

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biologie

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

En vue d'obtention du diplôme de **Master en Sciences Biologiques**

Option : **Biologie et Physiologie de la Reproduction**

Thème

**Effets du Thiaméthoxame sur la distribution des dystrophines dans la thyroïde de rats adultes males et leur descendance de la première génération
Etude immuno-histochimique**

Présenté par :

- M^{elle} KACED Louiza

et

- M^{elle} KHERROUBI Chaima

Devant le jury d'examen composé de :

M^{me} CHERFAOUI Dj

MC / FSBSA-UMMTO

Présidente

M^{me} BENABDESSELAM R

Pr / FSBSA-UMMTO

Promotrice

M^{me} TOUNSI F

Doctorante / FSB-USTHB

Co-promotrice

M^{me} GUENDOUI S

MA / FSBSA-UMMTO

Examinatrice

Année Universitaire : 2023-2024

Remerciements

Nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer, et de terminer ce mémoire.

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de madame **BENABDSSELAM.R**, Professeure à l'Université de Tizi-Ouzou. Nous la remercions pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, ses conseils et sa disponibilité durant la préparation de ce mémoire.*

*Nos remerciements s'adressent également à notre Co-promotrice, Mme **TOUNSI.F**. Son aide pratique, son soutien moral et ses encouragements, nous étaient déterminants.*

*Notre gratitude va aussi à Mme **Cherfaoui Dj** et Mme **Guendouzi S** pour avoir bien voulu examiner et juger ce travail.*

Nous remercions l'Ingénieur du Laboratoire de Physiologie Animale pour avoir mis à notre disposition les moyens nécessaires pour la réalisation de l'immuno-histochimie et la prise de photos.

Notre reconnaissance va naturellement à tous nos enseignants (es) pour avoir pris le temps de nous guider et nous accompagner tout au long de notre cycle de formation.

Enfin, merci à toutes les personnes qui ont contribué de prêt ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Merci 

Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverai jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A mes chers parents qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études. Sans eux, je n'aurais certainement pas fait d'études longues. Ce projet de fin d'études représente donc l'aboutissement du soutien et des encouragements qu'ils m'ont prodigués tout au long de ma scolarité.

A mes chères sœurs et mon cher fiancé qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

A toute ma famille et mes amis que j'ai connu jusqu'à maintenant. Merci pour leur amour et leurs encouragements.

Sans oublier ma camarade Louïza, pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

Chaima 

Dédicaces

À la mémoire de mon père

Ce travail est dédié à mon père, décédé trop tôt, mais dont le soutien indéfectible et l'encouragement constant ont toujours guidé mon parcours académique. J'exprime ici ma profonde gratitude envers lui, en espérant que, de là où il se trouve, il puisse être fier de ce chemin accompli. Puisse Dieu, avec sa miséricorde infinie, l'accueillir en son vaste paradis.

À ma chère mère

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que tu as consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu me témoignes depuis mon enfance et les efforts que tu as consenti pour mon instruction et mon bien être

Que ce modeste travail soit l'exaucement de tes vœux tant formulés, le fruit de tes innombrables sacrifices. Puisse Dieu, le tout puissant, t'accorder santé, bonheur et longue vie.

À mes frères et sœurs

A mes frères et sœurs, en particulier à mon frère Amar, qui a toujours été à mes côtés. Ton soutien inconditionnel et ton aide précieuse, ont été essentiels pour moi. A Yanis, Katia, Lyna, votre présence et votre amour, m'ont apporté tant de bonheur. Votre soutien a été une source de force et de motivation constante pour moi. Je vous remercie de tout cœur et vous aime profondément.

À mon cher mari

Je dédie ce travail à toi, mon cher mari. Tes encouragements et ton soutien ont été essentiels tout au long de la réalisation de ce projet

À ma camarade

Je te remercie profondément pour ton soutien moral, ta compréhension et ta précieuse collaboration.

Louiza 

Liste des figures

FIGURE 1 : REPARTITION DU MARCHÉ MONDIAL DES INSECTICIDES EN 2008.	8
FIGURE 2 : STRUCTURE CHIMIQUE DU THIAMITHOXAME. (ATTIA ET BEGHOURA, 2020).....	12
FIGURE 3 : ANATOMIE DE LA GLANDE THYROÏDIENNE. (TRAMALLONI ET MONPEYSSEN, 2006)	13
FIGURE 4 : HISTOLOGIE DE LA GLANDE THYROÏDE. (VLAEMINCK, 2003).....	14
FIGURE 5 : STRUCTURE SCHEMATIQUE D'UN FOLLICULE THYROÏDIEN. (GRAEPPi ET DULAC, 2015)	15
FIGURE 6 : STRUCTURE DES HORMONES THYROÏDIENNES ET LEURS PRECURSEURS. (PEREZ-MARTIN, 2007).....	16
FIGURE 7 : LES ETAPES DE LA SYNTHÈSE HORMONALE THYROÏDIENNE. (PEREZ-MARTIN, 2007)...	17
FIGURE 8 : TRANSPORT DES HORMONES THYROÏDIENNES. (BEKHTI-SARI, 2017).....	18
FIGURE 9 : TRANSFORMATION DE T4 EN T3. (KRESS, 2007).....	19
FIGURE 10 : L'AXE THYREOTROPE (GABORIT, 2014).....	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.
FIGURE 11 : LA DYSTROPHINE PARMi LE COMPLEXE DGC AU NIVEAU DE LA MEMBRANE CELLULAIRE (AFM-TELETHON, 2021).....	22
FIGURE 12 : SCHEMA DES DOMAINES STRUCTURAUX DE LA DYSTROPHINE (NICOLAS, 2012).....	23
FIGURE 13 : LOCALISATION DU GENE <i>DMD</i> SUR LE BRAS COURT DU CHROMOSOME X (NICOLAS, 2012).....	23
FIGURE 14 : ORGANISATION DES DIFFERENTS PRODUITS DU GENE <i>DMD</i> . (MCGREEVY ET AL., 2015)	24
FIGURE 15 : REPRESENTATION DU COMPLEXE ASSOCIE A LA DYSTROPHINE.....	28
FIGURE 16 : APPAREIL D'INCLUSION (A) ; SOLIDIFICATION DES ECHANTILLONS SUR UNE PLAQUE REFROIDISSANTE (B). (IMAGES 2024)	33
FIGURE 17 : MICROTOME A), BAIN MARIE (B).	34
FIGURE 18 : BATTERIE DE LA REHYDRATATION.	34
FIGURE 19 : SOLUTIONS PEROXYDASE BLOCK ET PROTEIN BLOCK (IMAGE, 2014).	34
FIGURE 20 : MONTAGE DES COUPES ENTRE LAME ET LAMELLE A L'AIDE DE L'EUKIT.....	36
FIGURE 21 : MICROSCOPE PHOTONIQUE EQUIPE D'UN APPAREIL PHOTO CONNECTE A UN ORDINATEUR.....	36

Figure 22: Distribution des dystrophines sur des coupes histologiques de la thyroïde des rats parents adulte et les rats de la 1ere génération de 90j traités au thiamitoxame à dose journalière admissible (DJA), Noael (N) et Noael x 2 (Nx2). Grossissement : x 200 ; ft : follicules thyroïdien, c: colloïde, vs : vaisseaux, c.b : coté basale, c.ap : coté apicale 38

Figure 23 : Distribution des dystrophines sur des coupes histologiques de la thyroïde des rats âgés de 20, 60, 90 jours issus des parents non traités (T) et traités au thiamitoxame à dose journalière admissible (DJA), Noael (N) et Noael x 2 (Nx2) ; Grossissement : x 200 ft : follicules thyroïdien, c: colloïde, vs : vaisseaux, c.b : coté basale, c.ap : coté apicale 40

Liste des tableaux

Tableau 1: Les familles des pesticides et leurs cibles. (Bartles. 1988)	7
TABLEAU 2: CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DU THIAMITHOXAME. (MAIENFISH ET AL., 1999).....	12
TABLEAU 3 : POSITION TAXONOMIQUE DE RATS WISTAR	31
TABLEAU 4: TRAITEMENT ET REPARTITION DES RATS PAR LOTS	33
Tableau 5 : Teneur approximative d'expression des dystrophines dans les structures histologiques du la glande thyroïde des rats Adulte (Parents) et rats adultes (issus de la première génération : 90Jours) après un traitement au thiaméthoxame.....	39
Tableau 6 : Teneur approximative d'expression des dystrophines dans les structures histologiques du la glande thyroïde des rats de la première génération (20, 60, 90Jours) issus de parents traités à différentes doses de thiamethoxame	41

Liste des abréviations

OMS : Organisation mondiale de la santé

PE : Perturbateurs endocriniens

USEPA : Agence de la protection de l'environnement des Etats-Unis

FAO : Food and Agriculture Organization

NN : Néonicotinoïdes

IMI : Imidaclopride

THC : Thiaclopride

ACT : Acétamipride

NIT : Nitenpyrame

CLO : Clothianidine

TMX : Thiamétoxame

T3 : Triiodothyronine

T4 : Thyroxine

TG : Thyroglobuline

CT : Calcitonine

TCT : Thyrocalcitonine

TPO : Thyroperoxydase

MIT : Mono-Iodo-Tyrosine

DIT : Di-Iodotyrosine

HT : Hormones Thyroïdiennes

TRH : Thyrotropine Releasing Hormone

TSH : Thyroid Stimulating Hormone

DP : Dystrophine

DMD : Dystrophie musculaire de Duchenne

DGC : Complexe de protéines associées

SG : Sarcoglycanes

DB : Dystrobrevines

DG : Dystroglycanes

SYN : Syntrophines

IHC : Etude immuno-histochimique

PAF : Paraformaldéhyde

Sommaire

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Chapitre I : Rappels bibliographiques

1. Rappels bibliographiques sur les perturbateurs endocriniens, pesticides et thiaméthoxame.....	3
1.1. Les perturbateurs endocriniens	3
1.1.1. Généralités sur les perturbateurs endocriniens	3
1.1.2. Caractéristiques des perturbateurs endocriniens.....	3
1.1.3. Voies d'exposition aux perturbateurs endocriniens.....	4
1.1.4. Mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens.....	4
1.1.4.1. Effet agoniste	4
1.1.4.2. Effet antagoniste	4
1.1.4.3. Altérations de l'activité hormonale	4
1.1.5. Effets des perturbateurs endocriniens	5
1.1.5.1. Altérations des fonctions de reproduction	5
1.1.5.2. Effets sur la thyroïde et le système nerveux	5
1.1.5.3. Troubles métaboliques	5
1.2. Pesticides.....	5
1.2.1. Définition	6
1.2.2. Propriétés des pesticides	6
1.2.2.1. Propriétés physico-chimiques	6
1.2.2.2. Propriétés chimiques.....	7
1.2.2.3. Propriétés biologiques	7
1.2.3. Classification des pesticides	7
1.2.3.1. Classification selon leur cible	7
1.2.3.2. Classification selon leur famille chimique.....	8
1.2.4. Utilisations des pesticides	8
1.3. Néonicotinoïdes	9
1.3.1. Classification des principaux néonicotinoïdes.....	10

1.3.2. Formulation des néonicotinoïdes	11
1.3.3. Propriétés physico-chimique des néonicotinoïdes	11
1.3.4. Utilisation des néonicotinoïdes	11
1.4. Thiamithoxame	12
1.4.1. Structure chimique	12
1.4.2. Caractéristiques physico-chimiques.....	13
2. Rappels bibliographiques sur la thyroïde et les dystrophines.....	13
2.1. Aspects anatomo-structuro-fonctionnels de la thyroïde	13
2.1.1. Anatomie	13
2.1.1. Histologie.....	14
2.1.2.1. Cellules folliculaires.....	15
2.1.2.2. Cellules C ou cellules à calcitonine.....	15
2.1.2.3. Le colloïde	15
2.1.3. Hormones thyroïdiennes.....	16
2.1.3.1. Structure des hormones thyroïdiennes.....	16
2.1.3.2. Biosynthèse des hormones thyroïdiennes	17
2.1.3.3. Etapes de la synthèse hormonale	18
2.1.4. Transports des hormones thyroïdiennes	19
2.1.5. Mécanismes d'action des hormones thyroïdiennes.....	19
2.1.6. Régulation des hormones thyroïdiennes.....	20
2.1.6.1. Axe thyroïdienne	21
2.1.6.2. Autorégulation thyroïdienne	21
2.1.6.3. Etat nutritionnel	22
2.1.7. Catabolisme des hormones thyroïdiennes	22
2.2. Dystrophine	22
2.2.1. Le gène DMD	24
2.2.1.1. Caractéristiques du gène	24
2.2.1.2. Les différents produits du gène <i>DMD2</i>	24
2.2.1.2.1. La Dp427	24
2.2.1.2.2. La Dp260	26
2.2.1.2.3. La Dp140	26
2.2.1.2.4. La Dp116	26

2.2.1.2.5. La Dp71	26
2.2.1.2.6. La Dp40	27
2.2.2. Complexe des protéines associées à la dystrophine (DAPC)	27
2.2.2.1. Dystroglycane (DG)	28
2.2.2.2 Sarcoglycane (SG).....	28
2.2.2.3 Sarcospan	28
2.2.2.4. Dystrobrevin (DB)	29
2.2.2.5 Syntrophine (Syn).....	29

Chapitre II : Etude expérimental

1. Matériels et méthodes	30
1.1. Matériel	30
1.1.1. Matériel biologique	30
1.1.2. Matériel non biologique	31
1.1.2.1. Produit testé	31
1.1.2.2. Produit utilisé	31
1.1.2.3. Matériel de laboratoire utilisé	31
1.2. Méthodes	31
1.2.1. Traitement des animaux et prélèvement de tissus	31
1.2.1.1. Préparation des lots des rats	31
1.2.1.2. Perfusion et prélèvement des tissus	32
1.2.2. Préparation des coupes.....	33
1.2.2.1. Déshydratation et clarification.....	33
1.2.2.2. Imprégnation	33
1.2.2.3. Inclusion ou enrobage.....	33
1.2.2.4. Confection des coupes	33
1.2.3. L'étape technique d'immunohistochimie	34
1.2.3.1. Perméabilisation	34
1.2.3.2. Blocage par la peroxydase block et protéines block	34
1.2.3.3. Incubation avec l'anticorps primaire anti-dystrophines.....	34
1.2.3.4. Incubation avec l'anticorps secondaire	34

1.2.3.5. Amplification et révélation du signal.....	34
1.2.3.6. Contre coloration	35
1.2.3.7. Déshydratation des coupes et montage des lames	35
1.2.4. Observation des lames et prise de photos	35

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Résultats	36
1.1. Impact du Thiaméthoxame sur la distribution des dystrophines au niveau de la thyroïde des rats adulte (parents adulte) et des rats de la première génération de 90 jours	36
1.1.1. Comparaison de l'immunomarquages des DPS des rats parents et les rats de la première génération de 90 jours.....	37
1.1.2. L'examen de la distribution des dystrophines au niveau des follicules thyroïdiens.....	37
1.1.3. L'examen de la distribution des dystrophines au niveau des vaisseaux sanguins	38
1.1.4. L'examen de la distribution des dystrophines au niveau des noyaux des cellules folliculaires	38
1.2. Teneur approximative d'expression des dystrophines dans les structure histologiques de la glande thyroïde chez les rats Adulte (rats parents adulte) et les rats de la première génération (90Jours) sous traitement (DJA, NOAEL, NOAELX2)	38
1.3. Impact du thiaméthoxame sur la distribution des dystrophines au niveau des tissus thyroïdiennes au cours de développement des rats de la 1ere génération (20J, 60J, 90J)	39
1.3.1. L'expression et la distribution des dystrophines au niveau de tissu thyroïdienne des rats de 20 jours.....	39
1.3.2. L'expression et la distribution des dystrophines au niveau de tissu thyroïdienne des rats de 60 jours.....	39
1.3.3. L'expression et la distribution des dystrophines au niveau de tissu thyroïdienne des rats de 90 jours.....	39
1.4. Comparaison de l'immunomarquages des DPS de la descendance.....	40
1.4.1. L'examen de la distribution des dystrophines au niveau des follicules thyroïdiens.....	40
1.4.2. L'examen de la distribution des dystrophines au niveau des vaisseaux sanguins	40
1.4.3. L'examen de la distribution des dystrophines au niveau des noyaux des cellules folliculaires	40
2. Discussion.....	42

1.4.Impact de TMX sur la distribution et de l'intensité de l'immunomarquage des DPS sur les rats adulte.....	43
1.5.Impact du thiaméthoxame sur la distribution des dystrophines au cours de développement de la glande thyroïde des rats de la première génération 20J, 60J, 90J	44
Conclusion	45
Références bibliographiques	46
Résumé	

Introduction

L'usage accru des pesticides soulève des préoccupations croissantes quant à leurs potentiels effets néfastes et non intentionnels sur l'environnement, les organismes non ciblés et surtout sur la santé animale, même humaine (**Feki et al., 2021**). Toute fois, selon l'Agence Américaine de la 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.

Des études épidémiologiques ont prouvé l'existence d'une corrélation entre l'utilisation professionnelle des pesticides et certaines maladies chez les populations exposées. Ainsi, des effets cancérigènes, neurotoxiques et de perturbations endocriniennes des pesticides ont été démontrés chez les animaux (**Shehatta et al., 2010**).

Parmi les pesticides, les néonicotinoïdes, réputés pour être des insecticides plus respectueux de l'environnement, sont recommandés pour remplacer des composés plus toxiques et persistants dans la nature, comme les organophosphorés et les carbamates (**Cossi et al., 2020**). Les néonicotinoïdes ont cette caractéristique d'agir sélectivement sur les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine du système nerveux central (SNC) des insectes, provoquant chez ce dernier une paralysie et ensuite la mort. A l'inverse, ces composés ont apparemment peu de toxicité sur le SNC des vertébrés car ils ne traversent pas la barrière hématoencéphalique (**El Okle, 2016 ; Stara et al., 2020**).

Le thiaméthoxame (TMX) est un néonicotinoïde qui se distingue des autres par son efficacité en tant qu'insecticide mais il présenterait des propriétés néfastes sur les systèmes endocriniens (**Syngenta, 2004**). Parmi ces systèmes, la glande thyroïde en produisant des hormones essentielles, telles que la thyroxine (T4) et la triiodothyronine (T3), joue un rôle crucial dans la régulation du métabolisme et le développement. Toute perturbation de cette glande peut entraîner des conséquences graves pour la santé.

L'exploration de l'effet d'une exposition au Thiaméthoxame sur la structure histologique de la glande thyroïde a été faite dans le cadre d'un mémoire réalisé antérieurement (2022-24). Pour vérifier les résultats obtenus par cette étude, nous sommes intéressés à l'impact du TMX sur l'aspect fonctionnels et ce, en examinant la distribution des protéines connues sous le nom de dystrophine au niveau des structures de la thyroïde du rat "**Wistar**", modèle animal couramment utilisé en recherche biomédicale.

En effet, au niveau cellulaire, plusieurs protéines membranaires interviennent dans la fonction cellulaire qui détermine la fonction tissulaire et en définitif de l'organe. Parmi ces protéines, celles qui sont sous-membranaires, comme la dystrophine (Dp). Cette dernière est l'une des plus grandes protéines de l'organisme. Elle joue un rôle crucial dans la structure et la fonction des muscles squelettiques, cardiaque et lisses, où elle assure un lien structurel entre le cytosquelette et le sarcolemme et permet l'intégrité du sarcolemme *via* l'assemblage d'un complexe multi-protéique membranaire et extracellulaire, appelé le complexe dystrophines-glycoprotéines (DGC).

Dans de nombreux autres tissus non musculaire, la Dp a été mise en évidence et semble avoir des rôles dans la régulation de la croissance, la différenciation, ainsi que les cascades de signalisation cellulaires et ce, soit directement en régulant des protéines membranaires, comme les canaux ioniques, soit indirectement par l'intermédiaire d'autres protéines de signalisation, telle que l'oxyde nitrique (NO).

Ainsi, il nous a paru intéressant de chercher l'impact d'une exposition au thiaméthoxame, sur l'expression et la distribution des dystrophines au niveau de la thyroïde des rats adultes et de leur descendance de première génération. Cette étude a été abordée par une analyse immunohistochimique utilisant un anticorps anti-Dp et les résultats obtenus pourraient modestement fournir certaines informations soutenant des changements fonctionnels sous l'effet du TMX et expliquer les risques sur le système endocrinien de l'utilisation des néonicotinoïdes.

Ce manuscrit est structuré en deux chapitres: le premier offre un rappel bibliographique sur les pesticides, notamment les néonicotinoïdes tels que le thiaméthoxame, ainsi qu'une description détaillée de la glande thyroïde et les dystrophines. Le deuxième chapitre est consacré à la partie expérimentale, décrivant le protocole et les techniques employées, suivis de la présentation des résultats et leurs discussions et une conclusion.

Chapitre I :
Rappels bibliographiques

1. Rappels bibliographiques sur les perturbateurs endocriniens, pesticides et thiaméthoxame

1.1. Les perturbateurs endocriniens

D'après l'organisation mondiale de la santé (OMS), les perturbateurs endocriniens (PE) sont des substances chimiques d'origine naturelle ou artificielle, étrangères à l'organisme qui peuvent interférer avec le fonctionnement du système endocrinien et induire ainsi des effets néfastes sur cet organisme ou sur ces descendants.

1.1.1. Généralités sur les perturbateurs endocriniens

En 1997, l'agence de la protection de l'environnement des Etats-Unis (US.EPA) a proposé une définition détaillée d'un PE « un PE est un agent exogène, qui interfère avec la synthèse, la sécrétion, le transport, la liaison, l'action ou l'élimination des hormones naturelles d'un organisme, qui sont responsables de l'homéostasie, de la reproduction, du développement et ou du comportement » (**Auriol et al.,2007**).

