néfastes (**You et al., 2011**). De nombreuses études montrent que le stress accélère l'apoptose des cellules neuronales et cause des modifications de la structure et la fonction de l'hippocampe chez les rongeurs. L'hippocampe est la cible commune de nombreux antidépresseurs (**Zunszain et al., 2011**). Le CMS diminue la neurogenèse hippocampique des adultes (**Dagyte et al., 2011**). Il a été démontré que le stress oxydatif *in vivo* provoque une altération de l'hippocampe, induisant un comportement d'anxiété et une diminution de l'activité locomotrice chez la souris (**Skurlova et al., 2011**).

D'une façon générale, le stress chronique entraînerait surtout un dysfonctionnement du cortex préfrontal. D'autres auteurs évoquent surtout l'importance d'une altération fonctionnelle de l'hippocampe pour expliquer les troubles de mémoire résultant du stress (**Wolman, 2010**).

La nage forcée, test de l'efficacité des antidépresseurs, représente une situation stressante aversive, dont le rat ne peut s'échapper, et produit l'immobilité, c'est-à-dire, un désespoir comportemental (**Borsini et Meli, 1988**).

Dans notre étude, le traitement par l'extrait d'algue a fait diminuer le temps d'immobilité chez les lots CMS+M ; L+M ; et M par rapport au lot T, ce qui montre l'efficacité des effets réparateurs de l'extrait d'algue chez les mâles et les femelles. Au cours de ce test, les antidépresseurs, produisant une élévation noradrénergique ou dopaminergique prédominante, réduisent l'immobilité par l'augmentation du temps d'escalade (**Lopez et Lucki, 2000 ; Kawaura et al., 2010**).

Le traitement par l'extrait d'algue comme antidépresseur est bien observé au niveau du test de l'EPM chez le lot soumis à un stress psychologique et traité (CMS+M) par l'augmentation du temps passé dans les bras ouverts chez les femelles. On peut constater que l'effet réparateur apparaît avec le stress CMS et chez les femelles seulement.

Concernant le test des champs ouverts, l'extrait d'algue ne fait aucune réparation comme antidépresseur chez les deux sexes.

Le pouvoir antioxydant et les propriétés de capture des radicaux libres de l'extrait d'algue *Peyssonnelia sp* avaient déjà fait l'objet d'étude. Les résultats obtenus avec les différentes conditions utilisées dans nos travaux ont permis de constater que l'extrait d'algue permet de réparer l'état anxiogène qui résulte du CMS et de la ligature dans quelques

paramètres des tests comportementaux. L'effet bénéfique du traitement à l'extrait d'algue est particulièrement marqué dans le test de la nage forcée chez les deux sexes.

Conclusion

CONCLUSION

Le stress oxydatif réfère à une perturbation dans la balance métabolique cellulaire durant laquelle la génération d'oxydants accable le système de défense antioxydant. En raison de la toxicité des antioxydants synthétiques, le recours à des phyto-nutriments doués d'activités antioxydantes s'avère très avantageux et d'actualité. Les algues sont parmi les végétaux fortement utilisés de nos jours en médecine à travers le monde.

Notre étude comporte une investigation expérimentale afin de savoir si les effets provoqués par l'antigène choisi pour induire une hypersensibilité retardée, la ligature du nerf sciatique et le Chronic Mild Stress (CMS) sont semblables au niveau du système nerveux central et au niveau périphérique. L'exposition au CMS et la ligature de nerf sciatique ont causé une dépression comportementale révélée par les tests comportementaux, accompagnée d'une congestion au niveau des organes, un changement du poids corporel et une diminution de l'activité locomotrice. Cette expérimentation englobe aussi l'exploration de l'effet réparateur d'un extrait d'algue *Peyssonnelia sp* qui agit sur les paramètres relatifs à l'anxiété, la dépression et la fonction locomotrice.

Nos résultats ont mis à jour les constatations suivantes :

- L'exposition des rats au CMS et la ligature de nerf sciatique ont les mêmes effets, c'est-à-dire la réduction de l'activité locomotrice et l'augmentation de l'état anxieux suite à une situation dépressionogène chez les rats, ainsi que la dépression et l'immobilité.
- L'administration de l'extrait d'algue permet de réparer l'état anxiogène dans certains paramètres des tests comportementaux (FST, OP, EPM). Particulièrement, l'effet bénéfique est marqué dans le test de la nage forcée chez les deux sexes, confirmé par la réalisation des coupes histologiques des organes prélevés, ainsi que par le test de la préférence sucrée et la formule de numération sanguine (FNS), ce qui se traduit au moins par la facilitation des défenses antioxydantes (capacité de détruire les radicaux libres).

Dans ce contexte, il serait intéressant à court terme, de prendre en compte les perspectives suivantes :

- Tester l'effet des polyphénols en appliquant des doses différentes.
- Evaluer le degré d'anxiété en utilisant d'autres tests de comportement.
- Augmenter l'effectif des rats.
- Etudier les périodes de toxicité des algues marines.
- La séparation des polyphénols pour tester par un seul type de polyphénol.

- Evaluer la réparation en utilisant les tests biochimiques et le dosage hormonal, le dosage de la testostérone et l'oestradiol par la méthode ECLIA ou ELISA.
- Réaliser les tests de peroxydation des lipides, les protéines, l'intégrité des membranes des cellules dans les tissus.
- Tester l'activité des enzymes antioxydants (catalase,).

