

50376
1973
63

50376
1973
63

THÈSE

présentée à

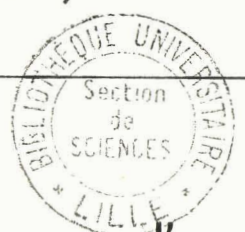
L'UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES
DE LILLE I

pour obtenir le titre de

DOCTEUR EN PHYSIOLOGIE ANIMALE
(3^e cycle)

par

François BERNET



Etude de l'existence d'une relation entre
l'émotivité et l'activité Adréno-Sympathique chez le rat

Soutenue le 17 Mai 1973

devant la commission d'examen

M. M. S. BOUISSET	Président et Rapporteur
V. BLOCH	Examineur
J. P. ROUSSEAU	Examineur
Melle M. BEAUVALLET	Invitée

TABLE DES MATIERES

	Pages
<u>INTRODUCTION</u>	1
I - Evaluation de l'émotivité du rat	3
II - Mesure de l'activité adréno-sympathique	7
 Chapitre I - <u>TECHNIQUE et PROTOCOLE</u>	13
A - DOSAGE DES CATECHOLAMINES URINAIRES	14
I - Choix de la méthode	14
1. Les techniques biologiques	14
2. Les méthodes colorimétriques	15
3. Les méthodes chromatographiques	15
4. Les méthodes isotopiques	16
5. Les méthodes fluorimétriques	16
a) fluorimétrie après condensation avec l'éthylène diamine	17
b) fluorimétrie après transformation en dérivés trihydroxyindoliques	18
II - Description de la méthode	21
1. Réactifs	21
2. Matériel	22
3. Technique	24
a) prélèvement des urines	24
b) hydrolyse des conjugués urinaires	24
c) extraction des amines	24
d) dosage	26
e) expression des résultats	28

	Pages
III - Etude des possibilités techniques de la méthode	28
1. Etude des conditions optimales de mesure	28
a) étude des spectres et choix des longueurs d'onde	29
b) décours de la fluorescence	32
c) proportionnalité de la fluorescence à la concentration de la substance fluorescente	33
2. Rendement de la méthode	34
B - PROTOCOLE	36
I - Mesure de l'émotivité	36
1. Dispositif expérimental	36
2. Protocole expérimental	37
II - Etude de l'excrétion des catécholamines urinaires	37
1. Excrétion de base	37
2. Influence de la contention	39
Chapitre II - <u>RESULTATS</u>	41
I - Etude comportementale des rats dans l'open-field	42
1. Comparaison des deux souches	42
2. Etude des inter-corrélations	43
II - Excrétion d'adrénaline et de noradrénaline urinaires	44
1. Excrétion de base	45
a) décours de la première série	45
b) exposé de l'ensemble des résultats	46
2. Influence de la contention	51
a) étude de l'ensemble des résultats	51
b) étude des contentions successives	52

	Pages
Chapitre III - <u>DISCUSSION GENERALE</u>	54
I - Examen des résultats	55
1. Différences de comportement dans l'open-field	55
a) différences d'émotivité	55
b) relation émotivité-activité	57
2. Activités orthosympathique et médullo-surrénalienne	58
a) comparaison avec les données bibliographiques	58
b) influence de la diurèse	59
c) niveaux de repos	61
d) réaction à la contention	63
3. Etude du rythme cardiaque	66
a) valeurs de repos	67
b) influence de la prise en main	69
II - Interprétation générale	71
 <u>RESUME</u>	 75
 <u>BIBLIOGRAPHIE</u>	 79

INTRODUCTION

Depuis les observations de CANNON (1929), exposées dans "Bodily changes in Pain, Hunger, Fear and Rage", l'activation surrénalienne lors des réactions émotives a fait l'objet de nombreux travaux. Les auteurs cherchent à mettre en évidence l'intervention de la médullo-surrénale et du système sympathique, et leur rôle respectif, dans les réactions d'un organisme à différentes agressions. Quelques années après CANON, SELYE met l'accent sur l'activation du système hypophyso-corticosurrénalien lors d'un stress. Le stress étant défini par lui-même comme l'état réactionnel d'un organisme soumis à l'action d'un excitant quelconque. Pour Von EULER (1964), il semble douteux que les deux systèmes réagissent dans toutes les conditions de stress, certaines conditions déclencheront le système sympathico-médullo-surrénalien seulement, sans provoquer de réaction marquée du système hypophyso-cortico-surrénalien et inversement. Le schéma de WRIGHT (1961) résume ces différentes données (fig.1). Cependant, on sait que l'adrénaline peut secondairement favoriser la libération d'ACTH à partir de l'antéhypophyse et provoquer une libération consécutive de stéroïdes corticosurrénaux. Par ailleurs, WURTMAN et AXELROD (1966) ont montré que l'enzyme qui catalyse la méthylation de la noradrénaline, la phényléthanolamine-N-méthyltransferase, est activée par les glucocorticoïdes, la corticosurrénale étant ainsi susceptible de modifier l'activité médullo-surrénalienne.

Au cours de ce travail, on s'efforce d'étudier chez le rat, les répercussions physiologiques imputables à des différences d'émotivité et non plus uniquement à des situations de stress.

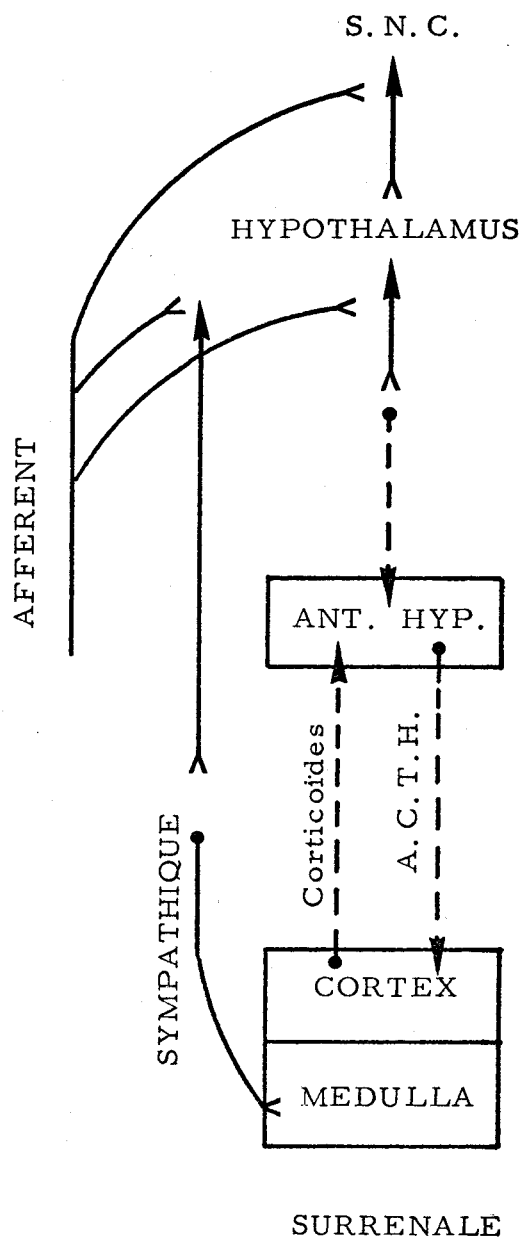


Figure 1 : Interrelations entre l'hypothalamus, l'ante-hypophyse et la surrénale.

(D'après WRIGHT, 1961)

On reprend l'hypothèse de LEVI (1961), qu'il a d'ailleurs infirmée ensuite, selon laquelle il existe des différences physiologiques parallèlement aux différences psychologiques.

En effet, on est en droit de penser que, si un rat émotif réagit plus aux agressions, sa médullo-surrénale et son système sympathique sont davantage sollicités, et que par conséquent, l'exploration du système sympathico-surrénalien peut révéler des différences en relations avec le comportement émotif de l'animal. Deux problèmes seront donc abordés, d'une part celui de l'évaluation de l'émotivité du rat et d'autre part celui de la mesure des activités sympathique et médullosurrénalienne.

I - EVALUATION DE L'EMOTIVITE DU RAT

Dès 1934, HALL abordait l'analyse du comportement émotionnel du rat. L'étude de l'émotivité chez les rongeurs s'est enrichie depuis considérablement. Mais un des problèmes fondamentaux demeure la définition de cette émotivité et son évaluation.

"L'émotivité, selon FRAISSE (1963), caractérise la sensibilité aux situations émouvantes" mais une situation donnée peut être émouvante pour tel sujet mais pas pour tel autre. Si l'on se réfère à la définition du Larousse, l'émotivité est la propriété fondamentale qu'a l'individu de réagir à des modifications brusques et immédiates de sa situation. Cette seconde définition, peut-être plus précise que la première, ne décrit pas la façon de réagir du sujet. C'est pourquoi, la définition plus descriptive donnée

par DUPRE (1925), cité par FRAISSE (1963), nous paraît rendre mieux compte de la notion d'émotivité. Pour cet auteur, un sujet émotif dans le sens d'hyper-émotif, est celui dont "l'organisme présente aux ébranlements qui sollicitent sa sensibilité des réactions anormales par leur vivacité, leur extension et leur durée, et se montre ainsi, plus ou moins incapable de s'adapter aux circonstances soudaines, aux situations imprévues, aux milieux nouveaux". Ces réactions ont des effets tant sur le plan physiologique que psychologique. C'est par la mesure de tels effets que l'évaluation de l'émotivité sera possible.

Depuis STONE (1932) et YOSHIOKA (1932), mais surtout depuis HALL (1934), la défécation et la miction produites dans une situation expérimentale dite "open-field", sont utilisées comme critères d'émotivité. HALL définit la défécation émotionnelle comme étant "celle qui cesse au cours d'expériences répétées dans la situation qui la provoquait initialement". Ces "éliminations réactionnelles" ainsi que les nomme POIREL (1970), s'accompagnent d'autres manifestations émotionnelles telles que les comportements substitutifs (les mouvements de toilette, par exemple). D'autres indices comportementaux comme l'activité exploratoire, peuvent être également mesurés.

L'open-field est une enceinte de forme variable selon les auteurs : circulaire la plupart du temps, il peut être carré ou rectangulaire. Il présente un plancher de 1 à 5 m² éclairé plus ou moins intensément et entouré d'une cloison qui permet d'isoler l'animal de l'environnement extérieur. Les passages à l'open-field comportent parfois la présentation de sons ou d'éclairs lumineux de nature à accentuer le caractère "stressant" de la situation expérimentale.

D'autres tests sont parfois utilisés pour quantifier le comportement émotionnel. BRADY et HUNT (1951), BRADY et NAUTA (1953) ont établi une échelle de cotation de la réactivité émotionnelle reprise après quelques modifications, par KING et coll. (1958). Cette échelle comporte différentes observations telles que la réaction d'attaque ou de fuite à un objet présenté devant le rat, la réaction de sursaut ou de fuite à une légère tape sur le dos de l'animal, sa résistance ainsi que les cris aigus, la défécation et la miction lors de la capture et la prise en main. Chaque observation est notée par plusieurs expérimentateurs et la somme des notes évalue l'émotivité. Comparé à l'open-field, ce test présente des inconvénients : d'une part, les notes affectées à chaque observation sont relativement peu objectives car un étalonnage précis est difficile à réaliser, d'autre part, l'expérimentateur lors de la prise en main apporte lui-même un facteur peu quantifiable pouvant intervenir sur la réaction de l'animal.

ANDERSON (1938) a effectué une étude comparative de quatre tests du comportement émotionnel. Le test 1 consiste à mesurer le temps mis par les rats pour sortir de leur cage d'habitation. Une ouverture est pratiquée, au plafond de leur cage grillagée. Chaque examen dure 20 minutes et se répète 8 fois à 7 jours d'intervalle. La somme des différents temps, est ensuite effectuée. Un temps très élevé indiquerait une grande émotivité. Le test 2 est peu différent. Il consiste à mesurer le temps mis par un rat pour passer dans un tuyau en U de 1,82 m de long et 10 cm de diamètre, aboutissant dans une boîte contenant des aliments. Un essai par jour est effectué pendant 10 jours. Le temps total passé dans le tuyau est considéré comme étant directement en relation avec l'émotivité. Les deux autres tests

consistent à mesurer la défécation du rat dans des situations "stressantes". Dans le test 3, le rat est disposé dans une boîte sans fond qui repose sur un bassin contenant 2 cm d'eau. Chaque passage dure 3 minutes, il est répété 6 fois à une semaine d'intervalle puis 10 fois le dernier jour. Quant au test 4, il consiste à passer le rat dans un open-field de 2,30 m de diamètre entouré d'une paroi de 75 cm de haut pendant 3 minutes, 4 fois à 4 jours d'intervalle. Comme dans le test précédent, le nombre de fèces déposées dans l'enceinte expérimentale par l'animal évalue son degré d'émotivité. ANDERSON rapporte que les quatre mesures du comportement émotionnel présentent des inter-corrélations significatives sauf dans le cas des tests 1 et 3. Mais c'est le test de l'open-field qui présente les corrélations les plus élevées avec tous les autres tests émotionnels et, de ce fait, il doit être préféré aux autres.

Une analyse rapide des travaux de ces quinze dernières années nous a confirmé la valeur de ce test. Les plus développés sont ceux de BROADHURST (1957) qui a réalisé deux souches de rats albinos. Les "Maudsley-Reactive" et les "Non-Reactive" qui se distinguent par leur défécation émotionnelle dans l'open-field. Cet auteur a montré le caractère héréditaire et partiellement dominant de cet indice d'émotivité.

CANDLAND et CAMPBELL (1962) en ont étudié l'évolution au cours de la croissance du rat, montrant ainsi sa stabilité à partir de 54 jours après la naissance. PARE (1964) conclut un travail sur la relation entre les différents comportements dans l'open-field en écrivant "la défécation demeure ainsi la mesure de

choix pour déterminer l'émotivité chez le rat". Et plus récemment IVINSKIS (1970) a réalisé une étude sur la validité des mesures effectuées dans l'open-field. Selon son analyse seuls, la défécation et le temps de latence entre le dépôt du rat au centre de l'enceinte expérimentale et son départ de cet endroit, peuvent être considérés comme les indices valables de l'émotivité du rat. Toutefois, il considère la défécation comme l'indice le plus sûr.

Cette analyse quoique rapide et succincte permet cependant d'apprécier l'intérêt de la méthode d'open-field et les raisons qui nous ont amenés à la choisir.

II - MESURE DE L'ACTIVITE ADRENO-SYMPATHIQUE

On a entrepris d'explorer l'activité du système sympathique et de la médullosurrénale en mesurant l'excrétion des catécholamines urinaires.

L'analyse urinaire est celle qui perturbe le moins l'animal cependant, il restait à choisir le ou les composés à doser. On sait maintenant que l'adrénaline et la noradrénaline sont très rapidement inactivés dans l'organisme par stockage tissulaire et essentiellement par dégradation chimique. Les revues sur ce problème effectuées par KOPIN (1964), BOISSIER et GIUDICELLI (1965) et SANDLER (1969) nous ont permis de résumer les différentes phases du catabolisme de ces deux amines dans le tableau I. On retrouve donc dans l'urine l'acide vanil-mandélique

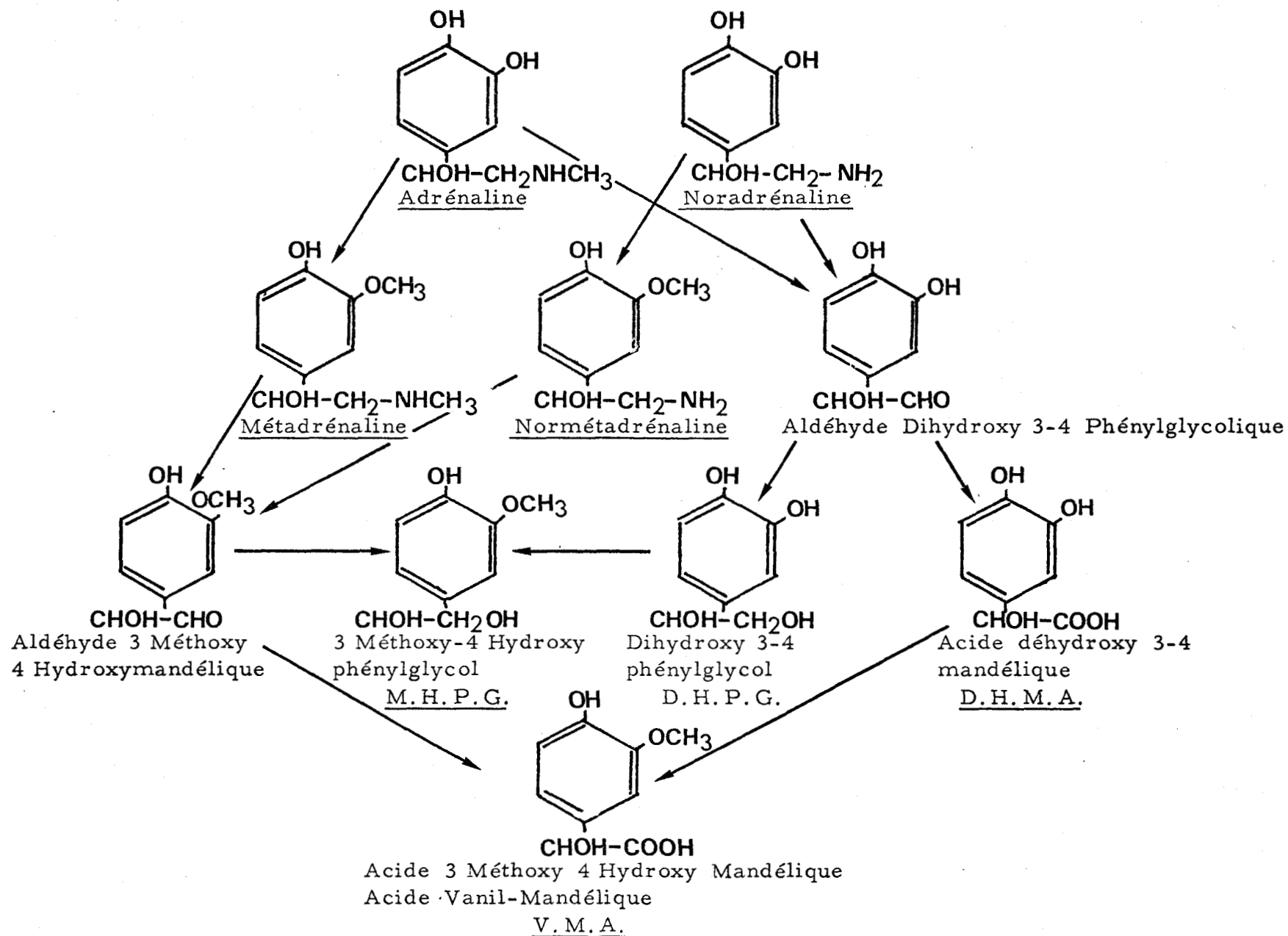


Tableau I : Catabolisme de la noradrénaline et de l'adrénaline.

Les composés soulignés d'un trait se retrouvent dans l'urine à l'état physiologique.

(VMA) qui représente 80 p.100 des métabolites urinaires de l'adrénaline et de la noradrénaline, la métadrénaline et la normétadrénaline 10 à 15 p.100 au total, des traces de MHPG (3 Methoxy, 4 Hydroxy, PhenylGlycol) et de DHMA (Acide dihydroxy-3-4-mandélique) et seulement 5 p.100 environ de l'adrénaline et de la noradrénaline. Le dosage de VMA présent en grande quantité dans l'urine peut sembler le plus souhaitable. En fait, il ne permet pas de distinguer la part respective du système sympathique et de la médullo-surrénale. Seul le dosage simultané de l'adrénaline et de la noradrénaline ou celui des dérivés O-méthylés correspondants permet une telle distinction. Or, on sait depuis les travaux de Von EULER (1964) que l'excrétion urinaire des catécholamines reflète de façon assez fidèle l'activité sympathico-surrénalienne de l'organisme.

La plupart des travaux ont été effectués chez l'homme en mesurant l'excrétion de l'adrénaline et de la noradrénaline urinaires. FRANKENHAEUSER et coll. (1968) ont particulièrement insisté sur l'importance de l'excrétion de base des catécholamines urinaires, alors que les autres auteurs suédois ou américains s'attachent davantage aux variations de cette excrétion dans différentes situations de stress. Plusieurs revues bibliographiques ont été effectuées sur ce sujet, en particulier par ELMADJIAN (1958), EULER (1964), LEVI (1967), SCHILDKRAUT et KETY (1967), MASON (1968). Ces auteurs insistent sur le rôle prédominant joué par le système sympathico-médullaire lors du développement du stress en particulier du stress d'origine émotionnelle. Mais ils rapportent également un certain nombre de résultats qui tendent à montrer que la médullo-surrénale et le système sympathique réagissent différemment en fonction

de la nature des stress. Pour ELMADJIAN et coll. (1958), les manifestations émotionnelles agressives et actives sont reliées à une excrétion accrue de noradrénaline alors que les manifestations émotionnelles passives d'angoisse, d'anxiété sont en relation avec l'excrétion d'adrénaline. C'est ainsi que des joueurs de hockey participant à une compétition présentent une augmentation de catécholamines urinaires mais surtout de la noradrénaline alors que les joueurs qui assistent au match ont seulement une excrétion accrue d'adrénaline. De la même façon, les auteurs citent le cas de malades mentaux participant à une consultation publique ; les uns, calmes, excrètent plus d'adrénaline pendant cette épreuve alors que les autres, sujets à des accès d'agressivité, augmentent davantage leur taux de noradrénaline urinaire. Mais ces résultats se réfèrent à des malades et doivent être utilisés avec précaution. Pour SILVERMAN et coll. (1961), il se produit une excrétion accrue d'adrénaline dans les états d'anxiété ou les situations menaçantes de nature incertaine ou imprévisible dans lesquelles il n'est pas possible de faire face activement. Au contraire, l'excrétion de noradrénaline peut se produire dans les états de colère ou d'agression ou dans les situations qui sont provocatrices mais prévisibles et qui permettent des réponses comportementales actives et appropriées au défi. Ils déduisent que l'excrétion d'adrénaline s'élève préférentiellement chez les sujets anxieux tandis que l'excrétion de noradrénaline est relativement plus grande chez les sujets agressifs ou en colère. GOODALL (1962) trouve que l'augmentation de l'excrétion d'adrénaline apparaît fortement reliée aux émotions chez des sujets soumis à de fortes accélérations alors que la libération de noradrénaline semble plus particulièrement reliée aux changements physiques produits par centrifugation. EULER (1964) dans son rapport sur "l'évaluation d'un stress par dosage des

catécholamines" conclue que l'excrétion de noradrénaline est accrue dans les stress mentaux associés avec la colère, l'agression ou la joie de vivre, alors que dans les états émotionnels caractérisés par la crainte, l'inquiétude, les sentiments pénibles ou désagréables, l'excrétion d'adrénaline est augmentée".

LEVI (1967, 1968) et ses collaborateurs LIDBERG (1969), FRÖBERG (1970) enfin ont étudié l'influence de nombreux stimuli sur l'excrétion des catécholamines urinaires. Il ressort de ces travaux que les stimuli expérimentaux provoquant le calme et la sérénité chez les sujets, abaissent l'excrétion des catécholamines en dessous des niveaux de contrôle. Alors que des stimuli plaisants provoquant l'amusement, sont presque aussi capables que les stimuli désagréables de provoquer une augmentation de l'excrétion des catécholamines.

Chez le rat, l'étude de la relation entre le comportement émotif et la fonction surrénalienne a été recherchée depuis plus de trente ans. Les premiers travaux consistaient à peser les surrénales de rats de lignées sélectionnées pour leur différence d'émotivité. Selon YEAKEL et RHOADES (1941), FEUER et BROADHURST (1962), les rats sélectionnés sur plusieurs générations à partir de leur défécation émotionnelle dans l'open-field présentent une différence : les rats défécant beaucoup ayant les surrénales à la fois les plus lourdes et les plus grosses. Mais d'autres auteurs n'ont pas confirmé ces données (ANDERSON et ANDERSON, 1938 ; PARE et CULLEN, 1965).

Les résultats des travaux effectués sur la cortico-surrénale sont négatifs. En effet, PARE et CULLEN (1965) montrent

par des dosages d'acide ascorbique surrénalien qu'il est difficile d'établir une corrélation entre l'émotivité des animaux dans l'open-field et l'activité de la cortico-surrénale. ADER et coll. (1967 et 1969) après une étude très complète des relations éventuelles entre l'émotivité et la fonction cortico-surrénalienne, concluent dubitativement. Pour eux, si l'émotivité est réellement reliée à l'activité du cortex surrénalien, les tests comportementaux utilisés, tels que l'open-field et la réaction à la prise en main, n'évaluent pas cette émotivité : sinon il faut écarter l'hypothèse d'une relation entre cette composante comportementale et la fonction cortico-surrénalienne mesurée par des dosages de la corticostérone plasmatique et surrénalienne.

Peu d'études ont été entreprises, chez le rat, pour rechercher les relations éventuelles entre différents paramètres comportementaux et l'activité sympathico-médullo-surrénalienne. BENES et BENESOVA (1966) ont observé des différences d'excrétion chez des rats présentant des activités exploratoires différentes : les rats plus actifs excrétaient davantage de catécholamines. Si on considère que l'émotivité a tendance à présenter une corrélation inverse avec l'activité exploratoire on pourra comparer ces résultats aux nôtres. Plus récemment, ROSECRANS (1970) a étudié des rats très émotifs ou peu émotifs selon le critère des défécations dans l'open-field. On peut noter dans ses résultats que l'adrénaline surrénalienne apparaît plus élevée chez les rats moins émotifs.

Le but de cette étude est donc, après avoir mis en évidence les différences d'émotivité présentées par des rats albinos de deux souches différentes, de rechercher les répercussions

physiologiques imputables à ces différences d'émotivité en évaluant les niveaux végétatifs de base. Pour cela, l'excrétion urinaire de repos de l'adrénaline et de la noradrénaline, reflet de l'activité sympathico-médullosurrénalienne, est étudiée en même temps que le rythme cardiaque. Les variations de ces paramètres lors d'une situation de stress sont ensuite abordées. On se propose enfin de discuter la signification physiologique des résultats obtenus et d'en déduire les développements prochains.

Chapitre 1 - TECHNIQUE ET PROTOCOLE

Avant les problèmes physiologiques, il s'est posé celui purement technique du dosage des catécholamines. On a été amené à choisir une méthode de dosage suffisamment sensible puis à en examiner les possibilités techniques.

A - DOSAGE DES CATECHOLAMINES URINAIRES

I - CHOIX DE LA METHODE

Les premières méthodes de dosage utilisées furent biologiques. Des études exhaustives sur ce sujet ont été faites par de nombreux auteurs, en particulier par WEST (1950), HERMANN et coll. (1957), ELMADJIAN (1962), FLOCH (1964), et plus récemment CUSSAC (1971).

1 - Les techniques biologiques

Elles sont basées sur les propriétés pharmacologiques de la noradrénaline et de l'adrénaline. Le réactif sera soit l'animal entier, avec mesure des variations de tension artérielle, soit certains organes isolés, avec mesure de l'amplitude des contractions. L'effet dû aux extraits à doser est comparé à celui des solutions connues d'adrénaline ou de noradrénaline. Il importe que le dosage soit aussi spécifique que possible pour chacune des deux amines. Ces impératifs peuvent être satisfaits de trois façons différentes ;

soit au moyen de deux organes isolés, soit par comparaison des actions sur la pression artérielle et sur un organe isolé, soit enfin par la mesure de la pression artérielle avant et après action d'un sympatholytique.

