

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI OUZOU**  
**Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques**  
**Département des sciences biologiques**



## **Mémoire de fin d'étude**

**En vue D'obtention Du Diplôme De Master en biologie**

**Spécialité : biologie et physiologie de la reproduction (BPR)**

### **Thème :**

**Effet de Thiaméthoxame sur l'expression et la distribution des protéines du cytosquelette sub- corticale au niveau de la glande surrénale chez le rat adulte males et leurs descendances de première génération**  
**Etude immuno-histochimique**

**Réalisé par : M<sup>elle</sup> Kheloufi Mélisa**

**M<sup>elle</sup> Hammad Nadjet**

**Mémoire soutenue devant le jury :**

**Mme CHERFAOUI DJ.**

**MCB/UMMTO**

**Présidente**

**Mme GUENDOUIZI S.**

**MAA/UMMTO**

**Promotrice**

**Mme TOUNSI F.**

**Doctorante**

**Co-promotrice**

**Mme BEN ABDESSELAM R.**

**Professeur**

**Examinatrice**

**Année : 2023-2024**

## **Remerciements :**

Nous tenons tout d'abord à exprimer nos profondes gratitude envers le bon dieu qui nous a guidés et permis de mener à bien ce travail avec bonheur et satisfaction.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance envers notre professeur madame **GUENDOUI** qui a acceptée de nous encadrer et qui a eu confiance en nous pour mener à bien ce travail, son soutien constant tout au long de ce travail et son encouragement, sa guidance, sa disponibilité d'une importance capitale, et son temps qu'elle nous a donné pour nous guider et accomplir ce travail.

Nous remercions notre Co-promotrice Mme **TOUNSI** pour son soutien, ces efforts, son aide, son professionnalisme pendant notre stage pratique.

Nous tenons aussi à exprimer nos remerciements à tous les membres de jury d'avoir accepté de juger notre travail Mme **BEN ABDESSLAM** et Mme **CHARFAOUI**, ainsi que votre soutien, vos conseils et surtout vos orientations.

Un grand merci pour tous le personnel du laboratoire d'anatomo-pathologie de l'école nationale supérieur vétérinaire d'Alger, et le personnel du laboratoire physiologie animale de département des sciences biologiques de l'université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

Enfin, on adresse non sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réussite de ce travail, nous sommes reconnaissantes envers toutes les personnes qui nous ont soutenus dans la réalisation de ce travail.

## **Dédicace :**

### **Dieu merci**

Après 18 ans d'étude, je suis sur le point de terminer mon parcours après beaucoup d'efforts, courage et obstacle ;

Tout d'abord, je dédie ce merveilleux travail à:

Mes chers parents : mon cher père et ma chère maman qui m'ont soutenu et aidé tout le long de mon parcours, depuis que j'étais petite jusqu'à ce jour-là, je suis très fière de vous, pour tout ce que m'avez fait dans ma vie, que dieu vous garde et bénisse pour moi.

À mes chères sœurs "**MANEL** " "**CELIA**" et "**CELINE**" qui ont été toujours à mes côtés avec leurs encouragements, et leurs soutiens à chaque moment que j'ai besoin d'aide.

À mes chers grands parents, qui ont été toujours derrière moi, ma chère tante "**KARIMA**" qui ma soutenue tout au long de mon projet, ainsi que ces enfants « **RAYAN** », « **RANIA** » et « **AZIZ** ».ma chère tante "**KAISSA** " et mon oncle je vous remercie pour tous vos encouragements à chaque moment, aussi leurs petit bébé "**MOHAMMED** ».

À mes meilleures copines « **LEATICIA** », « **RYMA** », « **THILELI** », merci pour tous les bons moments qu'on a passés ensemble, vos encouragements, votre présence pour ce jour spéciale pour moi.

À toi ma chère binôme "**NADJET** », merci d'avoir partagé avec moi ces bons moments inoubliables, c'était une expérience formidable.

À toute la promo BPR 2023-2024, merci d'avoir passé ces merveilleux moments ensembles.

Merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réussite de ce projet.

**MILI**

Ce mémoire est l'accomplissement de toutes ces années d'études, il est le fruit de mon acharnement  
et de ma persévérance

Je dédie ce modeste travail à :

Mes parents qui m'ont soutenu et encouragé tout au long de mon parcours.

Ma mère "**OUARDIA**" qui est à l'origine de ma réussite, de par son soutien et aussi tous les  
sacrifices consentis.

Mon père "**SAID**" qui m'a toujours soutenue et encouragé, aucun hommage ne pourrait être à la  
hauteur de l'amour dont ils nous comblent.

À mon chère frère "**KARIM**" qui m'a soutenue tout au long de mon projet, ma chère sœur  
"**KATIA**" qui a été toujours là pour moi, son mari "**RACHID**" et leurs enfants "**ISLAM**" et  
"**RASSILE**".

À mes oncles et tantes, à tous mes cousins et cousines.

À toi particulièrement "**DYHIA** », merci par ce que tu es toujours là pour moi chaque moment.

"**MÉLISA**" à toi mon cher binôme, nous avons vécue toute cette expérience ensemble, je te  
remercie d'avoir partagé avec moi ce projet.

À mes chères amies, mes chouchous adorés, à toute la promo BPR merci pour les bons moments  
ensemble.

**NADJET**

## **Listes des abréviations**

**ACTH** : Hormones adéno corticotropes

**ACTINE-F/-G** : Actine filamenteuse ou globulaire

**ADN** : Acide désoxyribonucléaire

**BMD** : Dystrophie musculaire de Becker

**CR** : Domaine riche en cystéine

**CRH** : Corticotropin -releasing -hormone

**CT** : Carboxyle terminale

**DAPC** : Dystrophin associates protein complex

**DAPS** : Les protéines associées à la dystrophine

**DB** : Dystrobrevine

**DDT** : Dichlorodi phényltrichloroéthane

**DG** : Dystroglycane

**DGC** : Dystrophine glycoprotéine

**DHEA** : Hydroxyandrosténone

**DMD** : Dystrophie musculaire de Duchenne

**DOC** : Désoxycorticostérone

**DP** : Dystrophie protéine

**DP427-P** : Dystrophine du poids moléculaire 427 Kda , dérivée du promoteur p

**DP71** : Dystrophie du poids moléculaire 71Kda

**Kda** : Kilo-daltons

**LBD** : Lipide binding domain (domaine de liaison aux lipides)

**MAP** : Microtubules associated proteins (protéine associée aux microtubules)

**MEC** : Matrice extra cellulaire

**NNOS** : Oxyde nitrique synthase neuronale

**NOAEL** : Dose sans effet nocif observable

**NT** : N- terminal

**S-DHEA** : Sulfate de DHEA 17-hydroxy progestérone

**SDHI** : SUCCINATE DESHYDROGÉNASE

**SG** : Sarcoglycane

**SYN** : Syntrophine

**TMX** : Thiaméthoxame

**B-DG** : B-D-dytroglycane

## Listes des figures

Figure 1:Consommation des pesticides dans le monde (FAOSTAT, 2021) .....	4
Figure 2:Consommation des pesticides en Algérie(Moussaoui et al., 2012).....	4
Figure 3:Forme chimique de thiaméthoxame(M VALO, 2012) .....	7
Figure 4:Mode d'action du thiaméthoxame (Chang et al., 2013). .....	9
Figure 5:Vascularisation artérielle des glandes surrénales (Drake et al., 2010).....	12
Figure 6:Morphologie de la glande surrénale (Donzeau, 2016).....	13
Figure 7:Coupes histologique de la glande surrénale au microscope montrant ses différentes couches :de la surface vers le centre ;zone glomérulé;zone fasciculée;zone réticulée (Sherlock et al ., endocrine reviews 2020). .....	15
Figure 8:Stéroidogénèse au niveau du cortex surrénalien (Fulla Yet al., 2009).....	17
Figure 9:Synthèse des catécholamines(Mewtow, 2014). .....	19
Figure 10:Régulation des fonctions surrénales par l'axe hypophysaire (Rabreau J,2019). .....	20
Figure 11:Structure de cytosquelette ( C Michard,2015).....	21
Figure 12:Organisation et composition des microtubules (Kon K,2017).....	22
Figure 13:Filaments intermédiaires (F Domart ,2019). .....	23
Figure 14: Polymérisation et dépolymérisation des filaments d'actines (A Campeau et al.,2019). ..	24
Figure 15:Complexe dystrophines et ses protéines associées(Keoniget al.,1988).....	25
Figure 16:Structure de la dystrophine et ses isoformes(Nichols et al.,2015). .....	27.
Figure 17:Rat WISTAR albinos(George ,2000). .....	31
Figure 18:Photographie montrant l'étape d'inclusion (photos originales, 2024). .....	34
Figure 19:Photographie de l'étape de confection des coupes et étalement (photos originales ,2024). .....	35
Figure 20: Batterie de la réhydratation (photo originale, 2024).....	36
Figure 21 :La délimitation des tissus sur les lames en verre (photo originale, 2024).....	37
Figure 22:Solution de peroxydase block et de protéine block (photo originale, 2024). .....	37
Figure 23: Chromogène DAB (photo originale , 2024). .....	39

Figure 24:Hématoxyline (photo originale ,2024). .....40

Figure 25:Montage des lames (photo originale,2024). .....41

Figure 26:Observation microscopique(photos original,2024).....41

Figure 27 : Marquage immuno histo chimique des dystrophines au niveau des coupes de la glande surrénale des rats adultes témoins(T), et traités au TMX .....46

Figure 28 : Marquage immuno histo chimique des dystrophines au niveau des coupes de la glande surrénale des rats âgés de 90 jours issus de parents témoins et traités au TMX .....48

Figure 29: Marquage immuno histo chimique des dystrophines au niveau des coupes de la glande surrénale des rats âgés de 20 jours issus de parents témoins et traités au TMX .....50

Figure 30 : Marquage immuno histo chimique des dystrophines au niveau des coupes de la glande surrénale des rats âgés de 60 jours issus de parents témoins et traités au TMX .....52

## Liste des tableaux :

Tableau 1:Propriétés physico-chimique(ARLA,2007) .....	8
Tableau 2:Les hormones de cortex surrénaliens (Ganong,2005). .....	18
Tableau 3:La position taxonomique du rat WISTAR(Chassé et Martel,2006). .....	31
Tableau 4:Répartitions des sytrophines au niveau de la glande surrénale des animaux adultes(parents et descendants)ages de 90 jours témoin et traités au TMX .....	46;
Tableau 5:Répartition du marquage des dystrophines au niveau de la glande surrénale des animaux ages de 20 et 60 jours chez différents groupes ,témoin et traités au TMX (*:légèrement marqué,**: moyennement marqué,***:fortement marqué) .....	51

## **Partie 1 : Données bibliographiques**

### **Chapitre 1 : Les pesticides**

1. Généralité sur les pesticides .....	3
1.1. Définition.....	3
1.2. Utilisation des pesticides dans le monde .....	3
1.3. Utilisation des pesticides en Algérie .....	4
2. Classification.....	4
2.1. Les herbicides.....	4
2.2. Les fongicides .....	4
2.3. Les insecticides .....	5
3. Définition et propriétés du TMX.....	6
3.1. Définition .....	6
3.2. Propriétés physico-chimique .....	7
3.3. Mode d'action du TMX.....	7
4. Effet des pesticides.....	9
4.1. Effet des pesticides sur la santé humaine .....	9
4.1.1. Toxicité des pesticides .....	9
4.1.1.1. Toxicité aigüe (court terme) .....	9
4.1.1.2. Toxicité chronique (longue terme).....	9
4.1.2. Effet des pesticides sur le système endocrinien .....	9
4.1.3. Impact des pesticides sur l'environnement .....	10

### **Chapitre 2 : Anatomie, Histologie de la glande surrénale :**

1. Anatomie de la glande surrénale .....	12
--	----

1.1 . Morphologie externe .....	12
1.2. Morphologie interne.....	12
2.. Histologie de la glande surrénale .....	13
2.1. Histologie de la corticosurrénale.....	13
2.2. Histologie de la médulosurrénale.....	14
3.Cytologie fonctionnelle .....	16
3.1. Les hormones de cortex surrénalien .....	16
3.1.1. Biosynthèse des hormones du cortex surrénalien .....	16
3.2. Les hormones de la médulosurrénale.....	18
4. Régulation de la fonction de la glande surrénale .....	19

### **Chapitre3 : cytosquelette et dystrophine**

#### 1.Généralités sur le cytosquelette :

1.1. Définition .....	21
1.2. Cytosquelette cytoplasmique.....	22
1.2.1. Les microtubules .....	22
1.2.2. Les filaments intermédiaires .....	23
1.2.3. L'actine.....	23
1.3. Cytosquelette sub-corticale .....	24
1.3.1. Définition .....	24
1.3.2. Constituant du cytosquelette sub-corticale.....	25
1.3.2.1. Les dystrophines(DPS).....	25

1.3.2.2. Complexe des protéines associées au dystrophine (DAPS) .....	27
---	----

**Partie 2 :**

<b>1. Matériels et méthodes .....</b>	<b>30</b>
---------------------------------------	-----------

1.1. Matériel biologique.....	30
-------------------------------	----

2.. Méthode.....	31
------------------	----

2.1. Mise en lot des animaux.....	31
-----------------------------------	----

2.2. Traitement des animaux .....	31
-----------------------------------	----

2.3. Sacrifices des animaux et anesthésie.....	32
--	----

2.4. Prélèvement d'organe et post fixation .....	33
--	----

2.5. Préparation des blocs .....	33
----------------------------------	----

2.5.1. Déshydratation et imprégnation .....	33
---	----

2.5.2. Inclusion et confection des blocs et des coupes .....	33
--	----

2.5.3. Réalisation des coupes .....	34
-------------------------------------	----

2.5.4. Déparaffinage .....	35
----------------------------	----

2.5.5. Réhydratation .....	35
----------------------------	----

- Traitement immuno-histochimique .....

**2. Résultats et discussions**

1. Résultats .....	42
--------------------	----

1.1. Impact de thiaméthoxame sur la distribution des dystrophines au niveau la glande surrénale des rats adultes.....	42
---	----

1.1.1. Chez les parents.....	42
------------------------------	----

1.1.2. Chez les descendants âges de 90 jours .....	44
--	----

1.2. Impact de thiaméthoxame sur la distribution des dystrophines au niveau la glande surrénale des rats de 20 jour, 60jour, 90jours .....	46
--	----

1.2.1. Chez les rats de 20 jours.....46

1.2.2. Chez les rats de 60 jours.....49

2. Discussion .....52

**Conclusion.....55**

**Référence bibliographiques .....56**

**Résumé .....63**

# **Introduction**

Les pesticides sont des substances chimiques permettant de lutter contre les nuisibles. Ils sont principalement utilisés en milieu agricole (**Philippe H et al., 2015**) et sont classés en trois grandes familles : les herbicides, les insecticides et enfin les fongicides (**Ehrmann, 2012**). Les insecticides sont destinés à détruire les insectes en inhibant leurs effets nuisibles soit par adhérence, ingestion ou inhalation (**Jesse, 2007**).

Les néonicotinoïdes sont des insecticides synthétiques analogue de la nicotine (**Elbert et al., 2008**), cette famille de pesticides est parmi les plus vendus et les plus utilisées à l'échelle mondiale, surtout en agriculture en raison de leur efficacité (**Errante, 2013**). Leur mode d'action vise le système nerveux périphérique qui entraîne une paralysie mortelle des insectes (**Maxim et Arnold, 2014**). Parmi les substances néonicotinoïdes, on cite le Thiaméthoxame.

En effet, le thiaméthoxame (TMX) est un insecticide de la famille des néonicotinoïdes, il est homologué en Algérie sous la marque ACTARA 25 WG (**Maienfisch et al., 1999**). Le thiaméthoxame agit en perturbant le système nerveux central des insectes en se liant aux récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (**Goulson, 2013**).

L'exposition chronique au pesticide peut engendrer divers problèmes de santé tels que les troubles neurologiques, les maladies respiratoires, les perturbations endocriniennes et hormonales (**Laouar, 2022**), notamment la glande surrénalienne.

Ainsi, dans ce travail expérimental, nous avons examiné les effets sub-chroniques d'une exposition au thiaméthoxame pendant dix semaines à doses différentes, sur la glande surrénale chez le rat WISTAR males, ceci en relation avec l'étude d'expression et de distribution d'un groupe de protéine du cytosquelette sub-corticale ; les dystrophines. De plus, nous avons également étudié l'impact de ces traitements sur les descendants de la génération1 à différents âges.

Pour ce faire, nous avons procédé comme suit, une première partie du travail concerne des rappels bibliographiques sur les pesticides, principalement le thiaméthoxame, la structure et la physiologie de la glande surrénale ainsi que des généralités sur le cytosquelette sub-corticale notamment les dystrophines. La deuxième partie est dédiée à la description de l'étude expérimentale et de la technique (IHC), et en fin, la troisième partie concernant la présentation des résultats obtenus suivis de leur discussion. Nous terminons par une conclusion.

**Partie 1 :**  
**Rappels bibliographiques**

# **1. Les pesticides**

## 1. Généralités sur les pesticides :

### 1.1. Définition

Le terme pesticide est composé par le suffixe "cide" qui a pour origine le verbe latin "caedo" signifiant "tuer" et la racine anglaise "pest" qui signifie animale ou plante (Lopez *et al.*, 2005). Ce terme désigne toutes les molécules permettant de lutter contre les nuisibles (animaux, végétaux, champignons), utilisées principalement en milieu agricole (Philippe *et al.*, 2015). Les pesticides sont présentés sous une forme commerciale et livrés à l'utilisateur pour protéger les végétaux contre les organismes nuisibles et assurer la conservation des végétaux (Index des produits phytosanitaire, 2017).

