



**HAL**  
open science

# Effets d'antidépresseurs sur la différenciation testiculaire chez l'homme et le rat

Léo Raffenne

► **To cite this version:**

Léo Raffenne. Effets d'antidépresseurs sur la différenciation testiculaire chez l'homme et le rat. Sciences pharmaceutiques. 2019. hal-03297908

**HAL Id: hal-03297908**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03297908>**

Submitted on 22 Feb 2022

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

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



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

**UNIVERSITE DE LORRAINE**

**2019**

---

**FACULTE DE PHARMACIE**

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement

Le 11/06/2019, sur un sujet dédié à :

**Effets d'antidépresseurs sur la différenciation  
testiculaire chez l'homme et le rat**

pour obtenir

**le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie**

par

**RAFFENNE Léo**

né(e)

le 30 Décembre 1991

**Membres du Jury**

Président : RIHN Bertrand, Professeur des Universités,  
Université de Lorraine

Directeur : FERRARI Luc, Professeur des Universités,  
Université de Lorraine

Juges : DUPUIS François, Maître de conférences,  
Université de Lorraine

JEHL Eric, Pharmacien



**UNIVERSITÉ DE LORRAINE  
FACULTÉ DE PHARMACIE  
Année universitaire 2018-2019**

**DOYEN**

Raphaël DUVAL

**Vice-Doyen**

Julien PERRIN

**Directrice des études**

Marie SOCHA

**Conseil de la Pédagogie**

Présidente, Brigitte LEININGER-MULLER

Vice-Présidente, Alexandrine LAMBERT

**Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier**

Présidente, Béatrice DEMORE

**Commission Prospective Facultaire**

Président, Christophe GANTZER

Vice-Président, Jean-Louis MERLIN

**Commission de la Recherche**

Présidente, Caroline GAUCHER

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS  
HOSPITALIERS**

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ

Béatrice DEMORE

Jean-Louis MERLIN

Jean-Michel SIMON

Nathalie THILLY

*Thérapie cellulaire*

*Pharmacie clinique*

*Biologie cellulaire*

*Economie de la santé, Législation*

*pharmaceutique*

*Santé publique et Epidémiologie*

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES**

Christine CAPDEVILLE-ATKINSON

Igor CLAROT

Joël DUCOURNEAU

Raphaël DUVAL

Béatrice FAIVRE

Luc FERRARI

Pascale FRIANT-MICHEL

Christophe GANTZER

Frédéric JORAND

Isabelle LARTAUD

Dominique LAURAIN-MATTAR

Brigitte LEININGER-MULLER

Philippe MAINCENT

Patrick MENU

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Bertrand RIHN

*Pharmacologie*

*Chimie analytique*

*Biophysique, Acoustique, Audioprothèse*

*Microbiologie clinique*

*Hématologie, Biologie cellulaire*

*Toxicologie*

*Mathématiques, Physique*

*Microbiologie*

*Eau, Santé, Environnement*

*Pharmacologie*

*Pharmacognosie*

*Biochimie*

*Pharmacie galénique*

*Physiologie*

*Chimie thérapeutique*

*Biochimie, Biologie moléculaire*

**MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS- PRATICIENS  
HOSPITALIERS**

Alexandre HARLE

*Biologie cellulaire oncologique*

Julien PERRIN  
Loïc REPPÉL  
Marie SOCHA

*Hématologie biologique*  
*Biothérapie*  
*Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique*

### **MAITRES DE CONFÉRENCES**

Sandrine CAPIZZI BANAS  
Xavier BELLANGER  
Emmanuelle BENOIT  
Isabelle BERTRAND  
Michel BOISBRUN  
Ariane BOUDIER  
Cédric BOURA  
Joël COULON  
Sébastien DADE  
Dominique DECOLIN  
Roudayna DIAB  
Natacha DREUMONT  
Florence DUMARCAY  
François DUPUIS  
Reine EL OMAR  
Adil FAIZ  
Anthony GANDIN  
Caroline GAUCHER  
Stéphane GIBAUD  
Thierry HUMBERT  
Olivier JOUBERT  
Alexandrine LAMBERT  
Julie LEONHARD  
Christophe MERLIN  
Maxime MOURER  
Coumba NDIAYE  
Arnaud PALLOTTA  
Marianne PARENT  
Caroline PERRIN-SARRADO  
Virginie PICHON  
Sophie PINEL  
Anne SAPIN-MINET  
Marie-Paule SAUDER  
Guillaume SAUTREY  
Rosella SPINA  
Sabrina TOUCHET  
Mihayl VARBANOV  
Marie-Noëlle VAULTIER  
Emilie VELOT  
Mohamed ZAIYOU

*Parasitologie*  
*Parasitologie, Mycologie médicale*  
*Communication et Santé*  
*Microbiologie*  
*Chimie thérapeutique*  
*Chimie Physique*  
*Physiologie*  
*Biochimie*  
*Bio-informatique*  
*Chimie analytique*  
*Pharmacie galénique*  
*Biochimie générale, Biochimie clinique*  
*Chimie thérapeutique*  
*Pharmacologie*  
*Physiologie*  
*Biophysique, Acoustique*  
*Mycologie, Botanique*  
*Chimie physique, Pharmacologie*  
*Pharmacie clinique*  
*Chimie organique*  
*Toxicologie, Sécurité sanitaire*  
*Informatique, Biostatistiques*  
*Droit en Santé*  
*Microbiologie environnementale*  
*Chimie organique*  
*Epidémiologie et Santé publique*  
*Bioanalyse du médicament*  
*Pharmacie galénique*  
*Pharmacologie*  
*Biophysique*  
*Informatique en Santé (e-santé)*  
*Pharmacie galénique*  
*Mycologie, Botanique*  
*Chimie analytique*  
*Pharmacognosie*  
*Pharmacochimie*  
*Immuno-Virologie*  
*Mycologie, Botanique*  
*Physiologie-Physiopathologie humaines*  
*Biochimie et Biologie moléculaire*

### **PROFESSEUR ASSOCIE**

Julien GRAVOULET

*Pharmacie clinique*

### **PROFESSEUR AGREGÉ**

Christophe COCHAUD

*Anglais*

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION,  
NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES,  
CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME  
PROPRES A LEUR AUTEUR ».





## SERMENT DES APOTHECAIRES



**Je** jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

**D'** honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

**D'**exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

**De** ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

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

**Que** je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.





## Table des matières

I)	Introduction .....	9
A)	La maladie .....	9
B)	La dépression et la grossesse .....	14
C)	Les traitements .....	15
1.	Consommation d'antidépresseurs .....	15
2.	Les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS) .....	17
3.	Les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine pendant la grossesse .....	19
D)	Le stress .....	19
1.	Influence du stress sur l'équilibre hormonal .....	19
2.	Le stress et la grossesse .....	19
E)	La fonction testiculaire .....	21
F)	La grossesse, le stress et les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine .....	23
1.	Effets chez le rat .....	23
2.	Effets chez l'Homme .....	25
G)	Influence sur l'équilibre hormonal stéroïdien .....	27
H)	Objectifs et stratégies mises en place .....	28
II)	Matériels & Méthodes .....	31
A)	Traitement et collecte des organes chez le rat .....	31
B)	Collecte et culture des organes chez le fœtus humain .....	31
C)	Histologie .....	32
D)	Marquages immuno histochimiques .....	33
E)	Stéréologie chez le rat .....	35
F)	Dosages hormonaux chez l'humain : .....	36
1.	Dosage de la testostérone .....	36
2.	Dosage de l'AMH .....	37
G)	Méthodologie et traitement statistique des données .....	37
III)	Résultats .....	39
A)	Impact des antidépresseurs sur les caractéristiques anatomiques du rat .....	39
B)	Impact des antidépresseurs sur la différenciation morphologique du testicule de rat .....	40
C)	Impact des antidépresseurs sur la différenciation morphologique du testicule fœtal humain... ..	46
D)	Impact des antidépresseurs sur la différenciation du testicule fœtal humain .....	51
1.	Testostérone .....	52
2.	AMH .....	53
IV)	Discussion .....	55
V)	Conclusion .....	59
VI)	Bibliographie .....	61

## **Table des figures**

<b>Figure 1</b> : Consommation d'antidépresseur en France en nombre de boîtes et en euros des ventes aux particuliers .....	16
<b>Figure 2</b> : Comparaison de la dose quotidienne d'antidépresseur définie pour 1000 habitants par jour et par pays entre 2000 et 2013.....	16
<b>Figure 3</b> : Consommation en nombre de boîtes par classe d'antidépresseur(vente aux particuliers) .....	16
<b>Figure 4</b> : Schéma de présentation du testicule. A) Testicule foetal. B) Testicule adulte .....	22
<b>Figure 5</b> : Taux de testostérone et d'AMH chez le fœtus et l'homme en fonction de l'âge...	23
<b>Figure 6</b> : A) Schéma d'organisation des coupes de testicules de rats, B) Schéma d'organisation des coupes de testicules fœtaux humains.....	33
<b>Figure 7</b> : illustration des structures cellulaires observables par immunohistochimies .....	36
<b>Figure 8</b> : Schéma du principe de dosage par compétition.....	37
<b>Figure 9</b> : Impact de la fluoxétine et du stress sur les caractéristiques anatomiques chez le rat A) poids corporel, B) poids testiculaire rapporté au poids corporel, C) index de la distance ano-génitale .....	39
<b>Figure 10</b> : Observation des cellules péritubulaires délimitant les cordons testiculaires sur une coupe du testicule de rat (marquage $\alpha$ -SMA).....	40
<b>Figure 11</b> : Observation des cellules en prolifération sur une coupe du testicule de rat (marquage PCNA) .....	41
<b>Figure 12</b> : A) Observation des gonocytes sur une coupe du testicule de rat (marquage DDX4). B) Impact de la fluoxétine et du stress sur le nombre de gonocytes rapportés à la surface de la coupe testiculaire chez le rat .....	42
<b>Figure 13</b> : A) Visualisation des cellules de Sertoli sur une coupe du testicule de rat (marquage AMH) .....	43
<b>Figure 14</b> : Rapport des gonocytes rapportés à la surface des coupes testiculaires sur le nombre de cellules de Sertoli rapportées à la surface des coupes testiculaires chez le rat ..	44
<b>Figure 15</b> :A) Observation des cellules de Leydig sur une coupe du testicule de rat (marquage CYP11A1). B) Impact de la fluoxétine et du stress sur le nombre de cellules de Leydig rapportées à la surface de la coupe testiculaire chez le rat.....	45
<b>Figure 16</b> : Observation des cellules apoptotiques sur une coupe du testicule de fœtus humain (marquage Caspase 3 clivée).....	47
<b>Figure 17</b> : Observation des cellules en prolifération sur une coupe du testicule de fœtus humain (marquage Ki67) .....	48
<b>Figure 18</b> : Observation des cellules de Sertoli sur une coupe du testicule de fœtus humain (marquage AMH) .....	49
<b>Figure 19</b> : Observation des cellules de Leydig sur une coupe du testicule de fœtus humain (marquage CYP11A1).....	50
<b>Figure 20</b> : Taux de testostérone sécrété par le testicule fœtal humain dans les 2 groupes: le groupe 8-9 semaines de développement et le groupe 10-12 semaines de développement..	52
<b>Figure 21</b> : Taux d'AMH sécrété par le testicule fœtal humain dans les 2 groupes: le groupe 8-9 semaines de développement et le groupe 10-12 semaines de développement.....	53

## **Liste des Tableaux**

<b>Tableau I</b> : Classification CIM-10 / DSM-V .....	9
<b>Tableau II</b> : Prévalence de l'épisode dépressif majeur en population générale en France au cours de ces douze derniers mois .....	12
<b>Tableau III</b> : Influence positive ou négative des déterminants de la santé mentale .....	13
<b>Tableau IV</b> : Présentation des molécules utilisées et leurs principales caractéristiques.....	18
<b>Tableau V</b> : Anticorps utilisés pour les marquages immuno histochimiques.....	34



## **Remerciements :**

**À mon président de jury, Monsieur RIHN Bertrand,**

Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie, Université de Lorraine.

Je vous remercie de me faire l'immense honneur de présider ce jury et de l'intérêt que vous avez montré à ce travail. Un grand merci pour les enseignements que vous nous avez dispensés et qui m'ont orienté dans le choix de ma spécialisation.

**À mon directeur de thèse, Monsieur FERRARI Luc,**

Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie, Université de Lorraine.

Je vous remercie d'avoir accepté de diriger cette thèse, de l'intérêt que vous y avez trouvé et de votre précieuse aide. Un grand merci également pour vos enseignements qui m'ont guidé dans le choix de ma spécialisation.

**À Monsieur DUPUIS François,**

Maitre de Conférences, Faculté de Pharmacie, Université de Lorraine.

Je vous remercie d'avoir accepté rapidement de juger ce travail et d'apporter vos compétences. Merci également aux enseignements que vous nous avez dispensés pendant toutes ces années d'études.

**À Monsieur JEHL Éric,**

Pharmacien, Pharmacie Lorraine, Nancy.

Je vous remercie d'avoir si gentiment accepté de juger ce travail et d'y apporter une autre vision. Merci de votre enthousiasme et de votre sympathie à mon égard.

Je tiens à remercier **Monsieur Jégou Bernard**, pour m'avoir accueilli au sein de son unité de recherche, **Madame Mazaud-Guittot Séverine**, pour m'avoir encadré, guidé pendant toute la durée de mon stage.

**À mes parents** pour leur soutien indéfectible, pour avoir toujours cru en moi durant ces longues années d'études, qui n'ont pas toujours été faciles. Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi, pour ce que vous m'avez appris et transmis, pour votre amour. Cette thèse est pour vous. Je vous aime.

**À mes frères**, Colin et Nathan, parce qu'on a toujours été là les uns pour les autres. Vous m'avez toujours soutenu et cru en moi, et cette thèse est également pour vous. Je vous aime.

**À mon chat**, qui a toujours été là pour moi depuis toutes ces années et que je connais mieux que personne. J'espère qu'à jamais, dans ma vie, tu resteras.

**À Gauthier et Stéphane**, depuis toujours présents, pour leur amitié que ni les années, ni la distance n'érode.

**À ma Coco**, sans qui tout cela n'aurait pas été possible, je t'adresse un merci tout particulier. Tu es et resteras mon « bb » originel.

**À ma Renée** pour tout ce que tu m'as apporté et tout ce que l'on a partagé.

**À la « Trims crew », Laure, Cam, Val, James, Gobi, Didon, Gauthier**, pour tous ces bons moments, ces soirées, ces rigolades, ces voyages. Bref, merci pour tout.

**À mes bretons, Léna, Matthie, Simon, Charlotte, Camille, Raph, Dalal** (même si tu n'es pas bretonne) pour cette magnifique année en Pologne et tout ce qui a suivi.

**À Laurianne et Estelle** pour leur présence, pour tout ce que l'on a vécu. Merci également à **Julie, Salomé, Camille, Louis, Charly** pour tous les moments passés ensemble.

**À Lulu, Marion, Aurel, Flo, Romé, Gautier, Bast, Simon, Marine, « dd », Sam, Félix** pour toutes ces années passées ensemble.

**À Ali, Meguy, François, Solène, Alex, Vanessa, Nico, Élise** pour cette dernière année d'étude avec vous.

À tous ceux que j'oublie et qui ont compté pour moi.



## **Liste des abréviations et acronymes**

ACTH : Adréno Cortico Trophic Hormone

Afssaps : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé

AGD : Distance ano-génitale

AMH : Hormone Anti-müllérienne

ANSM : Agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de santé

CIM : Classification international des maladies

CRH : Corticolibérine

DMS : Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders

E1 : estrone / œstrone

E2 : estradiol / œstradiol

ER : Récepteurs des œstrogènes

EUROCAT : Organisation européenne de surveillance des anomalies congénitales

GnRH : Gonadolibérine

FSH : Hormone Folliculostimulante

IMAO : Inhibiteur de la monoamine oxydase

Inserm : Institut national de la santé et de la recherche médicale

ISRS : Inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine

IVG : Interruption volontaire de grossesse

Jpc : Jour *post-coïtum*

Jpn : Jour post natal

LH : Luteinizing Hormone

OCDE : Organisation de la Coopération et de Développement Économique

OMS : Organisation Mondial de la Santé

PCR : Polymerase Chain Reaction

P-gp : Glycoprotéine P

PNAS : Poor neonatal adaptation syndrome

RCP : Résumé des caractéristiques du produit

SD : semaine de développement

5-HT : 5-hydroxytryptamine



Ce travail a, en parti, été réalisé durant mon stage de fin d'étude, sous la direction de Mme.MAZAUD-GUITTOT Séverine, qui s'est déroulé à l'Irset (Institut de recherche en santé, environnement et travail – Inserm U1085) dans l'unité de reprotoxicologie dirigée par M.JÉGOU Bernard.

## I) Introduction

### A) La maladie

La dépression est un des troubles psychiatriques les plus fréquents et la première cause d'incapacité dans le monde selon l'organisation mondial de la santé (OMS)<sup>1</sup>. Elle affecte plus de 300 millions de personnes (OMS). En 2015, en France, le taux de prévalence de la dépression dans la population générale était de 4,8% (OMS). La dépression se caractérise par une perte de motivation, une grande tristesse, un sentiment de désespoir, une difficulté à prendre des décisions, des troubles du sommeil, une dévaluation de sa valeur en tant qu'individu, avec des pensées morbides. Selon l'intensité des symptômes, la dépression peut être qualifiée de faible, modérée ou majeure (grave). Elle survient sous forme d'épisodes plus ou moins longs ; de semaines à des années (pour la dépression chronique).

Le diagnostic de l'épisode dépressif majeur (ou caractérisé) doit être fait par un professionnel de santé. Actuellement, deux classifications sont très largement utilisées au niveau international ; la classification de l'OMS (CIM-10) ainsi que celle de l'American Psychiatric Association (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DMS-V)) (Tableau 1)

*Tableau 1 : Classification CIM-10 / DSM-V*

CIM-10	DSM-V
<p><b>A. Symptômes typiques :</b></p>	<p><b>A. Au moins 5 des symptômes suivants ont été présents durant la même période de deux semaines et représentent un changement par rapport au fonctionnement précédent : au moins un de ces symptômes est soit (1) une humeur dépressive, soit (2) une perte d'intérêt ou de plaisir</b></p>
<p>1 - Abaissement stable de l'humeur</p>	<p>1 - Humeur dépressive présente la plus grande partie de la journée, presque tous les</p>

<sup>1</sup> <http://www.who.int.gate2.inist.fr/fr/news-room/fact-sheets/detail/depression>

	jours, comme signalée par la personne (p. ex., se sent triste, vide, désespérée) ou observée par les autres (p. ex., pleure). (Remarque : Chez les enfants et les adolescents, peut être une humeur irritable.)
2 – Diminution de l'intérêt et du plaisir	2 - Diminution marquée de l'intérêt ou du plaisir pour toutes, ou presque toutes, les activités, la plus grande partie de la journée, presque tous les jours (signalée par la personne ou observée par les autres).
3 – Réduction de l'énergie, entraînant une augmentation de la fatigabilité et une diminution de l'activité	3 - Perte de poids significative en l'absence de régime ou gain de poids (p. ex., changement de poids excédant 5 % en un mois), ou diminution ou augmentation de l'appétit presque tous les jours. (Remarque : Chez les enfants, prendre en compte l'absence de l'augmentation de poids attendue.)
<b>B. Symptômes autres :</b>	4 - Insomnie ou hypersomnie presque tous les jours.
1 – Une diminution de la concentration et de l'attention	5 - Agitation ou ralentissement psychomoteur presque tous les jours (observable par les autres, non limités à un sentiment subjectif de fébrilité ou de ralentissement intérieur).
2 – Une diminution de l'estime de soi et de la confiance en soi	6 - Fatigue ou perte d'énergie presque tous les jours
3 – Des idées de culpabilité ou de dévalorisation	7 - Sentiment de dévalorisation ou de culpabilité excessive ou inappropriée (qui peut être délirante) presque tous les jours (pas seulement se faire grief ou se sentir coupable d'être malade).
4 – Une attitude morose et pessimiste face à l'avenir	8 - Diminution de l'aptitude à penser ou à se concentrer ou indécision presque tous les jours (signalée par la personne ou observée par les autres).
5 - Des idées ou actes auto-agressifs ou suicidaires	9 - Pensées de mort récurrentes (pas seulement une peur de mourir), idées suicidaires récurrentes sans plan précis ou tentative de suicide ou plan précis pour se suicider.
6 – Une perturbation du sommeil	<b>B. Les symptômes entraînent une souffrance cliniquement significative ou une altération du fonctionnement social, professionnel ou dans d'autres domaines importants.</b>

7 – Une diminution de l'appétit

<b>Critères de sévérité</b>	<b>C. L'épisode n'est pas imputable aux effets physiologiques d'une substance ou d'une autre affection médicale.</b>
<b>Épisode dépressif léger (F32.0)</b> 1. Remplit $\geq 2$ symptômes typiques et $\geq 2$ symptômes autres 2. Aucun de ces symptômes ne doit être sévère	<b>D. L'apparition de l'épisode dépressif majeur n'est pas mieux expliquée par un trouble schizoaffectif, une schizophrénie, un trouble schizophréniforme, un trouble délirant, ou un autre trouble du spectre schizophrénique et un autre trouble psychotique.</b>
<b>Épisode dépressif moyen (F32.1)</b> 1. Remplit $\geq 2$ symptômes typiques et $\geq 3$ symptômes autres 2. Certains symptômes peuvent être sévères, mais non indispensables au diagnostic	<b>E. Il n'y a jamais eu d'épisode maniaque ou d'épisode hypomaniaque.</b>
<b>Épisode dépressif sévère sans symptômes psychotiques (F32.2)</b> 1. Remplit $\geq 3$ symptômes typiques et $\geq 4$ symptômes autres 2. Plusieurs symptômes doivent être sévères	
<b>Épisode dépressif sévère avec symptômes psychotiques (F32.3)</b> 1. Remplit $\geq 3$ symptômes typiques et $\geq 4$ symptômes autres 2. Plusieurs symptômes doivent être sévères 3. Idées délirantes, hallucination ou stupeur dépressive	
<b>Autres épisodes dépressifs (F32.8)</b> Symptômes dépressifs transitoires, fatigue seule, association à des symptômes non spécifiques (ex. tension musculaire, préoccupations, sentiments de détresse, douleurs persistantes d'origine non organique, ..)	

L'un ou l'autre de ces tests peut donc être mis en œuvre pour diagnostiquer une dépression et sa gravité.

La dépression est multifactorielle. En effet, il semble que cette pathologie soit à l'interface de plusieurs composantes : génétique (antécédent de dépression ou troubles psychiatriques des parents), l'environnement dans lequel évolue l'individu et

ses habitudes de vie, les évènements qui surviennent au cours de la vie (tel qu'un décès, un divorce) ainsi que biologique (avec une diminution du taux de sérotonine au niveau cérébral).