Les méthodes biologiques présentent souvent une grande sensibilité et sont d'autre part spécifiques. Mais leur utilisation pour le dosage séparé des amines demeure extrêmement délicate et comporte toujours la cause d'erreur liée au fait que le réactif est vivant et que sa sensibilité varie rapidement. La multiplicité des techniques témoigne de la difficulté d'effectuer un dosage différentiel des deux amines. Abandonnées au profit des méthodes physico-chimiques, elles servent parfois à contrôler les résultats donnés par celles-ci. Les méthodes physico-chimiques peuvent être groupées en plusieurs rubriques sur le plan technique.

2 - Les méthodes colorimétriques

Elles sont peu sensibles, leur limite de sensibilité étant de l'ordre de 10 µg. L'imprécision dans la détermination de chaque amine augmente quand leur rapport s'écarte de l'unité. Enfin, d'autres amines interfèrent comme la dopamine.

3 - Les méthodes chromatographiques

Elles se développent progressivement car elles permettent de séparer les catécholamines de leurs métabolites. La chromatographie sur papier a été étudiée par Mc GEER et CLARK (1964), LAASBERG et SHIMOSATO (1966). Ces derniers ont mis en évidence l'intérêt de cette méthode pour l'identification qualitative des composés catéchiques. Ils utilisent le système solvant, phénol,

acide acétique 0,2 N, n-butanol (85/11/14). Plus récemment, VAHIDI et SANKAR (1969) avec un autre système solvant composé d'acétate d'éthyle, acide acétique, eau (5 : 1 ; 5 : 3) ont mis au point une chromatographie sur papier plus rapide. Ces derniers ont repris la technique de chromatographie en couche mince pour séparer huit métabolites des catécholamines. La sensibilité de cette méthode est supérieure à 0,05 μg pour la plupart des composés testés alors que la détection limite est de l'ordre de 0,25 μg pour la chromatographie sur papier.

4 - Les méthodes isotopiques

Elles sont associées maintenant aux méthodes chromatographiques. FRANKLIN et MAYER (1968) ajoutent des catécholamines marquées au C^{14} dans l'urine ou le plasma à doser. Les catécholamines endogènes et marquées sont extraites par adsorption sur alumine et sont ensuite simultanément acétylées et éluées de l'alumine par de l'anhydride acétique H^3 . Le dérivé de chaque catécholamine est isolé par chromatographie sur papier de fibre de verre et par chromatographie gaz-liquide. La détermination des quantités endogènes est basée sur les rapports H^3/C^{14} des dérivés purifiés. Ce rapport augmente en fonction du composé endogène non marqué. Cette méthode est encore d'un usage très restreint car elle nécessite l'utilisation d'un appareillage et de produits coûteux.

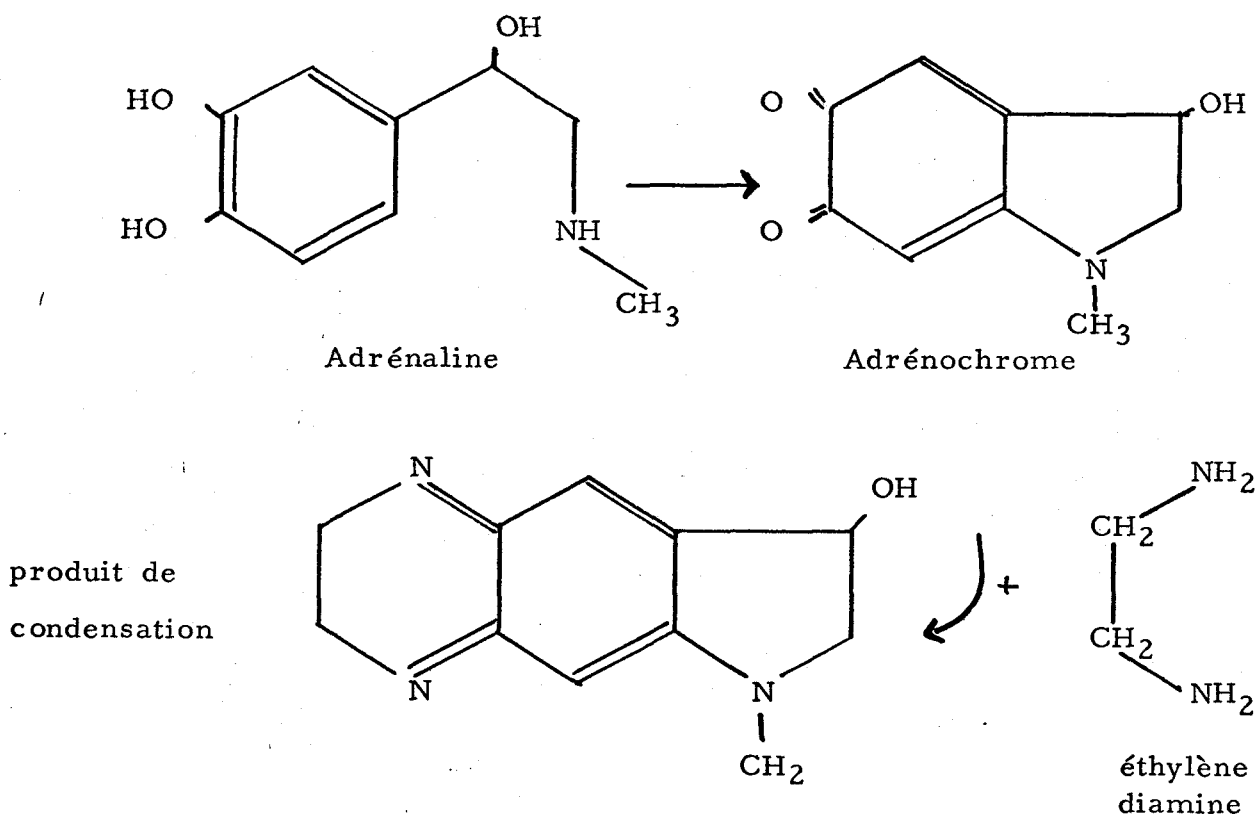
5 - Les méthodes fluorimétriques

Elles demeurent les plus utilisées pour le dosage de l'adrénaline et de la noradrénaline dans les milieux biologiques. En effet, quand PAGET eut signalé en 1930 la fluorescence de

l'adrénaline en milieu alcalin, des techniques fluorimétriques furent recherchées pour le dosage des catécholamines. La mesure de la fluorescence des deux amines en milieu alcalin a été abandonnée au profit de celle de leurs dérivés. Ces dérivés fluorescents sont obtenus par deux méthodes différentes qui ont donné lieu ensuite à de nombreux perfectionnements. Il s'agit de la méthode par condensation à l'éthylène diamine de WEIL-MALHERBE et BONE (1952) et de la méthode de LUND (1949) basée sur la formation de dérivés trihydroxyindoliques.

a) fluorimétrie après condensation avec l'éthylène diamine

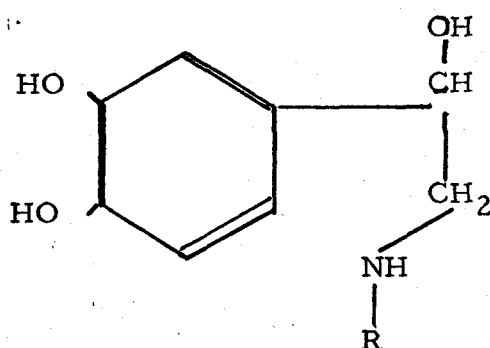
L'adrénaline et la noradrénaline oxydés en adrénochrome et noradrénochrome se condensent à chaud avec l'éthylène diamine selon le schéma :



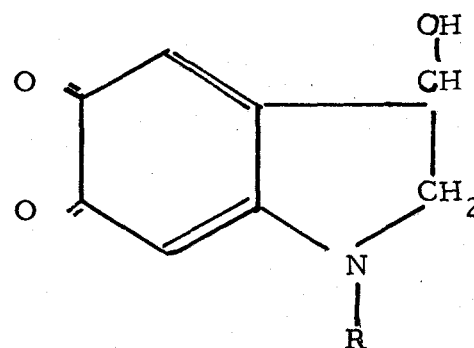
Les produits ainsi obtenus sont stables et solubles dans certains solvants comme l'isobutanol, ce qui permet de les extraire et de les concentrer sous un faible volume. D'autre part, les intensités de fluorescence des produits de condensation de l'adrénaline et de la noradrénaline n'étant pas les mêmes, on peut les mesurer aux longueurs d'onde correspondant à une fluorescence maximale pour chacun d'eux. Cette méthode extrêmement sensible fut d'abord la plus utilisée, mais elle n'est pas spécifique, un grand nombre de catéchols, la dopamine par exemple, pouvant se condenser avec l'éthylène-diamine (v. ELMADJIAN, 1962 ; HERMANN et coll., 1961).

b) fluorimétrie après transformation en dérivés trihydroxyindoliques

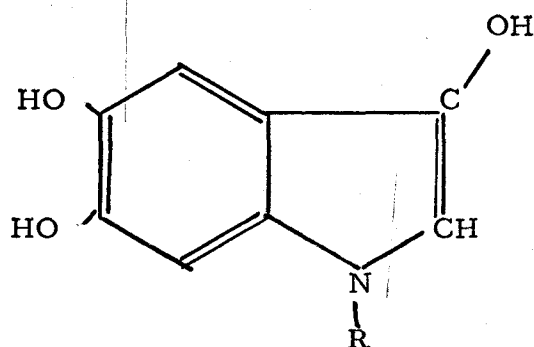
Le principe est le suivant : l'adrénaline et la noradrénaline sont oxydées en adrénochrome et noradrénochrome. L'action d'une base forte sur ces produits d'oxydation les transforme en dérivés fluorescents. EHRLÉN (1948) identifia au trihydroxy - 3, 5, 6 N-méthylindole la substance fluorescente obtenue par l'action d'une base forte sur les solutions d'adrénochrome. LUND (1949) nomma adrénolutine ce dérivé fluorescent de l'adrénaline, puis noradrénolutine celui de la noradrénaline.



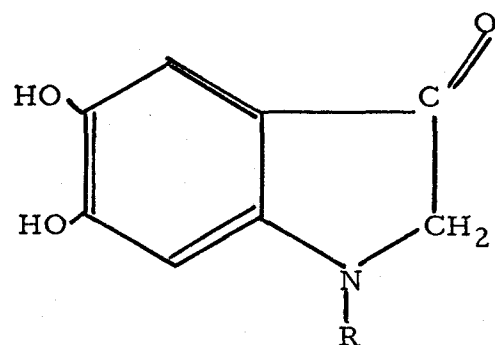
R = CH₃,adrénaline
R = H,noradrénaline



R = CH₃,adrénochrome
R = H,noradrénochrome



forme énolique



forme cétonique

R = CH₃ adrénolutine

R = H noradrénolutine

La méthode de LUND prévoyait une oxydation de l'adrénaline et de la noradrénaline par le bioxyde de manganèse à deux pH différents : 6,5 et 3. L'oxydation à pH 6,5 est complète pour les deux amines alors qu'à pH 3 toute l'adrénaline est oxydée et cinq pour cent seulement de la noradrénaline sont transformés en noradrénochrome.

Il est alors possible de différencier l'adrénaline de la noradrénaline. Cette méthode a subi de nombreuses modifications concernant d'une part l'agent oxydant et d'autre part la différenciation de l'adrénaline et de la noradrénaline dans les extraits.

EULER et HAMBERG (1949) ont utilisé l'iode 0,1 N comme agent oxydant dans leur technique colorimétrique. SHORE et OLIN (1958), puis CROUT (1961), CHANG (1964), VALORI et coll. (1967) ont repris l'iode 0,1 N pour aboutir à des dérivés fluorescents de l'iodoadrénochrome et de l'iodonoradrénochrome. Mais c'est le

ferricyanure de potassium à 0,25 p.100 qui est le plus couramment utilisé depuis EULER et FLODING (1955). ANTON et SAYRE (1962) préfèrent le ferricyanure de potassium comme agent d'oxydation, l'intensité de fluorescence obtenue étant supérieure à celle observée après oxydation par l'iode. CESSION et SCHMITZ (1970) soulignent que la réaction d'oxydation par le ferricyanure est rapide, nécessitant 3 à 4 minutes à l'opposé des 30 à 60 minutes nécessaires si l'agent oxydant est l'iode.

La différenciation de l'adrénaline et de la noradrénaline dans les extraits s'effectue selon trois techniques. La première en date correspond à l'oxydation des amines à deux pH différents, selon le principe indiqué plus haut. Mais cette technique est moins précise que celle préconisée par COHEN et GOLDENBERG (1957) et dont le principe est le suivant : l'adrénolutine et la noradrénolutine présentent des spectres de fluorescence différents. Les fluorescences relatives des deux lutines dans l'extrait dépendent des longueurs d'ondes de la lumière d'activation et de la lumière de fluorescence auxquelles les mesures sont faites. Après oxydation à pH 6, ces auteurs effectuent des lectures aux deux combinaisons de longueurs d'ondes correspondant aux variations les plus importantes de la fluorescence émise. Un système d'équations à deux inconnues permet d'évaluer les quantités d'adrénaline et de noradrénaline contenues dans l'extrait. Un troisième procédé a été mis au point pour automatiser la méthode fluorimétrique, il est dû à MERRILLS (1963), repris par ROBINSON et WATTS (1964). En milieu fortement alcalin contenant un antioxydant les produits de l'oxydation sont transformés en dérivés fluorescents stables. L'acide ascorbique stabilise les dérivés fluorescents des deux catécholamines. L'acide thioglycolique ne

stabilise que le dérivé issu de la noradrénaline. D'où la nécessité d'effectuer deux déterminations : les catécholamines totales et la noradrénaline. L'adrénaline s'obtient par différence. Mais la noradrénaline se trouve un peu surestimée par cette technique car l'acide thioglycolique stabilise la noradrénolutine mais un faible pourcentage d'adrénolutine se trouve dosé en même temps.

C'est la méthode fluorimétrique après transformation en dérivés trihydroxyindoliques que nous avons utilisée selon une technique principalement due à EULER et LISHAJKO (1961).

II - DESCRIPTION DE LA METHODE

1 - Réactifs

On emploie exclusivement de l'eau bidistillée et des réactifs ayant le degré de pureté pour analyse. Il s'agit des produits suivants :

- . Acide chlorhydrique - solutions 6 N et 2 N
- . Soude en pastille - solutions 5 M, 1 M et 0,2 M
- . Ammoniaque - solution 1 M
- . Acide éthylène diamine tétracétique sel disodique, E.D.T.A. Titriplex III (Merck)
- . Alumine B.D.H. (Aluminium oxyde for chromatographic adsorption analysis. Brockmann activity II)

L'alumine est lavée à l'acide selon la technique décrite par PEYRIN (1964) : 100 g d'alumine sont agités avec 500 ml d'HCl 2 N bouillant pendant 20 minutes, filtrés et lavés sur filtre à l'eau distillée jusqu'à neutralité, puis séchés à 300° C pendant 3 heures.

- . Acide acétique glacial - solution M et 0,25 M
- . Solution tampon à pH 6. Ajouter 5 ml d'acide acétique M à 95 ml d'acétate de sodium M
- . Acétate de sodium 0,2 M ajusté au pHmètre à pH 8,4 par addition de NaOH 0,2 M
- . Ferricyanure de potassium 0,25 p.100
- . Acide ascorbique - solution à 2 p.100 (préparer extemporanément 10 ml de solution)
- . Mélange : soude 5 M, 44 ml ; éthylène diamine, 1 ml puis acide ascorbique 2 p.100, 5 ml ; à préparer au moment de l'emploi
- . L'adrénaline cristallisée MERCK
- . La noradrénaline cristallisée HOECHST.

Les solutions mères sont préparées en pesant 10 mg de produit en poudre que l'on dissout ensuite dans 10 ml d'eau bidistillée contenant 2 gouttes d'acide chlorhydrique 2 N. Elles peuvent être conservées quinze jours à 4°C.

2 - Matériel

Les appareillages suivants sont utilisés :

- . Fioles coniques à col rodé de 250 ml avec réfrigérant droit
- . Agitateur magnétique

- . pHmètre (type pHmètre 4 RADIOMETER, précision 0,01 unité pH)
- . Colonnes en verre Pyrex, comportant une tige de diamètre intérieur 1 cm et de 15 cm de hauteur, munie à sa partie inférieure d'un disque de verre fritté et d'un robinet de verre à rodage standard, démontable et à sa partie supérieure d'une ampoule de 60 ml environ
- . Spectrofluorimètre JOBIN YVON du type Bearn, schématisé sur la figure 2.

- la source lumineuse (S) est une lampe à arc concentré dans le Xénon (OSRAM 150 W/l) alimentée en courant continu stabilisé. Le rayonnement de la lampe à xénon présente une grande intensité et une grande stabilité.

- deux monochromateurs (M et M'), à prismes de Cornu en quartz permettent de sélectionner une longueur d'onde d'excitation et une longueur d'onde de fluorescence. Le flux émergeant de la fente de sortie du monochromateur d'excitation est concentré sur l'échantillon. Le second monochromateur reçoit le flux émis par fluorescence à 90° de la direction du faisceau incident.

- les cuves (C) sont en silice très pure de section carrée (10 mm x 10 mm) dont 2 faces adjacentes sont argentées.

- le flux lumineux qui sort du monochromateur de fluorescence tombe sur un photomultiplicateur RCA IP 28 (P) sensible entre 200 et 700 nm. La réponse du photomultiplicateur par l'intermédiaire d'un adaptateur d'impédance et d'un atténuateur fait dévier l'échelle mobile d'un galvanomètre : (SEFRAM, type MOV 3).

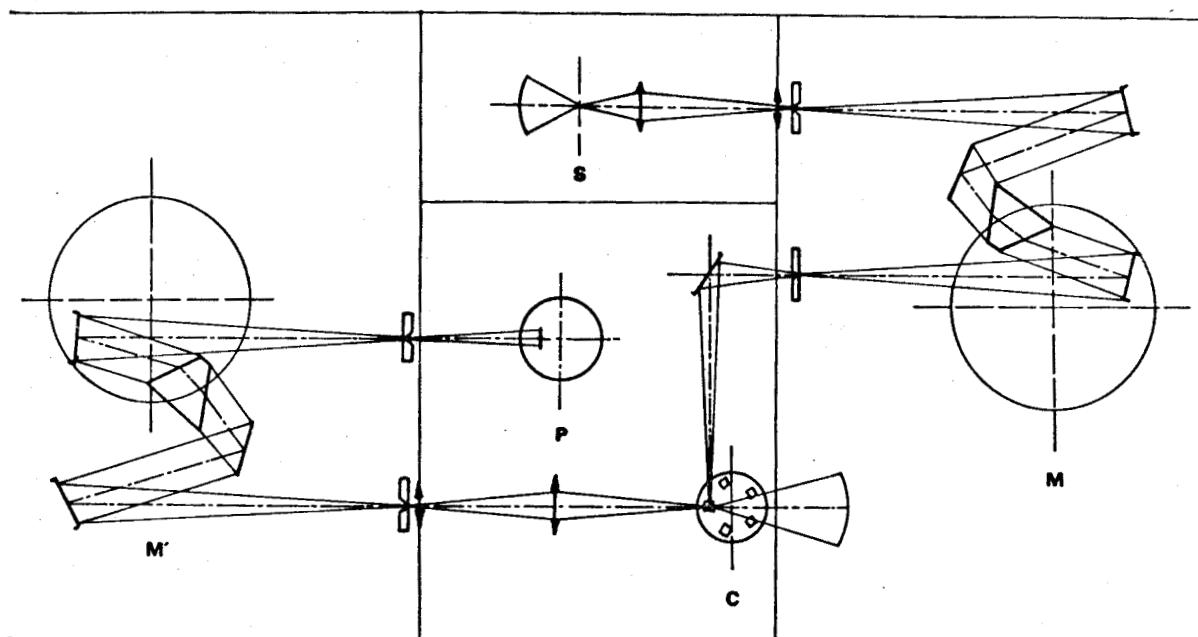


Figure 2 : Schéma optique du Spectrofluorimètre JOBIN-YVON,
type Bearn.

C : Porte-cuves
M : Monochromateur d'excitation
M' : Monochromateur de fluorescence
P : Photomultiplicateur
S : Lampe

3 - Technique

a) Prélèvement des urines

Chaque rat est enfermé dans une cage à métabolisme en verre pendant 24 heures à la diète hydrique. L'urine est recueillie dans un ballon contenant 0,5 ml d'HCl 6 N. Les fèces sont retenues par le plancher de la cage et les fines particules par un filet de nylon disposé sur le col de chaque ballon. L'urine se trouve ainsi exempte de toute trace d'aliment et de matières fécales. Acidifiée elle peut être conservée au froid. Il faut noter d'autre part que GODEFROY (1964) a montré qu'un jeûne d'une journée est sans influence sur le taux des catécholamines urinaires.

b) Hydrolyse des conjugués urinaires

Une partie seulement des catécholamines est excrétée à l'état d'amines libres. L'autre partie l'étant sous forme de conjugués. CROUT (1961) ne préconise pas l'hydrolyse car les urines sont souvent contaminées par un pigment jaune qui tend à masquer la fluorescence. C'est pourquoi, nous n'avons pas effectué d'hydrolyse de façon habituelle mais uniquement pour connaître le pourcentage d'amines conjuguées. La technique utilisée est celle recommandée par HERMANN et coll. (1961). Les urines sont acidifiées à pH 1 par de l'acide chlorhydrique 6 N. L'hydrolyse est réalisée par ébullition de 10 minutes sous réfrigérant à reflux.

c) Extraction des amines

L'extraction des amines est effectuée par adsorption sur alumine.

- préparation de la colonne d'alumine :

Deux grammes d'alumine activée sont mélangés à de l'eau bidistillée et versés dans la colonne. Le robinet étant ouvert, la colonne d'alumine se constitue d'elle-même. Dès que toute l'eau s'est écoulée, la colonne est alimentée avec 5 ml d'acétate de soude 0,2 M à pH 8,4 selon la technique de PEYRIN (1964). Il faut veiller à ce que la colonne ne sèche jamais. Si l'urine n'est pas prête, on ferme le robinet d'écoulement en laissant au-dessus de la colonne d'alumine 1 cm de liquide.

- ajustement du pH à 8,4 :

50 ml d'urine hydrolysée ou non et filtrée sont additionnés de 1 g d'EDTA et d'un barreau aimanté n'ayant aucune partie métallique apparente. Le bécher, placé sur l'agitateur magnétique reçoit l'électrode combinée (verre et référence) du pHmètre et le pH est amené de façon très ménagée jusqu'à la valeur 8,4 sous agitation constante. Le pH très acide de l'urine peut être neutralisé dans un premier temps par addition goutte à goutte de NaOH 5 M. Puis au-delà de pH 7, on amènera très progressivement le pH jusqu'à 8,4 par addition de NaOH 1 M. PEYRIN (1964) signale que toute urine dont le pH dépasse 8,7 ne peut être utilisée.

- passage sur colonne et élution :

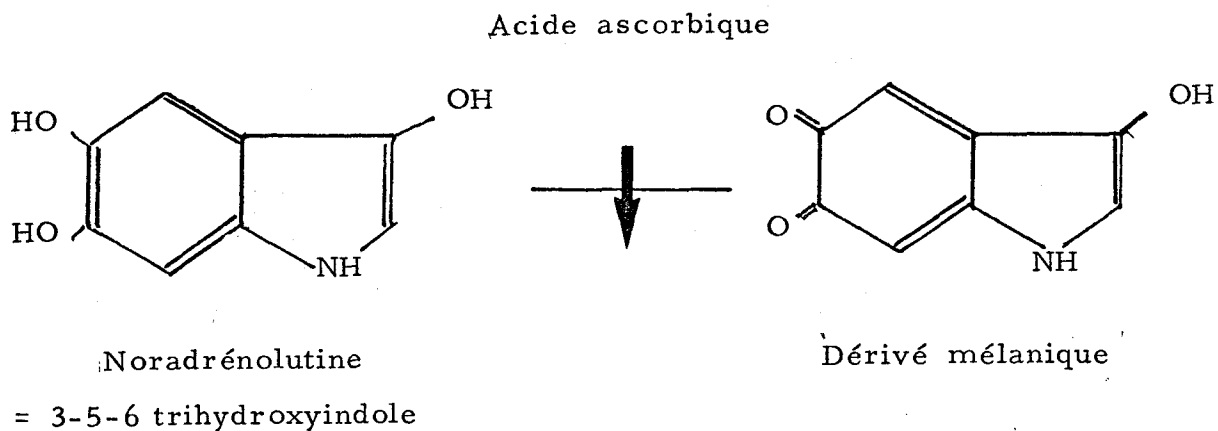
L'urine à pH 8,4 est versée sur l'alumine. Son écoulement sera réglé de façon à ne pas dépasser dix minutes. Si c'est nécessaire, le débit sera augmenté au moyen d'air comprimé de façon qu'il atteigne au moyen 5 ml par minute. L'alumine est alors lavée successivement par 5 ml d'acétate de soude à pH 8,4

et par de l'eau bidistillée jusqu'à neutralité. L'élution est effectuée en versant deux fois 5 ml d'acide acétique 0,25 M. Lors de l'élution, le débit doit être très lent (5 gouttes par minute) pour permettre l'épuisement de tous les grains.

L'éluat peut être conservé au froid plusieurs semaines.

d) Dosage

Les catécholamines sont oxydées par le ferricyanure de potassium 0,25 p.100 selon la réaction énoncée plus haut. En milieu alcalin, les produits d'oxydation de structure quinonique sont transformés en lutines fluorescentes ou 3 - 5 - 6 trihydroxyindole de structure phénolique. L'acide ascorbique intervient par ses propriétés oxydo-réductrices pour empêcher le trihydroxyindole de s'oxyder plus loin en mélanogène instable.



Au mélange soude-acide ascorbique est ajouté de l'éthylène diamine pour stabiliser la fluorescence ainsi que le préconisent EULER et LISHAJKO (1961).

L'éluat acétique est ajusté à pH 6 avec NH_4OH M. On note alors la quantité exacte d'éluat obtenu avec une éprouvette graduée.

Dans six fioles coniques numérotées de 1 à 6 on ajoute successivement extrait, substance tampon, etc... comme l'indique le tableau II.

Les fioles 4, 5 et 6 correspondent aux blancs ; ceux-ci sont obtenus en inversant l'ordre d'addition du ferricyanure et du mélange soude-acide ascorbique E.D.A.

Les solutions standard d'adrénaline et de noradrénaline sont préparées avec de l'éluat témoin. L'éluat témoin est obtenu à partir de 50 ml d'eau bidistillée subissant le même traitement que l'urine.

Dans les trois premières fioles, le temps d'oxydation c'est-à-dire le temps compris entre l'addition du ferricyanure de potassium et celle du mélange soude-acide ascorbique - E.D.A. est mesuré avec un chronomètre. Il doit être de trois minutes exactement.

La fluorescence des échantillons et des blancs est mesurée cinq minutes après la fin de l'oxydation.

n°1	n°2	n°3	n°4	n°5	n°6
1 ml d'extrait	1 ml de NA 2.10^{-7}	1 ml d'A 2.10^{-7}	1 ml d'extrait	1 ml de NA 2.10^{-7}	1 ml d'A 2.10^{-7}
1 ml H ₂ O bidistil.	1 ml éluat témoin	1 ml éluat témoin	1 ml H ₂ O bidistil.	1 ml éluat témoin	1 ml éluat témoin
1 ml tampon pH 6	1 ml pH 6	1 ml pH 6	1 ml pH 6	1 ml pH 6	1 ml pH 6
0,1 ml Fe(CN) ₆ K ₃ 0,25 p.100	0,1 ml Fe(CN) ₆ K ₃ 0,25 p.100	0,1 ml Fe(CN) ₆ K ₃ 0,25 p.100			
Contact 3 minutes					
2 ml NaOH/acide ascorbique E. D. A.	2 ml NaOH/acide ascorbique E. D. A.	2 ml NaOH/acide ascorbique E. D. A.	2 ml NaOH/acide ascorbique E. D. A.	2 ml NaOH/acide ascorbique E. D. A.	2 ml NaOH/acide ascorbique E. D. A.
			0,1 ml Fe(CN) ₆ K ₃ 0,25 p.100	0,1 ml Fe(CN) ₆ K ₃ 0,25 p.100	0,1 ml Fe(CN) ₆ K ₃ 0,25 p.100
Complément à 10 ml avec 4,9 d'eau bidistillée					

Tableau 2 : Préparation des échantillons fluorescents et des blancs pour le dosage fluorimétrique de l'adrénaline et de la noradrénaline urinaires.



e) Expression des résultats

L'excrétion urinaire des catécholamines concernant les différents travaux effectués chez l'Homme est exprimée en $\mu\text{g}/\text{mn}$. Pour le rat, la plupart des auteurs donne la quantité excrétée en $\mu\text{g}/24 \text{ h}/\text{rat}$ en précisant le poids du rat ou encore en $\mu\text{g}/24 \text{ h}/\text{kg}$ (LEDUC, 1961). D'autres enfin, l'expriment en $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ (MOTELICA, 1969). On a retenu la première façon d'exprimer les résultats car la durée de 24 h correspond effectivement à la durée de l'excrétion urinaire. D'autre part, les mesures ont été effectuées sur des lots de rats de même poids par conséquent la comparaison de ces lots ne nécessitait pas de rapporter l'excrétion à l'unité de poids.

