

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

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERRI DE TIZI-OUZOU



Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences biologiques

Spécialité :
Biologie et Physiologie de la Reproduction

Thème

**Effets du thiaméthoxame sur le développement
hépatique chez le rat : étude histologique et
immunohistochimique**

Présenté par

Yanis LAHIANI
Sofiane TIGHILT

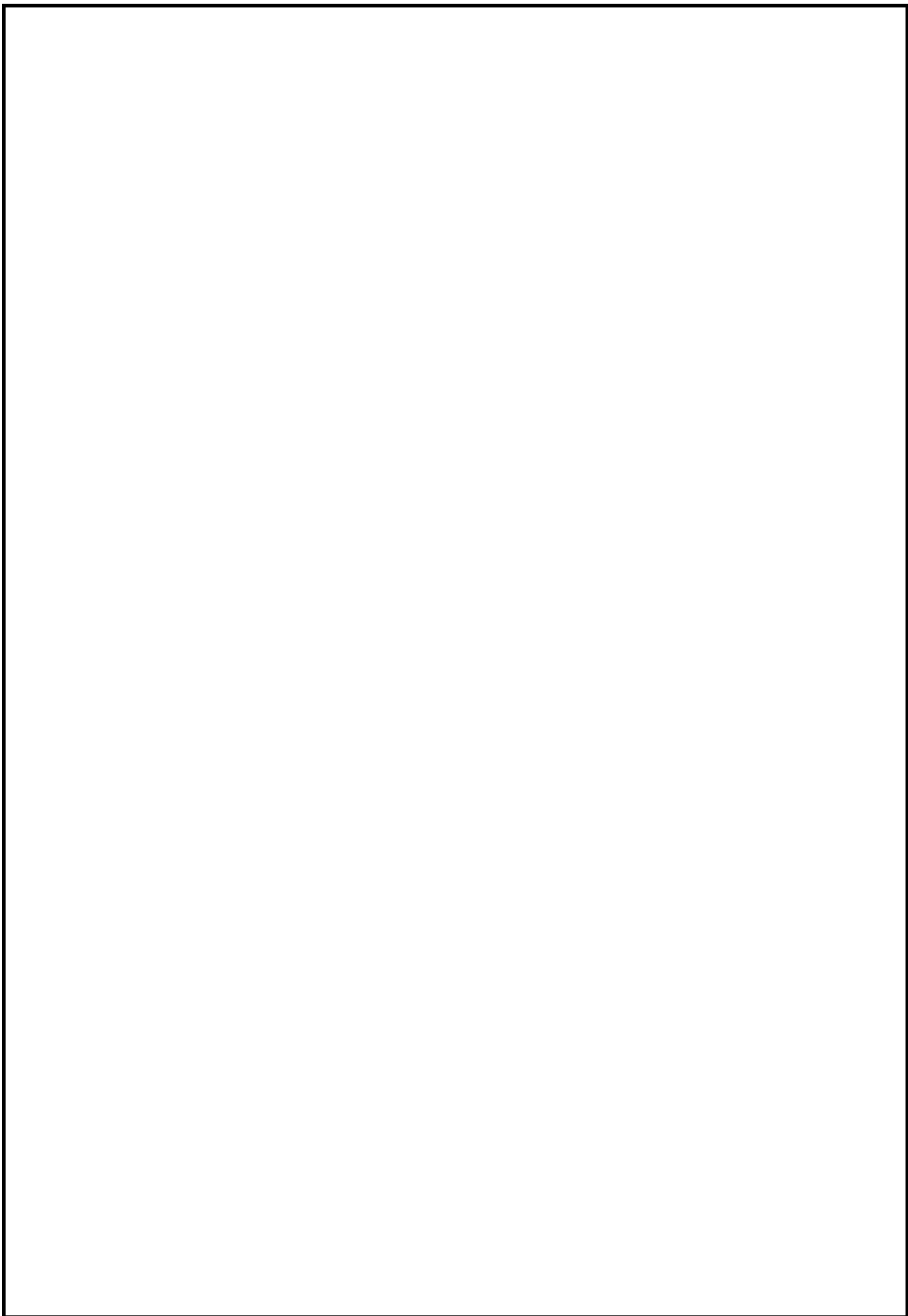
Mémoire soutenu devant le jury composé de :

M^{me} GUENDOZI S
M KHEDDACHE A
M TAHIZ
M^{me} TOUNSI F

MAA / FSBSA-UMMTO
MCB / FSBSA-UMMTO
MAA / FSBSA-UMMTO
Doctorante / FSB-USTHB

Promotrice
Président
Examineur
Co-promotrice

2024/2025



Remerciement

Nous tenons à exprimer notre sincère gratitude à toutes les personnes qui nous ont accompagnés et soutenus tout au long de l'élaboration de ce mémoire.

Nous remercions tout d'abord notre promotrice, **Mme GUENDOUZI S.**, pour sa disponibilité, ses conseils éclairés et son encadrement rigoureux. Son accompagnement tout au long de ce travail a été déterminant pour sa réalisation.

Nos remerciements s'adressent également à notre co-promotrice, **Mme TOUNSI F.**, ainsi qu'à l'ensemble de nos enseignants pour la qualité de leur enseignement, leur encadrement tout au long de notre parcours et leurs précieux conseils qui ont grandement contribué à la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons également à remercier le président du jury, **M. KHEDDACHE A.**, pour l'attention portée à notre travail et pour sa participation à l'évaluation de ce mémoire.

Sans oublier **M. TAHI Z.**, que nous remercions vivement d'avoir accepté de juger notre travail en qualité d'examineur.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance au personnel du **laboratoire d'anatomie pathologique du CHU de Tizi Ouzou** pour son accueil, sa disponibilité et le soutien technique apporté durant notre stage, qui a constitué une étape essentielle de la phase expérimentale de ce travail.

Enfin, nous tenons à remercier **l'ingénieur du laboratoire** de physiologie animale de Département des Sciences Biologiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, pour son aide précieuse.

Dédicaces

À toi, mon père Djafer,
Merci pour ta force tranquille, tes conseils simples mais toujours justes, et pour m'avoir appris tout, peu importe les circonstances. Ton soutien a été un pilier dans ce long parcours.

À toi, ma mère Houria,
Pour ton amour infini, ta douceur, et toutes ces prières silencieuses qui m'ont porté plus loin que tu ne peux l'imaginer. Ce mémoire est aussi un peu le tien.

À mon frère, Mustapha,
Merci pour ta présence et ton aide. Même sans trop de mots, tu m'as toujours fait sentir que je pouvais compter sur toi.

À Sofiane Tighilt,
Merci pour ton esprit d'équipe, ton aide précieuse durant notre parcours commun, et pour tous ces moments de partage et de complicité.

À mes amis,
Pour vos encouragements, votre amitié sincère et votre présence bienveillante. Vous avez apporté de la lumière dans les moments d'effort et de doute.

Yanis.

Dédicaces

À mes parents,
pour leur soutien constant et leurs repères tout au long de mon parcours.

À mon frère,
pour sa présence discrète mais toujours encourageante.

À mon binôme,
pour sa collaboration, l'investissement partagé dans la réalisation de ce mémoire et surtout,
pour sa patience.

À mes amis,
pour leur présence, leur bonne humeur et leur soutien au quotidien.

Sofiane.

SOMMAIRE

Introduction	1
I. Généralités sur les pesticides	3
1. Les pesticides.....	3
1.1 Définition des pesticides	3
1.2 Composition des pesticides.....	3
1.2.1 Substance active	3
1.2.2 Adjuvants.....	3
1.2.3 Solvants et diluants	3
1.2.4 Synergistes	4
1.2.5 Conservateurs et agents anti-UV	4
1.3 Classification des pesticides	4
1.3.1. Classification selon la cible	4
1.3.2. Classification selon la composition chimique	5
1.4 Mécanismes d'action des pesticides	7
1.4.1 Inhibition des enzymes vitales.....	7
1.4.2 Perturbation du système nerveux	7
1.4.3 Altération des processus hormonaux.....	7
1.5 Effets des pesticides sur l'environnement	8
1.5.1 Contamination des sols et de l'eau	8
1.5.2 Impact sur la biodiversité.....	8
1.5.3 Pollution de l'air.....	8
1.6 Effets des pesticides sur la santé humaine.....	8
1.6.1 Effets aigus	8

1.6.2 Effets chroniques.....	9
2. Les néonicotinoïdes	9
2.1. Définition et utilisation	9
2.2. Mode d'action.....	9
3. Le thiaméthoxame	10
3.1. Définition	10
3.2. Mode d'action.....	10
3.2.1. Effets sur la santé animale.....	11
3.2.2. Perturbations endocriniennes	11
3.2.3. Effets chez les plantes	12
II. Généralités sur le foie	12
1. Anatomie du foie.....	12
1.2 Vascularisation du foie.....	13
2. Histologie du foie.....	14
3. Physiologie du foie	17
3.1 Métabolisme	17
3.2 Détoxification	18
III. Généralités sur les dystrophines.....	19
1. Définition	19
2. Structure.....	20
2.1 Isoformes des dystrophines	20
3. Le complexe associé à la dystrophine	23
3.1 Complexe structural	23
3.2 Complexe signalétique	24
3.2.1 Sarcoglycanes	25

3.2.2 Dystrobrevines.....	25
3.2.3 Syntrophines.....	25
3.2.4 Sarcospan (SSPN)	25
3.2.5 Intégrine $\alpha 7\beta 1$	26
3.2.6 Biglycan	26
4.Utrophine.....	26
Matériel et méthodes	28
1. Matériels.....	27
1.1. Matériel biologique.....	27
1.1. Matériel non biologique.....	28
1.2.1 Produit testé.....	28
1.2.2 Produits utilisés	28
1.2.3 Matériels utilisés.....	28
2. Méthodes	28
2.1. Mise en lots des animaux.....	28
2.2. Préparation des lots de rats.....	29
2.3 Perfusion intracardiaque et prélèvement des organes	29
2.4. Post fixation du foie	30
2.5. Techniques histologiques	30
2.5.1. Déshydratation et éclaircissement.....	30
2.5.2. Imprégnation.....	31
2.5.3. Inclusion ou enrobage.....	31
2.5.4. Réalisation des coupes	31
2.5.5. Déparaffinage.....	32

2.5.6. Réhydratation.....	32
2.5.7. Coloration.....	33
2.5.8. Montage.....	34
2.6. Technique immunohistochimique.....	34
2.6.1. Protocole de réalisation de l'immunohistochimie.....	34
Chapitre III.....	50
Résultats et Discussion.....	50
1. Résultats Histologie.....	37
1.1. Observations chez les Adultes.....	37
1.1.1. Les parents (F0).....	37
1.1.2 Les descendants adultes de la première génération (F1 90j).....	39
1.2 Chez les animaux 20j (F1).....	41
1.3 Chez les animaux 60j (F1).....	43
2. Résultats Immunohistochimie.....	45
2.1. Chez les parents (F0) (figure 22).....	45
2.2. Chez les descendants adultes (F1, 90 jours) (figure 22).....	45
2.3 Chez les animaux de 20 jours (figure 23).....	47
2.4. Chez les animaux de 60 jours (figure 23).....	47
3. Discussion.....	50
3.1 Effet du Thiaméthoxame sur l'Histo-physiologie hépatique.....	50
3.1.2 Effet direct du Thiaméthoxame sur l'Histo-physiologie hépatique des parents	50
3.1.3 Effet indirect du Thiaméthoxame sur l'Histo-physiologie hépatique des descendants de première génération.....	51
3.2 Effet du Thiaméthoxame sur l'expression et la distribution des dystrophines au niveau de la structure Hépatique.....	52
Conclusion et perspectives.....	54
Références Bibliographiques.....	56

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Classification des pesticides.....	5
Figure 2 : Structure chimique du thiaméthoxame.....	10
Figure 3 : mécanisme d'action des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine lorsqu'ils sont exposés l'acétylcholine (a) et au thiaméthoxame (b).....	11
Figure 4 : Face postéro-inférieure du foie.....	13
Figure 5 : Foie <i>in situ</i> : système vasculaire et de conduit.....	14
Figure 6 : Lobules hépatiques.....	15
Figure 7 : Structure du lobule hépatique.....	15
Figure 8 : Schéma de la catalyse du système du cytochrome P450.....	18
Figure 9 : Schéma de la structure de la dystrophine.....	20
Figure 10 : A) Organisation du gène de la dystrophine, situé dans Xp21. B) La composition du domaine des différentes isoformes.....	21
Figure 11 : Le complexe des protéines associées à la dystrophine.....	23
Figure 12 : Machine à enrobage.....	31
Figure 13 : Microtome.....	32
Figure 14 : Bain marie et plaque chauffante.....	32
Figure 15 : Batterie de la réhydratation.....	33
Figure 16 : Montage des lames.....	34
Figure 17 : Solutions peroxydase block et protein block.....	35
Figure 18 : Coupes histologiques du foie chez les rats (Génération F0 parents) témoins (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiaméthoxame.....	38
Figure 19 : Coupes histologiques du foie chez les rats (Génération F1 J90) témoins (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiaméthoxame.....	40
Figure 20 : Coupes histologiques du foie chez les rats (Génération F1 J20) témoins (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiaméthoxame.....	42

Figure 21 : Coupes histologiques du foie chez les rats (Génération F1 J60) témoins (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiaméthoxame.....44

Figure 22 : Distribution de la dystrophine dans des coupes histologiques du foie chez les rats parents adultes(F0) et les rats de la 1^{re} génération âgés de 90 jours, traités au thiaméthoxame.....46

Figure 23 : Distribution de la dystrophine dans des coupes histologiques du foie chez les rats âgés de 20 jours et les rats âgés de 60 jours, traités au thiaméthoxame.....48

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Isoformes de la dystrophine.....	22
Tableau 2 : La position taxonomique du rat Wistar.....	28
Tableau 3 : répartition des lots de rats selon le traitement au TMX.....	29
Tableau 4 : Evaluation approximative de l'expression et de la distribution des dystrophines dans les structures histologiques du foie traité au thiaméthoxame.....	49

LISTE DES ABREVIATIONS

SDHI : inhibiteurs de la succinate déshydrogénase

TMX : thiaméthoxame

ARN : acide ribonucléique

DMD : Dystrophin gene

BMD : Dystrophie musculaire de Becker

IHC : immunohistochimie

T : Témoins

DJA : dose journalière admissible

NOAEL : dose sans effet nocif observable

NOAEL x2 : double dose de NOAEL

PAF : paraformaldéhyde

NaCl : chlorure de sodium

µm: micromètre

PAS : acide périodique de schiff

PBS : Solutions peroxydase block et protein block

VCL : veine centrolobulaire

REL : Réticulum endoplasmique lisse.

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.

FAD : Flavine Adénine Dinucléotide.

FMN : Flavine Mononucléotide.

DPC : complexe dystrophine-protéines associées.

ROS : Espèces Réactives de l'Oxygène.

NOS : Nitric Oxide Synthase.

NO : oxyde nitrique.

ALT : Alanine Aminotransférase

AST : Aspartate Aminotransférase

VLDL : Very Low-Density Lipoprotein → Lipoprotéines de très basse densité, transportent les triglycérides du foie vers les tissus.

LDL : Low-Density Lipoprotein → Lipoprotéines de basse densité, connues comme le "mauvais cholestérol".

HDL : High-Density Lipoprotein → Lipoprotéines de haute densité, appelées "bon cholestérol", elles ramènent le cholestérol vers le foie.

PDZ : Post-synaptic density protein (PSD95), Drosophila disc large (Dlg1), Zonula occludens-1 (ZO-1).

GLOSSAIRE

Dose Journalière Admissible (DJA) : Quantité de substance chimique qu'un être humain ou un animal peut ingérer quotidiennement, tout au long de sa vie, sans risque appréciable pour sa santé. Elle s'exprime en milligrammes de substance par kilogramme de poids corporel. Elle est calculée selon la formule suivante :

$$DJA = NOAEL / 100$$

Non Observed Adverse Effect Level (NOAEL) : La NOAEL désigne la dose maximale d'une substance à laquelle aucun effet toxique n'a été observé lors des études toxicologiques. C'est une valeur de référence utilisée pour déterminer la DJA.

Épigastre : Région anatomique située dans la partie centrale supérieure de l'abdomen, entre les deux hypocondres, juste sous le sternum.

Hypocondre : Région anatomique située dans la partie supérieure de l'abdomen, de part et d'autre de l'épigastre, sous les côtes.

Xénobiotiques : Substances chimiques étrangères à l'organisme vivant, c'est-à-dire non produites naturellement par celui-ci. Elles comprennent notamment les médicaments, pesticides, polluants environnementaux et autres composés synthétiques. Les xénobiotiques peuvent être métabolisés par le foie (biotransformation) afin d'être éliminés, mais certains peuvent induire des effets toxiques, en particulier en cas d'exposition prolongée ou à forte dose.

Multi-omique : désigne une stratégie d'analyse intégrée qui combine plusieurs niveaux d'informations biologiques (comme la génomique, la transcriptomique, la protéomique ou la métabolomique) afin de mieux comprendre les interactions complexes entre gènes, protéines, métabolites et mécanismes cellulaires dans un contexte physiologique ou pathologique.

Mécanotransduction : est le processus par lequel une cellule convertit un stimulus mécanique (comme une pression, une tension ou une déformation) en un signal biochimique intracellulaire, déclenchant des réponses biologiques qui régulent des fonctions telles que la croissance, la différenciation ou l'adaptation tissulaire.

Pycnose : est une modification morphologique du noyau cellulaire marquée par sa condensation et sa rétraction, généralement observée au cours de la mort cellulaire (nécrose ou

apoptose). Elle se traduit par un noyau plus petit, dense et foncé en microscopie, souvent considérée comme un signe précoce d'apoptose.

Karyorrhexis : La karyorrhexis désigne la fragmentation du noyau cellulaire en plusieurs débris d'ADN après la pycnose, au cours des processus de nécrose ou d'apoptose. Elle marque une étape avancée de la mort cellulaire, où la membrane nucléaire se rompt, entraînant la dispersion du matériel génétique dans le cytoplasme.

Fibrose : La fibrose est un processus pathologique caractérisé par l'accumulation excessive de tissu conjonctif, principalement constitué de collagène, en réponse à une lésion chronique ou une inflammation persistante. Dans le foie, la fibrose résulte de l'activation des cellules étoilées et peut entraîner une altération progressive de l'architecture hépatique, compromettant la fonction de l'organe et pouvant évoluer vers la cirrhose.

RÉSUMÉ

Les perturbateurs endocriniens sont des substances chimiques exogènes capables d'interférer avec le système hormonal, entraînant des effets délétères sur la santé des organismes vivants. Parmi eux, les pesticides néonicotinoïdes, notamment le thiaméthoxame, suscitent une attention croissante en raison de leur potentiel toxique, non seulement sur le système nerveux, mais également sur d'autres organes tels que le foie, qui joue un rôle central dans la détoxification et le métabolisme.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'impact du thiaméthoxame sur l'organisation histologique et la fonction hépatique au cours du développement postnatal chez le rat, en tenant compte d'un possible effet perturbateur endocrinien. Pour cela, des rats Wistar ont été exposés au thiaméthoxame à différentes doses. Les échantillons de foie ont été prélevés chez les sujets traités et, leurs descendants, à différents stades de développement (20, 60 et 90 jours), puis traités pour des analyses histologiques (coloration PAS) et immunohistochimiques enzymatique (immuno- peroxydase).

Les résultats révèlent des altérations significatives de la structure hépatique, notamment une désorganisation des cellules hépatocytaires, des congestions vasculaires et une vacuolisation cytoplasmique, avec une intensité proportionnelle à la dose administrée. Ces mêmes altérations ont plus au moins été retrouvées chez les descendants. L'analyse immunohistochimique a également mis en évidence une distribution irrégulière des dystrophines dans le tissu hépatique des rats exposés ainsi que leurs descendants suggérant une perturbation de l'organisation cellulaire lié au thiaméthoxame.

Ces observations soulignent l'importance d'évaluer les risques potentiels liés à l'exposition précoce aux néonicotinoïdes, et mettent en lumière leur impact sur la santé hépatique et endocrine des générations futures.

Mots clés : Perturbateurs endocriniens, Thiaméthoxame, Néonicotinoïdes, Toxicité hépatique, Histologie, Immunohistochimie, Développement, Rat Wistar.

ABSTRACT

Endocrine disruptors are exogenous chemical substances capable of interfering with the hormonal system, leading to harmful effects on the health of living organisms. Among them, neonicotinoid pesticides, particularly thiamethoxam, are attracting increasing attention due to their toxic potential, not only on the nervous system but also on other organs such as the liver, which plays a central role in detoxification and metabolism.

The objective of this study is to investigate the impact of thiamethoxam on liver histological organization and function during postnatal development in rats, considering a possible endocrine-disrupting effect. For this purpose, Wistar rats were exposed to thiamethoxam at different doses. Liver samples were collected from treated subjects and their offspring at different developmental stages (20, 60, and 90 days), then processed for histological analysis (PAS staining) and enzymatic immunohistochemistry (immunoperoxidase method).

