

Physiologie / Physiology

## Effets secondaires de faibles concentrations de lithium sur les fonctions rénales, thyroïdiennes et sexuelles chez des rats matures mâles et femelles

Mohamed Salah Allagui<sup>a</sup>, Nejla Hfaiedh<sup>a</sup>, Françoise Croute<sup>b</sup>, Fadhel Guermazi<sup>c</sup>,  
Christian Vincent<sup>b</sup>, Jean-Pierre Soleilhavoup<sup>b</sup>, Abdelfettah El Feki<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> *Laboratoire d'écophysiologie animale, faculté des sciences de Sfax, 3018 Sfax, Tunisie*

<sup>b</sup> *Laboratoire de biologie cellulaire et pollution, faculté de médecine Purpan, université Toulouse-3, 37, allées Jules-Guesde, 31073 Toulouse, France*

<sup>c</sup> *Laboratoire de biophysique, faculté de médecine de Sfax, Tunisie*

Reçu le 25 mai 2005 ; accepté 24 août 2005

Disponible sur Internet le 26 septembre 2005

Présenté par Pierre Buser

### Résumé

Dans le but d'évaluer les effets toxiques de faibles doses de lithium, des rats blancs de souche Wistar, mâles et femelles, ont été alimentés pendant un mois avec une nourriture supplémentée en  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  aux concentrations de 2000 mg (groupe Li1) et 4000 mg (groupe Li2) par kilogramme. Si l'on tient compte des poids corporels des rats et de la quantité de nourritures qu'ils ingèrent chaque jour, on peut estimer que les quantités de carbonates de lithium ingérées par jour et par kg PC sont respectivement, chez les groupes Li1 et Li2, de 212 mg (5,738 mmol Li) et de 323 mg (8,742 mmol Li) chez les mâles, et de l'ordre de 190 mg (5,142 mmol Li) et 289 mg (7,822 mmol Li) chez les femelles. Nous avons analysé la croissance pondérale, la lithémie, la créatininémie et les concentrations sériques d'hormones thyroïdiennes libres et sexuelles ainsi que l'aspect histologique des testicules et la cytologie vaginale. Nos résultats montrent que le lithium entraîne une diminution de la consommation de nourriture et une perte de poids dose dépendantes. Des phénomènes de polyurie, polydipsie, diarrhée ont également été observés. Bien que la quantité de nourriture ingérée et donc la consommation de  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  aient diminué en fonction du temps de traitement, la lithémie a augmenté chez les rats Li1 comme chez les rats Li2, pour lesquels une forte mortalité a été notée dès le 14<sup>e</sup> jour. Cette augmentation de la lithémie est certainement en relation avec l'apparition d'une insuffisance rénale, mise en évidence par une augmentation de la créatininémie. Le lithium a induit une diminution dose-dépendante des taux sériques de triiodothyronine (FT3) et, à un moindre degré, de thyroxine (FT4), suggérant un défaut de conversion de FT4 en FT3. Pour des lithémies équivalentes, une baisse de la testostérone sérique, associée à une inhibition de la spermatogenèse, a été notée chez les mâles. Chez les femelles, une augmentation de l'oestradiol sérique et des perturbations du cycle oestral ont été observées. Ces résultats montrent que la toxicité du lithium se manifeste chez le rat à des concentrations couramment utilisées en thérapeutique humaine. **Pour citer cet article : M.S. Allagui et al., C. R. Biologies 328 (2005).**

© 2005 Académie des sciences. Publié par Elsevier SAS. Tous droits réservés.

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [Abdelfattah.Elfeki@fss.rnu.tn](mailto:Abdelfattah.Elfeki@fss.rnu.tn) (A. El Feki).

## Abstract

**Side effects of low serum lithium concentrations on renal, thyroid, and sexual functions in male and female rats.** The present study, carried out in rats, is a contribution to explore physiological mechanisms underlying lithium toxicity. Male and female mature rats were divided into three groups and fed on commercial pellets: group (C) was control, group (Li1) was given 2000 mg lithium carbonate/kg of food, and group (Li2) was given 4000 mg lithium carbonate/kg of food. If we take into account the BW of the rats and the quantity of food they eat every day, we can estimate that the quantities of lithium carbonate ingested per day and kilogram of BW are, respectively, for the groups Li1 and Li2, of 212 mg (5,738 mmol Li) and 323 mg (8,742 mmol Li) for the males, and about 190 mg (5,142 mmol Li) and 289 mg (7,822 mmol Li) for the females. After 7, 14, 21 and 28 days, serum concentrations of lithium, creatinine, free triiodothyronine (FT3) and thyroxine (FT4), testosterone and estradiol were measured. Attention was also paid to growth rate and a histological examination of testes or vaginal mucosa was carried out. In treated rats, a dose-dependent loss of appetite and a decrease in growth rate were observed together with polydipsia, polyuria, and diarrhoea. Lithium serum concentrations were found to increase from 0.44 mM (day 7) to 1.34 mM (day 28) in Li1 rats and from 0.66 to 1.45 mM (day 14) in Li2 rats. Treatment was stopped at day 14 in Li2 rats because of a high mortality. The significant increase of creatinine that appeared, respectively, at day 7 and 14 in Li2 and Li1 rats shows that serum lithium concentrations ranging from 0.62 to 0.75 mM were able to induce renal insufficiency, secondarily leading to a time-dependent rise in lithium serum concentrations. A significant decrease of serum thyroxine (FT4) and triiodothyronine (FT3) levels was observed for lithium concentrations ranging from: 0.66 to 0.75 mmol l<sup>-1</sup> (Li2 rats) to 1.27 mmol l<sup>-1</sup> (Li1 rats). This effect was more pronounced for FT3, suggesting a defect of FT4/FT3 conversion. Under lithium treatment, the testosterone level decreased and spermatogenesis was stopped. By contrast, in treated female rats, estradiol level was found to be increased in a dose-dependent manner and animals were blocked in the diestrus phase at day 28. These results show that lithium can rapidly induce toxic effects in the rat at concentrations used for the treatment of bipolar disorders in human. *To cite this article: M.S. Allagui et al., C. R. Biologies 328 (2005).*

© 2005 Académie des sciences. Publié par Elsevier SAS. Tous droits réservés.

*Mots-clés* : Lithium ; Croissance pondérale ; Thyroïde ; Testostérone ; Œstradiol

*Keywords* : Lithium; Growth rate; Thyroid; Testosterone; Estradiol

## Abridged English version

### 1. Introduction

Lithium therapy in humans was shown to be very successful to cure psychiatric diseases and especially bipolar disorders. Such a treatment often provokes undesirable side effects. Moreover, long-term treatment may result in insipid diabetes, thyroid hyperplasia, brain damages and premature births. The frequency of adverse effects of lithium therapy results from the proximity of efficient plasma concentrations (0.4–0.8 mM) with the toxic ones. Moreover, frequency is increased in case of renal failure, dehydration, and changes in the hydro-mineral balance or interactions with other drugs.

The present work aimed at analysing the effect of a subchronic exposure to low doses of lithium in male and female Wistar rats. For that purpose, they were given lithium carbonate, mixed with the food at concentrations of either 2000 or 4000 mg/kg food, for different periods up to one month. The effects on growth and on kidney, thyroid and gonads functions were analysed.

### 2. Materials and methods

Two hundred and eighty-eight (males and females) Wistar rats were divided in three groups: (C) were con-

trols, (Li1) were animals given food containing 2000 mg Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/kg, (Li2) were animals that were given food containing 4000 mg Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/kg. The weight of each animal and its food consumption per cage were measured daily. Serum samples and testes were frozen at -20 °C until use.