*Références
bibliographiques*

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

A

- **Abbott N.J., Patabendige A.A., Dolman D.E., Yusof S.R. et Begley D.J., (2010).** Structure and function of the blood-brain-barrier. *Neurobiol. Dis.* 37(1):13-25.
- **Adriaan Bouwknecht J., Olivier B. et Paylor R.E., (2007).** The stress-induced hyperthermia paradigm as a physiological animal model for anxiety: a review of pharmacological and genetic studies in the mouse. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 31: 41-59.
- **Agarwal A., Makker K. et Sharma R., (2008).** Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. *Am. J. Reprod. Immunol.* 59:2-11.
- **Agarwal S.K. et Marshall G.D., (2001).** Stress effects on immunity and its application to clinical Immunology. *Division of Allergy and Clinical Immunology the University of Texas Houston Medical School. Houston. Texas. USA.*
- **Aggarwal B.B., Henzel W.J., Moffat B., Kohr W.J. et Harkins R.N., (1985).** Primary structure of human lymphotoxin derived from 1788 lymphoblastoid cell line. *J. Biol. Chem.* 260(4): 2334-2344.
- **Aitken R.J. et McLaughlin E.A., (2007).** Molecular mechanisms of sperm capacitation: progesterone-induced secondary calcium oscillations reflect the attainment of a capacitated state. *Soc Reprod Fertil Suppl.* 63:273-93.
- **Alain Lenoir. (2001).** Introduction aux Neurosciences Comportementales 1.
- **Alam M.I., Beg S., Samad A., Baboota S., Kohli K., Ali J., Ahuja A. et Akbar M., (2010).** Strategy for effective brain drug delivery. *Eur J. Pharm Sci.* 40 (5):385-403.
- **Ali Rachedi B., Fraia A., Frih H., Zaafour M., Guernine S. et Djemli S. (2015).** Gender differences in the Prevalence of Depression (Persolt Swimming Test) in Sciatic Nerve Injury Model Wistar Rats. *Global Veterinaria (in press).*
- **Antelman S.M., Szechtman H., Chin P. et Fisher A.E., (1975).** Tail pinch-induced eating, gnawing and licking behavior in rats: dependence on the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res.* 99:319-37.
- **ARUOMA O. I. (1999).** Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pacific J Clin Nutr.* 8: 53-63.

B

- **Balasundram N., Sundram K. et Samman S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry.* 99: 199-203.
- **Balboa M.E., Conde E., Moure A., Falque E. et Dominguez, H. (2013).** *In vitro* antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chemistry.* 138: 1764-1785.
- **Ballabh P. et Braun A., (2004).** The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiol Dis.* 16(1):1-13.
- **Bandopadhyay R. et Orte C., (2001).** Contractile proteins in pericytes at the blood-brain and blood-retinal barriers. *J. Neurocytol.* 30(1):1-13.
- **Barouki R., (2006).** Ageing free radicals and cellular stress. *Med. Sci (Paris).* 22(3): 266-272.

- **Barreto-Medeiros J., Queiros-Santos A., Cabral-Filho J.E., Ferreira E., Silva W.T., Leandro C.G., Deiró T.C., Manhaes-de-Castro R. et Machado Barbosa de-Castro C.M., (2007).** Stress/aggressiveness induced immune changes are altered in adult rats submitted to neonatal malnutrition. *Neuroimmunomodulation*. 14: 229-334.
- **Barsanti L., Coltelli P., Evangelista V., Franssanito A.M., Passarelli V., Vesentini N. et Gualtieri P., (2008).** The World of algae in algal toxins: nature, occurrence, effect and detection. *Edition NATO Science for Peace and Security Series*.
- **Bastie J.N., (2006).** Splénomégalie Orientation diagnostique. *Service d'hématologie clinique. centre hospitalier universitaire. Dijon*.
- **Bennett G.J. et Xie Y.K., (1988).** A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*. 33(1):87-107.
- **Bertrand G., Marc M., Mehdi K. et Hellaf. (2009).** Association Française du Syndrome d'Evans et anémie hémolytique auto-immune.
- **Bézanger B., Pinkas M., Totck M., et Trotin F., (1980).** Les plantes médicinales des régions tempérées. *Edition Maloine*.
- **Bian Y., Pan Z., Hou Z., Huang C., Li W. et Zhao B., (2012).** Learning, memory, and glial cell changes following recovery from chronic unpredictable stress. *Brain Res*.
- **Black P. et Wiliam D., (1998).** Assessment and Classroom Learning. *Assessment in Education*. 5(1): 7-71.
- **Blalock J.E., (1984).** the immune system as a sensory organ. *J-Immunol*. 132: 1067-1070.
- **Blunt J.W., Copp B.R., Munro M.H.G., Northcote P.T. et Prinsep M.R., (2012).** Marine
- **Borsini F. et Meli A., (1988).** Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology (Berl)*. 94: 147-160.
- **Bowers S.L., Bilbo S.D., Dhabhar F.S. et Nelson R.J., (2008).** Stressor-specific alterations in corticosterone and immune responses in mice. *Brain Behav Immun*. 22: 105-13.
- **Brenneman D.E., Schultzberg M., Bartfai T. et Gozes I., (1992).** Cytokine regulation of neuronal survival. *J Neurochem*. 58: 454-460.
- **Brown D.I. et Griendling K.K., (2009).** Nox proteins in signal transduction. *Free Radical Biology and Medicine*. 47: 1239-1253.
- **Bruneton J., (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. *Techniques et documentations*. Ed. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
- **Burtin P., (2003).** Nutritional value of seaweeds. *Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry*. 2(4): 498-503.



- **Calingasan N.Y., Baker H., Sheu K.F. et Gibson G.E., (1995).** Blood-brain barrier abnormalities in vulnerable brain regions during thiamine deficiency. *Experimental Neurology*. 134: 64-72.
- **Calvo G.A., Leiderman L. et Reinhart C.M., (1996).** Inflows of Capital to Developing Countries in the 1990s. *The Journal of Economic Perspectives*. 10(2):123-139.