The results reveal significant alterations in liver structure, including disorganization of hepatocytes, vascular congestion, and cytoplasmic vacuolation, with intensity proportional to the administered dose. These same alterations were also observed, to varying degrees, in the offspring. Immunohistochemical analysis also showed an irregular distribution of dystrophins in the liver tissue of exposed rats and their offspring, suggesting a disruption of cellular organization linked to thiamethoxam exposure.

These findings highlight the importance of assessing the potential risks associated with early exposure to neonicotinoids and shed light on their impact on liver and endocrine health in future generations.

Keywords: Endocrine disruptors, Thiamethoxam, Neonicotinoids, Hepatic toxicity, Histology, Immunohistochemistry, Development, Wistar rat.

Introduction

L'usage intensif des pesticides dans les pratiques agricoles modernes soulève de nombreuses inquiétudes quant à leurs effets sur la santé humaine, la biodiversité et l'environnement. Bien qu'ils soient conçus pour éliminer des organismes nuisibles, plusieurs études ont montré que certains pesticides peuvent également affecter des espèces non ciblées et provoquer des effets toxiques à court ou long terme, en particulier au niveau du foie, du système endocrinien et du système nerveux (**Mostafalou & Abdollahi, 2013 ; Bretveld et al., 2006**). Ces effets varient selon la dose, la voie d'exposition, la durée du contact et la sensibilité de l'organisme exposé (**Aktar et al., 2009**).

Parmi les familles de pesticides les plus répandues figure celle des néonicotinoïdes, largement utilisée pour leurs propriétés neurotoxiques spécifiques aux insectes. Ces composés agissent sur les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine, entraînant une paralysie progressive chez les insectes ciblés (**Simon-Delso et al., 2015**). Cependant, des études récentes suggèrent que certains néonicotinoïdes, comme le thiaméthoxame (TMX), peuvent également provoquer des effets indésirables chez les mammifères, notamment en affectant le foie et le système endocrinien (**Habotta et al., 2021 ; Zaghoul et al., 2022**).

Le foie, en tant qu'organe central du métabolisme et de la détoxification, est particulièrement vulnérable à l'accumulation de substances toxiques. Plusieurs recherches ont mis en évidence que le thiaméthoxame peut entraîner des altérations histologiques hépatiques, une élévation des enzymes hépatiques sériques, ainsi qu'un stress oxydatif significatif chez le rat (**Khaldoun-Oularbi et al., 2017 ; Habotta et al., 2021**).

En plus des effets sur les organes classiques de détoxification, des recherches récentes s'intéressent à la dystrophine, une protéine de cytosquelette bien connue pour son rôle dans le maintien de l'intégrité des cellules musculaires. Toutefois, la présence de la dystrophine a aussi été détectée dans d'autres types cellulaires, notamment dans les cellules hépatiques et d'autres tissus non musculaires. Ou, elle semble jouer un rôle dans la stabilisation de la membrane cellulaire, l'organisation du cytosquelette et certaines voies de signalisation intracellulaire (**Zhou et al., 2008 ; Ervasti, 2003**).

L'analyse de la distribution des dystrophines dans le foie pourrait ainsi offrir une approche intéressante pour mieux comprendre les effets subcellulaires de certaines substances toxiques

comme le thiaméthoxame. En effet, un dérèglement de cette protéine pourrait refléter des modifications de l'architecture cellulaire liées à une exposition chronique à un pesticide.

Ce travail s'inscrit donc dans une démarche d'étude des effets du thiaméthoxame et le risque de transmission aux descendants de première génération sur le tissu hépatique de rats Wistar, en s'appuyant à la fois sur des observations histologiques et des techniques d'immunohistochimie ciblant la dystrophine. Il est structuré en trois parties : une première partie bibliographique qui présente les principales caractéristiques des pesticides néonicotinoïdes, du foie, ainsi que de la dystrophine ; une seconde partie expérimentale qui détaille les protocoles suivis, et une dernière partie pour les résultats obtenus, leur interprétation et les conclusions qui en découlent.

CHAPITRE I

Partie bibliographique

I. Généralités sur les pesticides

1. Les pesticides

1.1 Définition des pesticides

Le mot « pesticide », terme générique dérivé des termes latins « caedere » (tuer) et « pestis » (fléau), est utilisé aussi bien dans le langage courant que scientifique. Les pesticides ont comme caractéristique principale de lutter contre des organismes nuisibles (animaux, végétaux, champignons) mais ils peuvent aussi réguler la croissance des végétaux, avoir des propriétés défoliantes ou dessicantes, ou encore améliorer le stockage ou le transport des produits de culture (**Baldi et al., 2013**).

1.2 Composition des pesticides

La composition chimique des pesticides varie en fonction de leur usage spécifique, mais ils contiennent généralement plusieurs composants principaux :

1.2.1 Substance active

La substance active est le composant principal qui confère au pesticide son efficacité biologique. Elle peut être d'origine naturelle (comme les pyréthrine extraites des fleurs de chrysanthèmes) ou synthétique (comme les néonicotinoïdes et les organophosphorés). Chaque substance active a un mode d'action particulier qui cible soit le système nerveux, soit le métabolisme des organismes nuisibles (**Köhler et Triebkorn, 2013**).

1.2.2 Adjuvants

Les adjuvants sont des composés ajoutés pour améliorer l'efficacité de la substance active. Ils facilitent la dispersion du pesticide, son absorption par la plante ou encore sa résistance au lessivage par la pluie. Parmi eux, on trouve les agents mouillants, les stabilisants et les surfactants (**Green et Beestman, 2007**).

1.2.3 Solvants et diluants

Les solvants servent à dissoudre la substance active et à faciliter son application. Il peut s'agir d'hydrocarbures, d'alcools ou d'autres composés organiques. Les diluants, quant à eux,

permettent d'ajuster la concentration du produit pour une application contrôlée (**Booth et al., 2019**).

1.2.4 Synergistes

Certains pesticides contiennent des synergistes qui renforcent l'action de la substance active. Par exemple, le butoxyde de pipéronyle est souvent ajouté aux insecticides pour inhiber les enzymes de détoxification des insectes, augmentant ainsi leur sensibilité au traitement (**Casida et Quistad, 1998**).

1.2.5 Conservateurs et agents anti-UV

Pour éviter la dégradation prématurée du pesticide, des conservateurs et des agents anti-UV sont intégrés dans les formulations. Ces substances protègent la molécule active contre les effets de l'oxydation et de la lumière (**Matthews, 2018**).

1.3 Classification des pesticides

Ils sont classés selon leur cible biologique et leur composition chimique (**Casida et Durkin, 2013**). Cette classification est essentielle pour comprendre leurs modes d'action et leurs effets sur l'environnement et la santé humaine (**Mostafalou et Abdollahi, 2017**).

1.3.1. Classification selon la cible

On distingue principalement les insecticides, fongicides, herbicides, acaricides, nématocides, rodenticides et molluscicides (**figure 01**) (**Aktar et al., 2009**).

Les insecticides sont destinés à lutter contre les insectes ravageurs des cultures ou vecteurs de maladies. Ils comprennent plusieurs familles chimiques telles que les organophosphorés, les carbamates, les pyréthriinoïdes et les néonicotinoïdes. Ces derniers, comme le thiaméthoxame, agissent sur le système nerveux central en mimant l'action de l'acétylcholine, entraînant une paralysie puis la mort de l'insecte (**Simon-Delso et al., 2015**).

Les fongicides sont utilisés pour prévenir ou traiter les maladies causées par les champignons phytopathogènes. Ils agissent notamment sur la respiration mitochondriale, la synthèse des stérols membranaires ou la division cellulaire des champignons (**Lucas et al., 2015**).

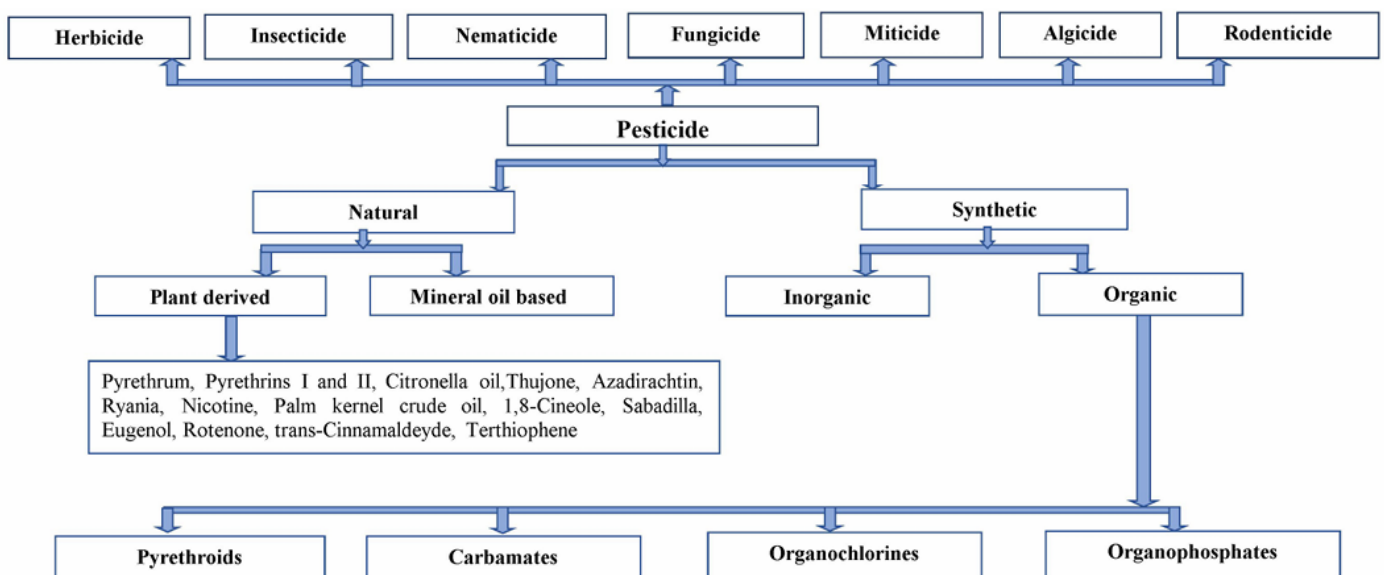
Les herbicides permettent de contrôler les adventices qui entrent en compétition avec les plantes cultivées pour les ressources. Ils peuvent être sélectifs ou non sélectifs, systémiques ou de contact, et agissent sur différents processus comme la photosynthèse, la division cellulaire ou la biosynthèse des acides aminés (**Duke, 2012**).

Les acaricides ciblent les acariens, notamment les tétranyques, responsables de nombreux dégâts sur les cultures fruitières et légumières. Leur mode d'action peut impliquer une inhibition du système respiratoire ou du métabolisme cellulaire (**Van Leeuwen et al., 2010**).

Les nématicides visent les nématodes phytoparasites présents dans le sol, qui s'attaquent aux racines et altèrent la croissance des plantes. Leur efficacité dépend souvent de leur capacité à pénétrer le sol et à atteindre la zone racinaire (**Desaeger et al., 2020**).

Les rodenticides sont conçus pour éliminer les rongeurs nuisibles comme les rats ou les souris. Ils agissent généralement comme anticoagulants ou perturbateurs du système nerveux (**Buckle et Smith, 2015**).

Enfin, les molluscicides sont employés contre les limaces et escargots, notamment dans les cultures maraîchères (**Speiser et Kistler, 2002**).



Figures 01 : Classification des pesticides (**Jayaraj et al., 2016**)

1.3.2. Classification selon la composition chimique

Les pesticides peuvent être classés selon leur structure chimique, ce qui influence leur mode d'action, leur toxicité et leur persistance dans l'environnement.

1.3.2.1. Les organochlorés (OCs)

Les organochlorés sont des hydrocarbures chlorés, considérés parmi les pesticides les plus anciens et les plus persistants. Principalement utilisés comme insecticides en agriculture et dans l'industrie du bois, ils appartiennent à la famille des aromatiques polycycliques, bien qu'ils ne partagent pas tous une structure commune spécifique. Cependant, ils présentent des caractéristiques communes, telles qu'une forte lipophilie et une stabilité moléculaire particulièrement élevée. En raison de leur faible dégradabilité, ces composés s'accumulent dans les sols, les aliments ainsi que dans les organismes humains et animaux (**Cottard, 2008**). De plus, ils ont la capacité de se stocker dans le foie, les tissus adipeux et le système nerveux. À des concentrations élevées, ils peuvent exercer une action pro-convulsive, augmentant ainsi le risque de convulsions (**Tordoir et Van Sittert, 1994**).

1.3.2.2. Organophosphorés

Les organophosphorés sont des composés chimiques dérivés de l'acide phosphorique, sous forme d'amides ou d'esters (**Testudet-Grillet, 2007**). D'après l'Environmental Protection Agency (**EPA, 2019**), ces substances sont largement employées pour éliminer les organismes nuisibles en perturbant leur système nerveux. Contrairement à certains autres pesticides, ils présentent une moindre persistance dans l'environnement, ce qui réduit leur accumulation à long terme.

1.3.2.3. Carbamates

Les carbamates sont couramment utilisés en agriculture en tant qu'insecticides, herbicides et fongicides. Leur mode d'action repose sur l'inhibition des cholinestérases grâce à leur fonction carbyl, entraînant ainsi une accumulation d'acétylcholine. Toutefois, contrairement aux organophosphorés, cette inhibition est réversible (**Danel et al., 2005**). Ces pesticides peuvent affecter les insectes par contact, ingestion et, dans certains cas, par inhalation. Sur le plan chimique, ils sont constitués d'esters de l'acide méthylcarbamique, dont la formule générale est (R-O-CO-NH-CH₃). Généralement non volatils et lipophiles, les carbamates présentent une faible solubilité dans l'eau mais sont solubles dans la plupart des solvants organiques. Leur large gamme de solubilité leur confère une efficacité contre de nombreux insectes (**Testud et Grillet, 2007**).

1.3.2.4. Pyréthriinoïdes

Les pyréthriinoïdes sont des esters dérivés de l'acide cyclopropane carboxylique. Ils se divisent en deux groupes : le groupe I, qui regroupe les premiers pyréthriinoïdes synthétisés, sensibles à la dégradation par la lumière, et le groupe II, constitué de pyréthriinoïdes photostables. Dans ce second groupe, le carbone alpha est substitué par un groupement cyané et un radical phénoxyphényle (**Testud et al., 2001**). Leur mode d'action repose sur la perturbation de la transmission des impulsions nerveuses en augmentant le flux d'ions sodium, ce qui entraîne une stimulation excessive des cellules nerveuses et conduit à une paralysie. De plus, ces composés présentent une persistance importante et ne se dégradent pas rapidement dans l'environnement (**centre canadien d'hygiène et de sécurité au travail, 2023**).

1.5 Mécanismes d'action des pesticides

Les pesticides agissent en ciblant des processus biologiques essentiels chez les organismes nuisibles. Leur mode d'action varie selon leur classe chimique et leur utilisation (**Casida et Durkin, 2013**).

1.5.1 Inhibition des enzymes vitales

Certains pesticides bloquent des enzymes essentielles. Par exemple, les organophosphorés inhibent l'acétylcholinestérase, provoquant une accumulation d'acétylcholine et une paralysie chez les insectes (**Fukuto, 1990**). Les fongicides SDHI bloquent la respiration mitochondriale des champignons (**Avenot et Michailides, 2010**).

1.5.2 Perturbation du système nerveux

Les pyréthriinoïdes perturbent les canaux sodiques neuronaux, provoquant une hyperstimulation (**Soderlund, 2012**). Les néonicotinoïdes, comme le thiaméthoxame, miment l'acétylcholine et causent une excitation nerveuse incontrôlée (**Tomizawa et Casida, 2005**).

1.5.3 Altération des processus hormonaux

Les régulateurs de croissance des insectes (IGR) perturbent les hormones de croissance, empêchant la mue des insectes (**Dhadialla et al., 2005**). Certains herbicides, comme le 2,4-D, imitent les auxines et provoquent une croissance anormale des plantes (**Grossmann, 2000**).

1.6 Effets des pesticides sur l'environnement

L'utilisation massive des pesticides entraîne des impacts significatifs sur l'environnement. Ceux-ci affectent la biodiversité, la qualité des sols, de l'eau et de l'air.

1.6.1 Contamination des sols et de l'eau

Les pesticides peuvent persister dans les sols et s'accumuler au fil du temps, perturbant l'activité microbienne et réduisant la fertilité des terres agricoles (**Pimentel et Levitan, 1986**). Ils peuvent aussi s'infiltrer dans les nappes phréatiques ou être transportés par ruissellement vers les cours d'eau, contaminant ainsi les écosystèmes aquatiques (**Aktar et al., 2009**).

1.6.2 Impact sur la biodiversité

Les pesticides affectent de nombreuses espèces non ciblées, notamment les pollinisateurs comme les abeilles, dont le déclin est lié à l'exposition aux néonicotinoïdes (**Goulson et al., 2015**). Ils peuvent aussi perturber les chaînes alimentaires et entraîner des déséquilibres écologiques.

1.6.3 Pollution de l'air

Certains pesticides volatils peuvent se disperser dans l'atmosphère et être transportés sur de longues distances, contribuant ainsi à la pollution de l'air et à l'exposition indirecte des populations humaines et animales (**Van den Berg et al., 2020**).

1.7 Effets des pesticides sur la santé humaine

Peu importe la nature du pesticide, son niveau et sa durée d'emploi, l'exposition aux pesticides peut avoir des effets néfastes sur la santé humaine (**Mostafalou et Abdollahi, 2013**).

1.7.1 Effets aigus

L'exposition aux pesticides après accident, ou à des niveaux élevés lors de certaines pratiques professionnelles, expose l'individu à des symptômes aigus (**Mostafalou et Abdollahi, 2013**). Les symptômes sont variés et vont des céphalées et vomissements aux irritations cutanées et respiratoires. Les organophosphorés et les carbamates, parmi les

molécules les plus toxiques dans ce groupe, ont des effets incapacitants pouvant mener à des convulsions et paralysies (**Baldi et al., 2003**).

1.7.2 Effets chroniques

L'exposition aux pesticides à long terme, et notamment lors des situations de travail, n'est pas moins préoccupante. Elle est suspectée dans le développement de maladies graves, parmi lesquelles les cancers, les troubles endocriniens, les maladies neurodégénératives, dont la maladie de Parkinson (**Baldi et al., 2003**). Des investigations récentes ont également mis en évidence un risque potentiel pour les enfants d'une exposition au pesticide et des conséquences en matière de troubles de la fertilité (**Garry, 2004**).

2. Les néonicotinoïdes

2.1. Définition et utilisation

Les néonicotinoïdes (NN) forment une classe d'insecticides agissant spécifiquement sur le système nerveux central des insectes. Introduits pour la première fois en 1991, ils se sont imposés comme l'un des groupes d'insecticides les plus largement utilisés à l'échelle mondiale (**David et al., 2007**).

Utilisés principalement en agriculture pour la protection des cultures, ils sont également employés par les particuliers et les professionnels pour lutter contre divers insectes nuisibles à la santé humaine et animale. Leur succès repose en grande partie sur leur efficacité contre les espèces résistantes à d'autres insecticides, ainsi que sur leur toxicité supposée plus faible chez les mammifères (**Hataba et al., 2014**).

2.2. Mode d'action

Les néonicotinoïdes agissent en se liant aux récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChR) présents sur les cellules neuronales. Normalement, l'acétylcholine, un neurotransmetteur clé de la transmission synaptique, est rapidement dégradée par l'enzyme acétylcholinestérase après avoir accompli son rôle. Cependant, les néonicotinoïdes ne sont pas dégradés par cette enzyme, ce qui provoque une stimulation continue des récepteurs. Cette activation prolongée entraîne une entrée excessive d'ions sodium dans les neurones, provoquant une hyperexcitation neuronale (**Jeschke et Nauen, 2008**).

À long terme, cette stimulation excessive perturbe le fonctionnement normal du système nerveux central de l'insecte. Elle se manifeste par une paralysie due à un épuisement énergétique, conduisant finalement à la mort de l'insecte (**Simon-Delso et al., 2015**).

Dans ce qui suit, nous allons traiter le Thiaméthoxame appartenant à la famille des néonicotinoïdes.

3. Le thiaméthoxame

3.1. Définition

Le thiaméthoxame (TMX) est un pesticide organique artificiel qui fait partie de la famille chimique des néonicotinoïdes et de la catégorie des thianicotynils. La dénomination systématique de la molécule est 3-(2-chloro-thiazol-5-ylméthyl)-5-méthyl-[1,3,5]-oxadiazinan-4-ylidène-N-nitroamine(**figure 02**) (**Green et al., 2005**).

C'est une nouvelle molécule, mise au point durant les trois dernières décennies, qui suscite de l'intérêt grâce à sa capacité à combattre les insectes résistants à d'autres types d'insecticides et, par ailleurs, à sa toxicité relativement faible pour les mammifères, les oiseaux et les poissons. (**Bingham et al., 2007**).