Les PE sont des agents exogènes ou xénos-biotiques capables d'altérer la sécrétion et les fonctions des hormones, comme les œstrogènes, des androgènes, des hormones thyroïdiennes, hypophysaires et autres. Leur impact dépend de la nature du PE, sa concentration, ainsi que de la durée d'exposition de la glande ou organisme (**Sultan et al., 2011**).

1.1.2. Caractéristiques des perturbateurs endocriniens

- **La spécificité d'action** : Un PE a un effet « cellule-spécifique » ou « tissu-spécifique ». Il ne va pas affecter toutes les cellules ou tous les organes de la même manière. Il affecte seulement celles et ceux qui sont sensibles à certaines hormones ou à une famille d'hormone (**Lannoy, 2017**).

- **L'effet cocktail** : L'effet néfaste des PE est rarement dû à un seul composé. En effet, il peut y avoir des interactions entre différents PE qui agissent par des mécanismes variés (additifs, synergique ou antagonistes). Les effets nocifs sont donc le résultat d'une exposition à de petites quantités d'un mélange de perturbateurs endocriniens (**Ricard, 2011**).

- **La relation dose-effet** : Certains PE peuvent provoquer à de faibles doses des effets plus néfastes qu'à des doses moyennes ou importantes (courbe dose-réponse en « U » ou en « U » inversée, dite non monotone (**Soto, 2011**)).

- **La latence entre exposition et effets** : Il est important de comprendre que l'effet des PE n'est pas forcément immédiat ; en effet, dans certains cas, les symptômes et pathologies ne se manifestent qu'à l'âge adulte et dans d'autres cas ce n'est qu'après une ou plusieurs générations (**Cicolella, 2011**).

1.1.3. Voies d'exposition aux perturbateurs endocriniens

L'homme peut être exposé aux perturbateurs endocriniens par différentes voies, digestive (aliments, boissons et contenants alimentaires), respiratoire (poussière et vapeur), cutanée (cosmétique et eau).

1.1.4. Mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens

Les PE agissent sur les systèmes endocriniens *via* différents mécanismes, pouvant impliquer la voie génomique où les PE se fixent sur des récepteurs nucléaires pour modifier l'activité transcriptionnelle de certains gènes, ou la voie non génomique en agissant directement sur les récepteurs membranaires. Ainsi, les PE peuvent impacter la synthèse, le transport ou le métabolisme des hormones (**Mnif et al., 2007**).

1.1.4.1. Effet agoniste

Un PE à effet agoniste a une similarité d'action avec une hormone naturelle. Il interagit et imite l'action d'une hormone endogène en se fixant sur son récepteur. A titre d'exemple, les xéno-œstrogènes possèdent une affinité pour le récepteur nucléaire des œstrogènes. Leur liaison à ce dernier permet un changement de conformation du récepteur ER, ce qui conduit au recrutement de co-activateurs transcriptionnels nécessaires à l'interaction avec la machinerie de transcription, menant à une réponse cellulaire altérée (**Mnif et al., 2007**).

1.1.4.2. Effet antagoniste

Un PE à effet antagoniste peut se fixer sur le récepteur d'une hormone naturelle mais ne l'active pas. Ainsi, il n'entraîne pas de réponse mais empêche le complexe hormone/récepteur naturel de fonctionner en raison d'une saturation. Dans ce cas, le PE bloque le fonctionnement du récepteur et affecte donc les fonctions cellulaires normales liées à l'hormone endogène. C'est le cas du bisphénol A, un PE à activité anti- androgénique (**Ben Sghaier, 2017**).

1.1.4.3. Altérations de l'activité hormonale

Certains PE perturbent le métabolisme intracellulaire des glandes sécrétrices d'hormones. Ils peuvent perturber ou empêcher la biosynthèse d'une hormone ou sa sécrétion dans la

circulation ou son transport jusqu'à sa cellule cible, ou encore sa régulation et son élimination (Barbier, 2011).

1.1.5. Effets des perturbateurs endocriniens

Les effets des PE peuvent se manifester à différents stades de la vie, y compris à l'âge adulte, et peuvent même affecter les générations suivantes. Des perturbateurs endocriniens ont été associés à des altérations de plusieurs fonctions physiologiques et à des pathologies graves comme les cancers.

1.1.5.1. Altérations des fonctions de reproduction

Les PE sont associés à un risque accru de certains cancers des organes de reproduction, notamment, ceux influencés par les hormones, tels que le sein, la prostate et les ovaires (Chaussinaud, 2015).

1.1.5.2. Effets sur la thyroïde et le système nerveux

Les hormones thyroïdiennes sont fortement impliquées dans la régulation du métabolisme, la croissance et du développement, en particulier du système nerveux central des mammifères. Au cours du développement périnatal du système nerveux central des perturbations peuvent provoquer des troubles de la maturation du cerveau, un retard mental et des anomalies neurologiques permanentes. Les PE peuvent cibler la cascade de la régulation thyroïdienne à différents points (Ait El Cadi et al., 2011): – la synthèse et le catabolisme des hormones thyroïdiennes, – la liaison aux protéines de transport, – l'absorption cellulaire et au niveau des Récepteurs des hormones thyroïdiennes (TH) et l'expression des leurs gènes.

1.1.5.3. Troubles métaboliques

Les PE sont associés à une augmentation du risque de maladies métaboliques, telles que le diabète de type 2 et l'obésité (Chevalier and Fénel, 2016).

1.2. Pesticides

Certains pesticides, notamment ceux utilisés en agriculture sont reconnus comme étant des perturbateurs endocriniens.

1.2.1. Définition

L'étymologie du mot pesticide s'est construite à partir du suffixe « cide » qui signifie « tuer » et de la racine anglaise Pest (animal, insecte ou plante nuisible), provenant du latin Peste qui désigne le fléau en général.

L'organisation mondiale de la santé et de l'agriculture : Food and Agriculture Organization (FAO) définit les pesticides comme toute substance ou association de substances, naturels ou de synthèse, destinée à repousser détruire ou combattre des organismes nuisibles aux végétaux et animaux, y compris les différents vecteurs (arachnides et insectes) de maladies humaines ou animales, (**Mairif, 2015**).

Les pesticides sont largement utilisés pour lutter contre les espèces indésirables de plantes ou d'animaux, causant des dommages ou se montrant autrement nuisibles durant la production, la transformation, le stockage, le transport ou la commercialisation des denrées alimentaires, des produits agricoles, du bois, des produits ligneux et des aliments pour animaux (**El Habib, 2013 ; Mairif, 2015**).

1.2.2. Propriétés des pesticides

Le devenir des pesticides dans l'environnement, c'est-à-dire, leur rétention leur transport et leur dégradation dépend de leurs propriétés ainsi que de celles des différents compartiments où ils sont répartis, comme le sol, l'eau et l'atmosphère. Trois ensembles de propriétés sont à considérer pour les pesticides : les propriétés physico-chimiques, chimiques et biologiques (**Calvet, 2005**).

1.2.2.1. Propriétés physico-chimiques

Leur solubilité dans l'eau joue un rôle crucial dans leur dispersion et leur potentiel de contamination des ressources hydrique. De plus, leur volatilité peut affecter leur capacité à se déplacer dans l'air et à se retrouver dans des zones éloignées de leur site d'application initiale. La stabilité à la lumière est également un facteur important, car certains pesticides peuvent se dégrader rapidement sous l'effet de l'exposition aux rayons solaires, tandis que d'autres peuvent persister plus longtemps dans l'environnement et le degré de toxicité des pesticides est étroitement lié à leur composition chimique et à leur structure moléculaire, ce qui influence leur impact sur les organismes non ciblés et sur les écosystèmes dans leur ensemble (**Calvet, 2005**).

1.2.2.2. Propriétés chimiques

Les pesticides peuvent participer à des réactions chimiques qui modifient leur composition et conduisent à leur transformation en composés inorganiques lors de leur minéralisation (**Calvet, 2005**). Ces réactions sont possibles parce que les molécules contiennent

des groupes fonctionnels pouvant subir des transformations chimiques sous l'action du rayonnement ultraviolet (Calvet, 2005).

1.2.2.3. Propriétés biologiques

Elles concernent les effets des pesticides sur les organismes vivants. Ils sont liés à leurs modes d'action très variés, habituellement des propriétés éco-toxicologiques vis-à-vis des organismes vivants, animaux et végétaux (Calvet, 2005).

1.2.3. Classification des pesticides

Les pesticides peuvent être classés en fonction de leur cible ou de leur groupe chimique (Gasmi, 2018).

1.2.3.1. Classification selon leur cible

Cette classification repose sur le type de parasites à contrôler. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS, 1991), les pesticides sont classés en groupes comme suit :

- **Les fongicides** : désignent les produits s'attaquant aux seuls champignons parasites des cultures à l'exclusion des parasites des animaux et l'homme (Boukrou et al., 2018).
- **Les insecticides** : destinés à détruire ou à repousser les insectes, les tiques et les mites (Boukrou et al., 2018).
- **Les herbicides** : détruisent les végétaux herbacés ou ligneux, ou limitent leur croissance, comme les anti-germinatifs et les défanants (Boukrou et al., 2018). En plus des trois grandes familles de pesticides, mentionnées ci-dessus, différentes autres familles existent (Tableau 01)(Bartles, 1988).

Tableau 1: Les familles des pesticides et leurs cibles. (Bartles. 1988)

Famille	Cibles
Molluscides	Produits destinés à éliminer les escargots et les limaces
Nématicides	Produits destinés à lutter contre les nématodes
Acaricides	Contre les acariens
Taupicides	Contre les taupes
Paraciticides	Contre les parasites
Bactéricides	Contre les bactéries
Virucides	Contre les virus

1.2.3.2. Classification selon leur famille chimique

Trois classes se distinguent

- **Pesticides organiques** existent actuellement sous 80 familles ou classes chimiques dont les plus connues sont : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthrinoloïdes, les triazines, les imidazoles et d'autres groupes (Tomlin, 2006 ; Bazzi, 2010).
- **Pesticide inorganiques** sont peu nombreux mais certains sont utilisés en très grande quantité comme le soufre ou le cuivre ; ils sont très anciens dans l'emploi est apparu bien avant la chimie organique de synthèse (Fillatre, 2011).
- **Pesticide organométalliques** sont des fongicides dont la molécule est constituée par un complexe fait d'un métal comme le zinc ou le manganèse et d'un anion organique dithiocarbamate (Fillatre, 2011).

1.2.4. Utilisations des pesticides

- **En agriculture** : L'intensification et le maintien d'une production agricole conséquente, nécessite l'usage de produits phytosanitaires destinés à protéger les cultures contre des agents extérieurs non désirables. D'où, l'utilisation des pesticides pour lutter contre les insectes, les champignons et les herbes estimés nuisibles à la production et à la conservation de culture et produit agricoles ainsi que pour le traitement des locaux (Buckley et al., 2011).
- **En domestique** : Les pesticides sont souvent utilisés pour la protection du bois contre les champignons ou les termites ; comme insecticides ménagers (anti-mouches et anti-moustiques) ou encore, comme produits antiparasitaires (anti-acariens, antipuces ...etc.) (Truchon et al., 2012).
- **En médecine** : Le but principal de l'utilisation des pesticides dans le domaine de la médecine est l'amélioration de la santé publique, en particulier en luttant contre les insectes, vecteurs de pathologies, comme le paludisme, le typhus et autres épidémies (Benziane, 2012).
- **En industrie** : Les pesticides sont utilisés en vue de la conservation de produits en cours de fabrication (textiles, papiers), vis-à-vis des moisissures dans les circuits de refroidissement, vis-à-vis des algues et pour la désinfection des locaux (Ayad, 2012).

1.3. Néonicotinoïdes

Le marché des insecticides représente environ 10.5 milliards de dollars. Il est dominé par les néonicotinoïdes à hauteur de 23.1% de part de marché suivi par les pyréthrinoides à 15.1%, les organophosphorés à 13,3 et les carbamates à 10.6% (**Figure 01**).

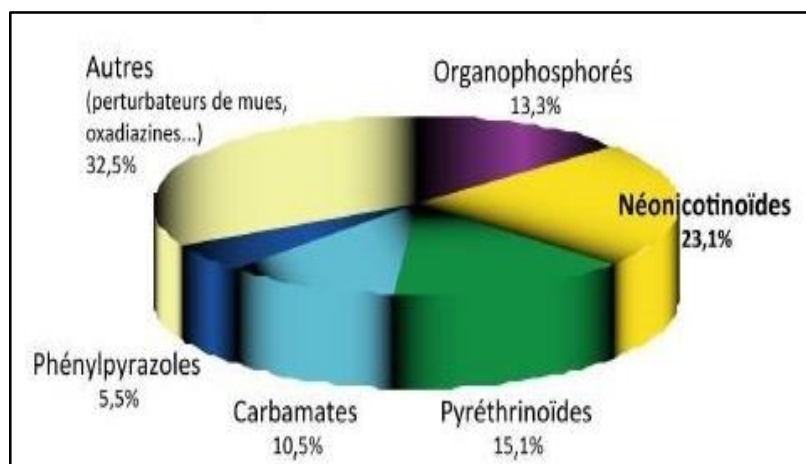


Figure 1 : Répartition du marché mondial des insecticides en 2008.
(Jesche *et al.*, 2011)

Les néonicotinoïdes (NN) sont une classe d'insecticides agissant sur le système nerveux central des insectes. Ces substances mises sur le marché pour la première fois en 1991 ont fait l'objet de la plus forte croissance d'usage parmi les cinq grandes classes d'insecticides (**David et al., 2007**). Les néonicotinoïdes sont utilisés principalement en agriculture pour la protection des plantes (produits phytosanitaires) et par les particuliers ou les entreprises pour lutter contre les insectes nuisibles à la santé humaine et animale. Les néonicotinoïdes constituent une classe d'insecticides à la croissance la plus rapide en raison de leur toxicité putative modérée pour les mammifères et de leur avantage dans la lutte contre les insectes résistants à d'autres classes de pesticides (**Hataba et al., 2014**).

1.3.1. Classification des principaux néonicotinoïdes

Six à sept substances néonicotinoïdes sont (ou ont été) exploitées depuis leur introduction sur le marché dans les années 90 : le clothianidine, le dinotéfurane, l'imidaclopride, le nitenpyrame, le thiaclopride, le thiaméthoxame et l'acétamipiride. Au niveau mondial, les ventes de substances néonicotinoïdes représentent un quart des ventes totales d'insecticides (**Gasmi, 2018**).

Les néonicotinoïdes peuvent être classés selon leur structure chimique ; cette dernière influence leur activité biologique, leurs propriétés de photostabilité, de métabolisation par les plantes et les insectes et leur toxicité. Ils sont classés en 2 et 3 groupes en fonction du type de pharmacophore qu'ils possèdent.

Il existe quatre néonicotinoïdes de première génération (**Anderson et collab, 2015**). L'imidaclopride (IMI) est un des premiers néonicotinoïdes à avoir été développé. Il a été homologué pour la première fois aux États-Unis en 1992 et a été alors commercialisé pour lutter contre un coléoptère qui attaque les pommes de terre. Le thiaclopride (THC) a été essentiellement développé pour lutter contre les pucerons et les aleurodes. L'acétamipride (ACT) est également utilisé contre les insectes suceurs (ex. : pucerons et aleurodes) qui se développent sur les légumes, fruits et feuillus des cultures de choux, d'agrumes, de coton et de plantes ornementales. Bien qu'il soit utilisé en agriculture, le nitenpyrame (NIT) est principalement prescrit en médecine vétérinaire pour lutter contre les parasites externes du bétail et des animaux de compagnie.

Deux néonicotinoïdes de deuxième génération ont été mis sur le marché au début des années 2000 (**Uneme, 2011**). Il s'agit de la clothianidine (CLO) et du thiaméthoxame (TMX). Ces deux produits sont homologués pour le traitement des semences de maïs et de soya. Ils sont aussi homologués pour usage en pulvérisation sur une grande variété de culture. Pour ce qui est la CLO, il existe différentes formulations utilisées pour les prétraitements des semences ou pour le contrôle des insectes ravageurs des fruits à pépins et à noyau, de la pomme de terre et du gazon. Différentes formulations de TMX sont, notamment, utilisées pour le contrôle du hanneton européen et du hanneton masqué. D'autres néonicotinoïdes sont récemment apparus sur le marché ou sont actuellement en développement. Un néonicotinoïde de quatrième génération du nom de sulfoxaflor, qui provient d'une molécule de la famille des sulfoximines, est récemment apparu sur les marchés chinois et américain (**Jeschke et collab, 2013**).

1.3.2. Formulation des néonicotinoïdes

Les structures chimiques des néonicotinoïdes créés au cours des dernières décennies ont quatre éléments communs : groupe hétérocyclique aromatique, liaisons élastiques, groupes hydrohétérocycliques ou guanidine amidine et groupe attracteur d'électrons (**Yang et al., 2014**). En outre, de nouveaux dérivés de néonicotinoïdes sont continuellement créés en modifiant les

structures des composés mentionnés ci-dessus en introduisant un groupe fonctionnel sulfonamide ou son équivalent cyclique à la place du groupe cyano-ou nitroguanidine / amidine (exemple : sulfoxaflor). Les dérivés de sulfonamide peuvent montrer une activité significative dans le contrôle des insectes et des acariens, mais un changement de substitués peut entraîner de grandes disparités de force (**Yang et al., 2014**).

Les néonicotinoïdes de type nitroguanidine contiennent à l'intérieur de leur structure des groupes N-nitro, qui contiennent des atomes d'oxygène ; par conséquent ces particules sont beaucoup plus polaires et réactives. Ce groupe comprend l'imidaclopride le thiaméthoxame et la clothianidine. En raison de sa structure, le clothianidine peut être comptée parmi les substances les plus toxiques pour les abeilles mellifères (**Pisa et al., 2015**).

1.3.3. Propriétés physico-chimique des néonicotinoïdes

Les insecticides de la famille des néonicotinoïdes sont peu volatiles. Il est donc possible qu'ils ne soient présents à l'état gazeux que pendant une courte période à la suite des pulvérisations. Cependant, ce sont des molécules solubles ou très solubles dans l'eau, et leur solubilité varie selon le PH, la température de l'eau et la forme de l'insecticide au moment de son application. Par ailleurs, ils sont peu ou pas lipophiles, expliquent que ces insecticides ont tendance à être mobiles dans l'environnement (**Carbo et al., 2008**).

1.3.4. Utilisation des néonicotinoïdes

L'utilisation des néonicotinoïdes couvre quatre principaux domaines ; protection des plantes des cultures et des plantes ornementales contre insectes herbivores et acariens, lutte antiparasitaire urbaine en ciblant les organismes nuisibles tels que les cafards, les fourmis, les termites les guêpes, mouches, applications vétérinaires contre les puces, les tiques des animaux de compagnie et d'élevage (bovins...), ainsi que l'application en pisciculture pour lutter contre le charançon du riz (**Barbee et al., 2009 ; Chagnon et al., 2014**).

En agriculture, horticulture, pépinière et sylviculture, les néonicotinoïdes peuvent être appliqués *via* de nombreux moyens, tels que la pulvérisation (foliaire), l'habillage des semences, le blocage des semences, le traitement des sols, mélange avec de l'eau d'irrigation, application granulaire, trempage des plants par chimigation, trempage du sol, injections dans le des arbres, trempage de bulbes de fleurs et application au pinceau sur les tiges des fruits des arbres. Les applications sur les semences et le sol représentent environ 60% des utilisations dans le monde entier (**Jeschke et al., 2011**).

En 2012, les néonicotinoïdes avaient plus de 1000 utilisations autorisées pour les traitements d'une large gamme de cultures et plantes ornementales, y compris la pomme de terre, le riz, la betterave sucrière, les céréales dont le maïs, le colza, le tournesol, les fruits, les légumes, les légumineuses dont soja, les plantes ornementales, graines.... (Simon *et al.*, 2015).

1.4. Thiamithoxame

Le thiamithoxame (TMX) est un insecticide de synthèse organique de la famille des néonicotinoïdes et il possède un fort pouvoir préventif face à la transmission des virus. Les qualités de cet insecticide permettent des méthodes d'application flexibles, une excellente efficacité et une activité résiduelle prolongée (El Hassini *et al.*, 2004).

C'est en 1991 que le TMX a été synthétisé pour la première fois, mais sa commercialisation n'est devenue effective qu'à partir de 1998 sous la marque d'ACTARA 25WG. Le TMX est rapidement absorbé par les plantes et ensuite transporté *via* le xylème à toutes les parties ces dernières où il agit comme un moyen de dissuasion à l'alimentation des insectes (Maiefish, 2001). La substance active interfère avec le récepteur nicotinique de l'acétylcholine (nAChR) du système nerveux de l'insecte (Gibbons *et al.*, 2014) et induit une dépolarisation au niveau de la synapse (Wiesner et Kayser 2000). Une heure après l'absorption de TMX l'insecte arrête de s'alimenter et meurt un jour plus tard (Jeschke et Nauen, 2008).

1.4.1. Structure chimique

Le thiamithoxame a la formule chimique brute de $C_8H_{10}ClN_5O_3S$ (Figure 02) et son synonyme est le (EZ)-3-(2-chloro-1,3-thiazol-5-méthyl)-5-méthyl-1, 3,5-oxadiazinan-4-ylidène-Nitroamine. Il est enregistré sous le numéro CAS (Chemical Abstracts Service) 153719-23-4 (Attia et Beghoura, 2020).

