



**HAL**  
open science

# Impact d'un traitement néonatal par différents antagonistes des récepteurs NMDA et du magnésium sur le comportement et sur les taux cérébraux des neurotransmetteurs chez la souris adulte

Marie Mordelet

► **To cite this version:**

Marie Mordelet. Impact d'un traitement néonatal par différents antagonistes des récepteurs NMDA et du magnésium sur le comportement et sur les taux cérébraux des neurotransmetteurs chez la souris adulte. Sciences pharmaceutiques. 2016. dumas-01412180

**HAL Id: dumas-01412180**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01412180v1>**

Submitted on 8 Dec 2016

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**UNIVERSITE DE ROUEN**

**UFR DE MEDECINE ET DE PHARMACIE**

Année 2016

**THESE**

**pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Présentée et soutenue publiquement le 26 mai 2016

par

Mordelet Marie

Née le 10 janvier 1991 à Rouen

**Impact d'un traitement néonatal par différents antagonistes  
des récepteurs NMDA et du magnésium sur le comportement  
et sur les taux cérébraux des neurotransmetteurs chez la souris  
adulte**

Président du jury : Mr Jean-Marie VAUGEOIS, Professeur

Membres du jury : Mme Nathalie DOURMAP, Maître de conférences

Mr Philippe LEROUX, Chargé de recherche à l'Inserm

Mr Philippe LEMOINE, Docteur en pharmacie

# Remerciements

## **Au Professeur Jean-Marie Vaugeois,**

Merci d'avoir accepté de présider ce jury de thèse et merci pour l'intérêt que vous portez à mon travail.

## **A Monsieur Philippe Leroux,**

Merci de m'avoir fait l'honneur de diriger mon travail. Merci pour l'organisation des études expérimentales. Merci pour ta présence lors de chaque manipulation ou épreuve comportementale réalisée. Merci pour ta disponibilité et ta gentillesse.

## **A Madame Nathalie Dourmap,**

Merci de m'avoir fait l'honneur de diriger mon travail. Merci pour le temps que tu as passé à m'aider, à me corriger, même à distance. Merci de m'avoir accompagnée pour réaliser les études expérimentales. Merci pour ta patience et ta gentillesse.

## **A Monsieur Philippe Lemoine,**

Merci d'avoir accepté d'être membre du jury. Merci de m'avoir accueillie au sein de ton équipe officinale. Merci pour tout ce que tu m'as appris durant ces 9 mois, merci de m'avoir donné les clefs pour exercer cette profession.

## **Au Docteur Bruno Gonzalez,**

Merci de m'avoir accueillie au sein de votre laboratoire.

## **Au professeur Isabelle Leroux,**

Merci pour votre aide et votre savoir-faire lors de nos journées « dissection ».

**A Mathieu, Ismaël, Yasmina, Quentin et Virginie,**

Merci pour tous ces moments passés dans la bonne humeur et la rigolade, au labo, à la cafet ou ailleurs.

**A mes amis, Bibou, Marionus, Clairou, Lou, Katleen, Alexou, Mimolle, Clemclem, Popol, Loulouf, Rominou, Beubeu, Carlito, Vincou, Jean-Se, Clémence, Didine, Helenou et Benji.**

Merci pour ces années de folie, durant lesquelles nous avons lié des liens d'amitié certains. Merci pour tous ces bons moments passés ensemble.

**A mes parents,**

**Maman**, merci pour l'éducation que tu nous as donné à tous les 3, si nous sommes aussi liés, c'est grâce à toi. Merci de m'avoir toujours soutenue et encouragée durant ces 6 années, merci de m'avoir donné goût à ce métier. Merci tout simplement d'être toi, tu seras toujours mon modèle.

**Papa**, merci également de m'avoir donné envie d'exercer ce métier, je crois que tu avais raison, je suis faite pour ça. Merci de m'avoir accompagnée à ta manière durant ces études, c'est à dire toujours sur le ton de l'humour ! Merci d'avoir été pour moi un père, mais aussi un ami auquel j'ai pu me confier sans détours.

**A mes frères et sœurs,**

**Chachou**, merci pour la complicité et l'amour qui nous lient. Merci pour toutes ces fois où nous nous sommes soutenues pendant les révisions. Je suis fière de toi, ta réussite, ta sagesse et ta générosité sont irréprochables. Tu feras un très bon médecin, c'est certain.

**Titoune**, tu comptes beaucoup pour moi, être le petit dernier n'a pas dû être facile, surtout avec 2 sœurs comme nous ! Mais je suis fière de toi, de ton intelligence et de ta réussite, tu deviendras un grand ingénieur, j'en suis certaine.

**Jeanne et Lou,** merci pour tout l'amour que vous portez à votre grande sœur.

**A mes grands-parents,**

**GP et GM,** vous avez été très présents durant ces études et je vous en remercie. Merci pour toutes les fois où vous m'avez accueillie à l'Ile-Tudy, et notamment durant les semaines de révisions où nous venions nous faire chouchouter. Merci pour l'amour que vous portez à vos petits enfants. Merci pour votre générosité. Merci pour tout.

**A Papy,** merci pour ton calme et ta gentillesse légendaires. Merci pour l'intérêt que tu as porté à ces études, merci de m'avoir soutenue et encouragée.

**A Dridri,**

Merci de m'avoir supportée dans les moments de stress. Merci pour tous ces moments de rire et de complicité. Merci pour l'amour que tu me donnes.

**ANNEE UNIVERSITAIRE 2015 - 2016**

**U.F.R. DE MEDECINE ET DE-PHARMACIE DE ROUEN**

-----

DOYEN : **Professeur Pierre FREGER**

ASSESEURS : **Professeur Michel GUERBET**

**Professeur Benoit VEBER**

**Professeur Pascal JOLY**

**Professeur Stéphane MARRET**

**I – MEDECINE**

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS**

Mr Frédéric <b>ANSELME</b>	HCN	Cardiologie
Mme Isabelle <b>AUQUIT AUCKBUR</b>	HCN	Chirurgie plastique
Mr Fabrice <b>BAUER</b>	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya <b>BEKRI</b>	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Jacques <b>BENICHOU</b>	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mr Jean-Paul <b>BESSOU</b>	HCN	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme Françoise <b>BEURET-BLANQUART</b>	HCN	Commission E.P.P. D.P.C. Pôle Qualité
<i>(surnombre)</i>		
Mr Olivier <b>BOYER</b>	UFR	Immunologie

Mr François <b>CARON</b>	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe <b>CHASSAGNE</b>	HCN	Médecine interne (gériatrie)
Mr Vincent <b>COMPERE</b>	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Antoine <b>CUVELIER</b>	HB	Pneumologie
Mr Pierre <b>CZERNICHOW</b>	HCH	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Nicolas <b>DACHER</b>	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan <b>DARMONI</b>	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre <b>DECHELOTTE</b>	HCN	Nutrition
Mme Danièle <b>DEHESDIN</b> ( <i>surnombre</i> )	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Frédéric <b>DI FIORE</b>	CB	Cancérologie
Mr Fabien <b>DOGUET</b>	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean <b>DOUCET</b>	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard <b>DUBRAY</b>	CB	Radiothérapie
Mr Philippe <b>DUCROTTE</b>	HCN	Hépatogastro-entérologie
Mr Frank <b>DUJARDIN</b>	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice <b>DUPARC</b>	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric <b>DURAND</b>	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand <b>DUREUIL</b>	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène <b>ELTCHANINOFF</b>	HCN	Cardiologie
Mr Thierry <b>FREBOURG</b>	UFR	Génétique
Mr Pierre <b>FREGER</b>	HCN	Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François <b>GEHANNO</b>	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel <b>GERARDIN</b>	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille <b>GERARDIN</b>	HCN	Pédopsychiatrie
Mr Michel <b>GODIN</b> ( <i>surnombre</i> )	HB	Néphrologie
M. Guillaume <b>GOURCEROL</b>	HCN	Physiologie
Mr Philippe <b>GRISE</b> ( <i>surnombre</i> )	HCN	Urologie
Mr Dominique <b>GUERROT</b>	HCN	Néphrologie

Mr Olivier <b>GUILLIN</b>	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Didier <b>HANNEQUIN</b>	HCN	Neurologie
Mr Fabrice <b>JARDIN</b>	CB	Hématologie
Mr Luc-Marie <b>JOLY</b>	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal <b>JOLY</b>	HCN	Dermato - Vénérologie
Mme Annie <b>LAQUERRIERE</b>	HCN	Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent <b>LAUDENBACH</b>	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
Mr Joël <b>LECHEVALLIER</b>	HCN	Chirurgie infantile
Mr Hervé <b>LEFEBVRE</b>	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry <b>LEQUERRE</b>	HB	Rhumatologie
Mme Anne-Marie <b>LEROI</b>	HCN	Physiologie
Mr Hervé <b>LEVESQUE</b>	HB	Médecine interne
Mme Agnès <b>LIARD-ZMUDA</b>	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves <b>LITZLER</b>	HCN	Chirurgie cardiaque
Mr Bertrand <b>MACE</b>	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
M. David <b>MALTETE</b>	HCN	Neurologie
Mr Christophe <b>MARGUET</b>	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle <b>MARIE</b>	HB	Médecine interne
Mr Jean-Paul <b>MARIE</b>	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc <b>MARPEAU</b>	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Stéphane <b>MARRET</b>	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique <b>MERLE</b>	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre <b>MICHEL</b>	HCN	Hépto-gastro-entérologie
Mr Jean-François <b>MUIR</b>	HB	Pneumologie
Mr Marc <b>MURAINÉ</b>	HCN	Ophtalmologie
Mr Philippe <b>MUSETTE</b>	HCN	Dermatologie - Vénérologie
Mr Christophe <b>PEILLON</b>	HCN	Chirurgie générale
Mr Christian <b>PFISTER</b>	HCN	Urologie

Mr Jean-Christophe <b>PLANTIER</b>	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier <b>PLISSONNIER</b>	HCN	Chirurgie vasculaire
Me Gaëtan <b>PREVOST</b>	HCN	Endocrinologie
Mr Bernard <b>PROUST</b>	HCN	Médecine légale
Mr Jean-Christophe <b>RICHARD</b> <i>(détachement)</i>	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Vincent <b>RICHARD</b>	UFR	Pharmacologie
Mme Nathalie <b>RIVES</b>	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Horace <b>ROMAN</b>	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe <b>SABOURIN</b>	HCN	Anatomie - Pathologie
Mr Guillaume <b>SAVOYE</b>	HCN	Hépatogastrologie
Mme Céline <b>SAVOYE-COLLET</b>	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale <b>SCHNEIDER</b>	HCN	Pédiatrie
Mr Michel <b>SCOTTE</b>	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne <b>TAMION</b>	HCN	Réanimation Médicale
Mr Luc <b>THIBERVILLE</b>	HCN	Pneumologie
Mr Christian <b>THUILLEZ</b>	HB	Pharmacologie
Mr Hervé <b>TILLY</b>	CB	Hématologie et transfusion
Mr Olivier <b>TROST</b>	HCN	Chirurgie Maxillo Faciale
Mr Jean-Jacques <b>TUECH</b>	HCN	Chirurgie digestive
Mr Jean-Pierre <b>VANNIER</b>	HCN	Pédiatrie génétique
Mr Benoît <b>VEBER</b>	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre <b>VERA</b>	CB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric <b>VERIN</b>	HB	Service Santé Réadaptation
Mr Eric <b>VERSPYCK</b>	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier <b>VITTECOQ</b>	HB	Rhumatologie
Mr Jacques <b>WEBER</b>	HCN	Physiologie

## MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Noëlle <b>BARBIER-FREBOURG</b>	HCN	Bactériologie – Virologie
Mme Carole <b>BRASSE LAGNEL</b>	HCN	Biochimie
Mme Valérie <b>BRIDOUX HUYBRECHTS</b>	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mr Gérard <b>BUCHONNET</b>	HCN	Hématologie
Mme Mireille <b>CASTANET</b>	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie <b>CHASTAN</b>	HCN	Physiologie
Mme Sophie <b>CLAEYSSENS</b>	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Moïse <b>COEFFIER</b>	HCN	Nutrition
Mr Stéphanie <b>DERREY</b>	HCN	Neurochirurgie
Mr Manuel <b>ETIENNE</b>	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Serge <b>JACQUOT</b>	UFR	Immunologie
Mr Joël <b>LADNER</b>	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste <b>LATOUCHE</b>	UFR	Biologie cellulaire
Mme Rachel <b>MARION-LETELLIER</b>	UFR	Physiologie
Mr Thomas <b>MOUREZ</b>	HCN	Virologie
Mme Muriel <b>QUILLARD</b>	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mme Christine <b>RONDANINO</b>	UFR	Physiologie de la Reproduction
Mr Mathieu <b>SALAUN</b>	HCN	Pneumologie
Mme Pascale <b>SAUGIER-VEBER</b>	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire <b>TOBENAS-DUJARDIN</b>	HCN	Anatomie

## PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE

Mme Dominique <b>LANIEZ</b>	UFR	Anglais
Mr Thierry <b>WABLE</b>	UFR	Communication

## II – PHARMACIE

### PROFESSEURS

Mr Thierry <b>BESSON</b>	Chimie Thérapeutique
Mr Jean-Jacques <b>BONNET</b>	Pharmacologie
Mr Roland <b>CAPRON</b> (PU-PH)	Biophysique
Mr Jean <b>COSTENTIN</b> (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle <b>DUBUS</b>	Biochimie
Mr Loïc <b>FAVENNEC</b> (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre <b>GOULLE</b> (Professeur émérite)	Toxicologie
Mr Michel <b>GUERBET</b>	Toxicologie
Mme Isabelle <b>LEROUX - NICOLLET</b>	Physiologie
Mme Christelle <b>MONTEIL</b>	Toxicologie
Mme Martine <b>PESTEL-CARON</b> (PU-PH)	Microbiologie
Mme Elisabeth <b>SEGUIN</b>	Pharmacognosie
Mr Rémi <b>VARIN</b> (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie <b>VAUGEOIS</b>	Pharmacologie
Mr Philippe <b>VERITE</b>	Chimie analytique

### MAITRES DE CONFERENCES

Mme Cécile <b>BARBOT</b>	Chimie Générale et Minérale
Mr Jérémie <b>BELLIEN</b>	Pharmacologie

Mr Frédéric <b>BOUNOURE</b>	Pharmacie Galénique
Mr Abdeslam <b>CHAGRAOUI</b>	Physiologie
Mme Camille <b>CHARBONNIER</b>	Statistiques
Mme Marie Catherine <b>CONCE-CHEMTOB</b>	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Elizabeth <b>CHOSSON</b>	Botanique
Mme Cécile <b>CORBIERE</b>	Biochimie
Mr Eric <b>DITTMAR</b>	Biophysique
Mme Nathalie <b>DOURMAP</b>	Pharmacologie
Mme Isabelle <b>DUBUC</b>	Pharmacologie
Mme Dominique <b>DUTERTE- BOUCHER</b>	Pharmacologie
Mr Abdelhakim <b>ELOMRI</b>	Pharmacognosie
Mr François <b>ESTOUR</b>	Chimie Organique
Mr Gilles <b>GARGALA</b> (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Najla <b>GHARBI</b>	Chimie analytique
Mme Marie-Laure <b>GROULT</b>	Botanique
Mr Hervé <b>HUE</b>	Biophysique et mathématiques
Mme Laetitia <b>LE GOFF</b>	Parasitologie - Immunologie
Mme Hong <b>LU</b>	Biologie
Mme Sabine <b>MENAGER</b>	Chimie organique
Mme Tiphaine <b>ROGEZ-FLORENT</b>	Chimie analytique
Mr Mohamed <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mme Malika <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mme Christine <b>THARASSE</b>	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric <b>ZIEGLER</b>	Biochimie

### **PROFESSEURS ASSOCIES**

Mme Cécile <b>GUERARD-DETUNCQ</b>	Pharmacie officinale
-----------------------------------	----------------------

Mr Jean-François **HOUIVET**

Pharmacie officinale

**PROFESSEUR CERTIFIE**

Mme Mathilde **GUERIN**

Anglais

**ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE**

Mme Sandrine **DAHYOT**

Bactériologie

**ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE**

Mr Souleymane **ABDOUL-AZIZE**

Biochimie

Mme Hanane **GASMI**

Galénique

Mme Caroline **LAUGEL**

Chimie organique

Mr Romy **RAZAKANDRAINIBE**

Parasitologie

## LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile <b>BARBOT</b>	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry <b>BESSON</b>	Chimie thérapeutique
Mr Roland <b>CAPRON</b>	Biophysique
Mme Marie-Catherine <b>CONCE-CHEMTOB</b>	Législation et économie de la santé
Mme Elisabeth <b>CHOSSON</b>	Botanique
Mr Jean-Jacques <b>BONNET</b>	Pharmacodynamie
Mme Isabelle <b>DUBUS</b>	Biochimie
Mr Loïc <b>FAVENNEC</b>	Parasitologie
Mr Michel <b>GUERBET</b>	Toxicologie
Mr François <b>ESTOUR</b>	Chimie organique
Mme Isabelle <b>LEROUX-NICOLLET</b>	Physiologie
Mme Martine <b>PESTEL-CARON</b>	Microbiologie
Mme Elisabeth <b>SEGUIN</b>	Pharmacognosie
Mr Mohamed <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mr Rémi <b>VARIN</b>	Pharmacie clinique
Mr Philippe <b>VERITE</b>	Chimie analytique

### III – MEDECINE GENERALE

#### PROFESSEUR

Mr Jean-Loup **HERMIL** UFR Médecine générale

#### PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS

Mr Emmanuel **LEFEBVRE** UFR Médecine Générale

Mr Philippe **NGUYEN THANH** UFR Médecine générale

#### MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS

Mr Pascal **BOULET** UFR Médecine générale

Mme Elisabeth **MAUVIARD** UFR Médecine générale

Mme Yveline **SEVRIN** UFR Médecine générale

Mme Marie Thérèse **THUEUX** UFR Médecine générale

## ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

### PROFESSEURS

Mr Serguei <b>FETISSOV</b> (med)	Physiologie (ADEN)
Mr Paul <b>MULDER</b> (phar)	Sciences du Médicament
Mme Su <b>RUAN</b> (med)	Génie Informatique

### MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sahil <b>ADRIOUCH</b> (med)	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mme Gaëlle <b>BOUGEARD-DENOYELLE</b> (med)	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine <b>CLEREN</b> (med)	Neurosciences (Néovasc)
Mme Pascaline <b>GAILDRAT</b> (med)	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mr Nicolas <b>GUEROUT</b> (med)	Chirurgie Expérimentale
Mr Antoine <b>OUVRARD-PASCAUD</b> (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric <b>PASQUET</b>	Sciences du langage, orthophonie
Mme Isabelle <b>TOURNIER</b> (med)	Biochimie (UMR 1079)

**CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS** : Mme Véronique **DELAFONTAINE**

*HCN - Hôpital Charles Nicolle HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME*

*CB - Centre Henri Becquerel CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray*

*CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation SJ – Saint Julien Rouen*

**L'Université de Rouen et l'UFR de Médecine et de Pharmacie de Rouen n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans cette thèse. Ces opinions sont propres à leurs auteurs.**

# SOMMAIRE

I. Abréviations.....	1
II. Introduction.....	3
1. Le handicap périnatal .....	4
1.1. Généralités.....	4
1.2. Lésions de la substance blanche.....	5
1.3. Causes de lésions cérébrales .....	7
1.3.1. Hémorragies .....	7
1.3.2. Hypoxo-ischémie .....	9
1.3.3. Infection.....	10
1.3.4. Risque toxique .....	12
1.3.5. Prématurité .....	13
1.3.5.1. Définition .....	13
1.3.5.2. Causes de prématurité .....	14
1.3.5.3. Risques à court terme.....	16
1.3.5.4. Risques à moyen et long terme .....	18
1.4. Agents potentiellement neuroprotecteurs .....	19
1.4.1. Les corticoïdes, les AINS, la créatine et autres molécules testées .....	20
1.4.2. Le magnésium.....	21
2. Le système glutamatergique et le risque d'excitotoxicité.....	22
2.1. La transmission glutamatergique - Cycle glutamate/ glutamine .....	22
2.2. Les récepteurs glutamatergiques .....	24
2.2.1. Récepteurs métabotropiques.....	24
2.2.2. Récepteurs ionotropes .....	25
2.2.2.1. Récepteurs au kainate .....	25
2.2.2.2. Récepteurs AMPA.....	26
2.2.2.3. Récepteurs NMDA .....	27
2.3. Excitotoxicité .....	31

2.4. Antagonistes des récepteurs NMDA .....	34
2.4.1. Le magnésium.....	34
2.4.2. Le MK-801.....	35
2.4.3. La kétamine .....	36
2.4.4. La mémantine .....	38
III. But du travail .....	41
III.    MATERIEL ET METHODES .....	44
1. Les animaux .....	44
2. L'activité Locomotrice (ALM) .....	45
3. La roue d'activité .....	46
4. Le test de suspension par la queue (TST = tail suspension test) .....	47
5. Le dosage des neurotransmetteurs.....	49
6. Analyse statistique.....	50
IV.    Résultats .....	51
1. Répartition des sexes par groupe.....	51
2. Effets des traitements par différents antagonistes non compétitifs des récepteurs glutamatergiques de type NMDA sur la mortalité des animaux à moyen ou long terme.....	52
3. Effets des traitements par différents antagonistes non compétitifs des récepteurs glutamatergiques de type NMDA sur le poids des animaux .....	53
4. Epreuves comportementales.....	55
4.1. Activité locomotrice.....	55
4.1.1. Activité verticale .....	55
4.1.2. Distance totale.....	56
4.2. Roue d'activité .....	57
4.3. Test de suspension par la queue (TST) .....	61
5. Effets des traitements par différents antagonistes non compétitifs des récepteurs glutamatergiques de type NMDA sur les taux cérébraux de neurotransmetteurs et de leurs métabolites.....	62
5.1. Effets sur les taux cérébraux de glutamate, de glutamine, de GABA et sur les rapports glutamate / glutamine ou glutamate / GABA.....	62
5.1.1. Cortex frontal.....	62
5.1.2. Cortex pariétal .....	64
5.1.3. Striatum .....	66

5.2. Effets sur les taux cérébraux de noradrénaline (Nad), dopamine (DA), sérotonine (5HT) et des métabolites DOPAC (acide 3,4-dihydroxyphénylacétique), 5HIAA (acide 5-hydroxyindolacétique) et sur les rapports DOPAC/DA et 5HIAA/5HT .....	69
5.2.1. Cortex frontal.....	69
5.2.2. Cortex pariétal .....	71
5.2.3. Striatum .....	74
VI. DISCUSSION .....	77
1. Effet des traitements par les antagonistes des récepteurs NMDA sur la mortalité et le poids des animaux .....	77
2. Effet des traitements par les antagonistes des récepteurs NMDA sur le comportement .....	78
2.1. Effets des traitements sur l'activité locomotrice.....	78
2.2. Effets des traitements sur la roue d'activité .....	80
2.3. Effets des traitements sur le test de suspension par la queue .....	81
3. Effet des traitements par les antagonistes des récepteurs NMDA sur les taux de neurotransmetteurs	82
3.1. Effets des traitements sur les taux de glutamate, de glutamine et de GABA .....	84
3.2. Effets des traitements sur les taux des monoamines.....	86
VII. CONCLUSION .....	89
VIII. Références.....	91

# I. Abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADP : Adénosine di-phosphate

ALM : Activité locomotrice

AMPA : Amino-3-hydroxy-5-méthylisoazol-4-propionate

AMPc : Adénosine mono-phosphate cyclique

ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

ARN : Acide ribonucléique

ATP : Adénosine tri-phosphate

AVC : Accident vasculaire cérébral

BHE : Barrière hémato-encéphalique

DA : Dopamine

DBP : Dysplasie bronchopulmonaire

GLN : Glutamine

GLU : Glutamate

HIV : Hémorragie intra-ventriculaire

HPLC : Chromatographie liquide haute performance

IMF : Infection materno-foetale

LCR : Liquide céphalo-rachidien

LPV : Leucomacie péri-ventriculaire

LSB : Lésion de la substance blanche

Mg : Magnésium

Nad : Noradrénaline

NMDA : N-méthyl-D-aspartate

NMRI : Naval Medical Research Institute

NO : Monoxyde d'azote

PLT : Potentialisation à long terme

RCIU : Retard de croissance intra-utérin

SA : Semaines d'aménorrhée

SNC : Système nerveux central

Trp 53 : Transformation-related protein 53

TST : Tail suspension test

5HT : Sérotonine

## II. Introduction

Les principaux risques foëtaux liés à la grossesse sont : le décès intra-utérin ou néonatal, une morbidité néonatale sévère et les déficiences, conséquences à long terme d'événements liés à la grossesse ou à l'accouchement.

En 2007, le taux de mortinatalité (expulsion d'un foetus mort après 22 semaines de grossesse) était de 9,1 ‰ et le taux de mortalité néonatale (enfants décédés entre la naissance et leur 28eme jour) était de 2,1 ‰ (Niel, 2007). Selon le rapport européen périnatal de santé (Euro-peristat, 2013), la mortinatalité de la France en 2004 était la plus élevée d'Europe et la mortalité néonatale atteignait un niveau moyen. En ce qui concerne la prématurité en France, 6,3 % des naissances vivantes surviennent avant 37 semaines d'âge gestationnel.

Les causes de cette mortalité périnatale peuvent être foëtales, comme les malformations, les maladies congénitales ou les infections materno-foetales. Elles peuvent également être maternelles et obstétricales, cette catégorie concerne les hématomes rétroplacentaires, les placenta prævia, l'hypertension artérielle, l'éclampsie ou encore les complications durant le travail.

Toutes ces raisons peuvent donc entraîner la mort du foetus, mais également entraîner un handicap périnatal.

Les données de l'étude épidémiologique française EPIPAGE ont montré un lien évident entre la survenue d'un handicap et l'importance de la prématurité : près de 40% des grands prématurés présentent des séquelles (motrices, sensorielles ou cognitives), sévères dans 5% des cas. En cas d'extrême prématurité (moins de 25 semaines d'aménorrhée), le pronostic est très réservé avec un décès sur deux et un handicap (modéré à sévère) chez la moitié des survivants (Ancel et Goffinet, 2015).

Le retard de croissance pré et post-natal et en particulier le RCIU (retard de croissance intra-utérin), associé à un poids de naissance faible, est une des premières causes de mortalité néonatale. Il est également l'une des principales causes de handicaps intellectuels, moteurs, pulmonaires et métaboliques chez les nouveau-nés. Les études sur l'évolution spontanée de la croissance des enfants nés avec un RCIU rapportent que 10 à 35% d'entre eux gardent un retard de croissance, à l'âge de 2-4 ans (PremUp fondation, 2013).

La gémellité est aussi un facteur de handicap, les jumeaux et en particulier les jumeaux monochoriaux peuvent présenter des lésions cérébrales clastiques acquises in utero ou en période post-natale. Le risque est important surtout lorsqu'il existe un syndrome transfuseur-transfusé (déséquilibre sanguin entre les circulations sanguines des jumeaux). Indépendamment des facteurs de prématurité et d'hypotrophie qui sont souvent associés à la gémellité, il semblerait que les jumeaux aient également un risque augmenté de malformations.

## 1. Le handicap périnatal

### 1.1. Généralités

Il y a plusieurs types de handicaps :

- déficience sensorielle : déficiences auditives et visuelles bilatérales (surdité et cécité)
- déficience intellectuelle : définie par le quotient intellectuel inférieur à 70 (retard mental modéré) ou inférieur à 50 (retard mental sévère ou profond).
- troubles psychiatriques : autisme et autres troubles envahissant du développement.
- polyhandicap : il associe une déficience motrice à une déficience mentale sévère ou profonde, entraînant une restriction extrême de l'autonomie et des possibilités de perception, d'expression et de relation.

Deux causes importantes du handicap sont la prématurité, sévère ou modérée, et la souffrance fœtale. Des progrès ont été réalisés depuis plusieurs années pour prévenir les principaux risques associés à ces deux causes. Aussi de plus en plus de grands prématurés naissent chaque année en France et leur survie s'améliore. Mais le nombre d'enfants à risque de développer des déficiences ou des handicaps augmente également (Inserm, 2004).

Pour son étude EPIPAGE, l'équipe Inserm EPOPé (Equipe de recherche en épidémiologie obstétricale, périnatale et pédiatrique) a ainsi constitué des cohortes d'enfants dans des régions différentes nés à différents stades de prématurité. Par rapport à la première étude EPIPAGE réalisée en 1997, la proportion des enfants ayant survécu sans morbidité sévère a augmenté de 14% pour les prématurés nés à 6 ou 7 mois et de 6% pour les enfants nés à 8 mois (Delorme P., 2016).

Un enfant prématuré présente une immaturité de l'appareil pulmonaire qui peut être source d'hypoxo-ischémie et de lésions conséquentes du SNC ; il présente une immaturité cérébrale

notamment de la substance blanche qui devient plus sensible aux phénomènes toxiques (hypoxoischémie, drogues...) d'autant que la BHE (barrière hémato-encéphalique) est plus perméable et que les vaisseaux sous épendymaires sont plus sensible à l'hémorragie. Enfin, l'enfant prématuré présente une vulnérabilité plus grande aux infections du fait de l'immaturation de son système immunitaire et de la nécessité d'être intubé à la naissance. La prématurité est donc un facteur qui favorise l'apparition d'évènements délétères (hypoxie, hémorragie, infection) en période néonatale et en aggrave les conséquences en termes de lésions et de déficiences acquises chez l'enfant à moyen terme et chez l'adulte à plus long terme.

En effet, le handicap périnatal est souvent associé à l'apparition de lésions cérébrales détectées à l'imagerie mais peut aussi survenir sans diagnostic de lésion périnatale.

Il existe ainsi 3 grandes catégories de lésions cérébrales :

- la maladie de la substance blanche périventriculaire (LPV) qui comprend des lésions cérébrales profondes péri-ventriculaires.
- les hémorragies non parenchymateuses, comprenant les hémorragies sous-épendymaires
- les autres lésions cérébrales résultant d'infarctus cérébraux.

## 1.2. Lésions de la substance blanche

Ce sont les lésions de la substance blanche (LSB) qui constituent la principale atteinte à l'origine de séquelles chez les prématurés, elles peuvent être identifiées en imagerie par échographie transfontanellaire ou par résonance magnétique. La substance blanche périventriculaire est directement liée au degré de maturité du cerveau à la naissance, elle est vulnérable entre 28 et 34 semaines de gestation. La maladie de la substance blanche est la lésion la plus associée aux paralysies cérébrales.

La substance blanche du cerveau forme une grande partie des hémisphères cérébraux, elle est constituée de millions d'axones, les fibres nerveuses qui connectent les neurones en réseaux fonctionnels dans les différentes régions du cerveau. Sa couleur blanche vient de la myéline, l'isolant électrique qui entoure les axones. La myéline est essentielle à la transmission rapide des signaux électriques. Ce sont les oligodendrocytes, des cellules gliales qui enveloppent les axones de 10 à 150 couches de membranes pour former la gaine de myéline. Si la myéline est endommagée, cela peut altérer les fonctions sensorielles, motrices et cognitives en affectant la conduction nerveuse. La substance blanche du corps calleux est située immédiatement sous le

cortex cérébral, composé de substance grise. En général, les LSB sont causées par une carence en oxygène dans cette partie du cerveau.

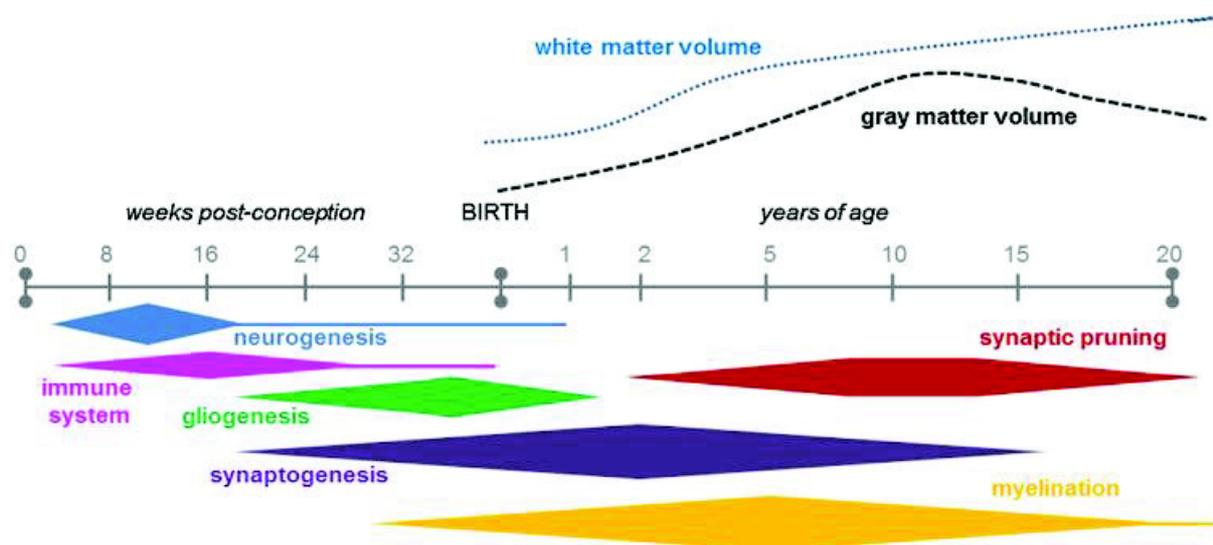
La leucomalacie périventriculaire (LPV) est une maladie acquise de la substance blanche avec présence de lésions nécrotiques voire de kystes focalisés mais peut présenter parfois une forme plus diffuse avec gliose ; elle est parfois associée à une atteinte des noyaux gris centraux voire de la substance grise corticale, c'est une encéphalopathie. Les complications dues à la LPV sont observées chez le grand prématuré (né avant 33 SA), la substance blanche à ce stade de développement est alors immature. La LPV est plus rare chez le nouveau-né à terme. L'infirmité motrice cérébrale est la principale séquelle associée aux LPV (Marret, 2003).

Le handicap périnatal n'est pas toujours corrélé à l'étendue des lésions, selon la localisation de la lésion, le dommage est plus ou moins grave. C'est pourquoi, des lésions peu étendues au mauvais endroit peuvent conduire à des effets graves et durables. À l'opposé, certains enfants peuvent se remettre de lésions plus étendues. Les fonctions du cerveau, tout particulièrement dans le cas des nouveau-nés, sont flexibles. Si un certain chemin neural est endommagé, la plasticité cérébrale permet parfois un nouveau trajet pour acheminer l'information et les commandes d'une région du cerveau à l'autre.

Alors que les lésions de la substance blanche apparaissent sur les examens d'imagerie, les effets cliniques de ces lésions peuvent dans certains cas, prendre jusqu'à un an avant d'apparaître voire ne se manifester qu'à l'âge scolaire. Par contre plus le dommage est grave, plus il est probable que les dommages apparaîtront tôt.