Figure 02 : Structure chimique du thiaméthoxame. (**Attia et Beghoura, 2020**)

3.2. Mode d'action

Le mécanisme d'action repose principalement sur l'interaction avec le système nerveux des insectes. En se liant de manière irréversible aux récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChRs), il provoque une stimulation nerveuse continue qui conduit à la paralysie, puis à la mort des organismes cibles (**figure 03**) (**Green et al., 2005**).

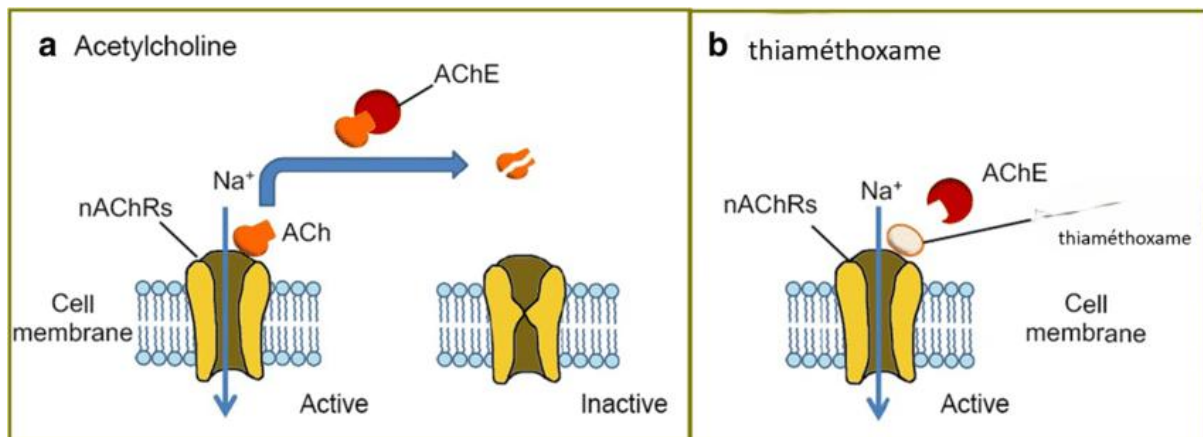


Figure 03 : mécanisme d'action des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine lorsqu'ils sont exposés l'acétylcholine (a) et au thiaméthoxame (b) (Chang *et al.* 2013).

3.2.1. Effets sur la santé animale

Chez la souris, une exposition prolongée au thiaméthoxame a été associée à une augmentation du risque de tumeurs au niveau du foie. Cette toxicité hépatique pourrait s'expliquer par des mécanismes impliquant l'inhibition de certaines voies biologiques essentielles (Green *et al.*, 2005 ; Pastoor *et al.*, 2005).

Une autre étude a montré que l'exposition chronique au thiaméthoxame peut induire une stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) chez la souris, notamment par la perturbation du métabolisme de la méthionine, un acide aminé essentiel dans la régulation hépatique (Yang *et al.*, 2021).

3.2.2. Perturbations endocriniennes

Le thiaméthoxame agit également comme un perturbateur endocrinien chez plusieurs espèces. Chez le poisson, il interfère avec les axes hormonaux HPG (hypothalamo-hypophysogonadique) et HPT (hypothalamo-hypophyso-thyroïdien), entraînant des anomalies dans le développement gonadique et des lésions histopathologiques (Zhu *et al.*, 2019). Chez les mammifères, notamment chez la souris, il a été observé que le thiaméthoxame provoque un stress du réticulum endoplasmique au niveau ovarien, ce qui affecte la maturation des ovocytes et déclenche des processus apoptotiques (Liu *et al.*, 2021).

3.2.3. Effets chez les plantes

Bien que conçu pour cibler les insectes, le thiaméthoxame présente également des effets biologiques notables sur les plantes. En agriculture, il a été démontré qu'il favorise la germination des graines de maïs, même en conditions compétitives avec les mauvaises herbes. Ce phénomène serait dû à l'activation de la voie hormonale de l'acide gibbérellique (GA) et à l'inhibition simultanée de la biosynthèse de l'acide abscissique (ABA), deux phytohormones jouant un rôle antagoniste dans la germination (Afifi *et al.*, 2015). De plus, le thiaméthoxame inhibe l'activité de l'ascorbate peroxydase, une enzyme antioxydante, ce qui pourrait indirectement stimuler la croissance végétale (Barbosa *et al.*, 2022).

II. Généralités sur le foie

1. Anatomie du foie

Le foie est le plus gros organe viscéral du corps chez la plupart des mammifères (Drake *et al.*, 2019). Il présente une couleur rougeâtre en raison de sa richesse en sang. Situé sous le diaphragme et protégé par les côtes, il occupe la majeure partie de l'hypochondre droit ainsi qu'une partie de l'épigastre (Marieb et Hoehn, 2018).

Le foie présente deux surfaces distinctes : la surface diaphragmatique et la surface viscérale. La surface diaphragmatique, lisse et convexe, est orientée vers l'avant, le haut et l'arrière, elle est en contact direct avec la face inférieure du diaphragme et en épouse la forme. La surface viscérale, quant à elle, est tournée vers le bas et est en relation avec plusieurs organes abdominaux. Elle est recouverte de péritoine viscéral, à l'exception de deux zones : la fosse de la vésicule biliaire et le *porta hepatis*. Ce dernier constitue le hile hépatique, point d'entrée et de sortie des structures vasculaires et biliaires du foie. Ces deux surfaces témoignent de l'ancrage anatomique du foie au sein de la cavité abdominale et de ses relations fonctionnelles avec les organes voisins (Drake *et al.*, 2019).

Le foie est constitué de plusieurs lobes distincts. Le lobe droit, le plus grand, occupe la majeure partie de l'organe. Le lobe gauche, plus petit, est séparé du lobe droit par le ligament falciforme. Sur la face viscérale, on distingue le lobe carré, situé entre la fosse de la vésicule biliaire et la fissure du ligament rond, ainsi que le lobe caudé, placé en arrière du lobe carré,

entre la fissure du ligament veineux et le sillon de la veine cave inférieure (**Figure 04**) (**Moore et al., 2020**)

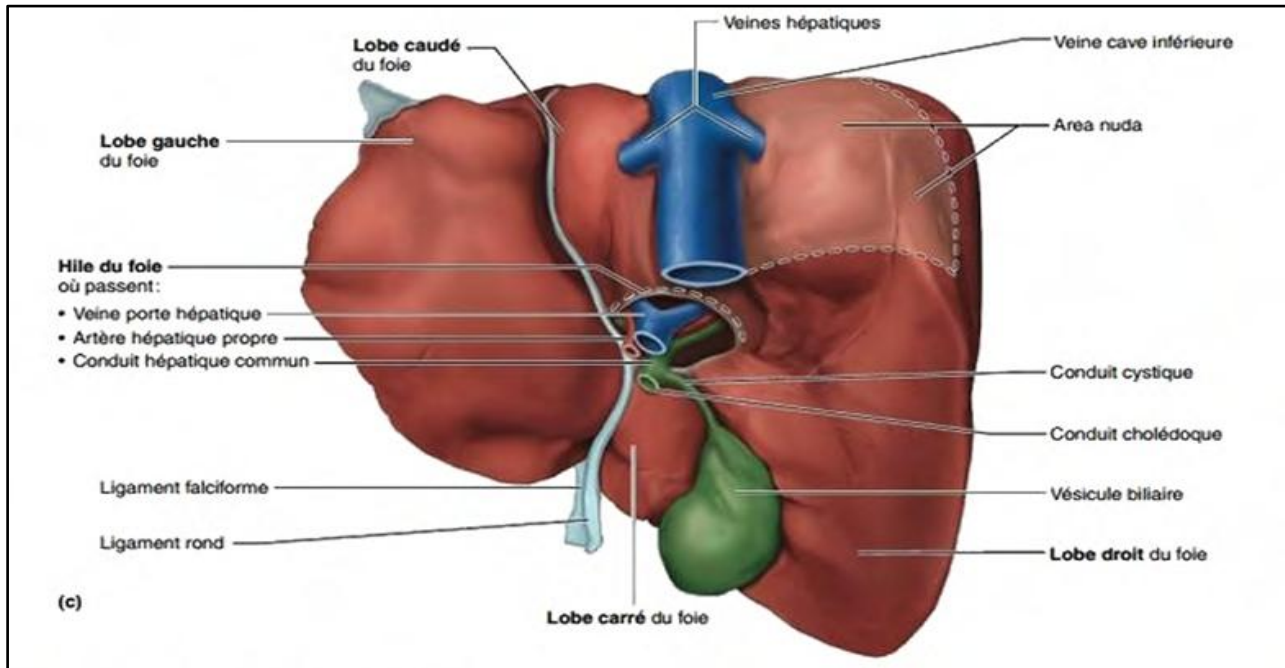


Figure 04 : Face postéro-inférieure du foie (**Marieb et Hoehn, 2018**).

1.2 Vascolarisation du foie

La vascularisation du foie repose sur un double apport sanguin : environ 75 à 80 % du sang provient de la veine porte hépatique, qui transporte un sang riche en nutriments mais pauvre en oxygène issu du tube digestif, tandis que 20 à 25 % provient de l'artère hépatique, riche en oxygène. La veine porte naît de la réunion des veines mésentérique supérieure et splénique, et chemine dans le ligament hépato-duodénal jusqu'au foie. L'artère hépatique dérive du tronc cœliaque : on parle d'artère hépatique commune avant l'origine de l'artère gastroduodénale, puis d'artère hépatique propre, qui se divise en branches droite et gauche irrigant les parties correspondantes du foie.

Ces vaisseaux se ramifient pour vasculariser les segments hépatiques selon la classification de Couinaud. Le drainage veineux s'effectue par les veines centrales, qui se jettent dans trois principales veines hépatiques (droite, moyenne et gauche) rejoignant la veine cave inférieure sous le diaphragme, contribuant ainsi à la fixation du foie (**figure 05**) (**Dalley et Agur, 2023**).

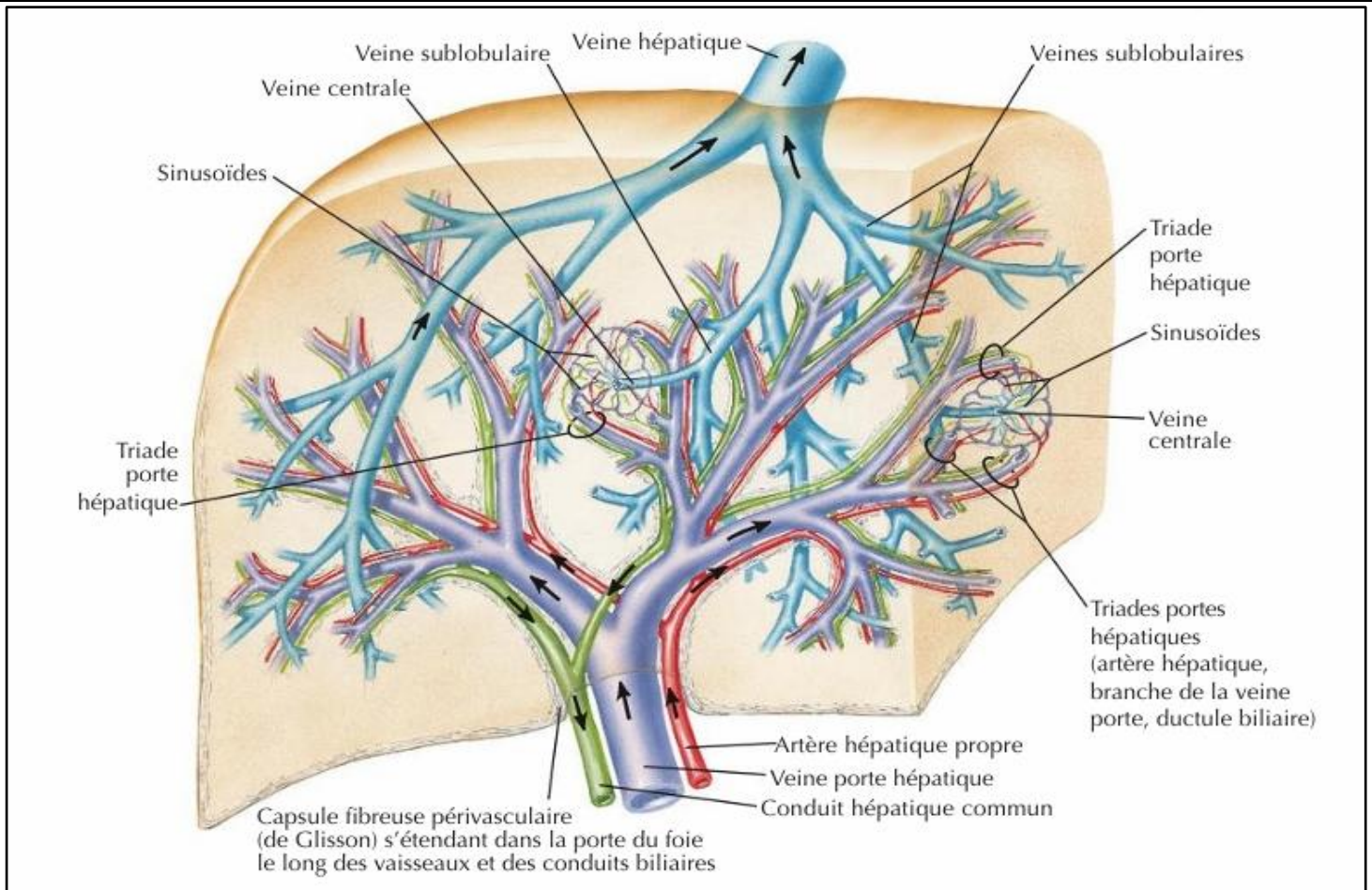


Figure 05 : Foie *in situ* : système vasculaire et de conduit (Netter et Co, 2019)

2. Histologie du foie

Sur le plan microscopique, le foie est un organe complexe, dont la structure est parfaitement adaptée à ses fonctions métaboliques, de détoxification et de synthèse. Il est composé principalement d'hépatocytes, cellules parenchymateuses disposées de manière organisée au sein d'unités fonctionnelles appelées lobules hépatiques (Marieb et Hoehn, 2018).

Le lobule hépatique représente l'unité structurale de base du foie. Il s'agit d'une structure de forme hexagonale centrée autour d'une veine centrale (ou veine centrolobulaire), vers laquelle convergent des travées d'hépatocytes organisées radialement (Figure 06) (Marieb et Hoehn, 2018).

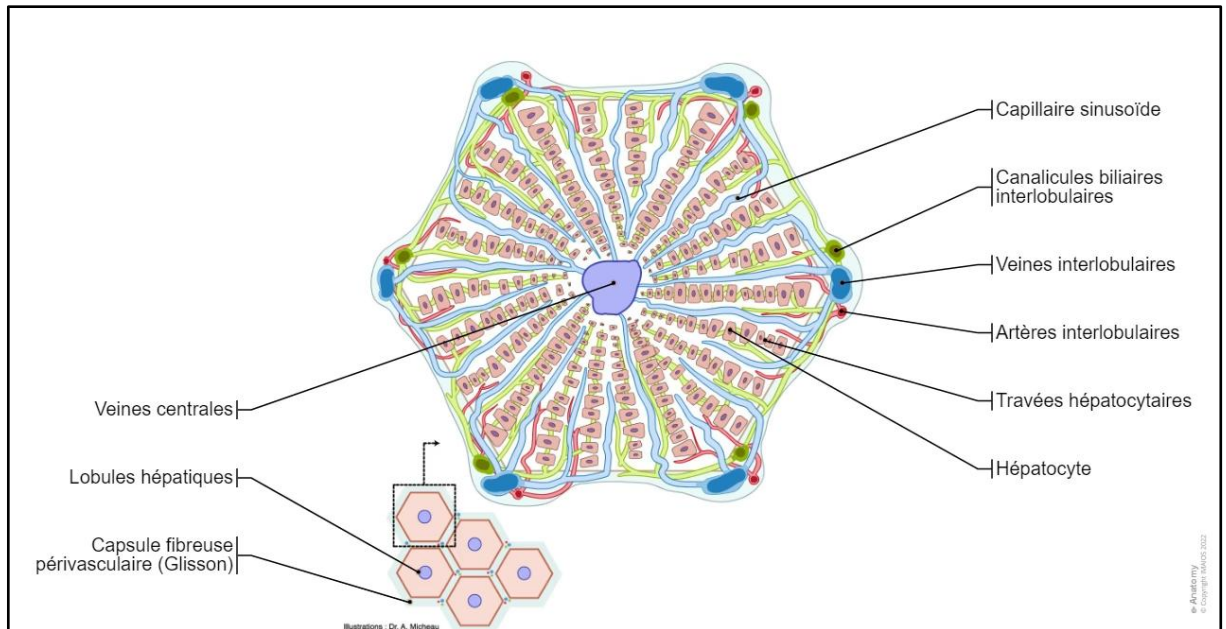


Figure 06 : Lobules hépatiques (Micheau et Hoa, 2012)

Les hépatocytes, disposées en cordons, sont séparées par des capillaires sinusoides appelés sinusoides hépatiques, dilatés et fenestrés, ils reposent sur une lame basale discontinue et sont entourés par des fibres de réticuline. Ces caractéristiques propres aux sinusoides hépatiques permettent au sang de circuler lentement et d'échanger efficacement avec les hépatocytes (**Figure 07**) (Marieb et Hoehn, 2018). La paroi des sinusoides contient aussi les cellules de Kupffer, des macrophages résidents du foie qui participent activement à l'immunosurveillance hépatique.

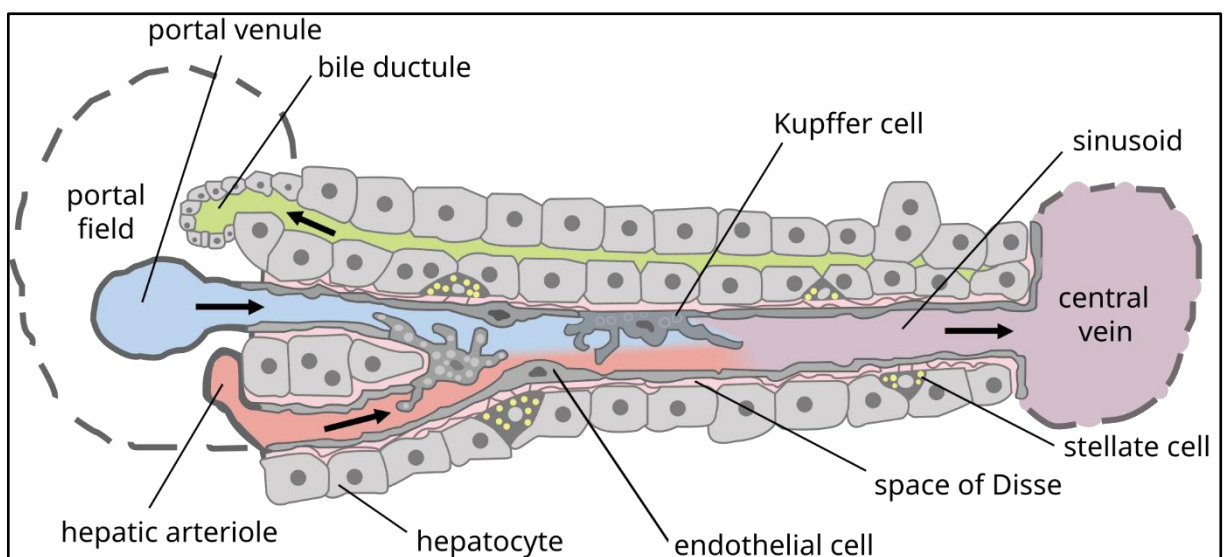


Figure 07 : Structure du lobule hépatique (Frevet et al., 2011)

Les **sinusoïdes** reçoivent un sang issu de deux sources. D'une part, la veine porte hépatique apporte le sang veineux riche en nutriments provenant de l'intestin. D'autre part, l'artère hépatique propre apporte un sang artériel oxygéné. Ce double apport sanguin se mélange dans les sinusoïdes et permet aux hépatocytes de capter et de traiter les nutriments, les toxines, les médicaments, et de produire de nombreuses protéines plasmatiques (albumine, facteurs de coagulation...) (**Marieb et Hoehn, 2018 ; Kierszenbaum, 2006**).

Les hépatocytes constituent la cellule principale du foie et remplissent une grande diversité de fonctions métaboliques, de détoxification et de synthèse. Ils sont responsables de la production de la bile, de la régulation du métabolisme des glucides, des lipides et des protéines, ainsi que de la synthèse de nombreuses protéines plasmatiques, comme l'albumine et les facteurs de coagulation. Leur cytoplasme riche en organites, notamment en réticulum endoplasmique et en mitochondries, reflète cette intense activité biochimique (**Kierszenbaum et Tres, 2021**).

Les surfaces apicales de deux hépatocytes adjacents présentent des sillons qui, lorsqu'ils sont juxtaposés, forment les canalicules biliaires. Ces derniers sont scellés par des jonctions serrées, permettant la sécrétion des composants de la bile. Les canalicules biliaires sont des structures allongées, avec une lumière très étroite (0,5 à 1 μm de diamètre). Leur surface interne est augmentée grâce à la présence de nombreuses microvillosités issues des hépatocytes (**Mescher, 2018**).