III - ETUDE DES POSSIBILITES TECHNIQUES DE LA METHODE

1 - Etude des conditions optimales de mesure

La fluorescence est définie par UDENFRIEND (1962) comme l'émission de lumière par un atome ou une molécule consécutivement à l'absorption d'une radiation électromagnétique.

Schématiquement, sous l'action d'un rayonnement caractérisé par son énergie, c'est-à-dire par sa fréquence ou sa longueur d'onde λ^* , certaines molécules absorbent une partie de cette énergie et passent en 10^{-15} seconde à un état d'énergie supérieure dit état excité. C'est là un état transitoire d'une durée de 10

$$* \quad E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

avec h = constante de PLANCK ; c = vitesse de la lumière ;
 E = énergie du rayonnement.

nanosecondes qui est suivi d'un retour à l'état initial avec libération d'énergie. L'énergie perdue au cours de ce retour est émise sous forme d'une radiation de fréquence inférieure, donc de longueur d'onde supérieure, à celle de la lumière incidente - ou d'excitation - qui a été absorbée par la molécule : c'est la loi de STOKES.

L'étude des spectres d'excitation et de fluorescence est donc nécessaire pour choisir les longueurs d'onde auxquelles doivent s'effectuer les mesures.

a) Etude des spectres et choix des longueurs d'onde

Pour l'enregistrement des différents spectres, on a utilisé une table traçante (E. A. I., type Variplotter 1110). Le signal du photomultiplicateur fait dévier la plume selon l'axe des y. Les longueurs d'onde sont portées le long de l'axe des x. Des topages sur les courbes permettent de repérer ces longueurs d'onde dont l'échelle n'est pas linéaire.

On peut considérer pour chaque substance un spectre d'excitation et un spectre de fluorescence.

- spectres d'excitation :

Le spectre d'excitation correspond à la mesure de l'intensité de la lumière fluorescente émise, à longueur d'onde fixe, par un échantillon, celui-ci étant excité par des radiations de longueurs d'onde variables. On constate sur les courbes que la noradrénolutine et l'adrénolutine ont des maxima de fluorescence pour des longueurs d'onde d'excitation différentes. La noradrénolutine présente un maximum de fluorescence pour une longueur d'onde (λ) située

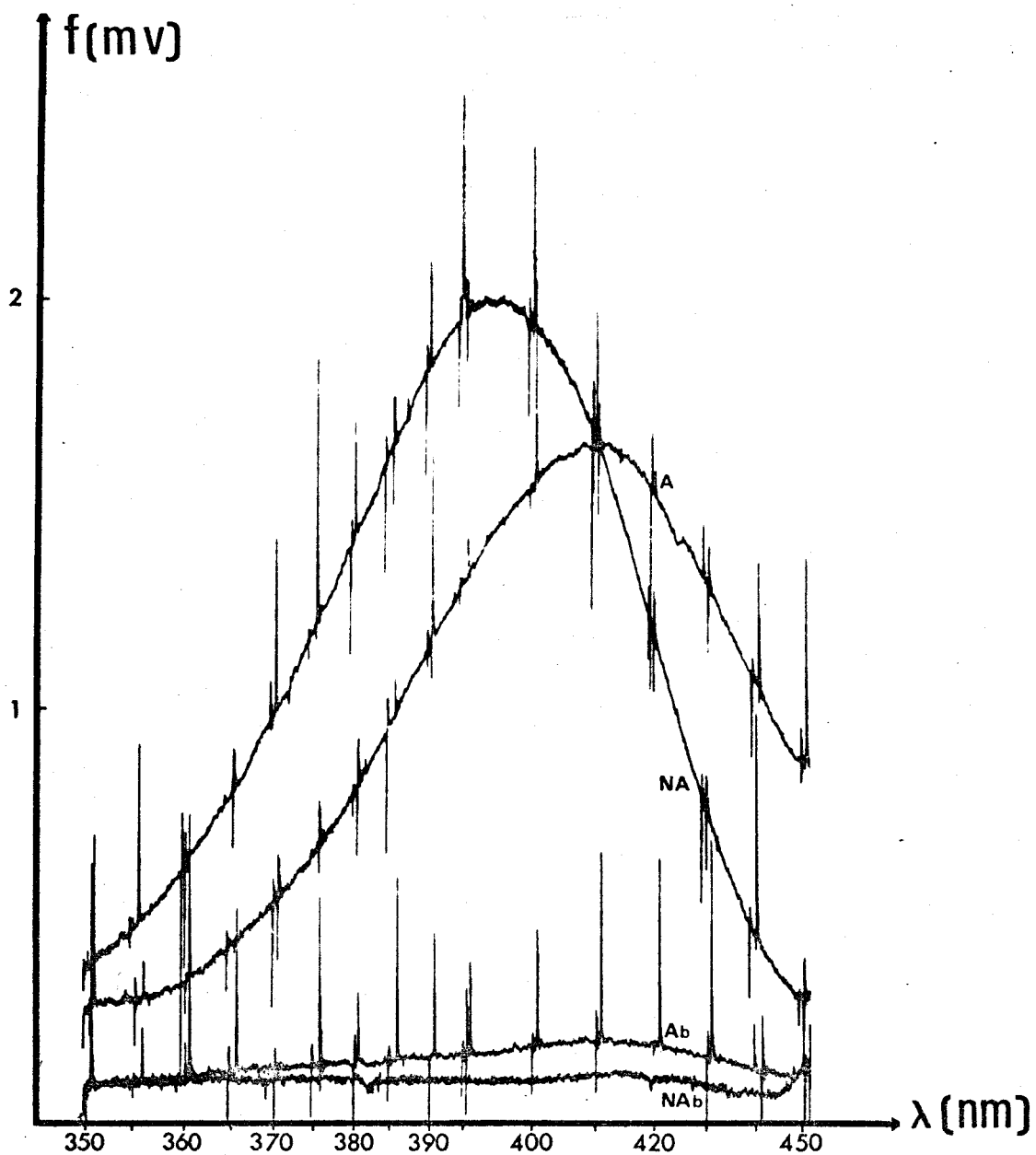


Figure 3 : Spectres d'excitation de l'adrénolutine (A), de la noradrénolutine (NA) et des blancs correspondants (Ab et NAb). La lumière de fluorescence est transmise à 500 nm.

entre 395 et 400 nm (v. fig. 3). L'adrénolutine présente un maximum de fluorescence pour une λ d'excitation située vers 410 nm.

- spectres de fluorescence :

On mesure, à différentes longueurs d'onde, l'intensité de la lumière fluorescente émise par un échantillon, celui-ci étant excité par une radiation de longueur d'onde fixe. Le spectre de fluorescence de l'adrénolutine présente un maximum pour une longueur d'onde de 525 nm environ, alors que celui de la noradrénolutine présente un maximum pour une longueur d'onde de 515 nm environ (v. fig. 4).

- choix des longueurs d'onde :

Le choix des longueurs d'onde est effectué de façon à favoriser, dans un cas, la fluorescence de l'adrénolutine et, dans l'autre, celle de la noradrénolutine. Les λ retenues ne correspondent pas obligatoirement aux maxima car il faut tenir compte surtout de la fluorescence relative de chaque lutine par rapport à l'autre. Après une dizaine d'essais, on a finalement retenu les longueurs d'onde utilisées par FUGAZZA (1963), c'est-à-dire 400-500 nm mettant en valeur surtout la fluorescence de la noradrénolutine et 430-520 nm favorisant la fluorescence de l'adrénolutine. La première valeur pour chaque mesure correspond à la longueur d'onde d'excitation alors que la seconde correspond à celle de fluorescence.

On appelle :

$$\rho_1 \text{ le rapport } \frac{\text{Fluorescence de l'adrénolutine à 430-520 nm}}{\text{Fluorescence de l'adrénolutine à 400-500 nm}}$$

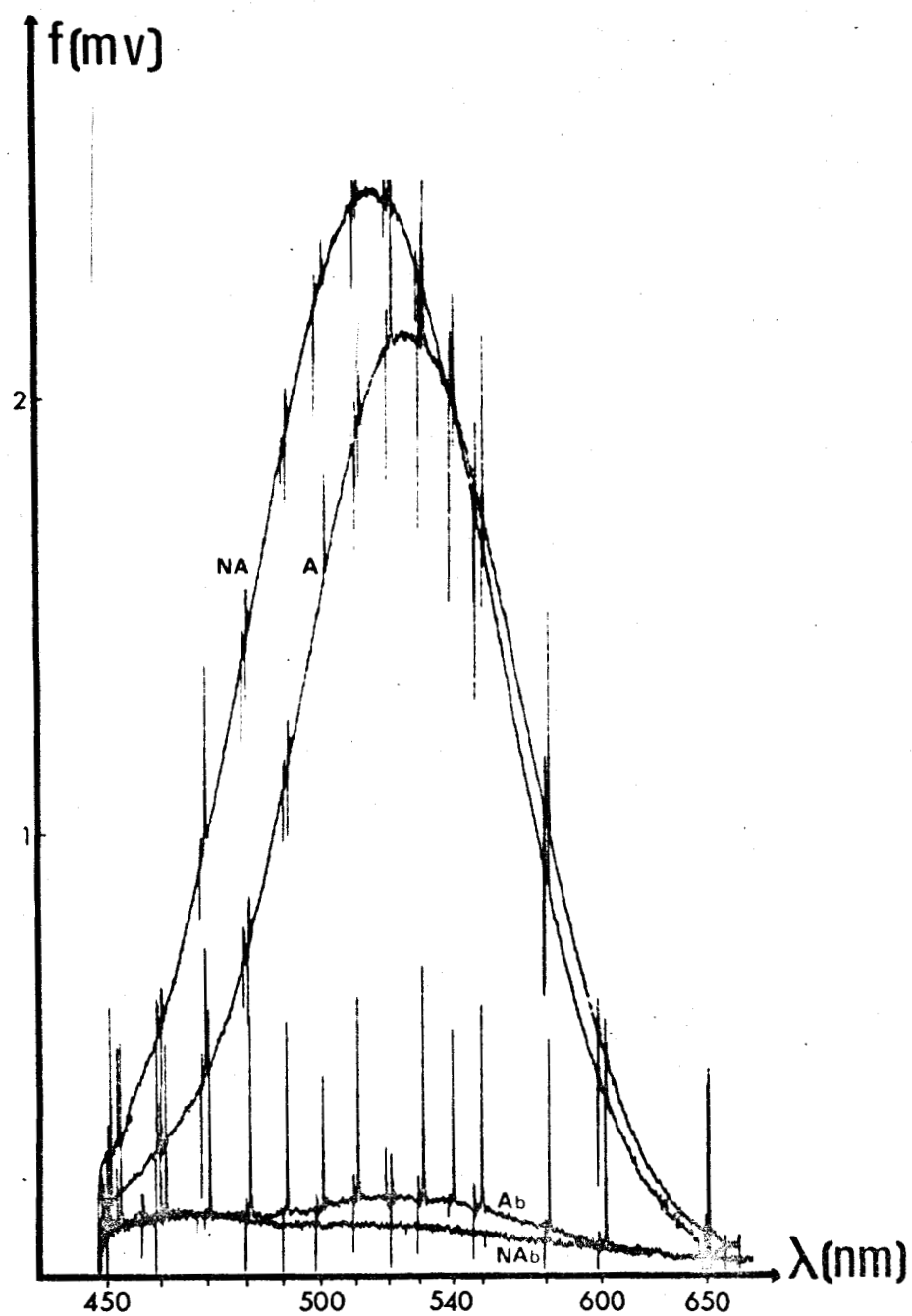


Figure 4 : Spectres de fluorescence de l'adrénolutine (A),
de la noradrénolutine (NA) et des blancs correspondants
(Ab et NAb). La lumière d'activation a une longueur
d'onde de 400 nm.

ρ_2 le rapport $\frac{\text{Fluorescence de la noradrénolutine à 430-520 nm}}{\text{Fluorescence de la noradrénolutine à 400-500 nm}}$

Ces rapports sont calculés à chaque dosage à partir des solutions standard, mais leur valeur est sensiblement constante et la moyenne des 15 mesures, avec l'écart-type (s) donne :

$$\rho_1 = 1,55 \text{ (s = 0,10)}$$

$$\rho_2 = 0,58 \text{ (s = 0,04)}$$

Le dosage différentiel consiste donc à faire une première série de lectures à 400-500 nm, puis une deuxième série à 430-520 nm et pour chaque dosage on obtient six valeurs :

- . a_1 = fluorescence du standard d'adrénolutine diminuée de celle de son blanc à 400-500 nm
- . a_2 = fluorescence du standard d'adrénolutine diminuée de celle de son blanc à 430-520 nm
- . b_1 = fluorescence du standard de noradrénolutine diminuée de celle de son blanc à 400-500 nm
- . b_2 = fluorescence du standard de noradrénolutine diminuée de celle de son blanc à 430-520 nm
- . m_1 = fluorescence de l'extrait diminuée de celle de son blanc à 400-500 nm
- . m_2 = fluorescence de l'extrait diminuée de celle de son blanc à 430-520 nm.

Sachant que la fluorescence d'un mélange des 2 amines est approximativement égale à la somme des fluorescences de chaque amine prise séparément, LARNO-VACHERON (1960) a pu établir les formules suivantes :

- Fluorescence de l'adrénaline dans l'extrait :

$$x_a = \frac{\rho_1 m_2 - \rho_1 \cdot \rho_2 m_1}{\rho_1 - \rho_2}$$

- Fluorescence de la noradrénaline dans l'extrait :

$$x_b = \frac{\rho_1 m_1 - m_2}{\rho_1 - \rho_2}$$

Le taux d'adrénaline dans la prise d'essai sera exprimé en μg :

$$A = \frac{0,2 \cdot x_a}{a_2}$$

Celui de noradrénaline :

$$NA = \frac{0,2 \cdot x_b}{b_1}$$

Dans chaque règle de trois, la valeur 0,2 correspond au nombre de μg de chaque amine contenue dans les fioles des solutions standard.

b) Décours de la fluorescence

L'intensité de la fluorescence des dérivés de l'adrénaline et de la noradrénaline est évaluée à partir de la 9e minute après l'addition du ferricyanure de potassium. L'éthylène diamine ajouté au mélange soude-acide ascorbique, selon la méthode préconisée

par EULER et LISHAJKO (1961) a pour effet de stabiliser la fluorescence des différents dérivés, comme le montre la figure 5. Sur cette figure on peut comparer l'évolution de la fluorescence en fonction du temps pour des préparations avec éthylène diamine et sans.

c) Proportionnalité de la fluorescence à la concentration de la substance fluorescente

Quand les solutions étudiées sont suffisamment diluées pour que la quantité de lumière absorbée soit très petite, on montre que :

$$F = I_0 (2,3 \text{ e.c.d.}) \quad \phi$$

F = intensité totale de la fluorescence (quanta/sec.)

I_0 = intensité de la lumière d'excitation (quanta/sec.)

c = concentration de la solution

d = profondeur optique de la solution

e = coefficient d'extinction moléculaire

ϕ = rendement quantique de la fluorescence

$$\phi = \frac{\text{nombre de quanta émis}}{\text{nombre de quanta absorbés}}$$

Pour de faibles concentrations, la réponse sera proportionnelle à la concentration de la substance fluorescente. Cette réponse sera linéaire jusqu'à ce que la concentration de la substance soit suffisamment élevée pour que celle-ci absorbe une proportion non négligeable de la lumière d'excitation.

Pour chaque amine, on a réalisé une série de 6 tubes de concentrations croissantes de 5 ng/ml à 100 ng/ml. Puis ces amines ont été transformées en dérivés fluorescents selon la

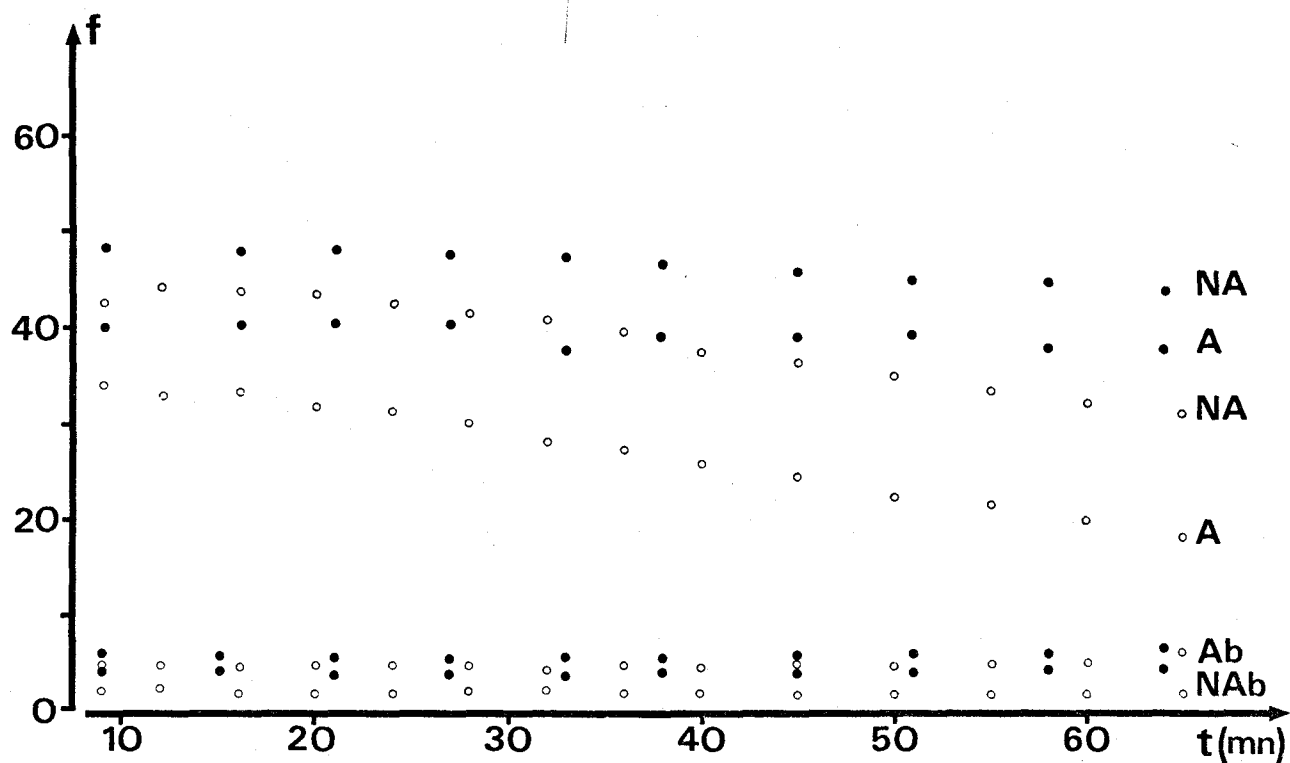


Figure 5 : Décours de la fluorescence de l'adrénolutine (A), et de la noradrénolutine (NA) et des blancs correspondants (Ab et NAb) à partir des valeurs maximales obtenues à la 9e minute après l'addition du ferricyanure de potassium.

● avec E.D.A.

○ sans E.D.A.

technique décrite au tableau 2. La lecture au fluorimètre a été faite dans les deux systèmes d'axes perpendiculaires avec en abscisse les différentes concentrations et en ordonnée les déviations du galvanomètre proportionnelles à l'intensité de fluorescence. Les figures 6 et 7 montrent que la courbe qui exprime la fluorescence en fonction de la concentration est bien une droite.

2 - Rendement de la méthode

Le dosage proprement dit est précédé d'une extraction qui peut occasionner des pertes en catécholamines. Il faut donc calculer deux rendements, celui du dosage seul et celui du dosage et de l'adsorption.

- Rendement du dosage de solutions mixtes :

On a effectué dix dosages à partir de solutions aqueuses mixtes d'adrénaline et de noradrénaline. Les quantités respectives de chaque amine dans ces solutions sont indiquées au tableau 3 ainsi que les quantités trouvées après chaque dosage. Pour la noradrénaline, il y a une bonne concordance entre les quantités trouvées et celles effectivement ajoutées puisque la valeur moyenne du rendement est de 100,45 p.100 ($s = 10,20$). Le pourcentage moyen de recouvrement de l'adrénaline est plus bas, il est de 94,54 p.100 ($s = 12,64$). Le dosage semble avoir tendance à augmenter les valeurs correspondant à la noradrénaline, alors qu'il diminue au contraire celles de l'adrénaline.

- Rendement de l'adsorption et dosage de solutions mixtes :

Une étude semblable a été faite à partir de solutions aqueuses mixtes de catécholamines subissant une extraction sur alumine avant le dosage. Quinze dosages, portés sur le tableau 4,

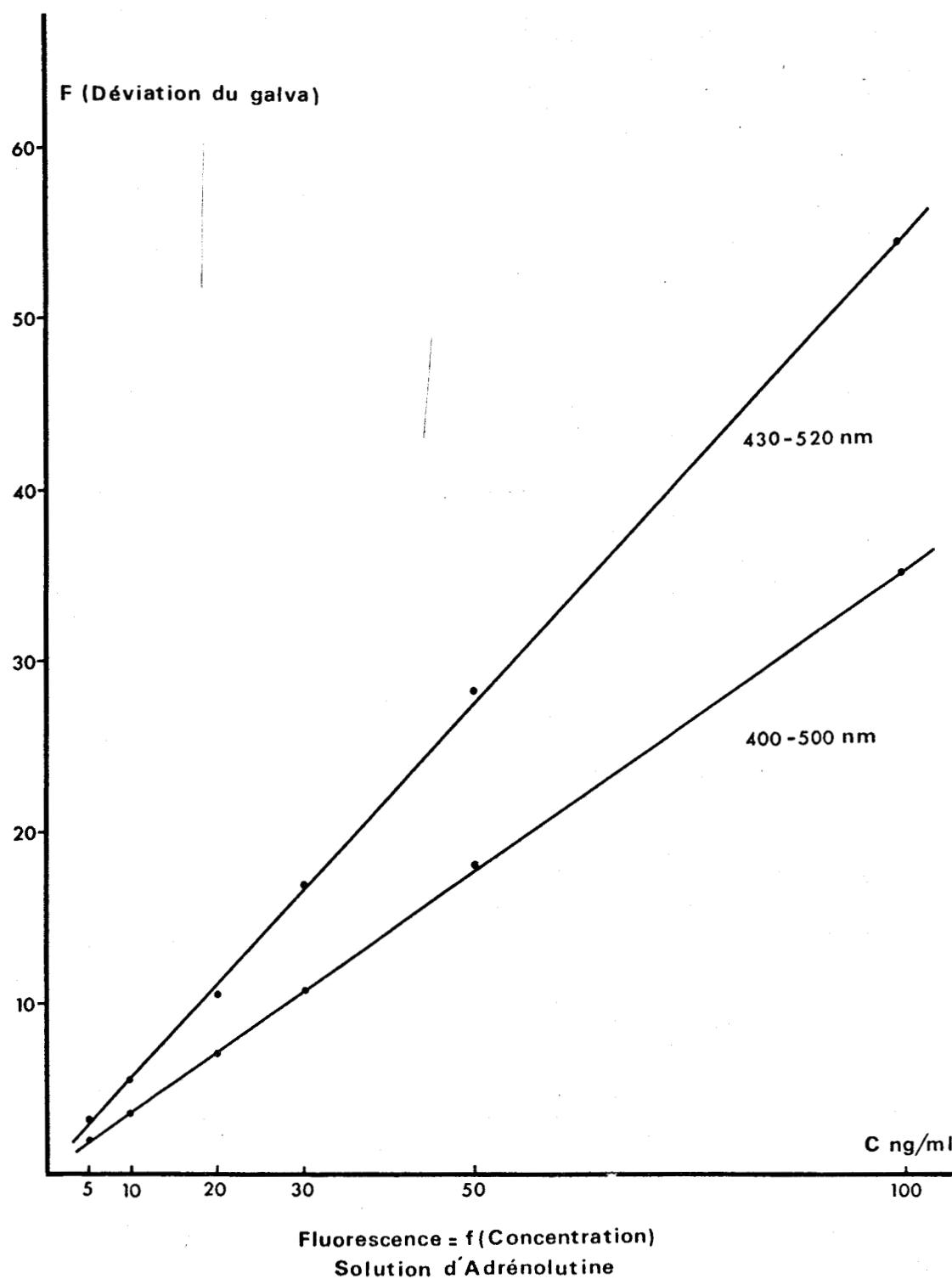


Figure 6 : Proportionnalité de la fluorescence (F) de l'adrénaline à sa concentration (C).



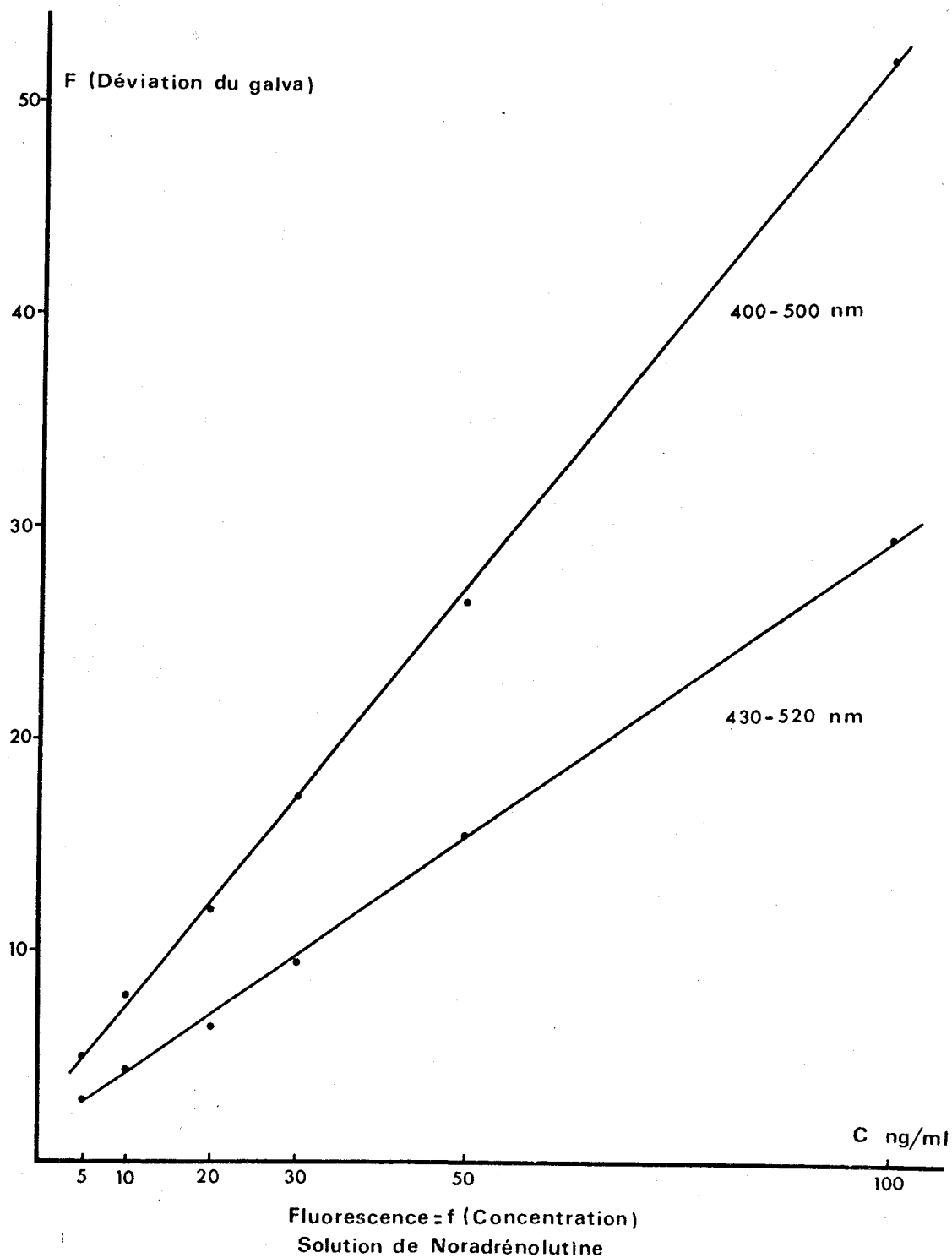


Figure 7 : Proportionnalité de la fluorescence (F) de la noradrénaline à sa concentration (C).