### 1.2. Utilisation des pesticides dans le monde :

Selon les données FAOSTAT de 2015, les dix pays qui utilisaient le plus de pesticides étaient la Chine (1763000), le Brésil (395646), la France (63818), l'Italie (60967), l'Espagne (59018), l'Inde (56100), l'Allemagne (48593), la Turquie (39026), la Pologne (23996), la Corée du sud (19482) et le Royaume-Uni (18302), entre 1990 et 2015. Tous ces pays ont eu une utilisation stable ou croissante de pesticides (Figure 1).

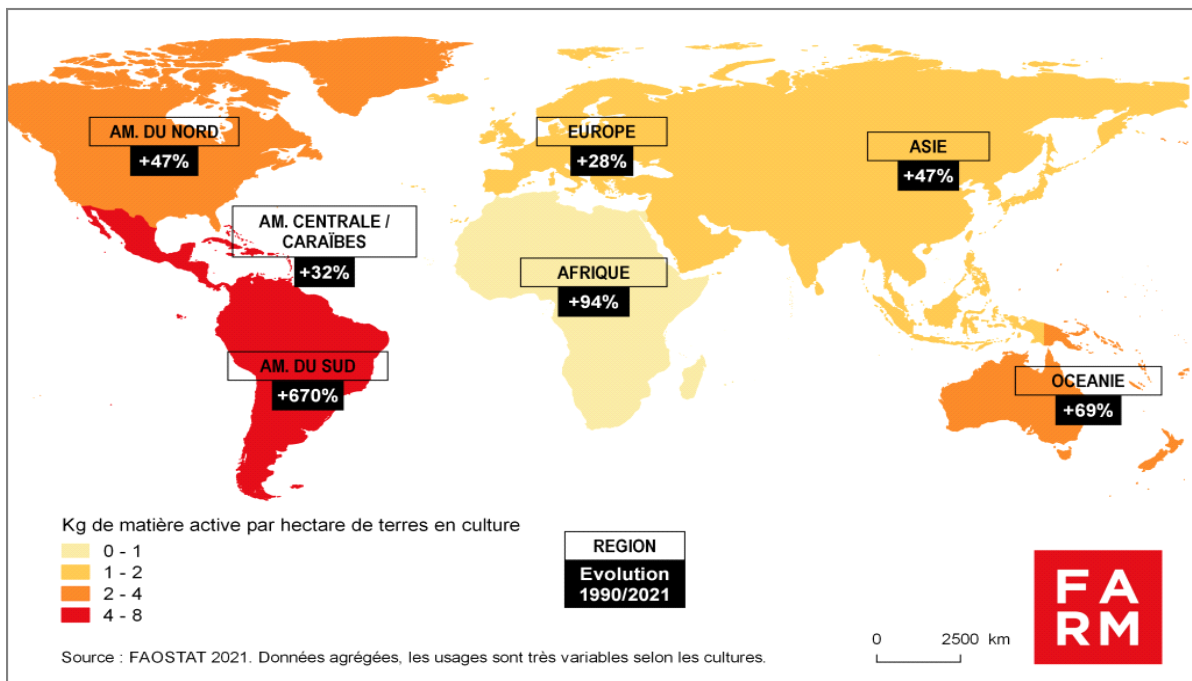


Figure 1 : Utilisation des pesticides dans le monde (FAOSTAT, 2022)

### 1.3. Utilisation des pesticides en Algérie :

L'Algérie est classée parmi les pays qui utilisent les plus grandes quantités de pesticides, récemment dans notre pays, l'usage des pesticides est multiplié dans de nombreux domaines avec de grandes quantités. Environ 400 produits phytosanitaires sont homologués en Algérie et utilisés par les agriculteurs (**figure2**) (**Bouziani, 2007**).

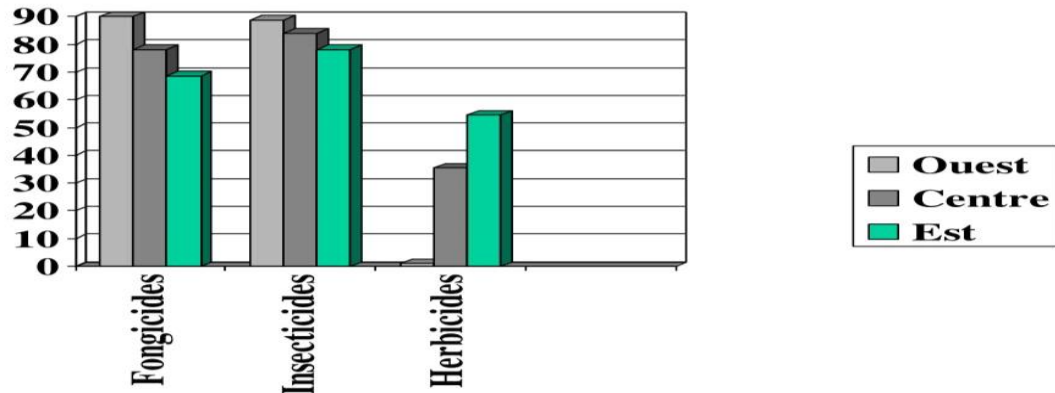


Figure 2 : Utilisation des pesticides en Algérie (**Moussaoui et al., 2012**)

### 1.2. Classification

Selon leur cible, les pesticides sont classés en 3 grandes classes, les herbicides, les fongicides et les insecticides.

#### 1.2.1. Herbicides :

Ce sont des matières actives et substances chargées de lutter contre certains végétaux (mauvaises herbes) qui entrent en occurrence avec les plantes à protéger en ralentissant leur croissance (**Mortensen ,1986**).

#### 1.2.2. Les fongicides :

Les fongicides sont très souvent employés pour la protection des cultures ou pendant le stockage des récoltes afin de lutter contre l'apparition des champignons (**Pasquet et Bonmatin, 2023**).

Depuis les années 2000, les fongicides de la famille des inhibiteurs de SUCCINATE DES hydrogénase (SDHI) sont utilisés pour prévenir et limiter le développement des moisissures qui contaminent les cultures céréalières et altèrent la qualité et l'apparence des fruits et légumes (**Bortoli, 2022**).

### 1.2.2. Les insecticides :

Les insecticides sont destinés à détruire les insectes, ils sont utilisés en agriculture pour éliminer les ravageurs. Ils sont présents dans l'environnement domestique sous forme de préparations contre les poux ou de médicaments vétérinaires ainsi que sous forme d'insecticides ménagers.

Les insecticides sont aussi appliqués en santé publique où ils participent à la prévention de nombreuses maladies transmises par les insectes tels que le paludisme, la fièvre jaune (**Testud et Grillet ,2007**).

Une autre classification basée sur la structure chimique des molécules existe, en peut citer quelques classes :

**Les organochlorés** : Ce sont des composés incluant un atome de chlore (chlordan, endosulfan). Ce sont les pesticides de synthèse les plus anciens tels que le di-chloro-diphényl-trichloro-éthane (DDT) et du lindane. Les organochlorés sont des insecticides de contact, dont le mode d'action repose sur une altération du fonctionnement des canaux sodium, indispensables à la transmission de l'influx nerveux. Leur caractère lipophile les rend bioaccumulables et fait craindre une contamination généralisée des chaînes alimentaires (**Poulier, 2014**).

**Les carbamates** : Ce sont des substances dérivées de l'acide méthyl-ou diméthyl-carbamique, dotés de propriétés insecticides (carbofuran, pyrimicarbe), fongicides (propamocarbe) ou herbicides (asulame).

**Les organophosphorés** : L'interdiction d'utilisation des composés organochlorés a favorisé le développement des organophosphorés. À la différence des organochlorés, certains de ces composés ont la capacité de pénétrer dans les tissus végétaux et donc de protéger la plante contre les insectes de manière systémique. Ils opèrent en bloquant la cholinestérase (toxicité neuronale). Ainsi, ces substances sont extrêmement toxiques, mais elles se dégradent rapidement dans l'environnement (**Poulier, 2014**).

**Les néonicotinoïdes** : Cette famille regroupe des pesticides aux propriétés insecticides neurotoxiques. La substance active se lie aux récepteurs nicotiques de certains neurones du système nerveux de l'insecte, aboutissant à une paralysie totale puis à la mort. De par leur activité systémique, les néonicotinoïdes offrent une protection prolongée, du stade de semence au stade adulte de la plante, car ils peuvent être utilisés à la fois pour le traitement du sol, l'enrobage des semences, ou la protection des parties aériennes (**Poulier, 2014**).

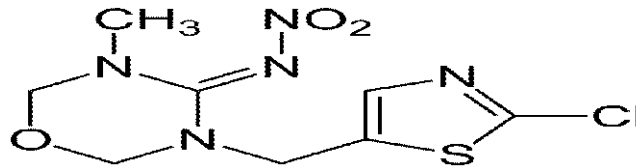
L'un des néonicotinoïdes les plus couramment utilisés pour lutter contre les ravageurs dans l'agriculture est le thiaméthoxame (**Vian, 2008**).

### 3. Définitions et propriétés du TXM

#### 3.1. Définition

Le TXM est un pesticide appartenant à la famille des néonicotinoïdes, utilisé comme insecticide systémique en agriculture. Il appartient à la sous classe des Thianicotinyls (**figure 3**) ou il possède un fort effet préventif face à la transmission des virus (**Maienfisch et al., 1999**).

Le TXM est utilisé dans le cadre de lutte contre les taupins (petites insectes) et les pucerons, et aussi utilisé contre les foreurs de tiges, les thrips, les cicadelles, les cochenilles, les vers blancs, les doryphores de la pomme de terre, les altises, les mineuses des feuilles et certaines espèces de lépidoptères.



**Figure 3 : Structure chimique du thiaméthoxame (VALO, 2012)**

#### 3.2. Propriétés physico-chimique

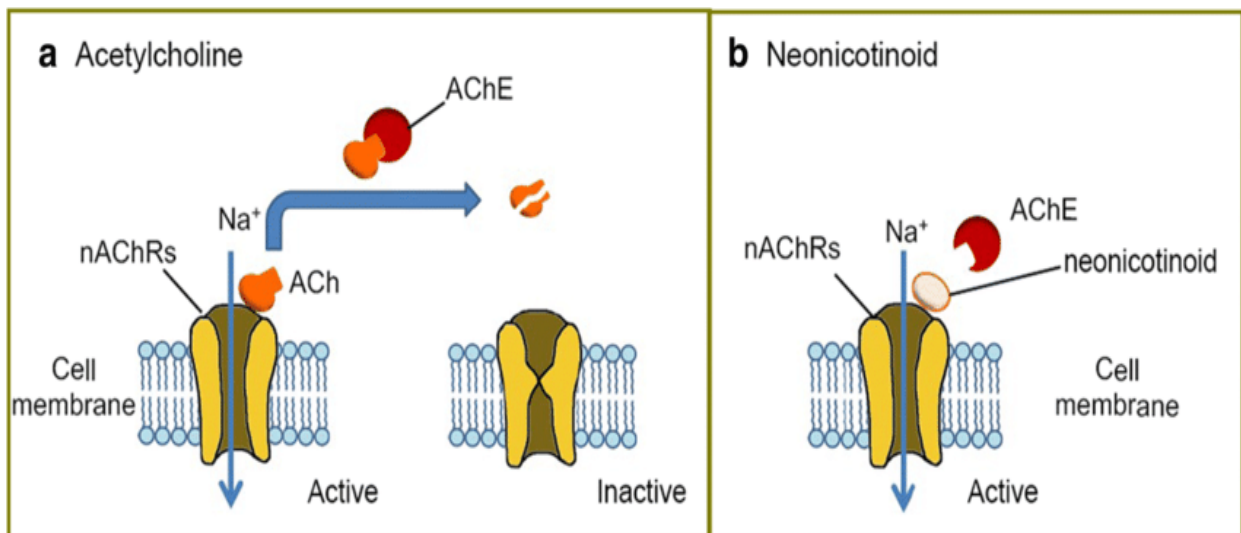
Les propriétés physico-chimiques du TXM sont présentés dans le tableau suivant

**Tableau 1 : Propriétés physico-chimiques du TXM (ARLA, 2007).**

Formule	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>3</sub> S (isomères)
Masse molaire	291,715g/mol
Masse volumique	1,75
T° fusion	139,1c°
Solubilité	4,19 L <sup>-1</sup> (20 C°)
Etat physique	Poudre
Couleur	Blanc cassé
Odeur	Inodore

### 3.3. Mode d'action du TXM :

Le thiaméthoxme agit comme tous les néonicotinoïdes par effet agoniste sur les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine du système nerveux des insectes (**Maiefisch, 2005**). Comme le montre la figure 4, le TXM agit en se liant aux récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChR) présents à la surface des cellules nerveuses des insectes. Cette liaison déclenche l'ouverture des canaux ioniques du récepteur. L'entrée des ions sodium provoque un potentiel d'action, permettant la transmission du signal nerveux. Cependant, le Thiaméthoxame se lie aux récepteurs nicotiques de manière plus stable que l'acétylcholine (**Williamson *et al.*, 2014**) et par conséquent ne peut être dégradés par l'enzyme acétylcholine estérase (**Buckingham *et al.*, 1997**). Ainsi cette liaison prolongée empêche l'acétylcholine d'atteindre ses récepteurs, ce qui perturbe le flux d'ions à travers la membrane cellulaire et empêche la transmission normale des signaux électriques entre les cellules nerveuses. Cette perturbation de l'activité électrique au niveau cellulaire se propage à travers le système nerveux de l'insecte, conduisant à une paralysie de ces fonctions vitales. L'insecte est incapable de coordonner ses mouvements, de se nourrir et de se reproduire ce qui entraîne sa mort (**Williamson *et al.*, 2014**).



**Figure 4 : Mode d'action du thiaméthoxame (Chang *et al.*, 2013).**

**Ach** : Acétylcholine, **AChE** : Acétylcholine estérase, **nAChRs** : récepteurs nicotiques à l'acétylcholine

## 4. Effet des pesticides :

### 4.1. Effet des pesticides sur la santé humaine :

Plusieurs études ont montré les effets néfastes des pesticides sur la santé humaine. Ces effets incluaient des affections dermatologiques, gastro-intestinales, neurologiques et respiratoires (**Thakun *et al.*, 2014, Nicolopoulou-stamati *et al.*, 2016**). La toxicité par ces produits dépend de deux facteurs : la toxicité du pesticide et le degré d'exposition au produit (**Piche, 2008**).

#### 4.1.1. Toxicité des pesticides :

**4.1.1.1. Toxicité aigüe (court terme) :** La toxicité aigüe se manifeste immédiatement ou peu de temps après une exposition de courte durée à des quantités importantes de pesticide (**Van derwerf, 1997**). Elle résulte d'une mauvaise utilisation ou d'un usage accidentel des pesticides (accident domestique ou d'une intoxication volontaire souvent gravissime) (**Cherin *et al.*, 2012**).

**4.1.1.2. Toxicité chronique (long terme):** La toxicité chronique résulte de l'accumulation des effets, après des expositions répétées dans le temps, les substances toxiques absorbées ne sont pas éliminées mais se sont accumulées dans l'organisme induisant différents troubles du fonctionnement de l'organisme (**El Bakouri, 2006**).

#### 4.1.2. Effet des pesticides sur le système endocrinien :

L'exposition professionnelle, alimentaire et environnementale aux pesticides est suspecte d'augmenter l'incidence de la perturbation de la fonction endocrinienne. (**Laouar, 2022**). Rapportent que les pesticides peuvent interférer avec la synthèse, le transport et le métabolisme des hormones, ils interfèrent avec les hormones naturelles et ils peuvent limiter et bloquer l'action de ces messagers et dérégler le fonctionnement hormonal même à faible dose. Il s'agit des pesticides perturbateurs endocriniens (PPE) qui agissent par voie alimentaire ou environnementale (**Girard *et al.*, 2020**).

Les pesticides perturbateurs endocriniens peuvent affecter le développement sexuel avec une sensibilité particulière chez le fœtus et l'enfant (**Brander *et al.*, 2016**), et peuvent avoir une baisse de la qualité et la quantité du sperme humain avec apparition des cancers des testicules et de la prostate, augmentation des cancers du sein et l'hypothyroïdie, les travailleurs de l'agriculture sont

les plus exposés aux perturbateurs endocriniens (**Amiard ,2011**).