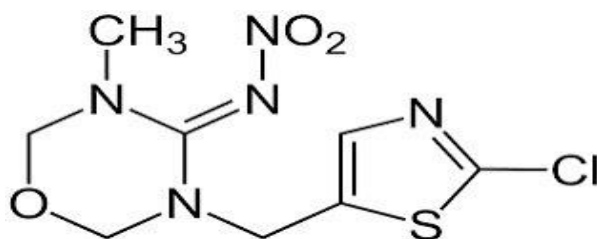


Figure 2 : Structure chimique du thiamithoxame.
(Attia et Beghoura, 2020)

1.4.2. Caractéristiques physico-chimiques

Le thiamithoxame est un composé cristallin, inodore, ayant une température de fusion de 139,1°C (**commission européenne, 2007**). Le composé a une faible masse moléculaire qui est de l'ordre de 291.71 g / mol-1 (**Tableau 02**).

Tableau 2: Caractéristiques physico-chimiques du thiamithoxame. (**Maienfisch et al., 1999**)

Propriétés	Résultat
Etat physique	Poudre cristalline
Couleur	Blanc cassé
Odeur	Inodore
Poids moléculaire	291,1g/mol-1
Point de fusion	139,1 °C
Solubilité dans l'eau a 25C°	4,1 g/L
Ph	6,8

2. Rappels bibliographiques sur la thyroïde et les dystrophines

2.1. Aspects anatomo-structuro-fonctionnels de la thyroïde

2.1.1. Anatomie

La thyroïde est une glande située dans la partie antéro-inférieure du cou, en avant des six premiers anneaux de la trachée, sous le cartilage. Elle est constituée par deux lobes latéraux ovoïdes, réunis par un isthme duquel se détache parfois un lobe intermédiaire ou pyramide de l'alouette (**Figure 03**), ce qui lui donne globalement la forme d'un H ou d'un papillon. C'est une glande de petite taille, de 5 à 6 cm de hauteur et d'environ 2 cm de largeur et d'épaisseur. Son poids moyen est de 30g (**Brouet, 2011**).

2.1.1. Histologie

L'unité fondamentale de la thyroïde est le follicule, qui a une structure sphérique creuse formée d'un épithélium uni stratifié reposant sur une mince lame conjonctive et limitant une lumière contenant une substance visqueuse, la colloïde, sécrétée par les cellules folliculaires, le diamètre moyen des follicules est de 200 μm mais il existe une importante variation de taille en fonction de l'activité fonctionnelle. Schématiquement les follicules en repos sont plus volumineux (200 à 300 μm) (**Figure 4**), leur épithélium est aplati, délimitant un abondant colloïde. Au contraire, les follicules en état d'hyperactivité sont plus petits (30 à 50 μm), à épithélium cylindrocubique centré par une lumière rétractée contenant une colloïde pale (**Berger et al., 2001**).

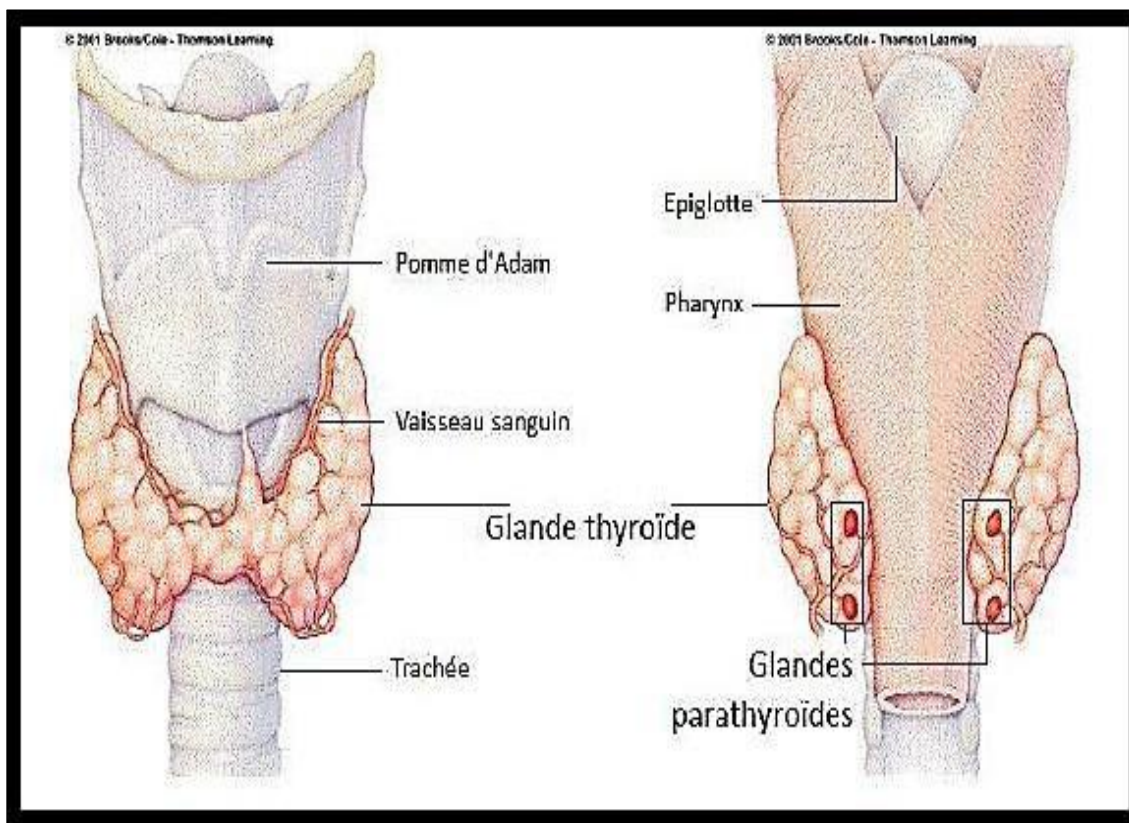


Figure 3: Anatomie de la glande thyroïdienne. (Tramalloni et Monpeyssen, 2006)

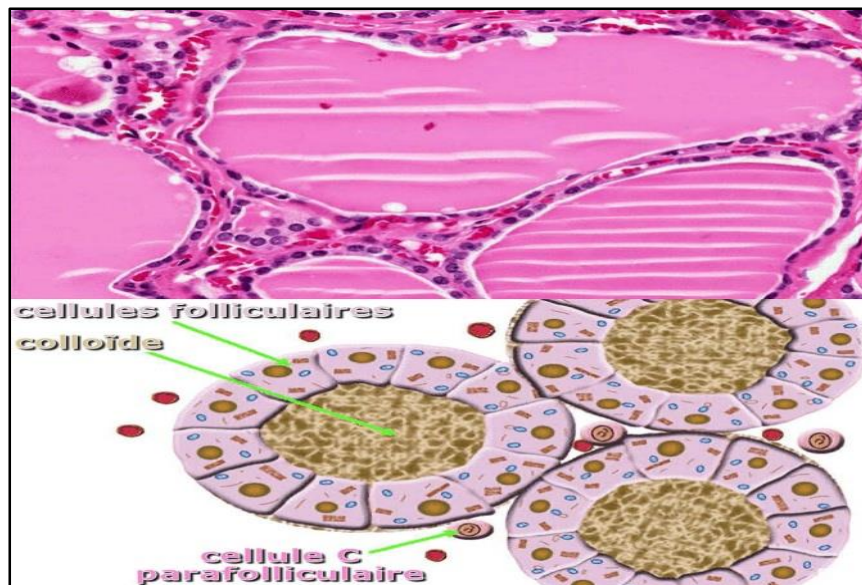


Figure4 : Histologie de la glande thyroïde. (Vlaeminck, 2003)

2.1.2.1. Cellules folliculaires

Les cellules folliculaires, appelées aussi cellules vésiculaires ou thyrocytes, d'origine endodermique, représentent 99,9% du parenchyme thyroïdien total. Ces cellules sont responsables de la production d'hormones thyroïdiennes iodées, tri-iodothyronine (T3) et thyroxine (T4) à partir d'une pro hormone la thyroglobuline (Tg). Ces cellules fonctionnent sur un mode à la fois exocrine (synthèse et sécrétion de la Tg puis son stockage dans la cavité folliculaire) et endocrine (libération d'hormones T3 et T4 dans le sang). La morphologie doublement polarisée de la cellule folliculaire rend compte de cette double fonction (**Figure 05 ; Graeppi et Dulac, 2015**).

2.1.2.2. Cellules Coucellules à calcitonine

Les cellules C, appelées aussi cellules para folliculaires sont des cellules interstitielles, claires. Elles proviennent du corps ultimo-branchial ou elles auraient migré depuis la crête neurale. Elles appartiennent au système neuroendocrinien diffus, elles possèdent des propriétés histochimiques et fonctionnelles, en particulier la sécrétion d'un poly-peptide : la calcitonine (**Figure 04 ; Graeppi et Dulac, 2015**).

2.1.2.3. Le colloïde

Le colloïde est une masse pâteuse, jaune, plus ou moins abondante selon l'activité de la glande thyroïde. Elle est contenue dans la lumière folliculaire et constitue une réserve

d'hormones thyroïdiennes (**Brouet, 2011**).

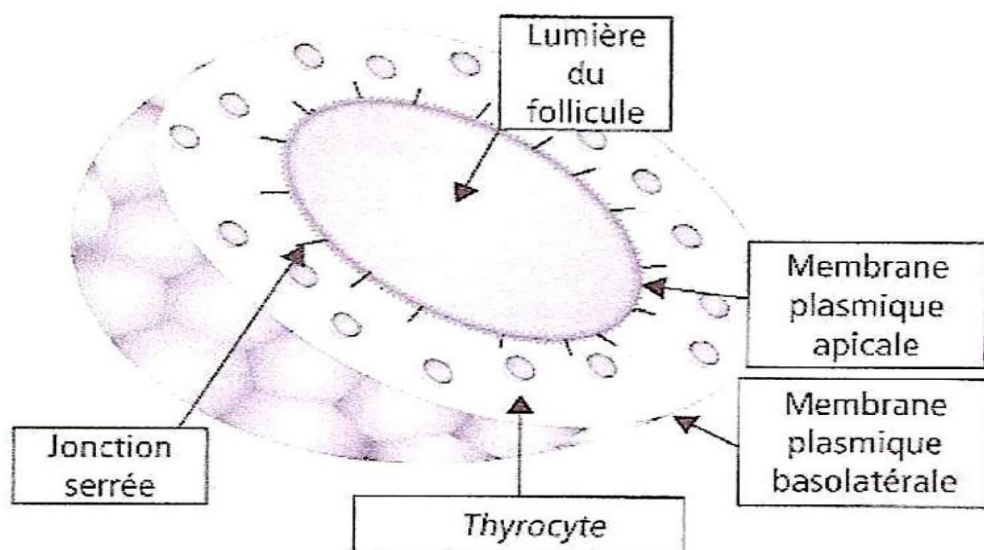


Figure 5 : Structure schématique d'un follicule thyroïdien. (**GraepietDulac,2015**)

2.1.3. Hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes (T3 et T4) sont des polypeptides iodés, qui ciblent l'activité de presque tous les tissus et contrôlent la synthèse des protéines et le métabolisme énergétique. Leur synthèse dépend de façon critique de l'apport exogène en iode. L'existence de mécanismes de synthèse et de stockage, permet à la glande thyroïde de répondre aux besoins métaboliques quotidiens, parfois accrus, et à des insuffisances temporaires d'apport en iode (**Pérez-martin, 2007**). Les hormones thyroïdiennes sont des hormones produites dans la thyroïde à partir d'iode et d'un acide aminé (la tyrosine) (**Gaborit, 2014**).

En outre, la calcitonine (CT) ou thyrocalcitonine (TCT) est un peptide de 32 acides aminés, synthétisé et sécrété par les cellules C parafolliculaires de la thyroïde sous le contrôle du taux de calcium ionisé. Physiologiquement la calcitonine régule le métabolisme phosphocalcique, en inhibant la résorption osseuse et en stimulant l'excrétion urinaire du calcium et des phosphates (**Haget *al.*, 2011**).

2.1.3.1. Structure des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes possèdent une même structure organique. La molécule de base, la thyronine, est formée par deux noyaux aromatiques reliés par un pont éther. Quant aux hormones dites thyroïdiennes, elles se différencient entre elles par le nombre et la place variables des atomes d'iode qu'elles portent (**Figure 06 ; Pérez-martin, 2007**).

2.1.3.2. Biosynthèse des hormones thyroïdiennes

La thyroïde est la seule des glandes endocrines à emmagasiner ses hormones en grande quantité à l'extérieur de ses cellules. Dans une glande thyroïde saine, le volume du colloïde emmagasiné est relativement constant, et il suffit à produire des quantités normales d'hormones pendant deux à trois mois (**Figure 06 ; Mariab, 2010**). Deux éléments sont indispensables à la synthèse des hormones thyroïdiennes:

- **L'iode** : un oligo-élément relativement rare, dont les réserves sont faibles dans l'organisme (10 à 20 mg dans la thyroïde). Les besoins en iode variant selon l'âge (100 à 150 µg / j chez l'adolescent et l'adulte) devraient être couverts par les apports alimentaires (poissons, crustacés, laitages et sels iodés). L'iode peut également être récupéré à partir des mécanismes de désiodation périphérique et intra-thyroïdienne (cycle interne de l'iode) (**Hag et al.,2011**).
- **La thyroglobuline** : une glycoprotéine spécifique de la thyroïde, stockée dans la lumière folliculaire où elle constitue jusqu'à 95% du colloïde. Elle est synthétisée par les thyrocytes et sécrétée dans la lumière folliculaire. Elle est considérée comme une hormone thyroïdienne car c'est l'iodation de ses résidus tyrosyls terminaux qui est à l'origine de la formation des hormones thyroïdiennes proprement dites (**Brouet,2011**).

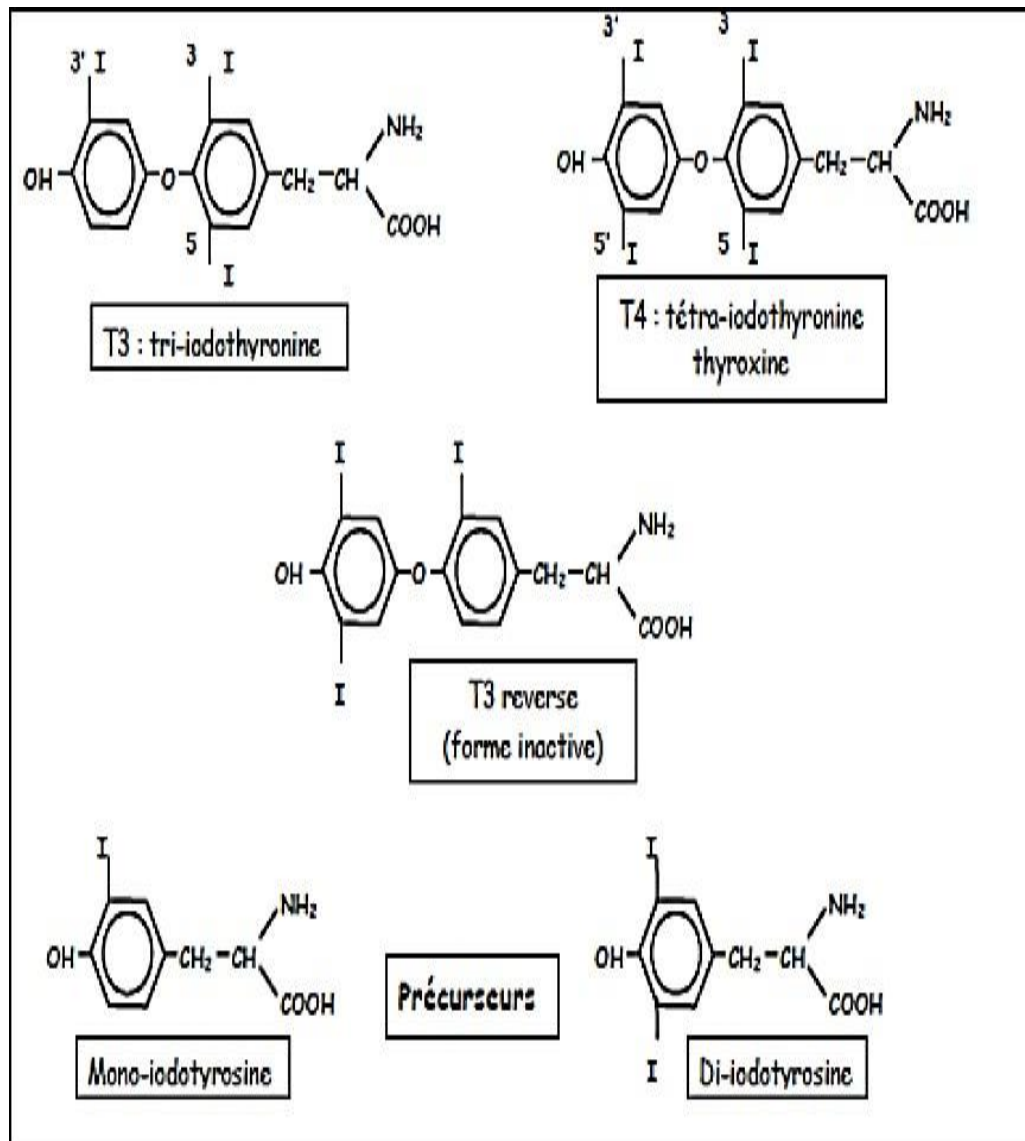


Figure 6 : Structure des hormones thyroïdiennes et leurs précurseurs. (Pérez-martin,2007)

2.1.3.3. Etapes de la synthèse hormonale

Les étapes de la synthèse hormonale thyroïdienne sont quatre principales (Figure 7 ; Pérez-martin, 2007):

- La capture d'iodures circulants à l'aide d'une pompe spécifique, selon un mécanisme actif ATP-dépendant, saturable (étape limitante).
- L'organification (oxydation) de l'iode, nécessitant la présence d'une enzyme spécifique liée à la membrane qui est la thyroperoxydase (TPO), dont l'activité optimale requiert la présence d' H_2O_2 . L'iode ainsi oxydé peut se lier aux résidus tyrosyl de la thyroglobuline (Tg), donnant naissance

aux précurseurs des hormones thyroïdiennes (mono- et di-iodo-tyrosine : MIT et DIT). L'iodation de la Tg se fait au pôle apical dans la substance colloïde, et la thyroperoxydase intervient également dans le couplage des précurseurs.

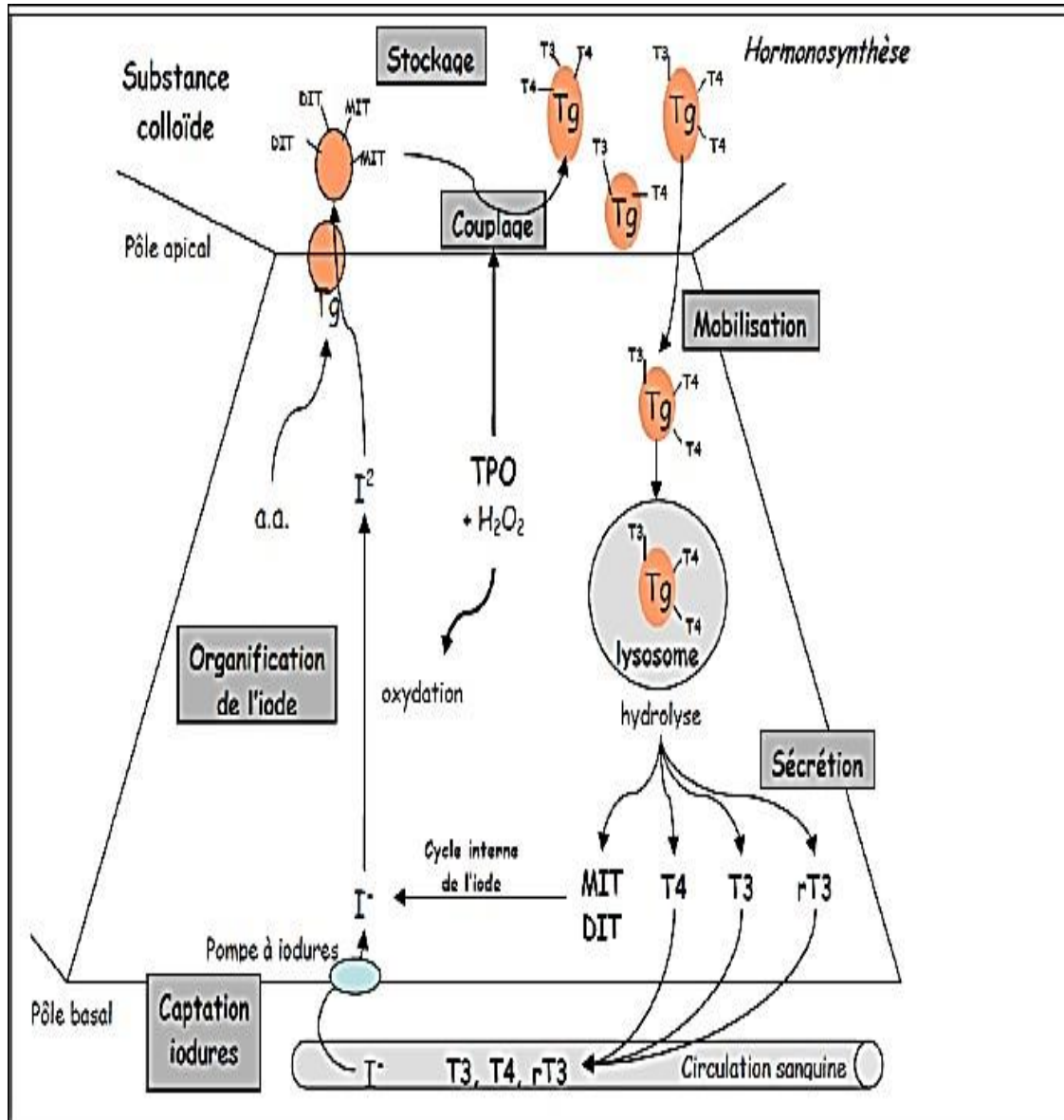


Figure 7 : Les étapes de la synthèse hormonale thyroïdienne. (Pérez-martin, 2007)

- La thyroglobuline porteuse d'hormones thyroïdiennes est alors stockée dans la cavité colloïde (réserves thyroïdiennes en hormones pour environ deux mois, permettant de pallier les variations des apports), la récupération se faisant par pinocytose en fonction des besoins périphériques.
- La sécrétion des hormones thyroïdiennes se fait après l'hydrolyse lysosomiale.

