



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Larbi Tébessi –Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie

Département de biologie Appliquée Département des êtres vivants

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Etude de la variation du bilan lipidique au cours d'une hypothyroïdie et leur relation avec la défense antioxydante

Présenté par :

Mellouk Nassima

Gaagaa Hanane

Devant le jury :

DRIS DJEMAA	M.A.A	U.L.T. Tébessa	Président
BOUSSEKINE SAMIRA	M.C.A	U.L.T. Tébessa	Rapporteur
BELGUENDOUZE KARIMA	M.A.A	U.L.T. Tébessa	Examineur

Date de soutenance : Mai 2018

Année universitaire

2017/2018



Résumé

La thyroïde est une petite glande située à la base du cou ; elle produit deux types d'hormones qui sont (sécrétées) dans le sang : la FT3 (triiodothyronine libre) et la FT4 (thyroxine libre). Ces hormones thyroïdiennes régulent de nombreuses fonctions et sont essentielles au bon fonctionnement du corps, à sa croissance et à son Développement.

Ce travail propose d'étudier une situation pathologique fréquente surtout chez les femmes et caractérisée par une sécrétion trop basse des hormones T3 et T4 l'hypothyroïdie qui constitué l'origine de perturbations Métaboliques engendrant des modifications du statut prooxydant/antioxydant. L'objectif du travail consiste à déterminer l'hypothyroïdie et étudier des altérations par l'analyse de quelques Paramètres pro oxydatifs et d'autre anti oxydatifs chez des sujets hypothyroïdiques comparées aux témoins sains.

Une étude cas/témoins est menée au laboratoire sur le sang et le sérum de 60 individus, répartis en deux lots de 30 personnes chacun, dont le premier lot sert de témoins sains, le second est constitué de sujets hypothyroïdiques avec un dosage des paramètres biochimiques(bilan lipidique, bilan hormonal: SH/FT3/FT4,protéique)dans le sérum ainsi des paramètres de la défense antioxydant(GSH,GPx,GST) et des paramètres de la peroxydation lipidique dans le plasma et les érythrocytes.

Les résultats montrent que les personnes hypothyroïdiennes présentent une diminution des sécrétions des hormones thyroïdiennes T3 et T4. Ainsi une augmentation de la concentration sanguine de TSH (Thyroïde stimulating hormone) supérieure à 4 m UI/l par rapport aux témoins.

Mots clés : L'hypothyroïdie , stress oxydant , antioxydants, lipides ,Glutathion peroxydase GPx.

ملخص

الغدة الدرقية هي غدة صغيرة في قاعدة العنق تنتج نوعين من الهرمونات التي تفرز في الدم: ثلاثي يود الثايرونين (T3) والثيروكسين (T4)، الهرمونات الدرقية تنظم العديد من الوظائف وهي ضرورية لأداء الجسم السليم ونموه وتطوره.

يقترح هذا العمل دراسة مرضية شائعة خاصة عند النساء، تتميز بإفراز منخفض جدا للهرمونات الدرقية: قصور الغدة الدرقية التي تمثل أصل الاضطرابات الايضية التي تسبب تغيرات في حالة الاكسدة/المضادة للأكسدة. الهدف من هذا العمل هو تحديد الغدة الدرقية ودراسة التغيرات عن طريق تحليل بعض العوامل المؤكدة والمضادة للأكسدة عند مرضى الغدة الدرقية مقارنة مع الشهود الاصحاء وقد اجريت دراسة حالة/شاهد في المختبر على الدم والمصل ل 60 فردا وتنقسم الى مجموعتين من 30 شخصا لكل منهما. الدفعة الاولى تمثل الاصحاء والثانية تمثل مرضى قصور الغدة الدرقية.

اختبار الهرمونات الدرقية الدموية (TSH,T3,T4) مرتبطة مع الاختبارات البيوكيميائية و ايضا عوامل مضادة للأكسدة (GSH,GPx,GST) و مالون ثنائي الالدهيد(MDA) في بلازما الدم و الحلالة الدموية تم اكتشافها عند المجموعتان و يعرض عملنا بعض النتائج تتمثل في نقصان في افرازات الهرمونات الدرقية و ارتفاع في التركيز الدموي لل TSH عند الاشخاص المصابين مقارنة مع الشواهد و نقصان للغلوتاتيون المختزل (GSH) في الكريات الدموية الحمراء و البلازما و وايضا بالنسبة لنشاط الانزيم (GPx) عند الاشخاص المصابين بقصور الغدة الدرقية مقارنة مع شواهد مع ارتفاع كبير جدا في تركيز (GST) في كريات الدم الحمراء و البلازما عند الاشخاص المصابين بقصور الغدة الدرقية مقارنة بالأشخاص الاصحاء . الى جانب زيادة في للمالون ديالدهيد (MDA) في المصل والكريات الدموية الحمراء وزيادة كبيرة جدا في تركيز الكوليسترول الكلي وثلاثي الجليسيريد والكوليسترول منخفض الكثافة(LDL) ونقصان كبير جدا في الكوليسترول عالي الكثافة (HDL) عند الاشخاص المرضى بقصور الغدة الدرقية مقارنة مع الأشخاص العاديين.

في الختام: يرتبط قصور الغدة الدرقية مع اختلال توازن الاكسدة/المضادة للأكسدة مع اضطرابات ايضية.

الكلمات المفتاحية: قصور الغدة الدرقية. الاجهاد التاكسدي ومضادات الأكسدة. الدهون ;غلوتاتيون

بيروكسيداز.GPx.

Abstract

The thyroid is a small gland at the base of the neck; it produces two types of hormones that are (secreted) in the blood: T3 (triiodothyronine) and T4 (thyroxine). These thyroid hormones regulate many functions and are essential for the proper functioning of the body, its growth and development.

This work proposes to study a common pathological situation, especially in women, characterized by a too low secretion of T 3 and T 4 hormones, the hypothyroidism, which consists. The origin of metabolic disturbances causing modifications of the oxidant / antioxidant status.

The aim of the work is to determine hypothyroidism and to study alterations by the analysis of some prooxidative and other anti-oxidative parameters in hypothyroid patients.

Compared to healthy witnesses A case-control study is conducted in the laboratory on the blood and serum of 60 individuals, divided into two lots of 30 people each, the first batch serving as healthy witnesses, the second serves as hypothyroidism.

A thyroid blood hormone balance (TSH, T3, T4). Associated with a biochemical record, as well as parameters of the antioxidant defense (GSH, GPx, GST), and a marker of lipid peroxidation (MDA) in serum and hemolysate were explored in both populations.

Our work shows some results marked by:

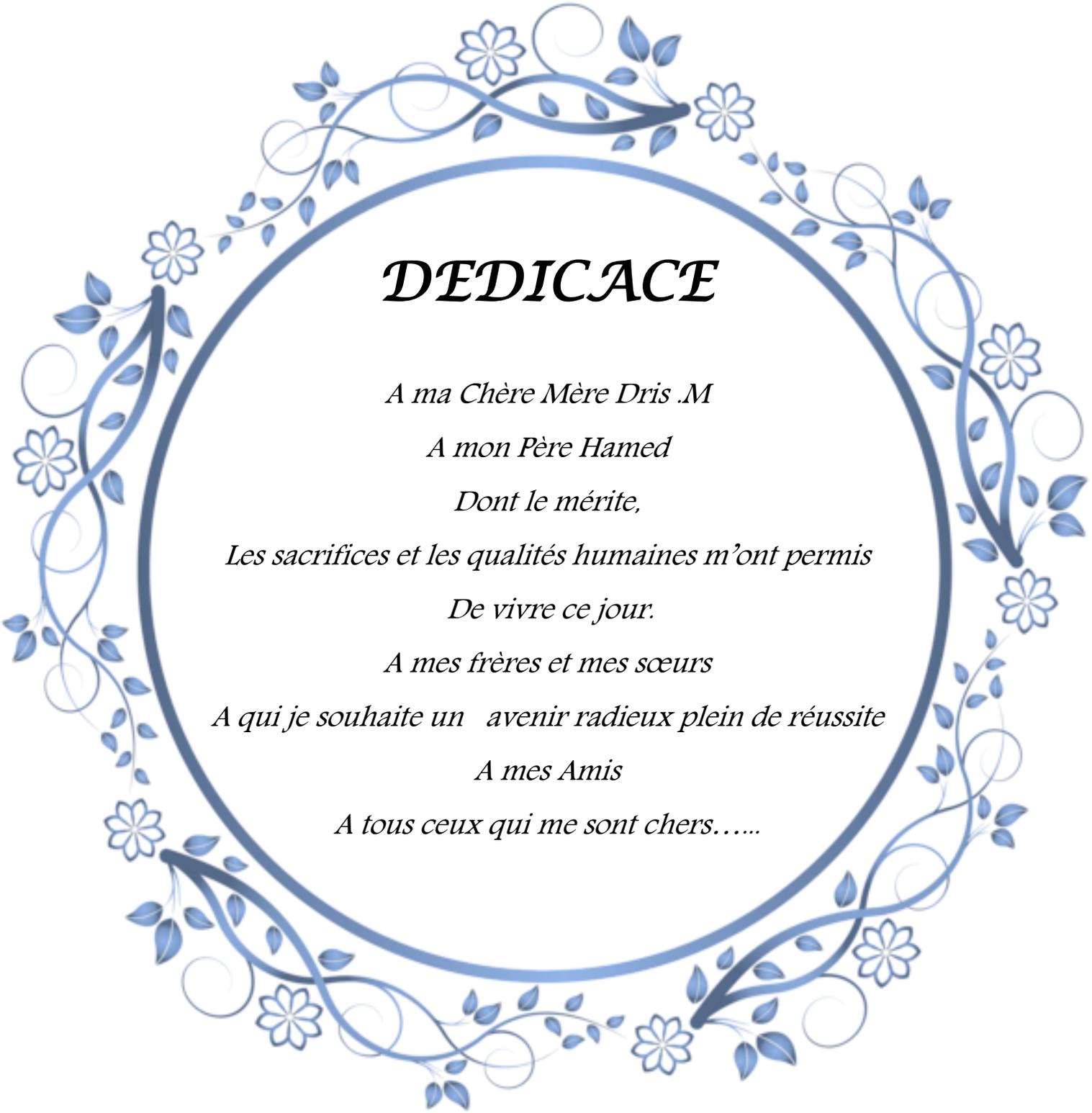
Decreased secretions of thyroid hormones T3 and T4. Thus, an increase in the blood concentration of TSH (Thyroid stimulating hormone) in the affected subjects compared to the controls

Reduced plasma and erythrocyte glutathione (GSH) and glutathione peroxidase (GPx) levels in patients with hypothyroidism compared to controls. With a very significant increase in serum and erythrocyte GST concentration in hypothyroid patients compared to healthy subjects.

Increased erythrocyte and plasma levels of lipid peroxidation (MDA). Thus a very significant increase in the serum concentration of: cholesterol T; Triglycerides; LDL-c; Lipids T; Protein T in people with hypothyroidism compared to controls.

In conclusion: hypothyroidism is associated with an imbalance of the oxidant / antioxidant balance with a metabolic disturbance.

Key words: hypothyroidism, oxidative stress; antioxydants.lipids; Glutathion peroxydas GPx.



DEDICACE

A ma Chère Mère Dris .M

A mon Père Hamed

Dont le mérite,

Les sacrifices et les qualités humaines m'ont permis

De vivre ce jour.

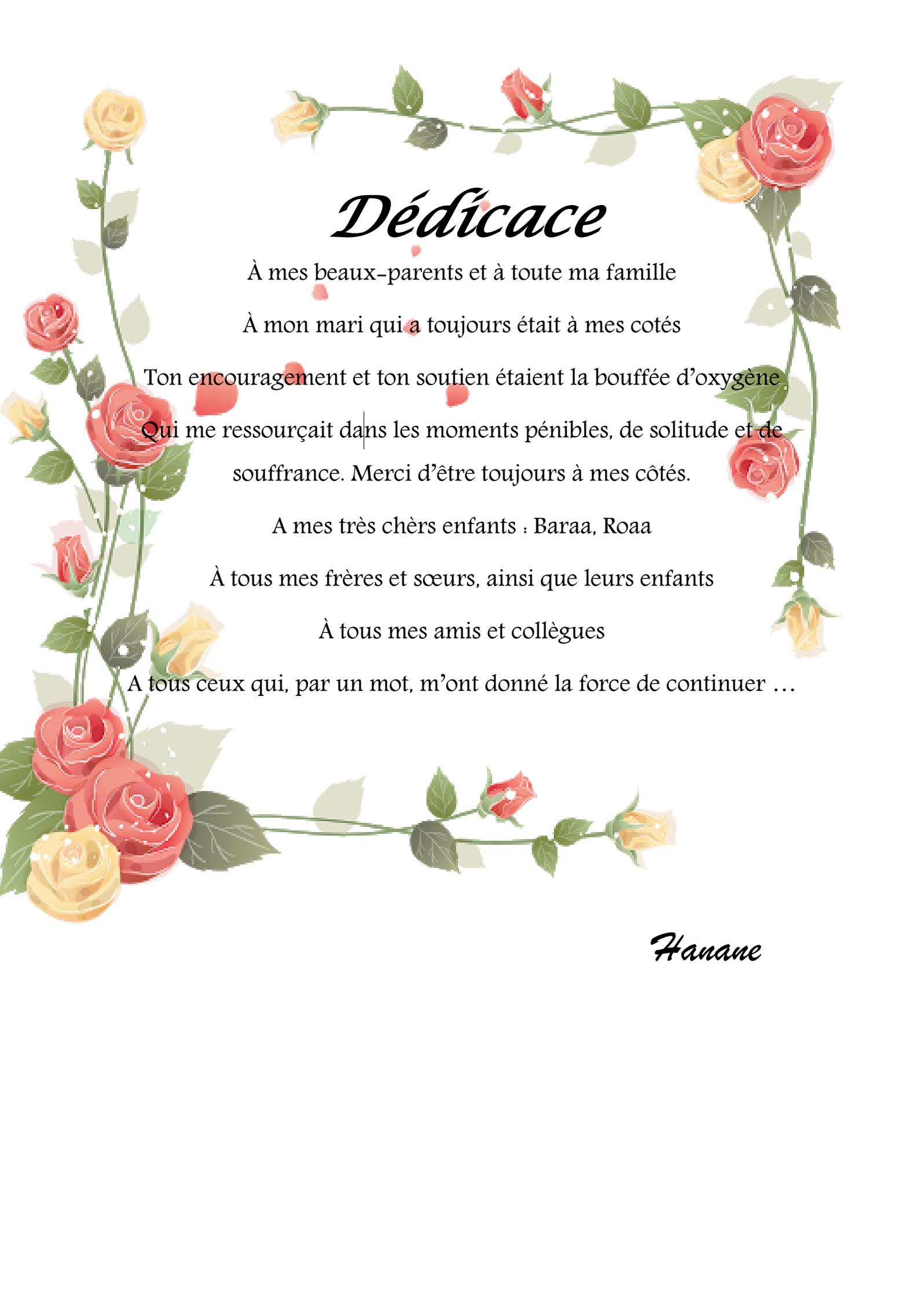
A mes frères et mes sœurs

A qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite

A mes Amis

A tous ceux qui me sont chers.....

NASSIMA



Dédicace

À mes beaux-parents et à toute ma famille

À mon mari qui a toujours été à mes côtés

Ton encouragement et ton soutien étaient la bouffée d'oxygène

Qui me ressourçait dans les moments pénibles, de solitude et de souffrance. Merci d'être toujours à mes côtés.

A mes très chers enfants : Baraa, Roaa

À tous mes frères et sœurs, ainsi que leurs enfants

À tous mes amis et collègues

A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer ...

Hanane

Remerciement

Au Dieu le tout puissant de m'avoir donné la force et la patience d'accomplir ce
Modeste travail.

A nos Très chers parents pour leur soutien moral et leurs encouragements.

A notre encadreuse

Dr. Boussekine .S, Votre compétence, votre encadrement a toujours suscité mon
profond respect.

Nous vous remercier pour votre accueil et vos conseils.

Veillez trouver ici, l'expression de nos gratitude et de nos grande stime

Nous tenons à la saluer pour sa disponibilité, sa générosité et son ouverture d'esprit

qui ont su me laisser une large marge de liberté pour mener à bien ce travail Aux

membres du jury Messieurs les jurys, vous nous faites un grand honneur

En acceptant de juger ce travail. J'exprime mon estime et mes vifs remerciements aux

honorables membres de jury pour avoir accepté d'examiner et juger ce modeste

travail :

Aux équipes des laboratoires de **Biochimie Appliquée** – faculté des Sciences de la

nature et de

La vie, de l'**Université de Laarbi Tebessi – Tebessa** pour leurs sympathiques et

consistances durant notre préparation de mémoire.

A **tous** les enseignants pour leurs Qualités scientifiques et pédagogiques

A tous nos collègues et à tous les étudiants de La 2^{ème} Année Master Biologie

Moléculaire, promotion 2018. Enfin, nous tenons à remercier chaleureusement, tous

mes proches et tous ceux qui, de près ou de loin, m'ont apporté leurs sollicitudes pour

accomplir ce travail.

Résumé
ملخص
Abstract
Dédicace
Remerciement
Table des matières
Liste des tableaux
Liste des figures
Liste des symboles
Introduction

Partie bibliographique

CHAPITRE I : Notions d'anatomie et physiologie thyroïdienne et hypothyroïdienne	
I-1-Anatomie, Histologie	02
I.2. La physiologie de la glande thyroïde	04
I.2.1. Biosynthèse des hormones thyroïdiennes	04
I.2.1.1.Effets des hormones thyroïdiennes	05
I-2-2- Sécrétion des hormones thyroïdiennes	06
I -2-3- Régulation de la synthèse des hormones thyroïdiennes	07
I-3-Hypothyroïdie	08
I-3-1- Définition	08
I 3-2- Différents origines de l'hypothyroïdie	10
I- 3-2-1- L'hypothyroïdie d'origine thyroïdienne	10
I- 3-2-2- L'hypothyroïdie d'origine centrale	12

CHAPITRE II : Physiopathologie de L'hypothyroïdie	
II-1- Hypothyroïdie et métabolisme	14
II-1-1-Le métabolisme des protéines	14
II-1-2-Anomalie de métabolisme protéique cause par l'hypothyroïdie	15
II-1-3-Le métabolisme des lipides	16
II-1-4-Anomalie de métabolisme lipidique causé par l'hypothyroïdie	17
II-1-5-Le métabolisme des glucides	17
II-1-6-Anomalie de métabolisme glucidique cause par l'hypothyroïdie	18
II-2-Implication du stress oxydant dans l'hypothyroïdie	18
II-2-1-Rappel sur le stress oxydant	18
II- 2-1-1-Définition	18
II- 2-1-2-Les pro oxydants :	19
II- 2-1-2- 1-Les Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	19
II- 2-1-2- 2-Espèces Réactive de l'azote	20
II. 2.1.2.3.Moyens de lutte contre les radicaux libres : les antioxydants	21
II. 2.1.2.3.1.Les Antioxydants Enzymatiques	22
II. 2.1.2.3.2.Les Antioxydants non enzymatiques	23
II- 2-2- hypothyroïdie et stress oxydant	24
Partie expérimentale	
I –Matériels et méthodes	25
I-1-Présentation du site d'étude	25

I-2- Population d'étude	25
I-3- Déroulement de l'enquête	27
I-3-1 Pré enquête	27
I-3-2 Déroulement de l'enquête	27
I-4- Questionnaire	27
I-5- Les méthodes biologiques	27
I-5-1- Le prélèvement et préparation des échantillons	27
I-5-2- dosage du bilan hormonal	28
I-5-3- dosage des Paramètres du bilan lipidique	28
I-5-4- dosage de protéines totales	31
I-5-5- dosage des Paramètres de la défense anti oxydante	32
I-5-6- dosage des Paramètres de la peroxydation lipidique	34
I-6- Etude statistique	35
Résultat	
I- Exploration paramètres hormonales	36
II- Exploration de bilan lipidique	37
III- Exploration de protéines totales	39
IV- Paramètres de la défense antioxydante et la peroxydation lipidique	39
Discussion	
Conclusion	

Liste des Tableaux

N° Tableaux	Titre	Pages
Tableau 1	Conséquences de l'hypothyroïdie sur différentes fonctions et organes (Métais,1989).	13
Tableau 2	Les principales espèces réactives de l'oxygène	19
Tableau 3	Variation de la concentration sanguin de TSH ;T3.T4 ;chez les sujets témoins et hypothyroïdiens.	36
Tableau 4	Variation de la concentration sérique du Chol T, Tri gly, HDL-c et d'LDL-c,Lipide T chez les sujets témoins sains et ypothyroïdiques.	37
Tableau 5	Variation de la concentration sérique des protéines totales chez les sujets témoins et hypothyroïdiques	39
Tableau 6	Variation de l'activité enzymatique GPx, GST plasmatique et de la concentration plasmatique de GSH et MDA chez les sujets témoins et hypothyroidiques.	40
Tableau 7	Variation de l'activité enzymatique GPx, GST èrythrocytaire et de la concentration èrythrocytaire de GSH et MDA chez les sujets témoins et hypothyroidiques.	41

