



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Larbi-Tébessi TEBESSA

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

Département de Biologie Appliquée

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Science de la Nature et de la Vie

Option: pharmaco-toxicologie

Thème

**Évaluation de la toxicité des nanoparticules métalliques
au niveau de l'organe d'élimination : le rein**

Présenté par:

Benzin tahani

Zaidi chaima

Lemita samira

Devant le jury:

Mme Rouachdia Roukaia

MAA

Université de Tébessa

Président

Mme Benamara Amel

MAA

Université de Tébessa

Promotrice

Mme Bouadila Soulef

MAA

Université de Tébessa

Examinatrice

Date de soutenance : 06/06/2021



Remerciement

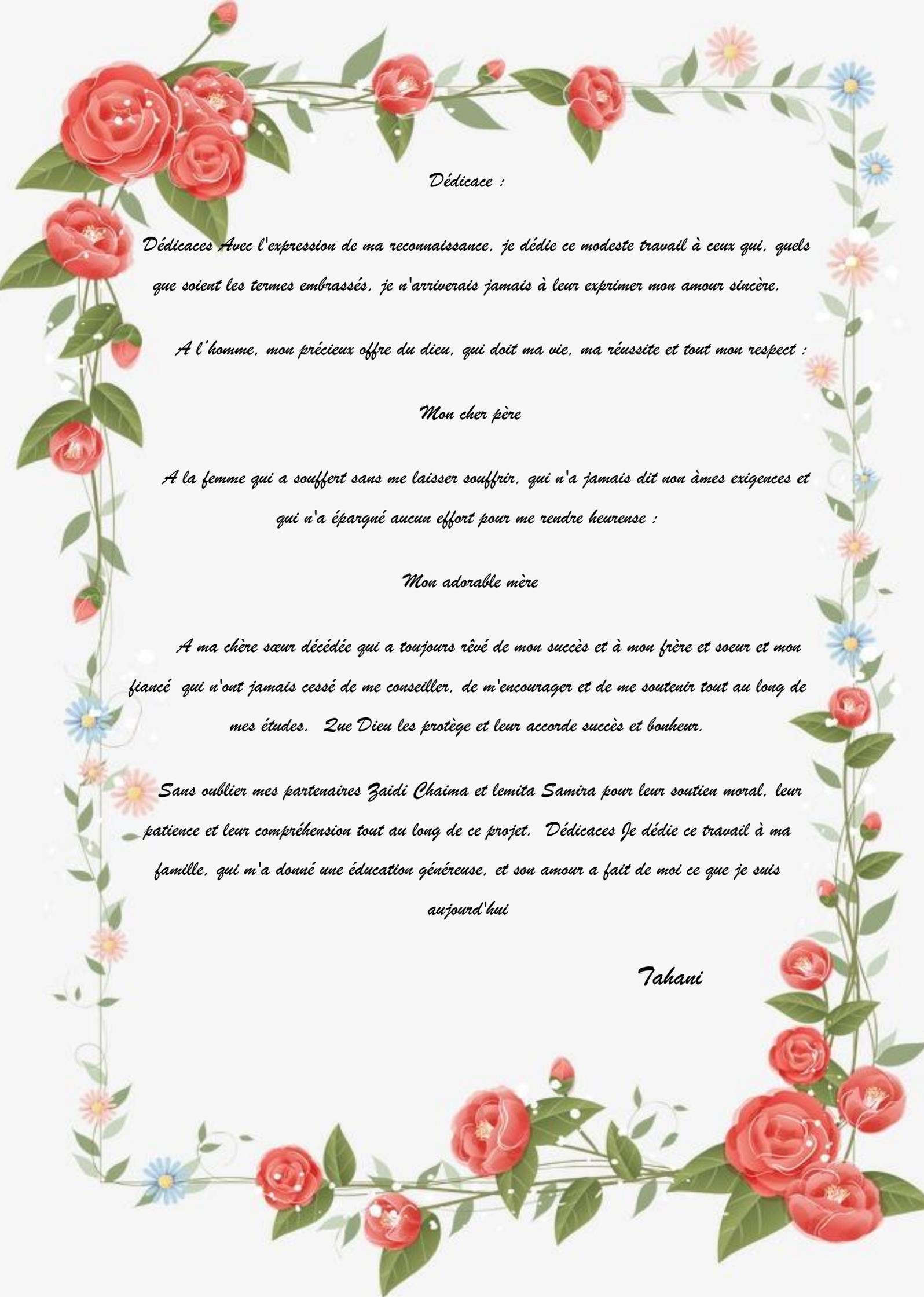
Le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force et la patience et la volonté d'accomplir ce modeste travail nous tenons à saisir cette occasion et adresser nos profonds.

*Tout d'abord, Nous tenons à exprimer toute notre gratitude à le Dr. **Mme Rouachdia R** d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire de Master.*

*Nous remercions infiniment notre encadreur Mme Dr. **Benamara A** qui a dirigé ce travail et a veillé à ce qu'il soit mené à terme. Nous tenons surtout à la remercier pour sa patience et ses précieux conseils, pour sa disponibilité exceptionnelle et ses nombreuses critiques constructives.*

*Grand et respectueux remerciement va à Mme Dr. **Bouadila S** d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous n'oublions pas de remercier vivement Mme **boukhalfa maroua** et les membres de l'équipe des laboratoires de département de biologie appliquée, pour leur aides et soutien moral. Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à nos collègues de travail au le laboratoire. Nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Un grand merci à tous.*



Dédicace :

Dédicaces Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

À l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect :

Mon cher père

À la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse :

Mon adorable mère

À ma chère sœur décédée qui a toujours rêvé de mon succès et à mon frère et sœur et mon fiancé qui n'ont jamais cessé de me conseiller, de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leur accorde succès et bonheur.

Sans oublier mes partenaires Zaidi Chaima et lemita Samira pour leur soutien moral, leur patience et leur compréhension tout au long de ce projet. Dédicaces Je dédie ce travail à ma famille, qui m'a donné une éducation généreuse, et son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui

Tahani



Dédicaces

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral, ma source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père mansour

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, maman nadia

A ma sœur marwa, A ma frère hichem et sa femme hazer

« Qui mon toujours soutenus et mon donnés force pour persévérer dans les pires moments, je vous aime. »

A ma famille

« Les plus grands cœurs au monde qui sont la toujours avec nous. Je vous souhaite tout ce qui est merveilleux dans ce monde. »

A mes frangines et mes adorables sœurs chaima et tahani, Si vous savez combien je vous aime, merci d'être patient, de vous aider et de me soutenir chaque jour.

A tous mes amis, mes proches, et mes camarades, En souvenir de tout ce qu'on a pu partager.

