



## Composés bioactifs

### Hypothyroïdisme induit par le perchlorate de sodium chez le rat et sa prévention par l'usage d'*Alsidium corallinum*, une algue marine riche en iode

Hypothyroidism induced by sodium perchlorate in rat and its prevention with the use of *Alsidium corallinum*, a marine algae rich in iodine

Awatef ELWEJ.<sup>1</sup>, Mariem CHAABANE.<sup>1</sup>, Imen GHORBEL.<sup>1</sup>, Ons BOUDAWARA.<sup>2</sup>, Tahia BOUDAWARA.<sup>2</sup>, Najiba ZEGHAL.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Animal Physiology Laboratory. Sfax Faculty of Sciences. BP1171, 3000 Sfax. Sfax University, Tunisia. <sup>2</sup>Anatomopathology Laboratory, CHU Habib Bourguiba, Sfax University, Tunisia

Auteur correspondant : awatefelwej@yahoo.fr

Reçu le 20 juin 2017, Révisé le 23 septembre 2017, Accepté le 27 septembre 2017

**Résumé Introduction.** Les algues marines sont bien connues pour leur haute valeur nutritionnelle. Leur richesse en éléments minéraux et en antioxydants a récemment suscité l'intérêt de l'industrie pharmaceutique pour le traitement de diverses maladies, tels que les troubles liés à la carence en iode qui cause un dysfonctionnement de la glande thyroïde, induisant un état d'hypothyroïdisme. **Objectif.** Le présent travail a été réalisé afin d'étudier l'impact du perchlorate de sodium (ClO<sub>4</sub>Na), un antithyroïdien administré chez des rats adultes, sur la fonction thyroïdienne et le rôle bénéfique de l'algue rouge méditerranéenne, *Alsidium corallinum*. **Matériel et Méthodes.** Les rats ont été exposés durant 21 jours soit au perchlorate (1 g/L) ou au perchlorate associé à *Alsidium corallinum* à 7% dans l'aliment de commerce. **Résultats.** Les résultats ont montré que le traitement au ClO<sub>4</sub>N a induit une réduction importante du contenu en iode, accompagnée d'une diminution des taux plasmatiques en tétraiodothyronine libre (FT<sub>4</sub>), de la triiodothyronine libre (FT<sub>3</sub>) et d'une augmentation de ceux de la thyrostimuline (TSH). La croissance corporelle a été également affectée. Lorsque l'administration de l'antithyroïdien dans l'eau de boisson a été arrêtée, la fonction thyroïdienne a été améliorée. La co-administration d'*Alsidium corallinum* dans l'alimentation des rats adultes a atténué la déficience en iode et en hormones thyroïdiennes induite par le perchlorate. **Conclusion.** *Alsidium corallinum* pourrait être utilisé comme un agent thérapeutique pour le traitement de maladies liées à l'hypothyroïdisme.

**Mots clés :** *Alsidium corallinum*, Rat adulte, Carence en iode, Fonction thyroïdienne, Etude histopathologique

**Abstract Introduction.** Marine algae are well known for their high nutritional value. Their mineral and antioxidant richness has recently attracted a great deal of pharmaceutical industry interests to treat many diseases such as disorders related to the iodine deficiency causing a thyroid gland dysfunction leading to a hypothyroidism state. **Objective.** The present study was undertaken to assess the effects of sodium perchlorate ( $\text{ClO}_4\text{Na}$ ), an anti-thyroid drug administered to adult rats, on thyroid function and the beneficial role of the Mediterranean red alga, *Alsidium corallinum*. **Material and Methods.** Rats were exposed during 21 days either to perchlorate (1 g/l) or perchlorate associated with *Alsidium corallinum* at 7% in the commercial diet. **Results.**  $\text{ClO}_4\text{Na}$  treatment induced an important reduction of iodine content, associated with a decrease in plasma free tetraiodothyronin ( $\text{FT}_4$ ), free triiodothyronin ( $\text{FT}_3$ ), and an increase in thyreostimulin (TSH) levels. The body weight growth was also affected. When antithyroid drug was withdrawn from the drink, thyroid function was improved. Co-administration of *Alsidium corallinum* in the diet of adult rats treated with antithyroid drug attenuated iodine and thyroid hormones deficiency induced by perchlorate. **Conclusion.** *Alsidium corallinum* may be used as a therapeutic agent for the treatment of diseases related to hypothyroidism.

**Keywords :** *Alsidium corallinum*, Rat, Iodine deficiency, Thyroid function, Histopathological studies

## Introduction

L'iode provient essentiellement de l'alimentation. Sa présence, en quantités variables, dans les fruits, les viandes, les céréales et les légumes, provient du sol, allant de 12 à 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de poids frais [1]. Des concentrations élevées en iode sont détectées dans les produits de la mer. Elles atteignent des valeurs supérieures à 8 mg/kg dans l'huile de foie de morue [2]. Les algues en contiennent d'importantes quantités, soit en moyenne 320 mg d'iode/kg de matière sèche. Les valeurs varient selon les variétés de 70 à 8500 mg/kg de matière sèche [3]. Il est bien connu, par ailleurs, que l'iode est un oligoélément essentiel pour la biosynthèse des hormones thyroïdiennes. Un déficit en ces hormones est à l'origine de l'apparition de l'hypothyroïdisme. Cette pathologie endocrinienne pourrait être également la conséquence de désordres congénitaux, tels que le crétinisme et les anomalies affectant la synthèse hormonale. L'hypothyroïdisme pourrait être à l'origine d'une déficience de la sécrétion de thyroïdostimuline (TSH) hypophysaire, d'une thyroïdectomie, d'une thyroïdite, des maladies auto-immunes, de la consommation de substances goitrigènes contenues dans certains aliments [4,5] ou d'un traitement aux antithyroïdiens [5,6], tel que le perchlorate de sodium [7]. Chez l'homme et l'animal, l'exposition à cet antithyroïdien peut se faire par ingestion ou par inhalation [8]. L'exposition chronique au perchlorate de sodium présente des effets néfastes sur le tissu sanguin

[9], les reins [10], le foie et la thyroïde [9]. L'hypothyroïdisme peut aussi être induit par certains xénobiotiques, tels que les métaux lourds et les métalloïdes [6], les pesticides [11], les phytohormones [12] et par la malnutrition [13]. Cependant, le bon fonctionnement de la glande thyroïde est tributaire d'un apport régulier et suffisant en iode.

