

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة سعد دحلب البليدة (1)
Université SAAD DAHLEB-Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie
Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV
Filière : Sciences Biologiques
Option : Biochimie

Thème

Effets bénéfiques des graines de chia dans le traitement des perturbations de la fonction thyroïdienne provoquées par le régime cafétéria.

Présenté par :

Soutenu le : 04 /07/2024

- ARABA Chaïma
- MISSOUM Céline
- SENNOUN Radia

Devant le jury :

Mme ELMAHDI I.

MAA /USDB1

Présidente

Mme HAMZI W.

MCA/USDB1

Examinatrice

Mme AMOKRANE A.

MCB/USDB1

Promotrice

Mme ZATRA Y.

MCB/USDB1

Co-promotrice

Année universitaire : 2023/2024

REMERCIEMENTS

*Nous tenons tout d'abord à remercier **Dieu** tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la santé, la force, la patience afin d'accomplir ce modeste travail.*

Nous tenons à remercier Mme AMOKRANE.A d'avoir accepté de diriger ce travail de Mémoire. Nous tenons à lui exprimer toute notre gratitude, reconnaissance et notre plus profond respect pour sa confiance, son engagement, sa gentillesse, son soutien et son encouragement tout au long de ce travail.

Nous tenons à remercier notre co-promotrice Mme ZATRA.Y ainsi que Mme CHAKHMA.A d'avoir initié le travail avec nous ainsi que pour l'énorme aide qu'elles 'nous ont apporté, pour leur disponibilité tout le temps, leur dévouement et pour leurs précieux conseils

Permettez-nous de vous exprimer notre estime et admiration pour vos qualités humaines et professionnelles.

Nous tenons à remercier Mme EL MAHDI.I qui a bien voulu présider le jury. On éprouve un grand respect pour son savoir et son parcours.

Nous tenons à remercier Mme HAMZI.W, pour avoir accepté de donner de son temps pour lire, commenter et examiner notre travail. Vous nous faites l'exemple avec votre compétence.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à Mme TARZALI. Nous la remercions de nous avoir accueilli au sein du Clavier de la station expérimentale, de nous avoir permis de travailler dans de très bonnes conditions.

Nous tenons à remercier notre chef d'option Master Biochimie Pr SAIDI.F pour la formation de Master qu'elle nous a offerte.

A tout le personnel du laboratoire d'anatomopathologie de l'EPH koléa. Nous vous remercions pour l'accueil et pour la sympathie que vous avez montré à notre égard durant notre présence parmi vous et pour votre collaboration et votre aide.

Nous remercions également tous nos camarades de la promotion M2 Biochimie, nos parents et tous nos amis, pour leurs encouragements.

Dédicace

Je dédie ce travail

A mes parents, aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

A mon cher père Mustpha,

Tu as toujours été à mes côtés pour me comprendre, me soutenir et m'encourager. Papa, je vous dis merci et que dieu vous protège pour moi.

A ma chère mère Fatima,

Quoi que je dise, je ne saurais point te remercier comme il se doit. Ton amour m'a couvert, ta bienveillance m'a guidée, et ton encouragement et ta présence à mes côtés ont toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

Maman, je vous dis merci et que dieu vous protège pour moi

A mes très chères sœurs Soumia et Ritedj

A mon frère Abderrahmane

Qui sont toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager

A toute ma famille

A ma chère promotrice *Mme Amokrane Assia* qui présente pour moi le Symbole du dévouement et du courage par excellence qui n'a pas cessé de m'orienter et m'aider tout au long de ce travail.

A ma chère co-promotrice *Mme Zatra Yamina*, je vous remercie pour votre compréhension et votre encouragement, Puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à vous tous vos vœux les plus chers

A tous ce qui furent à un moment ou à toute instante partie prenante de ce travail et surtout

Mme Tarzali et Mme Chakhma

À tous mes chers professeurs pour tous vos efforts. Vous étiez toujours présente. J'espère que ce travail montre ma profonde gratitude et mon respect.

A mes chères collègues et copines *Radia et Cerine* je vous remercie énormément pour vos efforts continus tout au long de l'année pour offrir le meilleur à ce travail. Ce fut un honneur pour moi de travailler avec vous. Je vous souhaite plus de succès et d'excellence.

A tous mes amis (es)

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible.

Je vous dis merci.

Chaima

Dédicace

Je dédie ce travail qui n'aura jamais pu voir le jour sans le soutien précieux et sans limite de **mes chers parents** qui ne cessent de m'octroyer avec amour le nécessaire pour que je puisse avancer et arriver à ce que je suis aujourd'hui.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés et le fruit de vos innombrables sacrifices. Qu'ALLAH vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.

A ma deuxième mère ma tante **Bellal Hakima**

À mes chères sœurs **Imane, Yasmine** et mon petit frère **Anis** qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leur offre le bonheur, la réussite et la sante.

À la mémoire de mes grands parents, ma tante, mon oncle, qui nous ont quittés.

A mes chères ami(e)s **Wissal, Nina, Salouma, Taha, Marie, Fifi et Loulou** merci pour l'encouragement et les bons moments partagés . Pour les quelles je souhaite une vie pleine de joie et de réussite.

À tous mes professeurs, je saisis cette occasion pour vous exprimer mes remerciements et ma profonde gratitude.

À mes chères partenaires **Chaima** et **Radia** pour leur soutien moral, leur patience et leur compréhension tout au long de ce projet.

A tous qui me connaissent et qui m'aiment de près ou de loin



Cérine ♥

Dédicace

Je dédie ce travail

A mes parents. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie

A mon cher père Ahmed,

Tu as toujours été à mes côtés pour me comprendre, me soutenir et m'encourager. Papa, je vous dis merci et que dieu vous protège pour moi.

A ma chère mère Djaouida,

Quoi que je dise, je ne saurais point te remercier comme il se doit. Ton amour m'a couvert, ta bienveillance m'a guidée, et ton encouragement et ta présence à mes côtés ont toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

Maman, je vous dis merci et que dieu vous protège pour moi

A mes très chères sœurs Lamia et Bouchra

A mon frère Mohammed El Amine

Qui sont toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager

A mes grands-parents et toute la famille Sennoun et Boudjemaa

A ma chère promotrice *Mme Amokrane Assia* qui présente pour moi le Symbole du dévouement et du courage par excellence qui n'a pas cessé de m'orienter et m'aider tout au long de ce travail.

A ma chère co-promotrice *Mme Zatra yamina*, je vous remercie pour votre compréhension et votre encouragement, Puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à vous tous vos vœux les plus chers

A tous ce qui furent à un moment ou à toute instante partie prenante de ce travail et surtout

Mme Tarzali et Mme Chakhma

À tous mes chers professeurs pour tous vos efforts. Vous étiez toujours présente. J'espère que ce travail montre ma profonde gratitude et mon respect.

A mes chères collègues et copines *Chaima* et *Cerine* je vous remercie énormément pour vos efforts continus tout au long de l'année pour offrir le meilleur à ce travail. Ce fut un honneur pour moi de travailler avec vous. Je vous souhaite plus de succès et d'excellence.

A tous mes amis (es)

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible.

Je vous dis merci.

Radia

Résumé

La variété croissante des choix alimentaires et l'incidence croissante des troubles thyroïdiens soulèvent la question de savoir comment les différents régimes peuvent influencer l'organisme et surtout la fonction thyroïdienne ? Cette recherche vise à combler cette lacune en examinant spécifiquement les effets du régime cafétéria et la supplémentation des graines de chia.

Nous avons mené une étude sur des lapins mâles adultes pour déterminer l'effet du régime cafétéria sur le métabolisme lipidique et la fonction thyroïdienne, ainsi que l'impact du traitement aux graines de chia. L'expérimentation a duré quatre mois et impliquait 18 lapins, divisés en deux lots : un lot témoin (T) (n=6) nourri avec leur régime alimentaire standard et un lot cafétéria (n=12). Au troisième mois, le lot cafétéria a été subdivisé en deux sous-groupes : un groupe (C) (n=6) continuait à recevoir le régime cafétéria et l'autre groupe (CC) (n=6) recevait le régime cafétéria et une supplémentation en graines de chia.

Les dosages biochimiques évaluant le bilan lipidique ont été effectués par des méthodes colorimétriques, alors que le bilan hormonal est effectué au moyen de l'analyseur d'immuno-analyse automatique MAGLUMI 800. Après le sacrifice, la thyroïde est rapidement prélevée et fixée au formol à 10 % pour l'étude histologique. Les changements structuraux ont été appréciés par les mesures morphométriques de surface et de lumière du follicule thyroïdien.

Les résultats obtenus révèlent que les lapins soumis au régime cafétéria maintiennent un poids corporel stable. Le groupe C a présenté des perturbations métaboliques, avec des augmentations significatives du cholestérol (P=0.01), triglycérides (P=0.01), LDL (P=0.003), et de la glycémie (P=0.013), ainsi qu'une diminution des HDL (P=0.024). Ces paramètres ont été restaurés à des niveaux normaux chez le groupe traité.

Concernant la fonction thyroïdienne, le groupe C a montré une augmentation significative (p=0.01) de FT3, ainsi qu'une diminution significative de FT4 (p=0.016) et de TSH (p=0.047). Une légère amélioration des paramètres thyroïdiens a été observée chez le lot CC avec une diminution de taux de FT3 (p=0.02) et une augmentation significative de taux de FT4 (p=0.005) ainsi que celui de TSH (p=0,018).