#### **4.1.3. Impact des pesticides sur l'environnement :**

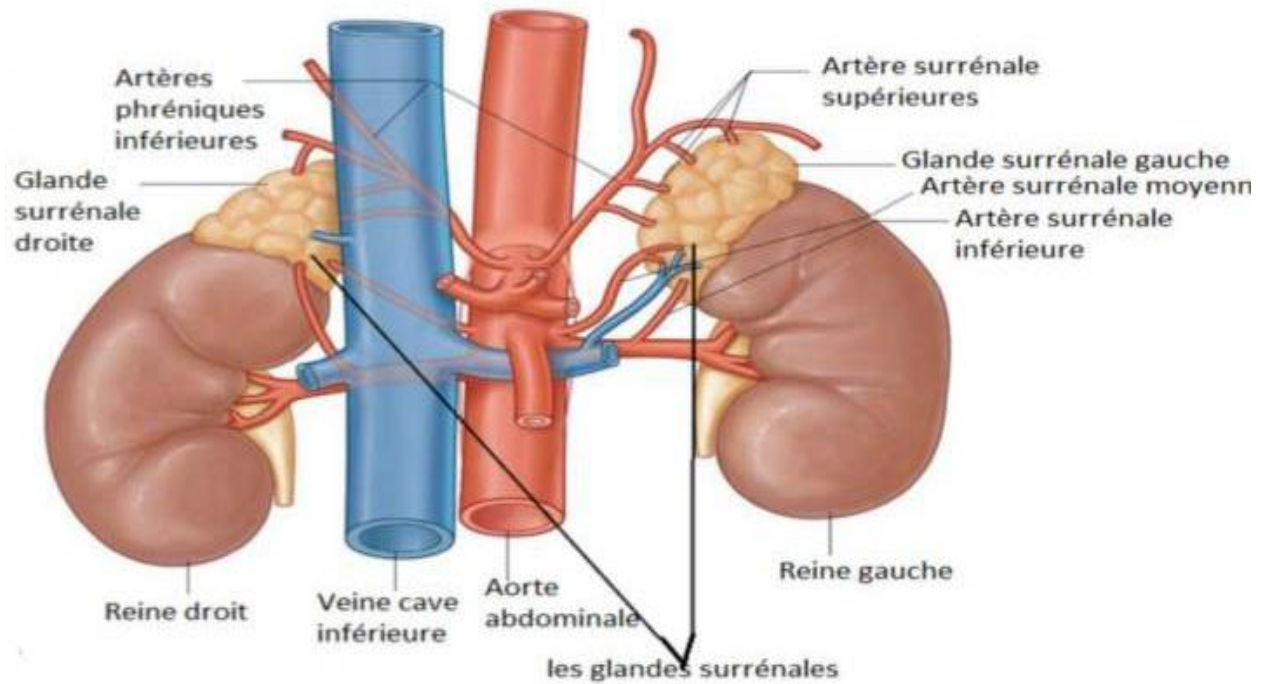
Chaque année, plus de deux millions de tonnes de pesticides sont appliqués sur les terres agricoles (**Hofestetter, 2014**). L'utilisation des pesticides engendre des risques importants à la fois pour la santé humaine et pour l'environnement (**Cissé *et al.*, 2001**).

Le devenir des pesticides leur utilisation dépend d'une part des propriétés physico chimique des substances et d'autre part des conditions d'utilisation (**Aubertot *et al.*, 2005**).

## **2. Anatomie et Histologie de la glande surrénale**

## 1. Anatomie de la glande surrénale :

Les glandes surrénales sont deux glandes endocrines de petite taille situées dans la région abdominale lombaire en position rétro- péritonéale, Elles coiffent le pole supérieur de chaque rein (**figure 1**). Les reins et les glandes surrénales sont séparés par du tissu adipeux mais inclus dans une même capsule adipeuse (**Opeyrin et Vandroux ,1998**).



**Figure 5 : Localisation et vascularisation des glandes surrénales (Drake et al., 2010).**

### 1.1. Morphologie externe :

Les deux glandes surrénales présentent deux formes différentes, celle de droite est plutôt triangulaire alors que la gauche est semi lunaire. Chaque glande surrénale comporte à sa face postérieure un hile ou rentrent les nerfs et les vaisseaux.

### 1.2. Morphologie interne :

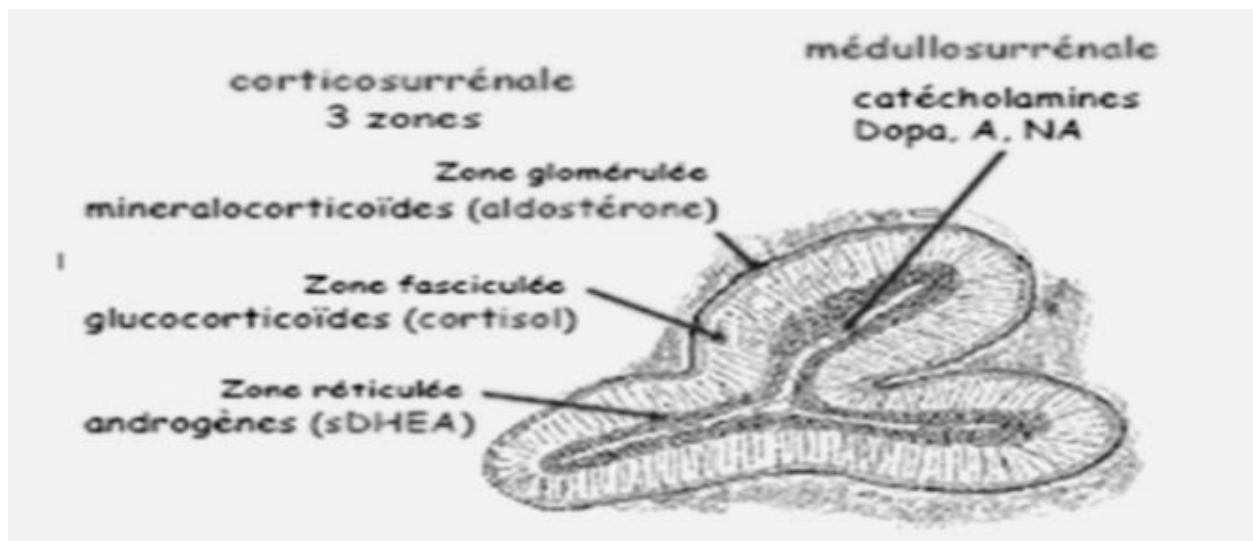
Chaque glande est entourée d'une capsule épaisse, fibro -élastique qui envoie des prolongements à l'intérieur de la glande et la divise en deux région : une zone externe le cortex surrénalien qui représente 80 à 90 % de la glande surrénale et une zone interne, la médullosurrénale qui occupe les

20% restant (Tortora *et al.*, 2007).

**\*Le cortex (corticosurrénale) :** Large, de couleur brunâtre représentant 80 à 90% de poids du l'organe, situé en périphérie formé de cordons de cellules épithéliales traversés par les vaisseaux et les nerfs qui vont à la médulla, les cellules épithéliales se répartissent en trois zones :

- Zone glomérulée externe
- Zone fasciculée intermédiaire et majoritaire
- Zone réticulée interne

**\*La médulla (médullosurrénale) :** Plus étroite, de couleur grise ou blanche située au centre de la glande formée d'un amas de cellules sympathique entre lesquelles se disposent de larges capillaires et des veines (**Figure 6**).



**Figure 6 : Morphologie interne de la glande surrénale (Donzeau ,2016).**

## 2. Histologie de la glande surrénale :

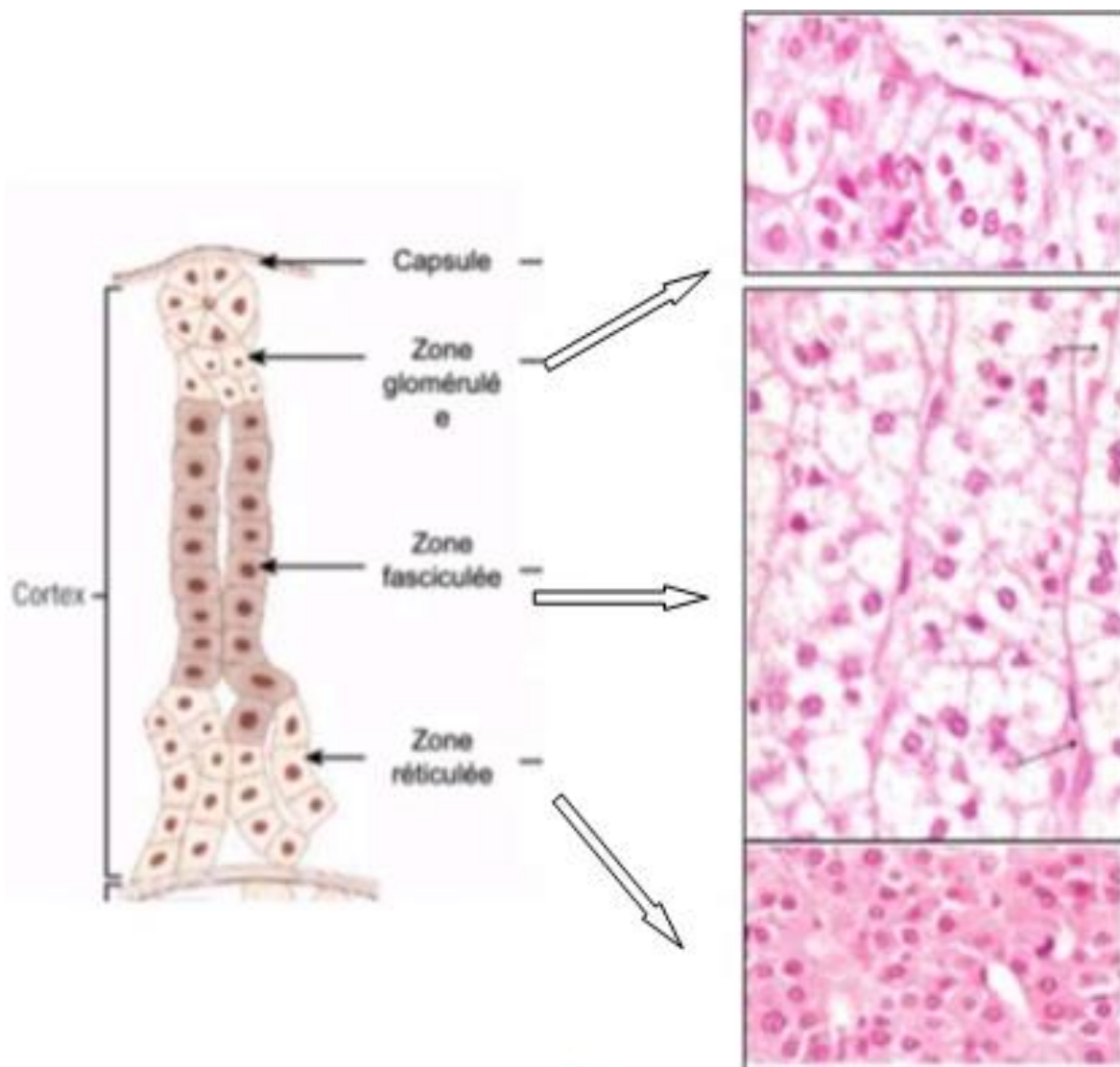
### 2.1. Histologie de la corticosurrénale :

Le cortex surrénalien est entouré d'une capsule conjonctive dense avec fines fibres de collagène et nombreux réseaux vasculaire. Elle est constituée de travées de cellules cubiques. On distingue trois zones histologique (**figure 7**) (Tortora *et al.*,2007).

**-Zone glomérulée :** La zone glomérulée est sous capsulaire, représente 15% du total de la glande, formée de petites cellules compactes en amas, cylindriques à cytoplasme basophile avec noyau à hétérochromatine abondante. Ces cellules glandulaires regroupées en amas arrondis sont entourées d'un tissu conjonctivo-vasculaire.

**-Zone fasciculée :** C'est la zone la plus épaisse, représente 50% du volume de la glande, ses cellules sont disposées en faisceaux parallèles, perpendiculaires à la capsule et de forme rectangulaire ou polyédrique

**-Zone réticulée :** Représente 7% du volume de la glande, ses cellules de petites tailles sont organisées en réseaux anastomosés.



**Figure 7 : Coupe histologique de la glande surrénale montrant les différentes couches : de la surface vers le centre ; zone glomérulée, zone fasciculée, zone réticulée (Sherlock *et al.*, 2020).**

## **2.2. Histologie de la médullosurrénale :**

C'est la zone centrale de la surrénale, formée par des cordons de cellules polyédriques, appelées les cellules chromaffines possédant un noyau volumineux pale et un cytoplasme finement granuleux. Cette zone est riche en capillaires fenêtrés entre les cordons (Tortora *et al.*, 2022).

## **3. Cytologie fonctionnelle :**

Les cellules de la glande surrénale diffèrent par leur fonction, chaque couche possédant des enzymes distinctes qui reproduisent différentes hormones à savoir la synthèse des stéroïdes (stéroïdogenèse) par la corticosurrénale et celle des catécholamines par la médullosurrénale.

### **3.1. Les hormones du cortex surrénalien**

Les principales hormones produites par la cortico surrénale sont les androgènes, les minéralocorticoïdes et les glucocorticoïdes (Ganong, 2005).

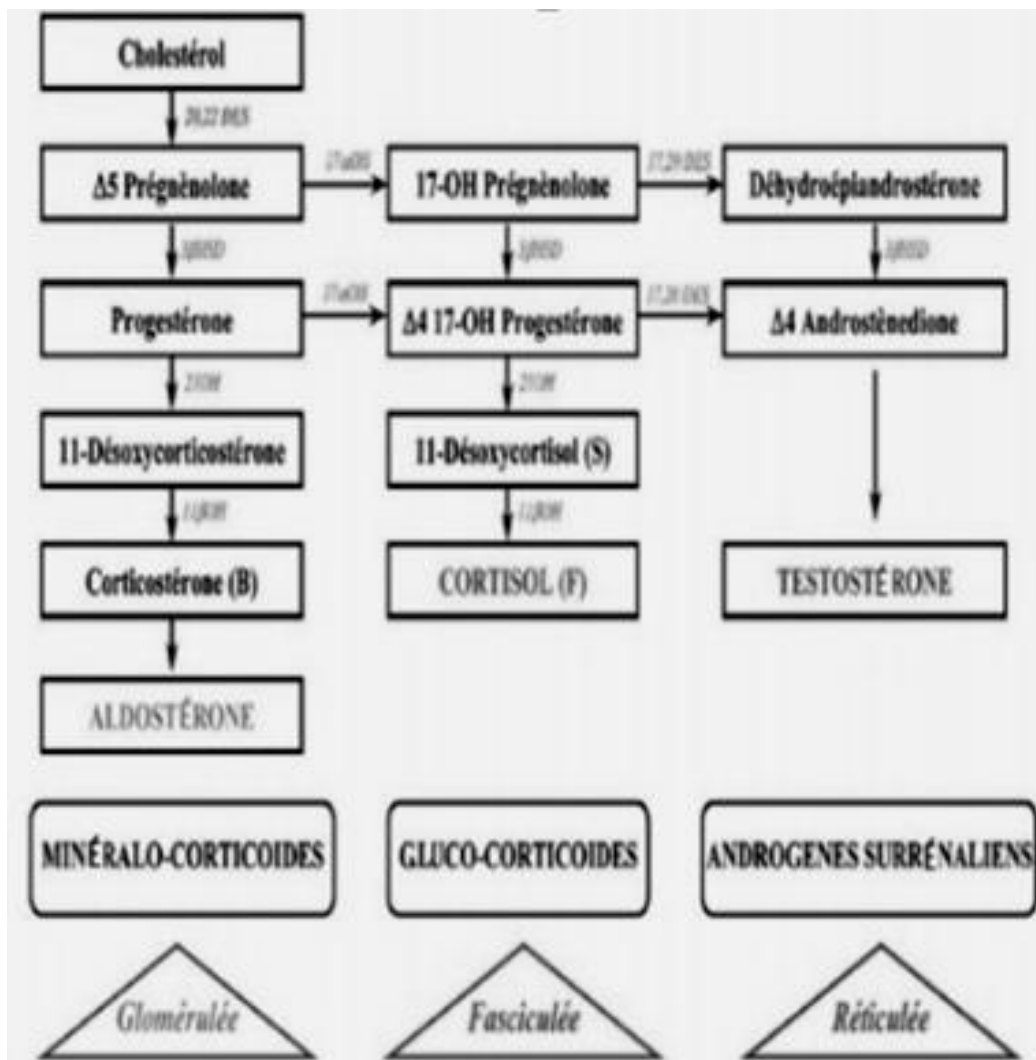
#### **3.1.1. Biosynthèse des hormones du cortex surrénalien :**

Dans l'organisme, toutes les hormones stéroïdiennes sont synthétisées à partir de la prégnénone dérivé du cholestérol synthétisé dans les surrénales, et aussi dans le foie, les glandes sexuelles, le cerveau et la rétine (Zoelhof, 2006).

- Les minéralo-corticoïdes sont synthétisés dans la zone glomérulée, la prégnénone est transformée en corticostérone, puis convertie en aldostérone par l'aldostérone synthétase (Hazard et Perlemuter, 1990). Au niveau des reins, l'aldostérone agit sur les tubules contournés distaux et les canaux collecteurs en augmentant la réabsorption du sodium et l'excrétion des ions potassium et hydrogène, mécanismes importants pour la régulation de la pression artérielle.
- Concernant la synthèse des glucocorticoïdes, est assurée par la zone fasciculée, ce qui permet la conversion de la prégnénone en cortisol (Hannen, 2001). Le cortisol est le

principal glucocorticoïde chez l'homme, il présente principalement un effet hyperglycémiant (par stimulation du catabolisme protidique et la lipogenèse) et un effet anti-inflammatoire.