Les troubles liés à la carence en iode posent un problème de santé publique. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé [14], deux milliards de personnes (38% de la population mondiale) sont exposés à la carence en iode, dont 740 millions de personnes (soit 13 % de la population mondiale) sont atteintes de goitre. En Tunisie, une étude menée par Hsairi *et al.*, [15], a révélé une prévalence de 36% de la maladie du goitre chez une population du Nord-Ouest, occupant les régions les plus éloignées de la mer. Selon la FAO et l'UNICEF, les pourcentages de la carence en iode enregistrés entre les années 1994 et 2000 dans les pays du Maghreb étaient de 1 % en Tunisie, 6% en Lybie, 9% en Algérie et 20 % au Maroc. Concernant l'Europe, la carence en iode de la population générale ou des femmes enceintes était marquée dans certains pays Occidentaux, tels que la France et l'Italie [16], ainsi que l'Espagne du nord [17]. Pendant la période de grossesse, particulièrement, un apport inadéquat en iode a été enregistré dans environ 30% des pays européens [16]. Divers traitements de l'hypothyroïdisme ont été décrits, telles que l'administration d'hormones thyroïdiennes, comme la lévothyroxine sodique, l'administration de façon

intermittente de l'iodure de potassium et l'utilisation de l'huile iodée (Lipiodol). La prévention de l'hypothyroïdisme par l'huile iodée est relativement lente, deux à sept ans par voie parentérale et six à douze mois, par voie orale. Une alimentation équilibrée en iode et à base de poissons, de crustacés, de mollusques et d'algues marines pourrait prévenir cette pathologie. En effet, selon Konno *et al.*, [18], la consommation d'algues pourrait prévenir l'hypothyroïdisme.

Les macro-algues ont des propriétés nutritionnelles intéressantes en alimentation humaine [19]. L'étude de leur composition chimique renseigne sur le contenu en protéines qui est plus élevé pour les algues rouges et vertes que pour les algues brunes et en moyenne comparable à celui des végétaux terrestres. Elles contiennent très peu de lipides (1 à 2%), et apportent, par conséquent, très peu de calories, mais sont plus riches que les végétaux supérieurs en acides gras polyinsaturés essentiels. Elles contiennent aussi plus de 50% de glucides, qui sont pour la plupart des fibres alimentaires différentes de celles des végétaux terrestres. En outre, leur teneur en minéraux et en vitamines est plus élevée que celle des autres végétaux. Les algues représentent donc une source intéressante de protéines, de fibres alimentaires (solubles), de minéraux (calcium), et de vitamines (A, B<sub>12</sub>) [20-22]. Leur contenu élevé en certains minéraux intéresse l'industrie pharmaceutique pour le traitement de diverses maladies [23]. A l'heure actuelle et vue leur richesse en iode [3], les algues sont utilisées pour empêcher les différentes formes de dysthyroïdies en Chine, au Japon, aux Etats-Unis et au Canada [24].

Cette étude consiste à développer une approche préventive, basée sur l'utilisation d'une algue rouge, contre la carence en iode induite par le perchlorate de sodium et ceci, par l'administration d'*Alsidium corallinum*, à raison de 7% dans le régime des rats adultes rendus hypothyroïdiens par un antithyroïdien de synthèse, le perchlorate de sodium.

## Matériel et méthodes

### Collecte, détermination de l'espèce et préparation de l'algue

Des échantillons d'algues fraîchement récoltées sur les côtes de Sfax ont été transportés au laboratoire et triés après identification de l'espèce *A. corallinum* au sein du laboratoire de Biodiversité et Système Aquatique, à la Faculté des Sciences de Sfax, en se référant à l'étude morphologique faite par la FAO [25]. Ces échantillons étaient débarrassés des organismes étrangers et lavés à l'eau fraîche pour éliminer les sels, les particules de sable et d'autres détritiques. Ils ont été par la suite

séchés dans une étuve préalablement réglée à une température de 30°C puis finement broyés à l'aide d'un mortier et d'un pilon selon la technique décrite par Vijayavel & Martinez [26].

### Animaux et régime

Le protocole expérimental a été approuvé par le Comité local de soins des animaux de l'Université de Sfax. Toutes les procédures expérimentales ont été réalisées selon les lignes directrices internationales pour les soins et l'utilisation des animaux de laboratoire [27]. Cette étude a été réalisée sur des rats femelles de souche Wistar, ayant un poids initial moyen de 180±10 g et provenant d'un élevage de la Pharmacie Centrale de Tunis (SIPHAT, Tunisie). Les rats ont été acclimatés dans une animalerie maintenue à une température voisine de 22°C, avec une alternance de 14 heures d'obscurité et 10 heures d'éclairage et un taux d'humidité de 40%. Les animaux ont été répartis en 5 groupes de 8 rats chacun, un groupe de rats témoins (groupe 1) et 4 groupes de rats traités (groupes 2, 3, 4, et 5): Groupe 2 : traité au ClO<sub>4</sub>Na (0-22j), Groupe 3 : traités au ClO<sub>4</sub>Na (0-12j), Groupe 4 : traité au ClO<sub>4</sub>Na (0- 12j) + arrêt de traitement (12 à 22j), Groupe 5 : traité au ClO<sub>4</sub>Na (0-12j) + algue (12 à 22j). Un groupe de rats traités au ClO<sub>4</sub>Na (0-12j) servait pour voir l'état de la thyroïde au moment de l'arrêt (signe d'hypothyroïdisme) et ceci était confirmé par le dosage de l'iode pour les groupes 2 et 3.

