

République Algérienne Démocratique et populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomique  
Département des Sciences Biologiques

Mémoire de fin d'études  
En vue de l'obtention du diplôme de **Master en Sciences Biologiques**  
Option : **Biologie et Physiologie de la Reproduction**

## Thème

**Impact d'un perturbateur neuroendocrinien, le thiaméthoxame, sur l'axe thyroïdien en corrélation avec l'axe de la reproduction chez le rat *wistar*.**

Réalisé par :

- Melle ADJIOUA Linda
- Melle AOUAM Celina

Soutenu le 27-09-2023 devant le jury composé de :

Présidente	Mme GUENDOUI S	MAA-UMMTO
Promotrice	Mme BENABDESSELAM R	Pr-UMMTO
Co-Promotrice	Mme TOUNSI F	Doctorante-USTHB
Examinatrice	Mme CHERFAOUI Dj	MCA-UMMTO

**Année universitaire : 2022/2023**

# Remerciements

*Nous tenons à exprimer notre gratitude envers Dieu, le tout-puissant, pour nous avoir donné le courage et la volonté de mener à terme ce présent travail.*

*Au terme de ce mémoire, nous exprimons notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre promotrice madame **BENABDESSELAM. R**, professeure à l'université de Tizi-Ouzou, pour nous avoir encadré, orienté, et pour ses conseils ayant permis d'améliorer la rédaction de ce manuscrit.*

*Nos vifs remerciements sont adressés également à notre co-promotrice **D'TOUNSI. F**, pour son précieux soutien, ses conseils et surtout sa disponibilité lors de la réalisation de la partie pratique.*

*Nous remercions **Mme GUENDOUI** pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury de notre mémoire, et de même nos remerciements vont à **Mme CHERFAOUI Dj** pour avoir pris le temps d'examiner notre travail*

*Nous remercions le responsable du service d'Histologie et d'Anatomie Pathologique de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, **Dr KADDOUR**, pour nous avoir accueillis et donné la possibilité de réaliser une partie du travail expérimental.*

*Nous tenons à remercier chaleureusement Madame l'ingénieur du laboratoire de Biologie et Physiologie Animale d'avoir mis à notre disponibilité tous les moyens nécessaires pour la prise de photos histologiques et leurs interprétations.*

*Nos profonds remerciements vont à l'ensemble de nos enseignants et enseignantes.*

*Merci à toutes les personnes qui ont contribué de prêt et de loin à la réalisation de ce travail.*

# Dédicaces

*Avec l'aide de Dieu enfin ce travail est achevé, lequel je dédie à toutes les personnes qui me sont chères :*

*À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi, mon père « Rezki ».*

*À maman « Zohra » pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices.*

*À mon frère « Massinissa » et mes sœurs : « Kahina » et « Sephora » qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leur offre la chance et le bonheur.*

*À mon soutien moral, source de joie et de bonheur, mon fiancé « Jugurtha » pour ses encouragements et l'aide qu'il m'a toujours apportée.*

*À mon oncle « Mokrane » et toute sa petite famille*

*À mes tentes « Yemmathameqrant » et « Nana wrida »*

*Mon binôme « Lynda »*

*A toutes mes amies*

**Celina AOUAM**

## Dédicaces

*À la mémoire de toutes les personnes qui me sont chères et qui ne sont plus de ce monde : je pense à vous en silence, que Dieu vous accueille dans son vaste paradis.*

*Dada, là où tu es ! Tu seras fière de moi, paix à ton âme*

*À mes parents*

*À mon père "Mohand", l'homme précieux, offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect. À ma mère, « Nora », ma lumière qui a souffert sans me laisser souffrir, j'espère qu'ils seront toujours fiers de moi, que Dieu me les protège et me les garde. Quoi que je dise, je ne saurai point vous remercier comme il se doit, je vous aime.*

*À Djeddi, je t'aime très fort, je te souhaite une longue vie,*

*À ma chère Sœur et mes frères Hacem, sa femme et Massi, qui n'ont pas cessé de m'encourager*

*À mes grands-mères, mes deux tantes paternelles et mes oncles, mes cousins et cousines, en particulier Koulla, Lylia et Karim pour leur fraternité infinie.*

*À La famille ADJIOUA, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*À tous ceux qui m'ont enseigné tout au long de ma vie, je remercie chaleureusement mon enseignant Mr K.Oudiai.*

*À ma binôme Celina pour son amitié, sa patience, je te souhaite que de la réussite, je remercie chaleureusement sa famille pour leur soutien*

*À mes amis et à tous ceux que I love.*

**Linda ADJIOUA**

## Liste des abréviations

---

- **ABP**: Androgen-bindingprotein.
- **ADN**: Acide Désoxyribonucléique.
- **AMPc** : adenosine monophosphate cyclique
- **ARNm** : Acide ribonucléique messenger
- **ATP** : Adenosine triphosphate
- **cm** : Centimètre.
- **CT** : Calcitonine
- **DIT** : Di-Iodo-Tyrosine
- **DJA** : Dose Journalière Admissible/tolérable.
- **DDT**: dichloro-diphenyl-trichloro-ethane
- **Ep**: Epithélium.
- **g**: Gramme.
- **GnRH**: Gonadotrophin Releasing hormone.
- **H.T** : Hormone Thyroïdienne
- **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**: Eau oxygénée.
- **Kg** : kilo gramme.
- **MCT** : monocarboxylates
- **mg**: Milligramme.
- **min** :Minute.
- **MIT** :Mono-Iodo-Tyrosine
- **ml**: Millilitre.
- **NIS**: Symport sodium iodure
- **NOAEL** : Non observed adverse effectlevel « dose sans effet nocif observable ».
- **O<sub>2</sub>**: dioxygène
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- **PE** : Perturbateur endocrinien
- **rT<sub>3</sub>** : T<sub>3</sub> inverse (reverse T<sub>3</sub>)
- **T<sub>3</sub>** : Tri-iodothyronine
- **T<sub>4</sub>** : tétra-iodothyronine ou Thyroxine
- **TBG**: Thyroxin Binding Globulin.
- **TBPA** : Pré-Albumine de transport des hormones thyroïdiennes
- **Tg** : Thyroglobuline
- **TMX**: Thiamethoxame
- **TPO**: Thyroperoxydase
- **TR**: Récepteur thyroïdien
- **TRE**: Element de réponse
- **TRH** : Thyrolibérine (Thyrotropin Releasing Hormone)
- **TS**: Tube séminifère
- **TSH** :HormoneThyréotrope (Thyroid Stimulating Hormone)
- **µm** : Micromètre.

### Glossaire

**Toxicité subchronique** : une toxicité résulte de l'administration répétée d'une dose ou de l'exposition quotidienne à une concentration de la substance étudiée pendant une durée moyenne de un à trois mois (**Fillatre, 2011**).

**DJA : (Dose Journalière Admissible)** : La DJA d'un produit chimique est une estimation de la quantité de substance active présente dans les aliments ou l'eau qui peut être ingérée tous les jours durant la vie entière sans risque appréciable sur la santé du consommateur, compte tenu de tous les facteurs connus au moment de l'évaluation. Elle est exprimée en milligramme de substance chimique par kilogramme de poids corporel (**OMS, 1997**).  $DJA = NOAEL / 100$ .

**NOAEL : (No Observed Adverse EffectLevel)** : elle est définie comme la dose la plus élevée d'une substance qui provoque de faibles effets chez des animaux soumis à l'expérimentation.

## Sommaire

<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>1. Pesticide et Thiaméthoxame</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Pesticide</b>	<b>3</b>
<b>1.1.1. Historique</b>	<b>3</b>
<b>1.1.2. Définition pesticide</b>	<b>3</b>
<b>1.1.3. Composition d'un pesticide</b>	<b>3</b>
<b>1.1.4. Caractéristiques</b>	<b>4</b>
<b>1.1.5. Classification</b>	<b>4</b>
<b>1.1.6. Sources et voies d'exposition</b>	<b>4</b>
<b>1.1.7. Toxicité</b>	<b>5</b>
<b>1.1.7. 1 Effets sur la santé humaine</b>	<b>5</b>
<b>1.1.8. Devenir des pesticides dans l'organisme</b>	<b>5</b>
<b>1.1.9. Les voies métaboliques</b>	<b>6</b>
<b>1.2. Perturbateur endocrinien</b>	<b>7</b>
<b>1.2.1. Définition</b>	<b>7</b>
<b>1.3. Néonicotinoïdes</b>	<b>7</b>
<b>1.3.1. Définition</b>	<b>7</b>
<b>1.3.2. Utilisation</b>	<b>8</b>
<b>1.3.3. Mode d'action</b>	<b>8</b>
<b>1.4. Thiaméthoxame</b>	<b>9</b>
<b>1.4.1. Utilisation</b>	<b>9</b>
<b>1.4.2. Structure chimique</b>	<b>9</b>
<b>1.4.3. Mode d'action du thiaméthoxame</b>	<b>10</b>
<b>2. Rappel Anatomo-Structuro-Fonctionnel de la Thyroïde</b>	<b>10</b>
<b>2.1. Anatomie</b>	<b>10</b>
<b>2.2. Organogenèse de la glande thyroïde</b>	<b>11</b>
<b>2.3. Histologie de la glande thyroïdienne</b>	<b>11</b>
<b>2.4. Les hormones thyroïdiennes</b>	<b>13</b>
<b>2.4.1. Structure</b>	<b>13</b>
<b>2.4.2. Biosynthèse des Hormones thyroïdiennes</b>	<b>14</b>
<b>2.4.3. Transport des hormones thyroïdiennes</b>	<b>16</b>
<b>2.4.4. Transport, métabolisme et action des hormones thyroïdiennes dans une cellule cible</b>	<b>16</b>
<b>2.4.5. Effets sur les systèmes et les tissus</b>	<b>17</b>
<b>2.4.6. La régulation de la fonction thyroïdienne</b>	<b>18</b>
<b>2.4.7. Autorégulation thyroïdienne</b>	<b>19</b>
<b>2.5. Calcitonine</b>	<b>19</b>
<b>2.5.1. Structure :</b>	<b>20</b>
<b>2.5.2. Effet physiologique</b>	<b>20</b>
<b>Chapitre II PARTIE EXPERIMENTALE</b>	
<b>1. Matériel et méthodes</b>	<b>22</b>
<b>1.1. Matériel</b>	<b>22</b>
<b>1.1.1. Matériel biologique</b>	<b>22</b>
<b>1.2. Méthodes</b>	<b>23</b>
<b>1.2.1. Traitement des animaux</b>	<b>23</b>

1.2.2. Anesthésie et perfusion intracardiaque	23
1.2.3. Prélèvement d'organe	24
1.2.4. Technique histologique	24
1.2.4.1. Post fixation des échantillons	24
1.2.4.2. Déshydratation et imprégnation	24
1.2.4.3. Inclusion, confection des blocs et des coupes	24
1.2.4.4. Déparaffinage	25
1.2.4.5. Réhydratation	25
1.2.4.6. Coloration	25
1.2.4.7. Déshydratation, éclaircissement et montage des lames	25
1.2.4.8. Observation	27
1.2.5. Etude histo-morphométrique	27
1.2.6. Étude statistique	27
2. Résultats	29
2.1. Effet du Thiaméthoxame sur les aspects histo-morphométrique de rats adultes mâles	29
2.1.1. Aspect histologique chez les rats adultes mâles	29
2.1.2. Données morphométriques chez l'adulte	29
2.2. Impact du traitement au thiaméthoxame des parents sur le développement postnatal de la glande thyroïde des rats de la première génération	34
2.2.1. Histologie de la thyroïde au cours du développement et effets du thiaméthoxame	34
2.2.2. Morphométrie de La descendance.	35
3. Discussion	41
Conclusion et Perspectives	

<b>Figure 1:</b> Métabolisme des xénobiotiques (INSERM, 2013).....	6
<b>Figure 2:</b> Organigramme représentant les classes d'insecticides (David et <i>al.</i> , 2014).....	8
<b>Figure 3 :</b> Représentation schématique d'une synapse cholinergique entre deux neurones avec les cibles principales des néonicotinoïdes.....	9
<b>Figure 4:</b> Structure biochimique du thiaméthoxame (Attia et Beghoura, 2020). ....	10
<b>Figure 5:</b> Anatomie de la glande thyroïde (Marieb., 2008). ....	11
<b>Figure 6:</b> Follicule thyroïdien (Dallot, 2015). ....	12
<b>Figure 7:</b> Follicules en activités et follicules au repos (Wémeau., 2010).....	13
<b>Figure 8:</b> Structure biochimique des hormones thyroïdiennes (Gregory A Brent, 2012.....	13
<b>Figure 9:</b> Représentation schématique de la synthèse des hormones thyroïdiennes (Dallot., 2015)....	15
<b>Figure 10:</b> Processus d'élaboration des hormones thyroïdiennes à partir de MIT et DIT (Dallot, 2015). ....	15
<b>Figure 11:</b> Action des hormones thyroïdiennes.....	17
<b>Figure 12:</b> Mécanisme de la régulation de la thyroïde par la TSH (Maha., 2018). ....	19
<b>Figure 13:</b> Couplage d'hormone thyroïdienne/ Récepteur et activation d'adénylate cyclase (Maha., 2018).....	20
<b>Figure 14:</b> Structure biochimique de la calcitonine.....	20
<b>Figure 15:</b> Image d'un rat de laboratoire (image, 2022). ....	22
<b>Figure 16:</b> Protocole suivi pour la réalisation des coupes. ....	26
<b>Figure 17:</b> Lame coloré (image, 2023). ....	27
<b>Figure 18:</b> Microscope connecté à caméra (Image, 2023). ....	27
<b>Figure 19:</b> Coupes histologiques de la thyroïde des rats adultes témoins et traités au thiaméthoxame au grossissement X100. ....	30
<b>Figure 20:</b> Coupes histologiques de la thyroïde des rats l'adulte témoins et traités au thiaméthoxame au grossissement X 400. ....	31
<b>Figure 21:</b> Présentation graphique du diamètre des follicules thyroïdiens des rats adultes témoins et ceux traités au thiaméthoxame (DJA, NOAEL et NOAELx2). ....	32
<b>Figure 22:</b> Présentation graphique de la surface de la lumière colloïdale des rats adultes témoins et ceux traités au thiaméthoxame (DJA, NOAEL et NOAELx2). ....	32
<b>Figure 23:</b> Représentation graphique d'épaisseur de l'épithélium des rats adultes témoins et ceux traités au thiaméthoxame (DJA, NOAEL et NOAELx2) ....	33
<b>Figure 24:</b> Présentation graphique du diamètre des noyaux folliculaires des rats adultes traités au thiaméthoxame (DJA, NOAEL et NOAELx2) comparativement aux témoins. ....	33
<b>Figure 25:</b> Coupes histologique de la thyroïde âgés de 20, 60 et 90 jours issus des parents témoins ou traités au thiaméthoxame au grossissement X100 ....	36
<b>Figure 26:</b> Coupes histologiques de la thyroïde chez les rats âgés de 20 jours au grossissement X400. ....	37
<b>Figure 27:</b> Coupes histologiques de la thyroïde des rats âgés 60 jours au grossissement X400. ....	37
<b>Figure 28:</b> Coupes histologiques de la thyroïde des rats âgés 90 jours au grossissement X400. ....	38
<b>Figure 29:</b> Présentation graphique du diamètre des follicules des rats âgés de 20, 60 et 90 jours issus de parents témoins ou traités au thiaméthoxame. ....	39
<b>Figure 30:</b> Présentation graphique de la surface de la lumière folliculaire thyroïdiens des rats âgés de 20, 60 et 90 jours issus des parents témoins ou traités ....	39
<b>Figure 31:</b> Présentation graphique d'épaisseur de l'épithélium des follicules thyroïdiens des rats âgés de 20, 60 et 90 jours issus de parents témoins ou traités. ....	40
<b>Figure 32:</b> Présentation graphique du diamètre des noyaux des follicules des rats âgés de 20, 60 et 90 jours issus de parents témoins ou traités aux.....	40

<b>Tableau 1</b> : Types de transporteurs des hormones thyroïdiennes.....	16
<b>Tableau 2</b> : Le traitement des rats et leur répartition par lots.....	23
<b>Tableau 3</b> : Teneurs approximatives des changements structuraux de la thyroïde des rats adultes traités au thiaméthoxame avec les doses (DJA, NOAEL et NOAELx2) relativement aux témoins.....	42
<b>Tableau 4</b> : Teneurs approximatives des changements structuraux de la thyroïde de rats issus de parents traités au thiaméthoxame avec les doses (DJA, NOAEL et NOAELx2) relativement au témoins.....	42

# **Introduction**

L'agriculture intensive repose sur l'utilisation de pesticides pour lutter contre les organismes nuisibles tels que les insectes : insecticides, les champignons et les moisissures : fongicides, les mauvaises herbes : herbicides, les rongeurs : rongicides (**He et al., 2020**). Cependant, l'utilisation excessive de certains de ces produits entraîne des effets néfastes non intentionnels tels que la toxicité pour les organismes non ciblés, la contamination de l'eau, les effets nocifs sur l'homme et l'environnement, ainsi que le développement de résistances chez les ravageurs (**Feki et al., 2021**).

L'organisation mondiale de la santé (OMS) a classé les pesticides selon les dangers qu'ils présentent. Selon l'Agence américaine de protection de l'environnement (EPA), la toxicité des pesticides dépend de nombreux facteurs, tels que la dose, la voie et la durée d'exposition, ainsi que la sensibilité individuelle.

De nombreuses études épidémiologiques ont révélé une corrélation entre l'utilisation professionnelle des pesticides et l'émergence de certaines maladies chez les populations exposées. Ainsi, des effets cancérigènes, neurotoxiques et de perturbations endocriniennes des pesticides ont été observés chez les animaux (**Merhi, 2008**).

Parmi les pesticides, les néonicotinoïdes sont apparus comme une nouvelle génération d'insecticides respectueux de l'environnement, pour remplacer des composés plus toxiques et persistants tels que les organophosphorés et les carbamates (**Simon-Delso et al., 2015 ; Cossi et al., 2020**). En tant que classe d'insecticides synthétiques et systémiques, les néonicotinoïdes agissent sélectivement sur les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChRs) du système nerveux central des insectes, provoquant chez ce dernier une excitabilité inhabituelle, une paralysie et la mort (**El Okle, 2016 ; Tian et al., 2020**). Cependant, le potentiel toxique des néonicotinoïdes est plus faible chez les vertébrés car ils ont une faible affinité avec les nAChRs et ne traversent pas facilement la barrière hématoencéphalique (**Ensley, 2018 ; Stara et al., 2020**).

Le Thiamétoxame(TM<sub>X</sub>) est un insecticide organique qui appartient à la famille des néonicotinoïdes. Il est commercialisé en Algérie sous le nom de Actara<sup>R</sup>, 25% et utilisé contre les insectes piqueurs et suceurs des céréales, les arbres fruitiers et les cultures maraichères (**Ait Hamlet et al., 2019**). Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à l'impact d'une exposition subchronique au TM<sub>X</sub> sur les aspects histofonctionnels de la glande thyroïde chez les rats mâles adultes de la souche *Wistar*, ainsi que sur la thyroïde des rats mâles issus de parents ayant reçu le TM<sub>X</sub>. En effet, depuis la période utérine jusqu'à l'âge adulte, l'organisme est exposé à des perturbateurs endocriniens de manière non intentionnelle, mais

ubiquitaire. La thyroïde est sans doute la glande endocrine la plus vulnérable aux modifications de l'environnement.

Ce genre de pesticide pourrait provoquer des changements de la structure du tissu thyroïdien et par conséquent altérer la fonction de cet organe, ce qui pourrait impacter d'autres fonctions biologiques, notamment, celle de la reproduction.

Nous avons abordé le volet expérimental de cette étude en adoptant une approche histo-morphométrique de la glande thyroïde.

Ce manuscrit est composé de deux chapitres, le premier concerne les rappels bibliographiques sur les pesticides, tout particulièrement, les néonicotinoïdes ; comme le thiaméthoxame, et sur la glande thyroïde ainsi que sa physiologie. Le deuxième chapitre concerne la partie expérimentale où sont décrits le protocole et les techniques utilisées, et où sont ensuite présentés les résultats, la discussion et la conclusion.

## **Chapitre I : Rappels Bibliographiques**

## 1. Pesticide et Thiaméthoxame

### 1.1. Pesticide

#### 1.1.1. Historique

Au fil des siècles, les méthodes de protection des cultures contre les ravageurs et les maladies ont évolué. Des efforts ont été faits pour utiliser des produits chimiques, botaniques et inorganiques afin de réduire les dommages causés aux cultures et aux animaux par ces ravageurs et ces maladies.

En 1939, une percée surprenante dans les traitements phytosanitaires est intervenue avec la découverte des propriétés de destruction des insectes de la DDT, qui a conduit au développement d'insecticides à base d'hydrocarbures chlorés et d'organophosphorés pendant la Seconde Guerre mondiale (1940-1945). Ces substances ont réduit les pertes humaines, animales et végétales, augmentant ainsi les rendements agricoles. Depuis lors, les pesticides sont largement reconnus comme essentiels pour nourrir une population mondiale croissante quand la main d'œuvre était rare, en permettant aux agriculteurs de contrôler les ravageurs et les maladies et encore de gagner du temps (**Boland et al., 2004**). Vingt ans plus tard, les premières accusations de dommages à la santé des gens et à l'environnement se firent entendre (**Hayo, 1997**).

#### 1.1.2. Définition pesticide

Le terme « pesticide », dérive du mot anglais « pest » qui désigne insecte ou plante nuisible, parasite, et de « cide », du latin « caedere » signifiant frapper, abattre, tuer (**Gatignol et Etienne, 2010**). Le mot pesticide est une appellation générique désignant tous les produits chimiques agricoles utilisés à des fins phytosanitaires (**Boland et al., 2004**). Ces substances permettent de lutter principalement contre les organismes considérés comme nuisibles : les insectes (insecticides), les champignons, les moisissures (fongicides), les mauvaises herbes, (herbicides), les rongeurs (rongicides), etc.... (**Feki et al., 2021**).

#### 1.1.3. Composition d'un pesticide

Un pesticide est composé de trois substances : une matière active ; qui est la molécule qui a le pouvoir biocide du pesticide, un diluant ; qui est une substance solide ou liquide utilisée pour diluer la matière active et enfin un adjuvant qui est encore une substance dépourvue d'activités biologiques, mais qui améliore l'efficacité des propriétés chimiques spécifiques du pesticide (**Boland et al., 2004**).

#### 1.1.4. Caractéristiques

Les pesticides ont comme caractéristique principale de lutter contre des organismes nuisible (animaux, végétaux, champignons) mais ils peuvent aussi réguler la croissance des végétaux, avoir des propriétés défoliantes ou dessiccants (**Baldi et al., 2013**), Selon l'Agence de Protection de l'Environnement des États-Unis (EPA), Les pesticides peuvent avoir des effets nocifs sur les organismes non ciblés, tels que les animaux et les plantes bénéfiques. Ils peuvent être utilisés sous différentes formes, notamment des liquides, des poudres, des granulés, des aérosols, des appâts et des vaporisateurs.

#### 1.1.5. Classification

La classification des pesticides est en fonction de deux critères : Les contextes d'utilisation et les réglementations (**Baldi et al., 2013**).