Aux coins du lobule hépatique, on retrouve l'espace porte (ou triade portale), constitué de trois éléments fondamentaux : une branche de la veine porte (veinule porte), une branche de l'artère hépatique (artériole hépatique), un canal biliaire interlobulaire. Ces structures sont enchâssées dans du tissu conjonctif lâche, contenant également des vaisseaux lymphatiques et des fibres nerveuses issues du plexus hépatique. Ce tissu forme un canal porte, aussi appelé zone porte ou tractus porte. Il joue un rôle clé dans la distribution des fluides (sang, bile, lymphe) et dans l'innervation du parenchyme hépatique (**Kierszenbaum et Tres, 2021 ; Marieb et Hoehn, 2018**).

3. Physiologie du foie

3.1 Métabolisme

Le foie joue un rôle essentiel dans le métabolisme des glucides, des lipides et des protéines. Il régule la glycémie grâce à la glycogénogenèse, qui permet le stockage du glucose sous forme de glycogène en période d'abondance énergétique, à la glycogénolyse, qui libère rapidement du glucose à partir du glycogène en cas de besoin accru comme le jeûne ou l'exercice (**Rodwell *et al.*, 2018**), et à la néoglucogenèse, qui produit du glucose à partir de précurseurs non glucidiques comme le lactate, le pyruvate ou certains acides aminés, notamment pour maintenir la glycémie en l'absence d'apport glucidique (**Exton, 1972**). Ces processus sont régulés par des hormones telles que l'insuline et le glucagon, qui modulent les enzymes du métabolisme glucidique (**Van Den Berghe, 1991**).

Dans le métabolisme lipidique, le foie facilite l'absorption des lipides via la bile, capte les acides gras issus des chylomicrons et les transporte vers les hépatocytes (**Trefts *et al.*, 2017b**). Ces acides gras sont utilisés comme source d'énergie par la β -oxydation (**Pawlina et Ross, 2018**), convertis en corps cétoniques pour d'autres organes ou stockés sous forme de triglycérides dans des VLDL libérés dans la circulation (**Trefts *et al.*, 2017b**). Le foie participe également à la synthèse et au métabolisme du cholestérol, utilisé pour la production des sels biliaires et des lipoprotéines (**Pawlina et Ross, 2018**).

Sur le plan protéique, il assure la synthèse de la majorité des protéines plasmatiques, dont l'albumine, les lipoprotéines (VLDL, LDL, HDL), les glycoprotéines (haptoglobine, transferrine), les protéines de coagulation (prothrombine, fibrinogène) et diverses globulines (**Trefts *et al.*, 2017b ; Pawlina et Ross, 2018**). Il contribue aussi à la dégradation des protéines et au métabolisme des acides aminés, à la formation d'urée pour l'élimination des déchets azotés, et à la production d'énergie via les cycles métaboliques (**Trefts *et al.*, 2017b**).

Le foie intervient aussi dans le métabolisme de la vitamine D, Il la convertit en 25-hydroxycholecalciférol, forme circulante majeure, qui sera ensuite transformée dans le rein en 1,25-dihydroxycholecalciférol, forme biologiquement active (**Pawlina et Ross, 2018**).

3.2 Détoxification

Au-delà de ses fonctions métaboliques, le foie assure un rôle primordial dans le processus de détoxification. En effet, de nombreux médicaments et toxines ne sont pas hydrophiles ; ils ne peuvent donc pas être éliminés directement de la circulation par les reins. Grâce à un large éventail d'enzyme, le foie a la capacité de modifier la structure chimique des xénobiotiques lipophiles en augmentant leur solubilité dans l'eau (**Grant, 1991**). Ce processus de biotransformation s'effectue en deux phases :

- **La phase 1** comprend l'oxydation, la réduction et l'hydrolyse, catalysées par diverses classes enzymatiques (**Grant, 1991**), principalement les cytochromes P450, elle a lieu au niveau des hépatocytes (plus exactement dans le REL et la mitochondrie). La protéine NADPH-cytochrome P450 réductase, forme prototypique des réductases diflavines, joue un rôle central dans l'activation du cytochrome P450 en transférant des électrons depuis le NADPH via ses flavines, d'abord le FAD puis le FMN, jusqu'au centre hémique du P450. Cette cascade électronique permet la réduction et la rupture caractéristique de la molécule d'oxygène, aboutissant à l'insertion d'un atome d'oxygène dans le substrat ($R-H \rightarrow R-OH$), tandis que l'autre atome d'oxygène est converti en eau (**figure 08**) (**Iyanagi et al., 2012**)

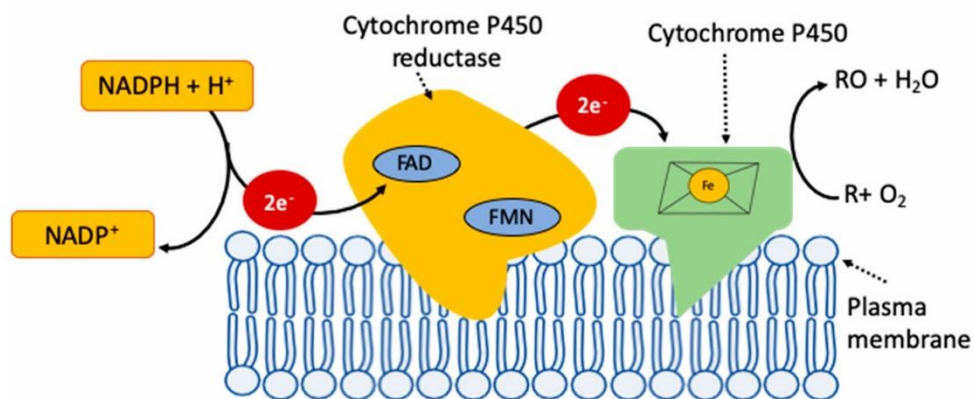


Figure 08 : Schéma de la catalyse du système du cytochrome P450 (**Pandian et al., 2020**)

La phase 2 ou conjugaison, va rendre le produit de la phase 1 encore plus soluble dans l'eau grâce à l'ajout de groupement hydrophiles (acide gluconique, glycine ou taurine) ce qui va faciliter l'élimination par les urines (**Pawlina et Ross, 2018**).

Certaines enzymes impliquées dans la biotransformation des xénobiotiques, telles que la xanthine déshydrogénase ou la catéchol-O-méthyltransférase, jouent également un rôle dans le métabolisme des composés endogènes. En revanche, d'autres enzymes comme l'arylamine N-acétyltransférase ne semblent pas avoir de substrats naturels identifiés, ce qui laisse penser qu'elles auraient évolué spécifiquement pour assurer la défense de l'organisme contre les substances chimiques extérieures (**Grant, 1991**).

Le foie assure aussi la production de la bile, un liquide indispensable à l'émulsification et à l'absorption des lipides alimentaires. La bile contient des sels biliaires, des pigments, du cholestérol et des électrolytes, qui participent à la solubilisation des graisses et facilitent leur absorption au niveau de l'intestin grêle (**Marieb & Hoehn, 2018**).

III. Généralités sur les dystrophines

1. Définition

La dystrophine est une protéine appartenant à la famille des constituants du cytosquelette submembranaire. Elle assure la liaison entre l'actine intracellulaire et les composants de la matrice extracellulaire. Cette connexion est essentielle à la stabilité et au bon fonctionnement des cellules, en particulier des cellules musculaires. En effet, les mutations du gène codant la dystrophine sont responsables de maladies musculaires graves telles que la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) et la dystrophie musculaire de Becker (BMD).

Le gène codant pour la dystrophine constitue le plus long gène répertorié chez l'humain, appelé gène DMD en relation avec la maladie de Duchenne. Ce gène s'étend sur environ 2,5 millions de paires de bases, représentant 0,1 % du génome humain et 1,5 % du chromosome X, dont il provient. Les segments codants représentent 1% du gène (86 exons), les 99% restant sont des introns, éliminés à l'épissage. L'ARNm mature mesure environ 14 000 bases et s'exprime majoritairement dans le muscle squelettique et cardiaque, mais aussi, de façon plus limitée, dans le cerveau (**Muntoni et al., 2003**). Elle est surtout présente sur la face cytoplasmique du sarcolemme des fibres musculaires, avec une concentration accrue au niveau des costamères (le point d'ancrage des myofibrilles au sarcolemme) (**Gao et McNally, 2015**).

2. Structure

La dystrophine de haut poids moléculaire correspond à la Dp427 (Dystrophine de 427 kDa), dotée d'un domaine N-terminal de liaison à l'actine et de plusieurs répétitions de type spectrine, caractéristiques de la famille des protéines spectrine/ α -actinine des globules rouges (Blake et al., 2002). La dystrophine est ainsi composée de quatre régions principales :

- I. Domaine N-terminal : se lie directement à l'actine du cytosquelette intracellulaire;
- II. Domaine central "rod domain" composé de 24 répétitions en hélice α (type spectrine), conférant à la protéine une structure flexible et allongée. Ce domaine est interrompu par quatre régions charnières, riches en proline;
- III. Domaine riche en cystéines : contient deux motifs EF-hand, pouvant lier le calcium (Ca^{2+}) et un domaine ZZ, riche en cystéines, similaire aux doigts de zinc, capable de lier la calmoduline en présence de calcium;
- IV. Domaine C-terminal (COOH-terminal) : Comporte deux régions en superhélice (coiled-coil) impliquées dans les interactions protéine-protéine. Ce domaine permet notamment la liaison avec la dystrobrevine et joue un rôle dans l'association avec la syntrophine et d'autres protéines du complexe de protéines associées aux dystrophines (figure 09) (Blake et al., 2002).



Figure 09 : Schéma de la structure de la dystrophine (Babbs et al., 2020). La dystrophine complète comprend le domaine de liaison à l'actine N-terminal (NTD), quatre domaines charnières (H), 24 répétitions de type spectrine (R) qui forment le domaine bâtonnet, le domaine riche en cystéine (CRD) qui lie le complexe dystroglycoprotéique et le domaine C-terminal (CTD).

2.1 Isoformes des dystrophines

Le gène DMD présente une régulation transcriptionnelle caractérisée par la présence de sept promoteurs distincts, chacun actif dans des cellules ou tissus spécifiques, pour produire différentes isoformes de la dystrophine adaptée aux fonctions cellulaires. Les trois promoteurs

dit « full-length » (Dp427Muscle, Brain, Purkinje) produisent la forme complète de 427 kDa, très similaire entre eux. En revanche, les autres promoteurs situés plus loin dans le gène, initient la transcription de formes plus courtes (Dp260, Dp140, Dp116, Dp71), qui jouent des rôles spécifiques dans la rétine, les nerfs périphériques ou les cellules gliales. Cette organisation permet une adaptation fine de la fonction de la dystrophine selon les tissus (**Figure 10**) (**Sadoulet-Puccio et Kunkel, 1996**).

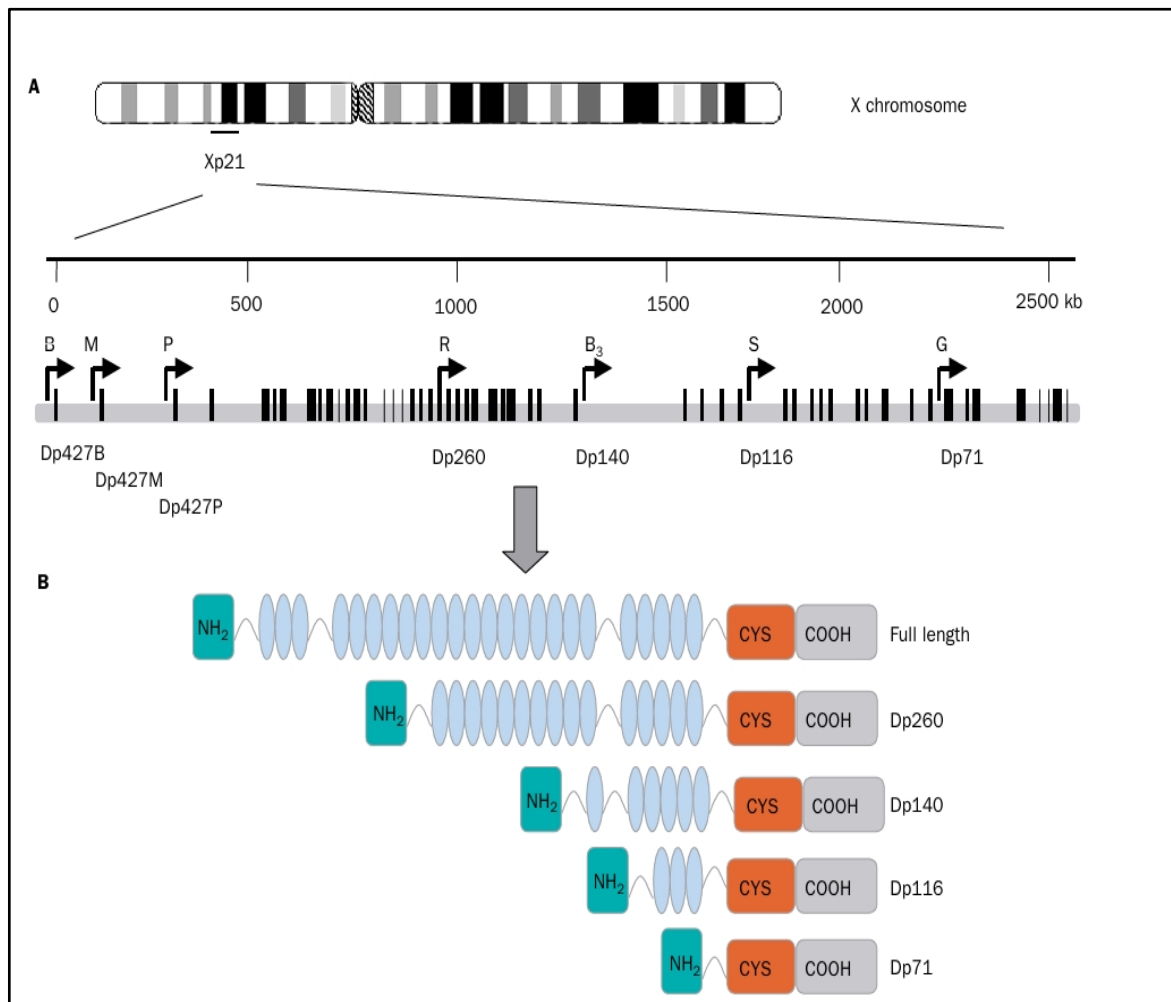


Figure 10 : A) Organisation du gène de la dystrophine, situé dans Xp21. B) La composition du domaine des différentes isoformes (**Sadoulet-Puccio et Kunkel, 1996**).

Ces isoformes plus courtes de la dystrophine se distinguent non seulement par leur taille, mais aussi par leurs domaines fonctionnels conservés, essentiellement localisés au niveau des régions riches en cystéines et des extrémités C-terminales de la protéine. Par exemple, Dp71, majoritaire dans le cerveau et les cellules gliales, conserve ces domaines tout en perdant la portion proximale de la molécule. De même, Dp116 est spécifiquement exprimée dans les

cellules de Schwann au niveau des nerfs périphériques, notamment au niveau du nœud de Ranvier (**Tableau 1**) (**Sadoulet-Puccio et Kunkel, 1996**).

Tableau 1 : Isoformes de la dystrophine (Sadoulet-Puccio et Kunkel, 1996).

Nom de l'isoforme	Poids moléculaire (kDa)	Localisation du promoteur	Tissu(s) spécifique(s)	Exons utilisés	Particularités
Dp427M (Muscle)	427	5' du gène	Muscle squelettique	Exon 1 (spécifique) + exon 2 commun	Exprime la forme complète dans le muscle
Dp427B (Brain)	427	≈ 90 kb en amont de Dp427M	Cortex cérébral	Exon 1 (spécifique) + exon 2 commun	Quasi identique à Dp427M
Dp427P (Purkinje)	427	En aval de Dp427M	Cellules de Purkinje (cervelet)	Exon 1 (spécifique) + exon 2 commun	Peu étudié, promoteur mal caractérisé
Dp260	260	Entre les exons 29 et 30	Rétine	Exon 1 propre + exon 30	Essentiel à la transmission synaptique rétinienne
Dp140	140	Intron 44	Cerveau, reins	Exon 1 (non codant) + traduction dès exon 51	Non exprimé dans muscle, foie, rate, etc.
Dp116	116	Entre les exons 55 et 56	Nerf périphérique (sciatique)	Exon 1 + exon 56	Spécifique aux cellules de Schwann, rôle au nœud de Ranvier
Dp71	71	≈ 8 kb avant exon 63	Ubiquitaire (surtout cerveau, cœur)	Exon 1 propre + exon 63	Isoforme courte, dominante dans cellules gliales, peu dans muscle adulte

3. Le complexe associé à la dystrophine

Le complexe dystrophine-protéines associées (DPC), correspond à un groupe de protéines liant les dystrophines, ayant un rôle structural de lien entre la matrice extracellulaire et le cytosquelette intracellulaire et également un rôle majeur de signalisation cellulaire. Le DPC est ainsi divisé en un sous-complexe structural et un autre signalétique (**Figure 11**) (**Allen et al., 2015**).

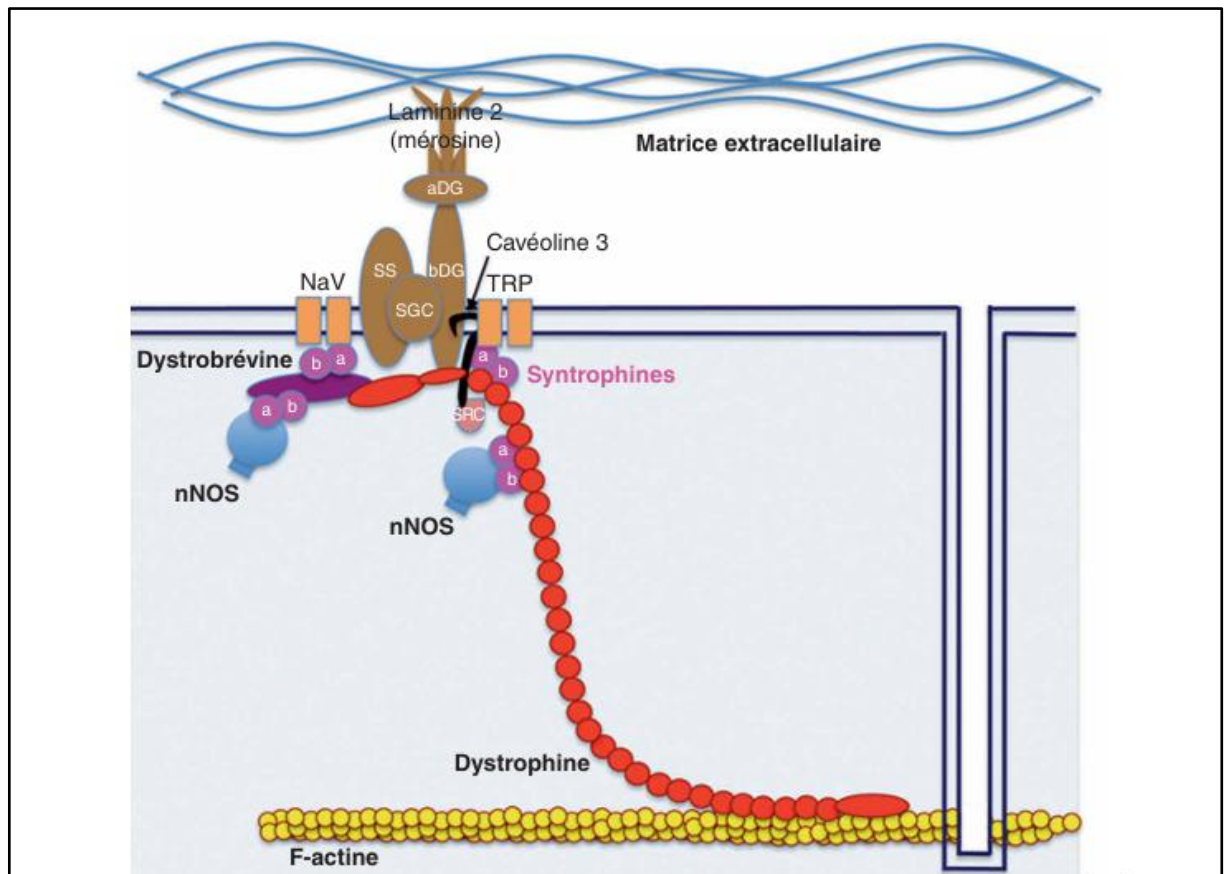


Figure 11 : Le complexe des protéines associées à la dystrophine (**Péréon et al., 2015**)

3.1 Complexe structural

Le rôle structural du DPC consiste à protéger la membrane sarcoplasmique contre les dommages liés à la contraction musculaire. Ce rôle repose sur une liaison mécanique entre le cytosquelette sous-membranaire (notamment l'actine F) et la matrice extracellulaire via des interactions entre la dystrophine, le complexe dystroglycanes et les protéines de la lame basale comme la laminine (**Allen et al., 2015**).