Liste des Figures

N° Figure	Titre	Pages
01	Vue antérieure de la thyroïde (Tortora <i>et al.</i> , 2007).	03
02	Photomicrographie montrant quelques follicules thyroïdiens (Tortora <i>et al.</i> , 2007).	03
03	Axe hypothalamus hypophysaire thyroïde et rôles multiples des hormones thyroïdiennes	05
04	Régulation de la production des hormones thyroïdiennes (Schlenker, 2012). TRH: Thyrotropine Releasing Hormone, TSH:Thyroïd Stimulating Hormone, TBG thyroidbinding globulin, RT : Récepteurs des hormones thyroïdiennes.	08
05	Sites d'interaction potentiels de xénobiotiques sur la fonction thyroïdienne	09
06	Les signes cliniques généraux de l'hypothyroïdie	09
07	synthèse de protéine	15
08	Dégradation des protéines	15
09	Métabolisme des lipides – Lipogenèse	16
10	Contrôle de la lipolyse dans l'adipocyte humain, d'après Valet. P et Richard D.	17
11	Balance radicaux libres /antioxydants	18
12	Mécanisme de production des ROS et RNS.	21
13	Régulation des ERO par les antioxydants (Pincemail <i>et al.</i> , 2002).	23
14	Schéma récapitulatif de la protocole expérimental.	26

15	Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide thiobarbiturique	34
16	Variation de la concentration sanguin de TSH, T3, T4 chez les sujets témoins et hypothyroïdiques.	36
17	Variation de la concentration sérique de Chol T, Tri gly, HDL-c et d'LDL-c , Lipide T chez les sujets témoins sains et hypothyroïdiques .	37
18	Variation de la concentration sérique des protéines Totales chez les sujets témoins sains et hypothyroïdiques.	38
19	Variation de l'activité enzymatique GPx, GST plasmatique et de la concentration plasmatique de GSH et MDA chez les sujets témoins et hypothyroidiques.	39
20	Variation de l'activité enzymatique GPx, GST érythrocytaire et de la concentration érythrocytaire de GSH et M DA chez les sujets témoins et hypothyroidiques.	42

Liste des symboles

IO₂	Oxygène singulet.
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
AG	Acide gras
AMP	Adénosine monophosphate
ATP	Adénosine triphosphate
C°	Celsius Degrée
Ca₂⁺	ion calcium
CAT	Catalase.
CDNB	1-Chloro, 2,4-Dinitrobenzène
CM	Centimètre
CO₂	Dioxyde de carbone
Cu/Zn-SOD	Superoxydedismutase aux ions cuivre et zinc.
DO	Densité optique
DTNB	Acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque) ou reactif d'Ellman.
EDTA	Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique
ERN	EspeciesReactives de l'azote
ERO	EspeciesReactives de l'Oxygene.
F	Femme.
G	Gramme
GPx	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion réduit
GSSG	Le Glutathion Disulfure ou Oxydé
GST	Glutathion -S- transférase
H	Homme
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogene.
HDL	Hightdensitylipoproteins (lipoprotéines de haute densité)
H₂SO₄	Acide sulfurique
HT	Hormones thyroïdiennes.
LDL	Lowdensitylipoproteins (lipoprotéines de basse densité)
LPL	Lipoprotéine lipase
LPO	Lipides Peroxydés
MDA	Malondialdéhyde
mg/dl	Milligramme par décilitre
mtNOS	NO synthase mitochondriale
NADPH	Nicotinamide-adéninedinucléotide- phosphate réduit.
NO	Monoxyde d'azote
NO⁻	ion nitroxyle
NO⁺	ion nitrosonium
NO₂⁻	Dioxyde d'azote

NOD	non-obese diabetic
O₂^{•-}	anion superoxyde
O₂[•]	Radical superoxyde (anion superoxyde).
OH[•]	Radical hydroxyle
ONOO⁻	Peroxyde nitrite
ONOOCO₂⁻	Peroxynitrosocarboxylate
ORL	Oto-rhino-laryngologie
pmol / l	Picomol par litre
RL	Radicaux libres.
RCT3	Récepteurs de triiodothyronine
R-TSH	.Récepteurs de TSH
SNC	Système nerveux central
SOD	Superoxydedismutase
T3L	Triiodothyronine libre
T3r	Triiodothyronine réverse
T4	Thyroxine
TBA	. Thiobarbituric acid: L'acidethiobarbiturique
TBG	thyroidbinding globulin
TCA	Trichloroacétique
T4L	Tétraïodothyronine libre
TPO	Thyropéroxydase
TRα	Récepteurs des hormones thyroïdiennes α
TRβ	Récepteurs des hormones thyroïdiennes β
TRH	Thyrotropin Releasing Hormone
Mg	Microgramme
VLDL	Lipoprotéines de très faible densité (Very low density lipoprotein)
μ mol	Micromoles
PH	potentiel hydrogène
m UI/l	Milli Unité International par litre

Introduction

La glande thyroïde est l'une des glandes du système endocrinien située en dehors d'une cavité du corps. C'est une glande de petite taille pesant environ 28 grammes. Elle est située dans le cou, sous le larynx. Cette glande est très importante pour la régulation métabolique, elle sécrète deux hormones : triiodothyronine (T3) et thyroxine (T4) qui régulent l'utilisation d'oxygène et l'activité du métabolisme basal, le métabolisme cellulaire, la croissance et le développement.

La pathologie thyroïdienne est un motif très fréquent à travers le monde, sa découverte constitue une source d'angoisse chez les patients.

L'hypothyroïdie constitue la plus fréquente de ces pathologies. Elle se définit par une diminution de la sécrétion d'hormones thyroïdiennes associée à une augmentation de la Thyroïd-Stimulating-Hormone (TSH) engendrant un état d'hypo métabolisme (Schlienger, 2001).

L'hypothyroïdie touche préférentiellement les femmes ; elle concerne environ 3% des femmes et seulement 0.5% des hommes. A cause des interactions hormonales qu'elles connaissent à différentes périodes de leur vie, en particulier pendant la ménopause (Gallois, 2008). Parmi les principaux facteurs qui participent à l'installation de dysfonctionnements thyroïdiens on note le stress oxydatif, défini comme un mécanisme physiopathologique résultant d'un déséquilibre profond de la balance entre les pro oxydants et les systèmes de défenses en faveur des premiers, ce qui conduit à des dégâts cellulaires souvent irréversibles. (Siliart, 2007).

L'hypothyroïdie entraîne des troubles métaboliques des perturbations des marqueurs pro oxydatifs, avec l'installation du stress oxydatif. Notre travail contient deux parties :

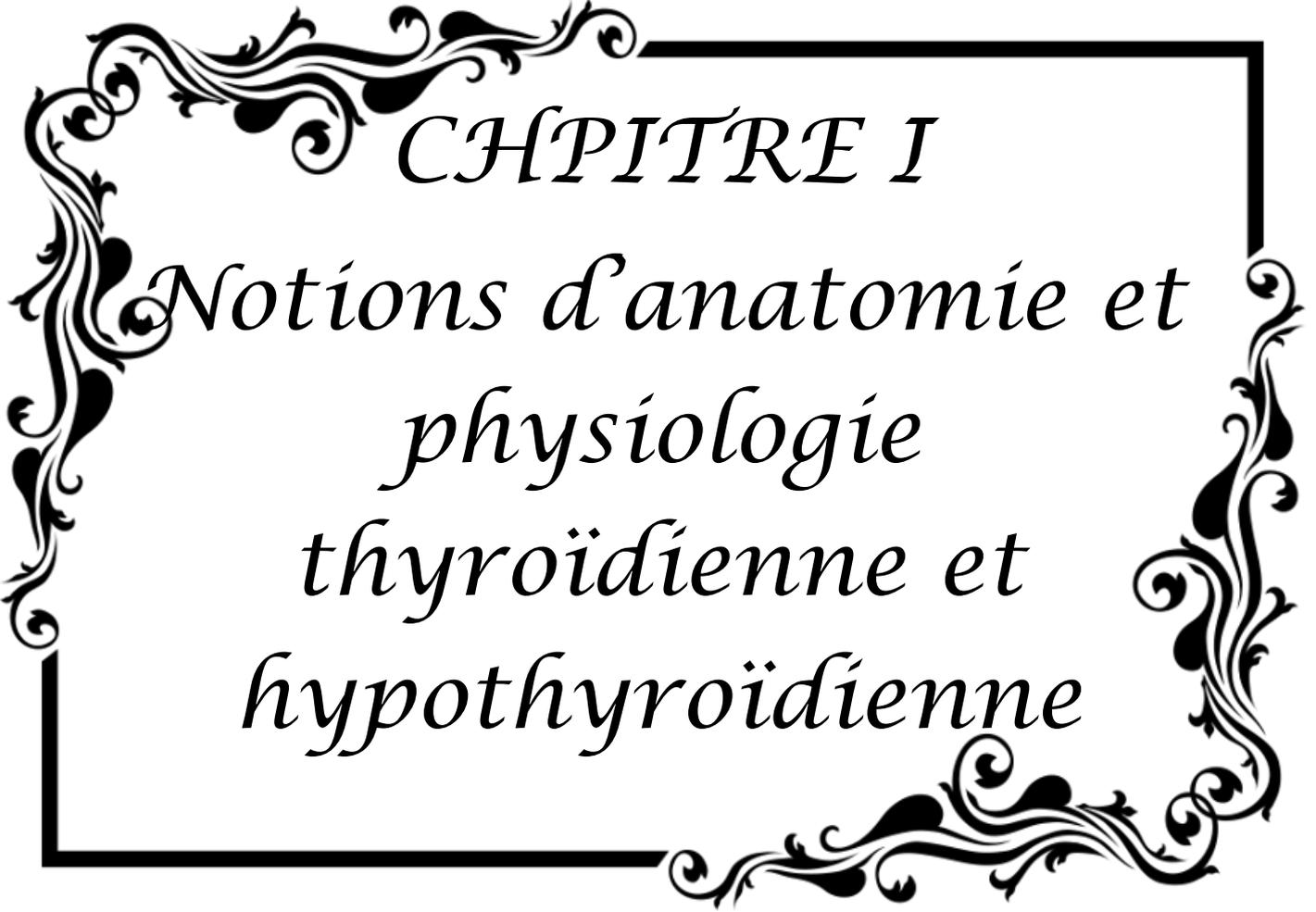
Une recherche bibliographique qui traite les notions d'anatomie et physiologie thyroïdienne et hypothyroïdienne puis la physiopathologie de l'hypothyroïdie.

Une partie pratique composée de dosage des paramètres biochimiques (bilan lipidique, bilan hormonal : TSH/FT3/FT4, protéique) dans le sérum ainsi des paramètres de la défense antioxydant (GSH, GPx, GST) et des paramètres de la peroxydation lipidique dans le plasma et les érythrocytes.

Le but de ce travail est de mettre en évidence les variations du bilan lipidique au cours de l'hypothyroïdie et d'identifier le déséquilibre de la balance oxydant/ antioxydant par le dosage des paramètres lipidiques, et de quelques marqueurs du statut pro oxydant (MDA,) et aussi antioxydant (GSH,) chez une population atteintes d'hypothyroïdie, en comparaison avec une population saine.

A decorative rectangular frame with ornate, symmetrical scrollwork at the corners. The text "Partie Théorique" is centered within the frame in a black, italicized serif font.

Partie Théorique



CHAPITRE I

*Notions d'anatomie et
physiologie
thyroïdienne et
hypothyroïdienne*

I-1-Anatomie, Histologie

La thyroïde est une glande endocrine impaire (figure1) constituée par deux lobes en forme papillon réunis par un isthme reposant devant la face antérieure de la trachée .chaque lobe mesure 4 cm de longueur sur 1 à 2 cm de largeur et reposant de part et d' autre de la trachée en règle générale . la glande pèse environ 30g ,richement vascularisée ;elle reçoit entre 80 et 120 ml du sang par minute (Léchère et al ; 2001 ; Tortora et al ; 2007).

Sur le plan histologique la thyroïde est constituée de lobules ; les lobules sont eux - mêmes divisés en 20 à 40 follicules .ce follicule thyroïdien, ou vésicule, est l'unité anatomique et fonctionnelle. On en trouve environ trois millions dans une adulte (tortora et al 2007) (figure 2) ces follicules sont constitués d'une paroi formé d'un épithélium délimitant un espace rempli par une substance amorphe appelé colloïde .Deux types de cellule composent l' épithélium : les cellules folliculaires proprement dites ou thyrocytes responsables de la synthèse des hormones thyroïdiennes et les cellules c ou para-folliculaires sécrétant la thyrocalcitonine. Les thyrocytes sont définis comme des cellules polarisées, cette polarité est visible également au niveau des organites intracellulaires ; le noyau est localisée dans la partie basale de la cellule, entouré du réticulum endoplasmique avec un appareil de golgi encore au- dessus, orienté vers les microvillosités du pole apical. De plus, comme pour toute cellule sécrétoire le réticulum endoplasmique rugueux et l'appareil de golgi sont particulièrement développés. Les cellules folliculaires sont maintenues entre elles par des jonctions serrées ou tight jonction délimitant un compartiment étanche appelé lumière folliculaire. Ces jonctions ne sont retrouvées que du côté apical. Les thyrocytes synthétisent les hormones thyroïdiennes. Leur taille et leur morphologie varient selon l'activité de la glande.

-Une cellule plate est relativement inactive, rencontrée lorsqu' il y'a beaucoup de colloïde dans la lumière folliculaire.

-Une cellule cubique est au contraire en état d'activité (la cellule cylindrique est rencontrée plus rarement, signe d'une hyperactivité).

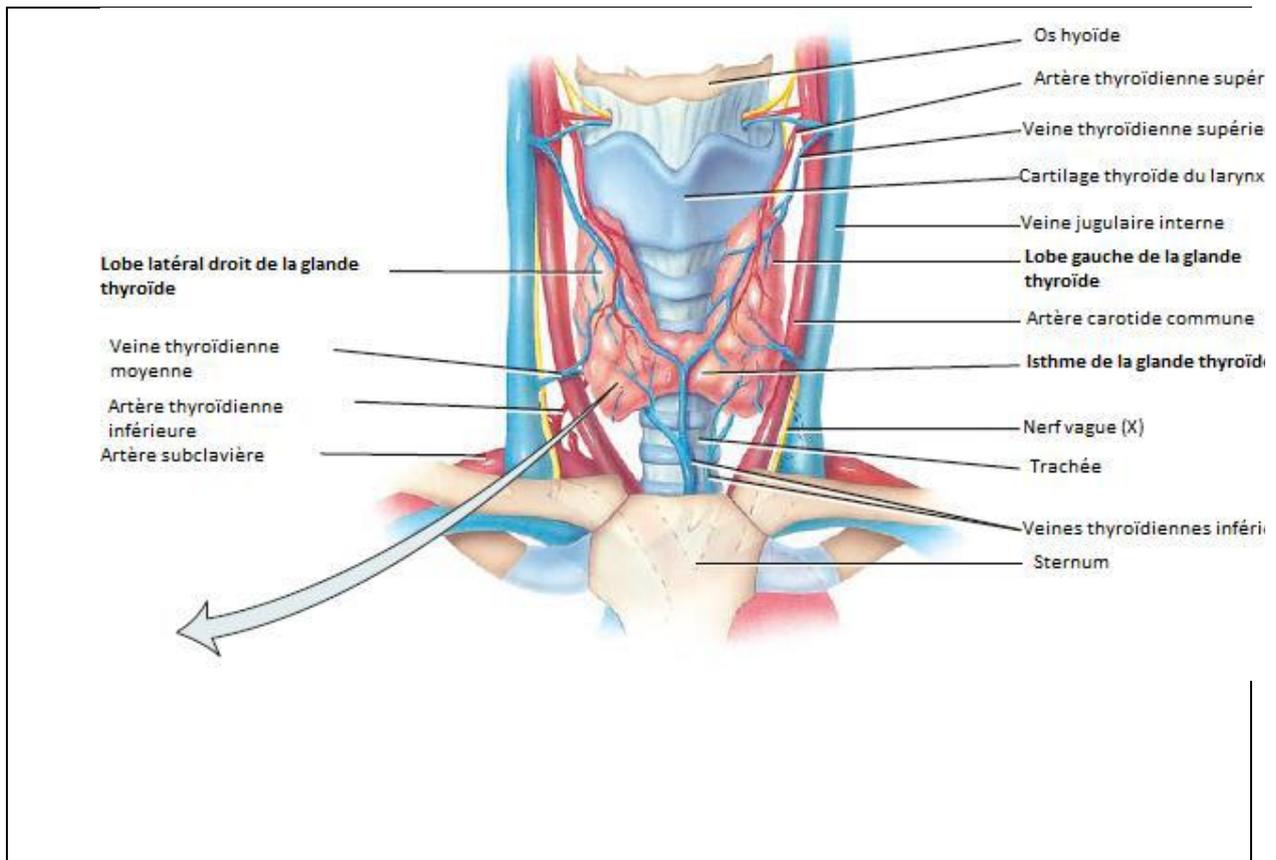


Figure 01. Vue antérieure de la thyroïde (Tortora *et al.*, 2007).

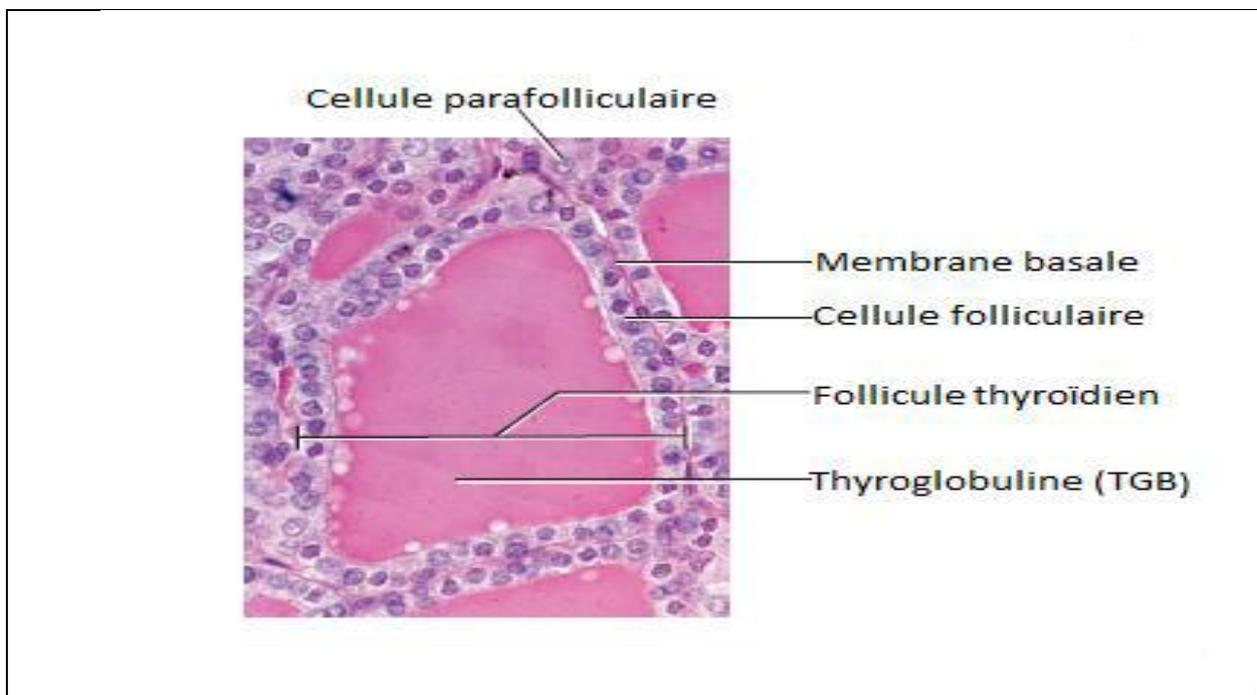


Figure 02. Photomicrographie montrant quelques follicules thyroïdiens (Tortora *et al.*, 2007).

Les cellules folliculaires sont des cellules de l'épithélium simple, posées sur une lame de tissu conjonctif. Leur pole apicale présente des microvillosités pénétrant dans la colloïde, et le pole basal est en contact avec le réseau sanguin.

Les cellules C ou para- folliculaires sont beaucoup moins nombreux que les thyrocytes. Non concernées par l'activité thyroïdienne, elles ne sont pas en contact avec la colloïde, mais touchent les capillaires. Elles secrètent la calcitonine, hormone qui contribue à l'homéostasie du calcium et dont le taux est utilisé comme un marqueur spécifique du cancer médullaire de la thyroïde.