En fonction des contextes d'utilisation :

- ❖ Selon leurs cibles principales, on trouve les herbicides, les fongicides (pour lutter contre les champignons), les insecticides, les acaricides, les rodenticides (contre les petits rongeurs), les nématicides (contre les vers), les mollusciscides (limaces)... ;
- ❖ Selon les usages auxquels ils sont destinés : cultures végétales, entretiens d'espaces verts, plantes ornementales, voiries, traitement du bois, élevage... ;
- ❖ Selon leur structure moléculaire et leurs propriétés, ils appartiennent à différentes familles chimiques.
- ❖ Au niveau réglementaire : les pesticides sont définis selon quatre réglementations européennes distinctes : les produits phytopharmaceutiques, les biocides, les médicaments et produits à usage humain, et ceux a usage vétérinaire (**Baldi et al., 2013**).

#### 1.1.6. Sources et voies d'exposition

L'exposition aux pesticides peut être introduite directement tel que l'inhalation de fumées ou de vapeurs, l'ingestion de résidus sur les aliments, l'exposition professionnelle lors de la fabrication ou de l'utilisation des pesticides, mais aussi l'exposition indirectement à partir d'eau, d'air ou de surface contaminée (**Baldi et al., 2013**).

Les substances pénètrent dans l'organisme selon trois voies :

- ❖ Contact dermique (absorption par la peau ou les yeux) ;
- ❖ Inhalation (absorption par les poumons) ;
- ❖ Ingestion (absorption par la bouche) (**Cchst, 2017**).

### 1.1.7. Toxicité

Selon l'EPA, Les pesticides peuvent avoir des effets nocifs sur la santé humaine et l'environnement en raison de leur toxicité. La toxicité des pesticides dépend de nombreux facteurs, tels que la dose, la voie d'exposition et la sensibilité individuelle.

#### 1.1.7. 1 Effets sur la santé humaine

En règle générale, L'absorption des pesticides et de leurs produits dérivés par l'homme se fait à travers l'alimentation, l'eau, l'air respiré ou par contact avec la peau (Scheyer, 2004). Les agriculteurs et les travailleurs impliqués dans la préparation des mélanges et l'application des pesticides ont un risque plus élevé que le reste de la population d'être exposés par contact cutané ou inhalation. Il est intéressant de noter que les agriculteurs ont généralement une espérance de vie supérieure à la moyenne, car ils présentent une mortalité réduite due aux maladies cardiovasculaires et aux cancers en général (Viel et al., 1998).

La toxicité chez l'Homme se manifeste par deux modalités :

- ❖ La toxicité aiguë : La toxicité aiguë des pesticides survient en cas d'utilisation inappropriée, d'accidents liés aux pesticides ou d'intoxications volontaires, souvent de manière très grave. Les pesticides organophosphorés et les carbamates sont les principaux responsables des cas d'empoisonnement les plus fréquents. L'exposition se produit principalement par voie cutanée et respiratoire, tandis que l'exposition orale concerne davantage la population générale en cas d'ingestion accidentelle ou intentionnelle de pesticides (Cherin et al., 2012).
- ❖ La toxicité chronique : Les produits phytopharmaceutiques ont des effets chroniques qui sont associés à diverse pathologie, et ces effets se manifestent majoritairement plusieurs années après l'exposition. Parmi ces pathologies chroniques, on retrouve la Cancérogénèse (Capkin et al., 2006 ; Deleage, 2013), effet sur la reproduction (Sanchez-penaetal, 2004 ; Baldi et al, 2013), effet sur le système immunitaire (Cuppen et al., 2004) et effet neurologique (Cocco et al., 1999).

#### 1.1.8. Devenir des pesticides dans l'organisme

- ❖ L'absorption : Selon les propriétés physicochimiques (masse moléculaire, degré d'ionisation, réactivité, solubilité) et les sources d'exposition, les xénobiotiques peuvent être absorbés de différentes façons (voie cutanée, orale, pulmonaire).
- ❖ Distribution : Après pénétration dans l'organisme, ces pesticides rejoignent la circulation sanguine et se distribuent dans les tissus d'une manière active ou passive. Les substances lipophiles (hydrophobe) traversent facilement les membranes

cellulaires alors que les substances ionisées (hydrophiles) seront arrêtées sauf au niveau des pores ou des transporteurs membranaires pour les plus petites molécules.

- ❖ Métabolisme : Après pénétration dans une cellule, soit le xénobiotique est rapidement pris en charge par les transporteurs membranaires ou pompes d'efflux qui vont l'exporter à l'extérieur de la cellule, soit il peut également être transformé par des enzymes du métabolisme des xénobiotiques au cours de plusieurs réactions afin de faciliter son excrétion (INSERM, 2013).

### 1.1.9. Les voies métaboliques

La phase I est la phase de fonctionnalisation aboutie à la formation des métabolites Elle met souvent en jeu des cytochromes P450 (CYPs). Elle consiste en une activation métabolique qui conduit à la formation d'intermédiaires électrophiles hautement réactifs qui seront alors soumis aux enzymes de la phase II (enzymes de conjugaison ou transférases comme la glutathion-S- ou glucuro – transférase), capables de greffer des résidus hydrophiles (comme le glutathion). Les métabolites ainsi transformés sont excrétés de la cellule par des transporteurs membranaires d'efflux dits de phase III (Figure 1) (INSERM, 2013).

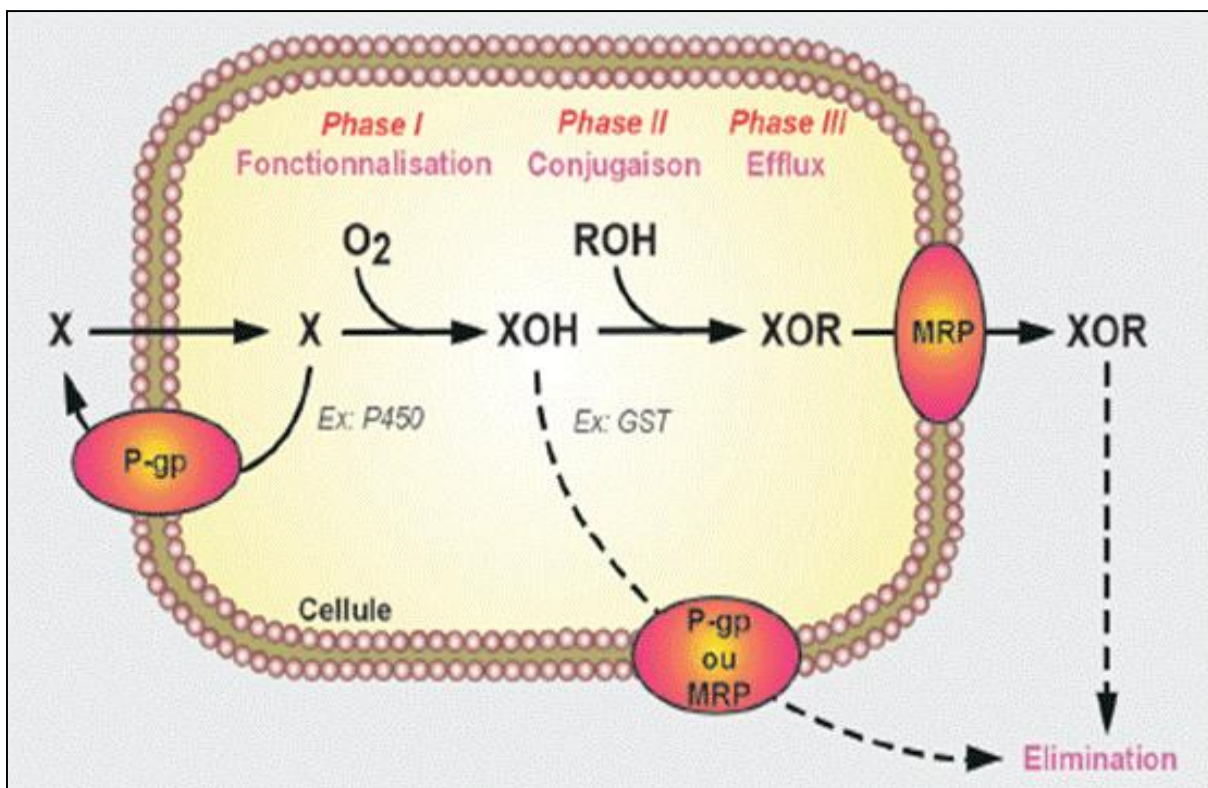


Figure 1: Métabolisme des xénobiotiques (INSERM, 2013).

## 1.2. Perturbateur endocrinien

L'exposition à des molécules perturbatrices du système endocrinien est relativement récente. En effet, ce n'est qu'à partir du milieu des années 1990 que les publications relatives à ce sujet ont réellement été nombreuses. Parallèlement, la prévalence de certaines maladies connues ou suspectées être liées à des facteurs environnementaux, en lien avec le système endocrinien, n'a cessé d'augmenter. C'est notamment le cas de l'obésité, de l'hyperlipidémie et du diabète, des maladies cardiovasculaires, du syndrome métabolique, de maladies reproductives telle l'infertilité, de l'autisme, ou encore du trouble de l'attention avec hyperactivité. (Constantin, 2015)

### 1.2.1. Définition

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a choisi de définir les PE comme des substances exogènes ou mélanges qui altèrent une ou plusieurs fonction(s) du système endocrinien, et qui en conséquence causent des effets néfastes sur la santé d'organismes intacts, sur celle de leur progéniture, ou sur celle de leur sous population (Bergman et al., 2012).

## 1.3. Néonicotinoïdes

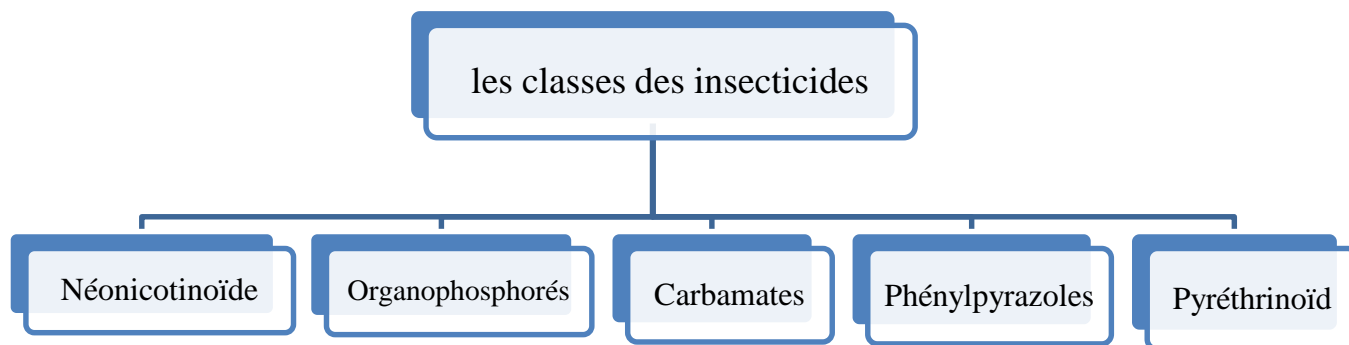
Au cours des deux dernières décennies, une nouvelle classe d'insecticides, les néonicotinoïdes, est devenue la plus importante et a été l'objet de la plus forte croissance d'usage des cinq grandes classes chimiques d'insecticides sur le marché mondial. (David et al., 2014) (Figure 2)

Les néonicotinoïdes sont utilisés comme traitements de semences. L'utilisation du traitement de semences en tant que méthode d'application pratique et efficace, très répandu dans l'industrie agricole, utilisés sur la plupart des cultures agricoles à travers le monde (Garthwaite et al., 2003 ; Jeschke et al., 2011).

La cible prévue des pesticides sur les vertébrés est de 2% sur le marché, ils peuvent exercer leur impact sur les vertébrés, soit directement, par leur Toxicité, soit indirectement, par exemple en réduisant la ressource alimentaire. (David et al., 2014)

### 1.3.1. Définition

Les néonicotinoïdes sont la nouvelle classe majeure d'insecticides utilisés dans le monde pour la protection des cultures et comme traitements pour les soins animaux. Les néonicotinoïdes les plus couramment utilisés sont le thiaclopride, l'imidaclopride et le thiamethoxame. Les demi-vies de ces pesticides peuvent se rendre jusqu'à 1250 jours (Viau, 2018).



**Figure 2:** Organigramme représentant les classes d'insecticides (David *et al.*, 2014).

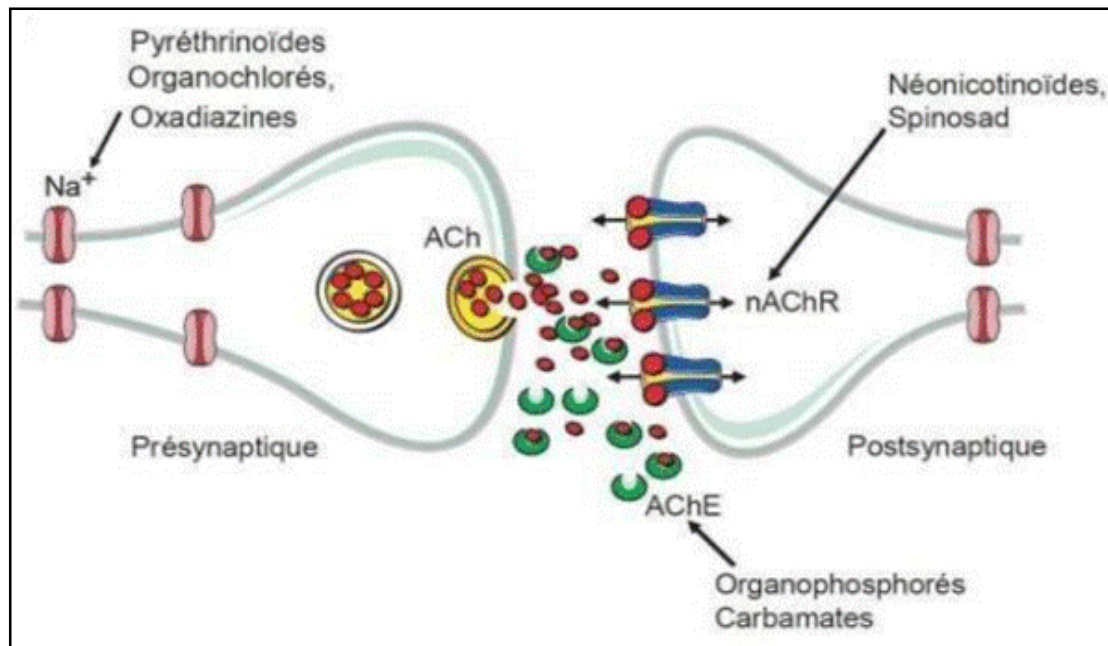
### 1.3.2. Utilisation

Les domaines d'utilisations des néonicotinoïdes couvre quatre grands domaines dans la protection des plantes, le contrôle antiparasitaire en milieu urbain, les applications vétérinaires et la pisciculture (Barbee et Stout., 2009).

### 1.3.3. Mode d'action :

Les néonicotinoïdes peuvent être considérés comme des substances agissant comme agonistes des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChRs) ouvrant les canaux cationiques (Casida et Durkin 2013). Ils agissent au sein du système nerveux central en interférant avec la transmission neuronale. Ils se lient aux récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChR) dans le neurone post-synaptique (Figure 3) (Tomizawa et Casida 2005 ; Jeschke *et al.* 2011). Les néonicotinoïdes sont des neurotoxiques, leur cible est le récepteur post-synaptique à l'acétylcholine, le blocage de récepteur induit paralysie et la mort de l'insecte. (Abdelhai *et al.*, 2022).

Les néonicotinoïdes ont une plus grande affinité pour les récepteurs des insectes auxquels ils se lient ainsi plus fortement que pour ceux des vertébrés, mammifères ou analogues, de sorte que leur toxicité pour les mammifères est plus faible que pour les insectes et que la réversibilité de l'intoxication est plus grande pour vertébrés (Tomizawa et Casida 2005 ; Jeschke *et al.* 2011)



**Figure 3:** Représentation schématique d'une synapse cholinergique entre deux neurones avec les cibles principales des néonicotinoïdes.

**ACh** : acétylcholine ; **AChE** : acétylcholinestérase ; **nAChR** : récepteur cholinergique de type nicotinique; Na : canal sodium (**Raymond-Delpech et al.,2005**).

#### 1.4. Thiaméthoxame

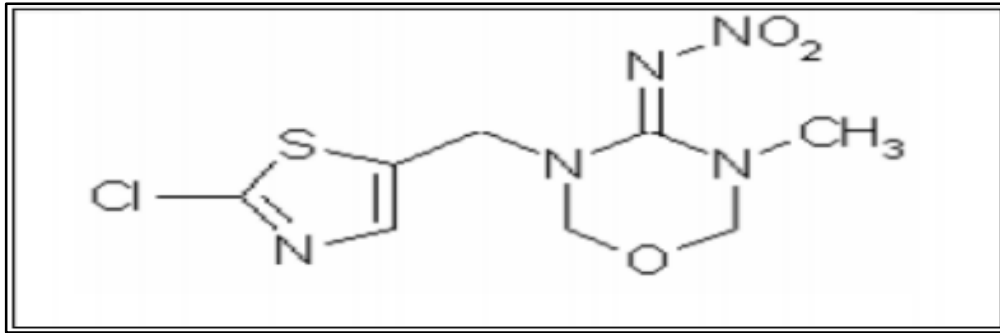
Le TMX est un néonicotinoïde de deuxième génération découvert et développé par Ciba Crop Protection, commercialisé depuis 1998 pour le traitement foliaire et du sol (**Peter M, Max A et al.,2001**) le Thiaméthoxame 25% commercialisé sous le nom **ACTARA** (**Peter M, Hanspeter H et al.,2001**), il est utilisé sous forme de préparation commerciale (25 g de thiaméthoxame dans 100 g d'insecticide). Le métabolite du thiaméthoxame est la clothianidine (**David et al.,2014**).

##### 1.4.1. Utilisation

C'est un insecticide systématique pour le sol et les applications foliaires et aleurodes, les thrips, les coléoptères, les cicadelles, les insectes et les foreurs dans la fructification, les légumes tubéreux, le coton et les fruits (**Roberts T.et Hutson ,1999**). Le thiaméthoxame est utilisé dans la région Nord-Est algérienne contre les insectes piqueurs et suceurs des céréales, des arbres fruitiers et des cultures maraîchères. (**Ait Hamlet et al ,2019**)

##### 1.4.2. Structure chimique

Le nom chimique du thiaméthoxame est : 3-[2-chloro-5-thiazolyl) méthyl] tétrahydro-5-méthyl-N-nitro-4H-1, 3,5-oxodiazine imine (**Shehatta EM, Abdel R H et al., 2010**) , la structure chimique est représentée dans la figure suivante.



**Figure 4 :** Structure biochimique du thiaméthoxame (Attia et Beghoura, 2020).

### 1.4.3. Mode d'action du thiaméthoxame

Le TMX comme les autres néonicotinoïdes, agit spécifiquement comme agoniste des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine nAChRs des insectes (Okle, Lebda et Tohamy., 2016) et entrave la transmission synaptique dans le système nerveux des insectes, il est un faible agoniste des nAChRs des vertébrés (mammifères) (David et al., 2014) le TMX induit une dépolarisation au niveau de synapse. (Wiesner et Kayser 2000).

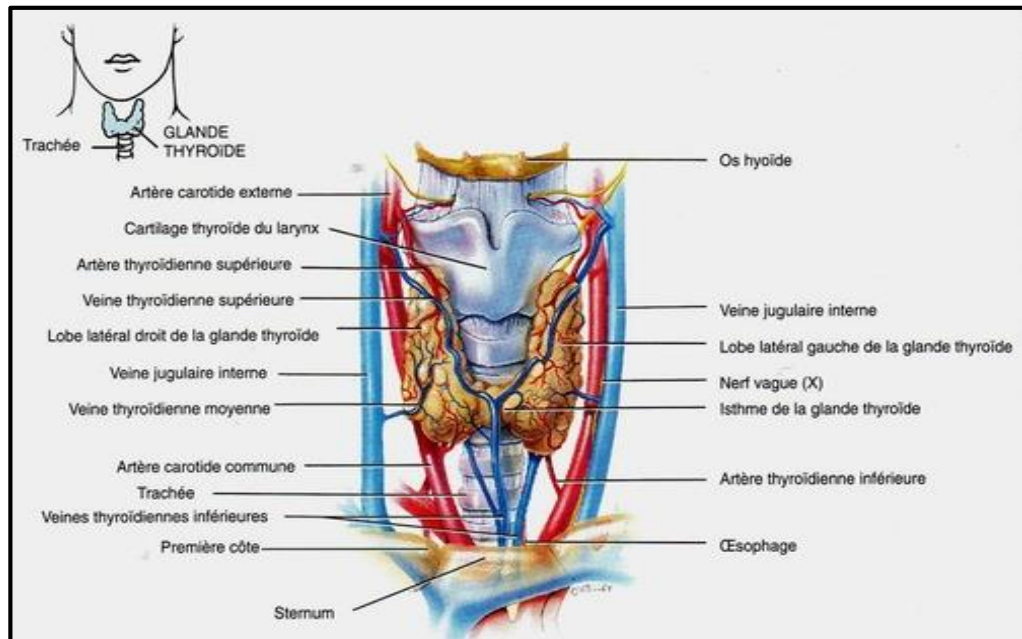
## 2. Rappel Anatomo-Structuro-Fonctionnel de la Thyroïde

### 2.1. Anatomie

La glande thyroïde est une glande endocrine située dans la partie médiane et superficielle de la région cervicale infra-hyoïdienne, au-dessus de l'orifice supérieur du thorax. Elle a globalement la forme d'un H majuscule ou la silhouette d'un papillon, avec une concavité postérieure. Elle est formée de deux lobes latéraux verticaux réunis sur la ligne médiane par un segment horizontal : l'isthme thyroïdien. Son poids normal chez l'homme est de 10 à 20g en moyenne (Leclère, 2001). A l'âge adulte, le poids de la thyroïde du rat est compris entre 1.5 et 2.6 mg et chaque lobe mesure environ 2 mm de long, 1 mm de large et 0.5 mm d'épaisseur. (La Perle & Jordan, 2012). La glande thyroïde est très vascularisée. Elle est irriguée par deux artères principales, l'artère thyroïdienne supérieure et l'artère thyroïdienne inférieure, naissant respectivement de l'artère carotide externe et de l'artère subclavière. Elle est aussi drainée par trois veines principales : supérieure, moyenne et inférieure (figure5) (Vlaeminck-Guillem, 2011).

### 2.2. Organogenèse de la glande thyroïde

Chez les mammifères, la thyroïde est le premier tissu glandulaire à se développer. Cependant, chez l'humain, c'est uniquement à partir de la 12<sup>e</sup> semaine de grossesse que la thyroïde catalyse ses premières productions d'hormones thyroïdiennes (Park and Chatterjee, 2005).