- Le complexe dystroglycane, constitué des sous-unités α - (extracellulaire) et β -dystroglycane (transmembranaire), établit un lien entre la lame basale (laminine, agrine, perlecan) et le cytosquelette via la dystrophine. Le β -dystroglycane phosphorylé peut aussi recruter des protéines de signalisation intracellulaire (**Allen et al., 2015**). D'après **Johnson et al. (2013)**, il existerait trois types de complexes dystroglycane :
 - Le complexe classique associé à la dystrophine (DPC),
 - Un complexe avec Caveolin-1, impliqué dans les caveolae (domaines membranaires)
 - Un complexe avec des canaux calciques, qui resterait fonctionnel même en l'absence de dystrophine, pouvant contribuer à la dérégulation calcique observée dans les muscles dystrophiques.
- L'actine α interagit fortement avec la dystrophine via son domaine de liaison à l'actine, mais aussi via les domaines spectrines. Cependant, l'absence provoquée de l'actine α n'entraîne pas une dystrophie sévère, suggérant que d'autres structures filamenteuses pourraient compenser (**Allen et al., 2015**).
- Les microtubules, organisés en un réseau particulier dans le muscle squelettique, interagissent également avec la dystrophine. Ils jouent un rôle dans l'organisation intracellulaire (Golgi) et la signalisation cellulaire, notamment dans la production de ROS (Espèces Réactives de l'Oxygène) et la localisation de la nNOS (Nitric Oxide Synthase).
- Les filaments intermédiaires, notamment la desmine, assurent le lien entre les structures contractiles et le sarcolemme dans le muscle squelettique. Associée à la kératine 19, elle interagit avec la dystrophine, renforçant ainsi l'intégrité du complexe dystrophine-protéines associées (DPC). D'autres protéines, comme la syncoiline et la desmusline (synémine), peuvent également se lier au DPC, suggérant un rôle dans la stabilité musculaire. La plectine, en particulier ses isoformes 1 et 1f, interagit à la fois avec la dystrophine et les dystroglycanes. Son absence, combinée à celle de la dystrophine chez la souris mdx, accentue le phénotype dystrophique, révélant son importance dans le maintien du cytosquelette et de l'homéostasie métabolique musculaire (**Allen et al., 2015**).

3.2 Complexe signalétique

Ce complexe est composé de six groupes principaux de protéines qui interagissent entre elles et avec d'autres partenaires pour réguler des fonctions cellulaires essentielles.

3.2.1 Sarcoglycanes

Les sarcoglycanes (SG) sont des glycoprotéines transmembranaires formant des complexes tétramériques (α , β , γ et ε SG) qui peuvent interagir avec d'autres éléments du complexe tel que le biglycan, les dystrobrevines et le sarcospan. L'absence d'une sous-unité des SGs peut causer l'effondrement de tout le complexe et la présence de mutation sur leurs gènes provoque généralement des dystrophies musculaires (Allen et al., 2015).

3.2.2 Dystrobrevines

Les dystrobrevines sont des protéines apparentées à la dystrophine, avec plusieurs formes recensées qui s'expriment différemment selon les tissus. Certaines formes sont riches en sites de phosphorylation, ce qui suggère un rôle dans la régulation des interactions protéiques liées au DPC. L'absence de dystrobrevin dans le tissu musculaire entraîne une dystrophie musculaire modérée chez la souris (Allen et al., 2015).

3.2.3 Syntrophines

Les syntrophines sont des protéines adaptatrices contenant des domaines PDZ capables de fixer de nombreuses autres protéines. Elles sont essentielles pour organiser la signalisation cellulaire à la membrane et peuvent lier, entre autres, la NO synthase neuronale (nNOS), les canaux ioniques, des kinases, etc. Bien qu'aucune mutation causant une maladie musculaire humaine n'ait été identifiée, leur expression est modifiée dans plusieurs myopathies (Allen et al., 2015).

3.2.4 Sarcospan (SSPN)

Le sarcospan est un membre de la famille des tetraspanines, Récemment, l'analyse multi-omique chez des souris mdx modélisant la dystrophie musculaire de Duchenne a révélé que la surexpression de SSPN renforce les interactions entre le cytosquelette et la matrice extracellulaire, améliorant ainsi les voies de mécanotransduction et la transmission de force musculaire (McCourt et al., 2023)

3.2.5 Intégrine $\alpha 7\beta 1$

Cette isoforme de l'intégrine joue un rôle dans la stabilisation de la membrane et la signalisation. Elle renforce le lien avec la matrice extracellulaire par son interaction avec le sarcospan. On a constaté une amélioration de l'état musculaire liée à son expression. Laminine-111, un de ses ligands, présente un effet thérapeutique dans plusieurs modèles animaux (**Allen et al., 2015**).

3.2.6 Biglycan

Le biglycan est un protéoglycane de la matrice extracellulaire, désormais reconnu pour son rôle dans la signalisation cellulaire. Il interagit avec des cytokines (TGF- β , TNF- α), des composants du complexe dystrophine-protéines associées (**Allen et al., 2015**).

4. Les utrophines

Les utrophines sont des protéines proches de la dystrophine, impliquées dans la stabilité de la membrane musculaire. Elles sont exprimées dès le développement embryonnaire et persistent à faible niveau chez l'adulte. En cas de dystrophie musculaire de Duchenne, leur surexpression pourrait compenser l'absence de dystrophine, ce qui en fait une cible thérapeutique prometteuse (**Tinsley et al., 1996 ; Nguyen & Ellis, 2002**).

CHAPITRE II

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Matériels

Dans ce qui suit, on décrit toutes les étapes qui ont permis l'obtention des blocs de tissu hépatiques pour les deux études histologique et immunohistochimique. Cependant on doit noter que l'ensemble de ces étapes ont été réalisé précédemment (Année 2023). Il est important de noter aussi que notre contribution a débuté à partir de l'étape de confection des coupes du tissu hépatique. Toute fois nous tenons à préciser que nous avons réalisé un stage au laboratoire Anatomie pathologie du CHU de Tizi Ouzou sur une période de 30 jours, du 19 février au 20 mars 2025, où nous avons acquis la pratique de préparation des blocs de tissus, les colorations histologiques standards et même spécialisé telle que la PAS, et enfin la maîtrise de la technique immunohistochimique enzymatique (immuno peroxydase).

L'expérimentation s'est déroulée dans plusieurs structures spécialisées :

- À l'animalerie de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB), où les rats ont été fournis par l'Institut Pasteur (Kouba, Alger). Après une période d'acclimatation d'une semaine, les animaux ont été soumis à un traitement au TMX.
- Au laboratoire de Neurochimie de la Faculté des Sciences Biologiques (USTHB), où la perfusion a été réalisée, les organes prélevés, puis les échantillons inclus en cassettes pour la suite de l'étude.
- Au laboratoire d'Anatomie-pathologie de l'École Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV) d'Alger, en charge de la réalisation des coupes histologiques.
- Au laboratoire Anapath du CHU Tizi Ouzou, où nous avons réalisé la coloration PAS.
- Enfin, au laboratoire de Physiologie Animale de la Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques de l'UMMTO, où l'examen immuno-histochimique (IHC) et la prise des photos ont été réalisés.

1.1. Matériel biologique

Dans le cadre de notre étude, nous avons travaillé sur des rats adultes mâles et femelles, ainsi que sur leur descendance, appartenant à la souche Wistar. Leur classification taxonomique est présentée ci-après :

Tableau 2 : La position taxonomique du rat Wistar

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

1.1. Matériel non biologique

1.2.1 Produit testé

Le composé testé dans cette étude est un insecticide dont la substance active, le thiaméthoxame, est commercialisée sous le nom d'Actara® 25WG, (formulation contenant 25 % de thiaméthoxame).

1.2.2 Produits utilisés

Pour la réalisation de cette étude, nous avons utilisé divers produits, notamment un anesthésiant (l'uréthane), du paraformaldéhyde à 4 % pour la fixation, une batterie d'alcools à concentrations croissantes et décroissantes (100°, 95°, 70°), du xylène, du Tween 20, le Peroxydase Block, le Protein Block, des anticorps primaires et secondaire (HRP), de l'hématoxyline, ainsi que de la résine Eukitt® pour le montage des coupes.

1.2.3 Matériels utilisés

Le matériel utilisé comprenait des ciseaux de dissection, une aiguille épicroânienne, des ciseaux à iris, des cassettes en plastique, des moules en métal, une plaque refroidissante, un appareil d'enrobage, un microtome pour la coupe des tissus, un bain-marie, une plaque chauffante, des lames et lamelles pour le montage, ainsi qu'un microscope photonique équipé d'un appareil photo relié à un ordinateur via le logiciel « Image View ».

2. Méthodes

2.1. Mise en lots des animaux

Dans le cadre de cette étude portant sur les effets du thiaméthoxame sur la structure et l'organisation du tissu hépatique, un total de 24 rats adultes (12 mâles et 12 femelles), âgés de 6 à 7 semaines et pesant entre 300 et 400 g, ont été utilisés. Ces animaux provenaient de

l'Institut Pasteur d'Alger (centre d'élevage de Kouba) et ont été accueillis à l'animalerie de l'USTHB, où ils ont été soumis à une période d'acclimatation d'une semaine. Les conditions environnementales étaient contrôlées : température ambiante comprise entre 20 et 25 °C, humidité relative entre 30 % et 70 %, et alternance lumineuse de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Les rats étaient hébergés dans des cages métalliques et plastiques, avec un accès libre à une alimentation sèche sous forme de croquettes et à de l'eau. L'entretien des cages était assuré tous les trois jours, avec remplacement systématique de la litière.

2.2. Préparation des lots de rats

Les rats ont été répartis de manière homogène en 4 groupes de 3 individus chacun. Ils ont ensuite été exposés au thiaméthoxame (TMX) par voie de gavage gastrique, selon différentes doses, et ce, durant une période de 10 semaines selon le tableau suivant.

Tableau 3 : répartition des lots de rats selon le traitement au TMX

Lots	Nombre de rats	Dose administré
Lot Témoins (non traité par le TMX)	3	1 ml/j d'eau du robinet
Lot DJA (dose journalière admissible)	3	0,026mg/Kg du TMX + 1ml/J d'eau du robinet
Lot NOAEL (dose sans effet nocif observable)	3	2.6 mg/kg du TXM + 1 ml/j d'eau
Lot NOAEL×2 (double dose de NOAEL)	3	5,2mg/kg de TMX + 1ml/J d'eau du robinet

Pendant les traitements, les animaux ont été croisés avec des femelles exposées au TMX. Après la mise bas, les animaux de la génération 1 (F1) ont été sacrifiés à différents âges 20jours, 60jours et 90jours.

2.3 Perfusion intracardiaque et prélèvement des organes

Les animaux ont été anesthésiés par une injection intra-péritonéale d'uréthane à 25 % dilué dans de l'eau distillée, à raison de 0,5 ml pour 100 grammes de poids corporel. Après anesthésie, les rats ont subi une perfusion intracardiaque, débutant par une solution saline de NaCl à 0,09 %, suivie d'un fixateur à base de paraformaldéhyde (PAF) à 4 %.

Les étapes de la perfusion sont les suivantes :

- Introduction d'une aiguille épicroténienne dans le ventricule gauche, dirigée vers l'aorte ascendante ;
- Incision de l'oreillette droite à l'aide de ciseaux à iris, afin d'instaurer une circulation ouverte permettant l'évacuation des liquides injectés ;
- Injection de la solution saline pendant quelques secondes, jusqu'à ce que le liquide sortant de l'oreillette droite soit clair, indiquant l'élimination complète du sang ;
- Perfusion de la solution fixatrice (PAF 4 %) en un volume de 150 à 200 ml, à un débit de 14 ml/min.

2.4. Post fixation du foie

La fixation est effectuée immédiatement après la perfusion. Le foie est alors prélevé puis immergé dans une solution de paraformaldéhyde (2 à 3 minutes) afin de stabiliser et conserver l'organe dans un état aussi proche que possible de l'état vivant, en prévenant la dégradation des protéines et des enzymes. Par la suite, le foie est transféré dans une solution de PAF à 4 %, puis placé dans des cassettes d'enrobage selon les différents lots.

2.5. Techniques histologiques

L'étude histologique nécessite la réalisation de plusieurs étapes indispensables permettant d'obtenir des coupes fines de l'échantillon étudié. Le protocole appliqué dans le cadre de notre étude se déroule comme suit :

2.5.1. Déshydratation et éclaircissement

La déshydratation vise à éliminer complètement l'eau contenue dans l'organe afin de permettre l'imprégnation des tissus par la paraffine, cette dernière étant non miscible dans l'eau. Cette étape est réalisée manuellement en plongeant progressivement l'échantillon dans des bains d'éthanol de concentrations croissantes (70 %, 90 %, puis 100 %), chacun pendant 30 minutes.

Ensuite on procède à l'éclaircissement en transférant l'organe dans deux bains de xylène d'une durée d'une heure chacun.

2.5.2. Imprégnation

L'imprégnation a pour objectif d'éliminer les résidus d'alcool en faisant passer les organes dans trois bains successifs de paraffine à 60 °C, durant 2 heures chacun. Le premier bain est constitué d'un mélange au même volume de paraffine et de xylène, tandis que les deux suivants contiennent uniquement de la paraffine pure.

2.5.3. Inclusion ou enrobage

L'inclusion du tissu dans la paraffine permet la formation de blocs solides, indispensables à l'obtention de coupes fines et homogènes. Elle consiste à verser une fine couche de paraffine fondue dans des moules métalliques, puis à y placer l'échantillon hépatique au centre. La cassette d'enrobage est ensuite positionnée sur le tissu, et de la paraffine liquide est de nouveau ajoutée jusqu'à l'immersion complète de l'échantillon (figure 12).



Figure 12 : Machine à enrobage (originale 2025)

2.5.4. Réalisation des coupes

Les blocs de paraffine sont sectionnés à l'aide d'un microtome (Figure 13), produisant des rubans de coupes très fines d'environ 5 μm d'épaisseur. Ces coupes sont d'abord déposées délicatement dans un bain-marie (figure 14), puis récupérées à l'aide de lames et laissées à sécher sur une plaque chauffante (figure 14).



Figure 13 : Microtome (Originale 2025).



Figure 14 : Bain marie et plaque chauffante (originale 2025).

2.5.5. Déparaffinage

Les lames ont ensuite été incubées dans une étuve à 60 °C pendant au moins deux heures, afin de faire fondre la paraffine imprégnant les échantillons et ainsi faciliter les étapes de coloration ultérieures.

2.5.6. Réhydratation

Contrairement à l'étape de déshydratation, cette phase consiste en un passage successif dans deux bains de xylène, suivi d'une réhydratation progressive dans des bains d'alcool à concentrations décroissantes (100 %, 90 %, puis 70 %) (figure 15).



Figure 15 : Batterie de la réhydratation. (Originale 2025)

2.5.7. Coloration

Le type de coloration utilisé dans notre étude est la coloration PAS (Acide Périodique de Schiff), qui permet de mettre en évidence les glucides et mucopolysaccharides présents dans les tissus. Elle colore en rose magenta les structures riches en polysaccharides, telles que le glycogène, les mucines ou la membrane basale, facilitant ainsi l'observation microscopique fine de l'organisation cellulaire et tissulaire.

La coloration PAS se déroule selon les étapes suivantes :

- Oxydation des coupes dans une solution d'acide périodique (généralement à 0,5 %) pendant 5 à 10 minutes, afin d'oxyder les groupements vicinaux hydroxyles en aldéhydes.
- Rinçage à l'eau distillée.
- Immersion dans le réactif de Schiff pendant environ 15 minutes, ce qui permet la formation d'un complexe coloré magenta au niveau des structures contenant des aldéhydes.
- Lavage à l'eau courante pendant 5 à 10 minutes pour révéler la coloration.
- Contre-coloration (facultative) avec l'hématoxyline de Mayer pendant 1 à 2 minutes, pour visualiser les noyaux en bleu.
- Rinçage, déshydratation, passage dans des bains d'éthanol à concentrations croissantes, puis clarification au xylène.

2.5.8. Montage

Les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle à l'aide d'une résine synthétique (Eukitt®). Chaque lame est ensuite identifiée à l'aide d'une étiquette. Cette étape permet d'assurer la conservation des coupes histologiques sur le long terme (Figure 16).



Figure 16 : Montage des lames (2025)

2.6. Technique immunohistochimique

L'immunohistochimie (IHC) est une technique utilisée depuis plus de vingt ans en histopathologie et cytopathologie. Elle a largement amélioré le diagnostic morphologique, notamment dans les maladies cancéreuses. Elle repose sur la détection de protéines spécifiques dans les cellules (cytoplasme, membrane ou noyau) grâce à une réaction antigène-anticorps. Cette technique permet non seulement d'identifier des types cellulaires ou des marqueurs tumoraux, mais aussi d'étudier l'expression de protéines impliquées dans des mécanismes toxiques ou endocriniens, ce qui est particulièrement utile en toxicologie expérimentale.

2.6.1. Protocole de réalisation de l'immunohistochimie

2.6.1.1. Perméabilisation des membranes

Les coupes, après déparaffinage et réhydratation, sont placées dans un milieu de saturation contenant 0,1 % de Tween 20 dilué dans un tampon phosphate (PBS-Tween20) pendant 15 minutes. Cette étape vise à limiter les liaisons non spécifiques entre les anticorps et les tissus, et à favoriser une meilleure accessibilité des antigènes cibles, en l'occurrence les dystrophines. Les échantillons sont ensuite rincés deux fois avec du PBS (5 minutes par lavage) pour éliminer l'excès de solution de démasquage.

2.6.1.2. Délimitation des coupes

Les coupes sont délimitées à l'aide d'un Dako-Pen afin de créer un puits permettant de retenir les réactifs lors des incubations.

2.6.1.3. Blocage de l'activité de la peroxydase endogène

Afin d'inhiber l'activité de la peroxydase naturellement présente dans les tissus, les échantillons sont incubés pendant 15 minutes dans une solution de blocage (*Peroxidase Block*). Deux rinçages au PBS (5 minutes chacun) suivent cette étape.

2.6.1.4. Blocage des sites non spécifiques

Pour éviter les liaisons non spécifiques des anticorps, les coupes sont traitées avec une solution contenant 0,4 % de caséine dans le PBS pendant 15 minutes. Deux lavages au PBS (5 minutes chacun) sont effectués ensuite.

2.6.1.5. Incubation avec l'anticorps primaire

Les lames sont incubées toute la nuit à 4 °C avec un anticorps primaire polyclonal de lapin dirigé contre les dystrophines. Après incubation, les excès d'anticorps sont éliminés par deux lavages de 15 minutes chacun dans du PBS.



Figure 17 : Solutions peroxydase block et protein block (**originale 2025**)

2.6.1.6 Incubation avec l'anticorps secondaire

Les échantillons sont ensuite incubés pendant 30 minutes avec un anticorps secondaire anti-IgG de lapin biotinylé à 0,1 % (Leica Biosystems, France) dilué dans du PBS. Deux lavages de 15 minutes au PBS permettent d'éliminer les anticorps secondaires non fixés.

2.6.1.7. Incubation avec la streptavidine-peroxydase

Avant la révélation, les coupes sont incubées pendant 30 minutes avec une solution de streptavidine conjuguée à la peroxydase (0,1 % dans PBS), utilisée pour amplifier le signal.

2.6.1.8. Révélation chromogénique

Une solution DAB est préparée en mélangeant 1 ml du substrat avec 50 μ L du chromogène DAB. Une goutte est déposée sur chaque lame : un précipité brun apparaît rapidement au site de liaison antigène-anticorps. La réaction est stoppée au bout de quelques secondes par rinçage abondant à l'eau distillée afin d'éviter une coloration trop intense.

2.6.1.9. Contre-coloration

Une contre-coloration à l'hématoxyline à 0,1 % est appliquée pendant 5 minutes afin de colorer les noyaux cellulaires. Elle est suivie d'un rinçage à l'eau distillée.

2.6.1.10. Déshydratation et montage

Les lames sont successivement plongées dans des bains d'éthanol de concentrations croissantes (70 %, 90 %, 100 %) puis dans deux bains de xylène (1 minute chacun). Le montage est réalisé à l'aide du milieu Eukitt, avant de recouvrir chaque lame d'une lamelle.

2.6.1.11. Observation microscopique

Les lames sont observées au microscope optique à différents grossissements ($\times 100$, $\times 400$). Le microscope est équipé d'une caméra connectée à un ordinateur, permettant la capture et l'enregistrement d'images.

Chapitre III

Résultats et Discussion

1. Résultats Histologie

Cette partie présente les observations histologiques du foie (coloration PAS) chez le rat Wistar après une exposition au thiaméthoxame pendant 10 semaines à trois doses différentes (DJA, NOAEL, NOAEL \times 2), comparées à celles du groupe témoin, ainsi qu'à celles des descendants de première génération à différents âges (20, 60 et 90 jours), issus de parents traités.