2.1.4. Transports des hormones thyroïdiennes

Une fois dans la circulation sanguine, les hormones thyroïdiennes se lient à des protéines de transport. Chez l'homme, la T4 circulante est à 75% liée à la thyroxin binding globulin (TGB), à 15% à la TTR (transthyrétine) et à 10% à l'albumine. L'expression de chacun des transporteurs est variable selon les tissus cibles (Schussler, 2000).

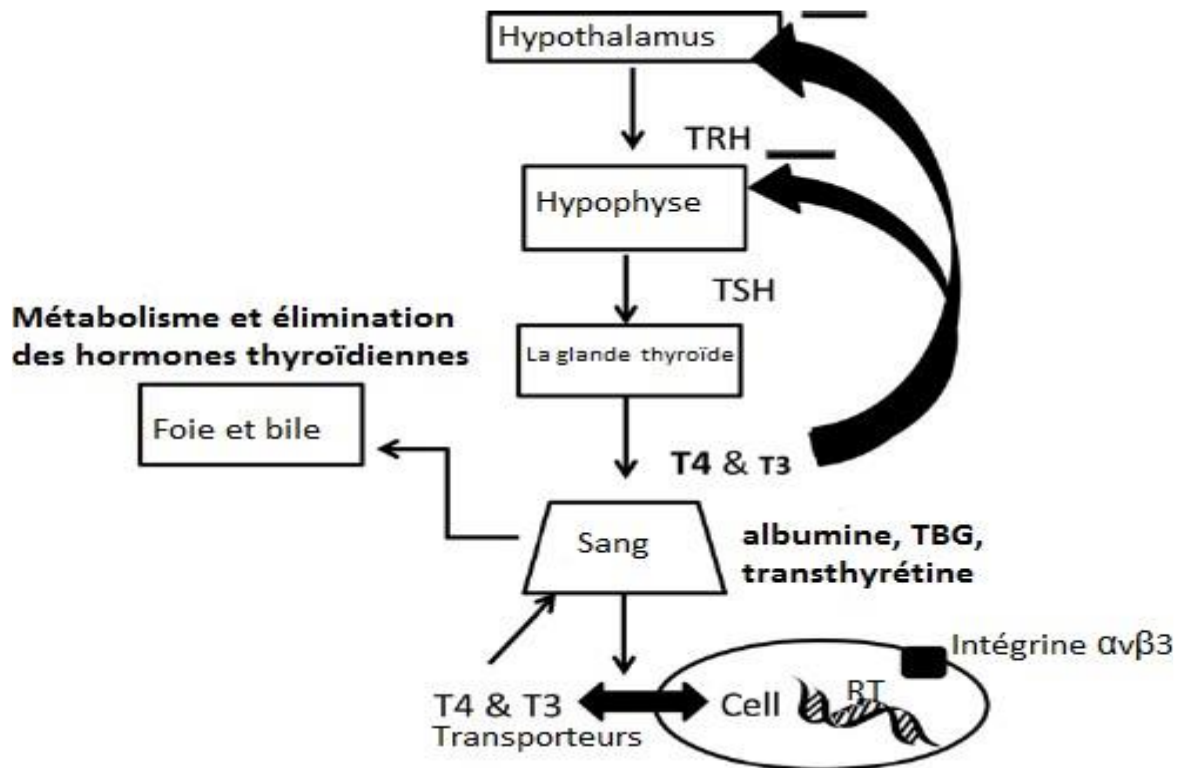


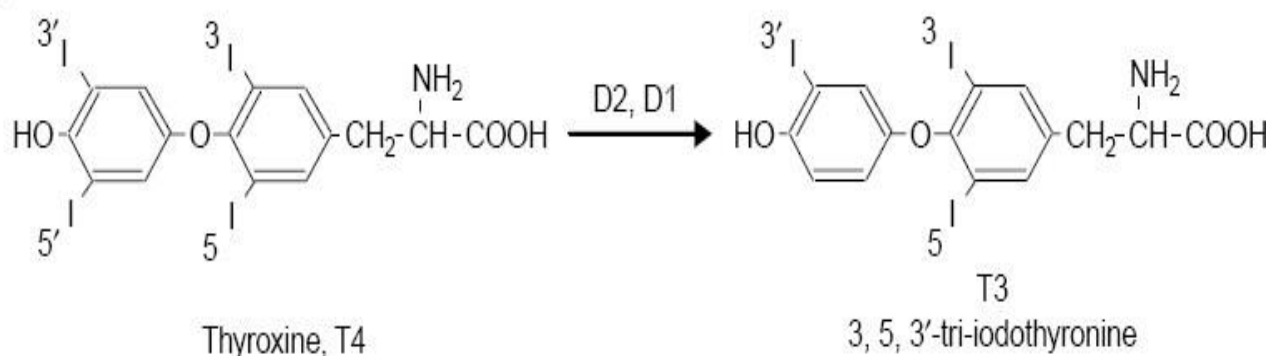
Figure 8 : Transport des hormones thyroïdiennes. (Bekhti-Sari,2017)

2.1.5. Mécanismes d'action des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes ont un mécanisme d'action principalement nucléaire en se liant à des récepteurs intranucléaires, avec la T3, une affinité supérieure à T4 pour ces récepteurs, La régulation de T4 en T3 se fait essentiellement au niveau des cellules cibles et selon le type de cellule **Figure 09**, la quantité d'enzymes capables d'effectuer cette désiodation sera plus ou moins importante en fonction de la capacité de réponse attendue (Hourt, 2008).

Des récepteurs intranucléaires : la liaison des HT à ces récepteurs déclenche la transcription de l'ADN en ARNm qui est traduit dans les ribosomes cytoplasmiques et produit des protéines spécifiques. Il peut s'agir d'enzymes qui favorisent l'activité métabolique, des protéines structurales ou bien des protéines qui seront libérées par la cellule cible (Hourt, 2008).

Des récepteurs extranucléaires : couplés à la protéine G. A ce niveau les HT ont un effet rapide et facilitateur du métabolisme cellulaire (**Hourt,2008**).



D1 : la 5' désiodase qui permet la conversion de T4 en T3;
D2 : la 5 désiodase transforme la T4 en T3 -reverse, inactive.

Figure 9 : Transformation de T4 en T3. (**Kress, 2007**)

2.1.6. Régulation des hormones thyroïdiennes

Le principal système de régulation est représenté par l'axe thyroïdien (**Figure 10**). Il est complété par un système d'autorégulation thyroïdienne. Par ailleurs, le statut nutritionnel influence également la fonction thyroïdienne et en particulier le catabolisme des hormones (**Gaborit, 2014**).

2.1.6.1. L'axe hypothalamo- hypophysaire thyroïdien

Les hormones thyroïdiennes sont sécrétées par la thyroïde mais il y a un rétrocontrôle par l'axe hypothalamo-hypophysaire (**Figure 10**)

- **Hormone hypothalamique (TRH)**

L'hormone thyroïdienne TRH, également appelée thyroïdolibérine, est une hormone peptidique produite par l'hypothalamus qui stimule la synthèse et la libération de la Thyroïdostimuline (TSH) et de la prolactine par l'hypophyse antérieure. Il s'agit d'un tripeptide de 362,4 Da La sécrétion de TRH est influencée par l'activité corticale, donc par les facteurs psychiques et de nombreux médiateurs (**Ryndak, 2011**).

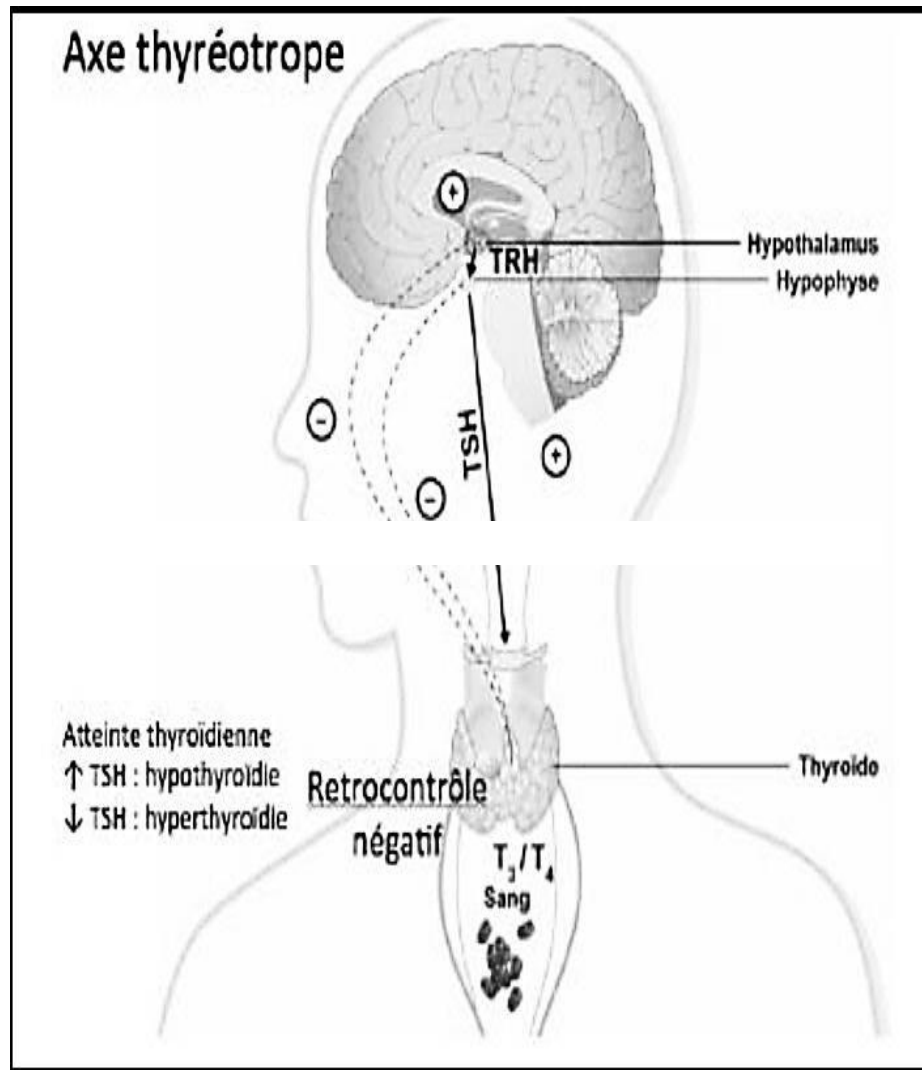


Figure 10 : l'axe thyroïdienne. (Gaborit, 2014)

- **Hormone thyroïdienne stimulante antéhypophysaire (TSH)**

La TSH est une glycoprotéine dimérique (≈ 29 kDa), de 211 acides aminés sécrétée par l'hypophyse. Elle comporte deux sous-unités α et β . Elle stimule toutes les étapes de synthèse des hormones thyroïdiennes (Ryndak, 2011).

Elle possède aussi un rôle trophique en stimulant la prolifération des thyrocytes et leur organisation en follicule, et un effet trophique sur la thyroïde qui stimule la synthèse de T₃ et T₄ qui sont ensuite libérées dans le sang, qui vont avoir un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de TSH et de TRH.

La sécrétion de la TSH est stimulée par la TRH au niveau de l'antéhypophyse. (Françoise et Laurence, 2011).

2.1.6.2. 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, 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**).

2.1.6.3. Etat nutritionnel

Il conditionne le niveau de désiodation périphérique. En cas de jeûne, de dénutrition ou d'hyper catabolisme, la 5' désiodase est inhibée avec diminution des taux sanguins de T3 et augmentation de ceux T3 reverse (**Gaborit, 2014**).

2.1.7. Catabolisme des hormones thyroïdiennes

La voie principale de dégradation de la T4 est la mono-désiodation, les hormones thyroïdiennes restantes sont catabolisées par des mécanismes hépatiques de glucurono- et -sulfoconjugaison mais aussi par désamination et clivage du pont éther (**Ryndak, 2011**).

2.2. Dystrophine

La dystrophine (Dp) est l'une des plus grandes protéines humaines qui fait défaut dans le muscle des patients souffrant d'une forme de myopathie : la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD). Elle est codée par le gène DMD, de 2,4 MB, situé sur le chromosome X et composé de 79 exons (**Nicolas, 2012**). Le produit complet de ce gène, à savoir la dystrophine de 427 kDa (Dp427), est une protéine normalement présente sous la membrane cellulaire de toutes les fibres musculaires (lisse, strié, ou cardiaque) principalement, sur la face interne du sarcolemme.

La Dp427 et/ou ses isoformes de petites tailles (Dp260, Dp140, Dp116 et Dp71), issus des promoteurs du même gène DMD, sont retrouvées dans d'autres types cellulaires non musculaires, tels que les neurones et les cellules gliales du cerveau (**Lidov et al., 1993**), les cellules de Schwann (**Byers et al., 1993**) du système nerveux périphérique, mais aussi dans d'autres organes tels que la rétine (**Ahn et Kunkel, 1993 ; D'Souza et al., 1995**), les reins, le foie, le pancréas, les poumons, le cœur et les testicules (**Bar et al., 1990 ; Durbeej et al., 1997 ; Muntoni et al., 2003**).

La Dp fait partie d'un grand complexe nommé Dystrophin-Glycoproteins complexe : DGC (**Figure 11**) et elle est généralement décrite comme une protéine filamenteuse composée

de quatre domaines : le domaine de liaison à l'actine (ABD), le domaine central avec ces 24 répétitions, la région riche en cystéine et le domaine C-terminal (**Figure 12 ; koenig, 1988., Blake, 2002**).

Du point de vue fonctionnel, au niveau cellulaire, la Dp assure un rôle de plateforme moléculaire pour d'autres protéines, en faisant un lien physique entre le cytosquelette, la membrane plasmique et la matrice extracellulaire (**Figure 11**). De ce fait, un changement de l'expression ou de la distribution des Dps au niveau cellulaire peut être interprété comme une modification physiologique ou même physiopathologique.

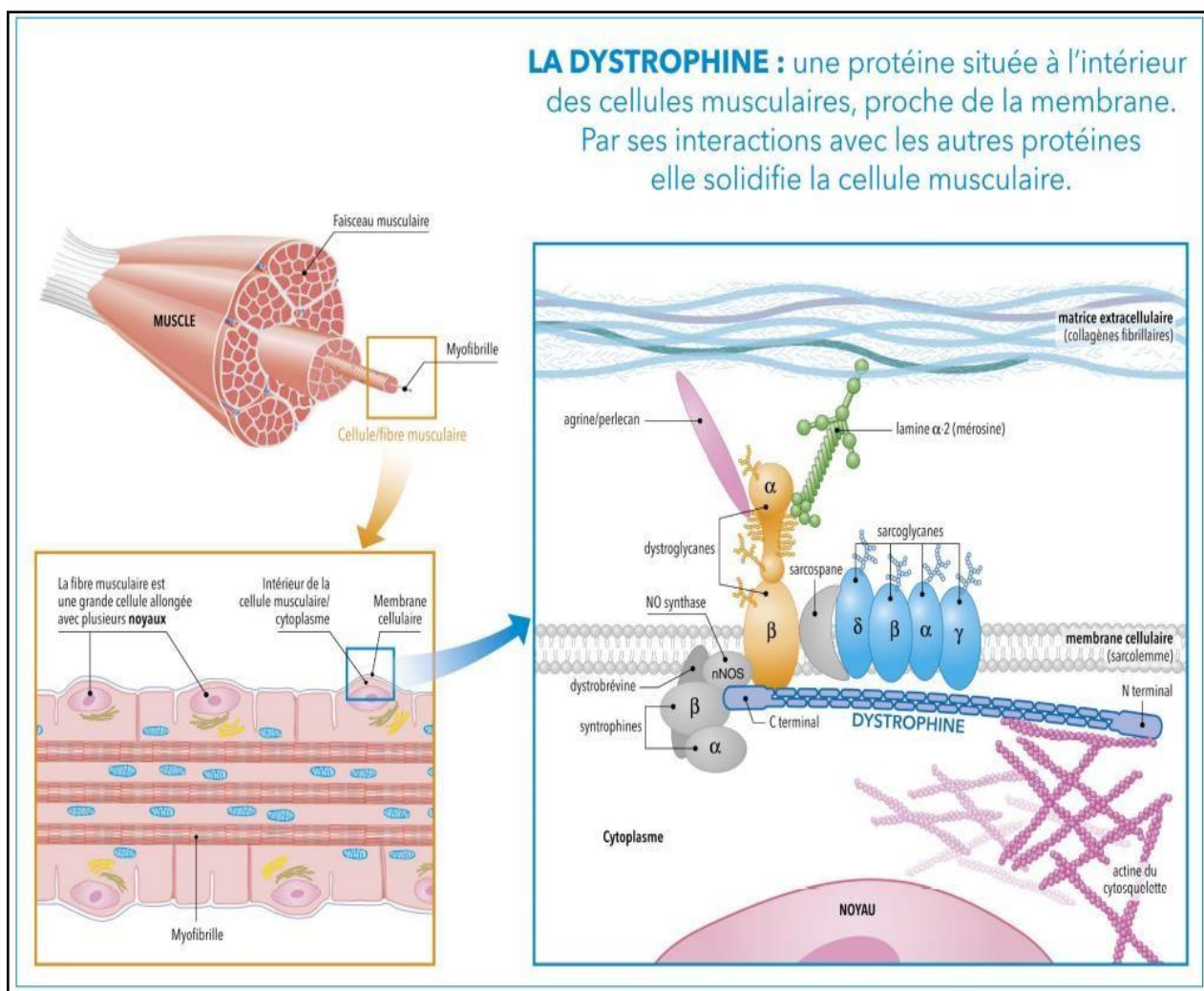
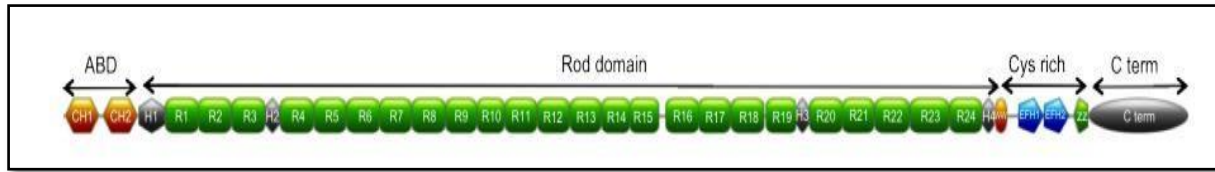


Figure 11 : La dystrophine parmi le complexe DGC au niveau de la membrane cellulaire (Blake, 2002).



ABD : Actin Binding Domain

Figure 12 : Schéma des domaines structuraux de la dystrophine (Nicolas, 2012).

2.2.1. Le gène DMD

2.2.1.1. Caractéristiques du gène

Le gène DMD a été séquencé pour la première fois en 1986 (Monaco, 1986., Koenig, 1987). Il est situé sur le bras court du chromosome X (locus Xp21.2) et représente 1,5% du chromosome. Ses 2,4 millions de paires de bases font de lui le plus grand gène humain (Monaco, 1992., Coeffy, 1992). Il est composé d'introns de tailles variables allant de 107b à plus de 200kb et de 79 exons. Les exons représentent seulement 0,6% de la séquence génomique et sont transcrits en un ARN de 14kb (Roberts, 1993 ; Figure 13).

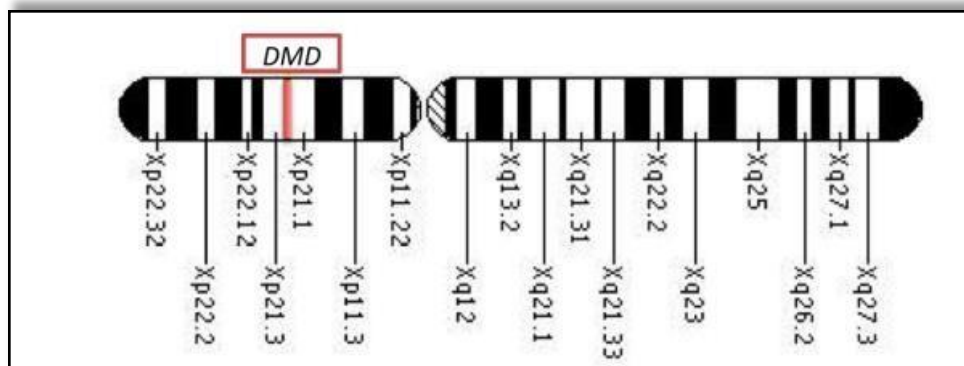


Figure 13 : Localisation du gène DMD sur le bras court du chromosome X (Nicolas, 2012).