I.2. La physiologie de la glande thyroïde

I.2.1. Biosynthèse des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes (HT) contrôlent le métabolisme général de l'organisme et sont essentielles au développement du système nerveux central.

Deux constituants sont essentiels dans la composition des hormones thyroïdiennes : l'iode et thyroglobuline.

L'iode est le constituant essentiel à la synthèse des hormones thyroïdiennes. Une thyroïde normale en contient environ 10 g de l'iode, principalement sous forme organique puisque moins de 1 % se trouve sous forme d'iodure I⁻. L'apport en iode est principalement d'origine alimentaire (crustacés et poissons surtout, ou ajouté au sel de table). Il existe également une production endogène d'iode par désiodation périphérique et intra- thyroïdienne des hormones thyroïdiennes. L'iode circule dans le plasma sous forme d'iodure, et est majoritairement éliminé par voie urinaire (60 %) (Gallois, 2008).

La glande thyroïde produit les hormones T₄ et T₃ qui sont des iodo thyronines (elles nécessitent de l'iode pour leur synthèse) et la thyrocalcitonine qui ne nécessite pas d'iode pour sa production.

Les T₄ (90 % de la sécrétion thyroïdienne) sont en fait inactives et représentent une réserve hormonale. Prête à se faire convertir en T₃ active (seulement 10% de T₃ sont sécrétées directement par la thyroïde). T₁ et T₂ sont des pré-hormones qui permettent la fixation de l'iode et qui en se couplant dans la glande, donnent T₃ et T₄. Cette conversion s'effectue par le foie et les reins. L'enzyme responsable de cette conversion, la thyroperoxydase (TPO), nécessite du sélénium pour son bon fonctionnement.

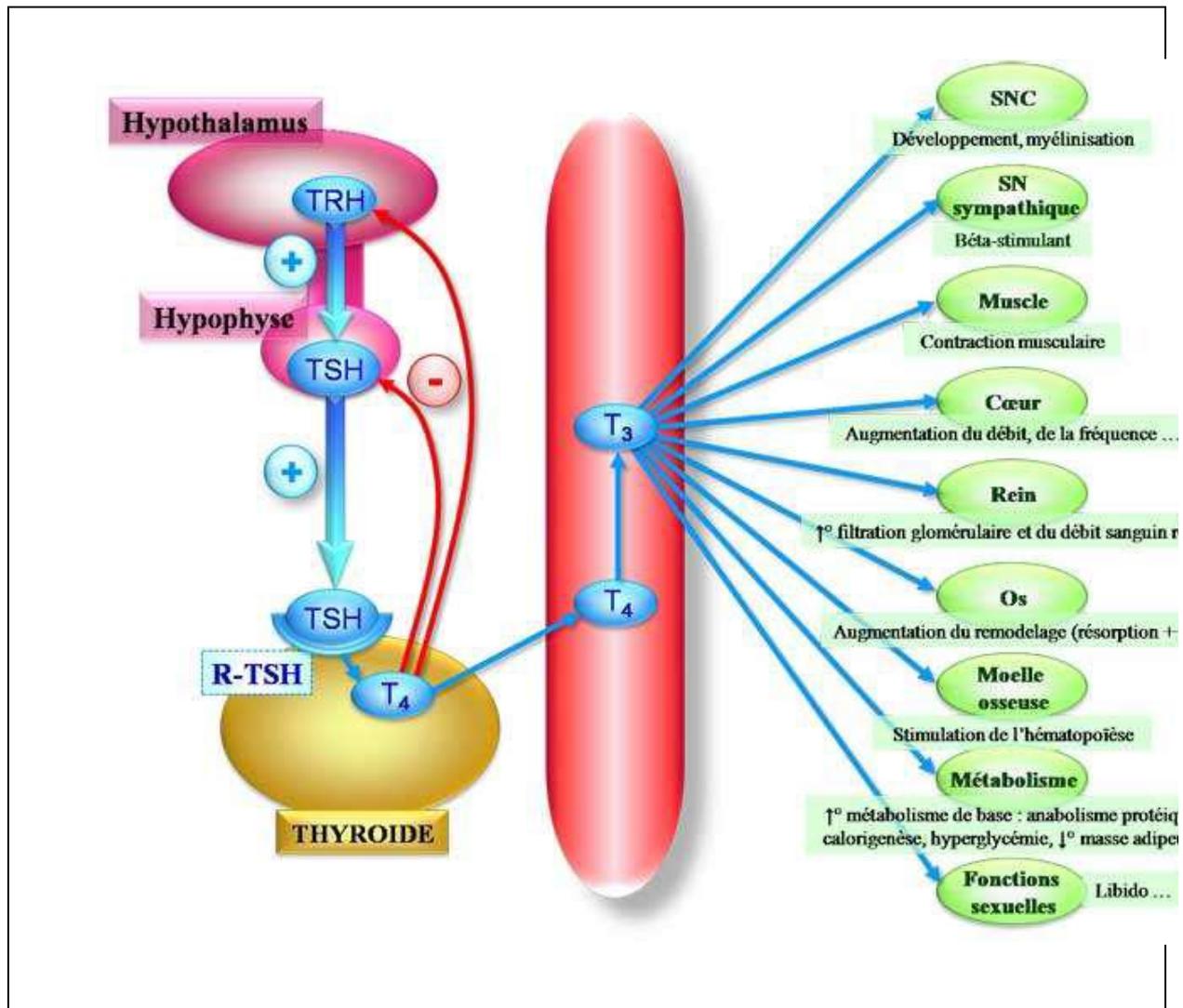


Figure03. Axe hypothalamus hypophysaire thyroïde et rôles multiples des hormones thyroïdiennes (Gallois, 2008).

I.2.1.1.Effets des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes ont des effets multiples, métaboliques et tissulaires.

Elles règlent le développement, et l'organogenèse de l'organisme. Tous les tissus répondent d'une façon ou d'une autre à leur action. Elles stimulent ou inhibent l'activité d'un grand nombre d'enzymes.

- Effet sur le développement

Cet effet s'observe sur la croissance et la différenciation. La croissance est définie comme une augmentation de la masse totale de l'organisme. Elle peut résulter soit de l'augmentation de la taille des cellules due à la synthèse des protéines ou de matériels de réserves soit à une augmentation des mitoses cellulaires, la différenciation correspond à

l'ensemble des modifications complexes qui conduisent à la diversification de la structure et des fonctions cellulaires et à la morphogenèse de l'organisme.

- Effet sur le système nerveux central :

Un déficit en hormones thyroïdiennes pendant la vie utérine entraîne un retard de croissance du cortex et du cervelet et conduit à une arriération mentale (crétinisme) si le déficit n'est pas reconnu et traité à la naissance.

- Effet sur les muscles squelettiques :

La carence en hormones thyroïdiennes entraîne une augmentation du volume et de la croissance des muscles squelettiques donc la contraction est ralentie.

- Effet cardio-vasculaire :

Les HT augmentent le débit vasculaire et surtout le rythme cardiaque. Elles imitent un état hyper adrénergique en stimulant les récepteurs B-adrénergique du myocarde.

- Effet sur le système digestif :

Les HT augmentent la motricité intestinale, le débit sanguin intestinal, et l'absorption intestinale (Perez Martin, 2007).

I-2-2- Sécrétion des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes synthétisées sont, soit stockées dans la thyroïde, soit libérées dans la circulation sanguine où elles sont prises en charge par des protéines de transport (Broadley *et al.*, 2000). La thyroglobuline iodée contenant les hormones T3 et T4 est capturée par endocytose par le thyrocyte, et forme des compartiments intracellulaires dans lesquels elle est en contact avec des enzymes lysosomales. Les hormones T3 et T4 sont libérées dans le cytoplasme par protéolyse. Les Mono iodo thyronine et les Di iodothyronine sont rapidement désiodés par une iodotyrosine désiodase. Les hormones passeraient du cytoplasme aux capillaires sanguins par diffusion passive ou grâce à des protéines transporteuses encore non identifiées (figure4).

Les hormones thyroïdiennes plasmatiques, du fait de leur caractère lipophile, sont transportées dans le sang, liées à des protéines. Ces protéines de transport sont la TBG (thyroidbinding globulin), l'albumine et la transthyréline qui peuvent être spécifiques aux tissus (Visser *et al.*, 2008). Seuls les 0,04 % de la T4 (T4L) et les 0,5 % de la T3 (T3L) sont

sous forme libre (Gallois, 2008). La quantité de tétraïodothyronine (T4) synthétisée est trois fois plus importante que celle de la tri-iodothyronine (T3) alors qu'elle est beaucoup moins active.

La T4 est en réalité un précurseur de la T3, avec une demi-vie beaucoup plus longue (environ 7 jours contre 36h). Au niveau des organes, 20% de la T3 utilisée sont d'origine thyroïdienne, le reste provenant de la désiodation de la T4.

Une fois à l'intérieur des cellules, la thyroxine peut être convertie en T3, T3 reverse (T3r), ou diiodothyronine (T2) par déiodinases (types D1, D2, et D3) en fonction du type cellulaire, les caractéristiques génétiques, et le statut hormonal de l'individu (Drigo & Bianco, 2011). Le D1 et D2 déiodinases peuvent convertir la T4 en T3, mais la fonction de D3 est d'inactiver les hormones thyroïdiennes par conversion de T3 en T3r (Dentice & Salvatore, 2011).

Les hormones thyroïdiennes agissent sur deux types de récepteurs d'hormones thyroïdiennes (TR α et TR β) (Zoeller *et al.*, 2007) situés dans le cytoplasme et sont transportés dans le noyau (Davis *et al.*, 2008). Les récepteurs des hormones thyroïdiennes se lient aux éléments de réponse de la thyroïde et en collaboration avec les hormones thyroïdiennes agissent comme des facteurs de transcription dont la fonction est en outre modulée par des Co-activateurs et des co-répresseurs (Zoeller *et al.*, 2007).

1-2-3- Régulation de la synthèse des hormones thyroïdiennes

Il existe plusieurs mécanismes de contrôle de la synthèse hormonale ; le plus important se situe au niveau central. La synthèse des hormones thyroïdiennes est sous le contrôle d'une hormone de nature glycoprotéine appelée Thyroïd Stimulating Hormone ou TSH, sécrétée par l'antérophypophyse. Les récepteurs de la TSH se trouvent sur la membrane des thyrocytes. Ce sont des récepteurs couplés à une protéine G. La liaison à ces récepteurs active une adénylcyclase et la phospholipase C, ce qui stimule toutes les étapes du métabolisme de la thyroïde : captation de l'iode, synthèse de la thyroglobuline et de la thyroperoxydase, et la synthèse hormonale (Blanchard, 2009). La TSH est sous le contrôle de l'hypothalamus, puisque sa sécrétion est stimulée par la TRH (Thyrotropin Releasing Hormone). La T3 et la T4 exercent quant à elles un rétrocontrôle négatif, leur augmentation entraîne une diminution de la sécrétion de la TRH et une moindre sensibilité de l'antérophypophyse (Shupnik *et al.*, 1989; Gallois, 2008)

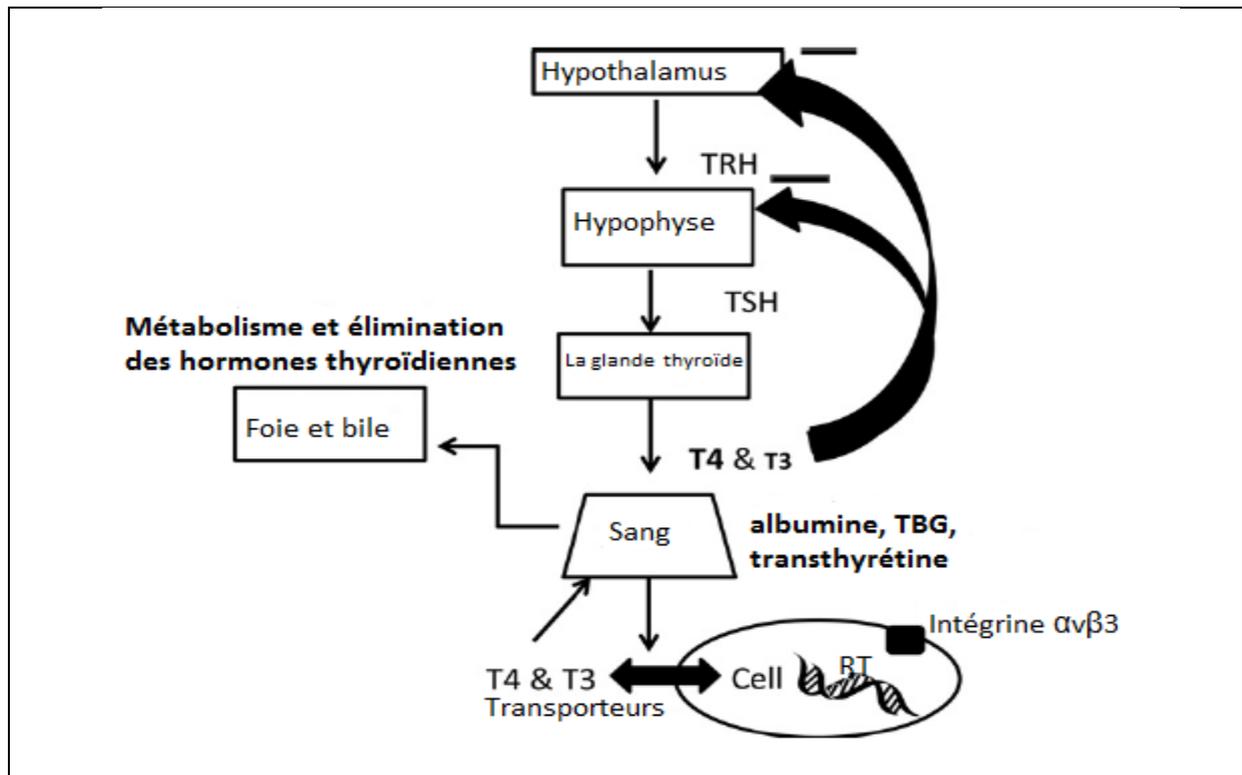


Figure04. Régulation de la production des hormones thyroïdiennes (Schlenker, 2012).

TRH: Thyrotropine Releasing Hormone, TSH: Thyroid Stimulating Hormone, TBG thyroidbinding globulin, RT: Récepteurs des hormones thyroïdiennes.

I-3 - Hypothyroïdie

I-3-1- Définition

L'hypothyroïdie correspond à une insuffisance sécrétrice des hormones thyroïdiennes par la thyroïde. Elle peut également résulter d'un blocage de la synthèse des hormones thyroïdiennes d'origine congénitales ou médicamenteuse (iode anti thyroïdiens) ou encore être secondaire à l'absence de stimulation par la TSH hypophysaire.

Ceci provoque une augmentation en retour de la sécrétion de TSH par l'hypophyse qui entraîne la formation d'un goitre. (Figure 05).

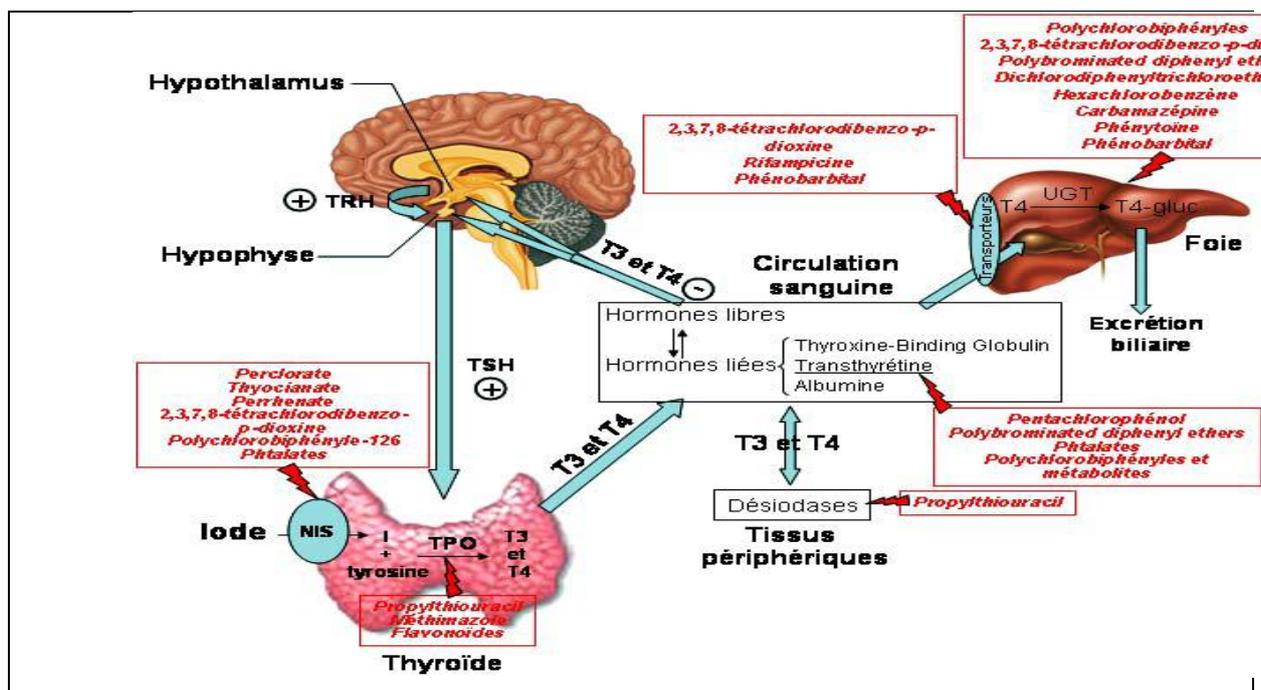


Figure05. Sites d'interaction potentiels de xénobiotiques sur la fonction thyroïdienne.

Les signes cliniques généraux de l'hypothyroïdie sont nombreux : visage bouffi (myxœdème) à cause de l'infiltration de substances mucco-protéiques dans la peau ; gain de Poids ; asthénie ; état dépressif ; constipation ; perte de cheveux ; pâleur de la peau ; mains trapues ; bradycardie et hypertension artérielle ; ostéoporose ; baisse de l'acuité mentale et visuelle. Les signes buccaux sont : lèvres épais et grosse langue saillante ; âge osseux déficient ; retard d'éruption des dents ; malocclusions. (figure06).

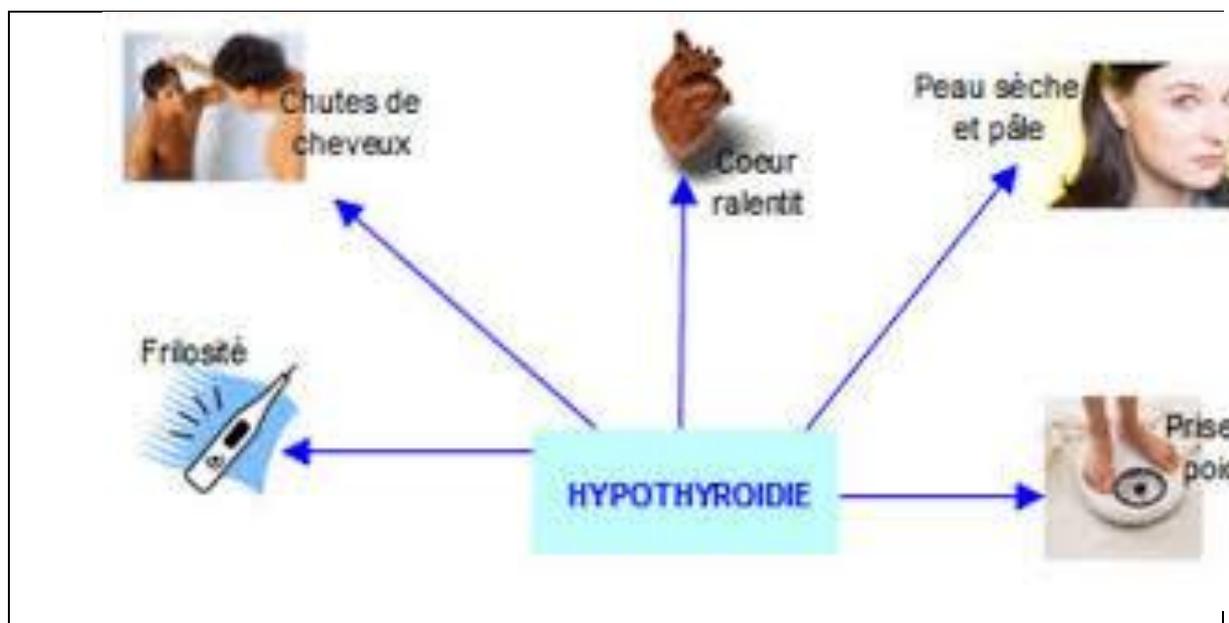


Figure06. Les signes cliniques généraux de l'hypothyroïdie (Willem, 2010)

Les signes biologiques sont : hypercholestérolémie ; anémie ; hypoglycémie La recherche d'anticorps anti-péroxydase est utile en cas de détection de mécanisme auto-immun.