L'étude histo-morphométrique montre que le régime cafétéria entraîne au bout de 120 jours un aspect histologique plus actif, présentant une diminution de la lumière et de la surface folliculaire, le colloïde est moins abondante avec un nombre important de vésicules de résorption.

Les données obtenues montrent que traitement à la Chia restaure légèrement les paramètres structuraux et hormonaux étudiés à des valeurs proches de celles observés chez le lot des lapins témoins, ceux qui pourraient donc orienter le développement de stratégies nutritionnelles visant à prévenir ou à traiter les dysfonctionnements thyroïdiens chez l'homme, en tirant parti des enseignements acquis dans ce modèle animal pertinent.

Mots-clés : bilan lipidique, graines de chia, histo-morphométrie, lapin mâle adulte, régime cafétéria, thyroïde.

Abstract

The growing variety of food choices and the increasing incidence of thyroid disorders raise the question of how different diets may influence the body, particularly thyroid function? This research aims to address this gap by specifically examining the effects of a cafeteria diet and chia seed supplementation.

We conducted this study on adult male rabbits to determine the effect of a cafeteria diet on lipid metabolism and thyroid function, as well as the impact of chia seed treatment. The experiment lasted four months and involved 18 rabbits, divided into two groups: a control group (T) (n=6) fed their standard diet and a cafeteria group (n=12). In the third month, the cafeteria group was further subdivided into two subgroups: group (C) (n=6) continued to receive the cafeteria diet. In contrast, the other group (CC) (n=6) received the cafeteria diet and chia seed supplementation.

Biochemical assays assessing lipid balance were performed using colorimetric methods, while hormonal balance was measured using the MAGLUMI 800 automatic immunoassay analyzer. After sacrifice, the thyroid was quickly harvested and fixed in 10% formalin for histological study. Structural changes were assessed using morphometric measurements of the surface area and lumen of the thyroid follicles.

The results revealed that the rabbits on the cafeteria diet maintained a stable body weight. The cafeteria group (C) exhibited metabolic disturbances, with significant increases in cholesterol (P=0.01), triglycerides (P=0.01), LDL (P=0.003), and blood glucose (P=0.013), as well as a decrease in HDL (P=0.024). These parameters were restored to normal levels in the treated group.

Regarding thyroid function, the cafeteria group showed a significant increase in FT3 (p=0.01), along with a significant decrease in FT4 (p=0.016) and TSH (p=0.047). A slight improvement in thyroid parameters was observed in the group treated with chia seeds (CC), with a decrease in FT3 levels (p=0.02) and a significant increase in FT4 (p=0.005) and TSH (p=0.018).

Histomorphometric analysis showed that after 120 days, the cafeteria diet resulted in a more active histological appearance, with a reduction in lumen and follicular surface area. The colloid was less abundant, and a significant number of resorption vesicles were present.

The data obtained indicate that chia seed treatment slightly restores the structural and hormonal parameters to values closer to those observed in the control group, which could guide the development of nutritional strategies aimed at preventing or treating thyroid dysfunction in humans, based on insights gained from this relevant animal model.

Keywords: Adult male rabbit, cafeteria diet, chia seeds, histomorphometric study, lipid profile, thyroid.

ملخص

التنوع المتزايد في خيارات الغذاء وزيادة حالات اضطرابات الغدة الدرقية يثيران التساؤل حول كيفية تأثير الأنظمة الغذائية المختلفة على الجسم، وخاصة وظيفة الغدة الدرقية؟. تهدف هذه الدراسة إلى سد هذه الفجوة من خلال فحص تأثيرات النظام الغذائي كافيتيريا مع مكملات بذور الشيا بشكل محدد.

لقد أجرينا دراسة على ذكور الأرانب البالغة لتحديد تأثير النظام الغذائي كافيتيريا على استقلاب الدهون ووظيفة الغدة الدرقية، بالإضافة إلى تأثير علاج بذور الشيا. استمرت التجربة لمدة أربعة أشهر وشملت 18 أرنباً، تم تقسيمهم إلى مجموعتين: مجموعة شاهدة (T) (n = 6) تغذت على نظامها الغذائي القياسي ومجموعة كافيتيريا (n = 12). في الشهر الثالث، تم تقسيم مجموعة الكافيتيريا إلى مجموعتين فرعيتين: مجموعة (C) (n = 6) استمرت في تلقي النظام الغذائي كافيتيريا و المجموعة الأخرى (CC) (n = 6) تلقت النظام الغذائي كافيتيريا ومكملات ببذور الشيا.

تم إجراء تحاليل الكيمياء الحيوية لتقييم الدهون باستخدام الطرق اللونية، بينما تم قياس توازن الهرمونات باستخدام جهاز التحليل المناعي التلقائي MAGLUMI 800. بعد التضحية، تم أخذ الغدة الدرقية بسرعة وثبيتها في الفورمالين بنسبة 10% للدراسة النسيجية. تم تقييم التغيرات الهيكلية من خلال القياسات المورفومترية لمساحة السطح لمعة الجريبات الدرقية.

تظهر النتائج أن الأرانب التي خضعت للنظام الغذائي كافيتيريا حافظت على وزن جسم ثابت. أظهرت المجموعة (C) اضطرابات ابضة، مع زيادات ملحوظة في الكوليسترول (P=0.01)، الدهون الثلاثية (P=0.01)، LDL (P=0.003)، والجلوكوز في الدم (P=0.013)، بالإضافة إلى انخفاض في HDL (P=0.024). تمت استعادة هذه المعايير إلى مستوياتها الطبيعية في المجموعة المعالجة.

فيما يتعلق بوظيفة الغدة الدرقية، أظهرت المجموعة (C) زيادة ملحوظة (p=0.01) في FT3، مع انخفاض ملحوظ في FT4 (p=0.016) و TSH (p=0.047). تمت ملاحظة تحسن طفيف في معايير الغدة الدرقية في المجموعة المعالجة ببذور الشيا (CC)، مع انخفاض في مستويات FT3 (p=0.02)، زيادة كبيرة في FT4 (p=0.005) و TSH (p=0.018).

تظهر الدراسة الهيستومورفومترية أن النظام الغذائي كافيتيريا يؤدي، بعد 120 يوماً، إلى مظهر هيستولوجي أكثر نشاطاً، مع انخفاض في اللمعة وسطح الجريبات. كان الغرواني أقل وفرة، مع عدد كبير من حويصلات الامتصاص.

تشير البيانات التي تم الحصول عليها إلى أن العلاج ببذور الشيا يعيد بشكل طفيف المعايير الهيكلية والهرمونية المدروسة إلى قيم قريبة من تلك التي لوحظت في مجموعة الارانب الشاهدة، وهو ما قد يوجه تطوير استراتيجيات غذائية تهدف إلى الوقاية أو علاج الاضطرابات الوظيفية للغدة الدرقية لدى الانسان، من خلال الاستفادة من الدروس المستخلصة من هذا النموذج الحيواني المفيد.

الكلمات المفتاحية: أرنب ذكر بالغ، النظام الغذائي كافيتيريا، بذور الشيا، دراسة هيستومورفومترية، تقييم الدهون، الغدة الدرقية.

Liste des abréviations

4-AA : 4- Aminoantipyrine

4-AAP : 4- Aminoantipyrine phénol

ABEI : Agent Biotinylé d'Enzyme d'Immunoessai

AGL : Acides gras libres

GK: Glycerolkinase

GPO: Glycérol phosphate oxydase

HE: Hématéine-Eosine

IL10: Interleukine 10

MAP KINASE : Mitogen-activated protein kinases

METS : Syndrome métabolique

NAFLD : Stéatose hépatique non-alcoolique

PEGME : Ether polyéthylène-glycol-méthyle

POD : Peroxydase

THR α : Thyroid-hormone receptor alpha

TNF- α : Tumor necrosis factor α

TPO: Thyroperoxydase

TRE: Thyroid-hormone response element

TR β : Thyroid-hormone receptor beta

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Biosynthèse des hormones thyroïdiennes	6
Figure 2	Sécrétion des hormones thyroïdiennes et leur effet génomique sur les cellules cibles	8
Figure 3	logiciel d'analyse et de traitement d'image "Axio Vision" 4.8.2 SP2 (06-2012)	22
Figure 4	logiciel d'analyse statistique "IBM SPSS statistics" (version 29)	23
Figure 5	Evolution du poids pondéral chez les trois lots de lapins mâles adultes (T, C, CC) exprimé en kg \pm l'Erreur Standard de Mesure (SEM) au cours de l'expérimentation	25
Figure 6	Variation de la glycémie non plasmatique chez les trois lots de lapins mâles adultes (T, C, CC) obtenus à la fin de l'expérimentation.	26
Figure 7	Variations des concentrations sériques des triglycérides (a), de cholestérol (b) et de lipides totaux (c) chez les trois lots (T, C, CC) de lapins mâles adultes obtenus à la fin de l'expérimentation.	27
Figure 8	Variations des concentrations sériques de HDL (a) et de LDL (b) chez les trois lots (T, C, CC) de lapins mâles adultes obtenus à la fin de l'expérimentation	28
Figure 9	Variations des concentrations sériques de FT3 (a), FT4 (b) et TSH (c) chez les trois lots (T, C, CC) de lapins mâles adultes obtenus à la fin de l'expérimentation	29
Figure 10	Structure de la glande thyroïdienne chez les trois lots (T, C, CC) de lapin mâle adulte, observée au microscope photonique au faible grossissement X10, X40 et au fort grossissement X100, coloration : HE	30
Figure 11	Pourcentages des petits et des grands follicules chez les trois lots (T, C, CC) de lapin mâle adulte	32
Figure 12	Influence du régime cafétéria et du traitement au graines de chia sur la surface de lumière et du follicule thyroïdien chez les trois lots (T, C, CC) de lapin mâle adulte.	32

