Institutional Repository - Research Portal
Dépôt Institutionnel - Portail de la Recherche
researchportal.unamur.be
University of Namur

THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Étude chronopharmacologique chez le rat Wistar. Influence du moment d'administration sur l'activité générale et la résistance au stress

Derreumaux, Dominique

Award date:
1987

Awarding institution:
Universite de Namur

Link to publication

General rights
Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy
If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Download date: 02. May. 2026

FACULTÉS UNIVERSITAIRES N.D.DE LA PAIX
NAMUR
FACULTÉ DES SCIENCES

ETUDE
C H R O N O P H A R M A C O L O G I Q U E
CHEZ LE RAT WISTAR.

INFLUENCE DU MOMENT D'ADMINISTRATION SUR L'ACTIVITE GENERALE ET LA RESISTANCE AU STRESS.

Mémoire présenté pour l'obtention du grade de Licencié en Sciences biologiques par

DERREUMAUX
Dominique 1986-1987

Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix
Faculté des Sciences
Rue de Bruxelles, 61 - B - 5000 NAMUR
Tél. : 081 / 22 90 61

Etude chronopharmacologique chez le rat Wistar.
Influence du moment d'administration sur l'activité générale et la résistance au stress.

DERREUMAUX Dominique

Résumé.

La chronopharmacologie étudie, d'une part, les effets des agents pharmacologiques sur les biopériodicités endogènes de l'organisme et, d'autre part, les variations des effets d'un médicament en fonction de son moment d'administration.
Dans ce cadre, nous avons administré à des rats Wistar un neuroleptique, la clozapine, à trois moments différents de la nuit et étudié ses effets sur l'activité motrice générale du rat et sur sa résistance au stress, en comparant les trois moments d'administration. Les résultats tendent à prouver l'existence de variations circadiennes au niveau de la durée d'action de la clozapine et une influence du moment sur la réponse de stress consécutive à l'envoi d'un stimulus auditif aversif.

Abstract.

Chronopharmacology is concerned with, on the one hand, the effects of pharmacological agents on the organism's endogenous bioperiodicities and, on the second hand, the effects variation of a drug as a function of its administration time.
In this scope, we administer a neuroleptic, clozapine, to Wistar rats at three different periods in the night and we study the effects of the drug on general motor activity and on stress resistance, by comparing the three administration moments. The results tempt to prove the existence of circadian variations of clozapine effects duration and the influence of time on stress response, resulting from the presentation of an auditory stimulus.

Mémoire de licence en Sciences Biologiques
Septembre 1987
Laboratoire de Psychologie expérimentale
Promoteur : Prof. M. MERCIER

Au terme de ce travail, je tiens à remercier

- Monsieur MERCIER pour son accueil au département de Psychologie expérimentale ainsi que pour ses conseils et encouragements qui ont soutenu ma recherche
- Messieurs Jean-Pierre PETERS et Vincent MINEUR qui, par leur constante disponibilité, m'ont considérablement aidée dans le recueil informatique des données
- Monsieur Jacques BRUHWYLER et Madame Dominique de THIER qui m'ont beaucoup aidée dans mes expériences et dans ma rédaction.

Mes remerciements vont également à tous les membres du département, et spécialement à Guy et Raymond, pour leur aide amicale et souvent précieuse.

Je remercie également Monsieur DEPIEREUX pour son concours dans le traitement statistique des données et Monsieur DE SCHRIJVER pour son cours de neurophysiologie.

Je tiens aussi à remercier tous mes professeurs de biologie pour les cours qu'ils m'ont enseignés durant ces quatre années.

Je remercie enfin et surtout mes parents, ma soeur et mes ami(e)s pour leurs encouragements et leurs aides multiples.

TABLE DES MATIERES.

INTRODUCTION. 1

PREMIERE PARTIE : EXPOSE THEORIQUE.

- Chapitre I CHRONOBIOLOGIE. 4

I. Rythmes biologiques et chronobiologie. 4

I.1 Définition des rythmes biologiques. 7

I.2 Classification.

I.3 Caractéristiques.

1) Origine endogène

a) A propos des horloges biologiques 9

1°) propriétés 10

2°) mécanisme de fonctionnement

3°) localisation 11

b) Bases physiologiques de la rythmicité circadienne 12

2) Contrôle exogène. 14

3) Ontogenèse des rythmes circadiens.

4) Signification adaptative. 16

II. Importance de la chronobiologie et ses applications. 17.

- Chapitre II : CHRONOPHARMACOLOGIE. 20

I. Double interférence des médicaments et des rythmes biologiques -concepts chronopharmacologiques.

I.1 Effets des médicaments sur les rythmes biologiques.

I.2 Influence du temps biologique sur l'action d'un médicament. 21.

a) effets quantitatifs :

1) chronopharmacocinétique

2) chronesthésie 24

3) chronergie 25

b) effets qualitatifs. 26

II. Applications cliniques : de la chronopharmacologie à la chronothérapeutique. 27

II.1 Chimiothérapie anticancéreuse. 28

II.2 Chronothérapie des corticostéroïdes. 31

II.3 Psychotropes et chronopharmacologie. 32

Conclusion. 35

- Chapitre III : LA CLOZAPINE. 36

I. Les neuroleptiques classiques.

I.1 Définition.

I.2 Effets sur le comportement.

I.3 Mécanisme d'action. 37

I.4 Indications thérapeutiques. 38

I.5 Effets secondaires et toxiques. 40

II. Les neuroleptiques atypiques - La clozapine. 41

II.1 Propriétés pharmacologiques.

II.2 Propriétés comportementales. 42

II.3 Effets secondaires propres à la clozapine.

II.4 Conclusion : Intérêt de l'utilisation de la clozapine. 43

- Chapitre IV : HABITUATION AU STRESS. 44

I. Le stress.

I.1 Définition du stress.

I.2 Variation de la réponse de stress. 45

I.3 Conséquences physiologiques, neurophysiologiques et comportementales. 47

II. Habituation au stress. 49

II.1 Définition et propriétés.

II.2 Processus impliqués dans l'habituation. 50

a) théories centrales. 51

b) théories passives. 52

c) Conclusion.

II.3 Ontogenèse de l'habituation. 54

II.4 Variation de l'habituation. 55

Hypothèses de travail. 57

DEUXIEME PARTIE : EXPERIENCE.

- Chapitre V : MATERIEL ET METHODES. 60

I. Sujets d'expérience. 60
II. Produit testé. 61
III. Plateau capteur de vibrations. 62
IV. Procéoure. 63
IV.1 Conditions d'élevage. 63
IV.2 Test. 64
IV.3 Stimulus. 67
IV.4 Groupes expérimentaux. 68
IV.5 Protocole expérimental. 69
V. Traitements statistiques. 71

- Chapitre VI : RESULTATS. 72

I. Activité générale. 74
I.1 Effet de la clozapine sur l'activité générale. 75
1) Si l'administration a eu lieu à 19h. 78
2) Si l'administration a eu lieu à 23h. 79
3) Si l'administration a eu lieu à 3h. 80
SYNTHESE - Conclusion. 82
I.2 Impact du moment d'administration sur l'action de la clozapine. 82
1) Comparaison entre moments d'administration des rats traités et non traités. 83
2) Comparaison des groupes traités. 85
3) Comparaison des groupes non traités. 91
I.3 Discussion.
II. Habituation au stress.
II.1 Effets de la clozapine sur l'habituation au stress.
A) Effets de la clozapine sur la réponse de stress initiale.
B) Effets de la clozapine sur l'habituation au stress. 92
C) Etude complémentaire. 94

II.2 Influence du moment d'administration et/ou du moment de l'expérience. 95

A) Influence du moment sur la réponse de stress initiale.

B) Influence du moment sur l'habituation. 96

II.3 Etudes complémentaires. 98

A) Effet de la clozapine sur l'activité générale des rats après expérience de stress. 100

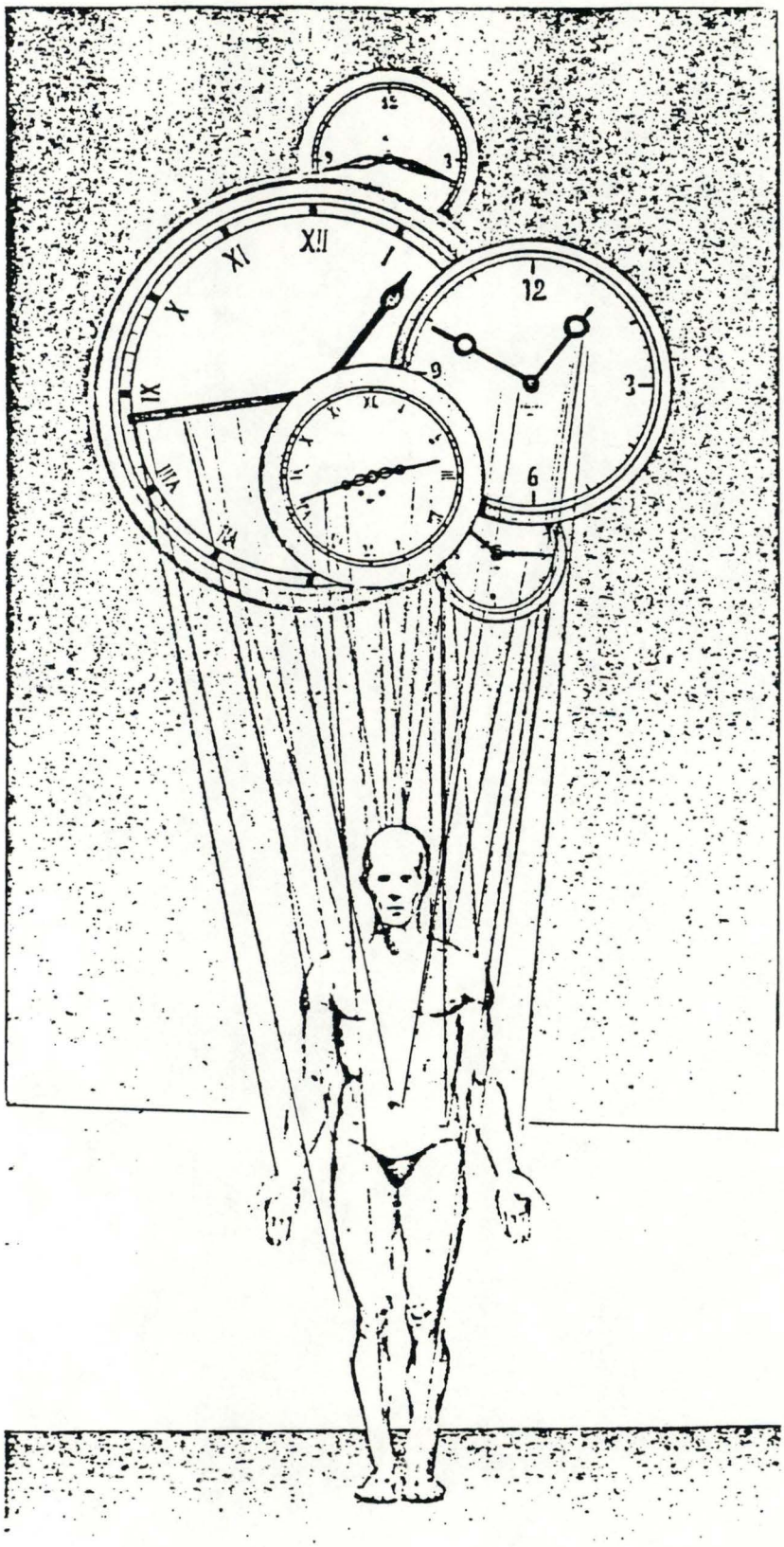
B) Variation de ces effets selon le moment de lancement de l'expérience de stress.

C) Effet de la piqûre. 101

II.4 Discussion. 102

106

CONCLUSIONS.


XII
XI
X
IX
12
9
3
6

INTRODUCTION.

Tous les phénomènes biologiques, des plus simples aux plus complexes, s'inscrivent dans l'écoulement du temps, dans la durée, telle, par exemple, la longévité.

Pendant ce laps de temps, de nombreuses manifestations physiologiques s'expriment selon une période définissant un rythme plus ou moins régulier, variant selon l'environnement physique extérieur. Les rythmes sont liés à des références temporelles fixes et astronomiques. Ils sont dits circadiens s'ils se reproduisent en relation avec la succession des heures du jour et de la nuit, réglée par la rotation de la terre sur son axe.

D'autres références astronomiques existent, notamment le parcours de la terre sur son orbite elliptique autour du soleil qui entraîne la succession des saisons.

L'organisation temporelle des êtres vivants est, depuis les années soixante, prise en considération en pharmacologie, ce qui a donné naissance à un nouveau courant scientifique : la chronopharmacologie.

Elle a pris son essor lorsque l'on a constaté que les médicaments et les agents toxiques n'agissent pas avec la même vigueur suivant le moment de leur administration.

Pareille constatation remet en question l'ensemble de la stratégie classique appliquée dans le domaine thérapeutique : jusqu'à présent, on cherchait à assurer une concentration constante de la substance absorbée en prescrivant les prises de médicaments à intervalles réguliers.

Des études chronopharmacologiques ont été menées et, sur base des découvertes, plusieurs traitements ont été refaçonnés dont, par exemple, la corticothérapie.

D'autres thérapeutiques sont actuellement déjà fort influencées par la chronopharmacologie, comme l'allergologie,

la rhumatologie, l'endocrinologie, la cancérologie et la psychiatrie.

Notre intérêt s'est particulièrement porté sur la psychiatrie; nous avons décidé d'étudier l'aspect chronopharmacologique d'un neuroleptique : la clozapine.

Les neuroleptiques, des anti-psychotiques, sont très employés pour soigner des maladies comme la schizophrénie et les paranoïas.

La clozapine, produit encore à l'étude actuellement, a été choisie parce qu'elle semble dépourvue de certains effets secondaires très néfastes, rencontrés chez les neuroleptiques courants et limitant leur utilisation.

Notre étude vise donc à déterminer les effets chronopharmacologiques de la clozapine :
La clozapine, outre son pouvoir antipsychotique, a des effets sédatifs, utiles pour traiter l'anxiété, l'agitation, inhérentes aux psychoses; c'est cet effet sédatif qui est étudié d'un point de vue chronopharmacologique.
L'hypothèse est la suivante : l'état d'éveil variant selon un rythme circadien de 24h., on peut dès lors supposer que l'effet sédatif sur l'état de veille variera aussi de manière rythmique.

Pour appréhender les éventuels effets chronopharmacologiques de la clozapine, nous avons mené chez le rat l'étude de deux processus comportementaux :
l'activité générale a été envisagée en premier lieu; ensuite, un autre processus a été considéré : l'habituation au stress. Ce terme désigne le déclin manifeste d'une réponse, suscité par la réitération du stimulus déclencheur stressant.

Nous avons choisi la réponse de sursaut provoquée par un stimulus de forte intensité.

L'étude de ce comportement particulier est justifiée par le fait que la clozapine diminue l'anxiété et l'agitation. Ces états représentent chacun une des manifestations du stress; l'expérience de stress est donc appropriée pour tester des effets comportementaux importants de la clozapine.

On peut donc formuler l'hypothèse que la clozapine va atténuer l'amplitude de la réponse de sursaut ainsi que faciliter l'habituation.

Dans notre partie théorique, nous passerons en revue la littérature concernant :

- la chronobiologie : y seront envisagées les données actuelles théoriques ainsi que les applications pratiques de cette discipline.
- la chronopharmacologie vue sous ce même angle.
- la clozapine : nous comparerons ses effets pharmacologiques comportementaux et toxiques à ceux des neuroleptiques classiques.
- l'habituation au stress : y sera définie la réponse de stress et y seront décrits les processus sous-jacents à l'habituation.

Cet exposé théorique sera enfin suivi de la partie expérimentale comprenant une description détaillée du matériel, de la méthode employée, ainsi que les résultats.

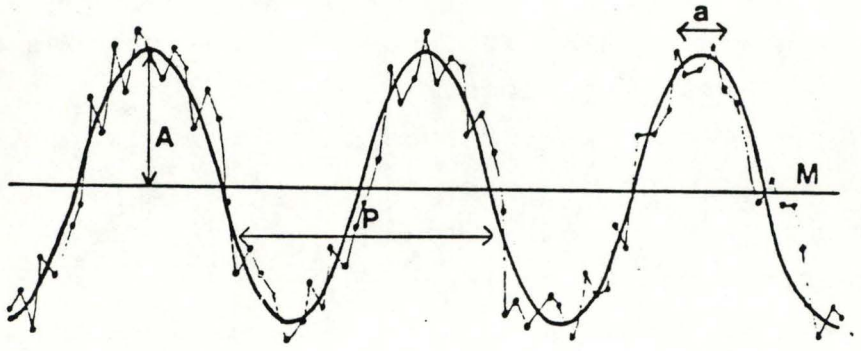


Fig. 1-1 : Etude d'un rythme biologique : les principaux paramètres.
Trait fin : valeurs du rythme étudié.
Trait gras : fonction sinusoïdale la plus proche du rythme

A = amplitude; P = période; a = acrophase; M = mésor.

(d'après MACAR, 1980).

PREMIERE PARTIE :

expose therorique

CHAPITRE I : CHRONOBIOLOGIE.

I. RYTHMES BIOLOGIQUES ET CHRONOBIOLOGIE.

I.1 Définition.

Un rythme biologique peut être défini comme une variation physiologique se produisant à intervalles réguliers, sous une forme reproductible et prévisible (REINBERG, 1985).

Les rythmes biologiques existent chez tous les êtres vivants, des unicellulaires nucléés jusqu'à l'homme, et à tous les niveaux d'organisation : organisme, organe, tissu, cellule, structures subcellulaires (REINBERG, 1982).

La chronobiologie, étude quantitative des rythmes biologiques, a probablement commencé avec Hippocrate (qui avait observé un gonflement périodique des ovaires de l'oursin lors de la pleine lune) et Aristote (il avait constaté une fluctuation périodique des symptômes des maladies chez ses patients) mais elle ne s'est réellement développée que lors de ces dernières décennies (COLEMAN R., 1986).

Ce nouveau courant scientifique s'est fixé pour but d'explorer les mécanismes de structure temporelle biologique (biochronostructure) c'est-à-dire tous les changements biologiques non aléatoires et donc prévisibles chez tous les êtres vivants, et d'en analyser les altérations physiologiques (VON MAYERSBACH J., 1974).

I.2 Classification des rythmes biologiques en fonction de leurs paramètres.

HALBERG (1969, dans LIEVENS et KNAEPEN, 1981) a assimilé les variations périodiques chez les êtres vivants à des fonctions sinusoïdales. Cette méthode d'étude, appelée le cosinor, permet de caractériser un rythme par plusieurs paramètres : (fig.1-1)

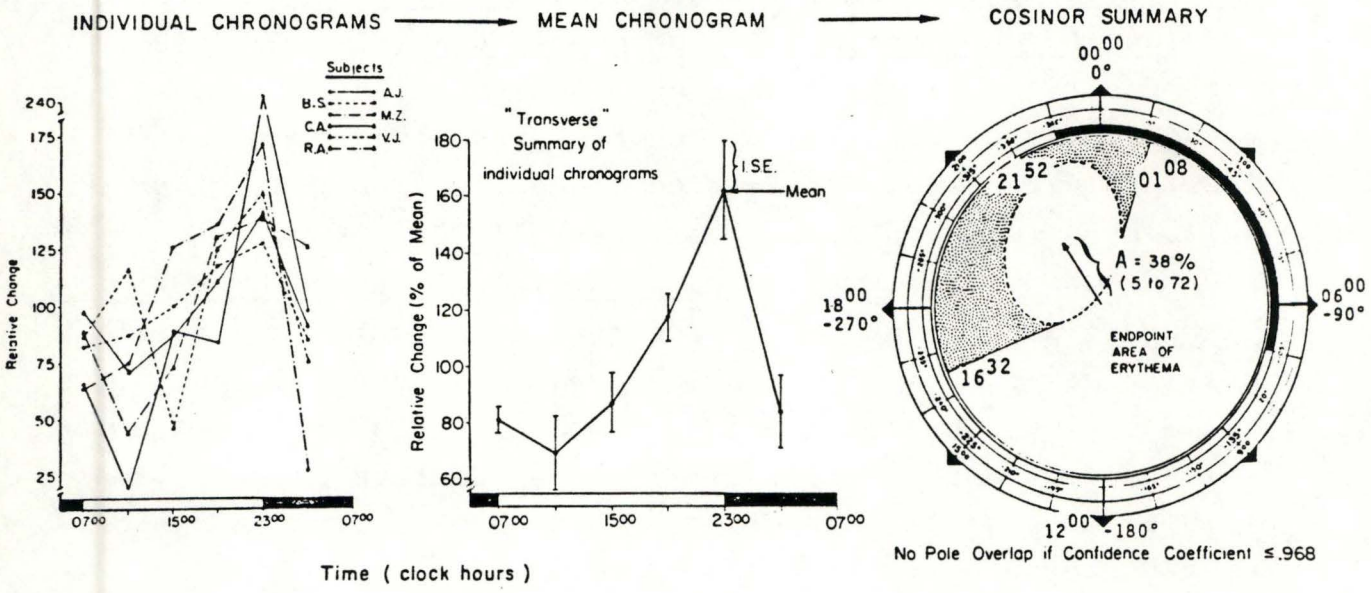


Fig. 1-2

Chronogrammes (gauche et centre) et estimation des paramètres, grâce à la méthode cosinor (droite), du rythme circadien de susceptibilité aux pussières de maison.

. la Période (P), longueur du temps entre deux répétitions successives d'une phase déterminée du rythme.
. le Mésor (M), valeur moyenne de la variable, calculée sur l'ensemble de la période du cycle.
. l'Amplitude (A), écart maximal de l'élongation par rapport au Mésor.
. l'Acrophase (ϕ), constituant le passage de la fonction sinusoïdale au point maximal.
. la Fréquence (γ), se définissant comme l'inverse de la période et représentant le nombre d'oscillations par unité de temps (MACAR, 1980; REINBERG, 1979, 1982).

Remarque :

Le chronogramme constitue l'étape préliminaire indispensable à l'établissement du cosinor et peut à lui seul suffire pour l'étude des rythmes. Le chronogramme représente les valeurs obtenues au cours du temps (par individu ou pour l'ensemble des individus). (fig.1-2)

Le principal critère de classification des rythmes biologiques est la fréquence. On distingue :

1°) les rythmes ultradiens de haute fréquence, donc de basse période (inférieure à 1/2 heure).
ex: .Le coeur humain de l'adulte au repos possède un rythme ultradien de ± 60 battements/minute.
.La respiration de l'homme présente un rythme d'une fréquence de 15 mouvements inspiratoires par minute au repos (LIEVENS et KNAEPEN, 1981).

2°) les rythmes de moyenne fréquence (période comprise entre 1/2h. et 2,5 jours), comprenant :
a. les rythmes ultradiens (période entre 1/2h. et 20h.)
ex: le sommeil paradoxal de l'homme, d'une période de 90 min.
b. les rythmes circadiens, les plus étudiés, avec une période comprise entre 20 et 28h.

c. les rythmes infradiens, d'une période supérieure à 28h., souvent synchronisés aux rythmes cosmiques ou écologiques.

3°) les rythmes infradiens, de basse fréquence, (période supérieure à 60h.) pouvant se subdiviser en :

a. rythmes circaseptidiens (P = 7 jours)

b. rythmes circalunaires (P = 28 jours)
ex. : cycle ovulatoire de la femme.

c. rythmes circamensuels (P = 30 jours)

d. rythmes circasaisonniers (P = 3 à 6 mois)
ex. : rythme de reproduction du chat.

e. rythmes circannuels (P = 1 an)
ex. : cycle annuel d'hibernation chez de nombreux mammifères.

Les rythmes circadiens se retrouvent à des niveaux fort variés :

- niveau comportemental : le rythme d'activité-repos présente une périodicité de 24h.
  Il en est de même pour le niveau de performance : un apprentissage passif d'évitement sur le rat se soldera par de meilleurs résultats s'il est réalisé pendant la phase d'obscurité (RUSAK, 1979).
  La réponse du rat à un nouvel environnement sera plus intense au début de la période d'obscurité (GENTSCH, 1982).
- niveau physiologique : la température corporelle orale et rectale de l'homme varie selon une amplitude d'environ 2°C au cours des 24h. : la température diminue pendant le sommeil; il existe donc une corrélation positive entre le cycle de température corporelle et les fluctuations quotidiennes d'alerte et de performance; c'est ainsi que l'on a pu constater que les baisses de performances de l'homme au travail et le taux d'erreur atteignaient leur paroxysme à 3h. du matin, heure où la température corporelle est minimale (VON MAYERSBACH, 1974; COLEMAN, 1986).

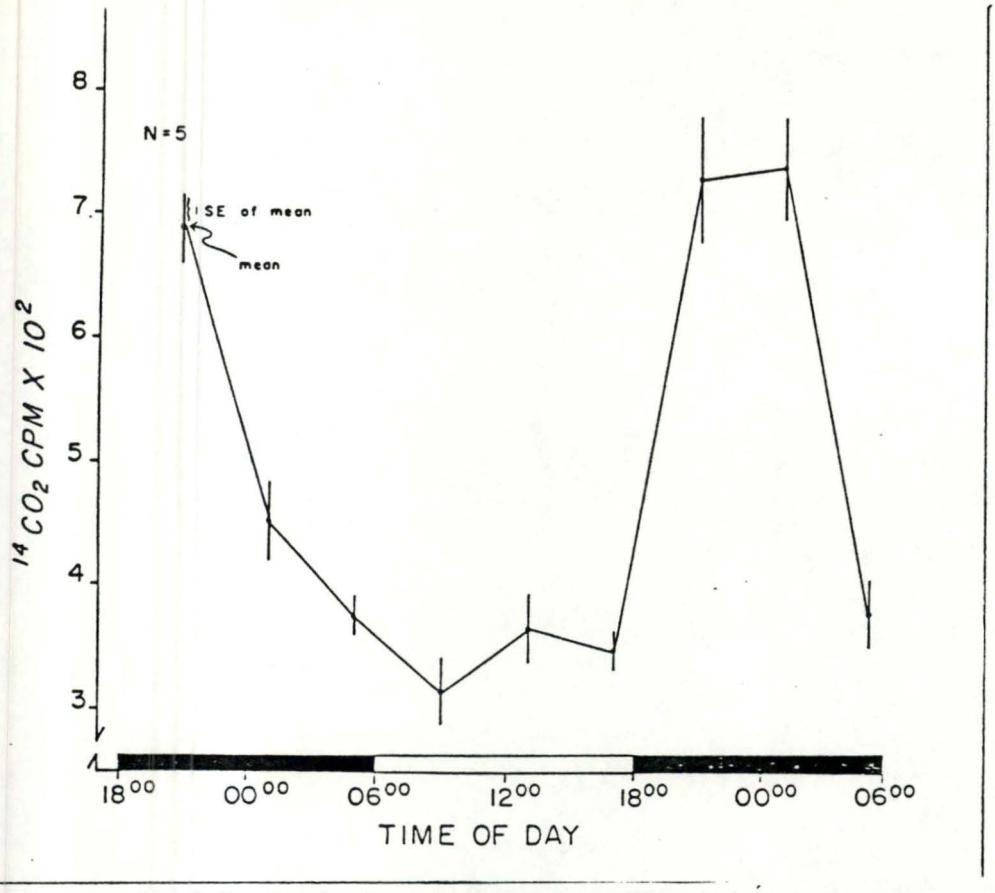
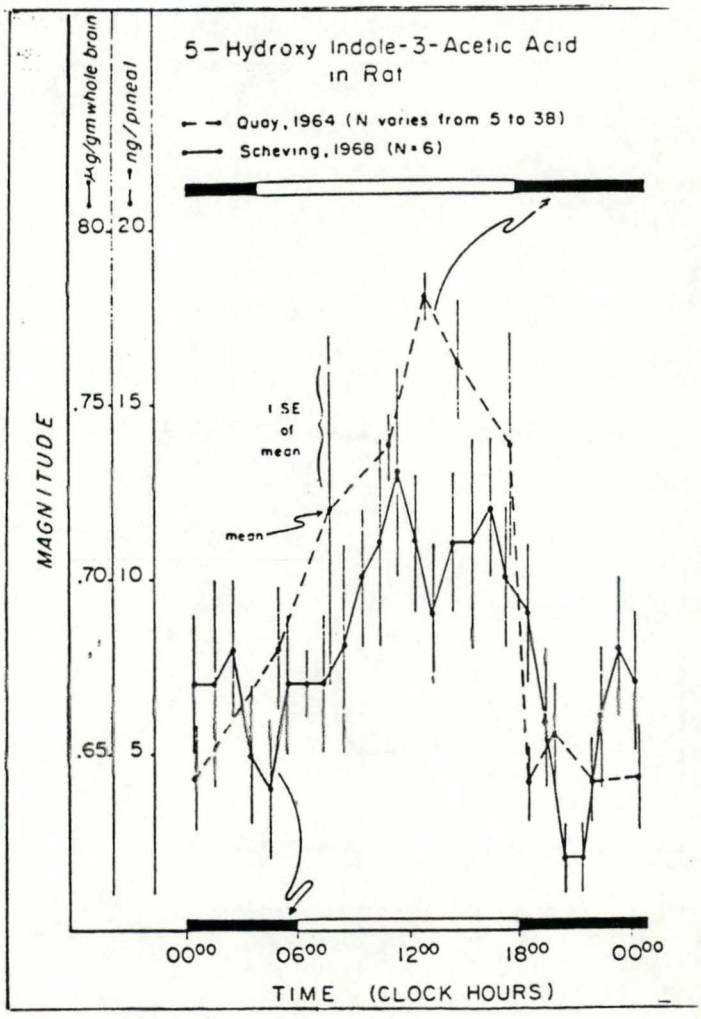


Fig I-3. Variation circadienne de l'activité de l'ornithine décarboxylase au niveau du foie d'un rat mâle. L'activité a été déterminée par la mesure de la libération de CO_2 à partir d'ornithine I- C.

. I-4.
hme circadien de la sérotonine dans la
nde pinéale de rats mâles adultes; le
ngement quotidien est d'environ 900%.
rythme circadien de la sérotonine du
veau est d'amplitude plus faible (16%).



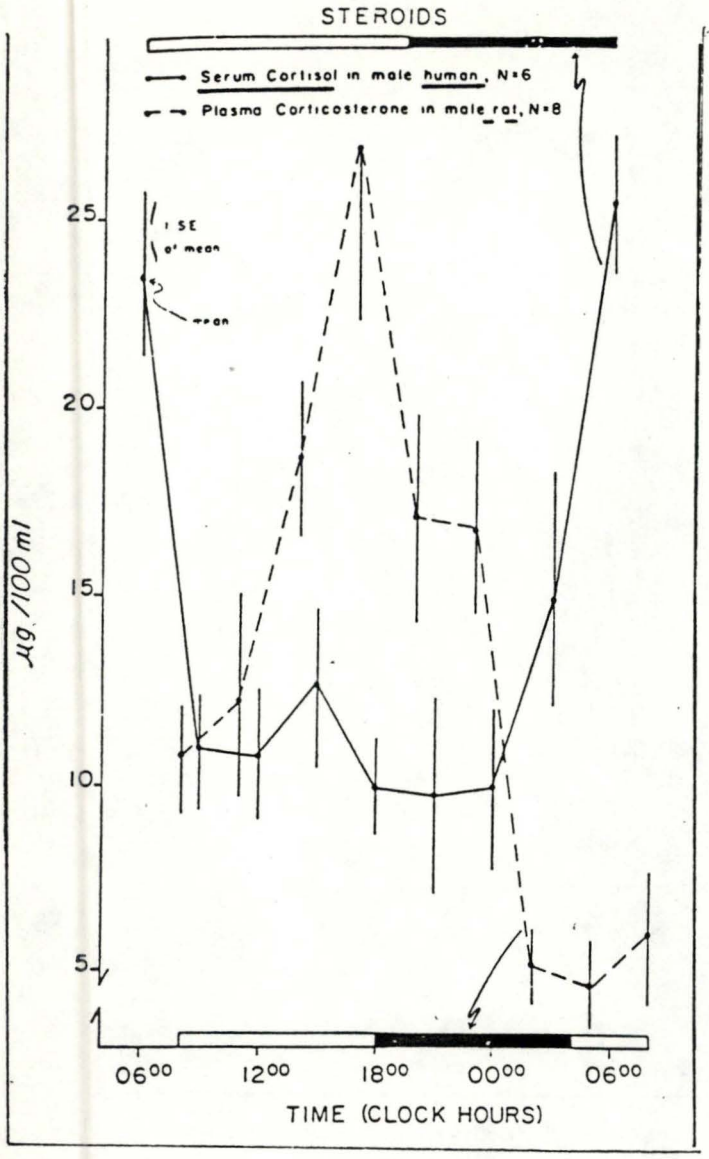
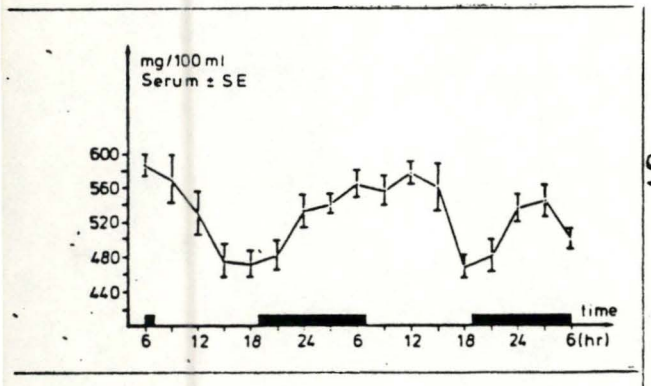
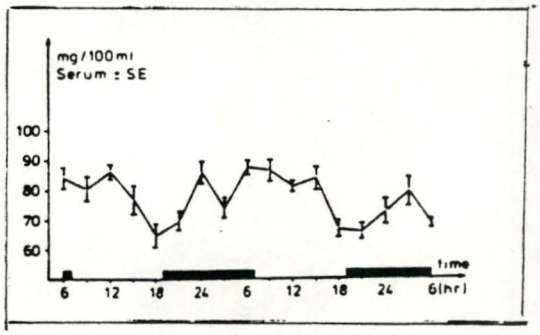


Fig I-5.

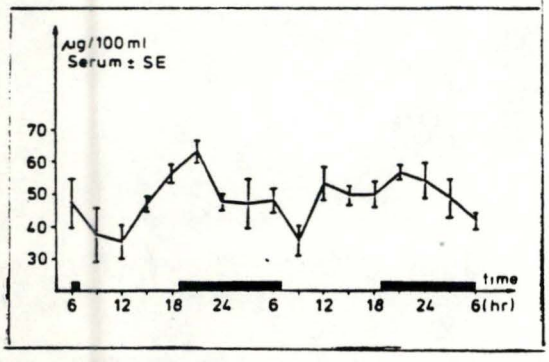
Rythmes du taux de stéroïdes dans le sérum de l'homme et du rat.



a



b



c

Fig. I-6.

Variation circadienne de la concentration dans le plasma:
a. des lipides
b. du cholestérol
c. de la corticostérone

- niveau des <u>processus métaboliques</u> :
  Les enzymes, au niveau du foie et du sérum, présentent une activité circadienne. (fig.1-3)
  La concentration en 5-OH tryptamine fluctue selon un rythme circadien : les niveaux extrêmes de concentration diffèrent de 18% dans le cerveau du rat et de 900% dans la glande pinéale (fig.1-4) (VON MAYERSBACH,1974).
- <u>niveau des constituants cellulaires et plasmatiques</u> :
  La concentration de cortisol dans le plasma sanguin varie du simple au double chez l'homme (maximum à 6h., minimum à 20h.) et du simple au quadruple chez le rat (maximum à 17h, minimum à 5h.) (fig.1-5) (VON MAYERSBACH,1974).
  Il existe aussi un rythme circadien de la concentration des lipides, du cholestérol et de la cortisone dans le sang (fig.1-6) (UEBERGERG dans "chronobiology international", 1984).
- La <u>composition</u> et la <u>structure</u> même d'une cellule peuvent se modifier au cours de l'échelle circadienne, comme par exemple la distribution et la morphologie du reticulum endoplasmique et son contenu en glycogène (VON MAYERSBACH, 1974).
- Il existe aussi des cycles de 24h. au niveau des émissions aériennes polluantes, liées aux activités socio-économiques et aux variations météorologiques et de photolyse solaire (HALBERG et STUPFEL,1977).
- On peut citer aussi les rythmes circadiens hormonaux responsables, entre autres, de la distribution temporelle des naissances naturelles, plus fréquentes entre minuit et 6h. (COLEMAM,1986).

I.3 <u>Caractéristiques des rythmes biologiques</u>.

I.3.1 <u>Origine endogène</u>.

La question longtemps débattue en chronobiologie concernait la nature endogène ou exogène des biorythmes :

sont-ils dérivés de causes extérieures à l'organisme soumis à un univers rythmique ou sont-ils innés et transmis héréditairement?

Si l'on supprime de l'environnement d'un animal tout indicateur de rythme, cet animal continue à manifester une activité périodique stable. Les rythmes semblent donc endogènes; leur périodicité est réglée par des mécanismes internes de l'organisme et reflète les propriétés intrinsèques de la matière vivante.

Quelques rythmes cependant n'ont aucune base génétique; ils sont directement liés aux variations périodiques d'un ou plusieurs facteurs environnementaux et disparaissent en leur absence. Il s'agit d'exorythmes, non considérés par la chronobiologie (MACAR,1980; LIEVENS et KNAEPEN,1981; LEEMAN,1984; LECOMTE,1985).

L'hypothèse endogène est argumentée par diverses observations :

- les rythmes persistent en l'absence d'influences externes et présentent, dans ce cas, une périodicité proche mais non tout à fait égale à 24h.
- ils sont caractéristiques pour une espèce donnée.
- leur période peut être modifiée par des variations cycliques de certains facteurs environnementaux ("Zeitgebers" ou "synchroniseurs") mais cette modification n'est réalisable que dans certaines limites (entre 20 et 28h.) (voir plus loin).

La chronostructure humaine comporte deux groupes de rythmes endogènes :

- les rythmes liés au cycle veille-sommeil (cycle fondamental chez l'homme).
  Exemples : -rythme de l'excrétion urinaire du calcium.
  -rythme du sommeil à ondes lentes.
- les rythmes qui dépendent de la température corporelle.
  Exemples : -rythme de l'excrétion urinaire de l'eau et du potassium.
  -rythme du sommeil paradoxal.
  (MOORE-EDE et al,1982; LEEMAN,1984).

Si les rythmes sont endogènes, il doit exister dans l'organisme des mécanismes temporels internes capables de mesurer l'écoulement du temps, indépendamment de toute information périodique environnementale et de convertir une source d'énergie non périodique en une information périodique auto-entretenue (MOORE-EDE et al,1982).
Ce mécanisme a été désigné sous le terme d'horloge biologique capable de mesurer le temps, d'informer l'individu au sujet de sa position dans le temps et de se régler lui-même à partir d'indicateurs externes (MACAR,1980; LIEVENS et KNAEPEN,1981).

—a) A propos des horloges biologiques.....

L'existence de l'horloge biologique reste hypothétique car aucune structure nerveuse ni endocrine n'a pu encore être identifiée.

Cette horloge consisterait en un oscillateur unique ou, plus vraisemblablement, en une combinaison d'oscillateurs. En effet, les observations concernant les désynchronisations internes semblent corroborer l'hypothèse d'un modèle multi-oscillatoire .
(Une désynchronisation interne est un état caractérisé par une scission des rythmes. Ceux-ci ne sont plus synchronisés entre eux et présentent des périodes distinctes. Par exemple, cet état peut se présenter quand on expose un sujet à des cycles jour-nuit de longueur anormale ou lorsqu'il effectue des voyages transméridiens.)
De même, on a montré chez des sujets humains que les différents rythmes se resynchronisent par rapport à un rythme exogène à des vitesses différentes : le rythme d'activité est le plus rapide; vient ensuite le rythme de la température corporelle, puis d'excrétion sodique (MOORE-EDE et al,1977).

Il doit donc y avoir dans l'organisme plusieurs systèmes oscillatoires, capables de générer chacun un rythme circadien auto-entretenu, et synchronisés entre eux, que l'environnement soit périodique ou non, sans doute grâce à un mécanisme

de couplage interne (PITTENDRIGH,1960). Ce système d'oscillateurs serait donc influencé par les synchronisateurs externes, mais capable de coordonner, par synchronisation interne, l'ensemble des fonctions, dont certaines semblent présenter des périodes spontanées différentes de la périodicité circadienne.

1°) Propriétés de l'horloge circadienne.

- Le libre-cours : si un rongeur est soumis à une luminosité ou obscurité constante, ou si un homme est privé du facteur de coordination sociale (isolé, sans renseignement temporel) les rythmes continuent à se manifester avec une fréquence qui ne correspond plus avec précision à celle observée en alternance lumière/obscurité ou en présence du facteur social (VON MAYERSBACH,1974).
  Les rythmes sont dits en libre-cours ("free-running") : l'horloge circadienne fonctionne avec sa propre période (proche de 24h., dans une marge de 20 à 28h.).
  Malgré ce libre-cours simultané de différentes variables physiologiques, celles-ci maintiennent leur relation de phase (sauf quelques interruptions pendant la phase initiale d'adaptation aux conditions constantes).
- Entraînement : le système circadien est sensible à certains indices temporels environnementaux capables d'agir sur les horloges. Ces indices ont été désignés sous les termes "Zeitgebers" (ASCHOFF,1951), "Synchroniseurs" ou "agents d'entraînement".
  Le rythme circadien peut être entraîné par ces agents si leur période est comprise entre 18 et 30h. Hors de ces limites, la période en libre-cours prévaudra.

