



HAL
open science

Sulfamides antibactériens, antiparasitaires et antifongiques dérivés de l'imidazole: évaluation des effets antithyroïdiens sur le rat

Frédéric Comby, Jf Lagorce, T Moulard, J Buxeraud, C Raby

► To cite this version:

Frédéric Comby, Jf Lagorce, T Moulard, J Buxeraud, C Raby. Sulfamides antibactériens, antiparasitaires et antifongiques dérivés de l'imidazole: évaluation des effets antithyroïdiens sur le rat. *Veterinary Research*, 1993, 24 (4), pp.316-326. hal-00902130

HAL Id: hal-00902130

<https://hal.science/hal-00902130>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Article de recherche

**Sulfamides antibactériens, antiparasitaires
et antifongiques dérivés de l'imidazole:
évaluation des effets antithyroïdiens sur le rat**

F Comby, JF Lagorce, T Moulard, J Buxeraud, C Raby

*Laboratoire de chimie organique et chimie thérapeutique, Faculté de pharmacie,
2, rue du Docteur-Marcland, 87025 Limoges, France*

(Reçu le 5 décembre 1992; accepté le 16 mars 1993)

Résumé — L'action antithyroïdienne de médicaments antibactériens, antiparasitaires ou antifongiques a été étudiée par 2 expérimentations *in vitro* et 3 études chez le rat. Ces médicaments peuvent perturber la synthèse des hormones thyroïdiennes en formant un complexe moléculaire avec l'iode, et/ou en inhibant l'activité de la peroxydase thyroïdienne. Chez les rats traités par ces médicaments, il en a résulté une hypothyroïdie mise en évidence par la diminution du taux de thyroxine T_4 , et un hyperfonctionnement thyroïdien par rétrocontrôle positif, provoquant une augmentation de l'activité de la thyroïde et des modifications au niveau histologique dans la glande (thyrocytes cylindriques). Nous avons mis en évidence cette hypothyroïdie iatrogène qui a entraîné une augmentation importante du poids des thyroïdes. Bien que devant être associée à celle des thyroïdes, l'augmentation du poids des rats a rarement été observée dans notre étude. En raison de l'interdiction de l'emploi des anabolisants, ces médicaments pourraient être utilisés chez les animaux élevés pour la vente, dans le but d'obtenir un gain de poids. La détection de l'emploi de ces médicaments dans les élevages en vue d'obtenir cet effet secondaire pourrait être préconisée et recommandée.

anti-infectieux / antithyroïdien / rat / poids / élevage

Summary — **Antibacterial sulphonamides, antiparasitic and antifungal agents derived from imidazole: estimation of antithyroid effects in the rat.** *Antithyroid action of some antibacterial, antiparasitic or antifungal agents, was studied by 2 in vitro and 3 in vivo experimentations in the rat. These drugs can upset thyroid hormone synthesis by forming a molecular complex with iodine, and/or by inhibiting thyroid peroxidase activity. Rats treated with these drugs showed an hypothyroidism, demonstrated both by a decrease in T_4 concentration and an hyperactivity of thyroid gland by positive feed-back, whose consequence was the presence of cylindrical cells. We noticed this iatrogenic hypothyroidism with all the drugs experimented, by an increase in thyroid gland weight. But the increase of rats body weight, which should have appeared, was not shown. The use of anabolic steroid is now forbidden, therefore, such drugs could be used for breeding animals, in order to gain body weight. Detection of use of these drugs in breeding, to obtain this side effect, should be advised.*

antiinfectious / antithyroid agents / rat / weight / breeding

* Correspondance et tirés à part

INTRODUCTION

Dans l'arsenal thérapeutique vétérinaire, nombreux sont les médicaments qui peuvent avoir une action antithyroïdienne. Parmi les médicaments anti-infectieux, certains antiparasitaires, des sulfamides antibactériens et des antifongiques ont la possibilité, en fonction de leur structure chimique, d'agir sur la glande thyroïde et d'interférer dans la synthèse des hormones thyroïdiennes T_3 et T_4 . Ces médicaments ont fait l'objet de plusieurs types d'études lors de nos expérimentations. Nous avons déterminé le mécanisme d'action du médicament sur la thyroïde à l'aide de 2 méthodes: complexation de l'iode et perturbation de la peroxydase thyroïdienne. En effet, l'iode et la peroxydase sont indispensables au cours de la biosynthèse hormonale thyroïdienne (fig 1). Puis, par une expérimentation sur le rat, nous avons mis en évidence les conséquences de l'action antithyroïdienne à l'aide de 3 études: dosage biologique de la thyroxine T_4 , analyse histologique de la glande thyroïde, étude du poids des animaux et du poids des glandes.

Plusieurs expérimentations réalisées dans notre laboratoire (Lagorce *et al*,

1992; Raby *et al*, 1990; Jambut-Absil *et al*, 1987) ont montré que beaucoup de familles médicamenteuses possédaient des molécules dont l'activité antithyroïdienne était indéniable. Afin d'établir une comparaison, pour chaque étude, nous avons expérimenté, dans les mêmes conditions, 2 antithyroïdiens de référence: le méthimazole et la 2-mercaptothiazoline.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Médicaments étudiés

Les molécules testées étaient des produits Sigma (La Verpillère, France). Leur liste complète se trouve dans les tableaux II, III et IV. Chacune des expériences a porté sur chacun d'entre eux.