Au niveau neurochimique, l'hypothèse du mécanisme de la dépression la plus acceptée est l'épuisement des monoamines, notamment de la sérotonine (5-HT), dans le cerveau des patients déprimés. Au niveau environnemental, le stress est un des facteurs déclenchants les plus importants (Mahar, Bambico, Mechawar, & Nobrega, 2014). La sérotonine est un des neurotransmetteurs essentiels aux communications entre les neurones, et est impliquée notamment dans les comportements alimentaires et sexuels, le cycle veille/sommeil, la douleur, l'anxiété, les troubles de l'humeur (Inserm)<sup>2</sup>.

La dépression touche entre 8 et 20% des femmes en âge de procréer (Ramos et al., 2016), et les femmes sont plus touchées que les hommes (Pratt & Brody, 2014). On peut également noter que la dépression touche plus certaines tranches d'âge que d'autres (Tableau II). Ainsi, en 2010, la plus forte prévalence de dépression majeure chez les hommes se situe entre 35 et 54 ans alors qu'elle se situe entre 20 et 34 ans chez les femmes. La dépression est même plus commune chez les femmes et les hommes souffrant d'infertilité, dépression étant probablement due à l'infertilité (Segall-Gutierrez et al., 2012).

Evans-Hoeker et al. 2018 rapporte une prévalence de 41% de dépression chez les femmes suivies pour l'infertilité (Crawford, Hoff, & Mersereau, 2017) et de 49,1% chez les hommes ayant recours à la fécondation *in vitro* (Chen et al., 2016).

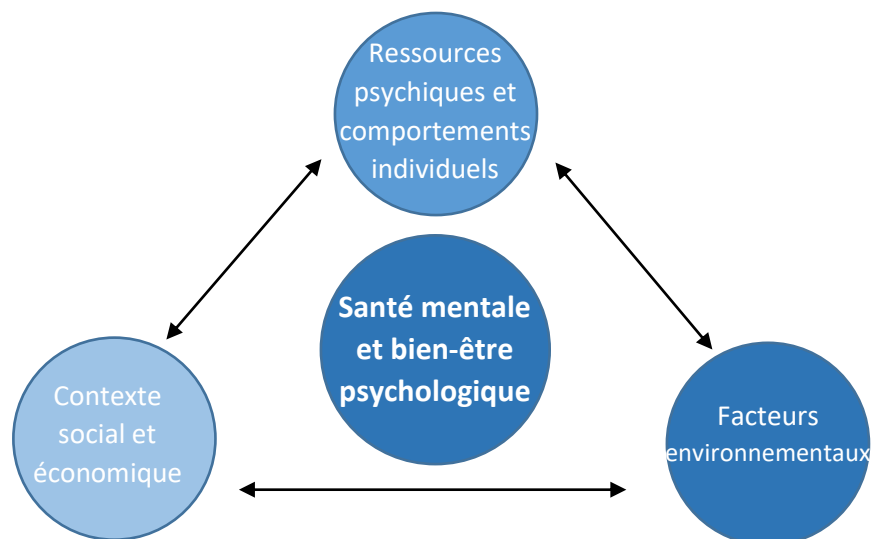
*Tableau II : Prévalence de l'épisode dépressif majeur en population générale en France au cours de ces douze derniers mois (OMS 2012)*

	Ensemble		Hommes		Femmes	
	2005	2010	2005	2010	2005	2010
	n = 16 883	n = 8 238	n = 7 078	n = 3 686	n = 9 805	n = 4 552
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
<b>Total 15-75 ans</b>	7,8	7,8	5,1	5,6	10,4	10,0
<b>15-19 ans</b>	7,0	6,4	4,5	3,7	9,7	9,3
<b>20-34 ans</b>	9,1	10,1	6,4	7,0	11,9	13,2
<b>35-54 ans</b>	8,9	9,0	5,4	7,3	12,3	10,7
<b>55-75 ans</b>	5,3	4,7	3,6	2,6	6,8	6,6

Source : Baromètres santé 2005 et 2010, Inpes.

<sup>2</sup> <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/depression>

L'OMS définit un ensemble de trois critères formant un triangle des facteurs influençant la santé mentale et le bien-être psychologique.



Ces facteurs peuvent s'influencer mutuellement et influencer l'état mental d'une personne de manière positive ou négative (Tableau III).

*Tableau III : Influence positive ou négative des déterminants de la santé mentale*

<b>Niveau</b>	<b>Facteurs préjudiciables</b>		<b>Facteurs favorables</b>
Ressources psychiques individuelles	Peu d'estime de soi	↔	Estime de soi, confiance
	Immaturité cognitive et/ou émotionnelle	↔	Aptitude à résoudre les problèmes et à surmonter le stress ou l'adversité
	Difficultés à communiquer	↔	Qualités de communication
	Maladie, consommation de substances	↔	Bonne santé/forme physique
Contexte social	Solitude, deuil	↔	Soutien social de la famille et des amis
	Négligence, conflit familial	↔	Bonne interaction parents/famille
	Maltraitance/violence	↔	Sécurité physique et sûreté
	Faible revenu et pauvreté	↔	Sécurité économique
	Difficultés ou échec scolaire	↔	Réussite scolaire
Tension au travail, chômage	↔	Satisfaction et réussite professionnelle	
Facteurs environnementaux	Accès difficile aux services de base	↔	Égalité dans l'accès aux services de base
	Injustice et discrimination	↔	Justice sociale, tolérance, intégration
	Inégalités sociales entre les sexes	↔	Égalité sociale entre les sexes
	Situation de guerre ou de catastrophe	↔	Sécurité physique et sûreté

Source : (OMS, 2012)

Toutes les périodes de la vie sont importantes et peuvent influencer sur la santé mentale d'un individu, de la période préconceptionnelle et prénatale à la vieillesse (OMS, 2012). Ainsi, ces différents facteurs vont évoluer, interagir entre eux et influencer l'individu tout au long de sa vie.

## B. La dépression et la grossesse

Aux États-Unis, 18% des femmes souffrent de dépression prénatale et 19% de dépression postpartum (Gavin et al., 2005). Plus de 8 % des femmes enceintes seraient exposées à au moins un antidépresseur, dont 6,2 % à un inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine (ISRS) (Cooper, Willy, Pont, & Ray, 2007). Une étude de 2016 menée sur 374 femmes enceintes en France rapporte que 1,9% des femmes enceintes souffraient de dépression, 57% de ces femmes prenaient un traitement pour cette maladie, et la classe pharmacologique la plus utilisée était les ISRS (Guérin, Rieutord, Cuhe, Lupattelli, & Nordeng, 2016).

Pendant la grossesse, la dépression chez la femme est associée à une augmentation du risque d'accouchement prématuré, de pré-éclampsie (qui est une hypertension artérielle gravidique qui survient après la 2<sup>ème</sup> moitié de la grossesse), d'abus de substances pouvant être néfaste pour la femme et son futur enfant (ex. alcool) et à un haut risque de tentative de suicide, pouvant atteindre 20% chez les mères adolescentes (Byatt, Deligiannidis, & Freeman, 2013; Farias et al., 2013; Gentile, 2017).

Chez le nouveau-né, la dépression maternelle est associée un faible poids à la naissance, une augmentation du risque d'hospitalisation néonatale (qui peut être due à différents facteurs tels que l'accouchement prématuré, la prise de substances par la mère, ..) (Byatt et al., 2013; Gentile, 2017). Des cas de diminution de densité de matière grise ont été décrits chez des enfants dont les mères souffraient de dépression pendant la grossesse (Buss, Davis, Muftuler, Head, & Sandman, 2010).

La dépression post-partum peut affecter négativement plusieurs aspects du développement du nouveau-né comme le comportement, les fonctions cognitives et motrices ainsi que le développement émotionnel, pouvant être dû, notamment, à l'appauvrissement du lien et/ou d'attachement entre la mère et l'enfant (Kim et al., 2006; Westin, Brekke, Molden, Skogvoll, & Spigset, 2017).



## C. Les traitements

Selon l’OMS, moins de la moitié des personnes atteintes de dépression dans le monde bénéficient d’un traitement. Cela peut être dû à un manque de ressources, de personnels qualifiés, ou par la stigmatisation de la maladie. De plus, la dépression peut ne pas être diagnostiquée, auquel cas aucun traitement n’est donné, ou au contraire être diagnostiquée par erreur et un traitement est délivré sans que cela ne soit nécessaire.

En France, un rapport de l’AFSSAPS (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, maintenant devenu l’agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de santé (ANSM)) datant de 2006 estimait que seulement la moitié des patients traités par antidépresseurs souffraient effectivement d’un trouble qui répond aux indications de l’autorisation de mise sur le marché (AMM) des médicaments antidépresseurs (AFSSAPS, 1998). Et qu’une proportion non négligeable de patients souffrants de dépression n’étaient pas pris correctement en charge. C’est ainsi plus de la moitié des patients déprimés qui n’avaient pas accès aux soins, et lorsqu’ils y ont accès, la plupart d’entre eux ne bénéficiaient pas d’une prise en charge adaptée. En résumé, l’agence estimait que moins de 10% des patients déprimés étaient susceptibles de recevoir un traitement adapté (AFSSAPS, 1998; Lecrubier & Hergueta, 1998; Lépine, Gastpar, Mendlewicz, & Tylee, 1997).

### 1. Consommation d’antidépresseurs

En France, au cours de ces dernières années, la consommation d’antidépresseurs (en nombre de boîtes) dans la population générale a légèrement diminué (selon les données de l’assurance maladie, Figure 1). Paradoxalement, selon les statistiques de l’organisation de coopération et de développement économiques (OCDE), la dose quotidienne définie pour 1000 habitants par jour en France a augmenté entre 2000 et 2013. Cette augmentation de consommation en dose quotidienne a été mise en relation avec un allongement de la durée des traitements (Grandfils & Sermet, 2009; Moore et al., 2009) (Figure. 2)

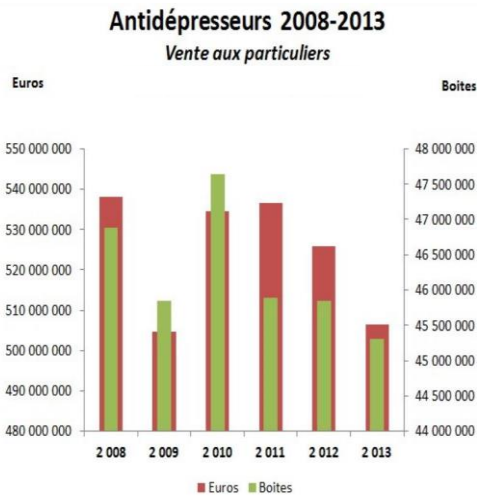


Figure 1 : Consommation d'antidépresseur en France en nombre de boîtes et en euros des ventes aux particuliers. Source : Assurance maladie France

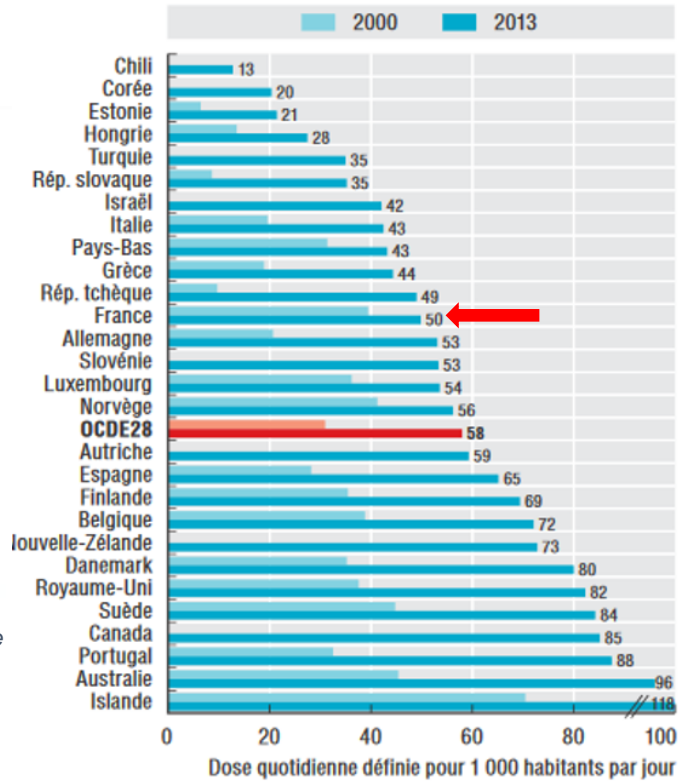


Figure 2 : Comparaison de la dose quotidienne d'antidépresseur définie pour 1000 habitants par jour et par pays entre 2000 et 2013. Source : Statistiques de l'OCDE sur la santé 2015.

Parmi les antidépresseurs, plusieurs classes sont disponibles ; les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS), les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline (IRSNa), les inhibiteurs de la Monoamine Oxydase sélectifs ou non (IMAO(s)), les imipraminiques/tricycliques.

La classe la plus prescrite en France est celle des ISRS (Figure 3).

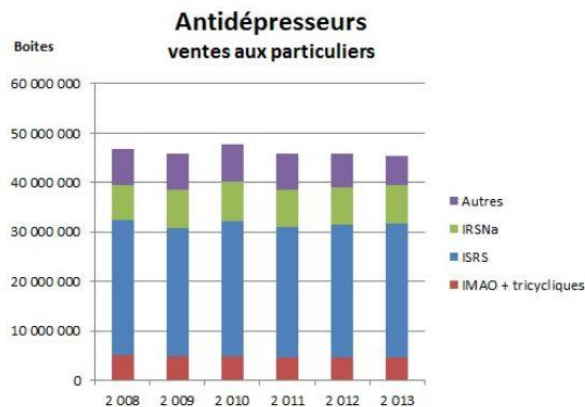


Figure 3 : Consommation en nombre de boîtes par classe d'antidépresseur (vente aux particuliers). Source : Assurance maladie France

C'est donc cette classe des ISRS qui nous a intéressé tout particulièrement.

## 2. Les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS)

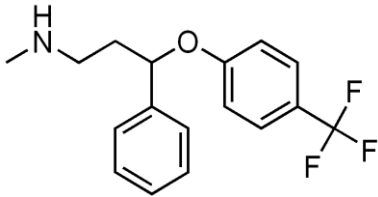
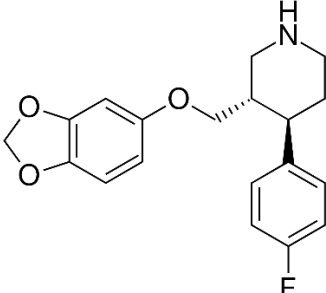
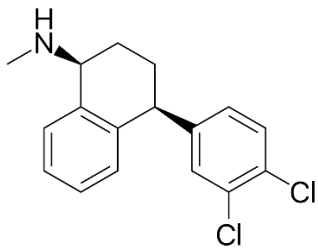
Cette nouvelle classe d'antidépresseurs est apparue en 1987, après celle des antidépresseurs tricycliques et des IMAOs.

Le mécanisme d'action des ISRS est mal connu. Néanmoins, il semble qu'ils augmentent les concentrations de sérotonine intrasynaptique en bloquant spécifiquement le transporteur de cette monoamine. Cela a pour conséquence l'augmentation du temps et de la concentration en sérotonine dans la fente synaptique. La sérotonine est alors plus susceptible de se lier au récepteur du neurone post-synaptique. Cela permet de compenser le faible taux de sérotonine chez les personnes dépressives.

Comme cité précédemment, l'origine de la dépression est en partie due à une déficience sérotoninergique. Celle-ci a des origines multiples, probablement due à l'interaction de nombreux facteurs intrinsèques (prédisposition génétique, facteurs de genre et de personnalité) et extrinsèques (ex. consommation de drogues, soutien social insuffisant et stress) (Jans, Riedel, Markus, & Blokland, 2007). De ce fait, les ISRS qui améliorent la transmission sérotoninergique sont le traitement de première intention (Bambico, Duranti, Tontini, Tarzia, & Gobbi, 2009; Bambico & Gobbi, 2008). En effet, ils possèdent une efficacité similaire aux autres classes, mais ayant l'avantage de présenter moins d'effets indésirables. Leurs effets indésirables touchent les fonctions de reproductions (troubles de la libido, de l'érection, de l'éjaculation) et de la digestion (nausées, constipation, vomissements), qui sont le plus souvent transitoires.

Les ISRS les plus fréquents sont le citalopram (SEROPRAM®), la fluoxétine (PROZAC®), la sertraline (ZOLOFT®), la paroxétine (DEROXAT®). Dans cette étude, nous nous sommes concentrés sur trois de ces ISRS : la fluoxétine, la paroxétine et la sertraline (Tableau IV).

Tableau IV : Présentation des molécules utilisées et leurs principales caractéristiques

Molécule	Fluoxétine	Paroxétine	Sertraline
<b>Formule</b>			
<b>Liaison protéique</b>	95%	95%	95%
<b>1/2 vie</b>	4 à 6 jours	24 heures	26 heures
<b>C<sub>max</sub> chez la femme enceinte</b>	3,1.10 <sup>-7</sup> M	3,6.10 <sup>-8</sup> M	3,6.10 <sup>-8</sup> M
<b>Indications</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-États dépressifs</li> <li>-Troubles obsessionnels compulsifs</li> <li>-Boulimie (en complément d'une psychothérapie)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-États dépressifs</li> <li>-Troubles obsessionnels compulsifs</li> <li>-Attaques de panique</li> <li>-Certaines manifestations de l'anxiété (anxiété généralisée, état de stress post-traumatique, phobie sociale)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-États dépressifs et pour prévenir les récives dépressives chez les personnes ayant présenté des épisodes dépressifs</li> <li>-Troubles obsessionnels compulsifs chez l'adulte et les enfants de plus de 6 ans</li> <li>-Attaques de panique avec ou sans agoraphobie</li> <li>-Certaines manifestations de l'anxiété (phobie sociale, état de stress post-traumatique)</li> </ul>
<b>Précautions pendant la grossesse</b>	À éviter pendant la grossesse, que si strictement nécessaire, passe dans le lait donc éviter l'allaitement ou le remplacer	À éviter pendant la grossesse, que si strictement nécessaire, passe très faiblement dans le lait donc allaitement envisageable	À éviter pendant la grossesse, que si strictement nécessaire, passe faiblement dans le lait donc allaitement envisageable

Sources : Résumé des caractéristiques du produit (RCP) et (Rampono, Proud, Hackett, Kristensen, & Ilett, 2004)

### 3. Les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine pendant la grossesse

La recommandation pour les femmes enceintes est de prendre un antidépresseur en monothérapie et à la dose efficace la plus faible (Yonkers et al., 2009). Une grande proportion de femmes traitées pour dépression arrête leur traitement au début de leur grossesse (Petersen, Gilbert, Evans, Man, & Nazareth, 2011). Une étude rapporte que 68% des femmes souffrant de dépression majeure arrête leur traitement durant le premier trimestre (Cohen et al., 2006).

## D. Le stress

### 1. Influence du stress sur l'équilibre hormonal

Lors d'un épisode de stress, le taux de glucocorticoïdes sanguins augmente. Le stress entraîne l'activation de l'hypothalamus qui sécrète alors une hormone, la corticolibérine (CRH). Cette hormone agit sur l'hypophyse ce qui stimule le relargage d'hormone corticotrope (ACTH). L'ACTH circulante agit sur les glandes surrénales et augmente la production et le relargage de glucocorticoïde (cortisol chez l'Homme; corticostérone chez le rat). Cette augmentation induit des changements métaboliques et physiologiques pour une réponse de type "fight or flight" (mise en alerte de l'organisme pour se préparer à la fuite ou au combat) (Lima et al., 2018). Ce processus s'autorégule en formant une boucle de rétrocontrôle négatif. Un taux élevé de cortisol inhibe la production de CRH au niveau du cerveau. Chez les patients déprimés, ce rétrocontrôle fonctionne mal, voire plus, d'où une production de CRH et donc de cortisol excessive.

Un stress chronique et/ou un haut taux de glucocorticoïde altèrent certains des récepteurs sérotoninergiques (notamment ceux présent dans l'hippocampe) (McGill)<sup>3</sup>. Le stress peut donc être impliqué dans le processus de la dépression.

### 2. Le stress et la grossesse

Chez le rat, l'exposition à un stress imprévisible pendant la gestation induit des symptômes d'anxiété et de dépression chez la descendance, qu'elle soit mâle ou femelle, ainsi que des changements structuraux et moléculaires au niveau de

---

<sup>3</sup> [http://lecerveau.mcgill.ca/flash/a/a\\_08/a\\_08\\_m/a\\_08\\_m\\_dep/a\\_08\\_m\\_dep.html#1](http://lecerveau.mcgill.ca/flash/a/a_08/a_08_m/a_08_m_dep/a_08_m_dep.html#1)

l'hippocampe et du thalamus (Soares-Cunha et al., 2018). Des évènements indésirables durant la grossesse sont corrélés à une augmentation des phénotypes anxieux et dépressifs chez le rat adulte et l'Homme adulte (Lupien, McEwen, Gunnar, & Heim, 2009; Weinstock, 2017).

Une méta-analyse d'études de cohortes montre une augmentation significative du risque de faible poids à la naissance, de naissance prématurée et de mortalité fœtale dans le groupe des femmes enceintes stressées par rapport au groupe des femmes enceintes non stressées (Lima et al., 2018).

Il est reconnu que la descendance des femmes exposées à différents stress durant la grossesse a un plus grand risque de développer une pathologie psychiatrique, dont l'hyper anxiété et la dépression (Van den Bergh, Van Calster, Smits, Van Huffel, & Lagae, 2008; Van Lieshout & Boylan, 2010). En particulier, un stress durant le développement du cerveau de l'embryon humain est associé à une augmentation du risque de psychopathologies dans la vie adulte (Huizink, Mulder, & Buitelaar, 2004). Les enfants nés de mère ayant des troubles de l'humeur peuvent présenter un développement neurocomportemental altéré (Van den Bergh, Mulder, Mennes, & Glover, 2005). Le stress ainsi que l'état mental de la mère jouent donc un rôle dans le développement de l'enfant.

Le stress chronique entraîne chez la mère des changements monoaminergiques dans plusieurs régions du cerveau de la mère ainsi que la diminution de la neurogenèse de l'hippocampe, entraînant une altération de l'activité des régions cérébrales liées aux cognitions et aux émotions. Ainsi qu'un dysfonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien, qui exacerbe lui-même les effets du stress, y compris ses effets sur l'activité sérotoninergique. Certains de ces effets sont inversés par un traitement antidépresseur, qui peut agir en augmentant la neurogenèse hippocampique de la mère (éventuellement en augmentant la neurotransmission monoaminergique), conduisant à la restauration de l'activité hypothalamo-hypophyso-surrénalien et de la réponse au stress, améliorant ainsi les changements sérotoninergiques (Mahar et al., 2014).

