

INTRODUCTION

Un ensemble de travaux récents a montré l'importance des interactions entre les systèmes immunitaires et neuroendocriniens au cours des processus adaptatifs. Ces influences réciproques, corroborées par la mise en évidence des récepteurs lymphocytaires de nombreux neuropeptides et hormones, sont illustrées par la capacité de ces dernières de moduler la réponse immune et par celle des cellules immunitaires de produire des neuropeptides agissant sur les fonctions neuroendocriniennes. Ces interférences ont été particulièrement bien étudiées à propos de l'axe corticotrope.

L'action inhibitrice des glucocorticoïdes sur la réponse immune est connue de longue date [Besedovsky HO et al., 1975, Besedovsky, HO et al., 1979]. L'action de l'ACTH a aussi un effet immunodépresseur sur le rat surrenalectomisé: elle inhibe la production d'anticorps après stimulation antigénique et freine la production d'interférons *gamma* induits par l'entérotoxine staphylococcique [Johnson HM. et al., 1982]. Le précurseur pro-opio-mélano corticotrope peut se scinder de différentes manières selon la nature du stimulus antigénique [Smith EM. et Blalock JE. 1986] ce qui permet d'envisager la possibilité d'une modulation très fine de la réponse immune.

Réciproquement, le système immunitaire sécrète des messagers qui agissent sur les systèmes nerveux et endocrinien. L'interleukine 1 perturbe les phases du sommeil et influence les régulations thermiques et le comportement [Dinarello CA. 1984]. L'interleukine augmente l'ACTH hypophysaire [Wolosky BM et al. 1985]. Les thymosines stimulent in vitro l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénaliens [Hall NR. et al. 1985], enfin, la production d'ACTH et de β -endorphine lymphocytaire peut être activée lors d'un stress [Besedovsky HO et al., 1979, Smith EM. et Blalock JE. 1981, Smith EM. et Blalock JE. 1986, Okimura T. et al., 1986].

Par ailleurs, les capacités adaptatives suite à la riposte au stress via l'axe corticotrope, peuvent être assimilées à une réponse développée par l'organisme suite à une agression nociceptive du type pollution.

MATERIEL ET METHODES

Des rates gestantes Wistar (Inst. Pasteur Alger) sont soumises à une photopériode naturelle, à une hygrométrie de 60 p.cent et sont constituées en six lots après la réussite de l'accouplement: Témoin (T), Témoin immunisé (TI), tressé (S), Stressé immunisé (SI), Gavé (G) et Gavé immunisé (Gi)

L'immunisation par la thyroglobuline porcine (SIGMA) à raison de 25µg/20g de poids vif associé à l'adjuvant complet de Freund (v/v) à la première immunisation (0j) et à l'adjuvant incomplet de Freund (v/v) à la 2^{ème} et la 3^{ème} immunisation (6^{ème} et 12^{ème} j)

Le stress est imposé en plaçant l'animal dans une enceinte saturée d'éther pendant 60 secondes une fois par jour. Le traitement à l'ammonitrate s'effectue par gavage à raison de 250 mg/Kg de poids vif.

Les prélèvements sont toujours effectués à la même heure (8 heures) au niveau de la veine caudale, 7 mn après le stress. Le sang est recueilli sur héparine (dosage de la MetHb), sur EDTA (dosage de l'ACTH) et sur lames pour les frottis sanguins.

Le dosage de l'ACTH et de la prolactine est réalisé par la méthode radioimmunologique utilisant respectivement le Kit ACTHK-PR (Boehringer) et le Kit RIA-GNOST PROLACTIN

Le dosage de la MetHb repose sur la technique d'Evelyn et Malloy (1975) par l'utilisation du tampon de Sorensen.

Les organes (foie, rate, surrénale, thymus) sont prélevés et pesés.

Les moyennes obtenues sont comparées par le test "t" de Student.

RESULTATS

Taux de lymphocytes (Tableau.1)

Il existe une différence significative entre les valeurs du témoin par rapport à celles de tous les autres groupes à 6,12 et 18 jour de la gestation. Le taux le plus élevé est observé chez le lot (G).