De même, un handicap peut apparaître chez un enfant alors même qu'aucune lésion n'est visible, des lésions diffuses pourraient en être responsables.

A P5 chez la souris, âge équivalent au stade de développement du cerveau d'un prématuré humain (Semple, 2013), la mise en place des cellules gliales et des synapses est en pleine genèse et ce n'est que le début de la myélinisation, d'où les lésions de la substance blanche qui peuvent apparaître à ce terme et au-delà (figure n°1).



**Figure n°1** : Périodes des processus neurodéveloppementaux principaux chez l'Homme, pendant la gestation et jusqu'à 20 ans , avec les changements associés dans les volumes de la substance blanche et grise (Semple, 2013).

C'est aussi le terme auquel se forme le système immunitaire et que mûrissent des oligodendrocytes (Semple, 2013). Il existe d'autres lésions liées au handicap, résultant d'hémorragies intracérébrales, qui seront développées dans le chapitre suivant.

### 1.3. Causes de lésions cérébrales

Comme nous l'avons vu dans l'introduction, certains enfants, prématurés, né avec un faible poids de naissance ou jumeaux sont plus à risque que d'autres de développer des lésions cérébrales et donc un handicap périnatal. En effet, ils sont généralement plus fragiles, plus immatures et présentent plus de risques d'apparition d'évènements responsables de lésions cérébrales : hypoxo-ischémie, hémorragie, infection... Nous développerons également dans ce chapitre, le problème de la prématurité.

#### 1.3.1. HÉMORRAGIES

Les hémorragies intraventriculaires (HIV) sont des saignements qui atteignent les ventricules du cerveau. Une des caractéristiques du cerveau immature est la fragilité des vaisseaux sanguins proches des ventricules contenant le liquide céphalorachidien (LCR), et en particulier dans la matrice germinale, située dans une zone cérébrale adjacente au plancher des ventricules. Cette partie du cerveau est active pendant le développement fœtal et disparaît aux environs de la 35e

semaine de gestation. Ses vaisseaux sanguins sont minces et vulnérables aux variations de flux sanguin, à l'origine de rupture ou de saignement. Plus l'enfant est jeune et petit, plus les risques qu'un vaisseau sanguin se rompe pendant les premiers jours de la vie sont élevés. Le sang se répand alors dans un ou des ventricules au cerveau.

Si l'HIV est de stade 1 ou 2 (tableau n°1), il y a peu de chances qu'apparaissent des séquelles à long terme car le sang est contenu dans les ventricules, il n'y aura donc pas de pression exercée par le liquide additionnel. Si l'HIV est de stade 3, le saignement entraîne une obstruction. Cela aura comme conséquence une accumulation du LCR dans les ventricules et donc une hydrocéphalie, voire une pression excessive intracrânienne, nécessitant une intervention chirurgicale. L'HIV entraîne des lésions des parois des ventricules, la compression des vaisseaux cérébraux entraînant une ischémie des tissus cérébraux adjacents aux ventricules, ces lésions sont irréversibles. Les zones du cerveau les plus affectées sont celles des fonctions motrices adjacentes aux ventricules, on y associe souvent des troubles de la vue ou de l'ouïe. L'étendue des lésions dépend de l'importance du saignement, les HIV graves peuvent entraîner une incapacité neurologique ou la paralysie cérébrale (hémiplégie, diplégie...). La plupart des enfants ayant subi des HIV plus légères se développent normalement ou avec des problèmes d'apprentissage.

Étant donné la fragilité des vaisseaux sanguins des prématurés, les HIV peuvent se produire simplement à la suite des variations de tension artérielle et de flux sanguin qui se produisent à la naissance ou en cas de complications respiratoires (Whyte, 2009).

<b>Classification</b>	<b>Nom médical</b>	<b>Description</b>
Stade I	Hémorragie de la matrice germinale ou sous-épendymaire	Les saignements sont limités à la matrice germinale et le sang n'a pas pénétré les ventricules.
Stade II	Hémorragie ventriculaire	Du sang est présent dans les ventricules, mais pas suffisamment pour les distendre.
Stade III	Ventriculomégalie	Suffisamment de sang a pénétré les ventricules causant leur dilatation.
Stade IV	Hémorragie dans le parenchyme cérébral	Les saignements dans les ventricules ont entraîné une baisse du flux sanguin diminué aux autres parties du cerveau, causant un dommage ischémique avec des saignements subséquents.

**Tableau n°1** : Différents stades de l'HIV (Whyte, 2009).

Le saignement de l'HIV se produit habituellement dans les 48 heures suivant la naissance, et il est très rare qu'elle se reproduise à une date ultérieure.

### 1.3.2. HYPOXO-ISCHEMIE

Des évènements hypoxo-ischémiques chez l'enfant peuvent trouver leur origine lors de la période anténatale : la mère subit, par exemple, des hémorragies réduisant les apports en oxygène au fœtus, ou bien des dysfonctionnements placentaires altèrent les échanges entre les circulations maternelle et fœtale conduisant à une hypoxie du fœtus. Elle peut également survenir lors de l'accouchement, en cas d'asphyxie ou de souffrance fœtale, en période périnatale, ou encore en période postnatale, pour cause de prématurité ou de dysplasie pulmonaire par exemple.

L'encéphalopathie anoxo-ischémique de l'enfant né à terme, secondaire à une asphyxie périnatale est assez fréquente, elle survient chez 2 nouveau-nés pour 1000 naissances vivantes. Elle est responsable d'une mortalité élevée à l'échelle mondiale, estimée à 23 % des 4 millions de décès néonataux annuels. Elle est également source de séquelles neuro-développementales (20 % des cas d'infirmité motrice cérébrale de l'enfant né à terme).

L'asphyxie néonatale sévère entraîne une carence énergétique cérébrale d'évolution triphasique. Pendant la phase hypoxique initiale surviennent une nécrose neuronale, une acidose lactique cérébrale (secondaire à l'arrêt du métabolisme oxydatif) et une altération du transport ionique membranaire pouvant conduire à une irritabilité neurologique, des trémulations, une prédominance du tonus sympathique avec tachycardie, des sécrétions abondantes et une mydriase. La réoxygénation cérébrale obtenue après la réanimation permet de rétablir le métabolisme énergétique oxydatif (reperfusion). Une troisième phase de déficit énergétique retardé survient 6 à 24 h après la naissance et est caractérisée par une dysfonction mitochondriale avec baisse importante des phosphates cérébraux à haute énergie (ATP, phosphocréatine), pouvant conduire à un état comateux, une dysrégulation du centre de la respiration, rarement des convulsions, une perte des réflexes archaïques (mouvements automatiques involontaires en réponse à des stimuli chez le nouveau-né). Cette carence énergétique est associée à une augmentation des neurotransmetteurs neuro-excitateurs (glutamate), une augmentation des radicaux libres dérivés de l'oxygène et du monoxyde d'azote (NO) et une augmentation de médiateurs de l'inflammation. Tous ces facteurs entraînent une apoptose et une nécrose neuronale et gliale. Nous développerons les mécanismes de ces phénomènes excitotoxiques dans le chapitre dédié aux transmissions glutamatergiques. Chez les nouveau-nés, la sévérité de cette

troisième phase est corrélée à la survie et au devenir neuro-développemental à 1 an et à 4 ans (Fayol, 2012).

Le neuropathologiste Harvey Sarnat a décrit 3 stades d'atteinte cérébrale, I, II et III du plus léger au plus sévère. Le premier stade est marqué par une irritabilité, une tachycardie, des sécrétions abondantes et une mydriase, il ne dure généralement que 24h et n'est pas associé à des lésions cérébrales, il est de bon pronostic. Le stade III est le plus sévère, il est lié à un état comateux, à des problèmes de respiration, à une perte des réflexes archaïques... mais on ne décrit pas de convulsions. Le pronostic est très défavorable. Le stade II est le stade le plus problématique, tant au niveau diagnostique que pronostique. Il s'agit d'une atteinte modérée, avec une altération importante de l'état neurologique, plutôt hypotone, voire léthargique, une prédominance du tonus parasympathique avec pupilles plutôt en myosis, une bradycardie relative, peu de sécrétions, et dans la plupart des cas, apparaissent des convulsions. Environ 50% des enfants au stade II auront une séquelle neurologique à long terme, modérée à majeure de type parésie cérébrale (troubles de la coordination de la posture et des mouvements), et/ou surdité, et/ou retard mental sévère, avec ou sans épilepsie, alors que 50% auront une atteinte légère voire absente. Le score clinique de Thompson (différents tests sont faits sur le nourrisson au niveau de la posture, de la respiration, des mouvement etc..) peut être utilisé pour définir le stade de Sarnat (Sarnat, 1976 ; Thompson et coll., 1997).

### 1.3.3. INFECTION

Les infections bactériennes néonatales au sens de tableau clinique patent ou authentifié par la présence d'un agent pathogène dans un milieu normalement stérile peuvent être de 3 types :

-infections materno-fœtales (IMF)

-infections périnatales

-infections post-natales, qui surviennent surtout chez les enfants (prématurés) hospitalisés ;

Les IMF sont relativement rares. Le taux d'incidence est de 0,5% des naissances. Dans la population des enfants nés prématurément, le taux d'incidence des IMF est plus élevé aussi parce que les IMF sont cause de décision de naissance avant terme, et le potentiel de gravité est élevé également (rendant compte de 10% de la mortalité néonatale précoce).

Si l'infection survient au cours des deux premiers mois de gestation, elle peut entraîner la mort de l'embryon ou des malformations congénitales graves. Si elle survient à partir du 3ème mois de

grossesse chez les fœtus, elle peut entraîner une perturbation de la croissance ou des lésions tissulaires, notamment au niveau du SNC (système nerveux central) du fœtus. Certains virus peuvent conduire à des anomalies de développement du SNC comme la rubéole, le cytomegalovirus ou le parvovirus. Les parasites, comme la toxoplasmose, peuvent entraîner des séquelles. La propagation se fait alors par la voie sanguine.

La chorioamniotite est une infection qui touche le placenta et le liquide amniotique ; elle constitue le principal risque de contamination microbienne du fœtus et provoque des complications graves pour l'enfant et la mère. Les signes cliniques, chez l'enfant, associent des signes de choc septique débutant (fièvre, tachycardie, ictère, altération de l'état général...), des signes de détresse respiratoire ou plus rarement des signes d'atteinte neuro-méningée (tension de la fontanelle antérieure, troubles de la conscience, du comportement, mouvements anormaux).

Au cours de la période périnatale, les infections bactériennes sont fréquentes (0,2 à 2 % des naissances) et entraînent de graves handicaps. Pendant l'accouchement, le nouveau-né est contaminé par la déglutition ou l'inhalation des germes et les manifestations cliniques apparaissent quelques heures ou quelques jours après la naissance. Les signes d'alerte sont des troubles respiratoires ou neurologiques, la fièvre, la tachycardie etc... La contamination se produit soit par voie haute (hématogène) par l'intermédiaire du cordon et du placenta, soit par voie basse (ascendante) par le col de l'utérus. Parmi les facteurs de risque on retrouve la prématurité et la rupture spontanée des membranes avant 37 SA (semaines d'aménorrhée). La chorioamniotite, qui a pu déclencher le travail prématurément ou qui apparaît après rupture des membranes, peut être également une source de contamination lors de l'accouchement. Les risques sont alors multiples : atteintes neuro-méningées, coma, faillites hémodynamiques (marbrures, cyanose, hypotension artérielle)...

Les infections postnatales peuvent être soit à début précoce (survenue dans les 72h suivant la naissance) ou à début tardif (survenue entre 3 et 28 jours de vie).

Après la naissance, l'enfant né à terme et surtout le prématuré sont très vulnérables à l'infection ; en effet ses anticorps ne sont pas encore opérationnels. A la naissance, le nouveau-né possède exclusivement des IgG provenant de sa mère, elles traversent le placenta pendant la grossesse et persistent quelques mois. Les autres immunoglobulines sont apportées par le lait maternel. L'immunité se développe progressivement, surtout grâce aux IgA. Le système immunitaire n'est donc pas assez développé pour faire face aux différents pathogènes, le nouveau-né ne peut donc

pas lutter efficacement contre les infections. Il est donc plus sensibles aux germes de la mère et de l'entourage que les adultes.

Les signes cliniques d'infection chez le nouveau-né sont la détresse respiratoire, les troubles digestifs, les troubles neurologiques (convulsions, troubles de la réactivité...), l'ictère, l'hépatosplénomégalie, l'hypothermie... (Bouderlique, 1990).

L'infection est donc responsable de troubles respiratoires comme l'hypoxie, mais elle peut également provoquer des réactions inflammatoires délétères puisqu'elles peuvent favoriser l'apparition de cascades excitotoxiques.

Plus la grossesse approche de son terme, plus l'infection va provoquer des troubles du développement cérébral chez l'enfant.

#### 1.3.4. RISQUE TOXIQUE

La consommation d'alcool par la mère pendant la grossesse nuit au développement du cerveau de l'enfant, et peut induire un retard de croissance ou des atteintes du SNC. Des malformations sont observées chez l'enfant, surtout quand l'alcoolisation a lieu lors de la première partie de la grossesse, lors de la formation des organes. Dans ce cas les dommages sont irréversibles. A long terme, l'alcool durant la grossesse se traduit chez le nouveau-né par une atteinte cérébrale avec un possible déficit intellectuel (troubles de la mémorisation, de l'attention, de l'apprentissage,...) ou par des troubles du comportement qui se développent avec la croissance de l'enfant et son développement psychomoteur.

Le syndrome d'alcoolisation fœtale est la conséquence la plus grave, il se manifeste par des anomalies faciales, des malformations, atteintes cérébrales et retard de croissance. Il concerne 1/1000 naissances, c'est la première cause de handicap mental non génétique à la naissance (Jégou et coll., 2012).

De même, la prise de médicaments doit être limitée pendant la grossesse. Certains médicaments sont tératogènes s'ils sont pris au début de la grossesse (1er trimestre) et pourront induire des malformations chez l'enfant. Nous prenons comme exemple le valproate de sodium (Dépakine\*, Dépakote\*, Dépamide\*), sujet d'actualité, utilisé comme antiépileptique ou pour traiter les troubles bipolaires, entraînant de nombreuses malformations fœtales (Gotlib et coll., 2016). D'après L'ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé), les enfants exposés au valproate in utero présentent un risque élevé de troubles graves du

développement (30-40% des cas) et/ou de malformations congénitales (environ 10%). La prise maternelle de valproate pendant la grossesse augmente également notablement le risque d'autisme infantile ; l'administration de valproate à des mères gestantes constitue d'ailleurs un modèle animal d'autisme chez le rongeur. D'autres médicaments pourront entraîner une foetotoxicité s'ils sont pris notamment lors du 3ème trimestre de la grossesse (ex : AINS : Anti-inflammatoires non-stéroïdiens) (Marimbert, 2009).

Le tabac est également un facteur de risque de handicap, il augmente le risque de prématurité, en particulier du fait d'une rupture prématurée des membranes. La rupture prématurée des membranes avant un terme de 34 semaines serait ainsi trois fois plus fréquente chez la femme fumeuse. Ce risque est dose dépendant et il est également lié à l'âge de la mère (plus la mère est âgée plus le risque est important). Il est important de signaler que cette majoration du risque disparaît si la femme arrête de fumer avant la conception et diminue nettement si l'arrêt du tabac survient dans le premier trimestre de la grossesse. Par ailleurs, le tabac est connu pour engendrer un faible poids de naissance chez le nouveau-né, qui constitue un facteur de risque de handicap (Lamy et coll., 2015).

### 1.3.5. PREMATURITE

#### 1.3.5.1. DEFINITION

Le terme normal de la grossesse est de 40 à 41 semaines d'aménorrhée (SA) (à partir du 1er jour des dernières règles), la prématurité est une naissance avant le terme normal, toute naissance avant 37 semaines d'aménorrhée est prématurée. L'enfant né à moins de 27 semaines de gestation est appelé prématurissime ou extrême prématuré. Si l'accouchement a lieu après moins de 32 semaines de gestation, l'enfant sera considéré comme grand prématuré ; s'il naît entre 32 et 34 SA, il sera considéré comme modérément prématuré ; enfin s'il naît avant 37 SA et après 34 SA il est dit prématuré (tableau n°2).

Stade de prématurité	Nombre de semaines d'aménorrhée (SA)	Pourcentage de survie	% d'enfants sortis de néonatalogie sans être atteint par une pathologie néonatale grave (morbidité sévère)
Extrêmes prématurés (n=2205)	avant 24 SA	0.7%	0%
	24 SA	31%	12%
	25 SA	59%	30%
	26 SA	75%	48%
Grands prématurés (n=3257)	27-31 SA	94%	81%
Modérément prématurés (n=1234)	32-34 SA	99%	97%

**Tableau n°2** : Rapport entre le stade de prématurité et le risque associé (Inserm, 2015).

En France, la proportion de naissances avant terme varie entre 6 et 8% selon les études (EPIPAGE 1 et 2), les grands prématurés représentent environ 1,6 % des naissances. Le nombre de naissances prématurées augmente légèrement chaque année. Plusieurs facteurs permettent d'expliquer cette augmentation, comme l'augmentation de l'âge moyen des femmes enceintes, l'évolution des modes de vie (alimentation, alcool, médicaments...), le recours à la procréation médicalement assistée (la Fécondation In Vitro), et la fréquence accrue des naissances multiples (jumeaux, triplés), ainsi que la détection plus efficace des risques entraînant la prise de décision de déclencher l'accouchement.

Plusieurs autres facteurs de risque sont associés à la prématurité comme le niveau socio-économique, l'indice de masse corporelle élevé ou les antécédents obstétricaux (Ancel et coll., 1999).

#### 1.3.5.2. CAUSES DE PREMATUREITE

Il existe 2 types de prématurité : la prématurité spontanée et la prématurité induite.

La prématurité spontanée représente 60% des naissances prématurées. La patiente accouche prématurément sans raison particulière, on parle de prématurité « non consentie », c'est-à-dire provoquée par des causes naturelles qui n'ont pas pu être évitées. Le risque d'accouchement prématuré spontané peut être lié au fœtus, à la mère ou au placenta. Le risque lié au fœtus concerne les grossesses multiples (jumeaux, triplés...), les malformations ou encore le retard de croissance du fœtus dans l'utérus. Le risque lié à la mère concerne les infections locales (utérines ou urinaires) ou générales, les phlébites, le diabète (élévation anormale du taux de glucose dans le

sang), l'hypertension artérielle, la béance du col de l'utérus, le niveau social... Les facteurs immunologiques peuvent aussi être un risque, comme une incompatibilité de rhésus entre une mère rhésus moins qui accouche d'un deuxième enfant rhésus plus. Le risque lié au placenta peut être un placenta prævia, un hématome rétroplacentaire, ou encore des anomalies placentaires.

La prématurité induite ou iatrogène représente 40% des naissances prématurées.

Les médecins décident d'arrêter la grossesse en présence de facteurs pouvant engager le pronostic vital de la mère ou de l'enfant. On parle alors de prématurité « consentie ». L'accouchement avant terme peut par exemple, être déclenché avant 37 semaines en cas d'hypertension artérielle (tension artérielle élevée) de la future maman, de diabète, d'asthme ou en cas de pré-éclampsie (hypertension artérielle gravidique). Le déclenchement artificiel de l'accouchement est parfois nécessaire, quand le fœtus présente des signes de souffrance, un retard de croissance ou encore des anomalies du rythme cardiaque, ou bien en cas de rupture prématurée des membranes qui le protègent. L'accouchement est aussi déclenché souvent lors des grossesses gémellaires.

Les principales causes de prématurité pouvant provoquer volontairement ou non l'accouchement sont l'hypertension artérielle maternelle, le travail prématuré spontané ou le retard de croissance intra-utérin.

- L'hypertension artérielle (HTA)

On parle d'hypertension gravidique lorsque la pression artérielle systolique est supérieure ou égale à 140 mmHg et/ou la pression artérielle diastolique est supérieure ou égale à 90 mmHg. Il est habituel de distinguer les femmes qui ont une hypertension connue (préexistante à la grossesse) de celles, plus nombreuses à cet âge, qui développent cette hypertension pour la première fois pendant la grossesse. L'hypertension artérielle représente environ 20% des accouchements avant 33 semaines. Elle peut se compliquer d'autres pathologies, dont les plus connues sont la prééclampsie (l'hypertension artérielle est associée à la présence de protéines dans les urines témoignant d'anomalies rénales), l'éclampsie (une complication rare mais grave de l'HTA se manifestant par des convulsions qui témoignent d'une souffrance cérébrale). D'autres pathologies comme le Hellp syndrom (complication grave de l'hypertension artérielle pendant la grossesse, se manifestant par des troubles hépatiques, une destruction des globules rouges et des plaquettes sanguines) ou l'hématome rétro-placentaire (décollement prématuré du placenta

accompagné d'un hématome) peuvent survenir suite à une hypertension artérielle. C'est pourquoi, l'accouchement pourra être déclenché si le travail n'est pas spontané.

- La rupture prématurée des membranes peut également conduire à la décision de provoquer l'accouchement. C'est une rupture de la poche des eaux qui se produit avant le terme normal de la grossesse (37 SA) et avant le début du travail, elle concerne environ 25 à 35% des accouchements avant 33 SA. Au contraire, il peut arriver qu'un travail prématuré se déclenche spontanément alors que les membranes sont intactes, le rôle des infections est là encore fortement suspecté. Au moins 15% des femmes accouchant après un travail prématuré spontané seraient porteuses d'une infection utérine. D'autres événements, liés aux conditions de vie difficiles et au stress, sont également impliqués.

- Le retard de croissance intra-utérin est une autre cause de prématurité possible, il correspond à un poids de naissance trop petit pour l'âge gestationnel. Pour l'identifier, on utilise des courbes de croissance. Cela permet de repérer les enfants dont la croissance in utero est insuffisante pour le terme. Le retard de croissance est généralement diagnostiqué ou repéré grâce à l'échographie pendant la grossesse. Le retard de croissance est en partie lié à des anomalies de la vascularisation entre l'utérus et le placenta par le cordon ombilical. Les échanges entre la mère et le fœtus ne s'effectuant plus dans de bonnes conditions, les apports nutritionnels et en oxygène deviennent insuffisants. Si la pathologie placentaire est trop sévère et les apports très insuffisants, les risques pour le fœtus deviennent importants. Un placenta prævia peut être incriminé : le placenta, mal positionné en bas de l'utérus, peut se détacher et produire des hémorragies (ou métrorragies). C'est dans ce contexte que les équipes médicales sont conduites à provoquer l'accouchement prématuré, le plus souvent par césarienne.

Il est fréquent de voir associés l'hypertension artérielle maternelle et le retard de croissance chez l'enfant. D'autres causes, comme certaines maladies du fœtus (malformations ou maladies génétiques), ou comme des carences nutritionnelles, peuvent aggraver l'origine d'un retard de croissance intra-utérin.

#### 1.3.5.3. RISQUES A COURT TERME

La prématurité constitue un facteur de risque complexe car les différents risques en période prénatale (infection, hypoxie, hémorragie, malformations, RCIU...) sont non seulement des causes d'accouchement prématuré mais sont aussi à l'origine de lésions cérébrales. En outre la prématurité, elle-même, favorise l'apparition d'évènements postnataux responsables de lésions

cérébrales du fait de l'immaturation cérébrale, respiratoire, immunitaire (détresse respiratoire, hypoxie, acidose, infection...). La BHE est également fragile et immature à ce terme, d'où un risque accru d'hémorragie (figure n°1 et chapitre 1.2.).

Les poumons sont l'un des derniers organes à se développer dans l'utérus. Ainsi, lorsqu'un enfant naît prématurément ses poumons ne sont pas complètement développés en particulier ils ne synthétisent pas de surfactant alvéolaire, ce qui peut entraîner le syndrome de détresse respiratoire et à court terme des maladies comme la dysplasie bronchopulmonaire (DBP), ou l'infection par le virus respiratoire syncytial, pouvant entraîner des handicaps plus ou moins graves qui seront présents toute la vie de l'enfant.

La maladie pulmonaire la plus commune qui touche les enfants prématurés est la dysplasie bronchopulmonaire. Elle se caractérise par une respiration rapide, un manque de souffle, le halètement et une toux pour avoir plus d'oxygène. Cet état se développe généralement lorsque les enfants nés avant terme sont mis sous respiration mécanique, c'est-à-dire lorsqu'un insufflateur aide le nouveau-né à respirer jusqu'à ce que les poumons puissent fonctionner par eux-mêmes. Bien que ce processus soit souvent essentiel à la survie d'un enfant, il peut endommager les poumons et entraîner une inflammation qui devient une DBP. La DBP peut être temporaire même si, chez certains enfants, les symptômes peuvent persister jusqu'à l'âge adulte, accroissant les risques de bronchopneumopathie chronique obstructive.

Le syndrome de détresse respiratoire est la principale cause de mortalité chez les prématurés. Il se produit chez les nouveau-nés dont les poumons ne sont pas entièrement développés et il est causé en général par l'absence de surfactant. Celui-ci permet de diminuer la tension interfaciale et d'éviter le collapsus des alvéoles et des bronchioles respiratoires lors de l'expiration, augmentant alors la compliance pulmonaire et facilitant le travail respiratoire. Lorsque les nouveau-nés sont essoufflés, on leur insuffle de l'oxygène par intubation et ventilation mécanique (oxygénothérapie) et on leur administre un surfactant de substitution. Le syndrome de détresse respiratoire peut engendrer un risque plus élevé d'apparition d'une DBP et d'infections pulmonaires graves au cours des deux premières années de la vie.

La réalisation d'une césarienne est un des facteurs de risque de détresse respiratoire de l'enfant né à terme ou proche du terme et a fortiori chez le prématuré, une détresse respiratoire se

produit dans 48 naissances pour 1000 naissances avec césarienne contre 5 naissances pour 1000 naissances par voie basse (Lapillonne, 2006).

Le virus respiratoire syncytial est présent chez presque tous les enfants avant l'âge de deux ans. En ce qui concerne la plupart de ceux nés à terme, les symptômes du virus ressemblent à un simple rhume. Ils reçoivent des anticorps de leur mère pendant la grossesse qui les aident à combattre notamment le virus respiratoire syncytial, mais parfois lorsque l'enfant naît avant terme, il ne reçoit pas suffisamment d'anticorps avant la naissance. Le manque d'anticorps, mais aussi l'immaturation des poumons, font de la prématurité le facteur de risque le plus important d'une infection par le virus respiratoire syncytial. Parmi les symptômes de cette infection virale on recense une toux persistante et une respiration sifflante, une température élevée et le manque de souffle.

D'autres germes peuvent pénétrer dans les voies respiratoires via l'intubation, notamment des bactéries comme *Escherichia coli*, le staphylocoque doré ou encore *Pseudomonas aeruginosa* (Lucet, 2015).

L'infection montre des signes cliniques très variables comme de la fièvre, des crépitations pulmonaires, des sécrétions trachéales... La détresse respiratoire peut entraîner également une hypoxie, un collapsus ou une acidose.

La prématurité peut également engendrer une détresse respiratoire à long terme, les enfants nés prématurés sont plus susceptibles de développer un asthme allergique, d'avoir un fonctionnement pulmonaire réduit et plus de problèmes d'obstruction des voies respiratoires.

Les difficultés respiratoires doublées du risque infectieux, chez le nouveau-né prématuré, sont responsables de la survenue d'épisodes d'hypoxie et de réactions inflammatoires, à l'origine de cascades excitotoxiques et de lésions cérébrales focales ou diffuses.

#### 1.3.5.4. RISQUES A MOYEN ET LONG TERME

Comme nous l'avons déjà dit précédemment, les progrès médicaux permettent à un plus grand nombre de prématurés de survivre, particulièrement les grands prématurés, qui survivent désormais (1,3% de survie en 1997 contre 85% en 2015) (Ancel et Goffinet, 2015). Parce que c'est une avancée relativement récente, les chercheurs n'ont pas pu évaluer encore l'impact à long terme sur le cerveau d'une naissance prématurée.

L'étude EPIPAGE 2 sur l'effet d'une naissance prématurée sur les enfants en âge de scolarisation a été effectuée en 2011 par l'Inserm (Ancel et Goffinet, 2015) et explore les dommages ou conséquences. A l'âge de 5 ans, 40% des prématurés présentent un trouble moteur, un retard intellectuel ou une déficience sensorielle contre 12% des enfants nés à terme. A l'âge de 8 ans, 18% des grands prématurés ont déjà redoublé, contre 5% des enfants nés à terme. Elle a démontré que les enfants prématurés ont une capacité intellectuelle moindre que les enfants de leur âge, nés à terme.

Le risque de troubles neurologiques est inversement proportionnel à l'âge gestationnel à la naissance, en particulier chez les nouveau-nés de très faible poids de naissance. En 1993, Ho et coll. avaient étudié la prévalence et les profils de handicap du développement neurologique à l'âge de deux ans chez les nouveau-nés hospitalisés dans trois unités néonatales malaisiennes. Sur les 150 nouveau-nés inclus dans cette étude, 82 avaient survécu jusqu'à l'âge de 2 ans; le développement neurologique de 77 d'entre eux avait été étudié. Au niveau fonctionnel, 24 enfants (31%) présentaient un handicap modéré à sévère (Ho et coll., 1999). Les nouveau-nés de très faible poids de naissance ont montré présentaient un risque significativement accru d'infirmité motrice cérébrale et de surdité neurosensorielle.

Dans une autre étude menée en Afrique du Sud et portant sur 2036 enfants, la prévalence de l'ensemble des handicaps chez les nouveau-nés était de 60 pour 1000 (intervalle de confiance à 95%). Les handicaps les plus fréquents étaient des troubles modérés de la perception ou de l'apprentissage (17 pour 1000), l'infirmité motrice cérébrale (10 pour 1000) et la perte auditive (10 pour 1000) (Couper, 2002).

Toutes ces conséquences sont dues à la prématurité, mais aussi à la survenue d'évènements à risque évoqués précédemment, et favorisés par la prématurité, c'est à dire les infections, les troubles respiratoires, les accidents hypoxo-ischémiques, les hémorragies intraventriculaires...

#### 1.4. Agents potentiellement neuroprotecteurs

Le cerveau du fœtus en développement est très sensible aux agressions extérieures, comme nous l'avons décrit précédemment. Les problèmes survenus au cours de la gestation peuvent conduire à de nombreux soucis de santé chez l'enfant, à des handicaps, à une déficience intellectuelle ou bien

même à son décès. C'est pourquoi des agents neuroprotecteurs sont administrés chez la femme enceinte au cours de la grossesse à risque d'accouchement prématuré ou de prééclampsie.

#### 1.4.1. LES CORTICOÏDES, LES AINS, LA CREATINE ET AUTRES MOLECULES TESTEES

Les corticoïdes sont utilisés en anténatal, notamment en cas de menace d'accouchement prématuré. Ils ont un effet protecteur vis à vis des réactions inflammatoires lors d'hémorragies, d'ischémie, pouvant entraîner des handicaps à vie au niveau intellectuel, pulmonaire etc... Mais leur principal effet thérapeutique en néonatalogie, est qu'ils accélèrent la maturation pulmonaire du fœtus. L'administration de corticoïdes avant l'accouchement diviserait par deux les risques de détresse respiratoire. Des essais avec la bétaméthasone, ou encore la dexaméthasone ont été concluants (Inserm, 2004). Les effets indésirables à long terme semblent être rassurants car on observe peu de conséquences néfastes de croissance ou de développement physique ou mental, bien que les études soient encore insuffisantes. Le traitement est mis en place entre 24 et 34 SA.

Les AINS, comme l'indométacine ont également été proposés pour réduire les réactions inflammatoires délétères chez le nouveau-né ou en tant que tocolytique pour retarder les risques d'un accouchement prématuré. L'indométacine est aussi utilisée pour provoquer la fermeture du canal artériel du prématuré. L'indométacine serait associée à un risque plus élevé d'entérocolite ulcéro-nécrosante et même de leucomalacie périventriculaire selon une métaanalyse. En revanche, cet inhibiteur préférentiel de la COX2 pourrait se révéler bénéfique lors de son utilisation postnatale pour réduire les incidences des hémorragies intracérébrales. Concernant l'aspirine, cet inhibiteur de la COX1, est utilisé chez les femmes pour prévenir la survenue de prééclampsie, lors de grossesse à risque, mais son action en tant qu'antiagrégant plaquettaire pourrait aggraver le risque hémorragique (Marret et coll., 2008).

La caféine, antagoniste de récepteurs à l'adénosine, utilisée, jusqu'ici, dans le traitement des apnées, pourrait également développer un effet neuroprotecteur en favorisant la libération de facteurs neurotrophiques. En effet, elle diminue le taux de paralysie cérébrale et de difficultés intellectuelles à 2 ans mais elle pourrait favoriser certains processus inflammatoires délétères par l'induction de COX2 et la synthèse de NO (Marret et coll., 2008).

D'autres molécules ont été testées : l'érythropoïétine est utilisée pour réduire l'anémie du prématuré mais pourrait exercer des effets toxiques en cas de passage de la BHE; l'oxyde nitrique inhalé pour ses effets bénéfiques dans la prévention de la dysplasie bronchopulmonaire du grand prématuré, développe également des propriétés à la fois pro- et anti-oxydantes. Elles n'ont finalement pas révélé d'effets neuroprotecteurs en clinique.

La créatine est un agent neuroprotecteur potentiel, elle est impliquée dans la production d'énergie cellulaire, elle convertit l'adénosine diphosphate (ADP) en adénosine triphosphate (ATP). Une partie de la créatine est apportée par l'alimentation (poisson, viande, produits laitiers), l'autre est fabriquée par le corps humain. Administrée chez la femme enceinte, elle pourrait protéger le cerveau en développement du fœtus. Aucun essai contrôlé et randomisé n'a encore été effectué à ce jour (Dickinson, 2014).

Certains anesthésiques comme la kétamine sont sujets à des études en cours compte tenu de leurs propriétés potentiellement neuroprotectrices mais on sait qu'ils induisent aussi une neurodégénérescence apoptotique dans le cortex de rongeurs au cours du développement (Marret et coll., 2008).