La neuroplasticité hippocampique est également diminuée chez une personne souffrant de stress chronique (Dranovsky & Hen, 2006). Étant donné que la neurogenèse hippocampique peut réguler l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (Schloesser, Manji, & Martinowich, 2009; Snyder, Soumier, Brewer, Pickel, &

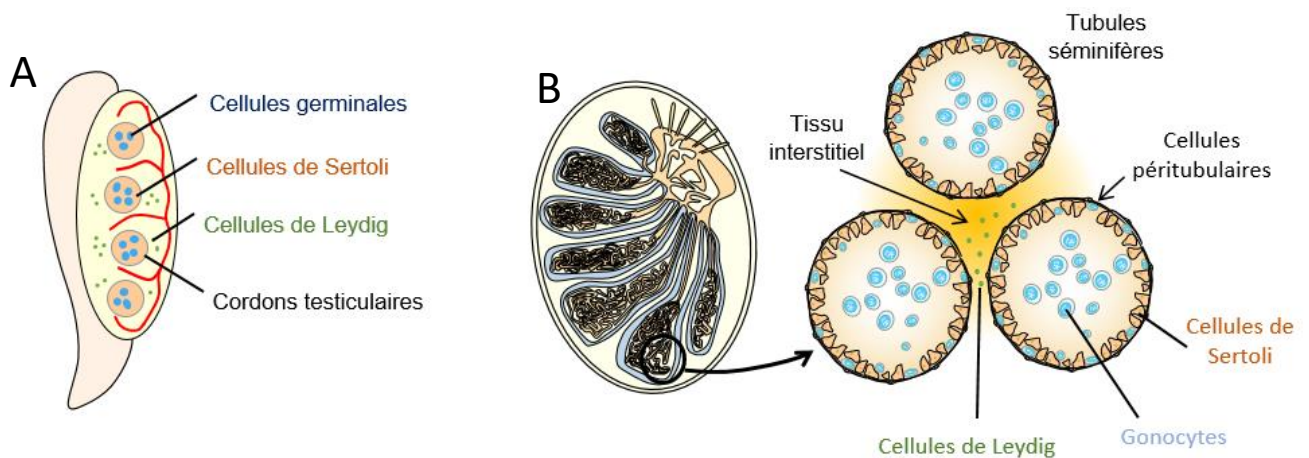
Cameron, 2011), cette conséquence du stress chronique peut prédisposer un individu à des épisodes dépressifs ultérieurs en réponse au stress (Mahar et al., 2014).

### E. La fonction testiculaire

Le testicule se différencie à partir du 13<sup>ème</sup> jour *post coïtum* (jpc) chez le rat et de la 5<sup>ème</sup> semaine de développement chez l'Homme.

Il existe une fenêtre de "programmation" de la différenciation sexuelle par les androgènes démontrée chez le rat. La différenciation morphologique via le canal de Wolff résulte de l'action des androgènes non pas au moment de la différenciation mais quelques jours plus tôt (fenêtre de masculinisation : 15,5-19,5 jpc). Il en résulte deux fenêtres : une précoce <19,5 jpc et une tardive >19 jpc. Cette fenêtre de programmation se retrouve également chez la femelle. Une déficience androgénique durant la fenêtre de programmation précoce peut induire des anomalies congénitales comme la cryptorchidie (qui est la non descente d'un ou des deux testicules) ou l'hypospadias (lorsque le méat de l'urètre se trouve sur la face inférieure du pénis) (Welsh et al., 2008). La distance ano-génitale (AGD) chez le rat nouveau-né fournit une «lecture» non invasive de l'action des androgènes dans la fenêtre de programmation et est corrélée avec l'incidence de l'hypospadias, de la cryptorchidie et du poids des vésicules séminales. Les résultats chez le rat suggèrent que ces troubles sont susceptibles de survenir en début de gestation en raison d'une programmation inadéquate par les androgènes. Cette étude montre que ce phénotype est dû à une action réduite des androgènes avant 19,5 jpc, dont l'action est essentielle pour le développement correct de tous les tissus reproducteurs mâles. L'exposition de femelles à la testostérone durant la fenêtre de programmation de masculinisation (15,5-19,5 jpc) montre une masculinisation du tractus reproducteur femelle, mais cela ne se produit pas si cette exposition se fait durant la fenêtre tardive (19,5-21,5jpc). La descente testiculaire est également programmée par les androgènes lors de la fenêtre de programmation précoce alors que la descente testiculaire se passe beaucoup plus tardivement (lors de la 3<sup>ème</sup> semaine postnatale chez le rat) (Welsh et al., 2008). Considérant donc que les périodes prénatale et postnatale précoce sont critiques pour le développement testiculaire, tout déséquilibre hormonal durant ces périodes peut être néfaste (de Oliveira et al., 2013).

Une telle fenêtre de programmation est encore à prouver chez l'Homme mais se situerait entre 8 et 14 semaine de gestation. La cryptorchidie et l'hypospadias sont fréquents chez les nouveau-nés garçons, se manifestant respectivement chez 2,4% - 9% et 0,4% - 1% des garçons à la naissance (Boisen et al., 2005, 2004). En outre, les résultats encouragent fortement la mesure de l'AGD chez l'Homme comme une lecture de l'action androgénique spécifiquement dans la fenêtre de programmation de la masculinisation, car l'AGD peut être prédictive du syndrome de dysgénésie testiculaire chez l'adulte (Welsh et al., 2008).



*Figure 4 : Schéma de présentation du testicule. A) Testicule foetal. B) Testicule adulte*

La fonction essentielle du testicule foetal est de sécréter deux hormones très importantes dans la différenciation des voies génitales mâles que sont l'hormone anti-müllérienne (AMH) par les cellules de Sertoli et la testostérone sécrétée par les cellules de Leydig (Figure 4). L'AMH est responsable de la régression des canaux de Müller (précurseur du tractus génital féminin) et la testostérone permet le maintien et le développement des canaux de Wolff (précurseur du tractus génital mâle), qui deviendront par la suite des organes sexuels comme l'épididyme ou encore les canaux déférents. Cela correspond à une organisation anatomique particulière : un tissu conjonctif interstitiel vascularisé qui contient les cellules de Leydig ; et un tissu épithélial avasculaire, formé de cordons testiculaires, contenant les cellules de Sertoli ainsi que les gonocytes (qui sont les cellules germinales non matures).



À la puberté et chez l'adulte, c'est principalement la testostérone qui va jouer un rôle dans la spermatogénèse et la mise en place des caractères sexuels secondaires. Le taux d'AMH chute à la puberté et est nul après celle-ci (Figure 5). Il y a donc une différence de fonction du testicule entre le fœtus et l'adulte. Chez ce dernier, les deux fonctions essentielles du

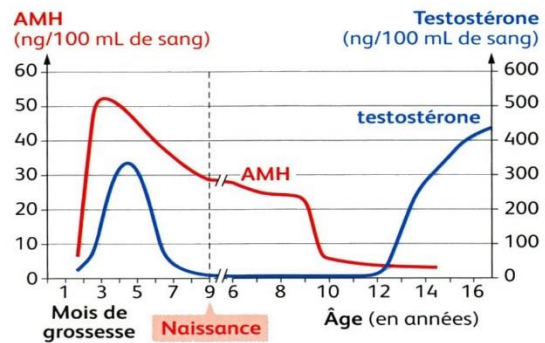


Figure 5 : Taux de testostérone et d'AMH chez le fœtus et l'homme en fonction de l'âge. Source : Unisciel

testicule sont la spermatogénèse (mise en place et développement des cellules germinales) et la fonction endocrine (notamment la synthèse et la sécrétion des hormones stéroïdes).

Chez l'adulte, on retrouve des récepteurs à la sérotonine dans l'épididyme où ils jouent un rôle dans la maturation du sperme. Des récepteurs sérotoninergiques se trouvent également dans les cellules de Sertoli et sont probablement impliqués dans la spermatogénèse (Syed, Gomez, & Hecht, 1999). Les ISRS pourraient donc influencer les paramètres spermatiques.

## F. La grossesse, le stress et les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine.

### 1. Effets chez le rat

#### a. Exposition chez le rat adulte

L'exposition à la fluoxétine chez le rat mâle adulte est associée à une diminution de la spermatogénèse, de la mobilité et de la densité spermatique, mais également du poids des organes reproducteurs et du taux d'hormones (testostérone et FSH). De plus, le taux de fécondation des femelles par les mâles exposés diminue (Bataineh & Daradka, 2007). La fluoxétine peut donc interférer de manière négative avec le système reproducteur du rat mâle adulte. D'après une étude, la fluoxétine seule augmente le poids des rats par rapport aux rats témoins. Le gain de poids est similaire entre le groupe exposé à la fluoxétine associée au stress et le groupe témoin. Enfin,

une diminution du poids est observée dans le groupe exposé au stress seul par rapport au groupe témoin (Sakr, Abbas, Elsamanoudy, & Ghoneim, 2015a).

Une diminution de la testostérone sérique, du nombre de spermatozoïdes, de la mobilité spermatique ainsi qu'une augmentation des anomalies spermatiques sont observées chez les rats exposés au stress et, dans une plus grande mesure, ceux exposés à la fluoxétine associée au stress. Une augmentation du stress oxydant intratesticulaire est associée au stress et une forte augmentation est corrélée à la fluoxétine associée au stress (Sakr, Abbas, Elsamanoudy, & Ghoneim, 2015b).

Chez la rate, la fluoxétine influence le cycle ovarien, le comportement sexuel, le taux de progestérone et d'estradiol (E2) (Matuszczyk, Larsson, & Eriksson, 1998). Une embryotoxicité modérée a été mise à jour mais uniquement à des doses toxiques chez la mère (Baldwin, Davidson, Pritchard, & Ridings, 1989). L'administration de paroxétine à une dose de 10 mg/kg *per os* durant la dernière semaine de gestation, associée à un stress quotidien, met en évidence une diminution de la durée de gestation, du gain de poids de la rate durant sa gestation associée au stress prénatal (mais pas constaté avec la paroxétine seule), et une diminution du poids à la naissance de la descendance avec la paroxétine associé au stress. De plus, une augmentation d'un facteur 10 de la mortalité infantile durant la période de pré sevrage (donc néonatal) est associée à la paroxétine (Van den Hove et al., 2008).

#### *b. Exposition pendant la vie foetale*

Le nombre de grossesses et de fœtus viables diminue également sous l'effet de la fluoxétine (Bataineh & Daradka, 2007). De plus, la fluoxétine et son principal métabolite, la norfluoxétine, peuvent franchir la barrière placentaire chez le rat et atteindre l'embryon et le fœtus durant et après l'organogenèse (Pohland, Byrd, Hamilton, & Koons, 1989). Une relation entre la dose et le retard de gain de poids a été trouvé chez la rate gestante. Une augmentation significative des pertes post implantatoires à haute dose (43 mg/kg) a été mise en évidence ainsi qu'une relation entre la dose et des anomalies squelettiques indiquant un retard de développement principalement associé à la réduction du poids foetal (Wen et al., 2006). Une exposition aux ISRS via le placenta et la lactation peut inhiber et retarder le développement testiculaire et avoir des effets néfastes sévères sur les paramètres testiculaires important dans la mise en place de la spermatogenèse chez l'adulte (de Oliveira et al., 2013; Vieira et al., 2013). Après une exposition *in utero* aux ISRS chez le rat, une

diminution de la spermatogénèse et de la population de cellules de Sertoli est constatée (Aggarwal et al 2012; Silva Junior et al 2013). Hooley et al. 2009 rapporte que quand les cellules de Sertoli sont affectées et que leur nombre diminue, un rétrécissement des tubes séminifères se produit due à une diminution des cellules germinales. Une corrélation a été démontrée entre le nombre de cellule de Sertoli et l'efficacité de la spermatogénèse (ORTH, GUNSALUS, & LAMPERTI, 1988).

Les rats nés de mères ayant été exposées oralement par gavage du 13<sup>ème</sup> jour de gestation (13 jpc) au 21<sup>ème</sup> jour post natal (21 jpn) à différentes doses de fluoxétine (de 7,5 à 20 mg/kg), présentent une diminution du poids testiculaire - le poids du testicule ayant une relation positive avec la fonction testiculaire et la spermatogénèse (Russell, Ettlin, Hikim, & Clegg, 1993) -, du poids de l'épididyme ainsi que du poids de la glande séminale. Cela diminue également la longueur, le volume et l'épithélium des tubules séminifères (de Oliveira et al., 2013; Monteiro Filho et al., 2014; Vieira et al., 2013). Une fois adultes, ces rats présentent une diminution de la production de sperme sans que cela n'affecte l'efficacité spermatique (Monteiro Filho et al., 2014). Au niveau histologique, l'exposition au stress seul et à la fluoxétine combinée au stress augmente la dégénérescence des spermatogonies (gonocytes ayant subi la mitose), des cellules qui tapissent les tubules séminifères, et la lumière de ces tubules est remplie par des cellules germinales anormales. Des cellules de Sertoli endommagées et de cellules de Leydig nécrosées ont également été observées (Sakr et al., 2015b).

## 2. Effets chez l'Homme

### a. Chez l'adulte

Chez la femme traitée par ISRS, un élargissement de la poitrine et un changement dans la longueur du cycle menstruel est observée (Amsterdam, Garcia-España, Goodman, Hooper, & Hornig-Rohan, 1997) suggérant un effet sur la balance hormonale. De plus, la liaison de la sérotonine à son récepteur au niveau du cerveau diminue la libido (Ferguson, 2001). Chez l'homme, un traitement chronique avec n'importe quel ISRS diminue la concentration et la mobilité spermatique et augmente les cassures simples brin de l'ADN dans les cellules spermatiques. Mais tout cela est réversible à l'arrêt du traitement (Safarinejad, 2008b; Tanrikut, Feldman, Altemus, Paduch, & Schlegel, 2010; Tanrikut & Schlegel, 2007).

### *b. Chez le fœtus et l'enfant*

La fluoxétine et la norfluoxétine sont hautement solubles dans les lipides, peuvent traverser la barrière placentaire (fœtus) et sont excrétés dans le lait (Heikkine, Ekblad, & Laine, 2002; Heikkinen, Ekblad, Palo, & Laine, 2003). La sertraline et la paroxétine peuvent également traverser la barrière placentaire mais sont moins excrétées dans le lait (Nagai et al., 2013; Paulzen, Goecke, Stickeler, Gründer, & Schoretsanitis, 2017). Les mères dépressives traitées durant la grossesse par un ISRS présentent une augmentation du risque d'enfant ayant un petit poids à la naissance et un stress respiratoire (Oberlander, Warburton, Misri, Aghajanian, & Hertzman, 2006). Les femmes gestantes traitées par un ISRS augmentent le risque d'altération du développement neurocomportemental du fœtus (Mulder, Ververs, de Heus, & Visser, 2011). L'exposition fœtale à la fluoxétine et à la paroxétine est associée à un plus haut risque d'anomalies congénitales. Une association a été montrée entre l'exposition à la fluoxétine et la survenue de défaut cardiaque et de craniosynostosis ainsi qu'entre une exposition à la paroxétine et la survenue d'anencéphalie, de défaut cardiaque, d'omphalocèle et de gastroschisis (Louik, Lin, Werler, Hernández-Díaz, & Mitchell, 2007; Reefhuis, Devine, Friedman, Louik, & Honein, 2015). Avec la sertraline, le risque d'avoir un enfant ayant un défaut septal, atrial ou ventriculaire est augmenté de 34%. Et le risque de craniosynostosis est doublé (Bérard, Zhao, & Sheehy, 2015). Une étude basée sur l'EUROCAT (European Surveillance of Congenital Anomalies), incluant 2,1 millions de naissances entre 1995 et 2009, démontre un lien entre l'utilisation des ISRS durant le premier semestre et l'augmentation du risque de défaut cardiaque congénital, de dysplasie rénale, plus courante sous fluoxétine, d'hypospadias sous citalopram et de malformations congénitale des membres inférieurs associé à la sertraline, la paroxétine et le citalopram (Ban et al., 2014). Le PNAS (poor neonatal adaptation syndrome = reflex de succion faible, irritabilité, tonus musculaire faible, pleurs faibles ou inexistant, sommeil perturbé, hypoglycémie) affecte de 20 à 77% des enfants exposés aux ISRS durant la vie fœtale (Oberlander et al., 2004). Certaines études indiquent une augmentation de ce risque avec la paroxétine ou la fluoxétine (Bałkowiec-Iskra, Mirowska-Guzel, & Wielgoś, 2017; Kieviet, Dolman, & Honig, 2013). Une augmentation du risque d'hypospadias, notamment avec les ISRS, a été trouvée mais n'est pas statistiquement significative (Reis & Källén, 2010).

## G. Influence sur l'équilibre hormonal stéroïdien

L'exposition aux ISRS diminue les taux sériques de LH, FSH et de testostérone chez l'homme adulte et augmente le taux de prolactine (Safarinejad, 2008a).

La 17 $\beta$ -œstradiol (E2) est une hormone stéroïdienne sexuelle active qui joue un rôle important durant la croissance et le développement du fœtus, notamment dans le contrôle de la différenciation sexuelle et l'établissement des zones du cerveau dans le dimorphisme sexuel (McCarthy, 2008). Des études sur le poisson rouge montrent que la fluoxétine interfère avec la signalisation de E2 soit sur E2 directement soit sur son récepteur nucléaire (ERs) résultant une augmentation de E2 et de l'aromatase gonadique (CYP19A1) circulant et une diminution de la testostérone chez le poisson mâle après 2 semaines de traitement. Chez la femelle poisson, une diminution de l'expression de ER dans l'hypothalamus et une augmentation de E2 circulant sont observées.

Dans la lignée cellulaire H295R de carcinome surrénalien humain, une augmentation de la réponse transcriptionnelle aux ER nucléaires est observée après traitement à la fluoxétine. La fluoxétine à submicrodose est capable d'augmenter le taux de E2, suggérant une capacité à interférer avec la signalisation œstrogénique en augmentant le taux de E2 (Lupu et al., 2017). La fluoxétine diminue tous les corticostéroïdes, les androgènes et les progestagènes à partir de 3,75  $\mu$ M (Cmax: 0,97  $\mu$ M). La diminution des progestagènes indique que la stéroïdogénèse est affectée au niveau de l'enzyme de clivage de la side-chain du cholestérol (CYP11A1) ou avant. Cependant, la fluoxétine augmente les taux de E1 et de E2. De manière générale, la fluoxétine semble inhiber la production des stéroïdes à un stade précoce mais peut augmenter l'activité de CYP19 en stimulant la production d'estrogènes. La paroxétine augmente les progestagènes, les corticostéroïdes (sauf CORNE) à partir de 2 $\mu$ M et diminue les androgènes (à 10 $\mu$ M) (Cmax 1,6 $\mu$ M). Tout cela oriente l'effet de la paroxétine sur la réaction CYP17-lyase qui convertit les progestagènes en androgènes. Elle n'altère pas les niveaux de E2 mais augmente ceux de E1 (>1 $\mu$ M) ce qui indique une faible stimulation de l'aromatase. Enfin, de 1,0 à 7,5  $\mu$ M (Cmax 0,65 $\mu$ M) la sertraline diminue les progestagènes et les corticostéroïdes ainsi que les androgènes. Cependant, une nette augmentation des estrogènes est observée à partir de 3,14  $\mu$ M (E1 200% et E2 300%). Tout cela montre les capacités des ISRS à stimuler

l'aromatase (CYP19) à des concentrations supra-thérapeutiques (Hansen, Larsen, Sørensen, Halling-Sørensen, & Styrihave, 2017).

La sertraline, la fluoxétine et la paroxétine sont capables d'interférer avec l'enzyme aromatase et potentiellement de changer la balance entre androgènes et estrogènes. De plus, ils altèrent la sécrétion de stéroïdes des cellules H295R. Au niveau hormonal, à partir de 3,14µM la fluoxétine augmente l'estradiol (E2), diminue la progestérone et la testostérone. La paroxétine augmente l'estrone (E1) et la progestérone et diminue la testostérone. Enfin, la sertraline augmente l'estrone (E1) et l'estradiol (E2) et diminue la progestérone et la testostérone. Donc ces 3 antidépresseurs interfèrent avec la stéroïdogénèse. L'aromatase étant moins active chez l'homme que chez la femme, on peut supposer que les femmes sont plus sensibles aux médicaments qui jouent sur l'aromatase que les hommes (Jacobsen, Hansen, Nellemann, Styrihave, & Halling-Sørensen, 2015).

#### H. Objectifs et stratégies mises en place

Les études montrent que la dépression pendant et après la grossesse peut avoir des répercussions néfastes pour l'enfant. Il en est de même pour un stress pendant la grossesse. Pour traiter la maladie et éviter de tels répercussions, des antidépresseurs sont prescrits. Cependant, de nombreuses études chez le rat montrent qu'une exposition fœtale aux ISRS peut induire des effets indésirables sur les organes reproducteurs mâles et leur fonction. Les études chez l'Homme montrent que ces antidépresseurs affectent les fonctions de reproduction chez l'adulte et possiblement chez la descendance.

Alors que le stress et les antidépresseurs sont connus pour leurs effets néfastes sur la descendance, on peut se demander s'ils ont des effets délétères synergiques ou antagonistes sur la descendance. Par conséquent, le premier objectif de mon stage a été d'évaluer l'impact à court terme d'une exposition *in utero* à la fluoxétine et/ou au stress chez le rat.

Alors que les hormones testiculaires (testostérone et AMH) sont capitales pour la masculinisation du tractus génital mâle, et qu'une altération de leur production est associée à un risque accru de développer un syndrome de dysgénésie testiculaire, il n'existe pas à notre connaissance d'études ayant évalué les effets directs de ces molécules sur le testicule fœtal. Par conséquent, le deuxième objectif a été d'évaluer

les effets d'antidépresseurs couramment prescrits aux femmes enceintes sur le testicule fœtal humain en observant s'ils induisaient des modifications de la structure testiculaire et/ou de la production et du taux d'hormones testiculaires.





## II. Matériels & Méthodes

### A) Traitement et collecte des organes chez le rat

L'utilisation des animaux a été validée au préalable par un comité d'éthique. Les testicules sont issus de rats Sprague-Dawley dont les mères ont été exposées à la fluoxétine (10mg/kg/j) et/ou au stress durant la gestation. Les testicules exposés sont collectés dans le cadre d'une collaboration. L'exposition à la fluoxétine s'est faite par des biscuits fourrés à la vanille contenant une solution à X mg/mL, préparée à partir d'une solution à 10mg/mL, de 5 jours *post-coitum* (5 jpc) à 2 jours post-natal (2 jpn) et, pendant cette même période, certains animaux ont reçu un stress quotidien imprédictible (exposition à une lumière vive, à une litière humide durant la nuit, privation de nourriture, rotation de la cage, ...). Quatre groupes sont ainsi constitués : un groupe contrôle, un groupe stressé, un groupe exposé à la fluoxétine et un groupe exposé à la fluoxétine et au stress. La descendance a été pesée, sacrifiée par décapitation à 2 jpn, le sang a été collecté et les testicules disséqués et pesés. Chaque animal ainsi que ses testicules ont été pesés. Après la pesée des testicules, l'un a été congelé et l'autre a été fixé au liquide de Bouin pendant 1h puis stockés dans l'alcool 70°. La distance ano-génitale a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse électronique. L'index de distance ano-génitale a été calculé (ce qui correspond à la distance ano-génitale de l'animal rapportée à la racine cubique de son poids).