Sommaire

INTRODUCTION	01
I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	03
II. MATERIEL ET METHODES	
I. Matériel	11
1. Matériel non biologique	12
2. Matériel biologique.....	12
2.1 Animal	12
2.2 Production de la souche synthétique ITELV2006 souches cibles	12
II. Méthodes.....	12
1. Protocole expérimentale	12
2. Régimes alimentaires.....	13
3. Traitement au chia	14
4. Sacrifice et prélèvements	14
5. Technique analytique	14
5.1 Glycémie.....	14
5.2 Dosage des paramètres lipidiques plasmatiques	14
5.3 Dosage des paramètres hormonaux (thyroïdiens)	19
6. Technique histologique	20
7. Analyse morphométrique	22
8. Analyse statistique	23
III. RESULTATS et DISCUSSION	
Résultats	
I. Effet sur les paramètres pondéraux.....	24
II. Effet sur les paramètres biochimiques	26
III. Effets sur la structure et morphométrie de la thyroïde	30
Discussion	33
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	37

Introduction

Les régimes modernes, notamment les régimes cafétéria, proposent une variété d'aliments riches en gras saturés, en sucres ajoutés et en calories vides, qui sont associés à des altérations métaboliques et hormonales chez les modèles animaux de laboratoire, incluant des dysfonctionnements de la glande thyroïdienne (**Velasco et al., 2013**). La régulation de la fonction thyroïdienne est essentielle pour maintenir l'homéostasie métabolique chez les mammifères, influençant directement des processus tels que le métabolisme basal, la thermogénèse et la régulation du poids corporel (**Martins et al., 2014 ; Patel et al., 2016**).

Dans ce contexte, les graines de chia (*Salvia hispanica L*) émergent comme une intervention alimentaire prometteuse. En raison de leur richesse en acides gras oméga-3, en fibres solubles et en antioxydants, les graines de chia ont démontré des effets bénéfiques sur la santé métabolique, notamment la modulation de l'adiposité, l'amélioration des profils lipidiques et la régulation de la réponse inflammatoire chez les modèles animaux (**Vuksan et al., 2007 ; Chicco et al., 2009**).

Le choix du lapin mâle adulte comme modèle pour cette étude est motivé par sa similitude anatomique et physiologique avec l'homme en ce qui concerne la glande thyroïde (**Nagarajan et al., 2021**).

Cette étude vise donc à résoudre la problématique suivante : dans quelle mesure le régime cafétéria affecte-t-il la fonction thyroïdienne chez le lapin mâle adulte, et dans quelle mesure les graines de chia peuvent-elles atténuer ces effets délétères ?

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'impact du régime cafétéria sur la fonction thyroïdienne chez le lapin mâle adulte, ainsi que d'explorer le potentiel des graines de chia pour atténuer ces effets délétères. À travers une approche intégrative combinant des analyses histo-morphologiques et biochimiques, cette recherche ambitionne de fournir de nouvelles perspectives sur les interactions complexes entre l'alimentation, la fonction thyroïdienne et les suppléments nutritionnelles ciblées telles que les graines de chia. Les résultats obtenus sont destinés à éclairer le développement de stratégies nutritionnelles visant à prévenir ou à traiter les dysfonctionnements thyroïdiens chez l'homme, en tirant parti des observations faites dans ce modèle animal pertinent.

En explorant ces aspects, cette étude contribue à une meilleure compréhension de l'impact des choix alimentaires sur la santé humaine, tout en explorant le potentiel des graines de chia comme modulateur nutritionnel dans le contexte spécifique d'un régime cafétéria, avec des implications significatives pour l'équilibre métabolique et la santé humaine.

Après une brève synthèse bibliographique constituant la première partie de ce Mémoire, nous présentons le matériel et les techniques utilisées. La troisième partie est consacrée aux résultats obtenus, qui sont commentés et discutés en fonction des données de la littérature. Enfin, une conclusion générale clôture ce document et relate les perspectives de travail qui en découlent.

Synthèse
Bibliographique

Le régime cafétéria (CAF) est composé d'aliments transformés, pauvres en fibres, riches en sel et en sucre (hypercalorique et hyperlipidique). Ces aliments (biscuits, chips et viandes transformées) sont disponibles dans la plupart des supermarchés et ont connu une popularité croissante à la fin du siècle dernier en raison de l'augmentation des méthodes de fabrication industrielle. Le régime cafétéria présente des risques évidents pour la santé humaine (**Sampey et al., 2011 ; DiFeliceantonio et al., 2018 ; Bortolin et al., 2018**), c'est la raison pour laquelle il est utilisé comme protocole standardisé sur des modèles animaux cherchant à étudier et illustrer la relation entre l'alimentation et leurs effets sur la santé. Il s'agit d'un moyen plus réaliste que d'autres modèles expérimentaux d'imiter certains modes de consommation humaine problématiques (**Marques et al., 2016 ; Mballa et al., 2016 ; Lalanza et al., 2021 ; Wilson et al., 2022 ; Al-Wakeel et al., 2022**). Plusieurs travaux ont montré que les déséquilibres métaboliques et comportementales de la malnutrition chez les rongeurs sont les mêmes que chez les humains (**Kenny, 2011a ; Volkow et al., 2017**).

Le mode CAF a été validé en tant que modèle obésogène. Il a été prouvé qu'il n'augmente pas seulement le poids corporel et induit l'obésité, mais qu'il provoque également des retentissements graves.

En premier lieu, il stimule la lipogenèse, surtout dans le tissu adipeux viscéral, entraînant une accumulation de graisses, une dyslipidémie, surtout avec une augmentation du mauvais cholestérol (LDL). Par la suite, il provoque des changements dans la paroi des artères, contribuant à l'athérosclérose dans les vaisseaux sanguins, ce qui peut entraîner des maladies cardiovasculaires, l'hypertension artérielle et des accidents vasculaires cérébraux (**Kamalakkannan et al., 2016**).

Le mode CAF est aussi associé au syndrome métabolique (METS) et à des paramètres prédiabétiques (tels que l'intolérance au glucose et à l'insuline). Il augmente le taux de leptine, favorise l'inflammation chronique et affaiblit le système immunitaire (**Schattenberg et Galle, 2010**).

En plus, il accroît le risque de problèmes de santé tels que le stress oxydatif, qui est très néfaste pour les cellules, des altérations du microbiote intestinal, provoquant des infections et un dysfonctionnement mitochondrial. Enfin, il entraîne des lésions organiques, telles que la stéatose hépatique non-alcoolique (NAFLD) et la fibrose, ainsi que des effets sur le système

nerveux central, il module les concentrations de dopamine dans le cerveau, influençant la motivation et l'auto-régulation., des répercussions psychologiques et comportementales (**Bahlouli et al., 2018 ; Lewis et al., 2019 ; Oliviero., 2021**)

Dans la présente étude, et pour voir l'effet de ce régime sur l'organisme, plus précisément sur la glande thyroïde, on a choisi le lapin comme modèle animal. Les différentes races et variétés cunicoles sont toutes des variations génétiques du lapin de garenne (classification taxonomique en annexe 3). Ce mammifère est un herbivore strict dont le système digestif est adapté à l'ingestion d'un régime riche en fibres (**Prebble et Meredith, 2014**). Les lapins deviennent immobiles lorsqu'ils sont effrayés ou stressés, ce qui les rend difficiles à examiner. Cette défense, parfois appelée "immobilité tonique ou hyponse" (**Ewell et Cullen, 1981**) ; leurs volume sanguin total est relativement stable et représente 55 à 57 mL par kg de poids vif, quelques auteurs donnant des valeurs un peu différentes (de 35 à 70 mL/kg).

Leur glande thyroïde est constituée de deux lobes charnus et rougeâtres situés de part et d'autre de la trachée supérieure et reliés par un mince isthme. Chaque lobe mesure 15 à 20 mm de longueur céphalo-caudale et 6 à 12 mm de largeur (**Antakia et al., 2014**). Elle assure la biosynthèse des hormones thyroïdiennes à partir de l'iode et agit sur le métabolisme de la plupart des cellules de l'organisme.

Son volume est sujet à de grandes variations individuelles liées au morphotype, à l'âge, au sexe et à la charge en iode (**Ryndak-Swiercz, 2022**). Elle est très vascularisée, avec un débit estimé entre 80 et 120 mL/min dont le système nerveux intervient dans la régulation du flux sanguin mais n'agit pas sur la régulation de la production hormonale (**Bessaguet et al., 2023**).

Sur le plan histologique, deux types cellulaires sont présents dans la glande thyroïde :

1/ les cellules folliculaires ou thyrocytes sont des cellules polarisées reposant sur une lame basale et s'assemblant en une assise uni-stratifiée réalisant une formation sphérique : le follicule (ou vésicule), d'environ 200 µm de diamètre. Ces cellules représentent 99 % du contingent cellulaire thyroïdien, assurant la production des hormones thyroïdiennes et de la thyroglobuline (TG).