Samira



Dédicaces :

*À la rose de ma vie, ma joie, mon paradis ma frangine, qu'elle a passé sa vie à m'élever à vous maman je dédie ce modeste travail qui est le fruit de tes effort et je vous remercie infiniment a cette occasion ta fillette te dit qu'elle t'aime beaucoup
Qu'ALLAH te protège ; celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir.*

Maman

*Tous les mots du monde ne vous décrivent jamais, ma fierté, ma gloire, mon tous.
Chère Papa je vous dédie ce modeste travail qui est rien devant ce que vous avez fait pour nous. Qu'ALLAH te protège, je t'aime et inchallah tu resteras notre lumière*

Papa

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

*A mes chères frères : Fouad, Hamza, Abdelelhak & surtout Ishak si dieu le veut,
que dieu le protège combien tu m'as manqué*

A mes chères sœurs raouia & safa

A mes chers amis et camarades

A mes binômes samira & tahani merci d'être toujours là pour moi.

Chaima

Résumé

Les nanoparticules métalliques, telles que le dioxyde de titane, sont utilisées dans diverses applications commerciales (alimentaire, médical et environnemental). À cause de la méconnaissance des interactions existantes entre ces nanoparticules et les systèmes biologiques, leur toxicité constitue une source de préoccupation majeure, particulièrement pour l'homme et l'environnement

Dans Ce contexte, l'objectif de notre travail est focalisé sur l'évaluation de l'effet toxique des nanoparticules de dioxyde de titane sur les reins

Les paramètres physiologiques (poids corporel et poids relatif), ainsi que les paramètres de défense antioxydant enzymatique (glutathion peroxydases) et non enzymatique (glutathion) ont été mesurée chez les rats adulte après 30 jours de traitement par gavage de TiO_2 à la dose de $12 \mu\text{g}/\text{kg}$ de poids corporel à l'aide d'une sonde .

Les résultats obtenus montrent que la présence des nanoparticules métalliques de TiO_2 ne provoque pas des variations significatives sur le poids corporel et le poids relatif des reins ainsi que sur l'activité enzymatique de GPx et sur le système de défense non enzymatique GSH.

Mots clés : Nanoparticules, Dioxyde de titane, Système antioxydant, Stress oxydant, Rat *wistar*

Abstract:

Metallic nanoparticles, such as titanium dioxide, are used in a variety of commercial applications (food, medical and environmental). Due to a lack of awareness of the interactions between these nanoparticles and biological systems, their toxicity is a major concern, particularly for humans and the environment

In this context, the focus of our work is on the assessment of the toxic effect of titanium dioxide nanoparticles on the kidneys

Physiological parameters (body weight and relative weight), as well as enzymatic (glutathione peroxidase) and non-enzymatic (glutathione) antioxidant defense parameters was measured in adult rats after 30 days of gavage treatment of TiO₂ at a dose of 12μg/kg body weight using a probe .

The results obtained show that the presence of TiO₂ metallic nanoparticles does not cause significant variations on the body weight and relative weight of the kidneys as well as on the enzymatic activity of GPx and on the non-enzymatic defence system GSH.

Keywords : Nanoparticles, Titanium dioxide, Antioxidant system, Oxidative stress, *Wistar* rat

ملخص:

تستخدم الجسيمات النانوية المعدنية ، مثل ثاني أكسيد التيتانيوم ، في العديد من التطبيقات التجارية (الغذائية والطبية والبيئية... ..). بسبب عدم فهم التفاعلات الموجودة بين هذه الجسيمات النانوية والأنظمة البيولوجية ، فإن سميتها تشكل مصدر قلق كبير ، لا سيما بالنسبة للإنسان والبيئة.

في هذا السياق ، يتركز هدف عملنا على تقييم التأثير السام لجزيئات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية على الكلى.

تم قياس المعلمات الفسيولوجية (وزن الجسم والوزن النسبي) ، وكذلك المعلمات الدفاعية المضادة للأكسدة الأنزيمية (الجلوتاثيون بيروكسيديز) وغير الأنزيمية (الجلوتاثيون) في الجرذان البالغة بعد 30 يومًا من العلاج عن طريق تزقيم TiO_2 بجرعة 12 ميكروغرام. / كجم من وزن الجسم باستخدام مسبار.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن وجود الجسيمات النانوية المعدنية لـ TiO_2 لا يسبب اختلافات كبيرة في وزن الجسم والوزن النسبي للكلى وكذلك في النشاط الأنزيمي لـ GPx وفي نظام الدفاع غير الأنزيمي GSH.

الكلمات المفتاحية : الجسيمات النانوية ، ثاني أكسيد التيتانيوم ، نظام مضادات الأكسدة ، الإجهاد التأكسدي ، جرد ويستار

Liste Des Abréviations

μmol	Micromoles
AC	Acetamipride
ADME	Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion
ADN	Acide désoxyribonucléique
ATP	Adénosine diphosphate
CAT	Catalase
CIOH	Hypochlorite
Cu	Cuivre
CuS	sulfure de cuivre
Cu-Zn SOD	superoxyde dismutase aux ions cuivre et zinc
C₆₀	les fullerènes
DNTB	Acide 5-5 dithiobis- 2-nitrobenzoïque
EDTA	Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique
ERO	Espèces Réactives de l'oxygène
EOA	Espèces Oxygénée Réactivee
FADH₂	Flavine adénine dinucléotide
Fe₂O₃	Oxyde de fer

Liste d'abréviation

Fe₃O₄	Tétroxyde de trifer
GPx:	Glutathions peroxydases
GSH	Glutathion réduit
GSSG	Glutathion oxydé
GST	Glutathion S-transférase
H₂O	Eau
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
LOOH	Hydroxide lipidique
mg	Milligramme
mmol	Milimole
Mn	Manganèse
MnSOD	Superoxyde dismutase associée au manganèse
NaCl	Chlorure de sodium
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NH₂	groupements amines
Nm	Nanomètre
NO°	Radical oxyde nitrique
NPs	Les nanoparticules
O₃	Ozone

O^{°-2}	Anion superoxyde
OH	Radicaux hydroxyls
ONOO°	Peroxinitrite
ONOOH	Nitroperoxyde
PR	Poids du rein
PRR	Poids relatif des reins
PUF	Particules ultra-fines
RO°	Alkoxyde
ROO°	Peroxyde
ROOH	Hydroperoxyde
ROS	Reactive oxygen species
Se	Sélénium
Secys	Séléno-cystéine
SH	Groupements du glutathion
SiO₂	Dioxyde de silicium
SOD	Superoxydes dismutases
TBS	Tampon Tris-salin
TCA	Acide trichloroacétique
TiO₂	Dioxyde de titan

Liste d'abréviation

Vit E Vitamine E

Vit C Vitamine C

Zn Zinc

ZnO Oxyde de zi

Liste des tableaux :