Serum lithium concentration was measured by flame spectrometry. Hormone concentrations were measured by competitive RIA assays. Kidney function was evaluated by measuring serum creatinine concentration (kit Merk®).

### 3. Results

#### 3.1. Body growth, food consumption and serum lithium concentration

A growth arrest and a dose-dependent decrease in body weight in both male and female animals were observed. In Li2 group, the treatment was stopped at day 14 because of a high mortality rate.

Throughout the first two weeks of experiment, food consumption was found to decrease in a dose- and time-dependent manner as compared to controls. As calculated from the ingested food quantity, during the first week, the respective amounts of ingested lithium carbonate in the Li1 group were 170 mg/male rat, then 116,

120 and 136 mg/male rat during the following weeks, resulting in a time-dependent increase of serum lithium concentration. Similar changes were found in female rats.

In the Li1 group, serum lithium concentrations during the first two weeks (0.44 to 0.62 mmol l<sup>-1</sup>) were similar to that used for the treatment of bipolar disorder in human. However, during the third and the fourth weeks, the concentrations exceeded the toxicity threshold (1.02 to 1.34 mmol l<sup>-1</sup>).

In the Li2 group, amount of ingested lithium carbonate resulted in high concentrations of serum lithium in male and female rats (1.45 and 1.29 mmol l<sup>-1</sup> at day 14, respectively).

### 3.2. Serum creatinine concentration

A significant increase of serum creatinine concentration was found in Li1 group at day 7 for serum lithium concentrations ranging from 0.66 to 0.75 mmol l<sup>-1</sup> and at day 14 for serum lithium concentrations ranging from 0.62 to 0.66 mmol l<sup>-1</sup>. However, while lithium concentration reached 1.4 mmol l<sup>-1</sup> at day 28, creatinine concentration did not increase further.

### 3.3. Serum thyroid hormones

Serum levels of FT4 and FT3 were found to be decreased in a dose-dependent manner in both male and female lithium-treated rats. The FT4/FT3 ratio was almost similar in male and female control animals. Moreover, this ratio was significantly increased in animals of the Li2 group at day 7 and 14, for serum lithium concentrations ranging from 0.66 to 1.45 mmol l<sup>-1</sup>.

In the Li1 group, this ratio was only increased in males at day 21 and 28 (serum lithium concentrations < 1.27 mmol l<sup>-1</sup>). The increase in the FT4/FT3 ratio appeared mainly due to the more important decrease of the FT3 concentrations. As compared to controls, FT3 levels decreased to 39% at day 28 in males of the Li1 group or at day 7 in males of the Li2 group, whereas the corresponding FT4 levels decreased to 70% and 62% only. In Li2 females, FT3 level decreased to 27% at day 14, whereas FT4 level was down by 56% only.

### 3.4. Circulating sex hormones

As compared to controls, testosterone level was decreased by more than 50% at day 7 and 14 in Li2 male rats (serum lithium concentrations > 0.75 mmol l<sup>-1</sup>), whereas in Li1 animals, such a decrease was observed later, i.e., at days 21 and 28 (serum lithium concentrations > 1.27 mmol l<sup>-1</sup>). Serum estradiol concentration increased for serum lithium concentrations > 1 mmol l<sup>-1</sup>. Compared with the controls, estradiol

level was 1.5 fold higher at day 21 and 1.9 fold at day 28 in Li1 females and 2 fold in Li2 females at day 14.

### 3.5. Testis histology

As compared to controls, strong abnormalities appeared in Li1-treated animals, at day 28. Histological features of spermatogenesis were profoundly disturbed. Spermatozoa were less numerous and most of them were deprived of flagella.

### 3.6. Estrous cycle

Most of the control animals were found to be in estrus or post-estrus phases while Li1-treated animals were mostly in post-estrus at days 7 and 14 and in diestrus at days 21 and 28. Similarly, at day 14, Li2-treated animals were mostly in post-estrus or diestrus.

## 4. Discussion

Lithium carbonate given as a food additive induced, under our experimental conditions, an arrest of body growth and a dose-dependent decrease of food consumption, but conversely, a time-dependent increase of serum lithium concentrations. In such animals, diarrhoea, polyuria, and polydipsia were observed. These disorders are also frequently observed in human patients submitted to lithium therapy for more than one year. A significant increase in serum creatinine was found for a serum lithium concentration corresponding to a therapeutic concentration in human. This renal failure is very probably the reason of the time-dependent increase in lithium serum concentration that we observed in treated rats.

As described in humans, lithium also induced a significant decrease of FT3 and FT4 levels in rats. The mechanism underlying the lithium effects are still under investigations but it was shown that 2 mM lithium reduced iodide uptake, iodine organification and de novo hormone synthesis. Moreover, it was found that Li<sup>+</sup> can substitute to Na<sup>+</sup> in the Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> cotransporter, which can decrease the affinity of the transporter for iodide and/or decrease the iodide kinetic uptake in thyroid cells.

The increase in the FT4/FT3 ratio that we found, mainly due to a decrease of FT3, could be due, either to a lithium-related inhibition of the 5'-deiodase (which converts T4 into the active T3 hormone or/and to the renal failure induced by lithium).

While serum testosterone levels were significantly reduced in Li-treated rats, resulting in an arrest of spermatogenesis after one-month exposure, we observed in

females an increase in blood estradiol levels, not previously reported. This increase is probably related to the perturbation of the estrus cycle, since the treated females were predominantly in the diestrus stage. In spite of a relatively high estradiol concentration, treated rats completely stopped cycle, confirming previous results reported in mice. Recently, it was reported that lithium induced a decrease in the number of uterine estrogen receptors. A high number of these receptors is also present in cell nuclei of hypothalamus-preoptic area and in gonadotrophic cells of the anterior lobe of the pituitary gland. This suggests that a decrease of the number of estrogen receptors induced by lithium in hypothalamus-pituitary gland axis could explain the perturbations of the estrus cycle we observed.

To conclude, our results show that serum lithium concentrations about  $0.6 \text{ mmol l}^{-1}$  can induce in rat, after two weeks, a renal failure, secondarily leading to an increase in the serum lithium concentration. Moreover, a hypothyroidic syndrome was observed for serum lithium concentrations above  $0.75 \text{ mmol l}^{-1}$ . Lastly, increased serum estradiol concentration related to perturbations of the estrus cycle was shown when serum lithium concentrations reached  $1 \text{ mmol l}^{-1}$ . Taken together, these results show that lithium can rapidly induce toxic effects in the rat at concentrations used for the treatment of bipolar disorders in human.

## 1. Introduction

Le lithium (Li) est un métal alcalin présent dans l'écorce terrestre (0,006%) sous forme de minerais tels que le spodumène, le pentalite et le lépidolite [1]. Sa présence a été mise en évidence aussi bien dans l'eau de mer que dans l'eau douce des grands lacs. En 1973, Trieff et al. [2] ont trouvé des concentrations de lithium variant de 1 à  $78 \text{ mg l}^{-1}$  dans l'eau de boisson de certaines villes du Texas. On le trouve également dans les couches de sels, les plantes et les animaux marins, les légumes, les résidus de combustion du tabac [3]. Sa consommation moyenne est estimée à  $2 \text{ mg/jour}$  [1].

Ses usages industriels sont multiples. Il est utilisé, en particulier, dans la fabrication des céramiques, des alliages (afin d'augmenter leur dureté), de la vitrocéramique, des écrans de télévision, des films couleurs pour augmenter leur sensibilité, des piles et batteries. Il est également utilisé pour la désinfection des piscines [1].