Quantités à doser en ng/ml		Quantités trouvées en ng/ml		Rendements en %		Rapport	Rapport des rendements
A	NA	A	NA	A	NA	NA/A	
2	5	2	5,5	100	110	2,5	1,10
5	2	4	2,2	80	110	0,4	1,37
4	4	4,7	3,8	117,5	95	1	0,80
5	10	3,7	10,4	74	104	2	1,40
10	5	9,9	5,7	99	114	0,5	1,15
3	15	2,9	13,9	96,66	92,66	5	0,95
5	20	5,3	20	106	100	4	0,94
1	7,5	0,94	7,5	94	100	7,5	1,06
4	4	3,4	4	85	100	1	1,17
7,5	17,5	7	13,8	93,33	78,85	2,33	0,84
				Rendements moyens			Rapport moyen
				94,54% s = 12,64	100,45% s = 10,20		1,07 s = 0,20

Tableau 3 : Rendement du dosage fluorimétrique.



Quantités ajoutées en ng/ml		Quantités trouvées en ng/ml		Rendements		Rapport	Rapport des rendements
NA	A	NA	A	NA	A	NA/A	
4	2	2,12	1,62	53	81	2	0,65
2	4	1,32	3,10	66	77	0,5	0,85
8	4	6,14	3,72	76,75	93	2	0,82
10	6	9,3	5,16	93	86	1,66	1,08
16	8	12,94	6,74	80,87	84,25	2	0,96
20	10	15,54	7,36	77,7	73,6	2	1,05
30	12	20,80	9,84	69,33	82	2,50	0,84
40	14	34,40	10,20	86,35	71,57	2,85	1,20
50	16	40,06	12,80	80,12	80	3,125	1,00
60	18	59,56	10,28	99	57	3,33	1,73
70	20	67,62	12,80	96,6	64	3,50	1,50
80	30	50,64	27,20	63,31	90	2,66	0,70
90	40	66,10	40,00	73,44	100	2,25	0,73
4	0	3,76	0	94	0		
6	0	5,08	0	84,6	0		
Valeurs moyennes							
79,59 %		80,00 %		2,359		1,03	
s = 13,20		s = 11,72				s = 0,31	

Tableau 4 : Rendement de l'extraction des catécholamines
et de leur dosage.



permettent d'apprécier le rendement moyen pour chaque amine. Cette fois, les valeurs sont très voisines puisqu'on retrouve 80,00 p.100 ($s = 11,72$) d'adrénaline en moyenne et 79,59 p.100 de noradrénaline ($s = 13,20$).

La perte subie à l'extraction est assez importante puisqu'elle est de l'ordre de 15 à 20 p.100. Elle est due à la grande fragilité des amines, à une adsorption et une élution sans doute incomplètes. Mais les valeurs trouvées sont identiques à celles de certains auteurs (cf EULER et ORWEN, 1955).

- Influence des quantités respectives de chacune
des deux amines :

Pour chaque série de dosages, on a comparé le rapport de concentrations initiales NA/A avec le rapport des rendements, comme le montrent les tableaux II et III. Quelque soit la valeur du rapport des quantités NA/A, celui des rendements oscille autour de l'unité.

Les valeurs moyennes du rapport des rendements est de 1.07 ($s = 0,20$) dans le tableau 3, et de 0.998 ($s = 0,315$) dans le tableau 4. Il n'apparaît donc pas, dans la limite de nos essais, qu'une plus grande quantité de noradrénaline par rapport à l'adrénaline puisse modifier les résultats.

B - PROTOCOLE

L'étude est faite sur des rats albinos mâles de deux lignées différentes, Wistar et Sprague-Dawley en provenance de deux centres d'élevage différents. Après réception, ils sont maintenus dans les mêmes conditions d'élevage et d'alimentation.

I - MESURE DE L'EMOTIVITE

Avant la mesure des paramètres physiologiques, tous les animaux sont passés systématiquement dans l'open-field.

1 - Dispositif expérimental

Le comportement du rat est observé dans une enceinte expérimentale dont le plancher a la forme d'un cercle de 80 cm de diamètre. Celui-ci est entouré d'une cloison de 40 cm de haut (Fig. 8). L'intérieur de la cloison peint en blanc est fortement éclairé par deux lampes Mazdapar de 150 W situées juste au dessus. La surface du plancher est subdivisée en plusieurs parties de façon à pouvoir apprécier l'importance de l'activité horizontale de l'animal. L'open-field est situé dans une pièce insonorisée dont la température est celle du Laboratoire.

L'expérimentateur dispose d'un clavier comportant cinq boutons qui lui permettent d'envoyer des "tops" sur un enregistreur. Il peut noter de cette façon le nombre de défécations et de mictions. Les dressements et les mouvements de toilette sont également comptés et le déroulement du papier s'effectuant à vitesse constante, on peut apprécier également le temps passé en toilettes et en dressements. Quant à l'activité horizontale, l'unité employée est arbitraire, elle correspond au passage du rat de la zone où il se trouve à la zone voisine.

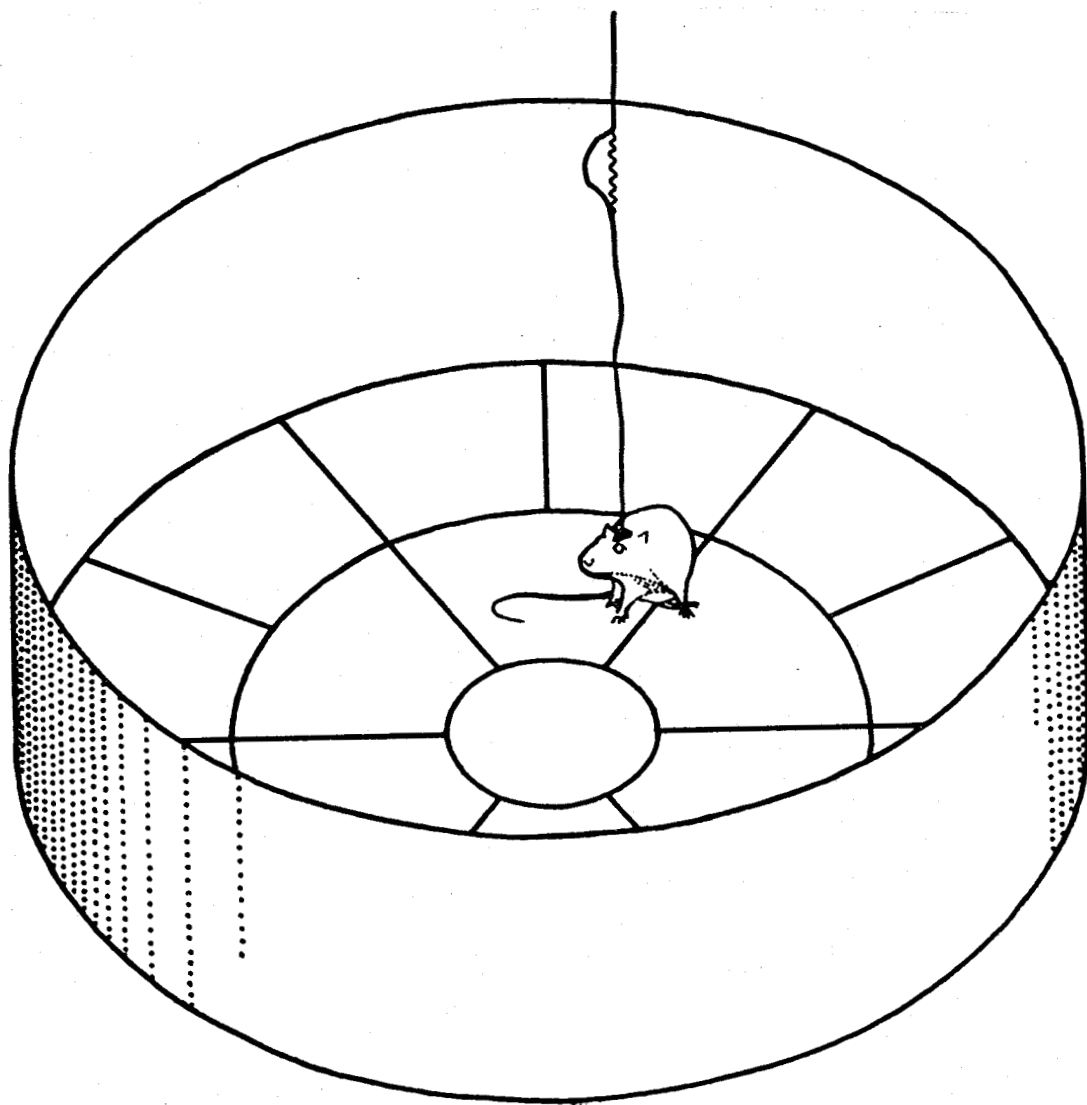


Figure 8 : Rat dans l'open-field.

Un connecteur disposé sur le crâne de l'animal et relié par un câble au cardiofréquencemètre permet ici l'enregistrement de la fréquence cardiaque.

2 - Protocole expérimental

Chaque série expérimentale s'effectue sur des groupes de 50 à 60 rats appartenant aux deux souches.

Chaque rat est prélevé dans sa cage d'élevage à l'âge de 2 mois environ, pesant alors entre 200 et 250 g. Il est déposé au centre de l'enceinte expérimentale et observé pendant 3 minutes puis replacé dans sa cage. Tous les paramètres cités plus haut sont enregistrés. Un animal subit trois épreuves analogues pendant trois jours consécutifs, mais à des heures différentes comprises entre 8 h et 17 h, c'est-à-dire pendant la partie du nycthémère correspondant au repos du rat.

II - ETUDE DE L'EXCRETION DES CATECHOLAMINES URINAIRES

On a d'abord recherché les valeurs de base de l'excrétion de l'adrénaline et de la noradrénaline urinaires sur chacune des deux souches de rats considérées. Pour observer les réactions sympatho-surrénaliennes, on a placé ensuite les animaux dans une situation de contention plus ou moins sévère susceptible de provoquer une modification de l'excrétion des amines urinaires.

1 - Excrétion de base

Après trois passages successifs de tous les animaux à l'open-field selon les modalités décrites précédemment, on choisit deux lots de cinq rats présentant les réponses les plus caractéristiques un lot d'animaux émotifs (e+) constitué de rats ayant un indice

de défécation supérieur à quatre excréta par test et un lot d'animaux moins émotifs (e-) constitué de rats ayant un indice de défécation nul. Les (e+) sont des rats Wistar et les (e-) des Sprague-Dawley. Le prélèvement des urines s'effectue selon la technique décrite à la page 22.

Quatre séries expérimentales ont été effectuées en prenant à chaque fois des animaux différents pour les lots (e+) et (e-).

Le nombre d'animaux dans chaque lot, la date de l'expérimentation, les limites de poids des animaux pendant la période des mesures, et le nombre de mesures pour chaque série sont indiqués dans le tableau ci-dessous.

Série	Nombre animaux	Date	Poids	Nombre mesures
R ₀	2 x 6	Janv. - Fév. 70 Avr. 70	300-350 g + 450 g	13 3
RC ₁	2 x 5	Juin-Juil. 70	325-375 g	8
RC ₂	2 x 5	Nov. 70	350-450 g	5
RC ₃	2 x 5	Janv. - Fév. 71	250-300 g	5

Les rats des deux lots d'une même série sont toujours examinés dans les mêmes conditions : 24 h à partir du même jour à la même heure, dans le même local et dans des cages à métabolisme identiques. Les urines recueillies dans les mêmes conditions sont dosées en même temps.

Il faut noter qu'à chaque série on élimine la première valeur souvent plus élevée car les animaux sont légèrement perturbés par le nouvel environnement constitué par les cages à métabolisme.

La série R_0 comporte deux périodes de mesures. Entre ces périodes, une étude du rythme cardiaque a été effectuée sur les rats des deux lots.

Les animaux des séries RC_1 , RC_2 et RC_3 ont été utilisés pour étudier l'influence de la contention.

2 - Influence de la contention

Les cages à contention sont faites de parois verticales d'altuglas, d'un plancher laissant passer l'urine et d'un plafond formé de sept tiges métalliques amovibles disposées en arc de cercle à des hauteurs variables. Les dimensions intérieures de chaque cage sont de 6,3 cm de large sur 17,3 cm de long, la plus grande distance du plancher au plafond voûté variant de 4,5 à 7 cm, de 0.5 en 0.5 cm (Fig. 9).

Trois séries expérimentales sont réalisées : RC_1 , RC_2 et RC_3 . Quelques dosages sont d'abord effectués pour connaître l'excrétion basale des catécholamines urinaires des animaux étudiés selon le protocole décrit plus haut.

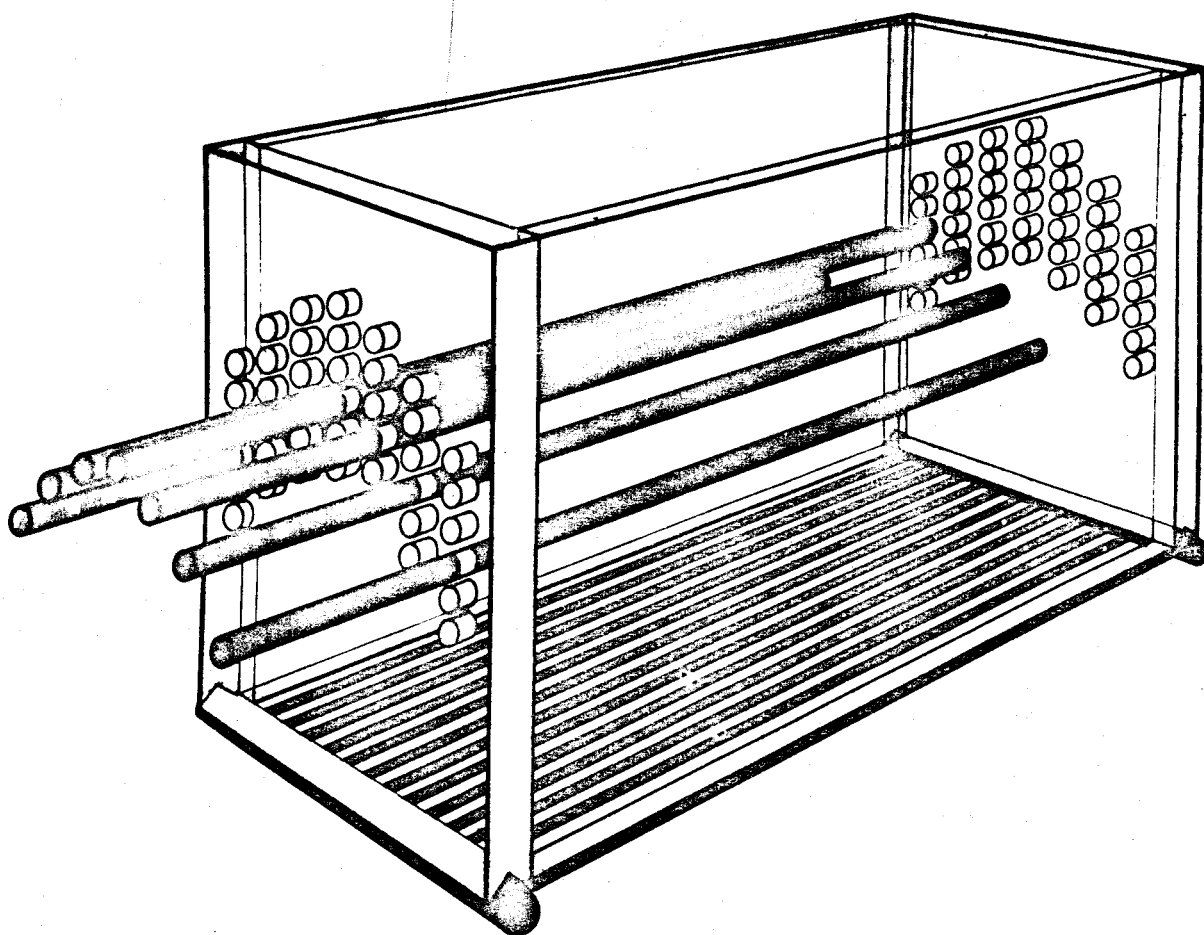


Figure 9 : Cage à contention.

Les rats sont examinés en contention de la façon suivante :

1 - L'animal est disposé 3 heures consécutives dans une cage à contention introduite elle-même dans une cage à métabolisme pour le recueil des urines.

2 - Après ce temps le rat quitte sa cage à contention mais demeure encore 21 h dans la cage à métabolisme. Ces urines recueillies correspondent à une élimination de 24 heures dont trois heures de contention.

Six examens en contention sont effectués sur un laps de temps de deux semaines :

- les quatre premiers examens correspondent à une contention relativement légère car les rats peuvent encore se retourner, non sans difficultés il est vrai ;

- lors des deux derniers passages, la contention est rendue plus sévère en abaissant les tiges du plafond de la cage d'un cran de telle sorte que les rats ne puissent plus se retourner ;

Les trois heures de contention ont été choisies à différents moments de la journée pour éviter l'influence éventuelle du nycthémère. Les rats sont mis en contention soit entre 9 h et 12 h, soit entre 12 h et 15 h soit entre 19 h et 22 h.

Chapitre II - RESULTATS

Pour l'exposé des résultats on reprendra le plan qui a guidé l'étude des techniques au chapitre précédent. On abordera donc d'abord les résultats obtenus par le passage des rats dans l'open-field.

I - ETUDE COMPORTEMENTALE DES RATS DANS L'OPEN-FIELD

Les résultats exposés ici correspondent à un travail effectué sur 119 rats, soit 58 rats Wistar et 61 rats Sprague-Dawley, et réalisé en deux séries, la première série comportant 28 Wistar et 31 Sprague-Dawley et la deuxième 30 animaux de chaque souche.

1 - Comparaison des deux souches

Les valeurs moyennes des principaux paramètres mesurés dans l'open-field sont présentées sur la figure 10. Elles font apparaître une différence entre les deux souches concernant surtout la défécation et les mouvements de toilette. Une différence dans l'activité horizontale est également repérable. Quant aux dressements, leur nombre est beaucoup plus variable chez les rats Wistar.

Le tableau 5 rapporte les valeurs moyennes des différents indices mesurés à l'open-field au cours des trois passages successifs et pour les deux séries. Il nous a semblé possible de regrouper l'ensemble des résultats car tous les animaux subissent le même traitement et présentent les mêmes caractéristiques pondérales. D'autre part, ces différences comportementales entre les souches se maintiennent d'un passage au suivant et de la première série expérimentale à la seconde.

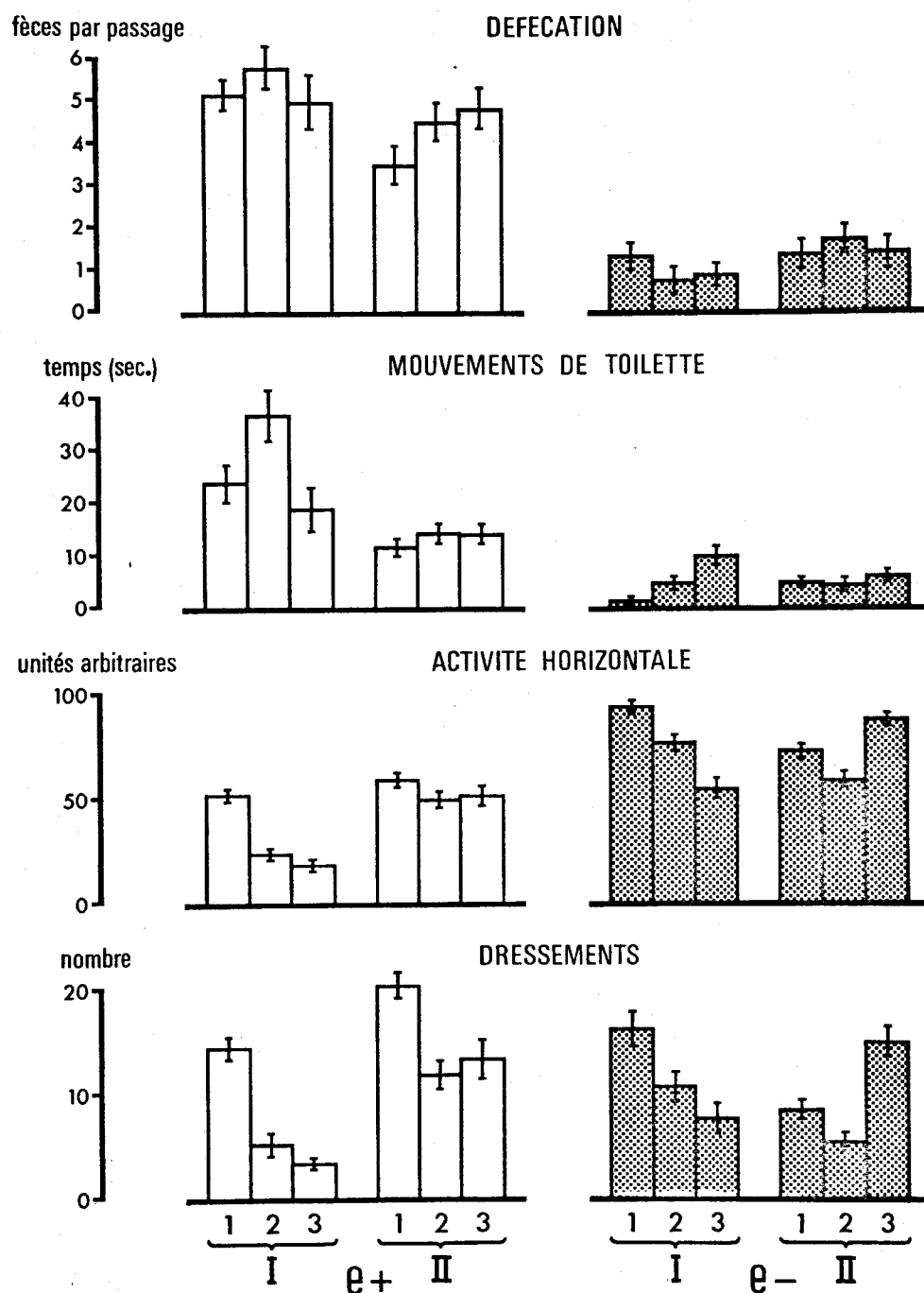


Figure 10 : Valeurs moyennes des principaux paramètres mesurés dans l'open-field pour les deux souches de rats Wistar (e +, en blanc) et Sprague-Dawley (e -, en hachures), lors des trois passages successifs (1, 2, 3) pour chacune des deux séries principales (I et II). Chaque valeur est encadrée par $\pm$ l'écart-type de la moyenne.

	SPRAGUE-DAWLEY		WISTAR		t	Seuil de Probabilité
	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type		
Nombre d'animaux	61		58			
Défécation	1, 21	1, 47	4, 77	1, 89	11, 47	= .001
Toilette en sec.	4, 77	4, 21	20, 18	14, 38	7, 88	= .001
Dressements	10, 29	6, 09	11, 70	6, 92		
Activité horizontale	73, 29	15, 97	42, 36	19, 02	9, 62	= .001

Tableau 5 : Moyennes des différents indices mesurés à l'open-field au cours de trois passages.



Une différence hautement significative apparaît entre les moyennes des défécations ; les rats Wistar défécant beaucoup plus que les rats Sprague-Dawley. Cette différence dans le comportement émotif se trouve confirmée par la comparaison des mouvements de toilette considérés comme des manifestations émotionnelles secondaires (COSNIER, 1966 ; POIREL, 1970). En effet, les rats Wistar passent cinq fois plus de temps que les animaux de l'autre souche en mouvements de toilette lors d'un passage à l'open-field, différence hautement significative aussi.

Par ailleurs, les rats Wistar plus émotifs, d'après les deux critères cités plus haut, se déplacent moins ; en effet, l'activité horizontale est significativement plus faible chez ces derniers.

Quant aux dressements, le calcul du t de Student ne fait pas apparaître de différence significative. Mais sa validité semble douteuse car la moyenne des deux séries n'est pas représentative pour les rats Wistar. En effet, lors de la première série les rats Wistar se dressent moins (7,22 dressements par passage contre 11,30 pour les Sprague-Dawley), alors que c'est l'inverse à la deuxième série (15,67 contre 9,30).

2 - Etude des inter-corrélations

L'étude des inter-corrélations susceptibles d'exister entre les réponses observées dans l'open-field nous apportent des données supplémentaires (Tableau VI).

Rats SPRAGUE-DAWLEY (e -)

	Toilette	Activité	Dressement
Défécation	+ 0,14	- 0,16	- 0,16
Toilette		- 0,11	- 0,07
Activité			+ 0,40 ^{**}

Rats WISTAR (e +)

	Toilette	Activité	Dressement
Défécation	+ 0,35 ^{**}	- 0,26 [*]	- 0,11
Toilette		- 0,38 ^{**}	- 0,22
Activité			+ 0,78 ^{**}

Tableau 6 : Coefficients de corrélation pour les quatre principaux indices mesurés à l'open-field, considérés deux à deux.

* P < .05

** P < .01



Chez les rats des deux souches, la valeur du r de BRAVAIS-PEARSON fait apparaître une corrélation directe entre l'activité horizontale et les dressements. C'est d'ailleurs la seule corrélation qui existe chez les rats Sprague-Dawley. Ces animaux ne présentent aucune corrélation entre la défécation et l'activité horizontale ou les dressements.

D'autre part, les rats Wistar présentent une corrélation inverse significative au seuil de .05, entre l'activité horizontale et la défécation, et significative au seuil de .01 entre l'activité horizontale et les mouvements de toilette. Enfin, une corrélation positive significative relie chez ces mêmes animaux la défécation aux mouvements de toilette, ce qui renforce l'hypothèse considérant la toilette comme une manifestation émotionnelle secondaire.

En conclusion, on a deux souches de rats présentant une émotivité différente. La seule corrélation commune aux deux souches permet d'associer les dressements à l'activité horizontale. Quant à la relation émotivité-activité, nos résultats soulignent la difficulté de tirer une conclusion générale et l'interprétation de ces résultats sera abordée dans la discussion générale.

II - EXCRETION D'ADRENALINE ET DE NORADRENALINE URINAIRES

On distinguera l'excrétion de base correspondant à l'élimination quotidienne dans les conditions normales et l'influence de la contention sur cette excrétion.