### B) Collecte et culture des organes chez le fœtus humain

L'utilisation des testicules fœtaux humains ayant été préalablement validée par un comité d'éthique. Les testicules fœtaux humains utilisés sont issus de produits d'interruption volontaire de grossesse (IVG) (de 10 à 14 semaines d'aménorrhées correspondant à 8 à 12 semaines de développement (SD)) dont les mères ont consenti à leur don. Les testicules sont identifiés dans les aspirats d'IVG, mis de cotés dans une solution saline tamponnée (Phosphate Buffer Saline, PBS). Ils sont coupés en morceau d'environ 1 mm<sup>3</sup> puis mis en culture organotypique à l'interface air/liquide nutritif (culture sur la membrane poreuse inerte d'inserts (Falcon®)).

La culture se fait sur 4 jours : les premières 24h, les explants sont mis en contact avec le milieu de culture (milieu M199) contenant des antibiotiques (Gentamicine à 50

$\mu\text{g/mL}$  + Amphotéricine B à  $2,5 \mu\text{g/mL}$ ) et de l'hCG (hormone chorionique gonadotrope pour stimuler la sécrétion des stéroïdes des gonades fœtales) à  $0.1 \text{ UI/mL}$ . Le milieu est renouvelé toutes les 24h et la condition de traitement est ajoutée (pour chaque condition ; un contrôle sans le traitement mais avec le diméthylsulfoxyde (DMSO) et 4 concentrations de  $10^{-8}$  à  $10^{-5}\text{M}$  du traitement). Le milieu changé est conservé au congélateur pour analyses ultérieures. Il en est de même pour J48h et J72h. À l'issue de la culture, les explants sont fixés au liquide de Bouin pendant 1h puis stockés dans l'alcool  $70^\circ$ .

### C) Histologie

Chez le rat, les testicules suivent une étape de déshydratation en vue de leur inclusion dans la paraffine. Cette étape comprend plusieurs bains d'alcools de concentrations croissantes ( $70^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $95^\circ$ ,  $100^\circ$ ), deux bains de butanol, un bain de butanol 50%/paraffine 50% et enfin deux bains de paraffine. Ils sont ensuite inclus dans la paraffine à l'aide de cupules en inox et d'un distributeur de paraffine (Kunz instruments® WD-4 et CP-4) puis stockés en chambre froide ( $+4^\circ\text{C}$ ) en attente de leur coupe. Des coupes histologiques de  $5\mu\text{m}$  sont réalisées à l'aide d'un microtome (Shandon® FINESSE), et chaque coupe sur 21 est recueillie sur des lames porte objet (Polysine®) et ce sur 7 lames (7 séries de x niveaux de coupe). (Figure 6. A).

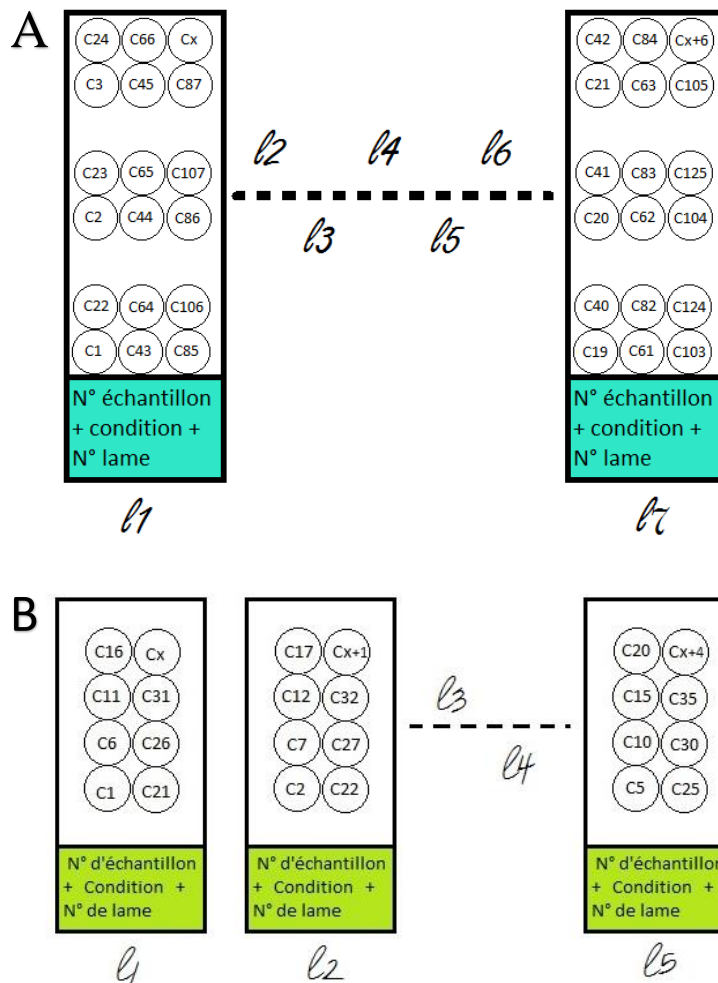


Figure 6 : A) Schéma d'organisation des coupes de testicules de rats, B) Schéma d'organisation des coupes de testicules fœtaux humains

Les explants humains sont colorés par une solution d'éosine à saturation dans l'éthanol 70°. Ils suivent ensuite les mêmes étapes de déshydratation et d'inclusion dans la paraffine que les testicules de rat. Des coupes histologiques de 5µm sont réalisées. Chaque coupe sur 5 est recueillie sur des lames porte objet (Polysine®) et ce sur 5 lames (5 séries de x niveaux de coupe). (Figure 6. B)

#### D) Marquages immuno histochimiques

Chez le rat, six types de marquages immuno histochimiques ont été réalisés ; deux marquages de processus physiologiques (prolifération et apoptose) et quatre marquages cellulaires (gonocyte, cellule de Sertoli, cellule de Leydig et cellule péricubulaire). (Voir tableau V)

Chez l'homme, quatre types de marquages immuno histochimiques ont été réalisés pour mettre en évidence soit des processus physiologiques (prolifération et apoptose) soit des types cellulaires (cellule de Sertoli et cellule de Leydig). (Voir tableau V)

*Tableau V : Anticorps utilisés pour les marquages immuno histochimiques*

Marquage cellulaire / Processus physiologique	Dénomination	Anticorps primaire	Démasquage	Anticorps secondaire	Homme / Rat
Prolifération	Ki 67	souris (Dako#M7240)	Tampon citrate 10 mM	anti souris (Dako#E0433).	Homme
	PCNA	souris (Dako#M0879)	Tampon citrate 10 mM	anti souris (Dako#E0433)	Rat
Apoptose	Caspase 3 clivée	lapin (Cell Signaling#9661S)	Tampon Tris 10 mM / EDTA 1 mM	anti lapin (Dako#E0432)	Homme, rat
Cellule germinale	DDX4	lapin (ABCam#AB13840)	Tampon citrate 10 mM	anti lapin (Dako#E0432)	Rat
Cellule de Sertoli	AMH	chèvre (Santa Cruz#J1712)	Tampon citrate 10 mM	anti lapin (Dako#E0432)	Homme, rat
Cellule de Leydig	CYP11A1	lapin (Sigma#B84291)	Tampon citrate 10 mM	anti lapin (Dako#E0432)	Homme, rat
Cellule péritubulaire	$\alpha$ -SMA	souris (Dako#M0851)	Tampon citrate 10 mM	anti souris (Dako#E0433)	Rat

Les lames sont déparaffinées et réhydratées par des bains successifs de solvant (3 bains d'OTTIX®), puis des bains d'alcools de concentration décroissante (100°, 95°, 90°, 70°, 60° et 50°) ainsi qu'un bain d'eau distillée à l'aide d'un automate (Shandon® Varistain 24-3). Les épitopes des échantillons sont démasqués grâce à un tampon citrate 10 mM, pH 6.0 (pour Ki67, AMH, DDX4, PCNA,  $\alpha$ -SMA, CYP11A1) ou un tampon Tris/EDTA 10/1 mM, pH 9.0 (pour la caspase 3 clivée) par incubation de 30 min à 1h dans un bain marie à 80°C, refroidies à température ambiante puis rincées avec du PBS 1X. Les sites antigéniques sont saturés par une solution PBS - 10%BSA pendant 20 minutes à température ambiante (pour AMH, Caspase 3 clivée). Entre chaque incubation, les lames sont rincées avec du PBS 1X. Les lames sont alors incubées avec l'anticorps primaire pour la nuit en chambre froide (4°C). Elles sont

ensuite incubées avec l'anticorps secondaire biotinylé pour 2 heures à température ambiante. Puis une amplification est réalisée à l'aide d'un complexe Avidine-péroxydase biotinylée (ABC Kit – Vectastain, Vector Laboratories®) pendant 1 heure. L'activité peroxydase est révélée par l'ajout d'un substrat, le 3,3'diaminobenzidine (DAB, Sigma-Aldrich®) pendant 3 à 5 minutes. Une contre-coloration à l'Hémalun de Masson (1min) est réalisée suivie d'un bain d'eau saturée en Carbonate de Lithium (1 min). Enfin, les lames sont déshydratées puis montées sous lamelles à l'aide d'une résine (Eukitt®).

### E) Stéréologie chez le rat

Le comptage des différentes populations cellulaires des testicules de rat a été réalisé après immunohistochimie à l'aide d'un microscope Olympus BX51 équipé d'une platine motrice et du logiciel MERCATOR® (Explora Nova). Pour chaque condition, 4 ou 5 individus ont été sélectionnés, de portées différentes, les mêmes lames ont été utilisées (13) pour avoir un niveau de coupe similaire entre elles. Sur chaque lame se trouvent deux testicules différents, et pour chaque testicule deux niveaux de coupes ont été comptés.

Le marquage des cellules péritubulaires ( $\alpha$ -SMA), délimitant les cordons testiculaires, a permis le comptage des cellules de Sertoli et des gonocytes par des critères morphologiques.

Le marquage des cellules de Leydig (par CYP11A1 qui est spécifique des cellules de Leydig dans le testicule) a permis leur comptage, les cellules marquées étant dans ce cas les cellules d'intérêt (Figure 7).

Pour déterminer la densité des différents types cellulaires pour chaque animal, la somme totale de chaque population cellulaire a été rapportée au cumul des surfaces analysées. Les ratios des cellules de Sertoli correspondent au nombre de cellules de Sertoli d'une coupe de testicule rapporté à la surface de la coupe du testicule analysé. Puis la moyenne des sommes de ces ratios pour chaque condition est faite. Il en est de même pour les ratios des gonocytes et des cellules de Leydig. Pour les ratios des gonocytes par rapport aux cellules de Sertoli, les ratios des deux populations cellulaires précédemment calculés ont été utilisés. Puis la moyenne des sommes de ces ratios a été faite pour chaque condition.

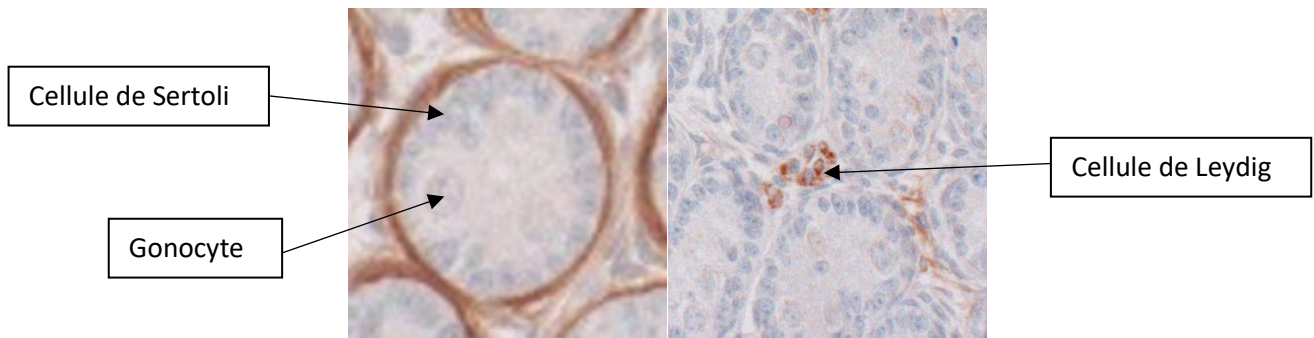


Figure 7 : illustration des structures cellulaires observables par immunohistochimies

## F) Dosages hormonaux chez l'humain :

Les hormones sont mesurées dans les milieux de cultures à J0 et J72h. J0 correspond aux 24 premières heures de culture sans traitement et sert de point de référence en termes de production hormonale.

### 1. Dosage de la testostérone

Le dosage de la testostérone fœtale se fait par méthode radiologique directe (RIA : Radio Immuno Assay). Le principe de cette méthode est le dosage par compétition ; l'antigène à doser entre en compétition avec un antigène marqué à l'iode ( $I^{125}$ ) pour la liaison avec l'anticorps fixé à la paroi des tubes (Kit IMMUNOTECH Ref. IM1119, Beckman Coulter) (Figure 8).

Cinq  $\mu\text{L}$  de milieu de culture sont incubés dans des tubes recouverts d'anticorps. Puis on ajoute 300 $\mu\text{L}$  de traceur testostérone marqué à l'iode  $I^{125}$ . Après 1 heure d'incubation à température ambiante sous agitation (230 rotations par minute (rpm)), le contenu des tubes est aspiré. Les tubes sont rincés avec une solution de rinçage puis la solution est aspirée. Enfin, la radioactivité est mesurée par un compteur  $\gamma$  (PerkinElmer® 2470 Automatic Gamma Counter). Une courbe d'étalonnage est établie afin de déterminer les valeurs inconnues. Plus la radioactivité est élevée, moins l'échantillon est concentré en testostérone.

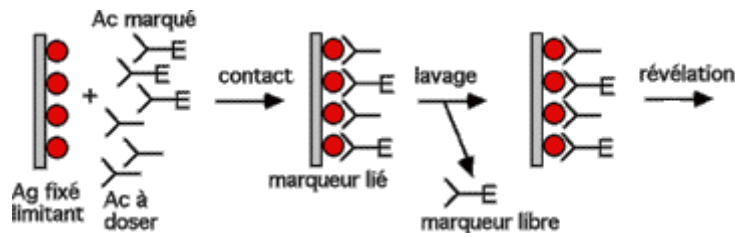


Figure 8 : Schéma du principe de dosage par compétition

## 2. Dosage de l'AMH

Le dosage de l'AMH se fait par méthode enzymatique (ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) à l'aide de kit AMH GenII ELISA (Beckman Coulter®). Les échantillons sont dilués 4 fois puis incubés à température ambiante pendant 1h à 130 rpm dans une plaque 96 puits dont les parois sont recouvertes d'un anticorps dirigé contre l'AMH. Après chaque incubation la plaque est lavée par du tampon de lavage. Ensuite la plaque est incubée à température ambiante pendant 1h à 130 rpm avec une solution d'anticorps-biotine. Puis une solution de streptavidine-enzyme est ajoutée suivi d'une incubation à température ambiante pendant 30 minutes à 130 rpm. Une solution de 3,3',5,5'-Tétraméthylbenzidine (TMB) est ajoutée pour déclencher le virage colorimétrique. En 5 à 8 minutes, la solution dans chaque puits se colore en bleu et, enfin, une solution STOP acide est ajoutée et colore les solutions en jaune. La lecture de la plaque se fait par absorption à 2 longueur d'ondes (soustraction de l'absorbance à 450 nm moins celle à 655 nm (bruit de fond)) à l'aide d'un BioRAD® (IMark Microplate reader). Une courbe d'étalonnage est établie afin de calculer les valeurs des échantillons.

### G) Méthodologie et traitement statistique des données

Les résultats des comptages obtenus chez le rat sont exprimés en fonction de la surface de la coupe testiculaire de chaque individu. La moyenne des sommes des populations cellulaires corrigées par la surface du testicule par condition et par expérience est utilisée. Les moyennes ainsi obtenues sont comparées par le test non paramétrique de Kruskal-Wallis adapté pour des échantillons non appariés et de faibles effectifs. Les données sont ensuite comparées 2 à 2 par le test de Dunn. Le

logiciel utilisé pour réaliser les statistiques est GraphPad Prism 5 (GraphPad Software).

Les résultats des dosages obtenus chez le fœtus humain sont exprimés par le ratio 72h/J0. Ils sont réunis en moyenne par condition et par expérience. Les moyennes ainsi obtenues sont comparées par le test non paramétrique de Kruskal-Wallis adapté pour des échantillons non appariés et de faibles effectifs. Les données sont ensuite comparées 2 à 2 par le test de Dunn. Le logiciel utilisé pour réaliser les statistiques est GraphPad Prism 5 (GraphPad Software).



### III. Résultats

#### A) Impact des antidépresseurs sur les caractéristiques anatomiques du rat

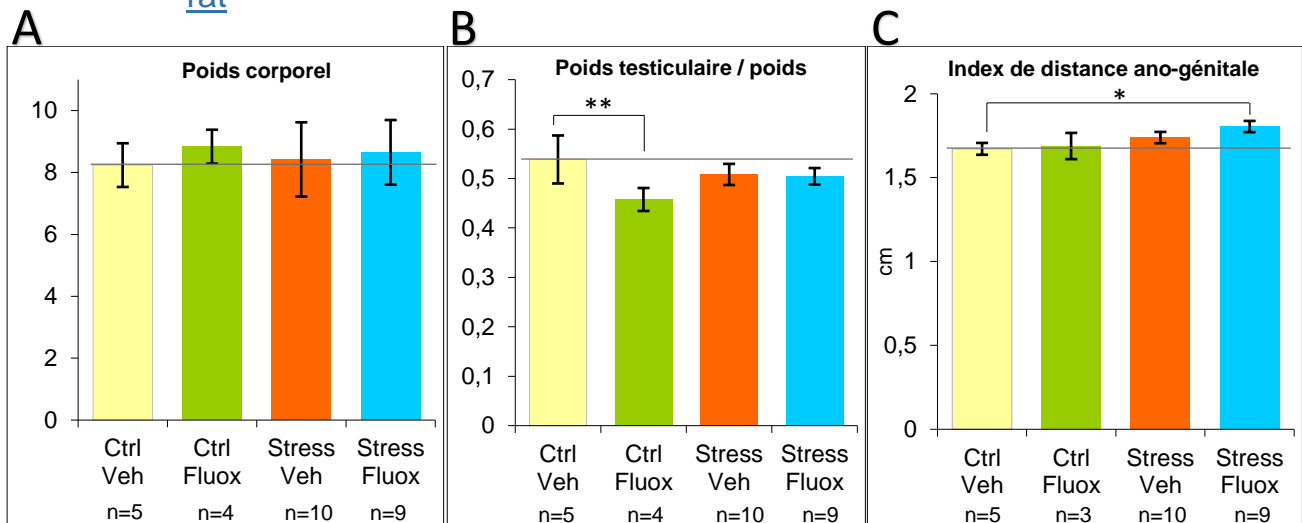


Figure 9 : Impact de la fluoxétine et du stress sur les caractéristiques anatomiques chez le rat A) poids corporel, B) poids testiculaire rapporté au poids corporel, C) index de la distance ano-génitale. Ctrl Veh : groupe contrôle ayant reçu le véhicule (solvant), Ctrl Fluox : groupe contrôle ayant reçu fluoxétine, Stress Veh : groupe stressé ayant reçu le véhicule (solvant), Stress Fluox : groupe stressé ayant reçu la fluoxétine. Kruskal-wallis ( $p \leq 0,05$ ).

Le calcul de la moyenne du poids corporel par portée ne montre pas de différence entre les différents groupes (Figure 9. A). Le calcul du poids testiculaire ramené au poids du corps montre une diminution significative du groupe exposé à la fluoxétine par rapport au groupe contrôle, par le test de Dunn ( $p \leq 0,01$ ). Il n'y a pas de différence entre les autres groupes (Figure 9. B). La moyenne de l'index des distances ano-génitales montre une augmentation significative de cette distance dans le groupe ayant été exposé à la fluoxétine et au stress par rapport au groupe contrôle (test de Dunn ( $p \leq 0,05$ )) (Figure 9. C). On ne remarque pas de différence entre les autres groupes.

L'exposition *in utero* à la fluoxétine, au stress ou les deux associés ne semble pas modifier le poids corporel des rats. Cependant, la fluoxétine seule diminue significativement le poids des testicules (rapportés au poids corporel). De plus, la fluoxétine associée au stress augmente significativement l'index de la distance ano-génitale.

## B) Impact des antidépresseurs sur la différenciation morphologique du testicule de rat

Pour comparer les différents groupes au témoin, plusieurs marquages ont été réalisés. Deux approches ont été utilisées suivant le marquage ; une méthode observationnelle pour les marquages avec  $\alpha$ -SMA et PCNA et une méthode quantitative par comptage cellulaire pour les marquages DDX4, AMH et CYP11A1.

Le marquage de cellules péritubulaires par  $\alpha$ -SMA permettant de visualiser les cordons testiculaires ne révèle pas de différence entre les différents groupes (Figure 10). Les cellules péritubulaires sont présentes et délimitent bien les cordons testiculaires dans chaque groupe.

La fluoxétine, le stress ou l'association des deux ne semblent pas modifier les cellules péritubulaires du testicule et donc la structure des cordons testiculaires.

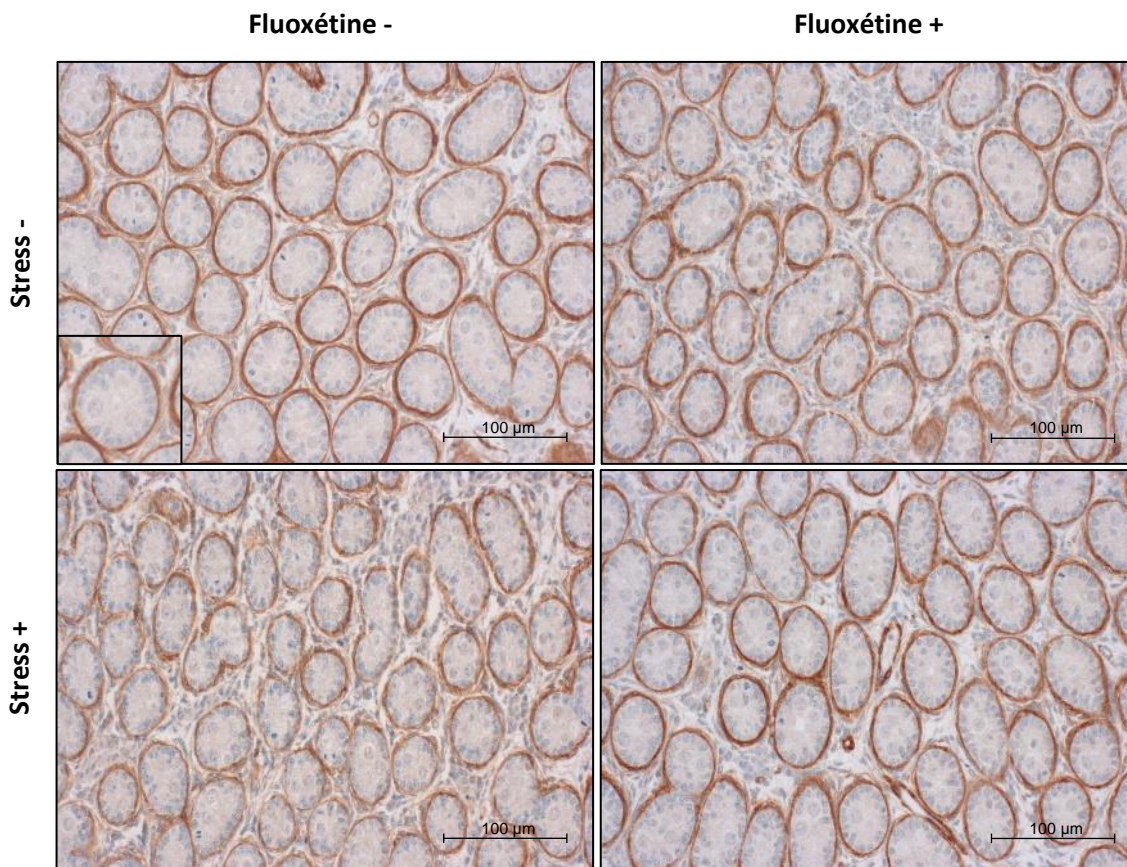


Figure 10 : Observation des cellules péritubulaires délimitant les cordons testiculaires sur une coupe du testicule de rat (marquage  $\alpha$ -SMA). Barre = 100µm

L'observation des cellules proliférantes par marquage de PCNA montre que les cellules marquées sont principalement les cellules de Sertoli et les cellules du tissu

interstitiel (Figure 11). En revanche, à cet âge (2jpc), les gonocytes ne prolifèrent pas car ils se trouvent en G<sub>0</sub> à cette période du développement testiculaire. L'observation ne semble pas montrer de différence de marquage et donc de prolifération dans les différentes conditions étudiées. La fluoxétine, le stress ou l'association des deux ne semblent pas modifier la prolifération des cellules testiculaires (cellule de Sertoli et cellule de Leydig).