Tous les animaux ont été soumis à un régime standard (Société ALMES, Sfax, Tunisie), composé de glucides, lipides, protides, vitamines et oligo-éléments. La teneur de certains ingrédients/kg de régime était de : Zinc, 65 mg ; Cuivre, 25 mg ; Sélénium, 0,3 mg ; Vitamine A, 13 000 UI ; Méthionine, 0,48 % ; Cystéine, 0,38 % ; Thréonine, 0,80 % ; Tryptophane, 0,30 %. L'eau courante a été fournie, à volonté, aux animaux témoins. La boisson administrée aux groupes 2, 3 et 4 était supplémentée en perchlorate de sodium, à une concentration de 1g/L, ne provoquant pas de mortalité chez les rats adultes. Cette dose a été choisie en se référant à la littérature [28]. La dose de perchlorate de sodium utilisée est équivalente à 174 mg/kg de poids corporel qui représente le 1/12ème de la DL50 chez le rat adulte (2100 mg/kg) exposé par voie orale à cet antithyroïdien. Les rats du groupe 5 ont reçu une boisson contenant du perchlorate de sodium de 0 à 12 jours et le régime supplémenté par la poudre d'algue, à raison de 7 %. Cette composition a été choisie en se référant à la littérature [29]. Les groupes 4 et 5 ont subi un arrêt de traitement de 10 jours, en remplaçant la boisson contenant du perchlorate par de l'eau courante.

### Prélèvement du sang et des thyroïdes

Tous les rats ont été sacrifiés par décapitation après 22 jours pour les groupes 2, 4 et 5 et après 12 jours pour le groupe 3. Du sang a été prélevé juste après décapitation dans des tubes héparinés puis centrifugé pendant 15 minutes à 2200g. Des échantillons plasmatiques ont été conservés à -20°C pour la détermination des taux plasmatiques des hormones thyroïdiennes (FT<sub>3</sub> et FT<sub>4</sub>) et de la TSH.

Les glandes thyroïdes fraîchement prélevées ont été pesées. Certaines glandes, prélevées avec la trachée, destinées à des études histologiques ont été immédiatement fixées dans une solution de formol tamponné à 10%. D'autres thyroïdes ont été prélevées sans trachée dans des tubes en verre de 5ml et congelées à -20°C pour une détermination ultérieure de leur contenu en iode après minéralisation alcaline.

### Dosages biochimiques

#### *Détermination des composés iodés stables*

Des thyroïdes sans trachée et des échantillons d'aliment de commerce ou d'algue ont été minéralisés en présence de soude ou d'acide nitro-perchlorique respectivement afin de transformer tout l'iode en iodeure.

#### *Minéralisation alcaline de la thyroïde*

Les thyroïdes ont été minéralisées en présence de 150 µl de NaOH (5M) dans une étuve réglée à 180°C pendant 16 heures. Le résidu blanc obtenu après minéralisation a été dissous dans 1,5 ml de HCl (1N). Le dosage de l'iode a été effectué sur une aliquote de cette solution.

#### *Minéralisation acide de l'aliment et de l'algue*

La minéralisation des échantillons d'aliment solide ou de la poudre de l'algue a été réalisée à chaud à 250°C pendant 45 minutes en présence de 0,5 ml d'un mélange d'acide nitro-perchlorique (2V:1V). Au moment du dosage, après refroidissement des tubes, tous les minéralisats acides ont été dilués par 1 ml d'eau bidistillée. Les gammes d'étalonnage d'iode de 0 à 25 ng ont été préparées à partir d'une solution de IK à 1 µg d'iode/ml et ont subi les mêmes conditions de minéralisation que les échantillons à doser.

#### *Dosage de l'iode dans les minéralisats*

L'iode à l'état minéral a été dosé grâce à son pouvoir catalyseur dans la réduction de l'ion cérique Ce<sup>4+</sup> (couleur jaune) en ion céreux Ce<sup>3+</sup> (incolore), couplée à l'oxydation de l'ion arsénite As<sup>3+</sup> en As<sup>5+</sup>. La réaction d'oxydoréduction a été suivie par la décoloration du milieu de la réaction. L'intensité de la décoloration est

proportionnelle à la concentration en iodures du milieu. Le dosage de l'iode des minéralisats des thyroïdes et de l'aliment a été déterminé selon la technique de Sandell & Kolthoff [30], à une densité optique de 420 nm. Le cologarithme de la densité optique est proportionnel à la quantité d'iodeure.

#### *Dosage radio-immunologique des hormones FT<sub>4</sub>, FT<sub>3</sub> et de laTSH*

Les dosages de la FT<sub>4</sub>, de la FT<sub>3</sub> et de la TSH ont été effectués directement sur du plasma à l'aide de kits (Immunotech, Marseille France).

### Techniques histologiques

Après fixation par le formol tamponné, les thyroïdes avec trachées ont été mises dans des cassettes et placées dans un automate d'inclusion Schandon afin d'assurer la déshydratation par les bains d'alcool éthylique, suivis par des bains de toluène pour une bonne imprégnation des organes dans de la paraffine. Une étape d'inclusion des fragments dans la paraffine a été effectuée. Ensuite, des coupes sériées de 4 µm d'épaisseur ont été réalisées. Les lames ont été placées dans une étuve préalablement réglée à 40°C. Une coloration de routine à hématoxyline-éosine a été ensuite réalisée après déparaffinage des coupes.

### Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes suivies de l'erreur standard. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'un programme « Stat view 5 "Software" (SAS Institute, Berkley, CA). Après analyse de variance (ANOVA), le test de Fisher « Protected Least Significant Difference » (PLSD) a été utilisé pour la comparaison des différents groupes. Le test de Student Fisher a été également utilisé pour les comparaisons entre deux groupes. Les différences ont été jugées significatives à  $p \leq 0,05$ .

## Résultats

### Poids corporel des rats et des thyroïdes

Aucune différence significative du poids corporel n'est notée entre les différents groupes de rats (Tableau I). Le traitement au perchlorate des rats du groupe 2 a provoqué une hypertrophie de la glande thyroïde dont le poids a augmenté de 95% comparé à celui des témoins (Tableau I).