Lots Jours	T	Ti	S	Si	G	Gi
6èj	52,16%	53,60%	55,60%	58,20%	56,00%	a,b 60,82%
12èj	56,00%	59,80%	60,20%	60,40%	57,60%	a,b 62,30%
18èj	^c 53,50%	61,80%	60,00%	60,83%	^c 50,20%	a,b 62,66%

Tableau 1 : Variations des taux de lymphocytes chez les rattes gestantes après stimulation antigénique et nociceptive (stress et administration de NH₄NO₃) n = 6.

a : p < 0,05 (Gi vs G), b : p < 0,05 (Gi vs T), c : p < 0,05 (Ti vs T)

Méthémoglobine sanguine (Tableau2)

Elle est significativement plus élevée à partir du 6ème jour, dans les lots (G) et (GI) par rapport aux autres lots. Ces taux diminuent progressivement pour revenir au niveau basal au bout de 18 jours de gestation

Taux Meth.% /lot jour-prélev.	T	Ti	G	Gi
6èj	2,50	2,10	a 5,70	a 5,10
12èj	2,40	2,20	a 4,47	a 3,80
18èj	2,30	2,10	2,90	2,50

Tableau 2: Taux de la méthémoglobine sanguine chez les rattes gestantes après stimulation antigénique et nociceptive (stress et administration de NH_4NO_3) (n = 6).

a : $p < 0,05$ (G ,Gi vs T)

Teneur en glutathion hépatique (Tableau.3)

La quantité de glutathion hépatique est significativement plus élevée dans le lot (S). Elle diminue après immunisation pour atteindre le niveau du lot (T).

Lots	T	Ti	S	Si	G	Gi
GSH hépatique µg/mg prot.	19,68±1,13	07,96±1,07 **	19,87±2,20	07,20±1,20 **	10,82±1,30 **	11,14±1,32 *

Tableau 3: Variation de la teneur du glutathion (GSH) dans le foie chez les rattes gestantes après stimulation antigénique et nociceptive (stress et administration de NH_4NO_3) (n=6) .

* : $p < 0,01$, T vs autres groupes

** : $p < 0,001$, T vs autres groupes

Poids des organes (Tableau.4)

Le poids du foie du lot (G) et (SI) est significativement plus élevée par rapport à celui des autres lots. En revanche le poids du rein augmente dans tous les groupes vis à vis du lot (T). Le poids du thymus

diminue dans les lots (S),(G) et (GI). Si le poids de la surrénale diminue dans le lot (S), il reste comparable au lot (T) pour le lot (GI). Enfin, le poids de la rate est significativement plus élevé dans le lot (TI) par rapport aux autres lots.

Lots Exp.	T	Ti	S	Si	G	Gi
Poids (g) d'organes						
Foie	6,84±0,50	6,76±1,54	7,27±1,54	8,86±0,62	9,76±1,32	6,95±1,08
Rein	0,55±0,04	0,80±0,04	0,72±0,15	0,70±0,02	0,63±0,02	0,64±0,02
Surrénale	0,04±0,008	0,07±0,008	0,03±0,004	0,04±0,004	0,03±0,009	0,06±0,008
Rate	0,57±0,02	0,51±0,06	0,47±0,07	0,58±0,04	0,57±0,08	0,58±0,08
Thymus	0,93±0,03	0,96±0,18	0,76±0,15	1,10±0,09	0,82±0,02	0,72±0,09

Tableau 4 : Variations des poids des organes (foie, rate, thymus, rein et surrénale) chez les rattes gestantes après stimulation antigénique et nociceptive (stress et administration de NH₄NO₃) (n=6).

* : p < 0,001, T vs autres groupes (pour chaque organe)

Concentrations plasmatiques de la prolactine (Tableau.5)

La concentration plasmatique de la prolactine augmente significativement à partir du 12^{ème} jour de la gestation dans les différents lots.

Jours	Stressés	Str. + Imm.	Gavés
0	5,51 ± 4,0 ^a	5,54 ± 9,1 ^a	5,52 ± 7,2 ^a
6	5,58 ± 3,8 ^a	5,61 ± 5,4 ^a	5,59 ± 3,5 ^a
12	56,41 ± 16,02	56,31 ± 12,3	56,46 ± 17,1
18	57,31 ± 8,5 ^b	58,12 ± 11,1 ^b	55,10 ± 13,4

Tableau 5 : Taux de prolactine plasmatique (ng/ml) chez les rattes gestantes après stimulation antigénique et nociceptive (stress et administration de NH₄NO₃) (n = 6).

a : p < 0,0001 0 et 6^è vs 12 et 18^è

b : p < 0,01 18^è : G vs S, Si

Concentrations plasmatiques de l'ACTH (Tableau.6)

La riposte corticotrope se situe au 6^e jour, elle est de la même intensité chez les lot (S) et (SI), par contre chez le lot (G), le taux d'ACTH est trois fois plus important que celui des deux autres groupes (S et SI). La situation se révèle fort différente lors du 12^e jour où le stress ne modifie que très peu la réponse corticotrope alors que le stress associé à l'immunisation s'avère doubler le taux d'ACTH.