1 - Excrétion de base

Avant d'aborder l'ensemble des résultats, on exposera plus en détail les résultats de la première série expérimentale.

a) Décours de la première série

L'excrétion urinaire d'adrénaline et de noradrénaline au cours de treize examens pour les deux lots (e -) et (e +) est représentée sur le graphique de la figure 11. L'excrétion est exprimée en $\mu\text{g}/24 \text{ h}/\text{rat}$. L'excrétion de noradrénaline toujours plus élevée que celle d'adrénaline, présente des fluctuations importantes. Ces variations se font de façon indépendante pour chacun des lots. Au contraire, on constate que le taux d'excrétion d'adrénaline du lot de rats moins émotifs (e -) est constamment supérieur à celui du lot (e +), sauf dans un seul cas où il lui est égal. Les valeurs moyennes d'excrétion, pour la noradrénaline, sont respectivement de $0,413 \mu\text{g}/\text{rat}/24 \text{ h}$ ($s = 0,151$) et de $0,364 \mu\text{g}/\text{rat}/24 \text{ h}$ ($s = 0,139$). La différence n'est pas significative. En ce qui concerne l'adrénaline, les moyennes sont de $0,100 \mu\text{g}/\text{rat}/24 \text{ h}$ ($s = 0,044$) pour les animaux non émotifs et $0,062 \mu\text{g}/\text{rat}/24 \text{ h}$ ($s = 0,023$) pour les animaux émotifs. La différence est significative au seuil de .01 ($t = 2,80$).

Les trois dosages de contrôle effectués deux mois après la série expérimentale principale confirment ces données. En effet, pour le lot (e +), l'excrétion urinaire d'adrénaline est de $0,130 \mu\text{g}/\text{rat}/24 \text{ h}$ et celle de noradrénaline de $0,594 \mu\text{g}/\text{rat}/24 \text{ h}$. Les animaux du lot (e -) présentent alors une excrétion urinaire d'adrénaline de $0,187 \mu\text{g}/\text{rat}/24 \text{ h}$ et de $0,670 \mu\text{g}/\text{rat}/24 \text{ h}$ pour la noradrénaline. L'augmentation des valeurs moyennes d'excrétion

Excrétion urinaire
($\mu\text{g}/\text{rat}/24\text{h}$)

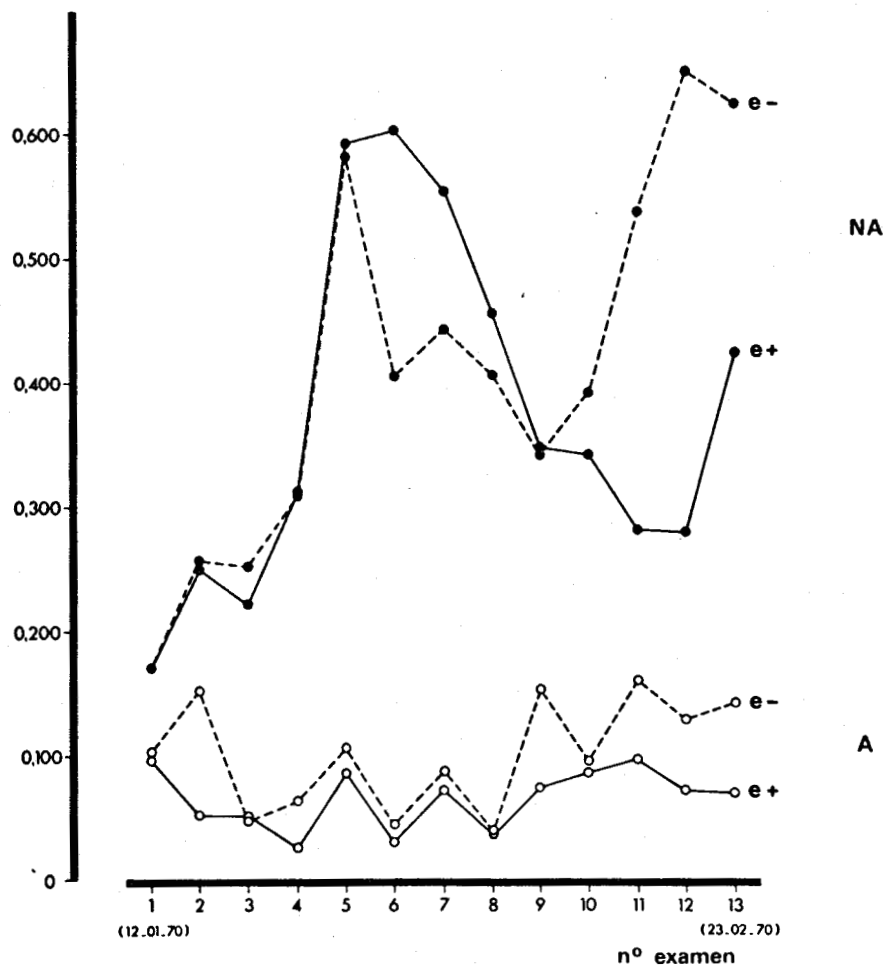


Figure 11 : Excrétion urinaire d'adrénaline (A) et de noradrénaline (NA) pour les deux lots (e -) et (e +).

Chaque valeur correspond à la moyenne de six rats.



semble être essentiellement due à l'augmentation de poids des animaux, ainsi que l'a suggéré LEDUC (1961). En effet, les variations saisonnières entre l'hiver et le début du printemps sont très faibles et se traduiraient plutôt par une baisse de l'excrétion des catécholamines urinaires.

Il apparaît donc entre les deux lots une différence d'excrétion urinaire d'adrénaline qui se maintient en dépit des modifications éventuelles qu'auraient pu entraîner l'expérimentation.

Il convient, d'autre part, de noter que le volume urinaire moyen des rats moins émotifs est plus grand que celui des rats plus émotifs : 9,58 ml d'urine/rat/24 h ($s = 1,78$) pour le lot (e -) et 7,29 ml/rat/24 h ($s = 1,69$) pour le lot (e +). La différence est significative au seuil de .001 ($t = 3,45$). Ceci nous amène à supposer que les différences d'excrétion d'adrénaline sont liées à la plus ou moins grande importance du volume urinaire. Cette hypothèse semblerait être confirmée ici par l'existence d'une corrélation positive, significative au seuil de .01 ($r = .65$) entre l'excrétion d'adrénaline et le volume urinaire.

Dans cette série, les rats non émotifs présentent une excrétion d'adrénaline significativement plus importante que les rats émotifs. Par contre, aucune différence significative n'a été trouvée pour l'excrétion de noradrénaline. Ces caractères d'excrétion s'accompagnent d'un plus grand volume urinaire.

b) Exposé de l'ensemble des résultats

Les résultats des différentes séries expérimentales sont reportés sur le tableau VII. L'exposé de ces résultats comportera

	Excretion	RATS (e +)		RATS (e -)		P
		m	σ	m	σ	
R ₀	A	0,062	0,023	0,100	0,044	= .01
	NA	0,364	0,139	0,413	0,151	N. S.
	V _u	7,29	1,69	9,58	1,78	< .001
	A	0,130	0,018	0,187	0,024	< .05
	NA	0,594	0,057	0,670	0,030	N. S.
RC ₁	A	0,082	0,026	0,150	0,049	< .01
	NA	0,346	0,067	0,572	0,092	< .01
	V _u	15,04	1,84	7,27	1,98	< .001
RC ₂	A	0,101	0,023	0,177	0,037	< .05
	NA	0,305	0,070	0,454	0,068	N. S.
	V _u	5,50	1,95	15,12	1,57	< .001
RC ₃	A	0,098	0,018	0,163	0,018	< .02
	NA	0,266	0,032	0,358	0,048	< .05
	V _u	8,93	2	7,68	1,99	N. S.

Tableau 7 : Valeurs d'excrétion des catécholamines urinaires, mesurée par méthode fluorimétrique, et du volume urinaire.

A : excrétion de l'adrénaline, exprimée en $\mu\text{g}/\text{rat}/24 \text{ h}$
 NA : excrétion de la noradrénaline, exprimée en $\mu\text{g}/\text{rat}/24 \text{ h}$
 V_u : volume urinaire, exprimé en $\text{ml}/\text{rat}/24 \text{ h}$.



quatre points : excrétion d'adrénaline, excrétion de noradrénaline, influence du poids et influence de la diurèse sur ces excrétions.

- Excrétion d'adrénaline :

La différence d'excrétion d'adrénaline entre les groupes d'animaux d'émotivité différente se maintient lors des quatre séries expérimentales comme le montre la figure 12.

Cette différence est significative dans la plupart des séries (cf Tableau VII). Il faut noter que la probabilité d'avoir une différence nulle augmente quand le nombre de mesures est moins important. C'est le cas des 3 dosages de contrôle effectués en Avril 1970 pour la série R_0 et des 5 dosages de la série RC_2 .

Les moyennes générales obtenues à partir de toutes les valeurs d'excrétion des différentes séries correspondent à $0,081 \mu\text{g}/\text{rat}/24 \text{ h}$ ($s = 0,030$) pour les rats (e +) et $0,136 \mu\text{g}/\text{rat}/24 \text{ h}$ ($s = 0,051$) pour les rats (e -).

Le poids moyen des animaux est alors de 350 g. Il nous a semblé possible d'effectuer de telles moyennes malgré les variations de poids car ces variations sont identiques pour les deux souches.

D'autre part, les variations intra-individuelles sont identiques chez les rats (e +) et (e -) puisque le calcul du coefficient de variation ($V = 100 s/m$) est égal à 37 p.100 dans les deux cas. La différence d'excrétion est hautement significative $P < .001$ ($t = 5,48$).

Excrétion urinaire
d'adrénaline
($\mu\text{g}/\text{rat}/24\text{h}$)

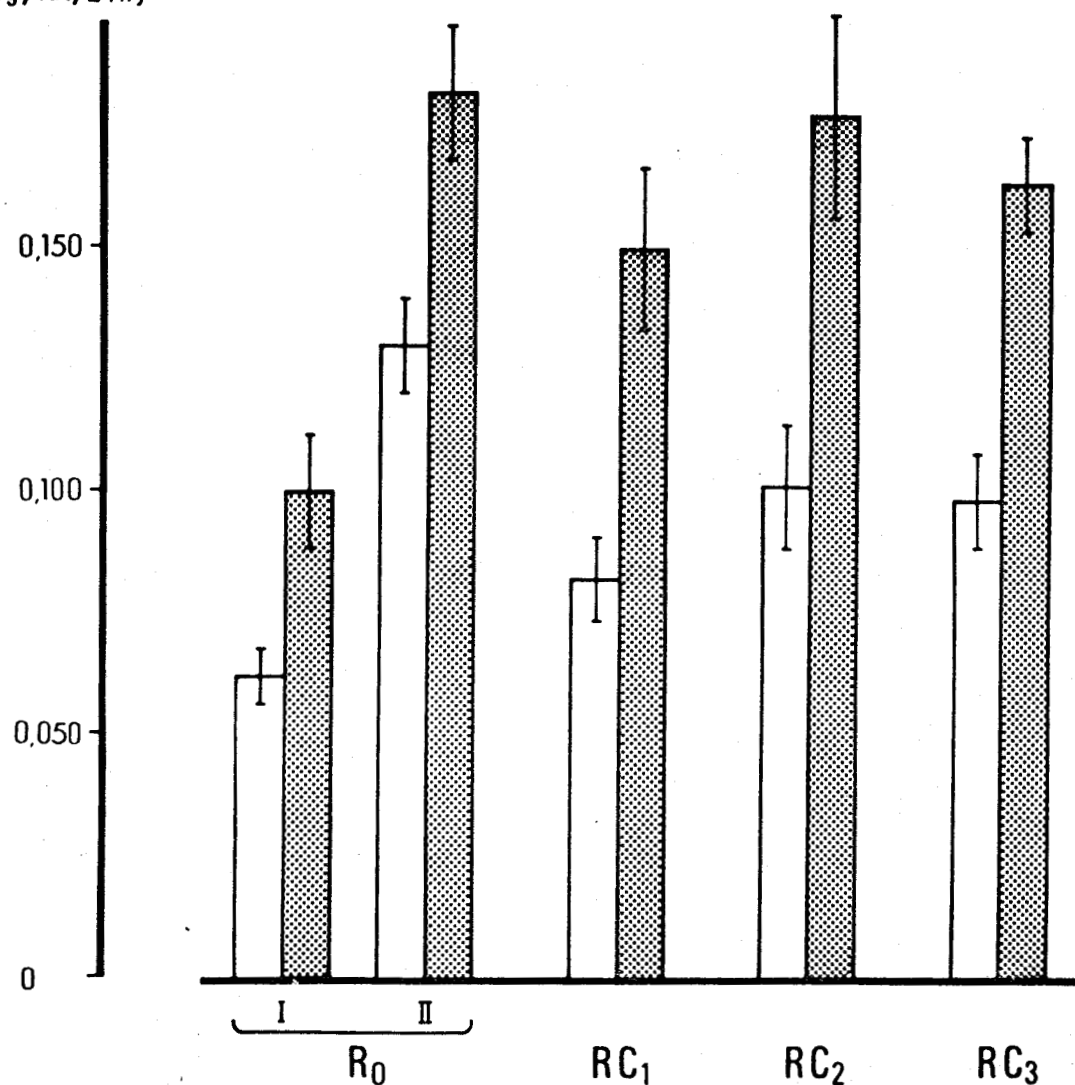


Figure 12 : Valeurs moyennes d'excrétion urinaire d'adrénaline chez les rats e + (en blanc) et e - (hachuré).

Chaque valeur est encadrée par $\pm$ l'écart-type de la moyenne.

- Excrétion de noradrénaline :

La première étude comparative de l'excrétion urinaire de noradrénaline ne fait pas apparaître de différence significative entre les deux types d'animaux. Cette différence est apparue plus nettement ensuite (cf fig.13), puisqu'elle est significative au seuil de .01 dans la série RC₂ et seulement au seuil de .05 dans la série RC₃.

La moyenne générale des différentes valeurs d'excrétion urinaire de noradrénaline est de 0,366 µg/rat/24 h (s = 0,129) pour les rats (e +) et de 0,479 µg/rat/24 h (s = 0,149) pour les rats (e -). La différence est significative au seuil de .01 (t = 3,28). Cette signification est donc moins grande que dans le cas de l'excrétion d'adrénaline. On peut se demander si le résultat est dû à l'existence de variations intra-individuelles plus importantes de l'excrétion de noradrénaline. En fait, il n'en est rien puisque le coefficient de variation est de 35 p.100 pour les rats (e +) et 31 p.100 pour les autres rats, c'est-à-dire un peu inférieur à celui qui a été calculé pour l'adrénaline.

Il faut noter, par ailleurs, que le niveau d'excrétion urinaire de noradrénaline est toujours supérieur à celui d'adrénaline. L'étude du rapport des excrétions noradrénaline/adrénaline peut renseigner sur la prédominance plus ou moins grande d'une amine sur l'autre. Les moyennes des rapports et leur comparaison ne font pas apparaître de différences significatives entre les deux groupes d'animaux. En effet, les valeurs de ces moyennes sont de 5,54 pour les rats (e +) et 4,66 pour les rats (e -) (t = 0,89).

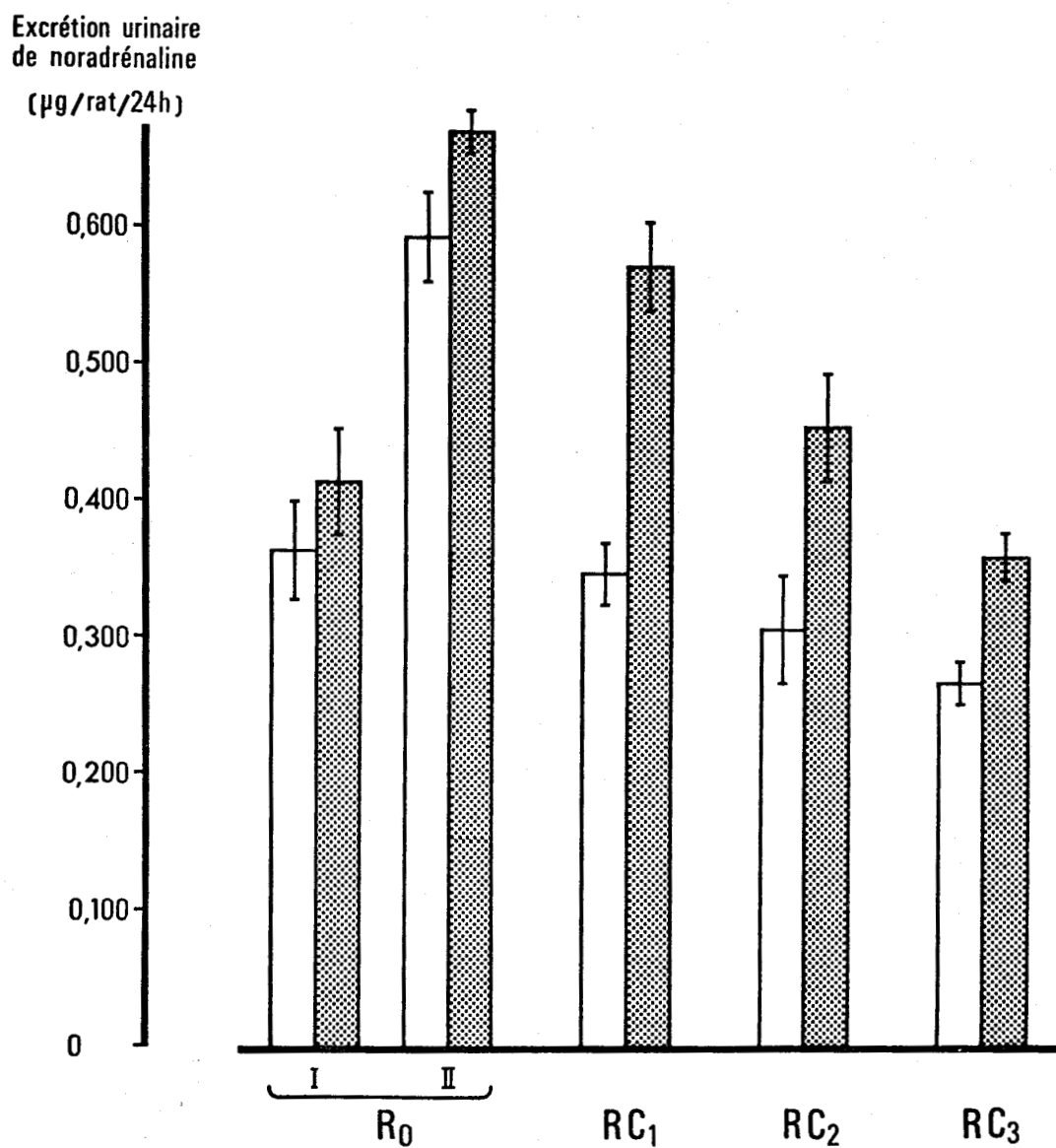


Figure 13 : Valeurs moyennes d'excrétion urinaire de noradrénaline chez les rats e + (blanc) et e - (hachuré).

Chaque valeur est encadrée par $\pm$ l'écart-type de la moyenne.

BUS
LILLE

- Influence du poids :

Les lots d'animaux utilisés ne présentent pas le même poids lors des différentes séries expérimentales. LEDUC (1961) a pu montrer qu'il y avait une corrélation entre l'excrétion urinaire des catécholamines et le poids des rats. Nous avons recherché une telle corrélation en utilisant les valeurs moyennes d'excrétion correspondant à quatre poids moyens différents d'animaux pour chaque souche (cf Tableau VIII). Le calcul du r de BRAVAIS-PERSON nous montre qu'il existe une corrélation significative entre l'excrétion urinaire d'adrénaline et le poids des animaux, $r = .99$ pour les rats (e -) et $r = .94$ pour les rats (e +), $P < .01$.

Par contre, la corrélation n'est significative qu'au seuil de .05 quand on compare le poids de ces mêmes animaux avec l'excrétion de noradrénaline $r = .75$ pour les deux souches de rats. Sur les figures 14 et 15 on a représenté les droites de régression pour lesquelles x représente le poids du rat et y l'excrétion urinaire de la catécholamine considérée. On constate que les coefficients de régression pour une amine donnée sont pratiquement les mêmes pour les deux souches, et sont comparables aux valeurs obtenues par LEDUC (1961). Pour les droites $A = aP + b^*$, a est égal à 0,00039 pour les rats (e -) 0,00034 pour les rats (e +) et 0,00047 d'après LEDUC. Quant aux droites $Na = aP + b^*$, a égale 0,0015 pour les rats (e -) 0,0016 pour les rats (e +) et 0,0018 selon LEDUC.

Les variations annuelles des catécholamines mises en évidence par MONTAGU (1959) dans les organes, LEDUC (1961) dans l'urine, FUGAZZA (1963) dans le cerveau, ont pu interférer avec les variations pondérales. Ces variations apparaissent surtout pour l'excrétion de noradrénaline et permettraient d'expliquer le

* A ou NA = excrétion urinaire d'adrénaline ou de noradrénaline exprimée en $\mu\text{g}/\text{rat}/24\text{h}$

P = poids moyen d'un animal en g.

	Souche	Poids				Equations des droites de régression	r de BRAVAIS- PERSON	Seuil de probabilité
		300	350	400	450			
A	e +	0.080 ± 0.011	0.083 ± 0.009	0.101 ± 0.013	0.130 ± 0.010	A = 0.00034 P - 0.0275 P = 2656.546 A + 113.33	.94	.01
	e -	0.131 ± 0.017	0.150 ± 0.017	0.177 ± 0.021	0.187 ± 0.014	A = 0.00039 P + 0.015 P = 2496.48 A + 27.56	.99	.01
NA	e +	0.315 ± 0.032	0.346 ± 0.023	0.305 ± 0.040	0.594 ± 0.033	NA = 0.0016 P - 0.207 P = 352.829 NA + 237.4	.75	.05
	e -	0.385 ± 0.029	0.572 ± 0.032	0.454 ± 0.039	0.670 ± 0.017	NA = 0.0015 P - 0.0325 P = 385.583 NA + 174.40	.75	.05

Tableau 8 : Valeurs moyennes d'excrétion ($\pm$ l'écart-type de la moyenne)
d'adrénaline (A) et de Noradrénaline (NA) urinaires pour des
animaux de poids différents.

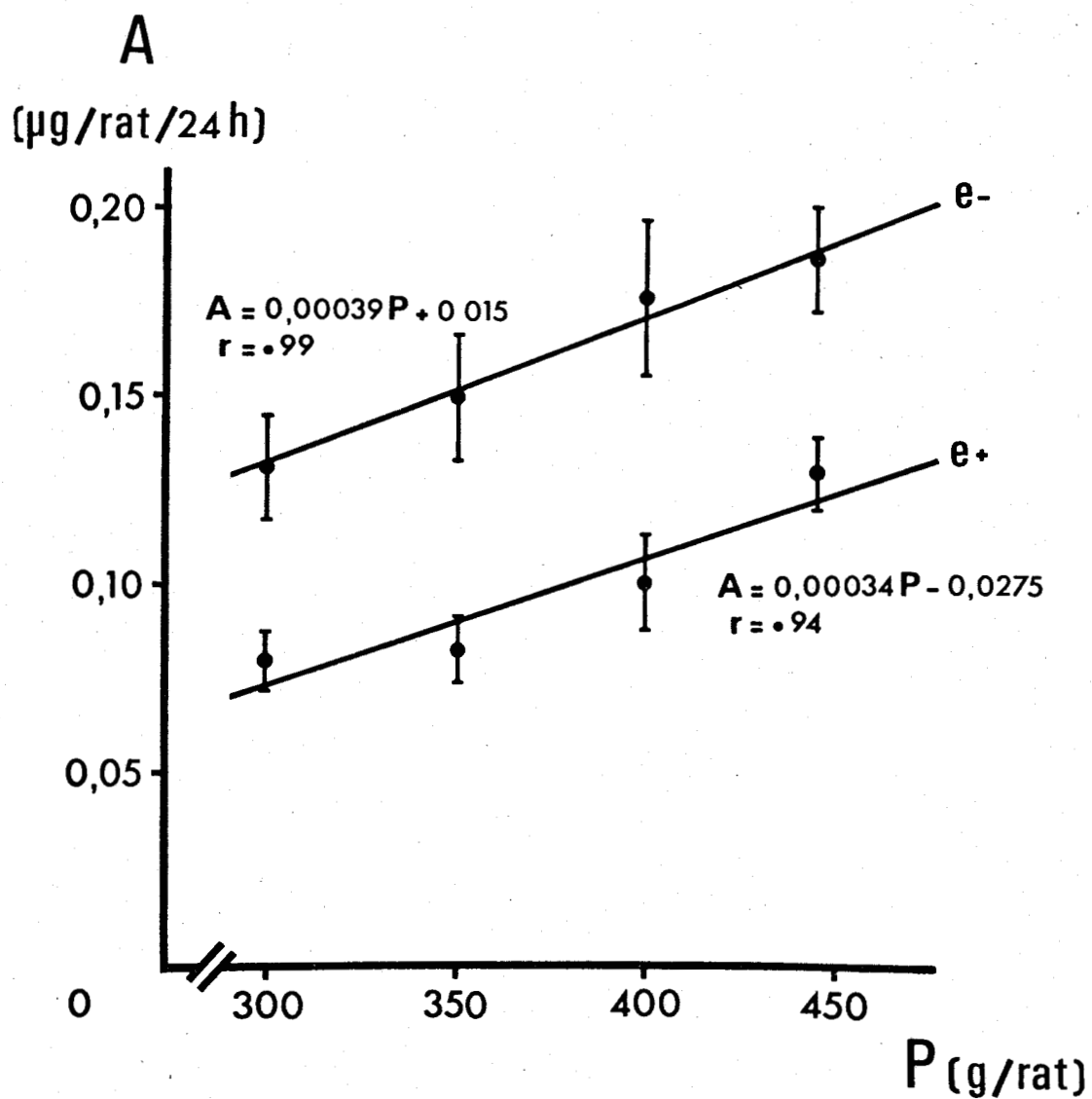


Figure 14 : Excrétion urinaire d'adrénaline (A) chez les rats e + et e - en fonction du poids (P) des animaux.