En médecine, il a été prescrit de très longue date dans le traitement de nombreuses affections : diabète, maladies infectieuses, syndromes prémenstruels, alcoolisme, toxicomanie, troubles des conduites alimentaires, an-

xiété, troubles obsessionnels et phobiques, dépressions récurrentes. Depuis plus de 50 ans et encore actuellement, il représente le traitement de choix des troubles bipolaires. Il a également un effet favorable dans le traitement des dépressions résistant aux antidépresseurs, de l'agressivité chronique, des surexcitabilités et des schizophrénies dysthymiques [4,5].

Lors de traitements prolongés, de nombreux effets secondaires ont été rapportés, tels qu'anorexie, nausée, tremblement des mains, diarrhée, faiblesse musculaire, confusion mentale, délire, hallucinations, convulsions, voire même coma [6–9]. Diverses observations ont montré qu'il peut induire un diabète insipide néphrogénique [10,11], une insuffisance rénale [12,13] des goîtres [14,15], des désordres neurologiques [1,9], et augmenter les risques de naissance prématurée [16].

Ceci est dû au fait que les concentrations sériques de Li préconisées en thérapeutique ( $0,4\text{--}0,8 \text{ mmol l}^{-1}$ ) sont très proches des concentrations toxiques ( $> 0,8 \text{ mmol l}^{-1}$ ) [17]. De ce fait, les risques d'intoxications sont importants car les concentrations sériques de Li augmentent très rapidement en cas d'insuffisance rénale, de déshydratation, d'hyponatémie ou d'interactions avec d'autres drogues [5].

Compte tenu de l'efficacité indiscutable du lithium dans le traitement des troubles bipolaires et la prévention de rechutes [18–20], il est important de bien évaluer les concentrations induisant des effets cytotoxiques secondaires.

L'objectif de ce travail est d'analyser, chez des rats blancs de souche Wistar mâles et femelles en croissance, les effets d'une exposition subchronique de un mois au carbonate de lithium ( $\text{Li}_2\text{CO}_3$ ) mélangé à l'alimentation aux concentrations de 2000 ou  $4000 \text{ mg kg}^{-1}$  de nourriture.

La croissance corporelle, les consommations journalières de nourriture et de lithium ainsi que la lithémie ont été mesurées. La fonction rénale, les fonctions endocrines de la thyroïde, des testicules et des ovaires ont été analysées par le dosage des taux sériques de créatinine, des hormones thyroïdiennes libres (FT3 et FT4) et des hormones sexuelles (testostérone et œstradiol). L'étude histologique des testicules et cytologique des frottis vaginaux a été réalisée afin d'évaluer les conséquences des variations hormonales observées.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Animaux

Deux cent quatre-vingt-huit rats mâles et femelles de souche Wistar, sexuellement matures, d'un poids cor-

porel voisin de 100 g, ont été groupés par 12 dans des cages placées dans une animalerie ventilée maintenue entre 22° et 25 °C, de taux hygrométrique stable, munie d'un système réglant les périodes d'obscurité (10 h) et de lumière (14 h). Les animaux ont eu accès ad libitum à la nourriture (granulés à 14% de protéines, Sico, Sfax, Tunisie) et à l'eau.

## 2.2. Protocole expérimental

Les animaux ont été répartis pour chaque sexe en trois groupes : rats témoins (C) recevant une alimentation normale, rats traités recevant une alimentation additionnée de  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  à la concentration de 2000  $\text{mg kg}^{-1}$  (Li1) ou 4000  $\text{mg kg}^{-1}$  (Li2). Le traitement a été poursuivi pendant quatre semaines pour les groupes (C) et (Li1) et seulement deux semaines pour le groupe (Li2), du fait d'une importante mortalité due au traitement.

Si on tient compte des poids corporels des rats et de la quantité de nourritures qu'ils ingèrent chaque jour, on peut estimer que les quantités de carbonates de lithium ingérées par jour et par kg PC sont respectivement, chez les groupes Li1 et Li2, de 212 mg (5,738 mmol Li) et de 323 mg (8,742 mmol Li) chez les mâles, et de l'ordre de 190 mg (5,142 mmol Li) et 289 mg (7,822 mmol Li) chez les femelles.

Les animaux ont été pesés chaque matin, afin d'en déduire la courbe de croissance. La quantité de nourriture absorbée chaque jour a été mesurée afin d'estimer les quantités de  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  ingérées.

## 2.3. Prélèvement des échantillons

Le sacrifice des animaux a toujours eu lieu le matin par décapitation rapide pour limiter l'effet du stress. Le sang artério-veineux a été recueilli sans anticoagulant, puis centrifugé et le sérum collecté, stocké à  $-20^\circ\text{C}$  pour le dosage ultérieur des concentrations hormonales. Les testicules, prostate ont été prélevés, débarrassés de leur tissu adipeux et pesés. Les organes destinés à l'étude histologique, ont été placés dans un fixateur alcoolique (liquide de Bouin).

## 2.4. Dosage de la concentration sérique de lithium

La lithémie a été mesurée par spectrométrie d'émission de flamme (PerkinElmer AAnalyst 400).

## 2.5. Étude de la fonction rénale

Elle a été évaluée par le dosage de la créatininémie (kit Merck).

## 2.6. Dosages hormonaux

Les concentrations sériques des hormones thyroïdiennes libres – thyroxine (FT4) et triiodothyronine (FT3) – et des hormones sexuelles – testostérone et oestradiol sériques – ont été évaluées par des dosages radio-immunologique (RIA) par compétition (Immunoassay kits, Immunotech®, Marseille, France).

## 2.7. Étude histologique des testicules

L'étude histologique a été réalisée, selon les techniques classiques, après fixation dans le liquide fixateur de Bouin (48 h), inclusion en paraffine et coloration à l'hématoxyline-éosine.

## 2.8. Statistiques

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  écart type. Les comparaisons intergroupes des témoins et des traités sont réalisées par le test « t » de Student. La corrélation entre la créatininémie et la lithémie est évaluée statistiquement par le test «  $R^2$  » de corrélation.  $p < 0,05$  est considéré comme significatif, et  $p < 0,01$  est considéré comme hautement significatif.

## 3. Résultats

### 3.1. Effet du traitement sur la croissance corporelle, la consommation de nourriture et la lithémie

La Fig. 1 montre que les deux concentrations de  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  utilisées (2000 mg et 4000 mg par kilogramme d'aliments, soit 212 mg (5,738 mmol Li) et 323 mg (8,742 mmol Li)/kg PC/j chez les mâles, et 190 mg (5,142 mmol Li) et 289 mg (7,822 mmol Li)/kg PC/j chez les femelles) entraînent, chez les rats mâles et femelles, non seulement un arrêt de la croissance corporelle, mais aussi une perte de poids dose-dépendante. Le traitement par la dose Li2 a été arrêté au 14<sup>e</sup> jour de traitement, car il a entraîné un taux de mortalité important.