Au 18^e jour, les variations de la réponse corticotrope sont marquées par une riposte nette chez le lot (S) où le taux d'ACTH est doublé par rapport à celui du 12^e jour; il augmente également chez le groupe (SI) alors qu'il chute chez le lot (G).

Jours	Stressés	Str. + Imm.	Gavés
0	98 ± 1,74 ^a	69 ± 2,18 ^a	88,8 ± 2,1 ^a
6	233 ± 2,59	236 ± 2,03 ^b	609 ± 13,3
12	272 ± 4,63 ^c	520 ± 3,15 ^c	701 ± 1,85 ^c
18	510 ± 4,00	682 ± 1,67	582 ± 8,34

Tableau 6: Taux d'ACTH plasmatique (pg/ml) chez les rattes gestantes après stimulation antigénique et nociceptive (stress et administration de NH₄NO₃) (n=6).

a : p < 0,0001, 0j vs autres jours

b : p < 0,0001, 6^ej vs 12^ej

c : p < 0,0001, 12^ej vs 18^ej

DISCUSSION

Le système immunitaire tient sa finalité dans le maintien de l'intégrité de l'organisme [Besedovsky HO et al., 1975, Smith EM. et Blalock JE. 1986]. Toute molécule d'une taille et d'une diversité suffisante peut provoquer une réponse immunitaire [Voisin GA, 1990].

En appréhendant le taux lymphocytaire chez les animaux stressés, gavés et leurs homologues immunisés, il apparaît que ce taux est élevé chez les sujets ayant subi une stimulation antigénique.

L'accroissement des taux de lymphocytes au 12^{ème} jour de la gestation confirme à notre sens l'idée fort appuyée qu'une seconde présentation du même antigène entraîne une réponse accélérée et plus intense [Besedovsky HO et al., 1975, Smith EM. et Blalock JE. 1986, Voisin GA, 1990].

L'étude des effets du stress sur l'immunité a été contournée depuis longtemps à l'étude des effets dépressifs; actuellement, de nombreux auteurs (Besedovsky HO et al., 1975, Smith EM. et Blalock JE. 1981, Smith EM. et Blalock JE. 1986, Voisin GA, 1990) trouvent que suivant l'agression on peut observer soit une stimulation soit un effondrement.

La présence d'un xénobiotique semble perturber les fonctions défensives de l'organisme; ainsi il était intéressant de noter une chute du taux lymphocytaire chez les animaux gavés à l'ammonitrate dès le 12^{ème} jour de la gestation. Si cette baisse est constatée également au niveau des lots (T) et (S), elle demeure plus prononcée chez les rates gavées.

Ces schémas interactionnels trouvent désormais un écho certain dans notre travail et plus particulièrement au niveau des réponses corticotropes des rates gestantes au 6^{ème} jour lorsque ces dernières subissent un stress éther et /ou une immunisation à la thyroglobuline. De même, le xénobiotique est perçu physiologiquement comme une substance chimique étrangère et au niveau central comme un stress [Dantzer R. et Crestani F. 1988]. En effet, les rates gavées ripostent à cette intrusion d'ammonitrate par une décharge d'ACTH perçue au 6^{ème} jour comparablement à celle engendrée par le stress, mais encore celle-ci s'amplifie au 12^{ème} jour pour atteindre des niveaux très élevés qui témoignent de l'intensité de l'agression.