Le pôle apical des thyrocytes projette des microvillosités dans la lumière du follicule qui contient la colloïde, substance amorphe et jaunâtre, lieu de stockage et de synthèse des hormones thyroïdiennes. Celles-ci sont ensuite déversées dans la circulation sanguine via le pôle baso-latéral, lui-même en contact avec les capillaires. Les faces latérales des cellules

folliculaires adjacentes sont réunies entre elles par des complexes de jonction. L'aspect des thyrocytes varie selon leur état d'activité. Au repos, les cellules sont aplaties avec une colloïde abondante devenant très acidophile. À l'inverse, en cas d'hyperactivité les cellules prennent une forme cylindrique, les organites de synthèse protéique sont plus nombreux tandis que la substance colloïde se raréfie et se colore moins vivement.

2/ les cellules parafolliculaires ou cellules C produisent la calcitonine et représentent moins de 1 % du parenchyme thyroïdien (**Ryndak-Swiercz, 2022**).

En présence des iodures captés au préalable par la thyroïde, la synthèse des hormones thyroïdiennes iodées s'effectue au sein de colloïde dans les molécules de thyroglobuline qui sont des glycoprotéines contenant de nombreuses tyrosines.

L'iode fait partie des oligoéléments apportés par l'alimentation (100 à 400 µg / jour). Il est absorbé sous forme d'iodures au niveau de l'estomac. Le captage des iodures par la thyroïde s'effectue via le mode symport Na^+/I^- nécessitant l'hydrolyse de l'adénosine triphosphate (ATP). Les ions iodures passent ensuite rapidement dans le colloïde où ils sont utilisés pour l'iodation des tyrosines au sein de la thyroglobuline. Ce processus nécessite au préalable l'oxydation des iodures par la thyroperoxydase (TPO), qui est présente au niveau du pôle apical des thyrocytes.

L'incorporation de l'iode (iodation) dans les tyrosines au sein de la thyroglobuline, également nommée "organification de l'iode", conduit à la formation de 3-monoiodotyrosines (MIT) qui contiennent un atome d'iode et de 3,5-diiodotyrosines (DIT) qui contiennent deux atomes d'iode. Un couplage réalisé par la TPO, entre une MIT et une DIT ou entre deux DIT s'effectue ensuite, et permet la formation de 3, 5,3'- triiodothyronine (T3) et de 3, 5,3',5'- tétraiodothyronine (thyroxine T4).

La libération des hormones thyroïdiennes débute par la pénétration de thyroglobulines portant des hormones T3 et T4 dans les thyrocytes par pinocytose. Les vésicules formées fusionnent avec des lysosomes qui dégradent la thyroglobuline par l'action d'endopeptidases et d'exopeptidases induisant la libération en intracellulaire de MIT, de DIT, de T3 et de T4. Les MIT et les DIT sont immédiatement et spécifiquement désiodées par une iodotyrosine désiodase tandis que les hormones thyroïdiennes liposolubles T3 et T4 passent dans le sang par diffusion passive (**Bessagnet et al., 2023**).

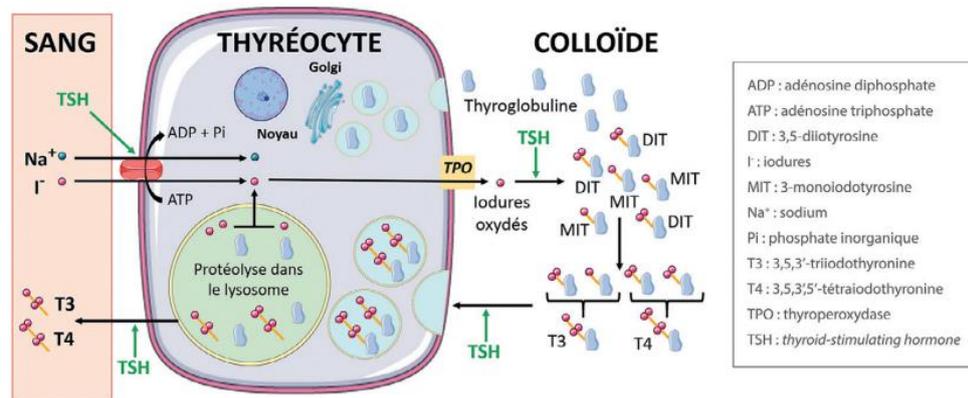


Figure 1 : Biosynthèse des hormones thyroïdiennes

Dans le sang, la T3 et la T4 sont liées à des protéines de liaison à 99 %. Néanmoins seules les formes libres peuvent traverser les membranes biologiques et ainsi exercer leurs effets physiologiques. Les formes liées constituent donc un réservoir circulant d'hormones thyroïdiennes.

Les hormones thyroïdiennes sont métabolisées par désamination de la chaîne latérale dans toutes les cellules induisant la formation de métabolites ayant une faible activité biologique. En outre, la T4 est désiodée en intracellulaire pour former, soit de la T3 (cinq fois plus active biologiquement), soit de la T3 réverse (non active biologiquement). Un cycle entérohépatique des hormones thyroïdiennes existe, incluant une conjugaison hépatique, une élimination biliaire et l'action de β -glucuronidases du microbiote intestinal. Dans les reins, elles sont filtrées au sein des glomérules ; dans les tubules, après désiodation, la partie restante des hormones est réabsorbée alors que les iodures sont éliminés dans l'urine définitive (**Bessagnet et al., 2023**).

La synthèse et sécrétion des hormones thyroïdiennes sont sous le contrôle de l'hormone adénohypophysaire thyroestimuline (thyroid-stimulating hormone [TSH]) et des hormones thyroïdiennes elles-mêmes. La production de TSH est directement corrélée à celle de la thyroolibérine hypothalamique (thyro tropin-releasing hormone [TRH]) qui active les cellules thyrotropes adéno-hypophysaires via la veine porte de la tige pituitaire.

La TRH se fixe également sur les cellules lactotropes et somatotropes de l'adénohypophyse, et stimule la sécrétion de prolactine et d'hormone de croissance. Sa production respecte un rythme nyctéméral, avec un pic de sécrétion la nuit. Elle est accrue par le froid et diminuée par le stress. La TSH stimule toutes les étapes de biosynthèse des hormones thyroïdiennes (captation des iodures, synthèse des iodothyronines, pinocytose, libération sanguine des

hormones), induit une élévation du débit sanguin de la glande thyroïde et présente un effet trophique en augmentant le volume et le poids de la thyroïde.

Ces hormones exercent un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. Lorsque les concentrations de T3 et de T4 libres s'élèvent, les niveaux de TSH diminuent et inversement. La synthèse des hormones thyroïdiennes est également régulée par le pool d'iodures intra thyroïdien : une surcharge en iodures induit l'arrêt de la production endocrine, c'est l'effet Wolff-Chaikoff (**Bessaguet *et al.*, 2023**).

Au niveau de la glande thyroïde, la T4 est sécrétée en plus grande quantité que la T3. Cependant, seule la T3 présente une activité biologique. La thyroxine doit donc être désiodée dans les tissus périphériques par une **thyroxine 5'-désiodase** pour donner la T3.

Sur le plan de leurs activités biologiques, les hormones thyroïdiennes exercent des effets sur pratiquement toutes les cellules de l'organisme : une fois dans la circulation sanguine, elles sont rapidement transportées vers les tissus cibles, où ils facilitent l'utilisation de l'énergie et soutiennent les fonctions des organes vitaux.

Selon **Ren et Zhu (2022)**, des mécanismes génomiques et non génomiques sont impliqués dans la modulation des THs : la T3 se fixe sur des récepteurs nucléaires liés à l'ADN augmentant par la suite la transcription génique. Il existe des récepteurs **thyroid hormone receptor** α et β dont la répartition est variable en fonction des tissus et qui ont une sensibilité différente à la T3. Quant à l'action nucléaire, ces hormones exercent leurs actions via des récepteurs nucléaires spécifiques (TR). Ils sont codés par deux gènes : un pour le récepteur alpha (gène *THRA*) sur le chromosome 17 et un pour le récepteur bêta sur le chromosome 3. Ces gènes produisent par épissage alternatif plusieurs isoformes. Le TR β 2 est présent dans le cerveau tandis que TR α 1, TR α 2 et TR β 1 sont ubiquitaires.

Les récepteurs thyroïdiens possèdent plusieurs domaines fonctionnels : un domaine C formé en doigt de zinc permettant l'interaction à l'ADN, un site de liaison E des hormones thyroïdiennes, un domaine A/B de régulation transcriptionnelle et enfin le domaine D charnière. Une fois activés par les hormones thyroïdiennes, les TR se lient à l'ADN sous la forme d'homodimères ou d'hétérodimères (associé au récepteur X des rétinoïdes (RXR)), reconnaissant des séquences nucléotidiques spécifiques appelées éléments de réponse aux hormones thyroïdiennes (TRE). Parallèlement, les co-facteurs nucléaires forment des complexes avec les TR, jouant des rôles

de co-activateur ou co-répresseur, ce qui régule finement l'activité transcriptionnelle des gènes cibles (**Ryndak-Swiercz, 2022**).