2°) Mécanisme de fonctionnement de l'horloge.

MOORE-EDE et al (1982) ont proposé un modèle mettant en oeuvre divers éléments constituant la structure du système circadien : (fig.1-7)

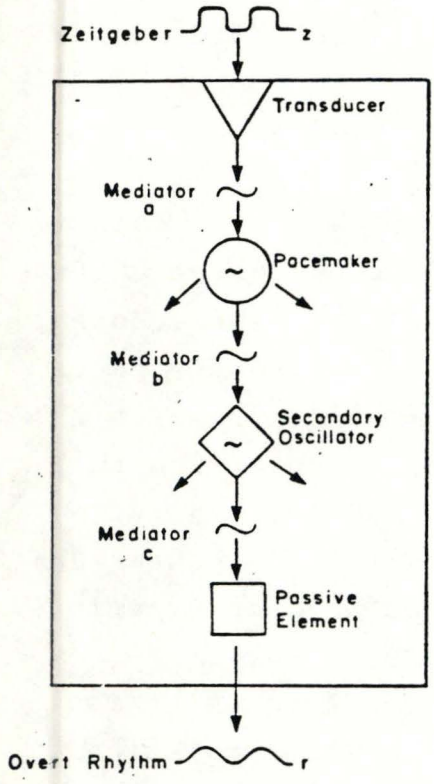


Fig. 1-7 : Schéma des éléments principaux du système temporel circadien.

(D'après MOORE-EDE et al, 1982).

- Les transducteurs seraient des structures capables de convertir le signal périodique exogène de l'environnement en signaux biologiques interprétables par l'organisme. Ce rôle serait joué par certains récepteurs sensoriels, comme les cellules rétiniennes.
- Les horloges ou oscillateurs primaires ("Pacemakers") reçoivent le signal exogène transmis par les transducteurs et émettent des signaux temporels quotidiens qui synchroniseraient l'organisme entier.
- Les oscillateurs secondaires sont des structures dotées d'oscillations auto-entretenues et sont synchronisés par des médiateurs. Ils sont dits secondaires car leur période en libre-cours est inférieure à 24h. et leur stabilité rythmique est moindre que celle attendue pour un pacemaker.
- Les médiateurs transmettent l'information entre structures : il s'agit de neurotransmetteurs (5-OH tryptamine, norepinephrine, dopamine), et d'hormones (hormone de croissance, prolactine).
- Les éléments passifs sont dépourvus d'oscillations auto-entretenues. Ce sont les tissus et sous-systèmes physiologiques, cibles du système circadien.

3°) Localisation des horloges.

Les tentatives de localisation des horloges se réalisent par expériences d'élimination de structures. Si à l'ablation d'une structure s'ensuit une disparition de rythme, on peut déduire que la structure et le pacemaker ne font qu'un ou que la structure ne constitue qu'un lien entre l'horloge et les récepteurs ou encore entre l'horloge et les oscillateurs secondaires (MACAR, 1980).

Par exemple, si, chez un rongeur, on détruit les noyaux suprachiasmatiques (NSC) de l'hypothalamus - où l'on a pu démontrer un rythme circadien endogène concernant la consommation de glucose - il n'existe plus de périodicité circadienne;

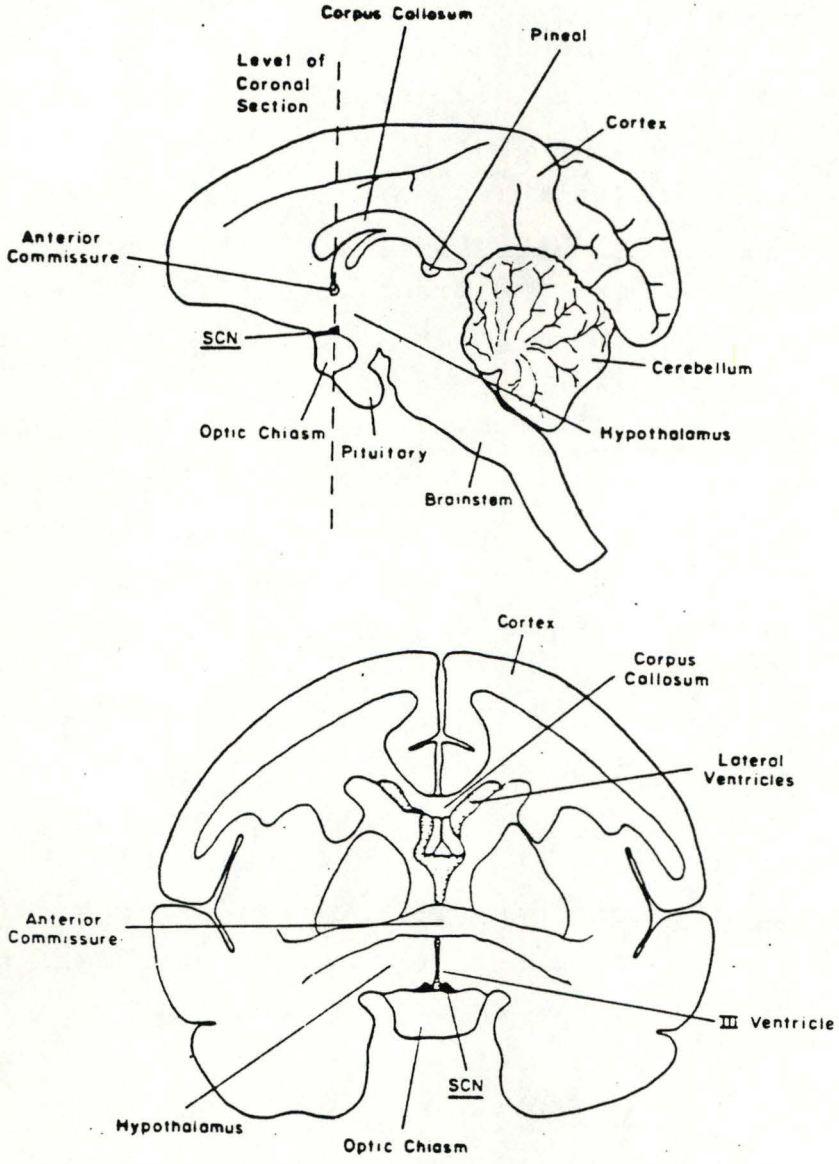


Fig. 1-8 :

Coupes sagittale (1ere figure) et transversale (2e figure) passant par le chiasme optique. Les noyaux suprachiasmatiques sont placés juste au-dessus du chiasme optique et latéralement par rapport à l'extrémité antérieure du 3e ventricule (D'après MOORE--EDE et AL, 1982).

ceci démontre l'importance du rôle joué par les NSC mais ne permet pas de dire s'ils sont le siège de l'activité circadienne (MACAR,1980).

Chez les mammifères, les principaux pacemakers du système circadien semblent être localisés dans le cerveau, tandis que les tissus périphériques ne renfermeraient que des oscillateurs secondaires capables de générer des rythmes biologiques circadiens, sous la dépendance d'un ou plusieurs pacemakers situés dans le SNC (système nerveux central).

Chez les oiseaux, il n'est pas encore établi que la glande pinéale joue le rôle d'horloge, mais elle semble au moins fournir un lien décisif entre l'horloge et les centres moteurs puisque les rythmes de locomotion et de la température corporelle disparaissent chez le moineau lorsqu'elle est mise hors-circuit (MACAR,1980).

Chez les invertébrés, l'oeil de l'aplysie semble être un pacemaker primaire.

Certains arguments parleraient en faveur d'un mécanisme cellulaire car, de l'administration d'un mutagène au niveau des chromosomes du noyau, résulte une modification de la périodicité des rythmes. Par exemple, une mutation engendrée au niveau du chromosome x de la drosophile altèrerait son rythme d'éclosion et de locomotion (MENAKER et BINKLEY,1981).

—b) <u>Bases physiologiques de la rythmicité circadienne</u>.

Chez les mammifères, une structure de l'hypothalamus antérieur, les noyaux suprachiasmatiques, (fig.1-8) semble répondre aux critères d'un pacemaker (MENAKER et BINKLEY,1981), pour trois raisons :

- ils sont connectés à la rétine par un tractus fibreux, le tractus rétino-hypothalamique : la rétine, par un processus non visuel, pourrait capter les indices lumineux périodiques; ceux-ci emprunteraient le tractus rétino-hypothalamique pour atteindre les NSC, qu'ils entraîneraient aux cycles lumière-obscurité (MOORE-EDE et al,1982).

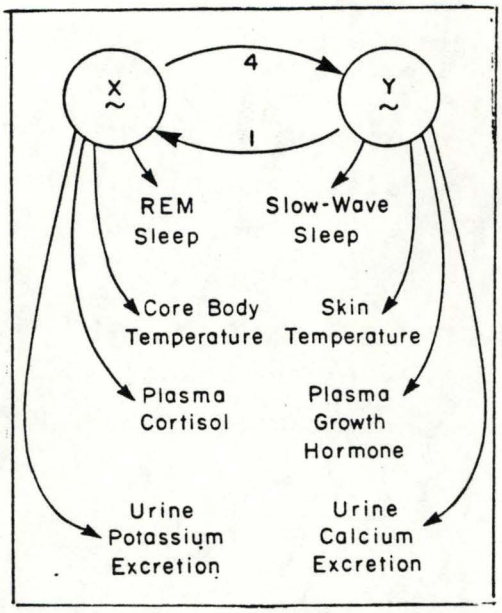


Fig. I-9. Les deux groupes de rythmes semblent dépendre de pacemakers séparés. Le pacemaker X est à l'origine des rythmes de sommeil REM, de la température corporelle, de la concentration du cortisol plasmatique, et de l'excrétion du potassium urinaire. Le cycle repos-activité, les rythmes de sommeil à ondes lentes, de la température de la peau, de la concentration plasmatique de l'hormone de croissance et de l'excrétion du calcium urinaire dépendent du pacemaker Y.
Les deux pacemakers seraient couplés. La force de couplage exercée par le pacemaker X sur le pacemaker Y est quatre fois plus grande que celle de Y sur X.

- Si les NSC sont lésés, la rythmicité circadienne est perdue pour :
  . le cycle veille-sommeil chez les mammifères (P = environ 24h.) (IBUKA et KAWAMURA,1975).
  . la prise de boisson : chez le singe-écureuil, celle-ci est concentrée pendant sa phase d'activité.
  Après lésion des NSC, ce comportement se manifeste sans organisation temporelle (FULLER et al,1981).
  . la température, dans certains cas, chez le rat (SALEH et al,1977).
  . les rythmes endocriniens, par exemple de la
    - N-acétyl-transférase (RAISMANN et BROWN-GRANT,1977).
    - thyroïo-stimulating hormone (PHELPS et al,1977).
    - thyrotropine (ABE et al,1979).
- Les NSC continuent à osciller suivant une périodicité circadienne, même isolés de toute information (INOUYE et KAWAMURA,1979).

Cependant, on a constaté que certains rythmes continuent à osciller même après lésions des NSC, comme :
- le sommeil paradoxal (YAMAOKA,1978).
- le comportement d'anticipation de la nourriture, qui se marque par une forte augmentation d'activité juste avant l'heure habituelle de prise alimentaire (REIR et FINGER, 1955; MOORE-EDE et al,1982).
- les rythmes de température corporelle, chez les primates (FULLER et al,1981) et parfois chez le rat (POWELL et al, 1977). (fig.1-9)

En conclusion, les NSC semblent constituer un des pacemakers circadiens chez les mammifères; d'autres structures joueraient un rôle de pacemaker secondaire : l'aire latérale hypothalamique et le noyau ventro-médial, qui seraient à l'origine de la rythmicité circadienne de la température,du sommeil paradoxal et d'anticipation.

I.3.2 Contrôle exogène.

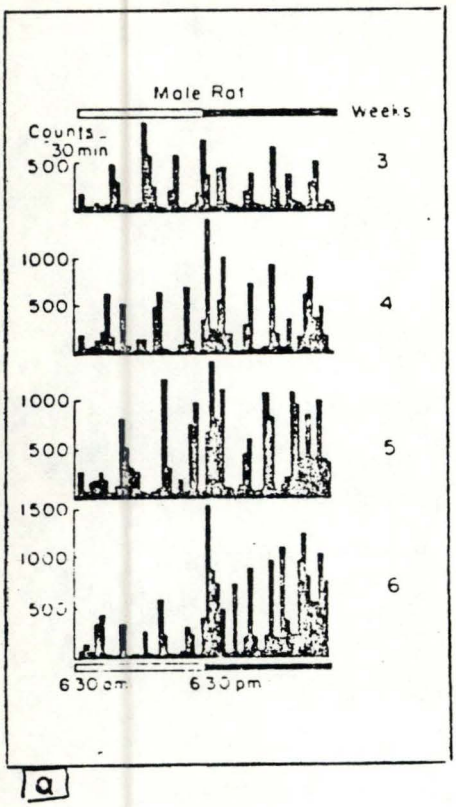
Les variables rythmiques ne sont pas générées par les facteurs externes mais peuvent être influencées, au niveau d'un ou plusieurs paramètres, par des facteurs remplissant le rôle de synchroniseurs (VON MAYERSBACH,1974; MACAR,1980). Ainsi, à l'intervention de mécanismes régulateurs (hormones), les rythmes biologiques varient quantitativement selon le milieu externe.

Parmi ces facteurs externes oscillants, l'alternance lumière-obscurité agit de manière impérative sur le mode de vie des mammifères via l'intensité lumineuse, le nombre d'heures de lumière par cycle, les variations de luminosité.....
D'autres facteurs interviennent :

- l'interaction sociale coordonne de nombreuses activités, en particulier chez l'homme. Elle permet, entre autres, à des souris aveuglées de se synchroniser mutuellement (CROWLEY et BOVET,1980).
- la température joue un rôle important chez les individus poïkilothermes et les mammifères hibernants (LIEVENS et KNAEPEN,1981).
- l'alimentation, dans des conditions particulières : si on diminue les rations alimentaires d'un rat, et si ces rations ne sont disponibles qu'au cours de la photofraction, le rongeur développera un comportement à activité diurne (LIEVENS et KNAEPEN,1981).
- l'humidité influencerait certains insectes (LIEVENS et KNAEPEN,1981).
- les stimuli auditifs peuvent troubler les rythmes du rat (LIEVENS et KNAEPEN,1981).
- le taux de salinité est pris en considération par les organismes marins (MACAR,1980).

I.3.3 Ontogénèse des rythmes circadiens.

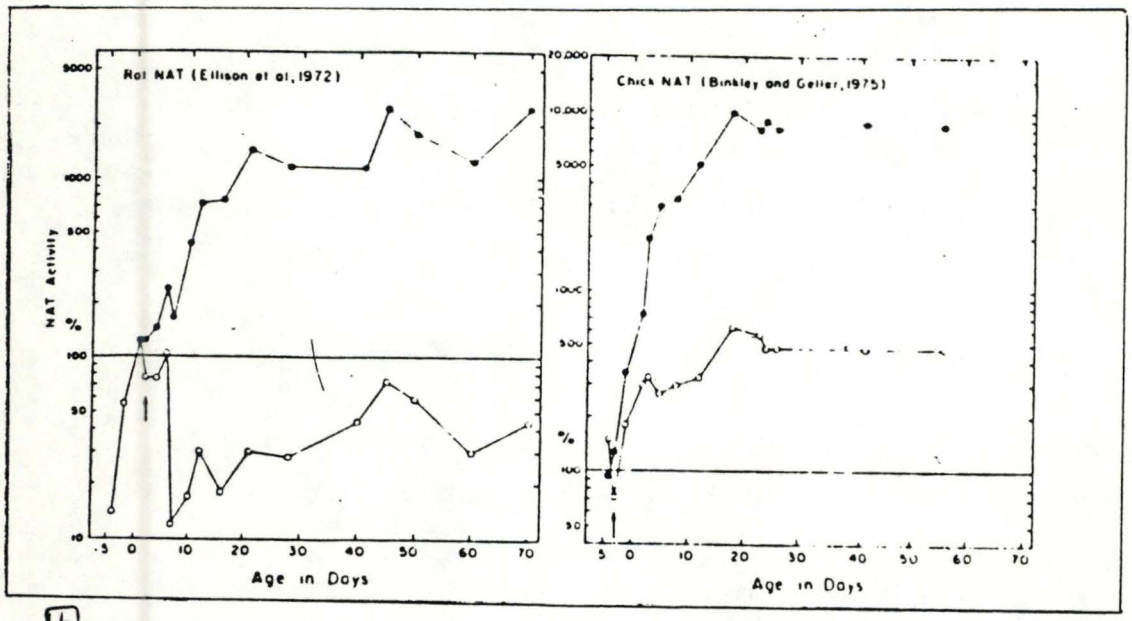
La chronostructure humaine se modifie avec l'âge. JUNDELL (1904) a montré que les rythmes circadiens s'établis-



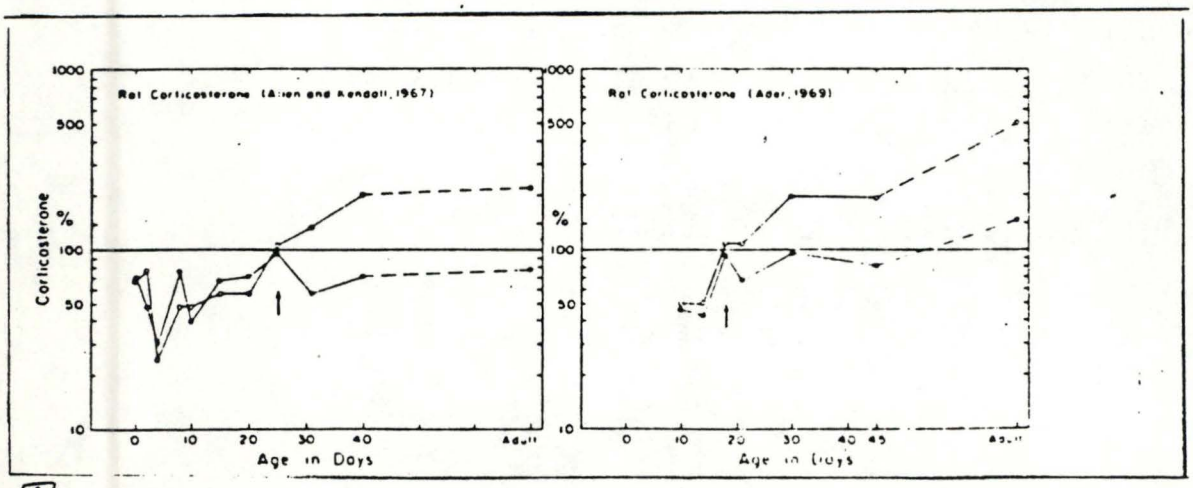
a

Fig.I-IC. Développement

a. du rythme circadien de l'activité locomotrice chez le rat mâle
b. de la différence entre jour (o)et nuit (•) de l l'activité de la N-acétyl-transférase au niveau de la glande pinéale de rats (gauche) et de poules (droite).
c. de la différence entre matin (o) et soir (•) du taux plasmatique de la corticostérone chez le rat.



b



c

sent progressivement au cours de la vie. (fig.1-10)
Il existerait déjà chez l'embryon et le foetus des périodicités circadiennes endogènes provenant des rythmes de l'adulte (ex: activité, t°), et des rythmes de sécrétion hormonales (SELINGER et LEVITZ, 1969, dans DAVIS, 1981).

Les facteurs exogènes interviennent à un moment précis du développement (période dite d'empreinte) sur la maturation du système circadien : en effet, l'établissement des rythmes en conditions constantes exige beaucoup plus de temps qu'en conditions externes normales.
Les différents rythmes apparaissent à des moments différents selon l'organisme, la fonction concernée.
Ainsi dans un même organe, des fonctions peuvent s'organiser successivement : par exemple au niveau du rein se développent d'abord le rythme circadien d'excrétion du sodium et du potassium, puis du phosphore et de la créatine et enfin celui de la créatinine et des chlorures (MACAR, 1980).

La plupart des rythmes, une fois apparus, "mûrissent" : ainsi la rythmicité éveil-sommeil se marque à partir du deuxième mois postnatal mais sa maturation, correspondant à une augmentation d'amplitude, se poursuit jusqu'au moins l'adolescence (DAVIS, 1981).

L'ordre d'apparition des principaux rythmes chez le rat se résume comme suit :
-Rythme associé à l'alimentation, comme le gain de poids.
-Rythmicité du système nerveux sympathique.
-Rythmes endocriniens contrôlés par l'hypophyse.
-Rythmes des comportements volontaires (prise de boisson, locomotion, sommeil).

Si un seul pacemaker sous-tend tous ces rythmes, cette séquence d'apparition refléterait la maturation progressive des mécanismes de contrôle et des voies hors du pacemaker.

Le vieillissement s'accompagnerait d'une atténuation au niveau de l'amplitude des rythmes, pouvant aller jusqu'à

leur disparition même (BARBASON dans "L'INTERMEDIAIRE",1986).
Exemples : -disparition du rythme de la température chez le rat et la souris.
-atténuation du rythme d'excrétion potassique chez l'homme.

I.3.4 Signification adaptative.

Les horloges biologiques préparent les fonctions de l'organisme à répondre de manière adéquate aux événements extérieurs périodiques.
Elles permettent la persistance de rythmes en l'absence de synchronisateurs externes.
Elles synchronisent les rythmes d'activité nécessaire de manière, par exemple, à pousser l'animal à rechercher sa nourriture au moment de la journée où elle est disponible, (COLEMAN, 1986), ou à faire coïncider les maxima de la température corporelle avec ceux de l'activité. De même, le taux de stéroïdes dans le plasma est augmenté juste avant l'éveil, préparant l'organisme à faire face aux situations stressantes associées à l'activité.
Les rythmes circadiens permettent à l'organisme de s'adapter à un environnement périodique : dans cet environnement où alternent lumière et obscurité, où la température et la longueur du jour changent en fonction de la rotation de la terre, les horloges biologiques et les rythmes qu'elles génèrent permettent de prédire et d'anticiper les changements majeurs des conditions extérieures.

II. IMPORTANCE DE LA CHRONOBIOLOGIE ET SES APPLICATIONS.

Les exemples cités au § I.2 montrent, partiellement, l'influence des rythmes sur les êtres vivants, ce qui justifie l'importance que lui accordent de plus en plus différentes disciplines scientifiques.

Ainsi, en médecine clinique, la chronobiologie commence à être réellement prise en compte, notamment pour poser des diagnostics, et ce pour deux raisons :

1) Presque toutes les variables physiologiques manifestent une rythmicité circadienne; par conséquent, effectuer une seule mesure d'une de ces variables au cours de la journée, se révele insuffisant pour la juger normale ou pathologique : par exemple, la concentration du cortisol dans le plasma sanguin marque une forte augmentation tôt le matin et une diminution appréciable le soir.
Si les limites de normalité de concentration ont été déterminées au préalable à partir des mesures réalisées au milieu de la journée et si le prélèvement sanguin d'un patient est effectué le matin ou le soir, le diagnostic sera erroné.

   Pour éviter ce genre d'erreurs, on réalise un CHRONOGRAMME ou NORMOGRAMME, représentant l'ensemble des valeurs normales d'un paramètre physiologique en fonction de chaque heure (MOORE-EDE,1983; COLEMAM,1986), et on compare la variable à observer pour le diagnostic à celle lui correspondant dans le chronogramme.

2) On a pu observer dans plusieurs cas une variation des paramètres des rythmes en cas de maladie (désordres rénaux, diabète); de plus, une maladie donnée présenterait un changement rythmique précis; chez les patients dépressifs, on a constaté une corrélation entre les moments où ils paraissaient plus déprimés et les moments où leur rythme circadien de la température corporelle se révélait être le plus anormal (MINORS,1980).

   Ainsi, la chronobiologie aiderait à déterminer s'il y a

maladie et de laquelle il s'agit. La sévérité du désordre physiologique serait évaluée en fonction de l'importance de l'anormalité des rythmes.

Cette deuxième application en médecine reste encore hypothétique, les expériences et observations n'étant pas encore suffisamment concluantes.

La même observation peut être faite au sujet d'un troisième type d'aide possible de la chronobiologie à la médecine : de nombreux médecins espèrent l'utiliser à des fins préventives. L'idée de base est la suivante : les altérations rythmiques, non seulement accompagneraient la maladie mais la précèderaient. La détection précoce serait possible par l'observation des rythmes. Une des applications les plus intéressantes - mais encore très hypothétique - de cette prévention possible concerne le cancer. En détectant l'étape précancéreuse d'après ses perturbations rythmiques, le traitement pourrait être appliqué immédiatement, ce qui augmenterait les chances de guérison.

Cet espoir est né d'observations sur la souris, où des altérations du rythme circadien des mitoses ont été détectées avant le développement du cancer mammaire chez certaines souris consanguines (HALBERG,1959, dans SCHMITT et al,1978; BARBASON,1986).

La chronobiologie trouve actuellement des applications dans des domaines divers :

- en ergonomie (chronoergonomie), la chronobiologie peut avoir un rôle à jouer notamment pour déterminer la durée optimale de travail et les pauses de repos dans un cycle, pour obtenir la meilleure production avec une fatigue minimale.

  On sait que les troubles physiologiques les plus graves touchent les travailleurs astreints à un horaire à pauses : le sommeil est profondément altéré, les ulcères d'estomac et du duodénum, les psychoses maniaco-dépressives, sont plus fréquents que dans d'autres groupes de travailleurs (BARBASON,1986).

Ce type d'horaire prévoit généralement une rotation toutes les semaines; or, une semaine est le délai nécessaire à l'horloge interne de l'organisme pour s'adapter. Ainsi, l'organisme est-il contraint à des réadaptations permanentes. Il serait donc préférable qu'un travailleur puisse conserver un horaire identique, même nocturne, plutôt que d'être continuellement déphasé par rapport à l'environnement (REINBERG et HALBERG,1979).

- en séméiologie (chronoséméiologie), les considérations chronobiologiques permettent d'établir le caractère normal ou pathologique de certaines variables (cfr. chronogrammes) (REINBERG,1979; LEEMAN,1984).
- en chronopathologie. Les populations de malades diffèrent selon la saison : il y a plus d'ulcères en poussée évolutive (ou de perforation) au printemps et en automne et cela, principalement, chez les personnes désynchronisées.
  La chronopathologie recherche les altérations de la chronostructure en fonction de la maladie et en tant que déterminants de la maladie (REINBERG et HALBERG,1971; LEEMAN,1984).
- la chronotrophologie concerne l'aide de la chronobiologie à la nutrition humaine, le métabolisme nutritionnel dépendant des contrôles enzymatiques programmés dans le temps (REINBERG et HALBERG,1979).
- la chronophysiologie recherche les caractéristiques temporelles des facteurs physiologiques (tension artérielle, pouls..) (REINBERG et HALBERG,1971).
- la chronotoxicologie recherche les effets indésirés ou dangereux d'agents chimiques, physiques ou autres (polluants, poisons, overdoses de médicaments) sur les caractéristiques des rythmes et l'importance de leur toxicité en fonction du temps biologique (REINBERG et HALBERG,1981).

  Elle fait partie de :
- la chronopharmacologie que nous allons envisager plus amplement dans le chapitre suivant.
  Celle-ci s'applique à rechercher les effets des médicaments -toxiques ou non- dans le contexte chronobiologique.

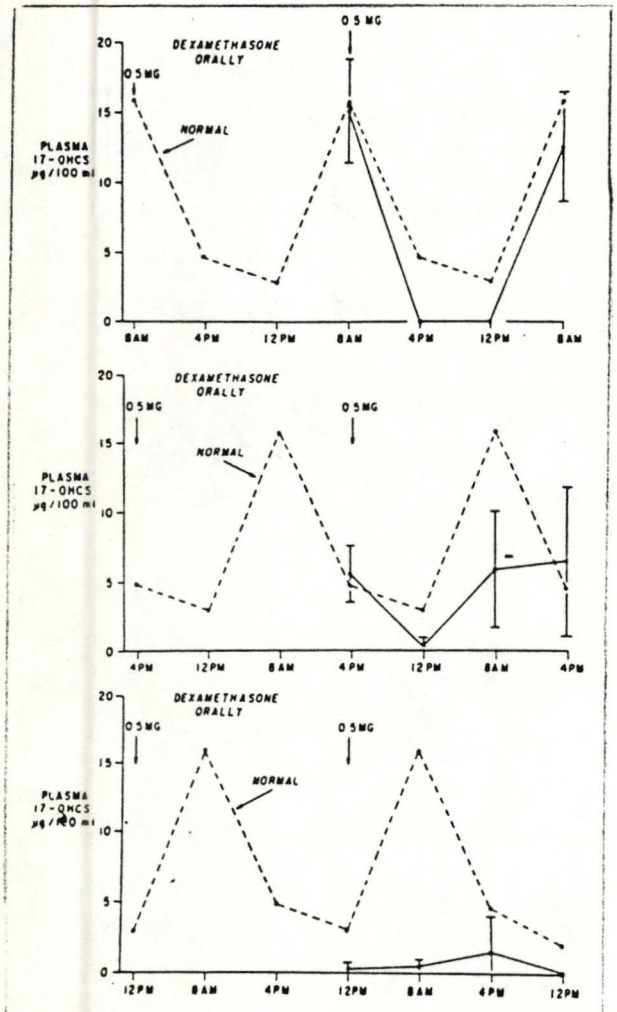


FIG. 4. Influence du moment de l'administration de dexaméthasone 0,5 mg *per os* sur les variations nycthémérales des concentrations plasmatiques des 17-hydroxycorticostéroïdes.

La courbe en trait interrompu illustre l'évolution circadienne chez le sujet normal et la courbe en trait continu décrit l'évolution après freination par dexaméthasone.

L'inhibition est minime lorsque la dexaméthasone est ingérée à 8 h, elle reste partielle lorsque l'administration a lieu à 16 h et elle devient presque totale lorsque la dexaméthasone est prise à 24 h (adapté de NICHOLS et coll., 1965).

CHAPITRE II : CHRONOPHARMACOLOGIE.

I. DOUBLE INTERFERENCE DES MEDICAMENTS ET DES RYTHMES BIOLOGIQUES. - CONCEPTS CHRONOPHARMACOLOGIQUES.

La chronopharmacologie peut être définie comme la science étudiant d'une part, les effets des agents pharmacologiques sur les biopériodicités endogènes de l'organisme et, d'autre part, les variations des effets d'un médicament en fonction de son moment d'administration.

I.1 Effets des médicaments sur les rythmes biologiques.

La possibilité de changements des caractéristiques des rythmes biologiques (amplitude, mésor, acrophase, période) a été illustrée par de nombreux exemples :

A) Modification de l'amplitude d'un rythme.
L'administration de dexaméthasone chez l'homme, à 23h., supprime le pic de sécrétion d'ACTH nocturne ainsi que l'élévation de la cortisolémie (cfr. fig.2-1) (SCHEEN et LUYCKX, 1985).

B) Modification du mésor.
Le niveau moyen de la température est influencé par l'alcool, l'ACTH, l'indométhacine, uniquement si ces substances sont données à une heure relativement précise, propre à chacune d'elles (REINBERG, 1982).

C) Modification de l'acrophase.
L'acrophase du pic du flux expiratoire (qui varie selon un rythme circadien) peut être décalée après administration de prednisone aux enfants asthmatiques (REINBERG et HALBERG, 1971).
Les cortocostéroïdes, l'ACTH, donnés le soir, retardent de 6 à 12h. les acrophases de la force musculaire, du calibre bronchique, de l'excrétion urinaire du potassium chez le sujet traité, mais n'influencent pas l'acrophase de la température corporelle. Il en résulte une altéra-

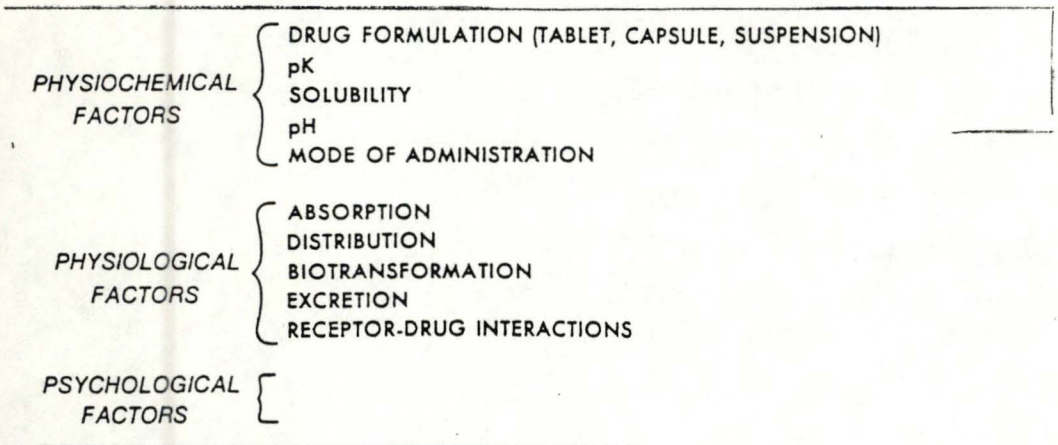


Fig 2-2.

Les actions thérapeutiques et toxiques d'un médicament chez l'homme dépendent de facteurs physico-chimiques, physiologiques et psychologiques.

tion de la structure temporelle, une dissociation de certains rythmes circadiens par rapport à d'autres, ce qui peut être préjudiciable (REINBERG,1982).

D) Modification de la période.

Dans la psychose maniaco-dépressive, le rythme d'alternance sommeil-éveil et de température corporelle se décalent par rapport aux autres rythmes : ils sont en avance lors de la phase dépressive (ce qui revient à dire que leur période est écourtée) et en retard lors de la phase hypomaniaque.

Les sels de lithium (et d'autres antidépresseurs tels les tricycliques et les inhibiteurs de la monoamine-oxydase) sont capables d'allonger les rythmes biologiques des végétaux, du hamster, du rat. Utilisés en psychiatrie, ils s'avèrent efficaces pour corriger les anomalies de rythme concernant la phase dépressive (REINBERG,1982; SCHEEN et LUYCKX,1985).

I.2 Influence du temps biologique sur l'action d'un médicament.

Une substance médicamenteuse peut produire des effets quantitativement et qualitativement différents selon le moment du cycle nycthéméral d'administration.

A) Effets quantitatifs.

Les changements des effets quantitatifs des médicaments en fonction du moment biologique où ils sont administrés peuvent être rendus plus compréhensibles si l'on considère les trois concepts nouveaux et complémentaires à la base de la chronopharmacologie.

1°) Chronopharmacocinétique.

Lorsqu'une substance est introduite dans l'organisme, sa concentration dans les humeurs (sang, sérum, urine...) va augmenter, passer par un maximum puis diminuer.
Cette évolution de la concentration, encore appelée "pharmacocinétique", dépend de facteurs physico-chimiques, physiologiques, psychologiques (fig.2-2). Les facteurs physico-chimiques ne sont pas soumis aux influen-

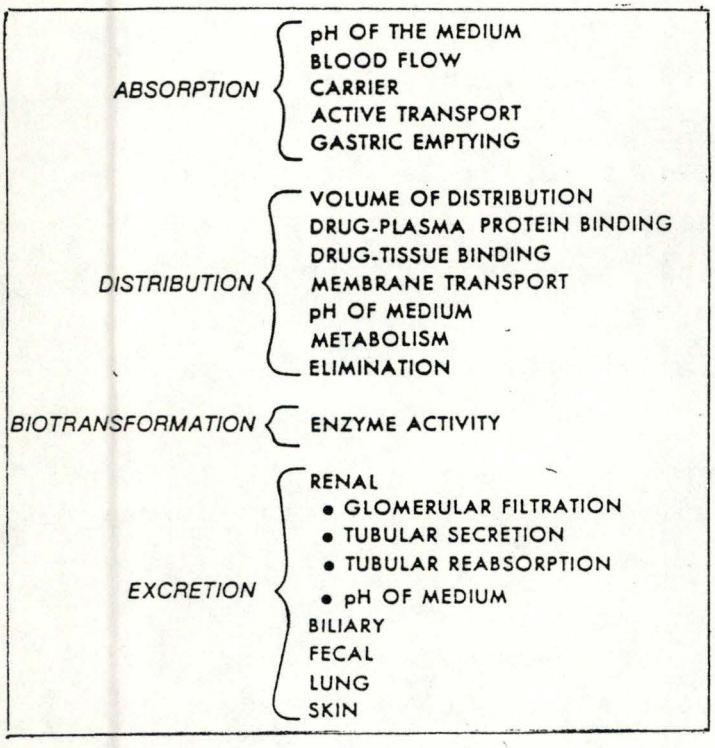


Fig. 2-3.

Facteurs physiologiques et niveaux d'action des paramètres influençant l'action d'un médicament.

ces diurnes, tandis que les structures et les mécanismes déterminant les facteurs physiologiques (absorption, distribution, élimination) (fig.2-3) et psychologiques (non envisagés ici car trop complexes et trop difficilement démontrables) peuvent présenter une biopériodicité plus ou moins importante; cette biopériodicité peut modifier le profil cinétique du médicament selon son moment d'administration.

L'évolution de la concentration du médicament diffère donc selon l'heure de son ingestion. Cette variation rythmique circadienne de la pharmacocinétique (sous l'influence des facteurs physiologiques et psychologiques) est représentée par le terme de "chronopharmacocinétique".

La chronopharmacocinétique d'un produit est influencée par des processus physiologiques : (NAIR et CHEDID, 1983; SCHEEN et LUYCKX, 1985)

- absorption digestive. Des variations circadiennes ont été observées au niveau du pH gastrique : elles influencent la cinétique de résorption des molécules à fonction acide faible (ex. acide acétylsalicylique).
- distribution. Une substance médicamenteuse dans le sang peut exister sous deux formes :
  - libre (= forme active)
  - liée aux protéines plasmatiques.

  La concentration de ces protéines varie suivant un rythme circadien et fait varier les fractions de médicament hautement liées aux protéines, comme les anti-inflammatoires non-stéroïdiens.
- métabolisation. D'importantes variations circadiennes ont été mises en évidence dans l'activité des enzymes hépatiques, notamment de la classe des mono-oxygénases, dont l'importance est bien connue dans le métabolisme des médicaments.

  Ex.1 La durée du sommeil induit par le pentobarbital sodium (barbiturique) est inversement proportionnelle

à la vitesse de son inactivation par l'hexobarbital oxydase du foie. Ainsi, 35mg injectés chez le rat à la fin de sa période de repos (moment où l'enzyme est peu active) induisent un sommeil d'une moyenne de 100 min.; une même dose injectée au milieu de la phase d'activité (où l'enzyme est la plus active), provoque un sommeil d'environ 45 min. (VON MAYERSBACH,1974; SCHEVING,1980).

Ex.2. Le taux de disparition de l'éthanol, injecté chez le rat par voie intrapéritonéale à six moments différents et à des intervalles réguliers sur l'échelle de 24h., est caractérisé par un rythme circadien. La vitesse d'élimination passe par un maximum au début de la phase d'activité et par un minimum, 12 heures plus tard. Ce rythme est probablement lié à celui des processus enzymatiques du foie affectant l'oxydation de l'éthanol (REINBERG et SMOLENSKY,1982).

- excrétion.L'élimination rénale montre un rythme circadien dû aux variations circadiennes du pH urinaire; celles-ci interfèrent avec l'élimination urinaire de certains médicaments comme les barbituriques à courte durée d'action, le salicylate de sodium (VON MAYERSBACH, 1974). L'excrétion du salicylate administré à 7h. chez 6 adultes demande un temps de 22 heures alors qu'il est excrété en 17 heures si l'administration a eu lieu à 19h.

Quand un médicament transite dans l'organisme, il peut diffuser dans plusieurs espaces biologiques et donc être modifié sous l'action enzymatique et éliminé par voie digestive, sudorale ou rénale. Les mécanismes de chaque étape sont soumis à des variations circadiennes.

Comme tout médicament subit de nombreuses modifications, le rôle de la chronopharmacocinétique s'inscrit à plusieurs niveaux et ses observations doivent être prises en considération lors des prescriptions médicamenteuses.

2°) Chronesthésie.

Comme les systèmes biologiques changent de manière rythmique (cfr.chap. chronobiologie), il n'est pas étonnant qu'ils réagissent différemment à un même stimulus imposé à des moments différents.
Ces changements rythmiques de la susceptibilité du biosystème-cible (organe, tissu, récepteur, enzyme, ADN...) sont appelés "chronesthésie" (ou chronosusceptibilité).

La composante chronesthésique de l'organisme intervient dans la variabilité de sa réponse à différentes contraintes physiques ou biologiques (R.X., bruit, substances endogènes et exogènes) : l'administration d'une substance médicamenteuse induit une réponse faible de l'organisme à certaines heures (heures de sensibilité faible) et très forte à d'autres.
Ainsi, on a pu montrer, chez la blatte, un rythme dans sa réponse à une dose standard de cyanide de potassium : la sensibilité au cyanide est minimale au début de la période lumineuse et atteint un niveau maximal peu après la tombée de la nuit (VON MAYERSBACH et al,1974).