N°	Titre des tableaux	Page
01	Récapitulatif des applications du TiO ₂	13
02	les espèces réactives de l'oxygène radicalaire et non radicalaire	16
03	Composition de l'alimentation pour 1 Kg d'aliment	23
04	Variation de poids corporel (g) et de poids relatif (g/100g de poids corporel) des reins chez les rats témoins et traités après 30 jours de traitement. (m+s, n=3)	32
05	Variation de glutathion (GSH) (nmol /mg de protéine) et glutathion peroxydase (GPx) (μmol GSH/mg protéine) dans les reins chez les rats témoins et traités après 30 jours de traitement.	34

Liste des figures :

N°	Titre des figures	page
01	Exemples de structures de nanoparticules	3
02	Classement des nanoparticules en fonction de leur origine.	5
03	Différents structure par le carbone pur à la dimension nanoparticule	6
04	Schémas d'un phospholipide, d'un liposome formé en solution	7
05	Défèrent vois d'entrée des nanoparticules dans l'organisme	9
06	Mécanismes d'action des nanoparticules (NPs) manufacturées	11
07	Les structures cristallines du TiO ₂ anatase (a), rutile (b) et brookite (c)	12
08	Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants	15
09	Production d'anion superoxyde dans la chaîne respiratoire mitochondriale	17
10	Les réactions d'élimination des radicaux lipidiques par les vitamines E et C	20
11	Différentes cibles des espèces réactives de l'oxygène	21
12	Dioxyde de titane sous forme poudre	23
13	traitement des rats par gavage à partir d'une sonde	24

Liste des figures

14	dissection des rats et isolement des reins	25
15	schéma récapitulatif des étapes du protocole expérimental utilisé.	26
16	broyage et homogénéisation des tissus dans l'EDTA	29
17	Variation de poids corporel en (g) des rats témoins et traités après 30 jours de traitement. (m+s, n=3).	33
18	Variation du poids relatif des reins en (g/100 g de pc) chez les rats témoins et traités après 30 jours de traitement. (m+s, n=3).	33
19	Variation de la teneur cellulaire en glutathion (GSH) (nmol/mg protéine) dans les reins chez les rats témoins et traités après 30 jours de traitement. (m+s, n=3)	35
20	Variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (μmol GSH/mg de protéine) dans les reins chez les rats témoins et traités après 30 jours de traitement (m+s, n=3)	35

Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Liste Des Abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction :	1
Chapitre 01 : les nanoparticules	3
1. Définition	3
2. Classifications des nanoparticules	4
2.1 Classifications selon l'origine	4
2.2 Classification selon la nature : Comprend 2 classes	5
3. Effet de nanoparticule sur l'environnement	7
4. Effet des nanoparticules sur l'homme	8
4.1 Voies d'entrée dans l'organisme	8
5. Toxicocinétique des nanoparticules après pénétration dans l'organisme	9
6. Mécanismes d'action des nanoparticules	10
7. Cas de nanoparticule du dioxyde de titane	11
8. Propriétés structurales de dioxyde de titane :	12
9. Domaine d'utilisation du dioxyde titane	13
10. Toxicité de dioxyde de titane	13
Chapitre 2 : le stress oxydatif	15
1. Le stress oxydatif :	15
2. Espèces réactives d'oxygène	15

3. L'origine des espèces réactives de l'oxygène :.....	17
4. Système antioxydant :.....	17
4.1 System antioxydant enzymatique :	18
4.2 System antioxydant non enzymatique :	19
4.2.2 Les oligoéléments :	19
5. Effets du stress oxydant sur les structures moléculaires :.....	21
5.1 ADN (acide désoxyribonucléique) :	21
5.2 Lipides.....	22
5.3 Les protéines	22
Matériel et méthodes :	23
1. Matériel chimique.....	23
2. Matériel biologique et conditions d'élevage	23
3. Traitement des rats :.....	24
3.1. Sacrifices :.....	24
3.2. Prélèvement des reins :	25
4. Étude pondérale :.....	27
4.1 suivie du poids corporelle des rats	27
4.2 Le poids relatif des reins	27
5. Dosage des paramètres du stress oxydant :	27
5.1 Préparation de l'homogénat :	27
5.2 Dosage des protéines :	28
5.3 Dosage du glutathion (GSH) :.....	28
5.4 Dosage de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) :.....	30
6.Traitement statistique des résultats :.....	31
Résultats.....	32
1. Etude pondérale	32

1.1 Variation du poids corporel :	32
1.2 Variation du poids relatif des reins	32
2. Paramètres du stress oxydant.....	34
2.2. Effet des NPs de TiO ₂ sur l'activité enzymatique de la Glutathion peroxydase (GPx)	34
Discussion :	37
Conclusion et perspective :	40
Référence bibliographie	41

Introduction

Introduction :

Les échelles caractéristiques des nanotechnologies vont de 1 à 100 nanomètres (nm). Dans cette intervalle, la matière acquiert des propriétés inattendues et souvent différentes de celles des mêmes matériaux à l'échelle micro- ou macroscopique (**Chuto, 2010**). Les propriétés physico-chimiques acquises à l'échelle nanométrique permettent de révolutionner de nombreux secteurs industriels tels que la cosmétique, la pharmaceutique, l'alimentaire ou encore la médecine (**Contado, 2015**). Le dioxyde de titane parmi les nanoparticules inorganiques les plus produit en 2018, avec plus de 10 000 tonnes. Il est utilisé principalement comme additif alimentaire (sous l'appellation E171), filtre anti UV, agent blanchissant ou encore comme photocatalyseur (**Peters et al, 2014**).

Cette utilisation importante dans les produits de consommation suscite actuellement des préoccupations majeures quant aux risques sanitaires potentiels. En effet, les risques d'exposition sont non négligeables. L'inhalation, l'ingestion ou l'application cutanée sont les principales voies de pénétration des NPs TiO₂ dans l'organisme. De par leur faible taille peuvent aisément traverser les barrières biologiques, être véhiculées par le sang pour atteindre divers organes, être bioaccumulées ou encore excrétées dans les urines. Ainsi, contrairement aux microparticules, qui exercent leurs actions toxiques localement, les nanoparticules peuvent exercer leur toxicité de façon systémique sur des cibles et organes éloignés (**Shakeel, 2016**).

Lors de cette étude, nous avons ainsi voulu savoir quel était le potentiel toxique des nanoparticules après leur passage dans l'organisme, sur l'organe d'élimination : le rein. Pour ce faire, on a élaboré un plan de recherche qui s'articule sur deux parties :

La première partie est une synthèse bibliographique, se divise en deux chapitres.

Le chapitre 1 décrit les notions sur les nanoparticules on générale et en particulier le dioxyde de titane (effet sur l'environnement et l'homme, ainsi que la toxicocinétique et le mode d'action), et le 2^{ème} chapitre porte sur le stress oxydatif, les ROS et leur origine, système antioxydant enzymatique et non enzymatique.