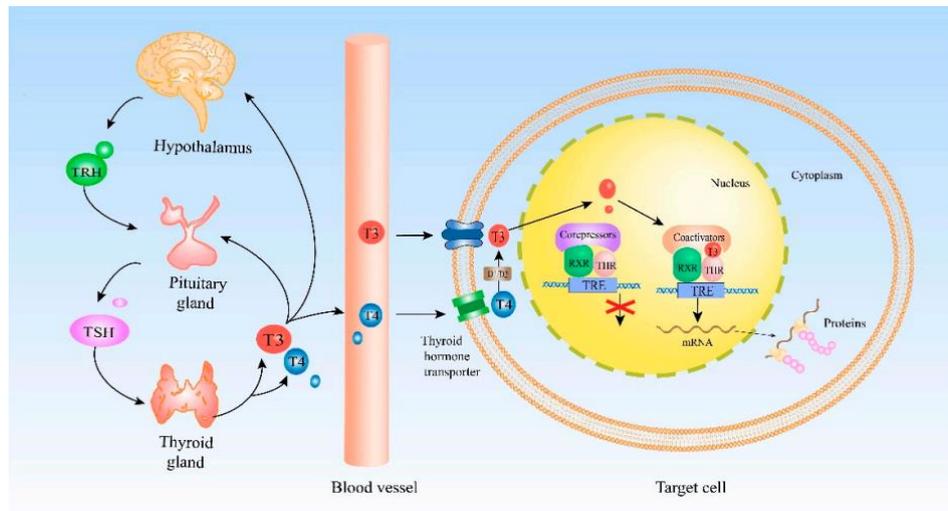


Figure 02 : Sécrétion des hormones thyroïdiennes et leur effet génomique sur les cellules cibles.

Abbreviations: TRH: thyrotropin releasing hormone; TSH: thyroid-stimulating hormone; T3: triiodothyronine; T4: thyroxine; D1: 1-5'-deiodinase; D2: 2-5'-deiodinase; RXR: retinoic acid receptor; THR: thyroid hormone receptor; TRE: thyroid-hormone response element.

Cependant, les effets non génomiques des hormones thyroïdiennes se produisent indépendamment de la modulation de l'expression génique et se manifestent généralement rapidement. Ces effets peuvent impliquer des modifications de la signalisation cellulaire et des réponses physiologiques rapides. Bien que les mécanismes exacts ne soient pas complètement compris, plusieurs études ont documenté ces effets, on prend comme exemple :

- **Effet sur la membrane cellulaire** : Des recherches ont montré que les hormones thyroïdiennes peuvent moduler l'activité de certaines pompes ioniques membranaires, telles que la pompe sodium-potassium ($\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$), influençant ainsi la polarisation membranaire et la conductance ionique. Cette modulation rapide peut avoir des implications dans la régulation de l'excitabilité cellulaire et la transmission des influx nerveux (**Ren et Zhu, 2022**)
- **Activation de voies de signalisation intracellulaires** : Les hormones thyroïdiennes peuvent activer des protéines kinases telles que les MAP kinases (mitogen-activated protein kinases), qui régulent divers processus cellulaires tels que la croissance, la différenciation et la survie cellulaire (**Davis et al., 2008**).
- **Régulation du métabolisme énergétique** : Les hormones thyroïdiennes peuvent augmenter la consommation d'oxygène et la production d'ATP (adénosine triphosphate) dans les mitochondries, ce qui augmente le métabolisme basal et la thermogénèse. Ces effets sont essentiels pour maintenir l'homéostasie énergétique et la régulation thermique du corps (**Lombardi et al., 2015**).

- **Effets sur la contractilité cardiaque** : Elles peuvent affecter directement la contractilité du muscle cardiaque en modulant les protéines contractiles et les canaux calciques dans les cardiomyocytes (**Iervasi et al., 2003**).
- **Réponses rapides aux changements environnementaux** : Les effets non génomiques permettent aux cellules de réagir rapidement aux fluctuations des niveaux d'hormones thyroïdiennes, ce qui est crucial pour l'adaptation aux conditions changeantes de l'environnement (**Wrutniak-Cabello et al., 2001**).

Les perturbations métaboliques et endocriniennes peuvent être corrigé par des suppléments alimentaires riches en fibres et en acides gras insaturés tels que les graines de Chia.

Selon **Coates et al., (2011)** *Salvia hispanica L.*, communément connue sous le nom de chia, est une plante herbacée annuelle de la famille des Lamiacées, anciennement appelée Labiatae. Elle se distingue par sa petite taille, habituellement d'environ 1 mètre, avec des tiges quadrangulaires très ramifiées et des feuilles opposées ovales à oblongues. Les feuilles sont presque lisses avec quelques poils courts blanchâtres, et leurs bords dentelés leur donnent une apparence fragile. La chia produit des fleurs en grappes terminales ou axillaires, donnant naissance à de petites graines noires et brillantes, regroupées par quatre. Ces graines, d'environ 2 mm sur 1,5 mm, sont particulièrement valorisées pour leurs nutriments aux propriétés thérapeutiques.

Les graines de chia (*Salvia hispanica L.*) sont une source nutritionnelle riche, contenant jusqu'à 38 % de matières grasses, 18 à 23 % de protéines et environ 40 % de glucides, ainsi qu'une variété de vitamines, telles que la vitamine A, la niacine, la thiamine, la riboflavine et l'acide folique (**Cahill et al., 2004**). Elles sont également riches en minéraux essentiels, notamment le calcium, le phosphore, le potassium, le zinc et le cuivre. De plus, elles ont une faible teneur en sodium et sont principalement composées de fibres alimentaires solubles et insolubles, capables de former un gel lorsqu'elles sont mélangées à de l'eau. Les graines de chia se distinguent également par leur teneur élevée en composés phénoliques, incluant principalement des flavonoïdes et des dérivés de l'acide cinnamique (**Bohicchio et al., 2015**), ainsi qu'en acides gallique, caféique, chlorogénique et férulique (**Suri et al., 2020**). Elles figurent parmi les sources végétales les plus riches en acides gras oméga-3, en particulier l'acide alpha-linolénique (ALA), qui représente environ 60 % de leurs acides gras totaux (**Nikpayam et al., 2023**).

Les fibres insolubles, prédominantes, favorisent des selles régulières et peuvent prévenir des maladies comme la diverticulose, tandis que les fibres solubles ralentissent l'absorption du glucose, régulent le taux de cholestérol sanguin et nourrissent les bactéries intestinales bénéfiques, soutenant ainsi la gestion du poids et la santé intestinale globale (**Valdivia-López et Tecante, 2015**).

Des études sur des humains et des animaux ont mis en évidence leurs nombreux bienfaits potentiels, incluant des effets antioxydants, antimicrobiens, antidiabétiques et anti-inflammatoires. Les antioxydants confèrent des propriétés protectrices importantes : la

quercétine, notamment, prévient l'oxydation des lipides, des protéines et de l'ADN, réduisant ainsi le stress oxydatif cellulaire. Par ailleurs, les acides caféique et chlorogénique offrent une défense contre les radicaux libres et limitent la peroxydation lipidique. Des extraits de chia ont montré une capacité significative à neutraliser les radicaux libres, notamment les DPPH et ABTS+, renforçant leur potentiel antioxydant (Coelho, 2014 ; Oliveira *et al.*, 2017).

Les fractions protéiques de chia, principalement la globuline et l'albumine, possèdent des propriétés de chélation des ions ferreux, contribuant à l'activité antioxydante globale (Orona-Tamayo *et al.*, 2015). Cette capacité antioxydante est observée dans les systèmes hydrophiles et hydrophobes des graines et de leur huile, renforcée par la présence de tocophérols et de caroténoïdes (Kulczyński *et al.*, 2019).

Sur le plan antimicrobien, les graines de chia inhibent la croissance de pathogènes tels que Salmonella, Clostridium, Listeria monocytogenes, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli et Proteus mirabilis, offrant une barrière efficace contre les intoxications alimentaires (Kobus-Cisowska *et al.*, 2019).

Leur effet anti-inflammatoire est également notable, avec une réduction de l'expression de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α et l'IL-10, ainsi que du NF-kB, tout en augmentant l'expression du PPAR- α , un régulateur clé de l'inflammation (da Silva *et al.*, 2019). La teneur élevée en oméga-3 contribue par ailleurs à la santé cardiovasculaire, réduisant l'inflammation et améliorant le profil lipidique sanguin.

Enfin, d'un point de vue métabolique, une étude d'Alamri (2019) a démontré que le chia réduit la glycémie, le cholestérol total, les triglycérides, tout en améliorant la fonction hépatique, ce qui souligne son potentiel dans la gestion du diabète et des troubles lipidiques.

Matériel et Méthodes

Cette étude, s'inscrit dans le cadre de réalisation du projet de fin d'études, elle est réalisée sur une durée de 6 mois, où l'expérimentation animale s'est étalée du mois de Septembre 2023 au mois de mars 2024.

Cette étude vise à évaluer les désordres histo-métaboliques induits par le régime cafétéria sur la fonction thyroïdienne et estimer les effets préventifs du traitement à base de graines de chia chez le lapin mâle adulte de souche synthétique « ITELV 2006 ».

L'expérimentation animale a été menée dans plusieurs établissements :

- Clapier de la station expérimentale de l'Université Blida 1.