L'étude de la chronesthésie est aisée quand l'agent chronopharmacologique est administré plus ou moins directement au contact de la cellule-cible : dans ce cas, la chronopharmacocinétique n'interfère pas (puisque les phénomènes d'absorption, distribution, métabolisation, excrétion, n'interviennent pas) et on peut quantifier la chronesthésie en termes de variations biopériodiques des récepteurs pour l'agent exogène considéré.
C'est ainsi que l'on a pu démontrer des variations circadiennes dans la réactivité bronchique à des aérosols broncho-constricteurs (histamine, ACH, poussière) impliqués dans le déclenchement des crises d'asthme : des doses faibles suffisent à déclencher la constriction des bronches en fin de nuit alors qu'une dose de 60% supérieure est nécessaire pour provoquer la même réaction le

jour. Cette constatation explique pourquoi les crises d'asthme surviennent souvent la nuit (SCHEVING,1980; SCHEEN et LUYCKX,1985).
De la même façon, on a pu déceler un rythme dans la réaction cutanée d'allergie due à une injection intradermique d'histamine dans la peau de l'avant-bras : l'oedème et les rougeurs consécutives à l'injection ont une surface presque deux fois plus étendue à 23h. qu'à 11h. (REINBERG et SMOLENSKY,1982).
Si l'administration est généralisée, les effets chronesthésiques sont à distinguer des effets chronopharmacocinétiques. Cette distinction n'est pas toujours réalisable pratiquement; c'est pourquoi on n'envisage, dans certains cas, que la notion de chronergie reprenant les notions de sensibilité et de biodisponibilité du système-cible.

3°) Chronergie.

Le concept "chronergie" exprime les changements rythmiques d'un agent physique ou chimique, du point de vue effet désiré (chrono-efficacité) ou non (chronotoxicité), sans déterminer s'il s'agit d'un processus chronesthésique ou cinétique. Les temps de concentration maximale de l'agent et de susceptibilité maximale du système-cible peuvent coïncider. Dans ce cas, les effets de l'agent ingéré (médicament ou toxique) seront plus intenses. S'ils ne coïncident pas, l'effet du médicament (ou autre substance) diminue jusqu'à être annulé.
Ex. La chronergie de l'alcool éthylique est fonction de la variation de sa concentration dans le sang et de la variation de la susceptibilité de la cible biologique (surtout cérébrale). Ainsi, une même dose d'alcool ingérée le matin se traduira par une faible ébriété et une forte concentration sanguine (donc alcooltest positif) tandis qu'elle provoquera l'effet inverse le soir... (REINBERG,1982).

La notion de chronergie prend aussi en considération la durée d'action d'une substance, durée pouvant donc varier selon l'heure d'administration de la substance ; par exemple, l'action antihistaminique d'un médicament (clémastine) donné à 7h. se maintient pendant un temps doublé par rapport à celle du médicament administré à 19h. (Reinberg,1982).

B) Effets qualitatifs.

Jusqu'ici, seuls les aspects quantitatifs de la chronopharmacologie ont été envisagés. Il existe cependant, bien que plus rarement observées, des variations circadiennes qualitatives :

Ex. Si on injecte de la NA (noradrénaline) dans l'hypothalamus latéral au début de la phase d'activité du rat, la consommation de nourriture est stimulée (appétit augmenté) tandis qu'elle est inhibée lors du repos (augmentation de la satiété) (REINBERG,1982).

Donc, une même substance à même dose peut avoir un effet inverse selon le temps biologique.

II. APPLICATIONS CLINIQUES : DE LA CHRONOPHARMACOLOGIE A LA CHRONOTHERAPEUTIQUE.

La chronopharmacologie peut aider à mieux contrôler et quantifier les effets de certains médicaments; ignorer l'existence de rythmes de susceptibilité de l'organisme obscurcit les résultats d'analyse : deux mêmes expériences menées à des moments distincts aboutiront à des conclusions différentes et parfois même divergentes.

Suite à ces observations, la chronopharmacologie préconise certaines précautions qui consistent en

- un "timing" de l'expérience (moment de l'administration d'un médicament, moment du test) en fonction des données physiologiques.
- une synchronisation des rythmes circadiens des animaux testés (REINBERG et HALBERG,1971; REINBERG et SMOLENSKY,1982).

Une fois ces précautions prises, il reste à rechercher les éventuelles variations circadiennes au niveau de l'intensité et de la durée des effets pharmacologiques.

Si le médicament testé présente des variations circadiennes des effets désirés ou non, un timing permet de maximiser l'action utile et de minimiser les conséquences indésirables.

Un des buts des études chronopharmacologiques, au point de vue des effets de médicaments en relation avec les rythmes biologiques, est la chronothérapie.

Selon l'hypothèse homéostasique, il faut administrer un médicament à doses égales et équidistantes pour maintenir sa concentration sanguine stable et son effet constant.

En raison des données qui viennent d'être développées, concernant la chronesthésie et la chronopharmacocinétique, il apparaît que pour certains médicaments, ce type d'administration entraîne un taux infraliminaire (donc inefficace) à certains moments et supraliminaire (donc toxique) à d'autres moments de la journée.

La chronothérapeutique vise à chrono-optimaliser le traitement afin d'augmenter son efficacité et de réduire ses effets secondaires.

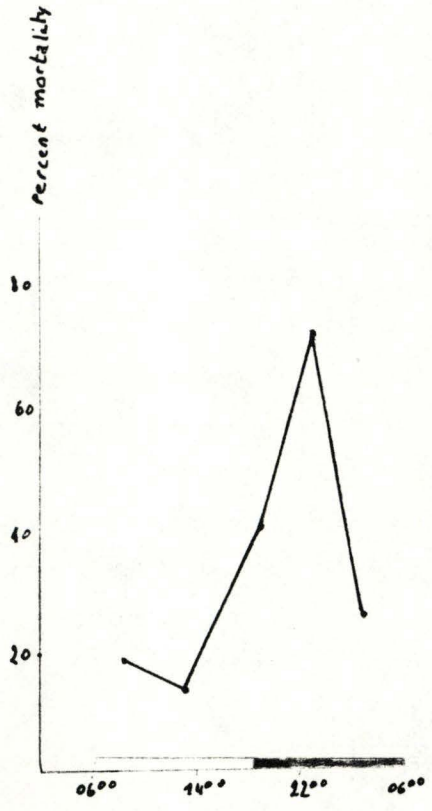


Fig. 2-4.

Variation circadienne de la susceptibilité des rongeurs à l'ara-C.

Deux domaines font l'objet de recherches approfondies en chimiothérapie : la cancérologie et la corticothérapie.

II.1 Chimiothérapie anticancéreuse.

L'efficacité chimiothérapeutique d'agents anticancéreux dépend des réponses au traitement des tissus tumoraux et sains. La chronothérapie vise deux objectifs principaux :

- une chrono-efficacité maximale sur les tissus tumoraux, en choisissant l'heure d'administration optimale des médicaments en fonction de la sensibilité des cellules néoplasiques : ce but peut être atteint éventuellement en tentant de synchroniser préalablement les phases de mitoses des cellules tumorales.
- une chronotolérance maximale des tissus sains, en adaptant les doses en fonction de la tolérance au moment considéré (SCHEEN et LUYCKX,1985).

Exemples :

1) Comparaison du taux de survie chez la souris, traitée par l'ara-C (1-β-1) - arabinofuranosyl-cytosine - selon un modèle chronobiologique ou non. (REINBERG,1978; REINBERG et HALBERG,1979; SCHEEN et LUYCKX,1985).

Une variation circadienne de la résistance au cytosine arabinoside a été constatée chez la souris : une même dose injectée pendant 6 jours induit 75% de décès si l'administration est diurne et seulement 15% si l'administration est nocturne. (fig.2-4)

Cette découverte a été appliquée à la souris leucémique, L 12-10, chez laquelle différents modèles de traitement ont été testés et ont abouti à des résultats différents :

- selon le modele homéostasique, 240 mg/kg d'ara-C sont administrés toutes les trois heures, à dose constante.
- selon le modele sinusoïde, la quantité d'ara-C varie entre les administrations successives, selon une séquence sinusoïdale (6-16-30-43,5-49-43,5-30-16-6 mg/kg) par moment où la dose la plus élevée (pic de la sinusoïde) correspond à 20h.,12h. ou 4h.

group (no. = 20)	LD cycle	treatment schedule	highest dosage given at: time	phase of LD cycle	% survivors	significance (chi-square, Yates Cor. Factor)
1	8:16	homeostatic	NA	NA	0	
2	8:16	quasi-sinusoid A	20^{00}	middle of light span	55	
3	8:16	quasi-sinusoid A	12^{00}	latter part of dark	25	$p<0.05$
4	8:16	quasi-sinusoid A	04^{00}	early part of dark	5	
5	8:16	quasi-sinusoid B	20^{00}	middle of light	40	
6	8:16	quasi-sinusoid B	12^{00}	latter part of dark	25	$p<0.0005$
7	8:16	quasi-sinusoid B	04^{00}	early part of dark	5	
8	8:16	sinusoid	20^{00}	middle of light	80	
9	8:16	sinusoid	12^{00}	latter part of dark	30	$p<0.05$
10	8:16	sinusoid	04^{00}	early part of dark	10	
11	12:12	sinusoid	20^{00}	middle of light	40	$p<0.05$
12	12:12	quasi-sinusoid A	20^{00}	middle of light	55	

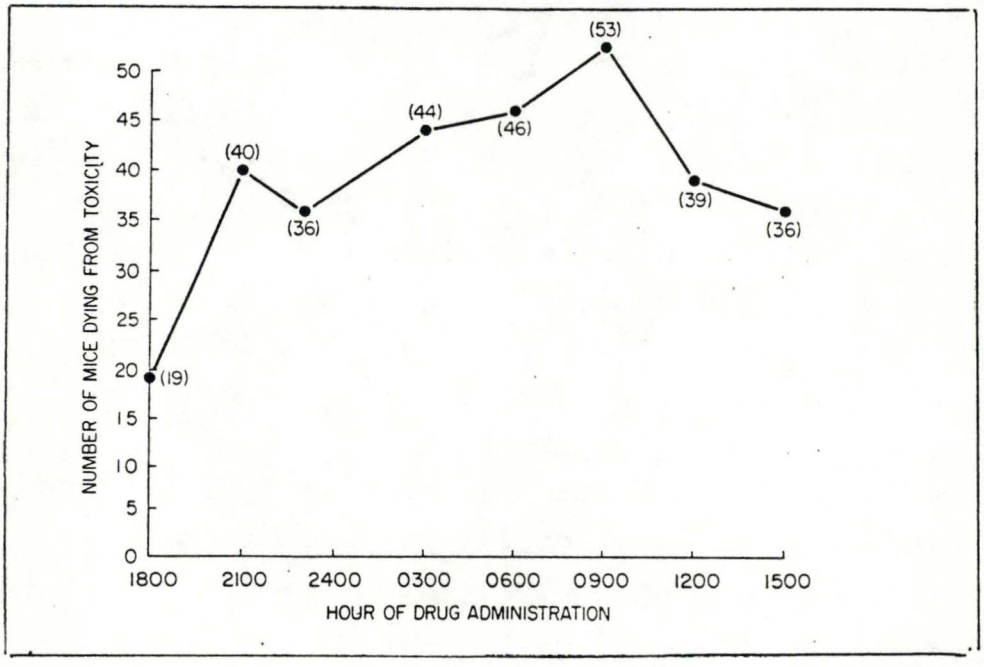


Fig. 2-5.

Pourcentage de souris atteintes de leucémie LI2-I0 tuées par cyclophosphamide en fonction du moment d'administration

- La méthode quasi-sinusoïde A utilise la séquence
  5-11-21-48-70-48-21-11-5 mg/kg;
  la méthode quasi-sinusoïde B propose la séquence
  7-26-32-36-38-36-32-26-7 mg/kg.

Le tableau ci-contre permet de comparer le pourcentage de survie en relation avec le mode de traitement.
Il montre que :

1. La plus faible toxicité est enregistrée si les plus fortes doses sont données au milieu de la période lumineuse qui correspond donc à la période de plus grande résistance.
2. La plus grande toxicité est atteinte si l'on a appliqué le modèle homéostasique.
   La toxicité est aussi importante si les dosages élevés sont administrés au tout début de la période d'obscurité.
3. Le modele sinusoïdal régulier induit une toxicité moindre par rapport aux autres.

2) Rythme circadien des réponses de la souris leucémique vis-à-vis d'une chimiothérapie par cyclophosphamide. (REINBERG, 1978, 1979)

Les effets thérapeutiques aussi bien que toxiques de la cyclophosphamide, sur des souris atteintes de leucémie L 12-10 sont associés à la phase circadienne.
L'influence de cette phase a été testée en mesurant le taux de léthalité et de guérison induits par la cyclophasmide.
Après standardisation à une alternance lumière-obscurité de période de 12 heures, des souris ont été inoculées avec 10^6 de cellules leucémiques L 12-10.
24 heures plus tard, la cyclophosphamide est administrée à 3 heures d'intervalle. Les résultats témoignent d'un taux maximal de guérison et de durée de vie (des souris non guéries) après traitement à 18 heures. Le traitement s'avère par contre le plus toxique à 6 heures et à 9 heures (fig.2-5).

La toxicité léthale paraît varier en fonction de la durée d'exposition à la lumière ou à l'obscurité avant le traitement : elle diminuerait proportionnellement à la longueur de la période d'éclairement : de la 3e à la 12e heure d'exposition à la lumière l'incidence de mortalité décroît de 64%.

3) La cisplatine et le moment thérapeutique (SCHEEN et LUYCKX, 1985).
La cisplatine, médicament très employé en cancérologie mais toxique au niveau rénal, digestif et hématologique, est mieux toléré chez le rat lorsqu'il est administré durant la première phase d'activité nocturne. Ces variations, notamment de la tolérance rénale, peuvent être expliquées par des modifications de la chronesthésie. (Ex. : variation de l'activité métabolique des enzymes du tubule proximal rénal) et de la chronopharmacocinétique (variation circadienne de l'élimination urinaire du médicament : toxicité moindre lorsque le volume urinaire est maximal). Les résultats obtenus chez le rat ont été retrouvés chez les femmes atteintes du cancer de l'ovaire et de la vessie et traitées au cisplatine : son effet toxique au niveau du rein, du tube digestif et de la moëlle osseuse est moins marqué lorsque le médicament est administré à 18h. par comparaison à 6h.

Ainsi, la chronothérapie semble devoir jouer un rôle en chimiothérapie cancéreuse, car il est actuellement prouvé que plusieurs médicaments cytostatiques présentent une efficacité variable dépendant des rythmes biologiques.

Dans un domaine aussi préoccupant que la cancérologie, il est donc d'intérêt majeur de persévérer dans les recherches orientées vers la chronobiologie afin d'augmenter l'efficacité et peut-être réduire la toxicité des agents anticancéreux.

II.2 Chronothérapie des corticostéroïdes.

Dérivés synthétiques du cortisol ou de la cortisone, les corticostéroïdes possèdent certaines propriétés désirées de l'hormone naturelle (effets anti-inflammatoires, bronchodilatateurs,etc...), intéressantes en thérapeutique anti-rhumatismale ou anti-asthmatique, par exemple.

Malheureusement, un traitement conventionnel (homéostasique) aux corticostéroïdes déclenche des effets aversifs : ils sont capables d'inhiber la production d'ACTH hypophysaire, hormone stimulant la sécrétion des corticostéroïdes (surtout les glucocorticoïdes et les androgènes).
Il en résulte donc une chute critique de la production endogène du cortisol pouvant aboutir à un hypocorticalisme très dangereux pour le malade.
Or, dans la plupart des cas, ces effets dangereux sont dus à une utilisation homéostasique des corticoïdes : des doses égales et équidistantes sont administrées pour obtenir une action constante. Cette hypothèse, en fait, conduit d'une part, à une suppression de l'activité surrénalienne par l'altération du rythme circadien de l'axe pituito-surrénal et d'autre part, à l'altération d'autres rythmes circadiens (activité musculaire, métabolisme du Na^+ et H^+, concentration urinaire et plasmatique du 17-OHCS) (17 hydroxycorticostéroïde) (REINBERG,1978,1979,1982).

L'approche chronopharmacologique permet, quant à elle, d'éviter ces complications en donnant les corticostéroïdes à heures fixes, en harmonie avec l'activité corticosurrénalienne, de manière à respecter les sécrétions endogènes de l'ACTH et du cortisol et l'organisation temporelle du sujet.
L'acrophase du cortisol plasmatique se situe au voisinage de l'éveil matinal. En distribuant la dose quotidienne du corticostéroïde, fraction la plus élevée (2/3) donnée au réveil et le tiers restant en milieu de journée (15h., rien le soir) on suit plus ou moins le cycle naturel de l'activité corticosurrénalienne (REINBERG,1979).

La pertinence de ce type de dosage a déjà été établie dans plusieurs corticothérapies, notamment en cas d'insuffisance de la corticosurrénale : chez les animaux surrénalectomisés et chez les patients souffrant d'insuffisance surrénale, les rythmes circadiens de plusieurs fonctions physiologiques sont altérés. L'administration chez l'homme de doses appropriées de cortisol à des moments spécifiques de la journée (20 à 30 mg à 7h. et 5 à 10 mg à 12h.) améliore la sensation de bien-être, rétablit la performance et normalise la structure temporelle (REINBERG,1979, p.77-84).

Chez les patients souffrant d'arthrite rhumatoïde, un traitement au prednisolone (stéroïde de synthèse) est prescrit. Ce stéroïde administré tard le soir provoquera, entre autres, un changement du rythme circadien du flux urinaire, avec plus d'urine produite la nuit. Cette nocturie désagréable, surtout en cas d'arthrite sévère, peut être évitée en prenant la prednisolone le matin (REINBERG,1979, p.63).

Certains programmes de traitement seront peut-être réservés à l'avenir pour les thérapies où interviennent une variable chronobiologique; ainsi, il apparaît que certains phénomènes immunologiques et de rejet de greffe varient selon un rythme circadien : la réponse immune liée à la greffe rénale est maximale pendant la nuit (2h. à 8h.) avec un pic à 7h. Le nombre de rejets de greffe peut être atténué par un traitement aux glucocorticoïdes et à l'azathioprine.
Ce traitement pourrait être renforcé aux heures critiques afin d'obtenir une immuno-suppression maximale, d'autant plus que ces heures correspondent aux heures où la corticothérapie s'est révélée être la moins offensive (REINBERG,1979,p.57-62).

II.3 Psychotropes et chronopharmacologie.

Les psychotropes n'ont pas encore été soumis à une étude chronopharmacologique systématique et approfondie. Cet aspect ne peut donc être illustré que par un nombre réduit d'exemples. Parmi les psychoanaleptiques, le lithium, un anti-dépressif,

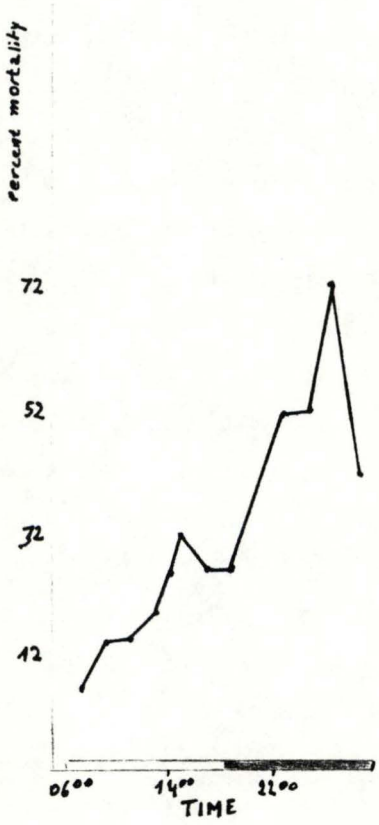


Fig. 2-6.

Variation circadienne de la susceptibilité des rongeurs à l'amphétamine.

fait partie des substances capables de modifier les caractères de certains rythmes.
Une expérience a été menée dans laquelle on a mesuré, chez des souris placées dans un environnement stressant, les réponses émotionnelles de base (comme la défécation) et les caractéristiques comportementales psycho-névrotiques (REINBERG, 1979,p.171-178).
Chez les souris soumises à un traitement au lithium, les pics d'activation du SNC (niveau de vigilance), du comportement névrotique et de réactivité émotionnelle de base sont situés respectivement à 1h12, 12h27 et 02h54. Sans lithium, les différents pics correspondent à 04h37, 20h46 et 04h37.
Les acrophases circadiennes de l'émotionnalité sont donc déplacées chez les souris traitées au lithium.
Ces observations suggèrent, théoriquement, l'existence de deux systèmes temporels de l'émotion exprimant une dissociation circadienne entre l'apparition des manifestations psychologiques (12h27) et neuro-viscérales (02h54).
Le lithium accentuerait donc la dissociation circadienne des deux modalités fonctionnelles de l'émotion, dépendant respectivement de structures sous-corticales et d'intégrations du télencéphale. Ainsi, dans le cas de psychoses maniaco-dépressives impliquant la désorganisation de sous-systèmes temporels avec épisodes de "désynchronisation interne", on pourrait suggérer l'hypothèse d'une resynchronisation grâce aux sels de lithium.

Une variation circadienne de susceptibilité à l'amphétamine a été mise en évidence chez les rongeurs : le pourcentage de mortalité va croissant depuis le début de la période d'éclairement (5%) jusqu'à une partie avancée de la nuit(72%) (fig.2-6) (SCHEVING,1980).

Le pentobarbital sodium, (PS) psycholeptique hypnotique, a été examiné sous un angle pharmacocinétique.
Dans une première expérience (PAULY et SCHEVING,1964), diffé-

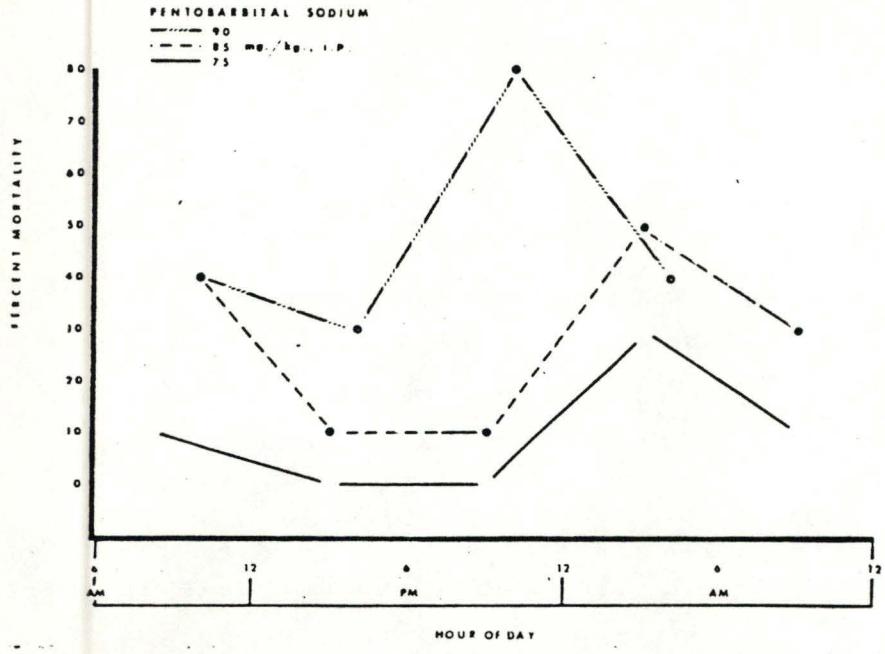


FIG. 2-7

Pourcentage de mortalité des rats blancs à différentes doses de pentobarbital sodium selon le moment d'administration

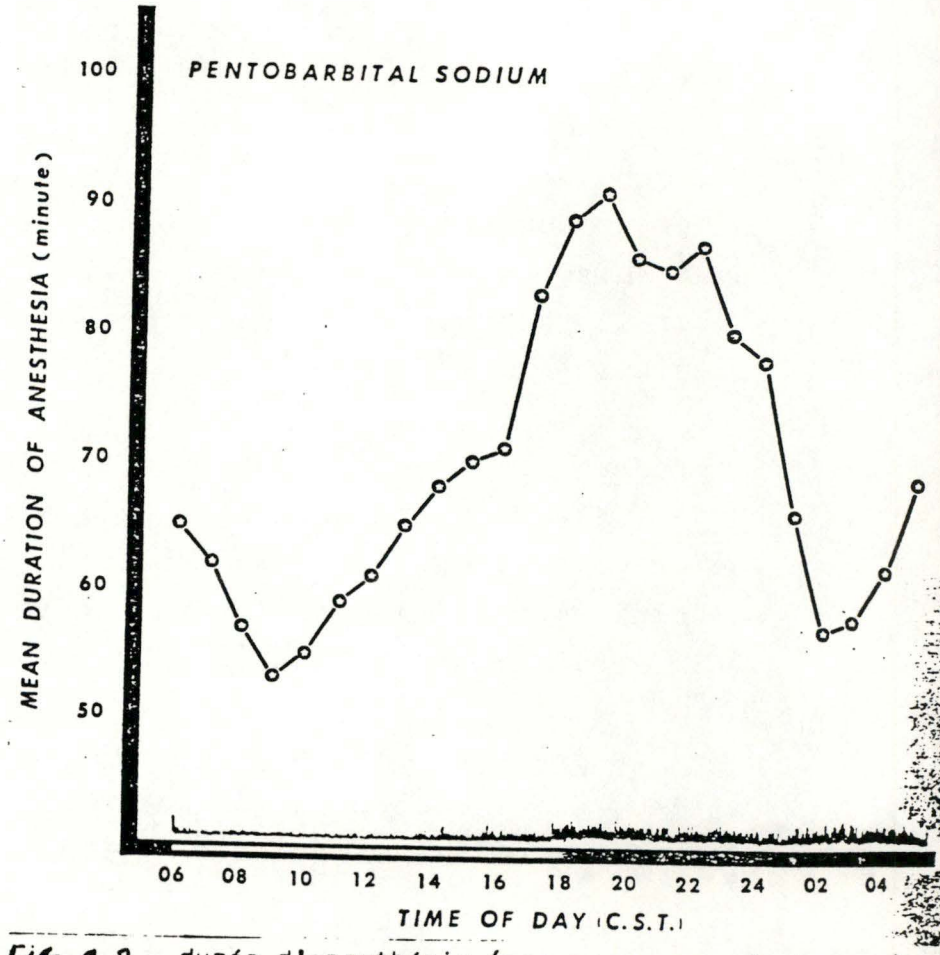


FIG. 2-8 durée d'anesthésie (moyenne sur trois heures) selon le moment d'injection du pentobarbital sodium chez le rat

rentes doses potentiellement léthales de P.S. ont été administrées à des rats, à des intervalles divers.
Pour les doses les plus élevées (90 mg/kg), la mortalité atteint un taux de 80% à 22h. alors qu'elle ne dépasse pas les 30% à 16h. (Eclairage de 6h. à 18h.)
Avec des doses plus faibles (75 et 85 mg/kg), le pic de mortalité se situe à 3h. et la susceptibilité minimale à 15h. (fig.2-7).
Dans une seconde recherche concernant la durée d'anesthésie engendrée par le P.S., 35 mg/kg ont été injectés par voie intra-péritonéale à des rats sous un régime de luminosité de 6-18h. (SCHEVING et al,1968).
L'anesthésie persiste le plus longtemps si elle est administrée à 18-19h. (91± 2,7 min.) et le moins longtemps à 9h. (fig.2-8).

L'activité hypnotique du diazepam et de ses métabolites (anxiolytiques) a été observée sur six patients mâles adultes (REINBERG,1979, p.159-169).
Le diazepam agit de la même façon le jour ou la nuit, tandis que ses métabolites hydroxylés (temazepam et oxazepam) voient leur activité diminuée pendant la journée.
Pourtant, de par leur structure semblable, on pourrait supposer à priori qu'ils sont affectés de la même manière pour la rythmicité circadienne; en fait, cette divergence de résultats pourrait être expliquée par les mêmes mécanismes que ceux observés pour le phénobarbitone et l'hexobarbitone : l'hexobarbitone, à courte durée d'action produit le plus long temps de sommeil s'il est administré à la fin de la période lumineuse, tandis que le phénobarbitone, à durée d'action prolongée, agit le plus longuement s'il est donné au tout début de la phase lumineuse.
Ces différences sont liées à un changement de la structure hépatique entre le début de la période d'obscurité et le début de la période de luminosité : le phénobarbitone en début de période de lumière ne produit pas de changement; la même

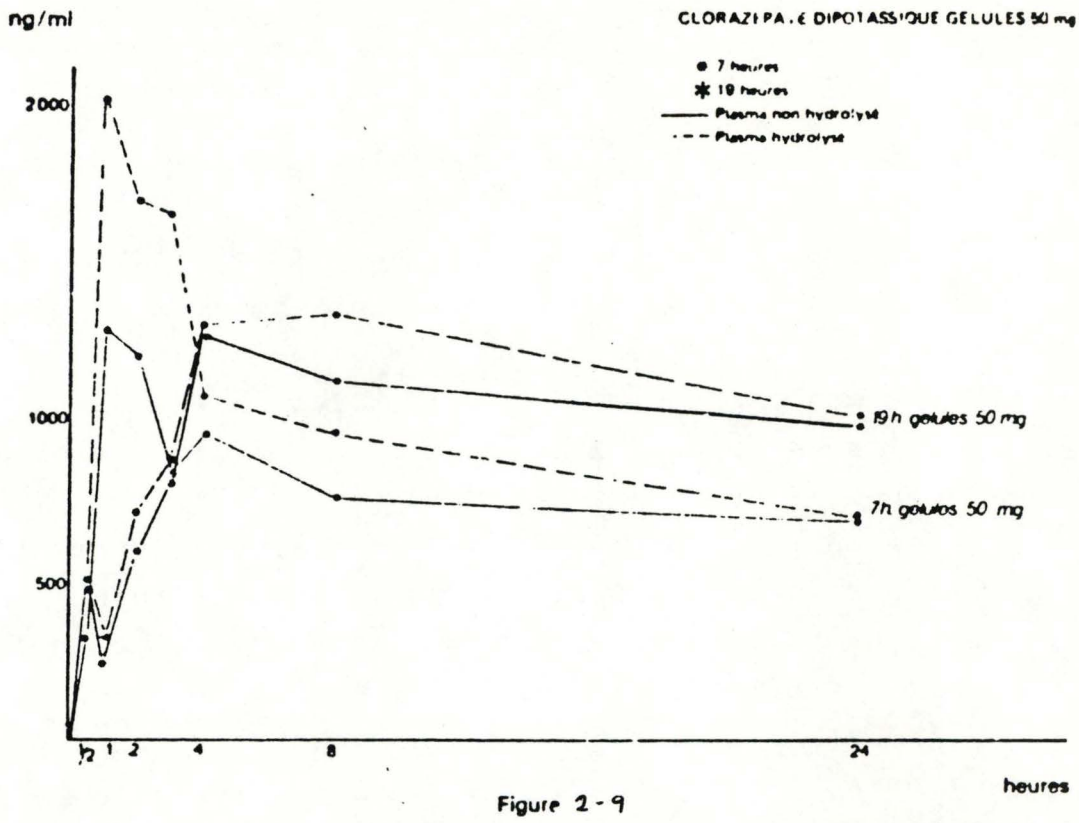


Figure 2 - 9

Taux plasmatiques de N-desmethyldiazépam chez un même sujet après ingestion de clorazépate dipotassique, à différentes heures (7 h. ou 19 h.), en une seule prise (sous forme de gélules) (Plasma hydrolysé - Plasma non hydrolysé).

dose en début de phase obscure conduit à la dilatation et à la fragmentation du réticulum endoplasmique.
De la même façon, le diazepam, à longue durée d'action (demi-vie de plusieurs jours), n'est pas soumis aux mêmes influences que le temazepam et l'oxazepam à courte durée d'action, dont les effets varient de ceux du diazepam à certains moments d'ingestion.

La pharmacocinétique du clorazepate dipotassique (C.D.) a été déterminée par chromatographie gazeuse sur du plasma, avant et après hydrolyse acide légère (AYMARD,1978). Les résultats sont présentés sur la figure ci-contre (2-9).
Le taux plasmatique de C.D. pris à 7h. évolue avec un premier pic après 1h. et un deuxième pic après 4h.; la première demi-vie (due à la distribution) est de 3h. et la seconde demi-vie (due à l'élimination) est de 40h.
Si la prise de C.D. a été effectuée à 19h., la distribution et l'élimination sont ralenties : le maximum ne sera atteint qu'après 4h., et la première demi-vie est de 30h.

CONCLUSION.

L'optimisation des moyens thérapeutiques par une approche chronopharmacologique apparaît comme une médecine nouvelle de grand intérêt théorique et pratique.

Outre les exemples présentés dans ce chapitre, l'influence potentielle du moment d'administration du médicament a pu être démontrée pour de nombreuses classes pharmacologiques touchant, soit la chronesthésie, soit la chronopharmacocinétique de la substance.

Dans certains cas, la chronothérapie est déjà devenue un dogme (corticostéroïdes) ou constitue une voie d'avenir prometteuse (cancérologie) mais son importance réelle en thérapeutique reste encore à préciser pour la plupart des produits pharmacologiques.

En ce qui concerne la clozapine (neuroleptique), aucune étude chronobiologique n'a encore été publiée à son sujet, ce qui constitue l'originalité du présent travail.

CHAPITRE III : LA CLOZAPINE.

I. NEUROLEPTIQUES CLASSIQUES.

I.1 Définition.

Les psychotropes, médicaments agissant sur l'activité cérébrale, regroupent trois catégories de substances :

- les psychoanaleptiques (psychotoniques et antidépresseurs)
- les psychodysleptiques ou hallucinogènes et
- les psycholeptiques (hypnotiques et sédatifs, anxiolytiques et neuroleptiques).

Les neuroleptiques -ou tranquillisants majeurs- ont la propriété de suspendre certains troubles mentaux.
On les subdivise en deux groupes :

- les neuroleptiques classiques (phénothiazines et butyrophénones)
- les neuroleptiques atypiques, pourvus de propriétés distinctes. (cfr. 2e partie de ce chapitre)

Les neuroleptiques agissent sur diverses structures sous-corticales riches en dopamine. Leur intérêt réside dans leur pouvoir anti-psychotique : ils diminuent l'agitation, l'anxiété, l'agressivité; améliorent les états d'hallucination, les délires d'interprétation, les agitations psycho-motrices, les symptômes graves d'inadaptation sociale dans des maladies comme la schizophrénie et les paranoïas (EISELE, 1984).

- A long terme, ils diminuent le risque de rechutes, fréquentes dans les désordres psychotiques.
- Ils possèdent des propriétés sédatives et anxiolytiques, sans modifier de façon importante l'état de veille des sujets traités : ils sont peu hypnotiques.

I.2 Effets sur le comportement.

Les neuroleptiques agissent sur de nombreux aspects du comportement, aspects mis en évidence lors des programmes de

conditionnement chez l'animal.

En effet :

. ils dépriment l'activité motrice spontanée -tout en laissant intacte la réactivité aux stimuli (BURKI,1974).
. ils diminuent la réactivité psychosomatique et sont à l'origine d'une indifférence affective.
. ils potentialisent l'effet hypnotique des barbituriques (psycholeptiques), bloquent l'effet de stéréotypie du comportement due aux amphétamines (psychotoniques).
. ils diminuent l'agressivité, inhibent les réactions à une stimulation nociceptive (douloureuse), par modification des relations entre ces stimulations de l'environnement et les réactions de l'animal. Cette modification leur vaut l'appellation de "déconnectants" (GIURGEA,1985; DE SCHRIJVER,notes de cours,1986).
. ils inhibent les réflexes conditionnés tel que l'évitement (DE SCHRIJVER, notes de cours,1986).
. ils induisent le ptosis palpébral (chute des paupières) (GIURGEA,1985).
. ils bloquent l'émésis (vomissements incoercibles) provoqué par l'apomorphine (GIURGEA,1985).
. ils atténuent le taux de réponse et perturbent leur distribution temporelle (FORD et FOWLER,1979).
. ils produisent la relaxation musculaire (BURKI et al,1974; GERLACH,1974).
. ils inhibent les défécations émotionnelles.

I.3 Mécanisme d'action.

. En bloquant les récepteurs à Dopamine, les neuroleptiques inhibent de façon temporelle et réversible l'activité de divers systèmes neuronaux riches en dopamine et situés dans le système nerveux central et particulièrement dans le nigrostriatum, le système limbique, l'hypothalamus.
Le blocage, par feed-back positif, des neurones dopaminergiques se traduirait par une augmentation du taux de renouvellement (libération et élimination) de ce neurotrans-

metteur.

Application : Théorie dopaminergique de la schizophrénie :

La schizophrénie serait due en partie à un excès de D.A. dans le cerveau (système limbique).

Les neuroleptiques bloqueraient les récepteurs dopaminergiques grâce à leur conformation semblable à celle de la D.A. En se fixant ainsi dans le site récepteur à la place de la D.A., ils l'empêchent d'agir. Les neuroleptiques neutralisant ainsi l'excès de D.A. réduiraient les symptômes de la maladie.

. D'une manière générale, les neuroleptiques sont anti-amphétaminiques et antagonisent la stéréotypie provoquée par l'amphétamine.

. Le turnover de la N.A. (noradrénaline) dans le cerveau est amplifié sous l'action des neuroleptiques sans doute par un mécanisme identique à celui intéressant la D.A.

. Les neuroleptiques sont adrénolytiques : ils empêchent l'activité de l'adrénaline circulante, ce qui se traduit par un ralentissement cardiaque et une hypotension orthostatique (baisse de la tension en position debout).

. Les neuroleptiques sont anti-noradrénergiques.

I.4 Indications thérapeutiques.

. Les neuroleptiques sont efficaces dans le traitement
- des psychoses (schizophrénie, délires, manies, paranoïa,.
- de l'émésis.
- de la dépendance à l'alcool, aux barbituriques.
- des insomnies.
- de neutralisation des effets toxiques des amphétamines.
- de l'anxiété, de l'agitation psycho-motrice,...

Leur utilisation médicale est cependant limitée en raison de leurs effets secondaires.

I.5 Effets secondaires et toxiques.

. Le pouvoir antipsychotique des neuroleptiques est associé

à l'induction d'un syndrome extrapyramidal, phénomène neurologique comparable à la maladie de Parkinson. (La description du syndrome extra-pyramidal est développée en annexe). Ce syndrome E.P. est d'origine nigrostriatale, où les circuits de D.A. et d'ACH. (acétylcholine) sont couplés: les neurones dopaminergiques forment des synapses inhibitrices avec les interneurones cholinergiques.
Les neuroleptiques, en bloquant les récepteurs à D.A. diminuent ainsi l'arrivée de D.A. au niveau des interneurones cholinergiques, ce qui se traduit par une sécrétion augmentée d'ACH (DEAN et al,1975).
Le déséquilibre ACH-D.A. serait la cause du syndrome E.P.

. D'autres effets sont aussi observés :
- catalepsie (hypertonie musculaire).
- ptosis palpébral (fermeture exagérée des paupières).
- photosensibilisation.
- agranulocytose (disparition des polymorphonucléaires neutrophiles, d'où risques infectieux).
- gain de poids.
- indifférence émotionnelle.
- sédation psychomotrice.
- dépôt de mélanine dans les téguments (GIURGEA,1985; DE SCHRIJVER, notes de cours,1986).

. A long terme et à forte dose, les neuroleptiques sont responsables de lésions neurologiques irréversibles.
Les effets secondaires des neuroleptiques classiques limitent leur utilisation thérapeutique et expliquent l'intérêt porté à leurs nouveaux dérivés, telle la clozapine, de toxicité moindre.

II. NEUROLEPTIQUES ATYPIQUES - LA CLOZAPINE.

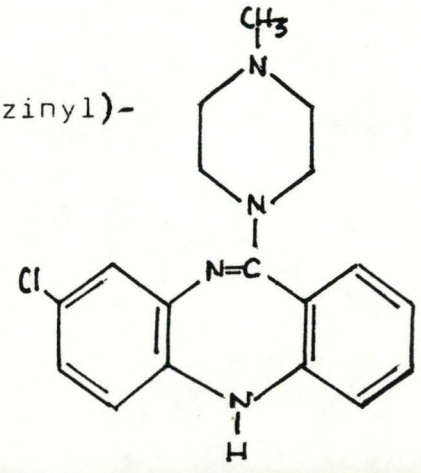
La clozapine est un composé dibenzodiazepine considéré comme un neuroleptique (action pharmacologique semblable). Quelques caractéristiques importantes la distinguent cependant des neuroleptiques classiques et lui valent la dénomination de neuroleptique "atypique" :

- activité sédative plus importante.
- effets secondaires bénins :
  - . peu ou pas de syndrome extrapyramidal.
  - . pas d'effet cataleptique (pas d'opposition à la stéréotypie due à l'apomorphine ou à l'amphétamine).

Introduite dans de nombreux pays européens depuis 1972, pour le traitement de désordres psychotiques, elle s'est révélée d'une efficacité supérieure aux autres neuroleptiques.
Ses avantages au niveau des effets secondaires et de l'efficacité expliquent l'intérêt que l'on porte à la clozapine à l'heure actuelle.

. Cependant, l'introduction en Finlande en 1975, de ce produit, s'est soldée par des troubles sanguins encore inexpliqués, surtout de l'agranulocytose, à une fréquence plus élevée que les troubles provoqués par d'autres neuroleptiques : 16 cas d'agranulocytose -dont huit mortels- furent enregistrés en deux mois, ce qui correspond à un taux de mortalité de 7%, de loin supérieur à celui observé lors d'essais cliniques dans d'autres pays (0,47%) (IDANPAAN et al,1977; ANDERMAN,1977).
Ce produit a ainsi été retiré du marché pour complément d'étude.

Formule chimique :
8-chloro-11-(4-Méthyl-1-pipérazinyl)-5H-dibenzo(b,e)(1,4)diazépine.



II.1 Propriétés pharmacologiques.

a) semblables aux autres neuroleptiques :
effets : antidopaminergique
antinoradrénergique (central)
antiadrénergique (périphérique).

b) caractéristiques de la clozapine :

1) au niveau S.N.C.

Les neuroleptiques augmentent le turnover de la D.A. dans le système limbique et dans le corps strié de la même façon tandis que l'augmentation due à la clozapine est plus importante au niveau limbique (blocage plus prononcé des récepteurs dopaminergiques) (GERLACH,1974; BARTHOLINI G., 1976).