#### 1.4.2. LE MAGNESIUM

Le sulfate de magnésium est administré avant l'accouchement chez les femmes qui présentent un risque d'accouchement prématuré, de façon à diminuer les risques de troubles neurologiques chez l'enfant. L'intervalle de doses optimales du magnésium est très étroit, les femmes doivent donc être bien surveillées pendant le traitement. Une étude (Doyle et coll., 2007) visait à évaluer les effets du magnésium en tant que neuroprotecteur chez les femmes présentant un risque d'accouchement prématuré. Les essais portaient sur des nouveau-nés dont les mères présentaient un risque d'accouchement prématuré dû à un travail prématuré, une rupture prématurée des membranes, une prééclampsie ou une éclampsie. Dans ces essais, les femmes ont été réparties en plusieurs groupes qui comparaient l'administration de sulfate de magnésium contre placebo ou l'absence de traitement. Dans ces essais, l'objectif principal du traitement par sulfate de magnésium des mères était de protéger les nouveau-nés contre les éventuels effets indésirables neurologiques associés à la prématurité (Altman et coll., 2002). Dans un autre essai,

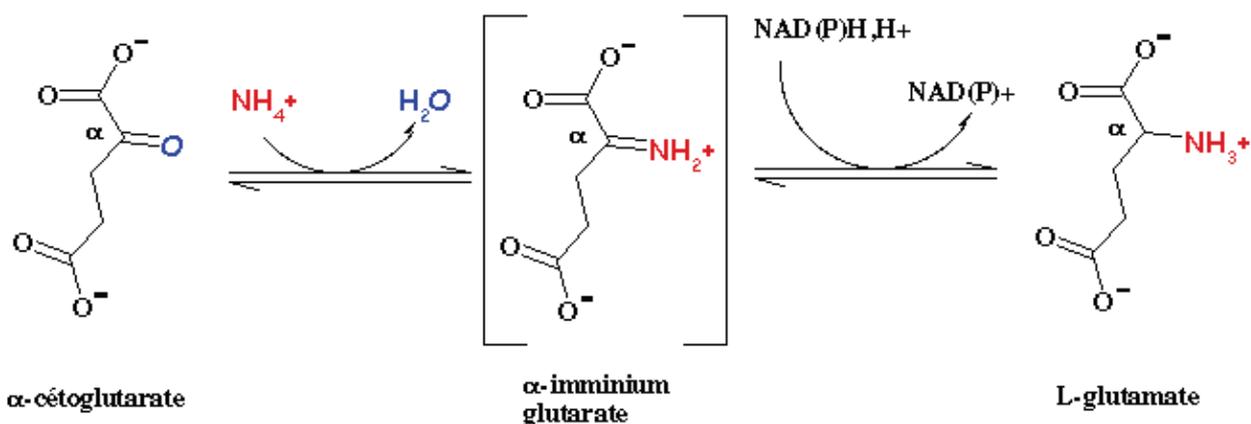
l'administration de sulfate de magnésium visait à prévenir l'éclampsie mais les conséquences néonatales étaient également étudiées (Doyle et coll., 2009).

Le traitement prénatal par sulfate de magnésium était associé à une réduction du risque d'infirmité motrice cérébrale chez les nouveau-nés et en particulier lorsque les mères avaient été recrutées à moins de 34 semaines de grossesse.

Le sulfate de magnésium est sans risque lorsqu'il est administré dans un intervalle de doses étroit (4 à 50g environ). Un surdosage peut causer de graves complications et notamment une dépression respiratoire et un arrêt cardiaque chez la mère. L'administration de sulfate de magnésium n'entraîne pas d'augmentation de la fréquence des complications par rapport au placebo chez le nouveau-né.

## 2. Le système glutamatergique et le risque d'excitotoxicité

### 2.1. La transmission glutamatergique - Cycle glutamate/ glutamine



*E. Jaspard (2004)*

**Figure n°2** : Synthèse du glutamate (Jaspard et coll., 2004)

L'acide glutamique, est l'un des 22 acides aminés du corps humain, constituant les protéines, il est encodé sur les ARN messagers par les codons GAA et GAG, il joue un rôle essentiel dans de nombreux métabolismes. Il est constitué notamment d'un groupement carboxyle, ce qui lui confère son caractère acide chargé négativement, et d'une partie aminée  $\text{NH}_2$ . Il est produit par l'organisme humain, mais une partie doit également être apportée par l'alimentation (sel, poivre, poisson, légumes, boissons gazeuses, cuisine asiatique...).

Le glutamate est la forme ionisée de l'acide glutamique, c'est un neurotransmetteur excitateur important du SNC et le plus répandu. Il est le précurseur principal du GABA (dans les neurones GABAergiques), dont les effets inhibiteurs s'opposent aux effets excitateurs du glutamate. Le glutamate est potentiellement dangereux car il peut stimuler de manière excessive les neurones et par conséquent causer leur mort selon le processus d'excitotoxicité s'il est trop concentré et persiste trop longtemps au niveau extracellulaire.

L'acide glutamique ne passe pas la BHE, pour la franchir il doit être converti en glutamine. Au niveau neuronal, le glutamate est produit dans les mitochondries des neurones, par 2 voies possibles, la transamination de l' $\alpha$ -cétoglutarate (cycle de Krebs), ou bien par une désamination oxydative de la glutamine par la glutaminase, qui est la voie de synthèse majoritaire dans les neurones. Le stockage du glutamate s'effectue dans les vésicules des neurones glutaminergiques, lors d'un potentiel d'action, ces vésicules le libèrent par exocytose dans la fente synaptique.

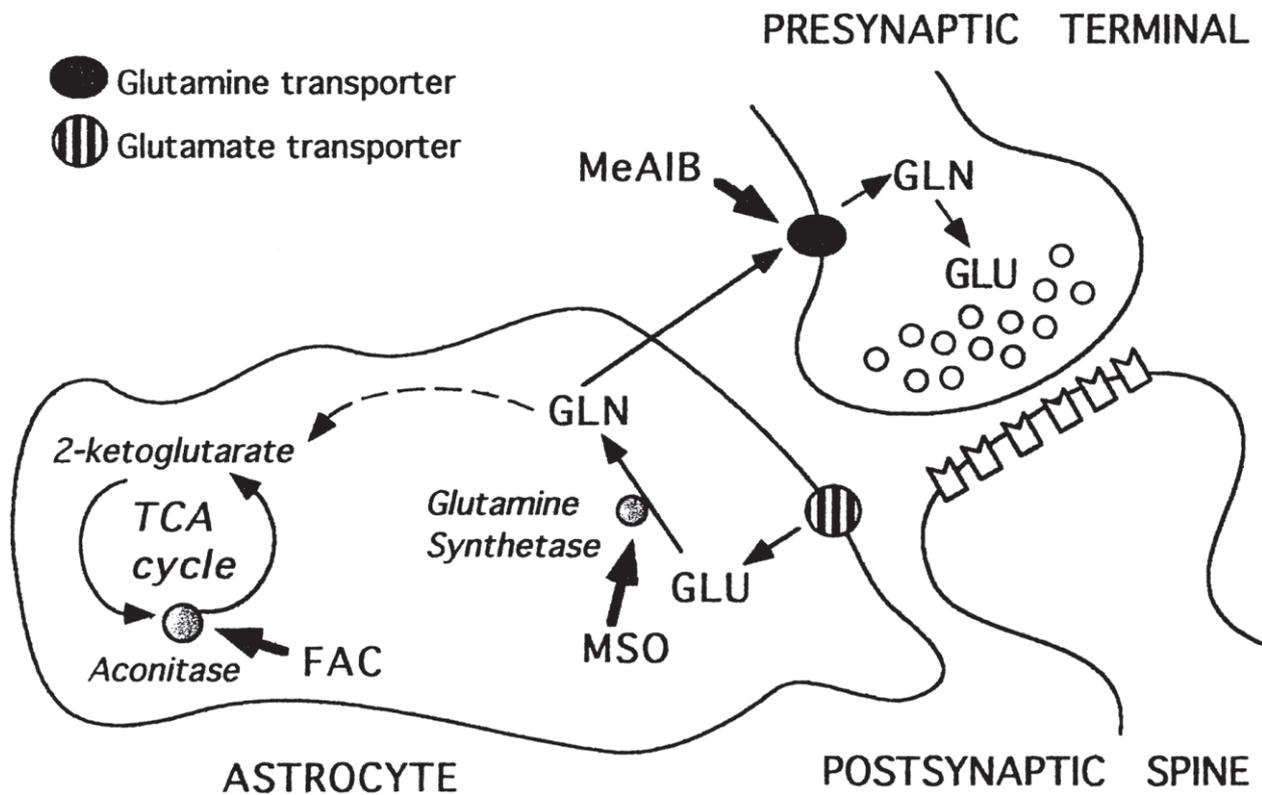


Figure n°3 : Cycle glutamate-glutamine dans le SNC (Bacci et coll., 2002)

Le glutamate est ensuite capté par les cellules gliales (astrocytes) au niveau post-synaptique et est alors métabolisé en glutamine par la glutamine synthétase.

La glutamine est ensuite exportée dans le milieu extracellulaire, dans lequel elle sera captée par les neurones glutaminergiques, elle pourra être réintégrée dans le cycle de Krebs (TCA cycle) (figure n°3).

Le contrôle du taux extracellulaire de glutamate est assuré par ses transporteurs, qui sont principalement localisés sur la membrane plasmique des cellules gliales. Le processus de transport est Na-dépendant et donc ATP-dépendant. Dès lors un évènement hypoxo-ischémique conduisant à un déficit énergétique pourra rendre inefficent le transporteur, voire même inverser le processus de transport et accroître de manière excessive le taux extracellulaire de l'acide aminé excitateur (Bak et coll., 2006).

## 2.2. Les récepteurs glutamatergiques

La découverte d'agonistes soit naturels comme l'acide kaïnique, soit de synthèse comme l'AMPA (amino-3-hydroxy-5-méthylisoazol-4-propionate) a permis de distinguer différentes familles de récepteurs du glutamate, elles sont classées en fonction de leurs modalités de transduction, ionotropiques ou métabotropiques, et de leurs caractéristiques pharmacologiques.

### 2.2.1. RECEPTEURS METABOTROPIQUES

Les récepteurs métabotropiques du glutamate se présentent sous la forme d'homodimères reliés par des ponts disulfures.

Ces récepteurs mgluR sont localisés sur les neurones du système nerveux central et sur les cellules gliales, ils sont couplés à des systèmes messagers via des protéines G.

Il existe 8 sous-types de mgluR, ils sont classés en 3 groupes en fonction de la similarité de séquence d'acides aminés et de la pharmacologie. Le groupe I comprend mgluR1 et mgluR5, ils stimulent le métabolisme du phosphoinositide di-phosphate et la mobilisation du calcium intracellulaire. Les récepteurs situés au niveau post-synaptique sont des récepteurs stimulants, ils augmentent la conductance, favorisant la potentialisation à long terme.

Le groupe II comprend mgluR2 et mgluR3, et le groupe III mgluR4, mgluR6, mgluR7 et mgluR8. Les récepteurs de ces deux groupes sont tous couplés négativement à l'adénylcyclase et sont principalement localisés au niveau présynaptique, ils empêchent la formation d'AMPc (adénosine

monophosphate cyclique). Ils sont impliqués dans l'inhibition pré-synaptique et réduisent la libération du neurotransmetteur.

Les mgluR1 sont abondants dans l'hippocampe et le thalamus. Les mgluR5 sont localisés surtout dans le cortex, le striatum ventral mais aussi dans l'hippocampe, l'amygdale et le thalamus.

Le récepteur mgluR6 lui aussi présent au niveau postsynaptique, produit une dépolarisation lente, il est surtout présent au niveau de la rétine.

Les récepteurs mgluR2, 3, 4, 7, et 8 provoquent une diminution de libération de glutamate et donc probablement du risque d'excitotoxicité (Peters et coll., 2015).

### 2.2.2. RECEPTEURS IONOTROPES

Les récepteurs-canaux du glutamate sont responsables de la transmission synaptique excitatrice rapide dans le cerveau. Les différentes familles d'iGluR (récepteurs AMPA, kainate et NMDA) ont une organisation moléculaire similaire, divers domaines d'origine bactérienne ayant été assemblés au cours de l'évolution pour façonner une architecture commune. Ils sont constitués de 4 sous-unités (tétramères).

Ces récepteurs sont tous capables de lier le glutamate, ils entraînent une dépolarisation par ouverture des canaux perméables aux cations ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) mais leur affinité pour le glutamate et des ligands de synthèse, leur durée d'ouverture et leur perméabilité pour le calcium permet de les différencier.

#### 2.2.2.1. RECEPTEURS AU KAINATE

Les récepteurs kainate sont des récepteurs ionotropes qui réagissent aussi bien au glutamate, qui est leur ligand physiologique, qu'au kainate qui est une toxine isolée de l'algue rouge *Digenea simplex*. Le canal ionique que forment les différentes sous-unités est perméable aux ions sodium et potassium.

L'effet excitateur de cette substance sur les neurones a été révélé dans les années 1970 (Bennett, 2000). En 1985, on montre que l'injection d'acide kaïnique chez l'animal provoque une activité épileptique dans la région CA3 de l'hippocampe accompagnée de pertes cellulaires avec propagation de l'activité épileptique dans les régions limbiques (Ben-Ari et Cossart, 2000). L'injection d'acide kaïnique est alors devenue un modèle d'étude de l'épilepsie du lobe temporal.

Les sous-unités des récepteurs kaïnate ont une topologie membranaire homologue à celles des récepteurs AMPA et NMDA (Bennett et Dingledine, 1995).

Les récepteurs kaïnate fonctionnels peuvent être exprimés en homodimères, avec les sous-unités GluK1, GluK2 ou GluK3. Deux sous-unités supplémentaires GluK4 et GluK5 exprimées individuellement, forment des sites de liaison de haute affinité pour le kaïnate. Ces sous-unités peuvent également former des hétéromères combinées avec GluK1, GluK2 ou GluK3. Les récepteurs kaïnate peuvent également présenter des fonctions métabotropiques. Une différence importante entre les récepteurs AMPA et kaïnate est que ces derniers ont besoin du sodium et du chlore extracellulaire pour leur activation. En comparaison des récepteurs AMPA et NMDA du glutamate, qui sont plus souvent étudiés, ils ont une distribution quelque peu plus limitée dans le système nerveux central, et leur fonction est mal définie. On observe une localisation surtout présynaptique.

Des variants d'épissage existent pour les sous-unités GluK1, GluK2 ou GluK3 (Peters et coll., 2015).

#### 2.2.2.2. RECEPTEURS AMPA

Les récepteurs AMPA (acide 2-amino-3-(5-méthyl-3-oxo-2,3-dihydro-1,2-oxazol-4-yl) propionique) sont des récepteurs ionotropes activés par le glutamate, et par un substrat spécifique AMPA qui leur a donné son nom. On les rencontre principalement au niveau postsynaptique des synapses glutamatergiques, les plus abondantes du système nerveux central. Ces récepteurs sont perméables aux ions sodium et parfois aux ions calcium.

Les récepteurs AMPA sont assemblés en homomères, ou en hétéromères, il y a 4 sous-unités : GluA1, GluA2, GluA3 et GluA4. Les sous-unités GluA1 à GluA4 peuvent exister sous forme de 2 variantes générées par épissage alternatif (Peters et coll., 2015).

Tous les ARNm codant pour les sous-unités des récepteurs AMPA sont épissés dans la région codant pour la boucle extracellulaire. Seules les sous-unités GluA2 et GluA4 sont modifiées par épissage alternatif dans leur domaine C-terminal générant des formes courtes et longues. La majorité des récepteurs AMPA sont composés d'une combinaison de la sous-unité GluA2 avec une sous-unité GluA1 ou GluA3, la sous-unité GluA4 est exprimée dans des populations cellulaires spécifiques. Les différents domaines C-terminaux générés par l'épissage alternatif sont autant de signaux peptidiques qui permettent l'interaction avec des protéines partenaires ou la phosphorylation des récepteurs (Song et Huganir, 2002). Au total un récepteur AMPA fixe 4 molécules

de  
26

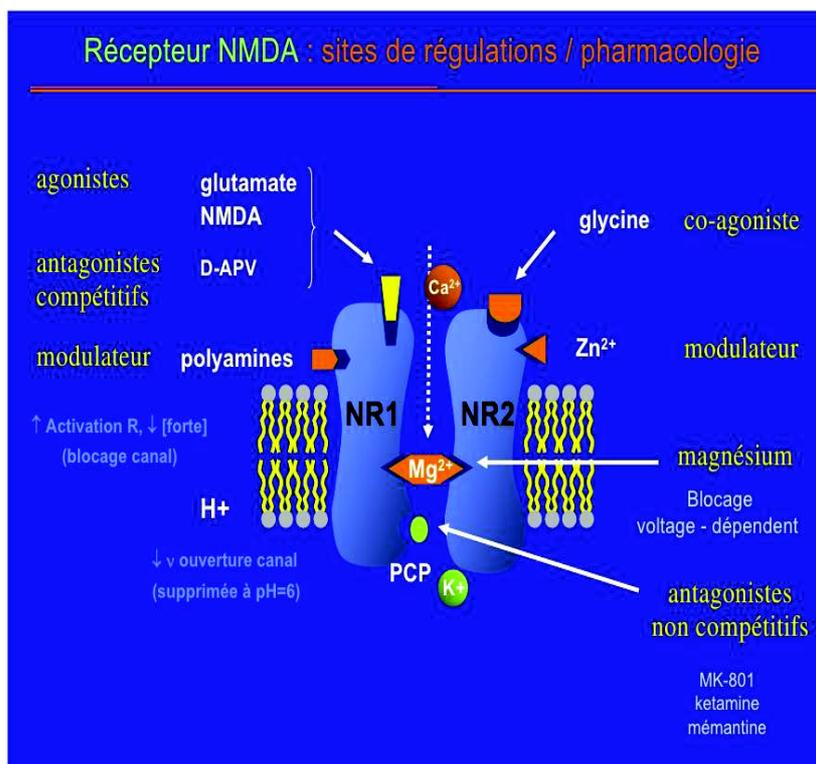
glutamate.

Une fois activés, ils vont déclencher l'ouverture d'un canal perméable au potassium et au sodium. Ainsi, le potassium sortira de la cellule alors que le sodium y entrera. Dans les organismes immatures, il y a de plus une entrée de calcium, cela dépendant de la structure de l'AMPA. Ainsi, l'entrée du sodium, après stimulation du récepteur, permettra la dépolarisation de la membrane du neurone cible du glutamate. Les récepteurs de type AMPA sont ainsi les acteurs majeurs de la transmission synaptique rapide.

Le nombre de récepteurs de type AMPA présents dans la densité post-synaptique détermine en partie le poids de la transmission synaptique. L'insertion de récepteurs de type AMPA dans la membrane post-synaptique est un des mécanismes de la potentialisation à long terme. Les récepteurs du glutamate de type AMPA ne sont pas seulement post-synaptiques, ces récepteurs pourraient réguler la libération de neurotransmetteur sur les terminaisons GABAergiques (Bureau et Mulle, 1998).

### 2.2.2.3. RECEPTEURS NMDA

Les récepteurs NMDA, dont le nom provient de l'agoniste type spécifique, le N-méthyl-D-aspartate sont des récepteurs ionotropes activés par le glutamate et la glycine. Ils sont perméables aux cations monovalents (sodium, potassium) et au calcium. Ils sont bloqués par l'ion magnésium, qui occupe l'entrée du pore (figure n°4).



**Figure n°4 :** Sites de liaison et de régulation des récepteurs NMDA. Les sous-unités NR1 et NR2 de l'ancienne nomenclature sur le schéma correspondent à GluN1 et GluN2 dans la nouvelle nomenclature de l'IUPHAR.

<http://fr.slideshare.net/schizophrénie/agoniste-partiel-agoniste-full-antagoniste>

Les récepteurs NMDA sont composés d'hétérodimères avec les sous-unités GluN1, GluN2A, GluN2B, GluN2C, GluN2D, GluN3A et GluN3B. L'épissage alternatif peut générer huit isoformes de GluN1 avec différentes propriétés pharmacologiques, différents variants d'épissage de GluN2B, 2C, 2D et GluN3A ont également été rapportés. L'activation des récepteurs NMDA contenant des sous-unités GluN2 et GluN1 nécessite la liaison de deux agonistes, le glutamate et la glycine. L'exigence minimale pour une expression fonctionnelle efficace des récepteurs NMDA in vitro est un assemblage d'hétérodimères de la sous-unités GluN1 et au moins une variante de la sous-unité GluN2, sous forme de dimère. D'autres assemblages d'hétérotrimères complexes peuvent avoir lieu, avec des sous-types des sous-unités GluN2 et GluN3 par exemple, dans le cervelet ou le prosencéphale (Peters et coll, 2015).

Le schéma d'expression des sous-unités GluN2 dépend à la fois du stade de développement et de la région du SNC concernée, seules les sous-unités GluN2D et GluN2B sont exprimées dans le cerveau embryonnaire. GluN2A y est minoritaire mais pas absente. La sous-unité GluN2C n'apparaît que 7 jours après la naissance. On peut retrouver dans de nombreuses régions cérébrales 2 types de sous-unités GluN2 exprimées. La sous-unité GluN3B joue un rôle important de régulation inhibitrice dans les fonctions des récepteurs NMDA, les sous-unités GluN3 ne sont présentes qu'au sein des récepteurs trihétéromériques GluN1/GluN2/GluN3.

Principalement post-synaptiques, les récepteurs ont aussi été détectés sur des sites extra-synaptiques, d'où ils peuvent être recrutés pour exercer des rôles distincts des récepteurs synaptiques (Tovar et Westbrook, 2002). La diffusion latérale des récepteurs dépend à la fois de la nature de la sous-unité GluN2 présente et de l'état de phosphorylation du récepteur. La composition en sous-unités varie d'un site à l'autre (la sous-unité GluN2B par exemple est particulièrement abondante aux sites extracellulaires), sans pour autant respecter une répartition simple des sous-unités en fonction de la région subcellulaire. Les récepteurs NMDA sont présents non seulement dans les neurones mais aussi dans les cellules gliales, notamment dans les oligodendrocytes, où leur composition est enrichie en GluN2C et GluN3A. Comme nous l'avons évoqué précédemment, les récepteurs GluN1/GluN2 nécessitent la liaison de deux agonistes différents pour être activés : le glutamate qui se fixe sur la sous-unité GluN2, mais aussi un co-agoniste, qui peut être la glycine ou la D-sérine. Une étude récente (Papouin et coll., 2012) a confirmé le rôle important de la D-sérine. Ils ont mis en évidence une utilisation différentielle de la glycine et de la D-sérine dans le CA1 de l'hippocampe : les récepteurs synaptiques sont sensibles à la D-sérine tandis que les récepteurs extrasynaptiques sont sensibles à la glycine. La présence du

co-agoniste étant obligatoire pour l'activation des récepteurs NMDA, des variations de la concentration locale de co-agoniste peuvent moduler les réponses NMDA. Par exemple, l'activité des récepteurs NMDA peut être régulée par les astrocytes, cette classe de cellule gliale pouvant synthétiser et libérer de la D-sérine à partir de la L-sérine grâce à une racémase.

Des modulateurs allostériques régulent aussi l'activité des récepteurs NMDA. Elle peut être modulée, soit positivement, soit négativement, par des petites molécules et ions dont le site de liaison est différent du canal ionique. Ces modulateurs, dits allostériques, peuvent être endogènes, c'est-à-dire présents naturellement dans le SNC : c'est le cas des protons et du zinc. Ils peuvent également être exogènes, comme c'est le cas pour l'ifenprodil, molécule organique de synthèse ou l'alcool (figure n°4).

Les récepteurs NMDA sont perméables au calcium contrairement à la majorité des récepteurs du glutamate. Les récepteurs NMDA sont les récepteurs principalement postsynaptiques responsables de la phase lente des potentiels post-synaptiques excitateurs.

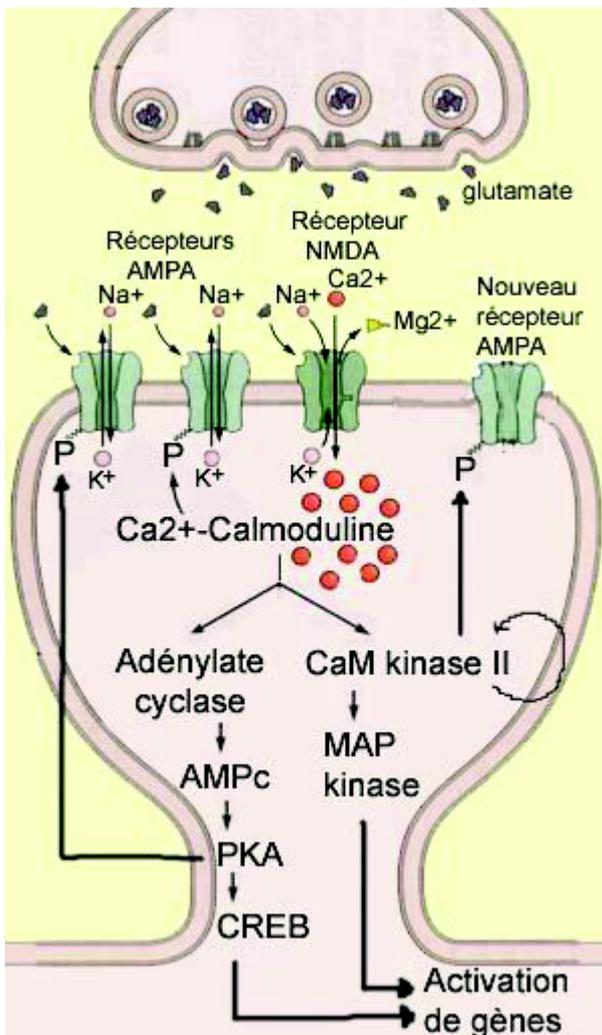
Au potentiel de repos du neurone, la liaison du glutamate sur le récepteur de type NMDA ne suffit pas pour permettre l'entrée d'ions par le canal. Une dépolarisation de la membrane plasmique est nécessaire pour lever le blocage du canal par l'ion magnésium. Cette propriété fait du récepteur NMDA un détecteur de coïncidence entre la libération synaptique de glutamate et une dépolarisation de la membrane du neurone.

L'ensemble de ces propriétés confèrent aux récepteurs NMDA un rôle essentiel dans l'initiation de diverses formes de plasticité synaptique comme la plasticité à long terme et la dépression à long terme, essentielles aux phénomènes d'apprentissage et de mémoire. Ces propriétés, de même que leur sensibilité aux agonistes, leur conductance unitaire et leur probabilité d'ouverture maximale sont très variables selon les sous-unités composant le récepteur, le type de sous-unité GluN2 incorporée étant la principale source de cette diversité fonctionnelle (Paoletti et coll., 2013).

Les récepteurs NMDA sont donc indispensables au développement de la mémoire ; les signaux glutamatergiques captés via les récepteurs NMDA régulent ainsi la consolidation des souvenirs.

La potentialisation à long terme (PLT) a été découverte dans l'hippocampe mais sa présence a par la suite été démontrée dans de nombreuses régions du cortex.

Lors de la stimulation à haute fréquence à l'origine de la PLT, une dépolarisation du neurone post-synaptique se produit suite à l'activation soutenue des récepteurs AMPA. Le magnésium va alors se retirer du canal calcique associé au récepteur NMDA et permettre l'entrée massive de calcium dans la cellule. Or cette concentration accrue de calcium dans le dendrite mettra en branle plusieurs voies de signalisation qui conduiront à l'augmentation prolongée de l'efficacité de cette synapse (figure n°5).



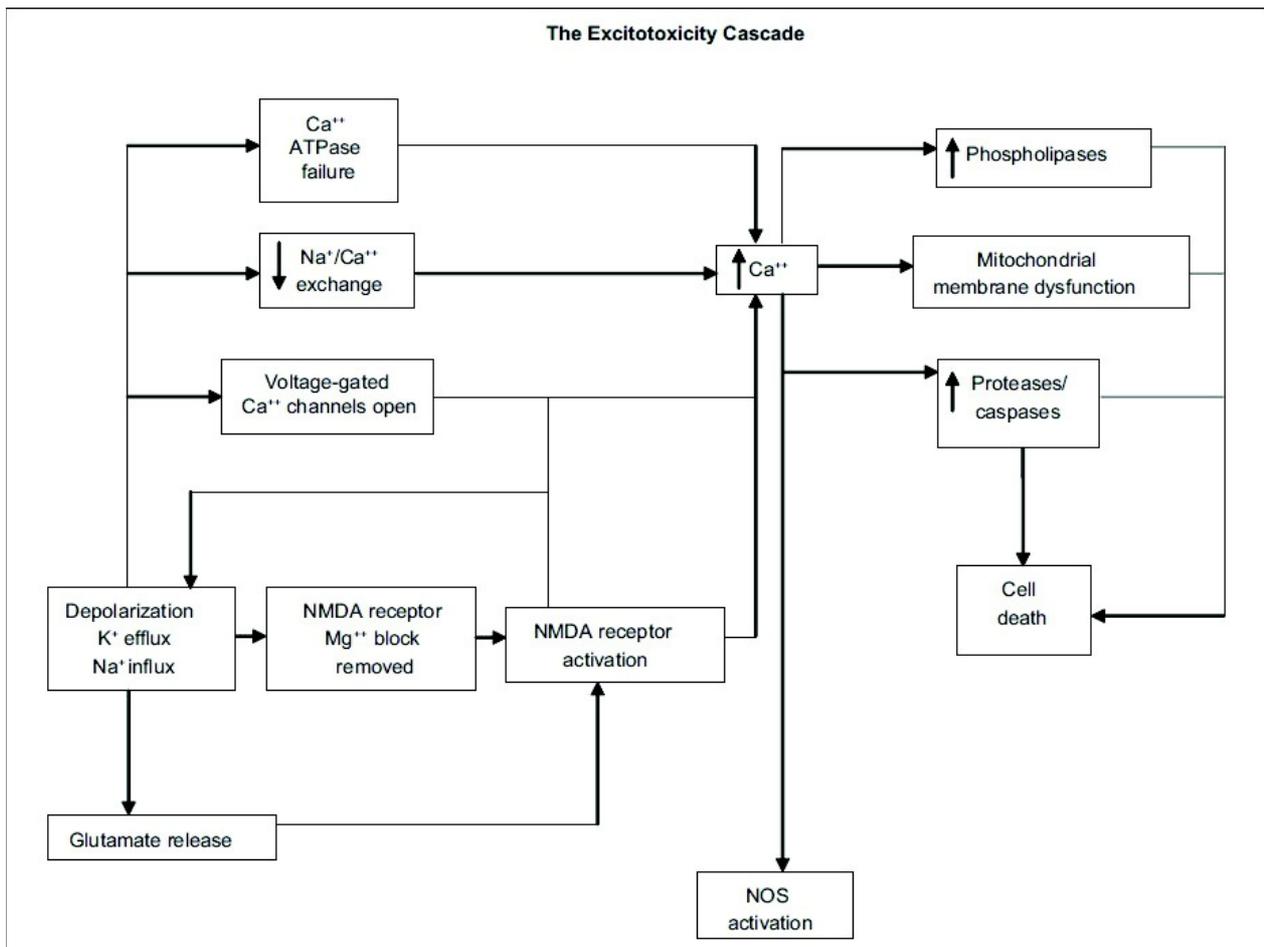
**Figure n°5 :** Rôle du calcium et des récepteurs post-synaptiques dans la potentialisation à long terme

[http://lecerveau.mcgill.ca/flash/a/a\\_07/a\\_07\\_m/a\\_07\\_m\\_tra/a\\_07\\_m\\_tra.html](http://lecerveau.mcgill.ca/flash/a/a_07/a_07_m/a_07_m_tra/a_07_m_tra.html)

### 2.3. Excitotoxicité

Le phénomène d'excitotoxicité a été découvert par hasard en 1957, quand Lucas et Newhouse se sont aperçus que le glutamate de sodium, donné en nourriture à des souris, détruisait les neurones de la rétine. En 1969, Olney prolongeait cette découverte en montrant que les régions où l'on observait une mort neuronale sous l'effet du glutamate s'étendaient à la totalité de l'encéphale. Les lésions dues au glutamate étaient nettement limitées aux cellules postsynaptiques : les dendrites des neurones cibles étaient fortement augmentées de volume tandis que les terminaisons présynaptiques étaient épargnées. Olney examina également la puissance relative d'analogues du glutamate et constata que leur efficacité neurotoxique était parallèle à leur capacité d'activer les récepteurs postsynaptiques du glutamate. Par ailleurs des antagonistes des récepteurs du glutamate exerçaient un blocage efficace sur les effets neurotoxiques du glutamate. Il fit donc l'hypothèse que le glutamate détruisait les neurones par un mécanisme semblable à celui qui est mis en jeu aux synapses glutamatergiques excitatrices et il forgea le terme d'excitotoxique pour qualifier cet effet pathologique.

Le glutamate, neurotransmetteur libéré de façon incontrôlée lors de la dépolarisation neuronale consécutive à un stress, va stimuler ses récepteurs ionotropiques. L'activation excessive des récepteurs NMDA joue un rôle prépondérant dans l'initiation de la cascade excitotoxique (figure n°6). L'entrée massive de calcium mais aussi de sodium dans la cellule va conduire à l'activation excessive et délétère d'une batterie d'enzymes cytosoliques : protéases, phospholipases, endonucléases..., conduisant à la nécrose et à l'apoptose et donc à la mort cellulaire.



**Figure n°6** : Cascade de l'excitotoxicité (Di Polo A et Levin LA, 2007)

L'excitotoxicité est à l'origine des altérations neuronales observées après occlusion d'un vaisseau sanguin cérébral responsable d'un accident vasculaire cérébral ischémique. En effet, des microinjections expérimentales, chez l'animal, d'antagonistes des récepteurs du glutamate protègent les neurones des altérations d'origine ischémique. Ainsi, l'accumulation extracellulaire de glutamate au cours de l'ischémie entraîne une activation excessive des récepteurs du glutamate et déclenche une succession d'évènements menant à la mort des neurones. La réduction de l'apport d'oxygène et de glucose élève le niveau de glutamate extracellulaire en ralentissant l'élimination du glutamate aux synapses, par les transporteurs gliaux et neuronaux du glutamate qui requièrent une source d'énergie.

Ces événements successifs vont rapidement être complétés par la mise en jeu d'autres mécanismes en rapport avec la synthèse de NO par la NO synthase de type I (neuronale) puis après l'induction de la NO synthase de type II qui contribuent au développement du stress oxydant. La formation de radicaux libres, contribue ainsi à la mort cellulaire (figure n°6).

En dehors des phénomènes de nécrose cellulaire qui surviennent précocement, en particulier au cœur de l'ischémie, l'augmentation de la concentration cellulaire en calcium, la production de NO et de radicaux libres ainsi que les médiateurs de l'inflammation vont être susceptibles de mettre en œuvre un processus de mort cellulaire programmé, l'apoptose. Ce processus prédomine au sein de la zone de pénombre et fait intervenir des processus biologiques complexes. En effet l'hypofonctionnement des récepteurs NMDA est aussi facteur d'apoptose (Hardingham et Do, 2016). L'augmentation de la concentration en calcium, particulièrement lorsqu'elle est secondaire à l'activation du récepteur NMDA, va constituer l'un des signaux activateurs principaux de l'apoptose par l'intermédiaire de l'expression de gènes de réponse immédiate permettant la transformation, par l'activation d'autres gènes, d'un signal extracellulaire en modifications à plus long terme. Ainsi, l'expression de la Trp53 (transformation-related protein 53) va provoquer un déséquilibre entre des facteurs proapoptotiques et antiapoptotiques de la famille Bcl2 en faveur de l'apoptose. Les protéines proapoptotiques telles que Bax et Bcl-x vont contribuer à l'exécution des dernières étapes du programme de mort cellulaire par l'activation de nombreuses caspases (cysteinyl aspartate specific-proteases), responsables d'altérations de l'ADN cellulaire, de la désorganisation du cytosquelette et d'un délabrement de la membrane cytoplasmique (Deplanque et Bordet, 2006).