- Au niveau de la zone réticulée, il y a la synthèse des androgènes. L'hormone qui est produite est la DHEA et sa forme sulfatée DHEAS qui jouent un rôle dans la synthèse des androgènes. Ensuite la transformation du DHEA en androstenedione par la 3 beta hydroxy-stéroïde déshydrogénase, en fin l'androsténédione transformé en testostérone par la 17 beta hydroxy-stéroïde déshydrogénase (**figure 8**) (**tableau 2**) (**Fulla et al., 2009**)



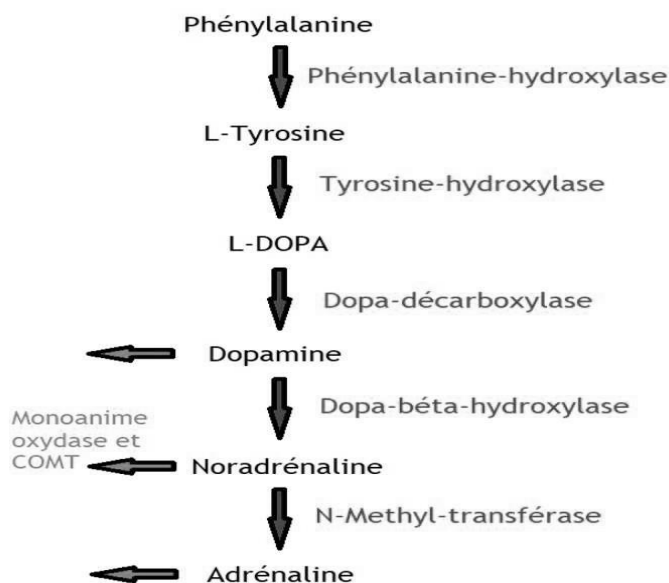
**Figure 8 : Stéroïdogénèse au niveau du cortex surrénalien (Fulla Y et al., 2009).**

**Tableau 2 : Les hormones du cortex surrénaliens (Ganong, 2005).**

Le cortex surrénal	Zone glomérulaire	Zone fasciculaire	Zone réticulaire
Types d'hormones	Les minéral corticoïdes : -aldostérone -Désoxycorticostérone (DOC)	Les glucocorticoïdes : -cortisol -corticostérone	Les androgènes : -androsténone -11-béta -hydroxyandrosténone (DHA ou DHEA) -sulfate de DHEA (S-DHEA) -17- hydroxy progestérone

### 3.2. Les hormones de la médullosurrénale :

La médullosurrénale est constituée de cellule chroma fine, La fonction principale de ces cellules est de sécréter des catécholamines telles que l'adrénaline (épinephrine), la noradrénaline (norépinephrine) et la dopamine. La sécrétion de ces hormones est régulée par le système nerveux sympathique qui innervent la glande surrénale par augmentation de la libération des catécholamines produit lors des périodes de stress (**Delmas Rouvière, 2022**). Leur synthèse se fait à partir de la tyrosine, comme le montre la figure 9.



**Figure 9 : Voie de synthèse des catécholamines (Mewtow, 2014).**

#### 4. Régulation de la fonction de la glande surrénalienne :

La régulation de la sécrétion des glucocorticoïdes et des androgènes est sous le contrôle de l'axe corticotrope. Le cortisol est libéré suite à une stimulation par l'hormone hypophysaire (ACTH) sous la dépendance de l'hormone hypothalamique, la corticolibérine (CRH). Les taux élevés de cortisol induiraient à leur tour un rétrocontrôle négatif sur l'axe freinant ainsi sa propre synthèse (figure10) (Fulla and Bertagna., 2009).

La sécrétion des minéralocorticoïdes est modulée par le système rénine –angiotensine par l'hormone hypophysaire (ACTH), sous la dépendance de la cortico libérine (CRH) (Ashley B ,2024).

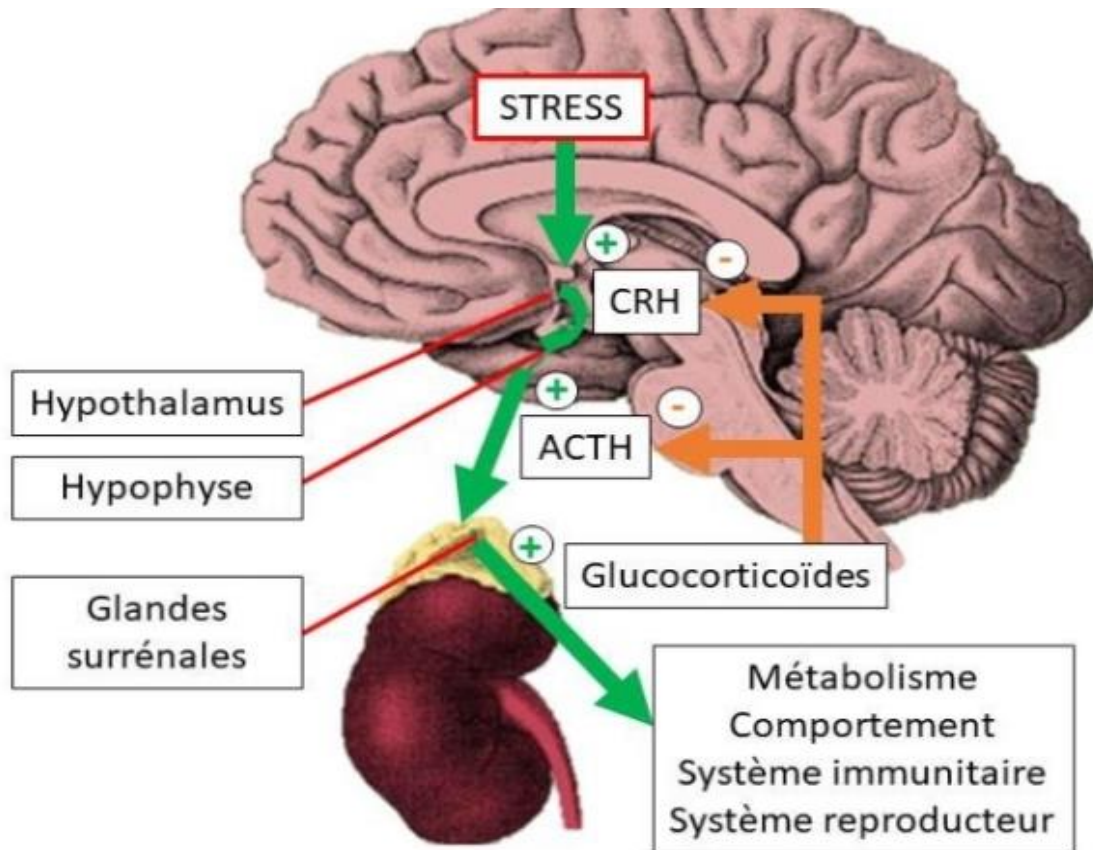


Figure 10 : Régulation des fonctions surrénaliennes par l'axe hypothalamo-hypophysaire (Rabdeau, 2019).

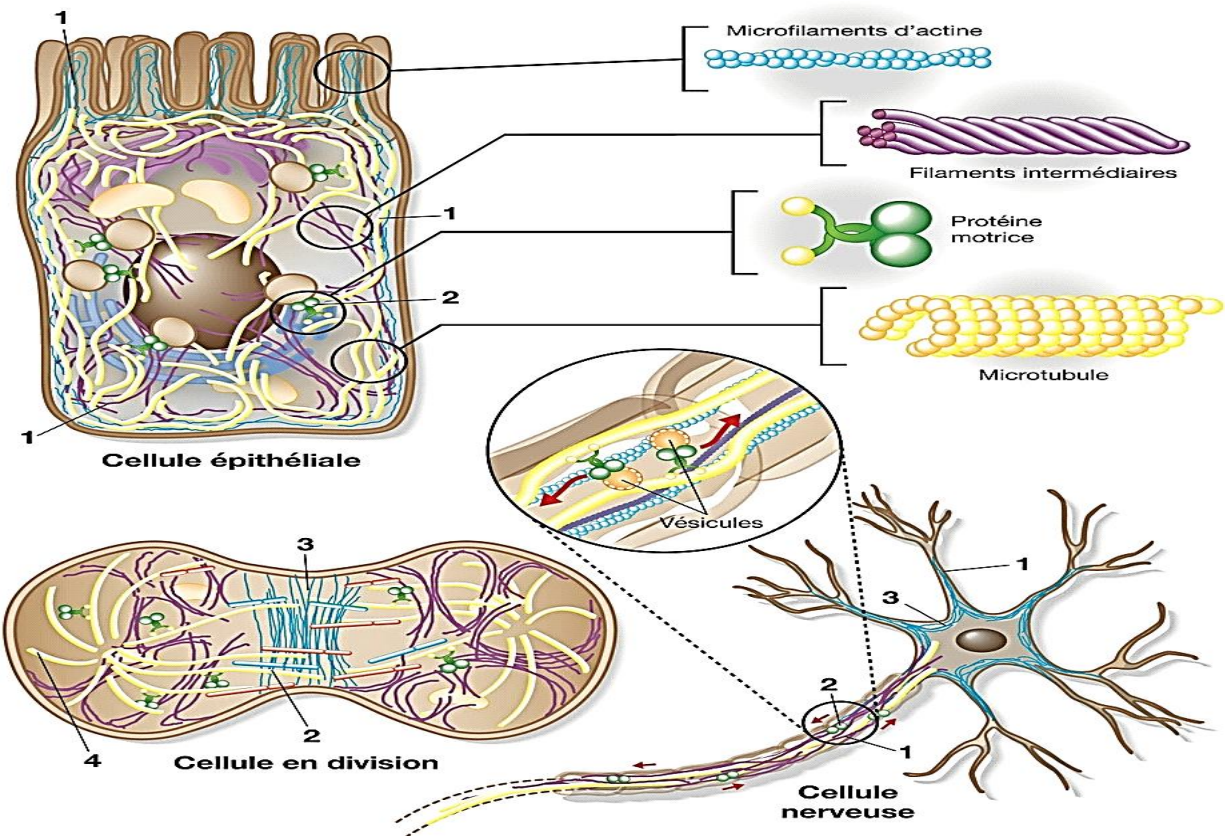
## **3.Cytosquelette et dystrophines.**

## 1. Généralités sur le cytosquelette :

### 1.1. Définition :

La morphologie cellulaire varie en fonctions des différents types de tissu qui composent les différents organes d'un organisme, tel que les cellules neuronales, les macrophages et les cellules épithéliales (**Lodish, 2013**). Ces variations morphologiques sont liées aux composants des éléments du cytosquelette (**figure11**).

Le cytosquelette est un réseau de fibres protéiques qui assure différentes fonctions, fonction de soutien de structure cellulaire, de cohésion des tissus, leur déformation transitoire, ainsi que la mobilité cellulaire et la mise en mouvement des structures intra cellulaires (**Susan et al., 2020**).



**Figure 11: Structure du cytosquelette (Michard, 2015).**

Les constituants du cytosquelette sont classés en deux grands groupes, le cytosquelette

cytoplasmique et le cytosquelette sub –corticale ou sub –membranaire.

## 1.2. Cytosquelette cytoplasmique :

Le cytosquelette cytoplasmique est un réseau de filaments dynamiques dans le cytoplasme de la cellule, organisé par ses composants structuraux qui s'assemblent ou se désassemblent en réponse à des signaux externes tels que les facteurs solubles, la présence d'autres cellules ou les interactions avec la matrice extracellulaire (**Becker et al.,2012**). Il est formé par les microtubules, les filaments fins d'actines et les filaments intermédiaires.

### 1.2.1. Les microtubules :

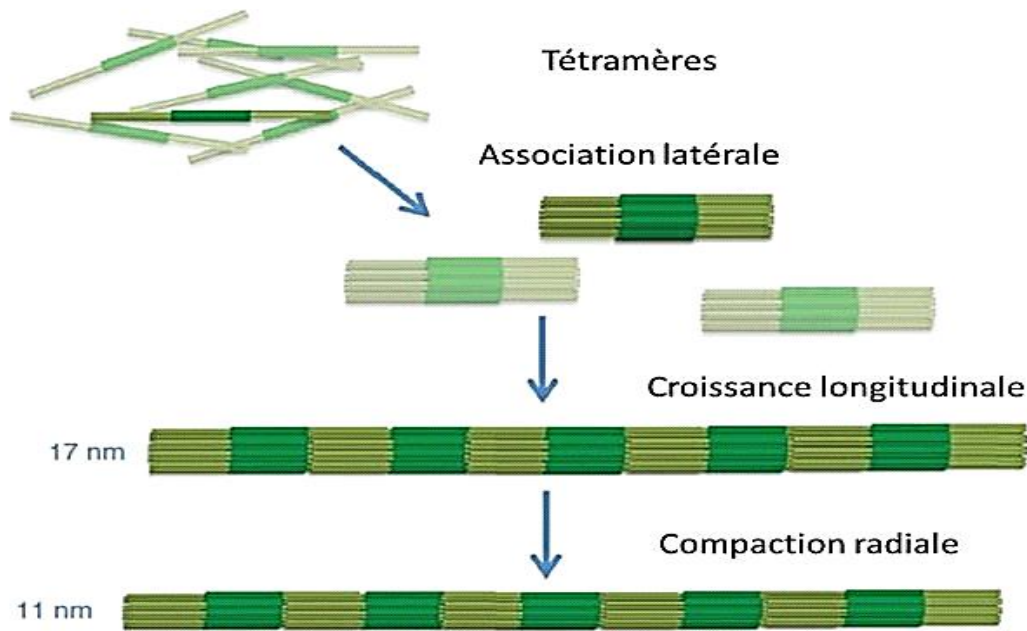
Les microtubules sont des filaments épais en forme de longs tubes composés d'hétéro dimères de tubuline alpha et beta (50Kda) qui polymérisent et forment des proto filaments. Ces derniers s'assemblent latéralement pour former des structures cylindriques d'un diamètre d'environ 25 nm appelés les microtubules(**figure12**). Chaque microtubule possède une extrémité positive dynamique et une extrémité négative moins dynamique ce qui confère une stabilité dynamique observée dans la cellule lors de la polymérisation et dépolymérisation des microtubules. L'alpha et beta tubuline lient toutes deux GTP, mais seulement la tubuline beta est capable de l'hydrolyser en GDP (**Cossart et al.,2012**).



**Figure 12: Organisation et composition des microtubules (Kon K, 2017).**

### 1.2.2. Les filaments intermédiaires :

Les filaments intermédiaires sont des filaments non polaires d'un diamètre d'environ 11 nm, formés de tétramères de diamètre antiparallèles surenroulées qui se chevauchent au milieu de la structure (**Cossart et al. ,2012**). Huit de ces tétramères s'assemblent pour former une nouvelle unité qui peut polymériser longitudinalement pour donner place à des longs filaments (**figure13**). Ces filaments sont uniques à certains tissus et contribuent au support et à l'intégrité structurale de la cellule en contribuant à l'organisation de la membrane nucléaire (**Lodish , 2012**). Cependant, certaines cellules d'insectes telles que la drosophile ne présente pas de filaments intermédiaires cytoplasmiques, bien qu'elles expriment certaines lamines nucléaires conservées également présentes dans les cellules de mammifères (**Hermann et al ,2011**).

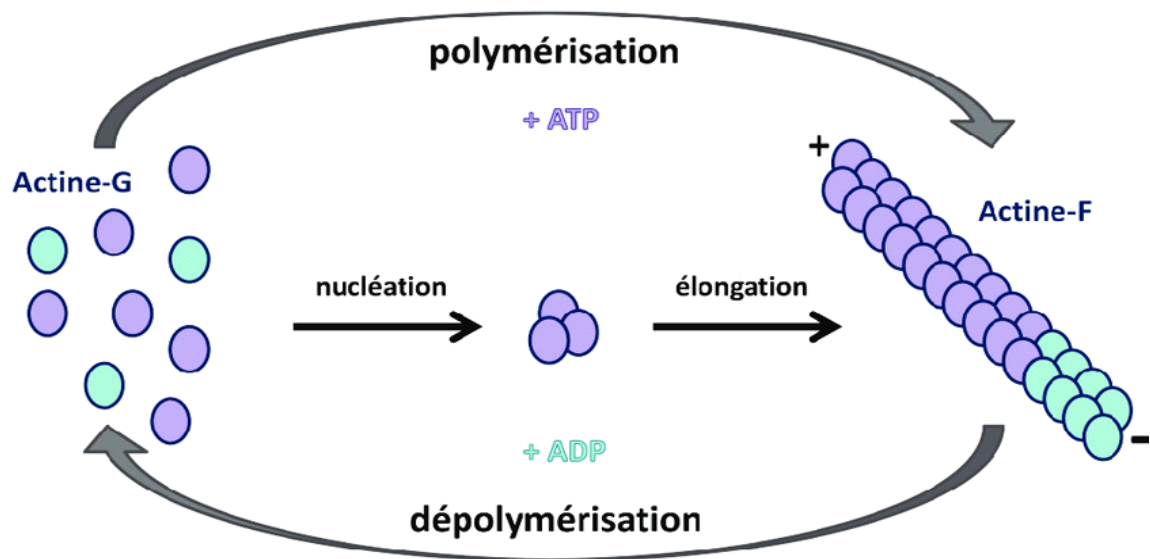


**Figure 13: Filaments intermédiaires (F Domart ,2019).**

### 1.2.3. L'actine :

L'actine est une protéine de 40 KDA présente dans le cytosquelette cellulaire sous deux formes différentes : la forme globulaire (G-actine) et la forme filamenteuse (F-actine). Ces derniers correspondent à la forme polymérisée d'actine –G qui s'assemblent en filaments enroulés deux à deux dans une hélice formant des microfilaments d'actine d'environ 7 nm de diamètre. Ces

microfilaments ont une extrémité positive qui favorise l'incorporation de monomères d'actine régulée par l'hydrolyse de l'ATP en ADP (figure 14). La liaison de l'actine -F au GTP est une caractéristique distinctive, tandis que les monomères d'actine -G se lient principalement au GDP (**Dominguez et al., 2011**). La structure du cytosquelette d'actine est extrêmement dynamique, ou les deux types d'actines coexistant dans la cellule dans une balance rigoureuse. Les défauts de polymérisation peuvent être causés par des mutations spécifiques, ces changements altèrent les interactions entre monomères de G-actine ou perturbent l'hydrolyse de l'ATP en ADP (**Posem et al., 2013**).