On distingue l'hypothyroïdie clinique (ou patente) qui associe les signes cliniques et la biologie perturbée (prévalence estimée à moins de 1%), de l'hypothyroïdie infra-clinique (ou fruste) qui associe une symptomatologie fruste ou absente avec une biologie perturbée (prévalence estimée de 4 à 8 %).

On distingue également l'hypothyroïdie primaire de l'hypothyroïdie secondaire et tertiaire.

L'hypothyroïdie primaire, ou atteinte primitive de la glande thyroïde, montre des dosages de TSH, T3 et T4 plus basses que la normale. Ou bien la glande ne produit pas assez d'hormones ou bien l'apport d'iode est insuffisant.

L'hypothyroïdie secondaire, ou centrale, ou hypophysaire, où l'hypophyse ne produit pas assez de TSH pour stimuler la thyroïde. Les valeurs de TSH, T3 et T4 sont là elles aussi plus basses que la normale.

L'hypothyroïdie tertiaire révèle une anomalie au niveau de l'hypothalamus qui ne produit pas assez de TRH. L'hypophyse n'est alors pas assez stimulée. TRH, TSH, T3 et T4 sont plus basses que la normale.

On parle d'hypothyroïdie congénitale lorsque l'anomalie est présente dès la naissance. Sa prévalence est de 1/3500 nouveau-nés. Elle est le plus souvent due à une dysgénésie thyroïdienne, elle provoque un retard mental réversible. On parlera alors de crétinisme, souvent localisé dans les régions montagneuses, loin des mers, pauvres en iode. Elle peut être permanente ou réversible si un traitement est instauré dans les deux premières semaines de vie, afin d'aider le nouveau-né à développer tout son potentiel intellectuel. Cette anomalie est dépistée systématiquement en France.

I-3-2- Différents origines de l'hypothyroïdie :

I-3-2-1- L'hypothyroïdie d'origine thyroïdienne

L'hypothyroïdie primaire concerne 0,4% de la population générale, en particulier les femmes à des périodes comme la grossesse, le post-partum, ou encore la ménopause (Willem, 2010).

Selon l'origine de l'hypothyroïdie on distingue :

A. Les hypothyroïdies d'origine auto-immune

Une hypothyroïdie spontanée est fréquemment due à une auto-immunité. L'atteinte thyroïdienne peut être isolée, ou atteindre d'autres organes provoquant un diabète de type I, une insuffisance surrénalienne, une ovarite auto-immune, etc...

On distingue :

- la thyroïdite lymphocytaire chronique à forme atrophiant ou myxœdème idiopathique post-ménopausique. La thyroïde s'atrophie progressivement, provoquant une hypothyroïdie irréversible.

- la thyroïdite de Hashimoto dans laquelle l'hypothyroïdie apparait le plus souvent progressivement.

- la thyroïdite auto-immune asymptomatique (sans goitre ni anomalie hormonale), qui est biologiquement caractérisée par la présence d'anticorps antithyroïdiens.

B. La thyroïdite du post-partum

L'hypothyroïdie apparait autour du cinquième mois après l'accouchement dans 5 à 10% des cas. Elle fait suite à une courte période d'hyperthyroïdie.

Elle se résout spontanément dans la grande majorité des cas en quelques semaines ou mois, mais la thyroïde s'atrophie dans environ 1 fois sur 10, rendant l'hypothyroïdie définitive.

C. L'hypothyroïdie par anticorps bloquants

Plusieurs dizaines d'années après une hyperthyroïdie dues à la maladie de Basedow, l'hypothyroïdie s'installe fréquemment, causée par des anticorps anti-récepteurs de la thyroïde non pas stimulants, mais bloquants.

D. La thyroïdite subaiguë De Quiévrain

Dans la phase aigüe de thyroïdite, il s'agit d'une thyrotoxicose. Mais en phase de récupération, l'hypothyroïdie peut se rencontrer pendant quelques semaines ou quelques mois, rarement définitivement.

E. Les hypothyroïdies d'origine iatrogène

Elles se rencontrent après des traitements chirurgicaux ou médicamenteux.- après post-thyroïdectomie totale ou partielle. Dans le premier cas, elle sera définitive, imposant une hormonothérapie substitutive. Dans le deuxième, l'effet est variable selon le volume thyroïdien retiré.

- après traitement par iode radioactif, une hypothyroïdie transitoire peut survenir dans les semaines qui suivent et qui peut-être définitive parfois plus de 10 ans après le traitement.- après radiothérapie de la région cervicale (cancer ORL par exemple), l'hypothyroïdie est possible encore des années après. - après traitement par l'amiodarone (CordaroneR), dont un comprimé apporte plus de 500 fois la quantité d'iode journalière recommandée. Elle disparaît généralement après l'élimination de la surcharge iodée.

- sous traitement par le lithium (troubles maniaco-dépressifs), dans environ 10% des patients, surtout chez les femmes. Le lithium inhibe la lyse de la thyroglobuline et diminue donc la production d'hormones thyroïdiennes.

I-3-2-2- L'hypothyroïdie d'origine centrale

Beaucoup plus rare que l'hypothyroïdie d'origine thyroïdienne, l'hypothyroïdie d'origine centrale est rarement isolée et s'accompagne d'autres troubles hypophysaires. La thyroïde fonctionne au ralenti par défaut de stimulation hypothalamus-hypophysaire (Gallois ; 2008).

La forme ultime de l'hypothyroïdie, rarement rencontrée à notre époque, est le coma Myxœdémateux.

Il se présente comme un coma de profondeur variable, aréflexique mais avec des crises de convulsion dans presque 1 cas sur 5. L'hypothermie est associée à une bradycardie et à une bradypnée. Sa mortalité est proche des 20% (Willem, 2010).

Le tableau 1 représente les différentes manifestations liées à l'hypothyroïdie.

Tableau1 : Conséquences de l'hypothyroïdie sur différentes fonctions et organes (Métais, 1989).

Fonctions et organes	Conséquences de l'hypothyroïdie
Consommation d'oxygène (foie, rein, muscles squelettiques et cardiaque)	↓ du métabolisme de base
Muscles squelettiques	Faiblesse, hypotonie, Hypotrophie
Appareil cardiovasculaire	↓ du débit cardiaque ↓ de la tension artérielle ↓ du pouls
Tube digestif	↓ de l'appétit ↓ du transit intestinal ↓ de la vitesse d'absorption de certains nutriments
Thermogénèse	Hypothermie, frilosité, thermophile
Croissance staturo-pondérale	Taille réduite ↑ masse corporelle
Tissu cutané	Myxœdème, Peau sèche et froide



CHAPITRE II

*Physiopathologie de
L'hypothyroïdie*

II-1- Hypothyroïdie et métabolisme

Les hormones thyroïdiennes influencent le fonctionnement de presque tous les organes du corps et tout dysfonctionnement produit d'importants troubles métaboliques (Liakopoulos *et al.*, 2009). Leurs rôles dans l'homéostasie métabolique est capital, d'une manière générale, les hormones thyroïdiennes stimulent la lipolyse, la glycolyse et la gluconéogenèse en favorisant l'utilisation des glucides par les tissus périphériques. De plus ces hormones stimulent la calorigenèse en augmentant la consommation d'oxygène par les cellules grâce à leurs actions stimulatrices de la croissance et du développement mitochondrial (Piketty, 2001). Toutes variations très subtiles de l'activité de la thyroïde vont avoir des conséquences majeures sur l'ensemble de l'organisme (Nøhr *et al.*, 2000).

II-1-1-Le métabolisme des protéines

Les protéines sont des polymères linéaires d'acides aminés unis par une liaison amide, dite liaison peptidique, établie entre le groupement α -carbonyle de l'un et le groupement α -aminé du suivant. Les acides aminés sont assemblés par les ribosomes au cours de la traduction de l'ARN lui-même issu de la transcription de l'ADN. Plusieurs protéines peuvent être codées par un même gène, donc un organisme possède une très grande diversité de protéines. Les protéines comptent entre 100 et 2 000 résidus d'acides aminés et leur poids moléculaire moyen est compris entre 11 000 et 220 000 Daltons.

Les hormones thyroïdiennes augmentent la synthèse protéique, mais ont également un effet catabolisant. (Abdel-nasser ibrahimi ,2016).

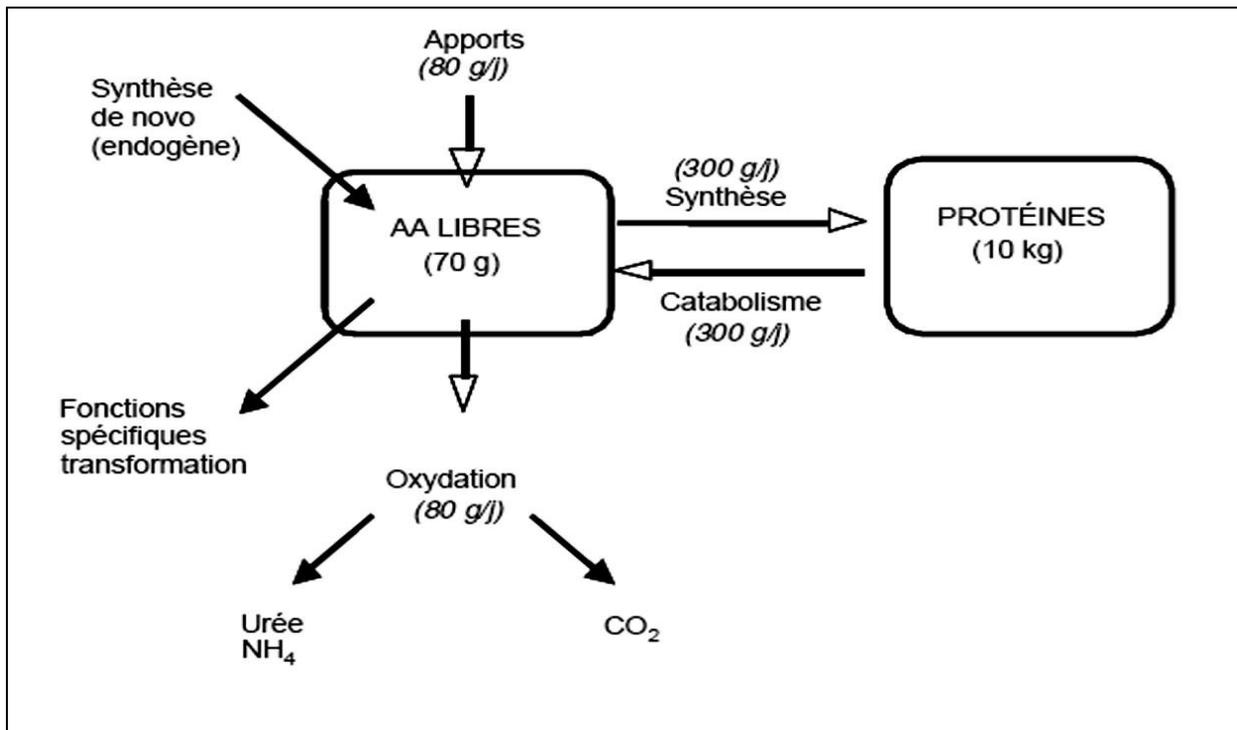


Figure07. Synthèse de protéine

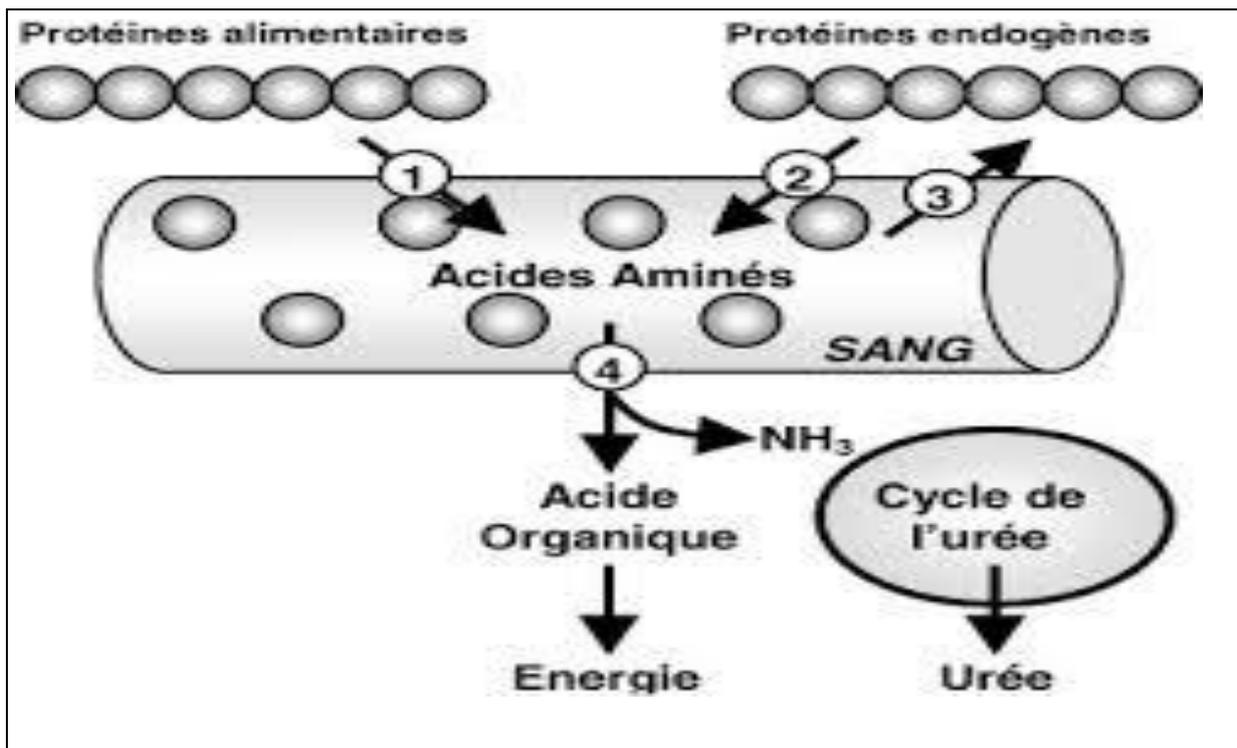


Figure08. Dégradation des protéines

II-1-2-Anomalie de métabolisme protéique causé par l'hypothyroïdie

Il existe un ralentissement de la synthèse protéique. Au niveau des cardiomyocytes, la conséquence est un ralentissement de la synthèse protéique entraîne une diminution de la force contractile associée à une bradycardie (Biondi & Klein, 2004).

La carence en hormones thyroïdiennes entraîne également une augmentation de volume des muscles squelettiques suite à l'infiltration des substances mucoïdes. La décontraction et la relaxation musculaires sont ralenties, on parle de la myopathie hypothyroïdienne (Madariaga *et al.*, 2002).

II-1-3-Le métabolisme des lipides

Les lipides sont les macronutriments qui constituent les graisses animales et végétales. Il existe différents types de lipides, classés en fonction de leur structure. On retrouve, tout d'abord les lipides simples, les hormones thyroïdiennes augmentent la synthèse du cholestérol mais le catabolisme est encore plus accéléré. Aussi .devant toute hyper-cholestérolémie, il convient de rechercher des signes d'hypothyroïdie. (ABDEL-NASSER IBRAHIMI ,2016)

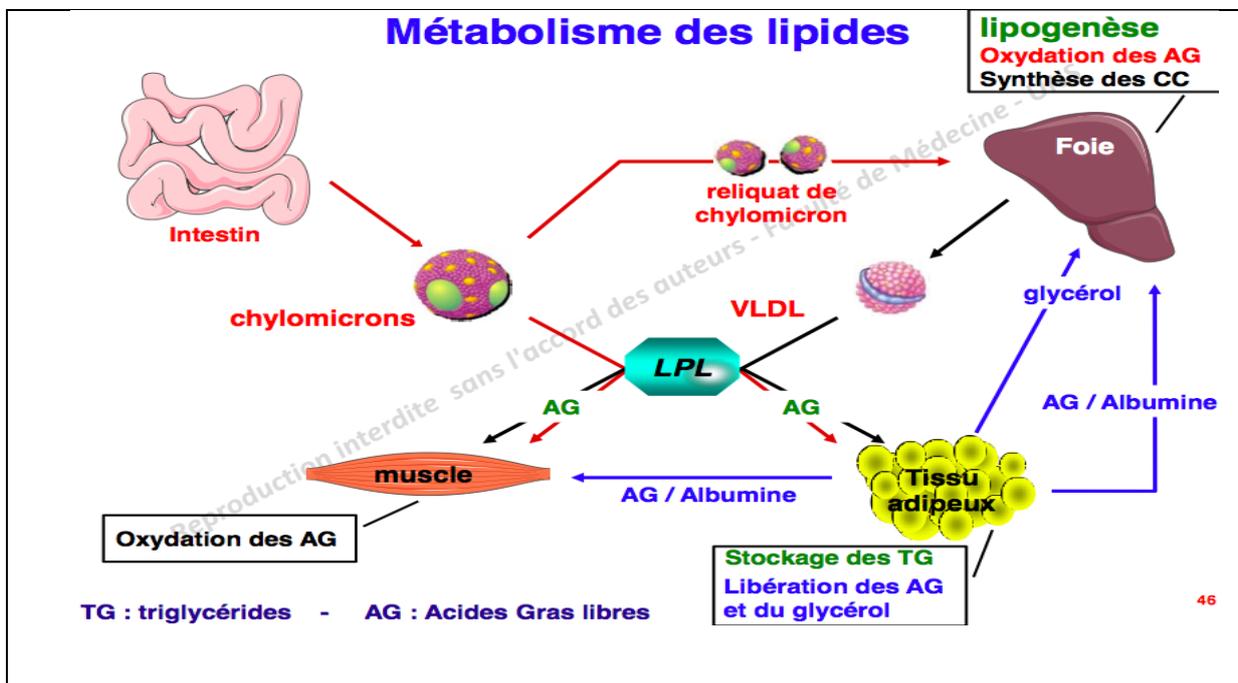


Figure09. Métabolisme des lipides – Lipogénèse-

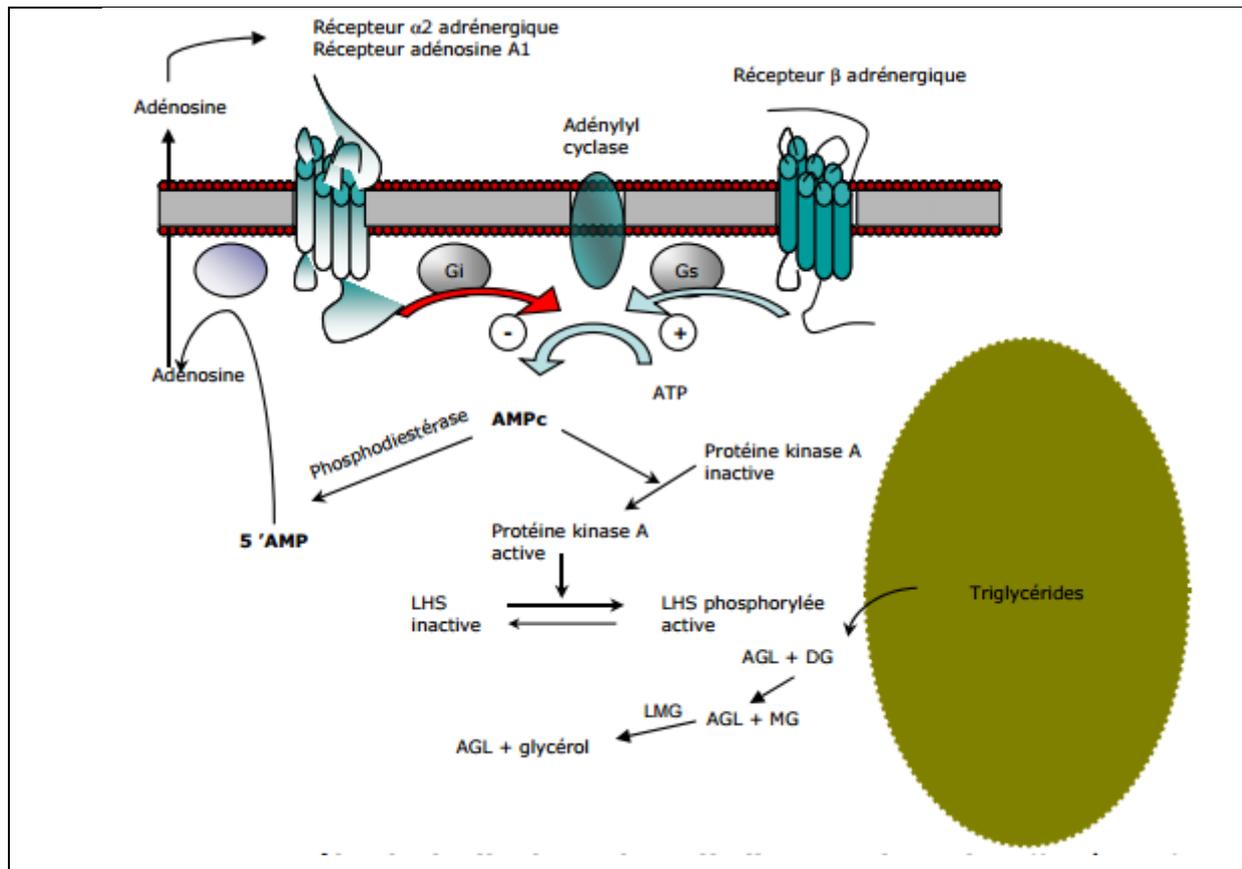


Figure 10. Contrôle de la lipolyse dans l'adipocyte humain, d'après Valet. P et Richard.