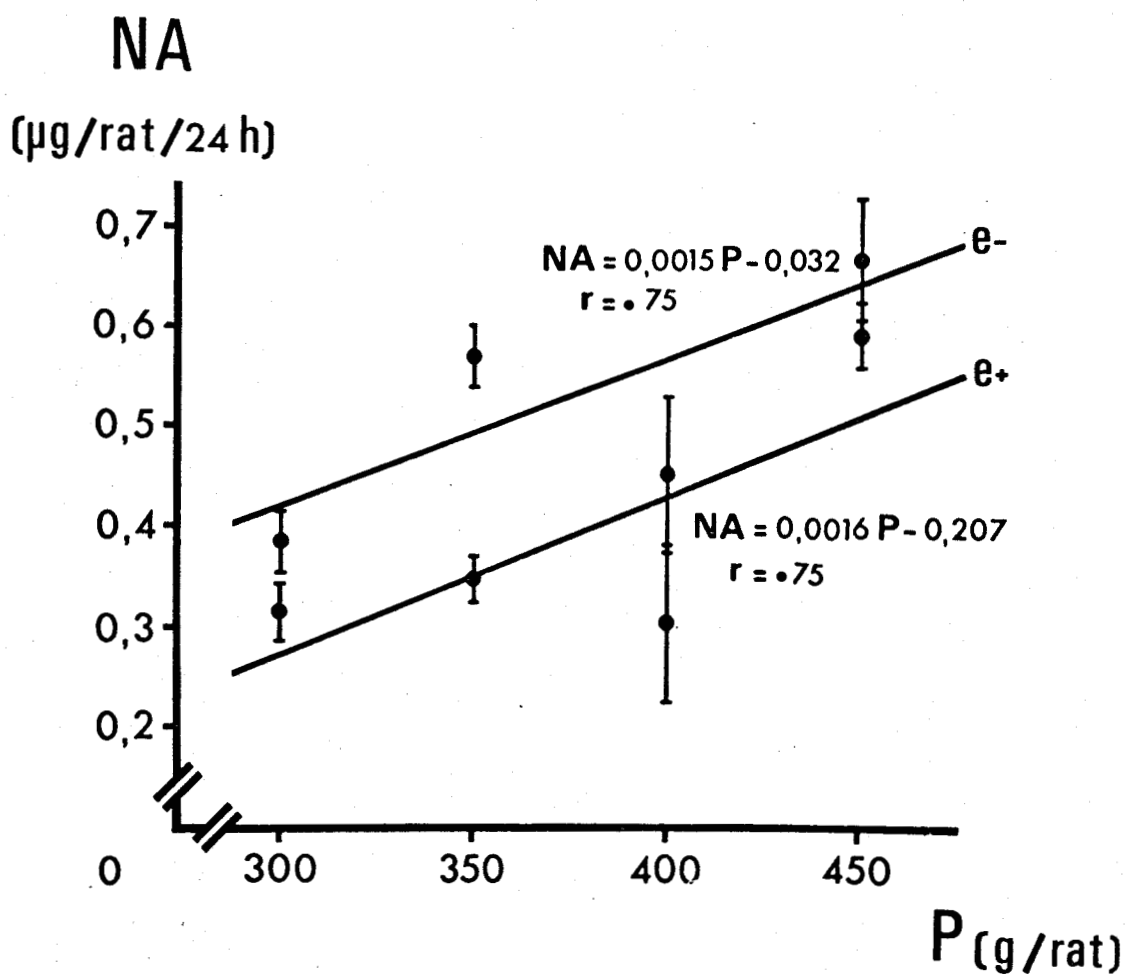


Figure 15 : Excrétion urinaire de Noradrénaline (NA) chez les rats e + et e - en fonction du poids (P) des animaux.

manque de corrélation entre le poids du sujet et son excrétion urinaire de noradrénaline. Elles se font dans le même sens pour les deux souches. LEDUC avait déjà montré l'importance de ces fluctuations annuelles pour l'excrétion de la noradrénaline et FUGAZZA (1963) a mis l'accent sur la difficulté de superposer de telles variations au cycle des saisons.

- Influence de la diurèse :

Lors de la première expérimentation, le volume urinaire moyen des rats (e -) était plus grand que celui des rats (e +). Ce résultat semblait en accord avec celui de FEUER et BROADHURST (1962) qui ont signalé que les rats déféquant beaucoup se caractérisent par une absorption et une émission d'eau plus faibles. L'expérimentation suivante contredit cette hypothèse puisque la différence de diurèse s'inverse. Finalement, quand on prend l'ensemble des résultats on constate que les deux souches de rats présentent la même diurèse : 10,12 ml/24 h/rat pour les rats (e -) et 9,82 ml/24 h/rat pour les rats (e +).

Enfin, on a recherché l'existence d'une éventuelle relation entre la diurèse et l'élimination urinaire des catécholamines.

Nos résultats variant avec les séries expérimentales sont difficilement interprétables. Alors qu'on trouve pour la première série expérimentale une corrélation positive significative au seuil de .01 ($r = .65$) entre l'excrétion d'adrénaline et le volume urinaire, la deuxième série expérimentale fait apparaître une corrélation négative entre la diurèse et l'élimination des catécholamines, significative pour la noradrénaline seulement ($r = -.79$; $P < .01$). Les résultats globaux ne permettent de conclure qu'à une faible corrélation entre l'excrétion d'adrénaline et l'élimination urinaire et seulement pour les rats (e -) ($r = .39$; $P < .05$).

En conclusion, l'étude de l'activité sympathico-surrénalienne chez deux souches de rats albinos présentant des émotivités différentes nous amène à conclure que les rats les plus émotifs éliminent moins de catécholamines urinaires.

Il nous paraissait difficile d'expliquer ces résultats sans expérimentations complémentaires. En effet, l'émotivité des animaux est évaluée dans une situation stressante pour eux alors que l'excrétion des catécholamines considérée jusqu'à présent correspond à des périodes de repos. C'est pourquoi, on a entrepris d'étudier l'influence d'une agression sur l'activité du système sympathique et de la médullosurrénale chez les deux souches de rats.

2 - Influence de la contention

a) Etude de l'ensemble des résultats

Les résultats des trois séries expérimentales sont reportés sur le tableau 9.

Les données de la première série font apparaître que l'excrétion des catécholamines urinaires a augmenté significativement uniquement pour les rats du lot (e +). D'autre part, chez ces mêmes animaux, le pourcentage d'augmentation du taux de noradrénaline urinaire est un peu plus élevé que celui d'adrénaline.

Ces résultats n'apparaissent plus aussi nettement dans les deux séries expérimentales suivantes.

En résumé, chez les rats (e -) l'excrétion d'adrénaline varie de 4 à 38 p.100 et celle de noradrénaline de - 13 à + 23 p.100. Chez les rats (e +) l'excrétion d'adrénaline augmente entre 22 et 50 p.100 et celle de noradrénaline entre 1 et 64 p.100.

		e +		e -	
		A	NA	A	NA
Série RC ₁	repos	0,083	0,346	0,150	0,572
	contention	0,124 [*]	0,568 ^{**}	0,158	0,611
	augmentation en p.100	50	64	4	7
Série RC ₂	repos	0,100	0,305	0,177	0,454
	contention	0,122	0,338	0,244	0,393
	augmentation en p.100	22	11	38	- 13
Série RC ₃	repos	0,099	0,266	0,163	0,358
	contention	0,124	0,269	0,219	0,440
	augmentation en p.100	24	1	34	23
Moyennes générales	repos	0,094	0,306	0,163	0,461
	contention	0,123 ^{**}	0,391	0,207 [*]	0,481
	augmentation en p.100	30	27	27	4

* P < .05

** P < .01

Tableau 9 : Influence de la contention au cours de trois séries expérimentales sur l'excrétion urinaire de l'adrénaline (A) et de la noradrénaline (NA), exprimée en µg/rat/24 h, chez deux souches de rats albinos (e +) et (e -).

Les valeurs de repos correspondent aux moyennes de 5 à 8 mesures.



De façon générale, les deux types de rats réagissent à la contention par une élimination d'adrénaline urinaire plus élevée, l'élévation la plus constante et la plus significative étant présentée par les rats (e +). Quant à la noradrénaline, le pourcentage d'augmentation le plus élevé apparaît également chez les rats émotifs, mais les résultats sont dispersés et plus difficilement interprétables.

Mais si l'on étudie la période de contention en considérant chaque passage séparément, les modifications d'excrétion apparaissent mieux.

b) Etude des contentions successives

Ces résultats sont reportés dans le tableau X et la figure 16. Ils correspondent aux moyennes effectuées à partir de trois lots de rats d'émotivité différente. Avant d'examiner ces résultats, il faut noter que l'excrétion d'adrénaline des lots e - correspondant au 2e jour de contention présente deux valeurs. Le nombre supérieur correspond à la moyenne de 2 lots et le nombre inférieur, entre parenthèses, correspond à la moyenne de 3 lots. Un lot présentant une excrétion beaucoup plus élevée pour ce passage tend à modifier la signification de la moyenne générale. Ce tableau fait apparaître les points suivants :

1 - Les deux groupes d'animaux répondent à cette situation de stress par augmentation d'excrétion des catécholamines urinaires, à la fois adrénaline et noradrénaline ;

2 - Les rats d'émotivité différente présentent une habitude rapide et identique : à la troisième contention, l'excrétion des deux amines est pratiquement revenue à sa valeur de base ;

	e + 3 x 5 rats				e - 3 x 5 rats			
	A		NA		A		NA	
	M	p.100	M	p.100	M	p.100	M	p.100
Repos	0,094		0,306		0,163		0,461	
1e contention	0,167*	78	0,459	50	0,226	39	0,633	37
2e contention	0,140	49	0,450	44	0,210 (0,268)	25 (64)	0,581	26
3e contention	0,085	- 11	0,386	26	0,149	- 8	0,449	- 2,5
4e contention	0,093	- 1	0,254	- 19	0,221	38	0,450	- 2
5e contention	0,111	18	0,348	10	0,190	16	0,520	13
6e contention	0,111	18	0,336	7	0,170	4	0,446	3

* = < .05

Tableau 10 : Influence de six contentions successives sur l'excrétion urinaire de l'adrénaline (A) et de la noradrénaline (NA), exprimée en $\mu\text{g}/\text{rat}/24 \text{ h}$, chez deux souches de rats albinos (e +) et (e -).

Les valeurs de contentions correspondent aux moyennes de trois séries expérimentales.



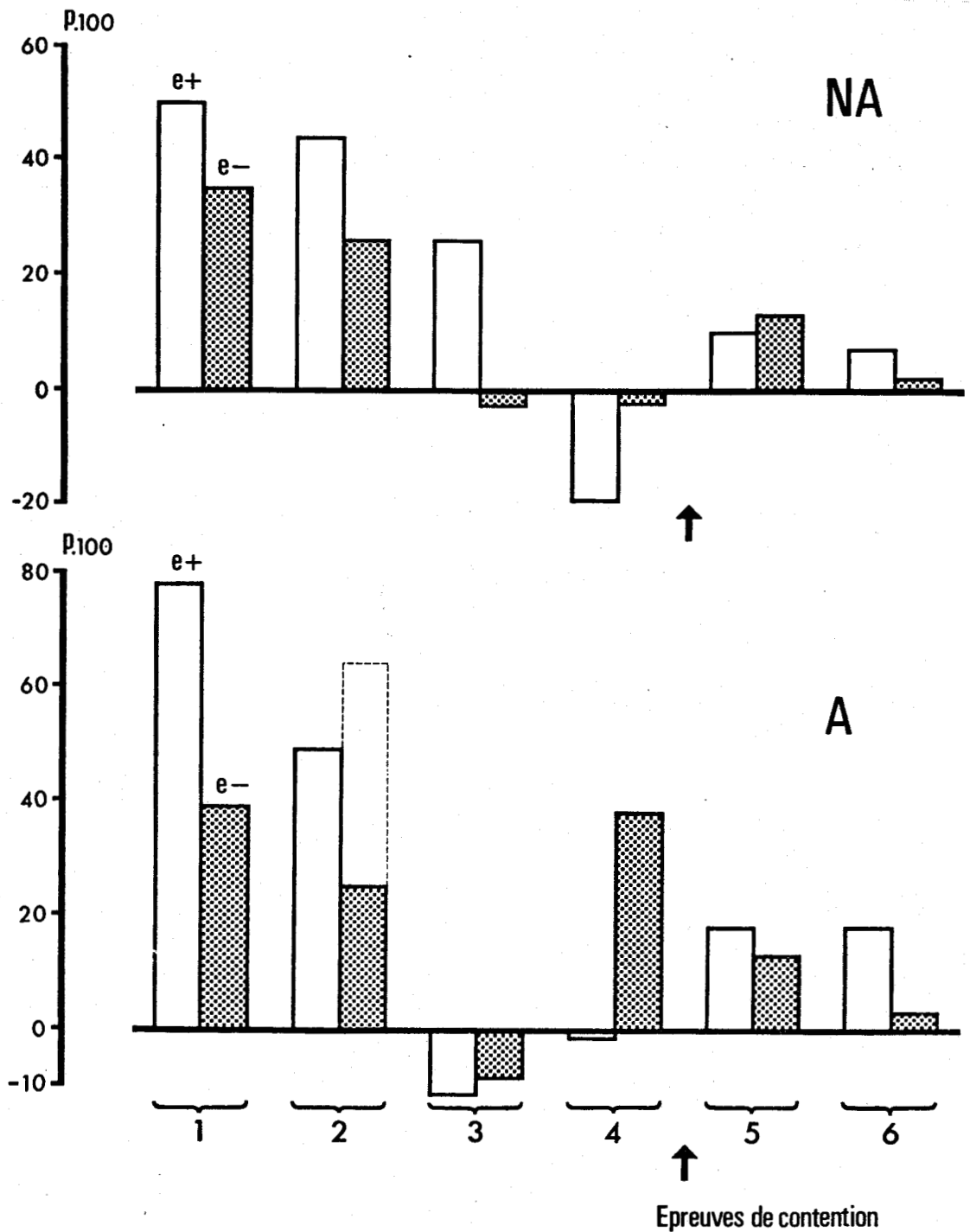


Figure 16 : Valeurs moyennes de l'augmentation d'excrétion d'adrénaline urinaire (A) et de noradrénaline urinaire (NA) lors de six épreuves de contention pour trois groupes de rats e + et e -. L'augmentation est exprimée en p.100 de la valeur de repos.

La flèche indique l'abaissement d'un cran du plafond de la cage à contention.

L'augmentation d'adrénaline du lot (e -) à la deuxième contention présente deux valeurs : en hachuré la moyenne de 2 lots, en pointillé la moyenne des 3 lots.

Une excrétion beaucoup plus élevée pour ce passage, apparue pour le 3e lot, tend à modifier la signification de la moyenne générale.

3 - Au premier passage dans les cages à contention, le pourcentage d'augmentation des catécholamines urinaires est plus élevé pour les rats (e +). D'autre part, alors que les rats (e -) présentent des pourcentages d'augmentation pratiquement identiques pour l'adrénaline et la noradrénaline, ceux des rats (e +) sont différents, celui de l'adrénaline étant plus élevé.

4 - Les cinquième et sixième passages qui correspondent à une contention un peu plus sévère font apparaître dans la plupart des cas une légère augmentation de l'excrétion des catécholamines urinaires qui n'est pas significative.

Pour conclure ce chapitre, on constate que les rats émotifs, selon le critère de HALL, présentent une élimination plus faible des catécholamines urinaires. Mais ces animaux réagissent à une agression par une augmentation significative de l'excrétion urinaire d'adrénaline. Au contraire, les rats moins émotifs éliminent davantage de catécholamines dans les urines mais les variations d'excrétion, lors de la contention, n'apparaissent plus significatives.

Ces résultats seront discutés dans le prochain chapitre en les comparant à des mesures de fréquence cardiaque effectuées chez ces mêmes animaux.

Chapitre III - DISCUSSION GENERALE

On abordera cette discussion en deux parties : tout d'abord, on effectuera un examen critique des différents résultats acquis, puis on tentera d'en apporter une interprétation physiologique cohérente.

I - EXAMEN DES RESULTATS

1 - Différences de comportement dans l'open-field

a) Différences d'émotivité

Le premier point acquis est la différence de réaction des deux souches de rats dans l'open-field. Les rats Wistar déféquant quatre fois plus et présentant davantage d'activité substitutive, en particulier des mouvements de toilette, on considère ces animaux comme plus émotifs (e +). Il ne semble pas que cette hypothèse puisse être contestée si l'on se réfère à la littérature sur ce sujet.

En effet, depuis STONE (1932), YOSHIOKA (1932) et surtout HALL (1934), la majorité des auteurs abordant l'étude du comportement émotionnel du rat a utilisé la défécation provoquée par un environnement nouveau, comme critère d'émotivité, la validité de ce critère ayant été prouvée par ANDERSON (1938), BROADHURST (1957), PARE (1964), IVINSKIS (1970). Ajoutons cependant que les travaux effectués sur la souris apportent une certaine contradiction. En effet, BRAIN et NOWELL (1969) montrent que la défécation dans l'open-field est davantage en relation avec le marquage du territoire et citent BRUELL (1963) et COLLINS (1966) pour appuyer leur argumentation. Il faut préciser que BRAIN et NOWELL étudient

parallèlement l'agressivité et le comportement dans l'open-field : les souris mâles adultes agressives présentent à la fois une grande activité ambulatoire et une défécation élevée.

Leur raisonnement est basé sur l'hypothèse de BROADHURST (1958) selon laquelle l'activité serait inversement liée à l'émotivité et deviendrait un indice secondaire de l'émotivité. D'où il résulte que les souris agressives plus actives devraient être les moins émotives et donc déféquer le moins. Mais comme elles défèquent davantage, la défécation doit être attribuée à une autre cause, et, avant tout, au marquage du territoire. Ce raisonnement ne paraît pas totalement convaincant car l'hypothèse initiale de BROADHURST ne se vérifie pas toujours chez le rat. Ce point sera abordé dans la suite de la discussion. D'autre part, BRAIN et NOWELL utilisent l'activité, considérée comme un indice secondaire de l'émotivité, par BROADHURST, pour infirmer la validité de la défécation considérée comme critère principal d'émotivité. Il nous semble beaucoup plus conforme aux données de BROADHURST de considérer les souris agressives comme les plus émotives parce que déféquant le plus. C'est alors la mesure de l'activité qui devient un mauvais test d'évaluation de l'émotivité.

Néanmoins, on ne peut s'empêcher de supposer que la défécation ne possède peut être pas toujours la même composante émotionnelle selon les souches. En effet, il semble possible que chez des rats de souche à dominante émotive, la défécation dans l'open-field soit systématiquement liée à l'émotivité alors que chez des rats d'une souche moins émotive la défécation soit plus difficilement interprétable. La corrélation entre le temps passé en mouvements de toilette et le nombre de fèces déposées dans l'open-field ne se vérifiant que pour la souche de rats émotifs pourrait apporter un argument en faveur de cette hypothèse.

b) Relation émotivité-activité

Le deuxième point qui fait l'objet de nombreuses controverses dans la littérature concerne la relation émotivité-activité. L'activité des animaux dans l'open-field est appréciée par le nombre de dressements et les déplacements horizontaux. En effet, ces deux paramètres présentent une corrélation significative dans les deux lignées de rats et semblent donc être le reflet de l'activité exploratrice. Selon LAT (1969), l'activité exploratrice est liée au niveau d'excitabilité innée non spécifique du système nerveux central. LAT a montré également qu'il n'existait pas de corrélation entre ce niveau d'excitabilité et l'émotivité. Cette absence de corrélation émotivité-activité se retrouve dans la souche de rats moins émotifs et confirme les conclusions, non seulement de LAT mais aussi de PARE (1964), WHIMBEY et DENENBERG (1967), HOLLAND et GUPTA (1967).

Cependant ROSECRANS (1970) indique que les rats défécant beaucoup sont moins actifs mais les résultats ne sont pas significatifs. Par contre, dès 1936, HALL note que les différences individuelles d'émotivité présentent une corrélation inverse avec les différences individuelles d'activité ambulatoire. BIEL et O'KELLEY (1940), GEIER, LEVIN et TOLMAN (1941) et plus tard BROADHURST (1958), DENENBERG et MORTON (1962), HENDERSON (1966), MANOSEVITZ (1970) enfin, aboutissent aux mêmes conclusions. De même les rats Wistar (e +) considérés dans la présente recherche montrent une corrélation inverse significative aussi bien entre défécation et activité horizontale qu'entre mouvements de toilette et activité horizontale.

Nos résultats soulignent la difficulté de tirer une conclusion générale sur ce point. Une hypothèse plausible serait que seuls les rats émotifs présentent une telle corrélation parce que la peur plus ou moins grande dans l'open-field inhibe proportionnellement leur activité. Les autres rats beaucoup moins émotifs (présentant une défécation plus faible) seraient insuffisamment perturbés par la situation expérimentale pour que cette perturbation puisse se répercuter sur les autres comportements.

2 - Activités orthosympathique et médullo-surrénalienne

a) Comparaison avec les données bibliographiques

Une comparaison préalable de nos résultats avec les données bibliographiques nous assure de leur validité. En effet, ceux-ci concordent avec l'ensemble des valeurs de base d'excrétion d'adrénaline et de noradrénaline urinaires obtenues par différents auteurs (Tableau 11). On a cité uniquement les valeurs obtenues par dosage fluorimétrique après transformation des amines en dérivés trihydroxyindoliques, avec ou sans hydrolyse préalable des conjugués urinaires. Notons que LEDUC (1961) et MOTELICA (1969) trouvent des valeurs sensiblement plus élevées pour l'excrétion de la noradrénaline.

Nos valeurs d'excrétion ont été obtenues sans hydrolyse préalable. Or, on sait qu'une partie des amines urinaires existe sous forme conjuguée. CLARK et DRELL (1954) ont isolé de l'urine humaine un monoglycuronide de l'adrénaline, mais pas de sulfoconjugués et HERMANN et coll. (1961) rapportent que l'adrénaline conjuguée peut être libérée de sa conjugaison par une glycuronidase, alors que l'essai est négatif avec la sulfatase. La quantité d'amines

Auteurs	Caractéristiques des animaux	A ($\mu\text{g}/24 \text{ h}/\text{rat}$)	NA ($\mu\text{g}/24 \text{ h}/\text{rat}$)	NA/A
BEAUVALLET et coll. (1966) *	Wistar ♂, 200 g	0,135 0,038/16 h	0,465 0,500/16 h	3,44 13,15
BERNET	Wistar ♂, 350g Sprague-Dawley, ♂, 350 g	0,086 0,148	0,338 0,450	3,9 3
GAIRARD et MARNAY- GULAT (1971)	Rat	0,117	0,385	3,29
GODEFROY (1964) *	Wistar, ♂, 200 g	0,037	0,447	12
LEDUC (1961)	Sprague-Dawley, 300 g	0,150	0,807	5,3
LEGRAND (1969) *	Wistar ♂, 200 g	0,112	0,506	4,5
MOTELICA (1969)	Sprague-Dawley, ♂, 300 g	0,130	0,700	5,3
PERMAN (1961)	Sprague-Dawley, ♂, 300 g	0,122	0,367	3

Tableau 11 : Valeurs d'excrétion des catécholamines urinaires
mesurée par méthode fluorimétrique, d'après
divers auteurs.

* après hydrolyse



conjuguées par rapport aux amines libres est variable d'un auteur à l'autre et pour un même auteur d'un sujet à l'autre. DREVON (1957) après comparaison des résultats avant et après hydrolyse constate que 50 % environ de l'adrénaline et de la noradrénaline urinaires sont conjuguées. FRUEHAN et LEE (1966) évaluent à plus de 60 % le taux de noradrénaline conjuguée et à 50 % celui de l'adrénaline. KAHANE et coll. (1967) estiment qu'il y a plus d'adrénaline et de noradrénaline excrétées sous forme de conjugués. Ils ont dosé 80 % d'adrénaline conjuguée et 74 % de noradrénaline. Plus récemment, HOELDTKE et SLOAN (1970) ont retrouvé 70 % de noradrénaline conjuguée mais seulement 57 % d'adrénaline conjuguée. Tous ces travaux ont été faits chez l'homme.

On a calculé sur le rat le pourcentage de chaque amine libérée par le méthode d'hydrolyse acide. On dose en moyenne 35 % d'adrénaline en plus et 37 % de noradrénaline. Pour comparer nos valeurs d'excrétion, mesurées sans hydrolyse préalable, à celles de la littérature obtenues après hydrolyse, il faut donc multiplier les nôtres par 1,35 pour l'adrénaline et 1,37 pour la noradrénaline.

b) Influence de la diurèse

Ce sujet a fait l'objet de plusieurs études. Chez l'animal et plus particulièrement chez le rat, PITKANEN (1956) rapporte que l'excrétion urinaire d'adrénaline est en grande partie indépendante de la diurèse induite par hydratation. PERMAN (1961) au contraire montre que l'excrétion de noradrénaline augmente avec une élévation de la diurèse tandis que l'excrétion d'adrénaline n'est accrue que pour des niveaux modérés d'hydratation. Chez l'homme, il faut distinguer les sujets sains et pathologiques. Selon EULER et coll. (1955) les quantités de catécholamines excrétées par unité de temps

semblent être complètement indépendantes du volume urinaire. Sur 85 sujets sains âgés de 17 à 29 ans, KARKI (1956) ne trouve aucune relation entre le volume urinaire et la quantité de noradrénaline excrétée dans l'urine. En 1967, VALORI et coll. ne trouvent aucune corrélation chez 12 sujets sains, alors que HATHAWAY et coll. (1969) affirment l'existence d'une telle corrélation chez 34 collégiens en bonne santé. La même année BAEKELAND et coll. distinguent l'état de veille et le sommeil. En état de veille l'excrétion urinaire d'adrénaline et de noradrénaline est liée directement à la quantité d'urine émise alors que pendant la période correspondant au sommeil, la corrélation s'inverse surtout pour l'adrénaline. Citons enfin HOELDTKE et MARTIN (1970) qui ne trouvent aucune corrélation entre le volume urinaire de 24 heures et son contenu en catécholamines.

DE SCHAEPPDRYVER et LEROY (1961) au contraire, chez 807 malades hypertendus, montrent un parallélisme significatif entre le volume des urines et leur teneur en adrénaline et noradrénaline. DAWSON et BONE (1963) ont également mis en évidence une corrélation directe entre l'excrétion urinaire de noradrénaline et la diurèse alors que la corrélation n'apparaît plus pour l'adrénaline que chez quelques malades mentaux. GASTALDI et MOLINARI (1968) concluent que la diurèse de 24 h et l'excrétion urinaire des catécholamines manifestent chez les sujets normaux une corrélation évidente qui disparaît dans les états pathologiques.

Nos résultats très variables ne font qu'augmenter la confusion qui ressort des études bibliographiques. Il n'apparaît pas possible de conclure à l'influence de la diurèse sur l'excrétion des catécholamines. Seuls les rats SPRAGUE-DAWLEY (e -) présentent une faible corrélation entre l'excrétion d'adrénaline et le volume urinaire ($r = .39$; $P < .05$).

c) Niveaux de repos

On sait depuis les travaux de EULER (1964) que l'excrétion urinaire des catécholamines reflète de façon assez fidèle l'activité sympathico-médullo-surrénalienne de l'organisme. On est donc en mesure de conclure que les rats émotifs présentent au repos un niveau d'activité adrénosympathique plus bas que celui des rats moins émotifs.

On peut comparer ces résultats avec ceux de BENES et BENESOVA (1966). Ces auteurs ont montré que des rats présentant un niveau d'excitabilité du système nerveux élevé excrètent plus de catécholamines que les autres animaux. Ce niveau est mesuré selon la méthode de LAT, c'est-à-dire à partir de l'activité exploratoire de l'animal et non à partir des éliminations réactionnelles. Or, nos rats moins émotifs peuvent être considérés comme ayant un niveau d'excitabilité plus élevé, selon LAT, puisqu'ils présentent également une activité exploratoire importante, comme on l'a vu (v. p. 42). Ces mêmes auteurs ont, par la suite (1970), distingué quatre types de rats selon les critères d'exploration et de défécation. Si l'ensemble de leurs résultats nous semble malaisé à interpréter, on retiendra cependant que l'excrétion d'adrénaline urinaire au repos est plus élevée pour les rats qui explorent et défèquent davantage, alors que les animaux qui explorent et défèquent peu ont une excrétion de repos d'adrénaline et de noradrénaline très faible. Les deux groupes intermédiaires comprenant des animaux explorant beaucoup et déféquant peu d'une part, explorant peu et déféquant beaucoup d'autre part, sont davantage comparables à nos sujets expérimentaux. Les auteurs n'ont pu établir de différences d'excrétion entre ces deux groupes.

Chez l'homme, LEVI (1961) a d'abord établi un parallélisme entre les différences physiologiques et psychologiques dans la tolérance aux agressions. Les sujets supportant mieux l'agression présentaient une excrétion d'adrénaline significativement plus faible que les autres. Mais il a par la suite catégoriquement infirmé cette hypothèse et il écrit en 1967 que " les individus très émotifs n'excrètent pas plus de catécholamines que ne le font les individus normaux, ni pendant les conditions de contrôle, ni pendant le stress. Cette excrétion est très variable d'un sujet à l'autre mais pour un même sujet elle est très sensiblement parallèle à l'importance de l'émotion ressentie ". Par conséquent, d'après cet auteur, l'excrétion de base est indépendante de l'émotivité du sujet.