1.1. Observations chez les Adultes

1.1.1. Les parents (F0)

L'analyse histologique chez les témoins révèle une architecture lobulaire intacte du tissu hépatique. À faible grossissement, les hépatocytes sont organisés en travées, disposés radialement autour de la veine centro-lobulaire, qui présente un aspect régulier. À fort grossissement, le cytoplasme des hépatocytes montre une coloration marquée, indiquant une forte teneur en glycogène. Les noyaux sont ronds, denses et centrés. Les sinusoides sont bien délimitées, avec des membranes basales d'aspect fin et continu (**Figure 18 A-A'**).

Peu de différences sont observées chez le groupe DJA en ce qui concerne l'aspect général. La veine centro-lobulaire conserve sa régularité de forme, avec des membranes basales bien visibles, d'aspect légèrement plus clair comparé au groupe témoin. Les noyaux des hépatocytes paraissent significativement moins denses (**Figure 18 B-B'**).

Chez le groupe NOAEL, on observe une légère perte de régularité de la veine centro-lobulaire, échancrée par endroits. On remarque également que la taille des hépatocytes semble avoir diminué comparativement à celle des groupes témoin et DJA (**Figure 18 C-C'**).

Chez le groupe NOAEL \times 2, la structure lobulaire apparaît significativement altérée. À faible grossissement, on constate une perte totale de la disposition radiaire des hépatocytes. En outre, l'irrégularité de la veine centro-lobulaire est accentuée. Au niveau cellulaire, on peut clairement observer une variété d'anomalies, telles que la fragmentation du noyau et du cytoplasme de la majorité des hépatocytes, ainsi qu'un cytoplasme d'aspect granuleux. On observe également une pycnose nucléaire (condensation du noyau d'une cellule en mort cellulaire, de certains noyaux) (**Figure 18 D-D'**).

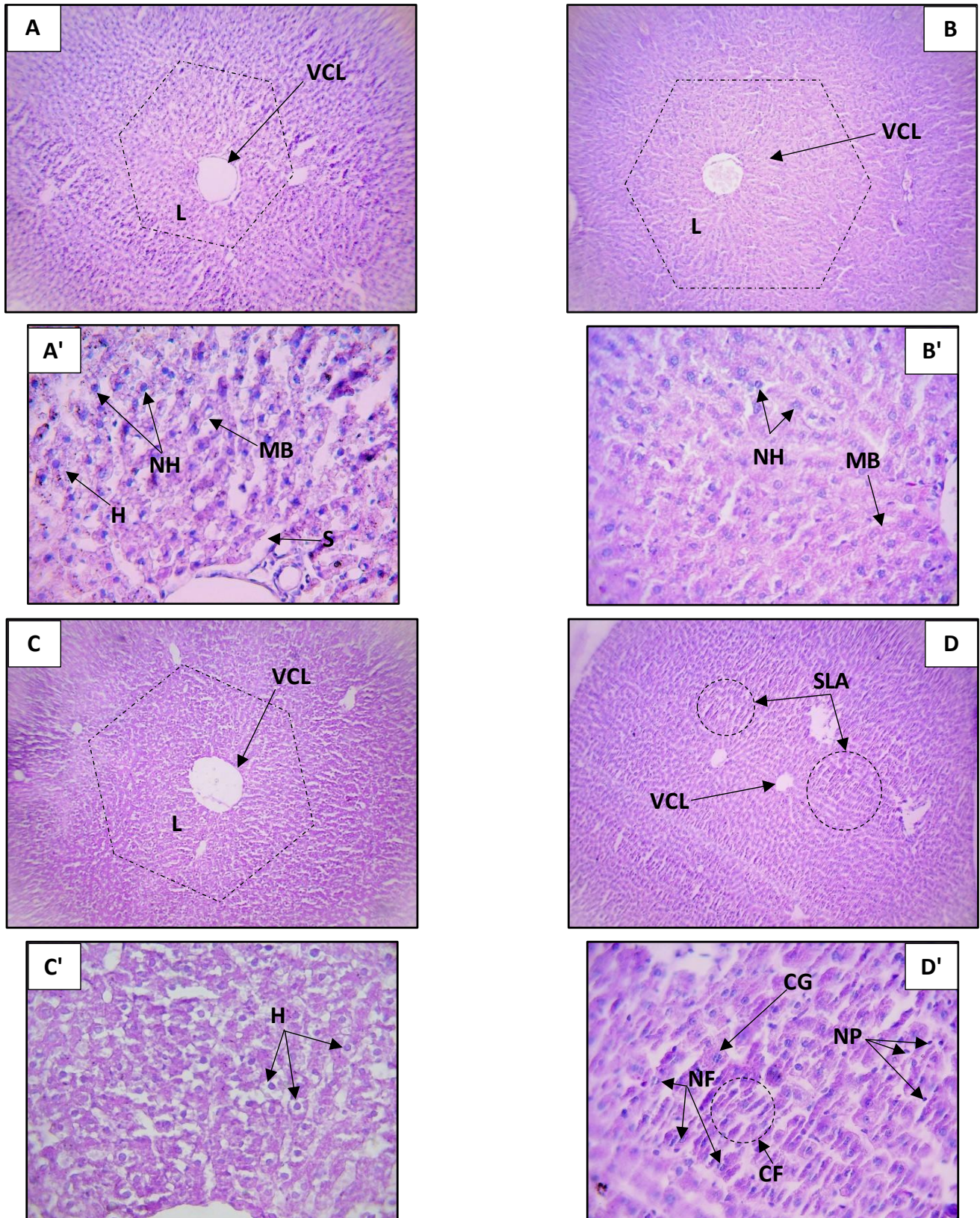


Figure 18: Coupes histologiques du foie chez les rats mâles (Génération F0 parents) témoins (A) et traités pendant 10 semaines au Thiaméthoxame : DJA (B), NOAEL (C) et NOAEL x 2 (D). Coloration PAS.

H : Hépatocytes, L : Lobule, VCL : Veines centrolobulaires, NH : Noyaux des hépatocytes, MB : Membrane basale vasculaire, S : Sinusoïdes, CH: Cytoplasme Hépatocyte, SLA : Structure lobulaire altérée, NF: Noyaux fragmentés, CF: Cytoplasme fragmenté, CG: Cytoplasme granuleux, NP: Noyaux pycnotiques.

1.1.2 Les descendants adultes de la première génération (F1 90j)

Chez les témoins, Au plus faible grossissement, les travées hépatocytaires sont bien organisées autour de la veine centro-lobulaire et on observe au fort grossissement, des hépatocytes présentant un cytoplasme intensément coloré au PAS, indiquant une forte teneur en glycogène. Les noyaux sont ronds, denses et centrés. Les sinusoides sont bien délimitées, avec des membranes basales d'aspect fin et continu (**Figure 19 A-A'**).

Chez le groupe DJA, peu de différences sont observées par rapport au groupe témoin. L'aspect fin et continu des membranes vasculaires et renforcé à certains endroits et les noyaux hépatocytaires sont légèrement plus clairs (**Figure 19 B-B'**).

Chez le groupe NOAEL, l'analyse histologique met en évidence une perte de l'organisation sinueuse habituelle des sinusoides, dont le cheminement devient plus droit et rigide, suggérant une modification de l'architecture vasculaire hépatique. Par ailleurs, les membranes plasmiques des hépatocytes présentent des contours irréguliers et leur cytoplasme apparaît finement granuleux (**Figure 19 C-C'**).

Chez le groupe NOAEL \times 2, On observe une désorganisation manifeste des travées hépatocytaires et des contours des sinusoides, ces derniers ne convergent plus vers la veine centro-lobulaire, rompant ainsi l'organisation radiaire typique du lobule hépatique. Au fort grossissement, on observe l'aspect granuleux du cytoplasme hépatocytaire, encore plus marqué ici avec des noyaux décentrés (**Figure 19 D-D'**).

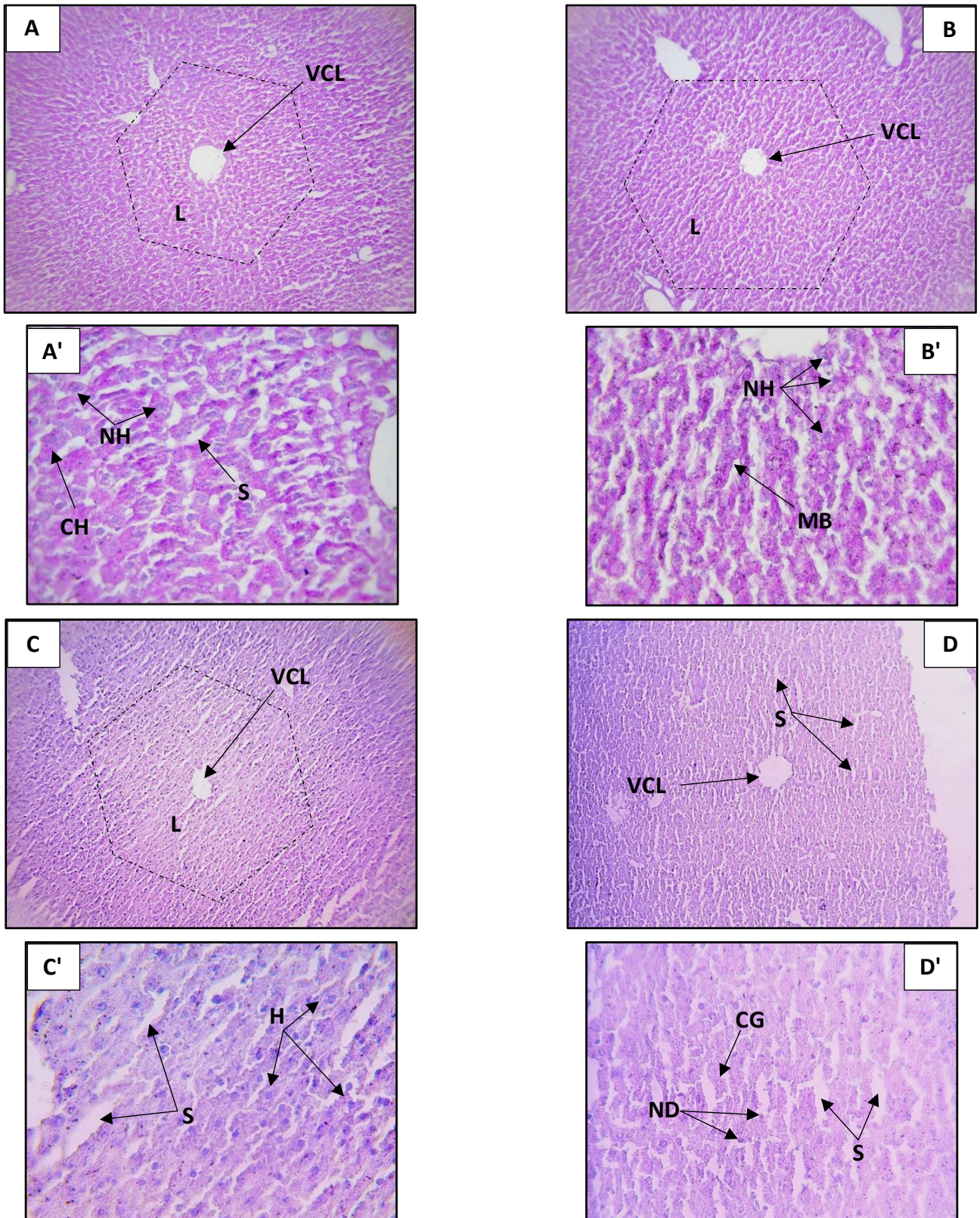


Figure 19: Coupes histologiques du foie chez les rats mâles (Génération F1 J90) témoins (A) et traités pendant 10 semaines au Thiaméthoxame : DJA (B), NOAEL (C) et NOAEL x 2 (D). Coloration PAS.

H : Hépatocytes, L : Lobule, VCL : Veines centrolobulaires, NH : Noyaux des hépatocytes, MB : Membrane basale vasculaire, S : Sinusoïdes, CH: Cytoplasme Hépatocyte, CG: Cytoplasme granuleux, ND: Noyaux décentrés.

1.2 Chez les animaux 20j (F1)

Chez les témoins, la veine centro-lobulaire présente une forme régulière avec des contours lisses. On observe des hépatocytes, d'aspect polyédrique, organisés en travées. Les sinusoides caractéristiques de la structure hépatique circulent entre les travées, au contact des hépatocytes, et convergent vers la VCL. Au fort grossissement (x400), on observe des noyaux dense et parfois double (binucléé) pour un seul hépatocyte (**Figure 20 A-A'**).

A l'image du groupe témoins, le groupe DJA 20j ne montre pas d'altérations significative. La VCL conserve une forme globalement régulière et les travées hépatocytaires sont intactes. On notera tout de même une coloration des noyaux moins foncés (**Figure 20 B-B'**).

Les différences se font plus significatives chez les groupes NOAEL et NOAELx2. Les hépatocytes observés chez le groupe NOAEL affichent une taille réduite comparé au groupe témoin et DJA (**Figure 20 C-C'**). Quant au groupe NOAELx2, la VCL y perd sa régularité, son contour parait moins lisse. On constate aussi, toujours chez le même groupe, une dilatation des sinusoides avec un élargissement des espaces intercellulaires (**Figure 20 D-D'**).

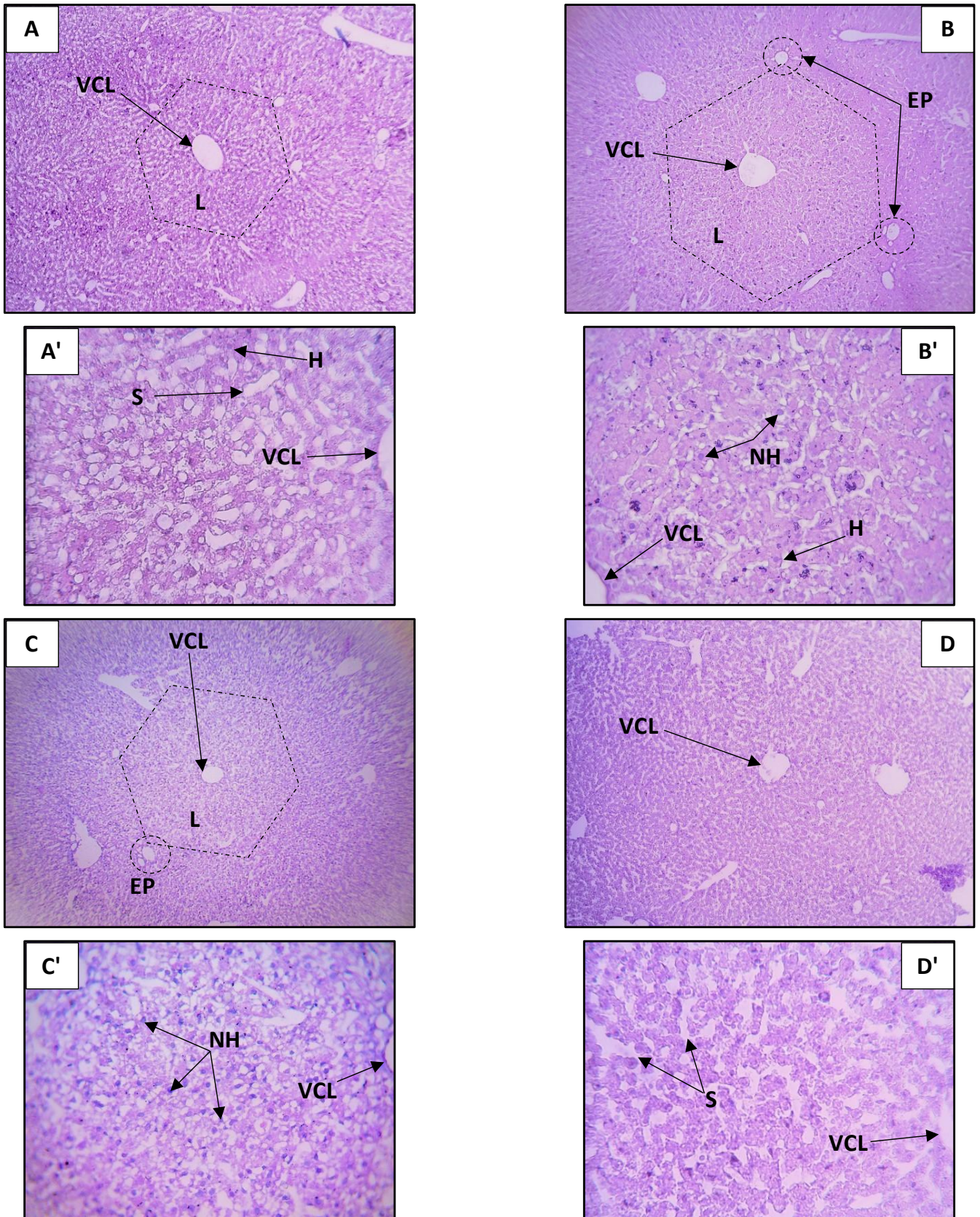


Figure 20: Coupes histologiques du foie chez les rats mâles (Génération F1 J20) témoins (A) et traités pendant 10 semaines au Thiaméthoxame : DJA (B), NOAEL (C) et NOAEL x 2 (D). Coloration PAS.

H : Hépatocytes, L : Lobule, VCL : Veines centrolobulaires, NH : Noyaux des hépatocytes, S : Sinusoïdes, EP : Espace porte.

1.3 Chez les animaux 60j (F1)

Chez les témoins, au faible grossissement, l'examen histologique révèle des espaces porte bien identifiable aux angles du lobule, contenant la triade classique composée de la veine porte, de l'artère hépatique et du canal biliaire, entourée d'un tissu conjonctif bien structuré. La veine centro-lobulaire conserve une forme régulière, contribuant à l'aspect ordonné de l'architecture lobulaire. Au fort grossissement. Les hépatocytes présentent une forme régulière, avec des noyaux centrés et des membranes plasmiques bien délimitées, marquées par une teinte plus foncée (**Figure 21 A-A'**).

Chez le groupe DJA, au faible grossissement, la disposition en travées des hépatocytes est clairement observable. La veine centro-lobulaire présente une morphologie régulière et les espaces portes sont toujours visibles aux coins des lobules, confirmant l'intégrité générale de la structure hépatique. Au plus fort grossissement, on remarque que les sinusoides sont bien délimités et légèrement dilatés. En outre, les noyaux aplatis des cellules endothéliales peuvent clairement être observés. Les noyaux hépatocytaires apparaissent moins denses et ponctués (**Figure 21 B-B'**).

Chez le groupe NOAEL, la coloration PAS est nettement moins marquée. Néanmoins, les membranes plasmiques et basales restent bien visibles. La veine centro-lobulaire présente une forme moins régulière, le cytoplasme des hépatocytes apparaît granuleux, et les noyaux, plus clairs (**Figure 21 C-C'**).

Chez le groupe NOAELx2, La structure lobulaire apparaît globalement conservée, bien que la veine centro-lobulaire ait perdu en régularité, avec des contours moins nets. Les hépatocytes présentent des noyaux clairs, parfois parsemés, dont le contour est souligné par une teinte plus foncée. Un à deux nucléoles sont parfois visibles au sein des noyaux. On observe également un nombre important de cellules binuclées (**Figure 21 D-D'**).