D.

II-1-4-Anomalie de métabolisme lipidique causé par l'hypothyroïdie

Sur le métabolisme lipidique : Une hypercholestérolémie est observée lors de l'hypothyroïdie. L'hypothyroïdie sévère peut aboutir à une diminution de l'activité lipoprotéine lipase, entraînant une augmentation des lipoprotéines VLDL et des triglycérides (Duntas, 2002; Rush *et al.*, 2006; Teixeira *et al.*, 2008).

II-1-5-Le métabolisme des glucides

Les glucides sont généralement bien absorbés en dehors du fructose qui consommé seul, à dose importante (supérieure ou égale à 50 g) peut entraîner chez certains sujets une malabsorption accompagnée de troubles digestifs.

Une proportion de 50 à 55 % de l'apport énergétique de l'alimentation devrait être apportée sous forme de glucides.

Les hormones thyroïdiennes sont hyper-glycémiantes (elles majorent l'absorption intestinale de glucides et favorise la production hépatique de glucose) (**Abdel-nasser ibrahimi**, 2016).

II-1-6-Anomalie de métabolisme glucidique cause par l'hypothyroïdie

Sur le métabolisme glucidique : les troubles de l'équilibre glucidique sont la conséquence du ralentissement de l'absorption des glucides au niveau de la muqueuse intestinale et une réduction de son utilisation au niveau périphérique entraînant une hypoglycémie.

II-2-Implication du stress oxydant dans l'hypothyroïdie

II-2-1-Rappel sur le stress oxydant

II-2-1-1-Définition

Le stress oxydatif se définit comme un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et leur élimination par le système de défense antioxydant (J.haleng et al ; 2007).

Ce déséquilibre peut provenir de diverses origines : inflammation, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro oxydants (tabac, alcool, médicaments rayons gamma, rayons ultraviolets, pollution atmosphérique, métaux toxiques) (Valko *et al.*, 2007)

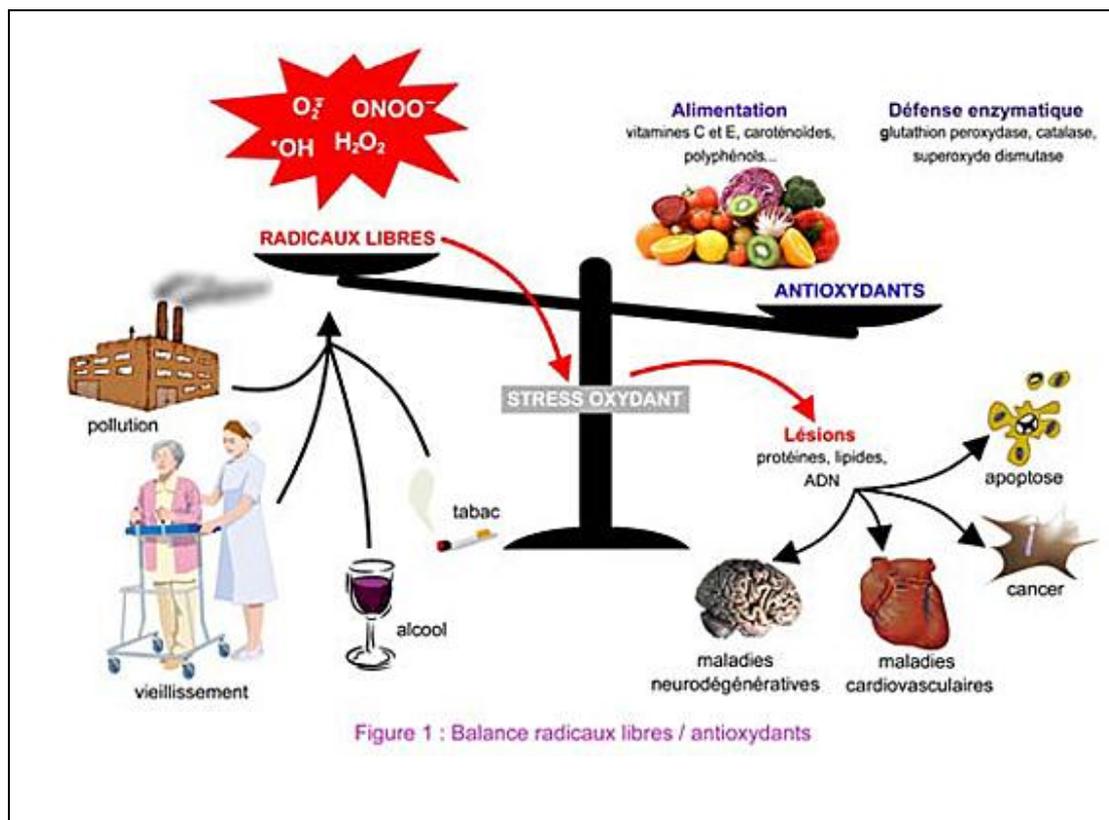


Figure11. Balance radicaux libres /antioxydants

II- 2-1-2-Les pro oxydants

II- 2-1-2- 1-Les Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les espèces réactives de l'oxygène et les radicaux libres sont des entités chimiques, molécules, fragments de molécule, ou simple atomes possédant un ou plusieurs électrons célibataires (électrons non apparié sur une orbitale), ce qui leurs confèrent une grande réactivité (Cesar ; 2012). En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé (Système redox) Les principales ERO entrant dans les processus physiopathologiques humains sont regroupés dans le tableau 2 :

Tableau 2 : Les principales espèces réactives de l'oxygène.

Espèces réactives	Réaction de formation	Propriétés
L'Anion Superoxyde (O₂^{•-})	Formé par la réduction mono électrique de l'oxygène: addition d'un seul électron $O_2 + 1 e^- \longrightarrow O_2^{\bullet -}$	C'est le radical le moins réactif mais le précurseur des autres ERO [Koechlin-Ramonatxo. C, 2006].
Le Peroxyde d'Hydrogène (H₂O₂)	Produit à partir de l'anion superoxyde, réaction catalysé par la superoxyde dismutase. [Raccach. D. 2004]. $O_2^{\bullet -} + O_2^{\bullet -} \xrightarrow{SOD, 2 H^+} H_2O_2 + O_2$	La majeure partie de la toxicité de l'eau oxygénée provient de sa capacité à générer le radical hydroxyle (OH [•]) [Gardès-Albert. M et al, 2003].
Le Radical Hydroxyle (OH[•])	formé par la réaction de Fenton à partir d'H ₂ O ₂ en présence de métaux de transition: L'ion ferreux réagit avec le peroxyde d'hydrogène [Goudable. J et al, 1997]. $H_2O_2 + Fe^{2+} \longrightarrow \cdot OH + Fe^{3+} + \cdot OH$	Le radical hydroxyle (°OH) est le radical le plus avide d'électron et le plus dangereux pour l'organisme [Gardès-Albert M, 2003].
Le Monoxyde d'Azote (NO)	Le NO est formé à partir de l'un des deux atomes d'azote terminal du groupement guanidine de la L-arginine, d'une part, et de l'oxygène moléculaire (O ₂) d'autre part en présence de cofacteur: NADH,H ⁺ , réaction catalysé par les NO synthase (Nos) [Sabry. S et al, 1996].	Le NO est un radical libre qui est surtout réputé pour ses propriétés physiologiques (agit sur le tonus vasculaire) [Barouki. R, 2006].
Le Peroxynitrite (ONOO⁻)	En l'absence d'une quantité suffisante de cofacteurs ou de substrat (arginine), les NOS produisent de l'anion superoxyde (O ₂ ^{•-}) plutôt que du NO [•] . L'O ₂ ^{•-} produit lie le NO [•] pour former du Peroxynitrite [Massion. P et al, 2002]	Très réactif et sans doute responsable d'un stress oxydant, Il engendre des oxydations irréversibles et des nitrations diverses (surtouts des résidus tyrosines) [Massion. P et al, 2002]

II- 2-1-2- 2-Espèces Réactive de l'azote :

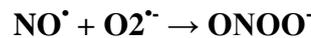
a- Le monoxyde d'azote(NO)

NO[•] provient notamment de la réaction catalysée par la NO synthase mitochondriale (**monts**) entre l'atome d'azote appartenant à la L-Arginine (un acide aminé) et une molécule d'oxygène (Ghafourifar et Cadenas., 2005 ; Sisein., 2014).

NO[•] est peu réactif et diffusible dans les milieux biologiques. Il est oxydable en ion nitrosonium NO⁺ et peut être réduit en ion nitroxyle NO⁻. De plus, NO[•] peut être produit par la NOS endothéliale et possède dans ce cas des capacités vasodilatatrices au niveau cardiovasculaire.

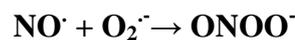
Cependant, le NO[•] n'est pas dénué de toxicité car il est capable de générer des ions nitrites (NO₂⁻) ou de fixer un groupement nitroxyle sur les acides aminés, comme la tyrosine, pour générer la nitrotyrosine. Lorsque l'on se trouve en présence d'un excès de NO[•], on parle souvent de « *stress nitrant* ».

La réaction de NO[•] avec l'O₂^{-•} entraîne la formation de l'ion peroxy nitrite (ONOO⁻) selon la réaction suivante (**Sertejn et al., 2002;Dedon et Tannenbaum., 2004 ; Sisein,2014**):



a- **Peroxyde nitrite (ONOO⁻)**

Le peroxy nitrite est un oxydant puissant non radicalaire résultant de la réaction du radical NO[•] avec le super oxyde,(**Delattre., 2003**):



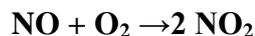
ONOO⁻ est non radicalaire, instable (durée de vie < une seconde) et très oxydant. Au pH physiologique, il est en équilibre avec son acide conjugué, ONOOH.



Il se transforme rapidement en nitrites et en nitrates et se décompose en dérivés radicalaires (OH[•], NO₂[•]). Ses réactions avec les biomolécules (principalement des nitrations et des hydroxylations) sont agressives et délétères : attaque des fonctions thiols, des lipides, des bases nucléiques, des fonctions amines sur les protéines, et de beaucoup d'autres molécules de petite taille (urate, ascorbate, etc...). ONOO⁻ attaque les sites à métaux de transition (enzymes hémiques, hémoglobine, Mn/Cu Zn), nitre les cycles aromatiques (tyrosine, tryptophane) et par là les enzymes dont le site actif porte un résidu tyrosyle. La réaction d'ONOO⁻ avec le CO₂ produit du peroxy nitrosocarboxylate (ONOOCO₂⁻) dont les dérivés (NO₂[•] et CO₃[•] ou NO₃ et CO₂) augmentent les événements de nitration (**Sertejn et al., 2002; Kohen et Nyska, 2002; Sisein., 2014**).

b- Dioxyde d'azote (NO₂)

NO₂[•], abondant dans les polluants de l'atmosphère des villes, se formerait aussi in vivo par réaction entre NO et O₂.



NO₂[•] attaque les doubles liaisons des acides gras non-saturés (acide linoléique 18:2 ω 6; α-linolénique 18:3 ω3 et γ-linolénique 18:3 ω 6; acide arachidonique 20:4 ω 6) et transforme ces acides soit de cis-en trans, soit par nitration. Des lipoxygénases transforment l'acide arachidonique en eicosanoïdes (prostaglandines, leucotriènes, thromboxanes, etc....), qui sont des messagers intra et extracellulaires indispensables. Les dérivés nitrés de l'acide arachidonique seraient également des messagers bioactifs.

NO₂[•] s'ajouterait aux doubles liaisons d'autres molécules, arracherait soit un H soit un électron aux molécules voisines. Ces réactions créent des radicaux libres. Comme O₂^{•-} NO₂[•] peut exister assez longtemps dans les espaces intra membranaires aprotiques (Halliwell et Gutteridge., 2008 ; Sisein., 2014).

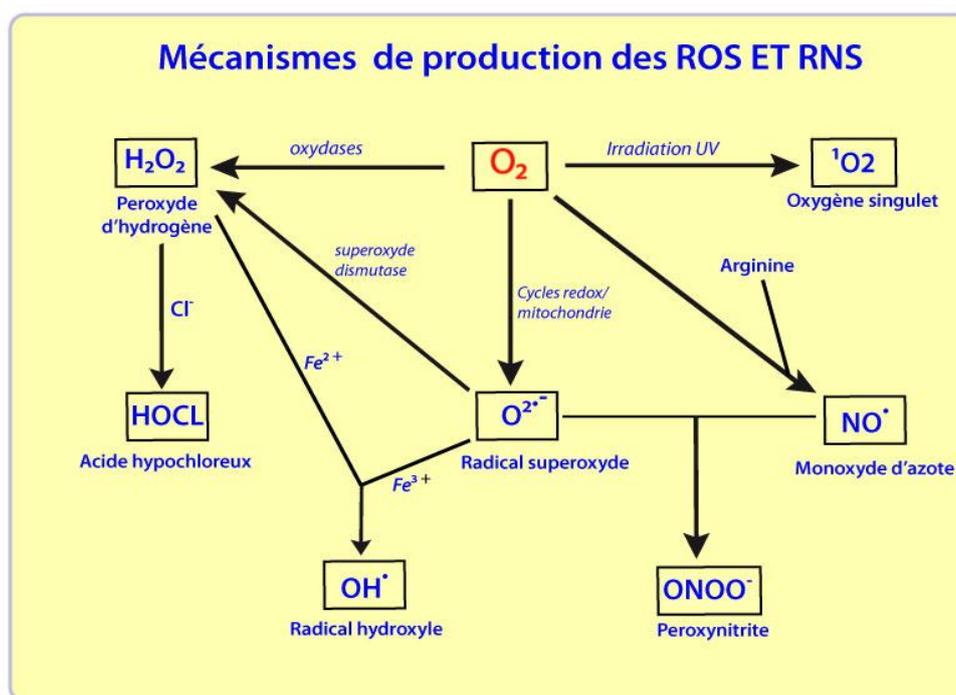


Figure12.Mécanisme de production des ROS et RNS.

II. 2.1.2.3.Moyens de lutte contre les radicaux libres : les antioxydants

Les antioxydants sont définis comme l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement à faibles doses la production, de limiter la propagation ou de détruire les ERO (Favier. A, 2003). Les systèmes antioxydants peuvent être divisés en deux catégories : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques :

II. 2.1.2.3.1. Les Antioxydants Enzymatiques

Les Antioxydants Enzymatiques (le superoxyde dismutase, la catalase, glutathion peroxydase et la glutathion réductase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ERO (figure 06) (**Chavan et Melinkeri., 2013 ; kumaran et al., 2008**).

a. Les superoxydes dismutases (SOD).

Les SOD sont des métalloprotéines (Ghisolfi-Marque et *al.*, 2006), qui permettent l'élimination des anions superoxydes ($O_2^{\cdot-}$) ou tout au moins de les maintenir à un niveau de concentration assez bas, par dismutation en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en une molécule d'oxygène (O_2) (**Gardès-Albert., 2003**)



b. La glutathion peroxydase (GSHPx) :

La GSHPx est localisée dans les milieux extracellulaires, le cytosol et les mitochondries (Ghisolfi-Marque., 2006). Ces enzymes réduisent le peroxyde d'hydrogène et les hydro peroxydes lipidiques en utilisant le glutathion réduit (GSH) sur lequel elles transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG) (**Gardine.,2003**).



c. La Catalase (CAT)

La catalase est une enzyme qui contient du fer. Elle est concentrée dans le foie et les érythrocytes. Elle réduit le peroxyde d'hydrogène en libérant de l'oxygène et de l'eau (**Laurent et al ; 1997 ; Halliwell et Gutteridge., 2008**). Leurs rôles est très important surtout en présence d'ions ferreux en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fentonne.

II. 2.1.2.3.2. Les Antioxydants non enzymatiques :

Les antioxydants non enzymatiques comprennent des molécules qui sont apportés par l'alimentation (exogènes) et autres molécules dont dispose l'organisme (endogènes).

Parmi les antioxydants apportés par l'alimentation on retrouve la vitamine E, une substance liposoluble antioxydante majeure qui agit par rupture de la réaction en chaîne (peroxydation lipidique) au niveau des membranes cellulaires (Lecerf et al., 1994). D'autres vitamines jouent un rôle d'agents réducteurs : la vitamine C (Pincemil. et al., 2002) ainsi que le β Carotène précurseur de la vitamine A et qui a les mêmes fonctions que la vitamine E (Lecerf et al., 1994). Les micronutriments sont aussi des éléments indispensables à l'activité d'enzymes anti oxydantes tels que les superoxydes dismutases pour lesquels le zinc joue un rôle structurel et le cuivre un rôle antioxydant (Favier., 2003).

On ce qui concerne les antioxydants endogènes on retrouve le glutathion qui est un tri peptide et qui possède une fonction thiol qui lui confère un rôle d'antioxydant qu'il exerce vis-à-vis de nombreuses espèces oxydantes (Gardes-Albert., 2003). Le fer et le cuivre sous forme libre étant promoteurs de dommages radicalaires, ces métaux sont séquestrés et transportés grâce à des protéines comme la ferritine, la transferrine ou la céruloplasmine.

L'albumine aussi joue un rôle d'antioxydant grâce à sa cystéine en position 34 qui permet de capturer les ERO. L'acide urique est aussi connu pour être un antioxydant (Izzedine et al., 2011).

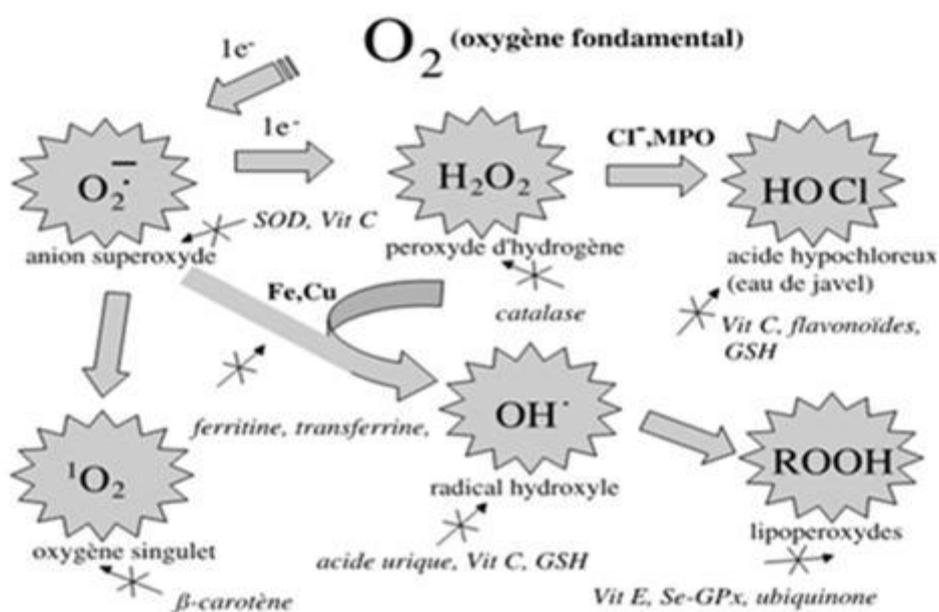


Figure 13. Régulation des ERO par les antioxydants (Pincemil et al., 2002).

II- 2-2- hypothyroïdie et stress oxydant

L'hormone thyroïdienne (T3) exerce des actions significatives sur le métabolisme énergétique, Avec la mitochondrie étant la cible principale pour ces effets calorigénique (**Pallvi mishra ,2012**) une variation dans les niveaux de ces hormones dans les pathologies thyroïdiennes comme l'hypothyroïdie induit un dysfonctionnement de la chaine respiratoire de la mitochondrie qui conduit a la production accélérée de radicaux libres ,ce qui entraine par conséquent le stress oxydatif(**Vendetti et al ,1997**).

A decorative rectangular frame with ornate, symmetrical floral and scrollwork flourishes at each corner. The frame is composed of a solid black line with decorative elements extending outwards from the corners.