2.2.1.2. Les différents produits du gène DMD

Les produits du gène DMD sont plusieurs (Figure 14) :

2.2.1.2.1. La Dp427

La Dp427, forme la plus longue et complète, est exprimée dans le sarcolemme des muscles, où elle permet de stabiliser et protéger la membrane des fibres musculaires des contractions à long terme. Sa perte conduit à une altération du complexe de protéines associés à

la Dp427 (DGC) et à l'activation de mécanismes comme l'augmentation de calcium intracellulaire (**Culligan and Ohlendieck, 2002**), l'infiltration de cellules immunitaires (macrophages) dans le tissu musculaire (**Evans et al., 2009**), la production de cytokines pro-inflammatoires et de NO (nitric oxyde) lié au stress oxydatif (**Rando et al., 2001**) via la voie NF-Kb(**Tidball et Villalta, 2010; Pescatori et al., 2007; Acharyya et al., 2007**), de protéases (**Li et al., 2009**), et d'une altération de l'autophagie (**Mammucari et al., 2007**). Ces mécanismes induisent une nécrose progressive des muscles, responsable de la myopathie de Duchenne. Dans le cerveau, la Dp427 est aussi exprimée au niveau des neurones ou elle modulerait l'agrégation des récepteurs GABAergiques(**Fritschy et al., 2003**). Ces derniers sont exprimés au niveau post-synaptique des synapses inhibitrices des neurones (**Lidov et al.,1993**) de plusieurs structures du cerveau, impliquées dans la cognition, tels que les neurones pyramidaux de l'hippocampe (**Chaussonot et al., 2015**), les cellules de Purkinje du cervelet (**Knussel et al., 1999**), ainsi que les neurones principaux du cortex et l'amygdale.

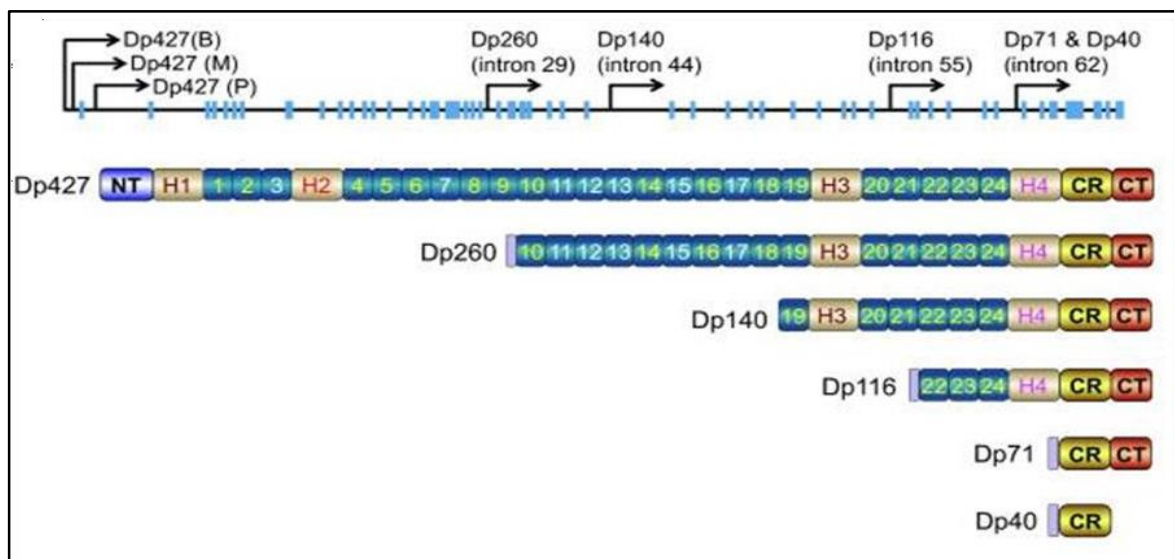


Figure 14 : Organisation des différents produits du gène DMD. (**McGreevy et al., 2015**)

La ligne verticale noire représente les 79 exons du gène DMD de la dystrophine. Les flèches indiquent les différents promoteurs des différentes formes de dystrophine : Dp427 tissu-spécifique (B : cerveau, M : muscle, P: cellules de Purkinje), Dp260 (rétine), Dp140 (cerveau fœtal principalement), Dp116 (cellules de Schwann), Dp71 (majoritairement gliale dans le cerveau adulte) et la Dp40 (issu du clivage de la Dp71, détectée dans les neurones). La dystrophine comporte 4 domaines principaux : amino-terminal (NT), central, riche en cystéine(CR) et terminal(CT). Le domaine central est composé de 24 hélices de type spectrines (carrés bleus) et 4 domaines riches en proline (H1 à H4). Tous les produits du gène DMD possèdent un domaine N-terminal unique excepté la Dp140

2.2.1.2.2. La Dp260

Détectée dans la rétine (**Pillers et al., 1933**) où elle est principalement exprimée dans la couche plexiforme externe des cellules photoréceptrices (**Wersinger et al., 2011**). Comparativement à la Dp427, elle possède 13 nouveaux acides aminés au niveau de la partie N-terminale (**D'Souza et al., 1995**), mais comporte le même domaine C-terminal et riche en cystéine que la Dp427. Sa perte chez les patients cause des dommages oculaires. Tous les patients dont les mutations du gène DMD sont en aval de l'exon30, empêchent notamment l'expression de la Dp260 rétinienne présentent un profil ERG anormal (**Ricotti et al., 2016**).

2.2.1.2.3. La Dp140

Contrairement aux autres dystrophines, elle ne possède pas de domaine N-terminal spécifique. Découverte par Lidov et al (1995) dans le système nerveux central (cortex, cervelet, hippocampe) et les reins. Les mêmes auteurs ont avancé que la Dp140 est fortement exprimée dans le cerveau fœtal et semble essentiellement présente au niveau gliovasculaire du cerveau d'adulte, mais ceci reste à confirmer. Elle est fréquemment associée à la présence d'une déficience intellectuelle chez les patients atteints de la DMD (**Taylor et al., 2010**).

2.2.1.2.4. La Dp116

Identifiée par **Byers et al (1993)**, la Dp116 est exclusivement exprimée dans les cellules de Schwann des nerfs périphériques. Dans ces cellules, ni la Dp71 ni la Dp427 n'ont été détectées. Son rôle physiologique est peu connu. Chez la souris, les cellules de Schwann montrent un lien entre la Dp116 et le complexe Drp2 periaxin (**Sherman et al., 2012**), ainsi qu'avec un transporteur de cholestérol : ABCA1 (ATP-binding cassette transporter A1) (**Albrecht et al., 2008**). Un seul patient a été identifié comme possédant une mutation sur un site d'épissage qui inhibe l'expression de la Dp116 et présente une neuropathie démyélinisante.

2.2.1.2.5. La Dp71

La Dp71 est la dystrophine la plus abondamment exprimée dans le cerveau. Son expression augmente graduellement au cours du développement embryonnaire et sa localisation a été mise en évidence pour la toute première fois au niveau des membranes synaptiques (**Jung et al., 1993**), puis dans les cellules souches embryonnaires pluripotentes (**Sarig et al., 1999**). Le promoteur de la Dp71 est situé entre l'exon 62 et l'exon 63 et permet une expression ubiquitaire de la Dp71 dans de nombreux tissus (cerveau, poumons, reins, foie, estomac, testicules) excepté

le muscle squelettique adulte (**Bar et al., 1990; Lederfein et al., 1992; 1993; Blake et al., 1992; Hugnot et al., 1992**).

La Dp71 conserve la partie C-terminale pouvant lier la syntrophine et la dystrobrevine ainsi que le domaine riche en cystéine permettant une liaison avec le dystroglycane. Cependant, la région C-terminale de la Dp71 subit de nombreux épissages alternatifs menant à l'expression de trois groupes d'isoformes: Dp71d, Dp71f et Dp71e (**Bies et al., 1995 ; Austin et al., 1995 ; Lumeng et al., 1999; Feener et al., 1989; Jin et al., 2007**). Le rôle physiologique de la Dp71 dans la rétine et le cerveau est décrite au niveau des synapses excitatrices des neurones glutamatergiques et des astrocytes péri vasculaires (**Aragón et al., 2018**).

2.2.1.2.6. La Dp40

Elle peut être considérée comme une autre isoforme de la Dp71 issue d'un arrêt prématuré de la transcription de la Dp71. Mise en évidence par Tinsley et son équipe en 1993, il s'agit du produit du gène DMDle plus court connu à ce jour. Protéine de 341 acides aminés, elle ne possède pas la fin du domaine C-terminal des autres dystrophines mais contient plusieurs domaines fonctionnels importants, et son rôle reste encore à déterminer. Une hypothèse émise par l'équipe de Tozawa en 2012 lui suggère un rôle dans les neurones, en interaction non pas avec le dystroglycane, mais avec des protéines des vésicules du compartiment présynaptique incluant SNAP25 et la syntaxine 1A. Cependant, **Fujimoto et al. (2014)** propose aussi une localisation postsynaptique et somatodendritique de la Dp40, tandis qu'**Aragón et al., (2015)** montrent que la Dp40 possède un site d'interaction avec le β - dystroglycane.

2.2.2. Complexe des protéines et glycoprotéines associées à la dystrophine (DAPC ou DGC)

En 1994, Yoshida et ses collaborateurs ont décrit le DAPC. Trois différents sous complexes ont été définis : le complexe des dystroglycanes, le complexe des sarcoglycanes et sarcospane et le complexe cytoplasmique, formé de la Dp, la syntrophine, la dystrobrevine (**Figure 15**).

La Dp joue le rôle central dans l'assemblage et le lien entre l'actine du cytosquelette et la matrice extracellulaire via le DAPC.

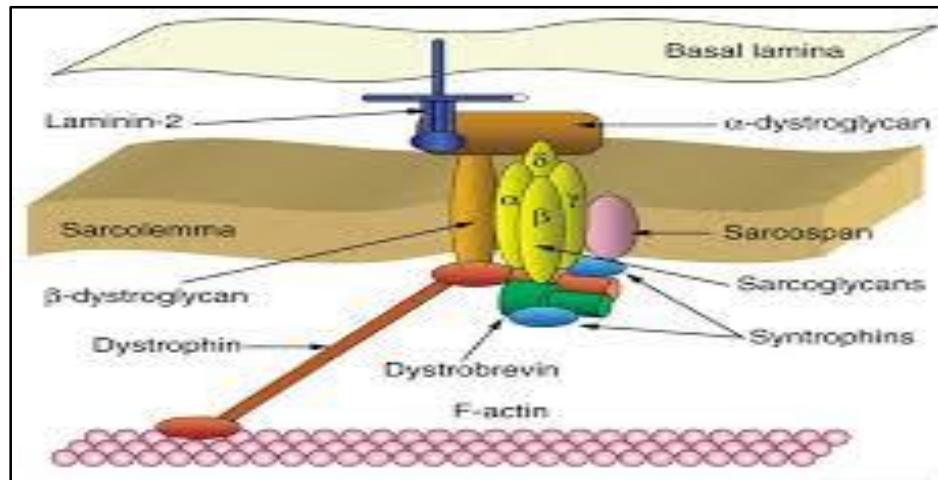


Figure 15 : Représentation du complexe associé à la dystrophine.

2.2.2.1. Dystroglycans (DG)

Les DG α et β , largement exprimés, constituent le cœur du DAPC, établissant le lien transmembranaire entre la laminine-2 et la dystrophine. Les deux protéines sont produites à partir d'un seul poly-peptide modifié post-traductionnellement, et fortement glycosylées, avant d'être envoyées vers leurs emplacements extracellulaire et transmembranaire respectivement (**Winder, 2001**). La délétion totale du DG chez la souris est létale sur le plan embryonnaire en raison de la perturbation de la formation de la membrane basale (**Williamson et al., 1997**). La rupture de la liaison dystroglycane-dystrophine provoque un phénotype de type Duchenne, tandis que la rupture de la liaison laminine-dystroglycane provoque une dystrophie musculaire congénitale. Des défauts dans la modification post-traductionnelle du dystroglycane peuvent également être pathogènes (**Grewal et al., 2001**).

2.2.2.2 Sarcoglycans (SG)

Cinq protéines transmembranaires, toutes exprimées principalement dans les muscles squelettiques, constituent la famille des sarcoglycans (SG) : α (50 kDa, également appelée adhaline), β (43kDa), γ (35 kDa), δ (35 kDa) et ϵ (50kDa). Les SG β , γ et δ sont copurifiés, les SG β et δ formant un lien particulièrement étroit, tandis que le SG α peut être séparé dans l'espace. La Dp et le SG γ peuvent interagir directement, et le SG δ semble être rattaché aux DG (**Chan et**

al., 1998). Des mutations abolissant l'expression de l'und des sarcoglycanes entraînent la perte des autres composants dans le sarcolemme. Les dystrophies musculaires des ceintures 2D, 2E, 2C et 2F sont dues à l'absence des sarcoglycanes α , β , γ ou δ , respectivement (**Bushby, 1999**).

2.2.2.3 Sarcospan

Le Sarcospan est une protéine membranaire de 25 kDa, avec quatre domaines transmembranaires et des extrémités Net C intracellulaires, une caractéristique unique pour les protéines transmembranaires du DGC (**Crosbie et al., 1997**). Son expression est observée principalement dans les muscles squelettiques et cardiaques, mais des isoformes plus courtes existent dans d'autres tissus. Aucune maladie humaine n'est actuellement connue pour être associée à une déficience en sarcospan, et les souris déficientes en sarcospan maintiennent l'expression de tous les sarcoglycanes au niveau du sarcolemme et ne développent pas de dystrophies musculaires (**Lebakken et al., 2000**).

2.2.2.4. Dystrobrevins (DB)

Les dystrobrevines existent sous deux isoformes : α et β , en plus de ceux qui sont issus des épissages alternatifs dont la plupart sont abondamment exprimés au niveau du sarcolemme (**Newey et al., 2000**). Le DB s'associe à la Dp directement par le biais d'interactions de type coiled-coil, mais aussi indirectement via les composants des sous complexes des sarcoglycanes et syntrophines, lui donnant la possibilité de s'associer au DAPC en absence de la région C-terminale de la dystrophine (**Crawford et al., 2000**). Curieusement, les souris knock-out pour la dystrobrevine présentent un phénotype semblable à celui de la DMD tout en conservant le DAPC et l'intégrité du sarcolemme (**Grady et al., 1999**).

2.2.2.5. Syntrophines (Syn)

Les trois isoformes de la syntrophine se trouvent à la jonction neuromusculaire dans le muscle squelettique, mais seules les isoformes $\alpha 1$ et $\beta 1$ sont présentes le long du sarcolemme. Ces molécules peuvent fonctionner comme des adaptateurs en recrutant au niveau du sarcolemme et tout particulièrement du DAPC des protéines de signalisation, comme les canaux sodiques du muscle squelettique, la nNOS, les sérines / thréonines kinases, la MAST 205 et la protéine kinase-3 activée par le stress (**Rando, 2001**).

La partie C-terminale très conservée de 57 acides aminés contiendrait des sites de liaison pour les membres de la famille de la dystrophine. Cependant, aucune maladie humaine n'a été corrélée à

des mutations de la syntrophine. Les souris dépourvues de $\alpha 1$ syntrophine (l'isoforme musculaire prédominante) ne présentent pas de phénotype manifeste, mais la nNOS est absente du sarcolemme et la membrane postsynaptique est manifestement anormale (**Kameya et al., 1999; Adams et al., 2000**).

Chapitre II :
Etude expérimentale

1. Matériels et méthodes

1. Matériels et méthodes

L'expérimentation a été rendue possible grâce à la collaboration de la Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques (FSBSA) de L'université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou (UMMTO) avec :

- L'animalerie de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB) où les animaux ont été traités par le produit étudié « Thiaméthoxame : TMX ».
- Le laboratoire de Neurochimie de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB) où les animaux ont été perfusés et les organes prélevés.
- Le laboratoire d'Anatomo-Pathologie de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV) d'Alger, où la confection des coupes histologiques a été faite.

L'examen immuno-histochimique (IHC) et la prise des photos ont été réalisés au Laboratoire Pédagogique de Physiologie Animale de la FSBSA de l'UMMTO.

Nous tenons à préciser que les rats (parents) utilisés dans cette étude ont été livrés par l'Institut Pasteur (Kouba, Alger) à l'Animalerie de l'USTHB, où ils ont été adaptés aux conditions du nouvel environnement pendant une semaine, avant de recevoir le traitement au Thiaméthoxame.

1.1. Matériels

1.1.1. Matériel biologique

Dans notre étude, nous avons utilisé des rats mâles et femelles adultes et leurs descendants de souche « *WISTAR* ». Dont la position taxonomique est représenté ci-dessous :

Tableau 3: position taxonomique de rats *WISTAR*

Règne	Animal
Embranchement	Vertébrés
Classe	Mammifères
Famille	Muridés
Ordre	Rongeurs
Genre	Rattus
Espèce	Norvegicus

1.1.2. Matériel non biologique

1.1.2.1. Produit testé

Le produit testé dans notre étude est le Thiaméthoxame (TMX), connu sous le nom d'Actara 25 WG

1.1.2.2. Produit utilisé

Pour réaliser cette étude ont a utilisé plusieurs produits comme : Produit anesthésiant (l'uréthane), le para-formaldéhyde à 4%, la batterie d'alcool à l'ordre croissants et décroissants (100, 95, 70), le xylène, le tween 20, le peroxydase block, protéine

block, les anticorps primaire et secondaire (HRP) et l'hématoxyline et enfin la résine Eukit pour le montage des coupes.

1.1.2.3. Matériel de laboratoire utilisé

Le nécessaire pour la dissection, tels qu'une planche, des ciseaux, une aiguille épicroténienne, des moules en métal, des cassettes en plastique, une plaque refroidissante, des pinces, un scalpel, un microtome, un bain marie, une plaque chauffante, des micropipettes de précision, des lames et lamelles, un microscope sur lequel est adapté une caméra.

1.2. Méthodes

1.2.1. Traitement des animaux et prélèvement de tissus

Pour cette étude concernant l'effet de TMX sur la structure et l'organisation du tissu thyroïdien, nous avons utilisé 12 rats males et 12 rattes femelles adultes de 6 à 7 semaine d'âge, avec un poids de 300 à 400 grammes. Ces animaux placés dans des cages en plastique ont été soumis au préalable à une période d'adaptation d'une semaine aux conditions de l'animalerie de l'université (USTHB), caractérisées par une température ambiante moyenne de 20° à 25°C, une humidité relative de 30-70% et une photopériode contrôlée avec un éclairage artificiel de 12/12 heures. Aussi, ils recevaient la nourriture sous forme de croquettes et de l'eau de robinet quotidiennement et à volonté.

1.2.1.1. Préparation des lots des rats

A la fin de cette semaine, les rats ont été répartis en lots homogènes contenant 3 rats males chacun. Ils ont été ensuite traités par différentes doses de TMX dilué dans l'eau pendant une durée de 10 semaines. La solution de TMX est administrée par gavage selon différentes doses, selon le tableau 4, ci-dessous :

Tableau 4: Traitement et répartition des rats par lots

Lots	Nombre de rats	Traitement administré
Lot Témoins (non traité par le TMX)	3 Males et 3 femelles	1ml/J d'eau du robinet
Lot DJA (dose journalière admissible)	3 Males et 3 femelles	0,026mg/Kg du TMX + 1ml/J d'eau du robinet
Lot NOAEL (non-observed adverse effect level)	3 Males et 3 femelles	2,5mg/kg du TMX + 1ml/J d'eau du robinet
Lot NOAEL×2 (double dose de NOAEL)	3 Males et 3 femelles	5,2mg/kg de TMX + 1ml/J d'eau du robinet

Les 12 rats males et 12 rattes femelles sont traités au TMX et les rats males issus de leur accouplement sont répartis en quatre lots (T, DJA, N et Nx2) et sacrifiés au bout de 20, 60 et 90 jours, ce qui donne douze sous lots nommés comme suit :

- Rat T20J / - Rat DJA 20J / - Rat NOAEL 20J / - Rat NOAEL×2 20J
- Rat T60J / - Rat DJA 60J / - Rat NOAEL 60J / - Rat NOAEL×2 60J
- Rat T90J / - Rat DJA 90J / - Rat NOAEL 90J / - Rat NOAEL×2 90J

1.2.1.2. Perfusion et prélèvement des tissus

Les animaux ont été anesthésiés 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. Ensuite, les rats ont subi une perfusion intracardiaque d'une solution saline de NaCl 0,09 % suivi de la solution de fixation, du paraformaldéhyde (PAF) à 4 %. Les étapes de cette perfusion se résument à :

- L'introduction d'une aiguille épicroténienne dans le ventricule gauche et son orientation vers l'aorte ascendante.

- Une incision dans l'oreillette droite à l'aide de ciseaux à iris pour permettre une circulation ouverte de la solution à injecter,

- La perfusion démarre par la solution saline qui dure quelques secondes, juste le temps d'évacuer tout le sang contenu dans les vaisseaux, vérifié par la clarté du liquide sortant de l'oreillette droite,

- Suivie de la fixation à l'aide d'une solution de PAF 4% (150 à 200ml) à un débit de 14ml/min.

- La thyroïde est enfin retirée par microdissection et elle est plongée dans la solution de PAF pour quelques heures, on parle de post-fixation.

1.2.2. Préparation des coupes

1.2.2.1. Déshydratation et clarification

La déshydratation s'est faite dans des bains d'alcool de concentrations croissantes (70°, 90°, 100°) pendant 2 heures pour chacun. Puis comme la paraffine n'est pas miscible dans l'éthanol, les tissus sont placés dans 3 bains de xylène, de 2 heures chacun.

1.2.2.2. Imprégnation

L'imprégnation consiste à l'élimination des traces d'alcool par un passage des organes dans 3 bains successifs de paraffine à 60°C, de 2 heures chacun. Le premier bain est un mélange d'un volume de paraffine et le même de xylène. Les deux autres bains sont composés uniquement de paraffine pure.