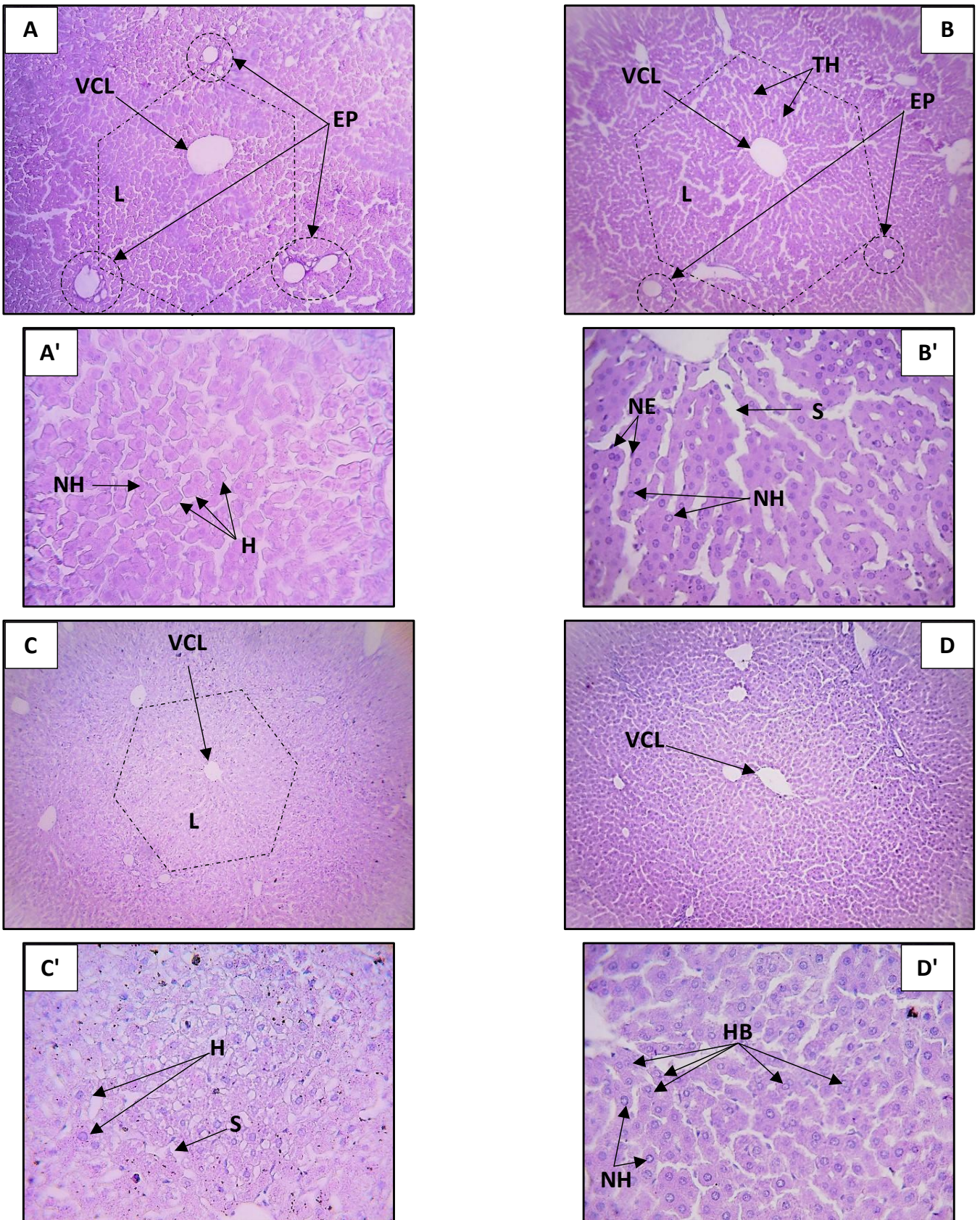


Figure 21: Coupes histologiques du foie chez les rats mâles (Génération F1 J60) témoins (A) et traités pendant 10 semaines au Thiaméthoxame : DJA (B), NOAEL (C) et NOAEL x 2 (D). Coloration PAS.

H : Hépatocytes, L : Lobule, VCL : Veines centrolobulaires, NH : Noyaux des hépatocytes, S : Sinusoïdes, EP : Espace porte, TH : Travées hépatocytaires, NE: Noyaux endothéliaux des sinusoides, HB: Hépatocytes binucléés.

2. Résultats Immunohistochimie

En complément de l'analyse histologique, une analyse immunohistochimique a été réalisée afin d'explorer la présence et la distribution de la dystrophine dans le tissu hépatique de rats soumis à un traitement au thiaméthoxame.

2.1. Chez les parents (F0) (figure 22)

Dans les tissus hépatiques des témoins, le marquage des dystrophines est positif au niveau des régions périvasculaires. Les noyaux hépatocytaires présentent également un marquage au niveau de la membrane nucléaire

Chez les animaux du groupe DJA, les noyaux et les vaisseaux sont toujours marqués. On note l'apparition d'un marquage plus distinguable des membranes plasmiques des hépatocytes.

Chez le groupe NOAEL, le marquage revêt un aspect pointillé autour des sinusoides, et les noyaux sont plus intensément marqués.

Chez le groupe NOAEL $\times 2$, on observe une baisse conséquente du marquage au niveau des noyaux, tandis que le marquage vasculaire est fin et continu.

2.2. Chez les descendants adultes (F1, 90 jours) (figure 22)

Chez les témoins, le marquage est important et d'aspect homogène au niveau des noyaux. Le marquage des membranes plasmiques des hépatocytes est discontinu, avec un aspect plus épais sur certains côtés de la membrane.

Dans le groupe DJA, les observations sont très semblables à celles des témoins, avec un marquage intense et discontinu des membranes plasmique des hépatocytes, certains côtés étant plus épais que d'autres. Le marquage des noyaux est hétérogène, surtout concentré sur la périphérie, au niveau de la membrane nucléaire.

Chez le groupe NOAEL, les résultats sont assez semblables à ceux du groupe DJA, à l'exception d'un marquage plus important au niveau du cytoplasme des hépatocytes.

Enfin, chez le groupe NOAEL $\times 2$, les noyaux sont bien marqués, ce qui permet d'observer une grande hétérogénéité dans les tailles et les formes des noyaux. Certains noyaux présentent une

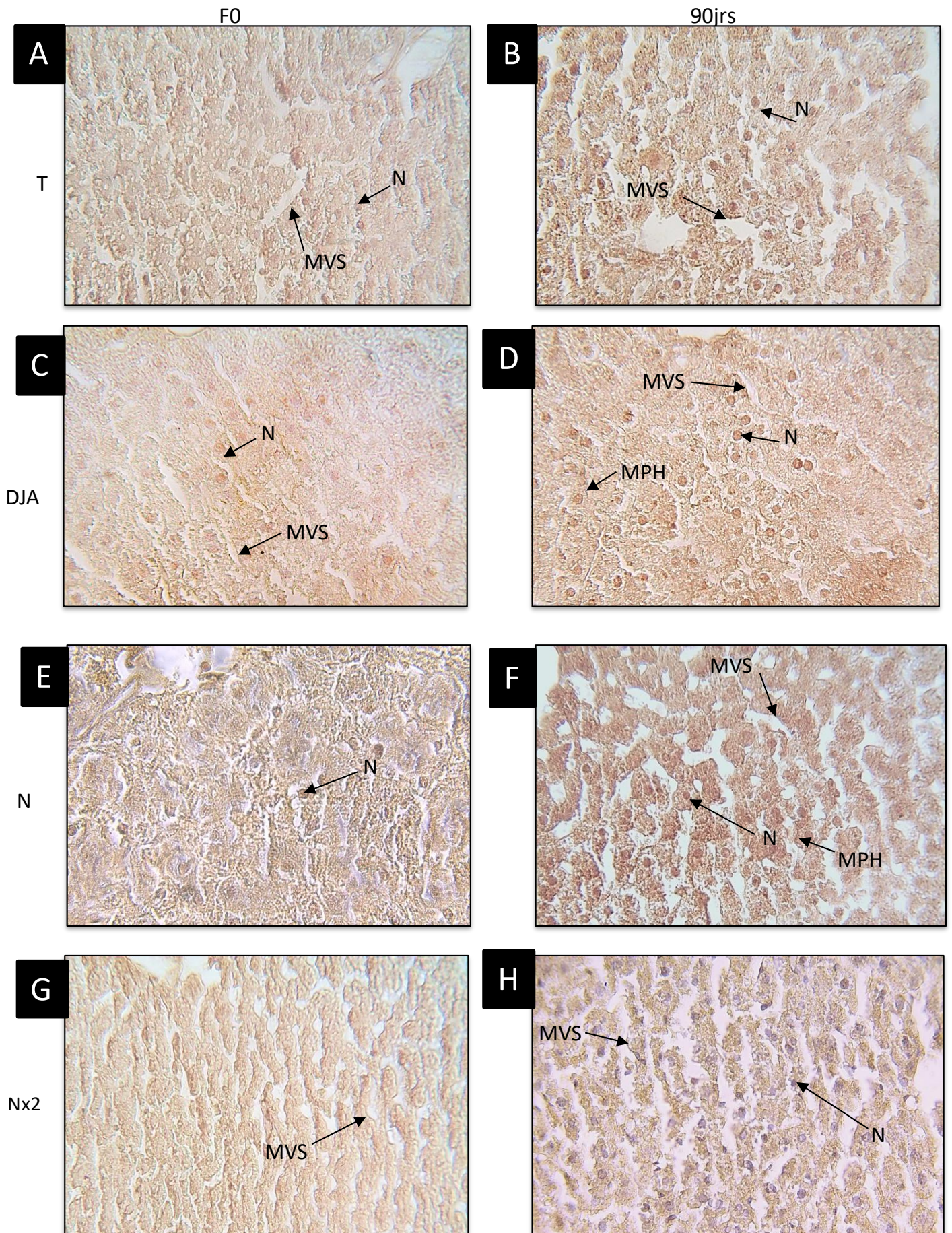


Figure 22 : Distribution de la dystrophine dans des coupes histologiques du foie chez les rats mâles (parents (F0) et adultes 90j (F1)) traités au thiaméthoxame aux doses suivantes : dose journalière admissible (DJA), NOAEL (N) et NOAEL $\times 2$ (Nx2). Grossissement : $\times 400$
MVS : membrane vasculaire des sinusoides, MP: membrane plasmique, N : noyau.

taille très réduite, d'autres sont déformés ou même fragmentés. À part cela, le marquage reste toujours discontinu au niveau des membranes plasmiques.

2.3 Chez les animaux de 20 jours (figure 23)

Chez les témoins, le marquage est conséquent sur l'ensemble des membranes plasmiques des hépatocytes. Le marquage des noyaux est plus faible, mais reste visible au niveau des membranes nucléaires.

Dans le groupe DJA, un marquage membranaire et submembranaire important est observé. Les noyaux paraissent bleus en raison de la contre-coloration.

Chez les animaux du groupe NOAEL, le marquage membranaire, qu'il soit plasmique ou nucléaire des hépatocytes, est fin et globalement continu.

Enfin, dans le groupe NOAEL $\times 2$, on note peu de différences par rapport au groupe précédent, si ce n'est un marquage plus intense des membranes vasculaires.

2.4. Chez les animaux de 60 jours (figure 23)

Chez les témoins, le marquage est net et continu au niveau des membranes vasculaires. Les noyaux sont également bien marqués, surtout sur les membranes.

Dans le groupe DJA, en comparaison aux témoins, le marquage est plus important et homogène dans le cytoplasme, tandis que les membranes et les noyaux sont moins distinguables.

Chez les animaux du groupe NOAEL, un marquage conséquent est observé sur plusieurs régions : les membranes plasmiques des hépatocytes, les régions submembranaires des hépatocytes, ainsi que la périphérie des noyaux.

Enfin, dans le groupe NOAEL $\times 2$, le marquage est important au niveau des membranes vasculaires et apparaît homogène dans le cytoplasme. Au niveau des noyaux, le marquage est continu sur les membranes nucléaires et présente un aspect en pointillé à l'intérieur.

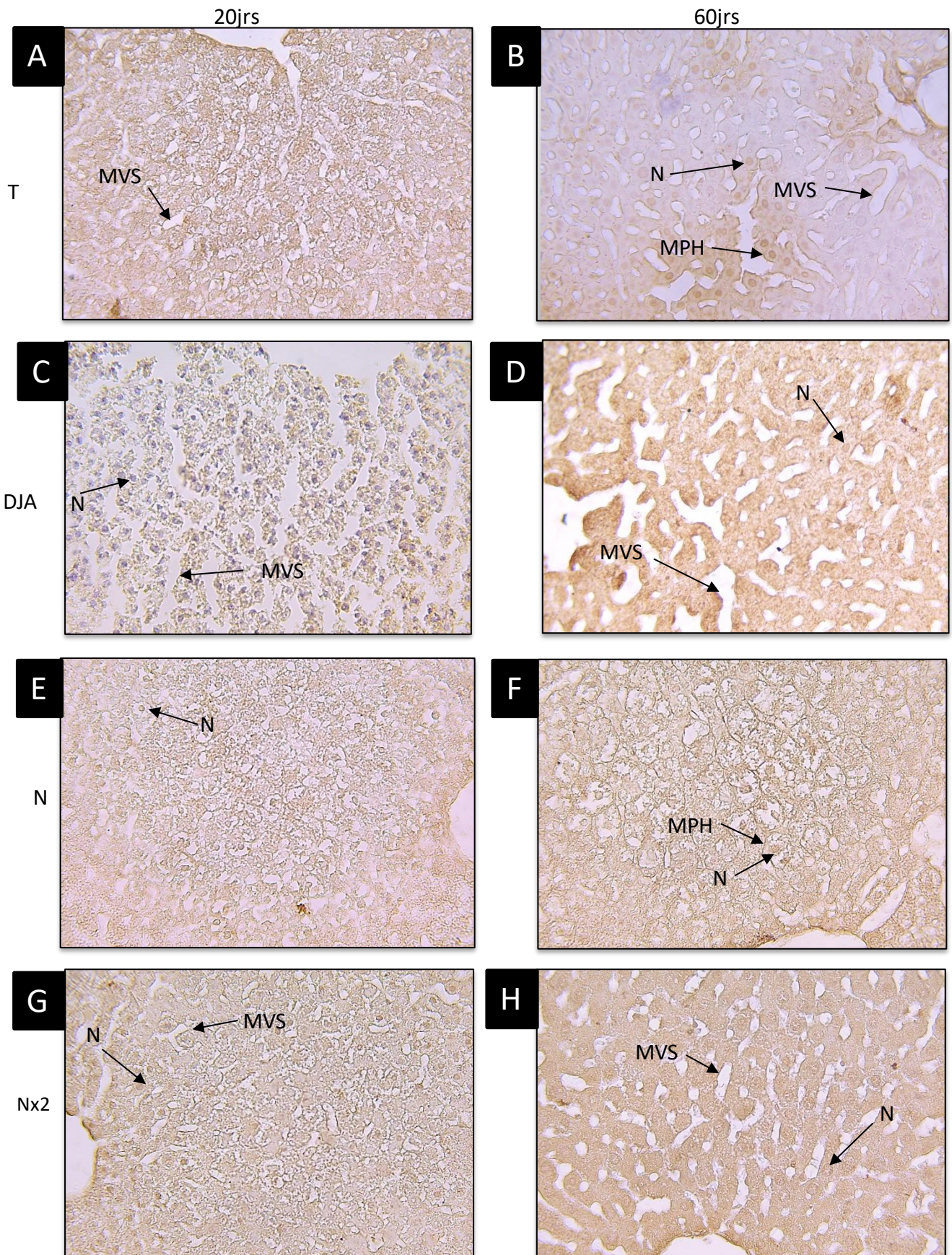


Figure 23 : Distribution de la dystrophine dans des coupes histologiques du foie chez les rats mâles âgés de 20 jours et les rats âgés de 60 jours, traités au thiaméthoxame aux doses suivantes : dose journalière admissible (DJA), NOAEL (N) et NOAEL $\times 2$ (Nx2).

Grossissement : $\times 400$

MVS : membrane vasculaire des sinusoides, MP: membrane plasmique, N : noyau.

Tableau 4 : Evaluation approximative de l'expression et de la distribution des dystrophines dans les structures histologiques du foie traité au thiaméthoxame

Groupe	Génération Structure	F0	20j	60j	90j
Témoins	Noyaux	++	++	+++	+++
	M plasmique	++	+++	++	+++
	M vasculaire	+++	+++	+++	++
DJA	Noyaux	++	+++	+	+++
	M plasmique	++	+++	++	+++
	M vasculaire	++	++	+++	++
NOAEL	Noyaux	+++	++	++	+++
	M plasmique	+	+++	++	+++
	M vasculaire	++	++	++	+++
NOAEL×2	Noyaux	+	++	++	+++
	M plasmique	+	++	+	++
	M vasculaire	+++	+++	+++	++

3. Discussion

L'étude histologique du foie des rats Wistar exposés au thiaméthoxame (TMX) à différentes doses a montré des altérations structurales du tissu hépatique notamment chez le groupe NOAELX2. À cela s'ajoute l'étude immunohistochimique, qui a révélé une expression et une distribution différente des dystrophines selon la dose à laquelle l'animal a été exposé. Dans cette partie, nous allons discuter nos résultats en corrélation avec les données de la littérature scientifique traitant du même sujet.

3.1 Effet du Thiaméthoxame sur l'histo-physiologie hépatique

L'histologie de base du foie présente une structure lobulaire organisée autour d'une veine centrolobulaire. De grandes cellules polygonales, les hépatocytes, sont disposées en travées rayonnant vers cette veine. Entre ces travées circulent des sinusoides, où le sang est filtré. Aux angles du lobule se trouvent les espaces portes, contenant une branche de la veine porte, de l'artère hépatique et un canal biliaire.

3.1.2 Effet direct du Thiaméthoxame sur l'Histo-physiologie hépatique des parents

L'étude histologique des rats exposés à la dose DJA a révélé peu de différence avec l'organisation hépatique normale, la structure lobulaire est sauvegardée et aucune altération significative n'est observée. En effet, la dose DJA est généralement considérée comme sans effet significatif sur les hépatocytes. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **Khaldoun-Oularbi et al. (2017)**, qui n'ont observé aucun changement notable dans la structure ou la fonction de ces paramètres hépatiques chez des rats Wistar mâles traités avec cette dose.

En revanche, des altérations notables sont rapportées dès la dose NOAEL. **Okle et al. (2017)** décrit une fibrose de la veine centrolobulaire ainsi qu'une atrophie lobulaire chez des lapins traités au TMX à raison de 250 mg TMX/kg p.c. pendant 90 jours. Ces résultats concordent avec la perte de régularité de la veine centrolobulaire et la diminution de la taille des hépatocytes que nous avons observées à travers la coloration PAS dans le groupe NOAEL.

Par ailleurs, les résultats observés dans le groupe NOAEL \times 2, qui incluent la fragmentation nucléaire et cytoplasmique des hépatocytes, un cytoplasme d'aspect granuleux et une pycnose nucléaire, sont confirmés par les observations de **Shalaby et al., (2010)**. En effet, les données histopathologiques recueillies par ces auteurs chez des rats albinos traités au

TMX à raison de 156,3 mg/kg montrent un gonflement des hépatocytes, une dégénérescence hydropique (accumulation excessive d'eau dans le cytoplasme des hépatocytes), une chromatolyse, une pycnose nucléaire, une nécrose focale ainsi qu'une karyorrhexis (fragmentation des noyaux). Ces altérations traduisent des dommages cellulaires profonds, très probablement liés au stress oxydatif induit par le thiaméthoxame. L'étude menée par **Alsadee et al. (2024)** a montré que l'exposition du rat Wistar au thiaméthoxame entraîne une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans le foie, mise en évidence par une augmentation des niveaux de TBARS (substances réactives à l'acide thiobarbiturique) et de H₂O₂, ainsi qu'une diminution du glutathion (GSH) – un antioxydant essentiel. Ces déséquilibres déclenchent une peroxydation lipidique, qui altère gravement les membranes cellulaires des hépatocytes, ce qui les rend perméables et engendre le gonflement hydropique, suivi de la lyse membranaire et de la nécrose focale.

Outre les observations histologiques, des perturbations biochimiques ont été relevées par **Hataba et al. (2014)**, notamment une élévation des taux sériques des enzymes hépatiques ALT et AST avec un effet dose-dépendant. La présence de ces enzymes en quantités importantes dans le sang suggère des lésions des cellules hépatiques. La même étude a également mis en évidence une diminution des taux de protéines totales et d'albumine, ce qui pourrait s'expliquer par une altération de la fonction de synthèse du foie.

3.1.3 Effet indirect du Thiaméthoxame sur l'Histo-physiologie hépatique des descendants de première génération.

Les résultats de notre étude révèlent que l'exposition parentale au thiaméthoxame (TMX) entraîne des altérations notables au niveau hépatique chez les descendants de première génération, même en l'absence d'exposition directe de ces derniers à l'insecticide. Ces observations soulignent des effets transgénérationnels possibles du TMX, rejoignant des travaux antérieurs ayant évoqué la transmission des effets toxiques des néonicotinoïdes par les gamètes (**Okle et al., 2017 ; Zuscikova et al., 2023**).

Les anomalies histologiques observées chez les descendants, notamment la fibrose centrolobulaire, la désorganisation des travées hépatocytaires, la présence accrue de noyaux binucléés, ainsi que la dilatation des sinusoides, sont comparables à celles décrites chez les parents traités. Ces résultats suggèrent que le TMX pourrait induire des modifications persistantes du patrimoine génétique ou épigénétique transmis à la descendance. En effet,

plusieurs auteurs ont mis en évidence l'implication de microARNs, de méthylations aberrantes de l'ADN ou encore de modifications des histones comme vecteurs potentiels des effets transgénérationnels des substances toxiques. La circulation placentaire et l'allaitement maternel pourrait également constituer des voies de transmissions, dans la mesure où les femelles ont été traitées au TMX pendant toute la durée de la gestation, du post-partum et jusqu'au sevrage des descendants (**Nicolella et de Assis, 2022**).

L'intensité atténuée de la coloration PAS au niveau hépatique des descendants, en particulier ceux issus des groupes NOAEL et NOAEL×2, témoigne vraisemblablement d'une altération du métabolisme du glycogène. Cela pourrait résulter d'un stress métabolique hépatique chronique, transmis indirectement par les altérations induites chez les parents exposés au TMX.

3.2 Effet du Thiaméthoxame sur l'expression et la distribution des dystrophines au niveau de la structure Hépatique.

Nos résultats confirment la présence des dystrophines au niveau hépatique, comme cela avait déjà été décrit dans plusieurs études (**Bedossa et al., 2002**). Les dystrophines, bien que principalement étudiées dans le muscle squelettique et cardiaque, sont également exprimées dans le foie, notamment l'isoforme Dp71, où elles participent au maintien de la stabilité membranaire des hépatocytes et des jonctions intercellulaires (**Alnassar et al., 2023**). Ce rôle structurel contribue à préserver l'intégrité du parenchyme hépatique face aux contraintes mécaniques et métaboliques.