Partie expérimentale

I. Matériels et méthodes

I.1. Présentation du site d'étude

L'étude a été réalisée aux niveaux des trois laboratoires suivants :

- Laboratoire Lina, Constantine.
- Laboratoire Elfarabi, Batna.
- Laboratoire Owabdia, Meskiana.
- Laboratoire de biochimie de la faculté des SESNV de L'Université de Larbi tebessi.

I.2. Population d'étude

L'étude a été réalisée sur 150 sujets dont 30 sujets témoins ne présentant aucune maladie et 120 sujets hypothyroïdiens auxquels nous avons dosé les paramètres suivants (chol T, HDL -c, Triglycérides, lipides totaux, calcul de l' LDL-c, FT3, FT4, TSH) et ceci pour faire un choix de 30 sujets hypothyroïdiens pour réaliser un dosage des paramètres de la défense antioxydants plasmatiques et érythrocytaires (figure14).

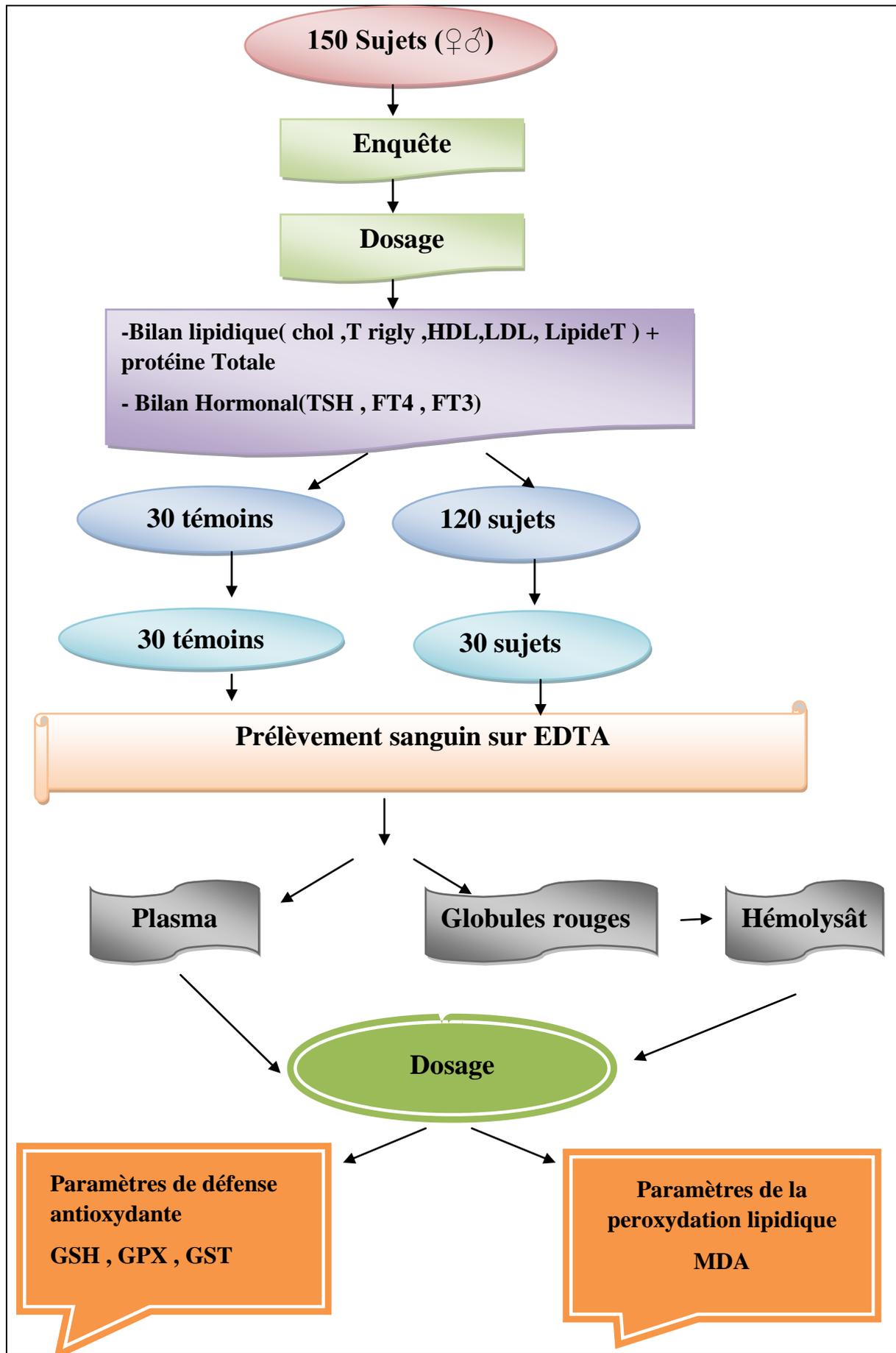


Figure 14. Schéma récapitulatif de la protocole expérimental

I. 3. Déroulement de l'enquête

I.3.1. Pré enquête

Dans le but de s'assurer que les questions sélectionnées soient pertinentes et pouvant apporter l'information recherchée en rapport avec notre problématique, le questionnaire élaboré a été testé en réalisant une pré-enquête (enquête test) auprès de quelques sujets de notre entourage (famille, voisins ...). Cette pré enquête nous a permis d'évaluer la pertinence des questions posées. Les observations et les remarques des sujets interrogés ont été prises en compte, Ainsi le questionnaire définitif est devenu plus clair, compréhensible et adapté au besoin de notre travail.

I.3.2 Déroulement de l'enquête

L'enquête s'est déroulée du 18/02/2018 au 18/04/2018. Après les démarches administratives pour l'obtention de l'autorisation d'accès aux établissements, nous nous sommes présentées et expliqué notre travail aux directeurs et au personnel des établissements concernés.

I.4. Questionnaire

Il s'agit d'un questionnaire d'enquête par entretien. Avant chaque entretien, nous avons expliqué à chaque sujet le but de notre étude. Une fois le consentement obtenu, les sujets sont interviewés. L'entretien se terminait par les mesures anthropométriques (poids, taille).

Ainsi le questionnaire final nous a permis de recueillir les données suivantes :

- L'identification de la personne enquêtée
- Informations sociodémographiques

Cette rubrique est consacrée aux renseignements surs : l'âge, le sexe, profession du patient, le lieu de résidence

- Le tabagisme, l'activité physique et hérédité
- Le poids
- Maladies associées

Ces rubriques sont très importantes pour ce travail parce que nous permet de connaitre si le patient souffre d'autres complications comme le diabète de type II.

I.5. Les méthodes biologiques

I.5.1. Le prélèvement et préparation des échantillons

Le sang prélevé est recueilli dans des tubes sur anti coagulant (EDTA), étiquetés pour chaque patient, puis centrifugés à 2000 tours pendant 10 min.

Le culot est récupéré pour préparer, le lysat érythrocytaire on diluant dix fois avec l'eau distillée glacée (lyse thermique et osmotique), puis incubé pendant 15 min au réfrigérateur (2-

8C°). Celui-ci est centrifugé à 4000 tours pendant 15 min afin d'éliminer les débris cellulaire. Le surnageant récupéré constitue le lysat érythrocytaire qui servira pour le dosage des marqueurs érythrocytaires du statut oxydant/antioxydant.

Le plasma récupéré servira pour le dosage des paramètres antioxydants et le MDA.

I.5.2. Dosage du bilan hormonale

TSH, FT4, FT3 : (thyroestimuline, thyroxine libre, triiodothyronine libre)

La thyroestimuline (TSH) et la thyroxine ont été quantifiées par électro-chimio-luminescence. Il s'agit d'un test automatisé sur le système ELECSYS permettant la mesure quantitative des hormones dans le sérum ou le plasma. Le principe du dosage associe la méthode immunologique (Sandwich) à une détection en luminescence qui repose sur l'utilisation de deux anticorps monoclonaux, un anticorps de capture conjugué à la biotine et un anticorps traceur lié au ruthénium un marqueur luminescent.

- **Etapes du dosage**

1^{re} incubation : une prise d'essai de 10 µl est mise en présence de l'anticorps antihormone (TSH, T4, T3) marqué à la biotine et de l'anticorps marqué au ruthénium. Il se forme un "Sandwich" entre l'hormone et les deux anticorps.

2^{eme} incubation : les microparticules tapissées de straptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison straptavidine-biotine.

Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage dans une solution de lavage.

Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.

Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de référence mémorisée. Le réajustement de la courbe par l'appareil est effectué à l'aide de deux solutions de calibration CalSet.

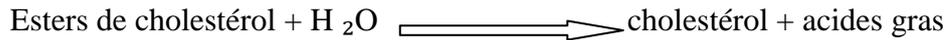
I.5.3. Dosage des paramètres du bilan lipidique

- **Cholestérol**

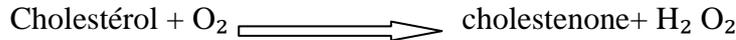
Méthode colorimétrique selon la fiche technique Spinreact.

Le cholestérol présent dans le sérum se transforme en composé coloré selon les réactions suivantes (Naito & Kaplan, 1984) :

Cholestérol estérase



Cholestérol oxydase



POD



Dans un tube sec 10µl d'échantillon (sérum) sont additionnées à 1ml de réactif de travail [R2] (Cholestérol estérase : 300 U/L, Cholestérol oxydase : 300 U/L, Peroxydase (POD) : 250U/L, 4- aminophénazone : 0.4 mmol/l) dissout dans le tampon ; R1 (PIPESpH6.9 : 96 mmol/l, phénol : 26 mmol/l)], agitation, incubation à 37°C pendant 05minutes. Lecture de la densité optique à $\lambda=505$ nm contre un blanc réactif en utilisant un tube étalon.

(A) échantillon

$$[\text{Cholestérol}](\text{mg/dl}) = \frac{\text{---}}{\text{(A) étalon}} \times 200 \text{ (concentration de l'étalon)}$$

Facteur de conversion : $\text{mg/dl} \times 0.0258 = \text{mmol/L}$

• Cholestérol HDL

Les lipoprotéines de très basse densité (VLDL), et de basse densité (LDL) présentent dans le sérum ou le plasma sont précipitées par le phosphotungstate en présence des ions magnésium.

Après centrifugation le surnageant contient les lipoprotéines de haute densité (HDL). Cette fraction (HDL-C) est déterminée en utilisant le réactif et le protocole de dosage du cholestérol total (Naito & Kaplan, 1984 ; Grove, 1979).

Dans un tube sec 100µl de réactif de précipitation des LDL et VLDL (acide phosphotungstique : 14 mmol/l, magnésium chloride : 2 mmol/l) sont additionnés à 1ml de sérum. Agitation puis incubation pendant 10min à température ambiante, centrifugation à 4000 t/min (rpm) pendant 20 min. le surnageant est utilisé comme échantillon pour le dosage du cholestérol T = HDL-c.

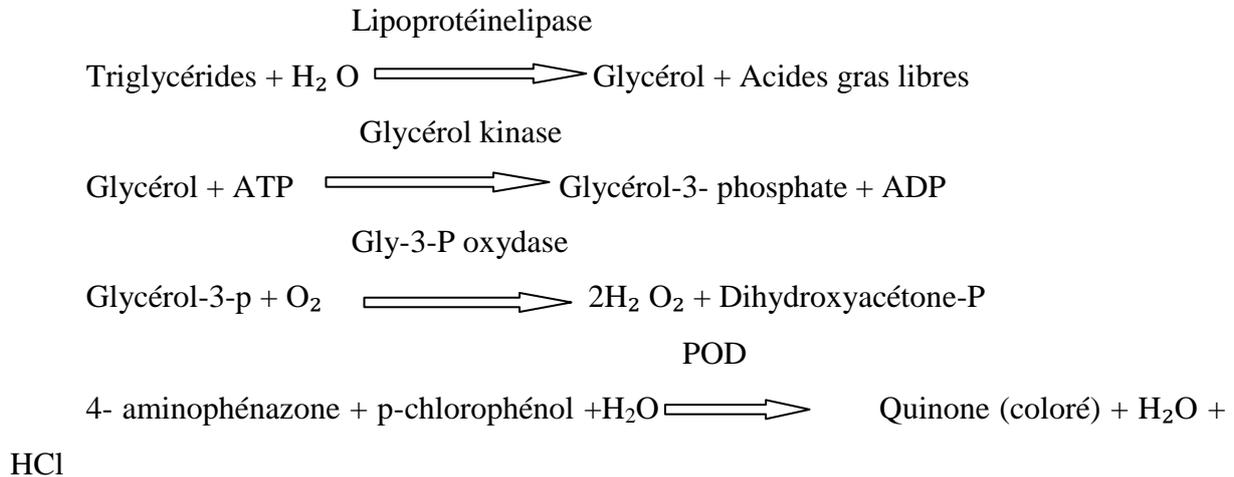
• Cholestérol LDL

Le calcul de LDL-Cholestérol est effectué par la formule de Friedewald (Friedewald *et al.*, 1972).

• Triglycérides

Détermination quantitative des triglycérides sériques par une méthode enzymatique colorimétrique à la GPO- POD selon la fiche technique Spinreact.

Hydrolyse des triglycérides par la lipoprotéine lipases (LPL) avec libération du glycérol et acides gras libres. Le glycérol est convertis en glycérol-3- phosphate et adénosine diphosphate ADP par le glycérol kinase et l'ATP. Le G3P est converti par GPDH en dihydroxyacétone phosphate et H₂O. Ce dernier réagit avec le 4- aminophénazone et pchlorophenol en présence de peroxydase (POD) pour donner une coloration rouge selon les réactions (Bucol, 1973) :



Dans un tube sec 10µl d'échantillon (sérum) sont additionnées a 1ml de réactif de travail [R2 (Lipoprotéine lipase (LPL) :150 000U/L, Glycérokinase (GK) : 500 U/L, Glycérol-3Poxydase (GPO) : 2500 U/L, Peroxydase (POD) : 440 U/L, 4- aminophénazone (4-AP) : 0.1 mmol :l, ATP : 0.1 mmol/l) dissout dans le tampon ; R1(GOODpH7.5 : 50 mmol/l, pchlorophénol : 2mmol/l)], agitation, incubation à 37°C pendant 05 minutes. Lecture de la densité optique à $\lambda=505$ nm contre un blanc réactif en utilisant un tube étalon.

(A) échantillon

$$[\text{Triglycérides}] \text{ (mg/dl)} = \frac{\text{---}}{\text{(A) étalon}} \times 200 \text{ (concentration de l'étalon)}$$

(A) étalon

Facteur de conversion : mg/Dl x 0.0258 = mmol/L.

- **Lipides totaux** : selon la fiche technique Spinreact

a- Principe :

Les lipides totaux forment avec le phosphovainilline et en présence de l'acide sulfurique un complexe coloré, l'intensité de sa couleur est proportionnelle à la concentration des lipides totaux dans les échantillons (35,36).

b-Echantillon : Sérum.

c-Les réactifs utilisés :

Réactifs	Composition	Concentration	R
Phosphovainilline	235 m mol/ L	Etalon	
Lipides totaux	750 mg/ dl	Réactif optionnel	
Acide sulfurique	80%		

d- Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Echantillon
H ₂ SO ₄ (ml)	2,5	2,5	2,5
Etalon (ul)	-	100	-
Echantillon (ul)	-	-	100

-Mélanger bien et incuber les tubes à essai pendant 10 min dans un bain marie à 100 °C.

Résultats et Interprétation

	Blanc	Etalon	Echantillon
H ₂ SO ₄ (ml)	1,0	1,0	1,0
Etalon (ul)	-	-	50
Echantillon (ul)	-	50	-

-Lire l'absorbance (A) des échantillons à 520 nm après une incubation pendant 15 min à 37°C.

e- Calcul :

DO échantillons

$$[\text{Lipides totaux}] \text{ (mg/dl)} = \text{_____} \times 750$$

DO Etalon

I.5.4. Dosage des protéines totales : (Méthode de Biuret)

Dans cette méthode, la solution protéique est traitée à l'aide d'ion de cuivre Cu (II) dans un milieu très alcalin du tartrate de sodium et de potassium et de l'iodure de potassium.

I.5.5. Dosage des Paramètres de la défense antioxydante

1. Glutathion réduit(GSH)

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode de Weekbeker et Cory (1988). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique qui résulte de la réduction de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela on réalise une déprotéinisation de homogénat (par l'acide sulfosalicylique 0,25%) afin de garder uniquement les groupements (-SH) spécifique du glutathion.

0.8 ml de l'hémolysât auquel est ajouté 0.2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0.25%. Agitation, incubation dans un bain de glace pendant 15 minutes. Centrifugation pendant 5 minutes à 1000t /min. 0.5ml de surnageant au quel est ajouté 1 ml de tampon phosphate (PH 7,2).

Agitation et addition de 0.025 ml de DTNB à 0.01M dissout dans le méthanol absolu. Incubation 5 minutes à température ambiante puis lecture de la DO à $\lambda=412$ nm.

$$Do \times 1 \times 1,525$$

$$GSH = \frac{Do \times 1 \times 1,525}{131000 \times 0,8 \times 0,5 \text{ mg de protéines}}$$

$$131000 \times 0,8 \times 0,5 \text{ mg de protéines}$$

Do : Densité optique.

1 : Volume total des solutions utilisées de la déprotéinisation (0.8 ml hémolysât + 0.2 ml

SSA).

1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant

(0.5 ml surnageant +1 ml de tampon phosphate (PH 7,2) + 0.025 ml DTNB).

131000 : Coefficient d'absorbance (contenant le groupement -SH à 412 nm).

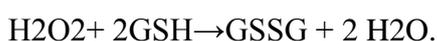
0.8 : Volume de l'homogénat après déprotéinisation trouvé dans un 1 ml.

0.5 : Volume du surnageant trouvé dans un 1.525 ml.

On note que la concentration de GSH est mesurée par rapport à 1 mg de protéine. C'est pour cela que ce dosage doit être accompagné par le dosage des protéines.

2-Glutathion peroxydase(GPx)

L'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de **Weekbeker et Cory (1988)**. Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSSG), sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



Dans un tube sec, 0.2ml de l'hémolysât est additionnée à 0.4 ml de GSH a 0.1 mM (réaction enzymatique) + 0.2 ml de KNaHPO₄ à 0.067M (tampon d'extraction pH7.8). Le tube blanc contient 0.4 ml de GSH + 0.2 ml de TP (réaction non enzymatique). Incubation au bain marie à 25°C pendant 05 min puis addition de 0.2 ml d'H₂O₂ (1.3mM) pour initier la réaction.

Incubation 10 min. addition de 1 ml de TCA 1% TCA pour arrêter la réaction. Le mélange se met dans la glace pendant 30 min. centrifugation durant 10 min à 3000t/min. 0.48 ml de surnageant sont placés dans un cuve est additionnés de 2.2 ml de Na₂HPO₄ (0.32 M) + 0.32 ml de DTNB à 1 MM. Mesure de la densité optique à 412 nm dans les 05 min.

La détermination (calcule) de l'activité de la GPx se fait de la façon suivante :

Activité de GSH consommée/min/gr de protéine.

Blanc _ 0.04micro mole de GSH réduit----DOb.

Extrait_0.04 // // -----DOe.

Donc la concentration de GSH réduit qui sera oxydée (disparue)=DOe-DOb.

$$X = \frac{(DOe - DOb) \times 0.04}{DOb} = \text{quantité de GSH réduite disparue (oxydée) dans 0.2 ml extrait dans 1 ml en 05 ml.}$$

L'activité de la GPx(nmol/g de proteine) = la quantité de GSH réduit disparue $\times \frac{5}{\text{la concentration de protéine}}$.

3 .Glutathion-S- Transférase (Mannervik ; 1985)

Principe :

La glutathion-S-Transférase est une enzyme intervenante dans la réduction des dommages radicalaires au niveau des cellules sanguines. La réaction est basée sur une conjugaison entre le CDNB (1, chloro, 2,4 di nitro benzéne) avec la GST en présence de GSH en formant un complexe permettant la mesure de l'activité enzymatique GST à 340 nm.

RF de travail est composé de :

1-Solution de GSH DANS L'éthanol conservée à -20°.

2- Solution de CDNB à l'éthanol.

3-Tampon phosphate(PBS) ph=6.5

Protocole :

1ml RT + 900 µl de l'échantillon, lire la DO à 340 nm chaque min /5min.

1.5.6. Paramètre de la peroxydation lipidique :

- **Malondialdéhyde (MDA)**

Le MDA peut être détecté par une réaction colorimétrique à l'acide thiobarbiturique (TBA).

La détection du MDA issue de la dégradation des acides gras polyinsaturés à 3 ou 4 doubles liaisons peroxydées, constitue une méthode très sensible pour déterminer une lipoperoxydation in vitro. Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode d'Esterbauer et al (1992). Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment (rose). Ce chromogène peut être donc mesuré par spectrophotométrie à 530 nm voir (figure17).