Le blocage des récepteurs de la noradrénaline est plus intense chez les neuroleptiques atypiques, ce qui pourrait expliquer leur effet sédatif plus important (GERLACH,1974; BURKI,1974; SOUTO,1979).

La clozapine présente un effet anticholinergique central et périphérique : elle diminue l'activité spécifique et le taux de synthèse de l'ACH. endogène (BURKI,1974; DEAN et al,1975; SOUTO,1979).

Le mécanisme est encore très incertain (niveau présynaptique ou récepteurs).

La clozapine possède aussi une action antisérotonergique (FINK et al,1984).

2) au niveau périphérique (EKBLOM et HAGGSTROM,1974; GERLACH et al,1974).
- noradrénolytique
- sympathicolytique
- parasympathicolytique
- anticholinergique

II.2 Propriétés comportementales.

La clozapine provoque des effets comportementaux, similaires aux neuroleptiques classiques (cfr. plus haut), mais aussi des effets propres :

. elle inhibe le comportement d'évitement comme les neuroleptiques classiques, mais nécessite une dose plus élevée pour obtenir un effet équivalent (BURKI et al,1974; EKBLOM et al 1974).

. elle inhibe la réaction d'éveil induite par stimulation électrique.

. chez le rat soumis à un programme F.I., (cfr. annexe 2), la clozapine à faible dose (5mg/kg) augmente le taux de réponse tandis que l'effet inverse se produit à dose plus élevée (20mg/kg) (CANON et LIPPO,1975).

. chez le rat en FR_{20} (programme exigeant un taux de réponse élevé, contrairement au F.I.), elle diminue le taux de réponse mais augmente la durée de réponse (CANON et LIPPO, 1975).

II.3 Effets secondaires propres à la clozapine.

La clozapine ne protège pas les animaux contre la stéréotypie induite par l'apomorphine, l'amphétamine (BURKI,1974; EKBLOM et HAGGSTROM,1974; GERLACH,1974; CHOUINARD,1976; SOUTO,1979).

Des effets secondaires bénins ont été observés :

- ataxie (COHEN,1981).
- hypersalivation (GERLACH,1974; CHOUINARD,1976).
- tremblements (CHOUINARD,1976).
- somnolence, apathie (CHOUINARD,1976).
- constipation.
- hypotension, tachycardie (serait due à l'effet potentiel atropinique de la clozapine) (GERLACH,1974; CHOUINARD,1976; COHEN,1981, dans CHLEIDE, mémoire 1986).
- mordillements, grattages.
- diminution du diamètre de la pupille.

Selon les auteurs, le taux d'agranulocytose serait semblable ou plus élevé sous l'action de la clozapine (GERLACH, 1974; ANDERMAN,1977; IDANPAAN et al,1977; POVLSEN et al,1985).

La clozapine est dépourvue d'effets cataleptique et extrapyramidaux.

L'absence de ces effets extrapyramidaux pourrait être due au mécanisme suivant : au niveau du corps strié, les neurones dopaminergiques forment des synapses inhibitrices avec des interneurones cholinergiques; ainsi, les neuroleptiques, en bloquant le système dopaminergique, qui lui-même inhibe normalement le système cholinergique, provoquent un déséquilibre entre les deux systèmes de neurotransmission; ce déséquilibre pourrait être à l'origine du syndrome extrapyramidal. Or la clozapine agit moins au niveau du striatum que les neuroleptiques classiques et perturbe donc moins l'équilibre D.A.-ACH. De plus, son effet anticholinergique assure une diminution d'ACH et restaure ainsi l'équilibre entre les deux neurotransmetteurs; d'où absence d'effet extrapyramidal (DEAN et al,1975; SOUTO et al,1979; DE SCHRIJVER, cours 1986).

II.4 Conclusion : Intérêt de l'utilisation de la clozapine.

- On a constaté chez les schizophrènes, une amélioration de l'anxiété, de la désorganisation conceptuelle, du retard moteur, du maniérisme.... suite à l'utilisation de la clozapine.
- De plus, la plupart des troubles psychotiques semblent maîtrisés dès le 14e jour du traitement.
- L'effet sédatif de la clozapine est rapide et prononcé.
- Enfin, la clozapine induit des effets secondaires neurologiques relativement bénins.
- Tous ces avantages expliquent l'intérêt porté à la clozapine en vue d'une application clinique en psychiatrie peut-être plus bénéfique que celle des neuroleptiques classiques.

CHAPITRE IV : L'HABITUATION AU STRESS.

I. LE STRESS.

I.1 Définition du stress.

Le terme "stress" désigne la réponse non spécifique et non sélective de l'organisme à un stimulus reconnu comme néfaste ou troublant (=agent stresseur) (SELYE, 1950, in EMILIEN, 1981). La réaction de stress commence quand l'individu sent qu'une valeur importante est menacée et que ses actions ne parviennent pas (ou difficilement) à rétablir les conditions optimales pour cette valeur (WELFORD in EMILIEN, 1981).
Le stress résulte donc d'un déséquilibre entre la demande faite à l'organisme et la capacité de celui-ci.

La réaction de stress, induite dès que le cerveau signale l'attaque de l'agent stresseur, se manifeste sous forme de processus successifs, appelés "syndrome général d'adaptation". Celui-ci se divise en trois stades :

1) La réaction d'alarme ou d'urgence : chez les vertébrés, le stimulus nocif produit une réponse non spécifique de l'hypophyse antérieure qui libère de l'ACTH (adreno-corticotrophic hormone ou cortico-stimuline), activant ainsi la sécrétion d'hormones du cortex surrénalien (glucocorticoïdes, minéralocorticoïdes et stéroïdes sexuels).
Ces substances vont déclencher un catabolisme général des protéines qui vont être converties en glucose, ce qui aura pour effet de maintenir la concentration du glucose sanguin. Ces changements physiologiques reflètent la réponse initiale à un stimulus stresseur et possèdent une valeur de survie pour l'organisme lui permettant de faire face à la situation.
2) Si le stress se prolonge, l'organisme entre alors dans le stade de résistance : à ce moment, les changements physiologiques du premier stade s'arrêtent et sont utilisés pour l'adaptation de l'animal à la situation.

3) Le stade d'épuisement est dû à une exposition très prolongée à l'agent stressant; dans ce cas, l'organisme ne peut plus répondre par une réaction d'alarme ou de résistance car l'hypophyse et le cortex surrénalien ont perdu la capacité de sécréter des hormones.
L'individu dans ces conditions ne peut plus s'adapter et développera des problèmes physiologiques (cardiovasculaires, rénaux...) pouvant même entraîner la mort (SELYE, 1956, dans EMILIEN,1981; BOVARD,1959).

Les stimuli responsables de la mise en route de ces réactions en chaîne sont classés en :
- stimuli physiques : il s'agit d'énergies heurtant l'organisme et constituant une réelle menace (TEICHNER,1968).
  Ex.: le froid, les radiations.....
- stimuli psychologiques : ils peuvent être la conséquence de stimuli physiques. Les effets additionnés des deux types de stimuli se traduisent par une déplétion accélérée des protéines et carbohydrates. Mais ils peuvent agir seuls, en représentant, symbolisant une menace pour l'individu.
  Ex.: immobilisation forcée, bruit,...

Le syndrome général d'adaptation peut être déclenché par les deux types de stimuli.
La différence importante réside dans le fait que le stresseur psychologique n'agit pas directement sur les cellules de l'hypophyse mais son action est médiatisée par le S.N.C.; la réponse surréno-pituitaire est stimulée par excitation de l'hypothalamus postérieur; celui-ci va alors libérer un chimiotransmetteur qui induira la réponse de l'hypophyse antérieure.

I.2 Variation de la R.S. (réponse de stress)

Comme nous l'avons fait observer au § précédent, la réaction de stress apparaît lorsque s'établit un déséquilibre entre une demande faite à l'organisme et la capacité à répon-

dre de cet organisme.
Cette capacité varie individuellement, en fonction
- des conditions sociales
- de l'environnement
- de l'entraînement (=expérience antérieure)
- de facteurs innés.

a) Effet des stimuli sociaux : Ces stimuli joueraient un rôle important de support psychologique lors de situations stressantes; les exemples sont nombreux :
   . Une chèvre soumise à un stimulus conditionné monotone et séparée de sa mère développe des signes traumatiques de névrose, qui n'apparaissent pas si la mère est présente (BOVARD,1959).
   . La formation d'ulcère chez le rat vivant une situation de conflit chronique est plus conséquente si l'animal est testé seul plutôt qu'avec d'autres (BOVARD,1959).
   . La prise simultanée de LSD par un groupe de personnes réunies, provoque moins d'anxiété, moins de comportements inadaptés, etc... qu'en cas d'absorption solitaire (BOVARD,1959).
   . Anesthésier un patient en vue d'une opération chirurgicale est chose plus aisée si l'anesthésiste a rendu visite à son patient la veille (BARTLETT,1954).

Ainsi, la présence d'individus de la même espèce joue un rôle protecteur vis-à-vis des situations stressantes : le stimulus social entrerait en compétition avec le stimulus stresseur et l'inhiberait.
Une hypothèse mettant en jeu l'hypothalamus a été émise : la présence d'un animal de même espèce diminuerait l'activité de l'hypothalamus postérieur de l'organisme stressé et de ce fait atténuerait aussi la réponse surréno-pituitaire. Le mécanisme serait le suivant : il existerait un effet inhibiteur réciproque entre l'hypothalamus postérieur (où arrivent les stimuli nocifs responsables du catabolisme protéique) et l'hypothalamus antérieur (aux fonctions anaboliques, et où abou-

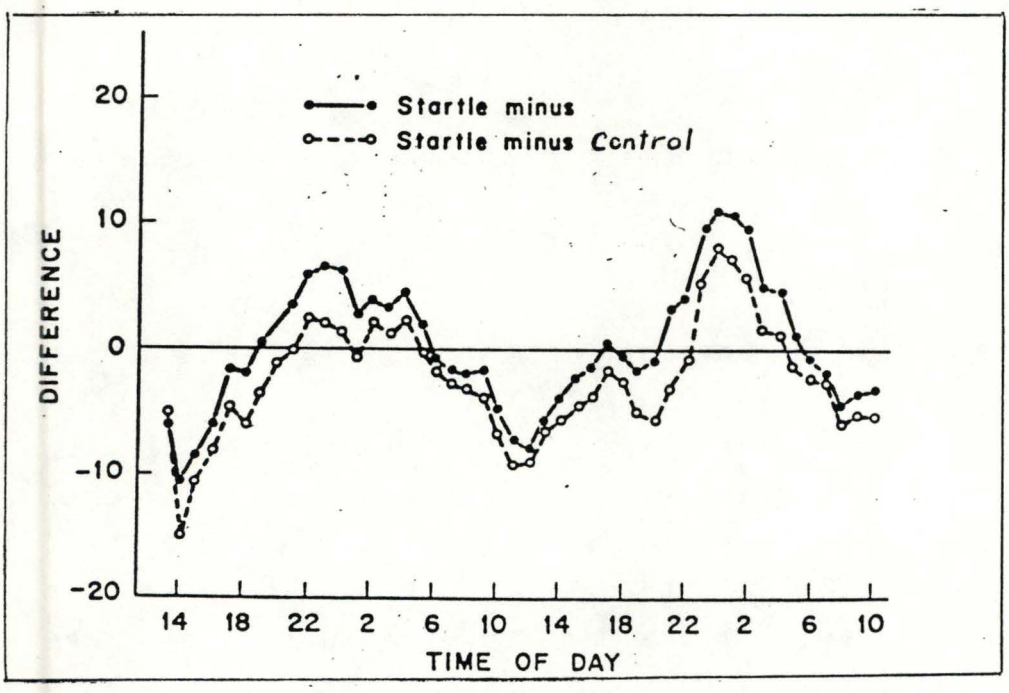


Fig. 4-I.
Rythme circadien de la réponse de sursaut du rat soumis à un stimulus auditif
(contrôle= activité sans stimulus)

tissent les stimuli sociaux).
La présence d'un membre de même espèce, en stimulant l'hypothalamus antérieur, inhiberait l'hypothalamus postérieur et ses centres qui médient la réponse neuroendocrine au stress.

b) L'environnement : agit sous de multiples aspects.
Exemples :
. La réponse de sursaut chez un rat soumis à un stimulus acoustique est facilitée si ce stimulus est accompagné d'un bruit de fond sonore, d'intensité moindre (HOFFMAN et SEARLE, 1965).
L'alternance L/O influence aussi la réponse de stress : chez le rat, l'amplitude du sursaut engendré par un son, varie en fonction du rythme circadien de luminosité (fig.4-1) (SOLLBERGER et DAVIS, 1972).

c) Histoire antérieure :
. Des rats manipulés au cours de leur développement ontogénique présentent à l'âge adulte une tolérance plus grande vis-à-vis des stresseurs ultérieurs (STERN et al 1960; JADOUL C., mémoire de licence en Sc. zool. 1986).

d) Influence génétique :
. Certains individus seraient génétiquement prédisposés à développer une maladie spécifique (hypertension, ulcère) (LEVI et KAGAN, dans EMILIEN, 1981).
. La réponse de stress diffèrerait entre des rats de souches différentes (albinos, hoodeds) (MOYER, 1962).

I.3 Conséquences physiologiques, neurophysiologiques et comportementales.

Quelle que soit la nature de l'agression stressante : conflit, chaleur, froid, bruit, peur, émotion, qu'elle soit ressentie comme agréable ou désagréable, elle provoque, chez tous les individus, des réactions semblables :

- Au niveau neurophysiologique, on note une augmentation générale de l'activation : les impulsions afférentes stimulent la formation réticulaire du tronc cérébral, ce qui se traduit par une excitation corticale diffuse (TEICHNER, 1968).

- Le système sympathique est activé, ce qui entraîne
  . une accélération du rythme respiratoire
  . une augmentation de la fréquence cardiaque
  . une tension musculaire
  . la libération d'un flot d'hormones (ACTH) activant ainsi le fonctionnement de certains organes (BOVARD,1959).
- Le poids corporel diminue, ainsi que celui de certaines glandes endocrines : l'hypophyse (dont la production d'ACTH augmente), l'ovaire (avec une diminution parallèle de son activité).... Par contre, la thyroïde voit son poids augmenter (suite à une augmentation de sa densité colloïdale), comme les surrénales (sécrétion augmentée des corticostéroïdes). Le poids de certains organes (foie, rate...), diminue également.
- Au point de vue comportemental : certaines expériences stressantes consistant en une résolution de calculs mentaux en un délai temporel limité, ont mis en évidence des désordres comportementaux, de l'agressivité, des états dépressifs (EMILIEN,1981).

II. L'HABITUATION AU STRESS.

II.1 Définitions et propriétés.

L'habituation peut être définie simplement comme étant la diminution d'une réponse à une stimulation répétée. Par diminution de réponse, on sous-entend diminution de l'amplitude et de la durée de réponse ainsi qu'augmentation de son temps de latence (MOCKWORTH, 1968).

Il s'agit d'un processus central et donc non attribuable à une fatigue ou adaptation de récepteurs suite à une accumulation de métabolites au niveau de la plaque motrice (RINALDI et THOMPSON, 1983).

L'habituation se distingue également du phénomène d'extinction (atténuation et disparition d'une réponse conditionnée quand le stimulus conditionnel est envoyé seul, c'est-à-dire sans stimulus non conditionnel.-Cfr. PAVLOV et le conditionnement classique), car elle se rapporte à une réponse non conditionnée, s'obtient beaucoup moins facilement et consiste en un changement de réponse plus temporaire (WATTS, 1970) Enfin, elle diffère du conditionnement d'inhibition où la réaction est associée à une réaction dominante antagoniste (RAZMAN, 1971).
L'habituation s'oppose directement à la sensibilisation qui se caractérise comme l'augmentation de l'intensité des réponses au cours de la répétition du stimulus.

THOMPSON et SPENCER (1966) ont énoncé les nombreuses propriétés de l'habituation, dont voici les principales :

- La réponse décroît généralement de manière exponentielle.
- La réponse retrouve son amplitude initiale après un arrêt plus ou moins prolongé de la stimulation.
  C'est la "Restauration spontanée" ou "Récupération".
- Cette restauration peut également être obtenue, sans pauses, en appliquant un autre stimulus, habituellement plus fort.
- Il y a rétention de l'habituation car au cours de l'application de séries de stimuli, séparées par des pauses suffi-

samment longues pour permettre la restauration spontanée, l'habituation devient plus rapide.
Il existe donc une "habituation à long terme" : l'expérience du premier jour aurait un effet sur les jours suivants, suscitant une dépression durable de la réponse.

. L'habituation s'établit d'autant plus rapidement que la fréquence du stimulus est grande et son intensité faible.
. Bien que le déclin de réponse soit spécifique d'un stimulus particulier, l'habituation de la réponse à un stimulus peut se généraliser à d'autres stimuli, dans la mesure où leurs différences ne sont pas trop importantes, ce qui permet de les confondre.
. L'habituation produite par la répétition de stimuli augmentant graduellement en intensité est supérieure à celle obtenue apres une série de stimuli d'intensité égale à la dernière stimulation. (CEtte dernière caractéristique a été mise en évidence par DAVIS et WAGNER, 1969).

L'habituation se révèle comme un processus vital : en cessant de répondre à des stimuli extérieurs non significatifs pour sa survie, l'animal peut économiser son énergie et accorder plus de temps et d'attention à d'autres aspects environnementaux essentiels et d'autres activités (alimentation.....).
Ce mécanisme peut être considéré comme l'un des plus importants donnés à l'être humain pour s'adapter à une société moderne stressante.

En résumé, on peut donner une définition plus complète de l'habituation en la désignant comme le phénomène, général et vital, d'accoutumance d'un organisme, consistant en une diminution lente d'une réponse à des stimulations sensorielles répétées sur le SNC et ayant perdu leur signification.

II.2 Processus impliqués dans l'habituation.

Plusieurs théories, dont nous ne reprendrons que les

principales, se confrontent pour tenter d'élucider les mécanismes sous-jacents à l'habituation; ces théories se rangent essentiellement en deux courants :

- le premier considère l'habituation comme le résultat d'un processus actif d'inhibition requérant l'intervention des centres nerveux supérieurs.
- le second étaye l'hypothèse d'un processus passif d'inhibition localisé principalement au niveau de la voie S-R (Stimulus-Réponse), c'est-à-dire la voie entre les récepteurs sensoriels du stimulus et les cellules responsables de la réponse.

A. Théories centrales.

- La théorie formulée par SOKOLOV (1960) a suscité un intérêt notable (HORN, 1967; GROVES et THOMPSON, 1970).
Elle se résume comme suit : un signal afférent est conduit au cortex sensitif et, via les collatérales axoniques, vers la formation réticulaire. L'accès du signal à la formation réticulaire (F.R.) est contrôlé par des fibres originaires du cortex lequel détient déjà une représentation neuronale des stimuli qui lui sont parvenus dans le passé.
Si le signal entrant correspond à cette représentation, les impulsions du cortex empêchent les signaux des collatérales afférentes d'activer la formation réticulaire (qui normalement favorise la production de réponses). La force de la réponse sera donc atténuée. Si le stimulus est nouveau (ou est altéré), il ne correspond pas au modèle; à ce moment, les décharges descendant du cortex facilitent le passage des signaux des collatérales axoniques vers la F.R. L'inhibition est levée, l'amplitude de la réponse n'est pas diminuée.

- STEIN (1966) propose un modèle basé sur le conditionnement classique : le stimulus, dans cette théorie, affecterait deux sortes de systèmes dans le cerveau : le système excitateur qui peut déclencher la mise à feu du système inhibiteur.

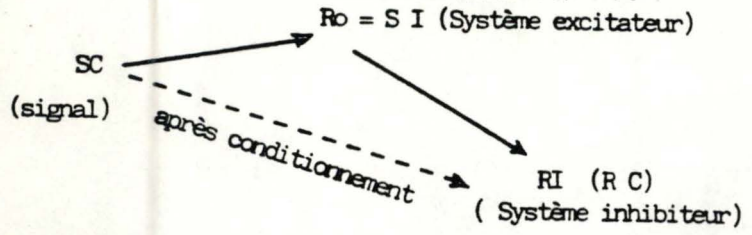


FIG. 4-2 la réponse originelle (Ro), c'est-à-dire la réponse suscitée par le stimulus neutre, est également le stimulus inconditionnel.

Ces deux systèmes contrôlent la réaction. Au début, le signal, considéré comme stimulus neutre, active le système excitateur, déclencheur de la réponse. Puis, au fur et à mesure des présentations successives du signal, celui-ci devient stimulus conditionnel et va activer le système inhibiteur anticipativement lequel inhibe alors la réponse. (Fig. 4-2)

B. Théories passives.

- Pour G.HORN (1967), les différents aspects de l'habituation sont explicables non par un processus actif mais par une diminution graduelle de la réponse d'un groupe de neurones à une stimulation répétée. Cette diminution serait due à une dépression autogénérée de la sensibilité au niveau de ces neurones.

- La théorie des processus duaux (THOMPSON et SPENCER, 1966; GROVES et THOMPSON, 1970; WATTS, 1979) envisage deux processus se développant indépendamment l'un de l'autre dans le SNC et interagissant pour produire le comportement final : ces deux processus, opposés, sont : l'habituation (diminution de réponse au cours de stimulations répétées) et la sensibilisation (augmentation de cette même réponse).

L'hypothèse des processus duaux est la suivante : un stimulus nouveau suscite une réponse par la voie S-R et influence l'état de l'organisme.

L'état correspond au degré d'excitation générale de l'organisme et est représenté par l'ensemble des systèmes (formation réticulaire, hypothalamus, système limbique....) qui déterminent le niveau de la capacité générale à répondre. Ces systèmes motivationnels et non spécifiques enverraient des influx sur les derniers interneurones de la voie S-R (où se dérouleraient les processus de déclin de la réponse) pour moduler la réaction motrice lors de la réitération du stimulus.

Au cours des premières présentations du stimulus, l'état d'excitation de l'animal, dû à la nouveauté de la situation, est tel que la réponse va en augmentant : il y a sensibilisation.

Puis l'animal s'habitue suite à une diminution de son état d'excitation et à une dépression synaptique dans la voie S-R.

- D'autres théories considérant l'habituation comme un phénomène passif ont été proposées; l'habituation résulterait :
- d'une diminution de sensibilité des récepteurs sensitifs périphériques (HERNANDEZ-PEAN, 1960, dans GROVES et THOMPSON, 1970) ou
- d'un conditionnement temporel des muscles de l'oreille moyenne (WEBSTER, 1965) ou
- d'une altération de la transmission synaptique (SHARPLESS, 1964, dans GROVES et THOMPSON, 1970; THOMPSON et SPENCER, 1966), soit par inhibition synaptique (postsynaptique par hyperpolarisation ou présynaptique par dépolarisation).
- de l'action d'un système inhibiteur cholinergique (CARLTON, 1968).

C. Conclusion.

Chaque théorie, de l'un ou l'autre courant, est corroborée par des arguments valables mais n'éclaircit jamais à elle seule toutes les expérimentations concernant l'habituation. Ainsi, l'observation d'une habituation chez des animaux sans cortex cérébral à qui l'on a pratiqué l'exérèse de la moëlle épinière (ex. : habituation du réflexe de flexion chez le chat spinal), remet en question les théories centrales.
D'un autre côté, l'hypothèse d'un processus passif d'inhibition n'explique pas certains aspects de l'habituation : la réponse d'une cellule à un stimulus répété peut être déprimée pendant quelques minutes mais pas durant des heures ou des jours.

En fait, on peut partiellement élucider le problème en considérant deux types d'habituation indépendants :
l'habituation à court terme (HCT) et à long terme (HLT).

- L'HCT est un processus transitoire, se manifestant au cours d'une session et montrant une restauration spontanée dès la cessation du stimulus.
  Cette habituation s'expliquerait par un mécanisme passif car des lésions situées sur le trajet de l'axe réflexe, interfèrent avec l'HCT (JORDAN et LEATON, 1983).
- L'HLT est une habituation persistant jusqu'à plusieurs jours et impliquerait des structures de SNC.
  Ces deux processus sont indépendants car différemment affectés par l'effet de drogues (RINALDI et THOMPSON, 1983) et de lésions.

II.3 Ontogénèse de l'habituation.

Diverses études ontogéniques ont été menées au sujet de l'habituation. Toutes ont mis en évidence son caractère précoce : chez le rat, certaines réponses, par exemple : tourner la tête suite à l'envoi d'un jet d'air, manifestent une habituation dès le premier jour de la vie postnatale (FILE et PLOTKIN, 1974). De même, la réponse de retrait d'un membre

suscitée par un choc électrique a été étudiée chez des rats de 3 à 15 jours : l'habituation se manifeste chez tous les individus (CAMPBELL et STEHOUWER, 1980).
On a constaté, lors de ces deux études, une variation de la vitesse d'habituation selon l'âge :
le déclin de réponse est plus rapide pour les rats de 1 à 9 jours; ensuite de 10 à 15 jours, la tendance s'inverse, les rats plus âgés s'habituant beaucoup plus rapidement.
Il ne faut pas conclure à une habituation plus élevée chez les jeunes rats : le déclin plus lent chez les rats de 10 à 15 jours refléterait l'apparition de la sensibilisation à ce moment, d'où l'impression d'une habituation moindre chez les rats de cet âge (CAMPBELL et STEHOUWER).

Selon FEIGLEY et al (1972) et BRONSTEIN (1974), l'habituation du rat à un environnement nouveau est difficile à obtenir avant la troisième semaine postnatale; son développement serait parallèle à celui d'un mécanisme inhibiteur cholinergique au niveau du cerveau antérieur, (cortex, hippocampe) mécanisme n'apparaissant qu'entre la 3e et la 4e semaine postnatale. Ce mécanisme serait responsable d'une habituation plus rapide à partir de l'âge de 21 jours.
Ainsi, les 3e et 4e semaines postnatales représenteraient une période sensible au développement de l'habituation.

L'habituation, du point de vue phylogénétique, est universelle : elle se manifeste depuis les protozoaires et coelentérés jusqu'aux mammifères, en conservant ses caractéristiques de base à travers toute l'évolution (RAZRAN, 1971).

II.4 Variation de l'habituation.

L'habituation varie sous l'influence de divers facteurs, par exemple :

- l'âge (cfr. ontogénèse) : l'habituation de la réponse de sursaut à un stimulus acoustique se marque d'autant mieux que le rat est âgé (RINALDI et THOMPSON, 1983).
- facteurs génétiques : il existerait une différence sexuelle concernant l'HLT, celle-ci étant plus importante chez

les mâles que les femelles. (Cette différence n'apparaît que pour l'HLT et seulement chez les rats âgés). Des différences ont été observées entre deux souches de rats : les rats de souche Fisher s'habituent plus vite que les Sprague-Dawley (RINALDY et THOMPSON, 1983).

- Les caractéristiques du stimulus :
  - L'intensité : l'habituation est facilitée si l'intensité du stimulus augmente graduellement (à condition d'avoir de faibles variations), par rapport à une intensité constante.
  - L'intervalle inter-stimulus (IIS) : dans le cas d'un stimulus de forte intensité, l'habituation est facilitée dans sa phase initiale si l'IIS est long car les longs intervalles empêchent l'addition des effets.
    Si l'IIS est court, l'habituation est facilitée car chaque stimulus est envoyé pendant la période réfractaire conséquente au stimulus précédent (WATTS, 1979).
  - La longueur du stimulus : l'habituation prend place d'autant plus lentement que la durée de la stimulation est allongée.
- Les drogues stimulantes (amphétamines) retardent l'habituation tandis que les drogues sédatives (barbituriques) l'accélèrent (WEBSTER, 1965; WATTS, 1979).

CONCLUSION.

L'habituation représente une des possibilités adaptatives fondamentales des êtres vivants; sa présence précoce et universelle dans l'échelle phylogénétique et ontogénétique en témoigne. Les mécanismes sous-jacents à l'habituation se révèlent complexes; ils ne sont d'ailleurs pas encore entièrement élucidés à l'heure actuelle. Ils sont probablement différents pour chaque niveau phylogénétique car, même si l'habituation se manifeste de façon similaire chez tous les organismes - primitifs ou évolués - chez les êtres à SNC élaboré, les effets se révèlent durables et ce, beaucoup plus que s'il s'agissait d'une simple inhibition cellulaire périphérique.

HYPOTHESES DE TRAVAIL.

Notre expérience se divise en deux parties.

- En premier lieu nous étudions les effets de la clozapine sur l'activité générale du rat : son impact sur le rythme d'activité, sa durée et son mode d'action sont observés séparément à des moments déterminés (19h - 23h - 03h).
(L'étude comporte aussi une observation à 21h - 01h - 05h. Celle-ci n'est cependant décrite qu'en annexe pour simplifier la présentation des résultats).

Cette expérience préliminaire permet de vérifier l'action sédative de la clozapine sur le rat. De cette action doit résulter une diminution de l'activité psycho-motrice du rat.

Les effets aux trois moments d'administration sont ensuite comparés : nous pourrons ainsi découvrir si la clozapine agit différemment sur l'activité générale du rat en fonction de son cycle nycthéméral.

Cette hypothèse d'un éventuel <u>effet chronobiologique de la clozapine</u> repose sur la constatation suivante : l'activité du rat varie selon un rythme circadien. Le rat est plus actif la nuit, avec deux pics d'activité plus intense, l'un situé au début et l'autre à la fin de la période scotopique.

La clozapine pourrait donc diminuer l'activité du rat selon l'intensité de cette activité au moment de l'injection. Cette supposition s'appuie sur des observations antérieures mettant en évidence de telles variations d'effet. Ainsi, MUNSON, MANTUCCI et SMITH (1970 dans DAVIS 1982) ont démontré l'existence d'un rythme circadien au niveau de la concentration alvéolaire minimale d'halothane nécessaire pour anesthésier des rats : la concentration minimale nécessaire est la plus basse à midi et la plus haute à 20h.

Le même phénomène s'observe avec les anesthésiques barbituriques : des doses de pentobarbital plus importantes sont nécessaires la nuit pour anesthésier des rongeurs (DAVIS, 1982).

De même le délai d'obtention de l'efficacité maximale de différents anesthésiques varie.
Ces variations pourraient être dues en partie aux rythmes d'activité des enzymes métabolisant le médicament, lesquels sont liés aux rythmes circadiens.

- En second lieu, nous envisageons l'effet éventuel de la clozapine sur la réponse de sursaut (R.S.) et sur l'habituation au stress (H.S.).
Etant données les positions divergentes concernant l'impact des neuroleptiques sur ces deux points, les conclusions de cette expérience sont peu prévisibles.

Deux hypothèses peuvent être avancées :

- La clozapine n'influence pas la réponse de sursaut ni l'habituation au stress.
.Bürki (1974) lors d'une étude sur l'effet de la clozapine chez le rat, a observé une diminution de l'activité motrice spontanée; la réactivité aux stimuli semblait cependant intacte.
Si la réactivité n'est pas affectée, la réponse de sursaut ne doit pas présenter de différences significatives entre les rats drogués et les rats non drogués. Dans ce cas, l'habituation au stress ne devrait pas être modifiée.

- La clozapine atténue la réponse de sursaut et facilite l'habituation au stress.
Cette deuxième possibilité mettrait en cause les propriétés anxiolytiques que l'on reconnaît aux neuroleptiques. De plus, selon STILLE et al (1971), les neuroleptiques provoquent une déconnection vis-à-vis de l'environnement; la réactivité serait ainsi diminuée. L'atténuation de la réponse de sursaut pourrait aussi résulter d'un blocage psychomoteur tellement intense que le rat serait incapable de sursauter, même si le stress est considérable.
Si la réponse de sursaut est amoindrie par la clozapine, on peut supposer que l'habituation sera plus rapide.

Après avoir examiné les effets de la clozapine sur la réponse de sursaut et l'habituation au stress, nous tenterons de détecter une variation de ces effets en fonction du moment d'administration.

L'hypothèse de base relative à cette dernière étude se résume ainsi : la réponse de sursaut et l'habituation au stress seraient influencées par la clozapine à des degrés divers selon le moment de l'injection. L'impact serait plus profond aux moments où la clozapine s'est révélée plus efficace sur l'activité générale.

Enfin, les variations circadiennes de la réponse de sursaut et de l'habituation au stress seront considérées.
Les variations de la réponse de sursaut ont déjà fait l'objet d'études (HORLINGTON,1969; SOLLBERGER et DAVIS,1972); ces études ont démontré l'existence d'un rythme circadien de réponse de sursaut (voir chap.IV, fig.4-1).

Nous ne possédons aucune ressource bibliographique relative à une étude chronobiologique concernant l'habituation.

DEUXIEME PARTIE

EXPERIENCE

CHAPITRE V : MATERIEL ET METHODE.

I. Sujets d'expériences.

Pour notre expérience, 120 rats albinos mâles de souche Wistar, âgés d'au moins 70 jours ont été utilisés. Tous sont nés au laboratoire et ont été sevrés à l'âge de 23 jours.

Le rat a été sélectionné pour notre étude car il présente de multiples avantages : sa prolificité donne la possibilité d'examiner un grand nombre de sujets et cela en un laps de temps réduit; son taux de génération rapide permet d'augmenter la taille de la population initialement prévue dans le cas où les résultats expérimentaux nous font entrevoir l'intérêt d'une analyse plus approfondie de l'un ou l'autre point. De plus, le rat constitue un sujet d'étude fréquent quant aux tests d'habituation au stress; la littérature, à ce propos, peut donc nous aider dans l'interprétation des résultats. Enfin, l'appareil de mesure de stress dont nous disposons au laboratoire a été prévu et calibré pour ce genre d'animal.

Les femelles ont été écartées afin d'éviter l'introduction d'une variable supplémentaire dans notre programme. En effet, leur cycle d'ovulation (rythme infradien de période de 4 à 5 jours) aurait pu influencer leur activité et leur réactivité et rendre ainsi l'analyse plus délicate.

L'âge du rat testé a été fixé à une limite inférieure de 70 jours. A ce moment, l'animal est considéré comme adulte, c'est-à-dire mature du point de vue fonctions sexuelles, intellectuelles ... Il présente à cet âge un répertoire comportemental complet (postures, réflexes, activités fonctionnelles et sociales) et ses rythmes internes sont stabilisés (BOLLES et WOODS, 1964; RICHTER, 1972). Ainsi, on a constaté qu'à partir de 70 jours, le rat présente un rythme circadien dans sa réponse de sursaut (HORLINGTON, 1970); celle-ci apparaîtra plus ample pendant la phase d'activité du rat.
En deçà des 70 jours, la réponse de sursaut (R.S.) reste sensiblement constante et d'amplitude moyenne durant le cycle nycthéméral.

De même, le rythme de R.S. atteint un maximum vers les 90 jours puis diminue. Il convient donc d'établir aussi une limite d'âge supérieure pour contrôler la variable vieillissement, responsable d'une diminution progressive de l'activité et d'une modification des rythmes. L'âge limite choisi sera donc 90-100 jours.

II. Produit testé.

L'agent pharmacologique testé est la clozapine (Leponex^{R}) apporté directement, sous forme basique et pure, de son lieu de fabrication : le laboratoire Sandoz (Wander Division of Sandoz, Ltd, Bâle).

L'administration se fait par voie intrapéritonéale, ce qui garantit une action presqu'aussi rapide et efficace que la voie intraveineuse tout en présentant un aspect beaucoup plus pratique : les veines du rat étant d'accès malaisé.

La clozapine est diluée dans une solution physiologique (H_2O distillée + Nacl 0,9%).

Pour 20 rats utilisés par expérience, 40 mg de clozapine sont dissous dans 10 ml de solution. Une quantité minimale d'acide acétique glacial (environ 0,2 - 0,3 ml) est ajoutée jusqu'à l'obtention d'une dissolution complète.

Enfin, une quantité de NaOH 2,5 M (1,2 - 1,3 ml) est nécessaire pour rehausser le pH vers des valeurs de ± 6-7, compatibles avec le pH sanguin.

Il n'est pas nécessaire d'obtenir un pH précis étant donné la faible quantité de produit injectée (généralement inférieure à 1 ml).

La concentration finale varie selon la quantité de NaOH et Hac, entre 3,448 et 3,493 M; mais ces variations légères ne jouent aucun rôle puisque les quantités administrées sont ajustées en fonction de cette concentration : si celle-ci est faible, le volume injecté sera plus important et vice-versa. Ainsi, la quantité de clozapine reçue par le rat ne dépendra pas de la concentration.

Les rats reçoivent une dose de 8 mg/kg, dose choisie en fonction du but de l'expérience et des résultats d'expériences antérieures.
Le but est de montrer une différence entre le comportement du rat, drogué ou non.
Il y a donc tout intérêt à tester une dose maximale pour avoir un effet le plus net possible.
D'un autre côté, une dose trop élevée inhiberait trop fortement l'activité motrice ou la réactivité sensorielle du rat, et celui-ci risquerait de ne plus pouvoir réagir.
Le choix de la dose doit donc répondre aux deux exigences citées ci-dessus.
Ainsi, un prétest a été effectué au terme duquel, parmi trois doses différentes (4-6-8 mg/kg), celle de 8 mg/kg a été décidée.

Avant chaque administration, les rats sont pesés, précisément afin de déterminer la dose à injecter.

La moitié des rats reçoit une solution placébo, consistant en une solution physiologique H_2O distillée - NaCL 0,9%.
Les quantités sont calculées de la même manière que pour la solution de clozapine; le pH lui aussi correspond, dans les limites possibles, à celui de la solution-test.

III. Plateau capteur de vibrations.

Il s'agit d'un appareil de détection des mouvements du rat dont le principe de fonctionnement est basé sur l'inertie : une force appliquée sur un objet mobile entraîne la mise en mouvement de cet objet. Si ce dernier est monté sur un support de telle manière que ses points d'appui offrent une résistance minime, il peut réagir à des mouvements de faible intensité et commencer une oscillation amortie et détectable. En utilisant les propriétés d'un roulement à billes, on obtient une haute sensibilité et une grande indépendance vis-à-vis du poids et de la place réelle de l'animal car la résistance mécanique d'une bille minimise les variations inhérentes aux déplacements spatiaux de l'animal.

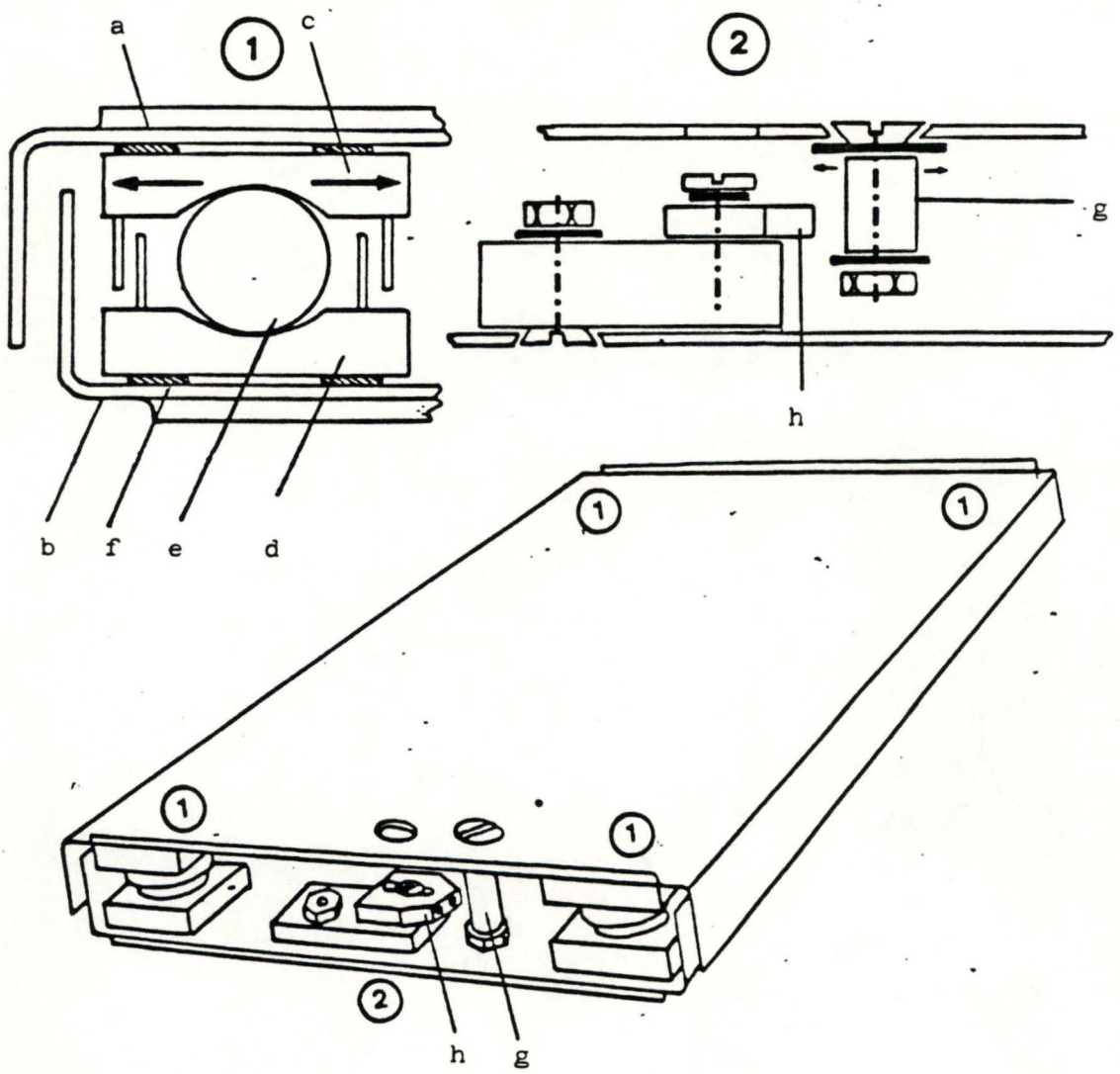


Fig. 5-1 ; plateau capteur de vibrations.