FRANKENHAEUSER et coll. (1968) au contraire, ont insisté sur l'importance des niveaux de repos d'excrétion des catécholamines. Ils ont écrit que " les sujets qui différaient par leur excrétion hormonale de repos, tendaient à être également différents dans leurs réactions psychologiques pendant le stress, et que en fait, les différences dans les réactions psychologiques étaient, dans l'ensemble plus prononcées entre les groupes constitués à partir des niveaux de repos d'excrétion hormonale " et ils ajoutent que leurs résultats suggèrent l'intéressante possibilité de prévoir les réactions aux agressions à partir de ces niveaux de repos ". En effet, ces résultats tendent à montrer que les sujets qui excrètent plus d'adrénaline et de noradrénaline sont relativement moins inquiets. D'autre part, ces mêmes sujets présentent une meilleure performance. Lors de tests nécessitant une grande attention sélective, ils sont moins irrités, moins stressés par les différentes épreuves et sont plus optimistes quant à l'évaluation de leur performance et de leurs possibilités. Avec beaucoup de prudence, il semble possible d'établir

un rapprochement entre ces sujets humains qui excrètent davantage de catécholamines et les rats moins émotifs. En effet, ces animaux excrètent aussi plus de catécholamines. D'autre part, ils sont moins perturbés par la situation d'open-field et supportent mieux les agressions.

Ce dernier point nous amène à examiner plus en détail les réactions des deux souches d'animaux à l'agression consécutive à la contention.

d) Réaction à la contention

L'examen des résultats fait d'abord apparaître l'habituation des animaux à cette situation de stress. Cette habituation se manifeste par une baisse progressive et rapide de l'excrétion des catécholamines au cours des contentions successives. Elle s'observe pour les animaux des deux souches et avec un certain parallélisme pour les deux amines.

Ce phénomène se retrouve chez d'autres animaux, en particulier chez le singe étudié par MASON (1968). Ce dernier a soumis des singes à des sessions mensuelles de 72 heures d'évitement. L'habituation se manifeste par une diminution de l'excrétion urinaire d'adrénaline d'une session à l'autre, mais aussi d'une journée à l'autre au cours d'une même session.

FRANKENHAEUSER et coll. (1967) ont montré également cette habituation chez 15 sujets humains. Elle se manifeste par une baisse progressive d'indices physiologiques tels que l'excrétion urinaire d'adrénaline, la conductance cutanée au cours de cinq sessions expérimentales successives. Ces sessions comportent des tests psychologiques mettant les sujets dans une situation de stress.

Ces données nous permettent de supposer que la première contention correspond au stress le plus important et nous en examinerons les résultats plus attentivement.

- Tous les rats répondent par une activation à la fois sympathique et médullo-surrénalienne ;

- Cette activation est proportionnellement plus élevée pour les rats émotifs. En effet, au premier jour de contention ces animaux présentent 78 p.100 d'augmentation d'excrétion d'adrénaline urinaire contre 39 p.100, c'est-à-dire la moitié, pour les rats non émotifs ; et 50 p.100 d'augmentation d'excrétion de noradrénaline urinaire contre 37 p.100 pour les non émotifs ;

- Chez les rats plus émotifs, la réponse médullo-surrénalienne mesurée par l'excrétion d'adrénaline est prépondérante au début alors que les autres rats montrent un pourcentage d'augmentation d'activité du système noradrénergique voisin de celui de la médullo-surrénale.

Le fait que les rats albinos plus émotifs réagissent relativement plus à une agression est en accord avec les schémas des réponses psychoendocriniennes proposées par tous les auteurs depuis CANNON (1929). Ce résultat constitue également un argument en faveur de la validité du test de l'open-field. De plus, ces différences quantitatives de pourcentage d'augmentation s'accompagnent de différences qualitatives, puisque les rats plus émotifs ont une augmentation plus marquée de leur excrétion d'adrénaline par rapport à celle de noradrénaline alors que les animaux moins émotifs présentent des augmentations identiques de leur excrétion d'adrénaline et de noradrénaline. Dans cette situation de contention, les

différences d'excrétion ne peuvent être imputées à une activité physique accrue ; elles doivent l'être plutôt à une réaction de peur ou d'agressivité. Or, on constate que les animaux plus émotifs qui réagissent à une situation d'open-field par des réactions viscérales caractéristiques de la peur et une inhibition des réactions motrices répondent à la contention par une plus grande élévation de l'excrétion d'adrénaline relativement à celle de noradrénaline. Par conséquent, chez ces animaux plus facilement sujets à la peur, c'est l'adrénaline qui semble être davantage excrétée. Ces résultats sont difficilement comparables à ceux de BENES et BENESOVA (1970). Ces auteurs distinguent quatre groupes de rats.

Groupe I	Défécation + Activité +
Groupe II	Défécation - Activité +
Groupe III	Défécation + Activité -
Groupe IV	Défécation - Activité -

Après une agression consistant en stimulations électriques portées sur le plancher de la cage, les rats du premier groupe ont leur excrétion d'adrénaline qui baisse à l'inverse des animaux du groupe IV. Cette baisse d'excrétion d'adrénaline observée chez les rats actifs et émotifs apparaît paradoxale et difficilement interprétable. Les animaux du groupe II sont comparables par leur comportement à nos rats moins émotifs, c'est-à-dire qu'ils présentent une défécation réduite et une activité exploratoire importante. Les stimulations électriques augmentent uniquement l'excrétion

de noradrénaline et cette augmentation s'accompagne d'une activité motrice accrue pendant le stress. On retrouve l'absence d'augmentation significative d'adrénaline observée chez nos rats moins émotifs mais l'agression est ici différente et la contention qui empêche l'activité physique a pu limiter l'augmentation d'excrétion de noradrénaline.

Par contre, on ne peut s'empêcher de rapprocher nos résultats avec les travaux effectués chez l'homme en citant de nouveau EULER (1964) : " dans les états émotionnels caractérisés par la crainte, l'inquiétude, les sentiments pénibles ou désagréables, l'excrétion d'adrénaline est augmentée ".

3 - Etude du rythme cardiaque

Il nous a semblé intéressant de rechercher si les différences d'activité adrénosympathique se répercutent sur le rythme cardiaque. A cet effet, une étude de la fréquence cardiaque a été entreprise en collaboration avec DENIMAL.

Deux séries expérimentales ont été réalisées, la première R_0 comporte les 2 x 6 rats préalablement utilisés pour les mesures d'excrétion des catécholamines. La seconde, 2 x 5 rats spécialement sélectionnés à cet effet, mais selon les mêmes critères que précédemment.

Chacun des animaux est anesthésié afin de mettre en place les électrodes de détection des potentiels cardiaques, selon la technique de DENIMAL (1968 et 1969). On attend huit jours avant toute expérimentation. Chaque rat est alors examiné deux fois pour la première série, trois fois pour la seconde à 24 heures

d'intervalle. Au début de chaque séance, l'animal est relié par l'intermédiaire d'un câble souple au cardiofréquencemètre. Puis il est laissé dans sa cage habituelle pendant un temps assez long, variant en moyenne de 30 à 60 minutes. De cette façon, on obtient son immobilité complète et un état somnolent qui se traduit par une valeur stable et relativement faible de la fréquence cardiaque. Cette valeur sera qualifiée de valeur de repos. Le rat est ensuite pris en main, puis placé dans l'open-field où il manifeste une activité plus ou moins importante.

Les résultats présentés ici concernent essentiellement la fréquence cardiaque de repos. On a reporté ensuite quelques résultats partiels concernant l'influence de la prise en main sur les variations de cette fréquence.

a) Valeurs de repos

Les valeurs moyennes de repos pour les deux lots des deux séries sont rapportées sur le tableau ci-dessous.

FREQUENCE CARDIAQUE en c/min.					
Valeurs	Wistar (e+)		Sprague-Dawley (e-)		Seuil de probabilité
	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type	
1e série 2 x 6 rats	302	22	345	23	$P < .001$
2e série 2 x 5 rats	293	16	314	22	$P < .01$

Avant de commenter ces résultats, il faut souligner l'importance de bien définir les critères d'obtention de la valeur de repos ainsi qu'on l'a fait plus haut. En effet, les données de la littérature (Tableau 12) font apparaître une grande dispersion des résultats et les auteurs mentionnent assez rarement l'état de vigilance des animaux au moment des mesures. Or, HANEN (1965) a montré que le rat éveillé présente une fréquence cardiaque plus élevée que celle du rat somnolent. D'autre part, les techniques de mesure peuvent aussi avoir une influence sur la valeur de la fréquence cardiaque. L'état de contention dans lequel certaines techniques placent l'animal, l'environnement nouveau que peut nécessiter la mesure sont autant de facteurs d'agression susceptibles de modifier le rythme cardiaque. Le fait que nos sujets restent libres de tout mouvement dans leur cage habituelle pendant l'enregistrement permet de réduire considérablement, sinon de supprimer, ces facteurs.

Les mesures effectuées dans des conditions reproductibles montrent qu'il persiste des différences entre les deux lignées de rats étudiées. Ces différences sont significatives et comme pour l'excrétion des catécholamines, les rats les plus émotifs présentent les valeurs les plus faibles. Ces résultats sont à rapprocher de ceux d'HATHAWAY et coll. (1969) qui ont montré l'existence d'une corrélation positive entre la fréquence cardiaque et l'excrétion d'adrénaline chez l'homme. Chez le rat, il est probable qu'une telle corrélation, si elle existe, tende à s'amenuiser avec la croissance de l'animal car, l'excrétion d'adrénaline croît avec le poids alors que la fréquence cardiaque varie en fonction inverse du poids corporel (STUPFEL, 1967). Ceci peut se vérifier au cours des

Auteurs	Caractéristiques des animaux	Fréquence cardiaque (c/mn)		Nombre d'animaux
		Moyenne ± écart-type	Mini-maxi	
BLAIZOT (1952)	Rats, adultes		275-340	
DESSAUX (1955)	Rats, ♀	376 ± 36		6
FARMER et LEVY (1968)	Wistar, ♂ et ♀ 200-300 g		260-380	8
GOLLNICK et IANUZZO (1968)	Sprague-Dawley, ♂, 332-343 g	332 ± 14		5
HANEN (1965)	Wistar, ♂ 200-300 g		345-405	28
TIPTON (1965)	Long Evans, ♂	341,2 ± 15,5		17

Tableau 12 : Valeurs de fréquence cardiaque de repos
d'après divers auteurs.



deux séries expérimentales. En effet, les valeurs de la fréquence cardiaque de repos sont plus basses lors de la deuxième série, les rats présentant un poids moyen supérieur d'environ 100 g à celui des rats de la première série.

Par ailleurs, le fait que les rats plus émotifs présentent une fréquence cardiaque de repos moins élevée est en concordance avec les résultats de SNOWDON, BELL et HENDERSON (1964). Ces auteurs concluent leur travail en disant que " pour le type de comportement mesuré par l'activité et la défécation dans l'open-field, une fréquence cardiaque élevée correspond à un niveau plus bas d'émotivité ". Précisons que les mesures de fréquence cardiaque n'ont pas été effectuées dans l'open-field. L'influence du passage dans l'open-field sur la fréquence cardiaque a fait l'objet d'un travail de CANDLAND, PACK et MATTHEWS (1967). Ces auteurs ont montré que dans l'open-field, il n'apparaissait pas de corrélation significative entre la défécation et la fréquence cardiaque. La défécation présente une adaptation au cours des différents essais alors qu'il n'en est rien pour la fréquence cardiaque. Mais les mesures dans l'open-field sont difficilement interprétables car il est mal aisé de distinguer les variations de fréquence cardiaque liées à l'émotivité de celles liées à l'activité musculaire ainsi que l'a montré DENIMAL (1969). C'est pourquoi, on a préféré observer les modifications de fréquence cardiaque consécutives à la prise en main.

b) Influence de la prise en main

Les deux enregistrements reportés sur la figure 17 correspondent aux tracés de fréquence cardiaque avant, pendant et

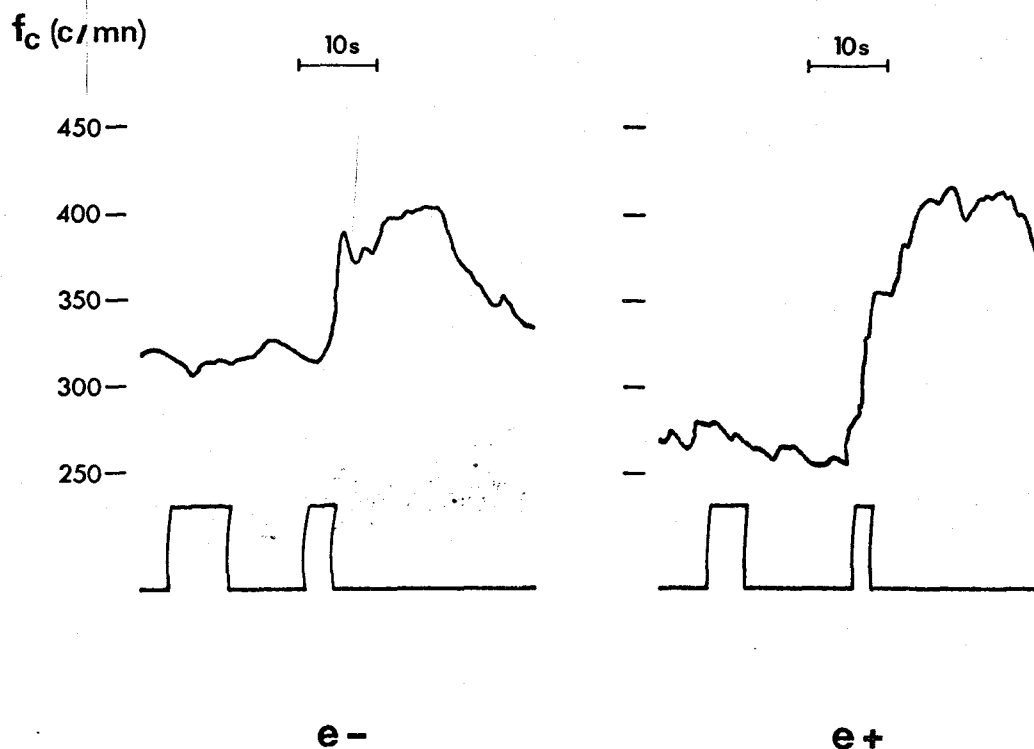


Figure 17 : Enregistrements continus de la fréquence cardiaque recueillis sur un animal du groupe (e -) et sur un animal du groupe (e +), lors de la prise en main et de la mise dans un environnement inhabituel (" open-field ").

Le tracé supérieur est celui de la valeur instantanée de la fréquence cardiaque. Sur le tracé inférieur, le premier toppage indique l'ouverture de la cage et le second la prise en main de l'animal dont la durée est indiquée par la largeur du créneau.

tout de suite après la prise en main d'un animal du lot de rats (e +) et d'un animal du lot de rats (e -). On constate que chez l'animal du groupe (e -), la fréquence cardiaque de repos relativement plus élevée, présente une élévation relativement moins importante. En moyenne, ainsi que le montre la figure 18, les élévations de fréquence cardiaque pour les lots (e -) et (e +) sont respectivement de 16,1 p.100 (s = 6,6) et de 30,2 p.100 (s = 5,0). La différence est significative au seuil de .001 (t = 5,71).

L'élévation précoce de la fréquence cardiaque qui survient lors de la prise en main de l'animal avant toute activité musculaire peut être considérée comme une réponse émotive (BLACK et coll., 1964).

La valeur maximale qu'atteint la fréquence cardiaque consécutivement à la prise en main est en rapport avec la manipulation proprement dite et avec la confrontation au nouvel environnement dans l'open-field, c'est-à-dire avec deux facteurs qui sont à l'origine de réactions émotives. Deux éléments sont à considérer qui renforcent cette opinion. Il s'agit d'une part de la rapidité d'établissement de cette valeur maximale et, d'autre part, du fait que dans certains cas, la fréquence cardiaque baisse par la suite alors que l'animal manifeste une activité exploratoire importante. Ainsi, l'importance d'une origine principalement musculaire dans l'augmentation précoce de la fréquence cardiaque consécutive à la prise en main semble pouvoir être exclue. On peut d'ailleurs supposer que la part revenant à l'activité musculaire dans l'élévation de la fréquence cardiaque soit plus grande chez les rats moins émotifs qui sont plus actifs dans l'open-field, ce qui tendrait plutôt à atténuer la différence entre les deux lots.

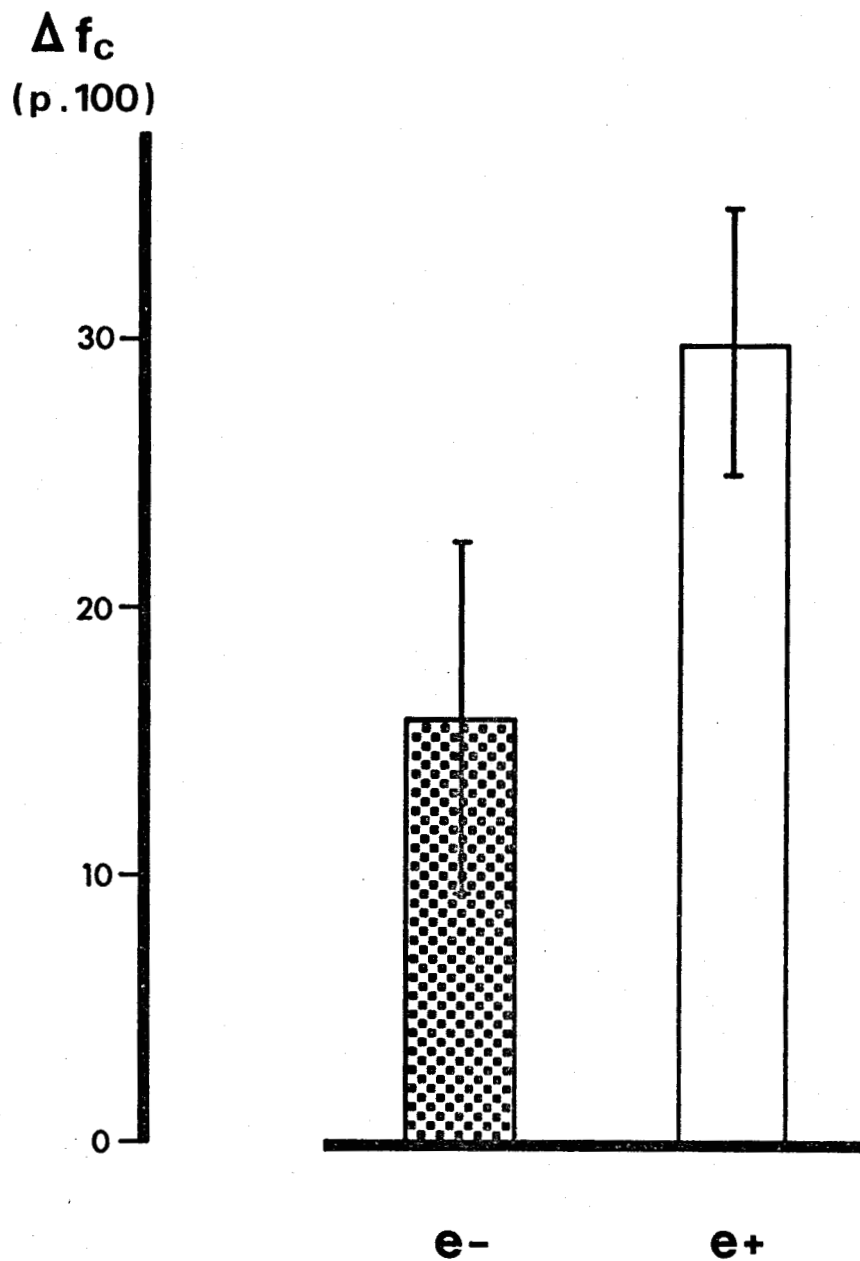


Figure 18 : Valeurs moyennes de l'augmentation de fréquence cardiaque consécutive à la prise en main des animaux des lots (e -) et (e +). Δf_c correspond à l'élévation maximale de la fréquence cardiaque exprimée en p.100 de la valeur de repos.

De part et d'autre de chaque moyenne, on a porté la valeur d'un écart-type.

Enfin, le fait que la fréquence cardiaque semble augmenter, consécutivement à une agression, en raison inverse de son niveau de repos, serait de nature à masquer les différences existant entre les valeurs de repos des lots (e +) et (e -) si les conditions expérimentales dans lesquelles elles sont déterminées impliquaient une agression. L'importance de la différence mise en évidence constitue donc un argument, apparemment non négligeable, permettant d'écarter une telle éventualité.

En conclusion, la différence d'émotivité qui est apparue entre les deux souches de rats Wistar et Sprague-Dawley semble liée à des niveaux végétatifs de base différents. D'autre part, ces paramètres augmentent consécutivement à une agression en raison inverse de leur niveau de repos.

II - INTERPRETATION GENERALE

A partir des données recueillies dans ce travail, un certain nombre de questions se posent à l'expérimentateur.

On peut s'interroger d'abord sur l'origine de l'émotivité des animaux. Le premier élément qui s'impose est le patrimoine héréditaire de la lignée. Les rats albinos émotifs sont de souche Wistar alors que les moins émotifs sont Sprague-Dawley. Depuis HALL (1934) et surtout BROADHURST (1957) on sait que l'émotivité suit les lois de la génétique et qu'elle fait donc partie du génotype.

Cependant le fait d'avoir choisi deux lignées différentes ajoute une inconnue au problème. En fait, ce choix n'a pas été volontaire et il a fallu une enquête de notre part auprès des services vétérinaires des centres d'élevage qui nous fournissaient les animaux pour obtenir des renseignements exacts sur l'origine de ces rats albinos. Les deux souches sont très voisines et il est difficile de les distinguer l'une de l'autre. Les tailles sont identiques, les croissances sont pratiquement parallèles. C'est d'ailleurs pourquoi, il semble possible de comparer les Wistar aux Sprague-Dawley. Toutefois, il se peut que les facteurs génétiques ne soient pas les seuls qui interviennent dans la genèse de cette émotivité car "cet équipement génétique correspond à un potentiel d'aptitudes dont l'extériorisation dépend des conditions d'environnement et particulièrement d'élevage : celles-ci pourront renforcer des tendances les perturber ou les faire disparaître", ainsi que l'écrit COSNIER (1966). C'est pourquoi, ces deux souches provenant d'élevages différents, l'environnement initial a pu également intervenir. Cette hypothèse nous semble peut probable car dans les deux cas les rats étaient groupés par dix ou douze et pris en main une à deux fois par semaine pour le nettoyage des cages. Mais il ne sera possible de conclure sur ce point que lorsqu'un élevage aura été réalisé dans les mêmes conditions pour les deux lignées d'animaux, ce qui constitue évidemment un des prolongements les plus prochains de notre travail.

Le deuxième point nous conduit à étudier les relations éventuelles qui peuvent exister entre l'émotivité et les paramètres physiologiques mesurés. Qu'il s'agisse de l'excrétion de base des catécholamines urinaires ou de la fréquence cardiaque de repos, les valeurs les plus basses sont celles des rats les

plus émotifs. Le niveau de base de la fréquence cardiaque nous a d'abord fait penser à l'existence d'un tonus vagal plus élevé chez ces animaux. En fait, l'excrétion des catécholamines met plutôt en évidence un tonus sympathique plus bas. Cependant peut-on affirmer que l'émotivité est inversement reliée au tonus sympathique ? Cette hypothèse ne pourra se trouver vérifiée ou infirmée qu'en réalisant deux lignées de rats sélectionnées sur le seul critère de la défécation dans l'open-field à partir d'une souche donnée. Des essais ont été entrepris dans ce sens mais pratiquement tous les rats Wistar examinés sont émotifs ; 1 à 2 p.100 de rats seulement ne défèquent pas dans l'open-field. Par contre, chez les Sprague-Dawley, il est possible de sélectionner quelques animaux qui défèquent dans l'open-field à côté de la plupart des rats qui ne défèquent pas du tout, leur émotivité semble cependant moins élevée que celle des rats Wistar. Les premiers résultats concernant deux lots de rats Sprague-Dawley d'émotivité différente n'ayant subi encore aucune sélection génétique, font apparaître cependant une différence non significative en ce qui concerne l'excrétion urinaire d'adrénaline, mais allant bien dans le sens d'une baisse pour les rats plus émotifs.

Ces résultats partiels sont insuffisants pour permettre d'infirmier éventuellement l'hypothèse de LEVI (1967) selon laquelle le niveau de repos n'intervient pas dans l'émotivité, ou de conclure que seuls les pourcentages d'augmentation d'excrétion urinaire des catécholamines consécutive à une contention ou de la fréquence cardiaque lors de la prise en main sont en corrélation avec l'émotivité des animaux. En effet, cette dernière hypothèse s'accorde difficilement avec la loi de la valeur initiale formulée

par WILDER en 1950. PAILLARD (1966) l'exprime en écrivant que " plus le niveau d'activité de base d'un système physiologique est élevé, moindre est sa variation relative à ce niveau pour une stimulation de même intensité ". Cette relation inverse entre la réaction physiologique induite par le stimulus et le niveau physiologique qui précède le stimulus est un phénomène d'homéostasie physiologique. Un niveau de base élevé s'accompagnerait de rétroactions homéostasiques plus rapides et LACEY (1956) pose comme corollaire à son étude que " la réponse végétative recueillie est une fonction à la fois de l'importance de la réaction du système considéré et de la rapidité et de la vigueur des réactions compensatrices induites qui tendent à limiter l'effet de la perturbation initiale ".

Pour conclure on peut donc émettre l'hypothèse selon laquelle les rats émotifs posséderaient au repos un tonus sympathique plus bas. Ce tonus serait en relation avec une activité réticulaire peu élevée et par conséquent avec un faible niveau de vigilance. Or une agression provoque une réponse émotionnelle relativement plus importante chez ces animaux. On est tenté de rapprocher ces données des conclusions émises par BLOCH (1965) chez le Chat à propos de l'activité électrodermale: " la réponse émotionnelle est plus importante lorsque le stimulus apparaît sur un faible niveau de vigilance. " Dans ce cas le frein cortical est moins efficace et permet ainsi une activation plus importante, d'origine réticulaire, des centres nerveux.

L'émotivité pourrait être alors imputable à un défaut des mécanismes d'amortissement. Cependant, un tel contrôle inhibiteur corticifuge n'a pu encore être mis en évidence chez le Rat. Par ailleurs si la commande émotionnelle peut être déclenchée par l'activation réticulaire, il n'en existe pas moins une commande en relation avec l'activité rhinencéphalique. Enfin le passage à l'état d'émotion ne peut plus être considéré de façon purement quantitative car il existe des différences qualitatives dans les niveaux d'activité nerveuse, (BLOCH, 1966). Par conséquent, s'il est possible d'admettre qu'il existe une relation entre l'émotivité et l'activité adrénosympathique, il reste à en démontrer la nature.

RESUME

Au cours de ce travail, on s'est efforcé d'étudier chez le rat les répercussions physiologiques imputables à des différences d'émotivité. On sait, en effet, depuis les travaux de CANNON (1929), que le système adrénosympathique peut être activé lors des réactions émotives. Par conséquent, on était en droit de penser que, si un rat émotif réagit plus aux agressions, sa médullo-surrénale et son système sympathique sont davantage sollicités, et que par conséquent l'exploration de la fonction adrénosympathique pouvait révéler des différences en relation avec le comportement émotif de l'animal.

Les deux problèmes abordés ont donc été, d'une part, l'exploration de l'activité adrénosympathique, d'autre part, l'évaluation de l'émotivité des animaux étudiés.

- A la suite des travaux de EULER (1964), on sait que l'excrétion urinaire des catécholamines reflète de façon assez fidèle l'activité adrénosympathique de l'organisme, on a donc pratiqué des dosages d'adrénaline et de noradrénaline urinaires. Après une revue brève des différentes techniques utilisées, on a retenu la technique fluorimétrique après transformation en dérivés trihydroxy-indoliques. Cette technique a fait ensuite l'objet d'une étude des conditions optimales de mesure et de son rendement.