Les analyses biologiques ont été réalisées au niveau du :

- Laboratoire d'analyses médicales **Dr. GHELIM**, Larbaâ, Blida, où nous avons réalisés le dosage des paramètres hormonaux thyroïdiennes.
- Laboratoire PFE de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV) de l'Université de Blida 1, où nous avons réalisés le dosage des paramètres lipidiques.
- Laboratoire centrale de l'établissement public hospitalier (EPH) Meftah, Blida, où nous avons réalisés le dosage des paramètres biochimiques.
- Service d'anatomopathologie de l'établissement public hospitalier (EPH) **KOLÉA - Docteur Fares Yahia**, où nous avons réalisés l'étude histologique de la glande thyroïde.
- Laboratoire de recherches sur les zones arides (LRZA) pour la prise des photos des coupes histologiques de la glande thyroïde.

I. MATERIEL

I. 1. Matériel non Biologique

L'ensemble du matériel non biologique utilisé pour la réalisation de ce travail expérimentale (verrerie, solutions, appareillages, kits, réactifs) est présenté en annexes 1 et 2.

I. 2. Matériel Biologique

I.2.1. Animal

Dans le cadre de notre expérimentation, nous avons utilisés comme modèle animal le lapin de la souche synthétique **ITELV 2006**.

I.2.2. Production de la souche synthétique ITELV2006

En décembre 2003, la première génération de la souche synthétique (F1) a été obtenue par insémination des femelles issues de la population locale (80 femelles) entretenues dans l'institut technique des élevages (ITELV) à Baba Ali avec de la semence des mâles INRA France 2666 qui était elle-même une souche synthétique expérimentale, résultant du croisement entre la souche INRA 2066 et la souche Verde de l'Université Polytechnique de Valence, en Espagne (Brun et Baselga, 2005). En utilisant un système de rotation (pour minimiser la consanguinité) entre les générations (F1, F2, F3 et F4) la génération après F4 a été considérée comme la première génération (GO) de la véritable souche ITELV 2006. Cette souche est créée dans le but de l'amélioration du potentiel génétique des lapins destinés à la production de la viande en Algérie. Elle est plus productive et présente une bonne résistance au milieu local ainsi qu'une faible mortalité des produits croisés (**Belot et al., 2012**).

II. METHODES

II.1. Protocole expérimentale

Dans cette expérimentation, 18 lapins mâles adultes ont été utilisés, issus de la souche synthétique, avec un âge moyen d'un an. Ils ont été pesés à leur arrivée (poids moyen 3 ± 0.3 kg), puis identifiés. Ces lapins étaient hébergés dans un clapier, l'étude a été suivie en continu : au cours de toute l'expérimentation, les animaux ont été soumis à une température ambiante de 17-28°C et au cycle lumière/obscurité naturel à la photopériodique saisonnière, (conception de la cellule avec une toiture en plaque en tertiaire translucides assurant une ventilation naturelle du bâtiment et permettant en même temps le passage de la lumière). L'expérience commence 6 semaines (allant du 27 Septembre au 09 Novembre) après l'acclimatation des lapins. À ce moment, les lapins sont répartis en deux lots :

- Lot témoin (T) : Contenant 6 lapins.

- Lot Cafétéria (C) : Lot d'essai, Contenant 12 lapins.

Durant toute la durée de l'expérience, leur apport alimentaire est contrôlé en permanence. Le 90e jour (14 Février), Le Lot cafétéria a été divisé en deux Lot :

- Lot Cafétéria (C) : Contenant 6 lapins suivant le régime cafétéria
- Lot Cafétéria Chia (CC) : Contenant 6 lapins suivant le régime cafétéria et traités à la chia.

Les données collectées pendant l'expérimentation :

- Les lapins ont été pesés tous les mois.
- Mesure de la glycémie tous les mois.
- Mesure de la température corporelle tous les mois.
- Calculs de refus deux fois par semaine.
- Prélèvement sanguin mensuel.

II.2. Régimes alimentaires

Deux types de régimes alimentaires ont été utilisés dans cette étude : le régime standard du laboratoire et le régime "cafétéria", acheté en supermarché. Le régime standard, les granules, est donné habituellement aux lapins, Il a été utilisé comme régime de contrôle pour le régime cafétéria.

•A leur arrivée, les lapins ont été acclimatés pendant 6 semaines en maintenant leur régime normal. Chaque lapin recevait 150 g d'aliment standard granulé une fois par jour, et de l'eau était fournie *ad libitum*, après cette période d'acclimatation les lapins ont été répartis on deux Lots :

- Lot témoin (T) : Reçoit 150g (par lapin) de Régime standard uniquement.
- Lot Cafétéria (C) : Reçoit 150g (par lapin) divisé comme suit : 70% Régime cafétéria + 30% Régime standard.

Le régime cafétéria est composé de 2 menus (contenant plusieurs aliments de collation de différentes marques commerciales) donnés par alternance (Tableau aII, Annexe3). Les compositions nutritionnelles des régimes sont indiquées dans le tableau aIII (Annexe3), et tous les concentrés des régimes ont été pesés quotidiennement pour s'assurer que les poids proposés étaient exacts. Les lapins ont suivi ce régime depuis ce jour jusqu'à la fin de l'étude (le 120 e jour).

II.3. Traitement au chia

Le lot cafeteria chia (CC) subit un traitement au graines de Chia (*Salvia hispanica*) à raison de 7 gramme par jour mélanger avec de l'eau. La solution est administrée par gavage à l'aide d'une seringue, en de petits volumes afin d'éviter une fausse déglutition, quotidiennement pendant un mois. Pour éviter que le lapin ne se blesse pendant cette manipulation, on l'a enroulé dans une serviette, l'a placé en position sternale, puis a introduit délicatement l'extrémité de la seringue dans la bouche au niveau du diastème.

II.4. Sacrifice et prélèvements

Les lapins des différents lots ont été sacrifiés par décapitation (entre 9h et 12h) après environ 12h de jeûne, puis disséqués et éviscérés. Le sang est recueilli dans des tubes sec et héparinés qui sont par la suite centrifugés afin de récupérer le plasma et le sérum en vue des dosages hormonaux (de la TSH, tri-iodo-thyronine T3 et de la thyroxine T4) et biochimiques (de cholestérol, triglycéride, HDL).

La thyroïde est rapidement prélevée puis fixée au formol à 10% en vue d'une étude histologique topographique.

II.5. Technique analytique

Les concentrations des différents dosages chez ces lapins sont présentées dans les figures 6,7,8,9 et les Tableaux aVIII- aXXIII (Annexe 3) respectivement. Les valeurs sont exprimées en g/L.

II.5.1. Glycémie

On a utilisé un glucomètre portable, le « BIONIME GM550 » (Figure, Annexe 2), un dispositif médical conçu pour mesurer la concentration de glucose dans le sang. Une goutte de sang est prélevée directement de la veine latérale de l'oreille du lapin est mise en contact avec la bandelette. Le résultat s'affiche sur le lecteur en seulement 5 secondes.

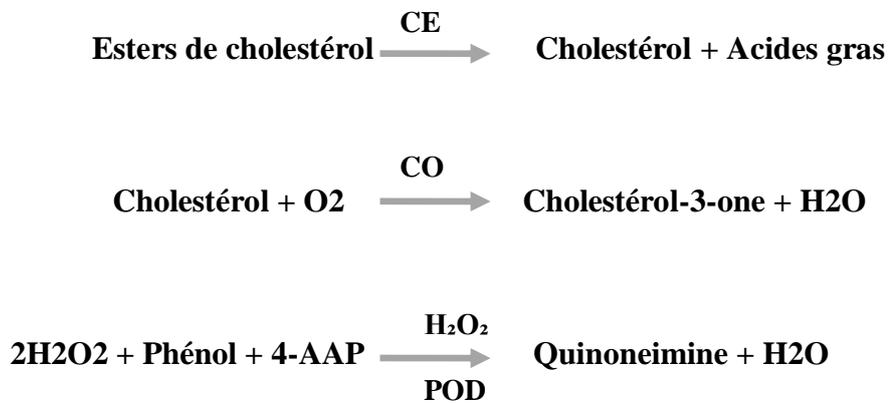
II.5.2. Dosage des paramètres lipidiques plasmatiques

Le dosage des paramètres lipidiques dans ce travail est effectué de manière manuelle à l'aide de kits de dosage commerciaux de la marque « Algerian Company of Biotechnology » (Figure- Annexe 1), utilisant une méthode enzymatique colorimétrique.

5.2.1. Cholestérol Total

Principe

Cette méthode de mesure du cholestérol total dans le sérum implique l'utilisation de trois enzymes : cholestérol estérase (CE), le taux de cholestérol oxydase (CO) et la peroxydase (POD). En présence de ce dernier, le mélange de phénol et du 4- aminoantipyrine (4-AAP) est condensée par le peroxyde d'hydrogène pour former un colorant quinonéimine proportionnel à la concentration du cholestérol dans l'échantillon.



Procédure

1. Porter les réactifs et les échantillons à la température ambiante.
2. Pipeter dans les tubes à essai étiquetés :

	BLANC	ST	Echantillon
R	1ml	1ml	1ml
ST	10µL
Echantillon	10µL

3. Mélanger et incuber pendant 10 minutes à la température ambiante (16-25°C) ou 5 minutes à 37°C.
4. Lire l'absorbance (A) des échantillons et du standard à 340 nm contre le blanc réactif dans les 30 min.