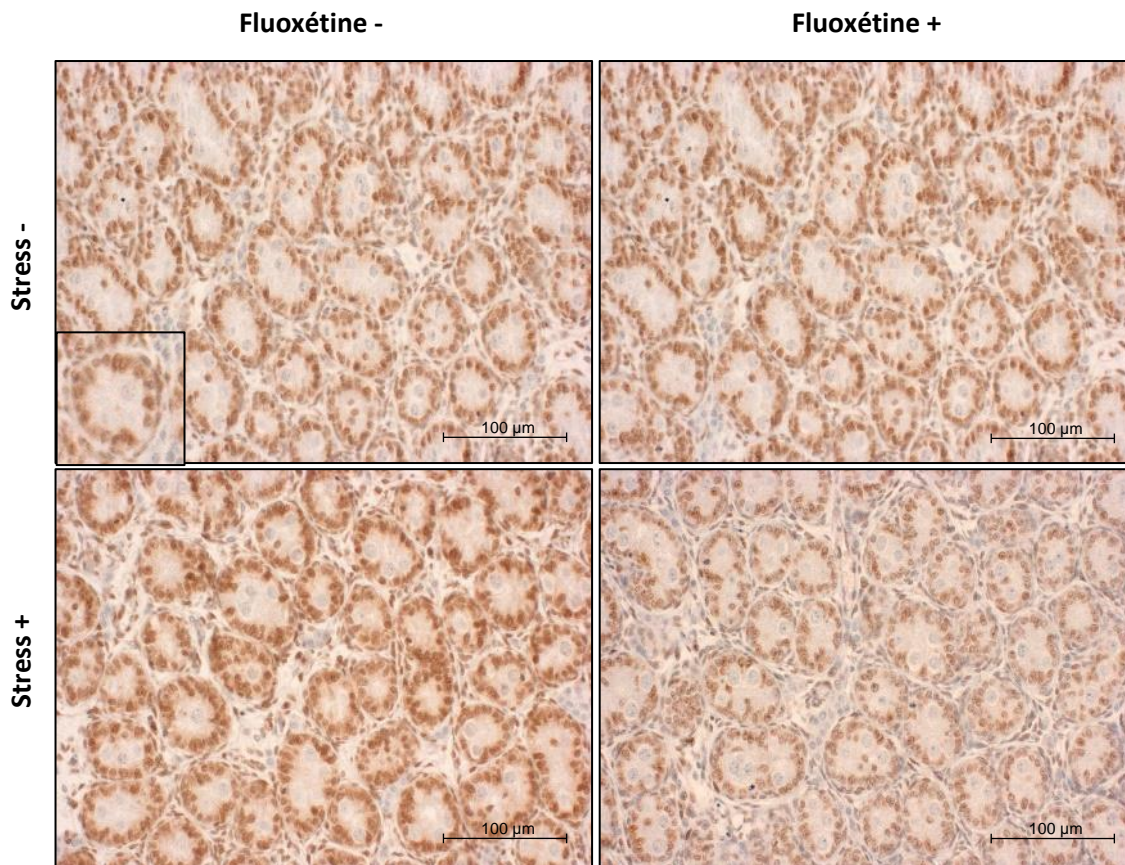


Figure 11 : Observation des cellules en prolifération sur une coupe du testicule de rat (marquage PCNA). Barre = 100µm

L'observation des coupes de testicules marquées pour DDX4, protéines exprimées par les gonocytes, ne semble pas montrer de différence du nombre de gonocytes entre les différentes conditions (Figure 12. A).

Le comptage des gonocytes par unité de surface testiculaire ne montre pas de différence entre les différents groupes (Figure 12. B). On retrouve une densité de cellules germinales équivalente entre les groupes, avec tout de même une densité cellulaire supérieure dans le groupe exposé à la fluoxétine associée au stress mais non significative. Aucune des conditions ne semble modifier la densité des gonocytes testiculaires.

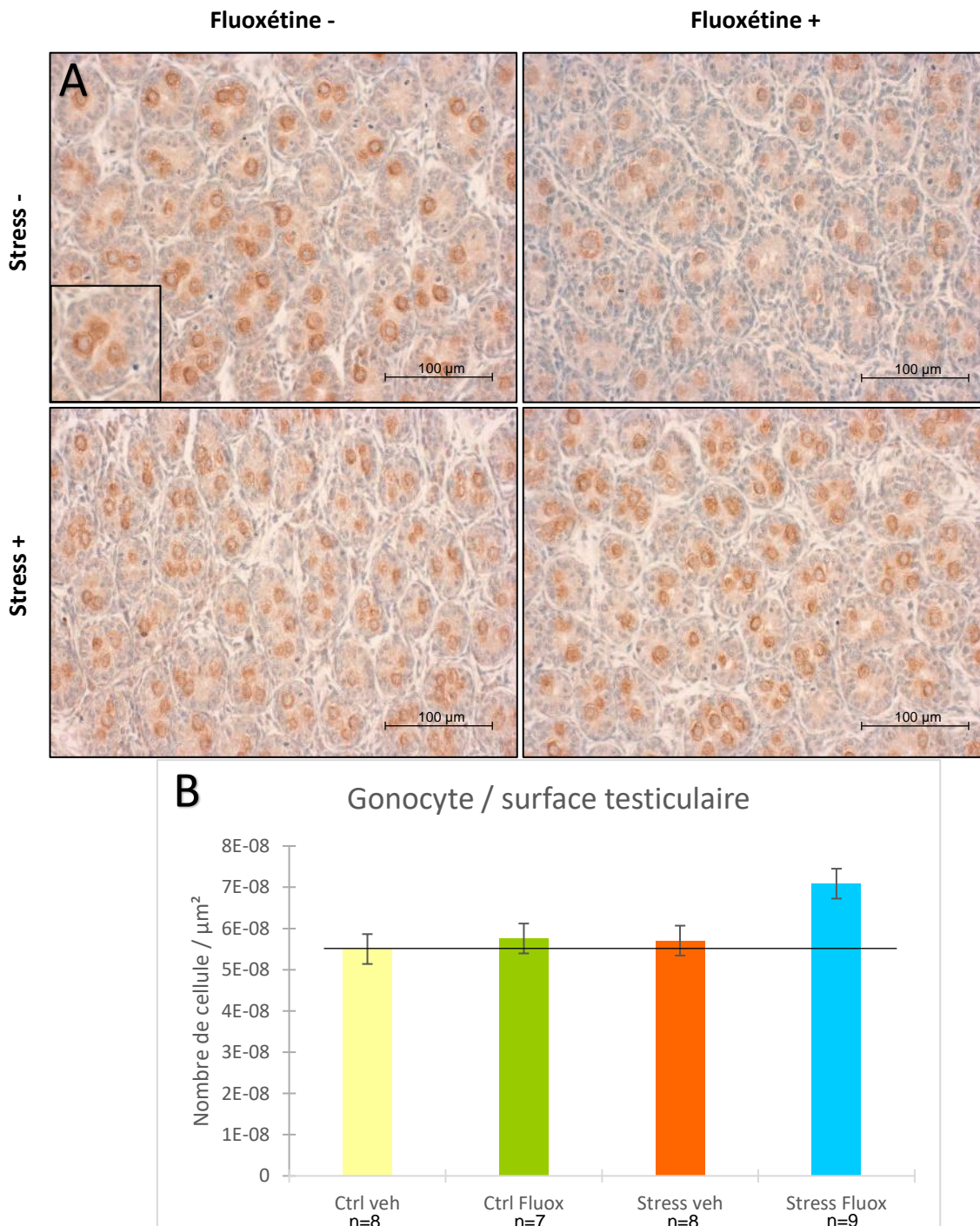


Figure 12 : A) Observation des gonocytes sur une coupe du testicule de rat (marquage DDX4). Barre = 100µm. B) Impact de la fluoxétine et du stress sur le nombre de gonocytes rapportés à la surface de la coupe testiculaire chez le rat

L'observation des cellules de Sertoli marquées par l'AMH ne révèle pas de différence majeure de densité des cellules de Sertoli entre les différentes conditions (Figure 13.

A)

Le comptage des cellules de Sertoli ne montre pas de différence entre les différents groupes (Figure 13. B). On retrouve une densité de cellules de Sertoli équivalente

entre les groupes. On remarque tout de même une légère augmentation de la densité de cellules de Sertoli dans les groupes ayant une exposition à la fluoxétine, mais non significative. Aucune des trois conditions ne semble modifier la densité de cellules de Sertoli dans le testicule.

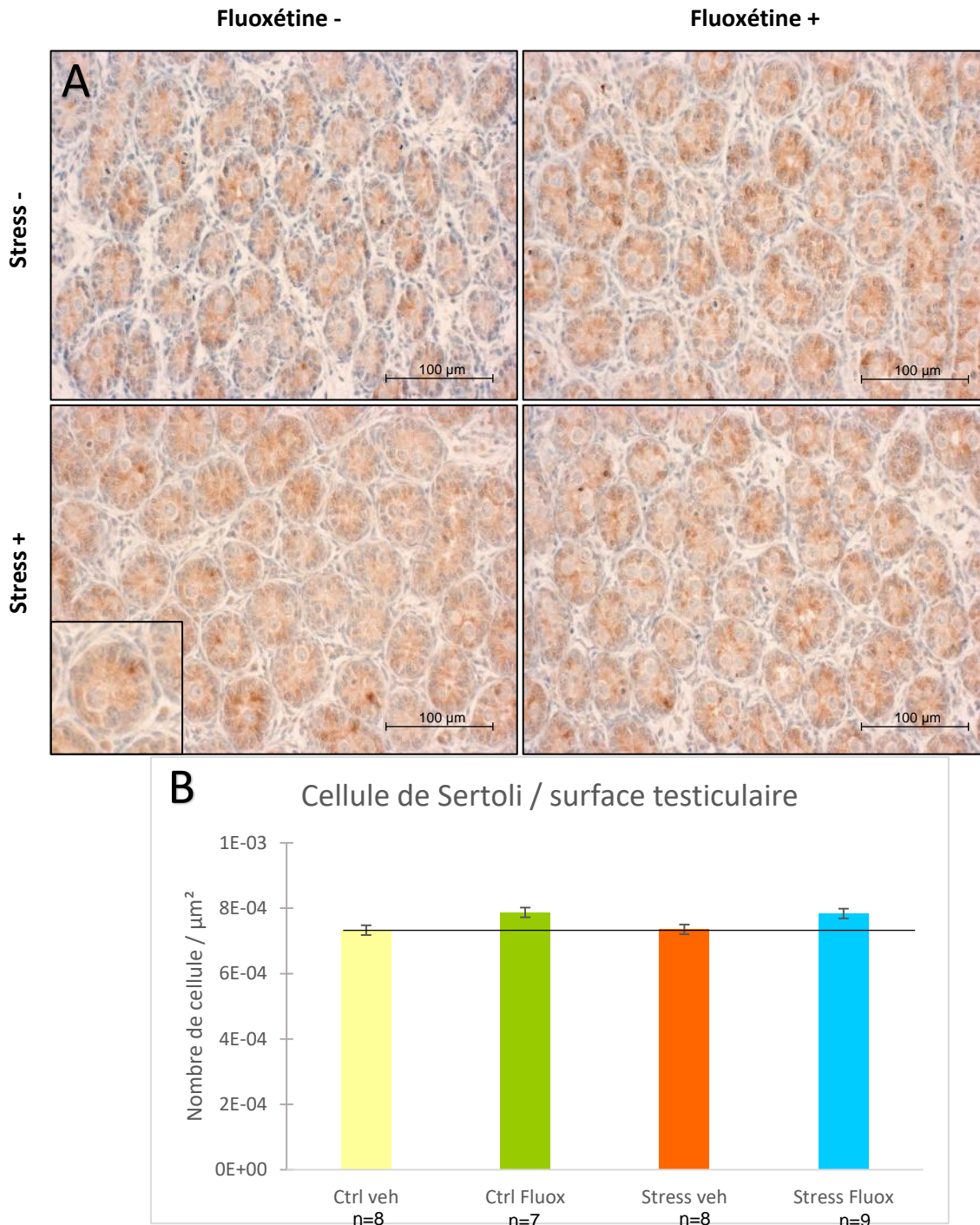
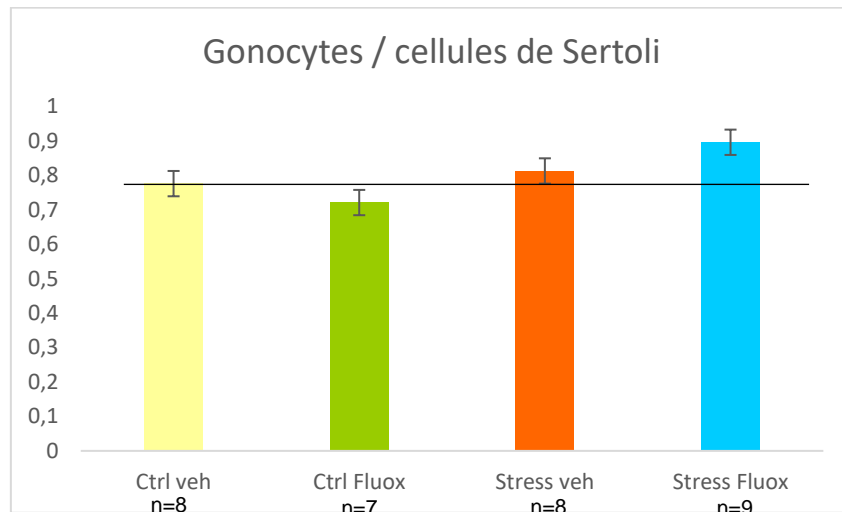


Figure 13: A) Visualisation des cellules de Sertoli sur une coupe de testicule de rat (marquage AMH). Barre = 100 $\mu\text{m}$

B) Impact de la fluoxétine et du stress sur le nombre de cellules de Sertoli rapportées à la surface de la coupe testiculaire chez le rat

Les ratios des gonocytes rapportés à la surface des coupes testiculaires sur les cellules de Sertoli rapportées à la surface des coupes testiculaires ne montrent pas de différence significative entre les conditions (Figure 14). On observe une légère diminution du ratio dans le groupe exposé à la fluoxétine, une légère augmentation du ratio dans les groupes exposés au stress. Mais aucune de ces conditions ne modifie significativement le ratio des gonocytes par rapport aux cellules de Sertoli.



*Figure 14 : Rapport des gonocytes rapportés à la surface des coupes testiculaires sur le nombre de cellules de Sertoli rapportées à la surface des coupes testiculaires chez le rat*

L'observation des cellules de Leydig marquées par CYP11A1 ne semble pas montrer de différence de densité des cellules de Leydig entre les différentes conditions (Figure 15. A)

Une fois de plus, le comptage cellulaire ne montre pas de différence entre les différents groupes (Figure 15. B). On retrouve une densité de cellules de Leydig équivalente entre les groupes. On remarque que les groupes exposés à au moins une des conditions ont une densité de cellules de Leydig légèrement supérieure au groupe contrôle sans que cela ne soit significatif. Aucune des trois conditions ne semble modifier la densité de cellule de Leydig testiculaire.

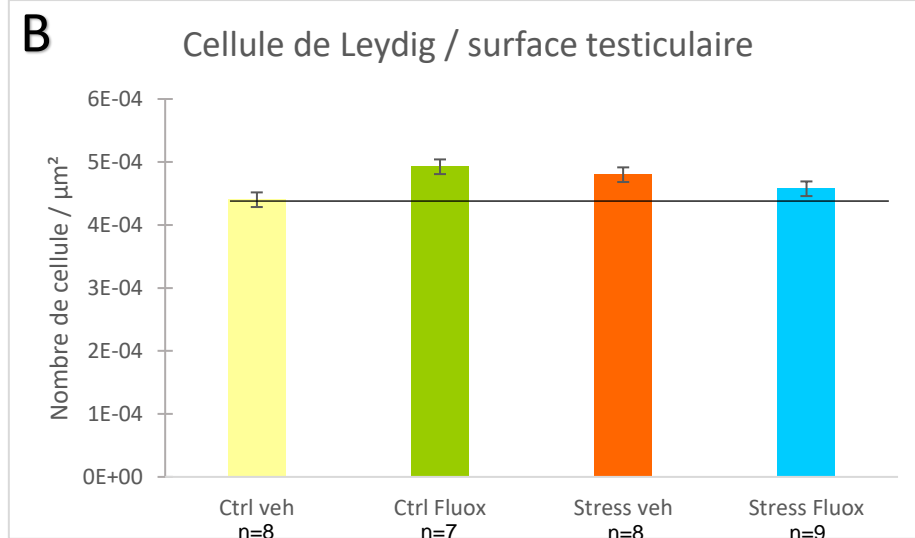
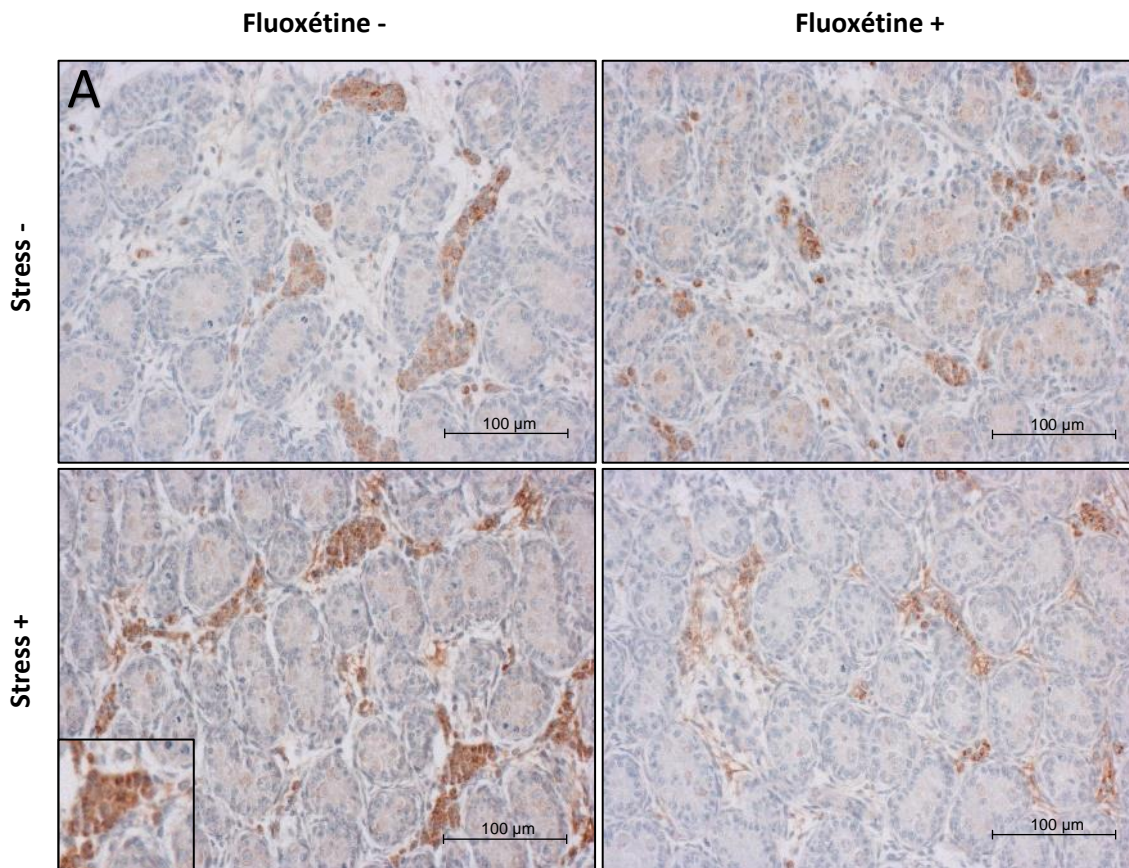


Figure 15: A) Observation des cellules de Leydig sur une coupe du testicule de rat (marquage CYP11A1). Barre = 100 $\mu\text{m}$ . B) Impact de la fluoxétine et du stress sur le nombre de cellules de Leydig rapportées à la surface de la coupe testiculaire chez le rat

### C) Impact des antidépresseurs sur la différenciation morphologique du testicule foetal humain

Pour la comparaison des différentes molécules au témoin, les doses pharmacologiques ont été choisies car elles sont a priori les concentrations les plus susceptibles de se retrouver physiologiquement.

L'observation du processus d'apoptose des cellules de testicules marquées par la caspase 3 clivée (Figure 16) ne révèle pas de différence entre le contrôle et les conditions, ni entre les différentes conditions aux concentrations  $10^{-8}M$  et  $10^{-7}M$ . On observe très peu de cellules apoptotiques dans les groupes témoins et dans les conditions à faibles concentrations. À forte concentration ( $10^{-5}M$ ), le tissu testiculaire est très fortement atteint par l'apoptose cellulaire dans le groupe exposé à la fluoxétine. Le taux d'apoptose augmente légèrement à forte concentration dans les groupes exposés à la paroxétine et à la sertraline.

À forte concentration, la fluoxétine est donc toxique pour le tissu testiculaire. Mais cette concentration supra thérapeutique est bien supérieure à celle retrouvée physiologiquement lors d'un traitement par fluoxétine.