- **Capuron L., Miller A.H., (2004).**Cytokines and psychopathology: lessons from interferon-alpha. *Biol. Psychiatry*. 56: 819–824.
- **Casarotto, P.C. et R. Andreatini., (2007).** Repeated paroxetine treatment reverses anhedonia by chronic mild stress or dexamethasone. *Eur Neuropsychopharmacology*, 17(11): 735-42.
- **Cavaillon J.M., (2001).**Pro-versus anti-inflammatory cytokines: myth or reality. *Cell Mol Biol*. 47: 695-702.
- **Cheng B., Christakos S. et Mattson M. P., (1994).**Tumor necrosis factors protect neurons against metabolic-excitotoxic insults and promote maintenance of calcium homeostasis. *Neuron*.12: 139-153.
- **Choi H., Perera F., Pac A., Wang L., Flak E. et Mroz E., (2008).** Estimating individual-level exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons throughout the gestational period based on personal, indoor and outdoor monitoring. *Environ Health Perspect*. 116:1509–1518.
- **Choucair-Jaafar N., Yalcin I., Rodeau J.L., Waltisperger E., Freund-Mercier M.J. et Barrot M.,(2009).**B2-adrenoceptors are essential for desipramine, venlafaxine or reboxetine action in neuropathic pain. *Neurobiol. Dis*. 33: 386-394.
- **Courouge C., (2004).** Les effets indésirables des glucocorticoïdes chez le chien et le chat. *Thèse Doctorat Vétérinaire, Lyon*.



- **Dacosta Y., (2003).**Les phytonutriments bioactifs. *Ed Yves Dacosta. Paris*. 317p.
- **Dagyte G., Crescentea I., Postemaa F., Seguin L., Gabriel C., Mocaerd E., Den Boerb J., Koolhaasc A. et Jaap M.,(2011).**Agomelatine reverses the decrease in hippocampal cell survival induced by chronic mild stress. *Behavioural Brain Research*. 218:121–128.
- **Dai J. et Mumper R. J., (2010).** Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*.15(10):731-752.
- **Dantzer R., O'Connor J.C., Freund G.G., Johnson R.W. et Kelley K.W., (2008).** From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci*.9:46-56.
- **DELATTRE J., BEAUDEUX J.L. et BONNEFONT ROUSSELOT D., (2005).** Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. p 87 .108.
- **Dellarole A., Morton P., Brambilla B., Walters W., Summers S., Bernardes D., Grilli M. et Bethea J.R.,(2014).** Neuropathic pain-induced depressive-like behavior and hippocampal neurogenesis and plasticity are dependent on TNFR1 signaling. *Brain, Behavior, and Immunity*. 41: 65–81.
- **Demoulin G. et Leymergie C., (2009).**Les algues, le trésor de la mer. *Haute école de santé de Genève*.
- **Derbel S. et Ghedira K.,(2005).** Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*. 1: 28-34.
- **Dhargalkar V.K. et Pereira N., (2005).**Seaweed: Promising plant of the millennium. *Science and culture*.71:60-66.

- **Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A. et Capasso F., (1999).** Flavonoids: old and new aspects of class of natural therapeutic drugs. *L'è. Sciences*.65 (4): 337-53.
- **Djemli S., Ali Rachedi B., Frih H. et Sylvain F., (2015).** the Beneficial Effect of Zinc on Nickel-Induced Oxidative Stress Liver Injury in Rats. *American-Eurasian Journal of Toxicological Sci.* 7(1): 26-33.
- **Donadieu Y. et Basire J., (1985).** Les algues : thérapeutiques naturelles. *Edition Maloine.*
- **Droge W., (2002).** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 82: 47-95.
- **Dunn A.J., Wang J., Ando S., (1999).** Effects of cytokines on cerebral neurotransmission. Comparison with the effects of stress. *Adv. Exp. Med. Biol.* 461: 117– 127.
- **Durackova Z., Djrolo F., Hougbe H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N. et Avimadj M., (2008),** Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress, Mitochondrial medicine. *Ed. Gvozdzakova A.* 19-43.

E

- **Effendi L. et Vajun Y., (2008).** Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metab. Eng.* 8:172-181.
- **Elizalde N., Gil-Beafj Ramirez M.J., Aisa B., Lasheras B., Del Rio J. et Tordera R.M., (2008).** Long-lasting behavioral effects and recognition memory deficit induced by chronic mild stress in mice: effect of antidepressant treatment. *Psychopharmacology.* 199:1-14.
- **Engelhardt B. et Sorokin L., (2009).** The blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barriers: function and dysfunction. *Semin Immunopathol.* 31(4):497-511.

F

- **Farina C., Aloisi F. et Meinel E., (2007).** Astrocytes are active players in cerebral innate immunity. *Trends Immunol.* 28: 138-145.
- **Favier A., (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique.* 108-115.
- **Filaretova L., Morozova O., Laszlo F., Morschl E. et Zelena D., (2013).** Does chronic stress enhance the risk of diseases?. *Endocr. Regul.* 47:177–88.
- **Filomeni G. et Ciriolo M.R., (2006).** Redox control of apoptosis: an update. *Antioxid Redox Signal.* 8:2187-2192.
- **Food and Agriculture Organization-FAO-, (1987).** Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche : méditerranée et mer noire zone de pêche 37. CEE.
- **Forbes N.F., Stewart C.A., Matthews K. et Reid I.C., (1996).** Chronic mild stress and sucrose consumption: validity as a model of depression. *Physiol Behav.* 60: 1481–1484.
- **Fraga C.G., (2010).** Plant phenolics and human health: Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology. *John Wiley & Sons, Inc.* 489p
- **Fraia A., Ali Rachedi B., Zouiche S., Djemli S. et Frih H., (2015).** Polyphenon E Could Improve Negative Changes Caused by Chronic Mild Stress in Male Wistar Rats. *Global Veterinaria.* 4(4): 478-489.