Le Tableau 1 montre que la consommation de nourriture augmente chez les témoins, alors qu'elle diminue en fonction de la dose de  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  chez les rats traités, mais également en fonction du temps pendant les deux premières semaines. Compte tenu de la quantité de nourriture consommée, les rats mâles traités par Li1 ont absorbé 170 mg de  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  au cours de la première semaine, puis 116, 120 et 126 mg au cours des semaines suivantes, ce qui a généré une augmentation temps-dépendante de la concentration en lithium dans le sang (Tableau 2). Le même type d'évolution a été

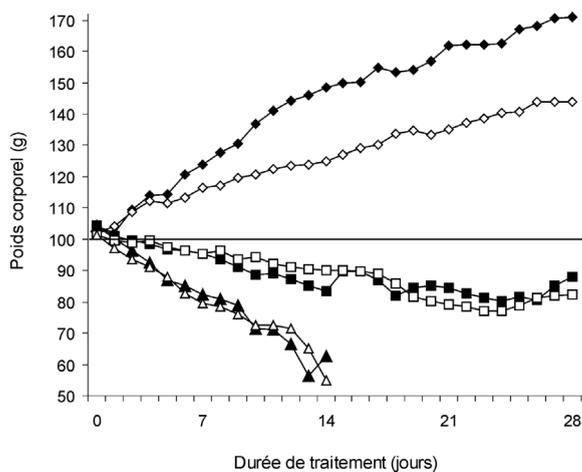


Fig. 1. Évolution du poids corporel des rats mâles (marques pleines) et femelles (marques vides) témoins (losanges) ou consommant une nourriture supplémentée avec 2000 mg (carrés) ou 4000 mg (triangles) de carbonate de lithium par kilogramme d'aliments.

observé chez les rats femelles. Comme le montre le [Tableau 2](#), les valeurs de lithémie chez les rats mâles et femelles pendant les deux premières semaines (0,44–0,62 mmol l<sup>-1</sup>) correspondent à des concentrations utilisées en thérapeutique chez l'homme, mais atteignent

des valeurs considérées comme toxiques au cours des troisième et quatrième semaines de traitement (1,02–1,34 mmol l<sup>-1</sup>).

Chez les rats Li2, les quantités de Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> absorbées ont généré respectivement chez les mâles et les femelles une lithémie de 1,45 et 1,29 mmol l<sup>-1</sup> au 14<sup>e</sup> jour de traitement.

### 3.2. Effets du lithium sur le taux de créatinine dans le sang

La [Fig. 2a](#) montre que le traitement Li2 induit une augmentation significative de la créatininémie au septième jour de traitement chez les rats mâles et femelles ayant des lithémies de 0,66–0,75 mmol l<sup>-1</sup>. Une augmentation de la créatininémie apparaît également chez les rats Li1 présentant des lithémies de 0,62–0,66 mmol l<sup>-1</sup> au 14<sup>e</sup> jour de traitement. Cependant, l'augmentation de la créatininémie ne s'amplifie pas en fonction du temps de traitement, et ceci bien que la lithémie atteigne des concentrations de 1,4 mmol l<sup>-1</sup> en fin de traitement. Ainsi, les courbes de corrélation entre la créatininémie et la lithémie pour la dose (Li1), prouvent bien que la créatininémie n'est pas corrélée à la

Tableau 1

Évolution hebdomadaire du poids corporel des rats témoins (C) ou traités à raison de 2000 mg (Li1) et 4000 mg (Li2) de carbonate de lithium par kilogramme d'aliments. Analyse, en fonction de la quantité de nourriture consommée, de la quantité moyenne de carbonate de lithium réellement ingérée par rat

		Mâles			Femelles		
		C	Li1	Li2	C	Li1	Li2
1–7 j	Poids final – Poids initial (g)	19,59	-8,90	-21,75	14,33	-6,25	-21,84
	Nourriture consommée (g)	96,99	85,00	49,18	96,95	75,00	42,97
	Li <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ingéré (mg)/rat	0	170,00	196,72	0	150,00	171,88
7–14 j	Poids final – Poids initial (g)	24,75	-12,23	-19,91	8,67	-5,25	-24,66
	Nourriture consommée (g)	105,4	58,00	42,21	101,65	57,00	37,59
	Li <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ingéré (mg)/rat	0	116,00	168,84	0	114,00	150,36
14–21 j	Poids final – Poids initial (g)	13,27	1,01		10,00	-10,75	
	Nourriture consommée (g)	125,1	60,00		119,95	49,00	
	Li <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ingéré (mg)/rat	0	120,00		0	98,00	
21–28 j	Poids final – Poids initial (g)	9,34	3,72		9,00	3,08	
	Nourriture consommée (g)	159,47	63,00		125,00	56,00	
	Li <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ingéré (mg)/rat	0	126,00		0	112,00	

Tableau 2

Évolution hebdomadaire de la lithémie (moyenne ± ET) chez des rats témoins ou traités à raison de 2000 mg (Li1) et 4000 mg (Li2) de carbonate de lithium par kilogramme d'aliments

	7 j	14 j	21 j	28 j
Témoins	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01
Li1 (males)	0,51 ± 0,08	0,66 ± 0,08	1,27 ± 0,22	1,34 ± 0,18
Li1 (femelles)	0,44 ± 0,07	0,62 ± 0,06	1,02 ± 0,16	1,24 ± 0,22
Li2 (males)	0,75 ± 0,09	1,45 ± 0,15		
Li2 (femelles)	0,66 ± 0,10	1,29 ± 0,25		

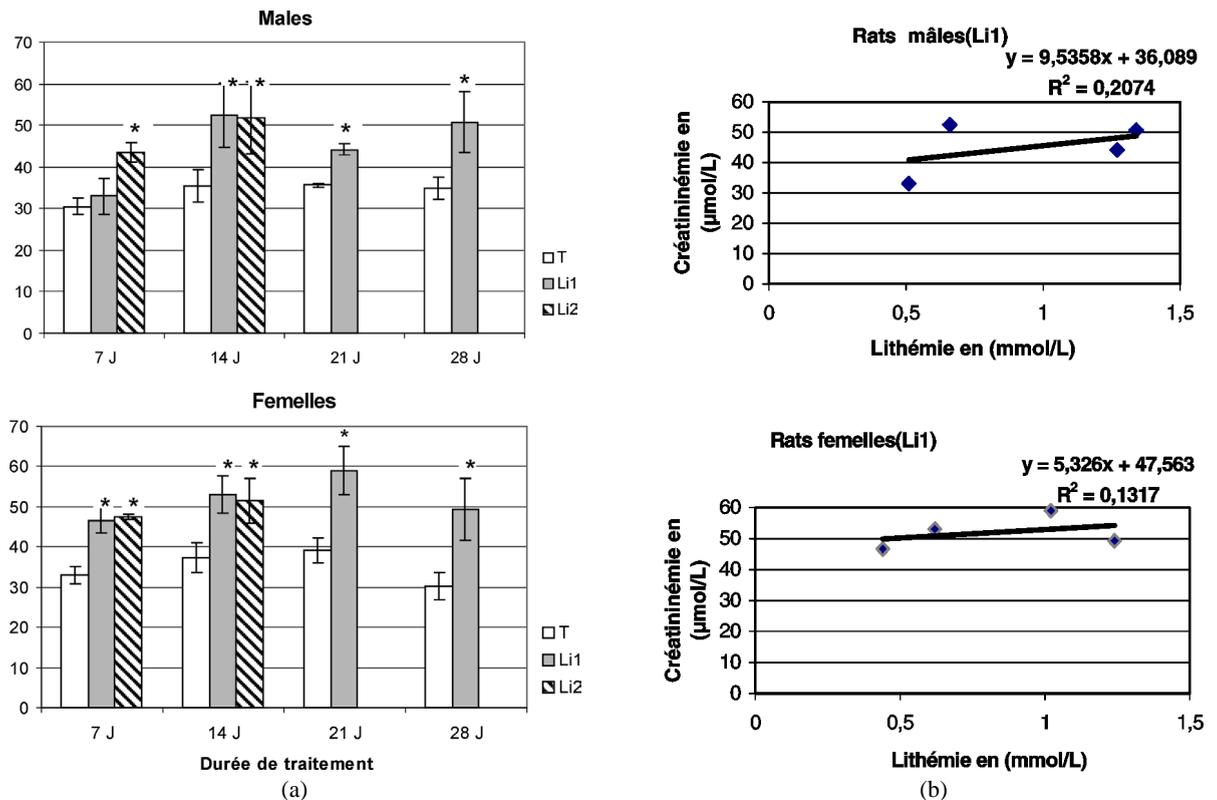


Fig. 2. (a) Évolution de la créatininémie chez des rats mâles et femelles témoins (T) ou traités par le carbonate de lithium à raison de 2000 mg (Li1) ou 4000 mg (Li2) par kilogramme d'aliments. Les valeurs correspondent à la moyenne de cinq déterminations  $\pm$  écart type. \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ . (b) Courbes de corrélation entre la créatininémie et la lithémie chez les rats (Li1), mâles et femelles, après 7, 14, 21 et 28 j de traitement.

lithémie ( $R^2$  : 0,20 chez les mâles et 0,13 chez les femelles) (Fig. 2b).