La deuxième partie a été consacrée à l'étude expérimentale in vivo en explorant les effets toxiques des NPs du dioxyde de titane, au niveau des reins d'abord par l'étude pondérale puis sur les paramètres de stress oxydant par la détermination des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (GPx et GSH).

Synthèse bibliographique

Chapitre 01 : les nanoparticules

1. Définition

Les nanomatériaux sont définis comme des matériaux sous forme de poudre, d'aérosol, de Suspension liquide ou de gel, possédant une ou plusieurs dimensions à l'échelle nanométrique (figure 1), (pujalté, 2011).

Les nanoparticules sont des particules ultra-fines (PUF) dont au moins une dimension est comprise entre 1 et 100 nanomètres (milliardième de mètre). Cette taille leur permet D'interagir facilement avec les composants biologiques. En effet, leurs propriétés physico-chimiques et toxicologiques particulières sont liées en plus à Leur surface spécifique qui est la surface totale de la particule normalisée par la masse. Ainsi, une particule de 10nm de diamètre aura une surface spécifique 10 fois plus importante qu'une nanoparticule de 300 nm de diamètre. Cela représente une surface disponible 10 fois plus grande à masse égale pour interagir avec les membranes, les molécules biologiques ou les organites cellulaires et enfin leur réactivité de surface qui est également fortement liée à leur composition qui peut être très variée. On distingue par exemple les nanoparticules organiques (constituées majoritairement de polymères), métallique (ex: nanoparticule d'or ou d'argent), d'oxydes métallique (ex ; Fe_2O_3 , Fe_3O_4 , TiO_2) ou encore des composites (ex : quantum dots CdSe-ZnS), (BRATLI, 2015).

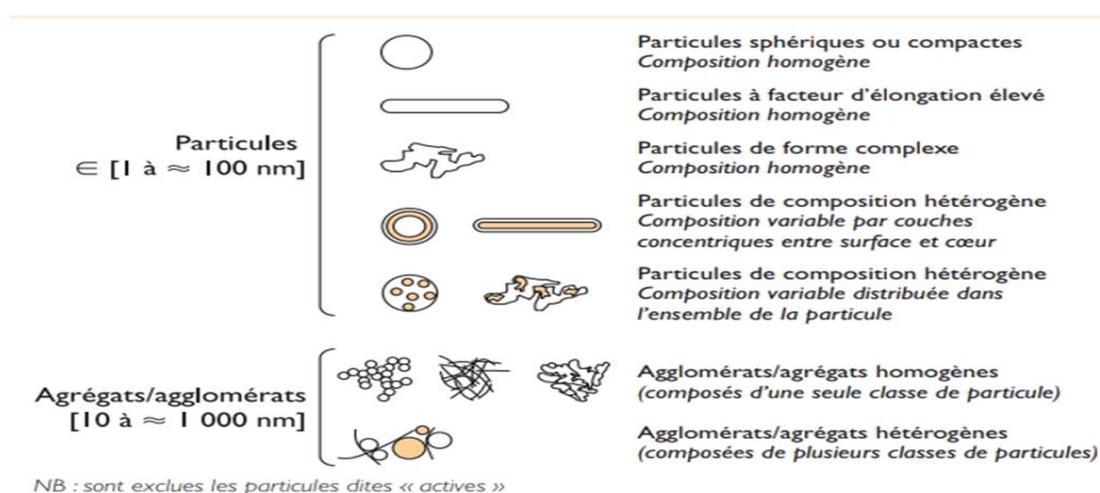


Figure 01 : Exemples de structures de nanoparticules (Tagnard et al, 2008)

1. Classifications des nanoparticules

2.1 Classifications selon l'origine

Selon leurs origines, les nanoparticules sont classées en deux catégories ;

2.1.1 Les nanoparticules naturelles

Les nanoparticules sont présentes dans l'environnement depuis des milliards d'années, comme le noir de carbone (charbon de bois), et d'autres particules inorganiques, comme l'argile ou l'oxyhydroxyde métallique (**Bucheli, 2007**). Ces nanoparticules sont issues de processus naturels (feux de forêts, éruptions volcaniques...) et existent dans l'atmosphère, le sol et l'eau.

2.1.2 Les nanoparticules artificielles

Les nanoparticules (NPs) d'origine anthropogénique sont divisées en deux sous-familles différentes:

- **Les nanoparticules artificielles d'origine anthropique non intentionnelle** résultent de produits de combustion, elles se retrouvent dans le diesel, la fumée de tabac, les fumées domestiques, les fumées industrielles, etc.
- **Les nanoparticules artificielles d'origine anthropique intentionnelle** sont présentes dans les carbones (noir de carbone, fullerène, nanoparticules de carbone), les oxydes, les céramiques et les polymères, (**Daragnes, 2018**).