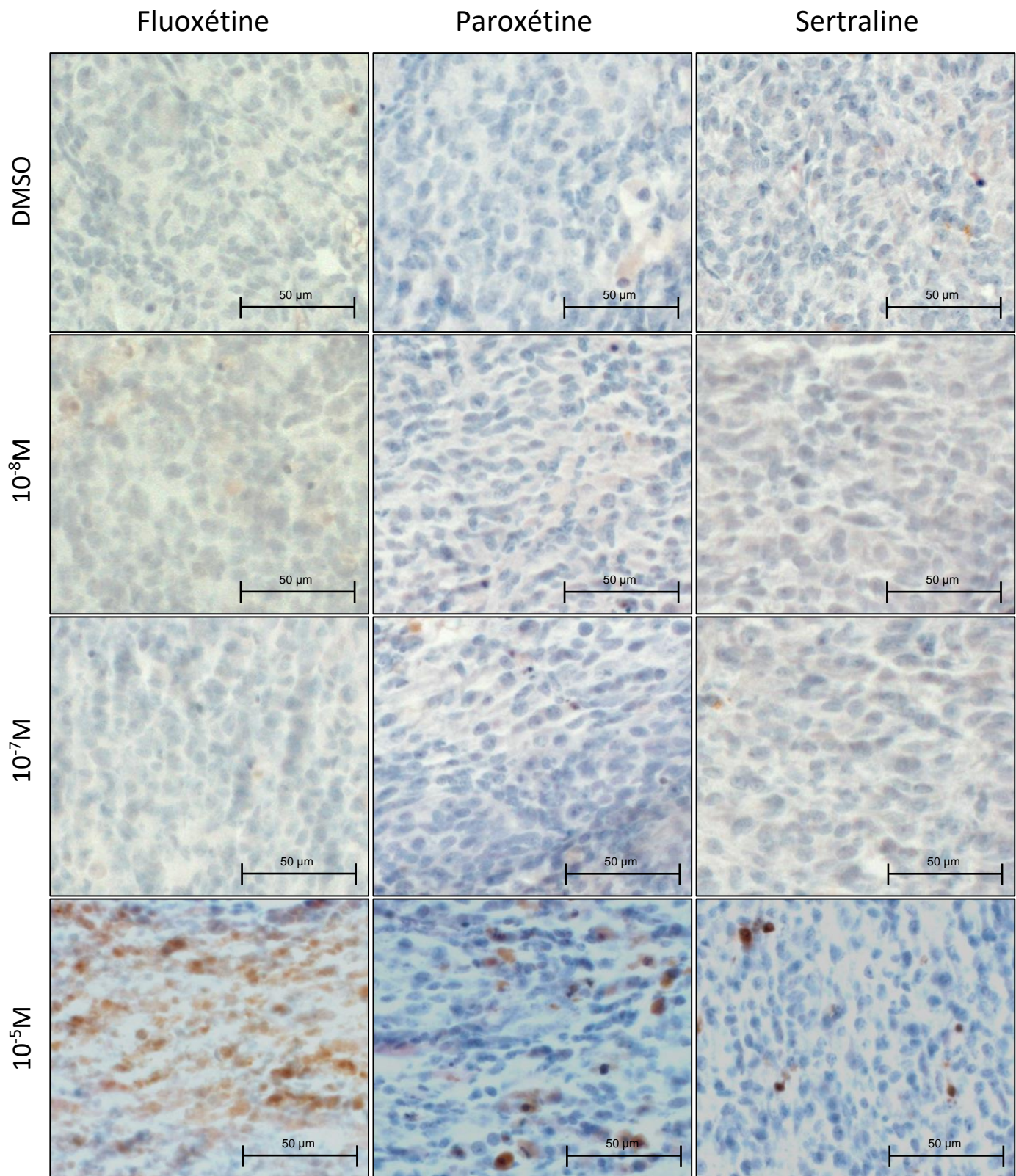


Figure 16 : Observation des cellules apoptotiques sur une coupe du testicule de fœtus humain (marquage Caspase 3 clivée). Barre = 50µm

L'observation du processus de prolifération des cellules testiculaire marquées par Ki 67 (Figure 17), une protéine exprimée dans le noyau des cellules proliférantes, ne révèle pas de différence entre le contrôle et les conditions, ni entre les différentes conditions. On observe des cellules proliférantes en quantité similaire entre les témoins et les conditions à faibles concentrations.

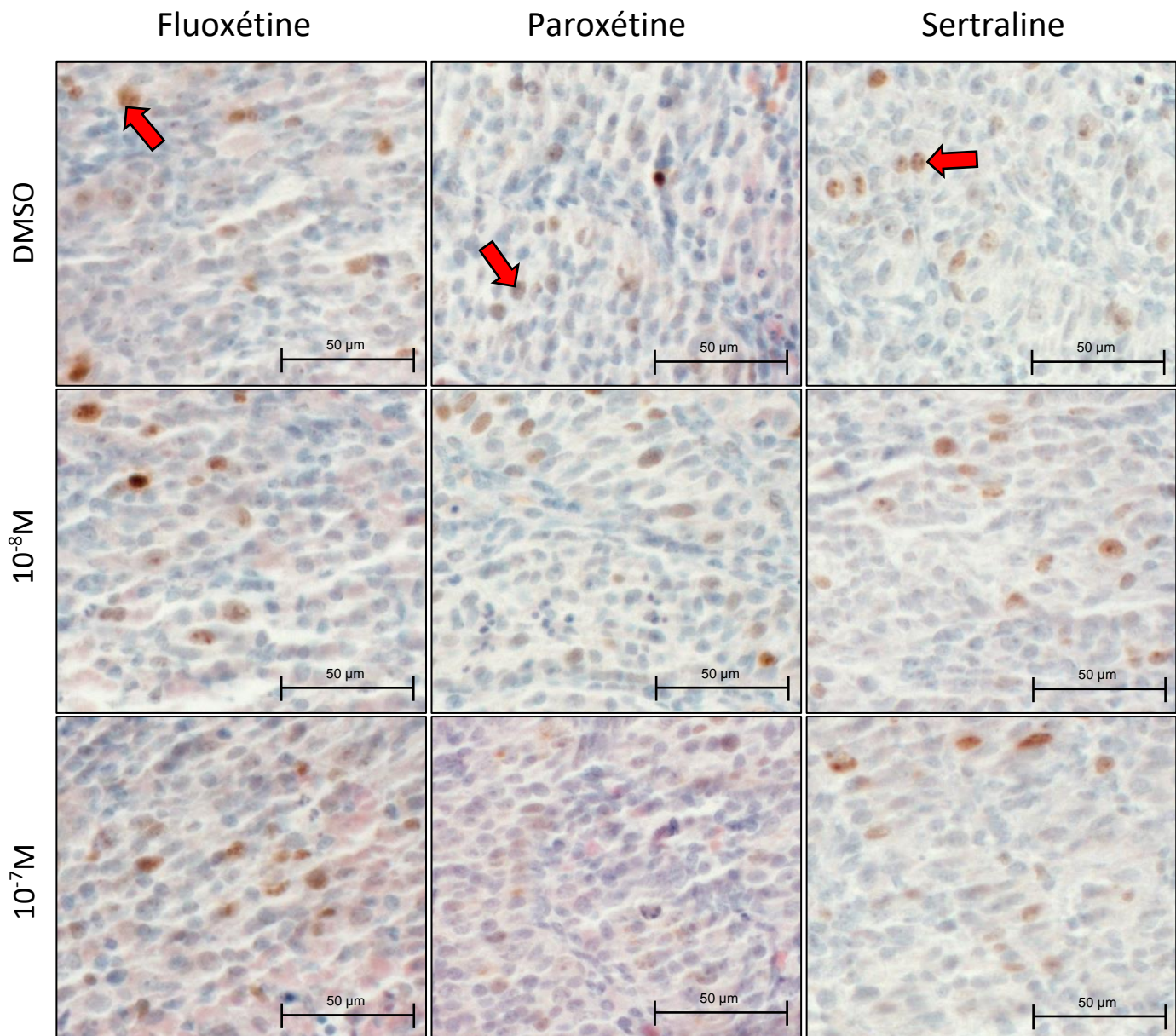


Figure 17 : Observation des cellules en prolifération sur une coupe de testicule de fœtus humain (marquage Ki67). Barre = 50 $\mu$ m

L'observation des cellules de Sertoli marquées par l'AMH (Figure 18), permettant de délimiter les cordons testiculaires, ne semble pas présenter de différence entre le contrôle et les conditions, ni entre les différentes conditions. Les cordons testiculaires sont bien délimités dans les groupes témoins et les conditions à faibles concentrations.

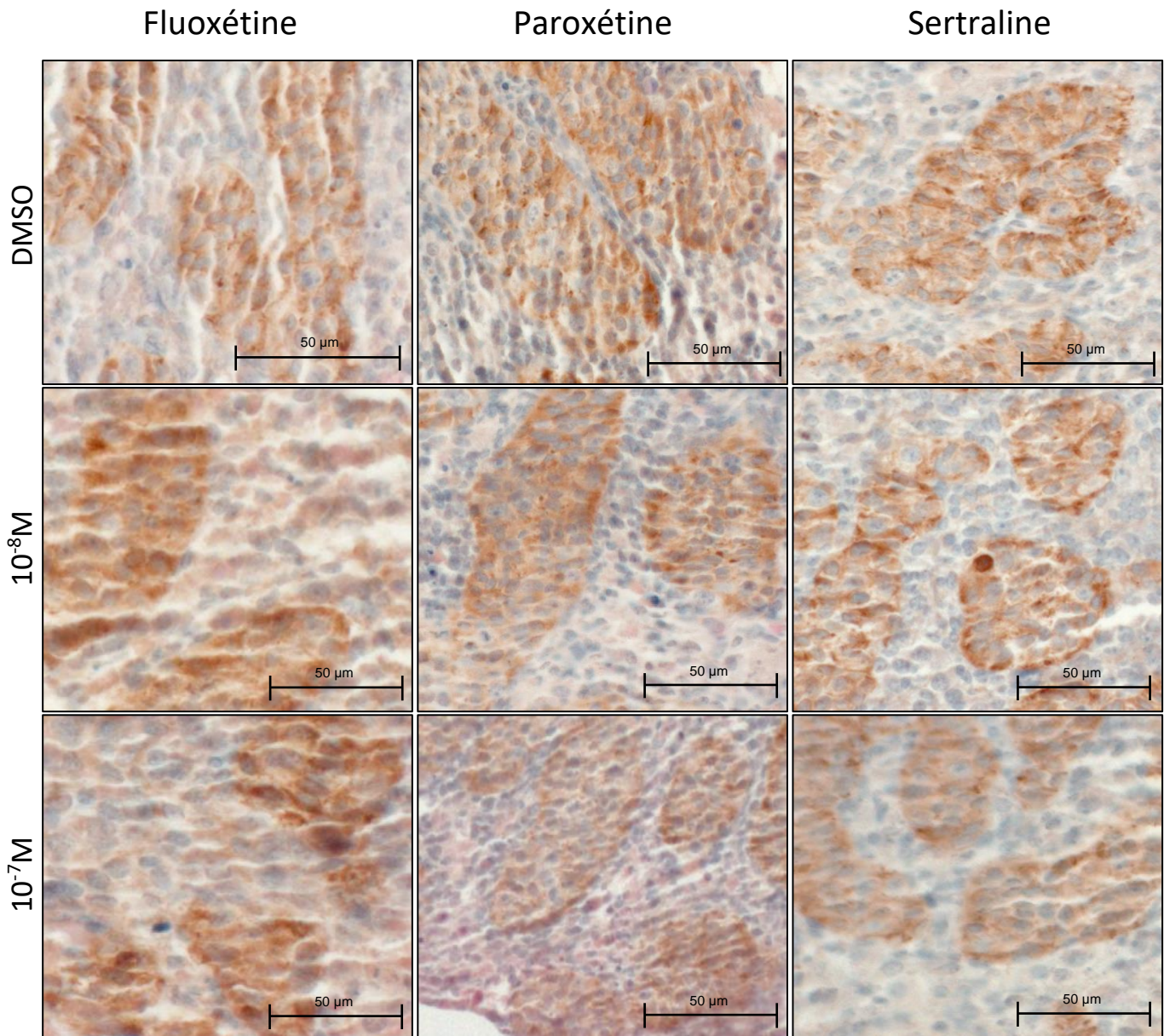


Figure 18 : Observation des cellules de Sertoli sur une coupe du testicule de fœtus humain (marquage AMH).  
Barre = 50 $\mu$ m

L'observation des cellules de Leydig marquées par CYP11A1 (Figure 19) ne révèle pas de différence entre le contrôle et les différentes conditions, ni entre les différentes conditions. On observe des cellules de Leydig en quantité similaire entre les témoins et les conditions à faibles concentrations.

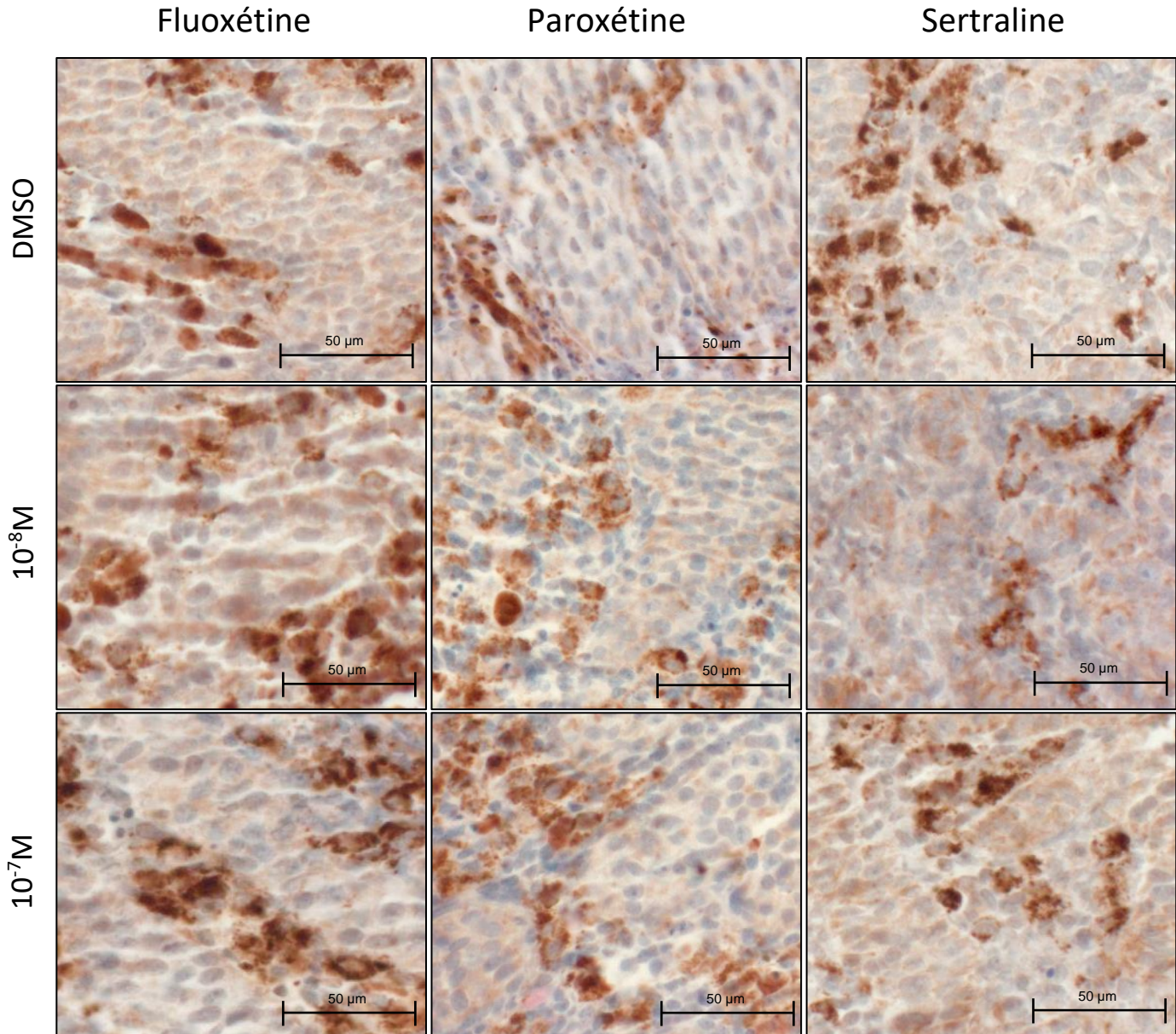


Figure 19 : Observation des cellules de Leydig sur une coupe du testicule de fœtus humain ( marquage CYP11A1). Barre = 50 $\mu$ m

Aucun des traitements ne semble modifier la structure ou les processus physiologiques du testicule fœtal humain aux doses thérapeutiques. Les trois conditions testées ne semblent pas présenter de différence entre elles non plus.

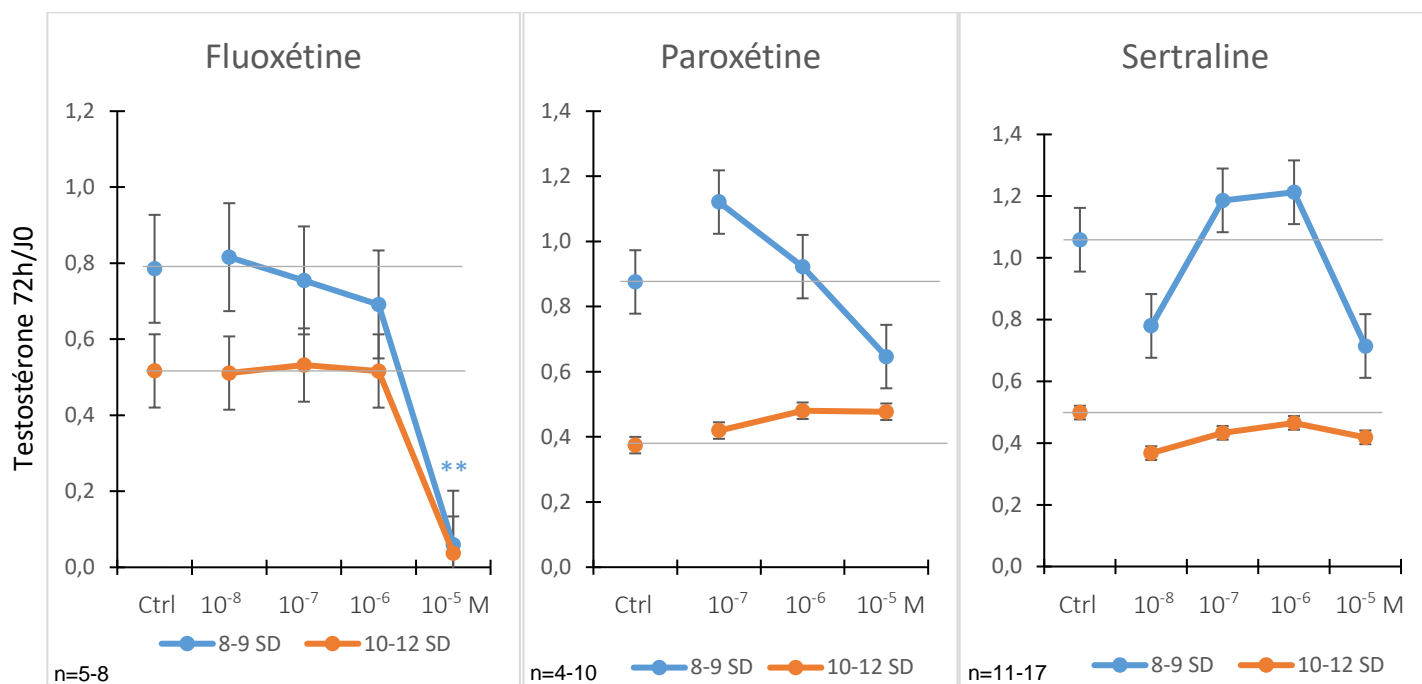
On remarque qu'à dose suprathérapeutique ( $10^{-5}M$ ), la fluoxétine est toxique (cytotoxicité) pour le testicule fœtal humain. On observe qu'une très grande partie du tissu testiculaire est en apoptose, signe d'une toxicité.

#### D) Impact des antidépresseurs sur la différenciation du testicule fœtal humain

Nous avons séparé les individus en 2 groupes d'âge car les études antérieures du laboratoire ont montré qu'il existe des fenêtres d'âge où la sensibilité aux agents chimiques diffère (Ben Maamar et al., 2017; Mazaud-Guittot et al., 2013). Cette différence de sensibilité a été rapportée pour différents antalgiques et s'articule entre 8 et 10 semaines de développement.

Les taux d'hormones dans le milieu de culture ont été mesurés à J0 (sans présence de traitement) et à 72 heures (après 3 jours d'exposition au traitement) puis le rapport entre les taux 72h/J0 a été fait. Ainsi, les taux hormonaux à J0 servent à normaliser les taux hormonaux mesurés à 72h.

## 1. Testostérone



*Figure 20*: Taux de testostérone sécrété par le testicule fœtal humain dans les 2 groupes: le groupe 8-9 semaines de développement et le groupe 10-12 semaines de développement (les taux de testostérone à 72 heures sont normalisés par les taux de testostérone à J0). Test de Kruskal-Wallis ( $p \leq 0,05$ ).

Suite à l'exposition à la fluoxétine, le taux de testostérone dans le groupe 8-9 SD diminue de manière linéaire entre  $10^{-8}$ M et  $10^{-6}$ M (-15,7%) avant de chuter drastiquement à forte concentration ( $10^{-5}$ M : -92,4%). Dans le groupe 10-12 SD, une variation similaire est retrouvée. Le taux varie très peu jusqu'à  $10^{-6}$ M puis chute à la forte concentration ( $10^{-5}$ M : -92,3%). Dans le groupe 8-9 SD, l'analyse statistique par le test de Dunn montre une diminution du taux de testostérone significative entre le contrôle et la forte concentration ( $10^{-5}$ M) ( $p \leq 0,01$ ). Après une exposition à la paroxétine, le taux de testostérone augmente à  $10^{-7}$ M (+27,3%) puis diminue jusqu'à  $10^{-5}$ M (-26,1%) dans le groupe 8-9 SD. Dans le groupe 10-12 SD, le taux augmente jusqu'à  $10^{-6}$ M puis est constant jusqu'à  $10^{-5}$ M (+29,7%). Enfin, après une exposition à la sertraline, le taux de testostérone dans le groupe de 8-9 SD diminue à  $10^{-8}$ M (-26,4%), puis augmente jusqu'à  $10^{-6}$ M (+14,2%) avant de rechuter à la forte concentration ( $10^{-5}$ M : -33,0%). Dans le groupe 10-12 SD, le taux diminue plus ou moins selon la concentration ( $10^{-8}$ M : -26,0% ;  $10^{-6}$ M : -14,0% ;  $10^{-5}$ M : -16,0%) (Figure 20). Aucune des variations observées avec la paroxétine ou la sertraline ne passe la barrière de la significativité avec le test de Dunn.