**Figure 14: Polymérisation et dépolymérisation des filaments d'actines (Campeau et al., 2019).**

### 1.3. Cytosquelette sub-corticale :

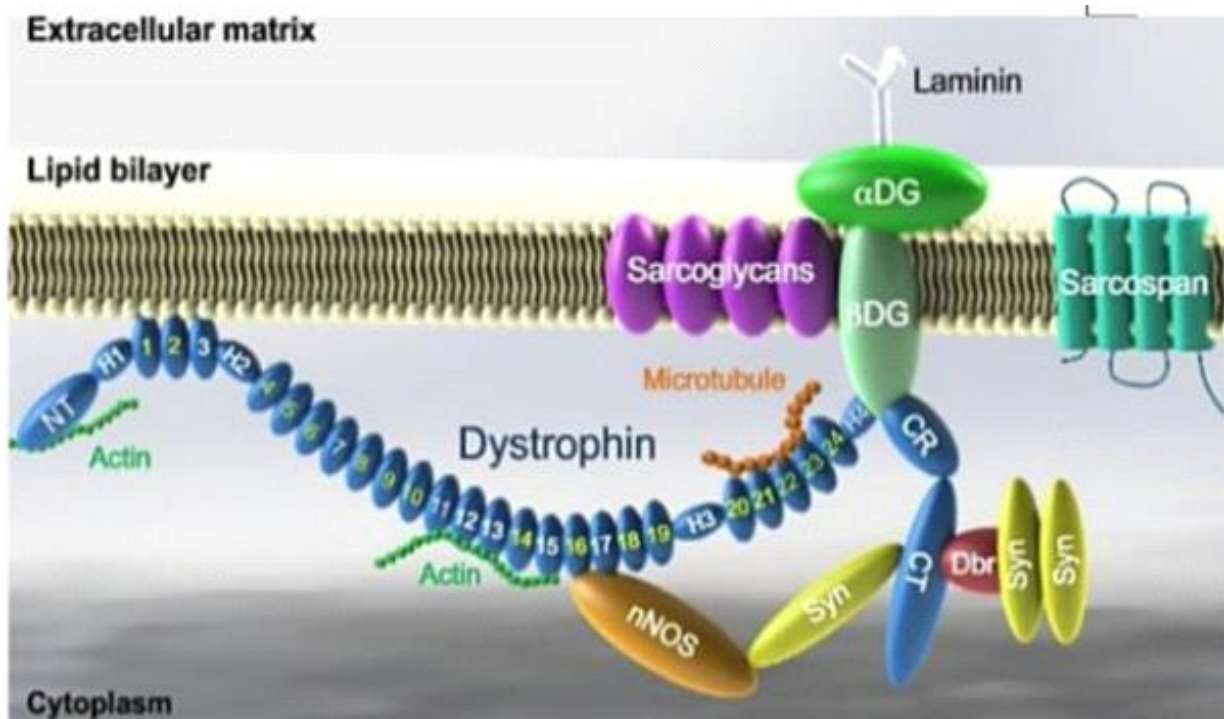
#### 1.3.1. Définition :

Le cytosquelette sub-corticale est un complexe protéique qui se localise juste au-dessous de la membrane plasmique des cellules eucaryotes. Il est composé d'une protéine de haut poids moléculaire appelée dystrophine et d'un complexe de protéines associées dit DAPs (Dystrophin associated protein).

### 1.3.2. Constituants du cytosquelette sub- corticale :

#### 1.3.2.1. Les dystrophines (DPS) :

La dystrophine est une grosse protéine située juste sous le sarcolemme dans la cellule musculaire, elle se liee aux filaments d'actine par son extrémité aminée terminale (NT) et par son extrémité carboxyle terminale (CT) aux protéines du complexe DAPs (**figure15**).



**Figure 15: Représentation schématique des dystrophine-DAPs (Koenig et al., 1988).**

Les dystrophines sont codées par le gène DMD dont les mutations sont à l'origine de la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD), une pathologie neuromusculaire caractérisée par une dégénérescence musculaire associée à des troubles cognitifs.

En effet, le gène DMD situé sur le bras court du chromosome X au locus Xp21, est l'un des gènes les plus longs du génome. Il est composé de 2,4 millions de paires de base et 79 Exons, ce gène DMD comprend au moins 7 promoteurs internes donnant lieu à l'expression de différentes dystrophines ; trois promoteurs internes qui régulent l'expression de 3 formes de dystrophines de haut poids moléculaire : la DP 427 B (de 427 KDA), il s'agit du promoteur B pour

« Brain » (**Nudel *et al.*,1989**), la Dp427M pour « muscle » (**Barnea *et al.*, 1990**) et la Dp427 P pour « Purkinje cell » (**Gorecki *et al.*,1992**). Quatre autres promoteurs permettant l'expression des formes plus courtes : Dp 260, Dp140, Dp 116 et Dp71/Dp 40.

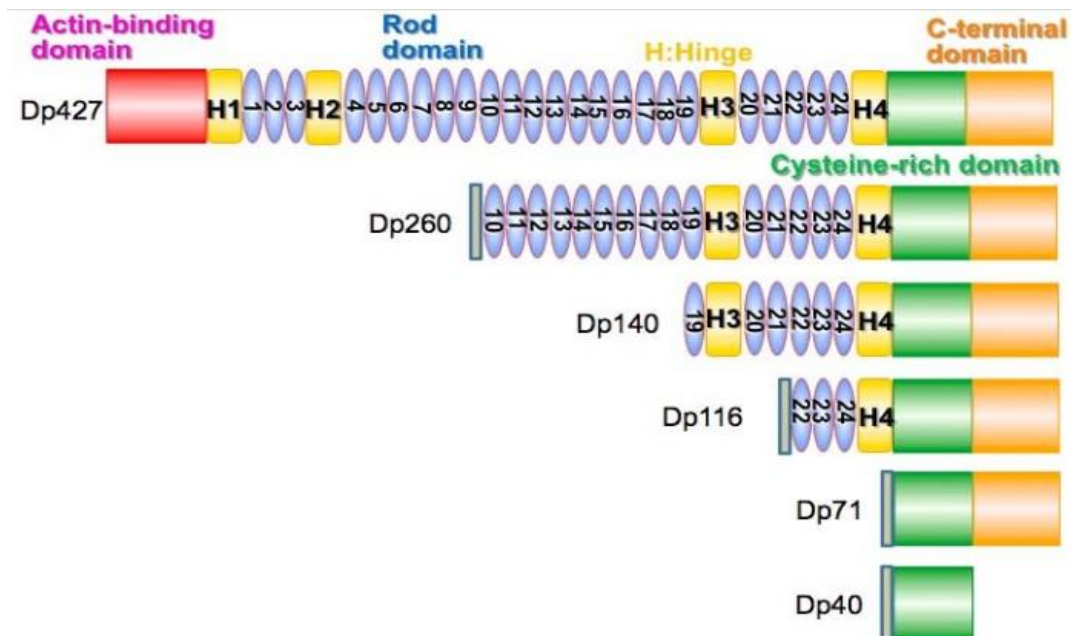
L'analyse des structures principales de la dystrophine permet de distinguer quatre domaines structuraux différents :

**-Domaine N-terminal** : interagit avec les filaments d'actines assurant, au niveau de la cellule musculaire, la connexion avec le système contractile cytoplasmique.

**-Domaine centrale** formant une structure en faisceau de trois hélices alpha, ce domaine central joue un rôle d'amortisseur au cours des cycles de contraction /relaxation musculaire.

**-Domaine riche en cystéine (CR)** : permet l'association avec le complexe des dystroglycanes, un adaptateur essentiel pour l'ancrage membranaire.

**-Domaine C-terminal** : interagit également avec la membrane et le complexe des glycoprotéines associés à la dystrophine (DGC) (**figure16**) (**Wicklund et Kissel, 2016**).



**Figure16 : Structure de la dystrophine et ses iso formes (Nichols *et al.*, 2015).**

### 1.3.2.2. Complexe des protéines associées aux dystrophines DAPs :

On distingue de nombreuses protéines associées à la dystrophine au niveau cellulaire, des protéines cytoplasmiques telles que les syntrophines, dystrobrevines et des protéines membranaires tels que le  $\beta$ -dystroglycane et les sarcoglycanes (**Kakkar *et al*, 2004**).

Le  $\beta$ -dystroglycane est une protéine transmembranaire qui s'associe à l' $\alpha$ -dystroglycane liant la laminine de la matrice extracellulaire, permettant ainsi le lien entre le milieu externe et le cytoplasme cellulaire. Les sarcoglycanes sont également des protéines transmembranaires interagissant avec les dystrophines.

Ainsi, les dystrophines en relation avec les DAPs, assurent un rôle de plateforme moléculaire pour d'autres protéines en assurant un lien physique entre le cytosquelette, la membrane plasmique et la matrice extracellulaire. D'abord identifiées dans les tissus musculaires squelettiques et cardiaques, les dystrophines sont également présentes dans différents types cellulaires non musculaires, tels que les neurones (**Lidov *et al*, 1993**) et les cellules gliales (**Bar *et al*, 1993**) dans les cellules de Schwann (**Byers *et al*, 1993**) et aussi dans d'autres organes tel que la rétine (**Ahn et Kunkel ,1993 ;D'souza *et al*, 1995 ;Durbeej et al.,1997**), les reins, le foie, le pancréas, les poumons, les testicules (**Bar *et al* .,1990 ; Durbeej *et al*, 1997 ; Muntoni *et al*, 1993**).

En plus de leur rôle dans l'intégrité tissulaire, les dystrophines et leur protéines associées sont aussi impliquées dans les mécanismes de signalisation et transduction de signal. Ceci via leur interaction avec la syntrophine- et l'enzyme de synthèse de l'oxyde nitrique neuronal (nNOS) et via aussi la cavéoline toutes impliquées dans la signalisation cellulaire (**Allamand *et al* .,2000**).

# **Partie expérimentale**

## 1. Matériel et méthodes :

Afin d'étudier l'impact d'une exposition sub-chronique du thiaméthoxame sur la distribution des dystrophines du cytosquelette sub – corticale au niveau de la glande surrénale de rat, nous avons réalisé la technique immuno-histochimique enzymatique (immuno-peroxydase) sur des coupes paraffines.

Les animaux ont été livrés par l'Institut Pasteur d'Alger (centre d'élevage de KOUBA, Alger) puis les traitements au thiaméthoxame ont été réalisés au niveau de l'animalerie de l'USTHB BAB EZZOUAR. Nous tenons à préciser que nous avons travaillé sur des blocs réalisés précédemment par des étudiants de Master 2 de la faculté des sciences biologiques et agronomiques de l'université MOULOUD Mammeri de Tizi-Ouzou (FSBSA –UMMTO), Cependant nous maîtrisons toutes les étapes précédant la confection des blocs que nous allons dans les sous chapitres qui vont suivre.

Les coupes ont été réalisées au niveau du laboratoire d'anatomie-pathologie de l'école nationale supérieure des vétérinaires d'Alger. Le marquage immuno-histochimique a été effectué au niveau du laboratoire de physiologie animale de la FSBSA de l'UMMTO.

**1.1. Matériel biologique :** L'expérimentation a été effectuée sur des rats WISTAR males :

RATTUS norvegicus (**figure17**) reçus à l'animalerie de l'USTHB. **Chassé et Martel ,2006** proposent la taxonomie de l'animal utilisé (**Tableau 3**) :

**Tableau3 : Taxonomie du rat wistar**



**Figure17: rat WISTAR Albinos (George, 2000)**

<b>Règne</b>	Animal
<b>Embranchement</b>	vertébrés
<b>classe</b>	Mammifères
<b>Famille</b>	muridés
<b>ordre</b>	Rongeurs
<b>genre</b>	Rattus
<b>Espèce</b>	Norvegicus

## 2. Méthodes :

### 2.1. Mise en lot des animaux :

12 rats mâles et femelles adultes de souche WISTAR âgées de 6 à 7 semaines ont été utilisés avec un poids corporel entre 300 et 400 g ont été utilisés. Ces animaux sont répartis dans des cages où ils sont soumis à une température (20-25°C) avec une humidité entre 30,70% et un éclairage artificiel de 12h lumière /obscurité dans des cages. Ils recevraient la nourriture l'eau à volonté.

### 2.2. Traitement des animaux :

Dans cette étude, nous avons utilisé un insecticide appartenant à la famille des néonicotinoïdes, le thiaméthoxame commercialisé sous le nom d'ACTARA.

Après adaptation, les animaux sont répartis en 4 lots, où ils recevraient le thiaméthoxame administré par gavage et dilué dans l'eau pendant une durée de 10 semaines à différentes doses comme suit (**tableau4**) :

Lots	Nombre de rat	Traitement administré
<b>Lot 1</b> :rats témoins ( non traités par le thiaméthoxame )	3 mâles et 3 femelles	1ml /j d'eau robinet
<b>Lot 2</b> :DJA dose journalière admissible	3 mâles et 3 femelles	0,026 mg /kg du thiaméthoxame +1 ml /j d'eau
<b>Lot 3</b> : NOAEL non observed adverse effect level  DJA 100	3 mâles et 3 femelles	2,6 mg/kg du thiaméthoxame + 1ml d' eau de robinet
<b>Lot 4</b> : NOAEL 2 double dose de NOAEL	3 mâles et 3 femelles	5,2 mg/kg du thiaméthoxame +1ml d'eau de robinet

Les 12 rats ont été accouplés par des femelles traitées de thiaméthoxame et nous avons récupéré les descendants de la première génération (F1) à différents âges ,20 jours ,60 jours et 90 jours.

### 2.3. Sacrifices des animaux et anesthésie :

Après le traitement au TMX, l'animal est anesthésié par injection intra-péritonéale d'uréthane (25%) à raison de 0,5 ml pour 100 g du poids corporel.

Ensuite, après dissection, on a effectué une perfusion intra- cardiaque afin d'introduire le fixateur (para formaldéhyde PAF à 4 %) à travers la circulation sanguine au niveau de laboratoire USTHB. Pour accéder au cœur une incision est réalisée à l'aide des ciseaux sur la ligne médiane de thorax.

Une solution saline (9g de sel) dans 1 litre d'eau est alors injectée à l'aide d'une aiguille épicroténienne dans le ventricule gauche et orientation vers l'aorte ascendante.

Une incision est pratiquée rapidement au niveau de l'oreillette droite avec des ciseaux pour évacuer le sang et le fixateur par la suite.

Ensuite, la solution saline est remplacée par le fixateur PAF(150-200ml) avec un débit de 14 ml /min.

#### **2.4. Prélèvement d'organe et post fixation :**

Après la perfusion intra – cardiaque la surrénale est prélevée délicatement et conservée dans du PAF %. Cette étape de post fixation de l'organe permet de le garder dans un état proche à l'état vivant et d'éviter sa dégradation par des enzymes protéolytiques.

#### **2.5. Préparation des blocs :**

Les étapes de préparation des blocs utilisées sont les même que celles des techniques histologiques de coloration. Cette étape a été effectuée au niveau du laboratoire histopathologie de l'école nationale supérieur des vétérinaires d'Alger, et se déroule par plusieurs étapes :

##### **2.5.1. Déshydratation et imprégnation :**

La déshydratation se fait dans des bains d'alcool à concentration croissante (70°,90°,100°), 1min pour chacun, pour permettre une bonne pénétration de la paraffine dans les tissus.

Puis l'imprégnation qui consiste l'élimination des traces d'alcool en utilisant 2 bains de xylène pendant 1 heure chacun.

Ensuite passer à l'inclusion dans la paraffine chauffée à 60C° pendant 2 heure chacun.

### 2.5.2. Inclusion, confection des blocs et coupes

Les organes sont placés dans des cassettes d'inclusion remplit de paraffine fondue dans des moules en métal, puis on place la surrénale au centre et versé la paraffine une autre fois jusqu'au immersion total de l'échantillon.

Les moules sont posés sur une plaque refroidissante pour solidifier les blocs et les démoulés.

L'appareil d'enrobage permet de solidifier les tissus et réalisation des blocs.



**Figure 18 : Photographie montrant l'étape d'inclusion (photos originales, 2024).**

(A) : Appareil d'inclusion ; (B) : Plaque refroidissante

### 2.5.3. Réalisation des coupes :

A l'aide d'un microtome, les blocs obtenus sont coupés en section très fine, ce qui permet d'obtenir des rubans de coupes très fines de 5  $\mu\text{m}$  d'épaisseur (**figure 19**).

Les coupes obtenues sont placées dans un bain –marie, puis retirées de l'eau placées sur une lame et mises à sécher.



**Figure 19 : photographie de l'étape de confection des coupes et étalement (photos originales ,2024).**

**A :** Microtome ;

**B :** Bain marie

**C :** Plaque chauffante pour le

séchage des lames.

#### 2.5.4. Déparaffinage :

Le déparaffinage consiste à éliminer la paraffine par 2 bains de xylène pendant 5min.

Ce qui permet de rendre l'échantillon perméable.

#### 2.5.5. Réhydratation :

Cette étape consiste à réhydrater les tissus déparaffinés dans trois bains d'alcool à des concentrations décroissantes (100°,90°,70°) (**figure20**) pendant 1 min pour chacun bain, suivie par un rinçage à l'eau de robinet pour réhydrater les tissus.