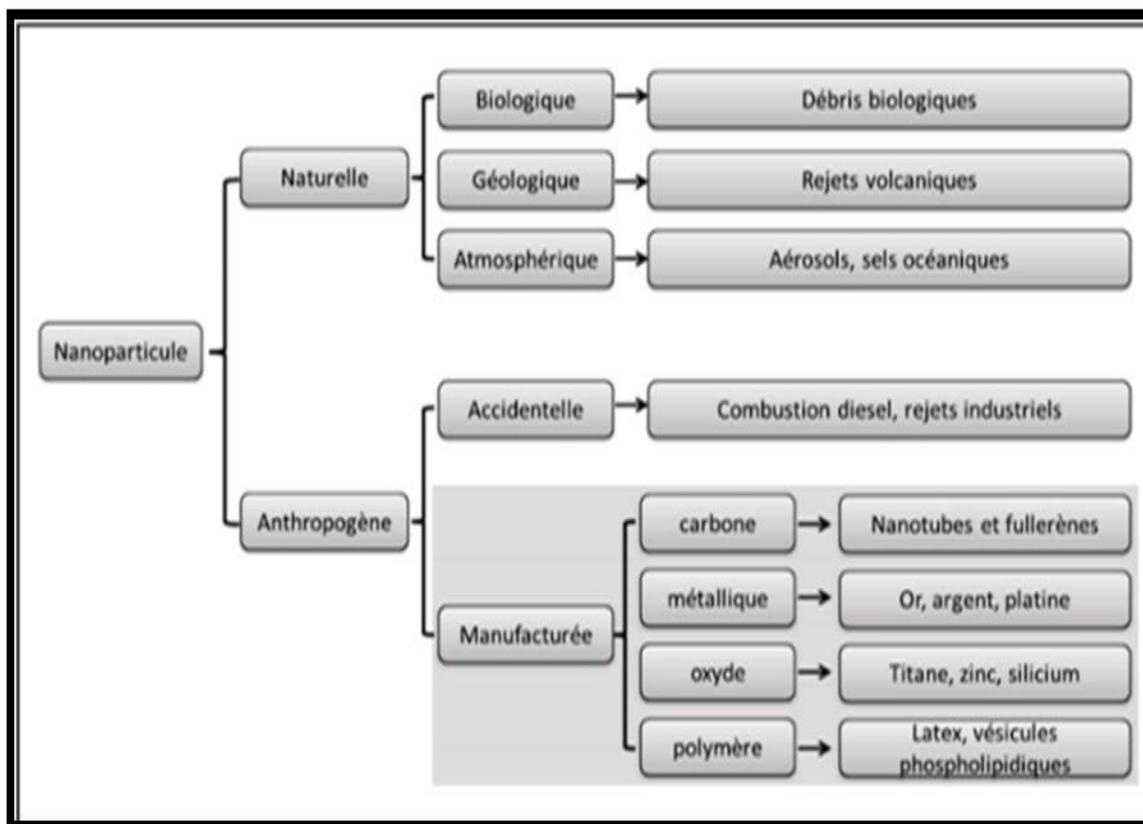


Figure 02 : Classement des nanoparticules en fonction de leur origine. (Pan, 2010)

2.2 Classification selon la nature : Comprend 2 classes

2.2.1 Nanoparticules Minérales

- **Les métaux**

Les nanoparticules métalliques sont comme leur nom l'indique constituées d'un métal ou d'un alliage métallique. Leur fabrication nécessite le plus souvent l'utilisation d'un métal noble résistant à l'oxydation. Les métaux les plus étudiées sont à base d'or, d'argent, de cuivre ou encore de platine, (Garcia, .2010).

- **les oxyde et sulfures**

Les métaux peuvent aussi former des oxydes ou des sulfures métalliques avec des propriétés modifiées. Ces matériaux sont formés d'un réseau métal-oxygène ou métal-soufre. Les oxydes métalliques les plus rencontrés sont le dioxyde de titane (TiO_2), l'oxyde de zinc

(ZnO) et la dioxyde de silicium (SiO₂) (**Brayner, 2010**), Les principaux sulfures métalliques regroupent le sulfure de zinc (ZnS) et le sulfure de cuivre (CuS.), (**Lewis, 2010**).

- **Les NPs à base de carbone**

Les NPs à base de carbone peuvent être retrouvées sous différents états telles que les nanotubes, les fullerènes (C₆₀) les nano-diamants et le graphène, qui sont quatre formes cristallines du carbone pour (Figure 3).

- Les atomes de carbone peuvent également cristalliser en structures sphériques vides : les fullerènes.
- Les nanotubes sont des structures cylindriques constituées de feuillets de graphite enroulés en une ou plusieurs couches.
- le graphène est un matériau bidimensionnel composé d'un feuillet unique de graphite, (Smalley, 1997).
- Les nano-diamants sont une structure la plus dure connue, (**Mochalin, 2012**).

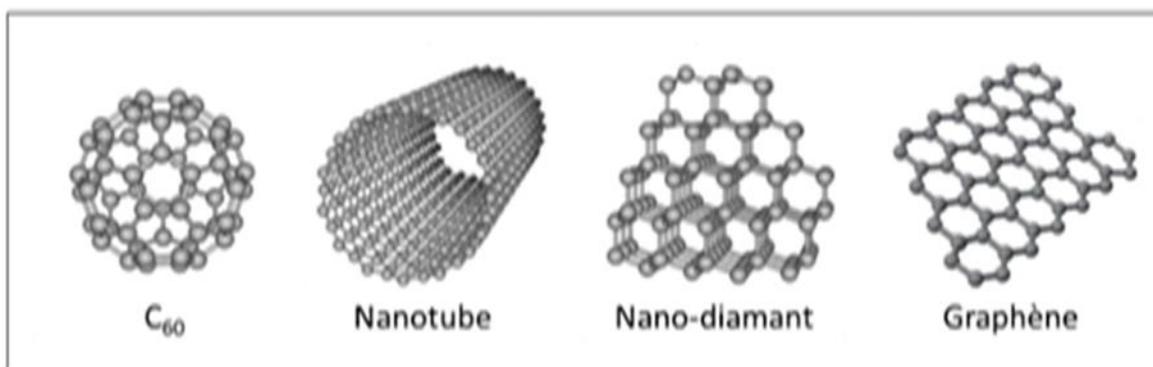


Figure 03 : Différents structures du carbone pur à la dimension nanoparticule, (**Ehrenfreund, 2010**).

2.2.2 Nanoparticules Organiques

- **Les polymersomes**

Sont des petites sphères vides constituées d'un polymère pouvant contenir une solution ou un principe actif. Ces objets s'apparentent à des vésicules artificielles et servent de barrières physiques avec le milieu extérieur, (**Allouche, 2013**).

- **Les micelles et les vésicules**

Les micelles sont des agrégats sphéroïdaux biphasés, les phospholipides. Ces molécules sont composées d'une tête polaire hydrophile et d'une queue apolaire hydrophobe. Dans un solvant polaire comme l'eau, la tête hydrophile constitue l'extérieur de la sphère et la queue se trouve au milieu. Les phospholipides peuvent également regrouper en bicouches concentriques pour former de petites vésicules artificielles aussi connues sous le nom de liposomes (Figure 05), (Rao, 2011).

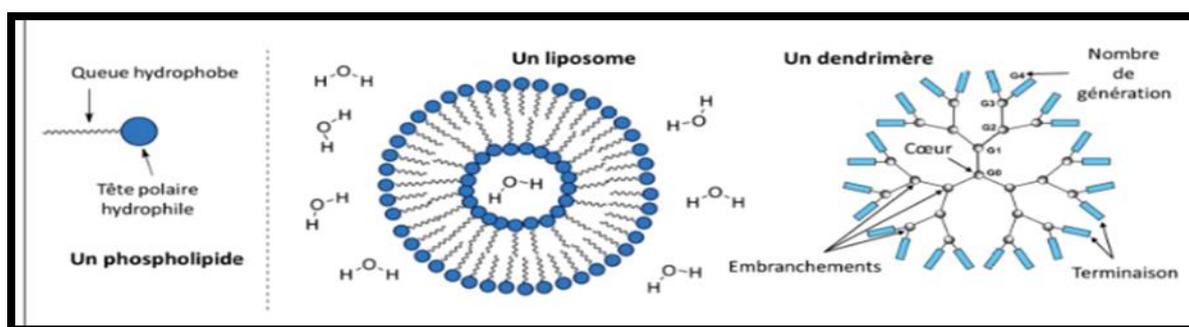


Figure 04 : Schémas d'un phospholipide, d'un liposome formé en solution, (Bavykin, 2006).