1 : roulement à billes
a : plateau supérieur
b : plateau inférieur
c et d : support en PVC
e : bille
f : lamelles de plastic

2 : processus de détection des oscillations

g : miroir amplificateur
h : composant combinant une diode émettrice et un phototransistor.

L'appareil consiste en deux plateaux en aluminium renforcé (350 x 195 x 1,5 mm), connectés par un roulement de 4 billes en acier. L'assemblement et le centrage des différents éléments sont facilement réalisés après insertion de fines lamelles de mastic entre les plaques d'aluminium et le dos des supports en PVC. (fig.5.1.1)

La cage est posée sur le plateau supérieur et l'activité musculaire du rat est transmise au plateau sous une forme oscillatoire. La détection de cette oscillation est obtenue par un composant combinant une diode émettrice d'un faisceau de lumière et un photo-transistor captant le rayon qui est ensuite réfléchi sur une section cylindrique en chrome. Vissée perpendiculairement sur le plateau supérieur, cette dernière fonctionne comme un miroir amplificateur et induit des variations de voltage quand l'animal met en mouvement le plateau supérieur. (fig. 5.1.2.)

Ce procédé hautement sensible permet la mise en évidence des mouvements même légers du rat et est utilisé dans notre expérience pour détecter la réponse de sursaut suscitée par une stimulation acoustique et pour mesurer l'intensité de l'activité motrice.

IV. Procédure.

IV.1 Conditions d'élevage.

Jusqu'à l'âge de 60 jours, les rats sont élevés dans une cage collective, chacune regroupant des individus de la même portée avec leur mère. Celle-ci est retirée à 23 jours, date du sevrage.

Les rats sont alimentés ad libitum et éclairés par lumière naturelle. La quantité de luminosité reçue par jour varie donc d'une portée à l'autre, selon le moment de leur naissance.

A 60 jours, les rats sont placés dans un autre local mieux isolé par rapport aux perturbations externes et dont la luminosité est contrôlée : 12 heures d'obscurité (19h-7h) alternent avec 12 heures de lumière (7h-19h), de sorte que la variation naturelle et saisonnière du

jour est neutralisée.
Ce modele 12/12 a été choisi car il correspond bien au mode de vie du rat qui partage sa journée en 12 heures de repos et 12 heures d'activité.
Les heures sont choisies en fonction du test (voir plus loin) qui se déroule la nuit pour minimiser les bruits venant de l'extérieur et pouvant perturber l'expérience.

Le changement de local s'effectue 10 jours avant le début du test; les données de la littérature ont en effet montré qu'un rat mettait en moyenne 9 jours pour se resynchroniser suite à une perturbation de rythmes circadiens (LIEVENS et KNAEPEN,1981).
Les rats disposent donc ici d'un temps suffisant pour réajuster leur rythme d'autant plus qu'il ne s'agit pas d'une inversion de phase mais seulement d'un léger décalage horaire.
Par ailleurs, des expériences ont indiqué que des rats "groupés" s'adaptaient plus vite que des rats "isolés" : ils semblent se resynchroniser mutuellement, ce qui accélère la remise à l'heure de leur horloge interne (CROWLEY et BOVET,1980).
Remarque. Lors du changement de local, les animaux sont disposés dans des cages, indépendamment de leur portée.

Les rats sont descendus plusieurs heures avant l'expérience pour leur permettre de se familiariser avec leur nouvel environnement. On évite ainsi l'impact sur les résultats du stress produit par la manipulation (pour connaître le poids), le transfert et la nouvelle situation de l'animal.

IV.2 Test.

Dans un premier temps, nous testerons les effets de la clozapine sur l'activité générale (A.G.) du rat et les variations de ces effets en fonction du moment d'administration.

La mesure de l'A.G. est réalisée sur les plateaux décrits ci-dessus et consiste donc en une quantification des mouvements du rat.
D'autres comportements de type alimentaire, sanitaire... ne sont donc pas considérés.

L'injection se pratique à trois moments de la nuit : 19h, 23h, 3h. La nuit a été préférée au jour car, le rat étant un animal nocturne, elle constitue le moment où l'effet de la clozapine est supposé être le plus évident. En effet, si l'on administre le neuroleptique le jour, son effet hypnotique se remarque moins puisque le rat est sensé être déjà dans une phase de sommeil
Le nombre de tests pratiqués n'est qu'une conséquence du nombre de rats disponibles.
Les trois moments sont répartis au cours de la nuit de manière à avoir un champ d'action recouvrant toute la nuit.

L'activité est enregistrée pendant une période minimale de 12 heures, intervalle de temps après lequel les effets comportementaux de la clozapine dans ce contexte sont considérés comme négligeables.
Les résultats obtenus nous permettent de déterminer la cinétique comportementale de la clozapine : moment d'action, amplification, acrophase, puis diminution et disparition de l'effet. Toutes ces étapes seront retenues pour la deuxième partie de l'expérience : l'étude de l'habituation au stress.

En effet, pour observer un effet de la clozapine sur l'H. S. du rat, nous avons choisi de tester la clozapine au moment où elle agit le plus et pendant un laps de temps suffisamment long pour disposer d'un délai d'expérimentation minimal. On ne choisit donc pas systématiquement l'acrophase pour envoyer le son (stress) car si celle-ci est de durée trop brève et se situe entre deux périodes où l'effet de la clozapine est peu marqué, la session sonore d'une durée de 64 min. dépassera les limites du temps.
Il convient donc de réaliser un compromis entre l'amplitude et la durée d'action de la clozapine pour optimatiser les conditions de réalisation de l'expérience de stress.

L'effet de la clozapine sur l'H.S. a été également testé de manière plus systématique, en envoyant le stimulus au même instant pour les trois moments d'administration.
La session sonore débutera dans ce cas entre 1/4 d'heure et 1/2 heure après l'injection.

Donc, une fois l'A.G. du rat connue pour tous les moments d'administration, les conclusions que nous tirons servent pour la deuxième partie de notre étude où nous testons non seulement les effets de la clozapine sur l'H.S. mais aussi les variations de ses effets en fonction du moment d'administration.

Cette deuxième étude présente un intérêt primordial puisque la clozapine, un neuroleptique, est supposée, de par ses effets antipsychotiques et anxiolytiques, diminuer l'anxiété, l'agitation ... Ces états représentant chacun une des formes du stress, l'expérience de stress est donc tout à fait opportune puisqu'elle teste des effets comportementaux importants de la clozapine.
On pourra ainsi déterminer si la clozapine a une action sur l'H.S. si tel est le cas, voir si l'action va dans le sens d'une facilitation ou d'une atténuation de réponse du rat.

Les administrations ont lieu aux mêmes heures que celles de l'activité générale (19h, 23h et 3h.) tandis que l'envoi du son démarre à des moments variables en fonction du moment de l'effet optimal de la clozapine observé dans la première partie de l'expérience.

En conclusion, nous examinons dans notre étude l'effet comportemental de la clozapine par une mesure de l'activité générale et de résistance au stress.
Puis, nous envisageons la clozapine d'un point de vue chronopharmacologique en réalisant, à des heures différentes, le même test.

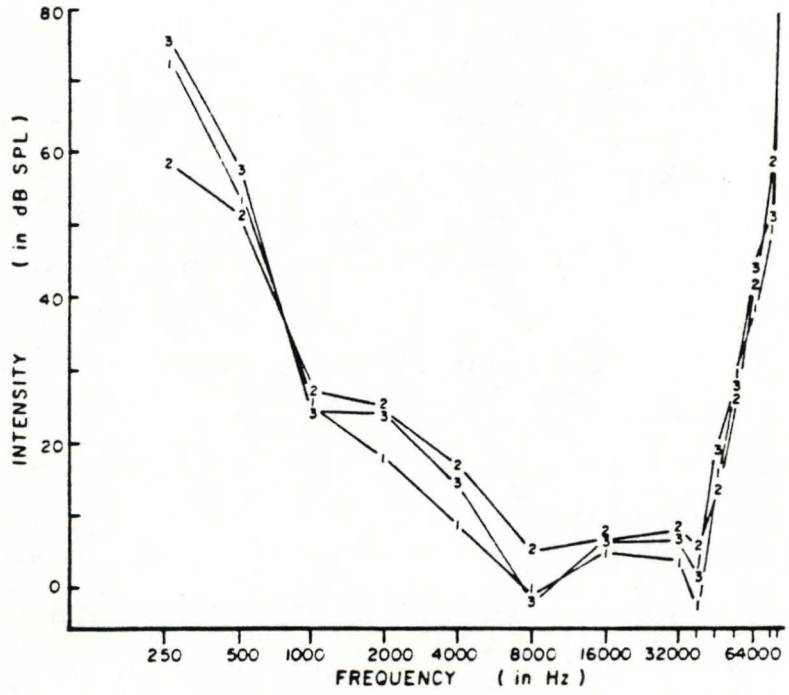
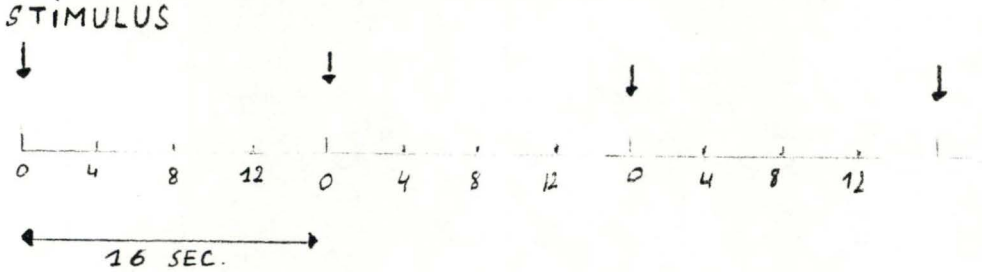


Fig. 5-2 : Audiogramme de trois rats albinos de la souche "Sprague-Dawley".
(D'après KELLY et MASTERTON, 1977).

IV.3 Stimulus.

L'H.S. se mesure à court terme et consiste en une session de 240 stimuli envoyés par intervalle de 16 secondes. Le test dure donc 64 min. L'enregistrement se fait selon une fenêtre d'intégration de 4 sec., ce qui nous donne 4 mesures entre chaque stimulus.



Pour l'analyse des résultats, deux des quatres mesures sont reprises. L'intégration de 8 à 12 sec. nous renseigne sur l'activité du rat entre les sursauts. Les enregistrements de 4 à 8 sec. et de 12 à 16 sec. sont négligés : 4 à 8 sec. car il ne représente plus le sursaut et pas encore l'activité (vu les oscillations du plateau suite au sursaut), 12 à 16 sec. car l'intervalle inter-stimuli étant constant, on peut supposer que le rat "s'attend" à l'arrivée du stimulus suivant et développe donc un comportement de peur correspondant à un changement de l'activité.

Le stimulus sonore est issu d'un générateur commandé directement par ordinateur. La présentation des 240 stimuli est donc automatique et précise.

Le rat est pourvu d'une sensibilité auditive à des fréquences de 250 H_z à 80 KH_z avec deux optima situés à 8 KH_z et 38 KH_z. (fig.5-2)

Le son utilisé fut donc choisi avec une fréquence de 8 KH_z. Il diffuse d'un haut-parleur fixé à quelques cm de chaque cage. Le "Piezo" fut utilisé en raison de sa plus grande sensibilité aux hautes fréquences.

L'intensité est une variable importante à déterminer car une valeur trop faible ne suscite aucune réponse

mesurable tandis qu'une trop forte intensité risque de n'entraîner aucun déclin dans la réponse.
La plupart des expériences d'habituation répertoriées dans la littérature utilisent des sons d'intensité voisine à 100 db.
Nous avons obtenu une habituation à ces hautes intensités, en utilisant un son d'une durée égale à 0,3 secondes.

Le stimulus auditif employé dans notre expérience est donc un son caractérisé par une fréquence de 8 KH_z, une intensité de 97 db et une durée de 0,3 sec.

Remarque : Le choix des 240 stimuli et de l'intervalle inter-stimulus de 16 sec. se justifie par les résultats présentés par CH. JADOUL (mémoire de licence en sciences biologiques, 1985-1986): pour mesurer l'habituation à court terme, elle avait conçu une phase dite d'entraînement consistant en une succession de 1000 stimuli (4 séries de 250 stimuli) séparés par un intervalle de temps constant : 16 sec. Ses résultats ont indiqué que l'habituation à court terme ne s'opérait que si les sujets étaient soumis à la répétition de stimuli auditifs pendant un laps de temps de 1h. minimum.

IV.4 Groupes expérimentaux.

Les groupes expérimentaux utilisés dans notre expérience sont repris dans le tableau ci-après. 120 rats ont été testés : 60 sont employés dans l'expérience d'activité générale (A.G.) et 60 dans l'habituation au stress(H.S). Dans chaque groupe, trois sous-groupes sont formés, chacun correspondant à une heure d'administration, c'est-à-dire : 19h, 23h, 3h.

Parmi les 20 rats de chaque sous-groupe, 10 recevront la solution clozapine et 10 la solution placébo.

	Test : Activité générale		Habituation au stress	
		clozapine	placébo	clozapine	placébo
Moment	19h	AGC_{19}	AGP_{19}	HSC_{19}	HSP_{19}
	23h	AGC_{23}	AGP_{23}	HSC_{23}	HSP_{23}
	3h	AGC_{3}	AGP_{3}	HSC_{3}	HSP_{3}

Ainsi, plusieurs comparaisons sont possibles :

1. La comparaison AGC_x et AGP_x mettra en évicence l'effet de la clozapine sur l'activité générale.
   Rappelons que l'effet de stress de la piqûre est neutralisé car le groupe placébo est également piqué avant l'expérience.
2. La comparaison entre les différents AGC, en tenant compte des divers AGP déterminera s'il existe un effet chronopharmacologique de la clozapine.
3. La comparaison entre les AGP successifs permettra de voir si l'activité générale se modifie suite à la piqûre et si elle se modifie différemment selon le moment de cette piqûre.
4. Les mêmes comparaisons peuvent se faire pour l'habituation au stress.

IV.5 Protocole expérimental.

20 rats, une fois pesés, sont descendus dans le local d'expérimentation environ 4 heures avant l'injection.

On procède comme suit : 10 rats, 5 placébo et 5 clozapine, sont piqués en alternance et placés sur la première étagère d'enregistrement.
Le programme (A.G. ou H.S.) est alors lancé.
Ensuite les 10 autres rats sont piqués, aussi en alternance, et placés sur la deuxième étagère.
La séparation en deux groupes est une précaution supplémentaire pour éviter de trop grandes pertes de temps.
En effet, 40 minutes est le temps (maximal) nécessaire pour piquer 20 rats. Si l'appareil de mesure n'est mis

en route qu'à ce moment, le produit, chez les premiers rats, agirait depuis 40 minutes; or si la clozapine montre des effets endéans un court laps de temps (ce qui peut être supposé puisque l'injection est intra-péritonéale), ses effets ne seraient pas visibles chez les premiers rats. En procédant par étagère, on diminue donc de moitié le délai entre le premier et le dernier rat piqué. Evidemment, les résultats de chaque étagere sont enregistrés séparément et traités par la suite en décalant de 20 minutes les données des étagères différentes.

Remarque : Un détecteur de son est placé dans le local de manière à détecter la présence de bruits incongrus autres que le stimulus de stress, et qui pourraient influencer les résultats.

Lors de l'interprétation de nos résultats, les moments "artéfactés" seront ôtés des moyennes finales.

Dates de passage des différents groupes.

Groupes	Age au moment du test	Dates
AG_{19}	entre 67 et 71 jours	10/02
AG_{23}	entre 71 et 75 jours	5/02
AG_{3}	entre 80 et 84 jours	20/02
HS_{19}	77 - 78 jours	25/02 26
HS_{23}	84 - 85 jours	3/03 4
HS_{3}	70 jours	21/04

Remarques :

1. En raison de contingences pratiques (nombre de diffuseurs sonores lors des expériences de stress à 19h et 23h), l'expérience de stress s'est réalisée en deux temps :
   - 10 rats(5 placébo et 5 clozapine) sont testés le premier soir.
   - 10 rats (idem) sont testés le lendemain soir.

2. Des expériences complémentaires ont été menées par la suite afin d'éclaircir les résultats obtenus. Ces expériences seront explicitées conjointement à la présentation des résultats.

V. Traitements statistiques.

Deux types de tests statistiques ont été réalisés afin de confirmer ou d'infirmer les observations graphiques :

1) Analyse de la variance.

L'analyse de la variance (anova) est une statistique univariée permettant de tester les moyennes de plusieurs populations.
Le principe à la base de l'anova est le suivant : l'égalité des moyennes de différentes populations sera mise en doute si la dispersion des moyennes expérimentales est grande comparativement à la dispersion des observations de chaque population.

2) Test de Student.

Il s'agit d'une statistique univariée permettant la mise en évidence de différences significatives entre les moyennes de deux populations.

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION.

Introduction.

Nous analyserons les résultats concernant l'A.G. et l'H.S. séparément et successivement.
Pour chacune des deux parties, nous présenterons en premier lieu les effets de la clozapine à chaque moment d'administration.
Dans un deuxième temps, nous comparerons les effets en fonction du moment de l'administration.
Avant d'aborder les résultats proprement dits, nous décrivons les méthodes et les raisonnements suivis pour transformer et analyser les données recueillies par ordinateur.

1) Analyse de l'activité générale.

Les résultats porteront sur une plage de 12 heures suivant l'administration de la clozapine ou du placébo.
Nous avons choisi le quart-d'heure comme unité d'analyse.
Chaque mesure représente l'importance des mouvements du rat au cours du quart d'heure, mouvements enregistrés grâce aux oscillations du plateau capteur de vibrations : plus les mouvements sont intenses et fréquents, plus la valeur enregistrée est élevée.
Ces valeurs seront présentées sous forme de graphe afin de bien visualiser l'évolution temporelle de l'activité des rats drogués ou non. (Pour la clarté du graphe, nous représenterons l'évolution de l'A.G. par heure et non par quart d'heure).
L'analyse descriptive est appuyée par une partie statistique qui donnera de maniere détaillée l'évolution temporelle de l'activité et ses modifications en fonction du moment d'administration.

Les rythmes et l'évolution temporelle de l'activité peuvent être analysés par des méthodes telles les séries temporelles, le cosinor ... Ces méthodes n'ont pas été envisagées dans le cadre de ce mémoire, vu leur trop grande complexité.

Des tests statistiques (analyse de la variance, test de

Student) ont été réalisés; comme ils sont appliqués spécifiquement à chaque type de résultat, ils sont détaillés conjointement à leur présentation.

2) H.S. : Calcul du pourcentage de réponse de sursaut.

Comme nous l'avons décrit au chapitre précédent, l'expérience de stress consiste en une succession de stimuli auditifs (240) envoyés toutes les 16 secondes.
Les mouvements de chaque rat sont calculés sur un intervalle de temps de 4 secondes.
La réponse de sursaut (R.S.) est enregistrée pendant l'intervalle (iz) consécutif à l'envoi du son. Pour déterminer s'il y a réellement eu sursaut ou si les oscillations du plateau sont simplement dues à l'activité locomotrice normale du rat, on effectue un rapport entre l'activité mesurée pendant iz (Aiz) et l'activité moyenne (AM) du rat (évaluée via une mesure effectuée entre deux stimuli successifs. (cfr. chap. V §4-3°)
Si ce rapport $R = \frac{AIZ}{AM} \times 100$ est égal ou inférieur à 100%, il n'y a pas de réponse de sursaut. Nous considérons qu'il y a une réponse de sursaut si R est supérieur à 120% (valeur choisie par référence au mémoire de C.JADOUL, 1986).
Ensuite, nous additionnons le nombre de R.S. obtenu pour 10 stimuli successifs et nous en calculons le pourcentage :

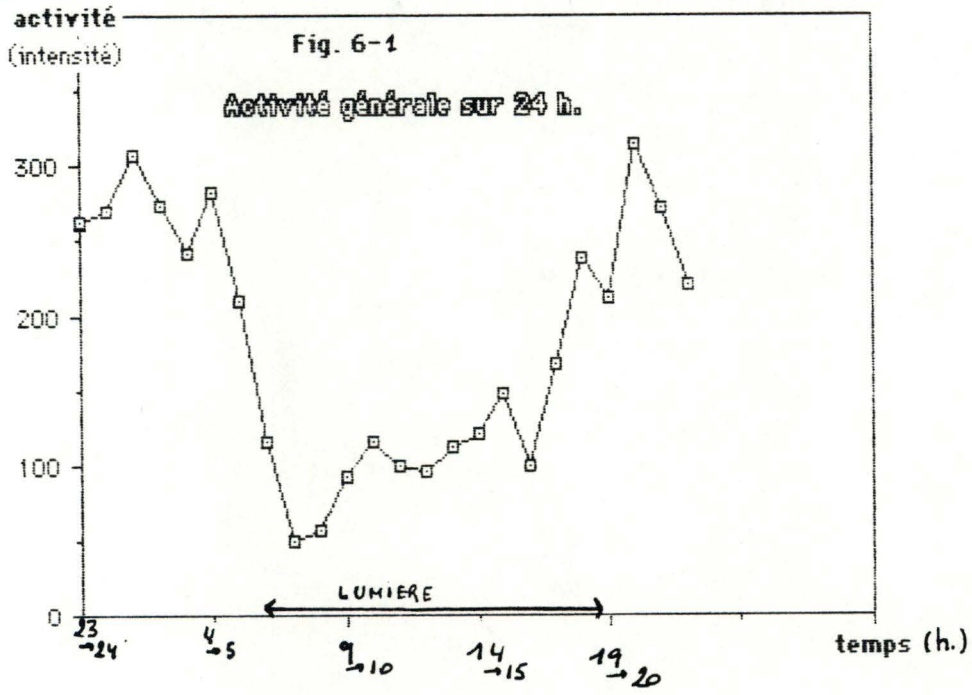
$$\% \text{ R.S.} = \frac{\text{nombre de R.S.}}{\text{nombre de R. (=10)}} \times 100$$

Le pourcentage de R.S. est déterminé pour toute la session de 240 stimuli. Le phénomène d'habituation est détecté grâce à ce pourcentage : on considère qu'il y a H.S. lorsque ce pourcentage atteint un niveau stable et relativement proche de 0%. Les tests statistiques relatifs à l'H.S. seront aussi détaillés avec les résultats.

I. ACTIVITE GENERALE.

Avant d'évaluer les effets de la clozapine sur l'activité, nous présentons le rythme circadien de l'activité du rat en condition contrôle.

La figure 6-1 représente le rythme circadien d'activité normale du rat observé dans nos conditions expérimentales.* Chaque point consiste en l'intégration d'une heure d'activité (addition de quatre 1/4 d'heure successifs).



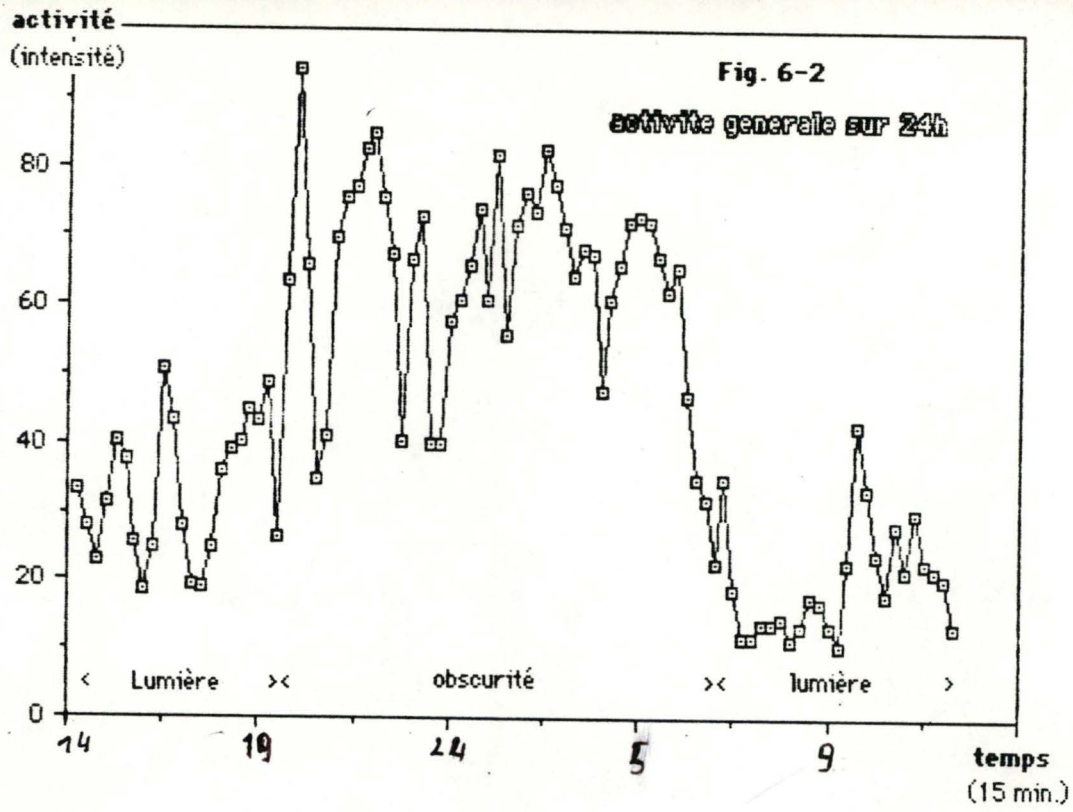
L'activité générale du rat augmente visiblement pendant la phase nocturne, présentant deux pics d'activité élevés et deux pics moins élevés.

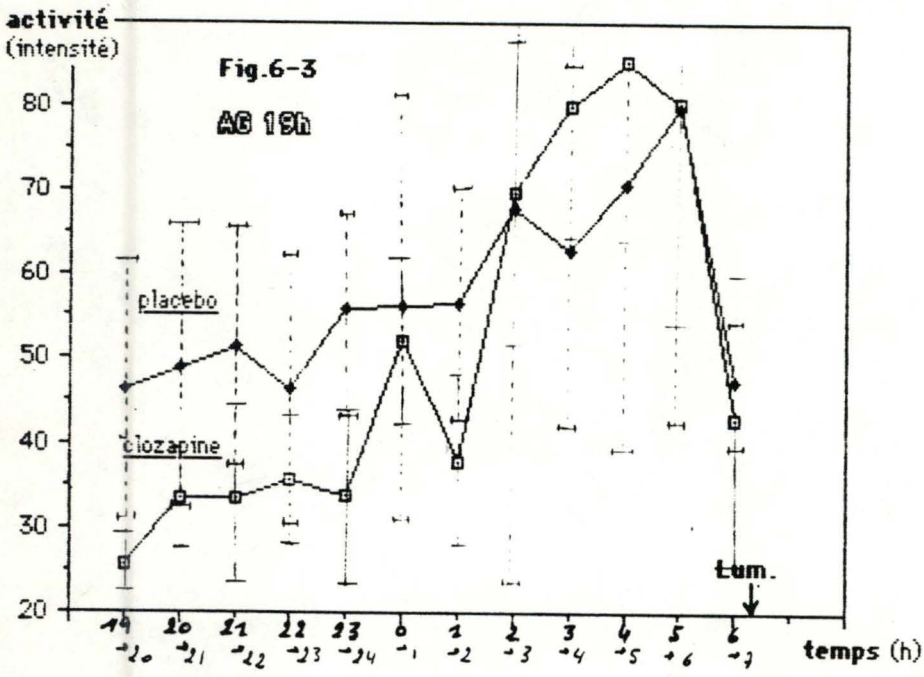
Ces pics sont situés entre - 20h30 et 21h30
- 1h30 et 2h30

- 4h30 et 5h30
- 18h30 et 19h30

---

* Les données de la littérature (HORLINGTON 1970; INOUYE et KAWAmusa 1979) concernant le rythme d'activité du rat s'identifient aux nôtres.





facteur	nombre de niveaux	niveau	TYPE DE FACTEUR
traitement	2	clozapine placébo	fixe
temps	soit -25 (anova 1)	25 premiers 1/4 d'h. =(1e phase)	fixe
	-20 (anova 2)	20 derniers 1/4 d'h. =(2e phase)	
rats	9		aléatoire

(table 6-1)

Une analyse par 1/4 d'heure (Fig.6-2) permet de mieux cerner le moment d'apparition de chacun de ces pics (1h45 à 2h30; 4h30 à 5h15; 19h15 à 19h30) et d'en faire apparaître d'autres (ex. 0h45 à 1h).

I.1 Effet de la clozapine sur l'A.G. du rat.

Si l'administration a eu lieu :

1) à 19h.

La fig. 6-3 représente l'évolution, d'heure en heure, des rats drogués et non drogués, au cours des 12 heures suivant l'injection. (Chaque point représente la moyenne sur une heure de quatre quart-d'heure successifs).

a) variations quantitatives de l'activité.

- L'activité des rats sous clozapine semble inférieure au groupe placébo pendant 7 heures, puis supérieure pendant 3 heures, pour se situer ensuite au même niveau.(fig.6-3) Afin de confirmer ces observations graphiques, nous avons fait appel à des méthodes statistiques, à savoir l'analyse de la variance et le test de Student.
  Deux anova ont été réalisées :
  la première (anova n°1) teste les sept premières heures* tandis que la seconde (anova n°2) concerne les cinq dernières heures. Cette précaution est nécessaire puisque, au départ, on a constaté que les rats drogués étaient moins actifs; comme cette tendance semble s'inverser ensuite, un test sur les douze heures aurait révélé un effet du traitement non significatif.
  Nous allons donc tester séparément l'hypoactivité et l'hyperactivité dues à la clozapine.

  Trois facteurs interviennent (table 6-1 ci-contre)

---

* Suite aux limites du **BMDP** , 25 quarts d'heure ont été testés au lieu de 28: Les résultats n'en seront cependant pas faussés car les moments non considérés ne sont pas déterminants.

traitement / phase	clozapine	placébo
1e	36,00	51,5
2e	71,63	65,54

(table 6-2)

	Moyenne clozapine ($\bar{X}$)	S	$\bar{X}$ placébo	S	t
19h	25,87	3,89	46,5	15,53	3,88 HS
20h	33,4	6,37	48,77	26,23	1,7
21h	33,5	10,86	51,4	14,2	3,01 HS
22h	35,6	6,88	46,36	16,1	1,85 S
23h	33,7	9,68	55,72	10,9	4,54 HS
24h	52	9,05	56,07	25	0,4
1h	37,9	8,25	56,29	19,7	2,5 HS
2h	69,5	18,79	67,79	33,9	0,13
3h	80,1	16,26	62,79	21,7	1,92 S
4h	85,4	21,9	70,48	31	1,18
5h	80,27	27,27	79,6	31,2	0,05
6h	42,9	17,5	47,2	8,2	0,67
19h à 7h	50,84	13,05	57,40	21,10	

TABLE 6-3

F

- L'analyse révèle un effet global hautement significatif du traitement pour la phase 1 et non significatif pour la phase 2 :

(phase 1 : dl = 1; F = 10,35; P = 0,0056)
(phase 2 : dl = 1; F = 0,44; P = 0,5146)

(Les moyennes obtenues en fonction du traitement sont représentées - table 6-2)

La clozapine semble donc avoir un effet global négatif sur l'activité, pendant la première phase (= ensemble des sept premières heures après l'injection).

L'hyperactivité mise en évidence par l'analyse descriptive n'est pas confirmée par le test statistique.

Cela corrobore la classification de la clozapine parmi les tranquillisants majeurs (= neuroleptiques) (GOODMAN et GILMAN, 1980).

L'effet du traitement est envisagé pour l'anova de manière globale, c'est-à-dire par phase.

Nous avons donc fait appel au test de Student afin de préciser l'effet du traitement quart d'heure par quart d'heure.

Le tableau présenté en annexe n°3 résume les résultats obtenus.

D'après ce tableau, les différences entre les deux échantillons (Cl - Pb) n'apparaissent significativement différentes que pour le tiers des valeurs, suite à une variabilité individuelle importante.

Toutefois, si l'on examine les résultats heure par heure, cette hétérogénéité est atténuée, sans induire de grandes pertes d'informations. (table 6-3)

A la lecture de ce tableau, on peut d'emblée constater que l'effet de la clozapine persiste sept heures durant, avec toutefois des moments où son action ne se fait pas sentir.

Les rats drogués manifestent ensuite une hyperactivité par rapport au groupe de référence. (Cette hyperactivité n'est cependant significative qu'entre 3 et 4 h.)

Compte tenu de cet effet tardif, le niveau d'activité global est conservé : la différence entre les moyennes globales (50,84 et 57,4) est non significative (table 6-3).

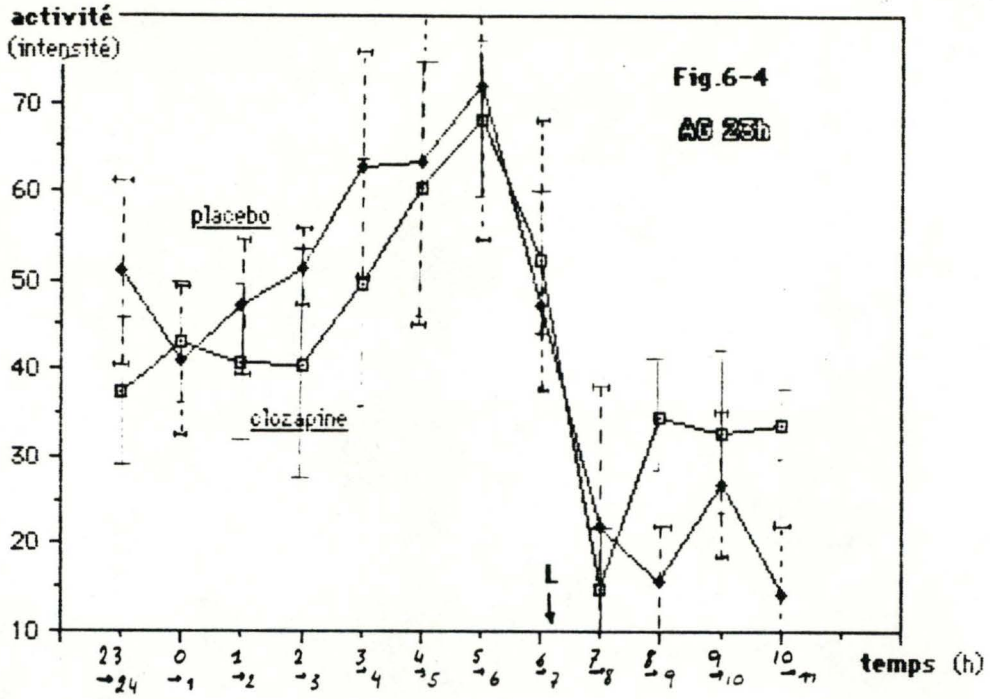
Remarque.

La variabilité individuelle des rats drogués semble inférieure à l'activité du groupe placébo (cfr écarts-type - table 6-1).
Le produit pourrait donc homogénéiser l'activité de l'échantillon.

b) Variation qualitative de l'activité : effet de la clozapine sur le rythme d'activité.

Si l'on se réfère à la fig. 6-3, le rythme d'activité ne semble pas avoir été fortement perturbé par le neuroleptique : l'évolution des deux groupes semble parallèle et les pics d'activité similaires.
L'analyse de la variance nous amène à douter de cette observation.
L'interaction temps-traitement permet de comparer l'évolution dans le temps des rats drogués par rapport aux autres. Cette interaction apparaît hautement significative pour les deux phases :
(1e phase ; dl = 24; F = 3,46; P = 0,0000)
(2e phase : dl = 19; F = 3,02; P = 0,0000)
Ceci tente à prouver que la différence d'activité consécutive à l'administration du neuroleptique n'est pas constante au cours du temps. La clozapine pourrait donc influencer le rythme d'activité.

- Des tests de Student ont permis de suivre l'évolution temporelle de l'activité, séparément pour chaque groupe (clozapine) (placébo).
Ces tests ont mis en évidence des différences significatives pour les rats traités et non traités.
Cette évolution consiste en une augmentation graduelle et irrégulière de l'activité, (au niveau de la phase 1 et au début de la phase 2) pour les deux groupes, mais dans une moindre mesure pour le groupe placébo.



traitement / phase	clozapine	placébo
1	47,69	55,42
2	33,13	25,12

(table 6-4)

	$\bar{X}$ clozapine	S	$\bar{X}$ placébo	S	t	
23h	37,34	8,6	51,2	9,47	2,58	HS
0h	43,2	6,84	40,97	8,5	0,6	
1h	40,69	9,2	47,34	7,6	1,67	
2h	40,3	13	51,37	4,47	2,42	HS
3h	49,59	13,5	62,8	12,8	2,13	HS
4h	60,23	14,2	63,35	18,49	0,4	
5h	68,16	9,28	72	18,6	0,56	
6h	52,22	7,46	47,16	21,2	0,68	
7h	14,8	5,9	21,89	16,1	1,2	
8h	34,42	6,2	15,64	5,84	6,63	HS
9h	32,5	9	26,61	8,09	1,46	
10h	33,5	3,6	14,24	7,7	6,78	HS
23h à 11h	42,2	8,89	42,8	11,57		

TABLE 6-5

2) ... à 23h.

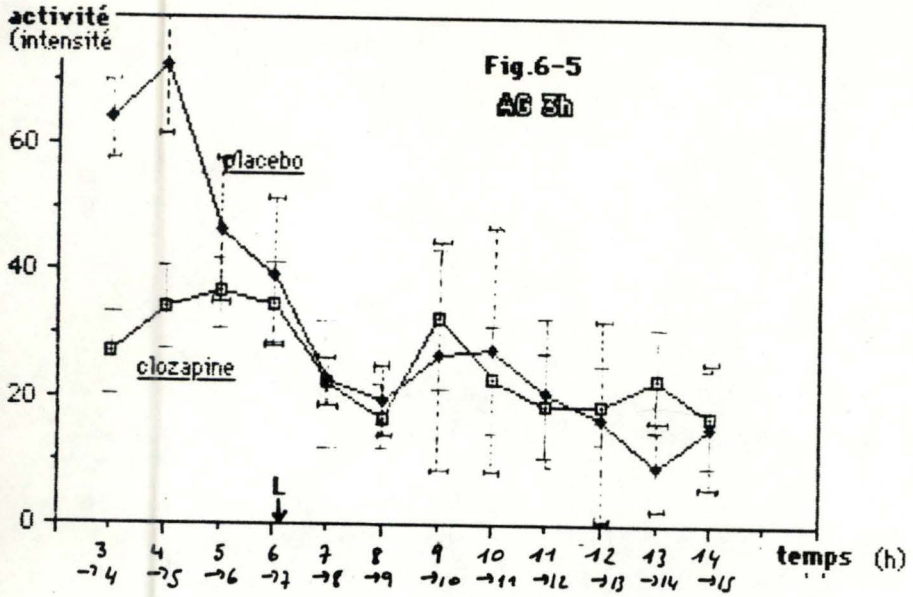
a) Variation quantitative de l'activité

- L'activité des rats piqués à 23h est présentée à la fig. 6-4 : les rats sous clozapine montrent une activité moindre que l'autre échantillon pendant sept heures environ (excepté entre 0h. et 1h.); les deux groupes se confondent ensuite jusqu'à la fin de la période d'obscurité. Au début de la période lumineuse, l'activité du groupe drogué apparaît supérieure à l'autre groupe.
L'analyse de la variance, du même type que celle réalisée précédemment, confirme l'analyse descriptive :
effet global du traitement : significatif pour la première phase ainsi que pour la deuxième :
(phase 1 : dl = 1; F = 3,14; P = 0,0953)
(phase 2 : dl = 1; F = 6,46; P = 0,0217)
(les moyennes de l'A.G. par traitement et par phase sont données - table 6-4)
L'effet traitement est significatif pour les deux phases. La clozapine semble donc diminuer l'A.G. dans un premier temps; puis, dans un deuxième temps, elle semble avoir l'effet inverse.

Les tests de Student, présentés à la table 6-5 ,permettent de mettre en évidence les heures où agit la clozapine. D'après ce tableau, l'atténuation de l'activité due à la clozapine dure une heure. L'effet de la clozapine disparaît ensuite pour réapparaître trois heures après l'injection, pendant deux heures.Une augmentation significative de l'activité des rats ayant reçu la clozapine est perceptible à la fin du test.

Remarque.

Comme pour l'expérience réalisée à 19h., la variabilité individuelle est moindre chez les rats traités (cfr. table 6-5)



traitement / phase	clozapine	placébo
1	29,4	41,62
2	20,3	18,23

(table 6-6)

	$\bar{X}$ clozapine	S	$\bar{X}$ placébo	S	t
3h	27,19	6,2	64,17	6,6	5,19 HS
4h	34,47	6,19	72,33	10,6	5,59 HS
5h	36,69	6,4	46,48	9,65	2,28 HS
6h	34,61	6,57	39,3	12	0,8
7h	22,66	9,85	23	3,6	0,09
8h	16,91	4,26	19,63	5,9	0,75
9h	32,53	9,65	26,95	20,5	1,29
10h	23,17	8,09	27,6	19,4	0,63
11h	18,77	8,1	20,9	11,2	0,46
12h	18,71	6,4	16,6	16,2	0,36
13h	23,11	7,3	9,25	6,8	5,13 HS
14h	17,3	7,4	15,53	9,9	0,43
3h à 15h.	25,51	7,2	31,8	11,19	

(table 6-7)

b) Variation qualitative de l'activité.