Étude des complexes iodés

L'iode était un produit suprapur bisublimé Merck (Nogent-sur-Marne, France). Les solvants (chloroforme et tétrachlorure de carbone) étaient des produits Merck pour spectroscopie. Les spectres d'absorption ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre double faisceau Kontron UV-Vis 930 Uvikon (Saint-Quentin, France).

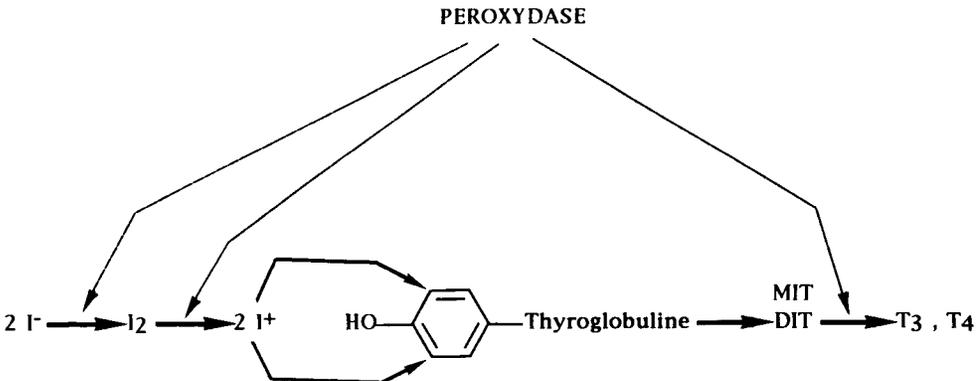


Fig 1. Rôles de l'iode et de la peroxydase dans la synthèse des hormones thyroïdiennes. MIT = Mono-iodotyrosine; DIT = diiodotyrosine

Tableau I. Résultats de l'étude des complexes iodés.

| Molécule | K_c (l/mole) |
|----------------------|---|
| Sulfamides | Insolubles |
| Clotrimazole | 499 |
| Albendazole | Insoluble |
| Méberidazole | Insoluble |
| Oxibendazole | Insoluble |
| Parbendazole | Insoluble |
| Kétoconazole | 141 |
| Miconazole | Absence de complexe |
| Éconazole | 575 |
| Dimétridazole | 3,67 |
| Métronidazole | Absence de complexe |
| Tinidazole | Insoluble |
| Nimorazole | Absence de complexe |
| Nitrofurantoïne | Insoluble |
| Thiabendazole | Absence de complexe |
| Lévamisole | 841 |
| Tétramisole | Formation d'un complexe, pas de constante |
| Méthimazole | 23 194 |
| 2-Mercaptothiazoline | 2 527 |

Nous avons étudié les complexes de donneurs n (médicaments) avec des accepteurs σ (iode). En effet, l'iode circulant, sous forme d'iodure I^- , doit être oxydé en iode I_2 puis en ion iodinium I^+ afin d'être incorporé dans la synthèse des hormones thyroïdiennes (Buxeraud *et al*, 1985). Aussi, un médicament possédant un site donneur d'électrons pourra complexer l'iode et ainsi le détourner de son métabolisme normal. Complexé par le médicament, l'iode ne peut plus se fixer sur la thyroglobuline, et la synthèse hormonale est bloquée.

Nous avons réalisé, pour chaque médicament, plusieurs solutions de complexes, avec des concentrations variant de 10^{-4} à 10^{-3} M. Le mélange d'une solution de donneur (médicament) avec une solution d'iode entraînait des modifications de leurs spectres respectifs, que nous avons enregistrés sur un spectrophotomètre en lumière visible et en lumière ultraviolette. Cela nous a permis de calculer, quand cela était possible, la valeur de la constante K_c de formation de complexe par la méthode de Lang (1968). Buxeraud *et al* (1984) ont montré

que, pour un complexe donné, lorsque la constante K_c dépasse la valeur seuil de 100 l/mole, on peut conclure à une action antithyroïdienne de la molécule ainsi complexée.

Étude de cinétique enzymatique

Nous avons utilisé 2 enzymes Sigma E.C.1.11.1.7 (80 U/mg solid), la lactoperoxydase (LPO) et la peroxydase de raifort (HRPO). En effet, il était très difficile et très onéreux de se procurer la peroxydase thyroïdienne (TPO), que ce soit par extraction ou dans le commerce. De précédentes expérimentations dans notre laboratoire ont montré que les cinétiques de la LPO et de la HRPO étaient comparables (Thomes *et al*, 1992). Deme *et al* (1985) ont démontré qu'elles avaient la même activité que la peroxydase thyroïdienne sur l'oxydation des iodures, et qu'elles pouvaient par conséquent servir de modèle expérimental. Selon Tauroug *et al* (1974) et Edelhoeh *et al* (1979), la LPO et la TPO ont un comportement similaire sur le couplage MIT-DIT conduisant à la formation de T_3 et T_4 . Nos études peuvent donc être assimilées à l'étude de la TPO.