1. Effet de nanoparticule sur l'environnement

Des études commencent à montrer l'impact que pourrait avoir les nanoparticules sur l'environnement, mais actuellement il est difficile de savoir si les nanoparticules vont poser un problème pour l'environnement à court ou à long terme. Actuellement, les connaissances sont très pauvres sur la mise en circulation des nanoparticules manufacturées dans l'environnement. Leur relargage peut s'effectuer sous forme de poussières ou de suspension liquide au moment de leur fabrication, par l'abrasion ou l'altération des structures qui les maintiennent (ex : usure mécanique), par rejet d'effluents liquides ou gazeux par les installations de production ou de traitement. Les différentes plantes peuvent absorber, par leurs racines, les nanoparticules transportées par le sol, ainsi que les nanoparticules présentes dans l'air, par leurs stomates. La flore pourrait donc être indirectement contaminée les par les nanoparticules transportant des polluants, (Lowry, 2002).

A ce jour, il n'existe ni préconisation ni suivi pour la prise en compte des risques que peuvent poser les déchets comportant des nanoparticules. Les données disponibles ne permettent pas non plus d'estimer la population qui pourra être potentiellement exposée durant la fabrication, la mise en œuvre et l'usage des nanoparticules, **(WuY, 2010)**.

Aujourd'hui, une majorité d'études montrent les effets cytotoxiques des nanoparticules. Plus ces particules sont petites, plus elles sont capables de synthétiser des radicaux libres et ainsi d'endommager les membranes cellulaires et les chromosomes. Par exemple, les fullerènes C₆₀, des nanosphères composées de 60 atomes de carbone, libèrent une quantité importante de radicaux libres lorsqu'ils sont en suspension dans l'eau. Quant aux nanoparticules d'argent inférieures à 10 nanomètres, elles libèrent des ions argent qui interagissent avec les atomes de soufre dans les protéines des membranes cellulaires et avec les atomes de phosphore de l'ADN. Les nanotubes de carbone, eux, bloqueraient l'activité respiratoire et la digestion de certains amphibiens, **(WuY, 2010)**.

Les nanoparticules d'argent se sont avérées toxiques pour les poissons, chez les embryons et les adultes. Une contamination chronique aux nanoparticules d'argent entraîne ainsi une perturbation du développement embryonnaire avec des retards de développement, **(Donaldson, 2005)**.

2. Effet des nanoparticules sur l'homme

4.1 Voies d'entrée dans l'organisme

L'homme peut entrer en contact avec les nanoparticules de plusieurs façons : en les touchant (voie cutanée), en les ingérant (voie digestive) ou en les respirant (voie respiratoire). Cette dernière est probablement la plus conséquente et donc la plus étudiée. Chaque voie présente habituellement une barrière à cette pénétration (ex la rate ou les reins). Des études ont montré que les nanoparticules pouvaient franchir ces barrières de protection, se distribuer dans l'organisme et s'accumuler dans certains organes, principalement lors des expositions respiratoire ou digestive, **(Oberdorster et al., 2005)**.

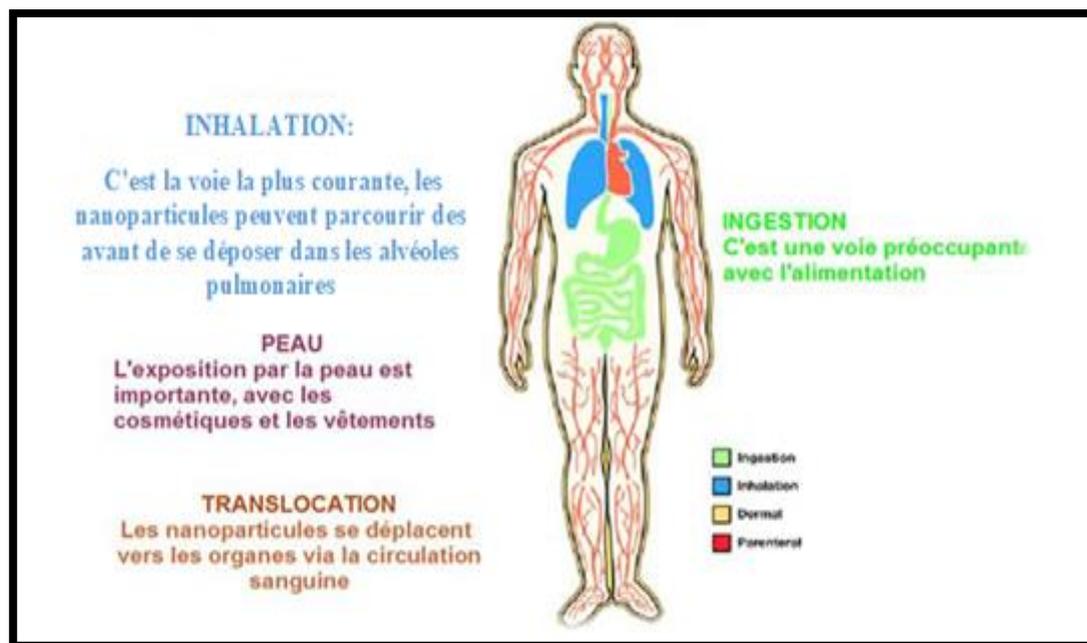


Figure 05 : Différentes voies d'entrée des nanoparticules dans l'organisme, (Warheit DB, 2004).

3. Toxicocinétique des nanoparticules après pénétration dans l'organisme

L'absorption est la première étape de la cinétique. Concernant la voie pulmonaire, ce passage se fera principalement au niveau des alvéoles pulmonaires, système richement vascularisé. Les nanoparticules présentes dans le tractus gastro-intestinal peuvent quant à elles atteindre la circulation sanguine ou lymphatique par les entérocytes ou les plaques de Peyer, (Hagens, Oomen, 2007).

La deuxième étape de la cinétique est la distribution de ces nanoparticules aux différents tissus ou organes (foie, rate, cœur, cerveau). Lorsque les nanoparticules atteignent la circulation générale, elles peuvent interagir avec les protéines plasmatiques, les facteurs de coagulation, les globules blancs ou les globules rouges, (Choi, 2007).

Le métabolisme à présent, concerne les nanoparticules absorbées au niveau du système gastro-intestinal qui rejoignent le foie (organe de la métabolisation) par la veine porte. Cependant peu de résultats sont à ce jour disponible sur ce point, (Hagens, Oomen, 2007).

L'élimination des nanoparticules s'effectue ensuite par différentes voies : soit par leur « porte d'entrée » si celles-ci ne sont pas absorbées; soit par voie rénale ou biliaire pour les nanoparticules ayant gagné la circulation générale. La cible rénale doit faire l'objet d'une attention particulière, le rein intervenant majoritairement dans le processus d'élimination des nanoparticules (**Choi, 2007**).