- Les rythmes d'activité sur la fig. 6-4 ne paraissent pas perturbés par la clozapine (évolution parallèle).
  L'anova révèle une interaction temps-traitement hautement significative pour la première phase et pour la deuxième :
  (1e phase : dl = 24; F = 2,12; P = 0,0018)
  (2e phase : dl = 19; F = 5,11; P = 0,0000)
  L'activité des rats évolue donc de façon différente selon le traitement reçu; cette différence se marque surtout entre 8h et 9h, 10h et 11h, c'est-à-dire lors de la phase finale du test.
- L'effet du temps joue pour les deux échantillons. Il y a donc une variation de l'activité pour les rats, traités ou non.

3) ... à 3h.

a) Variation quantitative de l'activité.

Les résultats obtenus pour ce troisième moment sont représentés à la fig. 6-5.
La diminution d'activité suite à l'administration du neuroleptique semble persister pendant 4 heures; il cesserait donc conjointement à l'établissement de la lumière, à 7h.)
L'activité des deux groupes est ensuite similaire (entre 7h et 13h.); puis diverge les deux dernières heures.
Les résultats de l'anova sont les suivants :
effet du traitement (table 6-6)
. hautement significatif pour la première phase
  (dl = 1; F = 14,41; P = 0,0016)
. non significatif pour la deuxième
  (dl = 1; F = 0,93; P = 0,3480)
Administrée à 3h., l'effet global de la clozapine semble consister en une diminution de l'activité
Cette diminution est significative les trois premières heures. (table 6-7)
Malgré un effet global du traitement non significatif pour la phase 2, l'hyperactivité apparaît, sur la table

6-7, significative entre 13 et 14h.

Remarque.

La variabilité inoividuelle est de nouveau plus faible chez les rats traités.

b) Variation qualitative.

D'après la fig. 6-5, l'activité des deux groupes semble évoluer de façon parallèle, excepté entre 5 et 6h et entre 13 et 15h. Cette observation est confirmée par l'anova : effet de l'interaction temps-traitement : hautement significatif pour la première phase ainsi que pour la deuxième :

(1e phase : dl = 24; F = 9,27; P = 0,0000)
(2e phase : dl = 19; F = 3,29; P = 0,0000)

L'activité du groupe placébo varie de façon différente de celle du groupe traité, surtout pendant les deux premières heures suivant l'injection, ainsi que les trois dernières heures du test. Pour le reste du temps, les deux groupes manifestent des variations d'activité similaires.

- Comme à 19h et 23h., l'activité des rats, traités ou non, varie au cours du temps.

SYNTHESE.

1) Durée d'action du produit.

. La diminution d'activité due à la clozapine semble persister durant 7, 5 ou 3 heures selon le moment d'administration, respectivement à 19, 23 et 3h.

. L'augmentation tardive de l'activité observée chez les rats traités n'apparaît significative que pendant de courtes durées (de 1 à 2h. selon le moment considéré).

2) Effet maximal du produit.

L'effet négatif de la clozapine sur l'A.G. paraît maximal, en durée et en intensité après 2 heures, une demi-heure ou un quart-d'heure, selon les moments d'adminis-

tration, situés respectivement à 19, 23 et 3h.
Ces considérations seront prises en compte pour l'étude de l'habituation au stress.

3) Variation du rythme d'activité.

Pour chaque moment d'injection, l'évolution de l'A.G. des rats serait modifié par la clozapine
L'hypothèse concernant un effet éventuel de la clozapine sur les rythmes d'activité reste donc plausible.
Elle ne peut cependant être confirmée par les méthodes statistiques employées ici.
D'autres méthodes telles le cosinor et l'analyse par séries temporelles permettraient sans aucun doute d'affirmer ou d'infirmer ce postulat.

CONCLUSION.

. Notre expérience a montré qu'à une dose de 8 mg/kg administrée par voie intrapéritonéale, la clozapine déprime l'activité motrice spontanée du rat.
Cette observation corrobore la littérature concernant la clozapine ainsi que sa classification au sein des tranquillisants majeurs.
A cette dose, l'activité du rat est atténuée mais non totalement inhibée : la clozapine n'a donc pas endormi le rat, son état de veille ne semble pas modifié, ce qui confirme les qualités sédatives mais non hypnotiques que l'on attribue aux neuroleptiques.
(N.B. Le caractère sédatif ou hypnotique dépend peut-être de la dose administrée. La clozapine, à une dose élevée, se révèlerait peut-être aussi hypnotique).

. Après une période de moindre activité, les rats traités se montrent hyperactifs. Cet effet tardif de la clozapine pourrait être une compensation de l'hypoactivité antérieure se traduisant en besoin.
D'après les résultats présentés jusqu'ici, l'effet de la clozapine semble différer selon le moment d'administration. Ces différences vont à présent être étudiées en détail, par des méthodes statistiques.

facteur	nombre de niveaux	niveaux	type de facteur
moment d'administration	3	- 19h - 23h - 3h	fixe
traitement	2	- clozapine - placébo	fixe
temps	25(anova 3) 20(anova 4)	- 25 premiers 1/4 d'h.(1e phase) - 5 derniers 1/4 d'h.(2e phase)	fixe
rats	9		aléatoire

TABLE 6-8

	Moment / traitement	19h	23h	3h
phase 1	clozapine	34,5	46,69	29,4
	placébo	51,5	53,42	43,62
	différence (CL-PL)	- 17	- 6,73	-14,22
phase 2	clozapine	70,97	33,13	20,31
	placébo	65,54	25,12	18,23
	différence (CL-PL)	+ 5,43	+ 8,01	+ 2,08

TABLE 6-9

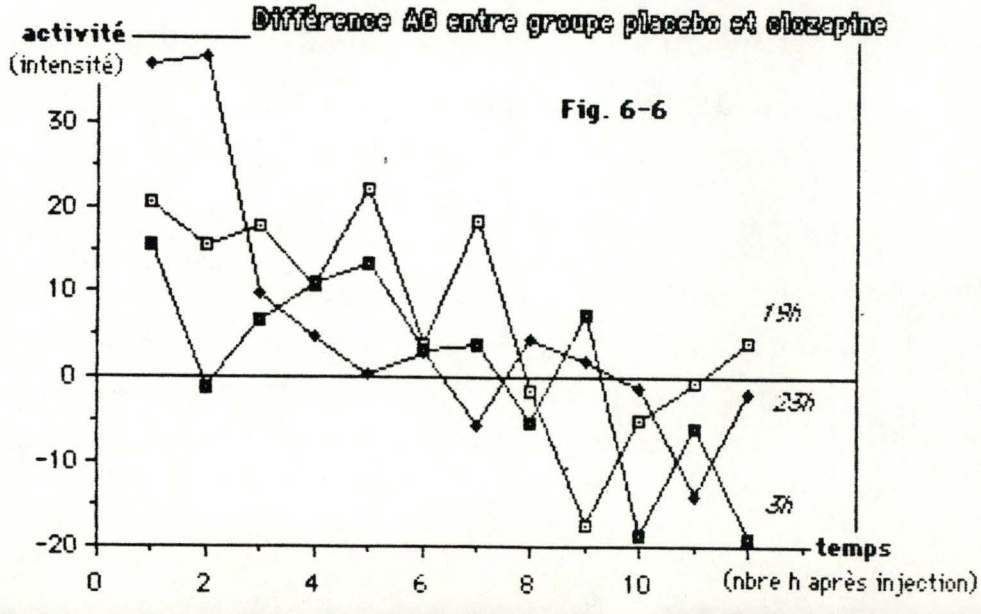


Fig. 6-6

Remarque.

Outre l'impact de la clozapine sur l'A.G., d'autres faits ont été mis en évidence tels :

- les tremblements, déjà observés notamment par CHOUINARD (1976), ANDERMAN et GRIFFITH (1977), CHLEIDE (Mémoire 1986).
- le ptosis palpébral (effet décrit par GIURGEA, 1985).
- incooordination motrice, c'est-à-dire ataxie, chutes, postures instables (cfr. COHEN, 1981, dans CHLEIDE, Mémoire 1986).

I.2 Impact du moment d'administration sur l'action de la clozapine.

Les résultats sont présentés comme suit :

1) Comparaison entre les moments d'administration des rats traités et non traités.
2) Comparaison des groupes "clozapine".
3) Comparaison des groupes "placébo".

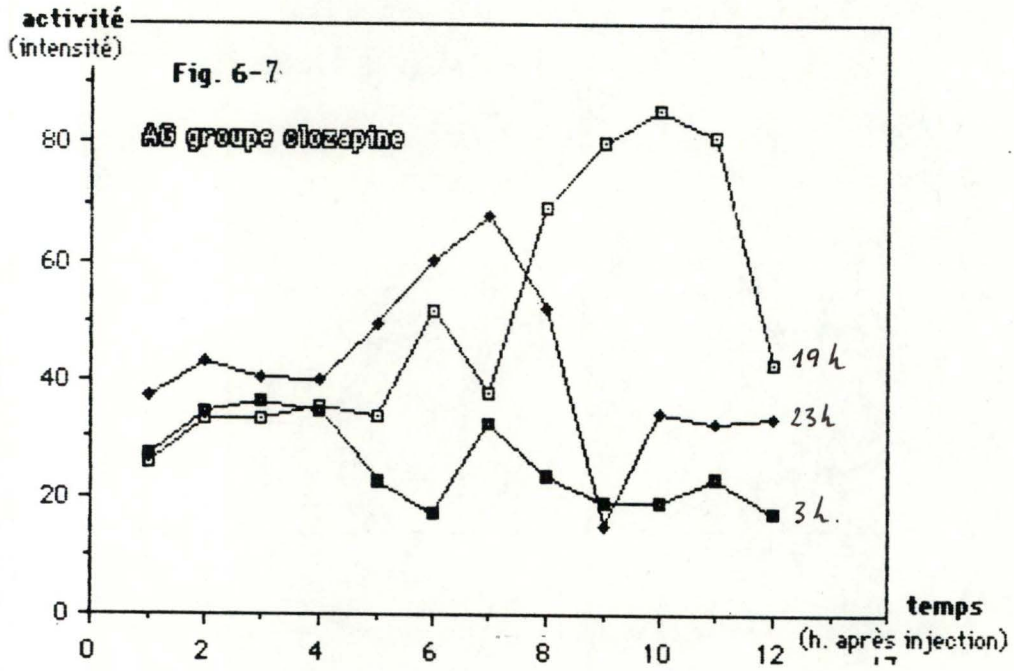
1) Comparaison entre les moments d'administration des rats traités et non traités.

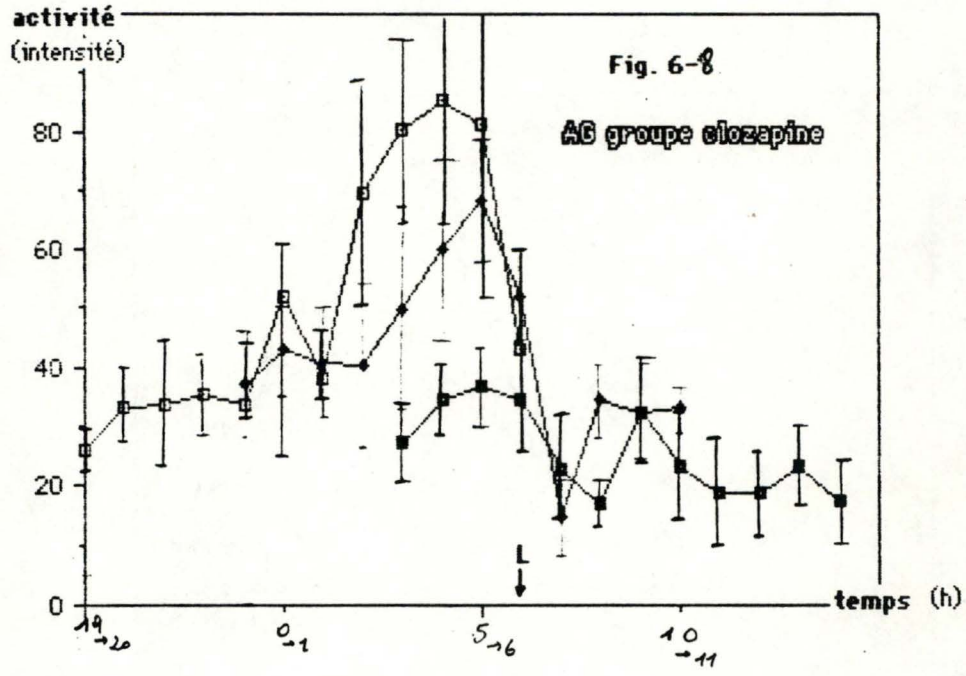
De même que pour les textes effectués par moment, deux analyses de la variance ont été nécessaires pour tester les résultats.

Quatre facteurs interviennent (table 6-8).

- L'effet global du moment est hautement significatif :
  (1e phase : dl = 2; F = 9,72; P = 0,0003)
  (2e phase : dl = 2; F = 99,77; P = 0,0000)
- L'interaction moment-traitement est non significative pour les deux phases :
  (1e phase : dl = 2; F = 1,49; P = 0,2348)
  (2e phase : dl = 2; F = 0,33; P = 0,7218)
  Cela revient à dire que la différence entre l'activité du groupe clozapine et du groupe placébo est identique pour les trois moments d'administration (table 6-9)
- L'interaction triple moment-temps-traitement est hautement significative (fig 6-6)
  (phase 1 : dl = 48; F = 4,78; P = 0,0000)
  (phase 2 : dl = 38; F = 3,30; P = 0,0000)

facteur	nombre de niveaux	niveaux	type de facteur
moment	3	19h 23h 3h	fixe
temps	25	quarts-d'heure successifs	fixe
rats	9		aléatoire




activité
(intensité)
Fig. 6-8
AG groupe clozapine
80
60
40
20
0
L
temps (h)
19 →20
0 →1
5 →6
10 →11

Ainsi, l'activité évolue de façon différente selon le traitement et selon le moment de l'administration du produit.

Pour connaître l'effet du moment et du temps sur l'activité, séparément pour le groupe clozapine et le groupe placébo, deux autres analyses de la variance ont été effectuées : (anova n°5 = clozapine; anova n°6 = placébo), seulement pour la première phase, pour laquelle les résultats se sont montrés plus significatifs.

Trois facteurs interviennent (table 6-10)

2) Comparaison des groupes traités.

- L'effet global du moment est hautement significatif
(dl = 2; F = 21,59; P = 0,0000)
L'activité des rats sous neuroleptique diffère selon le moment d'injection. Cette différence se marque
entre 23h et 3h. - entre 19h et 23h.
L'activité globale après l'injection à 19h est similaire à celle après injection à 3h.

- L'interaction moment-temps est hautement significative :
(dl = 48; F = 5,54; P = 0,0000) (fig. 6-7)
Les différences entre moments n'existent cependant qu'après la 4e heure d'injection, c'est-à-dire quand l'effet du neuroleptique commence à diminuer et quand la lumière apparaît, (successivement pour chaque groupe).

Les figures 6-7 et 6-8 représentent l'activité des rats drogués.
Les tracés du graphe 6-8 sont décalés par rapport à l'origine (décalage de 4 heures, correspondant à l'intervalle entre chaque administration). Sur la fig. 6-7 , les tracés ont la même origine, ce qui permet de mieux les comparer.

3) Comparaison des groupes non traités.

- L'effet global du moment est non significatif
(dl = 2; F = 1,77; P = 0,1913)

Intervalle de temps	Intensité de l'activité enregistrée sur 12h. (somme des quarts-d'heure successifs
19h - 7h	2755
23h - 11h	2058
3h - 15h	1526

(table 6-11)

	20-21h	23-24h	0-1h	1-2H	6-7h	7-8h	10-11h	13-14h	14-15h
placébo 19h	X			X	X				
placébo 23h		X	X	X	X	X	X		
placébo 3h						X		X	X

TABLE 6-12

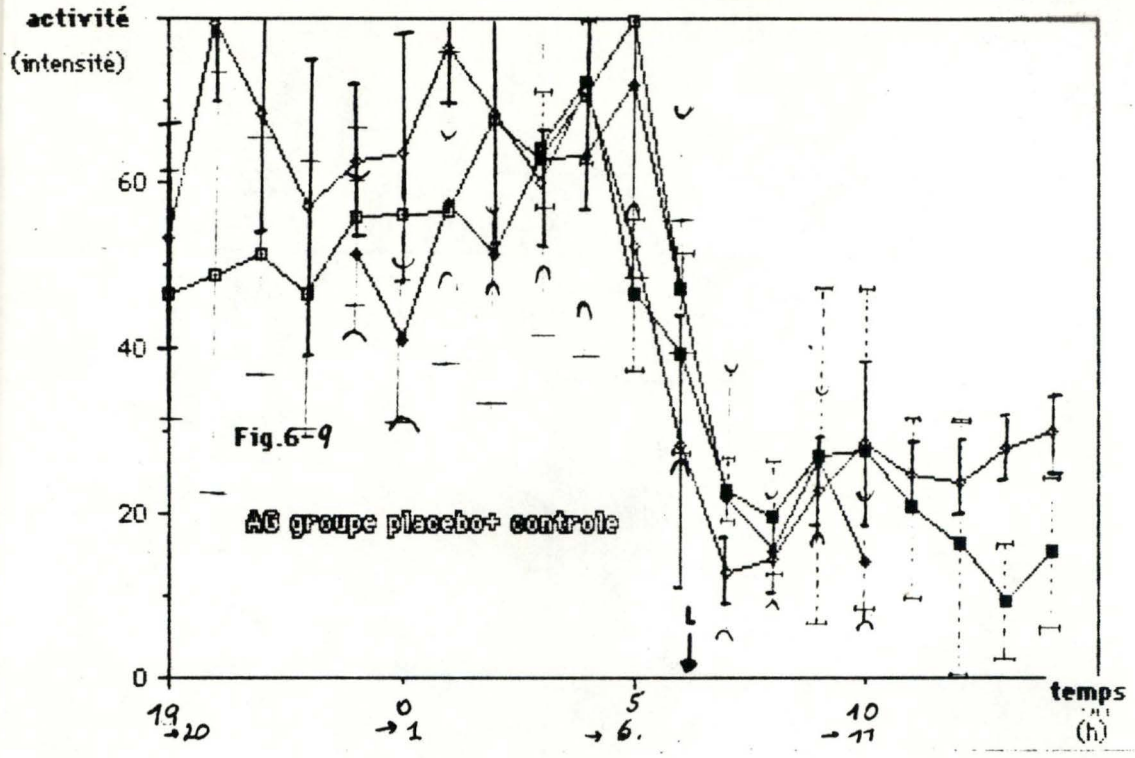


Fig.6-9

AG groupe placebo+ controle

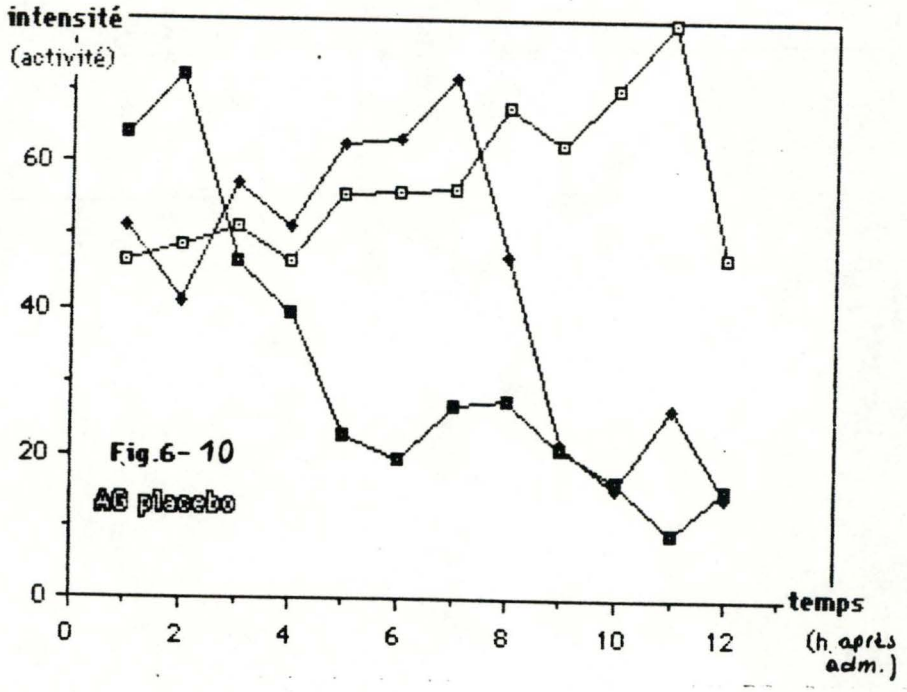


Fig.6-10

AG placebo

Ainsi, si on analyse l'activité du rat pendant un laps de temps de 7 heures (même période étudiée que celle analysée chez les rats traités), on constate que l'effet du moment d'administration du placébo est non significatif.
En d'autres mots, l'activité du rat de 18 à 2h, 23 à 6h, 3 à 10h. montre la même intensité pour les trois moments, situés respectivement à 19, 23 et 3h.
On peut cependant supposer qu'une analyse de résultats portant sur 12 heures n'aurait pas abouti à une même conclusion. En effet, la lecture de la fig. 6-9, montre une nette diminution d'activité consécutive à la réapparition de la lumière (voir aussi fig. 6-1). Les résultats de la table 6-11, montrent que l'activité pendant l'intervalle de temps 19 - 7h (obscurité continue) est plus intense que pendant l'intervalle 23 - 11h (4heures de luminosité, de 7 à 11h), elle-même plus intense qu'entre l'intervalle 3 - 15h (8 heures de luminosité, de 7 à 15h.)

- L'interaction permet de déterminer si <u>l'évolution de l'A.G. varie selon la période de temps</u> considérée.
Cette interaction est hautement significative
(dl = 48; F = 8,54; P = 0,0000)
ce qui ne nous surprend pas puisqu'on sait que l'activité du rat manifeste une rythmicité circadienne. (cfr. fig. 6-1)

Les figures 6-9 et 6-10 représentent l'activité des rats non traités.
Sur la fig. 6-9, les tracés sont décalés;
Sur la fig. 6-10, l'origine est la même.

<u>Remarque</u>.

Afin de déterminer si le stress de la piqûre influence l'A.G. du rat, un groupe de rats non piqués a été comparé aux trois groupes "placébo" (fig. 6-9)
Le tracé contrôle diffère en effet de ceux des placébo; sur la table 6-12 ont été indiquées d'une croix les périodes où chaque groupe placébo différait significativement du groupe contrôle. (test de Student)

	X placébo	S	X contrôle	S
19h -19h15	17,1	16,2	65,1	25,0
23h -23h15	57,9	19,3	60,7	27,8
3h - 3h15	82	36	71,2	33,6

(table 6-13)

Ainsi, par exemple, le groupe placébo piqué à 19h diffère significativement du groupe contrôle (non piqué) pour la période de 20h à 21h.
Le tableau 6-13 reprend la moyenne d'activité du groupe placébo pendant le quart-d'heure suivant l'injection, en comparaison avec celle du groupe contrôle.
En effet, si le stress de l'injection augmente l'activité motrice du rat, il est logique de supposer que cette modification se manifeste dès la fin de la piqûre.
Le tableau montre que seuls les rats piqués à 3h. sont plus actifs que le groupe contrôle après l'injection. Cette augmentation n'est d'ailleurs pas significative.
Le stress de l'injection semble dépourvu de conséquence sur l'A.G. Le tableau 6-13 met cependant en évidence de nombreuses différences significatives entre les groupes "placébo" et le groupe "contrôle".
Un autre facteur semble intervenir. Il s'agit peut-être de l'effet de l'éclairement lors de l'administration. Cet éclairement inhabituel et d'une durée approximative d'une demi-heure (laps de temps nécessaire pour piquer l'ensemble des rats) a peut-être perturbé le rythme d'activité des rats.
Cette suggestion repose sur des observations antérieures, (MOORE-EDE, 1983)
où il a notamment été démontré qu'un simple flash lumineux envoyé au début de la nuit pouvait allonger la période d'activité du rat et que ce même flash en fin de nuit pouvait raccourcir la phase d'activité.

I.3 DISCUSSION ET CONCLUSION.

L'analyse de la variance a confirmé l'influence du moment d'administration de la clozapine, influence déjà observable graphiquement.
Cette influence ne s'exerce cependant qu'au niveau de la durée d'action du produit; quant à l'intensité de l'action du produit, elle varie peu en fonction du moment d'injection.

En effet :

- au point de vue de l'intensité de l'action de la clozapine :

Remarque : seule est envisagée la diminution de l'activité; l'hyperactivité tardive se révélant rarement significative.

L'interaction moment-temps (anova n°5) n'est significative qu'après la quatrième heure suivant l'injection, c'est-à-dire que la différence d'activité entre les trois groupes (groupes 19h/ 23h/ 3h.) ne se marque qu'après 4 heures.(fig.6-7) Or, pendant ce délai, l'effet du produit s'est déjà considérablement atténué.
De plus, la lumière surgit à ce moment pour le groupe piqué à 3h. En d'autres mots, il y a différence d'activité au moment où le produit agit moins et où le facteur lumière intervient. On ne peut donc conclure que cette différence est due à une action différente de la clozapine mais plutôt au rythme d'activité normale du rat.

Revenons donc aux quatre premières heures :
Pendant cette période les trois tracés "clozapine" sont similaires, ce qui n'est pas du tout le cas si l'on se réfère aux tracés "placébo". (fig.6-10) Cela signifie que selon l'heure d'administration, l'amplitude de la diminution d'activité des groupes drogués par rapport aux autres n'est pas constante. La clozapine diminuerait donc l'activité à un même niveau pour tout moment d'administration. Le produit a ainsi plus agi quand l'activité était plus intense.
Du point de vue pratique, cela implique que, si l'on considère le degré d'efficacité du produit, la clozapine peut être administrée indifféremment à ces trois heures testées.

Remarque : La variabilité individuelle des rats est amoindrie par la clozapine, ce qui, d'un point de vue application clinique, se révèle intéressant :
l'effet sédatif étant identique entre individus, originellement différents, la dose ne semble pas devoir être ajustée pour chaque individu.

Hour	LD [1] N = 8
0600	64 ± 4
0700	68 ± 2
0800	53 ± 2
0900	46 ± 4
1000	58 ± 3
1100	57 ± 3
1200	62 ± 2
1300	65 ± 2
1400	69 ± 2
1500	70 ± 2
1600	73 ± 2
1700	74 ± 2
1800	104 ± 2
1900	92 ± 1
2000	78 ± 3
2100	88 ± 2
2200	89 ± 1
2300	84 ± 1
2400	70 ± 3
0100	79 ± 1
0200	50 ± 2
0300	43 ± 1
0400	80 ± 1
0500	63 ± 2
Overall 24-hour mean	70 ± 2

Table 6-I5.

Moyennes horaires sur 24h. de la durée de l'anesthésie (min.) après injection de 35 mg/kg de pentobarbital sodium par voie intrapéritonéale chez des rats

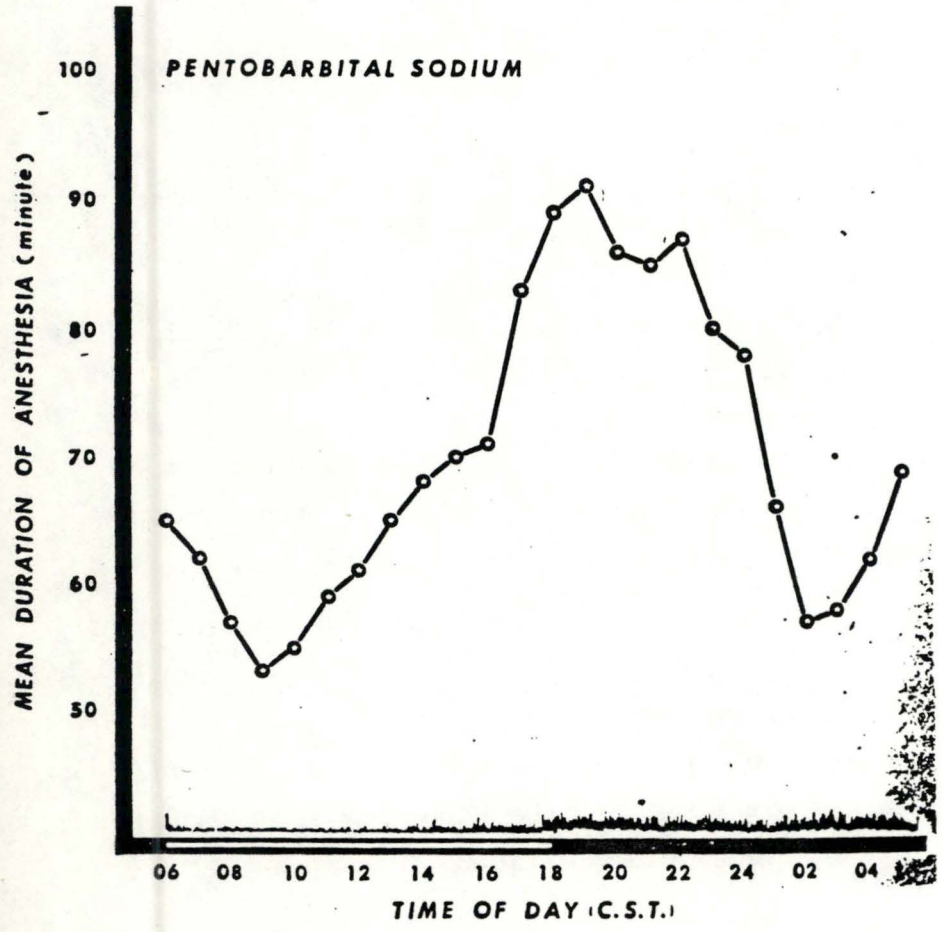


Fig. 6-II.

durée d'anesthésie (moyenne sur trois heures) selon le moment d'injection du pentobarbital sodium chez le rat

- au point de vue de la durée de l'action de la clozapine :

C'est ici que l'approche chronopharmacologique trouve toute sa pertinence.

En effet, la durée d'action varie entre chaque moment d'administration.

	heure d'injection	durée d'action
1e partie de la nuit	19h. 21h.* 23h.	7h. 10h. 5h.
2e partie	1h.* 3h. 5h.*	6h. 3h. 6h.

* voir annexe 4 (table 6-14)

Deux hypothèses sont proposées pour expliquer ces différences. La première, de type comportemental, fait intervenir deux facteurs :

- l'activité (liée à la température corporelle)
- la lumière.

L'hypothèse est la suivante : la durée d'action de la clozapine serait fonction de l'activité : plus l'activité est élevée au moment de l'injection et plus le produit agit longtemps. Cette hypothèse nous a été suggérée par une expérience menée chez la souris (SCHEVING, 1968). L'expérience consistait à administrer, par voie intrapéritonéale, 35 mg/kg de pentobarbital sodium; les souris étaient réparties en 24 groupes; chaque groupe recevait l'injection à intervalle d'une heure. La durée de l'anesthésie consécutive au barbiturique et la température corporelle furent mesurées pour chaque heure. (table 6-15 et fig. 6-11) Comme la température suit le même rythme circadien que l'activité (la température s'élève quand l'animal s'active), la température corporelle est utilisée par SCHEVING comme une mesure indirecte de l'activité.

Les souris sont soumises à un cycle lumière/obscurité 12/12 = 6h - 18h. Comme nos rats vivent en cycle 7h - 19h., les résultats sont comparables à ceux de SCHEVING si on décale les mesures d'une heure.

Par exemple, 19h. dans notre expérience correspond à 18h. dans l'expérience de SCHEVING.

Les résultats obtenus par SCHEVING sont similaires aux nôtres : la durée d'effet du produit est plus grande pour la première partie de la nuit.

1) Première partie de la nuit :
la durée d'action à 21h. est plus grande qu'à 19h. et 23h. Si l'on observe la figure 6-1 représentant le rythme circadien d'activité du rat, on constate que l'activité est plus grande à 21h. qu'aux deux autres moments.
L'hypothèse du rôle de l'activité est donc plausible.

2) Pour la deuxième partie de la nuit :
notre expérience ne peut être comparée à celle de SCHEVING, car le cycle d'activité du rat à ce moment diverge de celui de la souris.
Chez la souris, 3h. correspond à un moment où l'activité est minimale; à ce moment, la durée d'action du pentobarbital sodium est écourtée.
La corrélation entre activité et durée d'effet existe donc toujours.
Chez le rat, 3h. correspond à un maximum d'activité; or, nous voyons que l'effet de la clozapine à ce moment est de courte durée; il n'y a donc plus de corrélation entre activité-température et durée d'action.

Ces conclusions ont été aussi rapportées par EMLEN et KEM (1963 dans SCHEVING 1968), au cours d'une recherche, sur le rat, des effets chronopharmacologiques du pentobarbital sodium : la corrélation activité/durée d'effet était réelle pour la première partie de la nuit, mais pas pour la seconde.

Un peut donc supposer qu'un autre facteur intervient à ce moment et vient camoufler l'impact de l'activité.
En effet, l'activité étant plus élevée à 1h, 3h, 5h qu'à 19h et 23h., la durée d'effet devrait être plus longue (longueur de celle observée à 21h.)

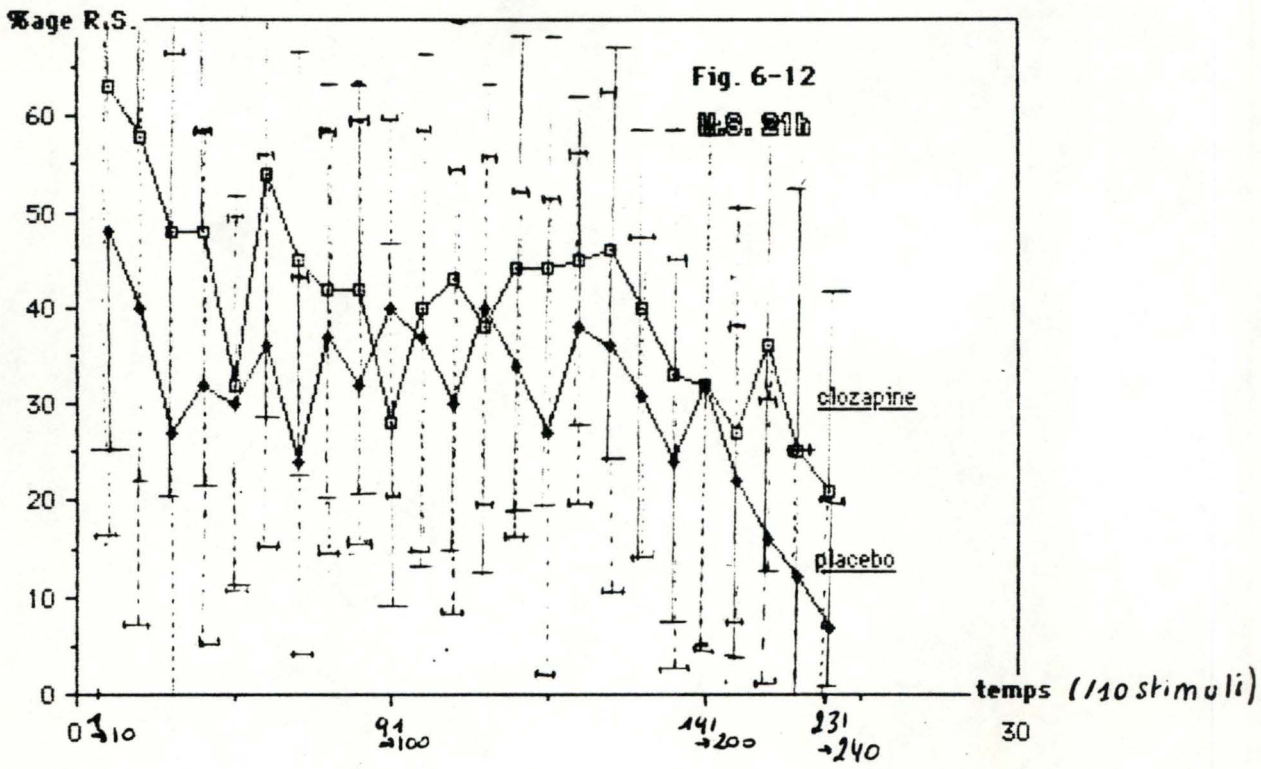
La lumiere, indicatrice de la fin de la période d'activité pour l'animal nocturne, avait pour effet d'écourter le temps d'action de la clozapine ou du moins de le faire paraître comme tel : en effet, une fois la lumière établie, les rats non traités diminuent d'activité et se rapprochent des rats traités. Il ne semble plus exister de différence au point de vue activité entre les deux groupes de rats.
Cela n'empêche pas pour autant que la clozapine agisse encore : son effet n'est simplement plus visible.
Un argument pouvant étayer cette suggestion est l'absence d'hyperactivité chez les groupes piqués à 1h. et 5h. Cette hyperactivité existe chez les rats piqués à 3h., mais seulement pendant 1 heure. Or, cette hyperactivité, présente pour les groupes piqués à 19h. et 23h., témoignerait de la fin de l'action de la clozapine.
Cette hyperactivité n'apparaît pas ou peu pour les trois groupes piqués à 1h, 3h et 5h., ce qui permet de supposer que la clozapine agit encore. Pous s'en assurer, des méthodes d'étude autres que la mesure de l'activité générale seraient plus appropriées, comme, par exemple, des dosages de la concentration de la clozapine et de ses métabolites dans le sang et dans différents organes.

Une seconde hypothèse de type physiologique peut être suggérée : on sait que la clozapine, une fois administrée et absorbée, va se distribuer dans l'organisme (cerveau, vésicule biliaire, tractus intestinal). Elle est ensuite éliminée, après avoir subi une métabolisation, plus ou moins poussée selon l'organisme considéré, en produits dérivés (GAUCH, 1971)

Or la cinétique d'absorption, de distribution, de métabolisation et d'élimination peut varier selon un rythme circadien. La variation circadienne de cette cinétique pourrait donc expliquer les variations circadiennes dans la durée d'effet de la clozapine.

Ces deux hypothèses proposées ne reposent sur aucune ba-

se théorique et demandent donc vérification.
En effet, la chronopharmacologie est une disciplne encore jeune; les résultats des recherches menées jusqu'à présent ne font que décrire les faits observés tout en mettant quelques hypothèses. Les questions posées ont reçu peu de réponses; les recherches en chronopharmacologies demandent donc à être approfondies afin de mieux contrôler ses paramètres et de permettre une application plus systématique de ses principes.


%age R.S.
Fig. 6-12
R.S. 21h
60
50
40
30
20
10
0
clozapine
placebo
temps (/10 stimuli)
0 1 10
91 100
141 200
231 240
30

II. HABITUATION AU STRESS.

II.1 Effets de la clozapine sur l'habituation au stress.

Rappel : L'expérience de stress est réalisée par l'envoi d'une séquence de 240 stimuli auditifs successifs séparés par un intervalle constant de 16 secondes. Le pourcentage de réponse de sursaut est calculé sur 10 stimuli; le phénomène d'habituation est mesuré par la diminution de ce pourcentage au cours du temps.

. Pour chaque moment d'administration, la période pendant laquelle la clozapine semble avoir son effet maximal sur l'A.G. a été déterminée.
La séquence sonore a été lancée pendant cette période afin de mettre en évidence, de façon plus certaine, l'effet éventuel de la clozapine sur la réaction au stress.
Pour une étude complémentaire, l'habituation au stress a été aussi réalisée de manière systématique, en envoyant le son, pour chaque moment, après le même délai suivant l'injection.

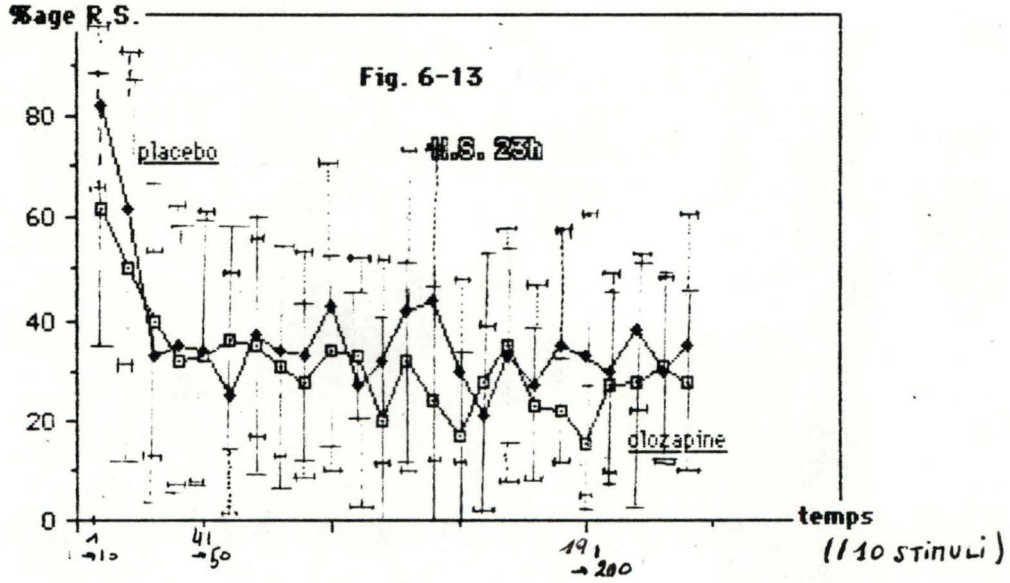
. Au point de vue analyse statistique, des tests de Student ont été réalisés pour comparer les réponses des rats selon le traitement, sans tenir compte du moment d'administration. Ces tests ont été appliqués pour analyser les différences des deux groupes (traités ou non) quant à leur R.S.; ils n'ont donc été utilisés que pour les premières réponses, quand l'habituation n'est pas encore totale.