### 3.3. Effets du lithium sur le taux des hormones thyroïdiennes libres : thyroxine (FT4) et triiodothyronine (FT3)

La détermination des taux sériques de FT4 chez les rats mâles et femelles montre que le lithium induit, par rapport aux témoins, une baisse dose-dépendante qui se maintient au cours du traitement. Les taux sériques de FT3 sont également diminués de manière dose-dépendante par le  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  chez les rats mâles et femelles (Tableau 3).

De plus, le Tableau 4 montre que le rapport des taux sériques FT4/FT3 est du même ordre de grandeur chez les mâles (3,61) et les femelles (3,36) témoins. La dose Li2 induit une augmentation significative de ce rapport aux 7<sup>e</sup> et 14<sup>e</sup> jours, pour des lithémies variant de 0,66 à 1,45  $\text{mmol l}^{-1}$ . La dose Li1 induit également une augmentation de ce rapport, mais uniquement chez les rats

mâles et après un certain délai, c'est-à-dire après le 21<sup>e</sup> jour de traitement (lithémie  $> 1,2 \text{ mmol l}^{-1}$ ). L'augmentation de ce rapport est due à une chute plus importante de T3 (Tableau 3). En effet, par rapport aux valeurs témoins de FT3 et FT4 ramenées à 100, les valeurs de FT3 chutent chez les rats mâles à 39% pour Li1 (28 j) et Li2 (7 j), alors que les valeurs de FT4 ne chutent respectivement qu'à 70 et 62%. De façon comparable, FT3 chute à 27% au 14<sup>e</sup> jour chez les rats femelles (Li2), alors que FT4 ne s'abaisse qu'à 56%.

### 3.4. Effets du lithium sur le taux sérique des hormones sexuelles : testostérone et oestradiol

Chez les rats mâles, le dosage de la testostérone sérique (Tableau 5) montre que la dose Li2 induit une inhibition significative de cette hormone dès le 7<sup>e</sup> jour de traitement (lithémie : 0,75  $\text{mmol l}^{-1}$ ). En revanche, l'inhibition induite par la plus faible dose (Li1) n'apparaît significative qu'après un certain délai, c'est à dire après le 21<sup>e</sup> jour de traitement (lithémie  $> 1,27 \text{ mmol l}^{-1}$ ).

Tableau 3

Variations relatives des taux sériques de thyroxine (FT4) et triiodothyronine (FT3) libres chez les rats traités par le carbonate de lithium à raison de 2000 mg (Li1) ou 4000 mg (Li2) par kg de nourriture, par rapport aux taux des témoins (C) dont les valeurs ont été ramenées à 100

		Mâles			Femelles		
		C	Li1	Li2	C	Li1	Li2
7 j	T4	100 ± 7	74 ± 17	62 ± 6	100 ± 14	92 ± 19	68 ± 3
	T3	100 ± 9	62 ± 2	39 ± 3**	100 ± 12	91 ± 23	61 ± 11
14 j	T4	100 ± 9	73 ± 13	59 ± 5	100 ± 12	56 ± 27	56 ± 7
	T3	100 ± 1	70 ± 6	51 ± 11	100 ± 27	62 ± 12	27 ± 5**
21 j	T4	100 ± 6	81 ± 9		100 ± 9	70 ± 7	
	T3	100 ± 6	65 ± 1*		100 ± 12	62 ± 9	
28 j	T4	100 ± 8	70 ± 24		100 ± 6	84 ± 8	
	T3	100 ± 7	39 ± 3**		100 ± 20	99 ± 21	

Les valeurs correspondent à la moyenne de 5 déterminations ± écart type comparaisons T3/T4.

\*  $p < 0,05$ .

\*\*  $p < 0,01$ .

Tableau 4

Rapports des taux sériques de FT4/FT3 chez des rats mâles et femelles (C) ou nourris avec des granulés additionnés de carbonate de lithium à la concentration de 2000 mg/kg (Li1) ou 4000 mg/kg (Li2)

	Mâles			Femelles		
	C	Li1	Li2	C	Li1	Li2
7 j	3,15 ± 0,21	3,75 ± 0,76	4,97 ± 0,47**	3,65 ± 0,46	3,76 ± 0,42	4,14 ± 1,00*
14 j	3,90 ± 0,40	4,06 ± 0,22	4,56 ± 0,24**	3,43 ± 0,83	3,00 ± 1,10	6,90 ± 1,43**
21 j	4,31 ± 0,50	5,52 ± 0,51**		3,26 ± 0,51	3,68 ± 0,49	
28 j	3,08 ± 0,39	5,25 ± 1,37**		3,12 ± 0,49	2,67 ± 0,27	
Moyenne des témoins	3,61 ± 0,60			3,36 ± 0,23		

Les valeurs correspondent à la moyenne de 5 déterminations ± écart type.

\*  $p < 0,05$ .

\*\*  $p < 0,01$ .

Tableau 5

Évolution du taux de testostérone sérique ( $\text{ng ml}^{-1}$ ) chez des rats mâles témoins (C) ou traités pendant 28 j au carbonate de lithium à raison de 2000 mg (Li1) ou 4000 mg (Li2) par kilogramme de nourriture

	7 j	14 j	21 j	28 j
C	1,23 ± 0,33	1,40 ± 0,37	5,07 ± 0,68	1,96 ± 0,32
Li1	0,89 ± 0,36	1,14 ± 0,40	1,52 ± 0,54**	0,84 ± 0,32*
Li2	0,55 ± 0,10*	0,53 ± 0,09*		

Les valeurs correspondent à la moyenne de cinq estimations ± écart type.

\*  $p < 0,05$ .

\*\*  $p < 0,01$ .

Chez les rats femelles (Tableau 6), les taux sériques d'œstradiol ont respectivement augmenté d'un facteur 1,5 au 21<sup>e</sup> et 1,9 au 28<sup>e</sup> jour chez les rats traités avec Li1. Une augmentation d'un facteur 2 a été observée au 14<sup>e</sup> jour de traitement avec Li2. Cette augmentation de l'œstradiol apparaît donc pour des lithémies supérieures à 1 mM.

### 3.5. Étude histologique des testicules

Comme le montrent les coupes histologiques, les testicules témoins (Fig. 3A) sont constitués de tubes sé-

minifères serrés, avec des espaces interstitiels étroits. Au niveau de l'épithélium des tubes séminifères, on observe les différents stades de la spermatogenèse, qui s'y déroulent de façon centripète, avec de nombreuses spermatogonies en périphérie à proximité de la membrane basale, des spermatocytes I et II, des spermatides et des spermatozoïdes matures, dont les flagelles remplissent la quasi-totalité de la lumière.