Ce mécanisme physiopathologique est incriminé dans un certain nombre de maladies neurologiques comme les traumatismes de la moelle épinière, les traumatismes cérébraux, la surdité acquise (par ototoxicité li e à la surexposition au bruit,) et les accidents vasculaires c erebraux, ou neurodégénératives du système nerveux central comme la sclérose en plaques, la maladie d'Alzheimer, la sclérose latérale amyotrophique, la fibromyalgie, la maladie de Parkinson ou enfin la chorée de Huntington. L'excitotoxicité est aussi probablement incriminée dans les lésions c erebrales liées au handicap néonatal chez pr ematur es (Belousov et Fontes, 2016).

Les neurones glutamatergiques ont un rôle important dans le tri des cellules et/ou leur orientation lors du développement : il y a d'abord un phénomène de division et de prolifération des cellules. La stimulation ou non des récepteurs glutamatergiques pourra favoriser ou au contraire freiner l'apoptose de certaines d'entre elles.

## 2.4. Antagonistes des récepteurs NMDA

### 2.4.1. LE MAGNESIUM

Le magnésium est l'élément chimique de numéro atomique 12, de symbole Mg.

Il est aussi présent dans l'alimentation, l'apport recommandé quotidien est estimé à 300 mg de magnésium par jour (le double pour les sportifs ou les femmes enceintes) ou encore 6 mg par kg de masse corporelle. La première source alimentaire de magnésium est souvent d'origine céréalière : les produits céréaliers étant présents à tous les repas, ce sont eux qui couvrent la majeure partie des besoins.

Le corps ne produit pas de magnésium et doit le puiser dans l'alimentation. La consommation excessive de magnésium est éliminée dans les urines, le magnésium ne s'accumule donc pas.

En médecine, certains troubles peuvent être consécutifs à un manque de magnésium : dépression, angoisse, diabète, spasmes musculaires, crampes, troubles cardio-vasculaires, pression artérielle élevée, insomnie et ostéoporose.

L'hydroxyde de magnésium est employé en médecine pour traiter les aigreurs d'estomac.

L'empoisonnement par excès de magnésium peut exister chez l'enfant et dans le cas de personne souffrant d'insuffisance rénale. L'ingestion de grandes quantités de magnésium a un effet laxatif, par effet osmotique.

Le magnésium intervient dans le métabolisme calcique sur les glandes parathyroïdes. Au niveau cellulaire, il contrôle et régule l'entrée du calcium dans la cellule et les liquides intracellulaires. En effet, le magnésium inhibe des canaux cationiques, notamment sodiques et surtout calciques voltage-dépendants et se comporte comme un anticalcique. Il protège ainsi les mitochondries contre les surcharges en calcium et diminue l'excitabilité neuronale, il est utilisé dans le traitement de certaines convulsions comme celles de l'éclampsie (Allain, 2006).

Les ions magnésium régulent plus de 300 réactions biochimiques dans le corps à travers leur rôle de co-facteurs enzymatiques. Ils jouent également un rôle essentiel dans les réactions qui génèrent et utilisent l'ATP.

Sa présence est essentielle pour le métabolisme du glucose et la dégradation des graisses, la production de protéines, des enzymes et des anti-oxydants tels que le glutathion. Il sert également

à la constitution de l'ADN (acide désoxyribonucléique) et de l'ARN (acide ribonucléique) et à la régulation du cholestérol.

Le magnésium inhibe l'ouverture du récepteur canal NMDA, il le bloque de façon voltage-dépendante en se plaçant à l'intérieur. Au potentiel membranaire de repos (-70 mV), les ions magnésium extracellulaires obstruent le canal, même si les co-agonistes comme la glycine ou le glutamate sont liés à leurs sites respectifs. En cas de dépolarisation, les forces électrostatiques négatives qui attireraient le magnésium au niveau de la sous-unité GluN2 s'effacent et le cation est libéré. L'influx calcique est d'autant plus important que la dépolarisation est marquée (Mion, 2006).

Une hypermagnésémie peut entraîner principalement une hypotension, une léthargie, une confusion mentale, des troubles cardiaques, une faiblesse musculaire ou encore des difficultés respiratoires.

#### 2.4.2. LE MK-801

Le MK-801 ou dizocilpine est un antagoniste non compétitif des récepteurs NMDA.

Il a été découvert par une équipe de Merck en 1982. Le MK-801 se lie à l'intérieur du canal ionique du récepteur à plusieurs sites de liaison, empêchant ainsi l'écoulement des ions à travers le canal. Sa liaison à ces sites est pratiquement irréversible. Il agit comme un puissant anticonvulsivant et a des propriétés anesthésiques, mais il n'est pas utilisé cliniquement à cet effet en raison de la découverte de lésions cérébrales, appelées les lésions de Olney, chez des rats traités. Le MK-801 est également associé à un certain nombre d'effets indésirables, comme des perturbations cognitives et des réactions psychotiques. Il prévient le processus de la potentialisation à long terme. Le MK-801 est l'antagoniste non compétitif des récepteurs NMDA le plus fréquemment utilisé comme inducteur dans des modèles animaux de schizophrénie.

Contrairement aux agonistes dopaminergiques, qui induisent seulement les symptômes positifs (ou productifs) de la schizophrénie, une injection unique de MK-801 a réussi à modéliser à la fois les symptômes productifs et déficitaires de la schizophrénie. Bien que de faibles doses de MK-801 répétées aient seulement réussi à produire des modifications du comportement, tels qu'une légère hyperlocomotion et une diminution de l'inhibition de réaction (saut) à un stimulus auditif par un stimulus préalable (pre-pulse inhibition), l'administration répétée d'une dose plus élevée reproduit ces effets, mais induit en plus des modifications neurochimiques similaires à celles

retrouvées chez des patients schizophrènes. Non seulement le MK-801 utilisé temporairement précipite des états psychotiques chez l'Homme, mais l'administration chronique chez les animaux de laboratoire entraîne des changements neuropathologiques semblables à la schizophrénie (Rompala, 2013).

Les antagonistes des récepteurs NMDA dont le MK-801 ont été largement étudiés pour une utilisation dans le traitement de maladies avec des composants excitotoxiques, tels que les accidents vasculaires cérébraux, les lésions cérébrales traumatiques, et les maladies neurodégénératives telles que la maladie de Huntington, la maladie d'Alzheimer et la sclérose latérale amyotrophique. Le MK-801 a montré une efficacité dans la protection des neurones en culture de cellules et des modèles animaux de neurodégénérescence excitotoxique. Le MK-801 atténue également la perte d'audition provoquée par les aminosides. On pense que les aminoglycosides imitent les polyamines endogènes au niveau des récepteurs NMDA et produisent des dommages excitotoxiques, conduisant à la perte des cellules ciliées.

Le MK-801 peut également potentialiser la capacité de la lévodopa pour améliorer l'akinésie et la rigidité musculaire dans un modèle de maladie de Parkinson chez le rongeur. Quand il a été administré à des rats 15 minutes après un traumatisme de la colonne vertébrale, la récupération neurologique à long terme du traumatisme a été améliorée (El Arfani, 2014).

#### 2.4.3. LA KETAMINE

La kétamine est également un antagoniste non compétitif du glutamate au niveau des récepteurs NMDA, elle agit plus précisément au niveau du canal comme le magnésium, elle est insensible à la dépolarisation membranaire si bien que le blocage du récepteur est plus durable que celui exercé par le magnésium, mais moins que celui exercé par le MK-801 (qui est irréversible) (Mion, 2006). Elle est utilisée comme anesthésique général en médecine, pour ses effets au niveau de l'hippocampe et du cortex préfrontal, sur la mémoire et la conscience. Elle est également utilisée en prémédication, pour la sédation et l'induction de l'anesthésie.

La kétamine possède également à de faibles doses, un intérêt certain, démontré ces dernières années, dans le cadre de l'analgésie. Les effets analgésiques et antihyperalgésiques de la kétamine sont liés à ses effets antagonistes sur les récepteurs NMDA au glutamate au niveau médullaire. De faibles doses de kétamine permettent une épargne morphinique et de ses effets indésirables.

Une perfusion de cet antagoniste du NMDA déclenche une action antidépressive en quelques heures, alors que les antidépresseurs oraux ont un délai d'action beaucoup plus long.

On a montré que des perfusions répétées de kétamine en cas de dépression résistante aux traitements usuels pouvaient également s'avérer efficaces à court terme, voire à moyen terme chez certains patients (Wan et coll, 2015).

Les Dr Caoimhe Coyle et Keith Laws ont décidé d'effectuer une méta-analyse sur cette question. Dans cette méta-analyse, les chercheurs ont passé en revue 21 études de référence, afin de déterminer si la kétamine avait effectivement un effet antidépresseur immédiat, si cet effet était prolongé dans le temps malgré la courte demi-vie de la molécule (3 heures) et si des injections répétées pouvaient être plus efficaces qu'une seule injection (Coyle et Laws, 2015). Après analyse de ces essais, les auteurs ont pu confirmer que la kétamine réduisait de façon importante les symptômes dépressifs lors d'évaluations réalisées de la 4e heure jusqu'à 14 jours après une perfusion unique ou répétée.

En pratique clinique pédiatrique, la kétamine est utilisée en combinaison avec d'autres anesthésiques pour les actes de chirurgie buccale, cardiaque, ophtalmique, gastro-intestinale, la neurochirurgie, dans un contexte d'urgence ou au cours d'examen à procédure invasive.

A la suite d'une naissance prématurée, la probabilité de mise en œuvre de procédures de soins potentiellement douloureuses est accrue par rapport à une naissance à terme, certains praticiens préconisent alors l'administration de kétamine. On s'interroge actuellement sur le bien-fondé de son utilisation quand on sait que la kétamine développe un effet dual : elle peut avoir un effet neurotoxique ou un effet neuroprotecteur. Elle pourrait avoir un effet délétère sur le cerveau en développement des prématurés, en effet elle affecte la survie et la différenciation des interneurons GABAergiques par apoptose et affecte leur intégration dans le cortex mature à long terme chez les souriceaux de mères traitées lors de la gestation. Elle pourrait donc développer un effet délétère sur le fœtus dont la mère consomme de la kétamine (Aligny, 2014).

La kétamine est commercialisée sous forme liquide. Par contre, elle est en général transformée en poudre blanche avant d'être vendue comme drogue illicite. La poudre est reniflée, mélangée à des boissons ou fumée avec de la marijuana ou du tabac. Elle est ajoutée à des boissons, ou injectée par voie intra-musculaire.

La kétamine est utilisée pour ses effets psychédéliques depuis presque 30 ans. Les usagers prennent cette drogue parce qu'elle leur procure le sentiment de pénétrer dans un autre monde.

L'augmentation récente de la popularité de cette drogue parmi les jeunes est peut-être due à sa disponibilité en tant que « drogue de club » lors de parties et de « raves ».

A l'heure actuelle, la kétamine est répertoriée comme une drogue illicite, consommée principalement par les adolescents. A faible dose, elle altère l'attention, les capacités d'apprentissage et la mémoire et à forte dose, elle peut provoquer des hallucinations et même conduire au délire et à l'amnésie.

La kétamine est ainsi susceptible de provoquer des troubles psychiatriques assimilés à la schizophrénie et des altérations de la conscience, notamment une sensation de dédoublement (décorporation), de confusion ou d'irréalité. C'est d'ailleurs ce qui explique que son utilisation thérapeutique reste modérée. Aux dosages utilisés en anesthésie, elle peut provoquer des maux de tête, des nausées, des vomissements. Plus grave, à dose prolongée, la kétamine favorise les infections urinaires (vessie) et entraîne progressivement une destruction des reins. Utilisée sous forme de drogue et à haute dose, elle peut entraîner des troubles du rythme cardiaque, une perte de connaissance ou un coma (Chu et coll., 2008).

Une tolérance s'instaure au fil du temps et il est nécessaire d'attendre plusieurs semaines pour retrouver son effet initial. La kétamine peut créer une forte dépendance psychique.

#### 2.4.4. LA MEMANTINE

La mémantine est un antagoniste voltage-dépendant non compétitif des récepteurs NMDA d'affinité modérée.

La mémantine induit des effets bénéfiques sur la PLT et les processus d'apprentissage. En effet, en conditions pathologiques, l'accumulation du glutamate extracellulaire basal peut créer un bruit de fond d'activation et masquer un signal glutamatergique normalement induit par un stimulus extérieur; les récepteurs NMDA apparaissent alors moins efficaces pour développer la PLT. L'antagoniste réversible, de faible affinité, peut inhiber l'activation basale accrue et prolongée du récepteur, sans pour autant bloquer l'activation du récepteur associée à une stimulation aiguë pertinente. La mémantine, en augmentant le rapport signal sur bruit de fond, améliorerait donc la PLT et les processus de mémorisation (Parsons et Gilling, 2007).

C'est sur cette base que la mémantine a obtenu une autorisation de mise sur le marché dans la prise en charge de la maladie d'Alzheimer (UE en 2002, USA en 2003), induisant une amélioration relative des capacités cognitives. Sa bonne tolérance clinique tient essentiellement de sa

dissociation voltage-dépendante, similaire à celle de l'ion magnésium. L'hypothèse principale concernant le mécanisme d'action de la mémantine s'appuie essentiellement sur cette capacité à se fixer et à se dissocier rapidement du récepteur. La mémantine ne peut se fixer sur son site que si le récepteur est préalablement activé par l'agoniste. En agissant comme bloqueur des canaux ouverts, la mémantine agit préférentiellement lors d'une activation prolongée du récepteur, notamment en condition pathologique. La mémantine a ainsi été décrite comme bloquant plus efficacement les récepteurs NMDA en présence de fortes concentrations d'agoniste. La concentration en agoniste influencerait davantage sur la vitesse de blocage des récepteurs que sur l'amplitude de ce blocage (Parsons et Gilling, 2007).

De manière non négligeable, la mémantine semble présenter une certaine sélectivité pour certains sous-types de récepteurs NMDA. La mémantine, en présence d'une concentration physiologique de magnésium, montrerait une plus forte sélectivité pour les récepteurs GluN1/2C et GluN1/2D que pour les récepteurs GluN1/2A et GluN1/2B (Kotermanski et coll, 2009). Or la sous-unité GluN2D est particulièrement exprimée dans le système nerveux en développement. La mémantine agit également comme antagoniste non compétitif des récepteurs sérotoninergiques, cholinergiques, nicotiniques... elle stimule les récepteurs dopaminergique (Dysken et coll., 2014).

La mémantine a un effet positif sur la cognition, l'humeur, le comportement et la capacité à assumer les activités de la vie quotidienne dans les formes modérées à sévères de la maladie d'Alzheimer mais un effet inconnu pour les formes légères à modérées de la maladie. Elle est actuellement commercialisée sous le nom d'Ebixa\*. Ce médicament est devenu une alternative aux médicaments ciblant le système cholinergique à l'efficacité limitée : les anticholinestérasiques. Elle pourrait mimer certains effets bénéfiques du magnésium sur la neuroprotection chez le nouveau-né.

L'effet neuroprotecteur de la mémantine a été mis en évidence dans un modèle de LPV (leucomalcie périventriculaire), induit par hypoxo-ischémie chez le rat à 6 jours postnataux (P6) (Manning et coll., 2011 ; Mao et coll., 2012). L'absence d'altération de la myélinisation dans ce modèle, atteste notamment d'un effet protecteur au niveau de la substance blanche. On a également examiné la toxicité de la mémantine sur le neurodéveloppement chez le rat à P6. Alors qu'un antagoniste comme le MK-801 induit une augmentation de l'apoptose dans différentes régions du cerveau, 72h après administration, la mémantine n'apparaît pas toxique. La mémantine, à une dose neuroprotectrice, n'induit pas d'altération à long terme de la transmission glutamatergique (Manning et coll., 2011). Dans un modèle d'hémorragie méningée chez l'adulte, il

a été montré que la mémantine inhibait l'activité de la NO synthase neuronale, et donc la production de radicaux libres oxygénés, avec un effet similaire à celui d'un inhibiteur spécifique de la NO synthase (le 7-nitroindazole) (Huang et coll., 2015).

Les effets indésirables les plus fréquents suivant la prise de mémantine sont le mal de tête, la somnolence, les vertiges et les troubles de l'équilibre, l'essoufflement, l'élévation de la tension artérielle et l'élévation des transaminases. Des effets plus rares peuvent apparaître comme une insuffisance cardiaque ou la formation de caillot sanguin veineux (thrombose/thromboembolisme).

### III. But du travail

Le handicap cérébral est un état pathologique (non évolutif) non héréditaire comportant diverses atteintes neurologiques. Une cause exacte n'est pas toujours retrouvée mais elle est liée à la prématurité, l'hypoxie périnatale, les traumatismes cérébraux etc...

Les causes pré- ou néo-natales sont des malformations vasculaires pendant la gestation, les spina bifida avec hydrocéphalie, le manque d'oxygène, l'incompatibilité du rhésus chez les parents ou encore les maladies métaboliques.

Les causes liées à l'accouchement peuvent être un traumatisme (application du forceps, hémorragie), l'anoxie, l'asphyxie, les analgésiques (administration de médicaments pouvant affecter la respiration de l'enfant) ou la prématurité.

Le problème peut également survenir après l'accouchement : tumeurs au cerveau, accident vasculaire cérébral (AVC), traumatisme crânien, infections (fièvre infantile, méningite...), problèmes vasculaires...

L'excitotoxicité qui se développe suite à l'ischémie (insuffisance d'irrigation sanguine) et est aggravée par l'hypoxie, est un des mécanismes responsable à terme de certains handicaps et troubles psychomoteurs ou comportementaux.

Ce phénomène est particulièrement fréquent chez les enfants prématurés.

Cette excitotoxicité est associée à une libération massive de glutamate et les antagonistes glutamatergiques constituent donc des traitements potentiels neuroprotecteurs.

En particulier le magnésium et la mémantine dont l'action est voltage-dépendante, permettant de bloquer les effets excitotoxiques sans annihiler les effets physiologiques du glutamate. En effet, le magnésium est déjà utilisé chez la femme en menace d'accouchement prématuré en clinique.

Ces antagonistes potentiellement neuroprotecteurs pourraient donc être administrés chez des prématurés à la naissance ou chez la mère lors de la grossesse en cas de risque avéré d'accouchement prématuré afin de prévenir les phénomènes d'excitotoxicité qui pourraient éventuellement survenir.

Le but de notre travail est donc de vérifier que ces traitements ne développent pas d'effets délétères à long terme, chez un enfant prématuré qui n'aurait pas subi d'évènements excitotoxiques.

A cette fin, nous avons utilisé le modèle de souriceaux nés à terme qui présentent un degré de développement cérébral moins mature que l'humain. En effet, un souriceau à cinq jours est au même stade qu'un prématuré humain, à l'âge gestationnel 30-34 semaines d'aménorrhée (Marret et coll., 1995) (tableau n°3).

Jours postnataux chez la Souris	Semaines d'aménorrhée chez l'Homme
P0	18 SA
P2	24 SA (grand prématuré)
<b>P5</b>	<b>30-34 SA (prématuré)</b>
P10	37-39 SA (nouveau-né à terme)

**Tableau n°3** : comparaison gestation humain-murin (Marret et coll., 1995)

Cependant, la souris à P5 n'est pas un modèle de prématurité car la souris née à terme n'est pas soumise aux mêmes risques que l'enfant prématuré. Chez le prématuré, il y a des risques d'infection (avec fièvre), des risques d'hypoxie, d'hémorragies plus importantes. Par contre les troubles liés à ces risques rencontrés chez l'Homme peuvent être mimés chez la Souris si on utilise des modèles de souris hémorragique à P5 ou si on induit chez le souriceau à P5 des lésions excitotoxiques (injection d'acide iboténique) ou hypoxo-ischémiques (ligature de l'artère cérébrale moyenne + période d'hypoxie).

Notre étude a consisté à rechercher si des agents potentiellement neuroprotecteurs administrés à P5 chez la Souris développent des altérations des comportements ou des taux cérébraux de neurotransmetteurs à l'âge adulte.

Nous avons donc entrepris d'injecter chez des souriceaux nouveaux-nés à P5 un agent pharmacologique, antagoniste des récepteurs glutamatergiques de type NMDA : la kétamine (300µg/kg), la mémantine à 2 dosages (2,5mg/kg et 25mg/kg), le MK-801 (300µg/kg) ou le magnésium (200mg/kg).

Nous avons soumis les souris à 3 épreuves comportementales qui évaluent l'habituation, le stress, l'anxiété, l'activité locomotrice, la résignation... On dosera également après sacrifice des souris, différents neurotransmetteurs et leurs métabolites (les catécholamines et indolamines, GABA,

glutamate) par HPLC (chromatographie liquide haute performance), dans différentes structures cérébrales, notamment le cortex frontal, cortex pariétal et le striatum.

### III. MATERIEL ET METHODES

#### 1. Les animaux

Les souris Naval Medical Research Institute (NMRI), fournies par Janvier (Le Genest-Saint-Isle, France) sont maintenues en conditions d'hébergement avec un accès libre à l'eau et à la nourriture, un cycle jour-nuit inversé 12h-12h (lumière à 19h) et une température maintenue à  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ . Les procédures d'expérimentation animale sont validées et approuvées par le comité d'éthique (Ministère français de l'éducation et de la recherche, agrément 01680.02/2014 octobre 2013).

Cette souche a l'avantage d'avoir un taux élevé de fécondité.

Les jeunes mâles et femelles ont été séparés de leur mère vers P23 et hébergés dans les conditions décrites ci-dessus jusqu'à la mise en œuvre d'expériences à l'âge P60 à P96.

L'accouplement (« plug ») se fait environ 20 jours avant la naissance des souriceaux.

P1 est le jour de naissance, on traite les nouveau-nés à P5 (5 jours postnataux). Le sevrage se fait entre P21 et P30.

A P60 les animaux sont migrés dans un local d'animalerie proche des salles d'expérimentation et mis dans les conditions d'étude, les tests comportementaux commenceront 15 jours plus tard.

Il y aura 5 lots de souris, chaque lot étant composé de 3 ou 4 portées. Au sevrage, on sélectionne au hasard jusqu'à 12 mâles et 12 femelles dans chaque lot.

Les souris ont été réparties en 6 groupes selon le traitement administré :

Groupes	Traitement	Modalités
I	Contrôles	10 $\mu\text{L}$ PBS i.p. à P5
II	MK801	300 $\mu\text{g}/\text{kg}/10\mu\text{L}$ PBS i.p. à P5
III	Kétamine	40 $\text{mg}/\text{kg}/10\mu\text{L}$ PBS s.c. à P5
IV	Mémantine Aigu	2,5 $\text{mg}/\text{kg}/10\mu\text{L}$ PBS i.p. à P5
V	Mémantine Chronique	25 $\text{mg}/\text{kg}/10\mu\text{L}$ PBS i.p. à P5
VI	MgSO <sub>4</sub>	200 $\text{mg}/\text{kg}/10\mu\text{L}$ PBS i.p. à P5

Le test d'activité locomotrice est effectué en 1er à J75, la roue d'activité à J82, puis le TST 5 à 20 jours plus tard. Lorsque tous ces tests sont effectués, on prélève les cerveaux. Les éléments à doser sont gardés au réfrigérateur ou au congélateur en attendant le dosage des neurotransmetteurs.

## 2. L'activité Locomotrice (ALM)

Le dispositif Versamax 4.2 (Instruments Inc., Columbus, OH, Etats-Unis) permet d'évaluer : le retard moteur, la réponse à la nouveauté, le mécanisme d'habituation, l'exploration, les réponses au stress, l'anxiété, les effets sédatifs, les rythmes circadiens des souris...

Il mesure l'activité motrice spontanée dans un "open field", traversé par des faisceaux infrarouges. L'interruption de ces derniers est détectée par des cellules photoélectriques reliées à un ordinateur et au logiciel (figure n°7).

Le système se compose essentiellement d'un cadre carré (20 cm x 20 cm x 30 cm), un support de cadre et une unité de commande. Chaque cadre compte 16 x 16 faisceaux IR pour une détection optimale du sujet.

Le système est complètement modulaire : chaque image peut être utilisée pour l'évaluation de l'activité générale (distance parcourue), des mouvements locomoteurs et stéréotypés, de la posture debout ou d'exploration (redressements, activité verticale).

Les animaux ont été placés dans le dispositif pendant 3h (14-17h) dans le noir, sans eau ni nourriture. Les mesures ont été faites pendant les 30 premières minutes, la première heure et les 3 heures. Plusieurs critères ont été mesurés : l'activité verticale, le temps de repos et la distance parcourue.



**Figure n°7** : Photographie du dispositif de l'activité locomotrice

### 3. La roue d'activité

Il s'agit d'une méthode simple pour mesurer spontanément l'activité locomotrice et l'effort physique de rongeurs dans une cage de vie munie d'une roue d'activité reliée à un ordinateur fonctionnant avec le logiciel (Activiwheel, Intellibio, Seichamps, France, diamètre 23 cm) (figure n°8). Les paramètres mesurés sont : la rotation, la vitesse, l'accélération, la durée, ..., incluant la période d'occurrence.

Les animaux ont été placés dans le dispositif pendant 3 jours, selon un cycle nycthémeral de 12h/12h d'éclairage (7h00-19h00) et d'obscurité (19h00-7h00) et avec de la nourriture et de la boisson ad libitum. Le test a été initié à 14h00. Les mesures d'activité (temps de course, ...) ont été faites toutes les heures pendant les 3 jours ou bien moyennées sur les 2 derniers nycthémeres.

Ce système permet d'enregistrer les paramètres relatifs à l'exercice volontaire de l'animal qui décide librement de sa durée et de son intensité. Le monitoring et l'enregistrement sont habituellement réalisés sur de longues périodes (plusieurs jours) afin d'analyser les différences induites dans les routines d'exercice par les médicaments.



**Figure n°8 :** Photographie du dispositif de la roue d'activité

#### 4. Le test de suspension par la queue (TST = tail suspension test)

Ce test de désespoir comportemental est un procédé rapide d'évaluation des effets psychotropes de substances médicamenteuses (antidépresseurs) sur le comportement d'un rongeur essayant de se soustraire à une situation inconfortable. C'est un test simple et rapide (6 minutes maximum par cycle), ne provoquant aucune douleur chez l'animal.

Le test de suspension caudale a été développé en tant qu'alternative au test de nage forcée de Porsolt, et repose sur un concept similaire. Des souris, suspendues par la queue à l'aide de ruban adhésif, essaient, de manière innée, de s'échapper de cette situation non-naturelle, en s'agitant (figure n°9). A force d'échouer dans leur tentative d'échappement, elles développent un état de « désespoir » qui se traduit par de l'immobilité. La magnitude de cette immobilité est considérée comme corrélée à un état dépressif, et est réduit de façon significative par les antidépresseurs. Le principe de

l'évaluation de l'état de résignation repose sur la mesure de la durée des mouvements, et sur la force déployée au cours des mouvements, visant à échapper à cette situation.

Les animaux sont isolés chacun dans une cage 15 minutes avant le test, puis ils passent 6 par 6, chaque groupe pendant 6 minutes, dans deux dispositifs (Bioseb Model: BIO-TST4) comprenant trois box séparés et munis de crochets (un dispositif par sexe est utilisé pour éviter que les animaux ne soient perturbés par l'odeur des souris voisines de l'autre sexe ).

Une fois que l'expérience a été configurée via le logiciel (TST-SOFT) et que la liste des animaux a été randomisée, on fixe le ruban adhésif sur la queue et on suspend chaque souris individuellement en suivant la randomisation affichée à l'écran. Chaque voie est ensuite démarrée de manière individuelle en pressant une touche dédiée, afin de s'assurer que chaque animal est suspendu pour la même durée. A l'issue de l'expérience, les valeurs individuelles d'activité sont récupérées, moyennées et analysées sur le plan statistique.



**Figure n°9** : Photographie du dispositif du test de suspension par la queue

## 5. Le dosage des neurotransmetteurs

Les souris ont été sacrifiées entre 3 et 4 mois et leurs cerveaux rapidement prélevés sur glace. Les cortex frontaux, pariétaux et les striatums ont été disséqués. 300  $\mu$ L d'eau distillée ont été ajoutés à l'échantillon avant la sonication à haute fréquence avec le sonicateur Vibra Cell (Sonics and Materials, Newton, CT, USA) pendant 4 secondes.

Chaque homogénat été divisé en deux échantillons, l'un pour le dosage des glutamate/GABA, le second pour le dosage de la dopamine et son métabolite (DOPAC, acide 3,4-dihydroxyphénylacétique), de la noradrénaline, de la sérotonine et de son métabolite (5HIAA, acide 5-hydroxyindolacétique) . 150  $\mu$ l d'acide perchlorique 2N à été ajouté à ces derniers échantillons.

Ensuite, tous les mélanges ont été centrifugés 10 minutes à 4°C et à une vitesse de 12000 rpm. Les surnageants ont été filtrés à l'aide d'un filtre de 0,45  $\mu$ m (acétate de cellulose, Millipore) et gardés au congélateur à -80°C jusqu'au dosage des neurotransmetteurs en HPLC. Les culots sont remis en solution avec de la soude 0,1N et seront utilisés pour la détermination des protéines avec la méthode de Bradford.

Les niveaux de noradrénaline, dopamine, DOPAC, sérotonine et 5HIAA ont été déterminés par HPLC suivie d'une détection électrochimique. Le système HPLC est constitué d'un système de pompe Spectra (P1000XR; Thermo Scientific, MA, USA) connectée à une colonne C18 Supelcosil (3.0 x 150 mm, 3  $\mu$ m; Sigma Aldrich, PA, USA), couplée à un détecteur électrochimique (Decade II; Antec Leyden, Netherlands) avec une électrode de carbone en verre au potentiel de 0,8V, une électrode de référence de type Ag/AgCl. La phase mobile est constituée de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 62mM, de méthanol 12%, d'acide octanesulfonique (Sigma Aldrich, UK) 2.3 mM et de Na<sub>2</sub>EDTA 0.15 mM, au pH de 3.8 et filtrée à l'aide d'un filtre de 0,45  $\mu$ m (acétate de cellulose, Millipore). L'analyse est réalisée à un débit de 0,5 ml/min. Les échantillons (20 $\mu$ l) ont été injectés dans le système HPLC à l'aide d'un injecteur automatique (AS 3000; Thermo Separation Products, MA, USA). Les chromatogrammes ont été enregistrés et intégrés par PC integration Azur software (Datalys, Le Touvet, France).

Les niveaux de glutamate, GABA et glutamine ont été mesurés par un système HPLC, après une dérivation par ajout de 15  $\mu$ l de l'échantillon au même volume d'une solution réactive diluée au quart à partir d'un réactif préparé avec de l'ophtaldialdéhyde 8 mM dans 0.4 M de borate (pH

10.4) contenant de l'éthanol 2% et du 2-mercaptoethanol 0,08% et conservé à 4°C pendant une semaine. La dérivation de 120s a été suivie par HPLC puis détection électrochimique. Une colonne C18 en phase inverse Supelcosil (3.0 x 150 mm, 3 µm; Sigma Aldrich, PA, USA) était couplée avec un détecteur électrochimique (Decade II; Antec Leyden, Netherlands) muni d'une électrode de carbone en verre à 0,6V et d'une électrode de référence de type Ag/AgCl. La phase mobile, constituée d'un tampon Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1M, de méthanol 24% et dont le pH était ajusté à 5,9, a été filtrée et délivrée par une pompe (P1000XR; Spectra System) à un débit de 0.4 mL/min.

Les échantillons (20µl) ont été injectés dans le système HPLC à l'aide d'un injecteur automatique (AS 3000; Thermo Separation Products, MA, USA). Les chromatogrammes sont enregistrés et intégrés en utilisant le logiciel PC integration Azur (Datalys, Le Touvet, France).

Les surfaces des pics sont comparées à celles d'échantillons standards et les taux de neurotransmetteurs ou métabolites, rapportés aux taux de protéines, sont exprimés en nmol ou pmol/mg de tissus.

## 6. Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées avec les logiciels PRISM (Graphpad, San Diego, CA, USA) ou Sigma stat (SigmaPlot, USA). Selon le nombre de facteurs (traitement, sexe, temps), une ANOVA à 2 ou 3 facteurs a été réalisée, suivie d'un test post hoc de Bonferroni, de Tukey ou de Dunnett pour déterminer la nature d'une interaction significative ou le traitement responsable d'un effet significatif.

## IV. Résultats

### 1. Répartition des sexes par groupe

Nous avons effectué nos expériences sur 5 lots de souris. Un lot correspondait aux animaux issus de trois ou quatre portées nées à la même période ; dans chaque lot, les animaux étaient répartis dans les 6 groupes de traitement. En effet pour des questions d'organisation, il nous était impossible d'expérimenter tous les animaux en même temps. Lors d'une expérience telle que celle-ci, il est important d'avoir un nombre équivalent entre mâles et femelles pour pouvoir interpréter séparément les résultats. Nous avons donc vérifié le ratio Mâles/(Mâles+Femelles) exprimé en pourcentage (tableau n°4). Nous constatons que la répartition des sexes est bien homogène dans les différents groupes de traitements permettant l'étude dans les deux sexes.

Traitement	lot 1		lot 2		lot 3		lot 4		lot 5		Totaux		% des souris mâles
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M/(M+F)
Controles	3	2	2	5	3	0	4	4	6	5	18	16	52,94%
MK	4	1	2	2	3	0	5	3	7	7	21	13	61,76%
Ket	4	2	5	1	5	2	2	7			16	12	57,14%
Mem2,5	2	4	2	3	6	2	2	3			12	12	50,00%
Mem25	4	3	4	3	3	4	1	2			12	12	50,00%
Mg	4	3	3	4	4	4	2	1			13	12	52,00%
somme	21	15	18	18	24	12	16	20	13	12	79	65	54,86%
n/lot	36		36		36		36		25		169		

**Tableau n°4** : Répartition des sexes sur les 5 lots selon le traitement.

MK = MK-801; Ket = kétamine; Mem2,5 = mémantine 2,5 mg/Kg; Mem25 = mémantine 25 mg/Kg; Mg = sulfate de magnésium.