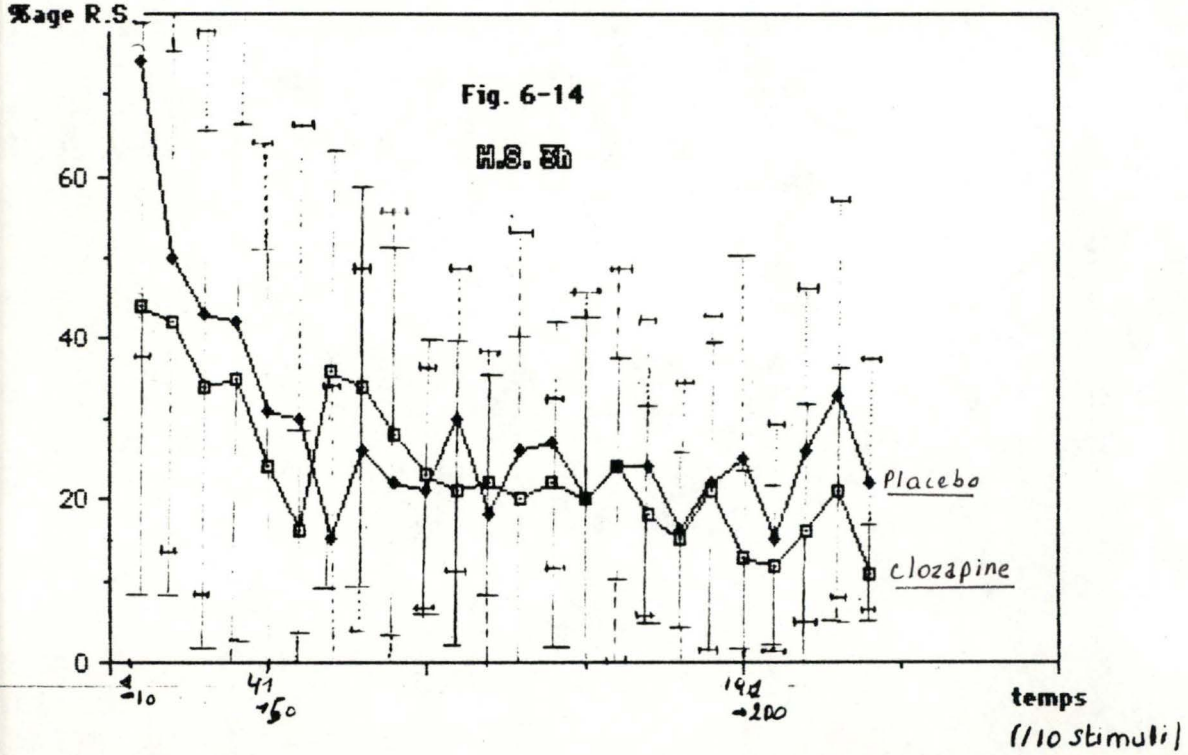
Une analyse de la variance a permis de tester le phénomène de l'habituation.

A) Etude de la réponse de sursaut.

1) Expérience à 19h.
Les rats piqués à 19h. sont testés à 21h., moment où le produit agit le plus intensément. (cfr. partie VI-1)

La fig.6-12 représente l'évolution du pourcentage de réponse de sursaut au cours du temps.


%age R.S.
Fig. 6-13
placebo
H.S. 23h
clozapine
0
20
40
60
80
1
10
41
50
191
200
temps
(110 stimuli)


%age R.S.
Fig. 6-14
H.S. 3h
0
20
40
60
1
10
41
50
191
200
Placebo
clozapine
temps
(110 stimuli)

L'ensemble du tracé indique une réactivité plus intense chez les rats drogués. Cependant le test de Student (effectué pour les 50 premiers stimuli) n'a révélé aucune différence significative.

2) Expérience à 23h. (fig. 6-13)
L'expérience est lancée 1/2 heure après l'injection (c'est-à-dire quand l'effet de la clozapine semble maximal).
Selon la fig. 6-13 , les réponses de sursaut sont plus intenses chez les rats "contrôle" lors des 20 premiers stimuli. Cependant, seules, les 10 premières R.S. se montrent significativement dépendantes du traitement (t significatif à 95%) :

3) Expérience à 3h.
La session sonore démarre 1/4 d'heure après l'injection. Comme le montre la fig. 6-14 , la R.S. des rats drogués reste inférieure à celle du groupe "contrôle", pendant les 60 premiers stimuli.
La différence entre les deux groupes ne se montre significative que lors des 10 premiers stimuli (t significatif à 95%)

B) Etude de l'habituation au stress.

1) Expérience à 19h.
L'habituation semble se faire en deux étapes : (fig.6-12)
. une première, au tout début de la session sonore, où le pourcentage de sursaut passe, lors des 50 premiers stimuli, - de 63% à 31% pour le groupe traité
- de 48% à 30% pour le groupe placébo.
. une deuxième, à la fin de la session (80 derniers stimuli), suite à laquelle le pourcentage de réponse atteint 21% chez les rats traités et 7% chez les rats non traités.

facteur	nombre de niveaux	niveaux	type de facteur
moment	3	- 21h. - 23h. - 3h.	fixe
traitement	2	- clozapine - aléatoire	fixe
temps	24	(= moyenne de réponses de sursaut sur 10 stimuli)	
rats	9		aléatoire

table 6-16

2) Expérience à 23h.

L'habituation paraît similaire pour les deux groupes de rats. Elle se réaliserait en une étape lors des 50 premiers stimuli : le pourcentage de réponse de sursaut passe de : - 62 à 33% chez les rats drogués
- 82 à 34% chez les rats non drogués.

3) Expérience à 3H.

L'habituation semble se faire en une étape pour les deux échantillons.

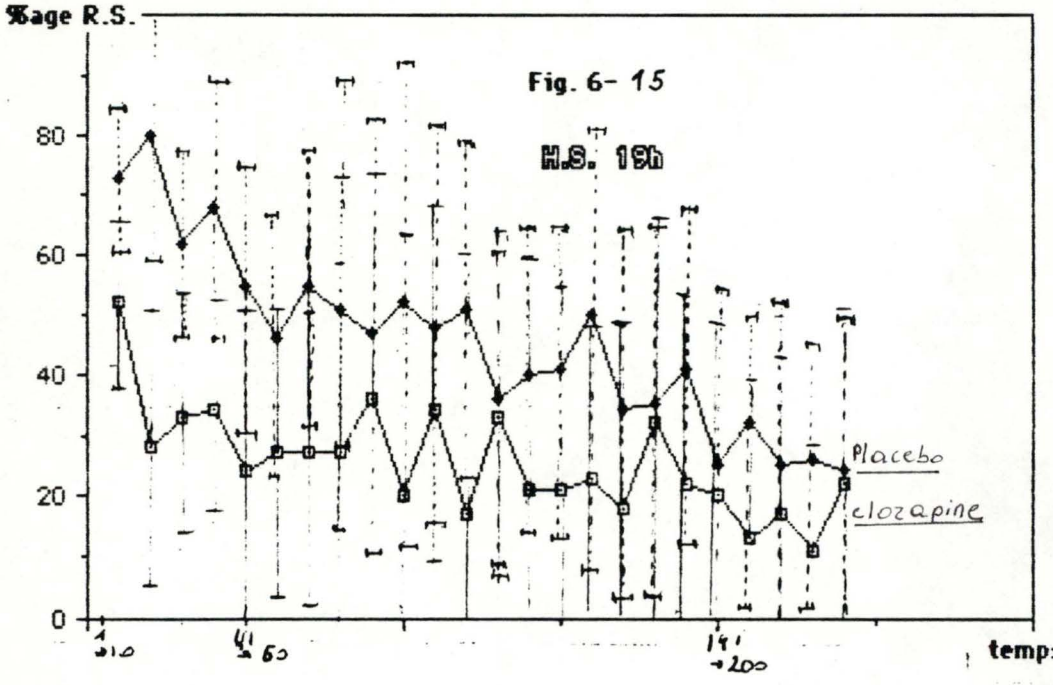
. Les rats traités s'habituent lors des 60 premiers stimuli : le pourcentage initial de R.S. (44%) diminue de 30%.

. Le groupe placébo voit son pourcentage de sursaut passer au cours des 70 premiers stimuli de 74 à 15%.

Une anova a été réalisée globalement pour les trois expériences de stress.
Cette analyse n'a pas révélé d'effet significatif pour le facteur moment; une analyse séparée de chaque moment ne semble donc présenter aucune utilité.

L'analyse (anova n°7) comprend quatre facteurs. (table 6-16)
Cette analyse montre que :

- l'effet du traitement est globalement non significatif
  (dl = 1; F = 0,00; P = 0,9853)
- l'effet du temps est hautement significatif
  (dl = 23; F = 11,92; P = 0,0000)
  Il y a donc évolution de la réponse de stress qui consiste en une habituation.
- l'interaction temps-traitement est non significative
  (dl = 23; F = 1,11; P = 0,3212)
  Cela signifie que la différence entre les rats traités et non traités reste identique au cours de la succession des stimuli. L'habituation semble donc se réaliser de façon semblable chez les rats traités ou non.


%age R.S.
Fig. 6- 15
H.S. 19h
80
60
40
20
0
Placebo
clozapine
1 à 40
41 à 60
141 à 200
temps (110 STIMULI)

La suite de cette anova étudie l'effet de la clozapine sur l'H.S. en fonction du facteur moment. Elle sera donc discutée au point VI-2 -B

En résumé,

- La R.S. des rats drogués est
  - à 19h., plus élevée (mais non significativement)
  - à 23h. et 3h., signifivativement moins élevée que celle des rats non traités.
- L'habituation semble se réaliser rapidement pour tous les groupes (environ après 60 stimuli). Elle s'établit en deux étapes pour le groupe piqué à 19h. et stressé à 21h.
- L'anova conclut à un effet non significatif du facteur traitement sur le phénomène d'habituation. La clozapine ne semble donc pas influencer la cinétique d'habituation au stress.

C) Etude complémentaire : rats piqués et stressés immédiatement après l'injection.

Pour tester l'effet de la clozapine sur la réponse de sursaut et l'habituation au stress, nous avions choisi de stresser le rat pendant la période où le produit agissait le plus, du point de vue durée et intensité.
Dans les expériences effectuées à 23h. et 3h., le son a été envoyé presqu'immédiatement après l'injection.
Pour notre étude systématique, nous allons donc conserver ces deux expériences. Seule l'expérience de 19h. sera modifiée : le son sera envoyé endéans la demi-heure suivant l'injection.
Comme nous le montre le tableau 6-1, l'effet immédiat de la clozapine sur l'A.G. semble peu différer de celui observé 2h1/5 plus tard. On pourrait donc supposer que l'effet de la clozapine sur la R.S. à 19h. sera aussi comparable à l'effet observé à 21h.

Les résultats présentés à la fig.6-15 mettent en doute cette supposition :

Contrairement au groupe stressé à 21h., (fig.6-11) les rats stressés peu après l'injection répondent au stress différemment en fonction du traitement (test de Student significatif): les rats drogués se montrent ici beaucoup moins réactifs que les rats non traités pendant la majeure partie de l'expérience.

Une comparaison entre le groupe "placébo" stressé à 19h. et celui stressé à 21h. semble révéler que les rats stressés à 19h. réagissent plus intensément que ceux stressés à 21H. : cette différence se révèle significative pour les 70 premiers stimuli.
Quant aux rats drogués, leur réactivité est plus importante s'ils sont stressés à 21h.

La comparaison des rats stressés à 19h. aux rats stressés à 23h. et 3h., met en évidence des résultats similaires : le pourcentage de R.S. est réduit par la clozapine dans les trois cas.

En conclusion, le délai séparant l'injection de la session sonore semble déterminant sur l'effet de la clozapine au niveau de la R.S.

- II.2 Influence du moment d'administration et/ou du moment de l'expérience de stress (21h, 23h, 3h.)

L'influence du moment a été étudiée par comparaison des groupes piqués à 19, 23 et 3h. et stressés respectivement à partir de 19h30, 23h30 et 3h30.

A) Influence du moment d'administration et/ou de l'expérience de stress sur la réponse de sursaut.

1) chez les rats traités.
L'influence du moment a été considérée pour les premières R.S.
Le pourcentage de R.S. semble similaire entre le groupe stressé à 21h. et celui stressé à 23h. Le pourcentage

moment / traitement		21h.	23h.	3h.
réponses 1 - 10	clozapine	63,3%	62,2%	44,4%
	placébo	48,9%	82,2%	74,4%
11 - 20	clozapine	58,9%	50,0%	42,2%
	placébo	40,0%	62,2%	50,0%

(table 6-17)

facteur	nombre de niveaux	niveaux	type de facteur
moment	3	21h. 23h. 3h.	fixe
traitement	2	clozapine placébo	fixe
rats	9		aléatoire

(table 6-18)

oe R.S. calculé sur les 10 premières réponses est de 20% moindre chez les rats stressés à 3h. Cette différence de 20% est significative (t significatif pour P =95%) (table 6-17)

2) chez les rats non traités.
Les R.S. entre les rats stressés à 23h. et 3h. paraissent similaires, tandis que les rats testés à 21h. répondent moins intensément (différence de 30%). La différence entre ce dernier groupe et les deux autres se révèle significative. (table 6-17)

Ainsi, le moment d'administration jouerait un rôle au niveau oe la R.S.

Comme l'a révélé le § VI. II.1, le traitement semble atténuer la R.S.

L'interaction des deux facteurs a été étudiée par anova.

Trois facteurs interviennent (table 6-18)

Cette analyse a été réalisée deux fois :

. la premiere fois pour tester les 10 premières réponses (moyenne de 9 rats sur 10 sursauts) (anova n°8)
. la deuxième pour tester les 10 suivantes (anova n°9) (de la 11e à la 20e réponse) :

Nous avons choisi de tester uniquement les vingt premières R.S. (= les plus intenses) car ensuite, l'habituation, rapide, atténue cette R.S.

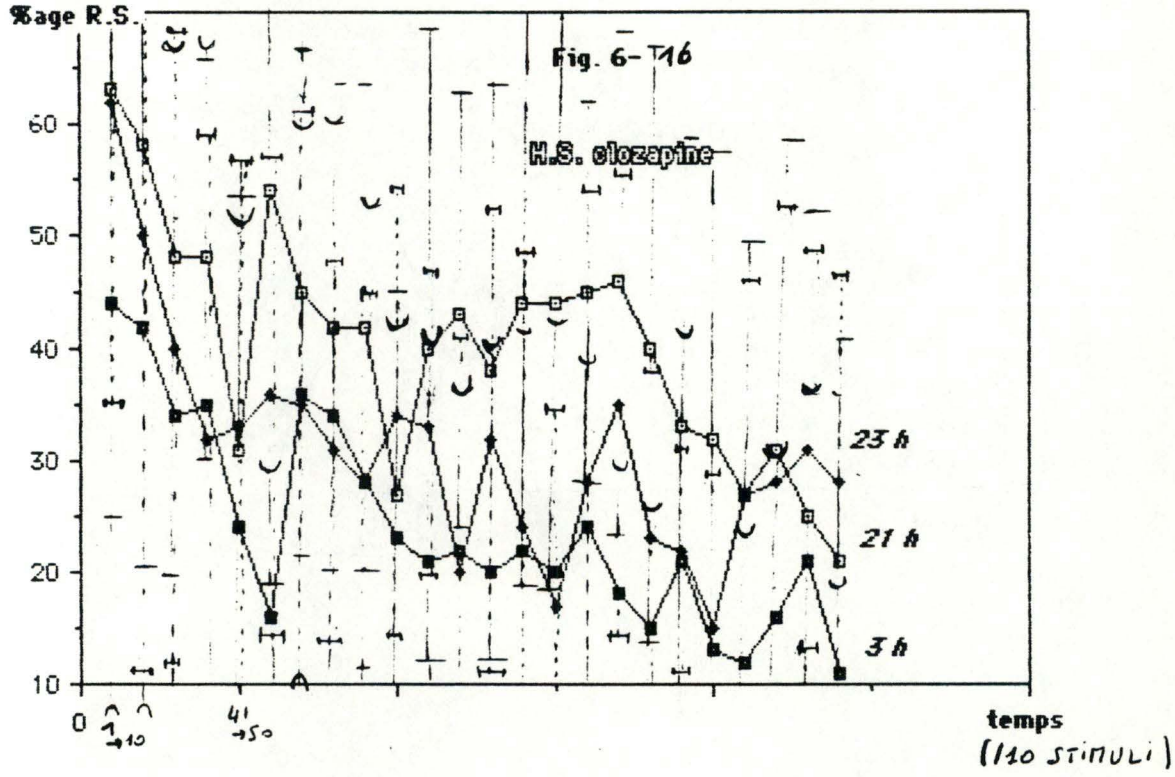
L'analyse révele que l'interaction moment-produit est non significative :

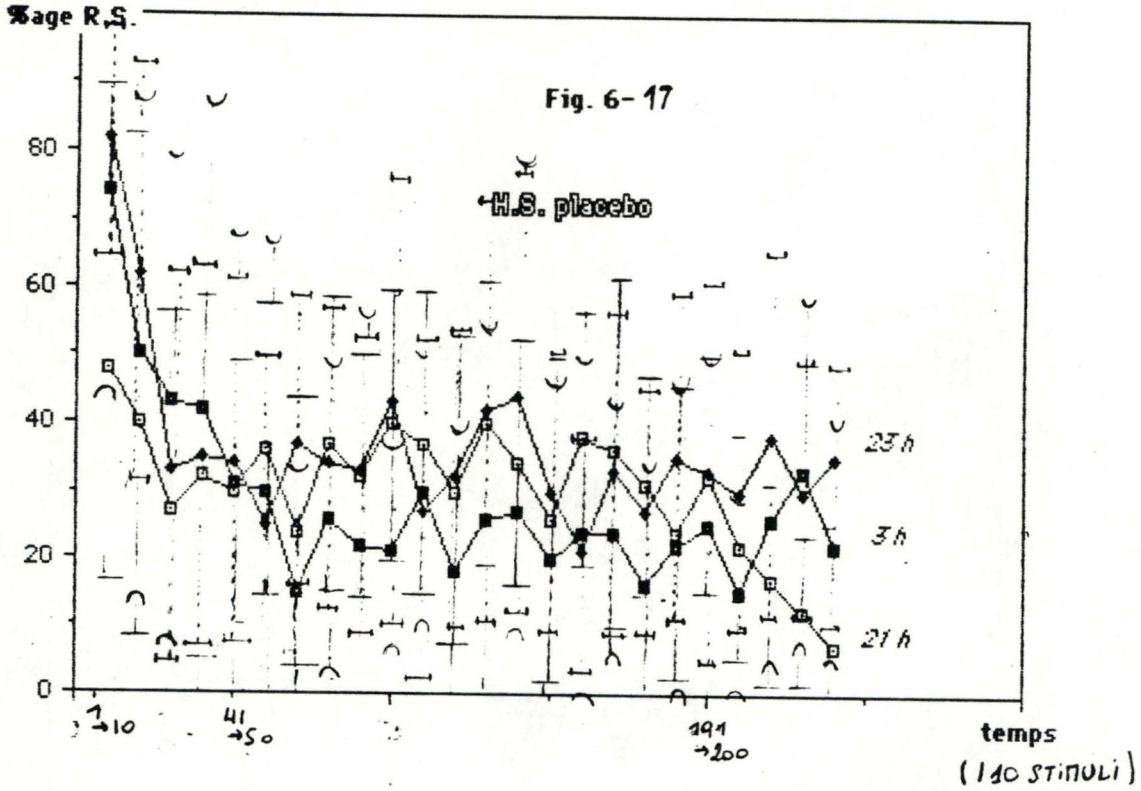
(anova n° : dl = 2; F = 2,60; P = 0,0851)
(anova n° : dl = 2; F = 0,91; P = 0,4095)

Cela signifie que l'effet du produit est constant entre chaque moment.

B) Variation de l'habituation au stress selon le moment.

1) chez les rats traités
L'habituation à 21h. semble plus marquée : le pourcentage de R.S. entre le début et la fin de la période de stress


%age R.S.
Fig. 6-T16
H.S. clozapine
60
50
40
30
20
10
0
23 h
21 h
3 h
temps
(110 STIMULI)



facteur	nombre de niveaux	niveaux	type de facteur
moment	3	21h. 23h. 3h.	fixe
temps	24	(moyenne de réponses sur stimuli)	fixe
rats	9		aléatoire

(table 6-19)

diminue de 4%; ce même pourcentage chute de
- 34% pour le groupe "23h"
- 30% pour le groupe "3h."

C'est également à 21h. que la réaction des rats traités se montre supérieure pour l'ensemble de la période sonore. (fig. 6-16)

2) rats non traités. (fig. 6-17)
L'habituation semble meilleure pour les rats stressés à 3h. (différence de R.S. entre le dédut et la fin du test = 52%; - à 23h., la différence est de 47% et
- à 19h., de 41%;

Ces résultats ont été examinés d'un point de vue statistique :

- L'interaction traitement-moment est non significative (dl = 2; F = 1,53; P = 0,2274)... voir début anova n°7
La différence (non significative) due au traitement est constante pour les trois moments d'injection considérés.

- L'interaction moment-temps est significative (dl = 46; F = 1,61; P = 0,0066)
Cela signifierait que le phénomène d'habituation est influencé par le facteur moment.
Afin de déterminer si cette influence intervient pour les rats traités et les rats non traités, deux autres analyses de la variance ont été réalisées, chacune pour tester l'effet du temps et du moment, indépendamment du facteur "traitement". La premiere reprend uniquement les groupes traités (anova n°9) et la deuxième ne considère que le groupe contrôle (anova n°10).

Trois facteurs interviennent (table 6-19)

Comme l'anova n°7 n'a révélé aucune différence significative du traitement, ni de l'interaction traitement-moment, nous nous attendons à observer des résultats similaires entre l'anova n°9 et n°10.

L'effet global du moment est non significatif pour les deux groupes :
(clozapine : dl = 2; F = 2,44; P = 0,1083)
(placébo : dl = 2; F = 0,74; P = 0,4865)
L'intensité réaction des rats sur l'ensemble de la session sonore paraît indépendant du moment, que les rats soient traités ou non.
L'interaction temps-moment est :
. non significative pour le groupe clozapine
(dl = 46; F = 0,99; P = 0,4936)
. significative pour le groupe placébo
(dl = 46; F = 1,49; P = 0,0227)
Ainsi, l'habituation est la même entre chaque moment pour l'échantillon traité mais diffère pour l'échantillon placébo.

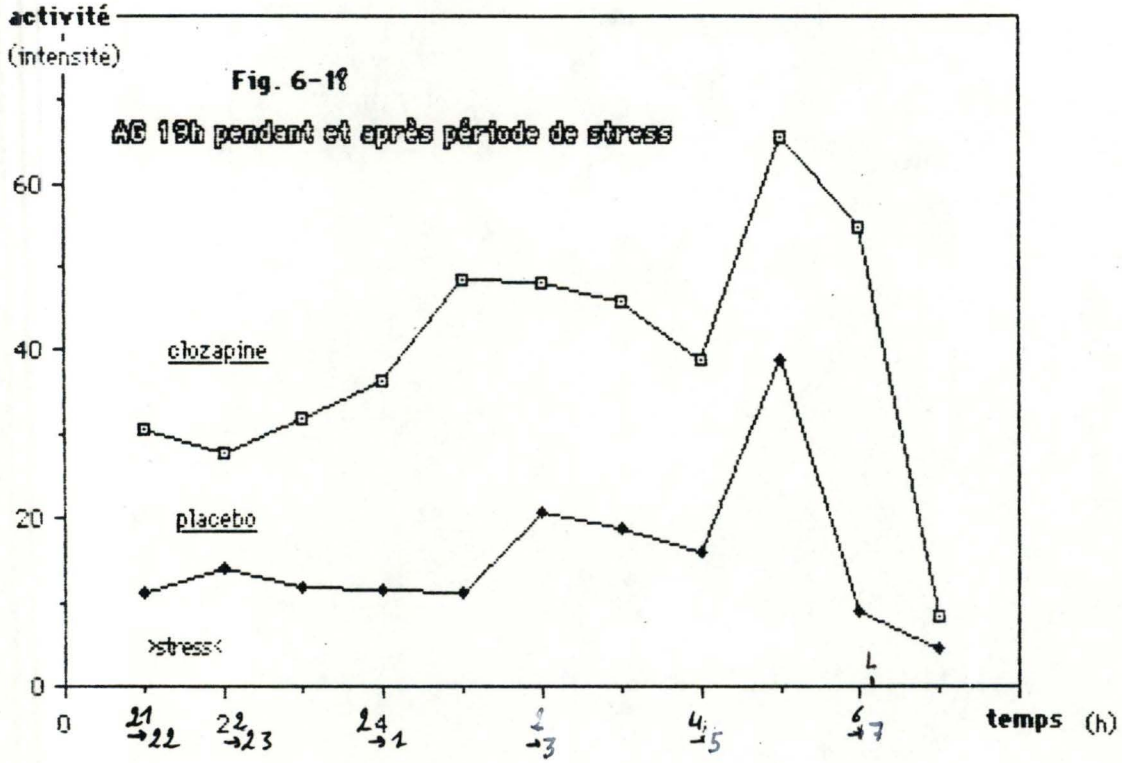
En d'autres termes :
- il existerait une variation chronobiologique de l'habituation au stress.
- cette variation apparaît, dans le cadre de notre expérience, neutralisée par la clozapine.

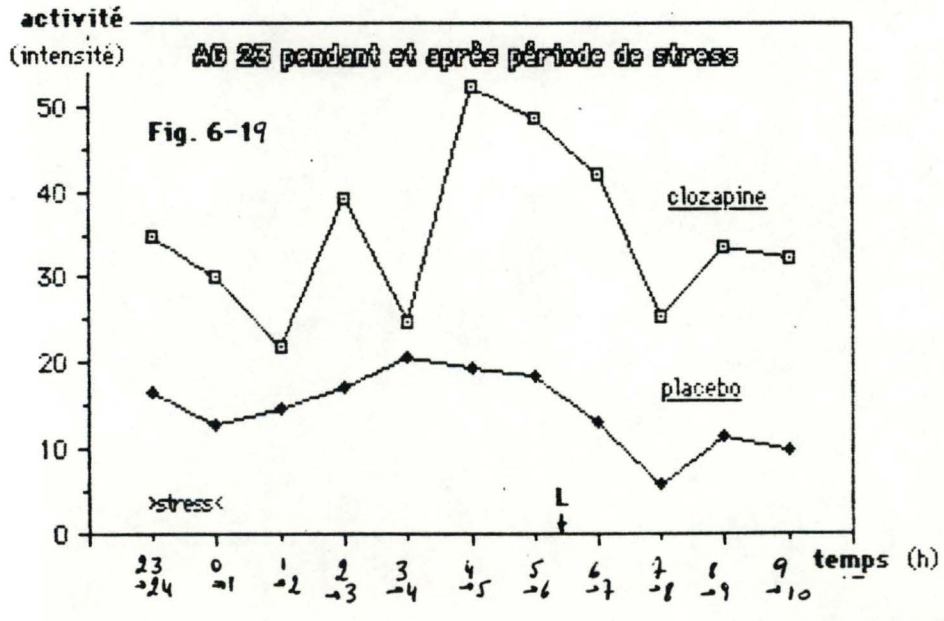
Le seul effet du traitement semble donc d'annuler l'impact du moment sur l'habituation au stress.

II.3 Résultats complémentaires.

Les observations quant à l'H.S. nous conduisent à nous poser certaines questions
à savoir :
- comment évolue l'activité des rats après avoir subi le stress?
- Si la période de stress a un effet sur l'activité ultérieure, comment varie ces effets selon le moment de lancement du son?
- Le stress de la piqûre s'additionne-t-il à celui du stimulus auditif?

Nous allons donc, avant d'entamer la discussion de nos résultats, présenter quelques observations intéressantes supplémen-


activité
(intensité)
Fig. 6-18
AG 19h pendant et après période de stress
60
40
20
0
clozapine
placebo
>stress<
L
0
temps (h)


activité
(intensité)
AG 23 pendant et après période de stress
Fig. 6-19
50
40
30
20
10
0
clozapine
placebo
>stress<
L
temps (h)

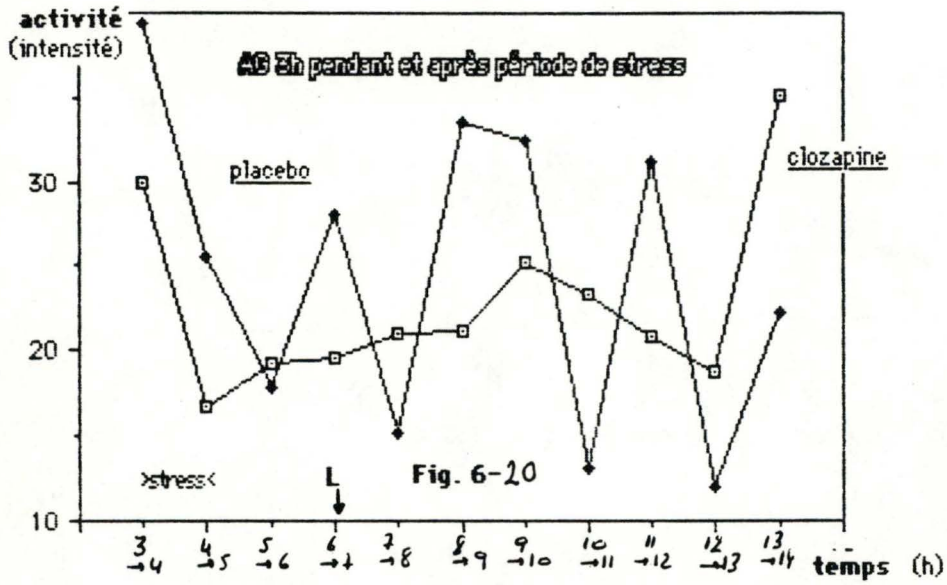


Fig. 6-20

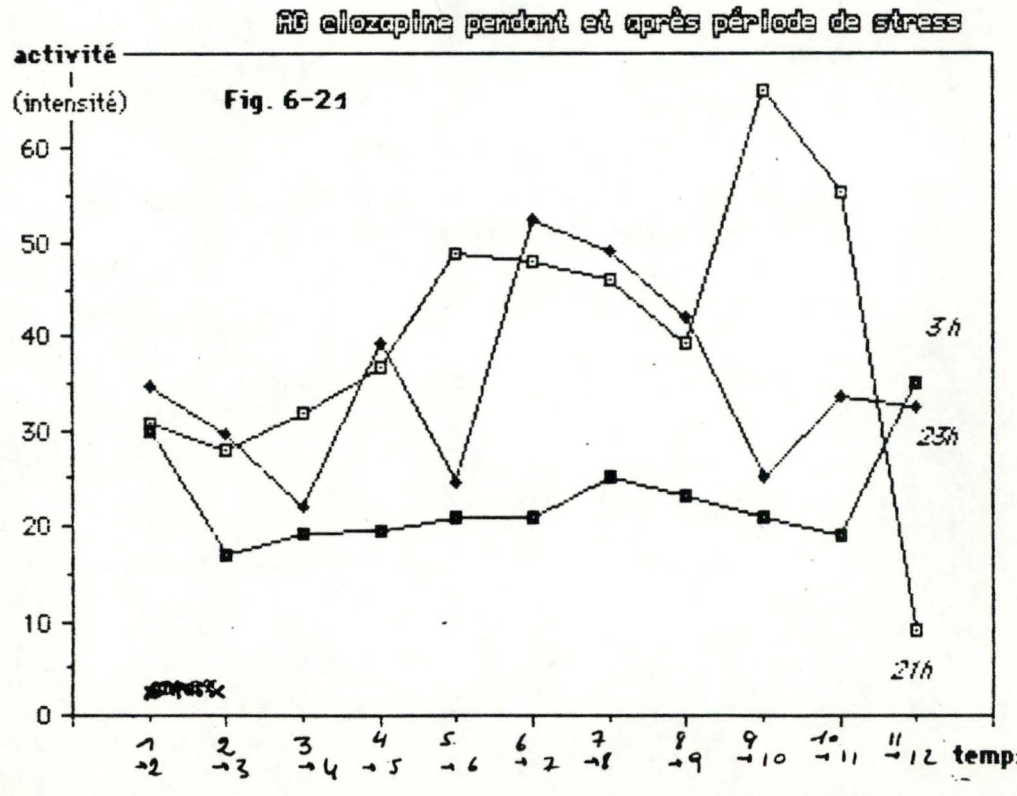


Fig. 6-21

taires, relatives à l'étude du stress.
Ces observations n'entrent pas réellement dans le cadre du mémoire. Elles seront donc relatées brièvement.

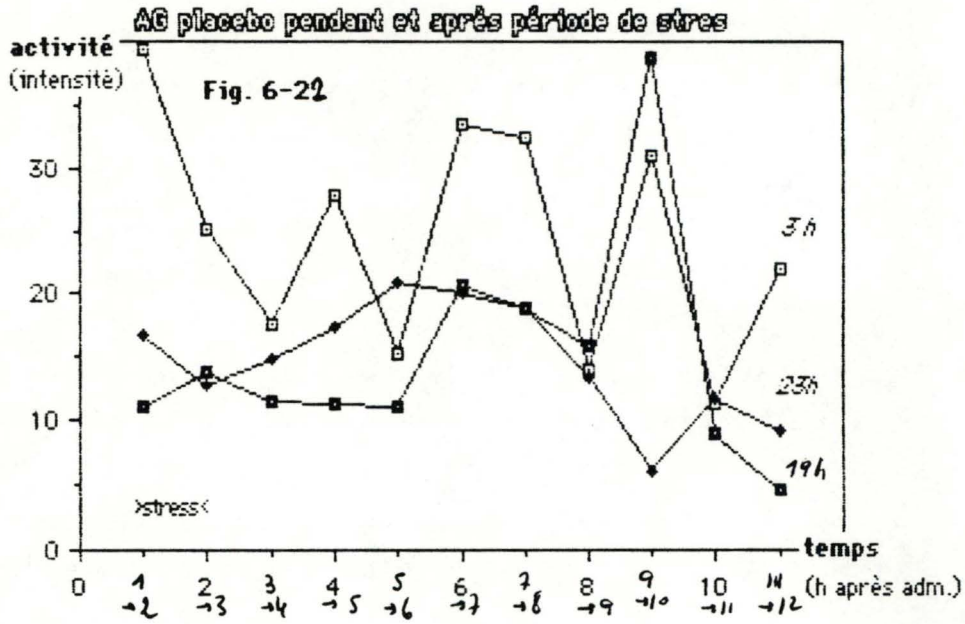
A) Effet de la clozapine sur l'activité générale des rats après expérience de stress.

1) Groupe piqué à 19h. et stressé de 21h15 à 22h15.
La figure 6-18 représente l'évolution de l'activité du rat suite à l'expérience de stress.
Le tracé indique clairement une activité moindre chez les rats non traités, par rapport aux rats traités et par rapport aux groupes "placébo" non stressés (fig.6-3).
La différence d'activité entre les rats drogués stressés et non stressés est nettement moindre (et même nulle pendant les cinq premières heures suivant la période de stress).

2) Groupe piqué à 23h. (période de stress débutant à 23h30).
Le tracé de la fig. 6-19 se révèle similaire à celui de la fig. 6-19 et nous conduit aux mêmes constatations :
- l'activité du groupe "placébo" est profondément atténuée après la session sonore.
- l'activité des rats drogués semble être moins affectée.

3) Rats piqués à 3h. et stressés dès 3h15.
La fig. 6-20 témoigne d'une activité similaire chez les rats traités ou non.
Si l'on se réfère à la fig. 6-5, les deux groupes manifestent une activité légèrement moindre aux groupes non stressés. Cette distinction n'est cependant significative (tests de Student) qu'entre les rats "placébo", et uniquement pendant la première heure après la fin de la séquence sonore.

B) Variation de ces effets selon le moment de lancement de l'expérience de stress.
Si l'on compare, pour les trois moments d'administration les rats drogués stressés (fig.6-21) et non stressés (fig. 6-7) aucune différence importante n'est visible.
On peut donc conclure que le stress n'a pas modifié l'action de la clozapine.


AG placebo pendant et après période de stres
activité
(intensité)
Fig. 6-22
30
20
10
0
3h
23h
19h
>stress<
temps
0
1 →2
2 →3
3 →4
4 →5
5 →6
6 →7
7 →8
8 →9
9 →10
10 →11
11 →12
(h après adm.)

La comparaison entre rats non traités (fig.6-22) (stressés) et(fig.6-10)(non stressés) permet de constater la diminution d'activité consécutive à la séquence sonore et déjà observée dans le paragraphe précédent.
Cette diminution d'activité est absente chez les rats stressés de 3H1/4 à 4h1/4; l'activité ne semble même pas diminuer lors de l'apparition de la lumière.
Les deux autres groupes ne semblent pas avoir été perturbés quant à leur rythme d'activité.

- les rats stressés à 21h présentent deux pics d'activité (entre 2h et 3h et entre 5h et 6h) comme les rats non stressés.
- les rats piqués à 23h. manifestent une activité plus intense entre environ 2h1/2 et 5h1/2, stressés ou non.

C) Effet de la piqûre.

Afin de déterminer si la piqûre influençait la réponse de stress, trois groupes de 10 rats ont été stressés sans avoir subi d'injection; chaque groupe a été stressé à des heures différentes, correspondant chacune aux heures où se sont réalisées les expériences précédentes.
Les résultats n'ont pas révélé de différence significative entre les rats "placébo" et les rats non piqués (tests de student), pour les expériences réalisées à 23h. et 3h.
Par contre les rats stressés à 21h. sans avoir subi d'injection se montrent plus réactifs.
Cela signifie que la piqûre n'augmente pas la sensibilité au son directement, puisqu'aucune différence n'a été mise en évidence pour les groupes "23h" et "3h".
L'effet stressant de la piqûre consisterait en une action secondaire : les rats seraient mis sous "tension" suite à l'injection; la dépense d'énergie et la fatigue dues à cette tension seraient telles qu'une fois les rats calmés, leurs réactivités à des stimuli ultérieurs (= session sonore deux heures plus tard) seraient amoindries. Il s'agirait déjà d'une certaine habituation vis-à-vis d'une situation stressante.

II.4 DISCUSSION.

Les résultats de l'expérience de stress nous amènent aux conclusions suivantes :

1. La R.S. est influencée par le traitement :

les rats piqués et stressés peu après 19h30, 23h30, 3h15, voient leur réactivité de départ diminuée par la clozapine.

Remarque : Chez les rats stressés à 21h. (deux heures après l'injection), la clozapine augmente la R.S.; cependant, cet effet est non significatif.

Quant à l'effet de la clozapine sur la R.S., deux possibilités étaient envisagées dans nos hypothèses :

- effet nul.
  L'effet sédatif de la clozapine déprimerait l'activité motrice spontanée du rat mais la réactivité aux stimuli resterait inchangée.
- effet négatif.
  La clozapine diminuerait la R.S. suite à ses propriétés tranquillisantes, anxiolytiques ou déconnectantes.

Nos résultats penchent en faveur de la seconde hypothèse; il faut cependant tenir compte de l'influence de différentes variables, telles :

1°) la dose.
La clozapine à faible dose (5mg/kg chez le rat; 0,1 à 1mg/kg chez le lapin par voie orale) augmenterait le taux de réponse de l'animal soumis à un programme F.I. (programme où une réponse opérante est renforcée si elle suit la réponse précédente d'un temps déterminé) (cfr annexe).
A dose plus élevée (20mg/kg chez le rat, 1 à 3mg/kg chez le lapin), l'effet inverse se produit (CANON et LIPPO, 1975).

2°) le programme expérimental.
Si l'animal est soumis à un programme F. R, le taux de réponse semble diminué par la clozapine, administrée à faible dose (CANON et LIPPO,1975; DAVIS et SVENSSON, 1975).

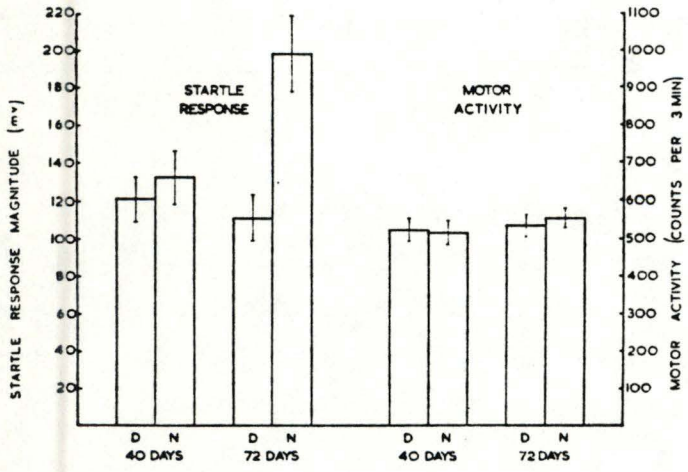


Fig. 6-23. Relation entre l'amplitude de la r.s. et l'activité locomtrice pour des rats immatures et matures. Chaque valeur représente la moyenne ± 1'écart-type pour un groupe de 20 an maux.

3°) le délai entre l'injection et l'expérience.
Une expérience réalisée sur les rats (DAVIS et SHEARD, 1976) a montré que la R.S. était inhibée 15 min. après l'injection de P-chloro-amphétamine; elle est facilitée 2h15 après cette même injection tandis qu'aucun effet n'a été observé après 24 heures.