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) était un produit Fluka pour spectroscopie (Mulhouse, France). L'acide 2,2'-bis-azino,(3-éthylbenzthiazoline sulfonique) ou ABTS était un produit Sigma et l'iodure de potassium (KI) un produit Lancaster (Strasbourg, France). Les enregistrements des cinétiques enzymatiques ont été réalisés sur un spectrophotomètre double faisceau Kontron UV-VIS 860. Tous ces produits, ainsi que les molécules médicamenteuses, ont été solubilisés dans un tampon phosphate à pH 7. Nous avons déterminé l'activité de la peroxydase, à la température de 20°C, en mesurant la vitesse initiale de la réaction d'oxydation, par H_2O_2 , de l'ABTS ou de KI. En effet, cette réaction était catalysée par une peroxydase, respectivement la lactoperoxydase ou la peroxydase de raifort, qui elle-même pouvait être inhibée ou activée en présence de la molécule médicamenteuse que nous introduisions dans le milieu de test. Le déroulement de cette réaction d'oxydation, ou cinétique enzymatique, était suivi par une étude spectrophotométrique. Nous avons déterminé la vitesse initiale de la réaction, à partir de la pente de la tangente, au temps zéro, de la courbe représentant la densité optique en fon-

Tableau II. Action des médicaments sur la peroxydase.

| <i>Molécule</i> | <i>Action sur la peroxydase</i> |
|------------------------|---------------------------------|
| Sulfaméthizole | Inhibition $CI_{50} = 0,305$ mM |
| Sulfathiazole | Inhibition $CI_{50} = 0,135$ mM |
| Sulfamoxole | Activation $CA_{50} = 0,037$ mM |
| Sulfisoxazole | Inhibition $CI_{50} = 0,131$ mM |
| Sulfaméthoxazole | Inhibition $CI_{50} = 1,53$ mM |
| Sulfadimidine | Inhibition $CI_{50} = 7,25$ mM |
| Sulfapyridine | Inhibition de 40% pour 2 mM |
| Sulfadiazine | Inhibition de 30% pour 3 mM |
| Sulfamérazine | Pas d'effet |
| Sulfaméthoxypyridazine | Pas d'effet |
| Sulfadiméthoxine | Inhibition $CI_{50} = 0,533$ mM |
| Clotrimazole | Inhibition $CI_{50} = 0,108$ mM |
| Albendazole | Inhibition $CI_{50} = 0,043$ mM |
| Mébéndazole | Insoluble |
| Oxibendazole | Inhibition $CI_{50} = 0,063$ mM |
| Parbendazole | Insoluble |
| Kétoconazole | Inhibition $CI_{50} = 0,2$ mM |
| Miconazole | Inhibition $CI_{50} = 0,071$ mM |
| Éconazole | Insoluble |
| Diméridazole | Activation $CA_{50} = 0,33$ mM |
| Métronidazole | Inhibition $CI_{50} = 0,426$ mM |
| Tinidazole | Insoluble |
| Nimorazole | Insoluble |
| Nitrofurantoïne | Inhibition $CI_{50} = 0,039$ mM |
| Thiabendazole | Inhibition $CI_{50} = 1,67$ mM |
| Lévamisole | Inhibition $CI_{50} = 2,84$ mM |
| Tétramisole | Inhibition de 10% pour 2 mM |
| Méthimazole | Inhibition $CI_{50} = 0,002$ mM |
| 2-Mercaptothiazoline | Inhibition $CI_{50} = 1,60$ mM |

CI_{50} : concentration provoquant une inhibition de 50% de l'activité de la peroxydase; CA_{50} : concentration provoquant une augmentation de 50% de l'activité de la peroxydase.

tion du temps. Pour une molécule donnée, plusieurs essais ont été réalisés avec des concentrations variant de 10^{-4} à 10^{-3} M, et nous avons obtenu une vitesse initiale que nous avons comparée à une cinétique témoin. Nous avons ensuite calculé, pour chaque concentration, le pourcentage d'activation ou d'inhibition de la peroxydase, à l'aide de la formule suivante:

$$(V_{ox} - V_0) \cdot 100 / V_0$$

où V_{ox} était la vitesse initiale en présence du médicament, et V_0 la vitesse initiale de la cinétique témoin.

Nous avons ensuite tracé la courbe représentant l'activité enzymatique en fonction de la concentration médicamenteuse et, par cette méthode, nous avons essayé de déterminer la concentration qui entraînait une inhibition de 50% de l'activité enzymatique (CI_{50}).