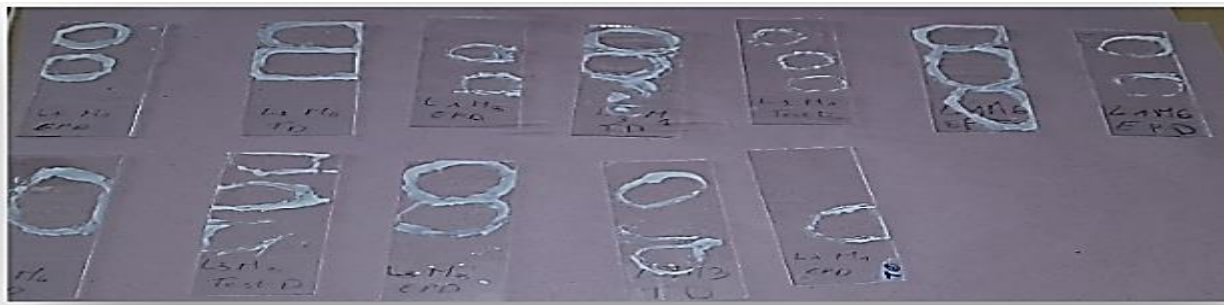
**Figure 20 : batterie de la réhydratation (photo originale, 2024).**

### Technique Immuno-histochimique :

L'immunohistochimie (IHC) se déroule directement sur lames (figure 21) selon les étapes suivantes :

- **La perméabilisation :** cette étape permet la perméabilisation du tissu, elle se fait par une solution contenant un tampon phosphate salin (PBS) avec le détergent « tween 20 » pendant 45 min.

Rinçage avec du PBS deux fois 5min.



**Figure 21 : Photographie de délimitation des tissus sur les lames en verre (photo originale, 2024).**

- **Blocage des sites aspécifiques :**

Blocage de l'activité de peroxydase endogène par le kit peroxydase block appliqué pendant 15 min, suivie d'un rinçage avec BPS deux fois pendant 5 min, le blocage des protéines endogène est fait sur des lames avec quelques gouttes de la solution protéine block pendant 15 min.



**Figure 22 : Solution de peroxydase block et de protéine block (photo originale, 2024).**

- **Incubation avec l'anticorps primaire :**

Après 2 rinçage au PBS, une incubation d'anticorps primaire anti-dystrophine (dilué à 1/400) est réalisée pour toutes les lames pendant toute la nuit.

- **Incubation d'anticorps secondaire :**

Le lendemain, après 2 rinçage avec PBS pendant 5 min, on réalise une incubation d'anticorps secondaire biotinylé pendant 30 min pour toutes les lames.

Rinçage avec PBS 2 fois 5 min

- **Amplification et révélation du signal :**

Les lames sont incubées avec un complexe streptavidine- peroxydase (0,1 ; HRP novo polymère pendant 30 min, puis rincer 2 fois avec PBS pendant 5 min.

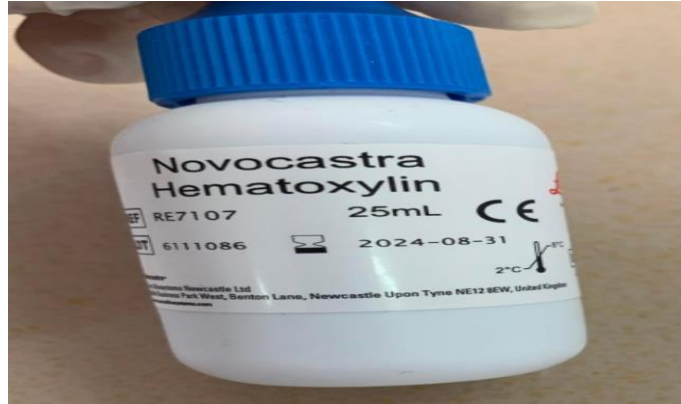
Après cette étapes la révélation est faite en utilisant le chromogène Diamino- Benzidin-tetrahydrochloride (DAB) mélanger a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, le virement de couleur est surveillé à l'œil nu jusqu'au apparition d'une couleur brune, puis rinçage afin d'éliminer l'excès du DAB.



**Figure23 : Chromogène DAB (photo originale, 2024).**

- **Contre coloration :**

- Les lames sont mises en contact avec une solution de 0,1 d'hématoxyline pendant 5 min, cette étape est essentielle pour visualiser les noyaux, suivie d'un rinçage à l'eau de robinet



**Figure 24 : Solution d'Hématoxyline (photo originale ,2024).**

- **Déshydratation et montage des lames :**

Il s'agit d'effectuer trois bains d'alcool a concentration croissante (70°,90°,100°) 1 min pour chacun, puis 2 bains de xylène deux minutes pour chacun.

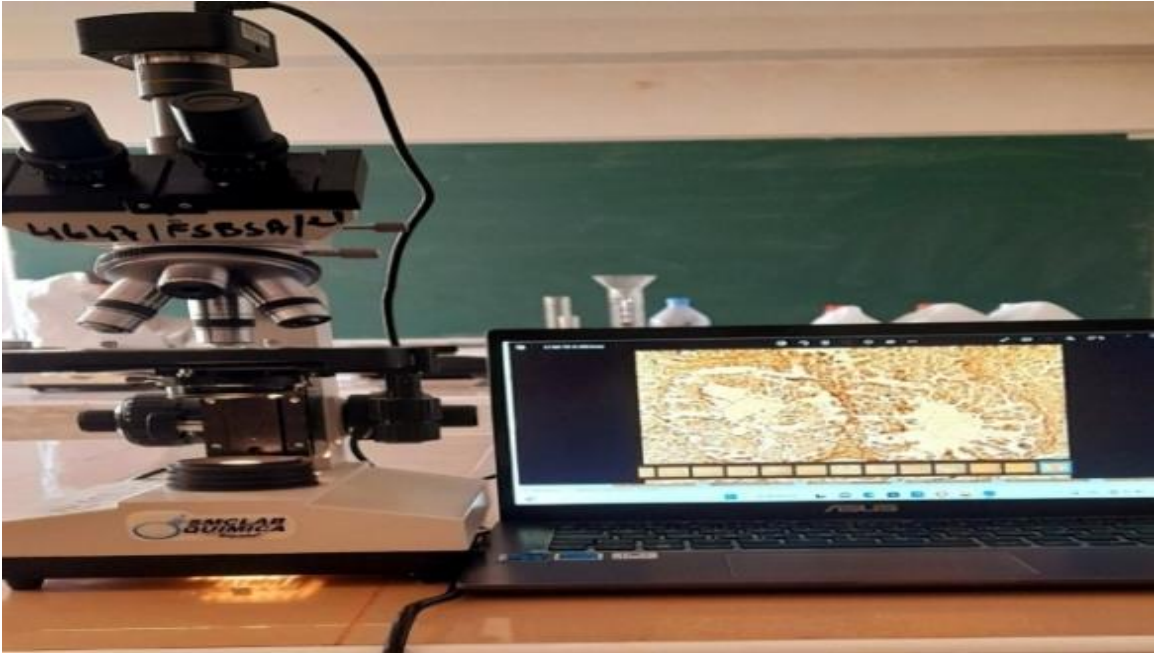
Après la déshydratation faire un montage des coupes entre lames et lamelles à l'aide d'une résine synthétique (eukitt).



**Figure 25 : Montage des lames (photo originale,2024).**

- **Observation microscopique :**

Les lames histologiques préparées sont observées au microscope optique à différents grossissement (4, 10, 40) pour faire le tri des lames, puis réaliser une lecture par un microscope photonique équipé d'un appareil photo connecté à l'ordinateur à l'aide de logiciel « image View ».



**Figure 26: Observation microscopique(photos original,2024).**

# **Résultats et discussion**

## **1. Résultats :**

### **1.1. Impact directe et indirecte du thiaméthoxame sur la distribution des dystrophines au niveau de la glande surrénale des rats adultes :**

#### **1.1.1. Chez les parents (Figure27):**

Comme le montre la figure 27 l'observation au microscope optique des coupes de la surrénale du groupe témoin montre un cortex surrénal et une médullosurrénale bien placés (GX100) et marqués positivement à l'anticorps anti-dystrophine. Ces mêmes résultats sont observés chez les autres lots ; DJA, NOAEL et NOAELX2.

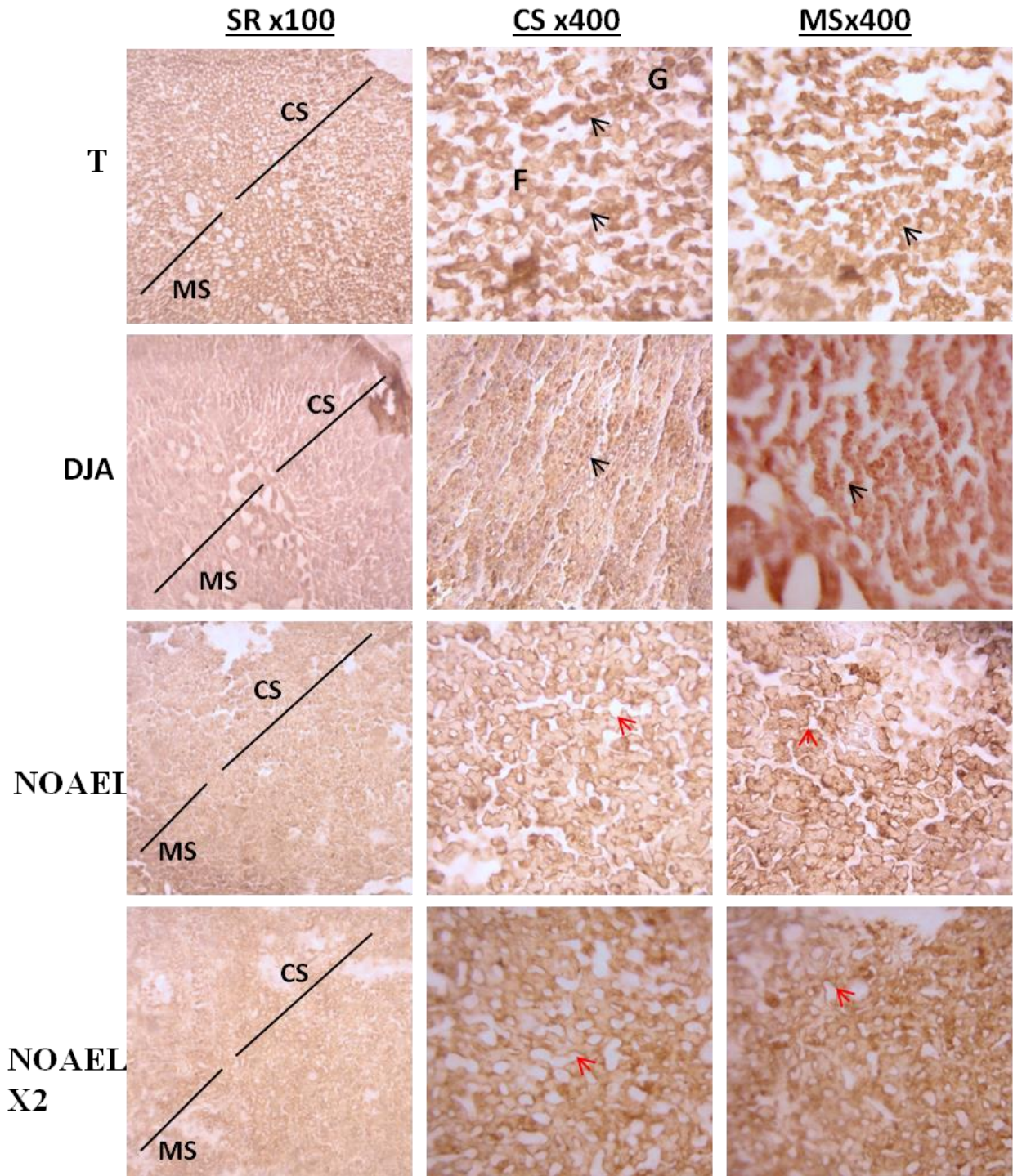
- **Au fort grossissement (X400) :**

-Chez les rats témoins, le marquage est observé au niveau de la zone glomérulée et fasciculée avec un marquage compact observé pour certains noyaux de la zone glomérulée et claire pour la zone fasciculée.

-De même pour la médullo-surrénale, les noyaux montrent également un marquage uniforme sur toutes la zone observée au fort grossissement GX400

-Chez le groupe DJA, la distribution du marquage n'a pas révélé de grands changement comparativement aux témoins, le marquage est bien visible au niveau des noyaux de cortex surrénalien et la médullosurrénale

-Chez les lots NOAEL et NOAEL x2, le marquage est plus prononcé comparé aux deux précédent groupes et est clairement apparent au niveau perinucléaire et pericellulaire ainsi qu'autour des vaisseaux sanguins des zones du cortex et de la médullosurrénale.



**Figure 27 : marquage immuno histochimique des dystrophines au niveau des coupes de la glande surrénale des rats adultes témoins (T) et traités au TMX à différentes doses, (DJA), (NOAEL), et (NOAEL X2) observé au grossissement 100 et 400. G : glomérulée, F : fasciculée, R : réticulée, SR : surrénale, CS: corticosurrénale, MS: médullosurrénale, flèche noire : noyau, flèche rouge : vaisseau sanguins**

### 1.1.2. Chez les descendants âgés de 90 jours (Figure28) :

L'observation au microscope optique des coupes de la surrénale montre la présence distincte du cortex surrénalien et de la médullosurrénale (GX100) ; on observe une réaction positive à l'anti corps anti dystrophine chez les différents lots témoins, DJA, NOEAL et NOAEL X2.

- **Au fort grossissement (X400) :**

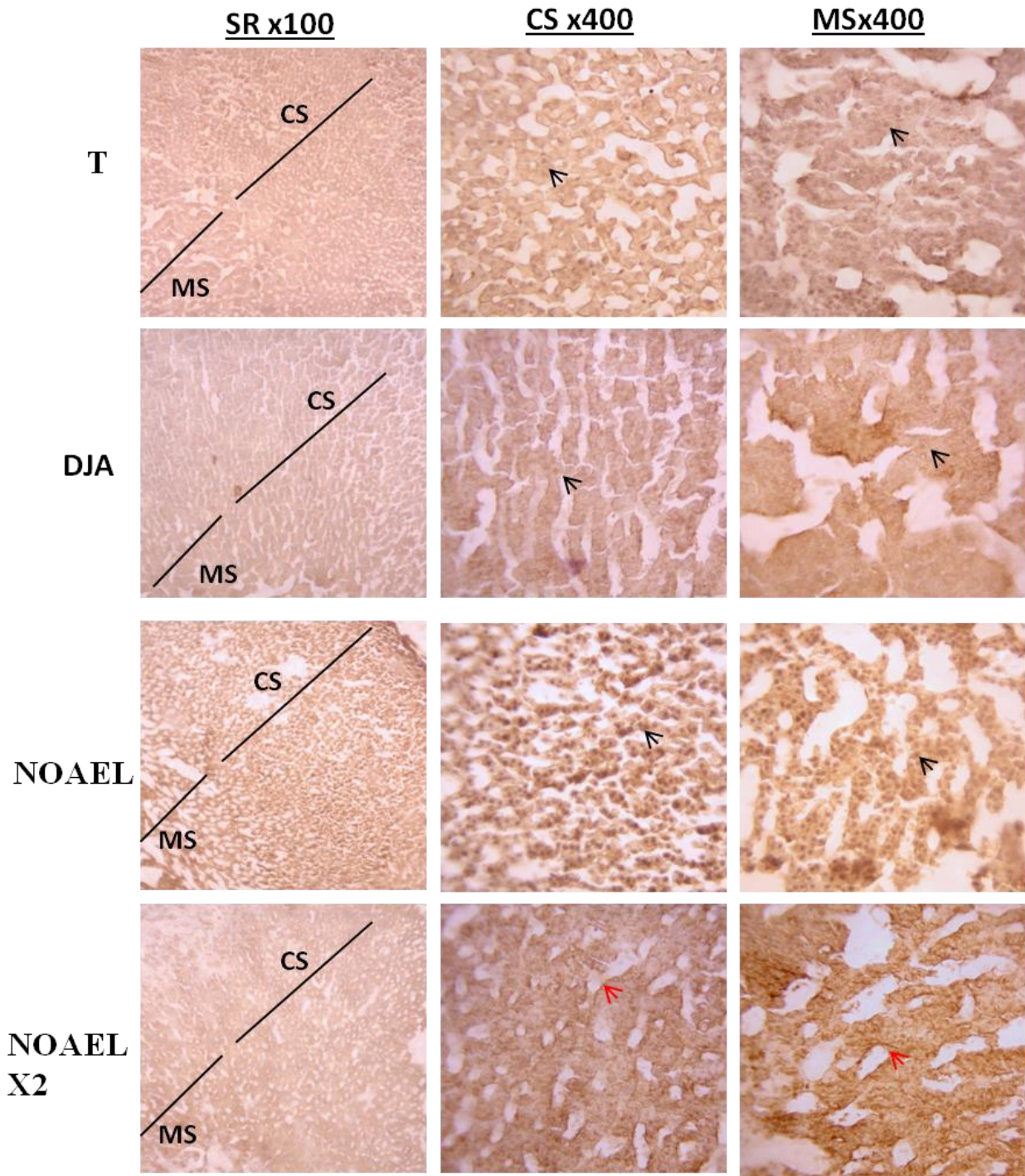
-Chez les rats témoins issus de parents non traités au thiaméthoxame, on observe un marquage au niveau nucléaire et pericellulaire de la zone corticale.

-Au niveau de la médullosurrénale, tous les noyaux des cellules glandulaires présentent un marquage bien prononcé et d'aspect homogène.

-chez le groupe DJA, au niveau de la cortico surrénale, le marquage présente un aspect pericellulaire fin et un marquage peri-nucléaire différent par rapport à celui observé chez le groupe témoin. Ce même aspect est également obtenu pour les cellules médullaires.

-Chez le groupe NOAEL, l'observation au fort grossissement des coupes marquées à l'anticorps anti dystrophines, a révélé un marquage plus accentué au niveau des noyaux cellulaires des deux zones corticale et médullaire.

- Chez NOAEL X2, on observe que le marquage est toujours semblable à celui du groupe NOAEL et montre une distribution perivasculaire importante.