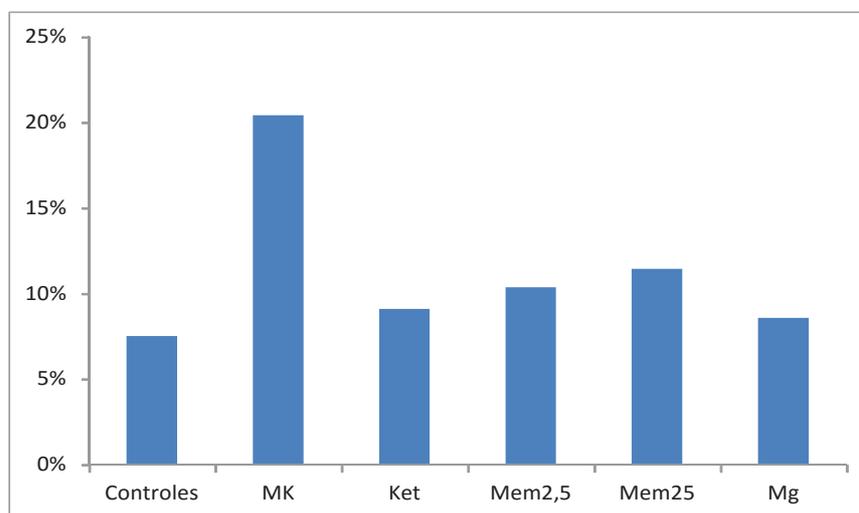
## 2. Effets des traitements par différents antagonistes non compétitifs des récepteurs glutamatergiques de type NMDA sur la mortalité des animaux à moyen ou long terme

Lors du sevrage, nous avons constaté que le nombre d'animaux traités à P5 et le nombre d'animaux sevrés différaient du fait d'une mortalité plus importante des animaux dans les jours qui suivent la naissance. Nous avons donc recherché si les différents traitements aggravaient la mortalité. Le taux de mortalité a été calculé lors du sevrage par rapport au nombre d'animaux traités (tableau n°5). Le taux moyen de mortalité chez les contrôles est de 7,50%.

Traitement	Nombre d'animaux à P5	Nombre d'animaux au sevrage (P21-30)	Taux de mortalité en %
PBS	40	37	7,50%
MK-801 300 µg/Kg	49	39	20,41%
Kétamine 40 mg/Kg	44	40	9,09%
Mémantine 2,5 mg/Kg	29	26	10,34%
Mémantine 25 mg/Kg	35	31	11,43%
Magnésium 200 mg/Kg	35	32	8,57%

**Tableau n°5 :** Mortalité chez les animaux traités avec différents antagonistes des récepteurs NMDA entre P5 et P21-30.

Bien que le MK-801 induisait près de 2 fois plus de mortalité que les autres traitements, le test du Chi2 ne décelait pas de différence significative entre les traitements (Chi 2 calculé = 5,43 ; ddl = 5 ; < Chi2 théorique 11,07 (figure n°10).



**Figure n°10 :** Mortalité chez les animaux traités avec différents antagonistes des récepteurs NMDA.

Chaque souris recevait à P5 l'administration i.p. de PBS (Contrôle), de Mémantine à 2,5 ou 25 mg/Kg (Mem 2,5 ou Mem 25), de MK-801 à 300µg/Kg (MK), de Magnésium à 200 mg/Kg (Mg) ou sc de Kétamine à 40 mg/Kg (Ket). Moyennes +/- SEM des poids des animaux (25 à 36 animaux par lot).

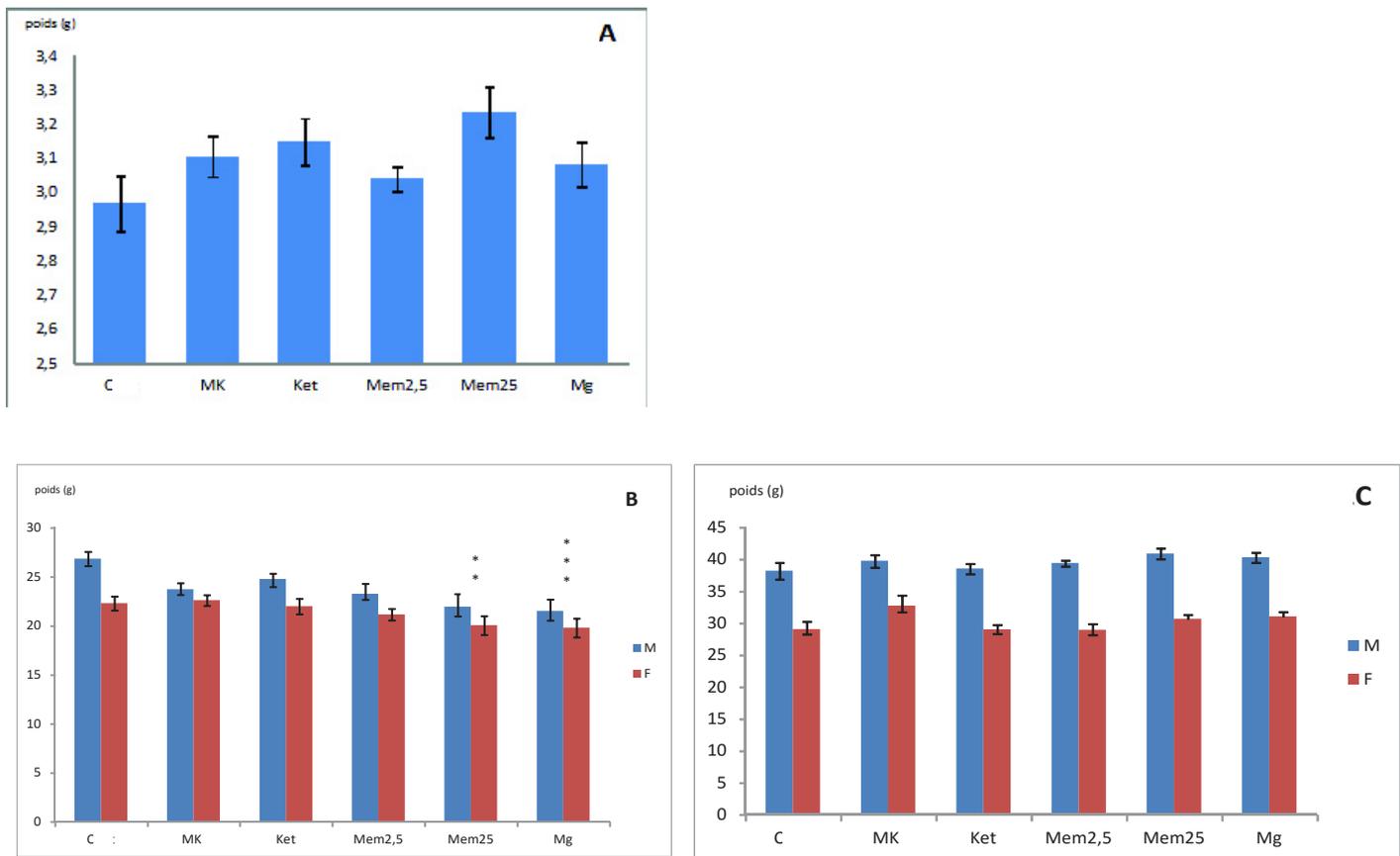
### 3. Effets des traitements par différents antagonistes non compétitifs des récepteurs glutamatergiques de type NMDA sur le poids des animaux

Le poids des animaux est un index pour évaluer la toxicité des substances injectées à la souris à moyen ou long terme.

Les poids des animaux ont été mesurés lors de l'injection à P5, lors du sevrage entre P21 et P30 et à l'occasion des premières épreuves comportementales à P75.

La détermination du sexe des animaux n'a été réalisée qu'au sevrage afin de séparer les mâles et les femelles ; c'est pourquoi nous ne disposons des données concernant le sexe qu'à partir de P21-30.

Le poids moyen des animaux contrôles à P5 était de 2,97 +/- 0,08 g.



**Figure n°11:** Poids des animaux le jour de leur traitement par les différents antagonistes des récepteurs NMDA (P5) (A), au sevrage (P21-30) (B) et à l'âge adulte (P75) (C).

Chaque souris recevait à P5 l'administration i.p. de PBS (C), de Mémantine à 2,5 ou 25 mg/Kg (Mem2,5 ou Mem25), de MK-801 à 300µg/Kg (MK), de Magnésium à 200 mg/Kg (MgSO<sub>4</sub>) ou s.c. de Kétamine à 40 mg/Kg (Ket). Moyennes +/- SEM des poids des animaux (25 à 36 animaux par lot), comparées par une ANOVA 2 facteurs suivie d'un test post hoc ; \*\* : p<0,01 comparativement aux contrôles ; \*\*\* : p<0,001 comparativement aux souris contrôles.

L'analyse de variance à un facteur (traitement) (F(5,187)=1,751) ne montre pas de différence significative entre les groupes à P5, ce qui démontre l'homogénéité de la population incluse dans chaque lot (figure n°11A).

Lors du sevrage à P21-30, le poids moyen des animaux contrôles s'élevait à 26,8 +/- 0,7 g chez les mâles et 22,3 +/- 0,7 g chez les femelles. Une analyse de variance à 2 facteurs a été réalisée pour comparer les poids des animaux selon leur sexe et le traitement reçu à P5. Il n'apparaît aucune interaction significative entre les 2 facteurs (F(5,187) = 0,350). En revanche, un poids plus faible

chez les femelles est retrouvé comparativement à celui des mâles (-9,23%, 16,8% ;  $p < 0,001$ ) dans tous les groupes. En outre, il apparaît une différence entre les traitements administrés à P5 ( $F(5,187) = 6,437$  ;  $p < 0,001$ ) ; l'analyse post hoc a permis de déceler une diminution du poids des souris qui avaient reçu de la mémantine 25 mg/kg et du magnésium à P5 (-3,914% et -3,572% respectivement;  $p < 0,001$ ) (figure n°11B).

A l'âge adulte, le poids moyen des souris contrôles atteignaient 38,2 +/- 1,3 g chez les mâles et 29,0 +/- 1,3 g chez les femelles. Les souris des groupes mémantine 25mg/kg et magnésium avaient rattrapé le poids des animaux des autres groupes puisqu'aucune interaction entre les facteurs sexe et traitement n'était mise en évidence ( $F(5,178) = 0,942$ ) et que seule la différence entre les sexes était significative ( $F(1,178) = 330$  ;  $p < 0,001$ ) (figure n°11C).

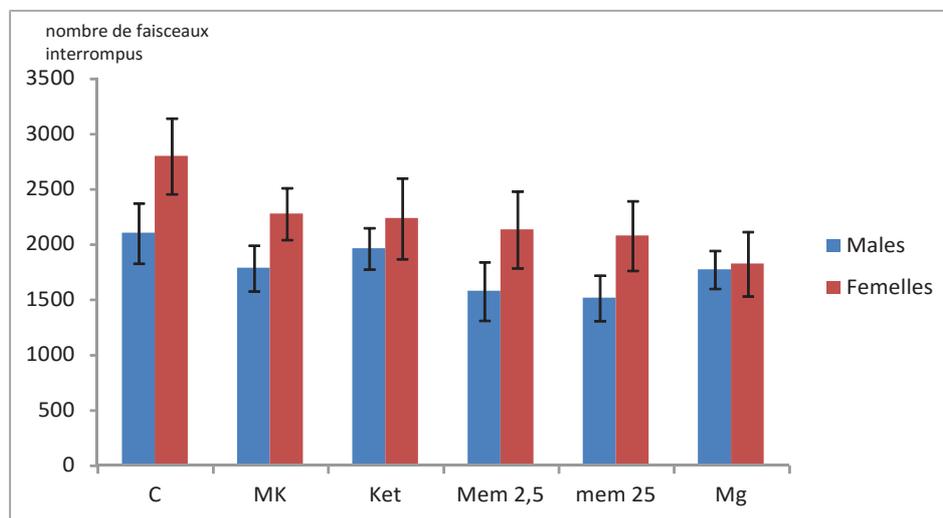
## 4. Epreuves comportementales

### 4.1. Activité locomotrice

Nous rappelons que les animaux ont été placés dans le dispositif pendant 3h dans l'obscurité, sans eau, ni nourriture. Les mesures ont été faites pendant les 30 premières minutes, la première heure et les 3 heures. L'activité verticale et la distance parcourue ont été mesurées. L'expérience est réalisée à P75 sur 160 animaux.

#### 4.1.1. ACTIVITE VERTICALE

L'analyse par ANOVA 2 voies des effets des traitements et du sexe met en évidence une différence entre les sexes sur l'activité d'exploration verticale au cours des 3 heures d'enregistrement ( $F(1,153)=6,790$  ;  $p < 0,05$ ) mais aucun effet des traitements n'a été mis en évidence (figure n°12). On note l'absence de différence entre sexes chez les animaux traités par le magnésium.



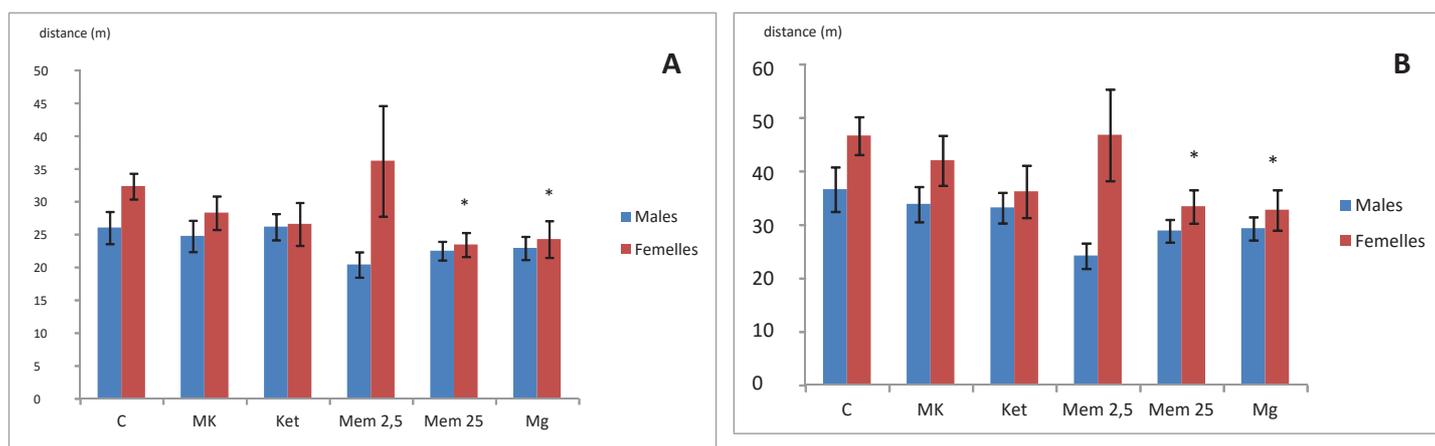
**Figure n°12** : Activité verticale des animaux (P75) durant les 3h de l'expérience en fonction de leur traitement par les différents antagonistes des récepteurs NMDA.

Chaque souris recevait à P5 l'administration i.p. de PBS (C), de Mémantine à 2,5 ou 25 mg/Kg (Mem 2,5 ou Mem 25), de MK-801 à 300µg/Kg (MK), de Magnésium à 200 mg/Kg (Mg) ou s.c. de Kétamine à 40 mg/Kg (Ket). Moyennes +/- SEM des animaux (125 à 136 par lot), comparées par une ANOVA 2 facteurs.

#### 4.1.2. DISTANCE PARCOURUE

L'analyse par ANOVA 2 voies évaluant les effets du sexe et des traitements ne montre aucune interaction entre les deux facteurs mais un effet du sexe avec une plus grande activité des femelles à partir d'une heure d'enregistrement ( $F(5,152)=7,678$  ;  $p<0.01$ ) (figure n° 13B) et confirmée au terme des 3 heures ( $F(5,151)=13,98$  ;  $p<0.001$ ) (figure n°13C). L'analyse par ANOVA 2 voies des effets du sexe et de chaque traitement par rapport aux contrôles au cours des 3 heures du test ne montre pas d'interaction entre les facteurs sexe et traitement mais détecte des réductions d'activité chez les femelles traitées par la mémantine à la dose de 25 mg/kg ( $F(1,52)=6,850$  ;  $p<0.05$ ) ou par le MgSO<sub>4</sub> (200 mg/kg) ( $F(1,53)=6,633$  ;  $p<0.05$ ).

Aucun effet des traitements par le MK-801 ou la kétamine n'a été mis en évidence par ce test.



**Figure n°13** : Distance totale parcourue par les animaux (P75) durant la première heure (A) et durant les 3 heures de l'expérience (B) en fonction de leur traitement par les différents antagonistes des récepteurs NMDA.

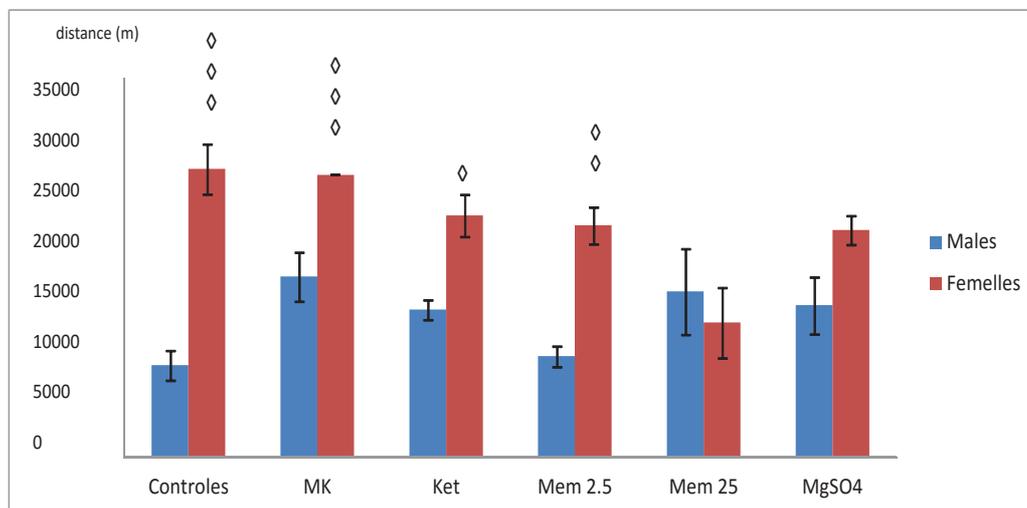
Chaque souris recevait à P5 l'administration i.p. de PBS (C), de Mémantine à 2,5 ou 25 mg/Kg (Mem 2,5 ou Mem 25), de MK-801 à 300µg/Kg (MK), de Magnésium à 200 mg/Kg (Mg) ou s.c. de Kétamine à 40 mg/Kg (Ket). Moyennes +/- SEM des animaux, comparées par une ANOVA 2 facteurs suivi d'un test post hoc ; \* :  $p < 0,05$  comparativement aux contrôles.

#### 4.2. Roue d'activité

Les mesures d'activité (temps de course, ...) dans la roue d'activité ont été collectées toutes les heures pendant les 3 jours de l'expérience ou moyennées sur les 2 derniers nycthémères. Le test a permis de mesurer la distance de course dans la roue par les animaux. Contrairement au test de l'activité locomotrice, on mesure l'activité de l'animal dans une cage où l'animal vit normalement avec un cycle jour/nuit respecté, il a la possibilité de se nourrir et de boire et dans ce contexte, la souris a la possibilité d'avoir une activité ludique telle que la roue. Elle a été réalisée entre P82 et P95 sur 168 animaux.

L'analyse globale par ANOVA 2 voies des effets du sexe et des traitements sur la distance parcourue dans la roue pendant les 72 heures montre une différence entre les sexes. Les femelles parcourent significativement plus de distance que les mâles ( $F(1,156)=49,93$ ,  $p < 0,001$ ). L'analyse post-hoc par le test de Dunn montre un effet du sexe significatif dans les groupes contrôles ( $t=4,422$ ,  $ddl=32$ ,  $p < 0,001$ ), traités par le MK-801 ( $t=3,295$ ,  $ddl=24$ ,  $p < 0,001$ ), par la kétamine

( $t=2,731$ ,  $ddl=33$ ,  $p<0,05$ ) ou par la mémantine (2.5 mg/kg)( $t=3,810$ ,  $ddl=22$ ,  $p<0,01$ ) . En revanche, le traitement par la mémantine (25 mg/kg) ou par le MgSO4 (200 mg/kg) abolit cette différence entre les sexes ( $t=1,007$ ,  $ddl=22$ ) et ( $t=2,286$ ,  $ddl=23$ ) (figure n°14).



**Figure n°14** : Distance totale parcourue par les animaux (P82-95) durant les 3 jours de l'expérience en fonction de leur traitement par les différents antagonistes des récepteurs NMDA.

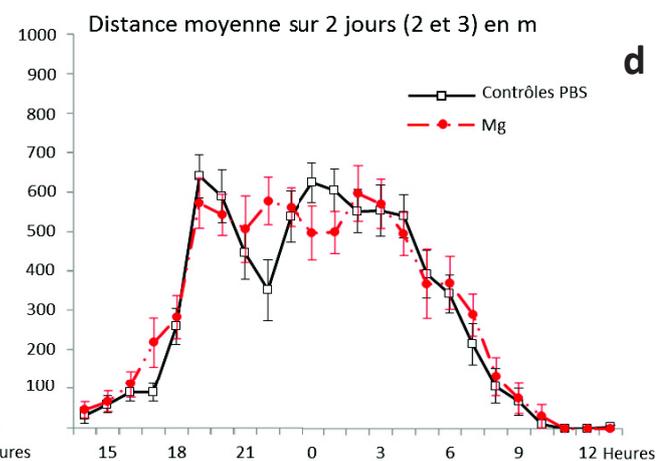
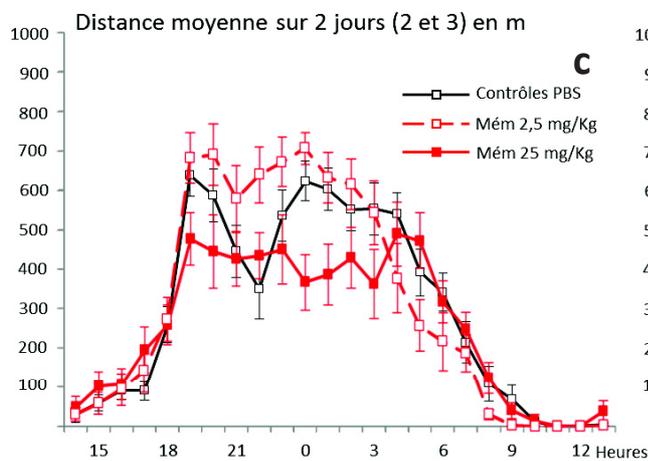
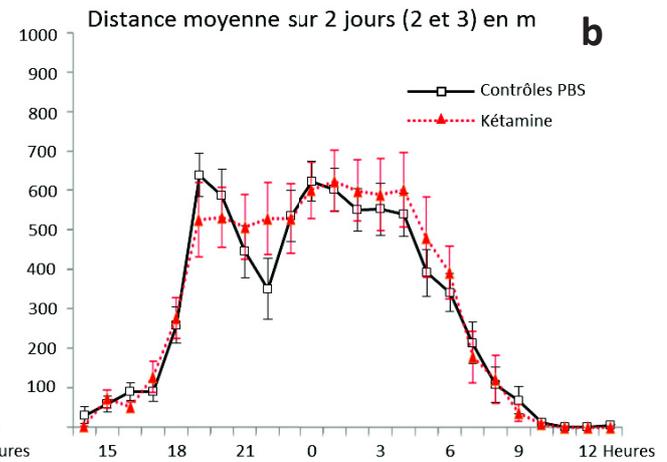
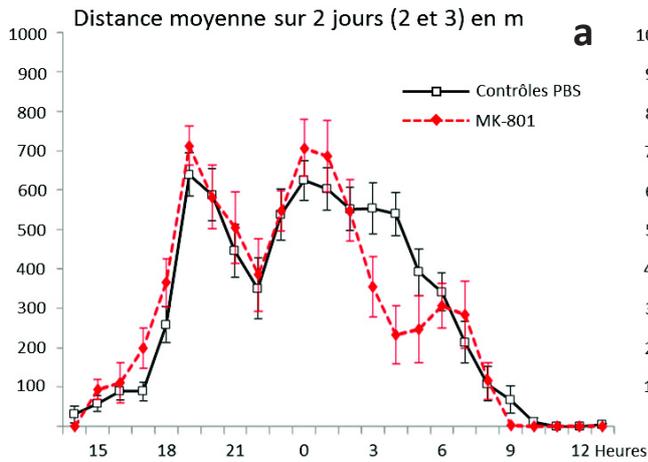
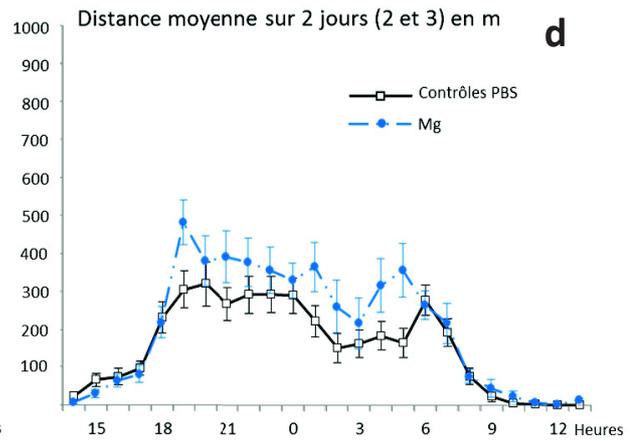
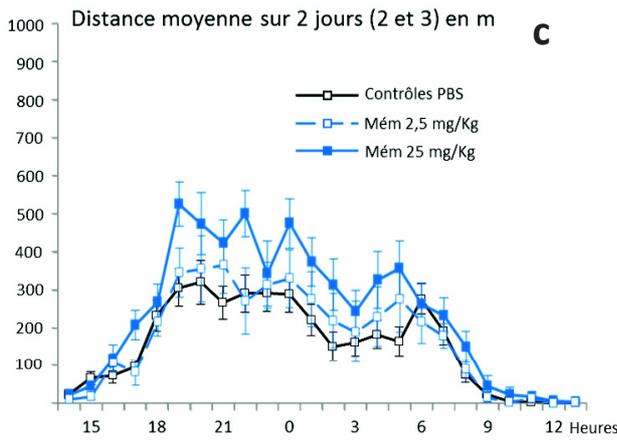
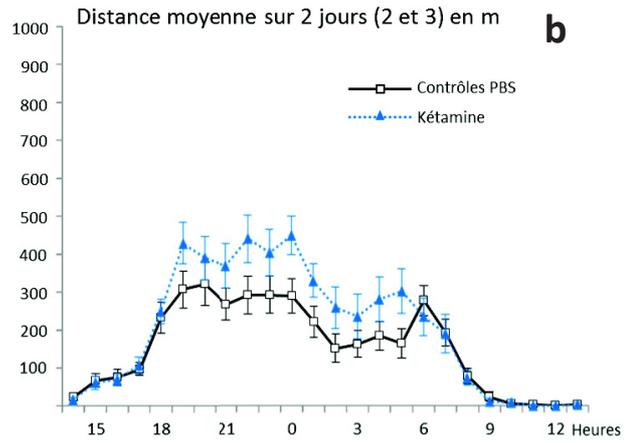
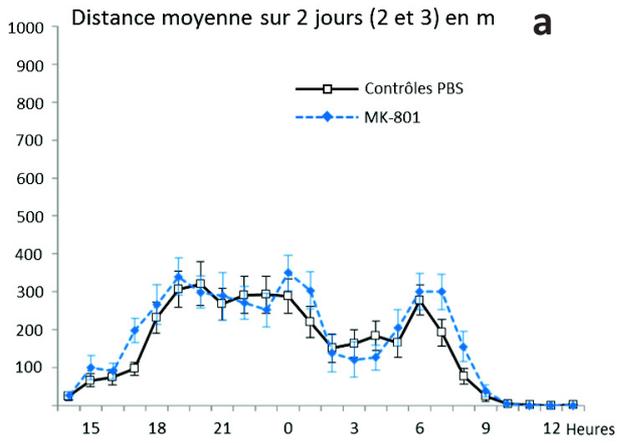
Chaque souris recevait à P5 l'administration i.p. de PBS (C), de Mémantine à 2,5 ou 25 mg/Kg (Mem 2,5 ou Mem 25), de MK-801 à 300µg/Kg (MK), de Magnésium à 200 mg/Kg (Mg) ou s.c. de Kétamine à 40 mg/Kg (Ket). Moyennes +/- SEM des animaux, comparées par une ANOVA 2 facteurs suivi d'un test post hoc ;  $\diamond$  :  $p<0,05$  par rapport au sexe opposé ;  $\diamond\diamond$  :  $p<0,01$  par rapport au sexe opposé ;  $\diamond\diamond\diamond$  :  $p<0,001$  par rapport au sexe opposé.

L'analyse des profils comportementaux au cours des 3 jours montre des différences de répartition de l'activité au cours du temps, avec une activité plus soutenue la nuit que le jour. En particulier, le premier nycthémère diffère notablement des deux suivants : l'introduction des animaux dans le dispositif vers 14h a favorisé l'éveil diurne et l'exploration de la nouvelle cage. Nous avons analysé par ANOVA à 2 voies la répartition de l'activité en fonction du temps (sur les 2 derniers jours) et du traitement, séparément pour chaque sexe. Les analyses de chaque traitement dans les deux sexes montrent une variation significative de l'activité en fonction du temps ( $p<0,001$ ) (figure n°15). Chez les mâles, on observe des effets significatifs des traitements par le MK-801 ( $F(1,2376)=7,160$  ;  $p<0,01$ ), la kétamine ( $F(1,2808)=15,47$  ;  $p<0,001$ ), la mémantine (25 mg/kg) ( $F(1,2088)=73,15$  ;

$p < 0,001$ ) et le  $MgSO_4$  ( $F(1,2160)=27,82$  ;  $p < 0,001$ ) sans interaction avec le temps. L'activité est accrue par ces traitements. Le traitement par la mémantine (2,5 mg/kg) n'affecte pas cette activité ( $F(1,2)=0,005$ ). L'analyse des effets du temps et de la mémantine 25 mg/kg montrent une interaction des deux termes ( $F(71,2)=1,37$  ;  $p < 0,05$ ) attestant d'une altération de l'organisation nycthémérale de l'activité par le traitement.

Chez les femelles aucune analyse de l'activité au cours du temps en fonction du traitement par ANOVA 2 voie ne met en évidence une interaction entre les facteurs traitement et temps ou un effet des traitements par la kétamine et le  $MgSO_4$ . En revanche, une interaction est observée avec la variation temporelle chez les femelles traitées par le MK-801 ( $F(71,16)=1,351$  ;  $p < 0,05$ ), par la mémantine aux deux doses de 2,5 mg/kg ( $F(71,18)=1,61$  ;  $p < 0,01$ ) et de 25 mg/kg ( $F(71,18)=1,625$  ;  $p < 0,001$ ). Les analyses post-hoc par le test de Bonferroni montrent des différences significatives sur quelques intervalles de temps. Dans le groupe de femelles traitées par le MK 801, une réduction d'activité est significative à la fin de la deuxième période d'obscurité (figure n°15a). Dans le groupe de femelles traitées par la mémantine (2,5 mg/kg), une augmentation d'activité est observée en fin de période d'obscurité du 3ème nycthémère alors que dans le groupe de femelles traitées par la mémantine (25 mg/kg), une diminution d'activité est observée en fin de période d'obscurité du 2ème nycthémère (figure n°15c).

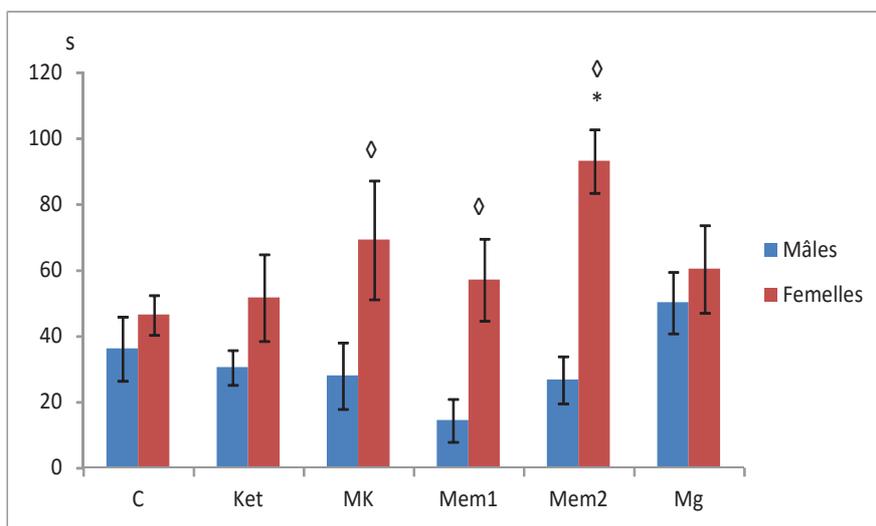
Alors que chez les mâles les traitements néonataux par la kétamine, la mémantine (25mg/kg) ou par le  $MgSO_4$  induisent des augmentations de l'activité nocturne à l'âge adulte, chez les femelles, les effets du MK-801, et de la mémantine sont essentiellement des tendances à diminution de l'activité nocturne.



**Figure n°15** : Distance moyenne parcourue par les animaux (P82-95) durant les 2 derniers jours de l'expérience en fonction de leur traitement par les différents antagonistes des récepteurs NMDA. Chaque souris recevait à P5 l'administration i.p. de PBS (C), de Mémantine à 2,5 ou 25 mg/Kg (Mem 2,5 ou Mem 25), de MK-801 à 300µg/Kg (MK), de Magnésium à 200 mg/Kg (Mg) ou s.c. de Kétamine à 40 mg/Kg (Ket). Comparaison des contrôles avec le MK-801 (a), la kétamine (b), la mémantine aux 2 dosages (c) et le magnésium (d). La couleur rouge représente les femelles et la couleur bleue les mâles.

#### 4.3. Test de suspension par la queue (TST)

Le test de suspension par la queue évalue le degré de résignation des animaux. Le test est effectué sur 174 animaux, à l'âge de 3 mois (entre P97 et P100).



**Figure n°16** : Temps d'immobilité des animaux (en secondes) (P97-100) durant les 6 minutes du test en fonction de leur traitement par les différents antagonistes des récepteurs NMDA.

Chaque souris recevait à P5 l'administration i.p. de PBS (C), de Mémantine à 2,5 ou 25 mg/Kg (Mem 2,5 ou Mem 25), de MK-801 à 300µg/Kg (MK), de Magnésium à 200 mg/Kg (Mg) ou s.c. de Kétamine à 40 mg/Kg (Ket). Moyennes +/- SEM des animaux, comparées par une ANOVA 2 facteurs suivi d'un test post hoc ;  $\diamond$  :  $p < 0,05$  par rapport au sexe opposé ; \*  $p < 0,05$  par rapport aux contrôles du même sexe.