- **Frestedt J., Zenk J., Kuskowski M., Ward L., Bastian E., (2008).** A whey-protein supplement increases fat loss and spares lean muscle in obese subjects: a randomized human clinical study. *Nutrition and Metabolism*. 5(8): 1-7.
- **Frick L.R., Arcos M.L., Rapanelli M., Zappia M.P., Brocco M. et Mongini C., (2009).** Chronic restraint stress impairs T-cell immunity and promotes tumor progression in mice. *Stress*. 12:134-43.
- **Frih H., Sahraoui L., Frih N., Toumi L., Bairi M., Tahraoui A., Maurel D. et Siaud P., (2009).** Facteurs prédictifs de la survenue du stress post-traumatique chez des individus ayant vécu deux événements de vie majeurs (tremblement de terre et terrorisme en Algérie): réponse corticotrope et prolactinique à une faible dose de dexaméthasone (0,5 mg). *Évolution Psychiatrique de Paris*. 74(4): 581-591.
- **Frye C.A et Walf A.A., (2009).** Depression-like behavior of aged male and female mice is ameliorated with administration of testosterone or its metabolites. *Physiol Behav*. 97:266-269.
- **Fujigaki Y., Goto T., Sakakima M., Fukasawa H., Miyaji T. et Yamamoto T., (2006).** Kinetics and characterization of initially regenerating proximal tubules in S3 segment in response to various degrees of acute tubular injury. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 21:41-50.
- **Funkiewiez A., Ardouin C., Caputo E., Krack P., Fraix V., Klinger H., Chabardes S., Foote K., Benabid A. et Pollak, P., (2004).** Long term effects of bilateral subthalamic nucleus stimulation on cognitive function, mood, and behaviour in Parkinson's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*. 75(6): 834-839.



- **Gaignier F., Schenten V., De Carvalho Bittencourt M., Gauquelin-Koch G., Frippiat J. P., et Legrand-Frossi C., (2014).** Three weeks of murine hindlimb unloading induces shifts from B to T and from th to tc splenic lymphocytes in absence of stress and differentially reduces cell-specific mitogenic responses. *PLoS One*. 9(3): e92664.
- **Gamaro G.D., Manolia L.P., Torresal L.S., Silveira R. et Dalmaza C., (2003).** Effects of chronic variate stress on feeding behavior and on monoamine levels in different rat brain structures. *Neurochemistry International*. 42 (2): 107-114.
- **Garcia-Bueno B., Caso J.R. et Leza J.C., (2008).** Stress as a neuroinflammatory condition in brain: damaging and protective mechanisms. *Neurosci Biobehav Rev*. 32:1136-1151.
- **Gauche E., Hausswirth C., Bieuzen F., Lepers R., Rabita J. et Brisswalter J., (2007).** Vitamin and mineral complex supplementation on maximal voluntary contraction decrease and biological markers following an eccentric exercise in elderly active people. *Sci Sports*. 22:201-9.
- **Gayral P., (1975).** Les algues : morphologie, cytologie, reproduction et écologie. *Édition Doin*.
- **Ghedira K., (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. 4: 162-169.
- **Gil B., (2013).** Comparaison et reproductibilité de trois méthodes de mesure de rigidité artérielle : impédancemétrique, échographique, tonométrique, chez des sujets sains. *Thèse de doctorat. Université de Poitiers*.

- **Glaser R. et Kiecolt-Glaser J.K., (2005).** Stress-induced immune dysfunction: implications for health. *Nat. Rev. Immunol.* 5: 243–51.
- **Glombitza K.W. et Keusgen M., (1995).** Fuhalols and deshydroxyfuhalols from the brown alga *Sargassum spinuligerum*. *Phytochemistry*, 38:987-95
- **Gomes KS., et Nunes-De-Souza R.L., (2009).** Implication of the 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} (but not 5HT_{1A}) receptors located within the periaqueductal gray in the elevated plus-maze test–retest paradigm in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 33: 1261-1269.
- **Gonzalez R., Rodriguez S., Romay C., Ancheta O., Gonzalez A., Armesto J., Ramirez D. et Merino N., (1999).** Anti-inflammatory activity of phycocyanin extract in acetic acid-induced colitis in rats. *Pharmacological Research*. 39 (1): 55-59.
- **Gordon G. R., Mulligan S. J. et MacVicar B. A., (2007).** Astrocyte control of the cerebrovasculature. *Glia*. 55:1214-1221.
- **Gorka Z., Moryl E. et Papp M., (1996).** Effect of chronic mild stress on circadian rhythms in the locomotor activity in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 54: 229-34.
- **Greden J.F., (2001).** The burden of recurrent depression: causes, consequences, and future prospects. *J. Clin. Psychiatry*. 62(22): 5-9.
- **Green J. A. et Friedland J. S., (2007).** Astrocyte-leucocyte interactions and the mechanisms regulating matrix degradation in CNS tuberculosis. *Biochem. Soc. Trans.* 35: 686 688.
- **Greenberg P.E. et Birnbaum H.G., (2005).** The economic burden of depression in the US. *Expert Opin Pharmacother.* 6(3):369-76.
- **Gregus A., Wintink A.J., Davis A.C. et Kalunchuk L.E., (2005).** Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. *Behav Brain Res.* 156:105-14.
- **Guingard J., (1996).** Biochimie végétale. *Ed. Lavoisier, Paris.* p 175-192.
- **Guix F.X., Uribesalgo I., Coma M. et Muñoz F.J., (2005).** The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain. *Progress in Neurobiology*. 76: 126-152.

H

- **Haenisch B., Bilkei-Gorzo A., Caron M.G. et Bönisch H., (2009).** Knockout of the norepinephrine transporter and pharmacologically diverse antidepressants prevent behavioral and brain neurotrophin alterations in two chronic stress models of depression. *J. Neurochem.* 111: 403-16.
- **Hageman I., Nielsen M., Wortwein G., Diemer N.H. et Jorgensen M.B., (2009).** Electroconvulsive stimulations normalize stress-induced changes in the glucocorticoid receptor and behaviour. *Behav Brain Res.* 196: 71-7.
- **Hagerman A.E., Riedl K.M., Jones A., Sovic K.N., Ritchard N.T. et Hartzfeld P.W., (1998).** High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46:1887-1892.
- **Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C. et Châpelle J.P., (2007).** Le stress oxydant. *Rev Med Liège.* 62: 628-663.
- **Hall C. S., (1938).** The inheritance of emotionality. *Sigma Xi Q.* 26: 17-27.