Tableau III. Études biologique et histologique.

| Molécule | T4 ($\mu\text{g/dl}$) | ITL | Épithélium | Activité |
|------------------------|----------------------------|------------------|-------------|----------|
| Témoins | 4,30 \pm 0,42 | 14,40 \pm 1,13 | Cubique | - |
| Sulfaméthizole | 3,76 \pm 0,35 | 12,97 \pm 1,04 | Cylindrique | ++ |
| Sulfathiazole | 3,27 \pm 0,20 b | 11,28 \pm 0,95 | Cylindrique | +++ |
| Sulfamoxole | 1,53 \pm 0,08 a | 5,42 \pm 0,47 | Cylindrique | ++ |
| Sulfisoxazole | 2,21 \pm 0,19 a | 8,09 \pm 0,89 | Cylindrique | ++à+++ |
| Sulfaméthoxazole | 2,18 \pm 0,24 a | 7,84 \pm 0,80 | Cylindrique | ++ |
| Sulfadimidine | 2,15 \pm 0,19 b | 5,75 \pm 0,60 | Cylindrique | +++ |
| Sulfapyridine | 3,53 \pm 0,32 c | 12,59 \pm 1,02 | Cylindrique | ++ |
| Sulfadiazine | 2,83 \pm 0,30 | 8,60 \pm 0,82 | Cylindrique | +++ |
| Sulfamérazine | 3,53 \pm 0,93 | 12,17 \pm 1,18 | Cylindrique | ++ |
| Sulfaméthoxypyridazine | 2,29 \pm 0,54 b | 8,18 \pm 1,14 | Cylindrique | ++ |
| Sulfadiméthoxine | 1,64 \pm 0,29 a | 6,05 \pm 0,79 | Cylindrique | +++ |
| Clotrimazole | 3,58 \pm 0,26 b | 11,97 \pm 0,73 | Cylindrique | +à++ |
| Albendazole | 3,31 \pm 0,59 | 11,03 \pm 1,02 | Cylindrique | ++ |
| Mébendazole | 3,50 \pm 0,50 f | 12,07 \pm 1,27 | Cylindrique | +à++ |
| Oxibendazole | 3,45 \pm 0,24 b | 11,42 \pm 0,98 | Cylindrique | ++ |
| Parbendazole | 3,61 \pm 0,35 e | 11,98 \pm 1,41 | Cylindrique | ++ |
| Kétoconazole | 3,55 \pm 0,16 b | 11,83 \pm 1,28 | Cylindrique | ++ |
| Miconazole | 3,49 \pm 0,27 c | 11,63 \pm 0,82 | Cylindrique | ++ |
| Éconazole | 3,80 \pm 0,72 | 12,36 \pm 0,91 | Cylindrique | ++ |
| Dimétridazole | 2,55 \pm 0,37 b | 9,37 \pm 0,90 | Cylindrique | +à++ |
| Métronidazole | 2,88 \pm 0,17 b | 9,66 \pm 1,04 | Cylindrique | ++ |
| Tinidazole | 3,10 \pm 0,89 | 10,64 \pm 1,18 | Cyl-cub | ++ |
| Nimorazole | 2,80 \pm 0,72 | 8,87 \pm 0,79 | Cyl-cub | ++ |
| Nitrofurantoiné | 3,80 \pm 0,62 | 12,67 \pm 0,74 | Cylindrique | ++ |
| Thiabendazole | 3,01 \pm 0,40 | 9,32 \pm 0,80 | Cylindrique | ++à+++ |
| Lévamisole | 2,86 \pm 0,30 b | 7,94 \pm 0,80 | Cylindrique | ++à+++ |
| Tétramisole | 2,87 \pm 0,16 a | 9,57 \pm 0,97 | Cylindrique | +à++ |
| Méthimazole | 0,56 \pm 0,04 a | 1,24 \pm 0,04 | Cylindrique | ++++ |
| 2-Mercaptothiazoline | 1,64 \pm 0,20 a | 3,90 \pm 0,25 | Cylindrique | ++++ |

a: P < 0,001; b: P < 0,01; c: P < 0,02; e: P < 0,04; f: P < 0,05; Cyl-cub: cylindrocubique; ITL: indice de thyroxine libre.

Pour quelques molécules, nous avons obtenu une activation de l'enzyme, que nous avons quantifiée en déterminant la concentration qui entraînait une augmentation de 50% de l'activité enzymatique (CA₅₀).

Cela nous a permis de comparer l'action anti-peroxydase de l'ensemble des molécules.

Expérimentations sur le rat

Nous avons choisi le rat car il se prête facilement aux manipulations. Nous avons utilisé des rats Wistar mâles âgés de 4 semaines et pesant environ 200 g, provenant de l'élevage Janvier (Saint-Berthevin, France). Ils étaient répartis par

lots de 5 dans des cages. Chaque molécule était expérimentée sur 5 animaux.

Avant le début du traitement par les molécules médicamenteuses, ils ont été soumis à un régime particulier pendant 3 semaines : ils recevaient une nourriture spéciale "rats entretien AO₄" normo-iodée (0,75 µg d'iode par jour et par rat) UAR (Essonne, France), et de l'eau de boisson à volonté additionnée d'iodure de potassium (7,5 mg par litre d'eau). Ils ont ensuite été traités par intubation gastrique pendant 3 semaines, à raison de 50 mg de médicament par kilo et par jour. Dans les mêmes conditions, 1 lot témoin a reçu une solution de gomme arabique à titre de placebo, et 2 lots de référence ont reçu chacun 50 mg par kilo et par jour, soit de méthimazole, soit de 2-mercaptothiazoline. Le volume (1 ml) de solution médicamenteuse ingéré par jour (médicament en suspension dans une solution de gomme arabique) était identique dans tous les lots.