**Tableau I. Poids corporel, poids absolu et relatif des thyroïdes des groupes de rats témoins et traités au perchlorate de sodium et/ou par la poudre d'*Alsidium corallinum***

Paramètres et traitement	Poids initial (g)	Poids final (g)	Poids absolu de la thyroïde (mg)	Poids relatif de la thyroïde (mg/100 g PC)
Groupe 1	179,0	189,8	13,2	6,9
	±3,2	±3,5	±1,7	± 0,8
Groupe 2	179,5	181,6	26,0	14,3
	±3,9	±4,5	±2,48 ***	± 1,3 ***
Groupe 3	179,8	183,5	20,7	11,2
	±5,1	±5,5	±1,1 ***	± 0,5 ***
Groupe 4	182,0	189,5	18,0	9,5
	±5,3	±4,8	±3,2 ****	± 1,7*
Groupe 5	180,1	186,5	13,6	7,2
	±4,7	±5,1	±1,6 +++§§	± 0,7 **

Les valeurs sont présentées sous forme de Moyennes ± ES. Groupe 1: Témoins ; Groupe 2 : Traité au  $ClO_4Na$  (0- 22j) ; Groupe 3 : Traité au  $ClO_4Na$  (0- 12j) ; Groupe 4 : Traité au  $ClO_4Na$  (0- 12j) + arrêt (12 à 22j) ; Groupe 5 : Traité au  $ClO_4Na$  (0- 12j) + algue + arrêt (12 à 22j). Groupes 2, 3, 4 et 5 vs Groupe 1: \*  $P < 0,05$  ; \*\* $P < 0,01$  ; \*\*\* $P < 0,001$ . Groupes 4 et 5 vs groupe 2: \*\*\*  $P < 0,001$ . Groupe 5 vs groupe 4 : §§ $P < 0,01$

Macroscopiquement, l'hypertrophie des thyroïdes du groupe 2 est caractérisée par une couleur rouge due à l'importante vascularisation. L'arrêt du traitement au perchlorate pendant 10 jours a induit une diminution du poids des thyroïdes du groupe 4, sans toutefois atteindre celui des témoins. Une diminution de l'ordre de 20% du poids des thyroïdes a été notée, suite à l'arrêt du traitement de 10 jours, comparé à celui du groupe 3. Chez ce dernier, le poids des thyroïdes a augmenté de 55% par rapport à celui des rats témoins.

La supplémentation de l'algue à 7%, de 12 à 22 jours, aux rats du groupe 5 traités au perchlorate, a provoqué une diminution du poids des thyroïdes, atteignant celui des témoins. Un arrêt de traitement de 10 jours et/ou la supplémentation d'algue (7%) a permis l'involution de l'aspect de la glande thyroïde des rats du groupes 4 et 5 (Tableau I).

### Contenu en iode de l'algue et de l'aliment de commerce

La teneur en iode a été déterminée sur six échantillons d'algues. La quantité d'iode représentait  $180 \pm 30 \mu\text{g/g}$  de poids sec. Nos résultats confirment ceux d'autres chercheurs qui ont déterminé la quantité d'iode contenue dans différentes espèces d'algues rouges, dont la valeur moyenne en iode était de l'ordre de  $153 \mu\text{g/g}$  de poids sec. De même, le contenu en iode a été évalué sur six échantillons d'aliment de commerce. La quantité d'iode était de  $1,20 \pm 0,02 \mu\text{g/g}$  de poids sec, similaire à

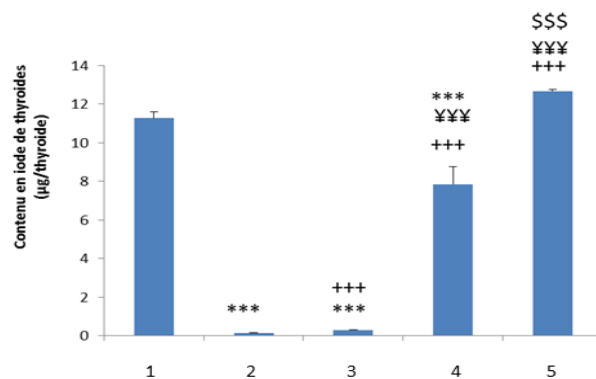
celle donnée par la Société ALMES (Sfax, Tunisie) (Tableau II).

Les rats appartenant au groupe 3, traités au perchlorate de sodium de 0 à 12 jours, ont présenté une réduction importante (-97%) du contenu en iode de leur thyroïde, comparé aux témoins.

Un arrêt de traitement de 10 jours au perchlorate a permis une récupération partielle du contenu en iode des thyroïdes (+51%) chez le groupe 4 par rapport au groupe 2. L'administration de l'algue au groupe 5, associée à un arrêt de traitement de 10 jours, a induit une récupération totale du contenu en iode de leur thyroïde.

### Contenu en iode des thyroïdes

Les résultats illustrés dans la figure 1 a montré que la carence en iode, induite par le perchlorate, a provoqué une réduction importante (-99%) du contenu en iode des thyroïdes de rats du groupe 2, traités par cet antithyroïdien, à une dose de 1 g/l administré pendant 22 jours.



**Fig. 1. Contenus en iode des thyroïdes de rats adultes témoins et traités au perchlorate de sodium et/ou par la poudre d'*Alsidium corallinum*.**

Les valeurs sont présentées sous forme de Moyennes ± ES. Groupe 1: Témoins ; Groupe 2 : Traité au  $ClO_4Na$  (0- 22j) ; Groupe 3 : Traité au  $ClO_4Na$  (0- 12j) ; Groupe 4 : Traité au  $ClO_4Na$  (0- 12j) + arrêt (12 à 22j) ; Groupe 5 : Traité au  $ClO_4Na$  (0- 12j) + algue + arrêt (12 à 22j). Groupes 2, 3, 4 vs groupe 1 : \*\*\*  $p \leq 0,001$  ; Groupes 3, 4, 5 vs groupe 2 : \*\*\*  $p \leq 0,001$  ; Groupes 4, 5 vs groupe 3 : §§§  $p \leq 0,001$  ; Groupe 5 vs groupe 4 : §§§  $p \leq 0,001$

L'apport iodé d'origine algale associé à un arrêt de traitement a été suffisant pour corriger la carence en iode induite par le perchlorate et ramener la thyroïde à son aspect normal.