Ainsi, suite à notre expérience, nous pouvons appuyer notre hypothèse quant à un effet tranquillisant ou anxiolytique probable de la clozapine sur le rat soumis à une série de stimuli auditifs stressants, à une dose de 8 mg/kg i.p. et dans le cas où l'expérience d'habituation débute endéans la demi-heure suivant l'injection.
La R.S. enregistrée chez les rats traités au début de la période de stress, bien qu'inférieure significativement au groupe contrôle, va à l'encontre d'une déconnection vis-à-vis de l'environnement.

2. La comparaison entre les groupes "placébo" qui ont été stressés environ 1/2 h. après l'injection physiologique n'indique pas de variation de la R.S. selon le moment de l'expérience de stress.
Pour les moments considérés, la R.S. ne semble donc pas varier selon un rythme circadien.
Nous ne pouvons cependant appliquer cette constatation à l'échelle des 24 heures puisque notre expérience ne s'est localisée que sur une partie des 12 heures d'activité du rat : il se peut que la R.S. varie de façon rythmique au cours de la journée mais que cette variation ne se manifeste qu'en comparant le jour avec la nuit, comme l'indique la fig. 6-23.
Cette figure indique que les rats matures (72 jours) réagissent beaucoup plus intensément à un son pendant la nuit. Elle permet d'observer aussi que l'amplitude de la R.S. n'est pas corrélée à l'activité motrice. C'est sans doute pour cette raison que la R.S. dans notre expérience reste constante entre chaque moment alors qu'à ces mêmes moments

l'activité varie clairement.

Il se peut également qu'il existe une variation circadienne de la R.S. au cours de la nuit. Les rats stressés à 19h,23h et 3h. réagiraient de la même façon simplement parce que, par hasard, la séquence sonore correspondrait à des moments de sensibilité similaire.

Quant aux rats administrés à 19h. et stressés à 21h., ils manifestent une réaction moindre au son.
On peut suggérer pour ce résultat particulier l'hypothèse d'un effet stressant de la piqûre. Ce stress, additionné à celui du stimulus auditif provoquerait une réaction intense chez le rat. Ainsi les rats stressés à 21h. seraient moins sensibles au son, un délai plus long s'écoulant entre l'injection et le début de la séquence sonore.
Pour vérifier cette hypothèse, des rats ont été stressés sans avoir subi d'injection (cfr. §II-3)

Les résultats attribuent un rôle à la piqûre, mais tout autre que celui attendu : lorsque le délai entre la piqûre et la période de stress est longue (± 2 heures, pour l'expérience de 21h.), on constate que les rats piqués sont moins stressés que les rats qui n'ont pas été piqués préalablement, comme si le stress de la piqûre avait un effet de préparation à un stress ultérieur.
Lorsque le délai est court, aucun effet de la piqûre n'a pu être mis en évidence (cfr. §II-3).

3. L'évolution de la réaction au stress n'est pas influencée par le traitement, contrairement à la R.S. initiale.
Cela signifie que le pourcentage de R.S. des rats drogués et non drogués décline parallèlement.
Cette discordance dans les résultats concernant l'effet de la clozapine sur la R.S. et sur l'H.S. a déjà été observée précédemment pour d'autres produits : ainsi, WARBURTON et GROVES (1969) avaient testé l'effet de la scopolamine sur l'H.S. et la R.S.; cet alcaloïde anticholinergique ampli-

fiait la R.S., sans modifier l'H.S.
De même la P-chloro-amphétamine agit sur la R.S. sans altérer le taux d'habituation (DAVIS et SHEARD, 1976).
Notre expérience semble confirmer ces observations et tend à démontrer que les mécanismes sous-jacents à ces processus sont distincts.

4. L'évolution de réponse au stress varie en fonction du moment où s'est déroulé le programme de stress chez les groupes "placébo" mais pas chez les groupes "clozapine".
La clozapine supprime cette variation : elle a pour effet d'homogénéiser la réaction des rats pour tout moment considéré. Cette homogénéité de réponse a déjà été observée au niveau de l'A.G.; les rats drogués montraient une variabilité moindre.
Le phénomène d'H.S. semble donc mieux corrélé avec le rythme circadien d'activité, contrairement à la R.S. initiale.
L'habituation est plus marquée à 3h. (le pourcentage de R.S. diminue de 52%), moment où l'A.G. se révèle être la plus intense.
A 19h., l'A.G. se situe à un niveau moins élevé par rapport aux deux autres moments. C'est aussi à 19h. que le taux d'habituation se montre le plus bas.

5. L'activité des rats au sortir de la séquence de stress est atténuée par rapport aux rats non stressés.
Les rats traités voient leur activité moins affectée par le stress.
Une explication probable est que les rats traités se sont montrés moins sensibles au stimulus auditif; celui-ci les a moins perturbés et donc ces sujets sont moins exténués.

CONCLUSIONS

Les développements de la chronobiologie et des connaissances sur la structure temporelle de l'homme sont riches d'enseignements et leur interprétation dans de nombreuses sphères de l'activité humaine s'est déjà révélée très fructueuse, souvent même essentielle.

La médecine expérimentale ou clinique ne fait pas exception. La pharmacologie notamment, s'est enrichie des concepts chronobiologiques et des malades bénéficient déjà de l'amélioration de certains traitements médicamenteux réalisée grâce à une approche chronothérapeutique.

Divers aspects de la pharmacologie neurologique, psychiatrique, endocrinologique, cardio-vasculaire ou anti-infectieuse font l'objet d'investigations par le biais de cette approche nouvelle et des solutions originales à des difficultés anciennes s'esquissent.

Notre étude se veut une contribution à l'élargissement du champ des connaissances chronopharmacologiques dans le domaine psychologique.

Nous avons choisi d'observer l'influence des rythmes circadiens sur un produit relativement neuf et encore à l'étude, la clozapine.

Ce neuroleptique se montre aussi efficace que les neuroleptiques classiques.

Il présente un avantage par rapport aux neuroleptiques : au niveau de certains effets secondaires comme le syndrôme extrapyramidal de type parkinsonien.

Ce syndrôme induit par les neuroleptiques classiques limite leur emploi, pourtant si précieux dans le traitement des malades psychotiques.

L'intérêt de prendre conscience de l'impact de la chronobiologie en tant que modulateur des effets de la clozapine est double : d'une part, déterminer le moment où la toxicité de la clozapine est minimale (organes-cibles moins sensibles) et

d'autre part, le moment où l'efficacité est maximale, ce qui permet de diminuer la dose prescrite.

L'effet chronopharmacologique de la clozapine est envisagé dans notre travail sous l'angle des répercussions comportementales par la mesure de l'activité générale et de l'habituation au stress du rat.

L'activité générale est étudiée afin de mesurer l'effet sédatif de la clozapine et les variations dans le temps de ces effets.

Quant à la réaction au stress, elle est analysée en raison des propriétés comportementales fondamentales (antipsychotiques et anxiolytiques) de la clozapine. Ces propiétés interviennent au niveau de la réponse de sursaut qu'il est donc opportun d'étudier.

Ainsi, dans notre travail, nous avons observé les effets de la clozapine sur l'activité et l'habituation au stress du rat. Les observations sont effectuées à différents moments du rythme d'activité.
La variation circadienne de la réponse de sursaut chez les rats non traités est aussi prise en compte.

Les résultats de notre expérience se résument comme suit :

1. L'<u>effet sédatif</u> de la clozapine est proportionnel à l'activité de départ (du moins pour la dose de produit employée) de sorte qu'elle ramene l'activité à un même niveau d'intensité quel que soit le moment d'administration. Pratiquement, cela impliquerait que si l'on désire diminuer l'activité à un certain niveau, le moment de l'administration ne devrait pas être pris en considération.

2. <u>La durée de l'action</u> de la clozapine sur l'activité motrice varie selon le moment d'administration.
   Cette variation serait en corrélation avec les variations circadiennes du cycle repos-activité, et de luminosité.

3. <u>La réaction</u> (réponse de sursaut initiale) des rats drogués est inférieure à celle des rats non drogués.

La cinétique d'habituation, rapide, n'est pas influencée par la clozapine.

4. Chez les sujets non drogués, l'habituation au stress diffère selon le moment où s'est déroulée l'expérience de stress.
   Les rats drogués, par contre, s'habituent de façon identique quel que soit le moment de l'injection. Il semblerait que la clozapine annule l'impact du moment sur l'habituation au stress.

5. Après la séquence sonore au-delà de la période de stress, l'activité des rats non traités est plus ralentie que celle des rats traités.
   La variation de la durée d'action de la clozapine en fonction du moment d'administration, mise en évidence dans notre travail semble une donnée particulièrement intéressante dans l'optique d'une utilisation clinique de la clozapine.

De façon générale, nos résultats confirment les hypothèses avancées par les chronobiologistes et les chronopharmacologues.

De nombreux paramètres, dont notamment les mécanimes neurophysiologiques (variation de libération d'acétylcholine, etc. et biochimiques sous-jacents (variation circadienne de l'activité des enzymes métabolisant le produit expérimenté) doivent encore être étudiés afin d'étayer ces hypothèses.

> "La chronopharmacologie est une discipline dont les applications cliniques, encore récentes et peu nombreuses, sont en pleine progression.
> L'élargissement des connaissances chronopharmacologiques est un élément important dans la recherche de thérapeutiques plus sélectives, au même titre que le développement de nouvelles molécules" (LEEMANN, 1984)

BIBLIOGRAPHIE.

ABE K., KRONING J., GREER M.A., et CRITCHLOW V., 1979 - Effects of destruction of the suprachiasmatic nuclei on the circadien rythm in plasma corticosterone, body temperature, feeding and plasma thyrotropin; Neuroendocrinology 29, 119-131.

ANDERMAN B. et GRIFFITH R.W., 1977 - Clozapine-induced agranulocytosis : a situation report up to August 1976; European journal of clinical pharmacology II, 199-201.

AYMARD N., 1978 - Analyse pharmacocinétique d'un benzodiazépine, le clorazépate dipotassique; psychologie médicale 10, A "hors-Série" p. 145-154.

BACOTTI A., 1981 - Clozapine effects on responding maintained under shock presentation and shock termination schedules; Pharmacology biochemistry and behaviour 15, 415-418.

BARBASON H., 1986 - Le sablier biologique; Intermédiaire 43, 5-8.

BARRET J.E., 1982 - Effects of clozapine, haloperidol and thiothixene on schedule-controlled responding and schedule-induced eating and drinking of rabbits; Pharmacology and behaviour 17, 1049-1053.

BARTHOLINI G., 1976 - Differential effect of neuroleptic drugs on dopamine turnover in the extrapyramidal and limbic system; J. Pharm. pharmac. 28, 429-433.

BARTLETT R.G., BOHR V.C., HELMENDACH R.H., FOSTER G.L., and MILLER M.A., 1954 - Evidence of an emotional factor in hypothermia prooduced by restraint; American journal of physiology 179, 343-346.

BINDRA D. et BARAN D., 1958 - Effects of chlorpromazine and méthylphénidylacétate on certains components of general activity; Journal of the experimental analysis of behaviour I.

BOLLES R. and WOODS P., 1964 - Ontogeny of behaviour in the albino rat; Animal behaviour 12 n°7, 427-441.

BORLAND and NICHOLSON, 1975 - Immediate effect on human performance of a 1,5-benzodiazepine (clobazam) compared with the 1,4-benzodiazepines chlordiazepoxide hydrochloride and diazepam; Br. J. clin.pharmac. 2, 215-221.

BOVARD E., 1959 - Effects of social stimuli on the response to stress; Psychological review 66 n°5, 267-277.

BRONSTEIN P.M., NEIMAN H., WOLKOFF F.D., et LEVINE M.J., 1974 - The development of habituation in the rat; Animal learning and behaviour 2, 92-96.

BROWN J., MERYMAN W., MARZACCO F., 1956 - Sound-induced startle response as a function of time since shock; Journal of comparative and physiological psychology 49, 190-194.

BURKI H.R., RUCH W., ASPER H., BAGGLIONI M., STILLE G., 1974 - Effect of single and repeated administration of clozapine on dopamine and noradrénaline metabolism in rat brain; European journal of pharmacology 27, 180-190.

CAMPBELL B.A. et STEHOUWER D.J., 1980 - Retention of habituation and sensitization in neonatal rats; Behavioural and neural biology 29, 190-202.

CANON J.G., LIPPO M.S., 1975 - Effects of clozapine, chlorpromazine and diazepam upon adjunctive and schedule controlled behaviours; Pharmacology, biochemistry and behaviour 6,581-587.

CAPPS M.J., STOCKWELL C., 1968 - Lesions il the midbrain reticular formation and the startle response in rats; Physiology and behaviour 3, 661-665.

CHLEIDE E., 1986 - Screening comportemental de la clozapine et dérivés chez Canis familiaris dans un modèle psychopharmacologique d'inhibition, de régulation temporelle et de résistance au stress; Mémoire de licence en sciences biologiques, F.N.D.P. (inédit).

CHOUINARD G., 1976 - Clozapine in the treatment of newly admitted schizophrenic patients; J. of clinical pharmacology 16, 289-297.

COLEMAN R., 1986 - Wide awake at 3:00 A.M.: by choice or by chance?; W.H. Freeman company, New York.

CONEY, 1974 - From animals to man : metabolic considerations; Clinical pharmacology and therapeutics 16, 176-182.

CROWLEY M., BOVET J., 1980 - Social synchronisation of circadian rhythms in Deer Mice; Behav. ecol. sociobiol. 7, 99-105.

CUOMO, 1983 - Behavioural and biochemical effects in the adult rat after prolonged postnatal administration of clozapine; Psychopharmacology 81, 239-243.

CURRY S.H., DERR J.E., MALING H.M., 1970 - The physiological disposition of chlorpromazine in the rat and dog; Proceedings of the society for experimental biology and medecine 134 n°1, 314-317.

CURRY S.H., 1971 - Chlorpromazine : concentrations in the plasma, excretion in urine and duration of effect, Proceedings of the Royal society of medecine 64, 285-289.

DAVIS M. er WAGNER A.R., 1969 - Habituation of startle response under incremental sequence of stimulus intensities; Journal of comparative and physiological psychology, 4, 486-492.

DAVIS M., 1970 - Effects of stimulus interval length and variability ofstartle response habituation in the rat; Journal of comparative and physiological psychology 72 n°2, 177-192.

DAVIS M., SVENSSON T., AGHAJANIAN G., 1975 - Effects of D-and L-amphetamine on habituation and sensitization of the acoustic startle response in rats; Psychopharmacologia 43, I-II.

DAVIS M. and AGHAJANIAN G., 1976 - Effects of apomorphine and haloperidol on the acoustic startle response in rats; Psychopharmacology 47, 217-223.

DAVIS M. and SHEARD M., 1976 - P-chloramphetamine : acute and chronic effects on habituation and sensitization of the acoustic startle response in rats; European journal of pharmacology 35, 261-273.

DAVIS F., 1981 - Ontogeny of circadian rhythms; Dep. of anatomy and brain research institute, university of california at Los Angeles, California 90024.

DEAN R., 1975 - Ach synthesis in rat brain : dissimular effects of clozapine and chlorpromazine; Life science 17 n°5, 739-747.

DENEBERG V.H., KLINE N.J., 1964 - Stimulus intensity versus critical periods : a test of two hypothesis concerning infantile stimulations; Canadian journal of psychology 18, 1-5;

DEPIERREUX, 1984-85, 1985-86 : notes de cours de deuxième candidature et de premiere licence.

DE SCHRIJVER C., 1986 - Neurophysiologie; notes de cours de 2ème licence en sciences bilogiques, F.N.D.P. (inédit).

EISELE R., BALANT-GORGIA A.F., 1984 - Le problème de la réponse à un traitement neuroleptique en psychiatrie; Médecine et hygiene 42, 906-910.

EKBLOM B., and HAGGSTROM J.E., 1974 - Clozapine compared with chlorpromazine : a double-blind evaluation of pharmacological and clinical properties; Current therapeutic research 16, n°9, 945-957.

EMILIEN G., 1981 - Stress et système cardiovasculaire; Mémoire de licence en psychologie, U.Lg.; (inédit).

FECHTER L.D., 1974 - The effects of L-Dopa clonidine and apomorphine on the acoustic startle response in rats; Psychopharmacologia 39, 331-334.

FEIGLEY D., PARSONS P., HAMILTON L., SPEAR N., 1972 - Development of habituation to novel environments in the rat; Journal of comparative and physiological psychology 79,n°3, 443-452.

FILE S.E., 1973 - Potentiation of the effects of chlorpromazine on exploration in the rat by a prior experience of the drug; Psychopharmacologia, 357-363.

FINK K., MORGENSTERN R., OELSSNER W., 1984 - Clozapine, a serotonin antagonist?; Pharmacology, biochemistry and behaviour 20, n°4, 513-517.

FORD K.E., FOWLER S.C. and NAIL G.L., 1979 - Effects of clozapine and chlorpromazine upon operant response measures in rats; Pharmacobiochem. behav. II, n°2, 239-241.

FRANKENHAEUSERM., 1967 - Physiological, behavioural and subjective inoices of habituation to psychological stress; Psychology and behaviour 2, 229-237.

GAUCH R., MICHAELIS W., 1971 - The metabolism of clozapine in mice, dogs and human subjects; Farmaco, Ed. Prat. 26, 667-681.

GELLER H.M., TAYLOR D.A., HOFFER B.J., 1978 - Benzodiazepines and central inhibitory mechanisms; Arch. pharmacol. 304, 81-88.

GENTSCH C., LICHTSTEINTER M., FEER H., 1982 - Behavioural comparaisons between individually -and grouped-housed male rats, effects of novel envirenments and diurnal rhythm; Behaviour brain research 6, 93-100.

GERLACH J., KOPPELHUS P., HELWEG E., 1974 - Clozapine and halopericol in a single-blind cross-over trial : therapeutic and biochrmical aspects in the treatment of schizophrénia; Acta psychiatrica scandinavia 50, 410-424.

GIURGEA C., 1985 - Bases théoriques et expérimentales de la psychopharmacologie; U.C.L., cours et documents de la faculté de psychologie et des sciences de l'éducation, Ciaco éditeur.

GOAS J.A., GOAS J.E., BOSTON J.R., 1978 - Discriminative properties of clozapine and chlorpromazine; pharmacol., biochem. and behaviour 8, 235-241.

GROVES P.M. and THOMPSUN R.F., 1970 - Habituation : a dual process theory; Psychological review 77,419-450.

HALBERG F., STUPFEL M., 1977 - Perspectives in chronobiology of air pollution; Chronobiologia 4, 333-352.

HALL R., 1984 - Acoustic startle response of protein malnourished rats; Physiology and behaviour 32, 175-181.

HOFFMAN H., SEARLE J., 1965 - Acoustic variables in the modification of the startle reaction in the rat; Journal of comparative and physiological psychology 60 n°1, 53-58.

GOODMAN et GILMAN, 1980 - The pharmacological basis of therapeutics, 6e édition, Macmillan publishing Company.

HOFFMAN H., STITT C., 1969 - Behavioural factors in habituation of acoustic startle reactions; Journal of comparative and physiological psychology 68 n°1, 276-279.

HOFFMAN H., MARSCH R., STEIN N., 1969 - Persistence of background acoustic stimulation in controlling startle; Journal of comparative and physiological psychology 68, 280-283.

HORLINGTON M., 1970 - Startle response circadian rhythm in rats : lack of correlation with motor activity; Physiology and behaviour 5, 49-53.

HORN G., 1967 - Neuronal mechanisms of habituation; Nature 215, 707-711.

IBUKA N., KAWAMURA H., 1975 - Loss of circadian rhythm in sleep-wakefulness cycle in the rat by suprachiasmatic nucleus lesions; Brain res 96, 76-81.

INOUYE S.T., KAWAMURA H., 1979 - Persistence of circadian rhythmicity in mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus; Proc. Natl. Acad Sci. USA 76, 5961-5966.

IDANPAAN J., ALHAVA E., 1977 - Agranulocytosis during treatment with clozapine, Europ. J. clin. pharmacol. II, 193-198.

JADOUL C., 1986 - Contribution à l'étude de l'habituation au stress de rats isolés et sociaux ayant subi des perturbations du rythme circadien au cours de l'ontogenèse; mémoire de licence en sciences biologiques, F.N.D.P. (inédit).

JARDETZKY, BARNUM and HALBERG, 1956 - Physiological 24-hr periodicity in nuclei acid metabolism and mitosis of immature growing liver; American journal of physiology 187, 608.

JORDAN W.P. and LEATON R.N., 1982 -Startle habituation in rats after lesions in the brachium of the inferior colliculus; Physiology and behaviour 28, 253-258.

KELLY J.B. and MASTERTON B., 1977 - Auditory sensitivity of the albino rat; Journal of comparative and physiological psychology 9I n°4, 930-936.

LATIES V.G. and WEISS B., 1966 - Influence of drugs on behaviour controlled by internal and external stimuli; Journal of pharmacology and experimental therapeutics 152 n°3, 388-396.

LECOMTE J., 1985 - CHRONOBIOLOGIE ET CHRONOPHARMACOLOGIE, une mise au point urgente - Introduction générale à la chronobiologie; Revue médicale de Liège 40 n°13-14, 521-525.

LEEMAN TH., 1974 - La chronopharmacologie : quel rôle en thérapeutique?; Médecine et hygiène 42, 944-956.

LE NY J.F., 1975 - Le conditionnement et l'apprentissage; Presses universitaires de France, 196 p.

LEONARD B.E., 1982 - Neuropharmacology of anxiolytic drugs : a selected review of the field; Drug development research I,I-II.

LIEVENS S. et KNAEPEN E., 1981 - Manipulation exogène du rythme circadien au cours de l'ontogenèse du rat; mise en évidence des effets ultérieurs; Mémoire de licence en sciences zoologiques, UCL. (inédit).

LINDT S., LAUENER H., 1971 - The toxicology of clozapine; Farmaco Ed. Prat. 26, 585-602.

LOEB M., HAWKES G.R., EVANS W;D., ALLUISI E.A., 1965 - The influence of d-amphetamine, benactyzine and chlorpromazine on performance in an auditory vigilance task; Psychonomic science 3, 29-30.

MACAR F., 1980 - Le temps, perspectives psychophysiologiques; Ed. P. Margada, Bruxelles, 267 p.

MACKWORTH J.F., 1968 - Vigilance, arousal and habituation; Psychological review 75 n°4, 308-322.

Mc DANIEL and WHITE, 1966 - A factiriel study of the stimulus conditions of habituation; Perceptual and motor skells 23, 259-270.

MARICQ A.V., CHURCH R.M., 1983 - The dufferential effects of haloperidol and metamphetamine on time estimation in the rat; Psychopharmacology 79,10-15.

MENAKER M. et BINKLEY S., 1981 - Neural and endocrine control of circadian rhythms in the vertebrates in J. Aschoff (Ed.). Handbook of behavioural neurobiology, vol.4, Biological rhythms; Plenum press, New York, p. 243-254.

MINORS D.S., WATERHOUSE J.M., 1981 - Circadian rhythm and the human; Wright PSG, USA.

MOORE-EDE M.C., SULZMAN F.M., FULLER C.A., 1982 - The clocks that time us; Harvard university press, Cambridge, Massachussetts, 448 p.

MOORE-EDE M.C., MARTIN C., CHARLES A., 1983 - Circadian timekeeping in health and disease; The new England journal of medecine 309, 469-476.

MOYER K.E., 1962 - Startle response : habituation over trials and days, and sex and strain differences; Journal of comparative and physiological psychology 56, n°5, 863-865.

NAIR V., CHEDID A., 1983 - Chronobiological considerations in pharmacologic and toxicologic studies : fact or fancy; Journal of the american college of toxicology 2 n°6, 337-345.

NICHOLSON A.N., STONE B.M., 1976 - Effect of a metabolite of diazepam, 3 OH-diazepam on sleep in man; British journal of clinical pharmacology 3, 543-550.

NIEMERGEERS C., JANSSEN P., 19 - Minireview : A systematic study of the pharmacological activities of dopamine antagonists; Life science 24, 2201-2216.

OVERSTREET D.H., 1977 - Pharmacological approaches to habituation of the acoustic startle response in rats; Physiological psychology 5 n°2, 230-238.

PAULY J., SCHEVING L., 1964 - Temporal variations in the susceptibility of white rats to pentobarbital sodium and tremorine; Int. j. of neuropharmacology 3, 651-658.

PENG M.T., 1980 - Changes in running-wheel activity, eating and drinking and their day-light distributions throughout the life span of the rat; Journal of gerontology 35 n°3, 339 - 347.

PHELPS C.P., LENGVARI I., CARILLO A.J., SAWYER C.H., 1977 - Changes in diurnal thyroid stimulating-hormone and corticosterone following anrerior hypothalamic deafferentation in the rat; Brain res. 141, 283-292.

PITTENDRIGHT C.S., 1960 - Circadian systems : general perspectives, in J.Aschoff (Ed.) Handbook of behavioural neurobiology, 1981, vol.4, Biological rhythms. Plenum press, New York, p.95-124.

POULSEN U.J., NORING U., 1985 - Tolerability and therapeutic effect of clozapine; Acta psychiatr. scand. 71, 176-185.

REINBERG A., HALBERG F., 1971 - Circadian chronopharmacology; Annual review of pharmacology and toxicology II, 455-492.

REINBERG A. and A.M., 1977 - Changes in the duration of action of local anesthesic agents; Arch. pharmac. 297, 149-152.

REINBERG A., 1978 - Clinical pharmacology, an experimental basis for chronotherapy; Arzneim-Farch-drug research 26, 1861-1867.

REINBERG A., HALBERG F., 1979 - Chronopharmacology; Advances in the biosciences, vol. 19, Pergamon press, Oxford, New York, Paris.

REINBERG A., SMOLENSKY M.H., 1982 - Circadian changes of drug disposition in man; Clinical pharmacocinetics 7, 401-420.

REINBERG A., 1982 - La chronopharmacologie; La recherche 13 n°132, 478-489.

REINBERG A., SMOLENSKY M., 1985 - Chronobiology international; pergamon press, Oxford, New York, Paris, vol.I, n°1.

RICHTER C.P., 1971 - Inborn nature of the rats 24-hour clock; Journal of comparative and physiological psychology 75 n°1, 1-4.

RINALDI P.C., THOMPSON R.F., 1982 - Age, sex and strain comparaison of the startle response in the rat; Physiology and behaviour 35, 9-13.

RUSAK B. and ZUCKER I., 1979 - Neural regulation of circadian rhythms; Physiological reviews 59, 449-526.

SACKLER A.M., WELTMAN A.S., BRADSHAW M., JURTSHUK J.P., 1959 - Endocrine changes due to auditory stress; Acta endocrinologica 31, 405-418.

SALEH M.A., HARD P.J. and WINGET C.M., 1977 - Loss of circadian rhythmicity and locomotor activity following suprachiasmatic lesions in the rat; J. interdiscipl. cycle res.8, 341-346.

SCHEEN A.J., LUYCKX A.S., 1985 - Chronopharmacologie et chronothérapeutique; Revue médicale de Liège 40, n°13-14, 528-532.

SCHEVING L.E., VEDRAL D.F. and PAULY J.E., 1968 - A circadian susceptibility rhythm in rats to pentobarbital sodium; Anat. record 160, 741-750.

SCHEVING L.E., 1980 - Chronobiology - A new perspective in pharmacology and chimotherapy; Trends in pharmacological sciences I, 303-307.

SCHMITT G., HALBERG F., CORNELISSEN G., 1978 - La chronobiologie et l'enseignement secondaire; Biologie-géologie (bulletin pédagogique trimestriel) 65, 414-441.

SHADER R.I., GREENBLATT D.J., 1977 - Clinical implications of benzodiazepine pharmacocinétics; Am. j. psychiatry 134, 652-656.

SOLLBERGER A., DAVIS M., 1972 - Diurnal rhythm of the startle response : a statistical analysis; J. interdiscipl. cycle res. 3, n°3-4, 315-325.

SOUTO M., MONTI J.M., ALTIER H., 1979 - Effects of clozapine on the activity of central dopaminergic and noradrenergic neurons; Pharmacologicy, biochemistry and behaviour 10, n°1, 5-9.

SPEALMAN R.D., 1983 - Behavioural effects of clozapine : comparison with thioridazine, chlorpromazine, haloperidol and chlordiazepoxide in squirrel monkeys; The journal of pharmacology and experimental therapeutics 224, n°1, 127-133.

STERN J.A., WINOKUR G., 1960 - The effect of group versus individual housing on behaviour and physiological responses to stress in the albino rat; Psychosomatic res.4, 185-190.

SWILEY C.S., WILBANKS W.A., 1982 - Effects of noise on early development in the rat; Bulletin of psychonomic society 19, n°3 181-183.

TEICHNER W.H., 1968 - Interaction of behavioural and physiological stress reactions; Psychological review 75, n°4, 271-291.

THOMPSON R.F. and SPENCER W.A., 1966 - Habituation : a model phenomenon for the study of neuronal substrates of behaviour; Psychological review 73, n°1, 16-43.

TOGNONI G. and GOMENI R., 1975 - Pharmacokinetics of N-demethyldiazepam in patients suffering from insomnia and treated with nortriptyline; Br. j. clin. pharmac. 2, 227-232.

UEBERGERG, 1984- Chronobiology international; Pergamon press, Oxford, New York, Paris, vol. I, n°1.

VAN PRAAG H.M., 1978 - Psychotic drugs. A guide for a practitionner; The Mac Millan press LTD; psychiatric university clinic, university of Utrecht; The Netherlands.

VAN MAYERSBACH, SCHEVING L.E., PAULY J.C., 1974 - An overview of chronopharmacology; Journal européen de toxicologie 7, N°4, 203-227.

WARBURTON D.W. and GROVES P.M., 1969 - The effects of scopulamine on habituation of acoustic startle in rats; Communictions in behavioural biology 3, 289-293.

WEBSTER W.R., 1965 - Auditory habituation : a test of a centrifugal and peripheral theory; Science 148, 654-656.

WESLEY P.J. and LEATON R.N., 1982 - Startle habituation in rats after lesions in the brachium of the inferior colliculus; Physiology and behaviour 28, 253-258.

WINOKUR G., STERN J., TAYLOR R., 1959 - Early handling and group housing : effect on development and response to stress in the rat; J. psychosomatic res. 4,1-4.

ANNEXES

ANNEXE 1

Le syndrôme extrapyramidal peut se résumer comme suit:

I. Le <u>syndrôme akinéto-hypertonique</u>, qui est le syndrôme <u>parkinsonien</u> habituel:

-hypo- ou akinésie: absence de mouvements par baisse exagérée du tonus (le parkinsonien marche à petits pas et sans balancement des bras)

-hypo- ou amimie: facies figé, sialorrhée (salivation excessive);

-micrographie: écriture petite

-hypertonie plastique: catatonie (un bras ou une jambe garde la position anormale qu'on lui impose; phénomène de "roue dentée": lorsqu'on tire le bras en flexion, il cède par saccades)

-adiadochocinésie: difficulté de faire un mouvement en symétrie avec les deux mains

Tout ceci retentit sur le psychisme:

+indifférence psychomotrice (déconnection)
+morosité
+dépression

2. Le <u>syndrôme hyperkinétique</u>, qui peut se superposer au premier:

-dyskinésie: mouvements mal calculés, dystoniques ou catatoniques, hémibalisme, petits tremblements des membres au repos (le geste du "compteur de billets")

-excitation psycho-motrice:
+impatience
+akathisie: difficulté de rester assis
+tasikinésie: difficulté de rester debout, impulsion à marcher

Comme retentissement sur le psychisme, on note souvent de l'anxiété et de la suggestibilité

3. Les <u>troubles végétatifs</u>:

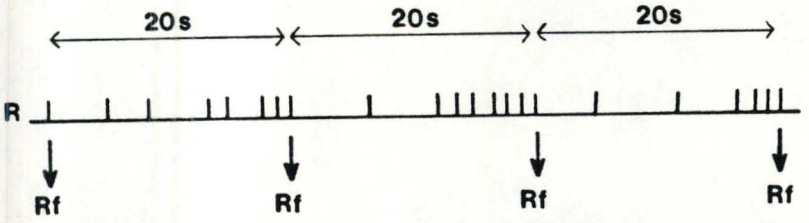
-troubles du rythme cardiaque
-hypotension orthostatique
-hypothermie
-syndrôme endocrinien: impuissance, frigidité
-troubles trophiques des extrémités: membres rouges, cyanosés, gonflés.

(GIURGEA C.E., Psychopharmacologie, notes de cours, U.C.L., 1982)

ANNEXE 2

PROGRAMMES DE RENFORCEMENT

Le programme FI, c'est-à-dire à intervalles fixes, est une situa-
ppérante destinée à l'établissement de régulations temporelles du com-
portement.
Dans ce programme, la réponse de l'animal de l'animal est renforcée
si un délai déterminé s'est écoulé entre celle-ci et le renforcement
précédent. L'animal peut répondre tout au long de l'intervalle fixé,
sans aucune conséquence: ces réponses-là ne seront pas renforcées,
mais n'interrompent pas le délai en cours. On voit apparaître dans ces
conditions assez permissives, une régulation temporelle spontanée: les
pauses post-renforcement s'allongent, les réponses deviennent plus
nombreuses quand approche le terme du délai.



Déroulement d'un programme FI 20'' (R = réponse; Rf = renforcement).

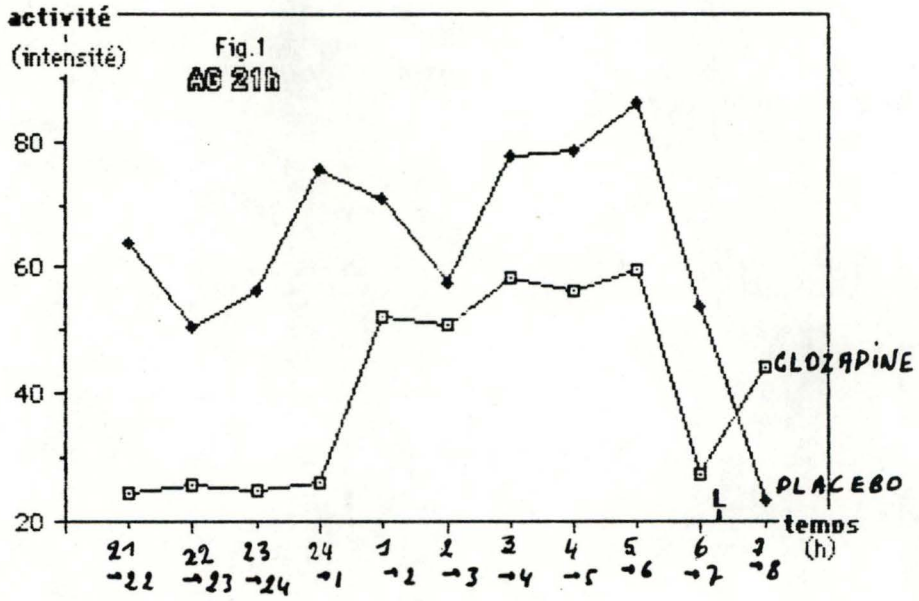
Le programme FR, c'est-à-dire à ration fixe, exige que l'animal
présente un taux de réponses déterminé en un certain laps de temps.
Ainsi, en FR_{20}, l'animal doit répondre 20 fois au stimulus présenté
avant d'obtenir son renforcement.

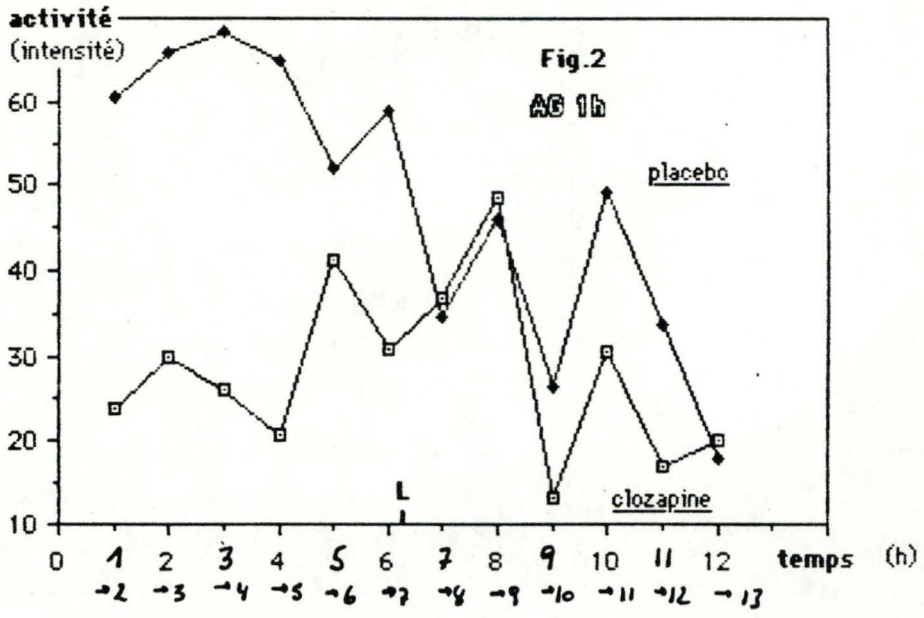
ANNEXE 3

	Moyenne clozapine		Ecart-type (S)	Moyenne placébo		Ecart - type	t	
19h	24,3		6,8	17,1		16,2	1,23	
19h15	26	25,87	12,1	54,3	46,5	44,3	1,85	S
19h30	23,1		8,47	58,4		28,05	3,62	HS
19h45	30,1		8,8	56,4		34,8	2,2	HS
20h	29,6		9,54	56,1		47,9	1,63	
20h15	41,2	33,4	14,48	46,56	48,77	29,3	0,49	
20h30	31,5		15,44	38,3		26,7	0,68	
20h45	31,6		10,6	54,1		14,4	3,78	HS
21h	31		14,7	54,89		11,9	3,8	HS
21h15	34,8	33,5	10,27	77,89	51,4	32,4	3,81	HS
21h30	27,5		21,4	44,56		23,2	1,63	
21h45	41		20,19	28,4		19,6	1,34	
22h	40,6		9,69	48,67		27,2	0,67	
22h15	28,8	35,6	12,9	49,89	46,36	34,6	1,72	
22h30	39,6		19,1	41,89		16,6	0,27	
22h45	33,4		14,07	45		18,78	1,49	
23h	42,7		7,7	55,1		15	0,8	
23h15	22	33,7	19,5	68,56	55,72	21	4,88	HS
23h30	27,5		13,6	48		23,80	2,25	HS
23h45	42,7		11,3	51,2		25,07	0,93	
0h	52,5		27,9	43,1		29,1	0,7	
0h15	83,2	52	25,6	66	56,07	35,5	1,18	
0h30	50,3		21,9	53		39,7	0,18	
0h45	22		13,1	62,2		23,6	4,48	HS
1h	15,7		21,4	68,3		34,9	3,87	HS
1h15	40	37,9	23,3	63,78	56,29	44,4	1,42	
1h30	51,1		15,7	47,78		22,3	0,36	
1h45	44,8		16,7	45,3		15,7	0,06	
2h	52,5		41,2	79,4		43	1,36	
2h15	39,3	69,5	23,4	74	67,79	41	2,21	HS
2h30	84,2		29,6	62,89		44,2	1,2	
2h45	102		30,7	54,89		37,2	2,94	HS
3h	107		30,7	69,2		34,6	2,45	HS
3h15	89,7	80,1	29,3	74	62,79	38,68	0,97	
3h30	59,7		25,6	58		30	0,13	
3h45	64		29,3	49,89		29,1	1,03	
4h	88,5		20,5	58,56		23,9	2,86	HS
4h15	80,4	85,4	40,7	73,4	70,48	41	0,36	
4h30	81,3		27,7	73,3		34,7	0,54	
4h45	91,4		44	76,67		37,9	0,76	
5h	99		35,4	85,3		45,2	0,7	
5h15	84,8	80,27	34,5	67,4	79,6	33,6	1,08	
5h30	71,5		33,2	84,4		43	0,7	
5h45	65,8		27,6	81,3		30,6	1,13	
6h	38,4		22	80,1		25	3,77	HS
6h15	51,2	42,9	28,4	30,78	47,2	16,6	1,86	S
6h30	33,7		17,9	32,4		14,8	0,17	
6h45	48,6		37,1	45,56		19,3	0,22	

(tableau 6-1)

Les différences clozapine-placébo sont significatives (probabilité = 95%) pour t_{16}=1,746 et hautement significatives (P=97,5%) pour t_{16} = 2,12. (Le nombre de degré de liberté est de 16 et non de 18 car suite à quelques injections non réussies, le nombre de rats par échantillon est diminué d'une unité).


activité
(intensité)
Fig.1
AG 21h
80
60
40
20
CLOZAPINE
PLACEBO
L
temps
(h)
21 22 23 24 1 2 3 4 5 6 7 8
→22 →23 →24 →1 →2 →3 →4 →5 →6 →7 →8


activité
(intensité)
Fig.2
AG 1h
placebo
clozapine
60
50
40
30
20
10
L
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
temps
(h)
→2 →3 →4 →5 →6 →7 →8 →9 →10 →11 →12 →13

ACTIVITE GENERALE APRES ADMINISTRATION DE LA CLOZAPINE A 2I H., I H. ET 5H.: PRESENTATION GRAPHIQUE.

Les figures I, 2 et 3 représentent respectivement l'évolution de l'activité de rats durant les I2 heures suivant l'injection à 2I h., I h. et 5 h.

Les résultats de ces tests sont conformes à ceux obtenus après administration à I9 h., 23 h. et 3 h., c'est-à-dire:

- variation circadienne de l'activité motrice, observée chez les rats non traités.
- activité ramenée au même niveau par la clozapine, pour chaque moment d'administration.
- variation de la durée d'action de la clozapine:
  administrée à 2I h., la clozapine agit durant I0 h.
  " I h., " " " 6 h.
  " 5 h., " " " 6 h.