En fin de traitement, soit 21 jours après la première intubation gastrique, les rats ont été sacrifiés et pesés. Nous avons exprimé leur poids corporel par rapport à leur poids initial (en grammes pour 100 g), et nous l'avons comparé à celui des animaux témoins. Après ouverture de la cage thoracique, le sang a été prélevé au niveau de la carotide, et la dissection du cou a permis de prélever la thyroïde que nous avons pesée et dont nous avons comparé le poids à celui des thyroïdes des rats témoins.

Nous avons ensuite réalisé l'étude histologique, sur des coupes de thyroïdes effectuées dans une orientation perpendiculaire au larynx. Plusieurs étapes ont été nécessaires à la préparation et à l'analyse des coupes :

- fixation par le liquide de Bouin (solution aqueuse de formol à 10% et d'acide picrique à saturation);
- inclusion en "paraplast" dans un mélange à base de paraffine et de liants;
- réalisation des coupes au microtome, d'une épaisseur de 4 microns;
- coloration par l'hématéine-éosine-safran.

Selon l'état d'activité de la glande, nous avons observé des variations structurales des cellules folliculaires (Buxeraud *et al*, 1985; Raby *et al*, 1990) :

- vésicules dont l'épithélium (thyrocytes) est cubique et la colloïde volumineuse : thyroïde en état de fonctionnement normal;

- thyrocytes cylindriques entourant une colloïde réduite: hyperfonctionnement thyroïdien.

L'hyperfonctionnement a été évalué en déterminant le degré d'activité de la glande, cela en fonction du rapport du nombre de cellules cylindriques sur le nombre de cellules cubiques (Comby, 1992). Le rapport a été déterminé après observation et comptage d'environ 500 cellules, pour chacune des coupes :

- fonctionnement normal : - (moins de 5% de cellules cylindriques);
- activité modérée (rapport < 1) : + (moins de 50% de cellules cylindriques);
- hyperfonctionnement net (rapport > 1) : ++ (50 à 75% de cellules cylindriques);
- hyperfonctionnement important (rapport > 1) : +++ (activité forte, 75 à 90% de cellules cylindriques), ++++ (activité très forte, plus de 90% de cellules cylindriques).

Le dosage de la thyroxine totale T₄ et la détermination de la concentration des sites de liaison de la thyroxine insaturés (T₃ test) ont été réalisés par un dosage immunologique par polarisation de fluorescence Abbott (Rungis, France) (Symons et Vining, 1985). Cela nous a permis de calculer l'indice de thyroxine libre (ITL), qui est égal au rapport de T₄ totale sur T₃ test.

Analyse statistique

Afin de savoir si la différence entre les résultats trouvés pour les animaux traités est significative par rapport aux résultats concernant les témoins, nous avons réalisé une étude statistique par la méthode du test *t* de Student. Cela concernait les études pondérales et le dosage de la thyroxine.

RÉSULTATS

Étude des complexes iodés

Tous les sulfamides, et certaines autres molécules, étaient insolubles dans les solvants utilisés pour cette étude, aussi ils

n'ont pas été expérimentés avec l'iode. Cependant, pour ceux qui étaient un peu solubles, il y a eu formation de complexe, qui pourrait donc être quantifiée en cas de solubilité totale, car le mélange molécule-iode se colore en orange saumoné, ce qui traduit une consommation d'iode.

D'autres molécules étaient complètement solubilisées, mais ne formaient pas de complexe avec l'iode. Aussi, nous avons obtenu une constante de formation de complexe pour seulement 5 molécules, alors que pour 4 autres, nous avons pu conclure à une absence de complexe (tableau I).

Action sur la peroxydase

La plupart des molécules étudiées se sont montrées inhibitrices de la peroxydase, et

leur action a été quantifiée par le calcul de la CI_{50} (tableau II). Deux médicaments ont entraîné une activation de l'enzyme, et nous avons pu déterminer la CA_{50} . Pour quelques autres molécules, nous n'avons pas pu déterminer la CI_{50} car il y avait formation d'un précipité, nous avons donc évalué la concentration qui provoquait 10, 30 ou 40% d'inhibition de l'activité enzymatique.