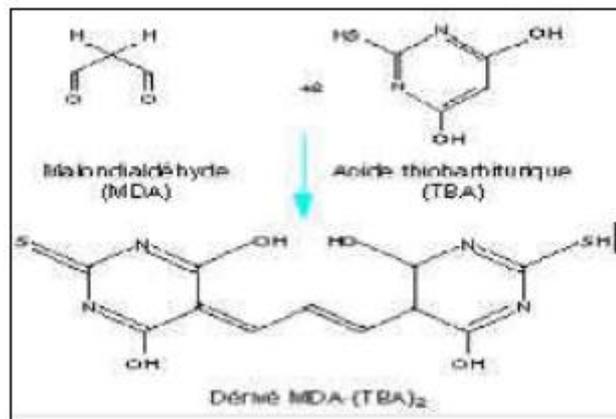


Figure 15. Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide thiobarbiturique.

Dans un tube sec 375 μ l de l'hémolysât sont additionnés à 150 μ l de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150mMpH7.4) plus 375 μ l de la solution TCA BHT (TCA 20%, BHT 1%), agitation puis centrifugation à 1000 tours/min pendant 10 min. Prélèvement de 400 μ l du surnageant auquel est ajouté 80 μ l d'HCL 0.6 M plus 320 μ l de la solution Tris-TBA (Tris 26mM, TBA 120 mM), agitation puis incubation au bain marie à une température de 80°C pendant 10 minutes. Lecture de la densité optique à $\lambda=530$ nm. La concentration du MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert ($DO=E.C.L$) :

$$C \text{ (n mol/mg de protéine)} = \frac{DO.106}{\epsilon.L.X.Fd} .$$

- C : Concentration en n mol/ mg de protéines.
- DO : Densité Optique lue à 530 nm.
- ϵ : Coefficient d'extinction molaire du MDA=1.56 10⁵ M⁻¹cm⁻¹.
- L : Longueur du trajet optique =1 cm.
- X : Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml).
- Fd : Facteur de dilution : Fd =0.2083.

I.6. Etude statistique :

La saisie et le traitement des données ont été réalisés à l'aide du logiciel Excel version 2016 et logiciel MINITAB version 2013.

Les résultats sont présentés sous formes de moyenne± écart type ; Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes entre les 2 populations de sujets (sujets témoins, et sujets hypothyroïdiques) est réalisée par le test de T de student.

- * $p < 0.05$ différence significative.

- ** $p < 0.01$ différence très significatives.

- *** $p < 0.001$ différence hautement significative.



Résultats

I- Exploration des paramètres hormonaux

Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,001$) de la concentration de la TSH associée à une diminution de FT3 et FT4 chez les sujets hypothyroïdiques par rapport aux sujets témoins (Tableau 3 et Figure 16).

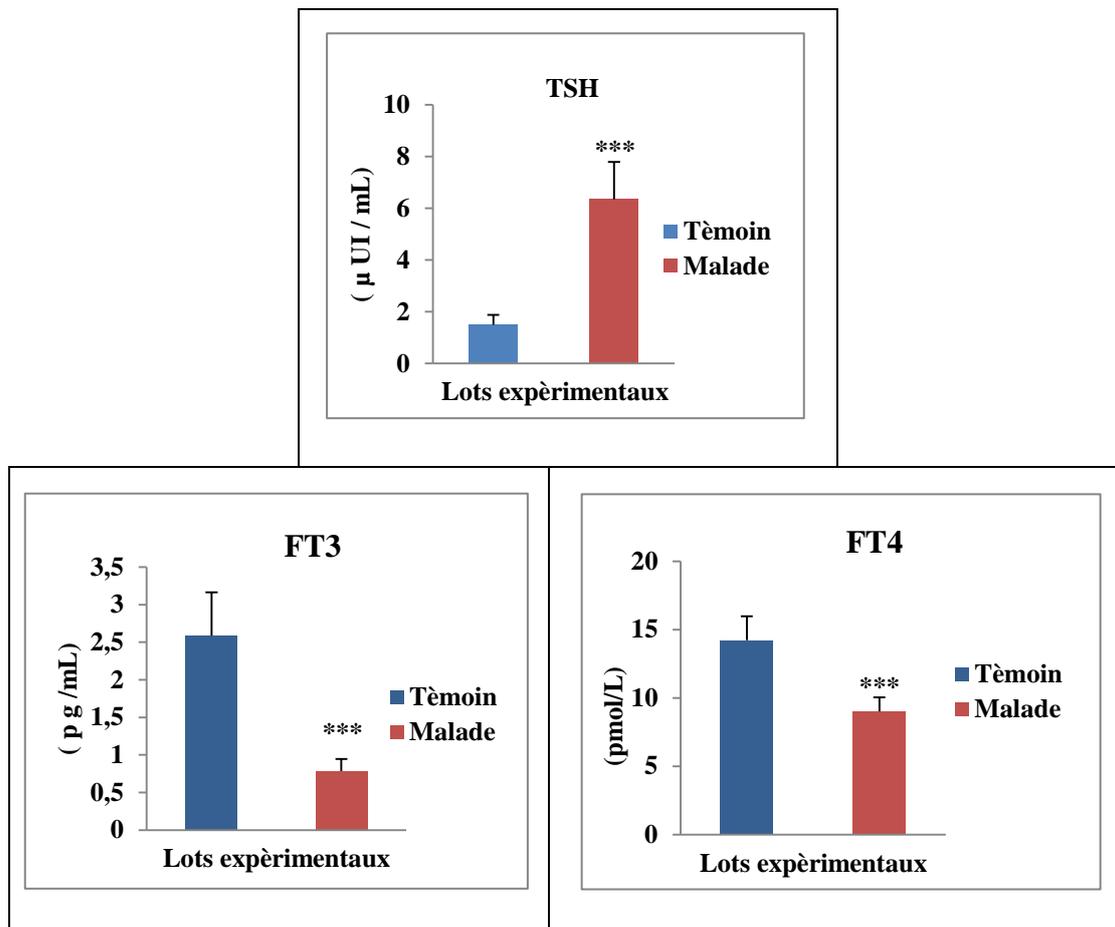
Tableau 3 : Variation de la concentration sanguine de la TSH, FT3, FT4 chez les sujets témoins et hypothyroïdiques.

Groupes Paramètres	Témoin (n = 30)	Hypothyroïdie (n = 30)
TSH (μ UI/ml)	1,491 \pm 0,384	6,34 \pm 1,45 ^{***}
FT3 (pg/ml)	2,588 \pm 0,578	0,783 \pm 0,162 ^{***}
FT4 (pmol/l)	14,23 \pm 1,75	9,02 \pm 1,02 ^{***}

P = Seuil de signification.

* = Différence significative.

** = Différence hautement significative.



*** = Différence très hautement significative

Figure 16. Variation de la concentration sanguin de TSH, T3, T4 chez les sujets témoins et hypothyroïdiques.

II- - Exploration de bilan lipidique

Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,001$) de la concentration plasmatique du Chol T, triglycérides, LDL-, lipides totaux chez les sujets hypothyroïdiques par rapport aux sujets témoins sains, avec une diminution très hautement significative de HDL-c chez les sujets hypothyroïdiques par rapport aux sujets témoins sains.(Tableau 04, Figure 17).

Tableau4 : Variation de la concentration sérique du Chol T, Tri gly, HDL-c et d'LDL-c, Lipide T chez les sujets témoins sains et hypothyroïdiques.

Groupes Paramètres	Témoin (n = 30)	Hypothyroïdiques (n = 30)
Cholestérol (g)	1,793 ± 0,141	2,506 ± 0,227***
Triglycéride (mg / dl)	0,976 ± 0,215	2,329 ± 0,149***
Cholestérol LDL (g /L)	1,127 ± 0,199	1,825 ± 0,187***
Cholestérol HDL(g /L)	0,5350 ± 0,0493	0,2790 ± 0,0509***
Lipide totaux (mg /dL)	566,7 ± 89,5	997,4 ± 99,9***

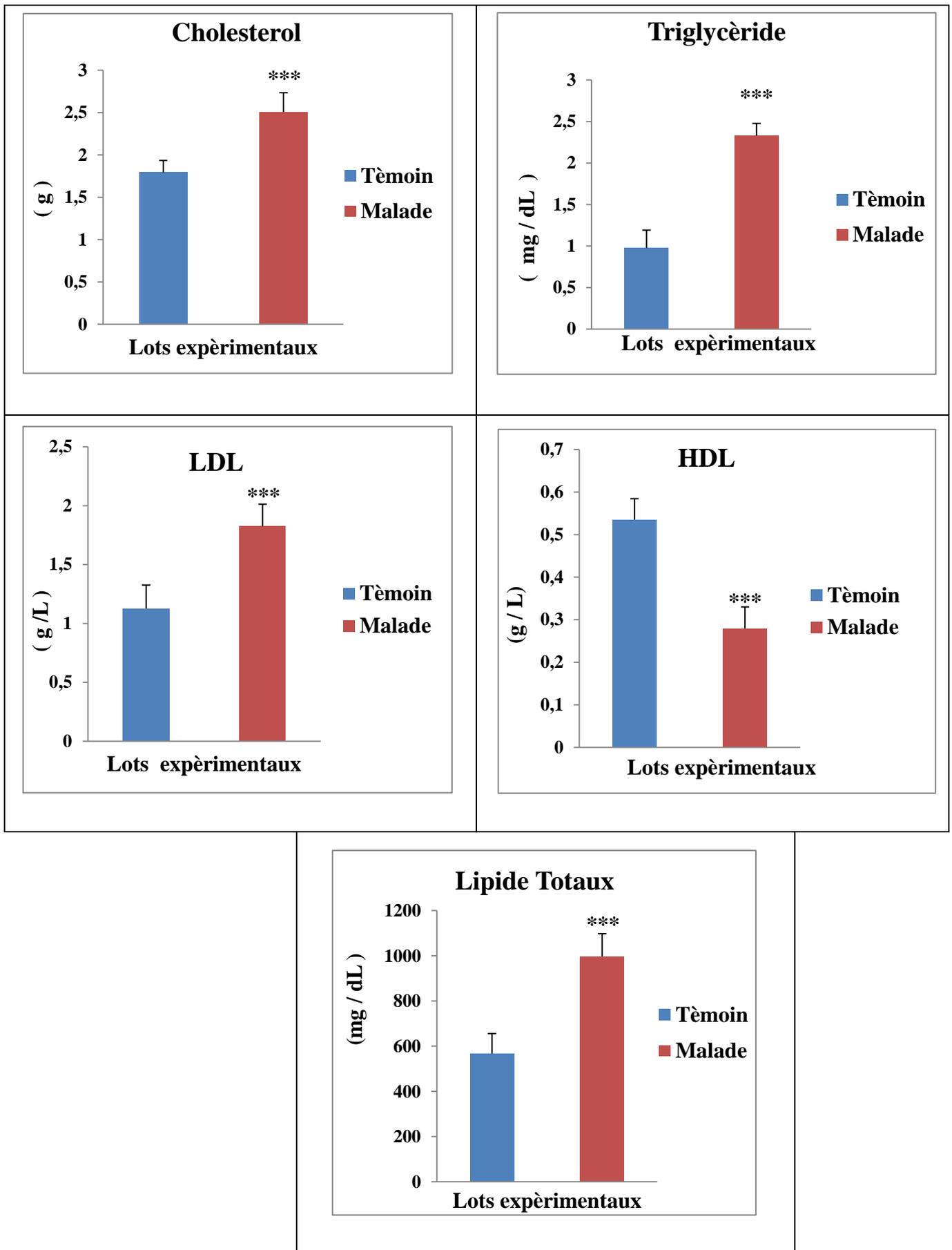


Figure 17. Variation de la concentration sérique de Chol T, Tri gly, HDL-c et d'LDL-c , Lipide T chez les sujets témoins sains et hypothyroïdiques .

III- Exploration Les protéines totales :

Nos résultats montrent une augmentation hautment significative du taux sérique des protéines totales Chez les sujets hypothyroïdiques par rapport aux sujets témoins. (Tableau5, Figure 18).

Tableau5 : Variation de la concentration sérique des protéines totales chez les sujets témoins et hypothyroïdiques

Paramètre \ Groupes	Témoin (n = 30)	Hypothyroïdie (n = 30)
Protéine (g/L)	71,63 ± 5,22	78,2 ± 11,7**

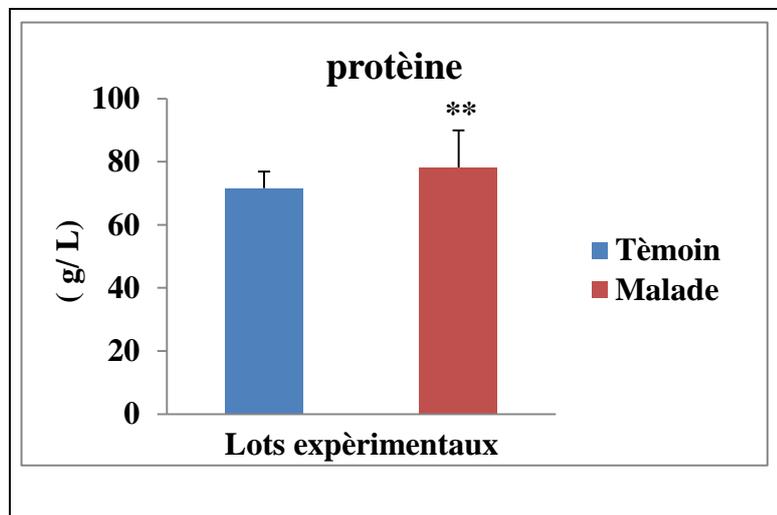


Figure 18. Variation de la concentration sérique des protéines Totales chez les sujets témoins sains et hypothyroïdiques.

IV- Paramètres de la défense antioxydante et et la peroxydation lipidique

Dans le plasma, il existe une diminution hautment significatif de l'activité enzymatique de la GPx chez les sujets hypothyroïdiques. Nous avons enregistré une diminution de la concentration GSH réduit chez les sujets hypothyroïdiques par rapport aux témoins.

Pour le paramètre de la peroxydation lipidique (MDA), nous avons enregistré une augmentation hautment significatif chez les sujets hypothyroïdiques par rapport aux sujets témoins (Tableau6, Figure 19).

Tableau6 : Variation de l'activité enzymatique GPx, GST plasmatique et de la concentration plasmatique de GSH et MDA chez les sujets témoins et hypothyroïdiques.

Paramètres (Plasma)	Témoin (n = 30)	Hypothyroïdie (n = 30)
GPX (U/l)	942 ± 88	654,4 ± 72,5**
GSH (n mol/g de prot)*10-5	22,27 ± 1,27	19,5 ± 1,01*
GST(u ml)	35,10 ± 5,32	71,9 ± 7,1**
MDA (n mol/ g de prot)	0,2510 ± 0,0164	0,3230 ± 0,0116**

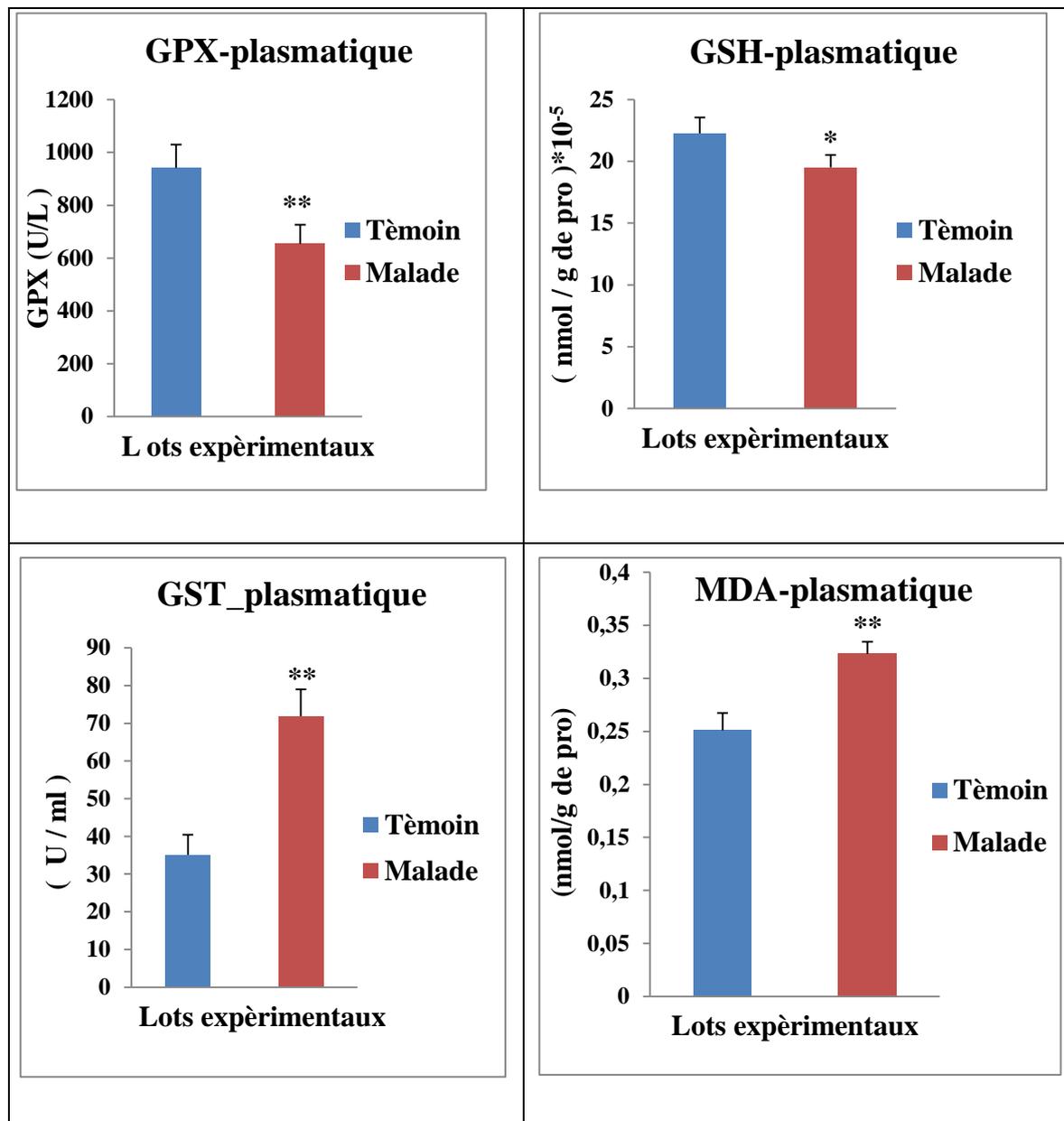


Figure19. Variation de l'activité enzymatique GPx, GST plasmatique et de la concentration plasmatique de GSH et MDA chez les sujets témoins et hypothyroïdiques.

Dans notre étude, nous avons enregistré une diminution : hautement significative de ($P \leq 0.01$) de la concentration érythrocytaire en GSH réduit, significative de l'activité enzymatique GPx érythrocytaire avec une augmentation significative de la concentration du Malondialdéhyde, dans les erythrocytes, chez les sujets hypothyroïdiques par rapport aux témoins alors que il existe une augmentation hautment significative de l'activité enzymatique de la GST érythrocytaire chez les sujets hypothyroïdiques par rapport aux témoins. (Tableau 7, Figure 20).

Tableau 7 : Variation de l'activité enzymatique GPx, GST èrythrocytaire et de la concentration èrythrocytaire de GSH et MDA chez les sujets témoins et hypothyroïdiques.