Chez les animaux exposés au thiaméthoxame (TMX), nous avons observé une baisse d'expression des dystrophines au niveau du tissu hépatique à savoir les membranes plasmiques des hépatocytes, les lames basales vasculaires et les membranes nucléaires. Une telle perturbation peut fragiliser les hépatocytes et les rendre plus sensibles aux agressions chimiques et au stress oxydatif. Cette hypothèse est appuyée par les travaux de **Bedossa et al (2002)**, qui avaient montré que les anomalies de l'expression des protéines du complexe dystrophine-dystroglycane favorisent la survenue de fibrose hépatique.

La baisse d'expression ou la redistribution anormale des dystrophines induite par le TMX pourrait ainsi être un des mécanismes expliquant les lésions observées, telles que la désorganisation des travées hépatocytaires, la fibrose centrolobulaire ou encore la dilatation

des sinusoïdes. Par ailleurs, ces modifications pourraient résulter d'un stress oxydatif induit par le TMX, qui endommage les protéines membranaires et cytosquelettiques, comme cela a été suggéré dans d'autres modèles d'exposition à des néonicotinoïdes (**Zuscikova et al., 2023**).

Conclusion
Et
Perspectives

Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes intéressés à l'impact subchronique du Thiaméthoxame, insecticide néonicotinoïde, sur l'organisation structurale du foie des rats Wistar adultes et en développements post natale ainsi qu'à l'expression et la distribution d'une protéine du cytosquelette sub-corticale, les dystrophines.

Nos résultats ont montré que l'exposition au thiaméthoxame, notamment à des doses élevées (NOAEL et NOAEL \times 2), induit des altérations histologiques significatives du parenchyme hépatique notamment chez le groupe d'animaux adultes exposés directement (F0) ou indirectement (F1-90J) à des doses élevées surtout dans le cas du groupe NX2. Parmi ces lésions figurent la dégénérescence des hépatocytes qui apparaissent avec des noyaux et même du cytoplasme fragmenté, les altérations des veines centro-lobulaires et la désorganisation des lobules hépatiques, susceptibles de compromettre les fonctions métaboliques et de détoxification de cet organe. De même, les animaux de la F1 issus de parents traités au TXM semble être affecté probablement par la transmission du pesticide des parents soit par les gamètes lors de la reproduction, le milieu intra-utérin durant la gestation ou par le lait maternel pendant l'allaitement.

Par ailleurs, l'évaluation immunohistochimique de la distribution des dystrophines au niveau du tissu hépatique a mis en évidence des modifications de leur expression et leur distribution sous l'effet du thiaméthoxame. Cette redistribution pourrait refléter des mécanismes adaptatifs ou pathologiques visant à maintenir l'intégrité tissulaire dans un contexte de stress oxydatif et d'altérations structurelles.

Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes pour de futures recherches, notamment :

- L'exploration de la capacité de régénération du foie après l'arrêt de l'exposition au thiaméthoxame
- La mise en œuvre de techniques de quantification immunohistochimique, permettant d'évaluer de façon plus précise les modifications de l'expression des dystrophines
- Des études de toxicité chronique pour évaluer et prévenir les risques potentiels chez l'homme en cas d'exposition prolongée.

En somme, ce travail contribue à enrichir les connaissances sur les effets hépatiques du thiaméthoxame et met en lumière la nécessité de mieux encadrer l'usage de ce pesticide, au regard des risques qu'il pourrait représenter pour la santé, notamment celle des générations futures.

Références Bibliographiques

A

Affi, F., Khater, M., & El-Badry, M. (2015). Effects of thiamethoxam on maize germination and hormonal signaling. *Journal of Plant Physiology*, 178, 25–33.

Aktar, W., Sengupta, D., & Chowdhury, A. (2009). Impact of pesticide use in agriculture: Their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, 2(1), 1–12.

Alnassar, N., Borczyk, M., Tsagkogeorga, G., Korostynski, M., Han, N., & Górecki, D. C. (2023). Downregulation of Dystrophin Expression Occurs across Diverse Tumors, Correlates with the Age of Onset, Staging and Reduced Survival of Patients. *Cancers*, 15(5), 1378. <https://doi.org/10.3390/cancers15051378>

Alsadee, S. A., Mohammed, S. A., & Hasan, A. F. (2024). Hepatotoxicity of Oral Sub-chronic Exposure to Thiamethoxam and Lambda Cyhalothrin in Rats. *Agricultural Reviews*. <https://doi.org/10.18805/ag.rf-350>

Allen, D. G., Whitehead, N. P., & Froehner, S. C. (2015). Absence of Dystrophin Disrupts Skeletal Muscle Signaling: Roles of Ca²⁺, Reactive Oxygen Species, and Nitric Oxide in the Development of Muscular Dystrophy. *Physiological Reviews*, 96(1), 253-305. <https://doi.org/10.1152/physrev.00007.2015>

Attia, Y., & Beghoura, A. (2020). Structural representation of thiamethoxam and its toxicological profile. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 168, 104645.

Avenot, H. F., & Michailides, T. J. (2010). Resistance to boscalid fungicide in *Alternaria alternata* populations from pistachio in California. *Plant Disease*, 94(6), 1026–1031.

B

Babbs, A., Chatzopoulou, M., Edwards, B., Squire, S. E., Wilkinson, I. V., Wynne, G. M., Russell, A. J., & Davies, K. E. (2020). From diagnosis to therapy in Duchenne muscular dystrophy. *Biochemical Society Transactions*, 48(3), 813–821. <https://doi.org/10.1042/bst20190282>

- Baldi, I., Lebailly, P., Rondeau, V., Bouchart, V., Blanc-Lapierre, A., & Raherison, C.** (2003). Neuropsychological effects of long-term exposure to pesticides: Results from the French Phytoner study. *Environmental Health Perspectives*, 111(9), 1302–1308.
- Barbosa, L. C., Silva, D. L., & Costa, R. D.** (2022). Thiamethoxam inhibits antioxidant enzyme activity in seedlings. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 41(8), 2131–2138.
- Bedossa, P., Ferlicot, S., Paradis, V., Dargère, D., Bonvoust, F., & Vidaud, M.** (2002). Dystroglycan Expression in Hepatic Stellate Cells: Role in Liver Fibrosis. *Laboratory Investigation*, 82(8), 1053–1061. <https://doi.org/10.1097/01.lab.0000024429.73158.de>
- Bingham, G., Gunning, R., & Moores, G.** (2007). Thiamethoxam: Mode of action and resistance management. *Pest Management Science*, 63(12), 1047–1051.
- Blake, D. J., Weir, A., Newey, S. E., & Davies, K. E.** (2002). Function and Genetics of Dystrophin and Dystrophin-Related Proteins in Muscle. *Physiological Reviews*, 82(2), 291–329. <https://doi.org/10.1152/physrev.00028.2001>
- Booth, G. M., Simons, P. M., Richter, T. A., & Martin, R. T.** (2019). Role of solvents and carriers in pesticide formulations. *Formulation Science*, 44(2), 99–112.
- Bretveld, R. W., Thomas, C. M., Scheepers, P. T., Zielhuis, G. A., & Roeleveld, N.** (2006). Pesticide exposure: Is the hormonal function of the female reproductive system disrupted? *Reproductive Biology and Endocrinology*, 4, 30.
- Buckle, A. P., & Smith, R. H.** (2015). *Rodent pests and their control* (2nd ed.). CABI Publishing.
- C**
- Casida, J. E., & Durkin, K. A.** (2013). Neuroactive insecticides: Targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annual Review of Entomology*, 58, 99–117.
- Casida, J. E., & Quistad, G. B.** (1998). Golden age of insecticide research: Past and future. *Annual Review of Entomology*, 43, 1–16.

Cottard, M. (2008). Organochlorine pesticides: Persistence and effects. *Toxicologie Analytique et Clinique*, 20(1), 35–42.

D

Dalley, A. F., II, & Agur, A. M. R. (2023). *Moore's clinically oriented anatomy*. Lippincott Williams & Wilkins.

Danel, V., Danel, M., & Richert, L. (2005). Toxicity of carbamate insecticides. *Revue Francophone des Laboratoires*, 373, 47–54.

David, D., Paillard, G., Bernard, F., & Joly, M. (2007). Introduction and market penetration of neonicotinoid insecticides. *Pest Management Science*, 63, 1081–1088.

Desaeger, J., Wram, C., & Zasada, I. (2020). New reduced-risk nematicides: Mode of action and application strategies. *Phytopathology*, 110(1), 6–13.

Dhadialla, T. S., Carlson, G. R., & Le, D. P. (2005). New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annual Review of Entomology*, 44, 545–569.

Drake, R. L., Vogl, A. W., & Mitchell, A. W. M. (2019). *Gray's Anatomy for Students E-Book*. Elsevier Health Sciences.

Duke, S. O. (2012). Why have no new herbicide modes of action appeared in recent years? *Pest Management Science*, 68(4), 505–512.

E

EPA. (2019). Organophosphates: Summary of hazard and exposure assessment. *Environmental Protection Agency Reports*.

Ervasti, J. M. (2003). Dystrophin, its interactions with other proteins, and implications for muscular dystrophy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1622(2), 77–87.

Exton, J. (1972). Gluconeogenesis. *Metabolism*, 21(10), 945-990.

[https://doi.org/10.1016/0026-0495\(72\)90028-5](https://doi.org/10.1016/0026-0495(72)90028-5)

F

Fukuto, T. R. (1990). Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environmental Health Perspectives*, 87, 245–254.

Frevert, U., Engelmann, S., Zougbedé, S., Stange, J., Ng, B., Matuschewski, K., Liebes, L., & Yee, H. (2005). Intravital Observation of *Plasmodium berghei* Sporozoite Infection of the Liver. *PLoS Biology*, 3(6), e192. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030192>

Gao, Q. Q., & McNally, E. M. (2015). The Dystrophin Complex: Structure, Function, and Implications for Therapy. *Comprehensive Physiology*, 1223-1239.

<https://doi.org/10.1002/cphy.c140048>

Garry, V. F. (2004). Pesticides and children. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 198(2), 152–163.

Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C., & Rotheray, E. L. (2015). Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*, 347(6229), 1255957.

Grant, D. M. (1991). Detoxification pathways in the liver. *Journal Of Inherited Metabolic Disease*, 14(4), 421-430. <https://doi.org/10.1007/bf01797915>

Green, J. M., & Beestman, G. B. (2007). Recently patented and commercialized formulation and adjuvant technology. *Crop Protection*, 26(3), 320–327.

Green, M., Schaeffer, C., Kelsey, J. E., & Beecham, L. (2005). Thiamethoxam: Mode of action and mammalian toxicity. *Toxicology Letters*, 158, 152–160.

Grossmann, K. (2000). Mode of action of auxin herbicides: A new ending to a long, drawn-out story. *Trends in Plant Science*, 5(12), 547–548.

H

Habotta, O. A., Ateya, A., Saleh, R. M., Ali, F. A., & Abdel-Daim, M. M. (2021). Thiamethoxam-induced oxidative stress and disturbance of steroidogenic genes in male rats: Palliative role of plant extracts. *Environmental Toxicology*, 36(10), 2051–2061.

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*, 9(1), 113–125.
<https://doi.org/10.21608/blj.2014.63858>

Hataba, N. A., & Shalaby, S. E. (2014). Toxicological evaluation of neonicotinoids. *International Journal of Advanced Research*, 2(12), 513–522.

I

Iyanagi, T., Xia, C., & Kim, J. P. (2012). NADPH–cytochrome P450 oxidoreductase: Prototypic member of the diflavin reductase family. *Archives Of Biochemistry And Biophysics*, 528(1), 72–89. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2012.09.002>

Jayaraj, R., Megha, P., & Sreedev, P. (2016). Organochlorine pesticides: Their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdisciplinary Toxicology*, 9(3–4), 90–100.

Jeschke, P., & Nauen, R. (2008). Neonicotinoids: From zero to hero in insecticide chemistry. *Pest Management Science*, 64(11), 1084–1098.

Johnson, E. K., Li, B., Yoon, J. H., Flanigan, K. M., Martin, P. T., Ervasti, J. M., & Montanaro, F. (2013). Identification of new dystroglycan complexes in skeletal muscle. *PLoS ONE*, 8(8), e73224. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073224>

K

Khaldoun-Oularbi, H., Bouzid, N., Boukreta, S., & Merzoug, S. (2017). Thiamethoxam (Actara®) induced alterations in liver, kidney, cerebellum, and hippocampus of male rats. *Journal of Xenobiotics*, 7(1), 7149.

Khaldoun-Oularbi, H., Bouzid, N., Boukreta, S., Makhlof, C., Derriche, F., & Djennas, N. (2017). Thiamethoxam Actara® induced alterations in kidney, liver, cerebellum and hippocampus of male rats. *Journal Of Xenobiotics*, 7(1).

<https://doi.org/10.4081/xeno.2017.7149>

Kierszenbaum, A. L. (2006). *Histologie et biologie cellulaire : Une introduction à l'anatomie pathologique*. De Boeck Supérieur.

Kierszenbaum, A. L., & Tres, L. L. (2021). *Histology and cell biology: An introduction to pathology* (5th ed.). Elsevier.

Köhler, H. R., & Triebkorn, R. (2013). Wildlife ecotoxicology of pesticides: Can we track effects to the population level and beyond? *Science*, 341(6147), 759–765.

L

Liu, C., Zhang, Y., Zhang, L., Li, X., & Wang, J. (2021). Thiamethoxam induces ER stress-mediated apoptosis in murine oocytes. *Environmental Pollution*, 281, 117043.

Lucas, J. A., Hawkins, N. J., & Fraaije, B. A. (2015). The evolution of fungicide resistance. *Advances in Applied Microbiology*, 90, 29–92.

M

Marieb, E., & Hoehn, K. (2018). *Study Guide for Human Anatomy and Physiology*. Pearson.

Matthews, G. (2018). *Pesticide application methods* (4th ed.). Wiley-Blackwell.

McCourt, J. L., Stearns-Reider, K. M., Mamsa, H., Kannan, P., Afsharinia, M. H., Shu, C., Gibbs, E. M., Shin, K. M., Kurmangaliyev, Y. Z., Schmitt, L. R., Hansen, K. C., & Crosbie, R. H. (2023). Multi-omics analysis of sarcospan overexpression in mdx skeletal muscle reveals compensatory remodeling of cytoskeleton-matrix interactions. *Skeletal Muscle*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13395-022-00311-x>

Mescher, A. L. (2018). *Junqueira's basic histology: Text and atlas* (15th ed.). McGraw-Hill Education.

Micheau, A., & Hoa, D. (2012). Système digestif [Base de données]. Dans *e-Anatomy*.
<https://doi.org/10.37019/e-anatomy/166969.fr>

Moore, K. L., Dalley, A. F., & Agur, A. M. R. (2020). *Clinically Oriented Anatomy*. Wolters Kluwer.

Mostafalou, S., & Abdollahi, M. (2013). Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 268(2), 157–177.

Mostafalou, S., & Abdollahi, M. (2017). Pesticides: An update of human exposure and toxicity. *Archives of Toxicology*, 91(2), 549–599.

Muntoni, F., Torelli, S., & Ferlini, A. (2003). Dystrophin and mutations: one gene, several proteins, multiple phenotypes. *The Lancet Neurology*, 2(12), 731-740.
[https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(03\)00585-4](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(03)00585-4)

N

Netter, F. H., & Co, J. S. (2019). *Atlas d'anatomie humaine*. Elsevier Health Sciences.

Nicolella, H. D., & de Assis, S. (2022). Epigenetic Inheritance: Intergenerational Effects of Pesticides and Other Endocrine Disruptors on Cancer Development. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 4671. <https://doi.org/10.3390/ijms23094671>

Nguyen, T. M., & Ellis, J. A. (2002). The therapeutic potential of utrophin upregulation in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders*, 12(Suppl 1), S111–S118.
[https://doi.org/10.1016/S0960-8966\(02\)00086-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8966(02)00086-2)

O

Okle, O. S. E., Euony, O. I. E., Khafaga, A. F., & Lebda, M. A. (2017). Thiamethoxam induced hepatotoxicity and pro-carcinogenicity in rabbits. *Environmental Science And Pollution Research*, 25(5), 4678–4689. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0850-0>

P

Pandian, B. A., Sathishraj, R., Djanaguiraman, M., Prasad, P. V., & Jugulam, M. (2020). Role of Cytochrome P450 Enzymes in Plant Stress Response. *Antioxidants*, 9(5), 454.

<https://doi.org/10.3390/antiox9050454>

Pastoor, T. P., Heneweer, M., Cote, W., & Benford, D. (2005). Thiamethoxam exposure and liver effects in rodent models. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 42(3), 225–233.

Pawlina, W., & Ross, M. H. (2018). *Histology: A text and atlas: With correlated cell and molecular biology* (8th ed.). Wolters Kluwer.

Péréon, Y., Mercier, S., & Magot, A. (2015). Physiopathologie de la dystrophie musculaire de Duchenne. *Archives de Pédiatrie*, 22(12), 12S18-12S23.

Pimentel, D., & Levitan, L. (1986). Pesticides: Amounts applied and amounts reaching pests. *BioScience*, 36(2), 86–91.

S

Sadoulet-Puccio, H. M., & Kunkel, L. M. (1996). Dystrophin and Its Isoforms. *Brain Pathology*, 6(1), 25-35. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.1996.tb00780.x>

Salavati, M., Crossley, M. M., Hart, J. S., & Montanez, E. (2002). Dystroglycan expression in hepatic stellate cells: Role in liver fibrosis. *European Journal of Biochemistry*, 269(6), [pages à compléter].

Shehata, E. M. S., Shalaby, A. R. H., Farrag, H., & El-Saed, G. S. M. (2010). Toxicological potential of Thiamethoxam insecticide on Albino rats. *Journal of the Arab Society for Medical Research*, 5(2), 165–172.

Simon-Delso, N., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L. P., Bonmatin, J. M., Chagnon, M., Downs, C., & Wiemers, M. (2015). Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): Trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 5–34.

Soderlund, D. M. (2012). Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity. *Archives of Toxicology*, 86(2), 165–181.

Speiser, B., & Kistler, C. (2002). Field evaluation of molluscicides. *Crop Protection*, 21(5), 515–522.

I

Testud, F., & Grillet, J. P. (2007). Carbamates and their toxicology. *Toxicologie Analytique et Clinique*, 19(2), 89–94.

Testud, F., Miguet, D., Boiteux, P., & Fournel, J. J. (2001). Pyrethroids: Toxicity and environmental impact. *Toxicologie Médicale*, 17(3), 165–172.

Tomizawa, M., & Casida, J. E. (2005). Neonicotinoid insecticide toxicology: Mechanisms of selective action. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45, 247–268.

Tordoir, W. F., & Van Sittert, N. J. (1994). Neurotoxicity of chlorinated hydrocarbons. *Neurotoxicology*, 15(3), 795–805.

Trefts, E., Gannon, M., & Wasserman, D. H. (2017). The liver. *Current Biology*, 27(21), R1147–R1151. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.09.019>

Tinsley, J. M., Davies, K. E., & Fairclough, R. J. (1996). Expression of full-length utrophin prevents muscular dystrophy in mdx mice. *Nature Medicine*, 2(3), 291–297. <https://doi.org/10.1038/nm0396-291>

V

Van den Berg, H., Manuweera, G., & Konradsen, F. (2020). Global trends in pesticide use: Risks and opportunities. *Environmental Health Perspectives*, 128(5), 055001.

Van Den Berghe, G. (1991). The role of the liver in metabolic homeostasis: Implications for inborn errors of metabolism. *Journal Of Inherited Metabolic Disease*, 14(4), 407-420.

<https://doi.org/10.1007/bf01797914>

Van Leeuwen, T., Tirry, L., Yamamoto, A., Nauen, R., & Dermauw, W. (2010). Mitochondrial complex II is involved in acaricide resistance. *Pest Management Science*, 66(5), 468–472.

Y

Yang, L., Liu, W., Zhao, S., Zhang, H., & Wang, Z. (2021). Thiamethoxam induces hepatic lipid accumulation via methionine cycle disruption. *Environmental Research*, 200, 111371.

Z

Zaghloul, M. R., Abdellatif, A. M., Abdel-Daim, M. M., & Rizk, M. Z. (2022). Protective effect of N-acetylcysteine against thiamethoxam-induced hepatorenal toxicity in rats. *Egyptian Journal of Chemistry*, 65(9), 251–266.

Zhou, L., Li, Y., & Zhang, S. (2008). Dystrophin and its associated proteins in cell membrane repair. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 29(5–6), 203–210.

Zuščíková, L., Bažány, D., Greifová, H., Knížatová, N., Kováčik, A., Lukáč, N., & Jambor, T. (2023). Screening of toxic effects of neonicotinoid insecticides with a focus on acetamiprid: a review. *Toxics*, 11(7), 598