**Figure 28 : marquage immuno histo chimique des dystrophines au niveau de la glande surrénale des rats âgés de 90 jours issus de parents témoins (T) ou traités au TMX à différentes doses : (DJA), (NOAEL), et (NOAEL X2) observés au grossissement 100 et 400.**  
**G : glomérulée, F : fasciculée, R : réticulée, CS : corticosurrénale, SR : surrénale**

Le tableau suivant résume la distribution du marquage des dystrophines chez les groupes parent et descendant adulte (j90) en fonction de la dose du TXM administrée.

**Tableau 4 : répartitions des dystrophines au niveau de la glande surrénale des animaux adultes (parents et descendants âgés de 90 jours chez différents groupes, témoin et traités au TMX (\* : légèrement marqué, \*\* : moyennement marqué, \*\*\* : fortement marqué).**

		T	DJA	NOAEL	NOAELx2
Parents	-Marquage nucléaire	**	**	***	***
	-Marquage perivasculaire	**	**	***	***
Descendant 90j	-Marquage nucléaire	**	**	***	***
	-Marquage perivasculaire	**	**	***	***
	-Marquage membranaire	**	**	***	***

**1.2. Impact du thiaméthoxame sur la distribution des dystrophines au niveau de la glande surrénale des rats issus de parents traités (Descendant de 1ère génération) :**

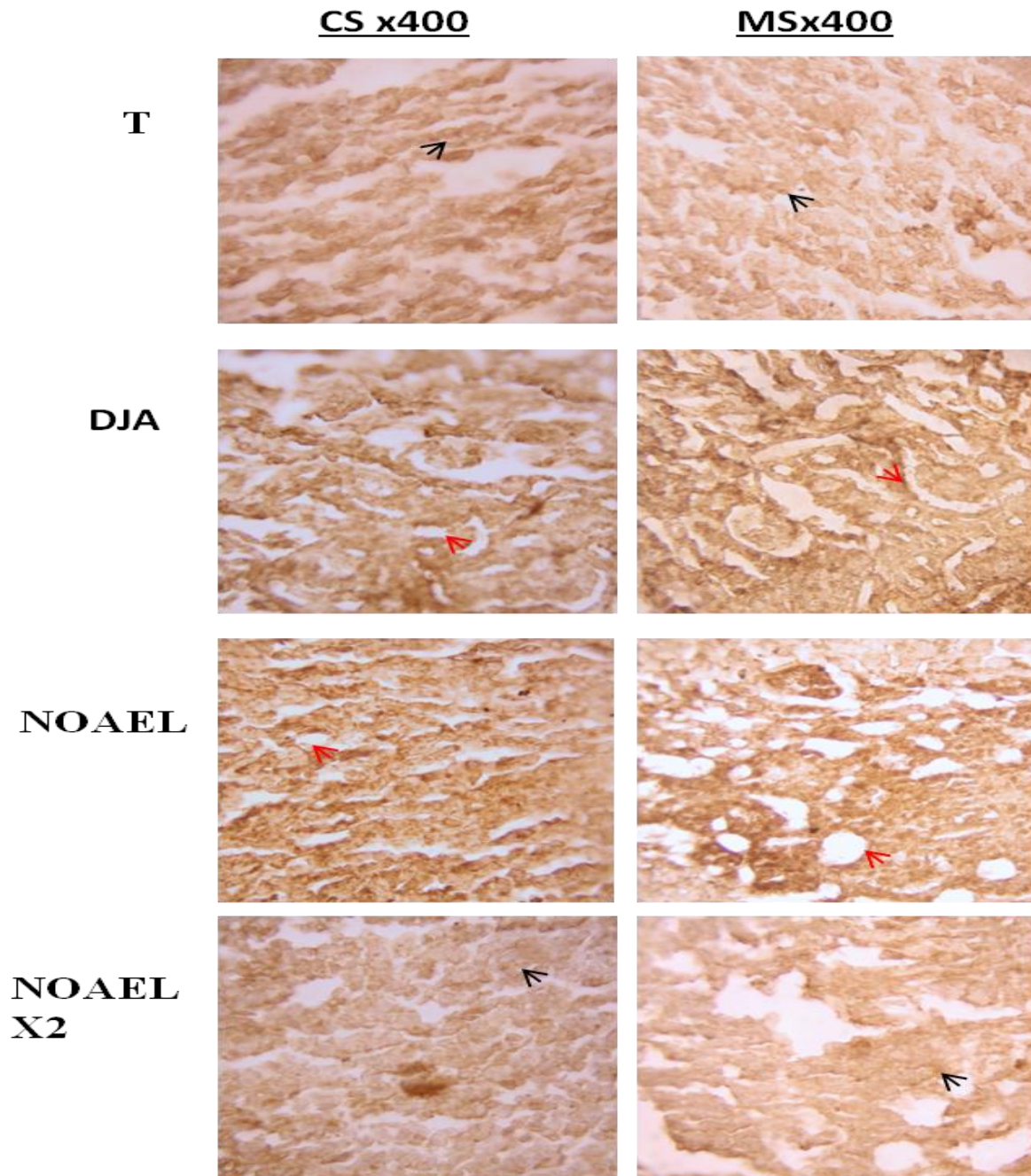
**1.2.1. Chez les rats de 20 jours (Figure29) :**

- **Au fort grossissement (X400) :**

- Pour le groupe témoin, l'observation au microscope optique nous a permis de constater un

léger marquage perinucléaire au niveau des deux zones de la surrénale, corticale et médullaire

- Pour les lots DJA et NOAEL, un marquage nucléaire et surtout vasculaire beaucoup plus prononcé est observé au niveau des structures de la zone corticale et médullaire
- Chez le lot NOAEL X2, contrairement aux deux précédent groupes, DJA et NOAEL, le marquage semble diminué surtout au niveau perinucléaire. Seule un fin marquage perivasculaire est obtenu au niveau corticale et médullaire.



**Figure 29 : marquage immuno histochimique des dystrophines au niveau de la glande surrénale des rats âgés de 20 jours issus de parents témoins (T) ou traités au TMX à différents : (DJA), (NOAEL) et (NOAEL X2) observés au grossissement 400Flèche noir : noyaux, flèche rouge : vaisseaux sanguins**

---

### 1.2.2. Chez les rats de 60 jours (figure30) :

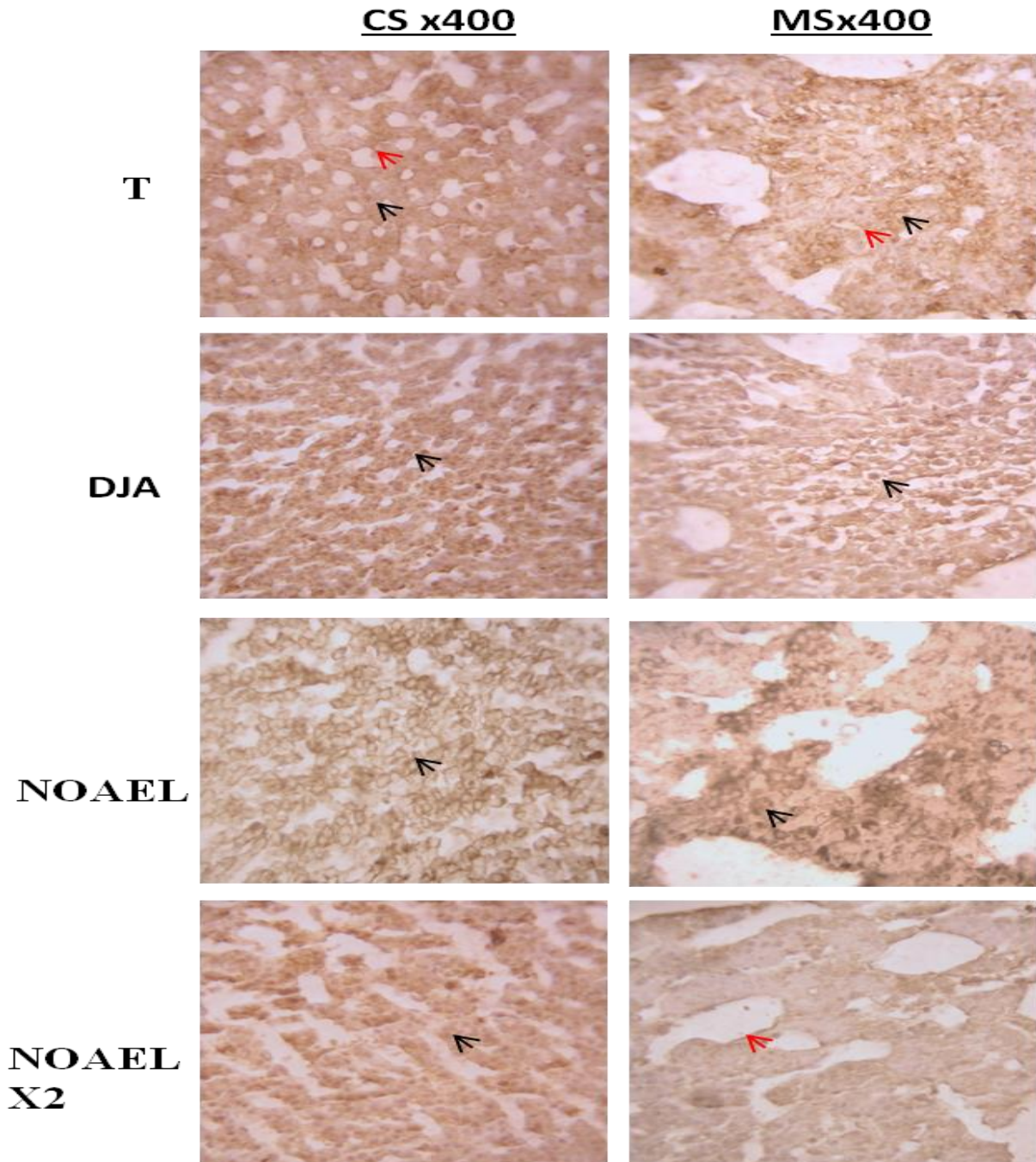
- **Au fort grossissement (X400) :**

-Chez le groupe témoin d'animaux âgés de 60 jours, les structures cellulaires semble acquérir une organisation proche à celle des animaux adulte et le marquage dystrophine présente un aspect qui ressemble à celui observé chez les animaux âgés de 90 jours. Un marquage nucléaire et perivasculaire distribué de façon homogène sur les deux zones, la corticale et la médullaire.

-Pour le lot DJA et NOAEL, la distribution du marquage est très prononcée surtout au niveau des noyaux cellulaires.

-Chez le groupe NOAELX2, un marquage perivasculaire est obtenu surtout pour la médullo-surrénales.

Le tableau suivant résume la distribution du marquage des dystrophines chez les descendants de la première génération âgé de 20j et 60 j



**Figure 30 : marquage immuno histochimique des dystrophines au niveau de la glande surrénale des rats âgés de 60 jours issus de parents témoin (T) ou traités au TMX à différentes doses (DJA), (NOAEL) et (NOAEL X2) au grossissement 400**  
**Flèche noir : noyaux, flèche rouge : vaisseaux sanguins.**

Le tableau suivant résume la distribution du marquage des dystrophines chez les descendants de la première génération âgé de 20j et 60 j

**Tableau 5 : répartition du marquage des dystrophines au niveau de la glande surrénale des animaux âgés de 20 et 60 jours chez différents groupes, témoin et traités au TMX (\* : légèrement marqué, \*\* : moyennement marqué, \*\*\* : fortement marqué).**

		T	DJA	NOAEL	NOAELx2
Descendants de 20j	-Marquage nucléaire	*	***	***	*
	-Marquage perivasculaire	*	***	***	*
	-Marquage membranaire	*	***	***	*
Descendant de 60j	-Marquage nucléaire	**	***	***	**
	-Marquage perivasculaire	**	**	**	***
	-Marquage membranaire	**	**	**	***

## 2. Discussion :

Le thiaméthoxame est un insecticide de nouvelle génération appartenant à la famille des néonicotinoïdes les plus utilisés (Vian,2008). Il agit par interaction avec les récepteurs à l'acétylcholine au niveau du système nerveux des insectes induisant leur paralysie et par conséquent leur mort (Yamamoto et Casida 1999 ; Azevedo- pereira *et al.*,2011).

Dans notre étude nous avons évalué l'effet sub-chronique du thiaméthoxame administré à différentes doses sur la distribution des dystrophines au niveau de la glande surrénale chez les rats adultes et leur descendance de première génération à différents âges (20j, 60j et 90j).

### 2.1. Effet du thiaméthoxame sur la glande surrénale des rats adultes :

L'étude de distribution des dystrophines du cytosquelette sub-membranaire au niveau de la glande surrénale nous a permis la mise en évidence et l'expression de cette protéine par les structures cellulaires des deux zones de la glande ; la corticosurrénale et la médullo-surrénale. L'expression des dystrophines par les cellules glandulaires de la surrénale indique leur implication dans l'organisation du tissu probablement dans la morphologie et la polarité cellulaire. Ce rôle des dystrophines est largement étudié surtout au niveau des cellules musculaires, le muscle cardiaque (Byers *et al.*, 1991) et aussi le tissu nerveux où les dystrophines par leur interaction avec l'actine intracellulaire et la laminine de la matrice extracellulaire permet l'intégrité tissulaire (Stone *et al.*, 2005).

Nos résultats indiquent aussi, que l'administration du TXM à fortes doses (NOAEL et NOAELX2) des deux groupes d'animaux adultes et ceux de 90jrs, induit une augmentation de l'expression des dystrophines surtout au niveau des noyaux et des espaces per vasculaires, cela pourrait indiquer l'implication des dystrophines dans les mécanismes de la réponse cellulaire ou tissulaire aux effets de TMX. Ce produit, administré à forte dose peut entraîner des changements histopathologie dans divers tissus y compris la glande surrénale (Vander Kraak).

Ainsi, on peut dire que le stress induit par le TXM a provoqué une réponse cellulaire compensatoire où les dystrophines pourraient être impliquées. En effet, les Dps, en plus de leurs rôles dans la morphologie et l'intégrité tissulaire, peuvent aussi être impliquées dans les mécanismes de signalisation et de transduction du signal.

Ce rôle des Dps est en relation avec son interaction avec les syntrophines du complexe DAPs connue pour son implication dans l'organisation et la localisation de plusieurs types de protéines de signalisation cellulaires telles que les kinases (**Lumeng *et al.*, 1999**), les canaux hydrique (Adams *et al.*, 2001) ainsi que les canaux potassique (**Leonoudakis *et al.*, 2004**).

De plus, la forte expression de ces protéines du cytosquelette sub-corticale au niveau per vasculaire chez les groupes NOAEL et NOAELX2, les implique dans les mécanismes de sécrétion hormonale par les cellules de la glande surrénale, corticale et médullaire. Selon **Jhonson *et al.*, 2013**, les dystrophines sont impliquées dans la sécrétion vésiculaire via leur interaction au cavéolines impliquées dans la voie de sécrétion régulée.

## **2.2. Effet du TXM sur la surrénale des rats de la génération 1 :**

En plus de l'étude de l'effet du TXM sur la distribution des Dps chez les rats mâles adulte, nous avons aussi étudié l'effet que pourrait avoir ce pesticide sur les animaux issus de parents traités par les différentes doses, à différents âges 20j et 60j.

Comme pour les animaux adulte témoins, les rats témoins âgés de 20j, les cellules de la surrénale exprime les Dps. A ce stade, le tissu surrénalien est en développement où les Dps jouent un rôle important permettant la prolifération et l'organisation tissulaire.

Chez les animaux issus de parents traités par le TXM dose DJA et NOAEL, la distribution du marquage Dps est très importante comparée à celle observée chez les témoins 20j, ce résultat nous permet de dire, que le TXM administré aux parents a été transmis au descendants de 20j induisant des modifications dans l'expression des dystrophines par le tissu de la glande surrénalienne.

Contrairement à la dose DJA et NOAEL, la dose NOAELX 2 administrée aux parents, les résultats obtenus ont montré une diminution importante de l'expression des dystrophines par le tissu surrénalien des animaux âgés de 20j. Ce résultat permet de suggérer que le TXM administré à de forte dose chez les parents aurait des effets sur l'expression des Dps probablement suite à une altération des fonctions cellulaires à l'âge infantile.

En revanche, chez les animaux âgés de 60j, l'expression des Dps semblent augmentée en fonction de la dose administrée, elle est plus importante chez le groupe de rat dont les parents ont reçu la

double dose NOAEL surtout au niveau peri -vasculaire.

Ce résultat est proche à celui obtenu pour les animaux de 90j, ce qui suggère que les Dps jouent un rôle important, non seulement dans le développement et la maturation du tissu surrénalien, mais contribue également à la réponse cellulaire face au stress provoqué par le produit chimique transmis par les parents.

Par ailleurs, il est supposé que le thiaméthoxame puisse être transmis par des parents ayant reçu ces molécules chimiques d'où l'exposition directe du fœtus surtout pendant la première phase du développement embryonnaire. L'étude réalisée par (Rizzati *et al.*,2016) a mis en évidence la présence du thiaméthoxame dans le sperme des mâles exposés à ce pesticide à différentes doses et à sa transmission aux organes reproducteurs.

# Conclusion

Dans notre étude nous avons évalué l'effet sub-chronique du thiaméthoxame administré à différentes doses sur la distribution des dystrophines au niveau du tissu glandulaire surrénalien chez les rats adultes et leur descendance de première génération à différents âges (20j, 60j et 90j).