Expérimentations sur le rat

Dans le tableau III, nous avons rassemblé les valeurs de T_4 et de l'ITL pour chacun des lots, ainsi que les résultats de l'étude histologique. Toutes les molécules expérimentées ont provoqué une hypothyroïdie avec hyperfonctionnement en retour, se traduisant par la présence d'un épithélium

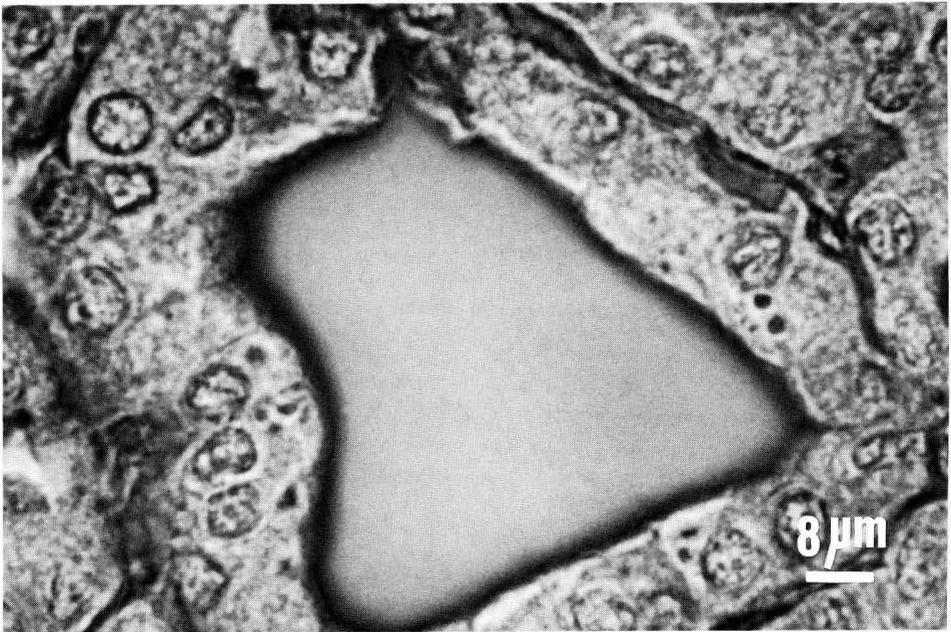


Fig 2. Aspect histologique des thyroïdes des rats témoins (x 1250) : cellules cubiques et colloïde volumineux. Coloration par l'hématoxyline-éosine-safran.

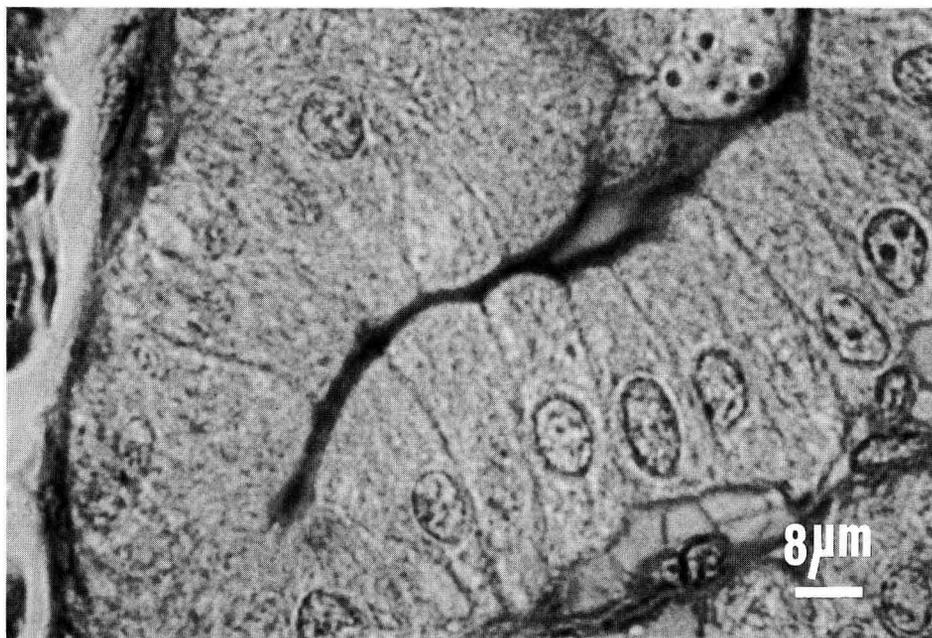


Fig 3. Aspect histologique des thyroïdes des rats traités par la sulfadiméthoxine (x 1250) : cellules cylindriques et colloïde réduite. Coloration par l'hématéine-éosine-safran.

cylindrique et par une activité thyroïdienne importante par rapport aux témoins. Cela est mis en évidence sur la figure 2 (coupe d'une thyroïde témoin) et sur la figure 3 (coupe d'une thyroïde d'un rat traité par la sulfadiméthoxine).

Les résultats de l'étude du poids des glandes thyroïdes et du poids des animaux sont contenus dans le tableau IV. Il est important de noter que presque toutes les glandes ont un poids supérieur à celui des témoins; en revanche, l'augmentation du poids corporel n'est significativement mise en évidence que pour le traitement avec 2 molécules.