**Figure 5 : Anatomie de la glande thyroïde (Marieb., 2008).**

les cellules folliculaires se développent à partir de l'endoderme embryonnaire. À partir du 17<sup>e</sup> jour, un épaississement au niveau du pharynx primitif entre le premier et le deuxième arc branchial (**Braverman and Cooper, 2012**) devient apparent. De cet épaississement se forme une invagination qui, sous l'effet de l'allongement du cou, subit une migration caudale selon le trajet représenté par le tractus thyroïdoglisse. Poursuivant sa migration, l'ébauche thyroïdienne médiane augmente de volume, acquiert une forme bilobée et prend sa place définitive à la partie antérieure de l'axe laryngo trachéal (**Fisher et al., 1999**). À ses lobes viennent s'appendre, lors de la 7<sup>e</sup> semaine, les corps ultimo branchiaux dérivant des quatrièmes poches pharyngées. Ces ébauches latérales sont colonisées par des cellules neuroectodermiques, à l'origine des cellules C produisant de la calcitonine. Du contingent endodermique dérivent les cellules folliculaires (ou vésiculaires) responsables de la synthèse des hormones thyroïdiennes. Celles-ci s'élaborent et sont stockées au sein de la thyroglobuline dont la synthèse débute vers le 29<sup>e</sup> jour (**Wémeau, 2010**).

### 2.3. Histologie de la glande thyroïdienne

Histologiquement, la glande thyroïde est entourée d'une capsule conjonctive et formée de plusieurs lobules, chaque lobule lui-même formé de 20 à 40 follicules pour un total de trois millions dans une thyroïde adulte (**Hennen, 2001**). On trouve deux types cellulaires dans la glande thyroïde :

Le premier type ce sont les cellules folliculaires ou thyrocytes qui sont reposées sur une lame basale et s'assemblent pour former une seule couche de cellule réalisant une forme

sphérique : le follicule est d'environ 200  $\mu\text{m}$  de diamètre (Figure 6). Ces cellules représentent 99% du parenchyme thyroïdien et assurent la production des hormones thyroïdiennes et de la thyroglobuline. Au pôle apical des thyrocytes, se trouve la lumière du follicule qui contient la colloïde, qui est une substance amorphe et jaunâtre, c'est le lieu de stockage et de synthèse des hormones thyroïdiennes. Ces dernières peuvent ensuite être déversées dans la circulation sanguine via le pôle basolatéral, lui-même en contact avec les capillaires. L'aspect des thyrocytes varie selon leur état d'activité. Au repos, les cellules sont aplaties avec un colloïde abondant. À l'inverse, en cas d'hyperactivité, les cellules prennent une forme cylindrique, les organites de synthèse protéique sont plus nombreux tandis que la substance colloïde se raréfie et se colore moins vivement (Figure 7) (Wémeau, 2010).

Dans le second type, on trouve les cellules parafolliculaires ou cellules C produisent la calcitonine et représentent moins de 1% du parenchyme thyroïdien. Elles sont en contact avec la lame basale du follicule, d'où leur appellation de cellules parafolliculaires. Elles sont reconnaissables en microscopie électronique à leurs grains de sécrétion contenant la calcitonine libérée par exocytose (Figure 6) (Guénard, 1996).

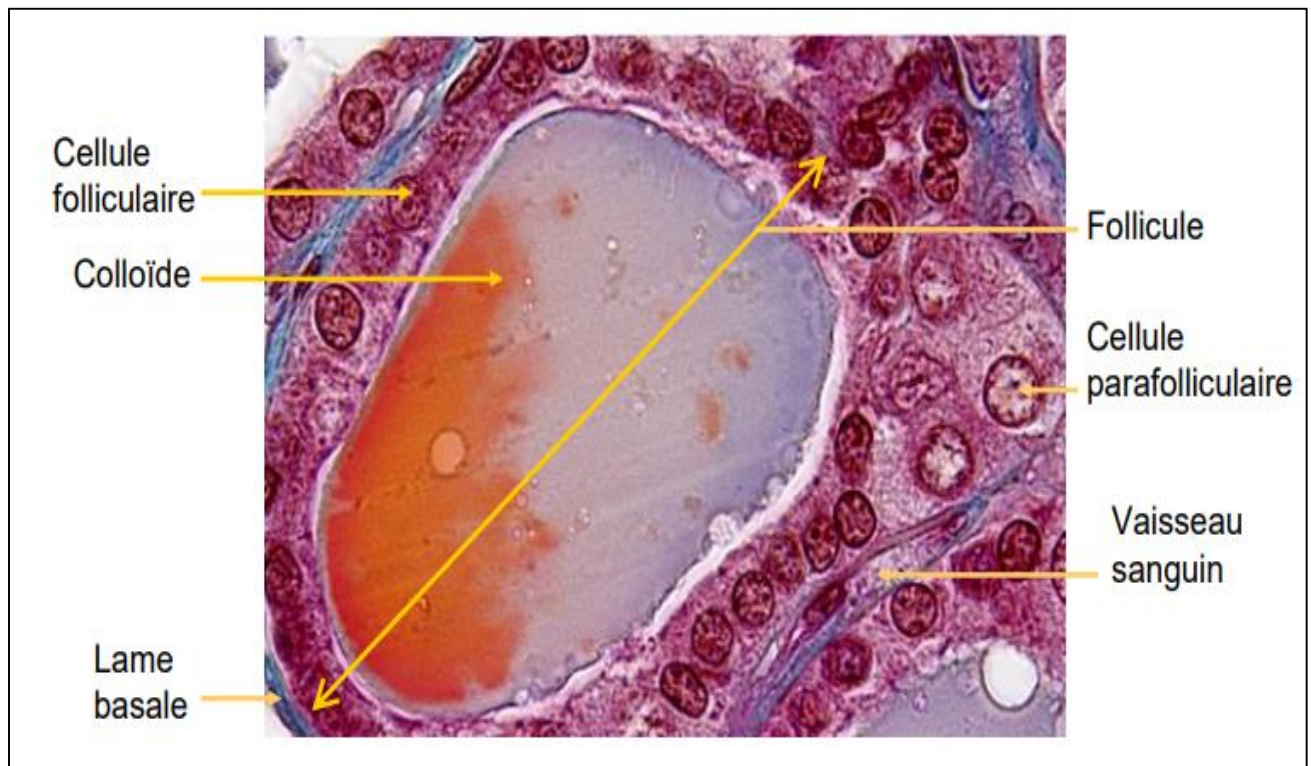


Figure 6 : Follicule thyroïdien (Dallot, 2015).

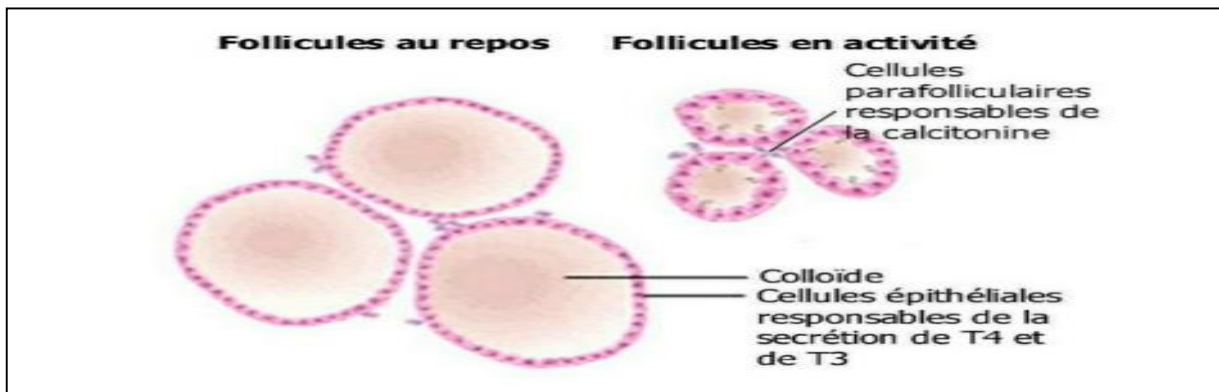


Figure 7: Follicules en activités et follicules au repos (Wémeau., 2010).

## 2.4. Les hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes sont des polypeptides iodés qui ciblent l'activité de presque tous les tissus et contrôlent la synthèse des protéines et le métabolisme énergétique (Pérez-martin, 2007).

### 2.4.1. Structure

Les cellules folliculaires assurent la production des hormones thyroïdiennes sous formes de tri-iodothyronine (T3) et tétra-iodothyronine (T4 ou thyroxine). Ces derniers possèdent une structure organique commune qui est la thyronine, dérivant de l'acide aminé tyrosine et comprenant deux cycles phénols réunis par un pont diphenyl-éther (figure 8). La seule différence entre eux est l'iode ; le nombre et la position des atomes d'iode qu'elles portent (Wémeau, 2010).

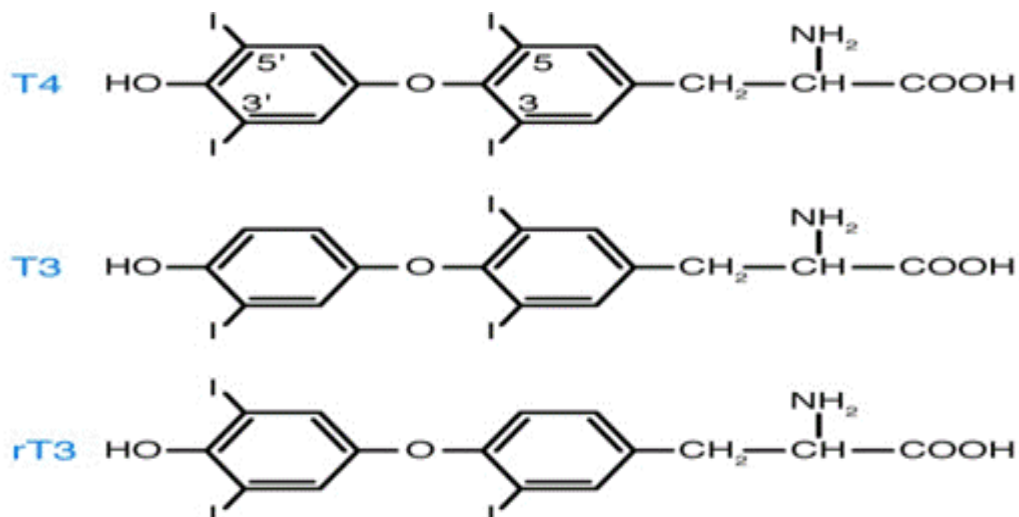


Figure 8 : Structure biochimique des hormones thyroïdiennes (Gregory A Brent, 2012).

### 2.4.2. Biosynthèse des Hormones thyroïdiennes

La synthèse des HT débutent lorsque la TSH se lie aux récepteurs des cellules folliculaires. La thyroïde est la seule dans les glandes endocrines à emmagasiner ses hormones à l'extérieur de ses cellules et en grande quantité. (Figure 9) (**Mariab, 2010**).

Il y a 2 éléments indispensables à la synthèse des hormones thyroïdiennes :

- ❖ L'iode : C'est un oligoélément rare, dont les réserves sont faibles dans l'organisme. Les besoins de l'organisme varient selon l'âge : 100 à 150 µg par jour chez l'adulte et jusqu'à 300 µg par jour chez la femme enceinte. Il est fourni dans notre alimentation (poissons, crustacés, laitages et sels iodés) (**Wémeau, 2010**).
- ❖ La thyroglobuline : est un dimère de deux sous-unités glycoprotéiques identiques de 330 kDa. Sa synthèse est activée par la TSH (**Hennen, 2001**). Tg est entièrement produite dans les ribosomes des cellules folliculaires et acheminée vers le colloïde par l'appareil de Golgi (**Dallot, 2015**).

Les étapes de la biosynthèse et sécrétion des Hormones Thyroïdiennes sont les suivantes :

Premièrement, l'iodure est apporté par la circulation sanguine jusqu'à proximité de la membrane basolatérale des cellules folliculaires, Ensuite Celui-ci est transporté par le symporteur  $\text{Na}^+/\text{I}^-$  (NIS) qui utilise le gradient de concentration des ions sodium entre l'intérieur du thyrocyte et le milieu extracellulaire (figure 9). En notant que, Les ions iodure sont ainsi vingt à quarante fois plus concentrés dans la thyroïde que dans le sang. Le gradient de concentration des ions sodium est entretenu activement par l'échangeur  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase. Les ions iodures rejoignent ensuite le colloïde par le canal chlore/iodure ou via un transporteur (la pendrine) (**Dallot, 2015**).

À la deuxième étape, on trouve l'organification (oxydation) de l'iode qui nécessite la présence d'une enzyme spécifique liée à la membrane, la thyroperoxydase (TPO) (**Pérez-Martin A., 2007**). Pour que l'activité de cette enzyme soit optimale, l'oxydation de l'iode fait intervenir le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) qui est formé au niveau de la membrane apicale par une oxydation d'enzymes telle la NADPH oxydase membranaire. Sous l'action de la thyroperoxydase et du peroxyde d'hydrogène, l'iodure  $\text{I}^-$  est oxydé (**Martin C et al., 2017**).

Là, L'iode ainsi oxydé peut se lier aux résidus tyrosyl de la thyroglobuline (Tg) (**Pérez-martin, 2007**). La TPO permet d'une part la formation de monoiodothyrosine (MIT) et diiodothyrosine (DIT), et d'autre part la formation d'une liaison éther ( $-\text{O}-$ ) entre MIT et DIT ou entre deux DIT, qui forme les hormones thyroïdiennes (Figure 10) (**Dallot, 2015**).

Les HT ainsi synthétisées, liées à la Tg, sont stockées dans la lumière du follicule. Ce stockage confère à la glande une certaine autonomie de sécrétion indépendante, de la

commande hormonale, des fluctuations d'apport d'iode (Leclère et al.,1991),ce stock de Tg iodée est important chez l'homme adulte, et correspondant à trois mois de synthèse de T3 et T4, tandis qu'il est faible chez le nourrisson. Il est également intéressant de noter que le rat, même adulte, ne possède pas de telles réserves et ne peut assurer que quelques jours de synthèse sans apport d'iode (Dallot, 2015).

À la fin La Tg iodée quitte ensuite le colloïde par endocytose par les cellules folliculaires. L'endosome fusionne alors avec les lysosomes pour former le lysosome secondaire. Les enzymes lysosomales séparent les hormones de la Tg (Marieb, 2005) et les hormones peuvent ainsi être secrétées (figure 9).

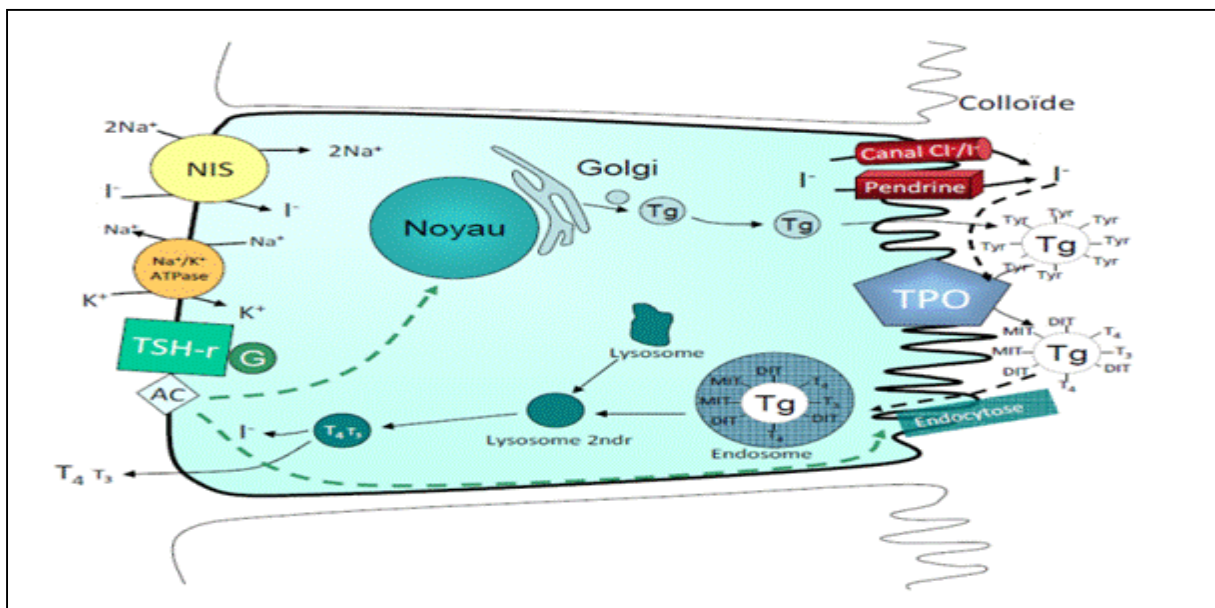


Figure 9 : Représentation schématique de la synthèse des hormones thyroïdiennes (Dallot.,2015).

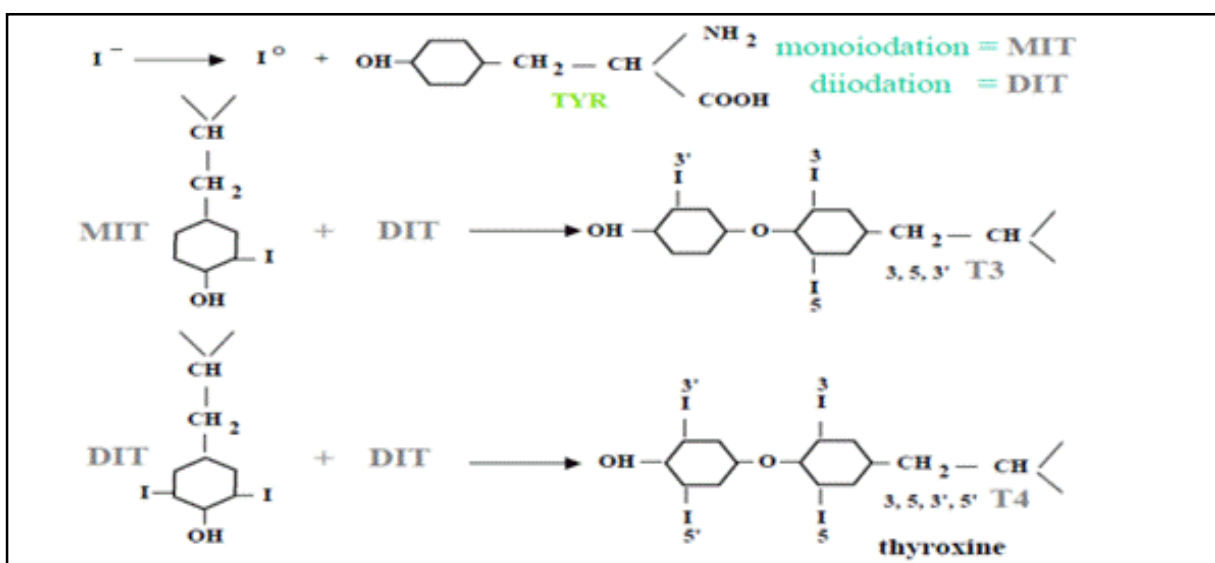


Figure 10 : Processus d'élaboration des hormones thyroïdiennes à partir de MIT et DIT (Dallot, 2015).

### 2.4.3. Transport des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes sont hydrophobes et nécessitent d'être fixées à des protéines de transport. On distingue deux types de transporteurs représentés dans le tableau suivant (**Pérez-martin, 2007**) :

**Tableau 1** : Types de transporteurs des hormones thyroïdiennes.

Types	Nom de transporteur	Pourcentage
Non spécifiques	Albumine	Petite partie
Spécifiques	-Thyroxin binding globulin (TBG)	Environ 60 à 75 %
	-Thyroxin binding pre-Albumin (TBPA)	

### 2.4.4. Transport, métabolisme et action des hormones thyroïdiennes dans une cellule cible

En arrivant aux cellules cibles, les HFTRT nécessitent des transporteurs membranaires dont on trouve les plus importants, les MCT8, MCT10 et OATP1. Les transporteurs monocarboxylates (MCJT) sont des protéines à 12 domaines membranaires et sont exprimés dans divers tissus. Le MCT8 est exprimé de manière importante dans les cellules endothéliales de la barrière hémato-encéphalique (BHE) ainsi que dans les neurones (**Wémeau et al., 2019**). Les polypeptides transportant des anions organiques (OATPs), en termes de transport des TH, on trouve OATP1C1é est le plus intrigant, car il montre une spécificité et une affinité élevées envers T4 et rT3 (**Theo J Visser, 2016**).

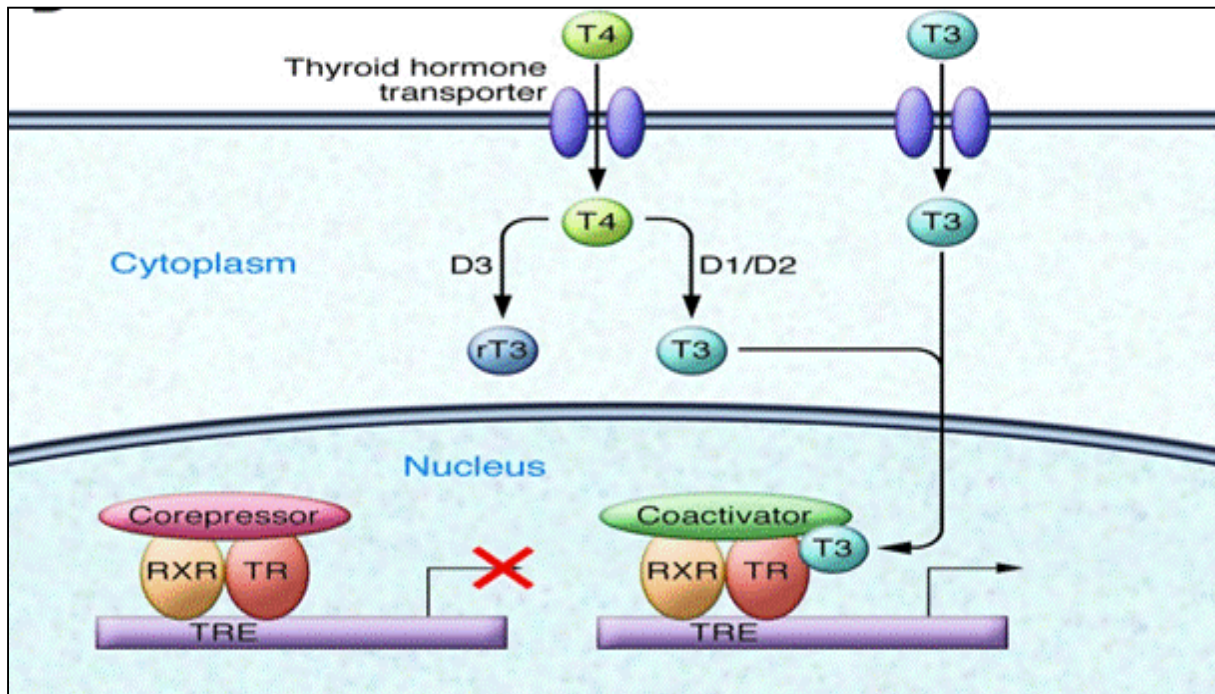
À l'arrivage de t4et T3 au cytoplasme, La totalité de la T4 circulante provient de la production thyroïdienne, tandis que la plus grande partie de la T3 est issue de la conversion périphérique de T4 en T3 (80 %) grâce à la 5' désiodase périphérique. Il existe une 5 désiodase qui convertissent la T4 en rT3 (T3 reverse) qui est une forme inactive (**Constantin, 2015**).