- **Hall C.S., (1934).** Emotional behaviour in the Rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *J. Comp. Psychol.* 385-403.
- **Handley S.L. et Mithani S., (1984).** Effects of alpha-adrenoreceptor agonists and antagonists in maze exploration model of « fear »-motivated behavior. *Naunyn-Schmiedberg's Arch Pharmacol.* 327p.
- **Haton C., (2005).** Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale. *Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France.*
- **Hawkins B.T. et Davis T.P., (2005).** The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease. *Pharmacol. Rev.* 57: 173-185.
- **Hellal M., (2007).** Phtalazinones et 2,3benzodiazépinones dérivées de l'azélastine : Synthèses et activités anti-cytokine. *Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur (Strasbourg I).*
- **Henry A., (2015).** Le stress et sclérose en plaques. *Fonction pour l'aide à la recherche sur la sclérose en plaques. Université de Reims.*
- **Hervé B., (2012).** Ulves Valorisation Nutrition Santé. Gen2Bio. Lorient. 1-38.
- **Hori S. et Ohtsuki S., (2004).** A pericyte-derived angiotensin-1 multimeric complex induces occludin gene expression in brain capillary endothelial cells through Tie-2- activation in vitro. *J. Neurochem* 89(2):503-513.
- **Huynh T.N., Krigbaum A.M., Hanna J.J. et Conrad C.D., (2001).** Sex differences and phase of light cycle modify chronic stress effects on anxiety and depressive-like behavior. *Behav Brain Res.* 222: 212-22.

K

- **Kacem K., Lacombe P., Seylaz J. et Bonvento G., (1998).** Structural organization of the perivascular astrocyte endfeet and their relationship with the endothelial glucose transporter: a confocal microscopy study. *Glia.* 23: 1-10.
- **Kawaura K., Honda S., Soeda F., Shirasaki T. et Takahama K. A., (2010).** Novel antidepressant-like action of drugs possessing GIRK channel blocking action in rats. *Yakugaku Zasshi.* 130(5): 699-705.
- **Kim J.H., Park J.A., Lee S.W., Kim W.J., Yu Y.S. et Kim K.W., (2006).** Blood-neural barrier: intercellular communication at glio-vascular interface. *J. Biochem. Mol. Biol.* 39: 339-345.
- **Kimzey S. L., (1975).** The effects of extended spaceflight on hematologic and immunologic systems. *Journal of the American Medical Women's Association.* 30: 218-232.
- **Koechlin-Ramonatxo C., (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments anti-oxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme.* 20: 165-177.
- **Kompagne H., (2008).** Examination of the chronic mild stress induced behavioral changes in the rat. *Laboratory of Behavioural Pharmacology. Biology School of Ph. D. Studies. Neuroscience and Human Biology.*
- **Korte S.M., (2001).** Corticosteroids in relation to fear, anxiety and psychopathology. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 25: 117-42.
- **Koshino T., Arai Y., Miyamoto Y., Sano Y. et Itami M., (1996).** Airway basophil and mast cell density in patients with bronchial asthma: relationship to bronchial hyperresponsiveness. *J. Asthma.* 33: 89-95.

- **Krayesky D., Norris J.N., Gabrielson P.W., Gabriel D. et Fredericq S., (2009).** A new order of red algae based on the Peyssonneliaceae, with an evaluation of the ordinal classification of the Florideophyceae (Rhodophyta). *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 122: 364-391.
- **Ksouri R., Megdiche W., Debez A., Falleh H., Grignon C. et Abdelly C., (2007).** Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant. Physiol Bioch.* 45: 244-249.
- **Kubera M., Obuchowicz E., Goehler L., Brzeszcz J. et Maes M., (2011).** In animal models, psychosocial stress-induced (neuro)inflammation, apoptosis and reduced neurogenesis are associated to the onset of depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 35: 744-759.
- **Kuner R., (2010).** Central mechanisms of pathological pain. *Nat Med*. 16(11): 1258-66.

L

- **Lacroix B.P., Moissonnier P. et Plante J., (1994).** La torsion du pédicule vasculaire de la rate. *Point Vet.* 25: 73-83.
- **Lahaye M., (1991).** Marine algac as source of fibers: determination of soluble and insoluble dietary fibre content in some sea-vegetables. *Journal Sciences Food Agric.* 54: 587-94.
- **Leclerc V., (2010).** Les secrets des algues. *Ed. Quae*. p13.
- **Lieberman A.P., Pitha P.M., Shin H.S. et Shin M.L., (1989).** Production of tumor necrosis factor and other cytokines by astrocytes stimulated with lipopolysaccharide or a neurotropic virus. *Proc Natl Acad Sci. U S A*. 86: 6348-6352.
- **Lister R.G., (1987).** The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology*. 92: 180-185.
- **Lopez C. et Lucki I., (2000).** Strain differences in the behavioral effects of antidepressant drugs in the rat forced swimming test. *Neuropsychopharmacol.* 22: 191-199.
- **Loscher W. et Potschka H., (2005).** Drug resistance in brain diseases and the role of drug efflux transporters. *Nat Rev Neurosci*. 6(8):591-602.
- **Lucki I., (1997).** The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behav. Pharmacol.* 8:523-32.

M

- **Maier S.F. et Watkins L.R., (1998).** Cytokines for psychologist: implications of bidirectional immune-to-brain communication for understanding behavior, mood, and cognition. *Psychol. Rev.* 105: 83-107.
- **Malik HELLAL. (2007).** These de doctorat, Phtalazinones et 2,3 benzodiazépinones dérivées de l'azélastine : Synthèses et activités anti-cytokine. Université Louis Pasteur (Strasbourg I). Strasbourg.
- **Marfaing H. et Lerat Y., (2007).** Des ressources marines : les algues ont-elles une place en nutrition?. *Phytothérapie*. 2-5.
- **Marin M.T., Cruz F.C. et Planeta C.S., (2007).** Chronic restraint or variable stresses differently affect the behavior, corticosterone secretion and body weight in rats. *Physiol. Behav.* 90: 29-35.