Chez les rats traités pendant 28 j avec la dose Li1 (Fig. 3B, C) les différents stades de la spermatogenèse apparaissent fortement altérés. Parmi les perturbations observées, on note la présence d'un grand nombre

Tableau 6

Évolution du taux d'oestradiol sérique ( $\text{pg ml}^{-1}$ ) chez des rates témoins (C) et traitées par le carbonate de lithium à raison de 2000 mg (Li1) ou 4000 mg (Li2) par kilogramme de nourriture

	14 j	21 j	28 j
C	19,53 ± 0,49	27,69 ± 1,02	18,82 ± 1,23
Li1	25,85 ± 2,35	42,63 ± 6,61*	35,92 ± 4,74**
Li2	38,51 ± 1,65**		

Les valeurs correspondent à la moyenne de cinq déterminations ± écart type.

\*  $p < 0,05$ .

\*\*  $p < 0,01$ .

de tubes séminifères avec des spermatozoïdes sans flagelles (B) ou une absence totale des spermatozoïdes (C).

### 3.6. Analyse du cycle oestral sur frottis vaginaux

L'étude cytologique des frottis vaginaux permet de différencier les quatre stades du cycle vaginal : proœstrus (nombreuses cellules épithéliales), œstrus (présence de cellules kératinisées dépourvues de noyaux) correspondant à la période ovulatoire, post-œstrus (apparition de leucocytes et de cellules phagocytaires et disparition des cellules kératinisées), di-œstrus.

Le Tableau 7 montre que dans les lots témoins, une grande majorité de rates étaient aux stades œstrus ou post-œstrus. Les rates traitées avec Li1 étaient en majorité au stade post-œstrus aux 7<sup>e</sup> et 14<sup>e</sup> jours et au stade di-œstrus aux 21<sup>e</sup> et 28<sup>e</sup> jours. Au 14<sup>e</sup> jour de traitement avec Li2, on observe que les rates étaient aux stades post-œstrus et di-œstrus.

## 4. Discussion

Le but de ce travail est de compléter notre connaissance sur les concentrations seuil de lithium pouvant entraîner des effets cytotoxiques secondaires. Dans ce cadre, des rats blancs de souche Wistar ont été alimentés pendant un mois avec une nourriture supplémentée en  $\text{Li}_2\text{CO}_3$ , aux concentrations de 2000 mg (Li1) et 4000 mg (Li2) par kilogramme de nourriture

Nos résultats montrent que les doses Li1 et Li2 de  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  administrées par voie orale entraînent chez des rats matures une perte d'appétit (peut-être due au goût et à la forte alcalinité du  $\text{Li}_2\text{CO}_3$ ) et une chute importante du poids corporel de caractère dose-dépendant, aussi bien chez les mâles que chez les femelles.

La dose Li2 a induit au 14<sup>e</sup> jour de traitement une lithémie de 1,29–1,45  $\text{mmol l}^{-1}$ , qui s'est accompagnée d'un taux de mortalité important. Ceci pourrait être le résultat de la déshydratation, associée aux phénomènes

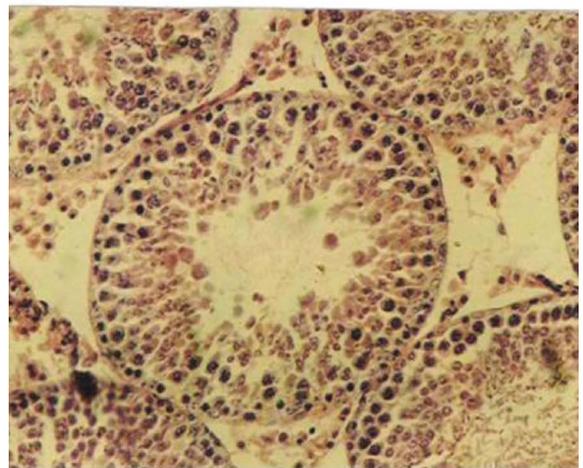
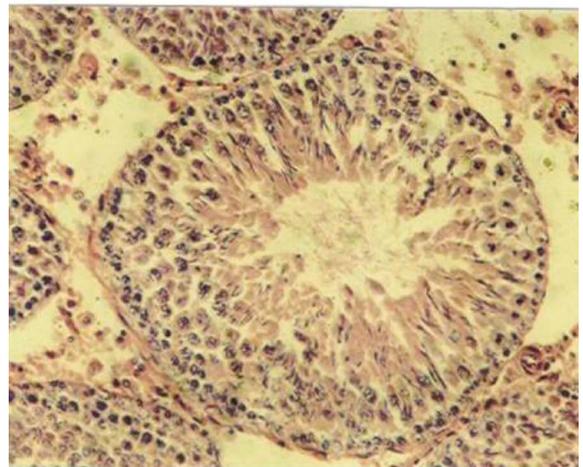
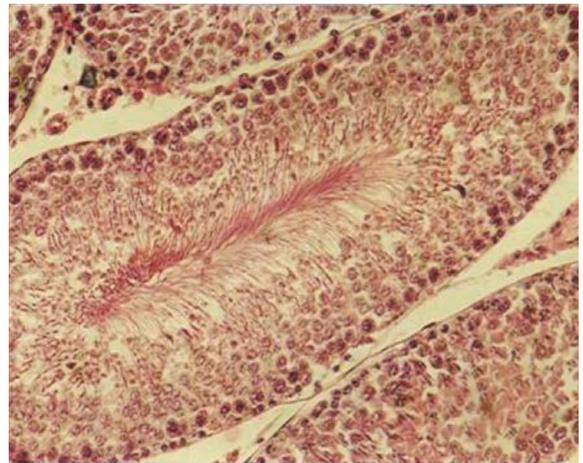


Fig. 3. Structure histologique testicules de rats témoins (A) ou traités par Li1 pendant 28 j (B, C), montrant des tubes séminifères témoins dont la lumière est remplie de spermatozoïdes (A) et des tubes séminifères altérés par le traitement avec des spermatozoïdes sans flagelles (B) ou dépourvus de spermatozoïdes (C). Coloration : hématoxyline-éosine ( $\times 200$ ).

Tableau 7

Variations du cycle oestral chez les rates témoins (C) et traitées par Li1 et Li2. Les valeurs correspondent au nombre de rates en pro-œstrus (Pr), œstrus (O), post-œstrus (Po) et di-œstrus (Di) après 7, 14, 21 et 28 jours de traitement

	7 j				14 j				21 j				28 j			
	Pr	O	Po	Di	Pr	O	Po	Di	Pr	O	Po	Di	Pr	O	Po	Di
C	1	7	5			10	2			7	4		1	8	1	
Li1		2	11	1	3	4	6	2			1	12			2	10
Li2	1	7	2	5			7	15								

de polyurie, polydipsie et diarrhée qui ont été observés dans nos conditions expérimentales et qui ont été déjà observés par d'autres auteurs [5].