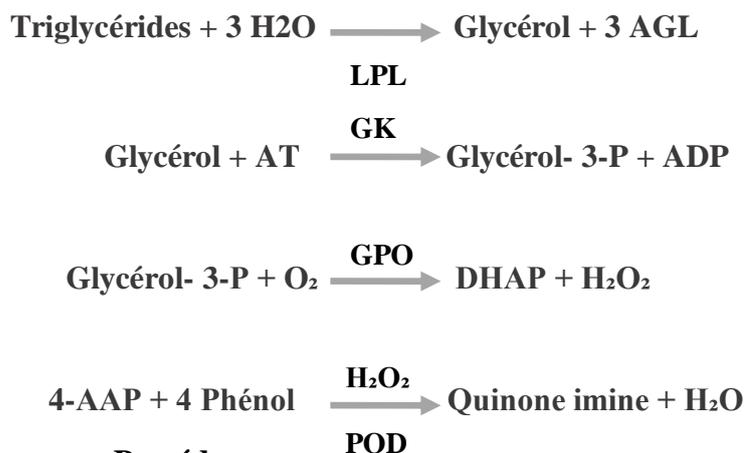
Calculs

$$\text{Conc. Cholestérol Total : } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right) = \frac{\text{A Echantillon}}{\text{A Standard}} \times \text{Concentration du standard } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right)$$

5.2.2. Triglycérides

Principe

La méthode est basée sur l'hydrolyse enzymatique des triglycérides sériques ou plasmatiques en glycérol et acides gras libres (AGL) par la lipoprotéine lipase (LPL). Le glycérol est phosphorylé par l'adénosine triphosphate (ATP) en présence de glycerolkinase (GK) pour former le glycérol-3-phosphate (G-3-P) et l'adénosine diphosphate (ADP). Le G-3-P est oxydé par la glycérophosphate oxydase (GPO) pour former le dihydroxyacétone phosphate (DHAP) et le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée). Un chromogène rouge est produit par la peroxydase (POD) catalysant la combinaison de 4-aminoantipyrine (4-AA) et du phénol en présence du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), proportionnel à la concentration de triglycérides dans l'échantillon mesurable à 546 nm.



Procédure

1. Porter les réactifs et les échantillons à la température ambiante.
2. Pipeter dans les tubes à essai étiquetés :

	BLANC		ST	Echantillon
R	1ml		1ml	1ml
ST		10µL
Echantillon	10µL

3. Mélanger et incuber pendant 10 minutes à la température ambiante (16-25°C) ou 5 minutes à 37°C.

4. Lire l'absorbance (A) des échantillons et standard à 340 nm contre le blanc réactif dans les 30 min.

Calculs

$$\text{Conc. Triglycérides } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right) = \frac{\text{A Echantillon}}{\text{A Standard}} \times \text{Concentration du standard } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right)$$

5.2.3. Lipides totaux

Dans notre étude, nous avons calculé les lipides totaux en utilisant une méthode qui repose sur l'addition pondérée des concentrations de cholestérol total et de triglycérides. Les coefficients de pondération sont déterminés en fonction des contributions relatives de ces composants aux lipides totaux.

La formule utilisée est la suivante :

$$\text{Lipides totaux (en g/L)} = (\text{Cholestérol total}) \times 2,56 + (\text{Triglycérides}) \times 0,87$$

5.2.4. HDL- Cholestérol

Selon Méthodologie « détergent sélectif et accélérateur » Méthode directe, sans pré-traitement du spécimen.

Principe

Le dosage repose sur une méthode de précipitation classique modifiée, couplée à l'acide polyvinyl sulfonique (PVS) et de l'éther polyéthylène-glycol-méthyle (PEGME), optimisée par l'ajustement des quantités de PVS/PEGME et de détergents sélectionnés. Les LDL, VLDL et chylomicrons (CM) interagissent avec le PVS et le PEGME, rendant ces lipoprotéines inaccessibles au cholestérol oxydase (CO) et au cholestérol estérase (CE). Ces enzymes réagissent ensuite de manière sélective avec les HDL pour produire du H₂O₂, qui est détecté par une réaction de Trinder.



Procédure

1. Porter les réactifs et les échantillons a la température ambiante.
2. Pipeter dans les tubes à essai étiquetés :

	BLANC	Cal	Echantillon
R1	300 µL	300 µL	300 µL
Cal	4 µL
Echantillon	4µL

3. Mélanger et incuber pendant 5 minutes à 37°C, Puis ajouter R2 :

R2	100 µL	100 µL	100 µL
----	--------	--------	--------

4. Lire immédiatement l'absorbance (A₁) du calibrateur ou de l'échantillon contre le blanc réactif. Après 5minutes lire l'absorbance (A₂) du calibrateur ou de l'échantillon contre le blanc réactif.

Calculs

$$\Delta A = A_2 - A_1$$

$$\text{Conc. HDL Cholestérol } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right) = \frac{\Delta A \text{ Echantillon}}{\Delta A \text{ Cal}} \times \text{Concentration du Cal } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right)$$

5.2.5. LDL- Cholestérol

Pour le dosage des lipoprotéines de basse densité (LDL) dans notre étude, nous avons utilisé la méthode de Friedewald, qui est une approche couramment utilisée pour estimer les niveaux de LDL en se basant sur les concentrations de cholestérol total, de HDL et de triglycérides. La formule de Friedewald, exprimée comme suit :

$$LDL (g/L) = \text{Cholestérol total} - HDL - \frac{\text{Triglycérides}}{5}$$

Permet de calculer le LDL sans nécessiter de mesure directe, ce qui simplifie et accélère le processus d'analyse. Les échantillons sanguins ont été prélevés après une période de jeûne de 12 heures pour minimiser les variations des triglycérides. Les concentrations de cholestérol total, de HDL et de triglycérides ont été mesurées par des techniques enzymatiques standardisées. Les valeurs obtenues ont ensuite été utilisées dans la formule de Friedewald pour estimer les concentrations de LDL.

II.5.3. Dosage des paramètres hormonaux (thyroïdiens)

Dans cette étude, l'analyse des paramètres hormonaux thyroïdiens est effectuée au moyen de l'Analyseur d'Immunoanalyse Automatique MAGLUMI 800 (Figure-Annexe1), en utilisant les kits de réactifs spécifiques MAGLUMI (Figures -Annexe 1).

II.5.3.1. TSH (Thyroid Stimulating Hormone)

Cette méthode est en effet un test immuno-lumino-métrique en sandwich.

Principe

Utiliser un anticorps monoclonal anti-TSH pour marquer l'ABEI (Agent Biotinylé d'Enzyme d'Immunoessai) et un autre anticorps monoclonal pour marquer le FITC. L'échantillon, le calibrateur ou le contrôle sont mélangés soigneusement avec les ABEI marqués, les FITC marqués et les microbilles magnétiques enduites d'anti-FITC de mouton et incubés à 37°C, formant un sandwich (où la TSH est "piégée" entre les deux anticorps). Après incubation, un champ magnétique est appliqué pour sédimenter les microbilles magnétiques. Le surnageant est ensuite décanter, puis effectuer un cycle de lavage 1 fois. Ensuite, les réactifs de démarrage sont ajoutés et une réaction de chimiluminescence flash est initiée. Le signal lumineux est mesuré par un photomultiplicateur sous forme de RLU (Relative Light Units) en 3 secondes et est proportionnel à la concentration de TSH présente dans les échantillons.

II.5.3.2. T3 (Triiodothyronine)

Principe

Utiliser un anticorps monoclonal anti-T3 pour marquer l'ABEI, et l'antigène T3 purifié pour marquer les microbilles Nanomagnétiques. L'échantillon, le calibrateur ou le contrôle, le tampon sont mélangés soigneusement avec les ABEI marqués et incubés à 37°C, puis ajouter les microbilles magnétiques et incuber, l'échantillon et les microbilles magnétiques se lient de manière compétitive à les ABEI marqués, formant un complexe immunitaire. Après incubation, un champ magnétique est appliqué pour sédimenter les microbilles magnétiques. Le surnageant est ensuite décanter, puis effectuer un cycle de lavage 1 fois. Ensuite, les réactifs de démarrage sont ajoutés et une réaction de chimiluminescence flash est déclenchée. Le signal lumineux est mesuré par un photomultiplicateur en 3 secondes et est proportionnel à la concentration de T3 présente dans les échantillons.

II.5.3.3. T4(Thyroxine totale ou thyroxine libre)

Cette méthode est en effet un test immunoluminométrique compétitif ou une technique compétitive de type immunoessai.

Principe

Utiliser un anticorps monoclonal anti-T4 pour marquer les ABEI, et un antigène T4 purifié pour enrober les microbilles Nano magnétiques. Tampon d'échantillon (sérum ou le plasma), d'étalonnage ou de contrôle, les ABEI marqués et les microbilles Nano magnétiques sont mélangés soigneusement et incubés à 37°C pour permettre la liaison des molécules.

Après incubation, un champ magnétique est appliqué pour sédimenter les microbilles magnétiques. Le surnageant est ensuite décanté, puis effectuer un cycle de lavage 1 fois. Ensuite, les réactifs de démarrage sont ajoutés et une réaction de chimiluminescence flash est initiée. Le signal lumineux est mesuré par un photomultiplicateur sous forme de RLU en 3 secondes et est proportionnel à la concentration de FT4 présente dans les échantillons.