## 2. AMH

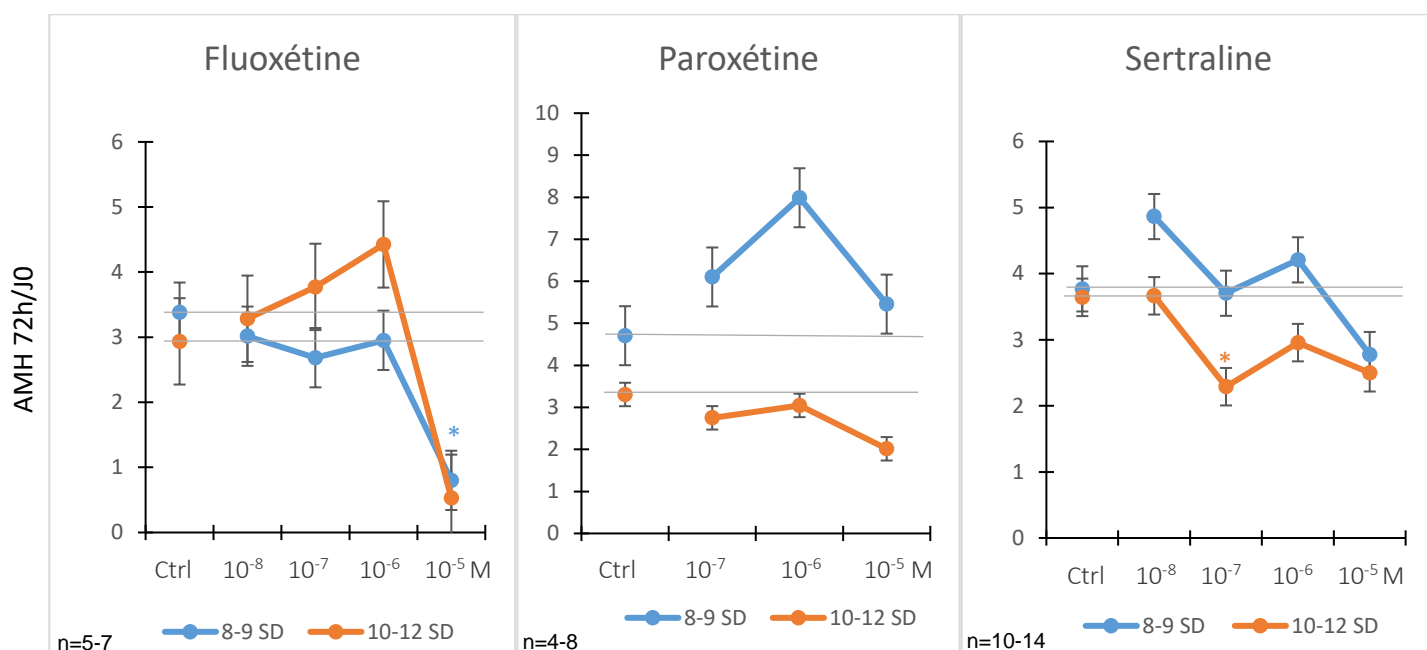


Figure 21 : Taux d'AMH sécrété par le testicule foetal humain dans les 2 groupes: le groupe 8-9 semaines de développement et le groupe 10-12 semaines de développement (les taux d'AMH à 72 heures sont normalisés par les taux d'AMH à J0). Test de Kruskal-Wallis ( $p \leq 0,05$ ).

Après exposition à la fluoxétine, dans le groupe 8-9 SD, le taux d'AMH diminue jusqu'à  $10^{-7}$ M (-20,4%), dans une moindre mesure à  $10^{-6}$ M (-12,7%) avant de diminuer fortement à forte concentration ( $10^{-5}$ M : -76,3%). Dans le groupe 10-12 SD, le taux augmente linéairement jusqu'à  $10^{-6}$ M (+50,7%), puis diminue drastiquement à la forte concentration ( $10^{-5}$ M : -82,0%). L'analyse statistique par le test de Dunn montre une diminution significative du taux d'AMH entre le contrôle et la forte concentration ( $10^{-5}$ M) dans le groupe 8-9 SD ( $p \leq 0,05$ ). Avec la paroxétine, le taux d'AMH augmente fortement jusqu'à  $10^{-6}$ M (+69,6%) puis dans une moindre mesure à  $10^{-5}$ M (+15,9%) dans le groupe 8-9 SD. Dans le groupe 10-12 SD et à l'inverse du groupe précédent, le taux est diminué jusqu'à  $10^{-5}$ M (-39,3%). Enfin après exposition à la sertraline, le groupe 8-9 SD présente une augmentation à  $10^{-8}$ M (+29,7%), puis une légère diminution à  $10^{-7}$ M (-1,9%), suivi d'une augmentation à  $10^{-6}$ M (+11,7%) pour finir par une diminution à la forte concentration ( $10^{-5}$ M : -26,3%) de son taux d'AMH. Dans le groupe 10-12 SD, le taux est diminué à partir de  $10^{-7}$ M ( $10^{-7}$ M : -37,1% ;  $10^{-6}$ M : -18,7% ;  $10^{-5}$ M : -31,3%) (Figure 21). L'analyse statistique par le test de Dunn montre une diminution significative du taux d'AMH entre le contrôle et la concentration à  $10^{-7}$ M ( $p \leq 0,05$ ) dans le groupe 10-12 SD exposé à la sertraline.





## IV. Discussion

Dans cette étude, nous avons exposé à la fluoxétine et/ou au stress des rates gestantes durant une période couvrant la fenêtre de masculinisation fœtale (15,5 – 19,5 jpc) et la fenêtre de programmation fœtale (avant et après 19,5 jpc), selon la littérature (Welsh et al., 2008).

Après le sacrifice de la descendance à 2 jpn, nous n'avons pas observé de différence du poids corporel entre les différents groupes au cours de nos expériences. Nos résultats ne sont pas en concordance avec ceux de la littérature qui rapportent une diminution du poids corporel chez la descendance née de mère exposée à la fluoxétine, au stress ou au deux (Baldwin et al., 1989; de Oliveira et al., 2013). L'absence de diminution du poids corporel vient peut-être du fait que lors de nos expériences, les rates gestantes exposées ont mis bas à terme alors qu'on retrouve dans la littérature une diminution de la période de gestation après exposition à la fluoxétine, au stress ou aux deux, pouvant expliquer la diminution du poids corporel de la descendance.

Nous avons observé une diminution du poids testiculaire dans le groupe exposé à la fluoxétine seule. Le poids testiculaire ayant été rapporté au poids corporel de l'animal, la réduction du poids testiculaire est bien corrélée à une diminution du poids des testicules puisqu'aucune modification du poids corporel n'a été observée. Ces résultats sont également retrouvés dans la littérature (de Oliveira et al., 2013; Monteiro Filho et al., 2014). Cette réduction du poids testiculaire pourrait être due à un retard du développement testiculaire provoqué par la fluoxétine.

Une augmentation de l'index de la distance ano-génitale a été observée dans le groupe exposé à la fluoxétine associée au stress. Ce résultat est plutôt surprenant puisque la distance ano-génitale reflète les taux androgéniques chez le fœtus durant le développement intra-utérin (Mira-Escolano et al., 2014). Une diminution de la distance ano-génitale est associée à la cryptorchidie, l'hypospadias, des anomalies spermatiques et une infertilité, de plus petits testicules et des taux sériques de testostérone diminués chez l'adulte (Ma et al., 2017). Un faible taux d'androgènes diminue la distance ano-génitale (Macleod et al., 2010; Welsh et al., 2008). C'est pour cela que la distance ano-génitale est moindre chez la femelle que chez le mâle car le taux d'androgènes est inférieur chez la femelle. Une augmentation des taux d'androgènes permet-il d'expliquer l'augmentation de l'index de la distance ano-

génitale dans le groupe exposé à la fluoxétine associée au stress dans notre étude (puisque les poids corporels n'ont pas montré de différences intergroupes). Il faudrait doser les taux d'androgènes, et plus particulièrement de testostérone, dans le sang des rats nés de mères exposées à la fluoxétine associée au stress par rapport aux taux des rats nés de mères contrôle.

Il n'y a pas de différence au niveau de la structure des cellules après exposition à la fluoxétine et/ou au stress. De plus, la densité des populations de gonocytes, de cellules de Sertoli et de cellules de Leydig ne diffère pas entre les différents groupes. Nos résultats ne sont pas en concordance avec la littérature qui fait état d'une diminution de la population de cellules de Sertoli (Monteiro Filho et al., 2014; Ramos et al., 2016). Le fait que l'on ne trouve pas de différence entre les conditions, et ce même malgré un plus petit poids testiculaire dans le groupe exposé *in utero* à la fluoxétine, est peut-être dû au fait qu'étant arrivé à terme, le développement du testicule s'est bien déroulé et les populations cellulaires testiculaires se sont mises en place et développées sans entrave.

Nous avons exposé des explants de testicules fœtaux humains issus de produits d'IVG aux différents traitements durant une période de 3 jours. Afin de pouvoir comparer notre modèle d'explants testiculaires et les conditions physiologiques humaines, il nous faut connaître les concentrations plasmatiques, au cours du temps, après une administration *per os* chez l'homme et/ou la femme enceinte. Pour cela, nous avons besoin des concentrations plasmatiques maximales de chaque molécule dans la population générale et chez la femme enceinte ou, à défaut, d'une approximation grâce aux données pharmacocinétiques chez la femme enceinte (tableau IV). Afin de pouvoir évaluer un large spectre de concentrations auxquelles le fœtus peut être exposé, nous avons exposé les explants à une large gamme de concentrations, de  $10^{-8}$  à  $10^{-5}$  M. Les concentrations plus élevées ont été choisies pour évaluer des doses supposées plus toxiques.

L'étude histologique ne révèle pas de modification de la structure entre le témoin et les différentes conditions, ni entre les conditions entre elles après 3 jours d'exposition à ces médicaments aux doses thérapeutiques. Aucun des traitements ne modifie ni la structure du testicule, ni la viabilité, ni la prolifération des cellules après une exposition à court terme aux doses thérapeutiques. Après 3 jours d'exposition, aucune de ces molécules n'induit d'effet toxique sur le testicule fœtal humain aux

doses thérapeutiques. À la concentration la plus forte de fluoxétine (non thérapeutique), la viabilité des cellules testiculaires est très largement diminuée et la fluoxétine exerce un effet toxique. Cependant, cette concentration de  $10^{-5}M$  est bien au-dessus des doses que l'on retrouve en thérapeutique.

Aux doses thérapeutiques, la fluoxétine et la sertraline n'altèrent ni la sécrétion d'AMH, ni celle de testostérone. On observe tout de même une tendance, non significative, à la diminution du taux de testostérone à  $10^{-8}M$  avec la sertraline qui pourrait venir d'un léger effet perturbateur endocrinien. De plus, on observe une diminution significative de la sécrétion d'AMH dans le groupe 10-12 SD à une concentration de  $10^{-7}M$  de sertraline. N'ayant observé aucun effet délétère au niveau cellulaire à cette concentration, on peut supposer que c'est un effet perturbateur endocrinien de la sertraline.

À forte concentration ( $10^{-5}M$ ), la fluoxétine a un effet toxique sur la sécrétion d'AMH et de testostérone du testicule fœtal humain. Cette observation peut être corrélée avec la faible viabilité des cellules testiculaires à cette concentration.

Les études sur le modèle cellulaire H295R de carcinome surrénalien humain montrent que la fluoxétine, la sertraline et la paroxétine interfèrent avec la stéroïdogénèse (Hansen et al., 2017; Jacobsen et al., 2015). Lors de notre étude, la fluoxétine semble avoir un effet sur la stéroïdogénèse en diminuant la sécrétion de testostérone dans le groupe 8-10 SD. La fluoxétine et la sertraline diminuent également le taux d'AMH à respectivement  $10^{-5}M$  dans le groupe 8-10 SD et à  $10^{-7}M$  dans le groupe 10-12 SD. Afin de valider notre interprétation, des explants testiculaires fœtaux ont été congelés à l'issue de la culture dans le but d'évaluer l'impact de ces traitements sur les niveaux d'ARN messagers des différentes enzymes de la stéroïdogénèse par PCR quantitative. Malheureusement, il n'a pas été possible de collecter suffisamment d'organes pour ces expérimentations dans les délais impartis du stage.

Chez le rat, la fluoxétine diminue la LH et la FSH (Ayala, Gonzáles, Olivarez, & Aragón-Martínez, 2018; Bataineh & Daradka, 2007). Chez la rate, la fluoxétine interfère avec les taux de progestérone et d'oestradiol (E2) (Matuszczyk et al., 1998). Comme précédemment, des testicules de rats nés de mères exposées à la fluoxétine et/ou au stress ont été congelés à l'issue du sacrifice dans le but d'évaluer l'impact de ces traitements sur les niveaux d'ARN messagers des différentes enzymes de la stéroïdogénèse par PCR quantitative. Là encore, les délais impartis du stage n'ont pas

permis de réaliser ces q-PCR. Il serait aussi intéressant de connaître les taux sériques d'hormones stéroïdiennes chez le rat exposé *in utero*. Et en cas de changement de ces taux, il faudrait déterminer si ces changements sont dû à l'influence directe du traitement sur le fœtus ou aux répercussions des changements hormonaux de la mère sur le fœtus dû aux effets du traitement sur la mère.

Il serait également intéressant d'étudier ces antidépresseurs en association avec les molécules fréquemment prescrites durant la grossesse. En effet, la glycoprotéine P (P-gp) est une glycoprotéine transmembranaire participant au transport de certains médicaments et xénobiotiques. Elle est impliquée dans certains phénomènes de multirésistances aux médicaments. On la retrouve au niveau des trophoblastes du placenta et de l'endothélium de la barrière hémato-testiculaire. Une administration aigue d'ISRS peut affecter la fonction des P-gp *in vitro* et *in vivo* et donc diminuer l'efficacité ou augmenter la toxicité d'un médicament. L'administration de sertraline en aigue peut moduler l'activité des P-gp dans la barrière hémato-testiculaire (et donc possiblement les trophoblastes du placenta) et pourrait avoir une implication dans la capacité des agent co administré avec l'ISRS à entrer dans le testicule (Kapoor et al., 2013).

Ces traitements, ayant de faibles concentrations en thérapie, n'ont pas d'effet délétères en monothérapie. Mais une étude récente (Gaudriault et al., 2017) a rapporté un effet additif de différents mélanges de molécules ayant un potentiel de perturbateur endocrinien. Une association entre de tels molécules et des antidépresseurs serait à étudier afin d'évaluer leurs effets en association.

## V. Conclusion

L'étude que nous avons réalisée pour évaluer l'effet d'antidépresseurs sur la morphogénèse et le fonctionnement du testicule a permis de mettre en évidence plusieurs effets : d'une part chez le rat, nous avons observé une réduction du poids testiculaire dans le groupe de rats exposés *in utero* à la fluoxétine, effet ayant déjà été décrit dans la littérature. Nous avons également observé un résultat plus surprenant qui est l'augmentation de l'index de la distance ano-génitale dans le groupe exposé à la fluoxétine associée à un stress, non décrit dans la littérature. Aucune différence quant à la densité des différentes populations cellulaires n'a été observée. Pour confirmer nos résultats et aller plus loin, des études complémentaires en augmentant le nombre d'échantillons, en dosant les taux hormonaux (AMH et testostérone) et en réalisant les expériences de PCR quantitative seraient nécessaires.

D'autre part, sur les tissus prélevés chez des fœtus humains, les différents traitements n'ont pas induit de modification morphologique du testicule aux doses thérapeutiques. On observe une cytotoxicité de la fluoxétine à forte concentration ( $10^{-5}$ M, dose supra thérapeutique). Cette toxicité se retrouve dans les taux de sécrétion d'AMH et de testostérone qui chutent drastiquement dans les deux groupes à cette concentration. Une diminution du taux de sécrétion d'AMH est observée dans le groupe 10-12 SD exposé à la sertraline. Cette diminution est vraisemblablement due à un effet perturbateur endocrinien de la sertraline. Comme précédemment, pour confirmer nos résultats et aller plus loin, des études complémentaires en augmentant le nombre d'échantillons seraient nécessaires. De plus, il faudrait réaliser une étude transcriptomique afin de cibler les ARN messagers modulés par ces molécules.



## VI. Bibliographie

- AFSSAPS. (1998). *Étude de la prescription et de la consommation des antidépresseurs en ambulatoire*.
- Alka Aggarwal, S L Jethani, R K Rohatgi, J. K. (2012). Effects of Fluoxetine on Testis of Albinos rats - A Histological Assessment. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 3(7).
- Amsterdam, J. D., Garcia-España, F., Goodman, D., Hooper, M., & Hornig-Rohan, M. (1997). Breast enlargement during chronic antidepressant therapy. *Journal of Affective Disorders*, 46(2), 151–156.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9479619>
- Ayala, M. E., Gonzáles, A., Olivarez, R. M., & Aragón-Martínez, A. (2018). Fluoxetine treatment of prepubertal male rats uniformly diminishes sex hormone levels and, in a subpopulation of animals, negatively affects sperm quality. *Reproduction, Fertility, and Development*. <https://doi.org/10.1071/RD17384>
- Baldwin, J. A., Davidson, E. J., Pritchard, A. L., & Ridings, J. E. (1989). The reproductive toxicology of paroxetine. *Acta Psychiatrica Scandinavica. Supplementum*, 350, 37–39.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2530783>
- Bałkowiec-Iskra, E., Mirowska-Guzel, D. M., & Wielgoś, M. (2017). Effect of antidepressants use in pregnancy on foetus development and adverse effects in newborns. *Ginekologia Polska*, 88(1), 36–42.  
<https://doi.org/10.5603/GP.a2017.0007>
- Bambico, F. R., Duranti, A., Tontini, A., Tarzia, G., & Gobbi, G. (2009). Endocannabinoids in the treatment of mood disorders: evidence from animal models. *Current Pharmaceutical Design*, 15(14), 1623–1646.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19442178>
- Bambico, F. R., & Gobbi, G. (2008). The cannabinoid CB1 receptor and the endocannabinoid anandamide: possible antidepressant targets. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 12(11), 1347–1366.  
<https://doi.org/10.1517/14728222.12.11.1347>
- Ban, L., Gibson, J. E., West, J., Fiaschi, L., Sokal, R., Smeeth, L., ... Tata, L. J. (2014). Maternal depression, antidepressant prescriptions, and congenital anomaly risk in offspring: a population-based cohort study. *BJOG : An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 121(12), 1471–1481.  
<https://doi.org/10.1111/1471-0528.12682>
- Bataineh, H. N., & Daradka, T. (2007). Effects of long-term use of fluoxetine on fertility parameters in adult male rats. *Neuro Endocrinology Letters*, 28(3), 321–325. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17627270>
- Ben Maamar, M., Lesné, L., Hennig, K., Desdoits-Lethimonier, C., Kilcoyne, K. R., Coiffec, I., ... Jégou, B. (2017). Ibuprofen results in alterations of human fetal testis development. *Scientific Reports*, 7, 44184.  
<https://doi.org/10.1038/srep44184>
- Bérard, A., Zhao, J.-P., & Sheehy, O. (2015). Sertraline use during pregnancy and the risk of major malformations. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 212(6), 795.e1-795.e12.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.01.034>
- Boisen, K. A., Chellakooty, M., Schmidt, I. M., Kai, C. M., Damgaard, I. N., Suomi, A.-M., ... Main, K. M. (2005). Hypospadias in a cohort of 1072 Danish newborn boys: prevalence and relationship to placental weight, anthropometrical measurements at birth, and reproductive hormone levels at three months of age. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 90(7), 4041–4046. <https://doi.org/10.1210/jc.2005-0302>
- Boisen, K. A., Kaleva, M., Main, K. M., Virtanen, H. E., Haavisto, A.-M., Schmidt, I. M., ... Toppari, J. (2004). Difference in prevalence of congenital cryptorchidism in infants between two Nordic countries. *Lancet (London, England)*, 363(9417), 1264–1269. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)15998-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)15998-9)
- Buss, C., Davis, E. P., Muftuler, L. T., Head, K., & Sandman, C. A. (2010). High pregnancy anxiety during mid-gestation is associated with decreased gray matter density in 6-9-year-old children.