1.2.2.3. Inclusion ou enrobage

Les échantillons sont placés dans des cassettes spécifiques qui seront ensuite remplis par la paraffine fondue à 60°C dans l'appareil d'enrobage, puis de la paraffine liquide est versée une autre fois pour l'immersion totale des échantillons (**Figure 16A**).

Afin de les solidifier, les démouler et enfin réaliser des coupes fines, les blocs sont posés sur une plaque refroidissante (**Figure 16B**).



Figure 16 : Appareil d'inclusion (A) ; Solidification des échantillons sur une plaque refroidissante (B). (**Images 2024**)

1.2.2.4. Confection des coupes

A l'aide d'un microtome de type Leica, les blocs de paraffine contenant les échantillons sont découpés en coupes de 5 μm d'épaisseur disposées en série sous formes de rubans (**Figure 17A**). Ces derniers sont ensuite placés dans un bain marie, réglé à 40°C (**Figure 17B**) et les coupes étalées sont récupérées sur des lames gélatinées et mises à sécher sur une plaque chauffante pour 15 min.



Figure 17: Microtome (A), Bain marie (B).
(**Image 2024**)

1.2.2.5. Déparaffinage

Les coupes de tissus sur lames sont déparaffinées à l'aide de deux bains de xylène, de 2 à 5 min chacun. Les tissus déparaffinés sont réhydratés par un passage dans des bains d'alcools à concentrations décroissantes (100°, 95°, 70°), à raison d'une minute pour chaque bain ; suivi par un rinçage dans un bain d'eau de robinet ou bien d'eau distillé pendant 1 à 2 min (**Figure 18**).



Figure 18: Batterie de la réhydratation.

(Photo 2024)

1.2.3. Etapes techniques d'immunohistochimie

L'immunohistochimie (IHC) est une technique largement utilisée en histologie et cytopathologie depuis plus de vingt ans. Elle a considérablement amélioré le diagnostic morphologique, en particulier dans le domaine des maladies cancéreuses. Son objectif et son principe consistent à détecter certaines protéines cellulaires spécifiques, qu'elles se trouvent dans le cytoplasme, la membrane ou le noyau, en utilisant une réaction antigène-anticorps.

1.2.3.1. Perméabilisation

Les coupes sont perméabilisées pendant 15 min dans du tampon phosphate salé (PBS) et Tween 20 à 0,1%, respectivement. Par la suite, les lames ont été lavées deux fois avec du PBS pendant 5 min chacun pour éliminer l'excès de Tween 20.

1.2.3.2. Blocage par la peroxydase block et protéines block

Peroxydase block est une solution bloquant l'activité de la peroxydase endogène (**Figure 19**); Elle est appliquée pendant 15 min. Le blocage des protéines endogènes est fait en appliquant sur les lames quelques gouttes de la solution protéine block pendant 30min, puis 2 lavages avec du PBS, 5 min chacun (**Figure 19**).

1.2.3.3. Incubation avec l'anticorps primaire anti-dystrophines

Les coupes sont incubées avec l'anticorps anti-dystrophines (AC polyclonal qui reconnaît toutes les dystrophines), à 4°C, pendant toute la nuit

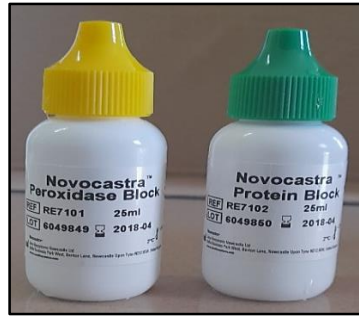


Figure 19 : Solutions peroxydase block et protein block (Image, 2014).

1.2.3.4. Incubation avec l'anticorps secondaire

Après 2 rinçages au PBS de 5 min chacun, nous avons procédé à l'incubation avec l'AC secondaire pendant 30 min au bout desquelles, les lames sont rincées de la même façon que l'étape précédente.

1.2.3.5. Amplification et révélation du signal

Les lames sont incubées avec le Horse Radish Peroxidase (HRP) pendant 30 min, puis rincer avec du PBS deux fois 5 min chacun.

La révélation du signal est ensuite faite en utilisant le chromogène DAB dans un tampon de substrat DAB (avec un rapport de 50/1) mélangé à H₂O₂. Le virage de couleur vers le brun est surveillé à l'œil nu, dès qu'il apparaît, les coupes sont rincées à l'eau distillée ou bien au PBS.

1.2.3.6. Contre coloration

Les coupes sont mises en contact avec l'hématoxyline pendant 5min, étape essentielle pour visualiser les noyaux en violet et elle est suivie d'un rinçage à l'eau du robinet.

1.2.3.7. Déshydratation des coupes et montage des lames

La déshydratation se fait par 3 bains d'alcool à concentrations croissantes (70°/95°/100°) puis 2 bains de xylène, 2min chacun. Pour le montage des coupes entre lames et lamelles, une goutte de liquide de montage : Eukit est utilisée (Figure 20).



Figure 20: Montage des coupes entre lame et lamelle à l'aide de l'Eukit.

(Photo, 2024)

1.2.4. Observation des lames et prise de photos

Les coupes histologiques ont été observés à l'aide d'un microscope photonique équipé d'un appareil photo branché à un ordinateur (Figure 21) à l'aide de logiciel ImageView, les photos ont été prises avec les grossissements 100x et 400x pour une observation plus fine qui permet l'examen structural, morphométrique mais aussi l'estimation de l'importance des dystrophines dans les tissus analysés.

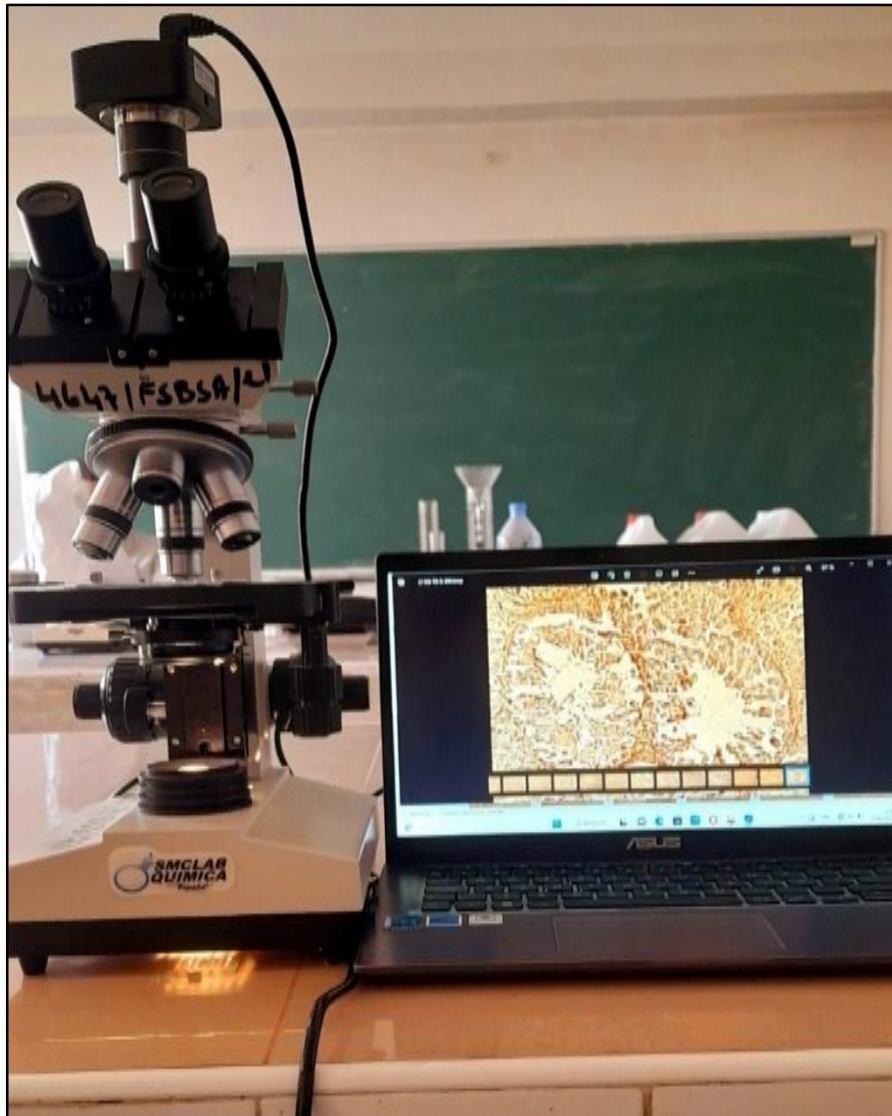


Figure 21 : Microscope photonique équipé d'un appareil photo connecté à un ordinateur.
(Photo originale, 2024)

2. Résultats et discussion

2. Résultats et discussion

2.1. Résultats

2.1.1. Impact du Thiaméthoxame sur l'expression et la distribution des dystrophines dans la thyroïde des rats adultes (parents) et des rats adultes de la descendance (90 jours)

L'observation à l'aide d'un microscope photonique au grossissement x100 et x400, des coupes de la thyroïde des rats adultes témoins (n'ayant pas reçu de thiaméthoxame) des parents (P) ou de la descendance à l'âge adulte (90 jours : D) a révélé la présence des dystrophines au niveau des parois de cellules folliculaires, nommées les thyrocytes, et ce, aussi bien du côté basal et apical (Figure 22A et B), mais d'une façon plus prononcée chez les 90J (Tableau 5). Nous avons également constaté que contrairement aux parents, les noyaux des thyrocytes des rats 90J, semblent contenir systématiquement des dystrophines (Figure 22A, A', B, B'). Par ailleurs, le grossissement supérieur a révélé la présence des dystrophines de façon abondante au niveau des parois des vaisseaux sanguins (Figure 22A' et B').

Chez les rats ayant reçu la dose journalière admissible (DJA) de thiaméthoxame, la localisation de l'immuno-marquage aux dystrophines ne semble pas différents de ce que nous avons relevé chez les témoins et ce aussi bien dans la thyroïde des parents (Figure 22C) que dans celle de la descendance de 90J (Figure 22D). Cependant, dans la thyroïde des parents, nous avons relevé l'apparition des Dp au niveau des noyaux et une augmentation de la teneur des Dps du côté apical et basal des follicules thyroïdiens (Figure 22A vs 22C). Il en est de même pour les descendants de 90J, où le signal des Dp est plus intense notamment des deux côtés des cellules folliculaires (Figure 22B vs 22D).

Pour les doses Noael, comparativement à la DJA, les modifications d'intensité des Dp sont minimales et concernent d'une part, une augmentation au niveau des noyaux chez les parents (Figure 22C vs 22E) et d'autre part, une baisse des Dp du côté apical pour les descendants 90j (Figure 22D vs 22F).

Concernant la dose Nx2, comparativement à la N, le signal immuno-histochimique lié aux Dp semble baisser légèrement des deux côtés apical et basal, ainsi qu'au niveau des noyaux des cellules folliculaires chez les parents (Figure 22F vs 22G), mais seulement au niveau des noyaux folliculaires chez les rats de la descendance de 90J (Figure 22F vs 22H).

Les différentes variations relatives de l'intensité des Dp dans les régions thyroïdiennes des différents lots expérimentaux sont regroupées dans le tableau 5.

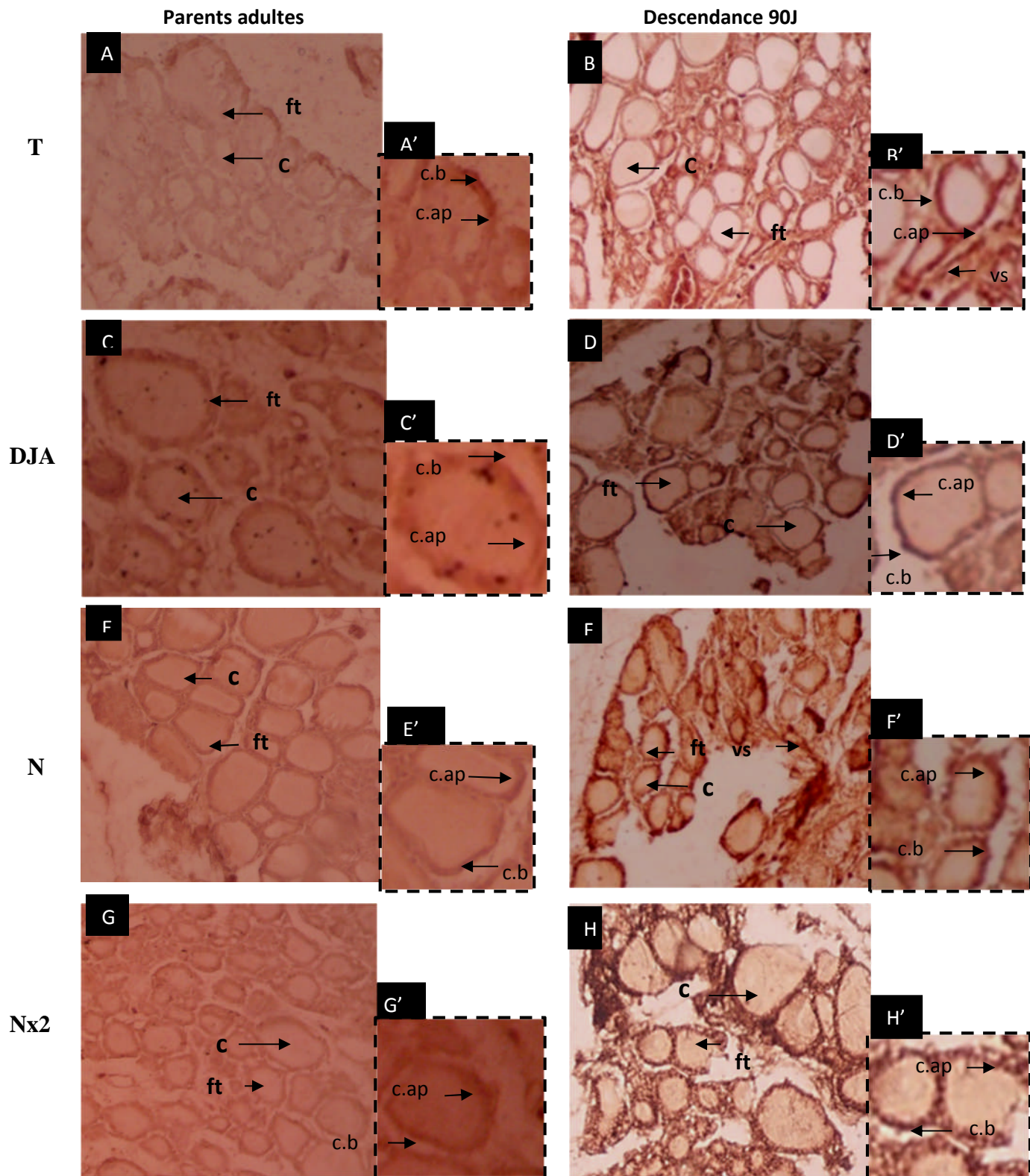


Figure 22: Distribution des dystrophines sur des coupes histologiques de la thyroïde des rats parents adulte et les rats de la 1ere génération de 90j traités au thiamitoxame à dose journalière admissible (DJA), Noael (N) et Noael x 2 (Nx2). Grossissement : x 200 ; ft : follicules thyroïdien, c: colloïde, vs : vaisseaux, c.b : coté basale, c.ap : coté apicale

Tableau 5 : Teneur approximative d’expression des dystrophines dans les structures histologiques de la glande thyroïde des rats Adulte (Parents) et rats adultes (issus de la première génération : 90Jours) après un traitement au thiaméthoxame.

Région	Rats	Doses			
		T	DJA	N	N x 2
Côté basal	Parents	+	++	++	+
	Descendance 90 J	+	++	++	++
Côté apical	Parents 90 J	+	++	++	+
	Descendance 90 J	++	+++	++	++
Noyaux	Parents 90 J	--	+	++	+
	Descendance 90 J	++	++	++	+
Vaisseaux sanguins	Parents 90 J	+	+	+	+
	Descendance 90 J	++	++	+	+

Absence (-) ; Faible expression (+) ; Expression modérée (++) ; Forte expression (++++) T: témoin ; DJA : dose journalière admissible, NOAEL : non-observed adverse effect level ; Nx2 : double dose de NOAEL

2.1.2. Impact du Thiaméthoxame sur l’expression et la distribution des dystrophines dans la thyroïde des rats au cours du développement

2.1.2.1. Impact du Thiaméthoxame sur l’expression et la distribution des Dp au niveau de la thyroïde des rats de 20 jours

Chez les rats de 20 jours issus de parents traités avec la dose DJA (Figure 23D), nous avons relevé une réduction du nombre de petits follicules et une augmentation du nombre de grands follicules par rapport aux témoins (Figure 23A). L’expression des Dp est mise en évidence à partir du jeune âge postnatal, à savoir 20 jours, aussi bien chez les rats non traités, témoins (Figure 23A) que ceux issus de parents traités avec le TMX à différentes doses : DJA (Figure 23 D), Noael (Figure 23G) et Nx2 (Figure 23J). En effet, les Dp sont retrouvées sur les deux côtés des follicules thyroïdiens (côté basal et apical), au niveau des noyaux thyrocytaire identifiés par l’hématoxyline qui les colore en rose violacé et même au sein de l’endothélium vasculaire (Figure 23A, D, G, J, inserts, Tableau 06). A la dose DJA, les Dps sont plus apparentes du côté membranaire (Figure 23D; Tableau 6). A partir de la dose Noael, nous avons constaté une réduction du diamètre des follicules thyroïdiens, ainsi que de l’épithélium folliculaire, ce qui rend les noyaux moins apparents (Figure 23G, J). Ces modifications structurales sont accompagnées d’une baisse de l’expression des Dp, notamment au niveau basal et apical de l’épithélium folliculaire (Figure 23G, J, inserts, Tableau 6).

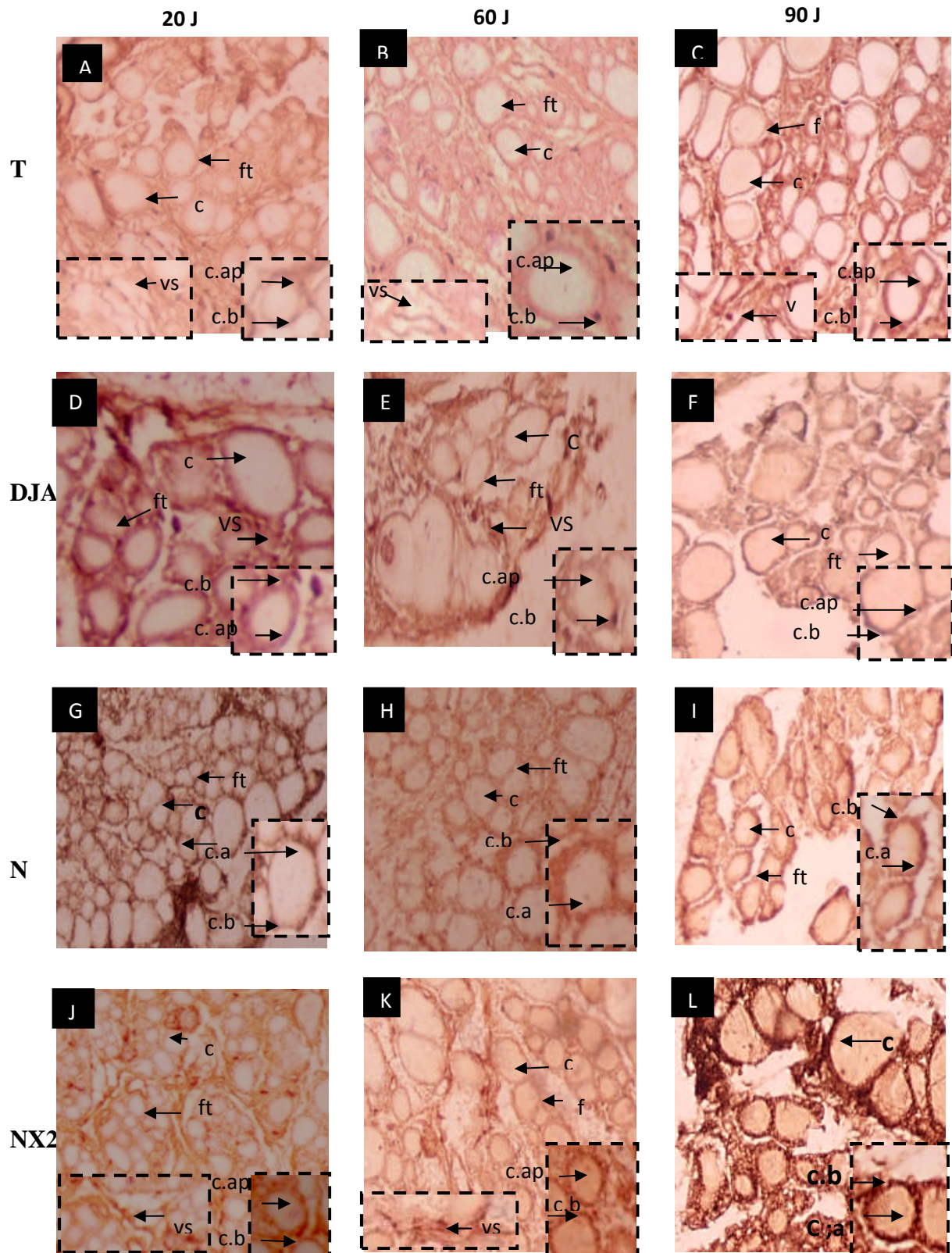


Figure 23 : Distribution des dystrophines sur des coupes histologiques de la thyroïde des rats âgés de 20, 60, 90 jours issus des parents non traités (T) et traités au thiamitoxame à dose journalière admissible (DJA), Noael (N) et Noael x 2 (Nx2) ; Grossissement : x 200
 ft : follicules thyroïdien, c: colloïde, vs : vaisseaux, c.b : coté basale, c.ap : coté apicale

2.1.2.2. Impact du Thiaméthoxame sur l’expression et la distribution des Dp au niveau de la thyroïde des rats de 60 jours

A soixante jours, chez les rats témoins dont les parents n’ont pas reçu de TMX, l’aspect histologique, ainsi que la localisation et l’importance des Dp ne semblent pas différents de ceux observés et décrits dans la thyroïde des rats témoins de 20 jours (Figure 23A vs 23B, inserts ; Tableau 6). A la dose DJA, comparativement à la thyroïde des rats de 20 jours (Figure 23D, insert), celle des rats de 60 jours présente un épithélium folliculaire moins garni en dystrophines (Figure 23E, insert). A l’inverse, dans le tissu conjonctif des rats 60J, les vaisseaux sanguins montrent un immunomarquage aux Dps similaire à celui des rats de 20 jours (Figure 23D vs 23^E ; Tableau 6). Par rapport à la dose DIA, à la dose Noael, la thyroïde des rats de 60 ne montre pas une différence sensible aussi bien de la distribution que de l’importance de l’expression des Dp (Figure 23E vs 23H). Au même âge (60 jours) et à la dose Nx2, comparativement à N, nous constatons une légère hausse de l’immunomarquage aux Dp, notamment au niveau des vaisseaux contenus au sein du tissu conjonctif (Figure 23H vs 23K).