D'autres faits intéressants résident dans les fluctuations des niveaux d'ACTH survenant le 12^{ème} jour où on assiste à un doublement de la valeur d'ACTH du 6^{ème} jour chez les rates stressées immunisées alors que les rates stressées s'accoutument au stress chronique intermittent en stabilisant leur niveau ACTH au même niveau que celui du 6^{ème} jour. Cette accoutumance ou habituation a fait l'objet de plusieurs études psychophysiologiques. Chez les oiseaux [Edens FW., 1978] comme chez les mammifères [Daniels-severs A. et al., 1973, Amiragova MG. et al., 1983], après une augmentation initiale des corticostéroïdes plasmatiques et surrénaliens, on observe un retour au niveau basal malgré la persistance de la situation agressive. C'est ce que l'on décrit comme le processus de l'habituation [Sakellaris PC. et Vernicos-Danellis J., 1975, Yannai S., 1983]. Cette habituation se manifeste également dans le cas de stress chronique intermittent [Burchfield SR. et al., 1980, Kant GJ et al., 1983] et nous la retrouvons chez le pigeon thalamique : bien que le stress ait été répété avec la même intensité, son efficacité diminue progressivement.

Le mécanisme de l'habituation au stress chronique intermittent implique certainement la participation du thalamus et plus précisément du noyau antéro-dorso-médian.

Ceci est sans doute en conformité avec les données rapportées par Stone EA et Platt JE [1982] selon qui l'adaptation au stress s'accompagne, chez le rat, d'une diminution de la densité des récepteurs β -adrérgiques dans le cerveau, et tout particulièrement dans l'hypothalamus alors qu'un stress aigu n'entraîne aucun effet de ce genre.

Par ailleurs, le système immunitaire semble également participer aux variations de l'intensité de la réactivité de l'axe corticotrope puisque au 12^{ème} jour de l'expérimentation, la riposte corticotrope chez les stressés uniquement est deux fois moins importante que celle des stressés immunisés, sachant que les deux groupes ont subi un stress de même nature et de même durée.

A cet égard, on pourrait admettre deux hypothèses ; la première expliquerait le supplément de réactivité de l'axe corticotrope par une influence directe du système immunitaire. Dans ce contexte, la littérature concernant ces influences s'est considérablement enrichie au cours de cette dernière décennie.

Au premier rang des signaux immunitaire destinés à activer la cible corticotrope se trouve l'IL-1. L'inoculation de NDV à la souris fait augmenter l'ACTH et la corticostérone plasmatique, l'injection de surnageant de cellules spléniques ou de leucocytes humains préalablement confrontés au NDV le fait aussi, et cette réponse est supprimée par l'injection antérieure d'anticorps anti IL-1 [Besedovsky HO. et al., 1986]. L'injection d'IL-1 (native ou recombinant, 0,5 μ g i.p.) chez le rat fait augmenter ACTH et corticostérone.

Le xénobiotique est perçu physiologiquement comme une substance chimique étrangère et au niveau central comme un stress (5); en effet les rates gavées ripostent à cette intrusion par une décharge d'ACTH (dès le 6^{ème} jour) comparable à celle engendrée par le stress; celle-ci s'amplifie au 12^{ème} jour pour atteindre des niveaux très élevés qui témoignent de l'intensité de l'agression.

Le profil prolactinique au début de la première semaine de la gestation semble, en dehors de tout traitement, rester au niveau des valeurs basales (Smith EM. et Blalock JE. 1981,9)

En revanche, les résultats montrent une hypersécrétion à l'approche de la parturition chez tous les groupes et dans un ordre croissant du (SI) au (S) et enfin les (G). Cette décharge a été notée chez les femmes dans le dernier tiers de la grossesse et sera nécessaire afin d'initier et préparer les glandes mammaires à la sécrétion de lait (Smith EM. et Blalock JE. 1981).

De toute évidence, plusieurs aspects plaident en faveur de l'interrelation immuno-neuro-endocrinologique. Cette étude désigne

clairement une série de résultats comme des éléments importants de cette double régulation:

- une réponse corticotrope en réaction au stress (fluctuation des niveaux d'ACTH)
- une immunosuppression (diminution du taux lymphocytaire, chute du poids du thymus)
- une toxicité tissulaire (hépatique) et une mortalité néo-natale jetant les bases d'une hypothétique similitude avec l'effet du stress.

Bien que les données disponibles soient, au stade actuel, plus équivoques; nos résultats ont néanmoins montré que la stimulation antigénique suscite les mêmes effets que l'administration du xénobiotique.

Sur un autre registre, le stress et le polluant entraînent des perturbations qualitativement différentes, perçus par le SNC, ils entraînent une riposte corticotrope et par le SI qui réagit en mitigeant sa réponse entre l'excès (entraînant un dysfonctionnement des grandes fonctions) et sa suppression (préjudiciable à l'organisme par le développement du syndrome infectieux).