L'analyse globale par ANOVA à 2 voies des effets du sexe et des traitements sur l'immobilité lors du test de suspension par la queue pendant 6 minutes montre une interaction entre le sexe et les traitements reçus à P5 ( $F(5,162) = 0,043$ ,  $P < 0,05$ ). Les femelles ont un temps d'immobilité plus élevé que les mâles ( $F(1,162) = 2,347$ ,  $P < 0,001$ ). L'analyse post-hoc par le test de Tukey montre une différence entre mâles et femelles chez les animaux ayant été traités par le MK-801 (-41% versus femelles,  $P < 0,05$ ), et par la mémantine 2,5 mg/kg (-43% versus femelles,  $P < 0,05$ ) et 25 mg/kg (-66%,  $P < 0,05$ ), en effet les femelles sont plus immobiles que les mâles, les mâles sont plus actifs et se résignent plutôt moins avec chacun de ces 3 traitements. Par ailleurs, les femelles traitées avec la mémantine à 25mg/kg (+53%,  $P < 0,05$ ) étaient plus résignées que les femelles contrôles.

## 5. Effets des traitements par différents antagonistes non compétitifs des récepteurs glutamatergiques de type NMDA sur les taux cérébraux de neurotransmetteurs et de leurs métabolites

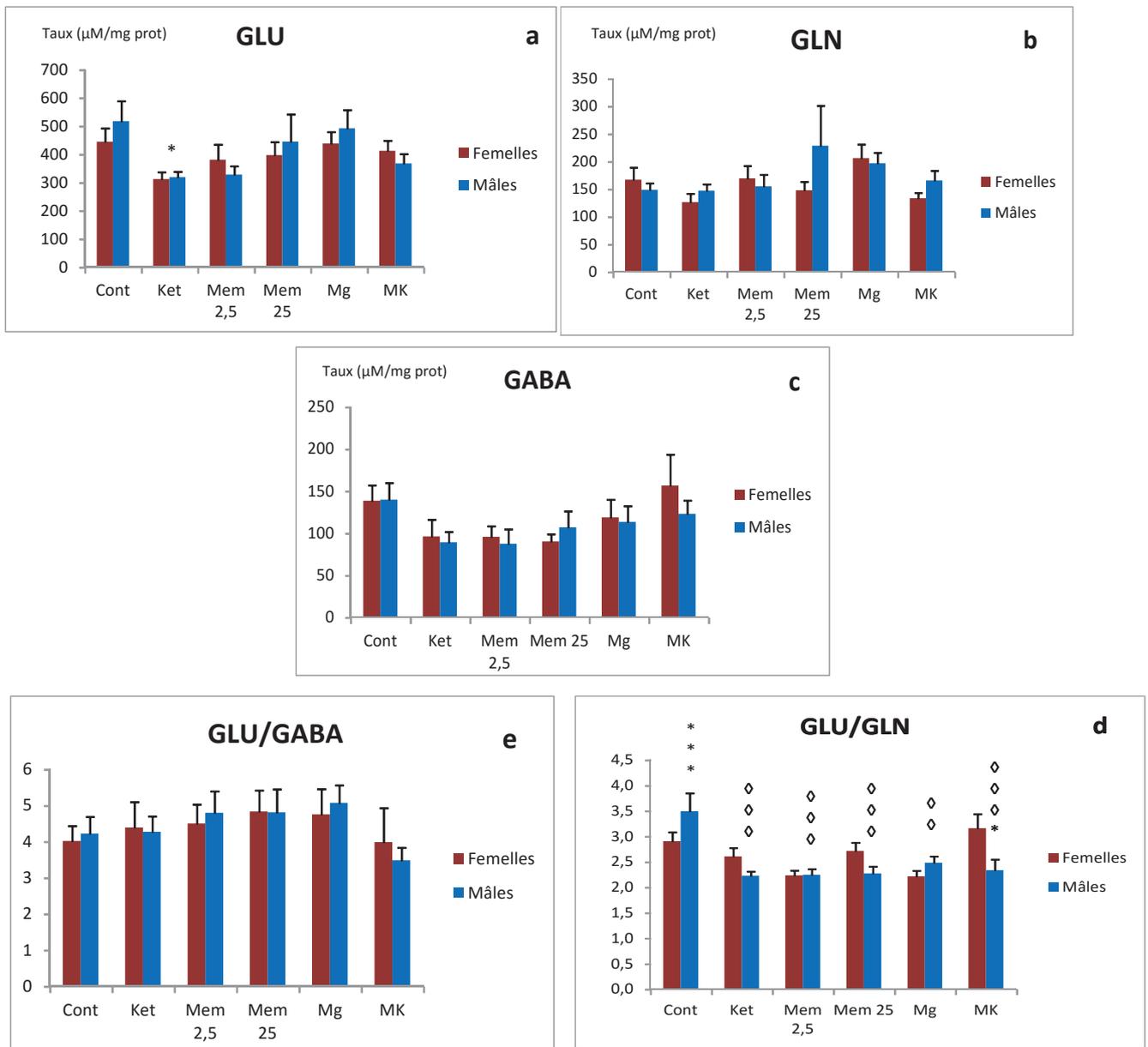
Après l'évaluation du comportement des souris dans diverses épreuves, le taux de différents neurotransmetteurs et de leurs métabolites étaient évalués par HPLC et détection électrochimique dans des structures cérébrales disséquées à l'âge de 3,5 mois (entre P106 et P120).

Les résultats des dosages de glutamate et GABA sont présentés au paragraphe 5.1 et les taux de monoamine au paragraphe 5.2 ci-dessous.

### 5.1. Effets sur les taux cérébraux de glutamate, de glutamine, de GABA et sur les rapports glutamate / glutamine ou glutamate / GABA

#### 5.1.1. CORTEX FRONTAL

Le taux de glutamate (GLU) dans le cortex frontal chez les animaux témoins (sexes confondus) étaient de  $480 \pm 61 \mu\text{M}/\text{mg prot}$ ; celui de glutamine (GLN) s'élevait à  $158 \pm 18 \mu\text{M}/\text{mg prot}$  et celui de GABA à  $139 \pm 20 \mu\text{M}/\text{mg prot}$ . Le rapport glutamate / glutamine (GLU/GLN) était de  $3,2 \pm 0,3$  et le rapport glutamate / GABA (GLU/GABA) de  $4,1 \pm 0,5$ .



**Figure n°17 :** Taux de glutamate (a), de glutamine (b), et de GABA (c) mesurés et rapports taux de glutamate / taux de glutamine (d) et taux de glutamate / taux de GABA (e) calculés à P105 dans le cortex frontal des 160 animaux (en  $\mu\text{M}/\text{mg}$  de prot) en fonction de leur traitement par les différents antagonistes des récepteurs NMDA.

Chaque souris recevait à P5 l'administration i.p. de PBS (C), de Mémantine à 2,5 ou 25 mg/Kg (Mem 2,5 ou Mem 25), de MK-801 à 300 $\mu\text{g}/\text{Kg}$  (MK), de Magnésium à 200 mg/Kg (Mg) ou s.c. de Kétamine à 40 mg/Kg (Ket). Moyennes  $\pm$  SEM des animaux, comparées par une ANOVA 2 facteurs suivie d'un test post hoc. \* :  $p < 0,05$  par rapport au sexe opposé ; \*\*\* :  $p < 0,001$  par rapport au sexe opposé ; ◇◇ :  $p < 0,01$  par rapport aux contrôles ; ◇◇◇ :  $p < 0,001$  par rapport aux contrôles.

L'ANOVA à 2 facteurs réalisée sur les taux de glutamate (GLU), de glutamine (GLN) ou de GABA ne décèle aucune interaction significative entre les facteurs traitement et sexe (respectivement  $F(5,148)=0,823$  ;  $F(5,148)=0,417$  ;  $F(5,148)=0,903$ ). Les taux ne variaient pas significativement entre sexes (respectivement  $F(1,148)=0,637$  ;  $F(1,148)=0,337$ ,  $F(1,148)=0,678$ ).

En revanche un effet significatif global des différents traitements est retrouvé avec les taux de glutamate ( $F(5,148)= 2,89$  ;  $p<0,05$ ) et de GABA ( $F(5,148)=2,964$  ;  $p<0,05$ ) (figures n°17a et 17c) mais pas avec ceux de GLN ( $F(5,148)=0,175$ ) (figure n°17b). Le test post hoc de Tukey révélait que la kétamine réduisait le taux de glutamate (-34,4% ;  $p<0,05$ ) dans le cortex frontal (figure n°17a).

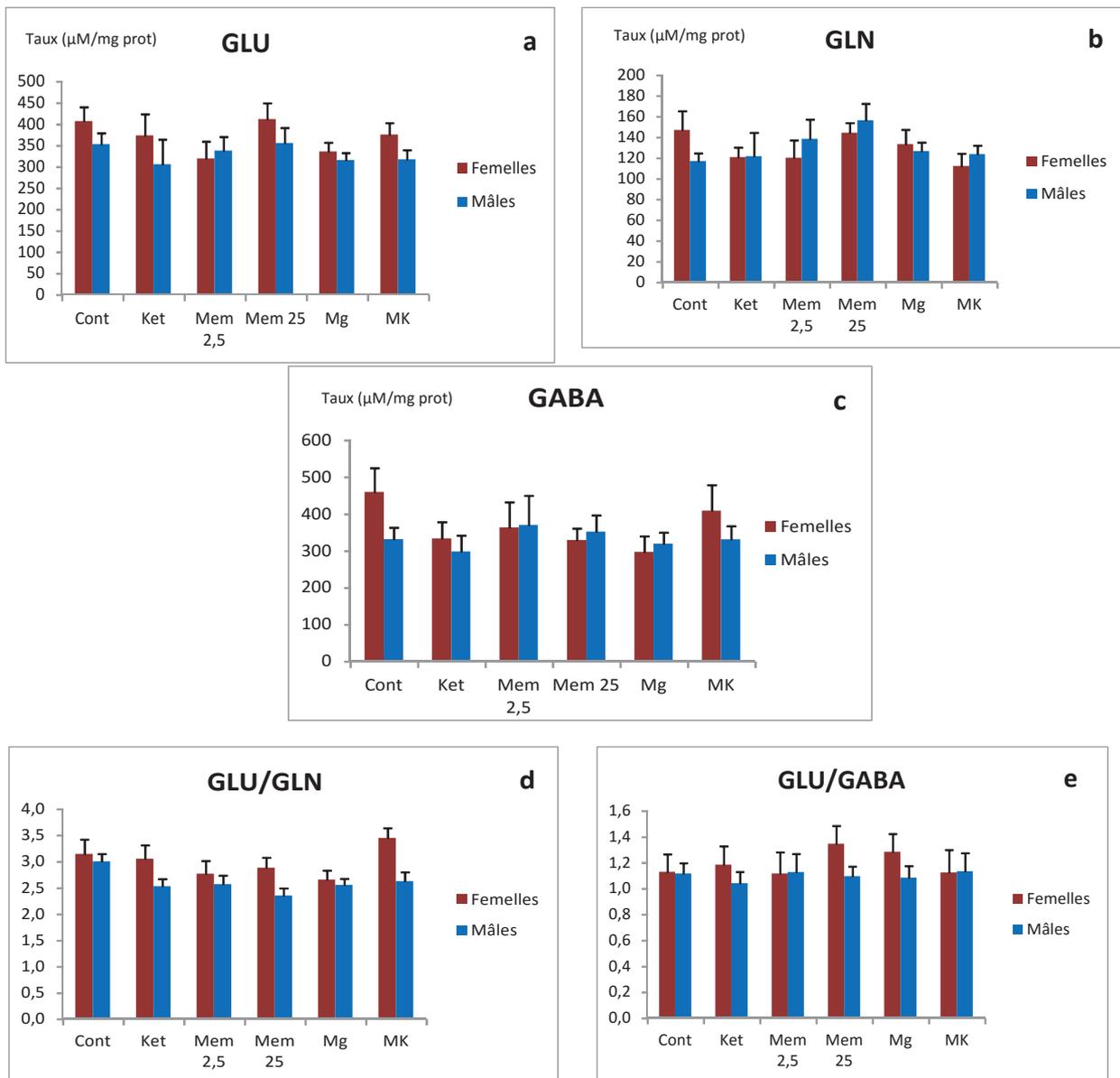
L'analyse statistique du seul rapport GLU/GABA ne montre aucune interaction significative entre les facteurs traitement et sexe ( $F(5,147)=0,985$ ), aucune variation significative selon le sexe ou le traitement (respectivement  $F(1,147)=0,920$  ;  $F(1,147)=0,323$ ) (figures n°18d et 18e).

Cependant, une interaction apparaît évidente pour le GLU rapporté à la GLN ( $F(5,148)=2,961$  ;  $p<0,05$ ). Alors que ce rapport GLU/GLN était plus bas chez les femelles que chez les mâles sous PBS (- 16,6% ;  $p<0,001$ ), les traitements annihilent la différence entre sexes, voire l'inversaient comme dans le cas du MK-801 (+ 35,0% ;  $p<0,05$ ). En effet, le rapport GLU/GLN dans le cortex frontal était significativement réduit chez les mâles traités à P5 par le MK-801, la Kétamine, la mémantine ( $p<0,001$ ) ou le MgSO<sub>4</sub> ( $p<0,01$ ) (figure n°17d).

Concernant le rapport GLU/GABA, il n'était modifié par aucun traitement administré à P5 chez les souris adultes comparativement aux souris adultes contrôles (figure n°17e).

#### 5.1.2. CORTEX PARIÉTAL

Les taux de glutamate dans le cortex pariétal chez les animaux témoins étaient de  $380 \pm 30$   $\mu\text{M}/\text{mg}$  prot; celui de glutamine s'élevait à  $132 \pm 13$   $\mu\text{M}/\text{mg}$  prot et celui de GABA à  $395 \pm 49$   $\mu\text{M}/\text{mg}$  prot. Le rapport glutamate / glutamine est de  $3,1 \pm 0,2$  dans le cortex pariétal et le rapport glutamate / GABA de  $1,1 \pm 0,1$ .



**Figure n°18 :** Taux de glutamate (a), de glutamine (b) et de GABA (c) mesurés et rapports taux de glutamate / taux de glutamine (d) et taux de glutamate / taux de GABA (e) calculés à P105 dans le cortex pariétal des 160 animaux (en  $\mu\text{M}/\text{mg prot}$ ) en fonction de leur traitement par les différents antagonistes des récepteurs NMDA.

Chaque souris recevait à P5 l'administration i.p. de PBS (C), de Mémantine à 2,5 ou 25 mg/Kg (Mem 2,5 ou Mem 25), de MK-801 à 300 $\mu\text{g}/\text{Kg}$  (MK), de Magnésium à 200 mg/Kg (Mg) ou s.c. de Kétamine à 40 mg/Kg (Ket).

L'ANOVA 2 facteurs réalisée sur les taux de glutamate (GLU), de glutamine (GLN) ou de GABA ne décèle aucune interaction significative entre les facteurs traitement et sexe (respectivement  $F(5,147)=0,377$  ;  $F(5,148)=0,797$  ;  $F(5,148)=0,775$ ). Les taux ne variaient pas significativement entre sexes (respectivement  $F(1,147)=3,327$  ;  $F(1,148)=0,010$ ,  $F(1,148)=1,022$ ).

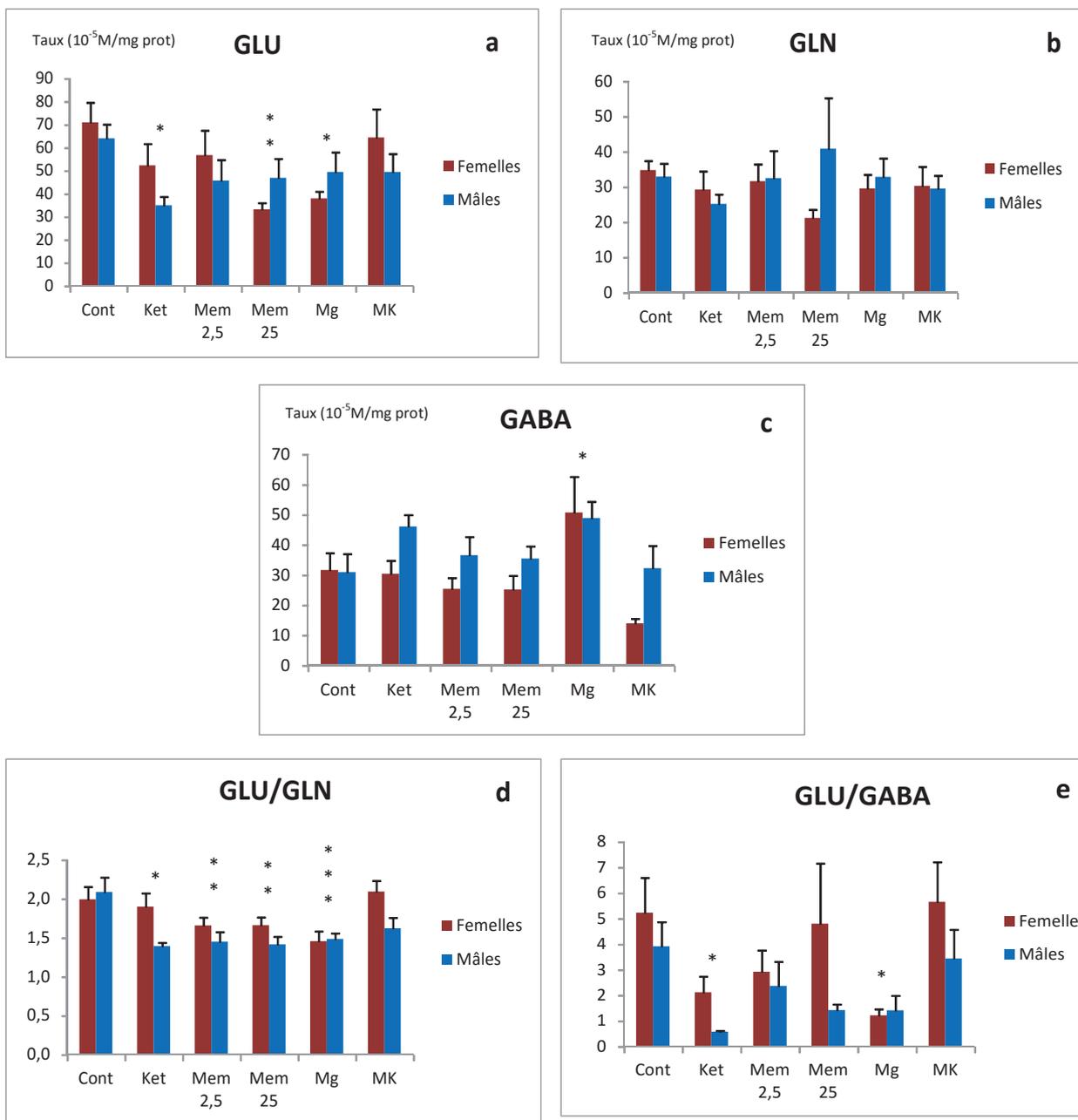
Il n'y avait pas non plus d'effet significatif au niveau des différents traitements avec le glutamate, la glutamine et le GABA (respectivement  $F(5,147)=0,865$  ;  $F(5,148)=0,972$  ;  $F(5,148)=0,775$ ) (figures n° 18a, 18b et 18c).

L'analyse statistique du rapport GLU/GLN ne montrait aucune interaction significative entre les facteurs traitement et sexe ( $F(5,147)=0,614$ ) ni aucune variation significative selon le traitement ( $F(5,147)=1,461$ ). Cependant un effet sexe global est retrouvé pour le rapport GLU/GLN, le rapport dans le cortex pariétal est significativement plus élevé chez les femelles que chez les mâles ( $F(1,146)=6,255$  ;  $p<0,01$ ). Le test post-hoc de Tukey nous le confirme (figures n°18d).

L'analyse statistique du rapport GLU/GABA ne montrait aucune interaction significative entre les facteurs traitement et sexe ( $F(5,147)=0,253$ ) ni aucun effet significatif sur les traitements ( $F(5,147)=0,331$ ) ni aucune variation significative selon le sexe ( $F(1,147)=1,677$ ).

### 5.1.3. STRIATUM

Les taux de glutamate dans le striatum chez les animaux témoins étaient de  $67,5 \pm 7,4 \mu\text{M}/\text{mg}$  prot; celui de glutamine s'élevait à  $338 \pm 32 \mu\text{M}/\text{mg}$  prot et celui de GABA à  $312 \pm 60 \mu\text{M}/\text{mg}$  prot . Le rapport glutamate / glutamine était de  $2,0 \pm 0,2$  et le rapport glutamate / GABA de  $4,6 \pm 1,2$ .



**Figure n°19:** Taux de glutamate (a), de glutamine (b) et de GABA (c) mesurés et rapports taux de glutamate / taux de glutamine (d) et taux de glutamate / taux de GABA (e) calculés à P105 dans le striatum des 160 animaux (en  $10^{-5}$ M/mg prot) en fonction de leur traitement par les différents antagonistes des récepteurs NMDA.

Chaque souris recevait à P5 l'administration i.p. de PBS (C), de Mémantine à 2,5 ou 25 mg/Kg (Mem 2,5 ou Mem 25), de MK-801 à 300 $\mu$ g/Kg (MK), de Magnésium à 200 mg/Kg (Mg) ou s.c. de Kétamine à 40 mg/Kg (Ket). Moyennes +/- SEM des animaux, comparées par une ANOVA 2 facteurs suivie d'un test post hoc; \* :  $p < 0,05$  par rapport aux contrôles. ; \*\* :  $p < 0,01$  par rapport aux contrôles ; \*\*\* :  $p < 0,001$  par rapport aux contrôles.

L'ANOVA 2 facteurs réalisée sur les taux de glutamate (GLU), de glutamine (GLN) ou de GABA ne décèle aucune interaction significative entre les facteurs traitement et sexe (respectivement  $F(5,147)=1,343$  ;  $F(5,147)=1,178$ ;  $F(5,147)=0,967$ ).

Les taux varient significativement entre les sexes uniquement pour le GABA ( $F(1,147)=4,576$  ;  $p<0,05$ ). Cependant , en observant les histogrammes, cette différence manifeste chez les animaux traités par l'un des antagonistes, n'est pas retrouvée chez les animaux contrôles ou traités par le  $MgSO_4$ . Les antagonistes des récepteurs NMDA, mis à part le  $MgSO_4$  induiraient cet écart dans les taux de GABA selon le sexe en augmentant de manière non significative les taux des souris mâles et en abaissant ceux des souris femelles dans le striatum (figure n°19c).

Un effet significatif global des différents traitements est retrouvé avec les taux de glutamate ( $F(5,147)=4,109$  ;  $p<0,01$ ) et de GABA ( $F(5,147)=3,423$ ;  $p<0,01$ ) (figures n°19a et 19c) mais pas avec ceux de la glutamine ( $F(5,147)=0,380$ ). Le test post hoc de Tukey révélait que la kétamine, la mémantine à 25 mg/kg et le  $MgSO_4$  réduisaient le taux de glutamate (respectivement -35,4% ;  $p<0,05$  ; -40,7% ;  $p<0,01$  ; -35,4% ;  $p<0,05$ ) dans le striatum (figure n°19a) tandis que le  $MgSO_4$  augmentait celui de GABA (+59,3% ;  $p<0,05$ ) (figure n°19c).

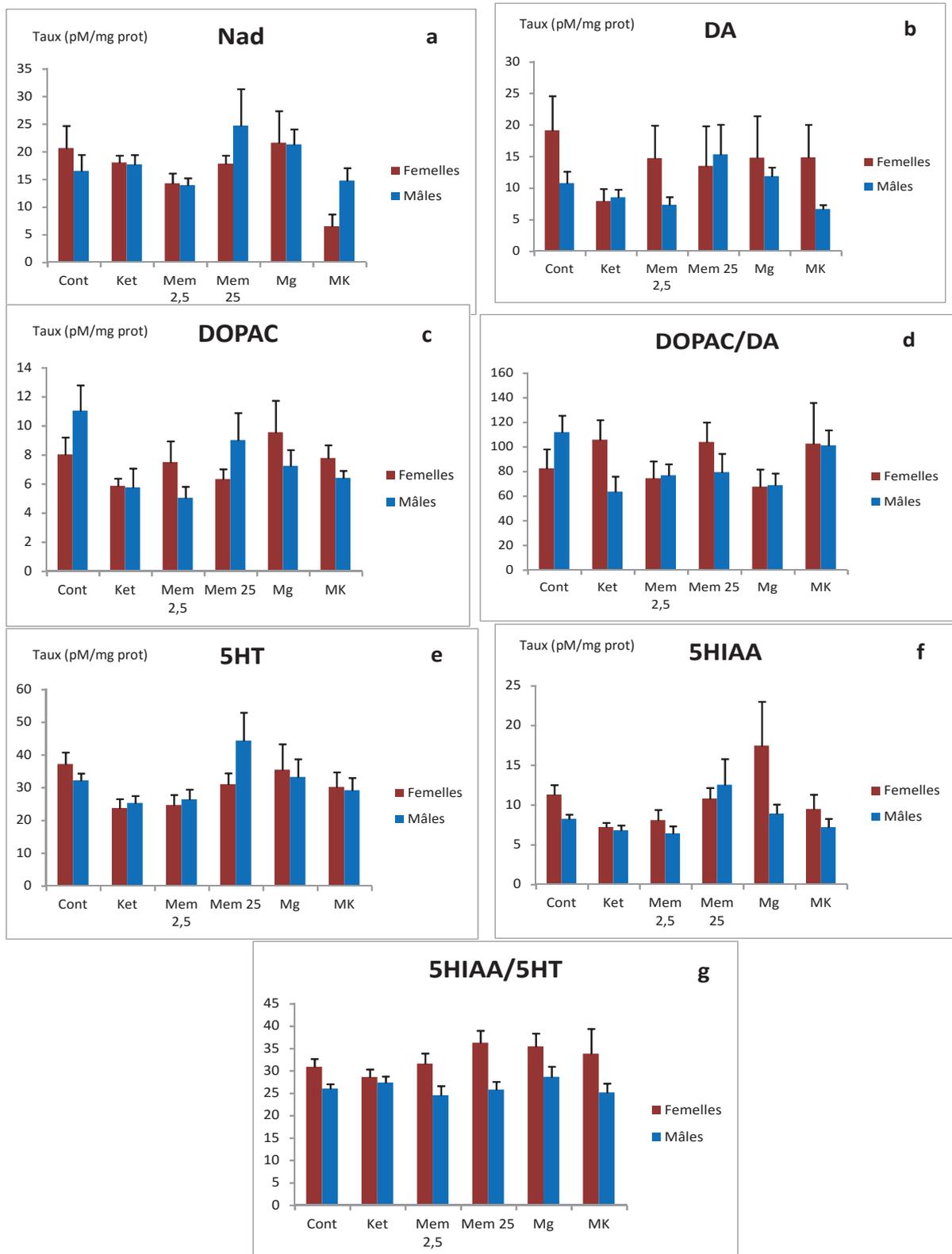
De manière similaire, l'analyse statistique des rapports GLU/GLN et GLU/GABA ne montrait aucune interaction significative entre les facteurs traitement et sexe (respectivement  $F(5,147)=1,414$  ;  $F(5,147)=0,566$ ). Un effet significatif entre les traitements sur les deux paramètres GLU/GLN ( $F(5,147)=5,424$  ;  $p<0,001$ ) et GLU/GABA ( $F(5,147)=4,467$  ;  $p<0,01$ ) conduisait à une analyse post hoc. Ainsi, il apparaît que l'administration à P5 de kétamine, de magnésium ou de mémantine, aux deux doses, abaissait le rapport GLU/GLN (entre -19,4% et -27,9% ;  $p<0,05$  ;  $p<0,001$  et  $p<0,01$  respectivement) dans le striatum des souris adultes (figure n°19d).

Concernant le rapport GLU/GABA, la kétamine et le magnésium administrés à P5 chez les souris abaissaient également son taux comparativement aux souris adultes contrôles (respectivement -70,5% ;  $p<0,05$  et -71,3% ;  $p<0,05$ ) (figure n°19e).

5.2. Effets sur les taux cérébraux de noradrénaline (Nad), dopamine (DA), sérotonine (5HT) et des métabolites DOPAC (acide 3,4-dihydroxyphénylacétique), 5HIAA (acide 5-hydroxyindolacétique) et sur les rapports DOPAC/DA et 5HIAA/5HT

#### 5.2.1. CORTEX FRONTAL

Les taux de noradrénaline (Nad) dans le cortex frontal chez les animaux témoins étaient de 18,5 +/- 3,5 pM/mg prot ; celui de dopamine(DA) s'élevait à 14,9 +/- 3,7 pM/mg prot et celui de DOPAC à 9,5 +/- 1,5 pM/mg prot. Les taux de sérotonine (5HT) étaient de 34,6 +/- 2,9 pM/mg prot et ceux de 5HIAA de 9,8 +/- 0,9 pM/mg prot. Le rapport DOPAC / dopamine (DOPAC/DA) était de 97 +/- 14,8 et le rapport 5HIAA / sérotonine (5HIAA/5HT) de 28 +/- 1,4.



**Figure n°20:** Taux de noradrénaline (a), de dopamine (b), de DOPAC (c), rapport taux de DOPAC/taux de dopamine (d), taux de sérotonine (e), de 5HIAA (f) et rapport taux de 5HIAA/taux de sérotonine (g) mesurés/calculés à P105 dans le cortex frontal des 160 animaux (en pM/mg prot) en fonction de leur traitement par les différents antagonistes des récepteurs NMDA.

Chaque souris recevait à P5 l'administration i.p. de PBS (C), de Mémantine à 2,5 ou 25 mg/Kg (Mem 2,5 ou Mem 25), de MK-801 à 300µg/Kg (MK), de Magnésium à 200 mg/Kg (Mg) ou s.c. de Kétamine à 40 mg/Kg (Ket).

L'ANOVA 2 facteurs réalisée sur les taux noradrénaline ne décèle aucune interaction significative entre les facteurs traitement et sexe ( $F(5,142)=0,995$ ). Les taux ne varient pas entre les sexes ( $F(1,142)=0,698$ ). Un effet significatif global des différents traitements est retrouvé avec les taux de noradrénaline ( $F(5,142)=2,675$  ;  $p<0,05$ ) mais le test de Tukey ne met pas en évidence de différence avec le groupe Contrôle (figure n°20a).

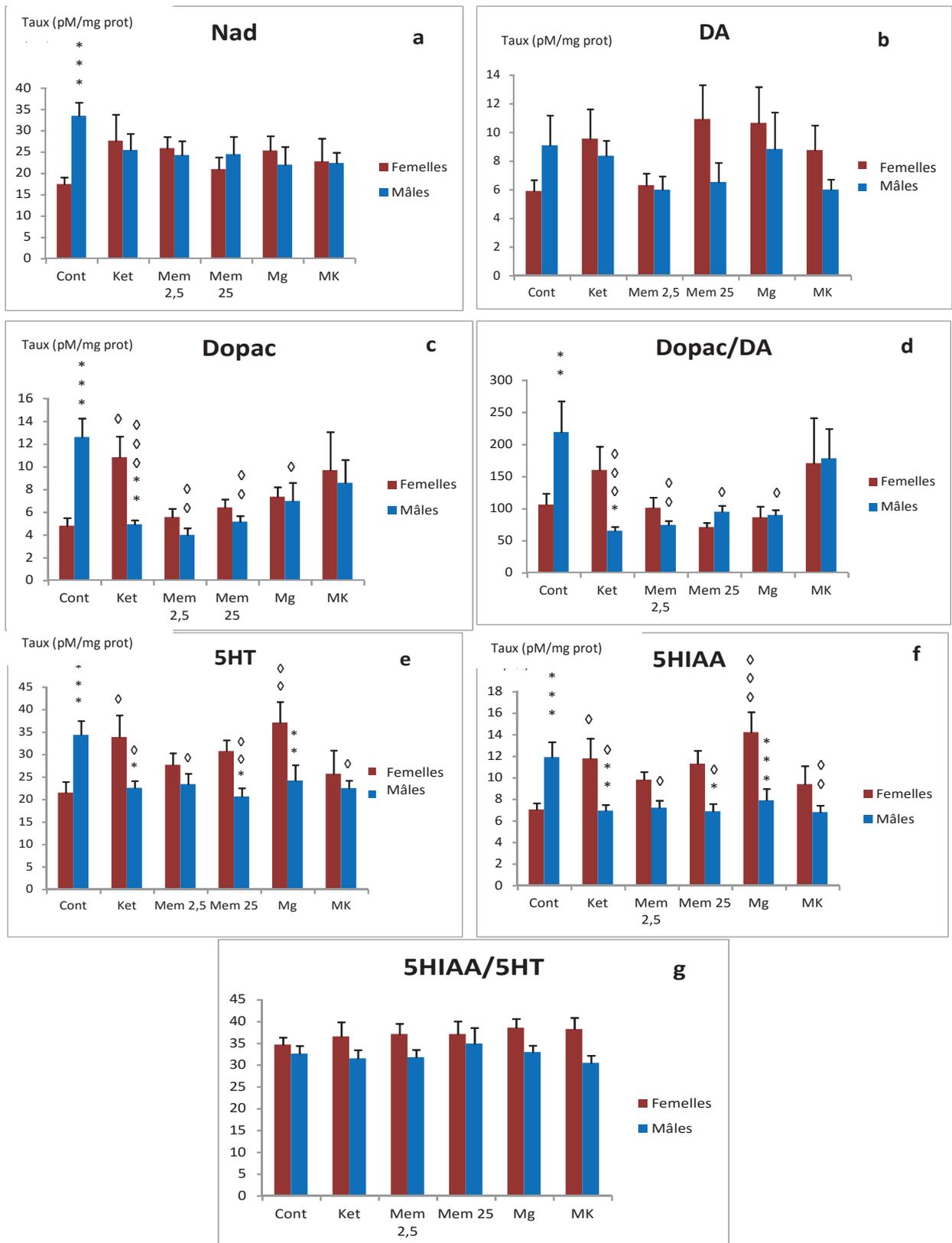
L'ANOVA 2 facteurs réalisée sur les taux de dopamine, de DOPAC et sur le rapport DOPAC / dopamine ne décèle aucune interaction significative entre les facteurs traitement et sexe (respectivement  $F(5,137)=0,664$  ;  $F(5,144)=1,616$ ;  $F(5,138)=1,477$ ). Les taux ne varient pas significativement entre les sexes (respectivement  $F(1,137)=2,005$  ;  $F(1,144)=0,0123$  ;  $F(1,138)=0,424$ ). Aucun effet significatif global des différents traitements n'est retrouvé avec les taux de dopamine, de DOPAC et le rapport DOPAC / dopamine (respectivement  $F(5,137)=0,762$  ;  $F(5,144)=2,227$  ;  $F(5,138)=1,396$ ) (figures n°20b, 20c et 20d).

L'ANOVA 2 facteurs réalisée sur les taux de sérotonine, de 5HIAA et sur le rapport 5HIAA / sérotonine ne décèle aucune interaction significative entre les facteurs traitement et sexe (respectivement  $F(5,145)=1,029$  ;  $F(5,147)=1,439$  ;  $F(5,145)=0,986$ ). Les taux varient significativement entre les sexes pour le 5HIAA et le rapport 5HIAA / sérotonine (respectivement  $F(1,147)=4,152$  ;  $p<0,05$  ;  $F(1,145)=24,650$  ;  $p<0,001$ ), en effet ces taux sont plus élevés chez les femelles dans le cortex frontal. Il n'y a pas d'effet sexe concernant la sérotonine ( $F(1,145)=0,278$ ).