### Taux plasmatiques en FT3, FT4 et TSH

Chez les rats témoins, les taux plasmatiques en FT3 et FT4 étaient respectivement de  $5,623 \pm 0,081$  et  $15,413 \pm 2,157 \text{ pmol/L}$  et ceux de la TSH de  $1,900 \pm 0,014 \text{ ng/mL}$ . L'administration du perchlorate à raison de 1g/L dans la boisson durant 21 jours a provoqué une baisse

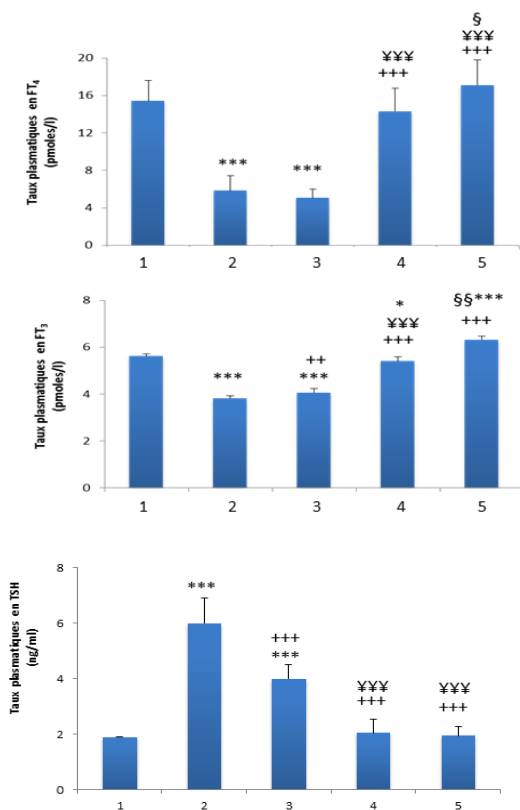
de la thyroxynémie (-62%), une diminution de 32% des taux plasmatiques en FT3 et une importante augmentation de ceux de la TSH (+70%), comparé aux valeurs des témoins. Un arrêt de traitement de 10 jours permet une récupération partielle de ces paramètres,

sans toutefois atteindre les valeurs des témoins. La supplémentation de l'algue *via* l'alimentation, associée à un arrêt de traitement, a permis une récupération totale des paramètres hormonaux, dépassant même les valeurs des témoins (Fig. 2).

**Tableau II. Consommation quotidienne d'aliment solide et de boisson et quantités d'antithyroïdien ingéré et d'iode ingéré *via* l'aliment et *via* l'algue et quantité totale d'iode ingéré**

	Aliment (g/j/rat)	Boisson (ml/j/rat)	Antithyroïdien ingéré (mg/j/rat)	Iode ingéré <i>via</i> l'aliment (µg/j/rat)	Iode ingéré <i>via</i> l'algue (µg/j/rat)	Quantité totale d'iode ingéré (µg/j/rat)
<b>Groupe 1</b>	11,47±1,12	32,32±2,65	—	13,80±1,32	—	13,80±1,32
<b>Groupe 2</b>	10,90±0,74*	31,27±3,61	31,30±3,70	13,08±1,44	—	13,08±1,44
<b>Groupe 3</b>	10,30±0,90**	25,57±1,08***	25,60±2,60	12,36±1,56	—	12,36±1,56
<b>Groupe 4</b>	11,31±0,85	27,21±2,50***	27,20±3,40	13,56±1,80	—	13,56±1,80
<b>Groupe 5</b>	10,80±0,82*	28,16±2,05**	28,10±4,30	12,05±1,08	136,10±11,30	148,13±12,42

Les valeurs sont présentées sous forme de Moyennes ± ES. Groupe 1: Témoins ; Groupe 2: Traité au ClO<sub>4</sub>Na (0- 22j) ; Groupe 3: Traité au ClO<sub>4</sub>Na (0- 12j) ; Groupe 4: Traité au ClO<sub>4</sub>Na (0- 12j) + arrêt (12 à 22j) ; Groupe 5: Traité au ClO<sub>4</sub>Na (0- 12j) + algue + arrêt (12 à 22j). Groupe 1: Témoins ; Groupe 2: Traité au ClO<sub>4</sub>Na (0- 22j) ; Groupe 3: Traité au ClO<sub>4</sub>Na (0- 12j) ; Groupe 4: Traité au ClO<sub>4</sub>Na (0- 12j) + arrêt (12 à 22j) ; Groupe 5: Traité au ClO<sub>4</sub>Na (0- 12j) + algue+arrêt (12 à 22j) ; Groupes 2, 3, 4, 5 vs témoins \*p ≤ 0,05 ; \*\*p ≤ 0,01 ; \*\*\*p ≤ 0,001.



**Fig. 2: Taux plasmatiques en FT<sub>4</sub>, FT<sub>3</sub> et en TSH de rats témoins et traités au perchlorate de sodium et/ou par la poudre d'Alsidium corallinum.**

Les valeurs sont présentées sous forme de Moyennes ± ES. Groupe 1: Témoins ; Groupe 2: Traité au ClO<sub>4</sub>Na (0- 22j) ; Groupe 3: Traité au ClO<sub>4</sub>Na (0- 12j) ; Groupe 4: Traité au ClO<sub>4</sub>Na (0- 12j) + arrêt (12 à 22j) ; Groupe 5: Traité au ClO<sub>4</sub>Na (0- 12j) + algue + arrêt (12 à 22j). Groupes 2, 3, 4 et 5 vs Groupe 1: \*P ≤ 0,05 ; \*\*\*P ≤ 0,001 ; Groupes 3, 4, 5 vs groupe 2 : \*\* p<0,01 ; +++P ≤ 0,001 ; Groupes 4, 5 vs groupes 3 : yyy p ≤ 0,001 ; Groupe 5 vs groupe 4: §P ≤ 0,05 ; §§P ≤ 0,01