4. Mécanismes d'action des nanoparticules

L'entrée des NPs dans la cellule se fait généralement par un processus d'endocytose classique et elles vont se retrouver dans le compartiment cellulaire dans des vésicules entourées d'une membrane. Les NPs pénètrent donc dans la cellule « masquées » par les protéines et autres molécules biologiques qu'elles ont adsorbées et qu'elles transportent. Cette entrée déclenche une cascade d'événements moléculaires qui peut être à l'origine de la toxicité et de la mort cellulaire ou de réponses adaptatives telles que la réponse pro-inflammatoire, l'activation des enzymes antioxydantes, les processus de réparation, les effets sur le contrôle du cycle cellulaire et la prolifération. Ces événements sont directement ou indirectement associés à l'internalisation des NPs, leur persistance au niveau cellulaire, leur capacité à libérer des radicaux libres et d'induire un stress oxydant. En effet, une réponse qui est commune à un grand nombre de NPs manufacturées est la production directe ou indirecte de radicaux libres associée à la taille, la composition chimique et à la réactivité de surface des NPs, (**Nel, 2009**).

Quand elle n'est pas contrôlée par les systèmes de protection de la cellule, enzymes ou petites molécules antioxydantes, elle conduit au stress oxydant. Le niveau de production de radicaux libres serait à l'origine d'une réponse par étape. À un niveau mineur la protection anti_ oxydante est activée, quand la production de radicaux libres atteint un niveau plus important elle induit une réponse inflammatoire niveau très élevé les dommages cellulaires peuvent conduire à la mort par nécrose ou apoptose, (**Marano, 2011**).

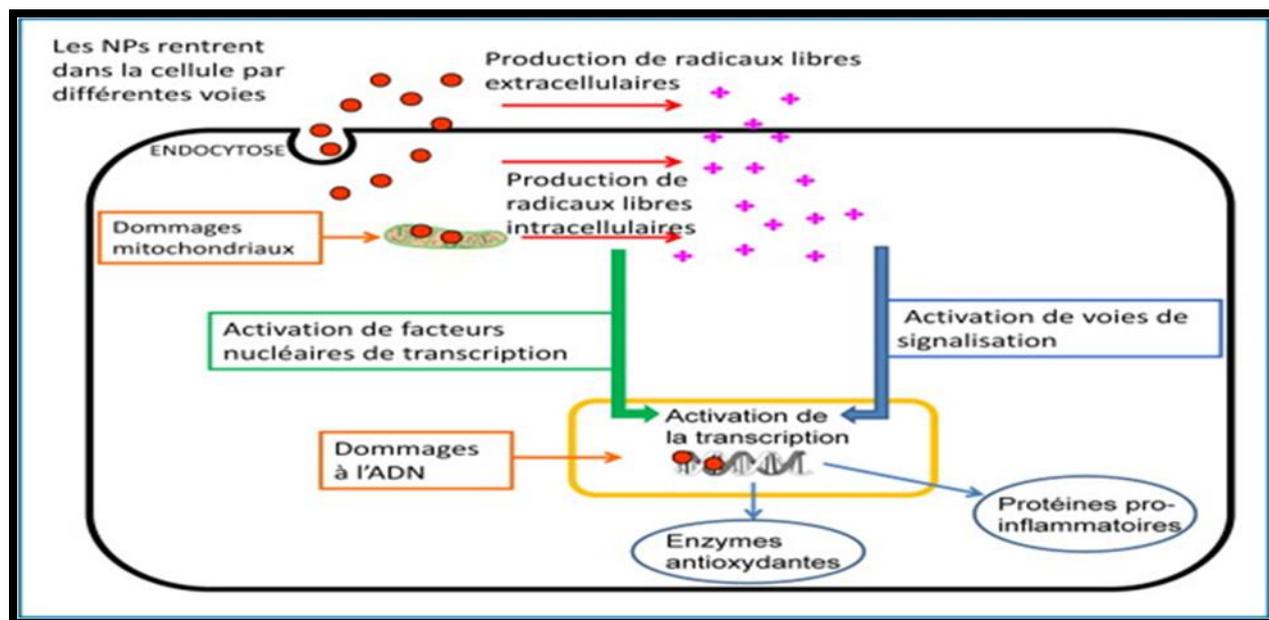


Figure 06 : Mécanismes d'action des nanoparticules (NPs) manufacturées, (Marano F ,2011).

En particulier les NPs métalliques peuvent entrer dans la cellule par endocytose, produire des radicaux libres extracellulaires ou/et intracellulaires, activer des voies de signalisation et des facteurs de transcription, agir sur la transcription de divers gènes. Cela peut conduire à la synthèse d'enzymes antioxydantes et de protéines pro-inflammatoires. Le stress oxydant peut être à l'origine de dommages à l'ADN.

5. Cas de nanoparticule du dioxyde de titane

Le dioxyde de titane est produit à partir du titane, le cinquième élément le plus abondant sur la planète, le dioxyde de titane représente une production de 7 200 000 tonnes/an. Il est recherché pour ses propriétés d'indice de réfraction ainsi que sa stabilité biologique et chimique. Il est traditionnellement utilisé comme pigment dans les revêtements de surface (peintures, vernis et laques), plastiques, papiers et, de façon moins importante, dans les fibres, caoutchoucs, cuirs, céramiques, encres d'imprimerie, cosmétiques, savons, médicaments et certains produits alimentaires, mais également comme support de catalyse, (Inc, 2011).

Environ 0,7% de la production de TiO_2 comprend la fabrication de nano- TiO_2 . Le nano- TiO_2 n'est pas inerte et atténue la radiation ultraviolette (UV). Il est utilisé comme filtre UV

(crèmes solaires, cosmétiques, plastiques) et comme catalyseur (produits autonettoyants, filtration de l'air, assainissement de l'environnement) (**Inc, 2011**).

6. Propriétés structurales de dioxyde de titane :

Le dioxyde de titane TiO_2 peut être trouvé dans la nature sous trois différentes formes cristallographiques qui, sont dans l'ordre de leur découverte, l'anatase (1801), le rutile (1803) et la brookite (1825), (**Carp, 2004**).