BIBLIOGRAPHIE

- AMIRAGOVA, M.G.; ARKHANGEL'SKAYA, M.I.; VORONTSOV, V.I.** (1983). Neuropsychological and hormonal correlates of chronic immobilization stress. *Bull. Exp. Biol. Med.* 95 : 723.
- BESEDOVSKY, H.O. ; DELEREY, A. ; SORKIN, J.** (1979). Antigenic competition between horse and sheep red blood cells as a hormone dependent phenomenon. *Clin. Exp. Immunol.* 37:106
- BESEDOVSKY, H.O.; DEL REY, A; SORKIN, E.; DINARELLO, C.A.** (1986). Immunoregulatory feed back between IL1 and glucocorticoid hormones. *Sciences.* 233 : 652.
- BESEDOVSKY, H.O.; SORKIN, E.; KELLER, M.; MULLER, J.** (1975). Changes in blood levels during the immune response. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 150 : 466.
- BURCHFIELD, S.R.; WOODS, S.C.; ELICH, M.S.** (1980). Pituitary adrenocortical response to chronic intermittent stress. *Physiol. Behav.* 24 : 297.
- DANIELS-SEVERS, A.; GOODWIN, A.; KEIL, L.C.; VERNICOS-DANELIS, J.** (1973). Effect of chronic crowding and cold on the pituitary-adrenal system : responsiveness to an acute stimulus during chronic stress. *Pharmacology.* 9 : 348.
- DANTZER, R.; CRESTANI, F.** (1988). Conditionning of immune responses, Elsevier, Amsterdam. 213-225.
- DINARELLO CA.** (1984). *N. Engl.J.Med.* 311: 1413-1418.

- EDENS, F.W.** (1978). Adrenal cortical insufficiency in young chickens exposed to a high ambient temperature. *Poult. Sci.* 57 : 1746.
- HALL, N.R.; GILLIS, J.M.C.; SPANGELO, B.L.; GOLDSTEIN, H.** (1985). Evidence that thymosine and other biologic response modifiers can function as neuroactive transmitters. *J. Immunol.* 135 : 806-810.
- JOHNSON, H.M.; SMITH, E.M.; TORRES, B.A.; BLALOCK, J.E.** (1982). Neuroendocrine hormone regulation of in vitro antibody production. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 79 : 4226.
- KANT, G.J.; BUNNEL, B.N.; MOUGET, E.H.; PENNINGTON, L.L.; MEYERHOFF, J.L.** (1983). Effects of repeated stress on pituitary cyclic AMP, and plasma prolactin, corticosterone and growth hormone in male rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 18 : 967.
- OKIMURA, T.; OGAWA, M.; YAMAUCHI, T.; SASAKI, Y.** (1986). Stress and immune responses. IV. Adrenal involvement in the alteration of antibody responses in restraint stressed mice. *J. Pharmacol.* 41 : 237.
- SAKELLARIS, P.C.; VERNICOS-DANELIS, J.** (1975). Increased rate of response of the pituitary adrenal system in rats adapted to chronic stress. *Endocrinology.* 97 : 597.
- SMITH, E.M. and BLALOCK, J.E.** (1986). In Enkephalins and Endorphins : Stress and the immune system. Plotnikoff Eds Plenum Press N.Y. 119-127.
- SMITH, E.M., BLALOCK, J.E.** (1981). Human lymphocyte production of ACTH et endorphin like substances. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 78 : 7530-7534.
- STONE, E.A.; PLATT, J.E.** (1982). Brain adrenergic receptors and resistance to stress. *Brain Res.* 237 : 405.
- VOISIN, G.A.** (1990). Reproduction et immunologie : rapports et apports réciproques in : Immunologie de la reproduction. Med. Sci. Flammarion. Paris. 43-86.
- WOLOSKY, B.M.; SMITH, R.N.J.; SMITH, E.M.; MEYER, W.J.; FULLER, J.M.; BLALOCK, J.E.** (1985). Corticotropin releasing activity of monokines. *Science.* 230 : 1035.
- YANNAI, S.** (1983). Adrenocortical response to single and repeated doses of chloroform in rats. *Arch. Toxicol.* 54 : 145.

*Département de Biologie. Faculté des sciences
Université BADJI Mokhtar de Annaba