- L'évaluation de l'émotivité a été faite selon le critère de la défécation produite dans une situation nouvelle. Depuis STONE

(1932), YOSHIOKA (1932) et surtout HALL (1934), cette méthode a été utilisée par la majorité des auteurs abordant l'étude du comportement émotionnel du rat. On a montré son intérêt et les raisons qui nous ont amenés à la choisir.

Deux souches de rats albinos Wistar et Sprague-Dawley présentant les mêmes caractéristiques pondérales ont été étudiées. Le premier point acquis est la différence de réaction des deux souches de rats dans l'open-field. Les rats Wistar déféquant quatre fois plus et présentant davantage de mouvements de toilette, on considère ces animaux comme plus émotifs (e +). L'étude des inter-corrélations entre les réponses observées dans l'open-field apportent des données supplémentaires concernant la relation émotivité-activité exploratoire.

Les paramètres physiologiques mesurés chez les deux souches de rats nous permettent de constater que les rats émotifs présentent des niveaux de base d'excrétion d'adrénaline et de noradrénaline urinaires plus bas que les animaux de l'autre souche beaucoup moins émotifs. De la même façon, la fréquence cardiaque de repos des rats (e +) est plus faible.

On a étudié ensuite l'influence d'une agression. Pour cela on a placé les animaux en contention. Nos résultats sont en accord avec les schémas des réponses psychoendocriniennes proposées depuis CANNON. En effet, les rats émotifs réagissent relativement plus et cette différence quantitative s'accompagne d'une différence qualitative, puisque ces mêmes animaux plus facilement sujets à la peur ont une augmentation plus marquée de leur excrétion d'adrénaline par rapport à celle de noradrénaline.

L'observation des modifications de fréquence cardiaque consécutives à la prise en main nous permet de constater que les rats (e +) ont une élévation de f_c relativement plus élevée que celle des rats (e -).

Les rats (e +) présentent donc un tonus sympathique plus bas que celui des rats (e -). En effet, cette hypothèse se trouve vérifiée par les valeurs plus faibles de la f_c de repos et de l'excrétion de base des catécholamines urinaires. Les rats (e -) au tonus sympathique plus élevé répondent relativement moins aux agressions.

Ces résultats obéissent donc à la loi de la valeur initiale formulée par WILDER (1950) et sont conformes à l'hypothèse selon laquelle un niveau de base élevé s'accompagnerait de rétroactions homéostasiques plus rapides. On s'interroge enfin sur la possibilité de relier ces différences de tonus sympathique à des différences d'activité du système nerveux central.

BIBLIOGRAPHIE

- ADER, R. (1969)
Adrenocortical function and the measurement of "emotionality".
Ann. N.Y. Acad. Sci., 159, 3, 791-805.
- ADER, R., FRIEDMAN, S.B. and GROTA, C.J. (1967)
"Emotionality" and adrenal cortical function : effects of strain, test and the 24-hour corticosterone rhythm.
Anim. Behav., 15, 37-44.
- ANDERSON, E.E. (1938)
The interrelationship of drives in the male albino rat :
III. Interrelations among measures of emotional, sexual, and exploratory behavior.
J. Gen. Psychol., 53, 335-352.
- ANDERSON, E.E. and ANDERSON, S.F. (1938)
The relation between the weight of the endocrine glands and measures of sexual, emotional and exploratory behavior in the male albino rat.
J. comp. Psychol., 26, 459-474.
- ANTON, A. and SAYRE, D.F. (1962)
A study of the factors affecting the aluminium oxide trihydroxyindole procedure for the analysis of catecholamines.
J. Pharmacol. exp. Ther., 138, 360-375.
- BAEKELAND, F., SCHENKER, V.J., SCHENKER, A.C. et LASKY, R. (1969)
Urinary excretion of epinephrine, norepinephrine, dopamine and tryptamine during sleep and Wakefulness. Effects of Pentobarbital, pentobarbital plus dextroamphetamine, sulfate and placebo.
Psychopharmacologia (Berl.), 14, 359-370.
- BEAUVALLET, M., FUGAZZA, J. et GODEFROY, F. (1966)
Influence d'une surcharge du régime en chlorure de sodium sur la teneur en catécholamines des surrénales et leur excrétion urinaire chez le Rat.
C. R. Soc. Biol., 160, 1418-1420.

- BEAUVALLLET, M., FUGAZZA, J. et LEGRAND, M. (1966)
Excrétion urinaire de l'adrénaline, de la noradrénaline et de la dopamine au cours des 24 heures qui suivent l'administration d'amphétamine.
C. R. Soc. Biol., 160, 546-550.
- BENES, V. et BENESOVA, O. (1966)
Die Reaktivität von Ratten mit verschiedenem Typ der höheren Nerventätigkeit auf die Stress situation.
Int. Symposium f. Kortiko-Viszerale Physiol. Pathol. u. Ther., Berlin, 1964.
Abh. d. Deutsch. Akad. Wiss., Berlin, Kl. f. Med., 2, 77-79.
- BENESOVA, O. et BENES, V. (1970)
Interindividual differences in reactivity to stress in selected rats.
Activ. Nerv. Sup., 12, 176-178.
- BIEL, W.C. et O'KELLEY, L.I. (1940)
The effect of cortical lesions on emotional and regressive behavior in the rat : I. Emotional behavior.
J. Comp. Psychol., 30, 221-240.
- BLACK, R.W., FOWLER, R.L. et KIMBRELL, G. (1964)
Adaptation and habituation of heart rate to handling in the rat.
J. comp. physiol. psychol., 57, 422-425.
- BLAIZOT, J. (1952)
Cardiotachymètre pour petits animaux.
J. Physiol., Paris, 44, 626-629.
- BLOCH, V. (1965)
Le contrôle central de l'activité électrodermale. Etude neurophysiologique d'un indice sympathique de l'activation réticulaire.
J. Physiol., Paris, 57, suppl. XIII, 134 p.

BLOCH, V. (1966)

Niveaux de vigilance et attention.

In : FRAISSE et PIAGET, Traité de Psychologie Expérimentale.
P.U.F. édit., Paris, Fasc.III, 79-122.

BOISSIER, J.R. et GIUDICELLI, J.F. (1965)

Métabolisme, répartition, fixation et libération des
catécholamines.

Thérapie, XX, 837-866.

BONVALLET, M., DELL, P. et HIEBEL, G. (1954)

Tonus sympathique et activité électrique corticale.

Electroencephalog. clin. Neurophysiol., 6, 119-144.

BRADY, J.V. and HUNT, H.F. (1951)

A further demonstration of the effects of electro convulsive
shock on a conditioned emotional response.

J. comp. physiol. psychol., 44, 204-209.

BRADY, J.V. and NAUTA, W.J.H. (1953)

Subcortical mechanisms in emotional behavior : affective
changes following septal forebrain lesions in the albino rat.

J. comp. physiol. psychol., 46, 339-346.

BRAIN, P.F. and NOWELL, N.W. (1969)

Some behavioral and endocrine relationship in adult male

Laboratory mice subjected to open field and aggression tests.

Physiol. Behav., 4, 945-947.

BROADHURST, P.L. (1957)

Determinants of emotionality in the rat. I. Situational factors.

Brit. J. Psychol., 48, 1-12.

BROADHURST, P.L. (1958).

Determinants of emotionality in the rat. III - Strain
differences.

J. Comp. Physiol. Psychol., 51, 55-59.

- BRUELL, J.H. (1963), cité par BRAIN, P.F. et NOWELL, N.W. (1969)
Emotional defaecation in mice : a territory marking response ?
Communication à l'American Psychology Association meeting,
New-York.
- CANDLAND, D.K. et CAMPBELL, B.A. (1962)
Development of Fear in the Rat as measured by behavior
in the Open-Field.
J. Comp. Physiol. Psychol., 55, 593-596.
- CANDLAND, D.K., PACK, K.D. et MATTHEWS, T.J. (1967)
Heart rate and defecation frequency as measures of rodent
emotionality.
J. Comp. Physiol. Psychol., 64, 146-150.
- CANNON, W.B. (1929)
Bodily changes in pain, hunger, fear and rage.
D. Appleton and Cie, New-York, Londres.
- CESSION, G. et SCHMITZ, G. (1970)
Dosage fluorimétrique des catécholamines plasmatiques.
Path.-Biol., 18, 451-460.
- CHANG, C.C. (1964)
A sensitive method for spectrofluorometric assay of
catecholamines.
Int. J. Neuropharmacol., 3, 643-649.
- CLARK, W. and DRELL, W. (1954)
Presence of a monoglycuronic compound of A in urine.
Fed. Proc., 13, 343.
- COHEN, G. et GOLDENBERG, M. (1957)
The simultaneous fluorimetric determination of adrenaline
and noradrenaline in plasma. The fluorescence characteristic
of adrenolutine and noradrenolutine and their simultaneous
determination in mixtures.
J. Neurochem., 2, 58-70.
- COLLINS, R.L. (1966), cité par BRAIN, P.F. et NOWELL, N.W. (1969)
What else does the defaecation score measure ?
Communication à l'American Psychology Association Meeting,
New-York.

- COSNIER, J. (1966)
 Les névroses expérimentales de la psychologie animale à la pathologie humaine.
 Collection Science ouverte, SEUIL édit., Paris, 1 vol., 175 p.
- CROUT, R.J. (1961)
 Catecholamines in urine.
 In : Standard methods of clinical chemistry. ACADEMIC PRESS édit., New-York, 3, 62-80.
- CUSSAC, M. (1971)
 L'estimation fluorimétrique des catécholamines dans les liquides et tissus biologiques.
 Ann. Biol. Clin., 29, 5-24.
- DAWSON, J. and BONE, A. (1963)
 The relationship between urine volume and urinary adrenaline and noradrenaline excretion in a group of psychotic patients.
 Brit. J. Psychiat., 109, 629-630.
- DENENBERG, V.H. and MORTON, J.R. (1962)
 Effects of environmental complexity and social groupings upon modification of emotional behavior.
 J. Comp. Physiol. Psychol., 55, 242-246.
- DENIMAL, J. (1969)
 Etude de l'influence d'une situation nouvelle sur la fréquence cardiaque du Rat.
 C. R. Soc. Biol., 163, 1570-1573.
- DENIMAL, J., DUTRIEUX, G. et BOUISSET, S. (1968)
 Sur la mesure de la fréquence cardiaque d'un lot de Rats à l'aide d'un dispositif électronique original.
 C. R. Soc. Biol., 162, 468-472.
- DESSAUX, G. (1955)
 Sur le rythme cardiaque normal du Rat.
 J. Physiol., Paris, 47, 659-662.
- DESSAUX, G. (1955)
 Mesure de la fréquence cardiaque chez le Rat. Etude critique des déterminations expérimentales.
 J. de Physiol., 47, 731-736.

DREVON, B. (1957)

Les procédés chimiques et physiques de dosage de l'adrénaline et de la noradrénaline dans les tissus et liquides organiques.
In : Colloques nationaux du C.N.R.S.. L'adrénaline et la noradrénaline dans la régulation des fonctions homeostasiques, C.N.R.S., 1 vol., 35-51.

EHRLÉN, I. (1948)

Fluorimetric determination of adrenaline II
Farm. Revy, 47, 242-250.

ELMADJIAN, F. (1962)

Adrenaline et Noradrenaline.
In DORFMAN. Methods in Hormone research, ACADEMIC PRESS
New-York et Londres, vol.I, 337-351.

ELMADJIAN, F. (1962)

Epinephrine and norepinephrine.
In DORFMAN. Methods in Hormone Research, Academic
Press, New-York et Londres, vol.II, 371-383.

ELMADJIAN, F., HOPE, J.M. and LAMSON, E.T. (1958)

Excretion of epinephrine and norepinephrine under stress.
Rec. Prog. Hormone Res., 14, 513-553.

EULER, U.S. Von (1964)

Quantitation of stress by catecholamine analysis.
Clin. Pharmacol. Ther., 5, 398-404.

EULER, U.S. Von et FLODING, I. (1955)

Fluorimetric estimation of Noradrenaline and Adrenaline in
urine.
Acta Physiol. Scand., 33, suppl.118, 57-62.

EULER, U.S. Von and HAMBERG, U. (1949)

Colorimetric estimation of noradrenalin in the presence
of adrenalin.
Science, 110, 561.

EULER, U.S. Von, HELLNER-BJORKMAN, S. and ORWEN, I. (1955)

Diurnal variations in the excretion of free and conjugated
noradrenaline and adrenaline in urine from healthy subjects.
Acta Physiol. Scand., 33, suppl.118, 10-16.

EULER, U.S. Von et LISHAJKO, F. (1961)

Improved technique for the fluorimetric estimation of
catecholamines.
Acta physiol. Scand., 51, 348-356.

- FARMER, J.B. and LEVY, G.P. (1968)
A simple method for recording the electrocardiogram and heart rate from conscious animals.
Br. J. Pharmac. Chemother., 32, 193-200.
- FEUER, G and BROADHURST, P.L. (1962)
Thyroid function in rats selectively bred for emotional elimination. III. Behavioural and physiological changes after treatment with drugs acting on the thyroid.
J. Endocrin., 24, 385-396.
- FLOCH, H. (1964)
Acide vanilmandélique urinaire et métabolisme des catécholamines.
Biol. Méd., Paris, 53, 381-450.
- FRAISSE, P. (1963)
Les émotions.
In FRAISSE, P. et PIAGET, J. " Traité de Psychologie Expérimentale ".
P.U.F. édit., Paris, Fasc.V, 83-153.
- FRANKENHAEUSER, M., FROBERG, J., HAGDAHL, R., RISSLER, A., BJORKVALL, C. and WOLFF, B. (1967).
Physiological behavioral and subjective indices of habituation to psychological stress.
Physiol. and Behav., 2, 229-237.
- FRANKENHAEUSER, M., MELLIS, I., RISSLER, A., BJORKVALL, C. and PATKAI, P. (1968)
Catecholamine excretion as related to cognitive and emotional reaction patterns.
Psychosom. Med., 30, 109-120.
- FRANKLIN, M.J., MAYER, J. (1968)
Advantage of the double isotope approach to catecholamine analysis.
N.E.N. Corp., 67, 1-7.
- FROBERG, J., KARLSSON, C.G., LEVI, L., LIDBERG, L., SEEMAN, K. (1970)
Conditions of work : psychological and endocrine stress reactions.
Arch. Environ. Health, 21, 789-797.
- FRUEHAN, A.E. and LEE, G.F. (1966)
The measurement of conjugated catecholamines in human urine.
Amer. J. Clin. Pathol., 42, 172-176.

- FURCHTGOTT, E., WECHKIN, S. and DEES, J.W. (1961)
Open-Field exploration as a function of age.
J. Comp. Physiol. Psychol., 4, 386-388.
- FUGAZZA, J. (1963)
Contribution à l'étude de la noradrénaline cérébrale.
J. Physiol., Fr., 55, suppl.8, 76 p.
- GAIRARD, A. et MARNAY-GULAT, C. (1971)
Libération de catécholamines au cours de la contrainte
ulcérogène du Rat. Influence de la médullo-surrénalectomie.
J. Physiol., Paris, 63, 51 A.
- GASTALDI, F. and MOLINARI, E. (1968)
Contributo alla conoscenza del meccanismo di escrezione
urinaria delle catecolamine.
Folia endocrinol., 21, 365-372.
- GEER, E.G. Mc, and CLARK, W.H. (1964)
 R_F values of some catecholamines, precursors and
metabolites.
J. Chromatog., 14, 107-111.
- GEIER, F.M., LEVIN, M. and TOLMAN, E.C. (1941)
Individual differences in emotionality, hypothesis formation,
vicarious trial and error, and visual discrimination in rats.
Comp. Psychol. Monogr., 17, 3.
- GODEFROY, F. (1964)
Influence du jeûne sur la teneur en adrénaline et en
noradrénaline des surrénales et de l'urine.
C. R. Soc. Biol., 158, 693-696.
- GOLLNICK, P.D. and IANUZZO, C.D. (1968)
Colonic temperature response of rats during exercise.
J. Appl. Physiol., 24, 747-750.
- GOODALL, Mc C. (1962)
Sympathoadrenal response to gravitational stress.
J. Clin. Invest., 41, 197-202.
- HALL, C.S. (1934)
Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination
as measures of individual differences in emotionality.
The J. of Comp. Psychol., 8, 385-403.

- HANEN, C. (1965)
 Activité électro-corticale et modifications végétatives au cours du travail musculaire chez l'animal.
 J. Physiol., Paris, 57, 485-498.
- HATHAWAY, P.W., BREHM, M.L., CLAPP, J.R. and BOGDONOFF, M.D. (1969)
 Urine flow, catecholamines and blood pressure. The variability of response of normal human subjects in a relaxed Laboratory setting.
 Psychosom. Med., 31, 20-30.
- HENDERSON, N.D. (1966)
 Changes in Open-Field behaviour as a result of experimenter manipulation before or after intense shock.
 Canad. J. Psychol., 20, 296-301.
- HERMANN, H., CHATONNET, J. et VIAL, J. (1957)
 Les procédés biologiques de dosage de l'adrénaline et de la noradrénaline dans les tissus et liquides organiques.
 In : Colloques nationaux du C.N.R.S., l'Adrénaline et la noradrénaline dans la régulation des fonctions homeostatiques, C.N.R.S., 1 vol., 53-79.
- HERMANN, H., BERGER, M., PEYRIN, L., MORNEX, R. et VIAL, J. (1961)
 Etude critique du dosage des catécholamines urinaires. Comparaison des méthodes fluorimétriques et biologiques.
 Path. Biol., 9, 2229-2241.
- HOELDTKE, R.D. et MARTIN, W.R. (1970)
 Urine volume and catecholamines excretion.
 J. Lab. Clin. Med., 75, 166-174.
- HOELDTKE, R.D. and SLOAN, J.W. (1970)
 Acid hydrolysis of urinary catecholamines.
 J. Lab. Clin. Med., 75, 159-165.
- HOLLAND, H.C. and GUPTA, B.D. (1967)
 Effects of drugs on the rearing response in emotionally reactive and non reactive rats.
 Activ. Nerv. Sup., 9, 134-136.
- IVINSKIS, A. (1970)
 A study of validity of open-field measures.
 Austral. J. Psychol., 22, 175-183.

- KAHANE, Z., ESSER, A.H., KLINE, N.S. et VESTERGAARD, P. (1967)
Estimation of conjugated epinephrine and norepinephrine in urine.
J. Lab. Clin. Med., 69, 1042-1050.
- KARKI, N.T. (1956)
The urinary excretion of noradrenaline and adrenaline in different age groups, its diurnal variation and the effect of muscular work on it.
Acta physiol. Scand., 39, suppl.132, 96 p.
- KING, F.A. et MEYER, P.M. (1958)
Effects of Amygdaloid lesions upon Septal Hyperemotionality in the Rat.
Science, 128, 655-656.
- KOPIN, I.J. (1964)
Metabolism of the catecholamines.
Z. Klin. Chem. Dtsch., 2, 115-123.
- LAASBERG, L.H. and SHIMOSATO, S. (1966)
Paper chromatographic identification of catecholamines.
J. Appl. Physiol., 21, 1929-1934.
- LACEY, J.I. (1956)
The evaluation of autonomic responses : toward a general solution.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 67, 125-164.
- LARNO-VACHERON, S. (1969)
Déterminations fluorimétriques de l'adrénaline et de la noradrénaline dans des solutions mixtes aqueuses pures.
C. R. Soc. Biol., 154, 944-946.
- LAT, J. (1967)
Nutrition, learning and adaptative capacity.
Symposium on chemical senses and nutritive processes, Ithaca, Baltimore, Johns Hopkins Press.
- LAT, J. et GOLLOVÁ-HEMON (1969)
Permanent effects of nutritional and endocrinological intervention in early ontogeny on the level of nonspecific excitability and on lability (emotionality).
Ann. N.Y. Acad. Sci., 159, 710-720.

LEDUC, J. (1961)

Catecholamines production and release in exposure and acclimation to cold.

Acta Physiol. Scand., 53, suppl.183, 101 p.

LEGRAND, M. (1969)

Influence de l'hyperthermie sur les concentrations en noradrénaline de différentes aires cérébrales chez le Rat. Variations concomitantes au niveau du coeur et des surrénales.

J. Physiol., Paris, 61, 99-118.

LEVI, L. (1961)

A new stress tolerance test with simultaneous study of physiological and psychological variables.

Acta Endocr., 37, 38-44.

LEVI, L. (1967)

Sympatho-adrenomedullary responses to emotional stimuli : Methodologic, physiologic and pathologic considerations.

In : An introduction to clinical neuroendocrinology, BAJUSZ édit., 1 vol., Karger, Basel, New-York, 78-105.

LEVI, L. (1967)

Stressors, stress tolerance, emotions and performance in relation to catecholamine excretion.

Försvarmedicin vol. 3, suppl. 2, 192-200.

LEVI, L. (1968)

Sympatho-adrenomedullary and related biochemical reactions during experimentally induced emotional stress.

In MICHAEL édit., Endocrinology and Human Behaviour, London, Oxford, University Press, 1 vol., 200-219.

LIDBERG, L. and LEVI, L. (1969)

Anxiety and the endocrine system.

Anat. N.Z.J. Psychiatry, 3, 202-206.

LUND, A. (1949)

Fluorimetric determination of adrenaline in blood. I. Isolation of the fluorescent oxydation product of adrenaline.

Acta pharmacol., 5, 75-94.

- MANOSEVITZ, M. (1970)
Early environmental enrichment and mouse behavior.
J. Comp. Physiol. Psychol., 71, 459-466.
- MASON, J.W. (1968)
A review of psychoendocrine research on the sympathetic adrenal medullary system.
Psychosom. Med., 30, 631-653.
- MASON, J.W., TOLSON, W.W., BRADY, J.V., TOLLIVER, G.A. and GILMORE, L.I. (1968)
Urinary epinephrine and norepinephrine responses to 72-Hr Avoidance sessions in the Monkey.
Psychosom. Med., 30, 654-665.
- MERRILLS, R.J. (1963)
A semiautomatic method for determination of catecholamines.
Anal. Biochem., 6, 272-282.
- MONTAGU, K.A. (1959)
Seasonal changes of the catechol compounds present in rat tissues.
Biochem. J., 71, 91-99.
- MOTELICA, I. (1969)
Urinary excretion of catecholamines and vanilmandelic acid in rats exposed to cold.
Acta physiol. scand., 76, 393-395.
- PAGET, M. (1930)
Nouvelle réaction colorée de l'adrénaline et de l'adrénalone.
Bull. Sci. Pharmacol., Fr., 37, 537-538.
- PAILLARD, J. (1966)
L'utilisation des indices physiologiques en psychologie.
In : FRAISSE et PIAGET, *Traité de Psychologie Expérimentale*, P.U.F. édit., Paris, Fasc.III, 1-77.
- PARE, W.P. (1964)
Relationship of various behaviors in the open-field test of emotionality.
Psychol. Rep., 14, 19-22.

- PARE, W.P. and CULLEN, J.W. (1965)
Emotional behavior and adrenal function in the rat.
Psychol. Rep., 16, 283-286.
- PERMAN, E.S. (1961)
Effect of ethanol and hydratation on the Urinary excretion of adrenaline and noradrenaline and on the blood sugar of rats.
Acta Physiol. Scand., 51, 68-74.
- PEYRIN, L. (1964)
Dosage des catécholamines urinaires. Méthode fluorimétrique.
Revue française d'Et. clin. et biol., 10, 1096-1099.
- PITKANEN, E. (1956)
Studies on the determination and excretion of adrenalin and noradrenalin in the urine.
Acta Physiol. Scand., 38, suppl. | 29, 56 p.
- POIREL, C. (1970)
Recherches expérimentales sur les variations nyctémérales de la réactivité émotionnelle chez la souris.
Psychol. Française, 15, 3-14.
- ROBINSON, R.L. et WATTS, D.T. (1964)
Automated fluorometric analysis of catecholamines.
The 1964 Technicon International Symposium, New-York.
- ROSECRANS, J.A. (1970)
Brain serotonin and pituitary-adrenal function in Rats of different emotionalities.
Arch. Int. Pharmacodyn., 187, 349-366.
- RUNDQUIST, E.H. (1933)
Inheritance of spontaneous activity in Rats.
J. Comp. Psychol., 16, 415-438.
- SANDLER (1970)
Biosynthesis and metabolism of the catecholamines.
Schweiz. Med. Wschr., 100, 526-531.
- DE SCHAEPPDRYVER, A.F. and LEROY, J.G. (1961)
Urine volume and catecholamines excretion in man.
Acta Cardiol., 16, 631-638.

- SCHILDKRAUT, J.I. and KETY, S.S. (1967)
Biogenic amines and emotion.
Science, 156, 21-30.
- SHORE, P.A. and OLIN, J. (1958)
Identification and chemical assay of NE in brain and other tissues.
J. Pharmacol., 122, 295-300.
- SILVERMAN, A.J., COHEN, S.I., SHMAVONIAN, B.M. and KIRSHNER, N. (1961)
Catecholamines in psychophysiologic studies.
Rec. Adv. Biol. Psychiat., 3, 104
- SNOWDON, C.T., BELL, D.D. and HENDERSON, N.D. (1964)
Relationships between heart rate and open-field behavior.
J. Comp. Physiol. Psychol., 58, 3, 423-426.
- STONE, C.P. (1932)
Studies in the dynamics of behavior.
K.S. LASHLEY édit., University of Chicago press, Chicago.
- STUPFEL, M. (1967)
Relation entre la fréquence cardiaque et le poids corporel : étude chez le Rat mâle "pathogen free" de 1 à 17 mois.
C. R. Soc. Biol., 161, 1506-1508.
- TIPTON, C.M. (1965)
Training and bradycardia in Rats.
Amer. J. Physiol., 209, 1089-1094.
- UDENFRIEND, S. (1962)
"Fluorescence assay in biology and medicine".
ACADEMIC PRESS, New-York, 1 vol., 517 p., 139-157.
- VAHIDI, A. et SANKAR, S. (1969)
The application of paper and partition then layer chromatography to the separation of catecholamines and their metabolites.
J. Chromatog., 43, 135-140.
- VALORI, C., BRUNORI, C.A., RENZINI, V., ALICANDRI, C. et TIMIO, M. (1967)
Osservazioni sull' influenza della variazioni del flusso e del pH urinari sull' eliminazione di catecolamine.
Rass. Fisiop. Cl. Ter., 39, 393-404.

- VALORI, C., RENZINI, V., BRUNORI, C.A. et COREA, L. (1967)
Determinazione delle catecolamine urinarie non coniugate
con il metodo del tri-idrossi-indolo.
Rass. Fisiop. Cl. Ter., 39, 405-422.
- WEIL-MALHERBE, H. et BONE, A.D. (1952)
The chemical estimation of adrenaline-like substances in
blood.
Biochem. J., 51, 311-318.
- WEST, G.B. (1950)
Biological and chemical assay of adrenalin.
In EMMENS, Hormone assay. Academic Press, New-York,
1 vol., 91-107.
- WHIMBEY, A.E. et DENENBERG, V.H. (1967)
Two independent behavioral dimensions in open-field
performance.
J. comp. Physiol. Psychol., 63, 500-504.
- WILDER, J. (1950)
The law of initial values.
Psychosom. Med., 12, 392.
- WRIGHT, S. (1961)
Applied Physiology.
Oxford University Press, London, 1 vol., 555 p.
- WURTMAN, R.J. and AXELROD, J. (1966)
Control of enzymatic synthesis of adrenaline in the adrenal
medulla by adrenal cortical steroids.
J. Biol. Chem., 241, 2301-2305.
- YEAKE, E.H. et RHOADES, R.P. (1941)
A comparison of the body and endocrine gland (adrenal,
thyroid, and pituitary) weights of emotional and non
emotional rats.
Endocrinol., 28, 337-340.
- YOSHIOKA, J.G. (1932)
Learning versus skill in rats.
J. Genet. Psychol., XLI, 406-416.