DISCUSSION

Nos résultats traduisent une action antithyroïdienne pour tous les médicaments expérimentés. Toutefois, les effets ne sont pas aussi nets que ceux obtenus avec les 2 médicaments antithyroïdiens de référence. L'intensité de l'action exercée sur la peroxydase est du même ordre que celle obtenue avec ces derniers (CI_{50} proches). En revanche, les constantes de formation de complexe sont plus faibles que celles obtenues avec les antithyroïdiens de référence. Cela provient de la structure chimique de ces derniers, qui est très favorable à une complexation importante (présence

Tableau IV. Résultats de l'étude pondérale des rats et des thyroïdes.

| Molécule | Rats (g/100g de poids initial) | Thyroïde (mg/100g de poids vif) |
|------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Témoins | 199,92 ± 7,99 | 3,98 ± 0,35 |
| Sulfaméthizole | 195,75 ± 4,97 | 4,98 ± 2,11 |
| Sulfathiazole | 201,55 ± 5,95 | 3,88 ± 0,93 |
| Sulfamoxole | 196,85 ± 14,71 | 10,32 ± 2,65 b |
| Sulfisoxazole | 210,14 ± 5,56 | 4,88 ± 0,67 |
| Sulfaméthoxazole | 195,85 ± 13,83 | 5,57 ± 0,86 e |
| Sulfadimidine | 226,10 ± 8,22 c | 5,45 ± 0,89 |
| Sulfapyridine | 192,02 ± 7,11 | 5,70 ± 3,32 |
| Sulfadiazine | 188,30 ± 9,21 | 7,13 ± 0,65 c |
| Sulfamérazine | 187,19 ± 10,48 | 5,53 ± 1,28 |
| Sulfaméthoxypyridazine | 194,84 ± 8,58 | 5,66 ± 1,14 |
| Sulfadiméthoxine | 190,17 ± 9,12 | 9,25 ± 0,60 a |
| Clotrimazole | 181,10 ± 4,81 d | 5,04 ± 0,89 |
| Albendazole | 174,15 ± 7,12 | 4,00 ± 0,69 |
| Mébendazole | 183,57 ± 10,60 | 4,73 ± 0,82 |
| Oxibendazole | 177,02 ± 3,83 c | 5,00 ± 1,10 |
| Parbendazole | 176,11 ± 6,24 c | 4,57 ± 0,67 |
| Kétoconazole | 188,66 ± 11,34 | 4,56 ± 0,25 |
| Miconazole | 184,97 ± 3,92 | 3,32 ± 1,19 |
| Éconazole | 165,28 ± 3,29 b | 6,07 ± 1,02 |
| Dimétrizazole | 194,95 ± 9,19 | 5,71 ± 0,54 b |
| Métronidazole | 192,96 ± 6,19 | 5,16 ± 0,44 e |
| Tinidazole | 194,66 ± 7,71 | 5,78 ± 1,14 |
| Nimorazole | 180,34 ± 9,09 | 5,24 ± 1,08 |
| Nitrofurantoïne | 185,49 ± 10,12 | 5,51 ± 0,80 e |
| Thiabendazole | 209,98 ± 5,52 | 5,90 ± 0,93 |
| Lévamisole | 226,32 ± 7,01 b | 5,16 ± 0,71 |
| Tétramisole | 188,96 ± 5,30 | 4,57 ± 0,89 |
| Méthimazole | 231,12 ± 6,01 b | 27,72 ± 3,68 a |
| 2-Mercaptothiazoline | 212,27 ± 6,79 | 29,44 ± 10,56 b |

a: P < 0,001; b: P < 0,01; c: P < 0,02; d: P : 0,03; e: P < 0,04.

du substituant le plus électrodonneur connu (SH) dans la formule de chacun d'eux), la complexation de l'iode étant leur mécanisme d'action antithyroïdienne principal.

Une hypothyroïdie se traduit généralement par une baisse de la concentration sanguine de T₄, et l'organisme réagit alors, par rétrocontrôle positif, en provoquant un hyperfonctionnement de la glande, qui en-

traîne une augmentation du poids de cette dernière. Théoriquement, une augmentation du poids de l'animal doit s'en suivre, mais en pratique, cela est difficile à mettre en évidence en raison d'une appétence plus ou moins grande de la part des animaux.

Les études réalisées *in vitro* et *in vivo* sont en bon accord entre elles : pour un médicament donné, il existe la plupart du

temps une bonne corrélation entre les diverses études. Mais, si la mise en évidence de l'augmentation du poids de la thyroïde est effective dans presque tous les cas, le poids de l'animal est le plus souvent diminué par rapport aux témoins. Cela peut provenir d'une inappétence de la part de certains rats, ou bien, pour les molécules à fort pouvoir antithyroïdien, d'un effet toxique en raison de l'utilisation de doses trop élevées par rapport à celles qui sont utilisées avec des molécules à action antithyroïdienne moindre. En effet, $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ a été la dose utilisée pour chacun des médicaments, quelle que soit son activité antithyroïdienne. C'est ainsi que peuvent s'expliquer les faibles prises de poids ou les pertes de poids importantes, chez des rats dont le poids de la thyroïde est cependant fortement augmenté.

Cette mise en parallèle des résultats permet d'expliquer le mécanisme de l'action exercée sur la thyroïde par le médicament (action sur l'iode et/ou sur la peroxydase), d'analyser les conséquences qui en découlent sur la glande elle-même (biologie, histologie) et de constater la modification ou non du poids des thyroïdes et du poids des animaux traités par le médicament.