- **Marin P., Fernandez-Varo E., Escudero E. et Carceles C.M., (2007).** Pharmacokinetics after intravenous, intramuscular and subcutaneous administration of difloxacin in sheep. *Res. Vet. Sci.* 83: 234-238.
- **Maro D., Hebert D., Gandon R. et Solier L., (1999).** Dosage par spectrométrie gamma de l'iode 129 dans les échantillons biologiques marins et terrestres, Application à des algues prélevées le long des côtes de la Manche : *Fucus serratus* et *Laminaria digitata*. *Radioprotection*. 34 (1): 13-24.
- **Márquez C., Nadal R. et Armario A., (2004).** The hypothalamic-pituitary-adrenal and glucose responses to daily repeated immobilisation stress in rats: individual differences. *Neuroscience*. 123: 601-12.
- **Marti O., Marti J. et Armario A., (1994).** Effects of chronic stress on food intake in rats: influence of stressor intensity and duration of daily exposure. *Physiol Behav.* 55: 747- 53.
- **Martin J., Raibaud A., Ollo R., (1994).** Terminal pattern elements in Drosophila embryo induced by the Torso-like protein. *Nature*. 367(6465): 741-745.
- **Martoja R. et Martoja M., (1967).** Initiation aux techniques de l'histologie animale. *Ed. Masson et Cie.* Paris. 345p.
- **McDonald R.K. et Langston V.C., (1995).** Use of corticosteroids and nonsteroidal antiinflammatory agents. *In:* Ettinger, S.J., Feldman, E.C., eds. Textbook of Veterinary Internal Medicine. Diseases of the Dog and Cat. 4th ed, vol.1. Philadelphia.Pa: WB Saunders Co; 284-293.
- **McEwen B.S., (2005).** Glucocorticoids, depression, and mood disorders: structural remodeling in the brain. *Metabolism*. 54: 20-3.
- **Memory H., (2006).** Biologie Module 1, Diversité des algues et des plantes .45 p.
- **Mesiano S. et Jaffe R.B., (1997).** Developmental and functional biology of the primate fetal adrenal cortex. *Endocr Rev.* 18 : 378-403.
- **Michel C., (2000).** Algues-opéron. Biologie Module 1, Diversité des algues et des plantes. 20.
- **Middleton E., Kandaswami C. et Theoharides T.C., (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev.* 52: 673-839.
- **Mika A., Minibayeva F., Beckett R. et Liithje S., (2004).** Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Photochemistry Reviews*. 3: 173-193.
- **Miller Andrew H., (2010).** Depression and immunity: A role for T cells?. *Brain, Behavior, and Immunity*. 24: 1-8.
- **Misro M.M., Chaki S.P., Srinivas M. et Chaube S.K., (1999).** Effect of cyclosporine on human sperm motility in vitro. *Arch Androl.* 43: 215-20.
- **Mizoguchi K., Yuzurihara M., Ishige A., Sasaki H. et Tabira T., (2002).** Saiko-ka-ryukotsuborei- to, an herbal medicine, prevents chronic stress-induced disruption of glucocorticoid negative feedback in rats. *Life Sci.* 72: 67-77.
- **Mollace V., Nottet H. S. L. M., Clayette P., Turco M. C., Carolina Muscoli C., Salvemini D. et Perno C.F., (2001).** Oxidative stress and neuroAIDS: triggers, modulators and novel antioxidants. *Trends Neurosci.* 24: 411-416.

- **Montgomery K.C.,(1955).** The relationship between fear induced by novel stimulation and exploratory behaviour. *J. Comp Physiol Psychol.* 48: 254-260.
- **Moreau J.L., Scherschlicht R., Jenck F. et Martin J.R.,(1995).** Chronic mild stress-induced anhedonia model of depression; sleep abnormalities and curative effects of electroshock treatment. *Behav. Pharmacol.* 6: 682–7.

N

- **Naegelé E. et Naegelé A., (1967).** Les algues. *Ed. Presses universitaires de France.* Paris.
- **Nakamura T., Nagayama K., Uchida K. et Tanaka R., (1996).**Antioxidant activity of phlorotannins isolated from the brown alga *Eiseniabicyclis*. *Fish Sciences.*62(6): 923-6.
- **Nijveldt R.J., Nood E., Hoorn D.E., Boelens P.G., Norren K. etLeeuwen P., (2001).** Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. ClinNutr.* 74: 418–425.

O

- **OldendorfW.H., Cornford M.E. et Brown W.J.,(1977).** The large apparent work capability of the blood-brain barrier: a study of the mitochondrial content of capillary endothelial cells inbrain and other tissues of rat. *Ann Neurol.* 5: 409-17.
- **Ostrander E.A, Giger U. etLindblad-Toh K.,(2006).** The dog and its genome.*Cold Spring Harbor Laboratory Press, Woodbury.* New York.
- **Ozenda P., (2000).** Les végétaux : organisation et diversité biologique. *Edition Dunod.* Paris.

P

- **PâdulaM. etBoiteux S.,(1999).** Photodynamic DNA damage induced by phycocyanin and its repair in *Saccharomyces cerevisiae*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 32(9): 1063-1071.
- **Papp M. et Willner P., (1991).** An animal model of anhedonia: attenuation of sucrose consumption and place preference conditioning by chronic unpredictable mild stress.*Psychopharmacology.* 104(2): 255-9.
- **Paris M. etHurabielle M., (1981).** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. *Ed Masson.* Paris.pp :102-103-104-107.
- **Pellow C.P., File S.E. et Briley M., (1985).** Validation of open: closed arm entries in Elevated plus maze as a measures of anxiety in the rat. *J. Neurosci Methods.* 14(3):149-67.
- **Persidsky Y., Ramirez S.H., Haorah J. et Kanmogne G.D., (2006).**Blood-brainbarrier: structural components and functionunderphysiologic and pathologic conditions. *J. Neuroimmune.Pharmacol.* 1: 223-236.
- **Person J., Lando D. etMathieu D., (2010).** Algues, filières du futur. Livre Turquoise. *Ed. adebioihech.*182p.
- **Pietta P.G., (2000).** Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products.* 63: 1035-1042.