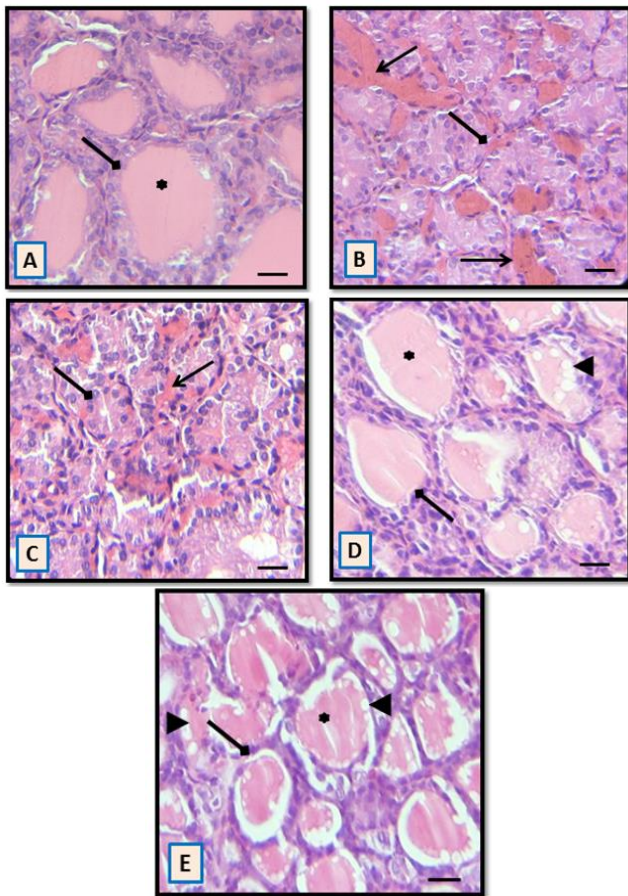
### Structures histologiques des thyroïdes

L'observation microscopique des thyroïdes de rats adultes témoins a montré, après fixation dans une solution de formol tamponné (10%) et coloration à l'hématoxyline éosine, des follicules bien définis, avec une assise de cellules épithéliales aplaties, renfermant des noyaux teintés en bleu violacé par l'hématoxyline et entourant des cavités vésiculaires remplies de colloïde, colorées en rose par l'éosine (Fig. 3A).

Après traitement des rats au perchlorate de 0 à 22 jours, les follicules thyroïdiens ont présenté l'aspect de ceux d'animaux hypothyroïdiens, avec des cellules épithéliales hautes ne laissant pas apparaître de colloïde dans leurs cavités vésiculaires, comparées à celles des thyroïdes de rats témoins. Une riche vascularisation entre les follicules thyroïdiens a été notée chez les rats appartenant au groupe 2. Cet aspect histologique reflète un état d'hypothyroïdisme (Fig. 3B).

Afin d'examiner l'état de la thyroïde des rats au moment de l'arrêt du traitement au perchlorate, une étude histologique des thyroïdes du groupe 3 a été réalisée. Les thyroïdes ont présenté l'aspect d'animaux hypothyroïdiens, avec des cellules épithéliales hautes et des cavités vésiculaires ne renfermant pas de colloïde, confirmant la réduction de leur contenu en iode (Fig. 3C). De même, une riche vascularisation entre les follicules a été observée. Une récupération totale de l'aspect histologique des thyroïdes a été observée chez les rats du groupe 4 ayant subi un arrêt de traitement de 10 jours. Les coupes histologiques effectuées sur des thyroïdes de rats traités au perchlorate de 0 à 12 jours et ayant subi un arrêt de traitement de 12 à 22 jours ont présenté des vésicules de petites tailles au centre de la glande,

entourées par des vésicules de grandes tailles. Ces vésicules sont remplies de colloïde d'aspect homogène, avec des vacuoles de résorption bien développées (Fig. 3D).



**Fig. 3. Structures histologiques des thyroïdes de rats témoins (A), traités au perchlorate pendant 22 jours (B), traités au perchlorate et sacrifiés après 12 jours de traitement (C), traités au perchlorate pendant 12 jours et ayant subi arrêt de traitement de 10 jours (D) et traités au perchlorate pendant 12 jours et dont l'alimentation est supplémentée de 7 % d'algue de 12 à 22 jours (E). Coloration H&E.**

Barre d'échelle : 20 $\mu$ m

Les flèches et le symbole indiquent :

→ : Follicules thyroïdiens → : Vascularisation

▶ : Vésicules de résorption ★ : Colloïde

L'action simultanée de l'arrêt de traitement et de la supplémentation de 7% d'algue à l'aliment de commerce chez le groupe 5 a permis une récupération totale de l'aspect histologique de leur thyroïde similaire à celui des témoins. Le rétablissement de leur contenu en iode et de leurs taux plasmatiques en hormones thyroïdiennes a même dépassé les valeurs des témoins (Fig. 3E).

## Discussion

La carence en iode alimentaire est un problème majeur des pays en voie de développement [31]. Cet halogène est indispensable à la biosynthèse des hormones thyroïdiennes [32]. Une fois capté par la glande thyroïde, l'iode alimentaire participe à la biosynthèse de deux hormones, la thyroxine ( $T_4$ ) et la triiodothyronine ( $T_3$ ). Leur déficit est à l'origine de l'apparition d'une pathologie thyroïdienne, l'hypothyroïdisme.

Dans la présente étude, le perchlorate administré à une dose de 1 g/L par la boisson à des rats adultes a provoqué une réduction du poids corporel qui pourrait s'expliquer par une consommation moindre d'aliment solide durant la période d'expérimentation. La diminution du poids corporel pourrait également être due à une réduction des taux plasmatiques en hormones thyroïdiennes  $FT_4$  et  $FT_3$ , hormones qui potentialisent les effets de l'hormone de croissance [33]. De plus, le perchlorate agit en tant qu'inhibiteur compétitif vis-à-vis de l'iode et l'empêche de pénétrer au niveau des structures qui le captent, en particulier la glande thyroïde. La captation de l'iode par la glande thyroïde devient insuffisante et le pool en iode intra-thyroïdien décroît. Le faible pool en iodure impose une réduction du contenu en iode de la thyroïde et une limitation de la production hormonale puisque l'iode est nécessaire à la biosynthèse des hormones thyroïdiennes. La diminution des taux plasmatiques de ces dernières agit par feed-back positif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire à synthétiser d'avantage de TSH, hormone thyroïdienne adénohypophysaire. Ainsi, la TSH stimule l'expression du gène NIS (sodium iodide symporter), une protéine symporteur qui augmente la captation de l'iodure par les thyrocytes, provoquant ainsi une hypertrophie de la glande thyroïde, comme l'ont montré nos résultats. En effet, dans le cas d'une carence en iode, induite par le perchlorate, les changements histo-pathologiques de la glande ont été caractérisés par une hyperplasie des cellules épithéliales entourant les follicules. Un arrêt de traitement de 10 jours a permis la réversibilité d'action du perchlorate.