Les hormones thyroïdiennes exercent deux actions :

Première action est nucléaire (action génomique), leurs déplacements de la membrane au noyau nécessitent d'autres transporteurs dont on trouve CTHBP, CRYM (**Wémeau et al., 2019**). La liaison des HT à ces récepteurs déclenche la transcription d'ADN. Les TRs sont codés par deux gènes, TR $\alpha$  (chr 17) et TR $\beta$  (chr 3), donnant plusieurs isoformes : TR $\alpha$ 1, TR $\alpha$ 2, TR $\alpha$ 3, TR $\beta$ 1, TR $\beta$ 2, TR $\beta$ 3 (**Gregory, 2012**). Les HT se fixent avec la même affinité sur tous les récepteurs. Cependant, l'affinité de liaison de la T3 est 10 à 15 fois supérieure à celle de la T4, ce qui explique la puissance de son activité biologique (**Hennen, 2001**). Cette

liaison se fait sur des séquences particulières, appelées les TREs, cette fixation a lieu souvent à l'état d'hétéro dimère avec un autre récepteur nucléaire, le RXR (Betty, 2011). En l'absence de ligand, l'hétéro dimère TR-RXR réprime la transcription du gène, ce qu'explique le recrutement de corépresseurs (complexe protéique impliquant une histone déacétylase). À l'inverse, la fixation du ligand au TR déplace les corépresseurs au profit de coactivateurs (Wémeau et al., 2019). La fixation de la T3 provoque un changement de conformation du récepteur permettant ainsi l'activation de la transcription du gène représenté par la figure 11 (Betty, 2011). Ils n'agissent pas seuls dans la transmission du signal, mais nécessitent l'intervention de multiples complexes protéiques comprenant des coactivateurs et des corépresseurs (Dace et al., 2000).

Cependant, certains gènes cibles sont régulés de manière inverse. Leur transcription est activée en absence de T3 et réprimée en présence de celle-ci, C'est le cas des gènes codant pour les sous unités  $\alpha$  et  $\beta$  de la TSH. Ces changements de fonctions des cofacteurs seraient dépendants des variations de séquence des TREs qui induiraient des changements de conformation des TRs modifiant ainsi leurs fonctions activatrices ou répressives (Betty, 2011).



**Figure 11 : Action des hormones thyroïdiennes (Betty, 2011).**

#### 2.4.5. Effets sur les systèmes et les tissus

Les HT ont un effet sympathomimétique en amplifiant la réponse des cellules cibles aux catécholamines, telles que la noradrénaline du système nerveux sympathique et

l'adrénaline, produites par la médullosurrénale. Elles accomplissent cet effet en augmentant le nombre de récepteurs spécifiques des cellules cibles pour ces catécholamines (**Sherwood et Molotchnikoff, 2006**). Au niveau cardiaque, elles comprennent une accélération de la fréquence cardiaque (effet chronotrope), une augmentation de sa contractilité (effet inotrope) (**Wémeau, 2010**).

Les HT sont indispensables à la croissance normale en raison de leur effet sur la somatotropine, stimulant sa sécrétion et favorisant son action sur la croissance du squelette et la synthèse protéique. La croissance est arrêtée chez les enfants souffrant d'insuffisance thyroïdienne (**Sherwood et Molotchnikoff, 2006**).

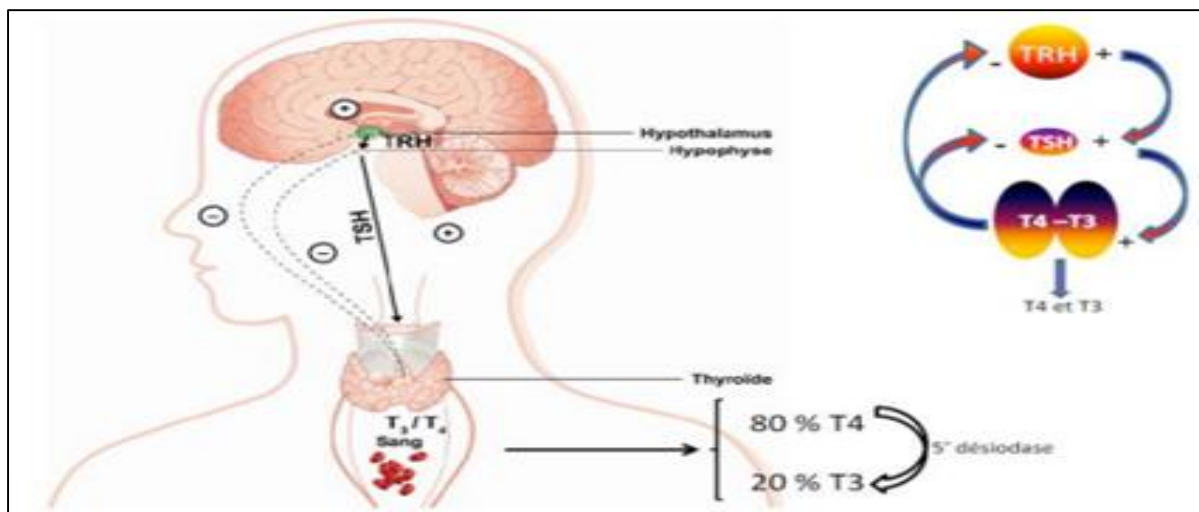
De plus, dans le système nerveux, Les périodes fœtales et néonatales nécessitent une concentration appropriée des HT sont essentielles pour la maturation, la mise en place de connexions neuronales et la myélinisation (**Wémeau, 2010**).

#### **2.4.6. La régulation de la fonction thyroïdienne**

La synthèse des hormones thyroïdiennes dépend de l'apport de l'iode et régulée par la thyrotropine TSH ; une glycoprotéine de 30 kDa synthétisée par les cellules basophiles de l'adénohypophyse et qui est considérée comme le régulateur hormonal majeur de la fonction thyroïdienne. La TSH est constituée de deux sous-unités : la sous-unité  $\alpha$  qui est identique à celle des hormones sécrétées par la glande pituitaire antérieure (LH et FSH) et la sous-unité  $\beta$  qui lui confère sa spécificité fonctionnelle. La libération de la TSH répond à un stimulation par l'hormone thyrotrope (TRH). La TRH est une hormone tri peptidique de 362 Da et produite par l'hypothalamus (Figure 12). Les hormones thyroïdiennes agissent aussi par un rétrocontrôle négatif afin de réguler négativement l'expression des hormones stimulatrices. L'augmentation de la concentration des hormones thyroïdiennes circulantes, T4 et T3, inhibe la fonction thyroïdienne par diminution de la TSH (Figure 12). Il a été récemment démontré que la T3 peut également directement inhiber la fonction thyroïdienne indépendamment de la TSH (**Maha, 2018**).

La TSH se fixe à son récepteur (TSHr), appartenant à la famille des récepteurs transmembranaires G, qui est exprimé au niveau basolatéral de la membrane du thyrocyte. Ce couplage hormone/récepteur conduit principalement à un couplage de  $GS\alpha$  et par conséquent à une activation de l'adénylate cyclase (Figure 13), l'augmentation de l'AMP cyclique entraîne la phosphorylation de la protéine kinase A. L'activation de la voie d'adénylate cyclase stimule la transcription du NIS (**Constantin, 2015**).

La régulation du NIS par la TSH est à la fois transcriptionnelle et post traductionnelle, la TSH stimule l'expression du NIS au niveau protéique et ARN messenger (par l'activation de la voie adénylate cyclase). Mais la stimulation de la captation d'iodure n'était observée que dans les thyrocytes déjà organisés en follicule, et non pas dans les monocouches de cultures primaires de thyrocytes traitées par la TSH. Lorsque le taux de TSH est plus élevé, d'autres voies peuvent être stimulées : Gq/11 et la phospholipase C-dépendante inositol phosphate (la cascade PIP2) qui active l'organification de l'iode qui se fait par la thyroperoxydase aussi elle nécessite la présence  $H_2O_2$  (Maha, 2018).



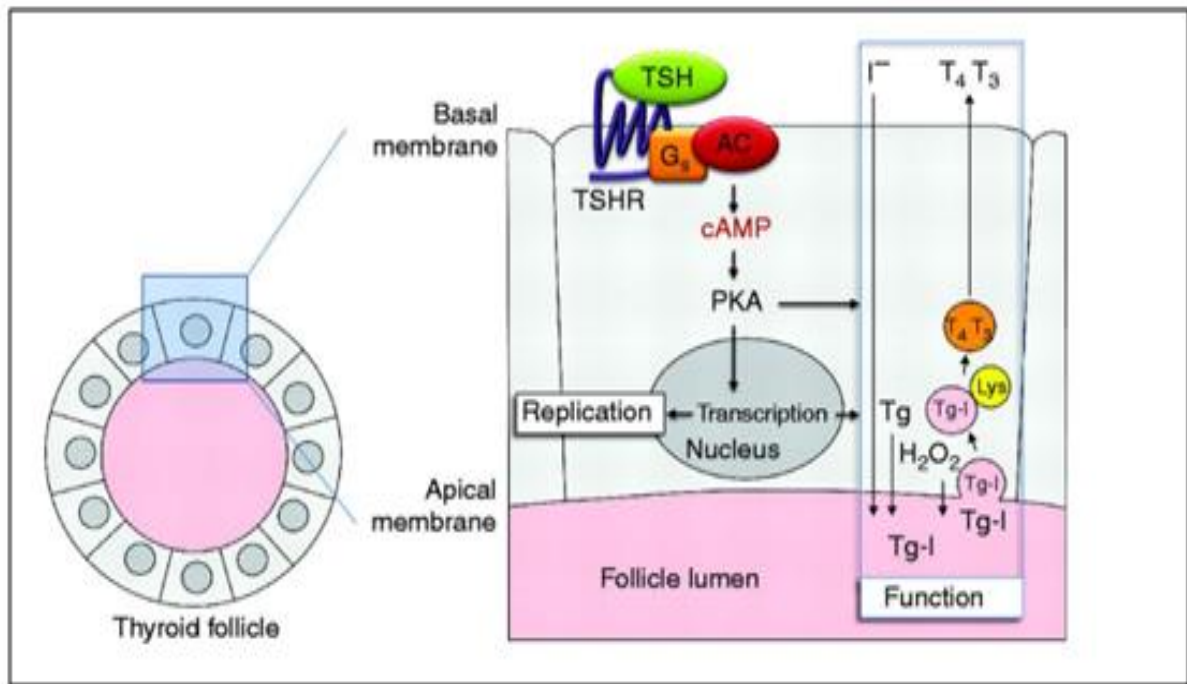
**Figure 12 :** Mécanisme de la régulation de la thyroïde par la TSH (Maha., 2018).

#### 2.4.7. Autorégulation thyroïdienne

Elle correspond à des mécanismes transitoires qui permettent un blocage de l'iodation et de la sécrétion en cas d'excès d'iode (effet wolff-chaikoff), une plus grande sensibilité des thyrocytes à l'action de la TSH en cas de carence en iode. Enfin, la captation d'iode est d'autant plus forte et plus prolongée que la glande est pauvre en iode et inversement (Gaborit, 2014).

#### 2.5. Calcitonine

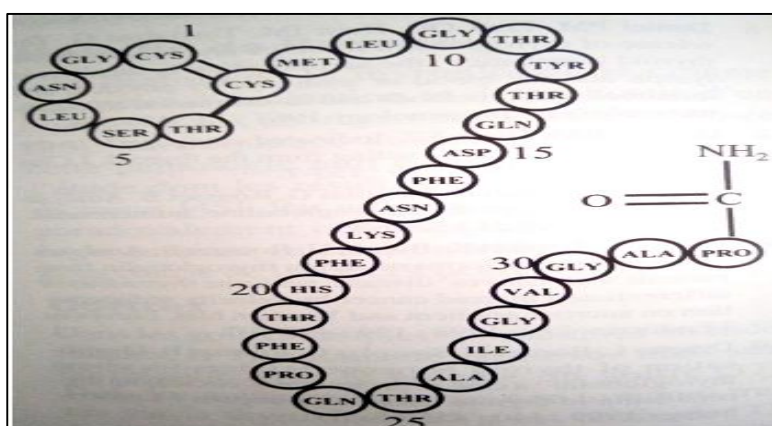
La calcitonine est un polypeptide sécrété par les cellules C (Leclère et al, 2001). Il existe deux gènes pour cette hormone sur le chromosome 11, la transcription et la traduction du premier gène aboutit à un précurseur de calcitonine à action hormonale ; l'autre, exprimé au niveau de système nerveux, produit des peptides apparentés à la calcitonine, mais qui pourraient avoir une activité de neurotransmetteurs. Une fois sécrétée, la calcitonine disparaît rapidement de la circulation, sa demi-vie étant de quelques min seulement (Hennen, 2001).



**Figure 13 :** Couplage d'hormone thyroïdienne/ Récepteur et activation d'adénylate cyclase (Maha., 2018).

**2.5.1. Structure :**

La CT est une hormone peptidique de 32 acides aminés (Figure 14) d'un poids moléculaire de 3400 µg. L'activité biologique de la CT mature nécessite l'amidation de la proline carboxyterminale et l'existence d'un pont disulfure 1-7, il existe des variations dans la structure de la CT entre les espèces, ces différences localisées sur la partie médiane de la molécule (Leclère, 2001).



**Figure 14 :** Structure biochimique de la calcitonine (Leclère, 2001).

**2.5.2. Effets physiologique**

L'action physiologique de la CT est médiée par un récepteur membranaire, qui est présent dans de nombreux tissus, en particulier les ostéoclastes, le rein et le tissu nerveux.

La calcitonine intervient dans l'homéostasie calcique, essentiellement par l'inhibition de l'activité ostéoclastique .elle a aussi un effet sur le rein en augmentant la phosphaturie et la calciurie et sur Vitamine D. (**Leclère, 2001**).

L'action principale de la calcitonine est d'empêcher la réabsorption du calcium osseux, d'où un effet hypocalcémiant (**Guénard, 1996**). Elle est Considérée comme le marqueur le plus sensible pour le dosage du cancer médullaire (**Carayon P, 2002**).

## **Chapitre II : Etude expérimentale**

## **Matériels et Méthodes**

## 1. Matériel et méthodes

Le travail expérimental est réalisé au sein du laboratoire pédagogique de physiologie animale de la Faculté des Sciences Biologiques et Sciences agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou (UMMTO), mais aussi :

- L'animalerie de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB) où les animaux ont été livrés par pasteur rage (Kouba, Alger), et traités par le pesticide, le thiaméthoxame « TMX » après une semaine d'adaptation et l'élevage a été conçu et suivi.

- Le laboratoire de Neurochimie de la Faculté des Sciences Biologiques de l'USTHB où la perfusion des animaux a été réalisée, les organes prélevés et les blocs en cassettes sont confectionnés.

- Le laboratoire d'Anatomo-pathologie de l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, où des coupes histologiques et leur coloration ont été faites.

Nous aimerions souligner que les étudiants en master 2 de la FSBSA-UMMTO et de la FSB-USTHB de l'année 2021-2022 ont réalisé la première partie de l'expérimentation en effectuant des études histologiques. Quant à notre contribution, nous avons pris en charge les manipulations à partir de la préparation des coupes, tout en ayant une parfaite maîtrise des étapes préliminaires.

### 1.1. Matériel

#### 1.1.1. Matériel biologique

Nous avons utilisé des rats mâles de la souche "*Wistar*" (Figure 15) : 12 rats males et 12 femelles adultes, livrés par l'Institut Pasteur d'Alger et 36 rats de différents âges (20 jours, 60 jours et 90 jours), issus d'un élevage réalisé au sein de l'animalerie de l'USTHB.



**Figure 15** : Image d'un rat *Wistar* (image, 2023).

La position taxonomique de l'animal utilisé est :

**Règne :** Animal.

**Embranchement :** Vertébrés

**Classe :** Mammifères

**Famille :** Muridés

**Ordre :** Rongeurs

**Genre :** *Rattus*

**Espèce :** *norvegicus*

## 1.2. Méthodes

### 1.2.1. Traitement des animaux

Les rats adultes de 6 à 7 semaines d'âge et qui pèsent entre 300 à 400 grammes sont adaptés aux conditions de l'animalerie d'une semaine dès l'arrivée à l'animalerie. Ils recevaient quotidiennement de la nourriture standard en croquettes *ad-libitum* et de l'eau de robinet. La température ambiante moyenne était de 21-25°C, l'humidité relative de 30-70 % et l'éclairage artificiel de 12 / 12 heures.

A la fin de cette semaine, les rats sont répartis en quatre lots de rats recevant de l'eau ou du TMX dilué dans l'eau et administré par gavage, selon le tableau ci-dessous.

**Tableau 2:** Le traitement des rats et leur répartition par lots.

Lots	Nombre de rats	Traitement administré
<b>Lot Témoins</b> (non traités par le TXX)	3 ♂ et 3 ♀	1 ml/j d'eau du robinet
<b>LotDJA</b> (Dose Journalière Admissible)	3 ♂ et 3 ♀	0.026 mg/kg du TXM +1 ml/j d'eau du robinet
<b>Lot NOAEL</b> (Non Observed Adverse Effect Level).	3 ♂ et 3 ♀	2.6 mg/kg du TXM+ 1 ml/j d'eau du robinet
<b>Lot NOAEL×2</b> (Double dose de NOAEL)	3 ♂ et 3 ♀	5.2 mg/kg de TXM+ 1 ml/j d'eau du robinet

36 rats males issus des accouplements entre les rats décrits dans le tableau 3 sont sacrifiés au bout de 20, 60 ou 90 jours, à raison de :

-3 rats T/20j, -3 rats DJA/20j, -3 rats Noael/20j, -3 rats Noaelx2/20J.

-3 rats T/60j, -3 rats DJA/60j, -3 rats Noael/60j, -3 rats Noaelx2/60J

-3 rats T/90j, -3 rats DJA/90j, -3 rats Noael/90j, -3 rats Noaelx2/90J

### 1.2.2. Anesthésie et perfusion intracardiaque

La perfusion intracardiaque chez le rat est une méthode couramment utilisée en recherche scientifique pour administrer des substances directement dans le cœur d'un rat vivant.

L'anesthésie de l'animal a été réalisée par injection intra-péritonéale de l'Uréthane 25% dans de l'eau distillée. La dose injectée est de 0.5 ml par 100 grammes de poids corporel. Une fois que le rat est anesthésié, il est placé en position dorsale sur une surface de travail appropriée. Pour limiter les mouvements de l'animal, les quatre membres sont fixés. Pour accéder au cœur et aux principaux vaisseaux sanguins, à l'aide de ciseaux, une incision est pratiquée sur la ligne médiane du thorax. La solution saline (NaCl 0.09%) suivie de la solution de fixation (PAF à 4%) sont alors injectées après introduction d'une aiguille épicroténienne dans le ventricule gauche et son orientation vers l'aorte ascendante. Une incision est rapidement pratiquée dans l'oreillette droite pour permettre l'évacuation des solutions de perfusion. Dans un premier temps, la solution saline est laissée circuler dans les vaisseaux jusqu'à ce que le liquide qui ressort de l'oreillette droite soit exempt de sang. A ce moment, démarre la seconde étape qui consiste à la fixation avec du PAF à 4% (150 à 200 ml) et un débit de 14 ml/min.

### **1.2.3. Prélèvement d'organe**

Après la perfusion intracardiaque, l'organe d'intérêt ; notamment la thyroïde est prélevé.

### **1.2.4. Technique histologique**

Les techniques histologiques sont utilisées pour préparer les tissus biologiques à l'observation au microscope optique. Plusieurs étapes sont nécessaires :

#### **1.2.4.1. Post fixation des échantillons**

Les organes préalablement prélevés sont rapidement plongés dans la solution de fixation qui est le PAF 4%. Le volume du fixateur est 10 fois supérieur à celui de la pièce anatomique.

Le but de la fixation et la post fixation des échantillons est de préserver la structure des tissus biologiques dans un état le plus proche que possible de l'état vivant (Nzelof, 1972).

#### **1.2.4.2. Déshydratation et imprégnation**

La déshydratation s'est faite dans des bains d'alcool de degrés croissants : 70° (30 sec), 90° (60 sec), 100° (1 min). Puis l'imprégnation qui consiste à l'élimination des traces d'alcool absolu par un passage des organes dans deux bains de xylène pendant 1 heure chacun. Cette étape prépare les tissus à l'inclusion dans de la paraffine.

#### **1.2.4.3. Inclusion, confection des blocs et des coupes**

Les organes sont placés dans des cassettes d'inclusion remplit de paraffine (figure 16.a) une autre est déposée au-dessus. La paraffine liquide est versée dessus pour l'immersion

totale de l'échantillon, ce dernier est posé sur une plaque de refroidissement (figure 16.b), l'appareil d'enrobage a pour but de solidifier le tissu afin de réaliser des coupes fines (figure 16.c)

A l'aide d'un microtome de type leica (figure 16.d), les blocs de paraffine contenant les tissus sont découpés en section très fine (5  $\mu\text{m}$  d'épaisseur). En effet, un passage régulier des blocs à couper devant la lame permet d'obtenir des rubans de coupes sous forme plissée. Ces derniers sont ensuite étalés dans un bain marie réglé à 41°C (figure 16.e) et les coupes étalées sont récupérées sur des lames en verre (figure 16.f).

#### 1.2.4.4. Déparaffinage

Les sections de tissus sur lames sont déparaffinées à l'aide de deux bains de xylène (5 et 10 min), La paraffine est hydrophobe donc non perméable à l'eau, ainsi le déparaffinage permet de rendre l'échantillon perméable aux solutions de coloration.

#### 1.2.4.5. Réhydratation

Les tissus déparaffinés sont réhydratés par un passage dans des bains d'alcools à degrés décroissants (100°, 90° et 70°), à raison d'une minute par bain, suivi par des rinçages dans trois bains d'eau distillée pendant une minute pour chaque bain.