- **Pollmacher T., Haack M., Schuld A., Reichenberg A. et Yirmiya R., (2002).** Low levels of circulating inflammatory cytokines--do they affect human brain functions?. *Brain Behav. Immun.* 16: 525-532.
- **Porsolt R.D., Anton G., Blavet N. et Jalfre M., (1978).** Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur. J. Pharmacol.* 47(4): 379-91.
- **Porsolt R.D., Bertin A.G., Blavet N., Deniel M. et Jalfre M., (1979).** Immobility induced by the FST in rodents: effects of agents which modify central catecholamines and serotonergic activity. *Eur. J. Pharm.* 57: 201- 210.
- **Porsolt R.D., Bertin A. et Jalfre M., (1977).** Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie.* 229(2): 327-336.
- **Porsolt R.D., LePichon M. et Jalfre M., (1977).** Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature.* 266: 730-732.
- **Power C., Gill M. J. et Johnson R. T., (2002).** Progress in Clinical Neurosciences: The Neuropathogenesis of HIV Infection: Host-Virus Interaction and the Impact of Therapy. *Can. J. Neurol. Sci.* 29: 19-32.
- **Prunt L. et Belzung C., (2003).** The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur. J. Pharmacol.* 163:3-33.
- **Pucilowski O., Overstreet D.H., Rezvani A.H. et Janowsky D.S., (1993).** Chronic mild stress-induced anhedonia: greater effect in a genetic rat model of depression. *Physiol Behav.* 54: 1215-1220.



- **A. Romani, P. Pinelli, C. Cantini, A. Cimato and D. Heimler., (2006)** Characterization of Violetto di Toscana, a typical Italian variety of artichoke (*Cynara scolymus* L.). *J. Food Chem.* Vol. 95. pp. 221-225.
- **Ramsauer M., Krause D., (2002).** Angiogenesis of the blood-brain barrier in vitro and the function of cerebral pericytes. *FASEB J.* 16(10) :1274-1276.
- **Regenthal R., Koch H., Köhler C., Preiss R. et Krügel U., (2009).** Depression-like deficits in rats improved by subchronic modafinil. *Psychopharmacology.* 204:627-39.
- **Remirez D., Gonzalez A., Merino N., Gonzalez R., Ancheta O., Romay C. et Rodriguez S., (1999).** Effect of phycocyanin in zymosan-induced arthritis in mice- phycocyanin as an antiarthritic compound. *Drug Development Research.* 48: 70-75.
- **Rice-Evans C.A., Miller N.J. et Paganga G., (1997).** Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* 2: 152-159.
- **Righi M., Mori L., De Libero G., Sironi M., Biondi A., Mantovani A., Donini S.D. et Ricciardi-Castagnoli P., (1989).** Monokine production by microglial cell clones. *Eur. J. Immunol.* 19: 1443-1448.
- **Rivard-Sirois C., (2005).** les algues. *Ed. Dunod.* Paris .P 732.
- **Rothwell N.J. et Luheshi G.N., (2000).** Interleukin 1 in the brain: biology, pathology and therapeutic target. *Trends Neurosci.* 23: 618-625.
- **Rothwell N.J., Luheshi G. et Toulmond S., (1996).** Cytokines and their receptors in the central nervous system: physiology, pharmacology, and pathology. *Pharmacol. Ther.* 69: 85-95.

- **Rubin R.T., Mandell A.J. et Crandall P.H.,(1966).** Corticosteroid responses to limbic stimulation in man: localization of stimulus sites. *Science*. 153(3737): 767-8.
- **Rybkin I.I., Zhou Y., Volaufova J., Smagin G.N., Ryan D.H. et Harris R.B.,(1997).**Effect of restraint stress on food intake and body weight is determined by time of day. *Am J. Physiol.*273:1612-22.

S

- **Schwartz M., Solomon A., Lavie V., Ben-Bassat S., Belkin M. et Cohen A.(1991).**Tumor necrosis factor facilitates regeneration of injured central nervous system axons. *Brain Res*. 545: 334-338.
- **Schweizer M.C., Henniger M.S. et Sillaber I., (2009).** Chronic mild stress (CMS) in mice: of anhedonia, ‘anomalous anxiolysis’ and activity. *PLoS ONE*.4:e4326.
- **Selye H., (1974).** Stress without distress. *Psychopathology of Human Adaptation*. New York American Library. pp: 137-146.
- **Selye H., (1976).** The stress of life. *Ed. Papermark*.
- **Shekhar A., Truitt W., Rainnie D. et Sajdyk T.,(2005).** Role of stress, corticotrophin releasing factor (CRF) and amygdala plasticity in chronic anxiety. *Stress Amst. Neth*. 8: 209-19.
- **Shimizu H., (2004).** Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama study. *Stroke*. 35(9): 2072-2077.
- **Shimizu N., Oomura Y. et Kai Y., (1989).** Stress-induced anorexia in rats mediated by serotonergic mechanisms in the hypothalamus. *PhysiolBehav*.46:835-41.
- **Shuichi C., Tadahiro N., Midori N., Misty C.R, Chisato W. et 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: 112-119.
- **Siegel G., Agranoff B., Albers R.W. et Molinoff P., (1989).** Basic Neurochemistry. *Raven Press*, New York.
- **Silberman D.M., Ayelli-Edgar V., Zorrilla-Zubilete M., Zieher L.M. et Genaro A.M.,(2004).** Impaired T-cell dependent humoral response and its relationship with T lymphocyte sensitivity to stress hormones in a chronic mild stress model of depression. *Brain. Behav. Immun*. 18: 81-90.
- **Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Tiras A.R., Simonie M. et Knez Z., (2005).** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chem*. 89: 191-198.
- **Skurlova M., Stofkova A. et Jurcovicova J., (2011).** Anxiety-like behavior in the elevated-plus maze tests and enhanced IL-1, IL-6, NADPH oxidase-1, and iNOS mRNAs in the hippocampus during early stage of adjuvant arthritis in rats. *Neuroscience Letters*. 487:250-254.
- **Souquet A.M. et Fantino M.,(1993).** Stress and dexfenfluramine: effects on the immune response and energy balance in the rat. *PharmacolBiochemBehav*.45:495-500.
- **Swiergiel A.H., Zhou Dunn A.J.,(2007).** Effects of chronic footshock, restraint and corticotropin-releasing factor on freezing, ultrasonic vocalization and forced swim behavior in rats. *Behav Brain Res*. 183:178-87.