Tableau 6 : Teneur approximative d’expression des dystrophines dans les structures histologiques de la glande thyroïde des rats de la première génération (20, 60, 90Jours) issus de parents traités à différentes doses de thiaméthoxame

Régions	Age des rats	Doses			
		T	DJA	N	N x 2
Coté basal	20 J	+	++	+	+
	60 J	+	+	+	+
	90 J	++	+	+++	+++
Coté apical	20 J	+	++	+	+
	60 J	+	+	+	++
	90 J	++	+	+++	+++
Noyaux	20 J	+	++	+	+
	60 J	+	+	+	++
	90 J	+	+	+	+++
Vaisseaux sanguins	20 J	++	++	+	++
	60 J	++	++	++	+++
	90 J	+++	+++	++	+++

Absence (-) ; Faible expression (+) ; Expression modérée (++) ; Forte expression (+++) ; T : témoin ; DJA : dose journalière admissible, NOAEL : non-observed adverse effect level ; Nx2 : double dose de NOAEL

2.1.2.3. Impact du Thiaméthoxame sur l'expression et la distribution des Dp au niveau de la thyroïde des rats de 90 jours

Concernant les thyroïdes issues des parents non traités (témoins), à 90 jours, l'aspect histologique est proche de celui des rats de 60 jours (Figure 23B, C). Cependant, le tissu thyroïdien à 90 jours est largement plus immunoréactif à l'anticorps anti-Dp (Figure 23C ; Tableau 6) qu'à 60 (Figure 23B) et 20 jours (Figure 23A), respectivement. En effet, les parois apicales et basales, les noyaux thyrocytaires et également les vaisseaux sanguins contiennent beaucoup plus de Dps.

A la dose DJA (Figure 23F, insert), l'aspect tissulaire et l'immunomarquage aux Dps sont comparables à ceux observés dans les structures thiroïdiennes des rats DJA de 60 jours (Figure 23^E, insert). En revanche, comparativement à la dose DJA (Figure 23F, insert), à la dose Noael et Noaelx2 respectivement (Figure 23I, L et inserts), nous avons relevé une augmentation progressive de l'expression des dystrophines, et ce, au niveau des membranes basal, apical et des noyaux thyrocytaires et même autour des vaisseaux sanguins (Tableau).

2.2. Discussion

La glande thyroïde est l'un des organes les plus sensibles au changement de l'environnement. Les perturbateurs endocriniens, tels que les néonicotinoïdes, sont une classe de pesticides la plus largement utilisée en agriculture dans le monde entier (**Simon-Delso et al., 2014**) et le thiaméthoxame (TMX) appartient à cette famille (**Aouimeur.T et al., 2022**). De nombreuses études toxicologiques ont montré les effets toxiques du TMX sur la santé humaine et sur la celle des animaux (**Truilhe.E., 2023**) en causant des altérations néfastes sur les organes et tout particulièrement sur le système endocrinien.

Dans notre étude, nous avons examiné les effets d'une exposition sub-chronique à différentes doses de TMX sur l'expression des dystrophines au niveau de la glande thyroïde des rats males de souche *Wistar* (exposition directe) et aussi sur celle leurs descendances de la première génération à différents âges (20, 60, et 90 jours) à différentes doses.

2.2.1. Impact de TMX sur l'expression et la distribution des Dp chez le rat adulte

Les différentes doses de thiaméthoxame (DJA, Noael et Noaelx2) administrées soit directement par gavage à des rats adultes ou indirectement chez les rats de la descendance de la première génération, de sexe male et d'âge adulte (90 jours) issus des parents traités au TMX, ont provoqué des altérations morphologiques, plus ou moins importantes. En

effets, visuellement nous avons constaté des changements au niveau de l'épaisseur des épithéliums des follicules et de diamètre des noyaux des cellules folliculaires avec certaines doses. Les changements sont cependant différents selon que le traitement soit direct ou indirect. D'autre part, les doses Noael et Noael x 2 n'affectent pas systématiquement la structure thyroïdienne d'une façon plus prononcée que la dose DJA. Une étude antérieures réalisée sur la même souche de rats male traités par le fipronil et l'acétamipride par voie orale a rapporté une atrophie de la glande thyroïde traduite par la diminution de la taille des follicules (Surks et al., 2014 ;Johnson et al., 2009). Par ailleurs, Nicolle-Mir. 2011 a montré que l'exposition des rats males à l'imidaclopride entraine une augmentation significative de la masse absolue de la thyroïde aussi de l'épaisseur des épithéliums des follicules par rapport aux témoins.

Concernant l'expression et la distribution des dystrophines, nous avons bien montré que les Dp sont bien présentes dans les composants structuraux de la thyroïde, les membranes apicales et basales des thyrocytes, les noyaux et les parois vasculaires. Le TMX ne semble pas avoir un impact sur la distribution des Dp mais plutôt un effet négatif sur l'expression de ces protéines, notamment à des doses fortes, en l'occurrence N et Nx2. Par ailleurs, nous avons constaté que ces deux doses ont un effet plus marquant quand elles sont administrées directement (parents). Nos résultats appuient ceux de (Bouzegane et Irida 2023) qui avaient examiné l'effet du TMX sur les Dp au niveau de l'appareil reproducteur des rats males. Cette étude a montré une baisse d'expression des Dp dans les cellules de leydig ainsi que les vaisseaux à des doses de Noael et Noaelx2. N

2.2.2. Impact de TMX sur l'expression et la distribution des Dp de la thyroïde de rat adulte au cours de développement

L'administration directe de thiaméthoxame aux rats adultes a révélé des altérations potentiellement néfastes au niveau de la glande thyroïde. En revanche, les effets du traitement au thiaméthoxame, indirectement sur le développement de la descendance de la première génération, s'avèrent moins déchiffrables, n'entraînant pas de modifications majeures dans la structure des tissus thyroïdiens des rats de la première génération.

L'une des observations clés est la variation du nombre de grands follicules, ainsi que de l'épaisseur thyroïdiens mais d'une façon non régulière et non significative chez les rats âgés de 20, 60, et 90 jours. Ces modifications sont plus apparentes à partir de la dose Noael. Concernant, les dystrophines, leur distribution ne change pas quelle que soit la dose administrée aux parents ou l'âge de l'animal (20, 60 et 90 jours). En revanche, la teneur d'expression des Dps subit des changements relativement cohérents ; effet, des deux côtés (apical et basal), ainsi qu'au niveau nucléaire et vasculaire, une augmentation des Dp,

souvent à partir de la dose Noael et à partir de 60 jours, mais d'une façon plus marquante à 90 jours et avec la dose Nx2. Ces résultats contredisent ceux de **(Bouzezzane et Irida, 2023)** qui ont observé une baisse des Dps à l'âge de 60 et 90 jours avec la dose Noael et Nx2 de TMX administré aux parents. Cependant, au niveau de l'appareil reproducteur en développement les différentes doses de TMX ne semblent pas impacter la distribution des Dp ; ces dernières sont localisées au niveau des cellules de Leydig et vaisseaux sanguins du testicule des rats males quel que soit l'âge (20, 60, 90 jours).

Les changements d'expression et rarement de distribution des Dp pourraient traduire des modifications ou même des altérations structurales de la glande thyroïde et pourraient être accompagnées de modifications fonctionnelles, tels que l'inhibition de la captation de l'iode par les thyrocytes, modifiant la synthèse des hormones thyroïdiennes **(Groef et al ; 2006)**. Ainsi, plusieurs études ont montré que des métabolites du bisphénol A influe in vitro sur la transcription de gènes impliqués dans la fixation du Récepteur de l'hormone thyroïdienne à l'élément de réponse à l'hormone thyroïdienne **(Boas et al., 2006)**.

3. Conclusion

Dans cette étude d'initiation aux méthodes et techniques expérimentales dans le domaine de la biologie et de la physiologie animale en générale et de la reproduction en particulier, nous avons exploré l'impact du Thiaméthoxame sur les caractéristiques fonctionnelles, à savoir l'expression et la distribution des dystrophines, protéines submembranaire du cytosquelette.

Les résultats obtenus ont montré que l'exposition directe ou indirecte (via parents traités) de rats adultes (90 jours) au thiaméthoxame provoque des altérations potentiellement néfastes au niveau de la glande thyroïde. Les changements observés sont cependant différents selon que le traitement soit direct et les doses Noael ou Nx2 n'affectent pas systématiquement la structure thyroïdienne d'une façon plus prononcée que la dose DJA.

Quant aux Dp, elles sont bien mises en évidence dans les membranes apicales et basales, les noyaux et les parois vasculaires de la thyroïde des rats adultes. Le TMX semble avoir un impact négatif sur l'expression de ces protéines, surtout à des doses Noael ou Nx2 et d'une façon plus marquante chez les parents.

Chez les rats en développement, la variation des dimensions des follicules et aussi celle de l'épaisseur de l'épithélium thyroïdiens changent d'une façon irrégulière et plus apparente à partir de la dose Noael chez les rats âgés de 20, 60, et 90 jours.

Au cours du développement, la teneur des Dp semble subir une augmentation cohérente sur les deux côtés (apical et basal) folliculaires, les noyaux et les vaisseaux, mais d'une façon plus marquante à 90 jours et avec la dose Nx2.

Notre étude reste préliminaire et les résultats obtenus ne permettent pas de tirer des conclusions irrévocables. Il serait donc pertinent de la reprendre en augmentant le nombre d'animaux et aussi par :

- Une analyse des paramètres hormonaux.
- Une évaluation des effets trans-générationnels au-delà de la première génération.
- L'étude des mécanismes d'action du Thiaméthoxame sur l'axe hypothalamo-hypophysaire et ses répercussions sur la fonction thyroïdienne.
- Des études de toxicité chronique afin d'évaluer les risques pour la santé humaine

Références Bibliographiques

A

Acharyya S, Villalta SA, Bakkar N, Bupha-Intr T, Janssen PM, Carathers M, Li ZW, Beg AA, Ghosh S, Sahenk Z, Weinstein M, Gardner KL, Rafael-Fortney JA, Karin M, Tidball JG, Baldwin AS, Guttridge DC. Interplay of IKK/NF-kappaB signaling in macrophages and myofibers promotes muscle degeneration in Duchenne muscular dystrophy. *J Clin Invest.* 2007 Apr;117(4):889-901.

Adams, M. E., Kramarcy, N., Krall, S. P., Rossi, S. G., Rotundo, R. L., Sealock, R. et Froehner, S. C. (2000).

AFM Téléthon, Avancées dans les dystrophies musculaires de Duchenne et de Becker, Juin 2021

Ahn AH, Kunkel LM. The structural and functional diversity of dystrophin. *Nat Genet.* 1993 Apr;3(4):283-91. Review.

Ait El Cadi, M., El Jaoudi, R., Bouslimane, Y., Bouklouze, A., Cherrah, Y., 2011. Les perturbateurs endocriniens : quel risque pour la santé ? *mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie*, 13, 102–9. <https://doi.org/doi:10.1684/mte.2011.0352>.

Albrecht DE, Sherman DL, Brophy PJ, Froehner SC. The ABCA1 cholesterol transporter associates with one of two distinct dystrophin-based scaffolds in Schwann cells. *Glia.* 2008 Apr 15;56(6):611-8

Anderson, J.C., C. Dubetz et V.P. Palace (2015). “Neonicotinoids in the Canadian aquatic environment: A literature review on current use products with a focus on fate, exposure, and biological effects”. *Science of the Total Environment* 505: 409-422.

Aouimeur.T., Mallouk. A., Melazem. L., 2022. Etude des effets néfastes du pesticide néonicotinoides sur la santé humaine et l’environnement.

Aragón J, González-Reyes M, Romo-Yáñez J, Vacca O, Aguilar-González G, Rendón A, Vaillend C, Montañez C. Dystrophin Dp71 Isoforms Are Differentially Expressed in the Mouse Brain and Retina: Report of New Alternative Splicing and a Novel Nomenclature for Dp71 Isoforms. *Mol Neurobiol.* 2018 Feb;55(2):1376-1386

Aragón J, González-Reyes M, Romo-Yáñez J, Vacca O, Aguilar-González G, Rendón A, Vaillend C, Montañez C. Dystrophin Dp71 Isoforms Are Differentially Expressed in the Mouse Brain and Retina: Report of New Alternative Splicing and a Novel Nomenclature for Dp71 Isoforms.

Attia H et Beghoura I. (2020). La toxicité d'un néonicotinoïde thiaméthoxame à l'égard d'hélix aspersa. Mémoire de Master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

Auriol M., Filali-Meknassi Y., Tyagi R., (2007). Présence et devenir des hormones stéroïdiennes dans les stations de traitement des eaux usées. *rseau* , Vol 20, pp89–108.

Austin RC, Howard PL, D'Souza VN, Klamut HJ, Ray PN. Cloning and characterization of alternatively spliced isoforms of Dp71. *Hum Mol Genet.* 1995 Sep;4(9):1475-83.

Ayad-Mokhtari N, 2012, identification des pesticides dans l'agriculture et les problèmes d'environnement liés, mémoire de magister, Université d'oran, p 8.

B

Baos, Raquel, Julio Blas, Gary R. Bortolotti, Tracy A. Marchant, et Fernando Hiraldo.2006.« Adrenocortical Response to Stress and Thyroid Hormone Status in Free-Living Nestling White Storks (*Ciconia Ciconia*) Exposed to Heavy Metal and Arsenic Contamination ». *Environmental Health Perspectives* 114 (10): 1497-150.

Bar S, Barnea E, Levy Z, Neuman S, Yaffe D, Nudel U. A novel product of the Duchenne muscular dystrophy gene which greatly differs from the known isoforms in its structure and tissue distribution. *Biochem J.* 1990 Dec 1;272(2):557-60

Bar S, Barnea E, Levy Z, Neuman S, Yaffe D, Nudel U. A novel product of the Duchenne muscular dystrophy gene which greatly differs from the known isoforms in its structure and tissue distribution. *Biochem J.* 1990 Dec 1;272(2):557-60

Barbee, G. C., & Stout, M. J. (2009). Comparative acute toxicity of neonicotinoid and pyrethroid insecticides to non-target crayfish (*Procambarus clarkii*) associated with rice–crayfish crop rotations. *Pest Management Science:formerly Pesticide Science*, 65(11), 1250-1256.

Barbier M.G., (2011). Rapport sur les perturbateurs endocriniens, le temps de la précaution | Vie publique, rapport du sénat N: 765, 131p <https://www.senat.fr/rap/r10-765/r10-7651.pdf>

Bazzi LH. 2010. Etude de la persistance de quelques pesticides dans la culture du haricot vert dans la région de Souss Massa, Thèse de doctorat en science, Spécialité environnement, Université Ibn Zohr, Ecole nationale des sciences appliquées, Agadir, p139.

Ben Sghaier R.,(2017). Perturbateurs endocriniens dans le milieu aquatique : « Développement analytique et faisabilité de traitement ». Thèse de doctorat. Université de Lille, Lille, 199p.

Benziane C., 2012. Effet toxique des résidus des pesticides utilisés Sur la flore de la région de Sétif. Thèse présentée pour l'obtenir diplôme de doctorat. pp : 83

Bies RD, Phelps SF, Cortez MD, Roberts R, Caskey CT, Chamberlain JS. 1992. Human and murine dystrophin mRNA transcripts are differentially expressed during skeletal muscle, heart, and brain development. *Nucleic Acids Res* 20(7):1725-31

Bies RD, Phelps SF, Cortez MD, Roberts R, Caskey CT, Chamberlain JS. 1992. Human and murine dystrophin mRNA transcripts are differentially expressed during skeletal muscle, heart, and brain development. *Nucleic Acids Res* 20(7):1725-31

Blake DJ, Weir A, Newey SE, Davies KE. Function and genetics of dystrophin and dystrophin-related proteins in muscle. *Physiol Rev.* 2002 Apr;82(2):291-329. Review.

Blake DJ, Weir A, Newey SE, Davies KE: Function and genetics of dystrophin and dystrophin-related proteins in muscle. *Physiol Rev* 2002, 82:291–329.

Boukrou Lydia, Chaboub Tinhinane. 2018. Etude préliminaire portant sur l'adsorption de deux pesticides (abamectine et deltaméthrine) sur quelques biomasses bactériennes sèches, Mémoire de Master. UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU, Spécialité Biotechnologie microbienne ,P4-5.

Bouzezzane et Irida. 2023., Mémoire de Master. UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU. Spécialité biologie et physiologie de la reproduction.

Brouet, C. 2011. “Les pathologies thyroïdiennes: enquêtes sur le ressenti des Patients.

Brtles., 1988. Guide des plantes du bassin méditerranéen Ed française p :252.

Buckley NA., Eddleston M., Li Y., Bevan M., Robertson J., Oximes. 2011. « For acute organophosphate pesticide poisoning». *Cochrane SystRev.*

Byers TJ, Lidov HG, Kunkel LM: An alternative dystrophin transcript specific to peripheral nerve. *Nat Genet*, 4:77–81

C

Carbo, L, E.F.G.C. Dores et M.L. Ribeiro (2008). Determination of pesticides multiresidues in shallow groundwater in a cotton-growing region of Mato Grosso, Brazil. *J Braz Chem Soc* :1111—1117

Calvet.R.2003. le sol proprieties et function. France agricole,Paris

Chagnon, M., Kreutzweiser, D., Mitchell, E. A., Morrissey, C. A., Noome, D. A., & Van der Sluijs, J. P. (2015). Risks of large-scale use of systemic insecticides to ecosystem functioning and services. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 119-134.

Chan, Y. M., Bonnemann, C. G., Lidov, H. G. et Kunkel, L. M. (1998). Molecular organization of sarcoglycan complex in mouse myotubes in culture. *J. Cell Biol.* 143, 2033-2044. Chao, D. S., Silvagno, F. et Bredt, D. S. (1998).

Chaussinand L., (2015). les perturbateurs endocriniens. Université de Québec à Chicoutimi,Québec.30p.

Chevalier N., Fénichel P., (2016). Obésité, diabète de type 2 et perturbateurs endocriniens. *Presse Médicale*, Vol.45, pp.88–97.

Cicolella, A., (2011). Évaluation des risques et perturbateurs endocriniens : le changement de paradigme. *Research Gate*, Vol.3,pp.53-55

Coffey 1992] A. J. Coffey, R. G. Roberts, E. D. Green, C. G. Cole, R. Butler, R. Anand,

Complete cloning of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) cDNA and preliminary

Culligan K, Ohlendieck K. Diversity of the Brain Dystrophin-Glycoprotein Complex. *J Biomed Biotechnol.* 2002;2(1):31-36

Cossi Paula Fanny , Herbert Lucila Thomsett , Yusseppone María Soledad , Pérez Analía Fernanda , Kristoff Gisela (2020) Toxicity evaluation of the active ingredient acetamiprid and a commercial formulation (Assail® 70) on the non-target gastropod Biomphalaria straminea (Mollusca Planorbidae) *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Volume 192, 1 April 2020, 110248

D

David D, George IA, Peter JV. Toxicology of the newer neonicotinoid insecticides: imidacloprid poisoning in a human. *Clin Toxicol* 2007;45:485–6.

D'Souza VN, Nguyen TM, Morris GE, Karges W, Pillers DA, Ray PN. A novel dystrophin isoform is required for normal retinal electrophysiology. *Hum Mol Genet.* 1995 May;4(5):837-42

Dulac J., and Orgiazzi J., 2015. Thyroïdites .*EMC -Endocrinol. – Nutr,* (12): p.1-12

Durbeej M, Jung D, Hjalt T, Campbell KP, Ekblom P. Transient expression of Dp140, a product of the Duchenne muscular dystrophy locus, during kidney tubulogenesis. *Dev Biol.* 1997 Jan 15;181(2):156-67

De Groef, Bert, Brigitte R Decallonne, Serge Van Der Geyten, Veerle M Darras, et Roger Bouillon. 2006. « Perchlorate versus other environmental sodium/iodide symporter inhibitors: potential thyroid-related health effects ». *European Journal of Endocrinology* 155 (1): 17-25.