Nos résultats indiquent que les dystrophines sont exprimées par les cellules des deux zones de la glande surrénale, à savoir la zone corticale et la zone médullaire. Suite à l'administration du TXM surtout à fortes doses (NOAEL et NOAELX2), une augmentation de l'expression des dystrophines surtout au niveau des noyaux et des espaces peri vasculaires est observée, cela pourrait indiquer l'implication des dystrophines dans les mécanismes moléculaires lors de la réponse cellulaire ou tissulaire au stress que pourrait avoir cette molécule chimique sur la surrénale.

De plus, nous avons également constaté que l'âge des rats de la première génération peut influencer la réponse surrénalienne au Thiaméthoxame et par conséquent la distribution des dystrophines. Chez les animaux plus jeunes (20jours), l'expression des dystrophines a montré une diminution importante dans le groupe d'animaux dont les parents ont reçu la double dose NOAEL ce qui a affecté l'organisation et le développement du tissu surrénalien. En revanche, les rats plus âgés (60,90 jours) peuvent être moins susceptibles aux effets toxiques où la distribution des dystrophines semble suivre celle des parents mâles adultes.

L'ensemble de ces résultats nous a permis de conclure que le thiaméthoxame puisse être transmis par les parents exposés à leurs descendants et impacter sur le fonctionnement cellulaire et l'expression de certaines protéines telles que les dystrophines.

Enfin, ce travail pourra ouvrir de nouvelles perspectives pour d'autres études à s'avoir :

- réaliser des recherches complémentaires afin d'explorer les effets du thiaméthoxame à différentes doses et sur des périodes de temps variables sur l'expression des dystrophines.
- utiliser les techniques de quantifications afin de mieux évaluer l'expression des dystrophines en fonction de la dose administrée
- réalise des études de toxicité chronique du thiaméthoxame afin d'évaluer et prévenir des risques probables chez l'homme.

# **Références bibliographique**

## A

- **Adams, M. E., Mueller, H. A., & Froehner, S. C. (2001).** In vivo requirement of the alphasyntrophin PDZ domain for the sarcolemmal localization of nNOS and aquaporin-4. *The Journal of Cell Biology*, 155(1), 113–22.
- **Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA). (2007).** Rapport d'évaluation du thiaméthoxame, canada.
- **Amiard, J.C (2001).** Lesrisques chimiques environnementaux méthodes d'évaluation et impacts sur les organismes la voisier
- **American cancer society –adrenal cancer 2014.** <https://www.cancer.org/>
- **American society of clinical onchology adrenal Gland Tumor Guide 2016:**<http://www.cancer.net/cancer-types/adrenal-gland-tumor/introduction>
- **Ashley B. Grossman, MD**University of oxford; follow, GreenTempleton College.  
vérifier /révisé Février .2024.
- **Alberts .,B .,Johnson ,A., Lewis, J.,Raff ,M.,Roberts ,K.,et Walter , P.(2014)”** molecular motors dans *molecular biology of the cell*(4<sup>th</sup> ed ). Récupéré sur <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26888>
- **Allamand et coll. Hum. mol.Genet .,2000,9,2459.**
- **AhnAH, Kunkel L M.**the structural and functional diversity of dystrophin. *NatGenet.*1993.apr ;(4):283-91 Review
- **Antoine Campeau –Péloquin, SophieRoy, GillesChabot. 2019.**Cégep de saint –hyacinthe ,3000, avenueBoullé, sainthyacinthe, Québec.

## B

- **Bouziani .M (2007).** L'usage immodéré des pesticides de graves conséquences sanitaire. *Le guide de la médecine et de la santé maghreb.*

- **Béatrice Bodereau**. Université d'angers ,2014.

-**Brander ,S.M., Gabler ,M.K.,Fowler ,N.L.,Cannon .R.E.,et Schlenk ,D(2016).**

pyrethroid pesticides as endocrine descriptors: molecular mechanism in vertebrates with a focus on fishes, environmental science.

-**Buckingham S.D. Lapied B. Le –carronc H. Grolleau F. et Sattelle D.B. (1997).**Imidaclopride actions on insect neuronal acetylcholine receptors .the journal of experimental biology .N°21-Vol 200:2685 -2692 p.

-**Bar S. Brnea E,Levy Z,Neuman S. yaffe .D,Nudel V.** A novel product of the Duchenne muscular dystrophy gene, which greatly differs from the known ixeformsin its structure and tissue distribution biochem J, .1990 DEC 1; 272 (2): 557-60

-**Byers TJ, LIDOVHG, Kunkel LM.** ana alternative dystrophin transcript specific to peripheral nerve. Nat Genet .199 May; four (1):77-81.

-**Barnea E, Zuk D,Simantov R,Nudel U,Yaffe D.**Specificity of expression of the muscle and brain dystrophin gene promoters in muscle and brain cells .Neuron ,1990 Dec ;5(6):881-8.

## C

-**Cherin P., Voronska, E., Fraoucene, N., et de Jaeger, C (2012).**Toxicitéaigüe des pesticides chez l'homme, médecine et longévité ,4(2),68 -74.

- **Camille Pasquet, Jean Marc Bonmatin.**Pesticide et agriculture durable2023.

-**Cissé I., Fall S.T., Akinbamijo o., Diopy., M.B., Adediran S.A. (2001)** : l'utilisation des pesticides et leurs incidence sur la contamination des nappes phréatiques et les risques sur la santé des populations dans la zone des niayes au Sénégal CRDI (Ottawa,canada) .,98 P

-**Chang H.Y.Daugherty L.et Mitchell A. (2013).**Bee afraid, bee very afraid =neonicotinoids and the nACHRs family .Inter pro protein focus: 1-8 P.

-**Céline Michard. Octobre 2015.**

## D

- **Delmas A ; Rouvière H (2002).**Anatomie humaine : Descriptive, topographiques fonctionnelle (15 ed., tomes 1-5) france : Editions Masson.

- **Drake R.I., vogl A.W., Mitchell A.W.M., 2010** .Gray's anatomie pour les étudiants ,2e edition .paris:Elsevier .

- **Durbeej M, Jung D, Hjalt T, cambell KP EK blomp** . Transient expression of DP140 a Product of the Duchenne muscular dystrophy locus during kidney to bulogenesis Dev biol 1997 Jan 15; 181 (2):156-67

- **Dominguez, R Holmes, K C**.actin structure and function annu REV BIO phys 40,169.186doi:10.1146/annurev biophys -042910-155359 (2011).

- **D'SOUZZA VN, N guyen TM, Morris GE, karges W, pillers DA, Ray PN**, A nouvel dystrophin isoform is required for normal retinal electrophysiology Hum Mol Genet .1995 May ;4(5):837-42

## **E**

- **El Bakouri H. (2006)** : développement de nouvelles techniques de détermination des pesticides et contribution à la réduction de leur impact sur les eaux par utilisation des substances organiques naturelles (S.O.N). thèse de doctorat ,Université Ebdel malek Essadi ,tanger ,2006.

## **F**

- **Fortier, Christian Messier, Le Coll Vertigo** La revue electronique en sciences de l'environnement 6(2) ,2005.

- **F Testud, J P Grillet Encycl med chir** 16, 059-C-10, 2007.

- **Fatine Laouar, Yamina Boumezaid , Wissam Boussouf** , encadreur lariche , Université de Jijel ,2022.

- **Fulla Y, Guignat L, Dugue MA, Assie G, Bertagna X (2009)** - exploration biologique de la fonction corticotrope. Revue francophone des laboratoires, P: 35-48

- **Florelle Domart. Octobre 2019.**

## **G**

- **Girard Lola, Nathalie Reinx, Carole Mathelin**, Gynécologie obstétrique Fertilité et sénologie 48(2), 187-195, 2020.

- **Gean Baptiste Rogez**, chef de projet à la Fondation FARM publier le 26/09/2023 /Panorama mondial de l'usage des pesticides chimiques.

- **Ganong Barret, Barman, Boitano et Brook (2012)**. Physiologie médicale. Eds de Boeck, P: 338-347.

**-Gorecki DC, Monaco AP, Derry JM, Walker AP, Barnard EA, Barnard PJ** .Expressio of four alternative dystrophin transcripts in brain regions regulated by different promoters .Hum Mol Genet .1992 Oct;505 -10

## **H**

**-Hofesteher (2014)** devenir des pesticides dans l'environnement p7

**- Hazard Jean et perlemuter leon (1990)** - endocrinologie Edition Masson 3e eds ; p 287 - 288.

**- Hennen George S (2001)** - endocrinologie .eds de Boeck, le eds, P: 278 -385

**-Hardin ,J ., Bertoli ,G, Kleinsmith ,L J Becker ,W. M Becker's world of cell** .8 th edn ,(Benjamin Cumming,2012).

**-Hermann, H& strel Kov,S.V.**History and phylogeny of intermediate filaments now in insects BMC Biol 9,16, dio :1186/1741 -7007.9-16(2011)

**-I Boudoucha, IRekaik, MFE Zoughi -2019-ds.**

## **J**

**- Johnson, E. K., Zhang, L., Adams, M. E., Phillips, A., Freitas, M. A., Froehner, S. C. ... Montanaro, F. (2012).** Proteomic analysis reveals new cardiac-specific dystrophin-associated proteins. PloS One, 7(8), e43515.

## **K**

**-K .M. Moussaoui, R. Boussahel, Y .Tchoulak, O .Haouchine .M, Benmami, N Dalachi**

Laboratoire des sciences et techniques de l'environnement, Ecole Nationale polytechnique.

**-Koenig M, Monaco AI ,Kunkel LM** .the complete sequence of dystrophin predicts a rod .shaped cytoskeletal protein .cell 1988 pn 22 ;53(2):219-28.

**-Kateryna Kon** /photothèque scientifique. Structure d'un microtubule.

## L

**- Lopez A, Morgan J.A, Wright D.J.2005** la pollution de l' eau par les produits phytosanitaire état et origine agronomie ,15 :157-170 .

**-Lidov HG, Byers TJ ku NKEL LM.** the distribution of dystrophin in the murine central nervous system: an immunocytochemical study. Neuroscience 1993 May; 54(7):167-87.

**-Lodish, HF.Molecular** cell biology .7 Lh edn, (W .H.Freeman and CO., 2013).

**-Lodish ,H.,Ber K,A., Zpunsky ,s.L,Matsudaira ,p.,Baltimore ,D.,et Darnell (2012).** Cilia and flagella structure and movement .and molecular cell biology (4 th ed., section 19,4. NowYork.

**- Lumeng, C., Phelps, S., Crawford, G. E., Walden, P. D., Barald, K., & Chamberlain, J. S. (1999).** Interactions between beta 2-syntrophin and a family of microtubule-associated serine/threonine kinases. Nature Neuroscience, 2(7), 611–7

**- Leonoudakis, D., Conti, L. R., Anderson, S., Radeke, C. M., McGuire, L. M. M., Adams, M. E., Vandenberg, C. A. (2004).** Protein trafficking and anchoring complexes revealed by proteomic analysis of inward rectifier potassium channel (Kir2.x)-associated proteins. The Journal of Biological Chemistry, 279(21), 22331–46.

## M

**-Martine Valo**, "le déclin des abeilles accéléré par les pesticides "le monde ;29-03-2012.

**-Maienfich P, (2005).**Synthesis and properties of Thialéthoxam and related compounds .syngenta Crop protection AG, Research& technology .Suisse:353-359 P

**- Mwtow, synthèse des catécholamines** 26/06/2017

**-Mostowy, S&Cossart, p .septins: the fourth component of the cytodkeleton** .Nat Rev Mol cell biol 13,183-194, doi :10 .1038 /nrm 3284 (2012).

**-Muntoni F,Torelli S,Ferlini A.** Dystrophin and mutations :one gene ,several proteins ,multiple phynotypes ,Lancet Neurol ;2003 dec ;(12):731-40. Review

## N

**-NY: W .H Freeman** récupéré sur <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21698/>.

**-Nudel U ,Zuk D,Einat P,Zeelon E,Levy Z,Neuman S,Yaffe D** ,Duchenne muscular dystrophy

gene product is not identical in muscle and brain ,Nature,1989 Jan 5;337(6202):76-8

## P

-**Philippe Hubert**,Environment, risques et santé 14(2),172-173,2015

## R

- **Rizzati, V. (2016)**.Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates.  
*Environmental Science and Pollution Research*. N°23 –Vol 21 : 17406-17423p.

## S

- **Sylvie Bortoli** les cahiers de la recherche : santé, environnement, travail ,29-03-2022.

- **Stone, M. R., O’Neill, A., Catino, D., & Bloch, R. J. (2005)**. Specific interaction of the actinbinding domain of dystrophin with intermediate filaments containing keratin 19. *Molecular Biology of the Cell*, 16(9), 4280–93.

## T

- **Thakur, D.S., Kot,R.,Joshi ,P.P., Pandharipande,M., et nagpure ,K(2014)** . Glyphosate poisoning with acute pulmonary edema, *toxicology international* ,21(3) ,328.

- **Tortora et Derrickson (2007)** - principe d'anatomie et de physiologie.Eds de Boeck 4 e Eds, canada ,P 1179 .

- The Subcellular Distribution of Dystrophin in Mouse Skeletal, Cardiac, and Smooth Muscle

**Timothy J. Byers,\* Louis M. Kunkel,\* and Simon C. Watkinst**

-The Journal ofCell Biology, Volume 115, Number2, October 1991411-421

## **V**

- **Vander Werf A (1997)**. evaluer l'impact des pesticides sur l'environnement courrier de l'environnement de L'INRA n° 31 , aout 1997 ,22p.

## **W**

- **Williamson S.M. Willis S.J. ET Wright G.A. (2014)**. Thiamethoxam interacts with Nicotinic Acetylcholine Receptors of Honey Bee Larva. N° 62- Vol 40: 9603 -9610 P.

## **Z**

- **Zoelho**.Vers un mode de vie conscient, mise à jour 23 mars 2018.

## Résumé

Parmi les pesticides les plus couramment utilisés en agriculture se trouvent le thiaméthoxame (TMX) : un insecticide néonicotinoïdes, employé pour combattre les ravageurs.

Dans cette étude, notre objectif est d'évaluer l'effet de l'administration du TMX sur l'expression et la distribution des protéines du cytosquelette sub-corticale, les dystrophines (Dps) par les cellules de la glande surrénale des rats mâles de souche "WISTAR" et leurs descendants âgés de 20-60-90 jours.

12 rats mâles adultes de souche « WISTAR » ont été utilisés et répartis en quatre groupes (3 rats par groupe). Un groupe témoin ayant reçu 1ml/jour d'eau, tandis que les autres groupes ont reçu le TMX par gavage pendant 10 semaines à des doses différentes: doses journalière admissible (DJA) de 0,026 mg/kg, dose sans effet nocif observé (NOAEL) de 2,6 mg/kg et NOAEL multiplié par deux (NOAEL x2) de 5,2 mg/kg.

Par la suite, des mâles traités ont été accouplés avec des femelles traitées avec le même pesticide. Après les traitements, la glande surrénale des mâles et leurs descendants a été fixée par perfusion intracardiaque puis prélevée et post fixée dans une solution paraformaldéhyde à 4%. Des coupes histologiques ont été réalisées, et marqués par l'anticorps anti Dps selon la technique immunoenzymatique.

Les résultats obtenus ont permis la mise en évidence des dystrophines au niveau du tissu surrénalien, d'une part, et d'autres parts, nous avons constaté que l'administration du TMX à fortes doses (NOAEL et NOAELX2) des deux groupes d'animaux adultes et ceux de 90jrs, induit une augmentation de l'expression des dystrophines surtout au niveau des noyaux et des espaces perivasculaires ce qui implique ces protéines dans les mécanismes de la réponse cellulaire au stress cellulaire induit par le pesticide. En revanche, chez les animaux de la première génération âgés de 20 jours, la double dose (NOAELX2) administrée aux parents, a montré une diminution importante de l'expression des dystrophines par le tissu surrénalien ce qui permet de suggérer que le TMX administré à de forte dose chez les parents aurait des effets indirects sur l'expression des Dps probablement suite à une altération des fonctions cellulaires à l'âge infantile.

**Mot clés:** néonicotinoïdes, thiaméthoxame, glande surrénal, dystrophines, immunohistochimie

## Abstracts

Among the Most commonly used pesticides in agriculture are néonicotinoids, among which thiaméthoxam is widely used to combat pests and holds a significant market share.

The objective of our study is to evaluate the effect of thiaméthoxam, on the adrenal gland histophysiology of male wistar rats and their 20-day-old, 60day-old and 90 day-old offspring.

First of all, 12 adults male WISTAR rats were used and divided into four groups ,one groups served as a control and received 1 ml/day of water ,while the other groups were exposed to thiaméthoxam (TMX) through oral gavage for 10 weeks at different doses : the acceptable daily intake (ADI) dose of 0,026 mg/kg ,the no observed adverse effect level (NOAEL ) dose of 2,6 mg/kg ,and twice the NOAEL (NOAEL X2) dose of 5,2 mg/kg .

then ,these males were mated with non-exposed females . the liver of the males and their offspring was collected and fixed in a 4% paraformaldehyde solution .histological sections were prepared followed by hematoxylin and eosin staining . photos were taken and analyzed with axio vision Rel . software for histo morphometric analysis.

The result indicate that the administration of TMX at high doses (NOAEL,NOAELX2) in both adult animal groups and those of 90 days ,induces an increase in the expression of dystrophins especially at the level of the nuclei and perivascular spaces on the other hand, in the animals of 60 days the expressions of DPS seems increased in the dose (NOAELX2) administrated to the parents , the results obtained showed a significant decrease in the expression of dystrophins by the adrenal tissue of the animals aged 20 days . this result suggests that TMX administered at high doses to the parents would have effects on the expression of DPS probably following an alteration of cellular functions at the infantile .

**Keywords:** dystrophin, neonocotinoid ,thiamethoxam ,surrénal gland ,