L'iode étant le précurseur de la biosynthèse des hormones thyroïdiennes, son transport et sa concentration au niveau de la glande thyroïde représentent la première étape de la production de l'iode nécessaire à la biosynthèse hormonale. La captation de l'iodure survient à travers la barrière baso-latérale de la membrane des cellules épithéliales entourant les follicules thyroïdiens. Il s'agit d'un transport actif nécessitant un gradient de sodium [34]. Chez le rat, l'activité de NIS, une protéine associée à la membrane, est sous le contrôle de la TSH [35], ce qui provoque l'hypertrophie de la thyroïde. Ceci pourrait être expliqué par un feed-back positif, exercé par les faibles taux plasmatiques de  $FT_4$  et de  $FT_3$ , sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. Ainsi, le taux plasmatique de TSH est accru dans le but d'augmenter la production de ces hormones. Par conséquent, l'hypothyroïdisme et l'hypertrophie de la

glande thyroïde apparaissent. Ces modifications confirment l'aspect histo-pathologique de la glande. En effet, sur les coupes de thyroïdes du groupe de rats traités au perchlorate pendant 22 jours, il a été observé des follicules clos, une hyperplasie des cellules épithéliales entourant les follicules, une augmentation du nombre de follicules et une riche vascularisation, ainsi qu'une diminution du volume colloïdal. La restauration du pool d'iodure, suite à un arrêt de traitement au perchlorate pendant 10 jours a réduit l'hypertrophie des cellules épithéliales entourant les follicules et a augmenté le volume colloïdal. En pathologie humaine, la taille du goitre est réduite par un traitement à l'iode [36], indiquant une diminution de la taille des cellules et des follicules [37] ou par une réduction des taux plasmatiques en TSH, comme le montrent nos résultats. En effet, un apport iodé d'origine algale (*A. corallinum*), associé à un arrêt de traitement, a restauré totalement le contenu en iode des thyroïdes de rats soumis au perchlorate pendant 12 jours et par conséquent, les taux plasmatiques en hormones thyroïdiennes. Une involution du poids de leurs thyroïdes a été noté, atteignant la taille des témoins due probablement à une diminution des taux plasmatiques en hormone thyroïdienne adénohypophysaire. L'effet bénéfique de l'algue rouge *A. corallinum* a été également observé dans d'autres études expérimentales. En effet, une étude antérieure effectuée *in vitro* et *in vivo* par Ben Saad *et al.*, [38] a révélé des propriétés antioxydantes pour cette algue contre les dommages oxydatifs et la génotoxicité induite par le bromate de potassium. Ces auteurs ont rapporté aussi la richesse de l'algue en minéraux et en composés bioactifs, tels que les flavonoïdes. De même, *A. corallinum* a présenté un effet protecteur contre l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité induite par le bromate de potassium chez la souris [39-40].

## Conclusion

Notre étude montre que le perchlorate provoque un dysfonctionnement de la glande thyroïde chez le rat adulte, pouvant être corrigé par un arrêt du traitement par cet antithyroïdien, associé ou non à la supplémentation de l'algue *A. corallinum* dans l'aliment de commerce.

## Conflit d'intérêts

Aucun conflit d'intérêts.

## Remerciements

Ce travail a été réalisé avec le soutien financier de la DGRST (UR 11/ES70), Tunisia.

## Références

1. Delange F. L'iode. In Chappuis P. Oligo-éléments en médecine et en biologie. Paris. Ed. Lavoisier Tec & Doc. *Lavoisier*, 1991; p. 399-423.
2. Underwood EJ., Suttle NF. In: The Mineral Nutrition of Livestock 3<sup>rd</sup> Ed. *CABI Publishing, CAB International, Wallingford, Oxon, UK*: 1999; p. 614.
3. Testud F., Du Boullay H. Compléments alimentaires à base d'algues marines et dysthyroïdie : une possible relation?. *Rev Med Interne* 2006 ; 27: 422-31.
4. BaJaJ JK., Salwan P., Salwan S. Various possible toxicants involved in thyroid dysfunction: A Review. *J Clin Diagnostic Res* 2016 ; 10(1), FE01.
5. Ben Amara I., Bouaziz H., Guerhazi F., Zeghal N. Effect of Selenium on hypothyroidism induced by methimazole (MMI) in lactating rats and their pups. *Acta Biol Hung* 2010; 61: 145-57.
6. Mohammadi M., Azizi F., Hedayati M. Iodine deficiency status in the WHO Eastern Mediterranean Region: a systematic review. *Env Geochem Health* 2017; 1-11.
7. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological Profile for Perchlorates (Draft for Public Comment). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 2005.
8. Mattie DR., Strawson J., Zhao J. Perchlorate Toxicity and Risk Assessment. U.S. Air Force Research. (2006). <http://digitalcommons.unl.edu/usafresearch/> 7.
9. <https://www.spectrumchemical.com/MSDS/S4280.pdf>
10. Weber A., Wolf J. Nephrotic syndrome during thyreostatic treatment with sodium perchlorate. *Munch Med Wochenschr.* 1969;111(44):2274-5.
11. Goldner WS., Sandler DP., Yu F., Shostrom V., Hoppin JA., Kamel F., LeVan TD. Hypothyroidism and pesticide use among male private pesticide applicators in the agricultural health study. *J Occup Environ Med* 2013; 55(10):1171-8.
12. Troudi A., Ben Amara I., Mahjoubi Samet A., Fetoui H., Soudani N., Guerhazi F. *et al.* Oxidative stress and thyroid impairment after gibberellic acid treatment in pregnant and lactating rats and their offspring. *Biofactor* 2011; 37:429-38.
13. Collins AB, Pawlak R. Prevalence of vitamin B-12 deficiency among patients with thyroid dysfunction. *Asia Pacific J Clin Nutr* 2016; 25(2), 221-6.
14. World Health Organization (WHO). Groupe spécial africain sur les troubles dus à la carence en iode: rapport de la quatrième réunion, Dar-es-Salaam, Tanzanie. Apresentado em: Groupe spécial africain