Durham, Jennifer T., Howard K. Surks, Brian M. Dulmovits, et Ira M. Herman. 2014. « Pericyte Contractility Controls Endothelial Cell Cycle Progression and Sprouting: Insights into Angiogenic Switch Mechanics ». *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 307 (9): 878-92

E

E. Truilhe., 2023. Revue juridique de l'environnement, pesticide action Network, ou la redoutable efficacité du juge européen en matière de néonicotinoïde.

El habib El., (2013). Processus physico-chimique d'élimination des pesticides dans l'environnement: cas de l'Imazéthapyrm thèse de doctorat., univesité Mohammed V-AGDAL Rabat., pp 109.

Evans NP, Misyak SA, Robertson JL, Bassaganya-Riera J, Grange RW. Immune-mediated mechanisms potentially regulate the disease time-course of duchenne muscular dystrophy and provide targets for therapeutic intervention. *PM R.* 2009 Aug; 1(8):755-68

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

F

F. Giannelli et D. R. Bentley. Construction of a 2.6-Mb contig in yeast artificial

Fillatre Y. 2011. Produits phytosanitaires, Développement d'une méthode d'analyse multi résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat, spécialité chimie analytique, Université ANGERS, p267.

Françoise BC., Laurence L., 2011. Cancers thyroïdiens de souche folliculaire actualités sur la prise en charge. Médecine clinique endocrinologie et diabète, 50:P. 12-20.

Feki A, Kammoun I, Naifar M, Makni Ayadi F, Hakim A, Ben Amara I, (2021). Etude du profil biochimique chez des rats traités avec des doses croissantes en thiaméthoxame study of the biochemical profile in rats treated with increasing doses of thiamethoxam. Université de Sfax-Tunisie. N°37; Fév 21 ; 55 – 63.

G

Gaborit B., 2014. Hormone production, R 9: p12.

Gasmi Salim, Neurotoxicité de deux pesticides (Acétamipride et Deltaméthrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat, 2018, Thèse Doctorat, Université de Tébessa. 217p.

Gasmi, S., 2018. Neurotoxicité de deux pesticides (Acétamipride et Deltaméthrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat, thèse Doctorat, Université de Tébessa, pp.217

Gibbons David, Morrissey Christy & Mineau Pierre (2014). Examen des effets directs et indirects des néonicotinoïdes et du fipronil sur la faune des vertébrés, Environ Sci Pollut Res 22 :103-115

H

Hage M., Zantout MS., Azar ST., 2011. Thyroid disorders and diabetes mellitus. Journal of thyroid research, 7(3): p1-4.

Harout, D. 2008 “Etude bibliographique de l'évolution du diagnostic clinique de L'hypothyroïdie et de l'utilisation de lévothyroxine dans l'espèce canin.” Thèse de médecine. École nationale vétérinaire de Lyon 109.

Hataba, A. A., Keshta, A. T., Mead, H., & El-Shafey, N. (2014). Hematological, Biochemical and Histological alterations induced by oral administration of Thiamethoxam and Acetamiprid in male rats. *Biochemistry Letters*, 10(1), 113-125.

Hugnot JP, Gilgenkrantz H, Vincent N, Chafey P, Morris GE, Monaco AP, Berwald-Netter Y, Koulakoff A, Kaplan JC, Kahn A, et al. Distal transcript of the dystrophin gene initiated from an alternative first exon and encoding a 75-kDa protein widely distributed in non-muscle tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992 Aug 15;89(16):7506-10

Hassani, Abdessalam Kacimi El, Matthieu Dacher, Vincent Gary, Michel Lambin, Monique Gauthier, et Catherine Armengaud. 2014. « Effets sublétaux de l'Acétamipride et du Thiamethoxam sur le comportement de l'abeille (*Apis mellifera*) ».

J

J Rare Dis, vol. 7, no. 1, page 45, Jul 2012.

J. C. et Campbell, K. P. (1997). Sarcospan, le composant transmembranaire de 25 kDa du complexe dystrophine-glycoprotéine. *J. Biol. Chem.* 272, 31221-31224.

Jeschke P, Nauen R (2008) Neonicotinoids-from zero to hero in insecticide chemistry. *Pest Manag Sci* 64: 1084-1098

Jeschke P, Nauen R, Schindler M, Elbert A. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *J Agric Food Chem* 2011;59:2897–908.

Jeschke, P., Nauen R., Schindler, M., Elbert, A., 2011. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *J Agric Food Chem*, 59 (2011), pp. 2897–2908.

Jeschke, P., R. Nauen et M.E. Beck (2013). “Nicotinic acetylcholine receptor agonists: à milestone for modern crop protection”. *Angewandte Chemie International Edition* 52: 9464-9485.

Jeschke, P., R. Nauen et M.E. Beck (2013). “Nicotinic acetylcholine receptor agonists: à milestone for modern crop protection”. *Angewandte Chemie International Edition* 52: 9464-9485.

Jung D, Filliol D, Metz-Boutigue MH, Rendon A (1993) Characterization and subcellular localization of the dystrophin-protein 71 (Dp71) from brain. *Neuromuscul Disord* 3: 515–518.

Jirasakuldech, Benjaporn, George C Schussler, Maria G Yap, Hazel Drew, Alan Josephson, e-Josef Michl. 2000. « A Characteristic Serpin Cleavage Product of Thyroxine-Binding Globulin Appears in Sepsis Sera ». *The Endocrine Society* 85 (11).

Johenson, Reed M, Ellis, Marion D, Mullin, Christopher.A., 2009. pesticides and honey bee toxicity USA . *Apidologi*2009.41 (3);312-331.

K

Kameya, S., Miyagoe, Y., Nonaka, I., Ikemoto, T., Endo, M., Hanaoka, K., Nabeshima, Y. et Takeda, S. (1999). L'interruption du gène de l'alpha1-syntrophine entraîne l'absence de nitric-oxyde synthase de type neuronal au niveau du sarcolemme mais n'induit pas de dégénérescence musculaire. *J. Biol. Chem.* **274**, 2193-2200.

Kaplan, Jamel Chelly, France Leturcq, Frédérique Barloy-Hubler et Elisabeth Le Rumeur.

Kneussel M, Brandstätter JH, Laube B, Stahl S, Müller U, Betz H. Loss of postsynaptic GABA(A) receptor clustering in gephyrin-deficient mice. *J Neurosci.* 1999 Nov 1;19(21):9289-97

Koenig M, Monaco AP, Kunkel LM. The complete sequence of dystrophin predicts a rod-shaped cytoskeletal protein. *Cell.* 1988 Apr 22;53(2):219-28

Koenig M, Monaco AP, Kunkel LM: The complete sequence of dystrophin predicts a rod-shaped cytoskeletal protein. *Cell* 1988, 53:219–226. 7.

Kress, E. 2007. “ Etude du rôle du récepteur aux hormones thyroïdiennes TRalpha 1

L M Kunkel. Isolation of candidate cDNAs for portions of the Duchenne muscular

L

Lannoy C., (2017). Les perturbateurs endocriniens : Etat actuel des connaissances et médecine bucco-dentaire. Thèse de doctorat. Université du Droit et de la Santé, Lille.139p.

Lederfein D, Levy Z, Augier N, Mornet D, Morris G, Fuchs O, Yaffe D, Nudel U.A 71-kilodalton protein is a major product of the Duchenne muscular dystrophy gene in brain and other nonmuscle tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992 Jun 15;89(12):5346-50

Li G, Liu X, Liu Z, Su Z. Interactions of connexin 43 and aquaporin-4 in the formation of glioma-induced brain edema. *Mol Med Rep.* 2015 Feb;11(2):1188-94.

Li H, Mittal A, Makonchuk DY, Bhatnagar S, Kumar A. Matrix metalloproteinase-9 inhibition ameliorates pathogenesis and improves skeletal muscle regeneration in muscular dystrophy. *Hum Mol Genet.* 2009 Jul 15;18(14):2584-98

LidovHG, ByersTJ, KunkelLM. Thedistributionofdystrophininthemurinecentralnervous system: an immunocytochemical study. *Neuroscience.* 1993 May;54(1):167-87

Lifante, J.C., F. Mancini, F. Mithieux, N. Berger, A. Latreche, et J.L. Peix. 2001. « Résultats des résections trachéales ou œsophagiennes dans les carcinomes invasifs de la thyroïde ». *Annales de Chirurgie* 126 (3): 236-41.

Lumeng CN, Phelps SF, Rafael JA, Cox GA, Hutchinson TL, Begy CR, Adkins E, Wiltshire R, Chamberlain JS. 1999. Characterization of dystrophin and utrophin diversity in the mouse. *Hum Mol Genet*

M

Maienfisch, P., Bandl, F., Kobel, W., Rindlisbacher, A., & Sen, R. (1999). CGA293'343: a novel, broad-spectrum neonicotinoid insecticide. In: *Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor* (eds. I. **Maienfisch, P., Huerlimann, H., Rindlisbacher, A., Gsell, L., Ettwiler, H., Haettenschwiler, J., Syeger, E., & Walti, M. (2001).** The discovery of thiamethoxam: a second-generation neonicotinoid. *Pest. Managem. Scien, London*, **57 (2):** 165-176

Mairif S., contribution à l'étude de l'effet toxique des pesticides à usage domestique utilisé en Algérie., 2015. thèse de doctorat. univesité 8 mai 1945 Guelma.,154p.

Mammucari C, Milan G, Romanello V, Masiero E, Rudolf R, Del Piccolo P, Burden SJ, Di Lisi R, Sandri C, Zhao J, Goldberg AL, Schiaffino S, Sandri M. FoxO3 controls autophagy in skeletal muscle in vivo. *Cell Metab.* 2007 Dec;6(6):458-71

Marieb EN., Katja H., 2010. Anatomie et physiologie humain. 8ème édition, Canada. Nouveaux horizons, 1293 :p 683-729.

Mnif W., Pillon, A., Balaguer P., Bartegi A., (2007). Les perturbateurs endocriniens xénoestrogéniques : mécanismes moléculaires et méthodes de détection. *Therapies*, Vol.62, pp.369–386.

Muntoni F, Torelli S, Ferlini A. Dystrophin and mutations : one gene, several proteins, multiple phenotypes. *Lancet Neurol.* 2003;2(12):731-740. doi:10.1016/s1474-4422(03)00585-4.

N

Nicolas A, Lucchetti-Miganeh C, Yaou RB, et al. Assessment of the structural and functional impact of in-frame mutations of the DMD gene, using the tools included in the eDystrophin online database. *Orphanet J Rare Dis.* 2012;7:45. doi:10.1186/1750-1172-7-45.

Nicolas A. Etude in silico de dystrophines tronquées dans les myopathies de Duchenne et de Becker. 2012 : 195.

Nicolle-Mir L. Perchlorate dans l'eau de boisson et fonction thyroïdienne des nouveau-nés. *Environnement risques et santé.* 2011,10(3),173-174.

P

Pescatori M, Broccolini A, Minetti C, Bertini E, Bruno C, D'amico A, Bernardini C, Mirabella M, Silvestri G, Giglio V, Modoni A, Pedemonte M, Tasca G, Galluzzi G, Mercuri E, Tonali PA, Ricci E. Gene expression profiling in the early phases of DMD: a constant molecular signature characterizes DMD muscle from early postnatal life throughout disease progression. *FASEB J.* 2007 Apr;21(4):1210-26

Pisa LW, Amaral-Rogers V, Belzunces LP, Bonmatin JM, Downs CA, Goulson D, Kreuzweiser DP, Krupke C, Liess M, McField M, Morrissey CA, Noome DA, Settele J, Simon-Delso N, Stark JD, Van der Sluijs JP, Van Dyck H, Wiemers M (2015) Effets des néonicotinoïdes et du fipronil sur les invertébrés non ciblés. *Environ Sci Pollut Res Int* 22:68–102.

R

R. A. et Campbell, K. P. (2000). Les souris déficientes en Sarcospan conservent une fonction musculaire normale. *Mol. Cell. Biol.* 20, 1669- 1677.

Ricard L.-E., (2011). Les perturbateurs endocriniens dans l'environnement de l'enfant et de l'adolescent et les risques pour la santé. L'exemple des phtalates et du bisphénol A .Thèse de doctorat. Université d'Henri Poicare, Nancy.175p.

Roberts 1993] R. G. Roberts, A. J. Coffey, M. Bobrow et D. R. Bentley. Exon structure of

Ryndak-Swierez A., 2012. Ontogenèse, Anatomie, Histologie et physiologie de la thyroïde. In

S

SchererSS, Wrabetz.L.Molecularmechanismsofinheriteddemyelinatingneuropathies.Glia. 2008;56(14):1578–1589. doi:10.1002/glia.20751

Simon-Delso, N., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L. P., Bonmatin, J. M., Chagnon, M., Downs, C., ...&Wiemers, M. (2015). Systemic insecticides

Simon-Delso, Noa, Gilles San Martin, Etienne Bruneau, Laure-Anne Minsart, Coralie Mouret, et Louis Hautier. 2014. « Honeybee Colony Disorder in Crop Areas: The Role of Pesticides and Viruses ». Édité par Fabio S. Nascimento. *PLoS ONE* 9 (7): e103073.

Soto A.M., (2011). Le changement de paradigme des perturbateurs endocriniens. *Médecine Longévité*, Vol.3, pp.104–107.

Sultan C., Gaspari L., Kalfa N., Paris F., (2011). Perturbateurs endocriniens environnementaux et maladies endocriniennes de l'enfant.*Médecine Longévité*,Vol.3, pp.108–110

Surks.ML, Ortiz. E, Daniels. GH, Sawin. CT, Col. NF, Cobin RH.2004. subclinical thyroid disease :scientific review and guidelines for diagnosis and management.2004. 291(2) :288.

Simon-Delso, N, V Amaral-Rogers, L P Belzunces, Jean-Marc Bonmatin, M Chagnon, C Downs, L Furlan, et al. 2014. « Pesticides néonicotinoïdes. Tendances, usages et modes d'action des métabolites »

Shehatta EM Shalaby,Abdel Razik H Farrag2 et Gamila SM El-Saed3. (2010). Potentiel toxicologique du thiaméthoxame insecticide sur les rats albinos et ses résidus dans certain organe, 2010,5,2 :165-172

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

Syngenta., 2004. Fiche de Données de Sécurité –Actara 25 WG.

T

TaylorPJ, BettsGA, MaroulisS, GilissenC, PedersenRL, MowatDR, JohnstonHM, Buckley MF. Dystrophin gene mutation location and the risk of cognitive impairment in Duchenne muscular dystrophy. *PLoS One.* 2010 Jan 20;5(1):e8803.

Thèse de médecine.” Université d’Henri poinare-nancy1.110.

Tidball JG, Villalta SA. Regulatory interactions between muscle and the immune system during muscle regeneration. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2010 May;298(5):R1173-87. doi: 10.1152/ajpregu.00735.2009. Epub 2010 Mar 10. Review

Tomlin CDS. 2006. The Pesticide Manual. 13ème édition. BritishCropProtectionCouncil,Surrey. P 697-698.

Tramalloni, J. Monopeysen, H. 2005. “ Échographie de la thyroïde”. Collection D’imagerie médicale-formation. 17

Truchon G., Tardif R J., Drolet D., Levesque M., Boucher J., (2012). « Guide technique T-03. Guide de surveillance biologique de l’exposition. Stratégie de prélèvement et interprétation des résultats ». Quebec : L’institut de recherche Robert- Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST).

U

Uneme, H. (2011). “Chemistry of clothianidin and related compounds”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 2932-2937.

V

Vlaeminck-Guillem V., 2003. Structure et physiologie thyroïdiennes. *Endocrinol Graeppi-* vol. 50, no. 3, pages 509–17, Jul 1987.

W

W. Jean-Louis (Ed.). Les malades de la thyroïde : (p. 232).

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

Williamson, R. A., Henry, M. D., Daniels, K. J., Hrstka, R. F., Lee, J. C., Sunada, Y., Ibraghimov-Beskrovnaya, O. et Campbell, K

Y

Yamamoto, J.E. Casdia),.Springer, Tokyo, pp: 177-209

Yang L, Zhao YL, Zhao CY, Li HH, Wang MJ, Morris-Natschke SL, Qian K, Lee KH, Liu YQ (2014) Etudes de conception, de synthèse, de structure cristalline, de bioactivité et d'amarrage moléculaire d'un nouveau néonicotinoïde dérivé de sulfonilamidine analogues. *Med Chem Res* 23:5043–5057.

Résumé

Les néonicotinoïdes, sont largement utilisés en agriculture pour leur efficacité en tant qu'insecticide. Cependant, leurs potentiels effets sur la santé animale et humaine en particulier, suscitent des préoccupations de plus en plus croissantes. La plupart des molécules de cette famille sont considérées comme des perturbateurs endocriniens. La thyroïde doit en être particulièrement sensible. En sécrétant les hormones comme la triiodothyronine (T3) et la thyroxine (T4), la glande thyroïde intervient dans plusieurs fonctions physiologiques, en l'occurrence : le développement cérébral, la croissance en général et les régulations métaboliques.

Cette étude avait pour objectif d'évaluer les effets d'une exposition sub-chronique au Thiaméthoxame (TMX), un néonicotinoïde de la dernière génération, sur la fonction thyroïdienne. Pour ce faire, nous avons examiné l'expression et la distribution des protéines submembranaires, les dystrophines dans les structures de la thyroïde chez les rats *Wistar* mâles soumis au TMX et leurs descendants, en utilisant une analyse immunohistochimique.

Douze rats *Wistar* mâles ont été répartis en quatre groupes : un groupe témoin et trois groupes traités avec des doses croissantes de TMX (DJA : 0,026 mg/kg, NOAEL : 2,6 mg/kg, NOAELx2 : 5,2 mg/kg) pendant 10 semaines. Les thyroïdes des parents et leurs descendants mâles (20, 60, et 90 jours) ont été prélevées et analysées pour repérer d'éventuels changements d'expression et de localisation des dystrophines.

Les résultats obtenus ont montré que l'exposition directe ou indirecte (via parents traités) de rats adultes (90 jours) au TMX provoque des altérations potentiellement néfastes au niveau de la glande thyroïde. Les changements observés sont cependant différents selon que le traitement soit direct et les doses Noael ou Nx2 n'affectent pas systématiquement la structure thyroïdienne d'une façon plus prononcée que la dose DJA. Quant aux Dp, elles sont bien mises en évidence dans les membranes apicales et basales, les noyaux et les parois vasculaires de la thyroïde des rats adultes. Le TMX semble avoir un impact négatif sur l'expression de ces protéines, surtout à des doses Noael ou Nx2 et d'une façon plus marquante chez les parents.

Chez les rats en développement, la variation des dimensions des follicules et aussi celle de l'épaisseur de l'épithélium thyroïdiens changent d'une façon irrégulière et plus apparente à partir de la dose Noael chez les rats âgés de 20, 60, et 90 jours. En ce qui concerne les Dp au cours du développement, leur teneur semble subir une augmentation cohérente sur les deux côtés (apical et basal) folliculaires, les noyaux et les vaisseaux, mais d'une façon plus marquante à 90 jours et surtout avec la dose Noael x2.

Ces résultats suggèrent les risques potentiels du TMX pour le système endocrinien, notamment pour la fonction thyroïdienne, d'où, la nécessité d'une surveillance renforcée de l'utilisation des néonicotinoïdes.

Mots-clés : Néonicotinoïde, Thiaméthoxame, Perturbateurs endocriniens, Thyroïde, Dystrophines, Rat

Summary

Neonicotinoids are widely used in agriculture for their effectiveness as an insecticide. However, their potential effects on animal and human health in particular are a growing concern. Most of the molecules in this family are considered endocrine disruptors. The thyroid must be particularly sensitive to it. By secreting hormones such as triiodothyronine (T3) and thyroxine (T4), the thyroid gland is involved in several physiological functions, in this case: brain development, growth in general and metabolic regulations.

The objective of this study was to evaluate the effects of sub-chronic exposure to Thiamethoxam (TMX), a new-generation neonicotinoid, on thyroid function. To do this, we examined the expression and distribution of submembrane proteins, dystrophins in thyroid structures in *male TMX-treated Wistar rats and their progeny, using immunohistochemical analysis*.

Twelve male *Wistar* rats were divided into four groups: one control group and three groups treated with ascending doses of TMX (ADI: 0.026 mg/kg, NOAEL: 2.6 mg/kg, NOAELx2: 5.2 mg/kg) for 10 weeks. The thyroid glands of the parents and their male offspring (20, 60, and 90 days) were sampled and analyzed for possible changes in dystrophin expression and location.

The results obtained showed that direct or indirect exposure (via treated parents) of adult rats (90 days) to TMX causes potentially harmful alterations in the thyroid gland. However, the changes observed are different depending on whether the treatment is direct and the Noael or Nx2 doses do not systematically affect thyroid structure more pronouncedly than the ADI dose. As for Dp, they are well evidenced in the apical and basal membranes, nuclei and vascular walls of the thyroid of adult rats. TMX appears to have a negative impact on the expression of these proteins, especially at Noael or Nx2 doses and more markedly in parents.

In developing rats, the variation in follicle size and also in thyroid epithelial thickness changes in an irregular and more apparent manner from the Noael dose in rats aged 20, 60, and 90 days. As far as Dp during development is concerned, its content seems to undergo a consistent increase on both follicular (apical and basal) sides, the nuclei and the vessels, but more markedly at 90 days and especially with the Noael x2 dose.

These results suggest the potential risks of TMX for the endocrine system, particularly for thyroid function, hence the need for enhanced monitoring of the use of neonicotinoids.

Keywords : Neonicotinoid, Thiamethoxam, Endocrine disruptors, Thyroid, Dystrophins, Rat