#### 1.2.4.6. Coloration

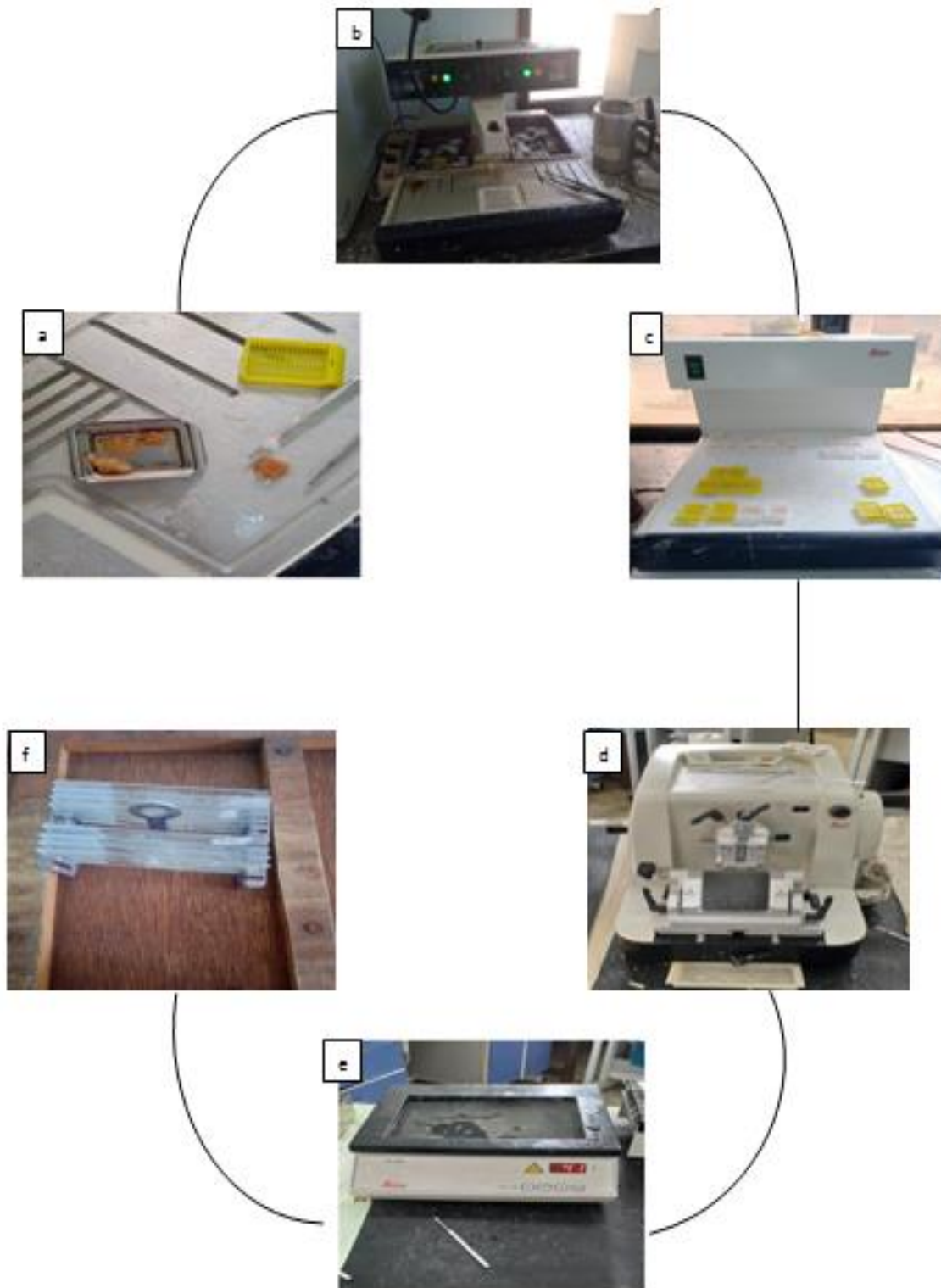
Le type de coloration utilisé dans notre étude est celle de l'hématoxyline éosine (HE) (Figure 17).

Cette étape se fait par un passage manuel des lames dans une série de bains selon l'ordre suivant :

- ❖ Hématine (couleur bleu violet) pendant 1 minute, suivi d'un rinçage rapide à l'eau distillée (10 à 15 sec). Le but est de colorer les noyaux.
- ❖ Lithium carbonate (10 à 15 sec), suivi d'un rinçage dans trois bains d'eau distillée pendant une minute pour chaque bain. Le but est d'enfoncer la couleur du noyau.
- ❖ Éosine pendant trois minutes, suivies d'un rinçage rapide à l'eau distillée (10 à 15 sec). Le but, c'est pour colorer le cytoplasme.

#### 1.2.4.7. Déshydratation, éclaircissement et montage des lames

Après la coloration, les tissus sont passés dans trois bains d'alcool 70° (1 min), 90° (1mn), 100° (1 min). Ensuite, ils sont passés dans deux bains de xylène (2 x 5 mn). A la fin de ces deux étapes, les lames sont montées avec une résine synthétique (Eukit) qui protège les tissus de la dégradation.



**Figure16** : Protocole suivi pour la réalisation des coupes.

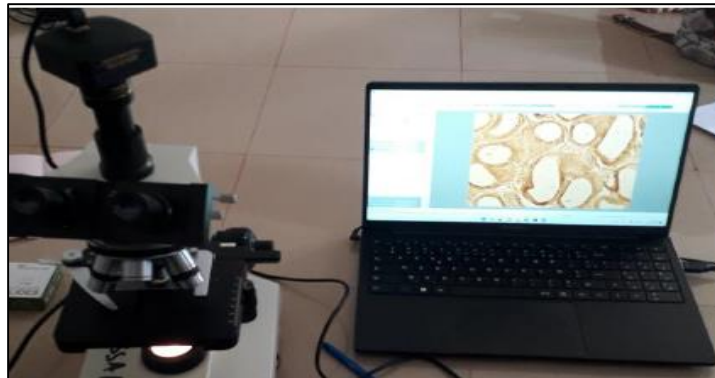
Figure -a- : cassette d'inclusion (image, 2022), figure -b- : appareil d'enrobage (image,2023),  
figure-c - : plaque de refroidissement (image, 2022), figure -d- : microtome (image,2022), figure -e- :  
bain marie (image,2022), figure -f- : lame en verre (image, 2023)



**Figure 17:** Lame coloré (image, 2023).

#### 1.2.4.8. Observation

Les lames préparées sont observées à différents grossissements : x40, x100 et x400 au microscope optique équipé d'un appareil photo et connecté à un ordinateur (figure 18).



**Figure18 :** Microscope connecté à caméra (Image, 2023).

#### 1.2.5. Etude histo-morphométrique

L'étude histo-morphométrique consiste à mesurer des paramètres morphologiques et structuraux des tissus. Les différentes valeurs ont été obtenues grâce au logiciel « AxioVision 4.8 ». Les mesures prises sont le diamètre des follicules, la surface de la lumière colloïdale, le diamètre des noyaux et celui de l'épithélium.

#### 1.2.6. Étude statistique

Les résultats individuels ont été enregistrés sur une base de données Excel puis traités par « le logiciel Graphpadprism 9 ». Les valeurs obtenues sont présentées par la moyenne  $\pm$  l'écart type. Les tests de normalité et d'homogénéité des variances ont été appliqués.

La comparaison de la moyenne pour les 4 groupes a été faite à l'aide du test paramétrique d'Anova.

Le degré de significativité est défini pour une probabilité  $p$  avec un risque de 5% :

- Si  $P \geq 0.05$  : la différence est non significative
- Si  $P \leq 0.05$  : la différence est peu significative \*
- Si  $P \leq 0.01$  : la différence est significative \*\*
- Si  $P \leq 0.001$  : la différence est très significative \*\*\*

## **Résultats et discussion**

## 2. Résultats

### 2.1. Effet du Thiaméthoxame sur les aspects histo-morphométrique de rats adultes mâles

#### 2.1.1. Aspect histologique chez les rats adultes males

L'observation au microscope photonique au grossissement  $\times 100$ , des coupes de la thyroïde des rats adultes témoins montre la dominance des grands follicules thyroïdiens par rapport aux petits follicules (Figure 19A) avec un épithélium à cellules cubiques, délimitant la colloïde. Entre les follicules se trouve un tissu conjonctif (TC). L'examen histologique de la thyroïde des rats des lots NOAEL (Figure 19C), et NOAEL  $\times 2$  (figure 19D) a dévoilé une réduction d'épaisseur de l'épithélium par rapport au tissu des rats témoins.

Le grossissement  $\times 400$  a révélé certains détails histologiques tels que, la présence de vaisseaux sanguins (Figure 20A). une diminution remarquable d'épaisseur d'épithélium et de diamètre des noyaux chez les lots NOAEL (figure 20C) et NOAEL  $\times 2$  (figure 20D) par rapport au lot témoin. Par ailleurs, au niveau des follicules de Noael  $\times 2$ , nous avons constaté un semblant de baisse en périphérie de la colloïde (figure 20D).

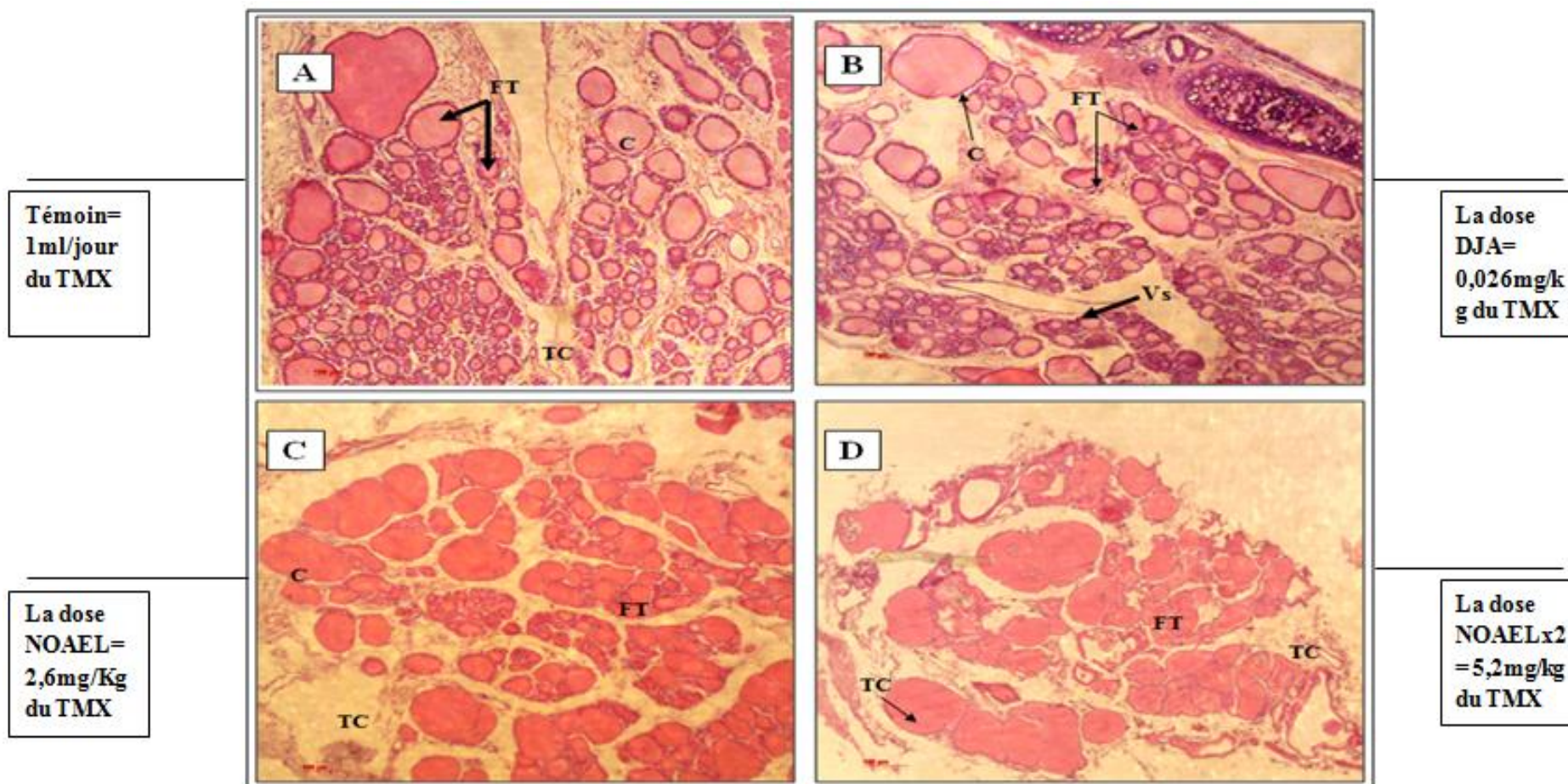
#### 2.1.2. Données morphométriques chez l'adulte

##### 2.1.2.1. Diamètre des follicules thyroïdiens

La comparaison des valeurs moyennes du diamètre des follicules chez les rats traités par la dose DJA, NOAEL et NOAEL  $\times 2$  de thiaméthoxamene ne montre aucune différence avec celle des rats témoins (Figure 21). En effet, la valeur moyenne du diamètre des follicules est de  $28.12 \pm 11.93 \mu\text{m}$  chez les témoins vs  $30.63 \pm 16.35 \mu\text{m}$  chez les rats du lot DJA,  $30.96 \pm 9.94 \mu\text{m}$  chez NOAEL et  $28.95 \pm 9.39 \mu\text{m}$  chez NOAEL  $\times 2$ .

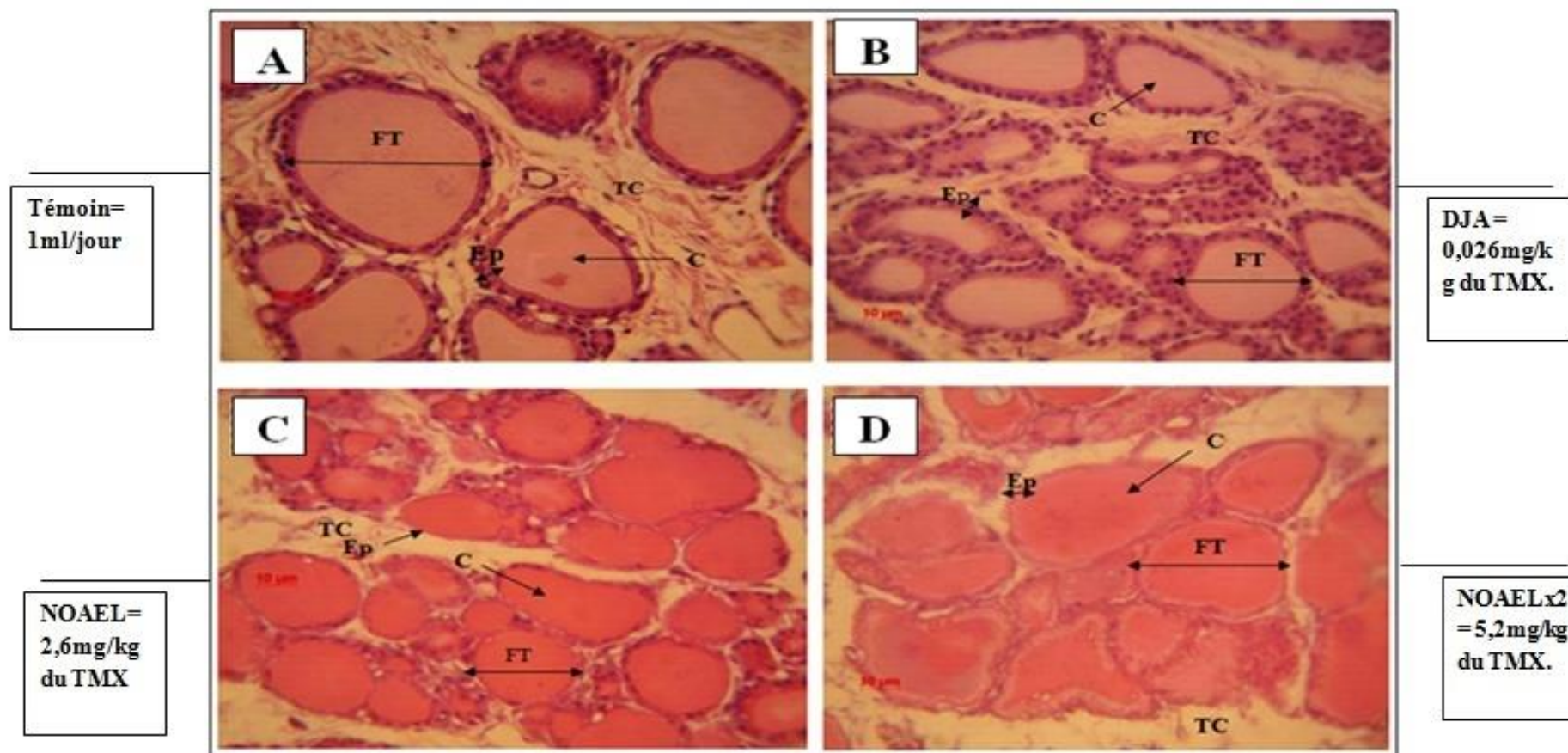
##### 2.1.2.2. Surface de la lumière des follicules thyroïdiens

Les valeurs moyennes de la surface de la lumière des follicules de rats traités au TMX sont de  $468.5 \pm 553. \mu\text{m}^2$  pour les témoins vs  $749.3 \pm 924.9 \mu\text{m}^2$  pour DJA,  $454.2 \pm 277.6$  pour NOAEL et  $418.2 \pm 292$  pour NOAEL  $\times 2$  (figure 22).



**Figure 19 : Coupes histologiques de la thyroïde des rats adultes témoins (A) et traités au thiaméthoxame (TMX) à la dose journalière admissible = DJA (B), la dose sans effets toxiques = Noeal (C) ou la dose Noaelx2 (D). Coloration Hematoxyline-éosine. Grossissement 100 (x100).**

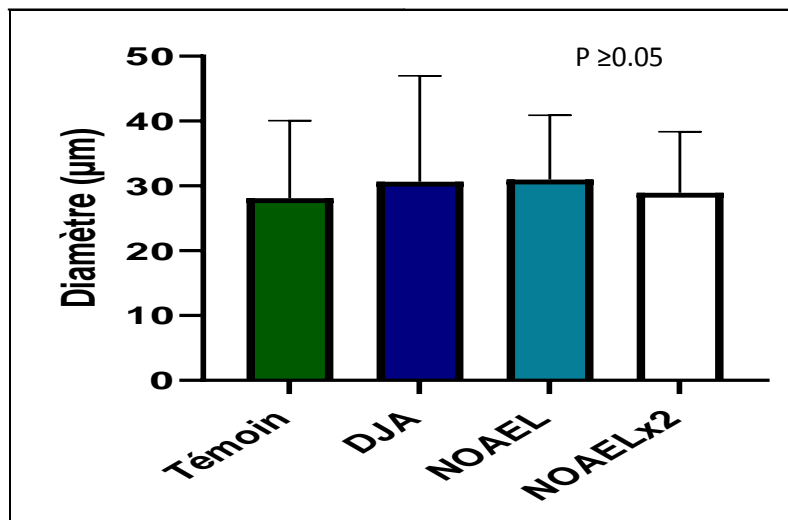
FT : Follicule thyroïdien, C : Colloïde, TC : Tissu conjonctif, Ep : épithélium, Vs : Vaisseau sanguin.



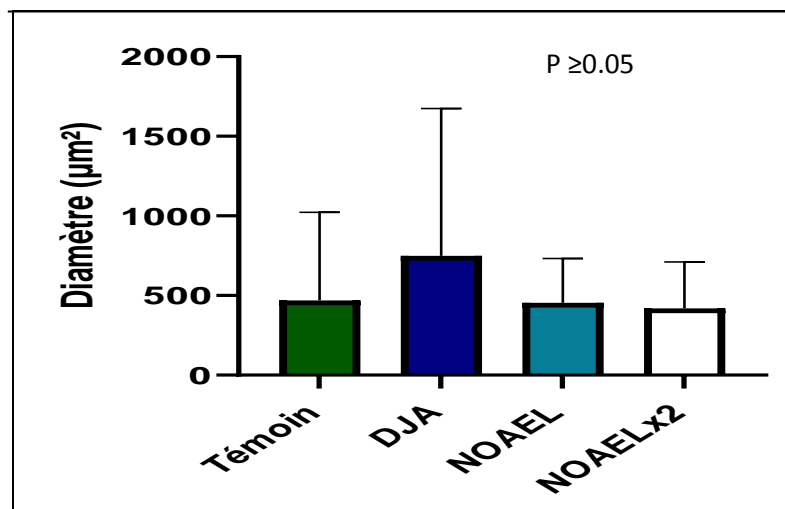
**Figure 20 :** Coupes histologiques de la thyroïde des rats adultes témoins (A) et traités au thiaméthoxame (TMX) à la dose journalière admissible = DJA (B), la dose sans effets toxiques = Noeal (C) ou la dose Noaelx2 (D). Coloration Hématoxyline-éosine.

**Grossissement 400 (x400).**

FT : Follicule thyroïdien, C : Colloïde, TC : Tissu conjonctif, Ep : épithélium, Vs : Vaisseau sanguin.



**Figure21** : Représentation graphique du diamètre des follicules thyroïdiens des rats adultes témoins et ceux traités au thiaméthoxame à la dose journalière admissible (DJA), la dose sans effets toxiques (Noeal) ou la dose Noaelx2



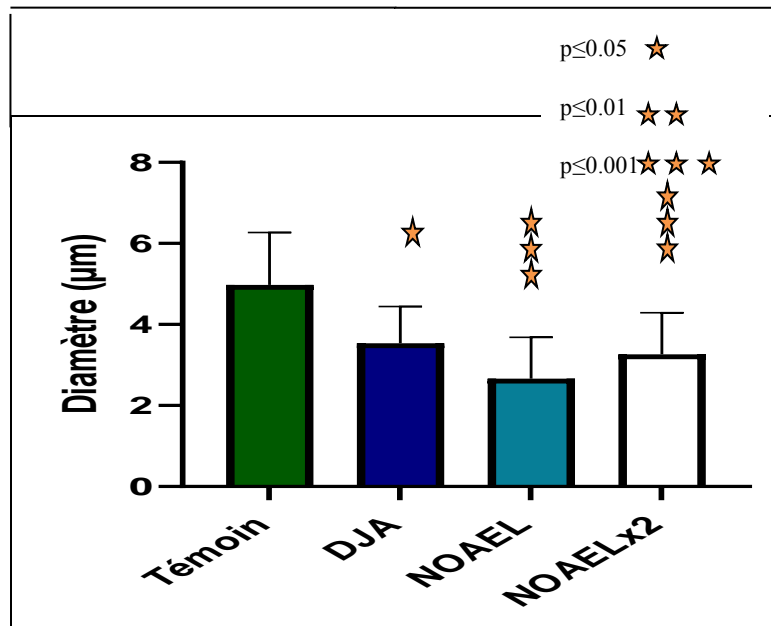
**Figure22** : Représentation graphique de la surface de la lumière colloïdale des rats adultes témoins et ceux traités au thiaméthoxame à la dose journalière admissible (DJA), la dose sans effets toxiques (Noael) ou la dose Noaelx2

### 2.1.2.3. L'épaisseur d'épithélium des follicules

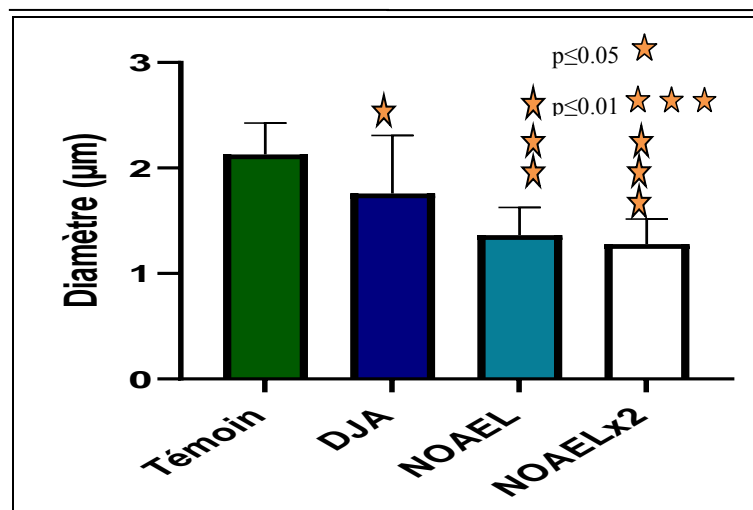
Les résultats relatifs à l'épaisseur de l'épithélium, illustrés sur la figure 23, montrent une diminution de ce paramètre ( $P \leq 0.05$ ) chez les rats traités avec la dose DJA ( $3.53 \pm 0.90 \mu\text{m}$ ) et une diminution très significative chez les rats du lot NOAEL ( $P \leq 0.001$ ,  $2.66 \pm 1.01 \mu\text{m}$ ) et ceux du lot NOAELx2 ( $P \leq 0.01$ ,  $3.26 \pm 1.02 \mu\text{m}$ ) par rapport aux valeurs des rats du lot témoin ( $4.97 \pm 1.29 \mu\text{m}$ ).