Dans nos expérimentations, et lors de travaux antérieurs, cités précédemment, effectués dans notre laboratoire, nous souhaitons seulement avoir une indication de l'activité thyroïdienne, par l'étude histologique qui semble être le paramètre le plus cohérent (thyrocytes cubiques ou cylindriques). De plus, les variations morphologiques étaient si intenses qu'elles nous dispensaient d'une évaluation quantitative par des études lourdes telles que l'histomorphométrie. Mais pour des produits induisant des effets plus nuancés, cette méthode pourrait se révéler nécessaire, d'autant que sa fiabilité a été clairement démontrée (Delverdiere *et al*, 1991).

Lors de précédents travaux (Comby *et al*, 1991), nous avons testé 2 médicaments chez le mouton : le lévamisole et le triméthoprime. Ils ont provoqué une hypothyroïdie, mise en évidence pour chacun d'eux par des thyroïdes dont le poids et le volume étaient respectivement le double et le triple de ceux des moutons témoins. De tels animaux d'élevage se prêtaient infiniment moins facilement à ce type d'études, aussi n'ont-elles pas été poursuivies. Mais une éventuelle généralisation des expérimentations sur le mouton avec chacun des médicaments anti-infectieux de notre étude serait un complément utile à nos résultats.

Ces médicaments ayant un effet thyrostatique, donc capables de provoquer une prise de poids, pourraient être utilisés dans le but d'obtenir un gain de poids des animaux d'élevage. Ils peuvent ainsi agir comme substituts des anabolisants et des thyrostatiques interdits par une directive de la Communauté économique européenne datant de 1988. L'usage détourné dont ces molécules pourraient être l'objet se place dans une situation illicite.

Actuellement, les éleveurs peuvent facilement se procurer ces médicaments que l'on pourrait qualifier de thyrostatiques autorisés. Cet effet iatrogène antithyroïdien des médicaments peut concerner l'homme par l'intermédiaire des animaux de boucherie.

L'intérêt principal de nos expérimentations est de connaître les médicaments susceptibles de remplacer les anabolisants, et dont on pourrait soupçonner et rechercher une utilisation frauduleuse.

RÉFÉRENCES

- Buxeraud J, Absil AC, Raby C (1984) Secondary antithyroid action of drugs in relation to structure. *J Pharm Sci* 73, 1687-1690

- Buxeraud J, Absil AC, Claude J, Raby C, Catanzano G, Beck C (1985) Antithyroïdiens : relation structure-activité. II. Interprétation du mécanisme d'action des ATS par complexation de transfert de charge. *Eur J Med Chem* 20, 43-51
- Comby F, Lagorce JF, Nicolas JA, Raby C, Buxeraud J (1991) Action antithyroïdienne secondaire du lévamisole et du triméthoprime chez le mouton. *Rev Méd Vét* 142, 49-55
- Comby F (1992) Action antithyroïdienne des médicaments utilisés en thérapeutique vétérinaire. Complexation de l'iode, compétition enzymatique, aspects histologique et biologique. Étude de la surcharge pondérale secondaire. Thèse doctorat d'État en pharmacie 301A, Limoges
- Delverdier M, Cabanie P, Roome N, Enjalbert F, Van Haverbeke G (1991) Critical analysis of the histomorphometry of rat thyroid after treatment with thyroxin and propylthiouracil. *Ann Rech Vét* 22, 373-378
- Deme D, Virion A, Michot JL, Pommier J (1985) Thyroid hormone synthesis and thyroglobulin iodination related to the peroxidase localization of oxidizing equivalents: studies with cytochrome C peroxidase and horseradish peroxidase. *Arch Biochem Biophys* 236, 559-566
- Edelhoch H, Irace G, Johnson ML, Michot JL, Nunez J (1979) The effect of thioureylene compounds (goitrogens) on lactoperoxidase activity. *J Biol Chem* 254, 11822-11830
- Jambut-Absil AC, Buxeraud J, Lagorce JF, Raby C (1987) Charge transfer complexes of drugs with iodine investigation by UV/visible spectroscopy. *Int J Pharm* 35, 129-137
- Lagorce JF, Comby F, Buxeraud J, Raby C (1992) Synthèse et activité antithyroïdienne de dérivés du triazole. *Eur J Méd Chem* 27, 359-368
- Lang RP (1968) Molecular complexes of iodine with tetramethylurea and tetramethylthiourea. *J Phys Chem* 72, 2129-2135
- Raby C, Lagorce JF, Jambut-Absil AC, Buxeraud J, Catanzano G (1990) The mechanism of action of synthetic antithyroid drugs : iodine complexation during oxidation of iodide. *Endocrinology* 126, 1683-1691
- Symons RG, Vining RF (1985) An evaluation of a fluorescence polarization immunoassay of thyroxin and thyroxin uptake. *Clin Chem* 31, 1342-1348
- Taurog H, Dorris ML, Lamas L (1974) Comparison of lactoperoxidase and thyroid peroxidase catalysed iodination and coupling. *Endocrinology* 94, 1286-1294
- Thomes JC, Comby F, Lagorce JF, Buxeraud J, Raby C (1992) Sites of action of 2-thiazoline-2-thiol on biogenesis of thyroid hormones. *Jpn J Pharmacol* 58, 201-207