II.6. Technique histologique

Toute activité histologique a en commun l'action d'observer et d'interpréter ce qui est vu.

Cette technique comprend plusieurs étapes principales successives :

II.6.1. Fixation

La glande thyroïde est mise dans un pot de formol à 10% afin de conserver les structures tissulaires dans un état aussi proche que possible de l'état vivant.

II.6.2. Etude macroscopique et placement des fragments dans des cassettes

Le jour de l'étude les pièces ont été examinées, palpées puis disséquées en utilisant un scalpel et une pince afin de les prélever. Ensuite toutes les pièces des glandes thyroïdes sont placées dans des cassettes en plastique. Chaque cassette est étiquetée et numérotée avec un crayon, puis ces cassettes sont immergées dans du formol dilué à 10%. Toutes ces étapes se déroulent sous une hotte pour garantir les conditions sanitaires appropriées.

II.6.3. Circulation

Cette étape est réalisée à l'aide d'un automate de circulation (figure - Annexe 1) réglé sur un cycle de 24 heures, comprend trois étapes : Déshydratation, l'éclaircissement et l'imprégnation. Elle consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient pour la réalisation et la confection des

coupes fines à la paraffine sans perdre la structure cellulaire initiale au moment de la rupture de la membrane plasmique. Elle se déroule comme suit :

- **Déshydratation** : le tissu est progressivement passé à travers une série de bains d'alcools de concentration croissante (de 70% jusqu'à 100%) le passage d'un bain à l'autre prend la durée d'une demi-heure. Cela permet de remplacer progressivement l'eau contenue dans les tissus par l'alcool.
- **L'éclaircissement** : Cette étape signifie l'immersion des prélèvements dans des bains de xylène ou toluène (3 ou 4 bains) ; Ce dernier va éliminer toute trace d'alcool et rendre le tissu transparent.
- **L'imprégnation** : notre échantillon est imprégné ou « enrobé » dans la paraffine fondue par chauffage à 60°C (02 passages successifs) pour l'obtention d'une pièce qui ne contient ni eau, ni alcool, ni solvant intermédiaire.

II.6.4. Inclusion et Enrobage à la paraffine

Elle est réalisée à l'aide d'un automate et un appareil refroidisseur (Annexe1), une fois déshydraté, l'échantillon est placé dans un moule et imprégné de paraffine fondue pour former un bloc afin de les rigidifier pour pouvoir les couper ensuite.

II.6.5. Confection des coupes

La coupe est une étape importante de la préparation des lames car elle conditionne la bonne observation de l'échantillon en microscopie, réalisées avec un microtome permettant d'obtenir des tranches de section (coupes histologiques) de 2 à 5 μm d'épaisseur disposées en série régulières sous forme de rubans.

II.6.6. Etalements des coupes

Les coupes sont recueillies sur des lames de verre après les avoir arrosés par l'eau distillé pour faciliter leur dépôt (étalement). Ces dernières sont numérotées et mises sur une plaque chauffante jusqu'à la séchasse pour confirmer la fixation des coupes.

II.6.7. Coloration

Avant de procéder à la coloration, les coupes doivent être déparaffinées et réhydratées.

Afin de distinguer les différents tissus, et cellules on a réalisé une coloration à : l'Hématéine-Eosine (H.E.). La fiche technique de la coloration utilisée est en annexe 3.

II.6.8. Montage et observation

Le montage est l'opération qui consiste à conserver les colorations à l'aide de l'Eukitt qui permet l'adhérence entre la lame et la lamelle. Après montage, les lames sont séchées et enfin observées au microscope photonique.

II.7. Analyse morphométrique

L'étude morphométrique des coupes de glandes thyroïdes a été réalisée à partir d'images acquises par un appareil photo numérique (HIROCAM, MA88-500, MBE lab and science, St. Paul, USA) connecté à un microscope photonique via le logiciel TS View (Figure, annexe 2). Ces images ont ensuite été enregistrées et soumises à différentes mesures morphométriques.

Les hauteurs des cellules folliculaires et la périphérie de la glande thyroïde ont été mesurées à l'aide du logiciel d'analyse et de traitement d'image Axio Vision 4.8.2 SP2 (06-2012), (Figure3) développé par la société Carl Zeiss. Ce système d'analyse d'images a été calibré à l'aide d'une lame micrométrique graduée afin d'obtenir des mesures de hauteurs en micromètres et de surfaces en micromètres carrés. Dans notre étude, les mesures de surfaces et de hauteurs des cellules folliculaires et des colloïdes ont été réalisées à un grossissement de x40 (Figure, annexe).

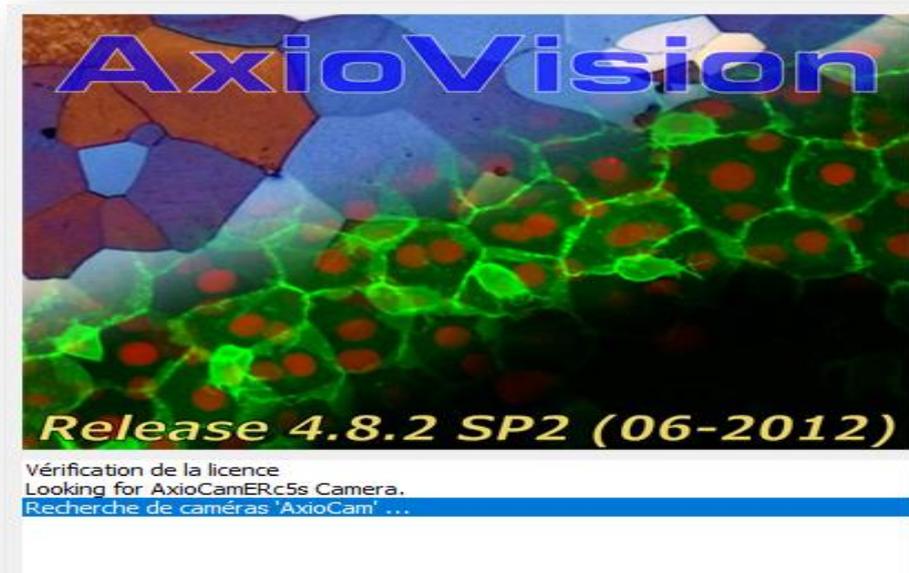


Figure 3: logiciel d'analyse et de traitement d'image "Axio Vision" 4.8.2 SP2 (06-2012)

II.8. Analyse statistique

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel IBM SPSS statistics (version 29), (Figure4).

Tout d'abord, nous avons appliqué une ANOVA à un facteur (analyse de variance post hoc de Tukey) afin d'évaluer les différences significatives entre les groupes définis par le temps et par les lots ; pour vérifier la normalité des données, nous avons utilisé le test de Shapiro-Wilk, pour chaque variable. Par ailleurs, nous avons généré des boîtes à moustaches, histogrammes et des graphes pour visualiser la distribution des données et identifier les éventuelles valeurs aberrantes.

Les données sont rapportées sous forme de moyennes \pm SEM

Validité statistique :

La différence entre deux moyennes comparées est statistiquement significative lorsque la probabilité « p », déterminée en fonction du nombre de degrés de liberté ($d.d.l = n_1 + n_2 - 2$), est égale ou inférieure à 5%.

- Si $p > 0,05$: la différence n'est pas significative (ns).
- Si $0,01 < p < 0,05$: la différence est significative (*).
- Si $0,001 < p < 0,01$: la différence est très significative (**).
- Si $p < 0,001$: la différence est hautement significative (***)

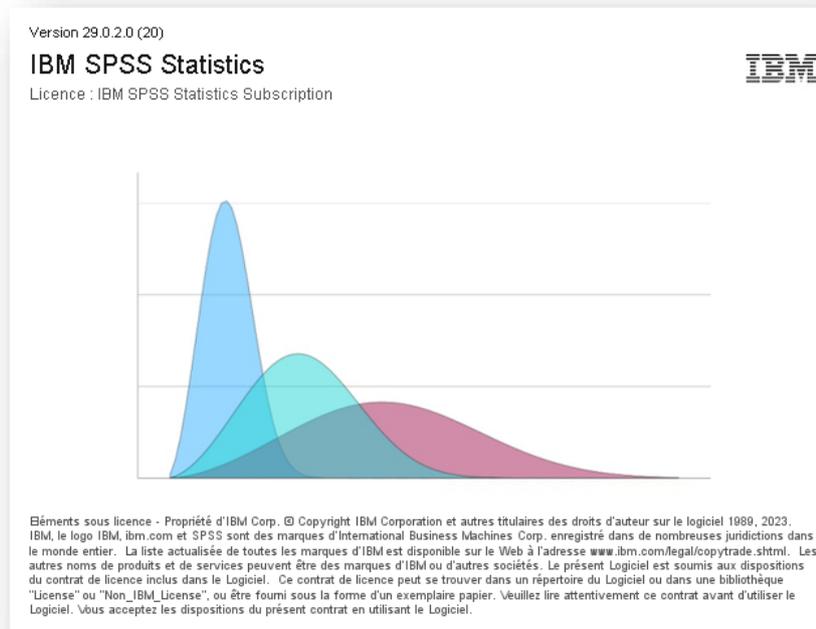


Figure 4 : logiciel d'analyse statistique "IBM SPSS statistics" (version 29)