#### 2.1.2.4. Diamètre du noyau des cellules folliculaires

L'examen des valeurs moyennes du diamètre des noyaux des follicules montre une diminution en fonction de la dose de TMX administré. Les noyaux des follicules des rats témoins ont un diamètre moyenne de  $2.12 \pm 0.29 \mu\text{m}$  qui régresse significativement pour passer à  $1.75 \pm 0.55 \mu\text{m}$  chez le lot DJA, à  $1.36 \pm 0.26 \mu\text{m}$  chez NOAEL et enfin à  $1.27 \pm 0.23$  chez NOAELx2. Comparativement aux témoins, les baisses relevées chez les lots NOAEL et NOAELx2 sont très significative ( $P \leq 0.001$ ) (figure 24).



**Figure23:** Représentation graphique d'épaisseur de l'épithélium des rats adultes témoins et ceux traités au thiaméthoxame à la dose journalière admissible (DJA), la dose sans effets toxiques (Noael) ou la dose Noaelx2



**Figure24:** Diamètre des noyaux folliculaires des rats adultes traités au thiaméthoxame (DJA, NOAEL et NOAELx2) comparativement aux témoins.

## **2.2. Impact du traitement au thiaméthoxame des parents sur le développement postnatal de la glandethyroïde des rats de la première génération**

### **2.2.1. Histologie de la thyroïde au cours du développement et effets du thiamethoxame**

Les images représentées dans les figures de 28 à 31 sont les coupes histologiques de la thyroïde des rats de la descendance à différents âges (20, 60 et 90 jours) issus des parents témoins ou traités avec les trois doses (DJA, NOAEL et NOAEL X2) et observées aux grossissements x100 et x400.

#### **2.2.1.1. Histologie de la thyroïde des rats de 20 jours**

Les coupes histologiques des rats dont les parents sont traités par la dose DJA (figure 25-D) 0.026 mg/kg de TXM, on remarque la diminution du nombre des grands follicules et l'augmentation du nombre des petits follicules, et ce comparativement au lot témoin (figure 25-A). La thyroïde de 20 jours du lot NOAEL (figure 25-J) révèle la présence de nombreux grands follicules, qui sont plus importants que les petits follicules, séparés par un tissu conjonctif contenant des vaisseaux sanguins, de plus nous avons relevé une réduction du diamètre de l'épithélium des follicules (Figure 25-J). La thyroïde des rats de 20 jours du lot NOAEL X 2 (Figure 25-G) est représentée par de nombreux follicules thyroïdiens de petite taille et peu de grands follicules, laissant place à des aires plus importantes de tissu conjonctif renfermant des vaisseaux sanguins.

Au grossissement x400, les coupes histologiques des rats mâles de 20 jours issus des parents n'ayant pas reçus de TMX ont montré une architecture normale du tissu (figure 26-A). Le traitement au TMX semble avoir un impact sur le diamètre de l'épithélium et les noyaux chez les rats du lot NOAEL, illustré dans la (figure 26-C) et davantage chez les rats du lot NOAELx2 représenté dans la (figure 26-D).

#### **2.2.1.2. Histologie de la thyroïde des rats de 60 jours**

La thyroïde des rats du lot témoin de 60 jours (Figure 25-B) est histologiquement semblable à celles des rats témoins de 20 jours. Par ailleurs, sur l'image, nous avons identifié des cellules parafolliculaires (cellules C). Au niveau de la thyroïde de 60 jours du lot DJA (figure 25-E), le nombre de follicules de grande taille diminue tandis que celui de follicules de petite taille augmente comparativement au lot témoin. Dans l'espace conjonctif, nous avons reconnu les vaisseaux sanguins ainsi que des cellules parafolliculaires. La structure du lot NOAEL (Figure 25-H) ne semble pas très différente de celle de lot DJA. Cependant, une diminution du nombre de follicules nous a paru visible au niveau de la thyroïde du lot

NOAELx2 (Figure 25-K) comparativement au lot témoin. Nous avons également relevé chez NOAELx2 une abondance de tissu conjonctif contenant des cellules C (Figure 25-K).

L'examen microscopique au grossissement x400 des coupes histologiques de la thyroïde des rats du lot T (Figure 27-A) et des lots DJA, NOAEL et NOAELx2 (Figures 27-B, C, D) confirme les observations que nous avons décrites antérieurement au grossissement x 100.

### **2.2.1.3. Histologie de la thyroïde des rats de 90 jours**

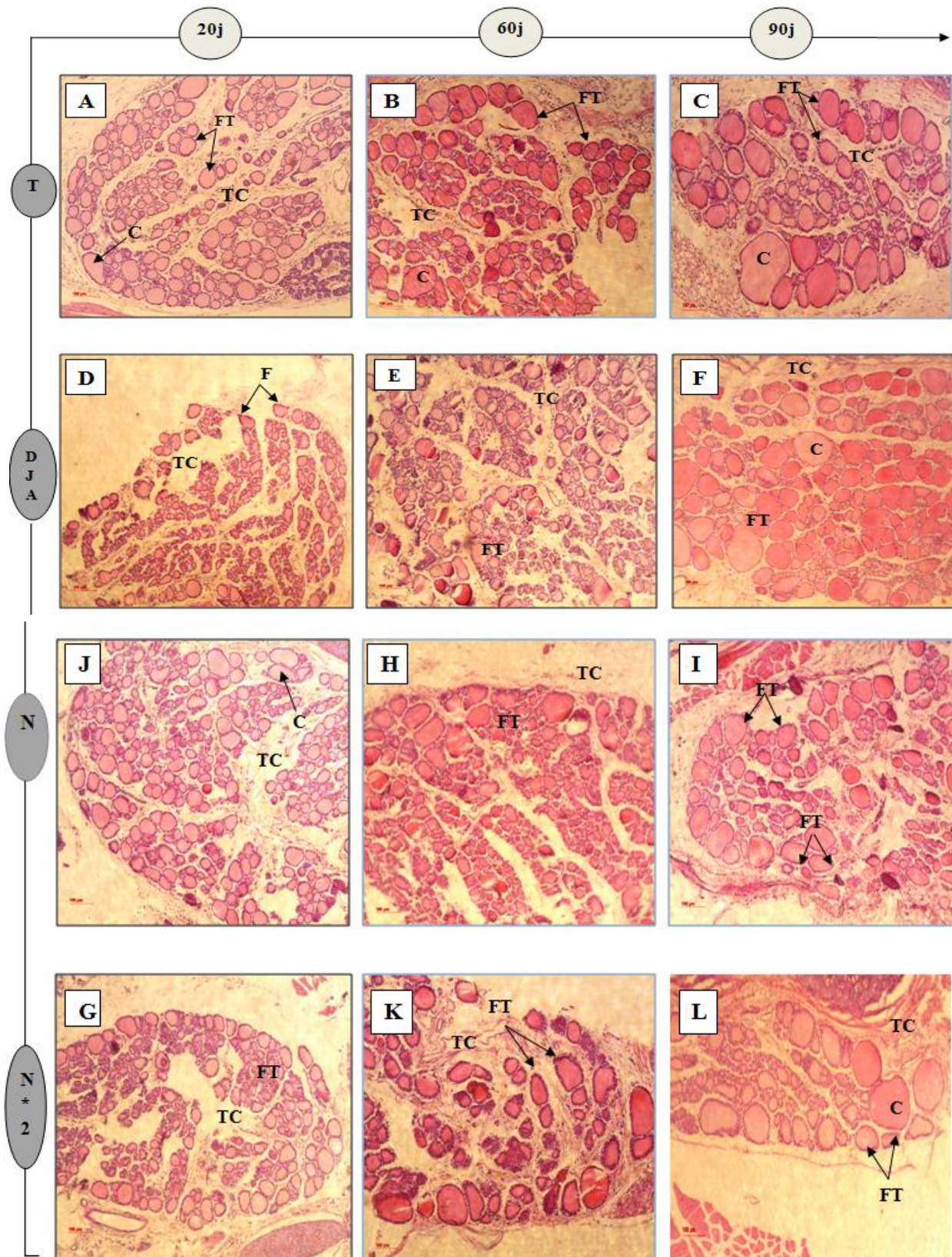
La coupe histologique de la thyroïde de 90 jours des rats du lot témoin (figure 25-C) montre l'importance du point de vue nombre des grands follicules relativement aux petits follicules, séparés par un tissu conjonctif contenant des vaisseaux sanguins. Il en est de même au niveau de la thyroïde des rats DJA (figure 25-F), mais avec l'épaisseur de l'épithélium qui semble être réduite, un tissu conjonctif peu abondant et contenant des cellules C. Sur les sections thyroïdiennes du lot NOAEL (figure 25-I) le nombre des petits follicules prend le dessus sur les grands follicules et les cellules C sont bien apparentes dans le tissu conjonctif. Pour le lot NOAELx2, les follicules de grande taille restent moins importants par rapport aux petits follicules et le tissu conjonctif contient aussi des vaisseaux sanguins, ainsi que des cellules à calcitonine.

Au grossissement x400, les coupes de thyroïde de rats de 90 jours sont représentées dans la figure 29-A pour le lot témoin, B pour DJA, C pour NOAEL et D pour NOAELx2). Cette observation nous a permis de remarquer une légère diminution du diamètre des noyaux des cellules folliculaires pour le lot DJA (Figure 28-B) et une hypertrophie de l'épithélium au sein du tissu thyroïdien du lot NOAELx2 (Figure 28-D).

### **2.2.2. Morphométrie de La descendance.**

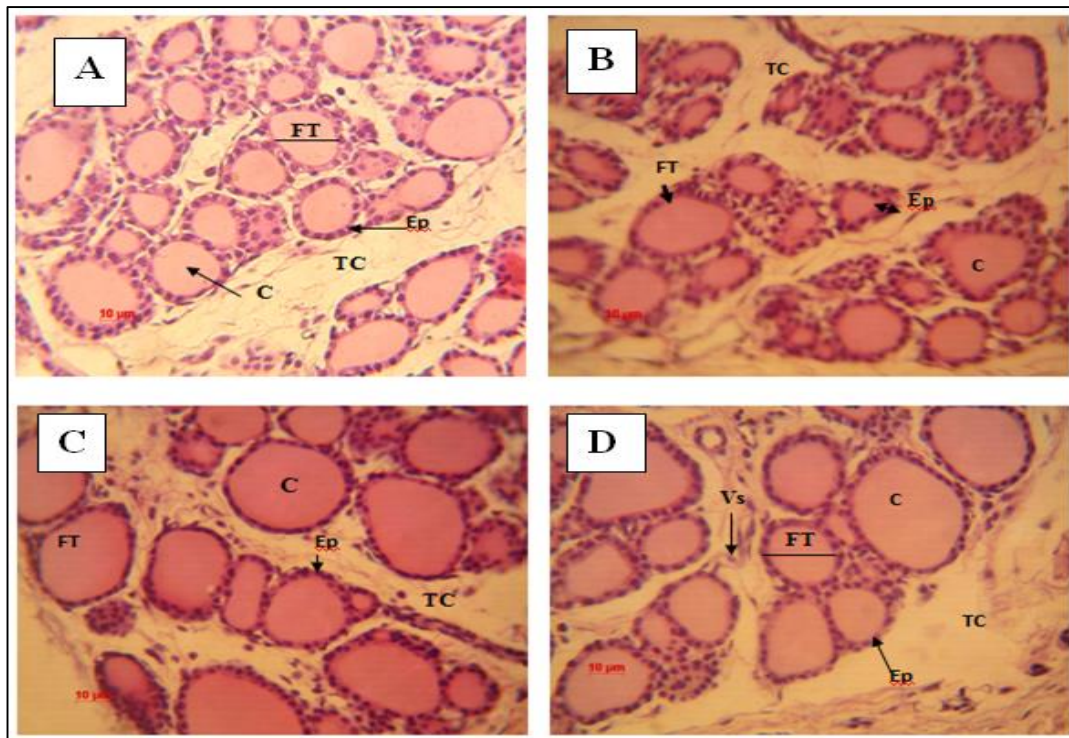
#### **2.2.2.1. Diamètre des follicules thyroïdiens**

L'examen des valeurs moyennes du diamètre des follicules des rats de la F1 ne révèle aucun changement significatif ( $P \geq 0.05$ ) de ce paramètre entre les différents âges, ainsi qu'entre les des différents lots T, DJA, Noarel et Noaelx2 (Figure 29).

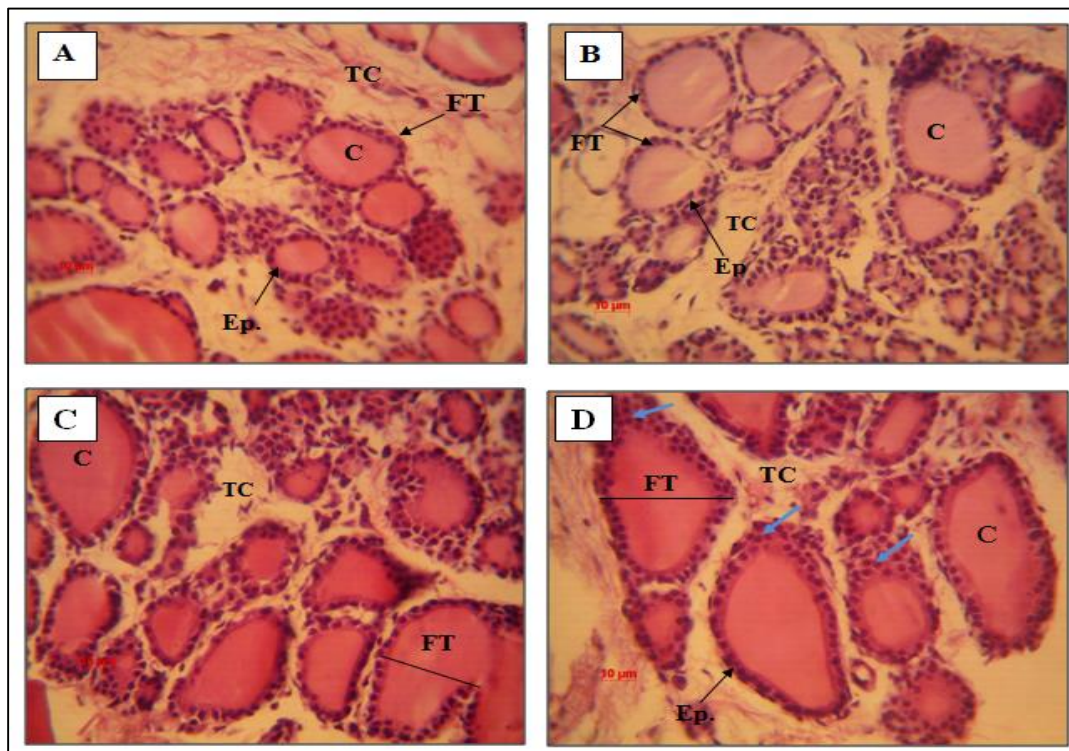


**Figure 25:** Coupes histologiques de la thyroïde des rats âgés de 20, 60 et 90 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamethoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (Nx2). **Grossissement x100**

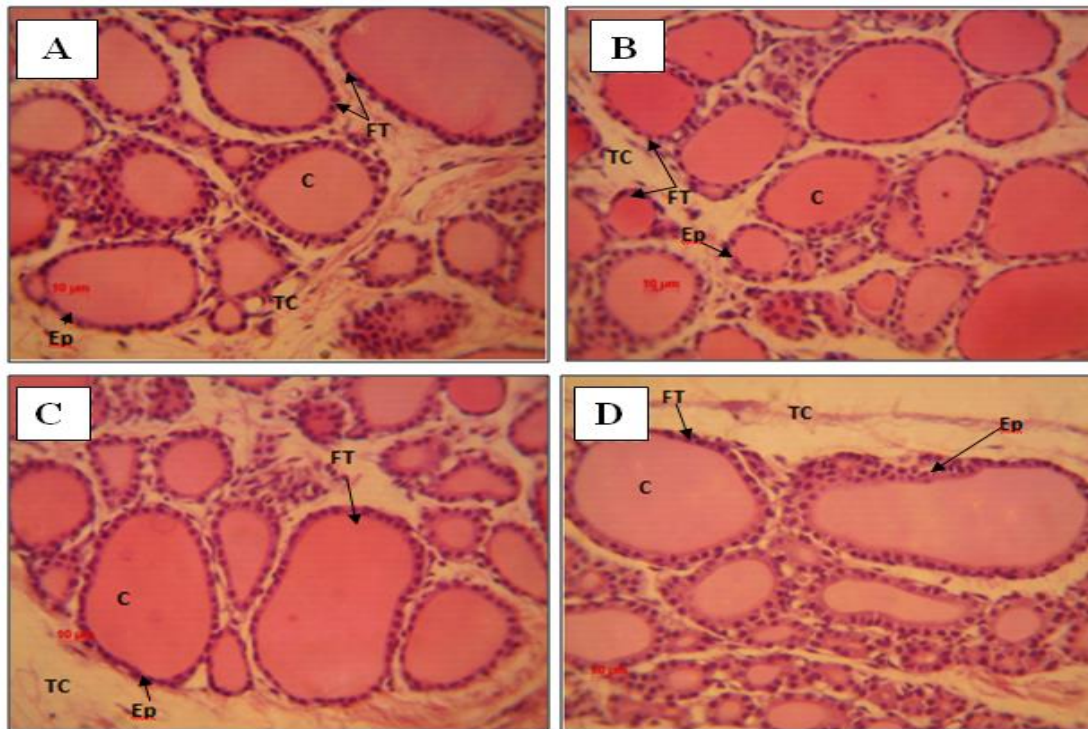
Coloration à l'hématoxyline-éosine, FT: follicule thyroïdien, C : colloïde, TC: tissu conjonctif, Ep : épithélium



**Figure 26:** Coupes histologiques de la thyroïde des rats âgés de 20 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamethoxame (TMX) à dose DJA, Noael (N) ou Noael x 2 (Nx2). **Grossissement x400**



**Figure 27:** Coupes histologiques de la thyroïde des rats âgés de 60 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamethoxame (TMX) à dose DJA, Noael (N) et Noael x 2 (Nx2). **Grossissement x400**  
 Coloration à l'hématoxyline-éosine, FT: follicule thyroïdien, C: colloïde, TC: tissu conjonctif, Ep: épithélium



**Figure 28:** Coupes histologiques de la thyroïde des rats âgés de 90 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamethoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (Nx2). **Grossissement x400**  
Coloration à l'hématoxyline-éosine, FT: follicule thyroïdien, C : colloïde, TC: tissu conjonctif, Ep : épithélium

#### 2.2.2.2. Surface de la lumière des follicules thyroïdiens

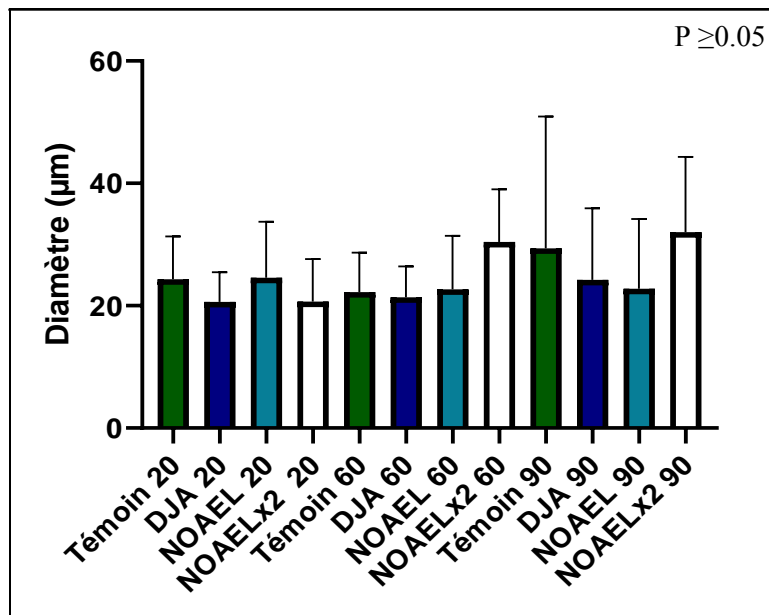
Comme le montre la figure 30, la surface moyenne de la lumière des follicules relevée chez les rats du lot témoins ne diffère pas significativement ( $P \geq 0.05$ ) de celle obtenue chez les rats issus de parents traités au TMX (DJA, Noael et Noaelx2), et ce quel que soit l'âge du rat (20, 60 ou 90 jours)

#### 2.2.2.3. Diamètre de l'épithélium des follicules thyroïdiens

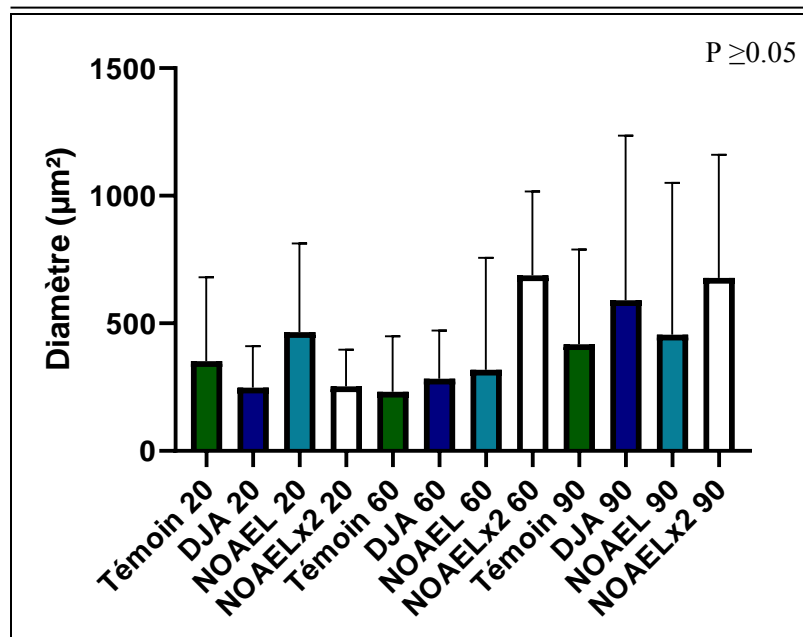
La figure 31 montre que les valeurs moyennes du diamètre de l'épithélium relevées chez les rats du lot témoin ne changent pas ( $P \geq 0.05$ ) chez les rats issus de rats traités au différents doses (DJA, Noael et Noaelx2) de TMX et ce quelque soit leur âge (20, 60 ou encore 90 jours).