Pour la dose Li1, nos résultats suggèrent qu'une certaine adaptation s'installe après la première semaine de traitement. En effet, la quantité hebdomadaire de nourriture ingérée ne diminue plus et reste stable pendant les trois dernières semaines de traitement et le poids se stabilise. Nous avons cependant observé, pendant cette période, une augmentation de la lithémie, de 0,6 à 1,3 mmol l<sup>-1</sup> et l'apparition de diarrhées et de polyurie, accompagnées d'une augmentation de la quantité d'eau de boisson consommée (polydipsie) (non présenté). Le syndrome de polyurie–polydipsie a également été observé chez des patients prenant du lithium depuis plus d'un an [21]. Une augmentation significative de la créatininémie a été détectée pour des lithémies de 0,6 mmol l<sup>-1</sup>, montrant que ces faibles concentrations de lithium, utilisées en thérapeutique chez l'homme, sont susceptibles d'induire une insuffisance rénale.

Cette insuffisance rénale est certainement à l'origine de l'augmentation temps-dépendante de la lithémie que nous avons observée chez les rats traités.

Notre étude a par ailleurs démontré que le Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> induisait une diminution dose-dépendante des taux sériques des hormones thyroïdiennes triiodothyronine (FT3) et thyroxine (FT4). Il est bien connu que les risques de développer une hypothyroïdie sont augmentés chez les patients recevant un traitement au lithium [22–25]; cependant, le mécanisme d'action du lithium est encore mal connu. Une diminution du diamètre des follicules thyroïdiens, de la taille des cellules folliculaire et des gouttelettes de colloïde a été observée chez des rats traités par le carbonate de lithium [26]. Urabe et al. [27] ont par ailleurs montré que l'incorporation d'iode, les étapes d'organification de l'iode et la synthèse de novo des hormones thyroïdiennes étaient inhibées par le lithium (2 mM) dans des follicules thyroïdiens en cultures primaires.

Un facteur important dans la régulation de la quantité d'hormone est la disponibilité en iode. Le transport de l'iode dans le thyrocyte dépend d'un transporteur

symport Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup>, dont l'activité est électrogénique et Na<sup>+</sup>-dépendante [28]. Or, il a été démontré que le cation Li<sup>+</sup> peut se substituer au Na<sup>+</sup> et ainsi diminuer la constante d'affinité du transporteur pour l'anion I<sup>-</sup> [29], et donc l'iodation de la thyroglobuline.

Nos résultats montrent que le lithium modifie l'équilibre FT3–FT4. En effet, une augmentation du rapport FT4/FT3 a été mise en évidence, qui semble en rapport avec un défaut de conversion de FT4 en FT3. Cet effet pourrait être en relation avec l'insuffisance rénale que nous avons constatée chez les rats traités. En effet, il a été montré que l'insuffisance rénale chronique s'accompagne de troubles endocriniens, en particulier caractérisés par une diminution des concentrations sériques de T4 et T3 et d'un défaut de conversion de T4 en T3 [30]. Terao et al. [31] ont observé, chez des patients traités pendant huit semaines avec du lithium (taux sériques de 0,79 mmol l<sup>-1</sup>), une augmentation des niveaux de T4 et de TSH et aucune modification de T3. Ces auteurs suggèrent que le lithium pourrait inhiber la conversion périphérique de T4 libre en T3 en bloquant les processus de désiodation par la 5'-déiodase.

Divers travaux suggérant que le lithium pouvait inhiber la stéroïdogenèse [32,33], Nous avons donc recherché les effets du lithium sur les organes sexuels mâles et femelles et plus particulièrement sur la production des hormones stéroïdes : la testostérone synthétisée par les cellules de Leydig du testicule et l'oestradiol produit par les cellules de la granulosa dans l'ovaire. Nos résultats montrent que des rats traités pendant un mois avec du Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, administré par voie orale aux doses de 2000 mg et 4000 mg par kilogramme de nourriture, présentent une diminution dose-dépendante des taux sériques de testostérone chez les mâles et, inversement, une augmentation des taux d'oestradiol chez les femelles. La testostérone favorise, entre autres, la croissance et le fonctionnement de l'épididyme, de la prostate et des vésicules séminales. En relation avec la diminution du taux de testostérone, nous avons observé une atrophie de la prostate et des vésicules séminales (non présenté). L'examen histologique des testicules des rats traités pendant un mois avec la plus faible dose a mis en évidence une atrophie de la plupart des tubes

séminifères et un arrêt de la spermatogenèse. Thakur et al. [33] rapportent des résultats similaires chez des rats traités avec des doses de lithium de 1100 mg par kilogramme de nourriture. De plus, il a observé une vacuolisation du cytoplasme des cellules de Sertoli et un arrêt des sécrétions dans les vésicules séminales et la prostate. Les cellules de Sertoli, sous l'action combinée de la FSH et de la testostérone, sécrètent diverses protéines, qui commandent la différenciation et la production des spermatozoïdes. L'effet du lithium sur le taux de testostérone et sur les cellules de Sertoli peut donc expliquer, du moins en partie, l'arrêt de la spermatogenèse.

L'augmentation dose-dépendante du taux d'oestradiol induite par des lithémies supérieures à 1 mM est un résultat original, qui n'a pas à notre connaissance été rapporté dans la littérature.

Baptista et al. [34], analysant les fluctuations des hormones au cours du cycle menstruel chez des jeunes femmes traitées avec 900 mg/jour de  $\text{Li}_2\text{CO}_3$ , n'ont pas observé de modification des hormones suivantes : 17- $\beta$ -oestradiol, progestérone, LH, FSH, thyroxine. Seule l'hormone thyroïdienne (TSH) est apparue augmentée.

Chez les animaux, l'oestradiol déclenche l'œstrus, caractérisé par des modifications de la muqueuse vaginale, et assure le maintien des caractères sexuels secondaires. Banerji et al. [35] ont observé que des injections aiguës de lithium chez des souris en proœstrus supprimaient le pic de LH, qui doit normalement survenir en fin de proœstrus, et qu'une administration chronique de lithium entraînait une interruption du cycle sexuel, qui restait bloqué au stade diœstrus. Notre travail montre qu'après un mois de traitement par le lithium, la majorité des rates était bloquée en phase diœstrus, et ceci bien que les taux d'oestradiol soient élevés.

Une étude récente a montré que le lithium provoquait une diminution de la densité des récepteurs des œstrogènes au niveau de l'utérus [36]. Un grand nombre de récepteurs à l'oestradiol sont également présents dans les aires hypothalamiques préoptiques antérieures et dans des cellules gonadotropes de l'hypophyse antérieure [37]. Ceci suggère qu'une diminution du nombre des récepteurs des œstrogènes, induite par le lithium au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire, pourrait être à l'origine de perturbations du contrôle neuroendocrinien du cycle œstral chez les animaux traités.

En conclusion, nos résultats montrent que des lithémies de  $0,6 \text{ mmol l}^{-1}$  sont susceptibles d'induire chez le rat, au cours des 15 premiers jours de traitement, une insuffisance rénale entraînant secondairement une augmentation de la lithémie. L'apparition d'une hypothyroïdie et une baisse de la testostérone ont été observées

pour des lithémies supérieures à  $0,75 \text{ mmol l}^{-1}$ . Une augmentation des concentrations sériques d'oestradiol et des perturbations du cycle œstral ont été observées pour des lithémies de l'ordre de  $1 \text{ mmol l}^{-1}$ . Ces résultats mettent en évidence le fait que la toxicité du lithium se manifeste rapidement chez le rat dans une gamme de concentrations couramment utilisées en thérapeutique humaine, qui est cependant susceptible de générer des effets secondaires, essentiellement sur le long terme [5].