- Psychoneuroendocrinology*, 35(1), 141–153. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2009.07.010>
- Byatt, N., Deligiannidis, K. M., & Freeman, M. P. (2013). Antidepressant use in pregnancy: a critical review focused on risks and controversies. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 127(2), 94–114. <https://doi.org/10.1111/acps.12042>
- Chen, D., Zhang, J. P., Jiang, L., Liu, H., Shu, L., Zhang, Q., & Jiang, L. (2016). Factors that influence in vitro fertilization treatment outcomes of Chinese men: A cross-sectional study. *Applied Nursing Research*, 32, 222–226. <https://doi.org/10.1016/J.APNR.2016.07.003>
- Cohen, L. S., Altshuler, L. L., Harlow, B. L., Nonacs, R., Newport, D. J., Viguera, A. C., ... Stowe, Z. N. (2006). Relapse of major depression during pregnancy in women who maintain or discontinue antidepressant treatment. *JAMA*, 295(5), 499–507. <https://doi.org/10.1001/jama.295.5.499>
- Cooper, W. O., Willy, M. E., Pont, S. J., & Ray, W. A. (2007). Increasing use of antidepressants in pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 196(6), 544.e1-544.e5. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2007.01.033>
- Crawford, N. M., Hoff, H. S., & Mersereau, J. E. (2017). Infertile women who screen positive for depression are less likely to initiate fertility treatments. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 32(3), 582–587. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew351>
- de Oliveira, W. M., de Sá, I. R., de Torres, S. M., de Morais, R. N., Andrade, A. M., Maia, F. C. L., ... da Silva Junior, V. A. (2013). Perinatal exposure to fluoxetine via placenta and lactation inhibits the testicular development in male rat offspring. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 59(5), 244–250. <https://doi.org/10.3109/19396368.2013.796021>
- Dranovsky, A., & Hen, R. (2006). Hippocampal neurogenesis: regulation by stress and antidepressants. *Biological Psychiatry*, 59(12), 1136–1143. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.03.082>
- Evans-Hoeker, E. A., Eisenberg, E., Diamond, M. P., Legro, R. S., Alvero, R., Coutifaris, C., ... Witter, F. (2018). Major depression, antidepressant use, and male and female fertility. *Fertility and Sterility*, 109(5), 879–887. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.01.029>
- Farias, D. R., Pinto, T. de J. P., Teófilo, M. M. A., Vilela, A. A. F., Vaz, J. dos S., Nardi, A. E., & Kac, G. (2013). Prevalence of psychiatric disorders in the first trimester of pregnancy and factors associated with current suicide risk. *Psychiatry Research*, 210(3), 962–968. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2013.08.053>
- Ferguson, J. M. (2001). SSRI Antidepressant Medications: Adverse Effects and Tolerability. *Primary Care Companion to the Journal of Clinical Psychiatry*, 3(1), 22–27. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15014625>
- Gaudriault, P., Mazaud-Guittot, S., Lavoué, V., Coiffec, I., Lesné, L., Dejucq-Rainsford, N., ... Jégou, B. (2017). Endocrine Disruption in Human Fetal Testis Explants by Individual and Combined Exposures to Selected Pharmaceuticals, Pesticides, and Environmental Pollutants. *Environmental Health Perspectives*, 125(8), 087004. <https://doi.org/10.1289/EHP1014>
- Gavin, N. I., Gaynes, B. N., Lohr, K. N., Meltzer-Brody, S., Gartlehner, G., & Swinson, T. (2005). Perinatal depression: a systematic review of prevalence and incidence. *Obstetrics and Gynecology*, 106(5 Pt 1), 1071–1083. <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000183597.31630.db>
- Gentile, S. (2017). Untreated depression during pregnancy: Short- and long-term effects in offspring. A systematic review. *Neuroscience*, 342, 154–166. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.09.001>
- Grandfils, N., & Sermet, C. (2009). *Evolution 1998-2002 of the antidepressant consumption in France, Germany and the United Kingdom*.
- Guérin, A., Rieutord, A., Cuche, L., Lupattelli, A., & Nordeng, H. (2016). Médicaments et grossesse : une enquête menée auprès de 374 femmes en France. *Thérapie*, 71(6), 613–623. <https://doi.org/10.1016/j.therap.2016.04.005>



- Hansen, C. H., Larsen, L. W., Sørensen, A. M., Halling-Sørensen, B., & Styris have, B. (2017). The six most widely used selective serotonin reuptake inhibitors decrease androgens and increase estrogens in the H295R cell line. *Toxicology in Vitro : An International Journal Published in Association with BIBRA*, 41, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.02.001>
- Heikkine, T., Ekblad, U., & Laine, K. (2002). Transplacental transfer of citalopram, fluoxetine and their primary demethylated metabolites in isolated perfused human placenta. *BJOG : An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 109(9), 1003–1008. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12269673>
- Heikkinen, T., Ekblad, U., Palo, P., & Laine, K. (2003). Pharmacokinetics of fluoxetine and norfluoxetine in pregnancy and lactation. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 73(4), 330–337. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12709723>
- Hooley, R. P., Paterson, M., Brown, P., Kerr, K., & Saunders, P. T. K. (2009). Intra-testicular injection of adenoviral constructs results in Sertoli cell-specific gene expression and disruption of the seminiferous epithelium. *Reproduction (Cambridge, England)*, 137(2), 361–370. <https://doi.org/10.1530/REP-08-0247>
- Huizink, A. C., Mulder, E. J. H., & Buitelaar, J. K. (2004). Prenatal stress and risk for psychopathology: specific effects or induction of general susceptibility? *Psychological Bulletin*, 130(1), 115–142. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.130.1.115>
- Inserm. (n.d.). Dépression Inserm. Retrieved May 17, 2018, <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/depression>
- Jacobsen, N. W., Hansen, C. H., Nellemann, C., Styris have, B., & Halling-Sørensen, B. (2015). Effects of selective serotonin reuptake inhibitors on three sex steroids in two versions of the aromatase enzyme inhibition assay and in the H295R cell assay. *Toxicology in Vitro : An International Journal Published in Association with BIBRA*, 29(7), 1729–1735. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2015.07.005>
- Jans, L. A. W., Riedel, W. J., Markus, C. R., & Blokland, A. (2007). Serotonergic vulnerability and depression: assumptions, experimental evidence and implications. *Molecular Psychiatry*, 12(6), 522–543. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001920>
- Kapoor, A., Iqbal, M., Petropoulos, S., Ho, H. L., Gibb, W., & Matthews, S. G. (2013). Effects of sertraline and fluoxetine on p-glycoprotein at barrier sites: in vivo and in vitro approaches. *PLoS One*, 8(2), e56525. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056525>
- Kieviet, N., Dolman, K. M., & Honig, A. (2013). The use of psychotropic medication during pregnancy: how about the newborn? *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 9, 1257–1266. <https://doi.org/10.2147/NDT.S36394>
- Kim, J., Riggs, K. W., Misri, S., Kent, N., Oberlander, T. F., Grunau, R. E., ... Rurak, D. W. (2006). Stereoselective disposition of fluoxetine and norfluoxetine during pregnancy and breast-feeding. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 61(2), 155–163. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2005.02538.x>
- Lecrubier, Y., & Hergueta, T. (1998). Differences between prescription and consumption of antidepressants and anxiolytics. *International Clinical Psychopharmacology*, 13 Suppl 2, S7-11. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9669193>
- Lépine, J. P., Gastpar, M., Mendlewicz, J., & Tylee, A. (1997). Depression in the community: the first pan-European study DEPRES (Depression Research in European Society). *International Clinical Psychopharmacology*, 12(1), 19–29. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9179630>
- Lima, S. A. M., El Dib, R. P., Rodrigues, M. R. K., Ferraz, G. A. R., Molina, A. C., Neto, C. A. P., ... Rudge, M. V. C. (2018). Is the risk of low birth weight or preterm labor greater when maternal stress is experienced during pregnancy? A systematic review and meta-analysis of cohort studies. *PLOS ONE*, 13(7), e0200594. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200594>
- Louik, C., Lin, A. E., Werler, M. M., Hernández-Díaz, S., & Mitchell, A. A. (2007). First-trimester use of selective serotonin-reuptake inhibitors and the risk of birth defects. *The New England Journal of Medicine*, 356(26),

- 2675–2683. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa067407>
- Lupien, S. J., McEwen, B. S., Gunnar, M. R., & Heim, C. (2009). Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, *10*(6), 434–445. <https://doi.org/10.1038/nrn2639>
- Lupu, D., Sjödin, M. O. D., Varshney, M., Lindberg, J., Loghin, F., & Rüegg, J. (2017). Fluoxetine modulates sex steroid levels in vitro. *Clujul Medical (1957)*, *90*(4), 420–424. <https://doi.org/10.15386/cjmed-868>
- Ma, T., Yin, X., Han, R., Ding, J., Zhang, H., Han, X., & Li, D. (2017). Effects of In Utero Exposure to Di-n-Butyl Phthalate on Testicular Development in Rat. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *14*(10), 1284. <https://doi.org/10.3390/ijerph14101284>
- Macleod, D. J., Sharpe, R. M., Welsh, M., Fiskens, M., Scott, H. M., Hutchison, G. R., ... van den Driesche, S. (2010). Androgen action in the masculinization programming window and development of male reproductive organs. *International Journal of Andrology*, *33*(2), 279–287. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2009.01005.x>
- Mahar, I., Bambico, F. R., Mechawar, N., & Nobrega, J. N. (2014). Stress, serotonin, and hippocampal neurogenesis in relation to depression and antidepressant effects. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *38*, 173–192. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.11.009>
- Matuszcyk, J. V., Larsson, K., & Eriksson, E. (1998). Subchronic administration of fluoxetine impairs estrous behavior in intact female rats. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *19*(6), 492–498. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(98\)00040-2](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(98)00040-2)
- Mazaud-Guittot, S., Nicolaz, C. N., Desdoits-Lethimonier, C., Coiffec, I., Maamar, M. Ben, Balaguer, P., ... Jégou, B. (2013). Paracetamol, Aspirin, and Indomethacin Induce Endocrine Disturbances in the Human Fetal Testis Capable of Interfering With Testicular Descent. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *98*(11), E1757–E1767. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-2531>
- McCarthy, M. M. (2008). Estradiol and the developing brain. *Physiological Reviews*, *88*(1), 91–124. <https://doi.org/10.1152/physrev.00010.2007>
- McGill. (n.d.). LE CERVEAU À TOUS LES NIVEAUX! Retrieved June 8, 2018, [http://lecerveau.mcgill.ca/flash/a/a\\_08/a\\_08\\_m/a\\_08\\_m\\_dep/a\\_08\\_m\\_dep.html#1](http://lecerveau.mcgill.ca/flash/a/a_08/a_08_m/a_08_m_dep/a_08_m_dep.html#1)
- Mira-Escolano, M. P., Mendiola, J., Mínguez-Alarcón, L., Melgarejo, M., Cutillas-Tolín, A., Roca, M., ... Torres-Cantero, A. M. (2014). Longer anogenital distance is associated with higher testosterone levels in women: a cross-sectional study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, *121*(11), 1359–1364. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.12627>
- Monteiro Filho, W. O., Torres, S. M. de, Amorim, M. J. A. A. L., Andrade, A. J. M., Morais, R. N. de, Tenorio, B. M., & Silva Junior, V. A. da. (2014). Fluoxetine induces changes in the testicle and testosterone in adult male rats exposed via placenta and lactation. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, *60*(5), 274–281. <https://doi.org/10.3109/19396368.2014.933984>
- Moore, M., Yuen, H. M., Dunn, N., Mullee, M. A., Maskell, J., & Kendrick, T. (2009). Explaining the rise in antidepressant prescribing: a descriptive study using the general practice research database. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, *339*, b3999. <https://doi.org/10.1136/BMJ.B3999>
- Mulder, E. J. H., Ververs, F. F., de Heus, R., & Visser, G. H. A. (2011). Selective Serotonin Reuptake Inhibitors Affect Neurobehavioral Development in the Human Fetus. *Neuropsychopharmacology*, *36*(10), 1961–1971. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.67>
- Nagai, M., Ohtani, H., Satoh, H., Matsuoka, S., Hori, S., Fujii, T., ... Sawada, Y. (2013). Characterization of Transplacental Transfer of Paroxetine in Perfused Human Placenta: Development of a Pharmacokinetic Model to Evaluate Tapered Dosing. *Drug Metabolism and Disposition*, *41*(12), 2124–2132. <https://doi.org/10.1124/dmd.113.052332>

- Oberlander, T. F., Misri, S., Fitzgerald, C. E., Kostaras, X., Rurak, D., & Riggs, W. (2004). Pharmacologic factors associated with transient neonatal symptoms following prenatal psychotropic medication exposure. *The Journal of Clinical Psychiatry*, *65*(2), 230–237. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15003078>
- Oberlander, T. F., Warburton, W., Misri, S., Aghajanian, J., & Hertzman, C. (2006). Neonatal Outcomes After Prenatal Exposure to Selective Serotonin Reuptake Inhibitor Antidepressants and Maternal Depression Using Population-Based Linked Health Data. *Archives of General Psychiatry*, *63*(8), 898. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.63.8.898>
- OMS. (n.d.). Principaux repères sur la dépression. Retrieved March 20, 2018, <http://www.who.int/gate2.inist.fr/fr/news-room/fact-sheets/detail/depression>
- OMS. (2012). *Les risques pour la santé mentale: aperçu des vulnérabilités et des facteurs de risque*.
- ORTH, J. M., GUNSALUS, G. L., & LAMPERTI, A. A. (1988). Evidence From Sertoli Cell-Depleted Rats Indicates That Spermatid Number in Adults Depends on Numbers of Sertoli Cells Produced During Perinatal Development\*. *Endocrinology*, *122*(3), 787–794. <https://doi.org/10.1210/endo-122-3-787>
- Paulzen, M., Goecke, T. W., Stickeler, E., Gründer, G., & Schoretsanitis, G. (2017). Sertraline in pregnancy - Therapeutic drug monitoring in maternal blood, amniotic fluid and cord blood. *Journal of Affective Disorders*, *212*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2017.01.019>
- Petersen, I., Gilbert, R. E., Evans, S. J. W., Man, S.-L., & Nazareth, I. (2011). Pregnancy as a major determinant for discontinuation of antidepressants: an analysis of data from The Health Improvement Network. *The Journal of Clinical Psychiatry*, *72*(7), 979–985. <https://doi.org/10.4088/JCP.10m06090blu>
- Pohland, R. C., Byrd, T. K., Hamilton, M., & Koons, J. R. (1989). Placental transfer and fetal distribution of fluoxetine in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, *98*(2), 198–205. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2785300>
- Pratt, L. A., & Brody, D. J. (2014). Depression in the U.S. household population, 2009-2012. *NCHS Data Brief*, (172), 1–8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25470183>
- Ramos, A. C., H. dos Santos, A., Silveira, K. M., Kiss, A. C. I., Mesquita, S. F. P., & Gerardin, D. C. C. (2016). Maternal treatment with fluoxetine promotes testicular alteration in male rat pups. *Reproduction, Fertility and Development*, *28*(8), 1206. <https://doi.org/10.1071/RD14199>
- Rampono, J., Proud, S., Hackett, L. P., Kristensen, J. H., & Ilett, K. F. (2004). A pilot study of newer antidepressant concentrations in cord and maternal serum and possible effects in the neonate. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, *7*(3), 329–334. <https://doi.org/10.1017/S1461145704004286>
- Reefhuis, J., Devine, O., Friedman, J. M., Louik, C., & Honein, M. A. (2015). Specific SSRIs and birth defects: bayesian analysis to interpret new data in the context of previous reports. *BMJ*, h3190. <https://doi.org/10.1136/bmj.h3190>
- Reis, M., & Källén, B. (2010). Delivery outcome after maternal use of antidepressant drugs in pregnancy: an update using Swedish data. *Psychological Medicine*, *40*(10), 1723–1733. <https://doi.org/10.1017/S0033291709992194>
- Russell, L. D., Ettl, R. A., Hikim, A. P. S., & Clegg, E. D. (1993). Histological and Histopathological Evaluation of the Testis. *International Journal of Andrology*, *16*(1), 83–83. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.1993.tb01156.x>
- Safarinejad, M. R. (2008a). Evaluation of Endocrine Profile and Hypothalamic-Pituitary-Testis Axis in Selective Serotonin Reuptake Inhibitor-Induced Male Sexual Dysfunction. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, *28*(4), 418–423. <https://doi.org/10.1097/JCP.0b013e31817e6f80>
- Safarinejad, M. R. (2008b). Sperm DNA damage and semen quality impairment after treatment with selective serotonin reuptake inhibitors detected using semen analysis and sperm chromatin structure assay. *The*

- Journal of Urology*, 180(5), 2124–2128. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2008.07.034>
- Sakr, H. F., Abbas, A. M., Elsamanoudy, A. Z., & Ghoneim, F. M. (2015a). Effect of fluoxetine and resveratrol on testicular functions and oxidative stress in a rat model of chronic mild stress-induced depression. *Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society*, 66(4), 515–527. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26348076>
- Sakr, H. F., Abbas, A. M., Elsamanoudy, A. Z., & Ghoneim, F. M. (2015b). Effect of fluoxetine and resveratrol on testicular functions and oxidative stress in a rat model of chronic mild stress-induced depression. *Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society*, 66(4), 515–527. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26348076>
- Schloesser, R. J., Manji, H. K., & Martinowich, K. (2009). Suppression of adult neurogenesis leads to an increased hypothalamo-pituitary-adrenal axis response. *Neuroreport*, 20(6), 553–557. <https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e3283293e59>
- Segall-Gutierrez, P., Berman, C. S., Opper, N., Dossett, E., Moore, K., Martin, C., & Pine, J. (2012). The Incidence of Depression by Fertility Status in Overweight and Obese Latina Women. *Journal of Immigrant and Minority Health*, 14(6), 1040–1044. <https://doi.org/10.1007/s10903-012-9591-9>
- Silva Junior, Valdemiro Amaro da. (2013). Testis evaluation of adult Wistar rats after neonatal treatment with fluoxetine. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, 35(1), 115–122.
- Snyder, J. S., Soumier, A., Brewer, M., Pickel, J., & Cameron, H. A. (2011). Adult hippocampal neurogenesis buffers stress responses and depressive behaviour. *Nature*, 476(7361), 458–461. <https://doi.org/10.1038/nature10287>
- Soares-Cunha, C., Coimbra, B., Borges, S., Domingues, A. V., Silva, D., Sousa, N., & Rodrigues, A. J. (2018). Mild Prenatal Stress Causes Emotional and Brain Structural Modifications in Rats of Both Sexes. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 12, 129. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00129>
- Syed, V., Gomez, E., & Hecht, N. B. (1999). Messenger Ribonucleic Acids Encoding a Serotonin Receptor and a Novel Gene Are Induced in Sertoli Cells by a Secreted Factor(s) from Male Rat Meiotic Germ Cells<sup>1</sup>. *Endocrinology*, 140(12), 5754–5760. <https://doi.org/10.1210/endo.140.12.7194>
- Tanrikut, C., Feldman, A. S., Altemus, M., Paduch, D. A., & Schlegel, P. N. (2010). Adverse effect of paroxetine on sperm. *Fertility and Sterility*, 94(3), 1021–1026. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.04.039>
- Tanrikut, C., & Schlegel, P. N. (2007). Antidepressant-associated changes in semen parameters. *Urology*, 69(1), 185.e5-7. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2006.10.034>
- Van den Bergh, B. R. H., Mulder, E. J. H., Mennes, M., & Glover, V. (2005). Antenatal maternal anxiety and stress and the neurobehavioural development of the fetus and child: links and possible mechanisms. A review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29(2), 237–258. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.10.007>
- Van den Bergh, B. R. H., Van Calster, B., Smits, T., Van Huffel, S., & Lagae, L. (2008). Antenatal Maternal Anxiety is Related to HPA-Axis Dysregulation and Self-Reported Depressive Symptoms in Adolescence: A Prospective Study on the Fetal Origins of Depressed Mood. *Neuropsychopharmacology*, 33(3), 536–545. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301450>
- Van den Hove, D. L. A., Blanco, C. E., Scheepens, A., Desbonnet, L., Myint, A.-M., Leonard, B. E., ... Steinbusch, H. W. M. (2008). Prenatal maternal paroxetine treatment and neonatal mortality in the rat: a preliminary study. *Neonatology*, 93(1), 52–55. <https://doi.org/10.1159/000106433>
- Van Lieshout, R. J., & Boylan, K. (2010). Increased Depressive Symptoms in Female but Not Male Adolescents Born at Low Birth Weight in the Offspring of a National Cohort. *The Canadian Journal of Psychiatry*, 55(7), 422–430. <https://doi.org/10.1177/070674371005500705>
- Vieira, M. L., Hamada, R. Y., Gonzaga, N. I., Bacchi, A. D., Barbieri, M., Moreira, E. G., ... Gerardin, D. C. C. (2013). Could maternal exposure to the antidepressants fluoxetine and St. John's Wort induce long-term

- reproductive effects on male rats? *Reproductive Toxicology*, 35, 102–107.  
<https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2012.07.006>
- Weinstock, M. (2017). Prenatal stressors in rodents: Effects on behavior. *Neurobiology of Stress*, 6, 3–13.  
<https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2016.08.004>
- Welsh, M., Saunders, P. T. K., Fiskens, M., Scott, H. M., Hutchison, G. R., Smith, L. B., & Sharpe, R. M. (2008). Identification in rats of a programming window for reproductive tract masculinization, disruption of which leads to hypospadias and cryptorchidism. *The Journal of Clinical Investigation*, 118(4), 1479–1490.  
<https://doi.org/10.1172/JCI34241>
- Wen, S. W., Yang, Q., Garner, P., Fraser, W., Olatunbosun, O., Nimrod, C., & Walker, M. (2006). Selective serotonin reuptake inhibitors and adverse pregnancy outcomes. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 194(4), 961–966. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2006.02.019>
- Westin, A. A., Brekke, M., Molden, E., Skogvoll, E., & Spigset, O. (2017). Selective serotonin reuptake inhibitors and venlafaxine in pregnancy: Changes in drug disposition. *PloS One*, 12(7), e0181082.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181082>
- Yonkers, K. A., Wisner, K. L., Stewart, D. E., Oberlander, T. F., Dell, D. L., Stotland, N., ... Lockwood, C. (2009). The management of depression during pregnancy: a report from the American Psychiatric Association and the American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstetrics and Gynecology*, 114(3), 703–713.  
<https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e3181ba0632>



Sites internet :

- (1) OMS. "Principaux Repères Sur La Dépression.". Disponible sur : <http://www.who.int/gate2.inist.fr/fr/news-room/fact-sheets/detail/depression> (Page consultée le 20 Mars 2018)
- (2) Inserm. "Dépression Inserm." disponible sur : <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/depression> (Page consultée le 17 Mai 2018)
- (3) McGill. "LE CERVEAU À TOUS LES NIVEAUX!". Disponible sur : [http://lecerveau.mcgill.ca/flash/a/a\\_08/a\\_08\\_m/a\\_08\\_m\\_dep/a\\_08\\_m\\_dep.html#1](http://lecerveau.mcgill.ca/flash/a/a_08/a_08_m/a_08_m_dep/a_08_m_dep.html#1) (Page consultée le 8 Juin 2018)



DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 11/06/2019

<p align="center"><b>DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE</b></p> <p>présenté par : <b>RAFFENNE Léo</b></p> <p><u>Sujet :</u> Effets d'antidépresseurs sur la différenciation testiculaire chez l'homme et le rat</p> <p><u>Jury :</u> Président : M. RIHN Bertrand, Professeur Directeur : M. FERRARI Luc, Professeur Juges : M. DUPUIS François, Maître de conférences M. JEHL Eric, Pharmacien</p>	<p align="center">Vu, Nancy, le 20 avril 2019</p> <p align="center">Le Président du Jury      Directeur de Thèse</p> <p align="center"><b>Professeur B. RIHN</b> M. Luc Ferrari Université de Lorraine</p>
<p align="center">Vu et approuvé, Nancy, le 10.05.2019</p> <p align="center">Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Lorraine,</p> <p align="center">  </p>	<p align="center">Vu, Nancy, le 24 MAI 2019</p> <p align="center">Le Président de l'Université de Lorraine,</p> <p align="center">  </p> <p align="center">Pierre MUTZENHARDT</p> <p>N° d'enregistrement : 10708</p>





N° d'identification : 10708

**TITRE**

**EFFETS D'ANTIDEPRESSEURS SUR LA DIFFERENCIATION TESTICULAIRE CHEZ L'HOMME ET LE RAT**

**Thèse soutenue le 11 Juin 2019**

**Par RAFFENNE Léo**

**RESUME :**

La dépression est un des principaux troubles psychiatriques dans le monde, affectant plus de 300 millions de personnes. Le stress et/ou la dépression peuvent engendrer des anomalies chez la descendance. Des médicaments, notamment les ISRS, pour traiter ces troubles ont prouvés leur efficacité mais aucune étude, à notre connaissance, n'a porté sur les effets de ces traitements – prescrits à la femme enceinte - directement sur la différenciation et la fonction endocrine du testicule. Dans cette étude, nous avons évalué d'une part l'effet de la fluoxétine et/ou du stress sur la différenciation testiculaire du rat suite à une exposition *in utero* et d'autre part l'impact de trois antidépresseurs (fluoxétine, paroxétine, sertraline) sur la morphogénèse et le fonctionnement du testicule fœtal humain en utilisant un modèle de culture organotypique. Chez le rat, nous avons constaté une diminution du poids testiculaire après exposition *in utero* à la fluoxétine et une augmentation de l'index de la distance ano-génitale après une exposition *in utero* à la fluoxétine associée au stress. L'étude histologique n'a pas révélée d'effet sur la structure du testicule quelle que soit la condition. Chez l'humain, les trois traitements n'ont pas révélé d'effet sur la structure testiculaire ou la viabilité des cellules aux concentrations thérapeutiques. Aucune des conditions n'affecte la sécrétion d'AMH ou de testostérone du testicule fœtal aux concentrations thérapeutiques.

**MOTS CLES : Antidépresseurs, testicule, perturbateur endocrinien**

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature	
Luc Ferrari		Expérimentale	<input checked="" type="checkbox"/>
		Travail personnel	<input type="checkbox"/>
		Thème	<input checked="" type="checkbox"/>

<u>Thèmes</u>	1 – Sciences fondamentales ③ – Médicament 5 - Biologie	2 – Hygiène/Environnement 4 – Alimentation – Nutrition 6 – Pratique professionnelle