#### 2.2.2.4. Diamètre des noyaux des cellules folliculaires

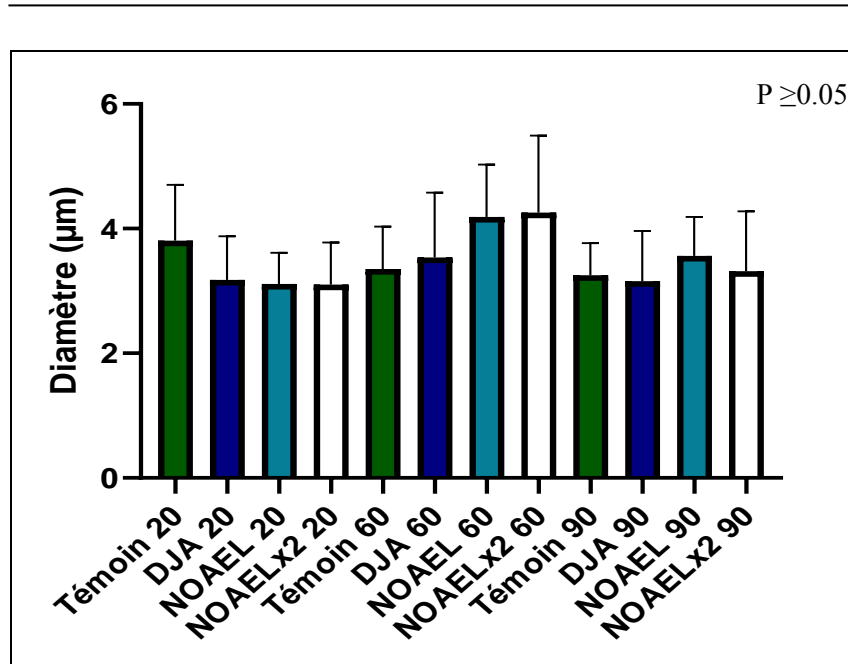
Les résultats relatifs au diamètre des noyaux, illustrés sur la figure 32, ne montrent aucune différence significative ( $P \geq 0.05$ ) entre le lot témoin et les lots DJA, Noael et Noaelx2, et ce quel que soit leur âge (20, 60 ou encore 90 jours).



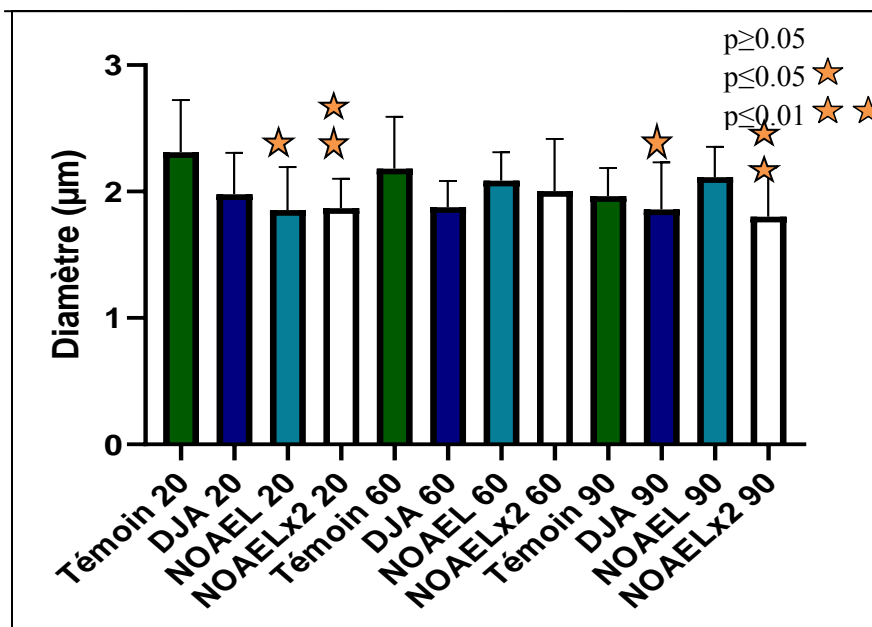
**Figure 29:** Présentation graphique du diamètre des follicules des rats âgés de 20, 60, 90 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamethoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (N2).



**Figure 30:** Présentation graphique de la surface de la lumière folliculaire thyroïdiens des rats âgés de 20, 60, 90 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamethoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (N2).



**Figure 31** : Présentation graphique de l'épaisseur de l'épithélium des follicules thyroïdiens des rats des rats âgés de 20, 60, 90 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamethoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (N2).



**Figure 32** : Présentation graphique du diamètre des noyaux des follicules des rats des rats âgés de 20, 60, 90 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamethoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (N2).

### 3. Discussion

Dans cette étude, nous avons évalué les effets sub-chroniques du Thiaméthoxame sur la fonction thyroïdienne, en ciblant la thyroïde des rats mâles adultes de souche *Wistar* et celle de leurs descendances de la génération 1. Pour ce faire, nous avons analysé les structures histologiques et mesuré certains paramètres morphologiques, par une analyse morphométrique.

La thyroïde est la glande endocrine la plus sensible aux modifications de l'environnement causées principalement par l'homme, tels qu'une utilisation non contrôlée de certains pesticides, comme les néonicotinoïdes. Ces derniers représentent une nouvelle classe d'insecticides synthétiques, devenus la classe la plus utilisée dans le monde (**Abouelghar et al. 2020**). Le thiaméthoxame (TMX) appartient à la famille des néonicotinoïdes et ses effets de perturbateurs endocriniens, notamment de la fonction thyroïdienne, ont déjà été rapportés à partir d'examen histopathologiques (**Yinghuan et al., 2020**).

#### **Impacts du traitement au Thiaméthoxame sur la thyroïde des rats adultes mâles**

L'exposition des rats aux différentes doses de thiaméthoxame (DJA : dose journalière admissible, NOAEL ou NOAELx2 : la dose sans effet toxique) a provoqué des altérations morphologiques, en effet, visuellement, au niveau structurel, nous avons relevé des changements, mais de point de vue morphométrique nous avons constaté que seulement l'épaisseur de l'épithélium et le diamètre du noyau ont été affectés. L'épaisseur de l'épithélium a montré une baisse avec toutes les doses mais beaucoup plus prononcée avec les doses NOAEL et NOAELx2. Il en est de même pour le diamètre des noyaux, où les mêmes doses ont montré une baisse de ce paramètre (tableau 3). Une étude faite sur la thyroïde des rats albinos par l'administration de l'insecticide Chlorpyrifos (CPF) a révélé la réduction de la taille des follicules. (**Hawazen. Lamfon, 2014**). Ce résultat a été confirmé par les auteurs d'une autre étude, réalisée sur 50 rats mâles, évaluant l'effet bénéfique de l'huile de pépins de courge (PSO) sur les fonctions thyroïdiennes des rats traités par différentes doses de chlorpyrifos (CPF), administrées une fois par jour par gavage oral pendant 8 semaines (**Abed and Alkalby, 2018**). Par ailleurs, **Yinghuan et al. (2020)** en examinant chez le lézard, la toxicité de 20 mg/kg du poids corporel du TMX, administré par gavage oral pour une période de 28 jours, ont obtenu une augmentation de 16% de l'épaisseur des cellules épithéliales par rapport aux témoins.

**Tableau 3:** Teneurs approximatives des changements structuraux de la thyroïde des rats adultes traités au thiaméthoxame avec les doses (DJA, NOAEL et NOAELx2) relativement aux témoins.

Lot \ Paramètre	DJA	NOAEL	NOAELx2
Diamètre folliculaire	-	-	-
Surface de la lumière folliculaire	-	-	-
Epaisseur de l'épithélium	+	+++	++
Diamètre du noyau	+	+++	+++

Des altérations structurales peuvent être accompagnées de modifications fonctionnelles, telles que des changements de la synthèse et sécrétions des hormones thyroïdiennes. **El Okle et ses collaborateurs (2016)** ont montré qu'une exposition à l'hexachlorure de benzène (un pesticide organochloré) ou encore à Talstar (pyréthrinolide) et au malathion (organophosphoré) entraîne une diminution de la concentration sérique de T3 et T4, avec une stimulation concomitante de la TSH chez les rats. Plusieurs études ont montré que des changements des niveaux d'expression et de sécrétions des hormones thyroïdiennes pendant le développement testiculaire affectent la maturation testiculaire et par conséquent la reproduction (**Janniniet al. 1995**).

#### **Impacts du traitement au thiaméthoxame des parents sur le développement post natal de la glande thyroïde des rats de la première génération**

L'exposition des rats adultes mâles et femelles au thiaméthoxame pourrait-elle avoir un impact sur le développement de certains organes tels que la glande thyroïdienne et par conséquent sur ses fonctions. L'examen de la structure histologique et la mesure de certains paramètres morphologiques nous ont permis de relever certaines modifications (Tableau 4) :

**Tableau 4 :** Teneurs approximatives des changements morphométriques de la thyroïde de rats issus de parents traités au thiaméthoxame avec les doses (DJA, NOAEL et NOAELx2) relativement aux témoins.

	Lot \ Paramètre	DJA	NOAEL	NOAELx2
20J	Diamètre des follicules	-	-	-
	Surface de la lumière	-	-	-
	Epaisseur de l'épithélium	-	-	-
	Diamètre du noyau	-	+	++
60J	Diamètre des follicules	-	-	-
	Surface de la lumière	-	-	-
	Epaisseur de l'épithélium	-	-	-
	Diamètre du noyau	-	-	-
90J	Diamètre des follicules	-	-	-
	Surface de la lumière	-	-	-
	Epaisseur de l'épithélium	-	-	-
	Diamètre du noyau	+	-	++

Le thiaméthoxame administré aux parents ne semble pas avoir un impact très sensible, du moins mesurable sur la structure de la thyroïde des petits, âgés de 20, 60 et 90 jours ; en effet, le diamètre des follicules, la surface de la lumière des follicules et même l'épaisseur de l'épithélium n'ont montré aucun changement comparativement aux témoins, et ce quelque-soit la dose administrée aux parents (DJA, NOAEL et NOAELx2). Nos résultats ne rejoignent pas ceux de **Rita et al. (2013)** qui ont rapporté des changements morphologiques comme l'augmentation de la taille des follicules de la thyroïde chez les petits de parents exposés à certains pesticides.

La réduction de la taille du noyau des cellules folliculaires de la thyroïde des rats de 20 et 60 jours comparativement à la taille des noyaux des rats dont les parents n'ont pas subi de traitement au TMX.

## **Conclusion et Perspectives**

## Conclusion et Perspectives

---

Les êtres humains et les animaux sont exposés en permanence à un grand nombre de substances chimiques synthétiques, dont de nombreuses persistent dans l'environnement et atteignent via différentes voies des organismes non ciblés. De nombreuses études ont indiqué l'effet néfaste de l'exposition à certaines molécules ou composés chimiques sur certaines fonctions physiologiques, y compris l'effet de perturbation subtile de l'axe thyroïdien (**Boas et al., 2006**)

L'évaluation d'une exposition subchronique au Thiaméthoxame a révélé des changements histologiques, tels que la diminution d'épaisseur d'épithélium et le diamètre du noyau chez le rat adulte male et la réduction de l'unique paramètre qui est le diamètre du noyau semble affecté chez les rats issus de parents ayant reçu du TMX. Cependant, l'examen morphométrique n'a confirmé que certaines observations microscopiques, nous citerons, en l'occurrence l'épithélium des cellules folliculaires qui a baissé chez les rats adultes traités au TMX et la taille du noyau qui a également diminué chez l'adulte traité avec les trois doses. De même, le noyau a subi une baisse de taille chez les petits, âgés de 20 et 60 jours, mais seulement avec la dose Noael et davantage avec Noaelx2. Le changement des diamètres des noyaux après l'exposition au TMX affecte sans doute la fonction des thyrocytes.

En conséquence, le grand public doit être sensibilisé sur les conséquences d'une exposition excessive au Thiaméthoxame qui peut être dangereuse pour l'homme. Le TMX semble affecter la thyroïde et pourrait avoir un impact néfaste sur d'autres glandes, comme l'ovaire et le testicule.

Des précautions essentielles doivent être mises en œuvre pour réduire les impacts délétères du Thiaméthoxame sur l'homme et les espèces animales.

L'étude que nous avons effectuée est insuffisante pour tirer des conclusions, ce travail reste une étape préliminaire, nous suggérons en perspective :

- ❖ L'analyse de la concentration sérique des hormones thyroïdiennes T3 et T4.
- ❖ L'exploration des effets du Thiaméthoxame sur la descendance de la deuxième génération (F2).
- ❖ La réalisation d'études plus approfondies en biologie moléculaire sur l'impact de Thiaméthoxame sur la génotoxicité pour la recherche d'un dommage de l'ADN.

## **Références Bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

### A

- **Ait Hamlet Simina, DjekounMohamed, Bensoltane Samira et Berrebbah Houria.** (2019) « effets de thiaméthoxame et de la tefluthrine sur les biomarqueurs physiologiques de l'escargot terrestre HELIX », Revue Agrobiologia, 9(2), 1494-1498 :
- **AbdelhaiSafa, AbdelhaiMarwa, OumazizMouna. Sciencebiologique. Tebessa** (2022): Université de Larbi Tébessi –Tébessa-, 2022.83.
- **Abed Nabeel Mahdi et Alkalby Jassim M. A.** (2018). Protective effect of pumpkin seed oil on reproductive system in chlorpyrifos treated adult male rats. Basrah Journal of veterinary Research 17(2):292- 307.
- **Attia H et Beghoura I.** (2020). La toxicité d'un néonicotinoïdethiaméthoxame à l'égard d'helixaspersa. Mémoire de master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

### B

- **Baldi I, Cordier S, Coumoul X, Elbaz A, Gamet-Payrastre, Lebailly P, Multigner L, Rahmani R, Spinosi J, van Maele-Fabry G,** (2013). Pesticides : Effets sur la santé. [Rapport de recherche] Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM). Paris : Inserm : Editions EDP Sciences (ISSN : 1264-1782) / 1014 p. inserm-02102981.
- **Barbee GC, Stout MJ** (2009) Comparative acute toxicity of neonicotinoid and pyrethroid insecticides to non-target crayfish (*Procambarus clarkii*) associated with rice-crayfish crop rotations. *Pest Manag Sci* 65:1250–1256
- **Bensalem, K et Rabia H.** (2019). Effets de l'huile essentielle de la Menthe poivrée (*Mentha piperita*) à cinq doses différentes sur la structure épидидymaire des lapins mâles infantiles de la population blanche. Mémoire de Master. Université Mouloud Mammerie de Tizi-Ouzou. Algérie.
- **Bergman, Å., Heindel, J., Jobling, S., Kidd, K., Zoeller, R.T.** (2012). WHO. State-of-the-science of endocrine disrupting chemicals, 2012, *Toxicology Letters*. doi:10.1016/j.toxlet.2012.03.020
- **Bessila Z, Nekkaa M.** (2016) Evaluation de la prévalence des dysthyroïdies dans la consultation d'endocrinologie. [En ligne]. *Biochimie/ Analyse protéomique et santé*. Constantine : Université frères Mentouri, 2016, 79 P. Disponible sur <https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/biblio/mmf/2016/159.pdf>
- **Betty, Fumel.** (2011) Rôles des récepteurs à l'hormone thyroïdienne, TR $\alpha$ 1 et P43, dans le contrôle de la prolifération des cellules de sertoli chez la souris. [En ligne]. Thèse de doctorat en physiologie de la reproduction et des comportements. Ecole doctorale SST UMR INRA/ CNRS/ Université de Tours, 2011 ; 224P. Disponible sur
- **Boland J, Koomen I, van Lidth J, Oudejans J,** (2004). Les pesticides : composition, utilisation et risques. Pays Bas. Fondation Agromisa, Wageningen, 2004. ISBN : 90-77073-01-9.
- **Bouazza S, Meddah B,** (2013). Etude histologique des testicules du rat Wistar prépubère malnutri puis réalimenté. Mémoire de Master, Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes, Algérie
- **Braverman, L. E. and Cooper, D.** (2012) *Werner & Ingbar's the thyroid: a fundamental and clinical text*. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health. Available at: <https://books.google.fr/books?hl=fr&lr=&id=U7lnJ6X82QYC&oi=fnd&pg=PA48&dq=PET>

## Références bibliographiques

---

- **Buzzard JJ, Morrison JR, O'Bryan MK, Song Q, Wreford NG.** (2000). Developmental expression of thyroid hormone receptors in the rat testis. *Biology of reproduction* 62(3): 664-669.

### C

- **Capkin E., Altinok I. et Karahan S.,** (2006). Water quality and fish size affect toxicity of endosulfan, an organochlorine pesticide, to rainbow trout. *Chemosphere*, 64 ,pp: 1793-1800.

- **Centre canadien d'hygiène et de sécurité au travail (CCHST),** (2017).Fiches d'information Réponses SST : Pesticides – Généralités. Consulté sur :<https://www.cchst.ca/oshanswers/chemicals/pesticides/general.html>

- **Cherin P., Voronska E., Fraoucene N. et De Jaeger C.** (2012). Toxicité aiguë des pesticides chez l'homme. *Médecine&Longévité*, 4(2): 68-74.

- **Cocco P, Heineman EF et Dosemeci M.** (1999). Occupational risk factors for cancer of the central nervous system (CNS) among US women. *Am. J. Ind. Med.* 36. pp

- **Constantin, Dallot.** (2015). Perturbation de la fonction thyroïdienne : Mise en place d'une stratégie de criblage des produits chimiques. [En ligne]. Thèse de doctorat en interactions moléculaires et cellulaires. Université Nice Sophia Antipolis, 2015, 276 P. Disponible sur <https://theses.hal.science/tel-01358727/preview/2015NICE4135.pdf>

-**Cooke PS, Hess RA, Porcelli J, Meisami E.** (1991). Increased sperm production in 471 adult rats after transient neonatal hypothyroidism. *Endocrinology* 129:244-248

- **Cossi Paula Fanny , HerbertLucilaThomsett , YussepponeMaría Soledad , PérezAnalía Fernanda , Kristoff Gisela** (2020) Toxicity evaluation of the active ingredient acetamiprid and a commercial formulation (Assail® 70) on the non-target gastropod Biomphalariastraminea (Mollusca Planorbidae) *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Volume 192, 1 April 2020, 110248

- **Cuppen, J.G.M., Van den Brink, P.J., Camps, E., Uil, K.F., Brock, T.C.M.** (2000). Impact of the fungicidecarbendazim in fresh water microsoms.Water quality breakdown of particulate organic matter and responses of macro invertebrates. *AquatToxicol.* Vol 48.

### D, E, F

- **David G., Christy M et Pierre Mineau.** (2014). Examen des effets directs et indirects des néonicotinoïdes et du fipronil sur la faune des vertébrés, 18 juin 2014, 22 :103-115.

- **Deleage E.,** (2013). *Agricultures à l'épreuve de la modernisation.* Publisher: Éditions Quae. 231 p.

- **E Okle O,LebdaM,Tohamy H.** (2016). Altérations biochimiques,hormonales et histologiques induites par le thiaméthoxame chez le rat,2016,8,5 :320-325.

- **Ensley, SM.** (2018). Neonicotinoids. editor. In: Gupta, RC (Ed.), *Veterinary toxicology: basic and clinical principles*, 3rd ed. Academic Press, London, United Kingdom, pp. 521–524.

- **Feki A, Kammoun I, Naifar M, MakniAyadi F, Hakim A, Ben Amara I,** (2021).Etude du profilbiochimique chez des rats traites avec des doses croissantesenthiamethoxame study of the biochemical profile in rats treated with increasing doses of thiamethoxam. Université de Sfax-Tunisie. N°37; Fév21 ; 55 – 63.

- **Fisher DA.,** (1999). *Endocrinology of fetal development.* In: Wilson JD, Foster DW, Eds. *Textbook of Endocrinology.* Philadelphia: WB Saunders.

## Références bibliographiques

---

### G

- Gaborit B.** (2014). Hormono production. R9: p12.
- **Garthwaite DG, Thomas MR, Dawson A, Stoddart H** (2003) Pesticide Usage Survey Report 187: arable crops in Great Britain 2002. Département for Environnement, Food and Rural Affairs, London .
- **Guénard H.,** (1996). Physiologie humaine, Editions Pradel, 570 pages, ISBN 2907516833.
- **Gregory A. Brent** (2012), Mécanismes d'action des hormones thyroïdiennes, The Journal of Clinical Investigation. 122(9) : 3035-3043.

### H

- **Harper, M. E, et al.** (1993). "Effects of thyroid hormones on oxidative phosphorylation." BiochemSoc Trans 21(Pt 3): 785-792.
- **Hayo M. G. Van der Werf.** (1996). Original Assessing the impact of pesticides on the environment. Elsevier. 60, pp 81-96.
- **He Bingnan, NI Yinhua, JinYuanxiang, FuZhengwei (2020).** Pesticides-induced energy metabolic disorders.Sci Total Environ 2020 Aug 10;729:139033.
- **Hennen, Georges.**(2001). Endocrinologie.1<sup>ère</sup> édition. De boeckuniversité.Bruxelles, 2001. 519 P.
- **Holsberger DR, Jirawatnotai S, Kiyokawa H, Cooke PS.** (2003). Thyroid hormone regulates the cell cycle inhibitor p27Kip1 in postnatal murine Sertoli cells. Endocrinology 144(9): 3732-3738.

### I, J

- **Institut national de la santé et de la recherche medicale.** (2013).Pesticides-Effets sur la santé. 2013. 161P.
- **John E.Casida et Kathleen A.** (2013).Durkin. neuroactive insecticides: target, selectivity, resistance and secondary effects,2013,58:99-117.

### L, M

- **La Perle, K. M. D., & Jordan, C. D.** (2012). Endocrine System. In Comparative Anatomy and Histology : A Mouse and Human Atlas (p. 211-220).
- **Leclère, J. Orgiazzi, B. Rousset, J. schlinger et J. L. Wémeau.** (2001).La thyroïde. 2<sup>ème</sup> édition. Paris.Elsevier SAS, 2001. 618 P.
- **Leeson CR.**(1963). Observations on the fine structure of rat interstitial tissue. Actaanatomica 52: 34-48.
- **Luanda Pym,MarkKemp,Valerie Raymond-Delpech,StevenBuckingham,C.A.R Boyd& et David Sattell.** (2005).Subtype-specific actions ofb-amyloid peptides on recombinanthuman neuronal nicotinic acetylcholine receptors (a7, a4b2, a3b4) expressed in Xenopuslaevisocytes, 2005, 146:964-971.
- **Marieb EN.** (2005).Anatomie et physiologie humaine. Pearson. Canada, 2005, 1288P
- **Marieb EN, Katja H.** (2010). Anatomie et physiologie humain 8<sup>ème</sup> édition. Canada. Nouveaux horizons. 1293 : 683-729.

## Références bibliographiques

---

- **Martin C, Riou B et Vallet B.** (2017). Physiologie humaine appliquée, 2ème édition. Éditions

Arnette. NP : 899.

- **Müller, M. J. et H. J. Seitz** (1984). "Thyroid hormone action on intermediary metabolism. Part III. Protein metabolism in hyper-and hypothyroidism." *KlinWochenschr* 62(3): 97-102.

### P

-**Parlemuter, L.** (2003). *Endocrinologie Abrégés*, 5e éditions 2003. Paris: Masson, 122-212

- **Park, S. M. and Chatterjee, V. K. K.** (2005) 'Genetics of congenital hypothyroidism', *Journal of Medical Genetics*, 42(5), pp. 379–389. doi: 10.1136/jmg.2004.024158.