Un effet significatif global des différents traitements est retrouvé avec les taux de sérotonine et de 5HIAA (respectivement  $F(5,145)=2,812$  ;  $p<0,05$  et  $F(5,147)=2,962$  ;  $p<0,05$ ), mais pas pour le rapport 5HIAA / sérotonine ( $F(5,145)=1,142$ ). Cependant le test de Tukey ne met pas en évidence de différences avec le groupe Contrôle.

#### 5.2.2. CORTEX PARIETAL

Les taux de noradrénaline dans le cortex pariétal chez les animaux témoins étaient de 25,4 +/- 2,4 pM/mg prot; celui de dopamine s'élevait à 7,5 +/- 1,5 pM/mg prot et celui de DOPAC à 8,7 +/- 1,2 pM/mg prot. Les taux de sérotonine étaient de 27,89 et ceux de 5HIAA de 9,5 +/- 2,8 M/mg prot. Le rapport DOPAC / dopamine était de 162 +/- 33 et le rapport 5HIAA / sérotonine de 34 +/- 1,8.



**Figure n°21** : Taux de noradrénaline (a), de dopamine (b), de DOPAC (c) et rapport taux de DOPAC/ taux de dopamine (d), taux de sérotonine (e), de 5HIAA (f) et rapport taux de 5HIAA/ taux de sérotonine (g) mesurés/calculés à P105 dans le cortex pariétal des 160 animaux (en pM/mg prot) en fonction de leur traitement par les différents antagonistes des récepteurs NMDA.

Chaque souris recevait à P5 l'administration i.p. de PBS (C), de Mémantine à 2,5 ou 25 mg/Kg (Mem 2,5 ou Mem 25), de MK-801 à 300µg/Kg (MK), de Magnésium à 200 mg/Kg (Mg) ou s.c. de Kétamine à 40 mg/Kg (Ket). Moyennes +/- SEM des animaux, comparées par une ANOVA 2 facteurs suivie d'un test post hoc : \*\*\* :  $p < 0,001$  par rapport au sexe opposé ; \*\* :  $p < 0,01$  par rapport au sexe opposé ; \* :  $p < 0,05$  par rapport au sexe opposé ;  $\diamond\diamond\diamond$  :  $p < 0,001$  par rapport aux contrôles ;  $\diamond\diamond$  :  $p < 0,01$  par rapport aux contrôles ;  $\diamond$  :  $p < 0,05$  par rapport aux contrôles.

L'ANOVA 2 facteurs réalisée sur les taux noradrénaline décèle une interaction significative entre les facteurs traitement et sexe ( $F(5,147)=2,616$  ;  $p < 0,05$ ). Le test post-hoc de Tukey montre une différence très significative entre les mâles et femelles contrôles, en effet le taux de noradrénaline est bien plus élevé chez les mâles (+91,7%,  $p < 0,001$ ). Cette différence entre mâles et femelles contrôles est gommée avec tous les traitements qui tendent à augmenter le taux chez les femelles et à le réduire chez les mâles (figure n°21a).

L'ANOVA 2 facteurs réalisée sur les taux de dopamine ne décèle aucune interaction entre les facteurs sexe et traitements ( $F(5,147)=1,333$ ), ni aucun effet de chaque facteur ( $F(1,147)=1,415$  et  $F(5,147)=1,069$  respectivement).

Une interaction significative entre les facteurs sexe et traitement est retrouvée avec le DOPAC ( $F(5,146)=6,669$  ;  $p < 0,001$ ) et le rapport DOPAC/DA ( $F(5,146)=2,913$  ;  $p < 0,05$ ).

Le test post-hoc de Tukey montre une différence significative entre mâles et femelles contrôles, ainsi le taux de DOPAC chez les mâles témoins est beaucoup plus élevé que celui des femelles (+163 % ;  $p < 0,001$ ) (figure n°21c). Cette différence entre mâles et femelles contrôles est gommée avec les traitements, et même inversée avec la kétamine où les mâles ont un taux de DOPAC significativement plus faible que celui des femelles (-55% ;  $p < 0,01$ ). Ainsi la kétamine accroît le taux de DOPAC chez les femelles (+ 126%,  $p < 0,05$ ) tandis que la kétamine, la mémantine aux 2 doses (2,5 et 25 mg/kg) et le MK-801 l'abaissent de manière significative chez les mâles (entre -9% et -45% ;  $p < 0,001$  à  $p < 0,05$ ) (figure n°21c).

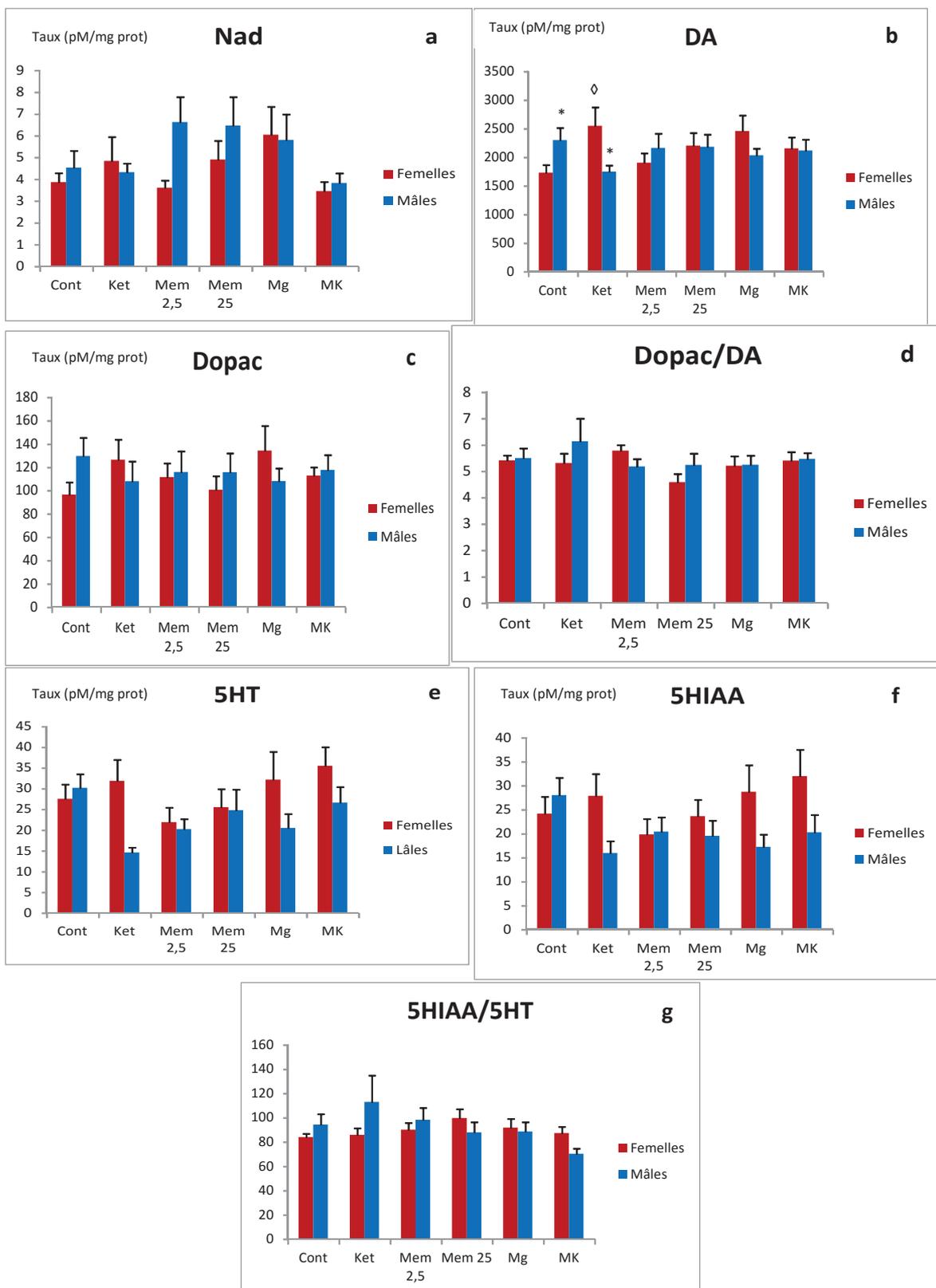
De même pour le rapport DOPAC/DA, la différence entre mâles et femelles contrôles (- 52%,  $p < 0,01$ ) est abolie avec les traitements et inversée avec la kétamine où le rapport DOPAC/DA des mâles est significativement plus faible que celui des femelles (-55% ;  $p < 0,05$ ). En effet, ce rapport est largement diminué chez les mâles soumis à la kétamine, au MgSO<sub>4</sub> ou à la mémantine (de - 57% à -70% ;  $p < 0,001$  à  $p < 0,05$ ).

L'ANOVA 2 facteurs réalisée sur les taux de sérotonine et de 5HIAA montre une interaction entre les deux facteurs sexe et traitements (respectivement  $F(5,147)=5,860$ ,  $p<0,001$  ;  $F(5,148)= 7,550$ ,  $p<0,001$  ; ce qui n'est pas le cas pour le rapport 5HIAA/5HT ( $F(1,148)=0,462$ ) qui apparaît néanmoins supérieur chez les femelles traitées ( $F(1,147)=11,434$  ;  $p<0,001$ ).

Le test de Tukey révèle une différence significative entre les taux de sérotonine et de 5HIAA des mâles et femelles contrôles, qui sont beaucoup plus élevés chez les mâles (+60% et 69% respectivement ;  $p<0,001$ ) (figures n°21e et f). Cette différence entre mâles et femelles contrôles est abolie avec les traitements, et même inversée avec la kétamine (+50%,  $p<0,05$  et +70%,  $p<0,01$  respectivement), le  $MgSO_4$  (+53 %,  $p<0,01$  et +80% ,  $p<0,001$  respectivement )et la mémantine à la dose la plus forte (+49% et +65% respectivement ;  $p<0,05$ ). Ainsi le  $MgSO_4$  et la kétamine accroissent le taux de sérotonine (+72%,  $p<0,01$  et +58% ,  $p<0,05$  respectivement) et celui de 5HIAA (+102%,  $p<0,001$  et +67% ,  $p<0,05$  respectivement) chez les femelles tandis que la kétamine, la mémantine et le MK-801 les abaissent de manière significative chez les mâles ( entre -32% et -43% ;  $p<0,05$  à  $p<0,01$ ) (figures n°21e et f).

### 5.2.3. STRIATUM

Les taux de noradrénaline dans le striatum chez les animaux témoins étaient de  $4,2 \pm 0,6$  M/mg prot ; celui de dopamine s'élevait à  $2010 \pm 181$  pM/mg prot et celui de DOPAC à  $113 \pm 13$  pM/mg prot. Les taux de sérotonine étaient de  $28,9 \pm 3,4$  pM/mg prot et ceux de 5HIAA de  $26,0 \pm 3,7$  M/mg prot. Le rapport DOPAC / dopamine était de  $5,45 \pm 0,3$  et le rapport 5HIAA / sérotonine de  $89,0 \pm 6,1$ .



**Figure n°22** : Taux de noradrénaline (a), de dopamine (b), de DOPAC (c) et rapport taux de DOPAC / taux de dopamine (d), taux de sérotonine (e), de 5HIAA (f) et rapport taux de 5HIAA / taux de sérotonine (g) mesurés/calculé à P105 dans le striatum des 160 animaux (en pM/mg prot) en fonction de leur traitement par les différents antagonistes des récepteurs NMDA.

Chaque souris recevait à P5 l'administration i.p. de PBS (C), de Mémantine à 2,5 ou 25 mg/Kg (Mem 2,5 ou Mem 25), de MK-801 à 300µg/Kg (MK), de Magnésium à 200 mg/Kg (Mg) ou s.c. de

Kétamine à 40 mg/Kg (Ket). Moyennes +/- SEM des animaux, comparées par une ANOVA 2 facteurs suivie d'un test post hoc : \* :  $p < 0,05$  par rapport au sexe opposé ;  $\diamond$  :  $p < 0,05$  par rapport aux contrôles.

L'ANOVA 2 facteurs réalisée sur les taux noradrénaline ne décèle aucune interaction significative entre les facteurs traitement et sexe ( $F(5,147)=1,018$ ). Les taux ne varient pas entre les sexes ( $F(1,147)=2,450$ ). Aucun effet significatif global des différents traitements n'est retrouvé avec les taux de noradrénaline ( $F(5,145)=1,880$ ) (figure n°22a).

L'ANOVA 2 facteurs réalisée sur les taux de DOPAC et sur le rapport DOPAC / dopamine ne décèle aucune interaction significative entre les facteurs sexe et traitement (respectivement  $F(5,147)=1,162$  ;  $F(5,146)=0,720$  ) , ni aucun effet de chacun des facteurs, sexe (respectivement  $F(1,147)=0,056$  ;  $F(1,146)=0,552$  )ou traitement (respectivement  $F(5,147)=0,153$  ;  $F(5,146)=0,855$  ).

Une interaction significative entre les facteurs sexe et traitement est retrouvée avec la dopamine ( $F(5,146)=2,908$  ;  $p < 0,05$ ). Le test post-hoc de Tukey montre une différence significative entre les souris contrôles mâles et femelles, ainsi le taux de dopamine chez les mâles est plus élevé que celui des femelles (+33,0% ;  $p < 0,05$ ). Cette différence entre mâles et femelles est gommée avec tous les traitements, et même inversée avec la kétamine où les mâles ont un taux de dopamine significativement plus faible que celui des femelles (-31,5% ;  $p < 0,05$ ) (figure n°22b). Aussi, la kétamine accroît significativement le taux de dopamine des femelles (+ 47%,  $p < 0,05$ ).

L'ANOVA 2 facteurs réalisée sur les taux de sérotonine, de 5HIAA et sur le rapport 5HIAA / sérotonine ne décèle aucune interaction significative entre les facteurs sexe et traitement (respectivement  $F(5,147)=1,834$  ;  $F(5,147)=1,812$  ;  $F(5,147)=1,374$ ) ni aucun effet significatif des traitements (respectivement  $F(5,147)=1,476$  ;  $F(5,147)=0,858$  ;  $F(5,147)=0,938$ ). En revanche, les taux de 5HIAA et de 5HT varient entre les sexes (respectivement  $F(1,147)= 6,672$ ;  $F(1,147)=6,573$  ;  $p < 0,05$  ), ce qui n'est pas le cas du rapport 5HIAA/5HT ( $F(1,147)=0,167$ ).

## VI. DISCUSSION

### 1. Effet des traitements par les antagonistes des récepteurs NMDA sur la mortalité et le poids des animaux

La période néonatale est une période pendant laquelle le souriceau est encore très fragile, il est dépendant de sa mère qui l'allait et doit gagner sa place. De plus il est encore immature à cet âge, et même moins mature que l'être humain au même âge. Le risque de mortalité pendant cette période est accru, c'est pourquoi nous calculons la mortalité lors de cette période. La mortalité chez les témoins était de 7,5 % en moyenne.

Concernant les effets à long terme des différents antagonistes, on constate qu'il n'y a pas de différence significative entre les traitements, cela signifie qu'aucun traitement n'aggrave la mortalité. On note cependant que la mortalité des animaux traités par le MK-801 est près de deux fois plus importante que celle des autres groupes, en effet cette différence avec les autres traitements est compréhensible car le blocage des récepteurs NMDA par le MK-801 est plus long et pratiquement irréversible.

Concernant la kétamine, la mémantine ou le magnésium, il n'y a pas de différence de mortalité par rapport aux témoins, ce qui est rassurant en terme d'absence de toxicité chez le souriceau, et d'utilisation neuroprotectrice éventuelle chez l'humain

Concernant le poids, à P5, la population est homogène, on ne retrouve aucune différence significative entre les traitements. Lors du sevrage, nous observons une diminution du poids par rapport aux contrôles chez les animaux traités par le magnésium et par la mémantine à 25 mg/kg. Dans plusieurs études, dont celle de Gorter et de Bruin (1992), c'est le poids des animaux traités par le MK-801 à dose chronique qui diminue transitoirement. Ce ralentissement de croissance est ensuite rattrapé puisqu'à P75 on n'observe plus de différence entre les traitements, il n'y a donc plus de déficit de poids avec ces deux traitements. La croissance des animaux semble normale, quel que soit le traitement. Nous pouvons cependant nous interroger sur l'évolution des comportements moteur et psychomoteur à l'âge adulte chez les souris ayant été traitées par la mémantine à forte dose et le magnésium. Ce ralentissement de croissance est inattendu concernant ces deux antagonistes puisqu'ils exercent un blocage voltage-dépendant et donc plus labile du récepteur NMDA que le MK-801 ou la kétamine. La baisse transitoire du poids peut nous interpeller sur le développement cérébral des animaux, d'où la nécessité de tester les animaux à

l'âge adulte grâce aux épreuves comportementales. Une hypothèse pourrait être que ces effets ne soient pas des effets NMDA.

## 2. Effet des traitements par les antagonistes des récepteurs NMDA sur le comportement

### 2.1. Effets des traitements sur l'activité locomotrice

Lors du test de l'activité locomotrice, nous avons mesuré l'activité verticale des animaux et la distance parcourue sur les 30 premières minutes, la première heure et les 3 heures de l'expérience. Pendant les 30 premières minutes, la souris explore le nouvel environnement qui lui est encore inconnu, il y a un phénomène de curiosité, de découverte évalué par la distance totale, mais aussi une part d'anxiété, évaluée par l'activité verticale. L'animal recherche une échappatoire, une issue, il regarde où il peut dormir ; longe les parois pour se rassurer. Nous n'observons rien de significatif pendant cette période, ni au niveau de la distance parcourue ni au niveau de l'activité verticale, les traitements ne semblent pas augmenter l'anxiété des animaux.

Après la première heure, les animaux sont moins actifs du fait de la familiarisation, nous avons mesuré leur activité basale, qui tient compte de plusieurs facteurs comme leur capacité cognitive. A partir de la 1ère heure pour la distance parcourue et durant les 3h pour l'activité verticale, on observe un effet sexe important avec une plus forte activité chez les femelles que chez les mâles. L'étude d'Aligny et coll. (2014) ne montrait pas de différence entre sexes chez les contrôles, comme dans notre étude lors de la première demi-heure. En revanche, nos résultats et ceux de Lecointre et coll. (2015) montrent une activité nocturne plus soutenue des souris femelles dans la roue d'activité et s'accordent avec nos données d'activité locomotrice, après une heure de familiarisation.

Dans notre étude, les souris femelles traitées par la mémantine à 25 mg/kg et par le magnésium parcourent significativement moins de distance que les autres femelles, il n'y a donc plus de différence mâle/femelle pour ces 2 traitements. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus avec la kétamine et le MK-801, qui pourtant bloquent les récepteurs NMDA de manière plus soutenue que le magnésium et la mémantine. On peut expliquer ces résultats inattendus par le fait que le magnésium développe d'autres effets : en effet il peut également bloquer des canaux calciques. De même, la mémantine n'est pas spécifique des récepteurs NMDA et peut bloquer ou activer d'autres récepteurs comme les récepteurs cholinergiques ou sérotoninergiques.

Parallèlement, les traitements diminuent le rapport GLU/GLN dans le cortex frontal et le striatum, et le taux de glutamate dans le striatum. Cette altération de la transmission glutamatergique dans des structures cérébrales connues pour contrôler la locomotion pourrait expliquer la baisse d'activité locomotrice induite par la mémantine et le magnésium. Elle indique néanmoins que les conséquences neurochimiques de l'administration néonatale de kétamine et de MK-801 sont les mêmes que pour la mémantine ou le magnésium et n'explique donc pas les différences rencontrées entre les antagonistes sur l'ALM.

Une autre hypothèse est que le blocage voltage-dépendant exercé par la mémantine ou le magnésium peut induire des effets différents de ceux développés après blocage continu du récepteur NMDA produit par la kétamine ou le MK-801. Le MK-801 peut induire des effets délétères chez le souriceau (Vojtechova et coll, 2016); l'administration chronique de MK-801, chez la souris adulte comme chez le souriceau, constitue d'ailleurs un modèle de schizophrénie avec l'apparition de troubles cognitifs et locomoteurs (Gorter et Bruin, 1992). Liu et coll. (2011) montrait que le MK-801, administré pendant plusieurs jours chez le Rat, augmentait effectivement leur activité locomotrice. De même, Fredriksson et Archer (2003) montraient que la kétamine ou le MK-801 administrés en période post-natale augmentaient l'hyperactivité chez les souris.

Pour vérifier cette dernière hypothèse, il faudrait explorer plus précisément les fonctions cognitives (mémoire de travail,...), comme l'apprentissage olfactif associatif par exemple, associant une odeur à une récompense.

Il faudrait également pouvoir mesurer les taux de neurotransmetteurs dans d'autres structures cérébrales comme, par exemple, l'hippocampe qui est impliqué dans la mémoire de travail, et vérifier si cette fonction cognitive n'est pas altérée dans nos conditions, en utilisant par exemple le test de la reconnaissance d'objets.

On pourrait également rechercher si les antagonistes utilisés induisent des effets tardifs similaires à ceux développés dans les modèles de schizophrénie. On pourrait ainsi envisager d'effectuer un test de filtrage sensoriel tel que le test de startle-response. Le principe de ce test est de soumettre la souris à un stimulus sonore intense et soudain, déclenchant un sursaut de sa part ; l'administration d'un premier signal sonore à une fréquence infraliminaire (« prepulse » ne provoquant pas seul le sursaut) juste quelques millisecondes avant le stimulus sonore, permet d'atténuer le sursaut induit par le deuxième son ; l'animal prend en compte le premier signal

acoustique qui inhibe la réaction réflexe de sursaut : on parle alors de « prepulse inhibition ». Les souris traitées chroniquement par la kétamine ou le MK-801 sursautent toujours autant qu'en l'absence du prepulse (Canal et coll., 2001). Le fait de ne pas tenir compte du prepulse reproduit une caractéristique de la schizophrénie : le schizophrène présente des troubles de l'association impliquant notamment le cortex préfrontal (Woodcock et coll., 2016). Nous avons tenté de réaliser ce test sans succès dans le temps de cette étude.

## 2.2. Effets des traitements sur la roue d'activité

L'ALM, mesurée au-delà de 30 minutes, reflète la familiarisation de la souris avec son nouvel environnement, il prend en compte la capacité d'exploration et d'adaptation de la souris. Dans le test de la roue d'activité, il y a également cette notion de familiarisation puisque la souris commence par explorer sa nouvelle cage ; le premier nycthémère diffère d'ailleurs des deux suivants. Dans l'épreuve de la roue d'activité, les animaux peuvent se nourrir et boire à volonté, au contraire du test de l'ALM plus anxiogène pour la souris, puisque celle-ci n'a ni à boire, ni à manger. Dans la mesure d'activité spontanée dans la roue, elles peuvent choisir de courir dans la roue, qui est une occupation ludique et permet de mesurer une activité de défoulement ou d'exercice, selon leur l'humeur.

Nous avons mesuré la distance parcourue par les animaux durant 3 jours dans la roue d'activité. En règle générale, l'activité est plus soutenue la nuit. Dans notre étude le premier nycthémère différait des deux suivants ; en effet, introduites vers 14h, les souris exploraient intensément la roue et la différence d'activité entre le jour et la nuit était alors moins évidente que lors des deux derniers nycthémères. C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés surtout aux résultats des deux derniers jours.

Comme nous l'avons déjà indiqué précédemment et remarqué pour l'ALM, les femelles parcourent plus de distance que les mâles.

Chez les mâles, la kétamine, la mémantine à 25mg/kg et le magnésium augmentaient l'activité dans la roue durant les deux dernières nuits alors que chez les femelles, la mémantine la réduisait. La différence entre mâles et femelles s'estompait ainsi.

Dans l'étude d'Aligny et coll. (2014), les femelles issues de mères traitées par la kétamine parcouraient très significativement plus de distance lors de l'activité locomotrice que les contrôles; ce n'est pas le cas ici, mais la dose et les modalités d'injection (injection in utero de 50mg/kg de

kétamine) diffèrent par rapport à notre étude. Nos résultats concernant la kétamine diffèrent également de ceux obtenus par l'étude de Lecointre et coll. (2015) (injection à P2, P5 et P10 de kétamine à 40mg/kg) ; en effet elle montre une augmentation de l'activité chez les femelles traitées par la kétamine à P5. La littérature explore peu ces effets, nous avons donc peu d'éléments de comparaison. On remarque que la sensibilité au produit semble très dépendante de l'âge.

Dans les deux types de test (ALM et roue), un autre aspect moteur est à prendre en compte : la coordination motrice. Un défaut de coordination motrice pourra induire un déficit locomoteur. Dans notre étude, il n'y a pas de déficit avec les différents traitements dans les 30 min d'ALM, et même l'activité des mâles dans la roue est plutôt augmentée ; ces deux résultats plaident en défaveur d'un trouble de la coordination motrice. Une autre étude mesurant la coordination motrice à l'aide du test « Catwalk » a été réalisée au laboratoire, elle montrait qu'il n'y avait pas de modification de la coordination des mouvements chez l'adulte après traitement néonatal par mémantine (Raas, 2015). Lors de cette étude, les souris ayant été traitées par la mémantine à 25 mg/kg (forte dose dans notre étude) ont également subi le test du « Rotarod » et le « test du mâtt », mesurant les performances motrices. Là encore, il ne semblait pas y avoir de baisse de la coordination motrice des animaux traités avec la mémantine par rapport à ceux ayant reçu du PBS. La baisse d'activité lors de l'activité locomotrice chez les animaux et dans la roue chez les femelles ayant été traités par la mémantine dans notre étude ne semble donc pas liée à un problème de coordination motrice.

L'activité de la roue pourrait être aussi influencée par l'humeur des animaux ; en effet un animal qui est « déprimé » va plutôt se blottir dans un coin, tandis qu'un animal qui s'adapte bien à l'environnement va aller courir dans la roue. C'est pourquoi, pour confirmer ces informations, nous avons ensuite effectué sur les mêmes animaux le test de suspension par la queue, qui est notamment utilisé pour tester les effets antidépresseurs d'agents pharmacologiques chez la Souris.

### 2.3. Effets des traitements sur le test de suspension par la queue

Nous avons mesuré le temps d'immobilité de l'animal sur toute la durée de l'expérience. Les souris se retrouvent dans une situation inconfortable, tête en bas, et n'ont cessé de se redresser, puis finissent par se résigner et s'immobiliser. Ce test permet de mesurer le critère de résignation et

est souvent assimilé à un test de « dépression » puisqu'il est utilisé dans le criblage des antidépresseurs. Les souris femelles s'immobilisent plus rapidement que les mâles, elles se résignent plus précocement. En faisant un parallèle avec l'Homme, la dépression est une pathologie qui touche plus souvent les femmes que les hommes (Ogrodniczuk et Oliffe, 2011).

Il est intéressant de noter que les traitements par le MK-801 et par la mémantine augmentent encore l'immobilité des souris femelles. Il est possible que l'effet de la mémantine soit la résultante d'une baisse d'activité locomotrice des souris femelles que nous avons constatée dans le test d'ALM ou dans la roue d'activité et constituerait alors un biais. Cependant ce n'est pas le cas du magnésium dont les résultats dans notre étude sont généralement proches de ceux de la mémantine. Il y a malheureusement peu de données de comparaison dans la littérature, il serait utile de vérifier ces résultats à l'aide d'autres tests comme la nage forcée qui évalue la résignation des animaux ou le test de la résignation apprise. Si nos données étaient confirmées, le traitement par la mémantine donné aux femmes enceintes pourrait accroître alors le risque que leurs filles développent un syndrome dépressif à l'âge adulte. Il faudrait alors réserver un tel traitement aux seules mères qui sont enceintes de garçons, sachant que les garçons présentent à la naissance en général plus de problèmes que les filles (Niel, 2007) : le traitement par la mémantine pourrait bénéficier alors d'une balance efficacité/risques plus favorable chez les garçons.

### 3. Effet des traitements par les antagonistes des récepteurs NMDA sur les taux de neurotransmetteurs

Les informations sensitivo-sensorielles provenant du cortex pariétal, somesthésique et du thalamus se dirigent vers le striatum, ce sont des informations sensitivo-sensorielles. A partir du striatum, partent des efférences vers le globus pallidus interne ou la substance noire réticulée puis vers le cortex moteur, préfrontal via le thalamus ; deux voies directe ou indirecte (faisant relais dans le globus pallidus externe et le noyau sous-thalamique) sont décrites pour assurer la commande des mouvements proximaux automatiques accompagnant le mouvement volontaire.

Le cortex frontal est situé à l'avant de la boîte crânienne, et des cortex pariétal et temporal.

Il est responsable principalement de la motricité (cortex moteur) et de manière plus générale des fonctions exécutives, de la mémoire de travail...

Le cortex pariétal (cortex somesthésique) est situé en arrière du cortex frontal, et au-dessus des cortex temporal et occipital. C'est lui qui perçoit les informations neurosensorielles et les intègre. Une atteinte du cortex pariétal pourrait conduire à une altération de l'intégration des informations neurosensorielles.

Les informations corticales sont véhiculées principalement par les neurones glutamatergiques excitateurs. Elles sont contrôlées au niveau cortical principalement par des neurones GABAergiques inhibiteurs et/ou les neurones monoaminergiques, comme les neurones noradrénergiques issus du locus coeruleus, les neurones sérotoninergiques issus du raphé dorsal ou les neurones dopaminergiques de la voie mésolimbique... Elles sont également contrôlées par des structures sous-corticales comme le striatum.

Le striatum se situe juste en dessous du cortex frontal, au cœur du système de contrôle de la motricité ; il module positivement la voie directe stimulante et négativement la voie indirecte inhibitrice via l'activation de la voie dopaminergique nigrostriée.

Il paraissait donc intéressant de rechercher les effets exercés par plusieurs antagonistes des récepteurs NMDA sur les différentes transmissions glutamatergiques, GABAergiques ou monoaminergiques dans le cortex moteur, somesthésique et le striatum.

Les taux cérébraux de neurotransmetteurs représentent à la fois les taux intracellulaires et les taux extracellulaires. Les premiers prennent une part beaucoup plus importante puisque la proportion de neurotransmetteurs libérés dans l'espace extracellulaire est infime par rapport au stockage vésiculaire, d'autant plus que le neurotransmetteur libéré est soumis à la recapture neuronale ou à la dégradation enzymatique.

Ces taux sont peu sujets à variation lors de traitements pharmacologiques. Seuls des lésions ou des traitements drastiques peuvent les réduire. Par exemple, l'amphétamine induit une libération massive de neurotransmetteurs, dont la noradrénaline et la dopamine à partir de neurones, et peut conduire à la déplétion des vésicules synaptiques et à une baisse conséquente des taux de noradrénaline ou de dopamine dans les structures cérébrales (Dela Peña et coll., 2015). Les métabolites dépendent davantage du métabolisme intraneuronale et donc de l'activité neuronale : par exemple, le DOPAC est formé, à partir de la dopamine, par la Monoamine Oxydase B localisée au sein de la membrane externe des mitochondries dans les neurones des rongeurs ; Le taux de DOPAC dépend alors de la synthèse cytoplasmique intraneuronale de dopamine, accrue lors de

l'activité électrique du neurone dopaminergique et de la capture neuronale de la dopamine nouvellement libérée par exocytose.

Le glutamate, quant à lui, est un précurseur du GABA formé dans les neurones GABAergiques et un neurotransmetteur majeur formé dans les neurones glutamatergiques à partir de la glutamine et métabolisé en glutamine dans les cellules gliales. Il peut également être produit par toutes les cellules via le cycle de Krebs. La glutamine est un métabolite du glutamate produit exclusivement par les cellules gliales et est donc un index de celles-ci.

Le glutamate et le rapport GLU/GLN représentent donc l'état de la transmission glutamatergique et constituent un index de l'intégrité des systèmes glutamatergiques.

Etant donné que le glutamate et le GABA sont des neurotransmetteurs respectivement excitateur et inhibiteur et que le glutamate est le précurseur du GABA, un équilibre entre ces deux neurotransmissions s'établit constamment pour assurer l'homéostasie de nombreuses fonctions. En effet, une diminution du rapport GLU/GABA est plus souvent associée à des troubles anxio-dépressifs et aux symptômes négatifs de la schizophrénie. Au contraire une augmentation du rapport est plus souvent associée à l'apparition de crises épileptiques ou aux symptômes positifs de la schizophrénie (Chiapponi et coll., 2016). C'est pourquoi il nous a paru intéressant de calculer le rapport des deux neurotransmetteurs.

### 3.1. Effets des traitements sur les taux de glutamate, de glutamine et de GABA

Dans notre étude, le taux de glutamine reste constant dans le cortex frontal, le cortex pariétal et le striatum : il n'y a donc probablement pas eu d'atteinte des cellules gliales.

Le rapport GLU/GLN, est diminué de manière très significative dans le cortex frontal chez les mâles traités et dans le striatum des animaux traités par la mémantine aux 2 dosages, la kétamine et le magnésium, mettant en évidence une altération probable des neurones glutamatergiques. Cette baisse du rapport GLU/GLN, chez l'adulte mâle, pourrait correspondre à une diminution du nombre de neurones (ou d'afférences descendantes) glutamatergiques alors que les cellules gliales paraissent préservées. On pourrait vérifier cette hypothèse en évaluant leur densité. Un tel déficit en neurones glutamatergiques dans le cortex frontal pourrait être associé à des troubles cognitifs et/ou locomoteurs (Woodcock et coll., 2016).

Le rapport GLU/GABA ne montrait aucun changement avec les traitements, dans le cortex frontal, probablement du fait d'une baisse concomitante du taux de GABA même si celle-ci n'apparaît pas

statistiquement significative. . Ainsi, les traitements par des antagonistes des récepteurs NMDA, à P5, ont pu altérer le développement des neurones de l'une au l'autre des transmissions glutamatergiques ou GABAergiques mais l'homéostasie des deux systèmes a été préservée dans le cortex frontal. Une baisse du taux cortical de GABA par le MK-801 a été rapportée par Liu et coll. (2011) ; le rapport GLU/GABA était alors accru. Cependant les auteurs ne distinguaient pas les mâles des femelles et le MK-801 était administré sur une période plus prolongée. Aligny et coll. (2014), au contraire, indiquaient que le traitement par la kétamine accroissait le taux de GABA chez les mâles, dans le cortex frontal, et était sans effet sur le taux de glutamate; dans le même temps la densité des neurones GABAergiques était diminuée chez les mâles et la hausse de GABA était interprétée comme un processus de compensation. Dans cette étude, la kétamine était administrée chez les mères lors de la gestation à une période plus précoce du développement foetal. Nous n'avons malheureusement pas d'autres éléments de comparaison dans la littérature concernant les effets d'antagonistes des récepteurs NMDA sur les taux cérébraux de ces deux neurotransmetteurs.