- **Szelenyi J.,(2001).** Cytokines and the central nervous system. *Brain Res.Bull.* 54: 329-338.

T

- **Tafet G.E. et Bernardini R.,(2003).**Psychoneuroendocrinological links between chronic stress and depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 27:893-903.
- **Taviano M.F., Marino A., Trovato A., Bellinghieri V., Melchini A., Dugo P., Cacciola F., Donato P., Mondello L., Guvenc A., De-Pasquale R. et Miceli N., (2013).***Juniperusoxycedrus*L. subsp. *oxycedrus*and *Juniperusoxycedrus*L. subsp.*macrocarpa*(Sibth. & Sm.) Ball. “Berries” from Turkey: Comparative evaluation of phenolic profile, antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities.*Food and Chemical Toxicology.*58: 22-29.
- **Tilling T., korte D., hoheisel D. et galla H.J., (1998).**Basement membrane proteins influence brain capillary endothelial barrier function in vitro. *J. Neurochem.* 71(3):1151-7.
- **Troxler R.G. et Schwertner H.A., (1985).**Cholesterol, stress, lifestyle, and coronary heart disease. *Aviat. Space Environ. Med.* 56 : 660-665.
- **Türk G., Atessahin A., Snmez M., Yüce A. et Ceribası A.O.,(2007).** Lycopene protects against cyclosporine A-induced testicular toxicity in rats. *Theriogenology.* 67:778-85.

U

- **Ulrich-Lai Y.M., Figueiredo H.F., Ostrander M.M., Choi D.C., Engeland W.C. et Herman J.P. (2006).** Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 291:965-973.

V

- **Vargas G.A et Arnett P.A., (2013).**Attributional style and depression in multiple sclerosis: the learned helplessness model. *Int J MS are.* 15(2): 81-9.
- **Veenema A.H. et Neumann I.D.,(2007).** Neurobiological mechanisms of aggression and stress coping: a comparative study in mouse and rat selection lines. *Brain BehavEvol.* 70: 274-85.
- **Venugopal V., (2009).** Marine products for healthcare functional and bioactive nutraceutical compounds from the ocean. *Ed. CRC press Taylor & Francis group.*
- **Visioli F., Borsani L. et Galli C., (2000).** Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of Phytochemicals. *Cardiovascular Research.*47: 419–425.

W

- **Waksmundzka-Hajnos M. et Sherma J., (2011).** High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical science. *Chromatographic Science Series*.477-478.
- **Walker J.E., Saraste M., Runswick M.J. et Gay N.J.,(1982).** Distantly related sequences in the alpha- and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide-binding fold. *Embo J.* 1 (8): 945-51.
- **Wallace D.R.,(2006).** HIV neurotoxicity: potential therapeutic interventions. *J. Biomed Biotechnol.* 1-10.
- **Watanabe F., Takenaka S., Katsura H., Zakir Hussain Masumder S. A. M., Abe K., Tamura Y. et Nakano Y.,(1999).** Dried green and purple lavers (nori) contain substantial amounts of biologically active vitamin B(12) but less of dietary iodine relative to other edible seaweeds. *Agricultural and Food Chemistry*.47 (6): 2341-2343.
- **Weiss N., Miller F., Cazaubon S. et Couraud P.O.,(2009).** The blood-brain barrier in brain homeostasis and neurological diseases. *Biochim Biophys Acta*. 1788(4):842-857.
- **Whooley M.A., Caska C.M., Hendrickson B.E., Rourke M.A., Ho J. et Ali S., (2007).** Depression and inflammation in patients with coronary heart disease: findings from the Heart and Soul Study. *Biol. Psychiatry*. 624: 314-320.
- **Widjaja-Adhi A.M.K., Hosokawa M. et Miyashita K.,(2011).** Comparative antioxidant activity of edible Japanese brown seaweeds. *Journal of Food Science*.76: 104-111.
- **Willner P. et Muscat R., (1992).** Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *NeuroSci Biobehav Rev.* 16(4): 525-34.
- **Willner P., (1997).** Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology*.134: 319-329.
- **Willner P., Towell A., Sampson D., Sophokleous S. et Muscat R.,(1987).** Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology*.93: 358-64.
- **Wollman I., (2010).** Rôle de l'audition dans la perception de l'espace. *Thèse de doctorat*. Paris. France. pp139.

Y

- **Yan X., Chuda Y., Suzuki M. et Nagat T.,(1999).** Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hifikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Bioschi Biotechnol Biochem.* 63(3): 605- 607.
- **Yong-Xin L., Isuru W., Yong L. et Se-Kwon K.,(2011).** Phlorotannins as bioactive agents from brown algae. *Process Biochemistry*.46: 2219-2224.
- **You Z., Luo C., Zhang W., Chen Y., He J., Zhao Q., Zuo R. et Wu Y., (2011).** Pro- and anti-inflammatory cytokines expression in rat's brain and spleen exposed to chronic mild stress: Involvement in depression. *Behavioural Brain Research*. 225: 135-141.

Z

- **Zaafour M., Fraia A., Frih H., Guernine S., Djemli S. et Ali Rachedi, B.(2015).**Assessment of steroids changes (testosterone and oestradiol) after BCG inoculation in sciatic nerve injury model (male Wistar rat). *Global Veterinaria (in press)*.14(6): 805-812.
- **Zhao Q., Rui Z. et Wu Y.,(2011).** Pro- and anti-inflammatory cytokines expression in rat's brain and spleen exposed to chronic mild stress: Involvement in depression. *Behavioural Brain Research*. 225:135-141.
- **Zlokovic B.V.,(2008).**The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron*. 57:178-201.
- **Zunszain P.A., Anacker C., Annamaria C., Carvalho L.A. et Pariante C.M., (2011).** Glucocorticoids, cytokines and brain abnormalities in depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*.35: 722-729.