- **Peter Maienfisch, Hanspeter Huerlimann, Alfred Rindlisbacher, Laurenz Gsell, Hansruedi Dettwiler, Joerg Haettenschwiler, Evelyne Sieger and Markus Wälti.** (2001). The discovery of thiamethoxam: a second-generation neonicotinoid, 2001, 57:165-176 .

- **Peter Maienfisch, Max Angst, Franz Brandl, Willi Fischer, Dieter Hofer, Hartmut Kayser, Werner Kobel, Alfred Rindlisbacher, Robert Senn, Adrian Steinemann and Hansjürg Widmer.** (2001). Chemistry and biology of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid, 2001, 57 :906-913.

### R, S

- **Roberts T. et Hutson D.** (1999). « Voies métaboliques des produits agrochimiques. Deuxième partie : Insecticides et fongicides ». société royale de chimie, Cambridge. 1999 : 111-120.

- **Sanchez-Pena LC, Reyes BE, Lopez-Carrillo L, Recio R, Moran-Martinez J, Cebrian ME, Quintanilla-Vega B.** (2004). Organophosphorous pesticide exposure alters sperm chromatin structure in Mexican agricultural workers. *Toxicol Appl Pharmacol*; 196. pp : 108–113

-**Scheyer A.,** (2004). Développement d'une méthode d'analyse par CPG/MS de 27 pesticides identifiés dans les phases gazeuse, particulaire et liquide de l'atmosphère. Application à l'étude des variations spatio-temporelles des concentrations dans l'air et dans les eaux de pluie. Thèse de doctorat de. Université Louis Pasteur de Strasbourg. 16, 31p.

- **Shehatta EM Shalaby, AbdelRazik H Farrag<sup>2</sup> et Gamila SM El-Saed<sup>3</sup>.** (2010). Potentiel toxicologique du thiaméthoxame insecticide sur les rats albinos et ses résidus dans certains organes, 2010, 5, 2 :165-172

- **Sherwood L, Molotchnikoff S.** (2006). Maladies immunitaires. In : Physiologie humaine: A human perspective page 352, 2e édition, De Boeck, Espagne.

- **Silva, J. E.** (1995). "Thyroid hormone control of thermogenesis and energy balance." *Thyroid* 5(6): 481-492.

- **Simon-Delso N, Amaral-Rogers V, Belzunces LP, Bonmatin J-M.** (2015). Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environ Sci Pollut Res* (this issue)

- **Sinha, R. A, et al.** (2018). "Direct effects of thyroid hormones on hepatic lipid metabolism." *Nat Rev Endocrinol* 14(5): 259-269.

- **Stara, A., Pagano, M., Capillo, G., Fabrello, J., Sandoval, M., Albano, M., Zuskova, E., Velisek, J., Matozzo, V., Faggio, C.** (2020a). Acute effects of neonicotinoid insecticides on

## Références bibliographiques

---

*Mytilus galloprovincialis*: A case study with the active compound thiacloprid and the commercial formulation calypso 480 SC. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 203, 110980.

- **Stara, A., Pagano, M., Capillo, G., Fabrello, J., Sandoval, M., Vazzana, I., Zuksova, E., Velisek, J., Matozzo, V., Faggio, C.** (2020b). Assessing the effects of neonicotinoid insecticide on the bivalve mollusc *Mytilus galloprovincialis*. *Sci. Total Environ.* 700, 134914.

### T, U

-**Theo J Visser**, Ph.D. (2016) Absorption cellulaire des hormones thyroïdiennes, National Library of Medicine.

**TianFajun, Chengkui Qiao, Jing Luo, Linlin Guo, Tao Pang, Rongli Pang, Jun Li, Caixa Wang, Ruiping Wang, Hanzhong Xie.** (2020). *Foot Chemistry* Volume 333, 15 December 2020, 127468

- **Ulisse S, Jannini EA, Pepe M, De Matteis S, D'Armiento M.** (1992). Thyroid hormone Stimulates glucose transport and GLUT1 mRNA in rat Sertoli cells. *Mol Cell Endocrinol* 87(1-3): 131-137.

### V, W

- **Viau, Rachel.** (2018). L'influence des insecticides néonicotinoïdes sur la stéroïdogenèse dans deux modèles cellulaires humains en co-culture physiologiquement représentatifs. *Sciences expérimentales de la santé. Université du Québec*, Décembre 2018, 147

- **Viel J.F., Challier B., Pitard A., Pobel D.** (1998). Brain cancer mortality among French farmers: the vineyard pesticide hypothesis. *Archives of environmental health* 53(1), 65-70.

- **Vlaeminck-Guillem V.** (2011). Structure et physiologie thyroïdiennes. EMC, Endocrinologie-Nutrition, 10-002-B-10, Paris.

- **Wémeau, Jean-Louis.** (2010). Les maladies de la thyroïde. Elsevier Masson SAS. Inde, 2010. 190 P.

-**Wémeau. J. -L., Espiard. s, Vlaeminck-Guillem. V, Jaffiol. C.** (2019). Différents degrés de sensibilité aux hormones thyroïdiennes. Elsevier. *Bull Acad Natl Med* (2020) 204, 186—197.

- **Wiesner P, kayser H.** (2000). Characterization of nicotinic acetylcholine receptors from the insects *Aphis craccivora*, *Myzus persicae*, and *Locust migratoria* by radioligand binding assays: relation to thiamethoxam action, 2000, 14, 4:221-3

## **Annexes**

### Annexe 1 : Matériel non biologique

#### La molécule utilisée

La molécule utilisée dans cette étude est une formulation d'un insecticide dont la matière active est le Thiaméthoxame (**Actara Thiamethoxam 25% WG**).

#### Produit utilisé

- Uréthane dilué à 20% (Produit anesthésique).
- Éthanol
- Paraformaldéhyde à 4%
- Xylène
- Hématoxyline
- Éosine
- Paraffine
- Eukitt® (Résine)
- Eau distillée
- Hématine
- Lithium carbonate.

#### Appareils et consommable

- Une balance de laboratoire
- Plaque refroidissant
- Microtome
- Bain marie
- Étuve
- Lames
- Cassettes
- Lamelle
- Coton
- Microscope optique muni d'un appareil photos, connecté à l'ordinateur

#### Matériel de sacrifice et de dissection

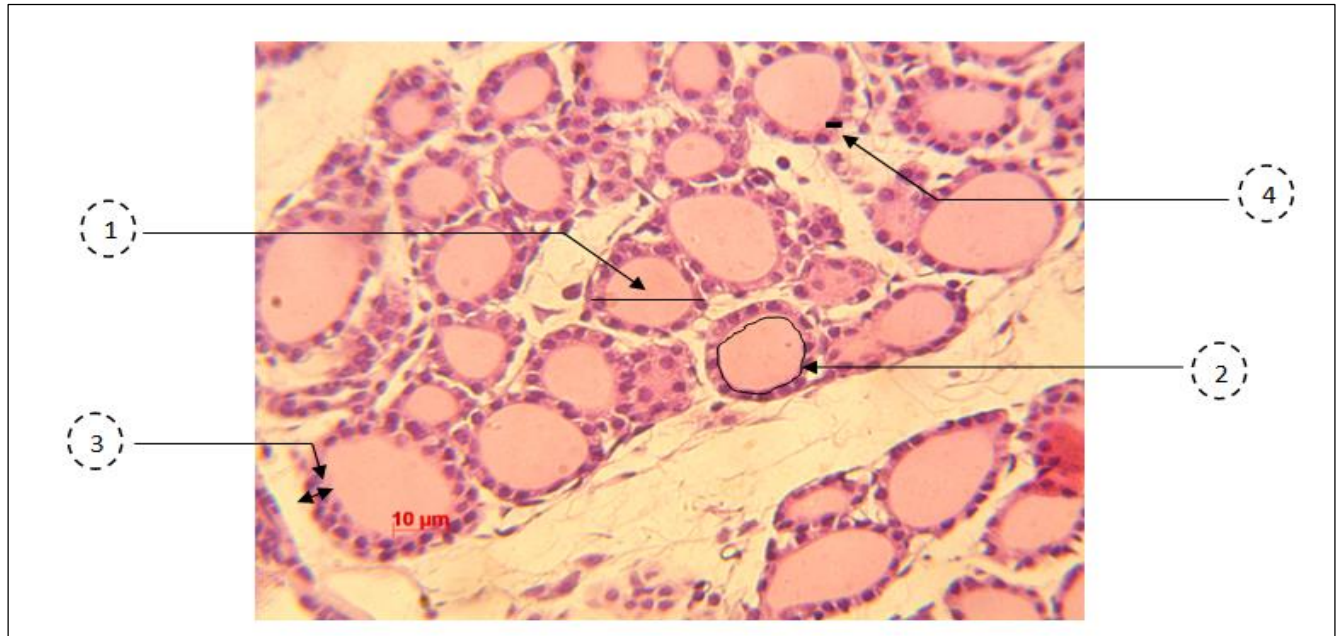
- Planche à dissection.
- Gants /Masque.
- Planche.
- Pince.
- Ciseaux.
- Scalpel.
- Couteau. .
- Aiguille épicroânienne / Cathéters

## Annexes

---

**Annexe 2** ; Paramètre étudié dans la morphométrie :

Afin de confirmer les résultats histologique nous avons fait des mesures histomorphométrique sur les différents paramètres utilisés dans l'étude morpho-métrique, ces derniers sont



**Annexe 2** : les paramètres de la thyroïde mesurés étudiés.

① Diamètre de follicule thyroïdien  
③ Épaisseur de l'épithélium.

② Surface de la lumière Colloïdale,  
④ Diamètre du noyau.

## Annexes

---

**Annexe 3:** Données du diamètre des follicules thyroïdiens ( $\mu\text{m}$ ) des rats adultes traités par le Thiaméthoxame à différentes doses (DJA, NOAEL, NOAEL x2).

<b>Témoin</b>	<b>DJA</b>	<b>NOAEL</b>	<b>NOAEL X2</b>
29,87	20,06	30,31	23,67
29,72	21,61	19,54	13,13
19,84	37,68	34	10,62
17,18	16,96	32,08	38,86
19,1	18,07	31,49	31,42
30,16	23,53	28,32	32,82
13,5	20,87	16,89	33,33
20,28	17,33	17,11	24,41
53,61	71,68	46,17	39,53
38,64	43,73	47,12	31,19
42,99	32,3	38,5	37,83
22,57	43,81	30,09	30,6

**Annexe 4:** Données du diamètre des follicules thyroïdiens ( $\mu\text{m}$ ) des rats des descendants âgés de 20 jours qui sont issus des parents traités par le Thiaméthoxame : DJA, NOAEL, NOAEL x2

<b>Témoin</b>	<b>DJA</b>	<b>NOAEL</b>	<b>NOAEL X2</b>
22,57	30,77	28,76	33,85
19,91	17,11	24,71	12,09
18,29	19,86	13,05	12,19
22,64	19,25	23,67	29,13
23,97	16,45	9,29	14,94
36,73	20,87	17,85	13,21
25,88	19,62	27,29	22,16
19,62	28,17	29,06	18,46
38,72	22,21	37,61	19,91
26,03	14,16	31,19	26,12
22,12	16,23	15,34	23,45
15,12	22,57	37,24	22,57

## Annexes

---

**Annexe 5 :** Données du diamètre des follicules thyroïdiens ( $\mu\text{m}$ ) des rats des descendants âgés de 60 jours qui sont issus des parents traités par le Thiaméthoxame : DJA, NOAEL, NOAEL x2

<b>Témoins</b>	<b>DJA</b>	<b>NOAEL</b>	<b>NOAEL X2</b>
26,77	13,27	21,61	20,35
18,36	28,1	37,32	30,83
28,47	16,92	17,36	36,28
15,86	22,65	17,85	37,83
32,15	20,65	15,65	38,42
21,53	21,07	23,34	34,73
29,3	14,16	41,54	36,87
26,92	24,61	17,99	20,96
20,87	25,66	21,46	12,24
18,58	18,66	27,65	37,83
16,81	29,13	17,04	26,47
11,14	21,68	13,13	32,31

**Annexe 6 :** Données du diamètre des follicules thyroïdiens ( $\mu\text{m}$ ) des rats des descendants âgés de 90 jours qui sont issus des parents traités par le Thiaméthoxame : DJA, NOAEL, NOAEL x2

<b>Témoins</b>	<b>DJA</b>	<b>NOAEL</b>	<b>NOAEL X2</b>
26,02	29,5	11,93	42,11
12,35	25,03	21,35	42,77
91,14	17,48	11,63	47,2
11,06	9,54	44,4	27,88
30,88	13,42	18,15	18,07
33,48	29,06	17	27,65
37,46	17,9	18,81	14,45
15,12	38,91	24,12	12,24
31,81	17,57	12,17	38,62
23,21	34,78	16,45	31,13
28,39	46,32	38,51	46,98
11,36	11,06	38,48	35,33

## Annexes

---

**Annexe 7:** Données de la surface de la lumière des follicules thyroïdiens ( $\mu\text{m}^2$ ) des adultes traités par le Thiaméthoxame : DJA, NOAEL, NOAEL x2.

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL X2
748,2	115,91	519,44	492,27
252,62	110,25	195,55	87,15
94,75	685,78	558,83	30,16
63,11	82,61	424,1	991,15
116,85	244,93	494,95	636,31
110,14	481,3	448,01	171,25
35,92	109,53	143,81	492,18
267,14	59,22	118,74	159,44
1849,04	2939,01	846	739,46
852,51	1751	1034,37	326,2
1040,49	603,75	464,94	605,73
191,49	1807,94	201,87	291,99

**Annexe 8 :** Données de la surface colloïdale des follicules thyroïdiens ( $\mu\text{m}^2$ ) des rats descendants âgés de 20j issus des parent traités témoins et traités par le Thiaméthoxame : DJA, NOAEL, NOAEL x2.

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL X2
195,32	645,13	604,97	522,42
144,61	108	458,23	49,87
64,79	279,85	193,83	82
200,79	270,96	384,98	357,55
265,24	121,78	23,19	143,01
1026,18	208,8	129,32	111,6
492,75	222,63	288,34	241,45
157,14	403,69	707,19	197,05
1002,1	333,97	1143,38	295,64
314,19	81,61	564,8	403,22
245,7	71,56	127,29	278,39
118,89	232,44	959,44	362,44

## Annexes

---

**Annexe 9:** Données de la surface colloïdale des follicules thyroïdiens ( $\mu\text{m}^2$ ) des rats descendants âgés de 60j issus des parents traités par le Thiaméthoxame : DJA, NOAEL, NOAEL x2.

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
96.51	228.67	350.58	734.78
200.58	128.38	88.88	899.34
68.58	302.37	53.27	908.56
489.31	274.21	68.51	943.29
156.32	225.19	347.41	735.83
771.68	76.89	1551.96	991.14
296.77	724.66	83.62	320.73
134.45	336.11	317.05	33.85
188.49	117.73	492.33	985.36
91.35	507.06	127.74	269.19
52.2	190.9	15.8	745.4

**Annexe 10:** Données de la surface de la lumière folliculaire ( $\mu\text{m}^2$ ) des descendants âgés de 90j issus des parents témoins, et traités par le Thiaméthoxame : DJA, NOAEL, NOAEL x2.

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
530,5	406,56	45,55	1052,61
42,96	1279,32	278,67	1405,11
159,49	2133,05	25,82	1220,5
40,21	31,58	963,27	373,48
1158,87	63,4	138,94	109,07
590,01	801,69	122,88	414,72
690,63	110,45	138,07	97,54
104,85	1109,94	168,22	60,37
633,58	478,64	132,69	1026,54
202,25	509,25	255,12	1035,92
828,47	147,81	1824,98	408,9
42,38	22,53	1373,9	933,23

## Annexes

---

**Annexe 11** : Données du diamètre d'épithélium thyroïdien ( $\mu\text{m}$ ) des rats adulte ,les témoins traités par l'eau les lots: DJA, NOAEL, NOAEL x2 traités par le thiméthoxame.

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
6,36	4,36	2,37	2,74
6,36	3,18	2,74	2,15
7,07	4,07	0,89	2,51
3,33	3,18	3,25	2,3
5,84	4,59	2,37	2,51
4,59	4,07	2,37	2,51
4,99	3,62	1,63	3,25
3,85	4,66	2,09	4,39
5,55	3,77	2,74	3,18
3,25	2	4,88	4,14
3,55	2,96	3,77	5,47
4,96	1,99	2,88	3,99

**Annexe 12** : Données du diamètre d'épithélium thyroïdien ( $\mu\text{m}$ ) des rats descendants âgés de 20j issus des rats traités par le Thiaméthoxame : DJA, NOAEL, NOAEL x2.

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
5,1	2,74	2	2,51
3,77	3,4	2,96	2,93
4,44	3,18	2,59	2
3,33	1,92	3,33	2,86
4,51	3,85	2,81	2,29
3,92	3,48	3,48	3,18
4,59	2,29	3,33	2,98
2,29	2,74	3,03	3,85
3,77	3,85	3,18	3,03
2,07	3,85	3,77	3,48
3,85	4,14	3,77	4,22
4,07	2,66	3,11	3,92

## Annexes

---

**Annexe 13** : Données du diamètre d'épithélium thyroïdien ( $\mu\text{m}$ ) des rats descendants âgés de 60j issus des rats traités par le Thiaméthoxame : DJA, NOAEL, NOAEL x2.

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
3,62	3,77	3,97	3,62
3,03	3,03	4,66	3,62
3,92	3,48	3,77	3,4
4,66	3,48	5,62	2,07
2,81	4,66	3,85	3,99
3,62	3,77	3,97	3,62
3,03	3,03	4,66	3,62
3,92	3,48	3,77	3,4
2,96	2,96	5,1	3,62
2,88	3,25	2,74	3,48
3,62	2,81	3,25	5,77
3,85	2,29	3,92	6,21

**Annexe 14**: Données du diamètre d'épithélium thyroïdien ( $\mu\text{m}$ ) des rats descendants âgés de 90j issus des rats traités par le Thiaméthoxame : DJA, NOAEL, NOAEL x2.

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
3,87	2,66	3,25	3,48
3,7	3,7	2,96	4,36
3,03	2,22	3,92	3,62
3,92	3,62	4,22	4,81
3,11	4,39	3,55	2,81
2,07	2,88	4,81	1,78
3,66	4,51	3,4	3,18
3,25	2	3,77	2,74
3,48	2,81	2,44	2,44
3,03	3,25	3,03	2,14
2,96	2,44	3,55	4,22
2,96	3,4	3,85	4,22

## Annexes

---

**Annexe 15:** Données du diamètre des noyaux ( $\mu\text{m}$ ) des rats adulte traités par le Thiaméthoxame :  
DJA, NOAEL, NOAEL x2.

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
2,51	2,37	1,18	1,13
2,3	1,92	1,18	1,05
2,51	2	1,55	1,05
2,29	1,92	1,36	1,41
2,29	2,07	1,36	1,05
1,99	2,14	1,67	1,15
2,2	2,22	1,33	1,11
2,29	2,22	1,18	1,11
1,67	1,26	1,99	1,57
1,63	1,04	1,15	1,48
2	1,26	1,36	1,67
1,85	0,67	1,05	1,55

**Annexe 16 :** Données du diamètre des noyaux ( $\mu\text{m}$ ) des rats descendants âgés de 20j issus des adulte traités par le Thiaméthoxame : DJA, NOAEL, NOAEL x2 .

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
2,09	2,29	2,29	1,48
2,66	1,7	1,92	1,57
2,29	2,22	1,55	1,67
2,51	1,41	1,48	1,85
2,44	2,37	1,41	1,78
2,96	1,92	1,67	2,29
2,14	1,48	2,51	1,85
1,92	1,7	2,07	1,88
1,78	2,22	1,78	2
2,51	2,09	1,63	2,14
1,63	2,2	2,14	2,07
2,81	2,14	1,78	1,85

## Annexes

---

**Annexe 17** : Données du diamètre des noyaux ( $\mu\text{m}$ ) des rats descendants âgés de 60j issus des adultes traités par le Thiaméthoxame : DJA, NOAEL, NOAEL x2.

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
2,44	1,63	1,88	1,78
2,51	1,99	2,44	2,07
2,47	2	1,85	1,7
2,44	2	2,41	1,48
1,26	2,07	1,85	1,63
2,22	1,67	2,14	2,37
1,92	1,7	2,41	1,46
2,44	1,7	1,92	2,22
1,85	1,78	1,92	2,37
2,09	2	2,07	2,81
1,83	2,29	2,14	1,92
2,44	1,7	2	2,22

**Annexe 18** : Données du diamètre des noyaux ( $\mu\text{m}$ ) des rats descendants âgés de 90j issus des adultes traités par le Thiaméthoxame : DJA, NOAEL, NOAEL x2.

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
1,78	2	2,14	1,92
1,7	1,85	1,85	2,07
2	1,41	2,51	1,92
1,92	1,26	2,09	1,67
2,07	2	2,14	1,67
1,85	1,57	2,51	1,26
1,92	2,51	2,2	2,59
1,99	1,92	2,29	1,26
2,44	1,99	1,85	1,85
2,29	2,44	2	1,33
1,7	1,67	2	2
1,92	1,67	1,78	2,07

## Résumé

Au cours des dernières décennies, l'utilisation irrationnelle des pesticides est devenue un problème de santé touchant tous les mammifères. La thyroïde est la glande endocrine la plus vulnérable aux modifications de son environnement. La fonction thyroïdienne peut être affectée par des facteurs naturels ou chimiques. Dans ce contexte, le présent travail vise à étudier l'effet d'un insecticide systémique, le thiaméthoxame (TMX), sur l'axe thyroïdien en corrélation avec l'axe de la reproduction. De ce fait, des rats mâles de souche Wistar ont été traités pendant 10 semaines avec trois doses croissantes de TMX (les doses sont DJA=0,026 mg/k, NOAEL = 0,06 mg/k et NOAEL x2=5,6 mg/kg de poids corporel). Les résultats montrent que l'exposition des rats au TMX a provoqué des altérations histologiques non négligeables, plus particulièrement au niveau des noyaux que dans l'épithélium, follicule et la colloïde. Les changements des diamètres sont confirmés par des examens morphométriques.

L'exposition au TMX a causé des dommages morphologiques à la glande thyroïde, ces modifications structurels suggèrent une réduction du taux d'hormones thyroïdiens, ce qui influence la fonction de l'appareil reproducteur mâle.

**Mot – clés :** insecticide, Thiaméthoxame, thyroïde

## Abstrat

In recent decades, the irrational use of pesticides has become a health problem affecting all mammals. The thyroid is the most vulnerable endocrine gland to changes in its environment. Thyroid function can be affected by natural or chemical factors. In this context, the present work aims to study the effect of a systemic insecticide, thiamethoxam (TMX), on the thyroid axis in correlation with the axis of the reproduction. Therefore, male rats of the Wistar strain were treated for 10 weeks with three increasing doses of TMX (the doses are ADI=0.026 mg/k, NOAEL=0.06 mg/k and NOAEL x2=5.6 mg/ kg of body weight). The results show that exposure of rats to TMX caused significant histological alterations, more particularly in the nuclei than in the epithelium, follicle and colloid. Changes in diameters are confirmed by morphometric examinations.

Exposure to TMX caused morphological damage to the thyroid gland, these structural changes suggest a reduction in thyroid hormone levels which influencing male reproductive tract function.

**Keywords:** insecticide, Thiamethoxam, thyroid