Paramètres (érythrocytaire)	Témoin (n = 30)	Hypothyroïdie (n = 30)
GPX (U/gHb)	31,16 ± 2,52	19,1 ± 2,82***
GSH (n mol/g Hb)*10-5	24,97 ± 3,55	19,42 ± 1,37**
GST(U/gHb)	10,8 ± 1,1	12,5 ± 1,08**
MDA (n mol/ gHb)	1,443 ± 0,105	1,908 ± 0,17***

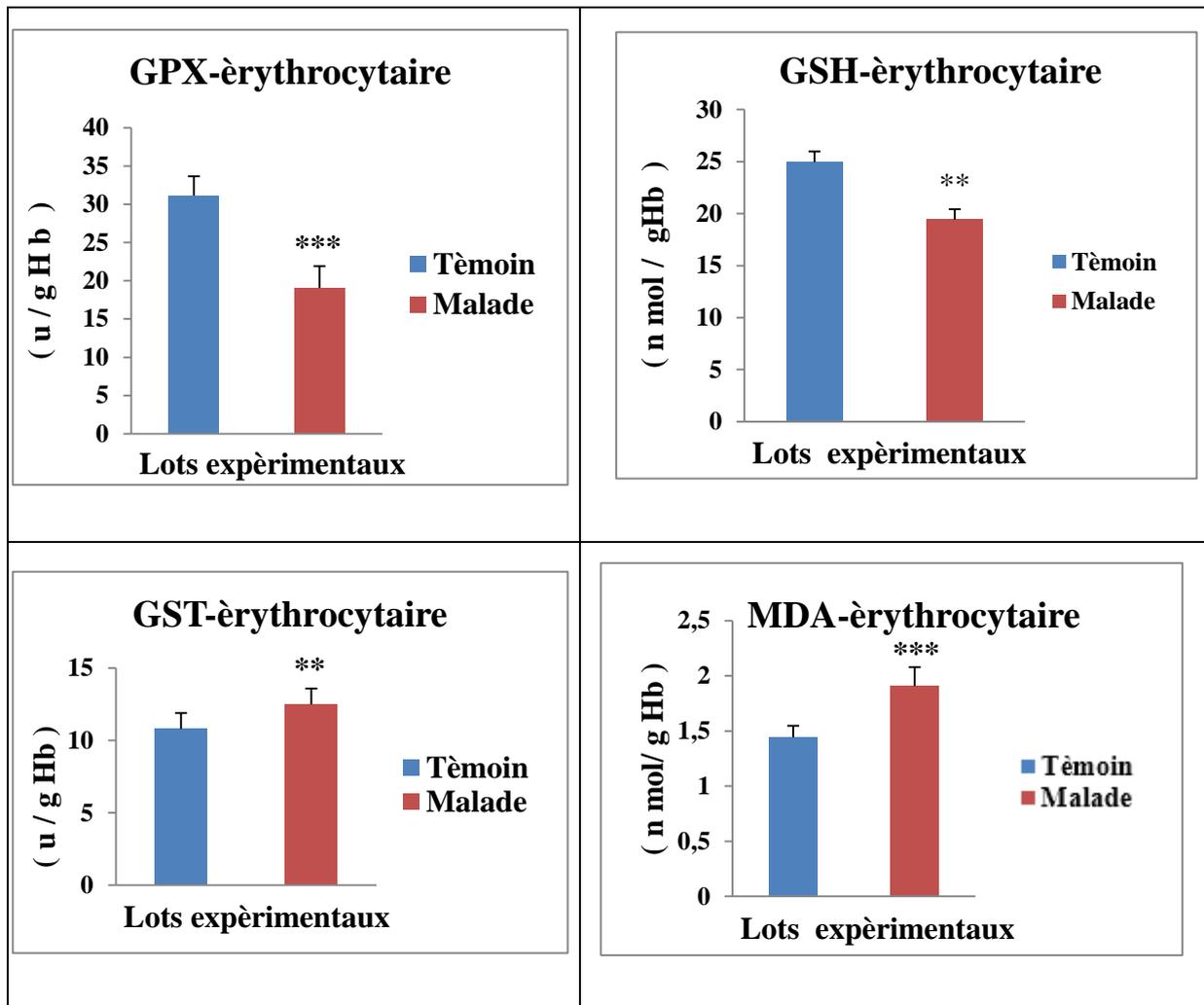


Figure 20. Variation de l'activité enzymatique GPx, GST érythrocytaire et de la concentration érythrocytaire de GSH et MDA chez les sujets témoins et hypothyroïdiques.



Discussion

Discussion

Au cours d'une hypothyroïdie, le fonctionnement de la glande thyroïde est ralenti. Il s'ensuit un ralentissement de nombreuses fonctions de l'organisme. Le diagnostic est confirmé par le dosage sanguin des hormones thyroïdiennes, T3 et T4, ainsi que la TSH (**Lissitzky, 1989**).

Les hormones thyroïdiennes sont essentielles pour la fonction normale de l'organisme. Elles exercent une activité stimulatrice générale sur l'organisme, en « accélérant » le fonctionnement de la plupart des tissus, et notamment en augmentant la consommation d'oxygène tissulaire. De plus, elles sont indispensables à la croissance et à la maturation du squelette et du système nerveux.

L'hypothyroïdie résulte d'un déficit de sécrétion d'hormones thyroïdiennes. Cette faible production ralentit le métabolisme de base des cellules de l'organisme et augmente les paramètres du stress oxydatif (**Dumas, 2011**).

L'hypophyse produit sa propre hormone, la thyroïdostimuline ou TSH. Cette hormone circule dans le sang et agit sur les cellules de la thyroïde provoquant une augmentation de la production de FT3 et FT4. Une partie de cette production, libérée dans le sang, retourne vers l'hypophyse.

Cette dernière est informée en temps réel de la quantité d'hormones thyroïdiennes qui circulent dans le corps. L'hypophyse ajuste alors son action en augmentant ou diminuant la production de TSH. (**Duval, 1999**). La régulation de l'activité de la thyroïde fonctionne ainsi selon une boucle entre la thyroïde et l'hypophyse qui interagissent en fonction des besoins du corps.

Nos résultats montrent des modifications de la teneur sanguine en TSH, FT3, FT4, chez les sujets hypothyroïdiques par rapport aux sujets témoins. Nous avons enregistré une faible production d'hormones par la glande thyroïde (T3 ; T4) associée à une augmentation très hautement significative de la TSH sanguine. Ce qui entraîne une pathologie thyroïdienne : L'hypothyroïdie.

Les hormones thyroïdiennes stimulent le métabolisme lipidique, c.-à-d. la synthèse des lipides, leur mobilisation et leur catabolisme. En fait, l'hypothyroïdie provoque une élévation des réserves lipidiques et des taux plasmatiques de TG. (**Anaes, 2000**).

Les résultats du profil lipidique montrent une augmentation hautement significative des teneurs plasmatiques en cholestérol total et des triglycérides et de LDL-c. (*low-density-*

lipoprotein.) chez les sujets hypothyroïdiques comparées aux témoins ; alors que le HDL cholestérol est diminué ; Ces résultats sont accord avec ceux de Muller et Al, 1995.

L'augmentation du cholestérol total chez les sujets hypothyroïdiques peut être expliquée tout d'abord une augmentation de l'absorption du cholestérol due à l'action des hormones thyroïdiennes sur les protéines de transport (Niemann-Pick C1-like 1 protein) au niveau l'intestin.

De plus, le catabolisme du cholestérol par l'enzyme cholestérol 7-hydroxylase est régulé négativement par l'hormone thyroïdienne T3 (Drover & Agellon, 2004) L'enzyme est spécifique au foie, toute diminution de l'hormone thyroïdienne T3 se traduit par une diminution du catabolisme du cholestérol et une augmentation du cholestérol plasmatique observé lors de l'hypothyroïdie (Rush *et al.*, 2006).

Le développement de l'hypercholestérolémie lors de l'hypothyroïdie inclus également l'augmentation du nombre des LDL par diminution du nombre et de l'activité de leurs récepteurs hépatiques -(Duntas, 2002; Rush *et al.*, 2006).

Nos résultats montrent une augmentation une hautement significative de la concentration plasmatique des protéines totales chez les sujets hypothyroïdiques comparés aux témoins. ceci probablement due à un syndrome inflammatoire.

Les radicaux libres (RL) sont difficiles à mesurer directement à cause de leur grande instabilité donc les produits de la peroxydation lipidique sont utilisés comme un indicateur de l'activité des RL (**Chaudhari et al ; 2003**).

Dans notre étude, on note une diminution significative du taux de glutathion réduit (GSH) plasmatique et érythrocytaires chez les personnes hypothyroïdiennes comparés aux témoins.

Le GSH c'est un réducteur efficace qui joue un rôle important dans une variété de processus de détoxification.

Ceci témoigne d'une élévation du stress oxydatif marqué par la diminution des antioxydants, toute baisse en hormones de la thyroïde engendre une diminution de synthèse de la GSH. Et toute baisse du niveau de GSH est due à la surproduction de radicaux libres et augmentation de la peroxydation des lipides. L'oxydation des lipides et particulièrement l'oxydation des acides gras polyinsaturés engendre la formation de plusieurs molécules d'aldéhydes réactifs tels que les MDA.

Le MDA ou malondialdéhyde est un marqueur de l'oxydation des lipides, il reste le marqueur le plus utilisé pour déterminer un stress oxydatif.

Nos résultats montrent que les teneurs de MDA plasmatique et érythrocytaire sont augmentées l'une hautement significatives et l'autre est significative chez les sujets hypothyroïdiques, comparés aux témoins.

La GPx est une enzyme antioxydante clé qui règle le niveau des ROS (la GPx est capable non seulement de réduire le peroxyde d'hydrogène en eau, mais aussi les hydroperoxydes résultants de l'oxydation des acides gras insaturés et donc protège les cellules contre les dégâts générés par une dose toxique (**Favier, 2004**).

D'après nos résultats on observe une diminution hautement significative de l'activité GPx dans le sérum et très hautement significative dans l'hémolysât chez les patients comparés aux témoins ; cette diminution est due principalement à une surproduction de peroxyde d'hydrogène, ce qui est en accord avec les résultats rapportés par **Boussekine. S et al., 2014 ; Boussekine S. et Bouzerna N., 2013 ; Murat et Belma., 2006 ; Nuriye et Belma, 2005.**

A decorative rectangular frame with a thick black border. The corners are adorned with intricate, symmetrical floral and scrollwork flourishes in black. The word "Conclusion" is centered within the frame.

Conclusion

Conclusion

L'hypothyroïdie est une pathologie caractérisée par une diminution de la sécrétion d'hormones thyroïdiennes (T3 et T4) associée à une augmentation de TSH par rétrocontrôle négatif.

Cette faible production ralentit le métabolisme de base des cellules de l'organisme et augmente les paramètres du stress oxydatif.

Notre travail révèle un déséquilibre de la balance pro oxydante/antioxydants au cours de l'hypothyroïdie et l'apparition de troubles lipidiques qui amplifient le risque cardiovasculaire et augmente la morbi-mortalité

- Le bilan lipidique a montré l'augmentation de TG, Chol T, LDL, lipides totaux avec une diminution de HDL-c chez les personnes atteintes une hypothyroïdie comparées aux témoins sains.

- Le bilan de la défense anti oxydant montré l'existence d'un état de stress oxydant témoigné par une diminution de l'activité enzymatique plasmatique et érythrocytaire de glutathion, et L'augmentation de concentration sérique et érythrocytaire montré de la peroxydation lipidique(MDA) chez les sujets atteints d'une hypothyroïdie comparée aux témoins sains.

Ces résultats permettent d'ouvrir de nouvelles thérapeutiques on note :

- Une alimentation riche en antioxydants (fruits, légumes) pour prévenir les effets néfastes des radicaux libres générés au cours de la maladie.

A decorative rectangular frame with a solid black border. The corners are embellished with intricate, symmetrical black floral and scrollwork flourishes that extend slightly beyond the corners of the rectangle.

Références

B

- **Berthelme, S. (2015).** L'hypothyroïdie, un trouble sous surveillance hypothyroïdisme, a discordé to monitor Elsevier Masson, actualités pharmaceutiques **54 (545) : 37-40.**
- **Blanchard, H. N. (2009).** Prise en charge actuelle de l'hyperthyroïdie en France.
- **Boussekine, S., Bouzerna, N. & Rouabhi, R. (2014).** Protective effect of selenium supplementation on antioxidant defense and cardiovascular diseases in alloxan diabetic rats. **4 (5) : 1-10.**
- **Broadley, S., Deans, J., Sawcer, S., Clayton, D. & Compston, D. A. S. (2000).** Autoimmune disease in first-degree relatives of patients with multiple sclerosis. A UK survey. *Brain* 123: 1102-1111.

C

- **Chaudhari L, tandonop, Vaneyn, Agarwal N (2003).** Lipid per oxidation and antioxidant enzymes in gestational diabetics. *Indian J PhysiolPharmacol.* **47(4):441-446.**
- **Chaudhari, L., Tandon, O.P., Vaney ,N. & Agarwal, N .(2003).** Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in gestational diabetics. *Indian Journal of Physiol y and Pharmacol.* **47(4):441-6.**
- **Chavan, V.U., Melinkeri, R.R. (2013).**Study of protein carbonyl group, nitric oxide and MDA (index of lipid peroxidation) as biomarkers of oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *National Journal of Community Medicine* **4(2) : 294-9.**

D

- **Davis, P. J., Davis, F. B. & Lin, H. Y. (2008) .** Promotion by thyroid hormone of cytoplasm-to-nucleus shuttling of thyroid hormone receptors. *Steroids* **73:** 1013-1017.
- **Dedon, P.C. & Tannenbaum, S.R. (2004) .** Reactive nitrogen species in the chemical biology of inflammation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **423 (1):** 12-22.
- **Delattre, N., Durand, G & Jardillier, J.C.(2003).** *Biochimie pathologique (Aspects moléculaire et cellulaire).* Edition **LAVOISIER.** Paris, P 317.
- **Dentice, M. & Salvatore, D. (2011) .**Local impact of thyroid hormone inactivation. *Journal of Endocrinology* **209 : 273-282.**
- **Drigo, R. A. & Bianco, A. C. (2011).** Type 2 deiodinase at the crossroads of thyroid hormone action. *The international journal of biochemistry & cellbiology* **43:** 1432-1441.

- Drover, V.A., Wong, N.C., Agellon, L.B (2002). A distinct thyroid hormone response element mediates repression of the human cholesterol 7-hydroxylase (CYP7A1) gene promoter. *Journal of Molecular Endocrinology* 16:14–23
- **Duntas, L. H. (2002).** Thyroid disease and lipids. *Thyroid* **12**: 287-293.
- **Duval, F (1999).** Thyroid axis activity and serotonin function in major depressive episode. *Psychoneuroendocrinology* **24** : 695-712.

E

- **Eboh, A. S. (2014).**Biochemistry of Free Radicals and Antioxidants. *Scholars Academic Journal of Biosciences* **2(2)**: 110-118.

F

- **Favier, A.(2003).** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Review. *L'actualité chimique* novembre 108-115.

G

- **-Gallois, M. (2008)** .L'hypothyroïdie (quand la thyroïde se dérègle?). thèse de diplôme d'Etat de docteur en pharmacie . Université Lille 2, p 59.
- **Galman, C., Lundasen, T., Kharitonov, A., Bina, H. A., Eriksson, M., Hafstrom, I., Dahlin, M., Amark, P., Angelin, B. & Rudling, M (2008).** The circulating metabolic regulator FGF21 is induced by prolonged fasting and PPAR-alpha activation in man. *Cell Metabolism* **8 (2)** : 169-174.
- **GARAIT, B (2006).** Le stress oxydatif induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) en effet de la GliSODinR. Thèse de doctorat, université Joseph Fourier-grenoble1, p 195.
- **Garber, J. R., Cobin, R. H., Gharib, H., Hennessey, J. V., Klein, I., Mechanick, J. I., Pessah-Pollack, R., Singer, P.A. & Woeber, K.A. (2012).** Clinical practice guidelines for hypothyroidism in adults: cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association *22(12)*:1200-35.
- **Ghafourifar, P. & Cadenas, E. (2005).** Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends in pharmacological-sciences.* **26** :190-5.

H

- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C & Chapelle, J.P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue Medicale De Liege.* 62 (10) : 628-638.
- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P., Leclère, J., Orgiazzi, J., Rousset, B., Schlienger, J. L. & Wémeau, J. L. (2001).** La thyroïde (des concepts à la pratique clinique). **Elsevier Masson** .2ème édition, p 618.
- **Halliwell, B., John, M.C. & Gutteridge.(2008).**Free Radicals in Biology and Medicine. 4 th ed. Oxford. University Press, p 20-31.

I

- **Ibrahimi, A. N. (2016).** Service d'hépatogastroentérologie, CHU Hassan II, faculté de médecine et de pharmacie de Fés, Université Sidi Mohammed Ben Abdelah, Fés, MAROC.

L

- **Liakopoulos, V., Dovas, S., Simopoulou, T., Zarogiannis, S., Giannopoulou, M., Kourti, P., Arampatzis, S., Eleftheriadis, T & Stefanidis, L .(2009).** Acute renal failure: a rare presentation of hypothyroidism. *Renal failure* **31** : 323-326.
- **Lissitzky, S. (1989).** Endocrinologie : hormone, chapitre : les hormones thyroïdiennes).

M

- **Mannervik, B.(1985).** The iso enzyme of glutathion transferase . *Adv . Enzymologie relat . Areas Molecular Biology* **57** : 357 - 417.
- **Marieb, E. N. (1999) .** Le système endocrinien. In anatomie et physiologie humaine, p 605- 607.
- **Métais, A., Féraud, Fruchart, Jardillier, Revol, Siest, Stahl. (1989).** Exploration biochimique en endocrinologie. In *Biochimie Clinique*, Paris, p 305-319.
- **Monique, G. A., Dominique, B.R., Zohreh, A & Daniel, J. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique.* 91-96.

N

- **Nøhr, S. B., Jørgensen, A., Pedersen, K. M. & Laurberg, P. (2000).** Postpartum Thyroid Dysfunction in Pregnant Thyroid Peroxidase Antibody-Positive Women Living in an Area with Mild to Moderate Iodine Deficiency: Is Iodine Supplementation Safe?. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **85** :9.

- **Nuriye Nuray Ulusu & Belma Turan (2005).** Beneficial effects of selenium on some enzymes of diabetic rats heart. Humana Press Inc. Biological trace element research **103**: 207-215.

P

- **Pallavi, M & Luna, S. (2012).** Oxidative stress and heart failure in altered thyroid states. The scientific world journal 17.
- **Pérez-Martin, A. (2007)** .Physiologie de la glande thyroïde Physiologie de la glande thyroïde PCEM2 – MI6. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes, p 9.
- **Pincemail, J., Nève, J.O ., Defraigne, I.M ., Meurisse, R. & Limet, I. (1999).** Antioxydants et prévention des maladies cardiovasculaires. MS 93.

R

- **Reid, S. M., Middleton, P., Cossich, M. C. & Crowther, C. A. (2010).** Interventions for clinical and subclinicalhypothyroidism in pregnancy. The Cochrane Library.
- **Rush J, Danzi S. & Klein, I. (2006).** Role of thyroid disease in the development of statin-induced myopathy. Endocrinologist **16**: 279–285.

S

- **Schlenker, E. H. (2012)** . Effects of hypothyroidism on the respiratory system and control of breathing: Human studies and animal models. Respiratory physiology & neurobiology **181**: 123-131.
- **Schlienger, J. (2001).** Hypothyroïdie acquise de l’adulte. In Encyclopédie Medico-Chirurgicale, Endocrinologie-Nutrition, P10 .
- **Senthil Kumaran, V., Arulmathi, K ., Srividhya, R., Kalaiselv, P. V. (2008).** Repletion of antioxidant status by EGCG and retardation of oxidative damage induced macromolecular anomalies in aged rats. Experimental Gerontology **43**: 176–183.
- **Serteyn , D., Mouithys-Mickalad, A., Franck, T., Grulke, S., Lamy, M., Deby, C. & Deby-Dupont , G. (2002).** La nature chimique et la réactivité de l’oxygène. Annales De Medecine Veterinaire.146 :137-53.

T

- **Teixeira, P. D. F. D. S., Reuters, V. S., Ferreira, M. M., Almeida, C. P., Reis, F. A. A. & Buescu, A. (2008).** Lipid profile in differentdegrees of hypothyroidism and effects of levothyroxine replacement in mildthyroidfailure. Translational Research **151** : 224-231.
- **Tortora, G. J., Derrickson, B., Forest, M. & Martin, L. (2007).** Principes d'anatomie et de physiologie. De Boeck Bruxelles. 4^{ème} édition , p 1246.

V

- **Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. & Telser, J. (2007).**Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease.*The international journal of biochemistry & cell biology* **39**: 44-84.
- **Venditti, P., Balestrier, M., Dimeo, S. & Deleo, T.(1997).** Effect of thyroid state on lipid peroxidation, antioxidants defenses, and susceptibility to oxidative stress in rat tissues *.Journal of the Endocrine Society* **155(1)** :151-157.
- **Victor, A. B. Drover Norman, C. W. Wong Luis, B. & Agellon (2002).** A distinct thyroid hormone response element mediates repression of the human cholesterol 7-hydroxylase (CYP7A1) gene promoter. *Molecular Endocrinology* **16**:14–23.
- **Visser, W. E., Friesema, E. C., Jansen, J. & Visser, T. J. (2008) .**Thyroid hormone transport in and out of cells. *Trends in Endocrinology & Metabolism* **19**:50-56.

W

- **Willem, J. P. (2010) .** Les pathologies de la thyroïdes, les comprendre, les traiter.
- **Yilmaz, S., Ozan, S., Benzer, F. & Canatan, H. (2003).** Oxidative damage and antioxidant enzyme activities in experimental hypothyroidism. *Cell biochemistry and function* **21(4)** :325- 330.

Z

- **Zoeller, R. T., Tan, S. W. & Tyl, R. W. (2007).** General background on the hypothalamic- pituitary-thyroid (HPT) axis. *Critical reviews in toxicology* **37 (1-2)** :11-53.