## Références

- [1] R.P. Beliles, G.D. Clayton, F.E. Clayton, *Lithium*. Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, vol. II, fourth ed., John Wiley and Sons Inc., New York, 1994 (Part C).
- [2] N.M. Trieff, S.M. Frey, M.S. Rao, Analysis for lithium in Texas drinking waters, *Tex. Rep. Biol. Med.* 31 (1973) 55–78.
- [3] G.N. Schrauzer, Lithium: occurrence, dietary intakes, nutritional essentiality, *J. Am. Coll. Nutr.* 21 (2002) 14–22.
- [4] H.K. Manji, G.J. Moore, G. Chen, Lithium at 50: Have the neuroprotective effect of this unique cation overlooked?, *Biol. Psychiatry* 46 (1999) 929–940.
- [5] M. Schou, Lithium treatment at 52, *J. Affect. Disord.* 67 (2001) 21–32.
- [6] N.J. Birch, H.G. Sigler, H. Sigel, Lithium, in: *Handbook on Toxicity of Inorganic Compounds*, Marcel Dekker Inc., New York, 1988, pp. 383–393.
- [7] C.L. Bowden, Key treatment studies of lithium in manic-depressive illness: efficacy and side effects, *J. Clin. Psychiatry* 59 (1998) 13–19.
- [8] M.J. Ellenhorn, D.G. Barceloux, Diagnosis and treatment of human poisoning, in: *Medical Toxicology*, Elsevier, New York, 1988.
- [9] R.E. Gosselin, R.P. Smith, H.C. Hodge, *Clinical Toxicology of Commercial Products*, fifth ed., Williams and Wilkins, Baltimore, MD, 1984.
- [10] I. Singer, D. Ritebverg, J.B. Dyschett, Lithium induced nephrogenic diabetes insipidus in vivo and in vitro studies, *J. Clin. Invest.* 51 (1972) 1081–1091.
- [11] T. Turan, E. Esel, B. Tokgoz, S. Aslan, S. Sofuoglu, C. Utas, F. Kelestimur, Effects of short- and long-term lithium treatment on kidney functioning in patients with bipolar mood disorder, *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 26 (2002) 561–565.
- [12] M. Gitlin, Lithium and the kidney: an updated review, *Drug Saf.* 20 (1999) 231–242.
- [13] V.K. Tam, J. Green, J. Schwieger, A.H. Cohen, Nephrotic syndrome and renal insufficiency associated with lithium therapy, *Am. J. Kidney Dis.* 27 (1996) 715–720.
- [14] A. Bocchetta, F. Bernardi, M. Pedditzi, A. Loviselli, F. Velluzi, M. Martino Del Zompo, Thyroid abnormalities during lithium treatment, *Acta Psychiatr. Scand.* 83 (1991) 193–198.
- [15] J.H. Lazarus, The effects of lithium therapy on thyroid and thyrotropin-releasing hormone, *Thyroid* 8 (1998) 909–913.
- [16] W.A. Troyer, G.R. Pereira, R.A. Lannon, J. Belik, M.C. Yoder, Association of maternal lithium exposure and premature delivery, *J. Perinatal. Med.* 13 (1993) 123–127.
- [17] N.J. Birch, P. Grof, R.P. Hullin, R.F. Kehoe, M. Schou, D.P. Srinivasan, Lithium prophylaxis: proposed guide-lines for good clinical practice, *Lithium* 4 (1993) 225–230.

- [18] J.R. Geddes, S. Burgess, K. Hawton, K. Jamison, G.M. Goodwin, Long-term lithium therapy for bipolar disorder: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, *Am. J. Psychiatry* 16 (2004) 217–222.
- [19] F.K. Goodwin, K.R. Jamison, *Manic-Depressive Illness*, Oxford University Press, New York, 1990.
- [20] F.K. Goodwin, N. Ghaemi, Bipolar disorders: state of the art, *Dial. Clin. Neurosci.* 1 (1999) 41–51.
- [21] C. Henry, Lithium side-effects and predictors of hypothyroidism in patients with bipolar disorder: sex differences, *J. Psychiatry Neurosci.* 27 (2002) 104–107.
- [22] A. Bocchetta, P. Mossa, F. Velluzzi, S. Mariotti, M.D. Zompo, A. Loviselli, Ten-year follow-up of thyroid function in lithium patients, *J. Clin. Psychopharmacol.* 21 (2001) 594–598.
- [23] S.D. Deodhar, B. Singh, C.M. Pathak, P. Sharan, P. Kulhara, Thyroid functions in lithium-treated psychiatric patients: a cross-sectional study, *Biol. Trace Elem. Res.* 67 (1999) 151–163.
- [24] A.M. Johnston, J.M. Eagles, Lithium-associated clinical hypothyroidism. Prevalence and risk factors, *Br. J. Psychiatry* 175 (1999) 336–339.
- [25] G. Kirov, Thyroid disorders in lithium-treated patients, *J. Affect. Disord.* 50 (1998) 33–40.
- [26] F.C. Valle, H. Hayashi, J.C. Prates, L.J. Didio, Cellular and subcellular alterations of the thyroid gland in rats caused by lithium carbonates, *Bull. Assoc. Anat.* 77 (1993) 39–43.
- [27] M. Urabe, J.M. Hershman, X.P. Pang, S. Murakami, M. Sugawara, Effect of lithium on function and growth of thyroid cells in vitro, *Endocrinology* 129 (1991) 807–814.
- [28] S. Eskandari, D.F. Loo, G. Dai, O. Levy, E.M. Wright, N. Carasco, Thyroid  $\text{Na}^+/\text{I}^-$  symporter, *J. Biol. Chem.* 272 (1997) 27230–27238.
- [29] B.A. Hirayama, D.F. Loo, E.M. Wright, Cation effects on protein conformation and transport in the  $\text{Na}^+/\text{glucose}$  cotransporter, *J. Biol. Chem.* 272 (1997) 2110–2115.
- [30] V.S. Lim, Thyroid function in patients with chronic renal failure, *Am. J. Kidney Dis.* 38 (2001) S80–S84.
- [31] T. Terao, T. Oga, S. Nozaki, A. Ohta, Y. Otsubo, S. Yamamoto, M. Zamami, M. Okada, Possible inhibitory effect of lithium on peripheral conversion of thyroxine to triiodothyronine: a perspective study, *Int. Clin. Psychopharmacol.* 10 (1995) 103–105.
- [32] P.K. Ghosh, N.M. Biswas, D. Ghosh, Effect of lithium chloride on testicular steroidogenesis and gametogenesis in immature male rats, *Acta Endocrinol.* 124 (1991) 76–82.
- [33] S.C. Thakur, S.S. Thakur, S.K. Chaube, S.P. Singh, Subchronic supplementation of lithium carbonate induces reproductive system toxicity in male rat, *Reprod. Toxicol.* 17 (2003) 683–690.
- [34] T. Baptista, A. Lacruz, S. de Mendoza, M.M. Guillen, J.L. Burguera, M. de Burguera, L. Hernandez, Endocrine effects of lithium carbonate in healthy premenopausal women: relationship with body weight regulation, *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 24 (2000) 1–16.
- [35] T.K. Banerji, T.A. Parkening, T.J. Collins, A.H. Rassoli, L.S. Legate, Acute lithium treatment suppresses the proestrous LH surge in mice: chronic lithium leads to constant diestrus, *Brain Res.* 380 (1986) 176–180.
- [36] A.G. Gunin, V.U. Emelianov, I.U. Mironkin, M.P. Morozov, A.S. Tolmachev, Lithium treatment enhances estradiol-induced proliferation and hyperplasia formation in the uterus of mice, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 114 (2004) 83–89.
- [37] M.H. Johnson, B.J. Everitt, La régulation de la fonction gonadique, in: *Reproduction, Sciences Medicales, Série Pasteur, De Boeck Université*, 2002, pp. 88–116.