- sur les troubles dus à la carence en iode, Dar-es-Salaam, 1990.
15. Hsairi M., Ben Slama F., Ben Rayana C., Fakhfekh R., Ben Romdhane H., Vester A. *et al.* Prévalence du goitre endémique dans une région du Nord Ouest de la Tunisie. *Tunisie Médicale* 1994; 72 : 663-9.
  16. Lazarus JH. Iodine status in Europe in 2014. *Eur Thyroid J* 2014; 1, 3(1), 3-6.
  17. Aguayo A., Grau G., Vela A., Aniel-Quiroga A., Espada M., Martul P. *et al.* Urinary iodine and thyroid function in a population of healthy pregnant women in the North of Spain. *J Trace Elem Med Biol* 2013; 27 (4): 302-6.
  18. Zava TT., Zava DT. Assessment of Japanese iodine intake based on seaweed consumption in Japan: A literature-based analysis. *Thyroid Res* 2011; 4(1): 14.
  19. Christaki E., Karatzia M., Florou-Paneri P. The use of algae in animal nutrition (In Greek). *J Hellenic Vet Med Soc* 2010; 61:267-76.
  20. Dawczynski C., Schaefer U., Leiterer M., Jahreis, G. Nutritional and toxicological importance of macro, trace, and ultra-trace elements in algae food products. *J Agric Food Chem* 2007; 55:1047-75.
  21. MacArtain P., Gill Cl., Brooks M., Campbell R., Rowland IR. Nutritional value of edible seaweeds. *Nutr Rev* 2007; 65:535-43.
  22. Holdt S., Kraan S. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *J Appl Phycol* 2011; 23(3): 543-97.
  23. Cen-Pacheco F., Villa-Pulgarin JA., Mollinedo F., Norte M., Daranas AH., Fernández JJ. Cytotoxic oxasqualenoids from the red alga *Laurencia viridis*. *Eur J Med Chem* 2011; 46: 3302-8.
  24. Arasaki S., Arasaki T. Low Calorie High Nutrition, Vegetables from the Sea: to Help You Look and Feel Better. *Japan Publications* 1983, p. 46.
  25. Fisher W., Bauchot ML., Schneider M. Fiches F.A.O d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. Méditerranée et Mer noire. Zone de pêche 37. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, 1 et 2. 1987, p. 1529.
  26. Vijayavel K., Martinez A. *In Vitro* Antioxidant and Antimicrobial Activities of Two Hawaiian Marine Limu: *Ulva fasciata* (Chlorophyta) and *Gracilaria salicornia* (Rhodophyta). *J Med Food* 2010; 13: 1494-9.
  27. Council of European Communities. Council instructions about the protection of living animals used in scientific investigations. Official Journal of the European Communities (JO 86/609/CEE), 1986. p1-18.
  28. Ben Hamida F., Soussia L., Guermazi F., Rebai T., Zeghal N. Effets de deux antithyroïdiens de synthèse (propylthiouracile et perchlorate) sur la fonction thyroïdienne de la souris en période d'allaitement. *Ann Endocrinol* 2001 ; 62 :446-53.
  29. Bocanegra A., Nieto A., Blas B., Sanchez-Muniz FJ. Diets containing a high percentage of *Nori* or *Konbu* algae are well-accepted and efficiently utilized by growing rats but induce different degrees of histological changes in the liver and bowel. *Food Chem Toxicol* 2003; 41:1473-80.
  30. Sandell EB., Kolthoff IM. Micro determination of iodide by a catalytic method. *Mikrochim Acta* 1937; 1: 9-25.
  31. Hailu S., Wubshet M., Woldie H., Tariku A. Iodine deficiency and associated factors among school children: a cross-sectional study in Ethiopia. *Arch Public Health*. 2016;74:46.
  32. Rousset B., Dupuy C., Miot F., Dumont J. Chapter 2 Thyroid Hormone Synthesis And Secretion. [Updated 2015 Sep 2]. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, *et al.*, editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000.
  33. Gaspari L., Paris F., Leboucq N., Bonafé A., Sultan C. Reversible growth failure and complete GH deficiency in a 4-year-old girl with very early Hashimoto's thyroiditis and subsequent hyperplasia of pituitary thyrotroph cells. *Eur J Pediatr* 2016; 175(8): 1119-22.
  34. Zimmermann MB. Iodine deficiency. *Endocr Rev* 2009; 30: 376-408.
  35. Kogai T., Brent GA. The sodium iodide symporter (NIS): regulation and approaches to targeting for cancer therapeutics. *Pharmacol therapeutics* 2012 ; 135(3), 355-70.
  36. Melse-Boonstra A., Gowachirapant S., Jaiswal N., Winichagoon P., Srinivasan K., Zimmermann MB. Iodine supplementation in pregnancy and its effect on child cognition. *J Trace Elem Med Biol* 2012; 26(2): 134-6.
  37. Gärtner R. Thyroxine treatment of benign goiter. *Acta Med Austriaca* 1994; 21(2):44-7.
  38. Ben Saad H., Nasri I., Elwej A., Krayem N., Jarraya R., Kallel C. *et al.* A mineral and antioxidant-rich extract from the red marine algae *Alsidium corallinum* exhibits cytoprotective effects against potassium bromate-induced erythrocyte oxidative damages in mice. *Biol Trace Elem Res* 2014; 160(1): 85-96.
  39. Ben Saad H., Kharrat N., Krayem N., Boudawara O., Boudawara T., Zeghal N., Amara IB. Biological properties of *Alsidium corallinum* and its potential protective effects against damage caused by potassium bromate in the mouse liver. *Env Sci Pol Res* 2016 ; 23(4) : 3809-23.
  40. Ben Saad H., Gargouri M., Kallel F., Chaabene R., Boudawara T., Jamoussi K. *et al.* Flavonoid compounds from the red marine alga *Alsidium corallinum* protect against potassium bromate-induced nephrotoxicity in adult mice. *Env Toxicol* 2017 ; 32(5) :1475-86.