Dans le striatum, au contraire, le rapport GLU/GABA était fortement réduit après traitement par la kétamine et le magnésium, alors que la transmission GABAergique était préservée. Curieusement même, à la différence des autres agents, le magnésium tendait à accroître le taux de GABA dans cette structure, aggravant le déséquilibre entre les deux neurotransmissions. Il se pourrait qu'un mécanisme différent du blocage du récepteur NMDA soit ici en cause. Les antagonistes des récepteurs NMDA modulent donc la balance GLU/GABA dans le cortex frontal et le striatum, créant un déséquilibre entre ces deux structures corticale et sous-corticale, qui est de nature à favoriser certains désordres comportementaux. La schizophrénie notamment a pu être associée à un déséquilibre de régulation entre des structures corticales et sous-corticales, en particulier le striatum (Fusar-Poli et coll., 2011).

Aucun effet n'est retrouvé dans le cortex pariétal, suggérant que le développement des neurones glutamatergiques pourrait être décalé dans le temps entre les deux zones corticales et que le traitement serait alors inefficace sur des neurones déjà en place dans le cortex pariétal. Au contraire, les effets les plus probants sur les taux de monoamines étaient retrouvés dans le cortex pariétal, ce qui suggère que la période de traitement (P5) est une période plus cruciale pour le développement du système monoaminergique dans le cortex somesthésique que dans le cortex

moteur et semble confirmer que le développement neuronal suit une progression différente entre les deux régions neuronales.

### 3.2. Effets des traitements sur les taux des monoamines

Concernant les taux de monoamines, les résultats n'ont pas montré de différences significatives dans le cortex frontal. Dans l'étude de Gorter et coll. (1992), l'effet de l'administration répétée du MK-801 à partir de P8 était explorée chez les rats adultes. Les auteurs rapportaient des niveaux de DOPAC et de 5HIAA augmentés dans le cortex frontal des rats traités. Dans une autre étude de Liu et coll. (2011), au contraire, la dopamine et le DOPAC étaient diminués par le traitement. Ces données divergentes sont probablement dues aux modalités de traitement des animaux où le MK-801 était administré sur une plus longue période et plus tardivement au cours du développement que dans notre étude. Il est possible que le blocage des récepteurs NMDA à ce stade plus tardif ait davantage de répercussions sur la mise en place des neurones et des projections monoaminergiques dans le cortex frontal.

Au contraire, dans le cortex pariétal, les femelles contrôles ont des taux de monoamines bien plus bas que chez les mâles, en particulier pour la noradrénaline et la sérotonine. La différence du taux de dopamine entre les deux sexes n'est pas statistiquement significative du fait probable d'une dispersion expérimentale plus grande due à des valeurs très basses dans cette région du cortex.

Un tel dimorphisme sexuel concerne également le rapport DOPAC/dopamine plus fort chez les mâles contrôles dans le cortex pariétal. Le taux de dopamine est également plus élevé dans le striatum des mâles contrôles. Ce dimorphisme basal sexuel concernant les taux cérébraux de monoamines peut être rapproché de dimorphismes sexuels associés à certaines pathologies psychiatriques, comme la dépression plus fréquente chez les femmes, ou le déficit d'attention avec hyperactivité touchant majoritairement les hommes et alors que les transmissions monoaminergiques sont largement impliquées dans leur physiopathologie (Ogrodniczuk et Oliffe, 2011 ; Ochoa et coll., 2012).

Il est intéressant de noter que les différences entre les mâles et les femelles, retrouvées dans notre étude, étaient atténuées avec l'ensemble des traitements soit parce que les taux de monoamines ou de leurs métabolites sont augmentés chez les femelles, soit parce qu'ils sont diminués chez les mâles. La différence est même parfois inversée entre les deux sexes : par exemple, les taux de DOPAC, de sérotonine et de 5HIAA sont plus forts dans le cortex pariétal des femelles traitées par la kétamine et le taux de DA est plus élevé dans le striatum des femelles

soumises à la kétamine, à l'opposé des animaux témoins. En revanche, les traitements ne modifient pas les taux de monoamines ou de leurs métabolites en l'absence de dimorphisme sexuel chez les contrôles comme c'est le cas, dans le cortex frontal ou dans le striatum pour la noradrénaline ou la sérotonine.

Peu d'études ont exploré les taux cérébraux de monoamines chez des animaux soumis à des antagonistes des récepteurs NMDA en période postnatale. Gorter et coll. (1992) rapportaient que le MK-801, administré dans la période néonatale, réhaussait le taux de DOPAC dans le striatum de rats et ne modifiaient pas celui de la dopamine. Liu et coll. (2011) mettaient en évidence une diminution des taux de dopamine et de DOPAC dans l'hippocampe sans altérer le rapport DOPAC/DA. Mais ils n'exploraient pas les autres transmissions monoaminergiques et ne distinguaient pas les sexes.

Notre observation suggère que les modifications neurochimiques induites par des antagonistes glutamatergiques (kétamine, magnésium, mémantine aux deux dosages et MK-801) seraient les conséquences d'une altération des processus impliqués dans une forme de différenciation sexuelle du cerveau et que le glutamate jouerait un rôle important dans ces processus notamment au stade P5.

La différenciation sexuelle du cerveau chez la Souris se produit entre P5 et P10. Cette période correspond également au développement et à la maturation de neurones monoaminergiques chez le rongeur (McCarthy et Arnold, 2011). C'est aussi pendant cette période que nous avons injecté les différents traitements (P5) ; le cerveau n'était donc pas encore mature à ce terme, cela peut expliquer l'abolition des différences entre sexes par les traitements. La sexualisation des mâles est déterminée par une production importante d'œstrogènes résultant de la conversion de la testostérone par une aromatasase. La sexualisation des femelles nécessite aussi la production d'œstrogènes mais en quantité plus faible; en effet des antagonistes des récepteurs des œstrogènes administrés à des souriceaux conduisent à des souris phénotypiquement asexuées, ni mâles, ni femelles. Le glutamate semble participer à ce processus notamment au niveau du noyau préoptique de l'hypothalamus (McCarthy et Arnold, 2011) en favorisant la transmission noradrénergique ; il n'est donc pas surprenant que le blocage des récepteurs NMDA puisse interrompre ou retarder ce processus. Dans notre étude, les souris adultes étaient toutefois capables de procréation puisqu'une erreur de tri au sevrage a conduit à introduire un mâle parmi 6 femelles qui se sont retrouvées toutes gestantes. Sans impacter le développement des gonades

qui débute à la fin de la gestation, les traitements à P5 ont pu néanmoins interférer avec la différenciation sexuelle du cerveau et modifier certains comportements liés au sexe chez l'adulte. Dans l'épreuve du TST, un écart de comportement est, au contraire, induit par la mémantine et le MK-801 de manière liée au sexe puisque les deux antagonistes augmentent la résignation des femelles uniquement, suggérant que la susceptibilité des femelles à la résignation a même été aggravée. Ces résultats ne sont pas nécessairement contradictoires. Dans la mesure où le développement des gonades paraît indemne, le traitement des antagonistes n'a pas eu pour effet de gommer toutes les différences entre sexes et chaque individu, à l'âge adulte, reste soumis aux influences hormonales sur le comportement.

Dans notre étude, l'agent qui paraissait induire le plus de modifications neurochimiques et comportementales, était la kétamine. De manière inattendue et malgré sa toxicité aiguë, le MK-801 paraissait moins efficient que la kétamine, chez les souris adultes : il atténuait mais n'inversait pas le dimorphisme sexuel observé dans le cortex pariétal ou le striatum ; il réduisait le rapport GLU/GLN dans le cortex frontal, mais pas dans le striatum et n'abaissait pas le rapport GLU/GABA dans le striatum. Il n'augmentait pas la distance parcourue des mâles dans la roue d'activité. En revanche, il accroissait davantage la résignation des souris femelles. La mémantine et le magnésium reproduisaient la plupart des effets de la kétamine mais de manière plus modérée. Quelques différences apparaissaient sur le plan comportemental pour la mémantine : à la plus forte dose, elle réduisait l'activité des souris femelles, ce qui pouvait expliquer leur plus forte résignation dans l'épreuve du TST de celles-ci. Mais là encore, il n'est pas établi que ces effets soient dus à l'action de ces agents sur les récepteurs NMDA.

## VII. CONCLUSION

Dans notre étude, nous voulions observer si une injection unique de mémantine ou de magnésium chez le souriceau à P5 pouvait provoquer des effets indésirables à l'âge adulte. D'après nos résultats, la mémantine et le magnésium produisent des effets sur le comportement et sur les taux de neurotransmetteurs des souris alors même qu'ils n'ont été administrés qu'une seule fois. Ces deux traitements freinaient transitoirement la croissance des souriceaux. Lors du test de l'activité locomotrice, nous observions une diminution d'activité des femelles traitées par la mémantine à forte dose et par le magnésium. Dans la roue d'activité, la distance parcourue par les mâles était augmentée par le magnésium et par la mémantine à forte dose, tandis que celle parcourue par les femelles était diminuée par la mémantine à forte dose. Enfin, le temps d'immobilité était augmenté chez les souris traitées par la mémantine dans le TST. Concernant le dosage des neurotransmetteurs, le rapport glutamate/glutamine était diminué par la mémantine et le magnésium dans le cortex frontal et le striatum, et le taux de glutamate réduit par la forte dose de mémantine et par le magnésium. Dans le cortex pariétal, la mémantine et le magnésium diminuaient les taux de sérotonine et de 5HIAA, de DOPAC et le rapport DOPAC/dopamine chez les mâles ; chez les femelles, les taux de sérotonine et de 5HIAA étaient augmentés par le magnésium.

Globalement, l'administration unique, à P5, de la mémantine ou du magnésium modifiait surtout le taux de certains neurotransmetteurs dans le cerveau des souris, supprimant notamment les différences entre sexes pour ce qui concerne les monoamines. Sur le plan comportemental, les effets apparaissaient moins marqués. Il est possible que des adaptations fonctionnelles compensent parfois certaines altérations neurodéveloppementales. En outre, l'augmentation de la désignation chez les femelles traitées par la mémantine peut s'expliquer par une baisse concomitante de leur activité locomotrice, qui constitue un biais possible.

Les taux des neurotransmetteurs et de leurs métabolites sont des index de l'intégrité et/ou du métabolisme neuronal mais ils ne reflètent pas totalement le fonctionnement neuronal et surtout la dynamique de l'activité neuronale (stress, apprentissage, agents pharmacologiques...).

Des études de microdialyse permettraient par exemple de déterminer le taux extracellulaire des neurotransmetteurs, plus représentatif de l'état de la transmission ou du taux de neurotransmetteur libéré, puis d'examiner l'influence du stress ou de différents agents (drogues...). De même, la mesure de la locomotion comporte des composantes très variées (coordination motrice, cognition, motivation...) et nos résultats nécessitent d'être étayés par la mise en œuvre d'autres épreuves plus spécifiques évaluant le risque cognitif (mémoire de travail, reconnaissance d'objet...), schizophrène (« Startle response »), l'interaction sociale, l'anxiété ou la résignation (nage forcée, résignation apprise)...

Nous ne pouvons donc pas certifier que ces traitements par la mémantine et le magnésium seraient sans risque s'ils étaient administrés, sur une période courte, à des nouveau-nés prématurés ou à des femmes enceintes en menace d'accouchement prématuré. Cependant, la mémantine semble plus toxique que le magnésium, si on considère le risque dépressif. Il faudrait réaliser d'autres études pour évaluer la balance bénéfique/risque chez l'Homme.

## VIII. Références

Aligny C, Roux C, Dourmap N, Ramdani Y, Do-Rego JC, Jégou S, Leroux P, Leroux-Nicollet I, Marret S, Gonzalez B (2014). Ketamine alters cortical integration of GABAergic interneurons and induces long-term sex-dependent impairments in transgenic Gad67-GFP mice. *Cell Death Dis*, 5:e1311.

Allain P (2006). Les médicaments, 3ème édition, magnésium – effets. [www.pharmacorama.com/Rubriques/Output/Magnesium-3.php](http://www.pharmacorama.com/Rubriques/Output/Magnesium-3.php) consulté le 19/04/2016

Altman D, Carroli G, Duley L, Farrell B, Moodley J, Neilson J, Smith D; Magpie Trial Collaboration Group (2002). Do women with pre-eclampsia, and their babies, benefit from magnesium sulphate? The Magpie Trial: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, 359(9321):1877-90.

Ancel PY, Saurel-Cubizolles MJ, Di Renzo GC, Papiernik E, Bréart G (1999). Very and moderate preterm births: are the risk factors different? *Br J Obstet Gynaecol*, 106(11):1162-70.

Ancel PY, Goffinet F, EPIPAGE writing group (2015). Survival and morbidity of preterm children born at 22 through 34 weeks' gestation in France in 2011: results of the EPIPAGE-2 cohort study. *JAMA Pediatr*, 169(3):230-8.

Bacci A, Sancini G, Verderio C, Armano S, Pravettoni E, Fesce R, Franceschetti S, Matteoli M (2002). Block of Glutamate-Glutamine Cycle Between Astrocytes and Neurons Inhibits Epileptiform Activity in Hippocampus. *Journal of Neurophysiology*, vol. 88 no. 5, 2302-2310.

Bak LK, Schousboe A, Waagepetersen HS (2006). The glutamate/GABA-glutamine cycle: aspects of transport, neurotransmitter homeostasis and ammonia transfer. *J Neurochem*, 98(3):641-53.

Belousov AB, Fontes JD (2016). Role of neuronal gap junctions in NMDA receptor-mediated excitotoxicity and ischemic neuronal death. *Neural Regen Res*, 11(1):75-6.

Ben-Ari Y, Cossart R (2000), Kainate, a double agent that generates seizures: two decades of progress. *Trends Neurosci*, 23(11):580-7.

Bennett JA, Dingledine R (1995). Topology profile for a glutamate receptor: three transmembrane domains and a channel-lining reentrant membrane loop. *Neuron*, 14(2):373-84.

Bennett MR (2000), The concept of long term potentiation of transmission at synapses. *Prog Neurobiol*, 60(2):109-37.

Bouderlique C , Debillon T , Kouyoumdjian S , Joseph MG , Champion G , Limal JM (1990). Severe manifestations of non-poliomyelitic enterovirus infections in newborn infants. *Pediatric*, 45(12):883-7.

Bureau I, Mulle C. (1998). Potentiation of GABAergic synaptic transmission by AMPA receptors in mouse cerebellar stellate cells: changes during development. *J Physiol*, 509 ( Pt 3):817-31.

Bygrave AM, Masiulis S, Nicholson E, Berkemann M, Barkus C, Sprengel R, Harrison PJ, Kullmann DM, Bannerman DM, Kätzel D (2016). Knockout of NMDA-receptors from parvalbumin interneurons sensitizes to schizophrenia-related deficits induced by MK-801. *Transl Psychiatry*., 6:e778.

Canal NM, Gourevitch R, Sandner G (2001). Non-monotonic dependency of PPI on temporal parameters: differential alteration by ketamine and MK-801 as opposed to apomorphine and DOI. *Psychopharmacology (Berl)*, 156(2-3):169-76.

Chiapponi C, Piras F, Piras F, Caltagirone C, Spalletta G (2016). GABA System in Schizophrenia and Mood Disorders: A Mini Review on Third-Generation Imaging Studies. *Front Psychiatry*, 7:61.

Chu PS, Ma WK, Wong SC, Chu RW, Cheng CH, Wong S, Tse JM, Lau FL, Yiu MK, Man CW. (2008). The destruction of the lower urinary tract by ketamine abuse: a new syndrome? *BJU Int*, 102(11):1616-22.

Claris O , Lapillonne A (2006) .Conséquences pédiatriques de l'hypotrophie.  
[www.lesjta.com/article.php?ar\\_id=1165](http://www.lesjta.com/article.php?ar_id=1165) consulté le 19/04/2016.

Couper J (2002). Prevalence of childhood disability in rural KwaZulu-Natal. *South African Medical Journal*, 92:549-52.

Coyle CM., Laws KR (2015). The use of ketamine as an antidepressant: a systematic review and meta-analysis, *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*. Volume 30, Issue 3, pages 152–163.

Dela Peña I, Gevorkiana R, Shi WX (2015). Psychostimulants affect dopamine transmission through both dopamine transporter-dependent and independent mechanisms. *Eur J Pharmacol*, 764:562-70.

Delorme P, Goffinet F, Ancel PY, Foix-L'Hélias L, Langer B, Lebeaux C, Marchand LM, Zeitlin J, Ego A, Arnaud C, Vayssiere C, Lorthe E, Durrmeyer X, Sentilhes L, Subtil D, Debillon T, Winer N, Kaminski M, D'Ercole C, Dreyfus M, Carbonne B, Kayem G, ( 2016), Cause of Preterm Birth as a Prognostic Factor for Mortality. *Obstet Gynecol*, 127(1):40-8.

Deplanque D, Bordet R (2006). Physiopathologie de l'ischémie cérébrale : de la pathologie des vaisseaux aux mécanismes cellulaires.  
[www.attaquerebrale.org/ADOC/pdf/DossierPhysiopathIschemieCerebrale1.pdf](http://www.attaquerebrale.org/ADOC/pdf/DossierPhysiopathIschemieCerebrale1.pdf) consulté le 19/04/2016.

Dickinson H, Bain E, Wilkinson D, Middleton P, Crowther CA, Walker DW (2014), La créatine pour les femmes pendant la grossesse pour la neuroprotection du fœtus.

[www.cochrane.org/fr/CD010846/la-creatine-pour-les-femmes-pendant-la-grossesse-pour-la-neuroprotection-du-foetus](http://www.cochrane.org/fr/CD010846/la-creatine-pour-les-femmes-pendant-la-grossesse-pour-la-neuroprotection-du-foetus) consulté le 19/04/2016.

Di Polo A et Levin LA (2007). Strategies for prevention of neural injury in glaucoma. Levin LA WR, Weinreb RN, Di Polo A, editors. A Pocket Guide of neuroprotection in Glaucoma. New York: Ethis Communications, pp.36.

Doyle LW, Crowther CA, Middleton P, Marret S (2009). Antenatal magnesium sulfate and neurologic outcome in preterm infants: a systematic review. *Obstet Gynecol*, 113(6):1327-33.

Doyle LW, Crowther CA, Middleton P, Marret S (2007). Magnesium sulphate for women at risk of preterm birth for neuroprotection of the fetus. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Issue 3. Art. No.:CD004661.

Dysken MW, Sano M, Asthana S, Vertrees JE, Pallaki M, Llorente M, Love S, Schellenberg GD, McCarten JR, Malphurs J, Prieto S, Chen P, Loreck DJ, Trapp G, Bakshi RS, Mintzer JE, Heidebrink JL, Vidal-Cardona A, Arroyo LM, Cruz AR, Zachariah S, Kowall NW, Chopra MP, Craft S, Thielke S, Turvey CL, Woodman C, Monnell KA, Gordon K, Tomaska J, Segal Y, Peduzzi PN, Guarino PD (2014). Effect of vitamin E and memantine on functional decline in Alzheimer disease: the TEAM-AD VA cooperative randomized trial. *JAMA*, 311(1):33-44.

El Arfani A, Bentea E, Aourz N, Ampe B, De Deurwaerdère P, Van Eeckhaut A, Massie A, Sarre S, Smolders I, Michotte Y (2014). NMDA receptor antagonism potentiates the L-DOPA-induced extracellular dopamine release in the subthalamic nucleus of hemi-parkinson rats. *Neuropharmacology*, 85:198-205.

Fayol L (2012), Réseau Périnatal-Sud, Protocole Pédiatrique PROT-PED N°19, Anoxie périnatale.

[www.reseauerperinatmed.fr/download/PACA\\_OUEST\\_PEDIATRIQUES/PROT-PED%20N%C2%B019%20ANOXIE%20PERINATALE%20V2.pdf](http://www.reseauerperinatmed.fr/download/PACA_OUEST_PEDIATRIQUES/PROT-PED%20N%C2%B019%20ANOXIE%20PERINATALE%20V2.pdf) consulté le 19/04/2016.

Fredriksson A, Archer T (2003).

Hyperactivity following postnatal NMDA antagonist treatment: reversal by D-amphetamine. *Neurotox Res*, 5(7):549-64.

Fusar-Poli P, Howes OD, Allen P, Broome M, Valli I, Asselin MC, Montgomery AJ, Grasby PM, McGuire P (2011). Abnormal prefrontal activation directly related to pre-synaptic striatal dopamine dysfunction in people at clinical high risk for psychosis. *Mol Psychiatry*, 16(1):67-75.

Gorter JA, de Bruin JP (1992). Chronic neonatal MK-801 treatment results in an impairment of spatial learning in the adult rat. *Brain Res*, 580(1-2):12-7.

Gorter JA, Botterblom MH, Feenstra MG, Boer GJ (1992). Chronic neonatal NMDA receptor blockade with MK-801 alters monoamine metabolism in the adult rat. *Neurosci Lett*, 137(1):97-100.

Gotlib D, Perelstein E, Kurlander J, Zivin K, Riba M, Muzik M (2016). Guideline adherence for mentally ill reproductive-aged women on treatment with valproic acid: a retrospective chart review. *J Clin Psychiatry*, 77(4):527-34.

Hardingham GE, Do KQ (2016). Linking early-life NMDAR hypofunction and oxidative stress in schizophrenia. *Nat Rev Neurosci*, 17(2):125-134.

Ho JJ, Amar HS, Mohan AJ, Hon TH (1999). Neurodevelopmental outcome of very low birth weight babies admitted to a Malaysian nursery. *J Paediatr Child Health*, 35(2):175-80.

Huang CY, Wang LC, Wang HK, Pan CH, Cheng YY, Shan YS, Chio CC, Tsai KJ (2015). Memantine alleviates brain injury and neurobehavioral deficits after experimental subarachnoid hemorrhage. *Mol Neurobiol*, 51(3):1038-52.

Inserm (2004). Déficiences et handicaps d'origine périnatale : Dépistage et prise en charge, (Coll. Expertise collective).

Inserm (2013). Rapport européen sur la santé périnatale, CP Euro-peristat.

Inserm (2015). La survie des enfants grands prématurés en France s'améliore : premiers résultats de l'étude EPIPAGE 2.

<http://presse.inserm.fr/la-survie-des-enfants-grands-prematures-en-france-samelioire-premiers-resultats-de-letude-epipage-2/17643/> consulté le 12/05/2016

Jaspard E, Glevarec G, Bouton S, Riou MT, Cliquet JB, Suzuki A, Limami AM (2004). Respective roles of the glutamine synthetase/glutamate synthase cycle and glutamate dehydrogenase in ammonium and amino acid metabolism during germination and post-germinative growth in the model legume *Medicago truncatula*. *Planta*, 219(2):286-97.

Jégou S, El Ghazi F, de Lendeu PK, Marret S, Laudénbach V, Uguen A, Marcorelles P, Roy V, Laquerrière A, Gonzalez BJ (2012). Prenatal alcohol exposure affects vasculature development in the neonatal brain. *Ann Neurol*, 72(6):952-60.

Kotermanski SE, Wood JT, Johnson JW. (2009). Memantine binding to a superficial site on NMDA receptors contributes to partial trapping. *J Physiol*, 587(Pt 19):4589-604.

Lamy S, Laqueille X, Thibaut F (2015). Consequences of tobacco, cocaine and cannabis consumption during pregnancy on the pregnancy itself, on the newborn and on child development: A review. *Encephale*, 41 Suppl 1:S13-20.

Lapillonne A (2006). Influence des choix obstétricaux sur la détresse respiratoire du nouveau-né à terme et proche du terme.

[www.lesjta.com/article.php?ar\\_id=1160](http://www.lesjta.com/article.php?ar_id=1160) consulté le 19/04/2016.

Lecointre M, Vézier C, Bénard M, Ramdani Y, Dupré N, Brasse-Lagnel C, Henry VJ, Roy V, Marret S, Gonzalez BJ, Jégou S, Leroux-Nicollet I (2015). Age-dependent alterations of the NMDA receptor developmental profile and adult behavior in postnatally ketamine-treated mice. *Dev Neurobiol*, 75(3):315-33.

Liu Y, Tang Y, Pu W, Zhang X, Zhao J (2011). Concentration change of DA, DOPAC, Glu and GABA in brain tissues in schizophrenia developmental model rats induced by MK-801. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 36(8):712-9.

Lucet JC (2015), Inserm, Infections nosocomiales.

[www.inserm.fr/thematiques/immunologie-inflammation-infectiologie-et-microbiologie/dossiers-d-information/infections-nosocomiales](http://www.inserm.fr/thematiques/immunologie-inflammation-infectiologie-et-microbiologie/dossiers-d-information/infections-nosocomiales) consulté le 19/04/2016.

Manning SM, Boll G, Fitzgerald E, Selip DB, Volpe JJ, Jensen FE (2011). The clinically available NMDA receptor antagonist, memantine, exhibits relative safety in the developing rat brain. *Int J Dev Neurosci*, 29(7):767-73.

Mao FX, Li WJ, Chen HJ, Qian LH, Buzby JS (2012). Periventricular leukomalacia long-term prognosis may be improved by treatment with UDP-glucose, GDNF, and memantine in neonatal rats. *Brain Res*, 1486:112-20.

Marimbert J (2009), directeur général de l'Afssaps (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé). Lettres aux professionnels de santé Pharmacovigilance Rappel sur la contre-indication de s AINS à partir du début du 6<sup>ème</sup> mois de la grossesse, quelle que soit la voie d'administration.

<file:///C:/Users/marie/Downloads/lp-090227-grossesse-ains.pdf> consulté le 12/05/2016.

Marret S, Mukendi R, Gadisseux JF, Gressens P, Evrard P (1995). Effect of ibotenate on brain development: an excitotoxic mouse model of microgyria and posthypoxic-like lesions. *J Neuropathol Exp Neurol*, 54 (3): 358-70.

Marret S (2003). Physiopathology of periventricular leukomalacia. *Rev Med Brux*, 24(5):416-9.

Marret S, Foix-L'hélias L, Ancel PY, Kaminski M, Larroque B, Marcou-Labarre A, Laudénbach V (2008). Is it possible to protect the preterm infant brain and to decrease later neurodevelopmental disabilities?. *Arch Pediatr*, 15 Suppl 1:S31-41.

McCarthy M et Arnold A (2011). Reframing sexual differentiation of the brain. *Nat Neurosci*, 14(6): 677–683.

Mion G , Chani M , Diraison Y (2006). Pharmacologie des récepteurs NMDA.

[georgesmion.com/files/MP\\_PHARMACOLOGIE...%20P.5-18.pdf](http://georgesmion.com/files/MP_PHARMACOLOGIE...%20P.5-18.pdf) consulté le 19/04/2016.

Niel X (2007). Les facteurs explicatifs de la mortalité infantile en France et leur évolution récente. L'apport de l'échantillon démographique permanent.

[www.insee.fr/fr/publications-et-services/docs\\_doc\\_travail/F1106.pdf](http://www.insee.fr/fr/publications-et-services/docs_doc_travail/F1106.pdf) consulté le 19/04/2016.

Ochoa S, Usall J, Cobo J, Labad X, Kulkarni J (2012). Gender differences in schizophrenia and first-episode psychosis: a comprehensive literature review. *Schizophr Res Treatment*, 2012:916198.

Ogrodniczuk JS, Oliffe JL (2011). Les hommes et la dépression. *Can Fam Physician*, 57(2): e39–e41.

Paoletti P, Bellone C, Zhou Q (2013). NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nat Rev Neurosci*,14(6):383-400.

Papouin T, Ladépêche L, Ruel J, Sacchi S, Labasque M, Hanini M, Groc L, Pollegioni L, Mothet JP, Oliet SH (2012). Synaptic and extrasynaptic NMDA receptors are gated by different endogenous coagonists. *Cell*,150(3):633-46.

Parsons CG, Gilling K. (2007). Memantine as an example of a fast, voltage-dependent, open channel N-methyl-D-aspartate receptor blocker. *Methods Mol Biol*, 403:15-36.

Peters JA , Peineau S , Collingridge GL , Wenthold RJ (2015). Ionotropic glutamate receptors , IUPHAR.

[www.guidetopharmacology.org/GRAC/FamilyDisplayForward?familyId=75](http://www.guidetopharmacology.org/GRAC/FamilyDisplayForward?familyId=75) consulté le 19/04/2016.

PremUp fondation (2013). Grossesses pathologiques et retard de croissance intra-utérin: enjeux majeurs de santé publique.

[www.premup.org/media/documents/presse/DPConfMDBB-SN-2013.pdf](http://www.premup.org/media/documents/presse/DPConfMDBB-SN-2013.pdf) consulté le 19/04/2016.

Raas Q (2015). Effet de la mémantine dans un modèle murin de lésion de la substance blanche. Master 2 Recherche Sciences Biomédicales, Physiopathologie des Grands Systèmes, université de Rouen, 17 pages.

Robertson CM , Perlman M (2006). Follow-up of the term infant after hypoxic-ischemic encephalopathy. *Paediatr Child Health*, 11(5):278-82.

Rompala GR, Zsiros V, Zhang S, Kolata SM, Nakazawa K (2013). Contribution of NMDA receptor hypofunction in prefrontal and cortical excitatory neurons to schizophrenia-like phenotypes. *PLoS One*, 8(4):e61278.

Sarnat HB et Sarnat MS (1976). Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. *Arch Neurol*, 33 (10): 696–705.

Semple B, Blomgren K, Gimlin K, Ferriero D, Noble-Haeusslein L (2013). Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. *Prog Neurobiol*, 0: 1–16.

Song I., Huganir RL. (2002). Regulation of AMPA receptors during synaptic plasticity. *Trends Neurosci*, 25(11):578-88.

Thompson CM, Puterman AS, Linley LL, Hann FM, van der Elst CW, Molteno CD, Malan AF (1997). The value of a scoring system for hypoxic ischaemic encephalopathy in predicting neurodevelopmental outcome. *Acta Paediatr*, 86 (7): 757–61.

Tovar KR., Westbrook GL. (2002). Mobile NMDA receptors at hippocampal synapses. *Neuron*, 34(2):255-64.

Vojtechova I, Petrasek T, Hatalova H, Pistikova A, Vales K, Stuchlik A (2016). Dizocilpine (MK-801) impairs learning in the active place avoidance task but has no effect on the performance during task/context alternation. *Behav Brain Res*, 305:247-57.

Wan LB, Levitch CF, Perez AM, Brallier JW, Iosifescu DV, Chang LC, Foulkes A, Mathew SJ, Charney DS, Murrough JW. (2015). Ketamine safety and tolerability in clinical trials for treatment-resistant depression. *J Clin Psychiatry*, 76(3):247-52.

Whyte H. (2009), aboutkidshealth, hémorragies intraventriculaires.

[www.aboutkidshealth.ca/fr/resourcecentres/prematurebabies/aboutprematurebabies/brainandbehaviour/pages/intraventricular-hemorrhage-ivh.aspx](http://www.aboutkidshealth.ca/fr/resourcecentres/prematurebabies/aboutprematurebabies/brainandbehaviour/pages/intraventricular-hemorrhage-ivh.aspx) consulté le 19/04/2016

Woodcock EA, Wadehra S, Diwadkar VA (2016). Network Profiles of the Dorsal Anterior Cingulate and Dorsal Prefrontal Cortex in Schizophrenia During Hippocampal-Based Associative Memory. *Front Syst Neurosci*, 10:32.

## SERMENT DE GALIEN

Je jure d'honorer ceux qui m'ont instruit dans Les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer dans l'intérêt de la Santé publique ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'Honneur, de la Probité et du Désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma Profession.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois méprisé de mes confrères si je manque à mes engagements.

**MORDELET Marie**

**Impact d'un traitement néonatal par différents antagonistes des récepteurs NMDA et du magnésium sur le comportement et sur les taux cérébraux des neurotransmetteurs chez la souris adulte**

Rouen, 26 mai 2016, 119 p.

**RESUME**

De nombreux enfants naissent chaque année avec un handicap ou en développent dans les années suivant leur naissance. Ce handicap est souvent lié à l'apparition de lésions cérébrales, les plus fréquentes étant les lésions de la substance blanche. Différents facteurs sont en cause, comme les hémorragies, l'hypoxo-ischémie, les infections, les agents toxiques et surtout la prématurité de l'enfant. La naissance avant terme peut en effet provoquer des risques à court terme, et des risques à long terme pouvant entraîner des difficultés tout au long de la vie. L'excitotoxicité est un des mécanismes responsable de troubles moteurs ou comportementaux, et est associée à une libération massive de glutamate. Les antagonistes des récepteurs glutamatergiques de type NMDA pourraient donc être utilisés comme agents neuroprotecteurs. Le MK-801 et la kétamine ont montré néanmoins des effets délétères à court terme et leur administration chronique chez le rongeur nouveau-né constitue un modèle de schizophrénie à l'âge adulte. La mémantine, médicament de la maladie d'Alzheimer, et le magnésium, déjà utilisé comme agent neuroprotecteur chez les mères en menace d'accouchement prématuré, ont la particularité de bloquer les récepteurs NMDA, comme les deux agents précédents, mais de manière voltage-dépendante, limitant ainsi les effets excitotoxiques du glutamate sans abolir ses effets physiologiques. Il faut donc évaluer leur toxicité, pour vérifier qu'ils ne produisent pas d'effets néfastes à long terme.

Le but de notre étude était de comparer les effets de ces quatre antagonistes. Nous avons donc injecté une dose unique à des souriceaux, à 5 jours, un de ces antagonistes glutamatergiques; en effet ce stade de développement cérébral chez le souriceau correspond à celui du fœtus humain après 30 SA et donc à celui d'un enfant prématuré. Les souris, à l'âge adulte, ont ensuite subi trois tests comportementaux : l'activité locomotrice, la roue d'activité et le test de suspension par la queue. Puis nous avons dosé les neurotransmetteurs dans différentes structures cérébrales par HPLC. Nos résultats montrent des effets modestes du magnésium et de la mémantine sur le comportement : une baisse de la distance parcourue par les femelles dans un openfield et une augmentation de la distance parcourue par les mâles dans la roue d'activité. La mémantine augmentait aussi la résignation des souris femelles dans le test de suspension par la queue. Mais l'administration des antagonistes modifiait surtout le taux de certains neurotransmetteurs dans le cerveau des souris, et supprimait notamment les différences entre sexes concernant les monoamines dans le cortex pariétal et le striatum et réduisait les index glutamatergiques dans le cortex frontal et le striatum. D'autres tests comportementaux, évaluant d'autres paramètres tels que les symptômes de la schizophrénie, et des études plus approfondies comme la microdialyse, sont donc nécessaires pour confirmer et compléter nos données. Les effets observés permettent d'émettre l'hypothèse que ces agents pourraient interférer avec la différenciation sexuelle chez les souris.

**MOTS CLES :** Handicap - Neuroprotection – Prématurité – Glutamate – Excitotoxicité

**JURY :**

Président : Mr Jean-Marie VAUGEOIS, Professeur

Membres : Mr Philippe LEROUX, Chargé de recherche à l'Inserm

Mme Nathalie DOURMAP, Maître de conférences

Mr Philippe LEMOINE, Docteur en pharmacie