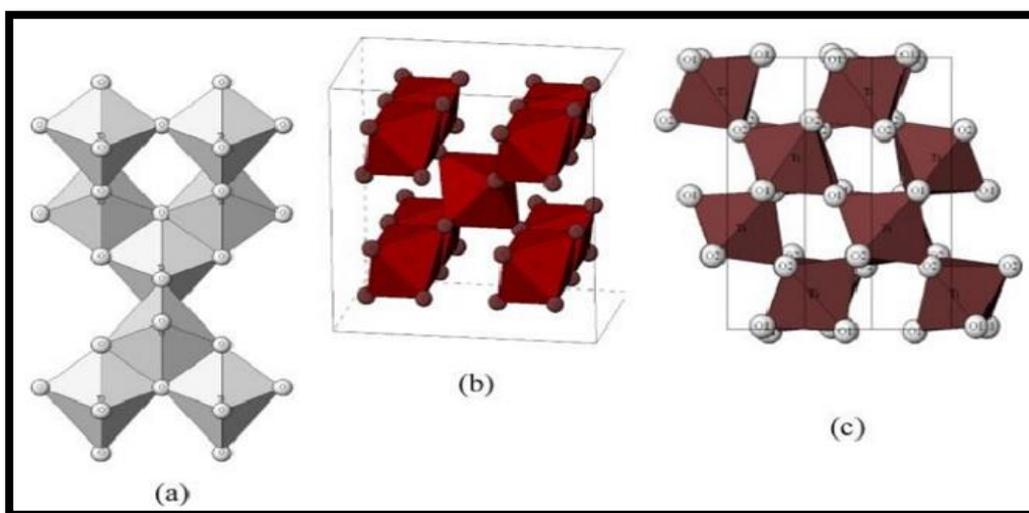


Figure 07 : Les structures cristallines du TiO_2 anatase (a), rutile (b) et brookite (c), (**Pelaez, 2012**)

7. Domaine d'utilisation du dioxyde titane

Tableau 01 : Récapitulatif des applications du TiO₂ (Guitou, 2014)

Domaine	Application	Propriété
Environnement	Papier peint, peinture, enduits, rideaux, abat-jour de fenêtre, Ciment, vitres, tuiles. Murs de tunnel, lampes de tunnels, murs insonorisés, Purificateur d'air, désinfection des eaux usagées	Autonettoyant ; Antibactérien Purification de l'air Purification de l'eau
Médical	Carrelage, murs des salles d'opérations	Antibactérien ; Stérilisation Autonettoyant
Energie	Cellules solaires Production d'hydrogène	Conversion de l'énergie solaire

8. Toxicité de dioxyde de titane

Les nanoparticules non dissociables de TiO₂ n'apparaissent pas comme toxiques à court terme

Les nanoparticules de TiO₂, après expositions répétées, forment des agglomérats pouvant être internalisés dans les cellules par des mécanismes encore inconnus et s'accumulent dans le territoire cytoplasmique (vacuoles) les rendant potentiellement toxiques sur des temps plus longs d'exposition. Une corrélation directe entre formation d'espèces réactives oxydées (ERO) et effets cytotoxiques a pu être établie pour la double cible tubulaire et glomérulaire. Des ERO sont générées de façon indirecte par les cations métalliques libérés par dissociation des nanoparticules. Ces ERO sont suffisantes pour induire un stress oxydant et l'apparition de dommages cellulaires (peroxydation lipidique, atteinte de la membrane lysosomale), ainsi qu'une réponse adaptative moléculaire (réponse antioxydante, réponse au stress cellulaire, apoptose : mort cellulaire programmée) sur une courte période d'exposition. Pour les nanoparticules de TiO₂, c'est

à la suite d'une exposition longue et répétée que survient un stress oxydant à l'origine d'effets cytotoxiques in vitro. L'analyse de l'impact des nanoparticules menée in vitro permet donc une approche toxicologique adaptée à la détermination des mécanismes moléculaires et cellulaire (**Guitou, 2014**).

Chapitre 2 : le stress oxydatif

1. Le stress oxydatif :

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières. Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des EOA dans notre organisme. A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers ou les maladies cardio-vasculaires. (Haleng et al ,2007)

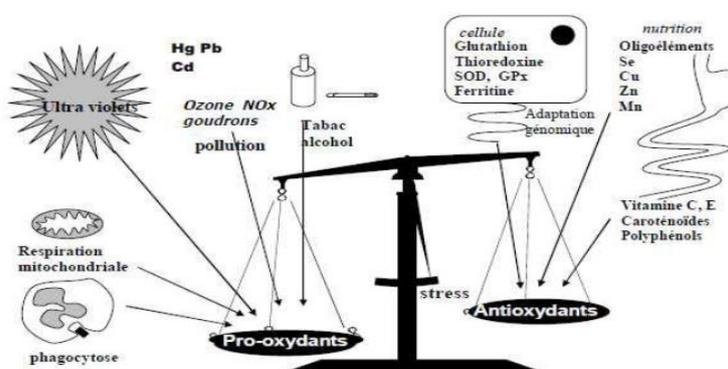


Figure 08: Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006)

2. Espèces réactives d'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS) sont des dérivés de l'oxygène où certains électrons se trouvent dans un état énergétique instable. Elles représentent la cause majeure du stress oxydatif (Valco et al ,2007). Se sont soit des réactives radicalaires caractérisés par un électron non apparié (faviere, 2003) .Cette caractéristique lui confère une réactivité importante avec autres molécules plus stables, ils participent à des réactions en cascade pour capter ou céder leurs électrons, formant ainsi de nouveaux radicaux (Halliwell et Gutteridge, 1999 ; Rousselot et al, 2003). parmi ces radicaux : (l'anion superoxyde O_2° les radicaux hydroxyles OH° , peroxyde ROO° , alkoxyde RO°), soit Des dérivés non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , l'oxygène singlet $1O_2$ et le nitroperoxyde (ONOOH)

mais qui sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux libres (Faviere, 2003).

Tableau 02 : les espèces réactifs de l'oxygène radicalaire et non radicalaire (Halliwell, 2006)

ERO (radicalaire)	Formule chimique
Oxygène moléculaire	O_2
Dioxygène singulet	1O_2
Anion superoxyde	$^{\circ}O_2^-$
Radical hydroxyle	$^{\circ}OH$
Radical hydroperoxyde	HOO°
Radical peroxyde	ROO°
Radical alkoxyde	RO°
Radical oxyde nitrique	NO°
Peroxinitrite	$ONOO^{\circ}$
ERO (non radicalaire)	Formule chimique
Hydroperoxyde	$ROOH$
hypochlorite	$ClOH$

Ozone	O ₃
Peroxyde d'hydrogène	H ₂ O ₂

3. L'origine des espèces réactives de l'oxygène :

La production des ERO dans les cellules est essentiellement d'origine enzymatique et résulte de plusieurs sources : La NADPH oxydase membranaire qui catalyse la réduction mono électronique de l'oxygène (figure 09) par le NADPH, H⁺ ou le NADH, H⁺ comme donneur d'électrons (**Beaudeau et al, 2006**). L'énergie libérée du catabolisme oxydatif des glucides, lipides et protéines est utilisée pour la formation de NADH, H⁺ et FADH₂. L'oxydation de ces coenzymes réduit s'accompagne d'une perte de protons et d'électrons, qui sont transférées par différents complexes de la chaîne de transport, à l'oxygène moléculaire O₂, accepteur terminal de la chaîne (**Babior, 2002**). La fuite des électrons dans cette chaîne de transport peut intervenir aux niveaux des complexes I et III. Cette fuite d'électron est une source majeure d'EROs dans la cellule (**Nohl et al, 2005**).

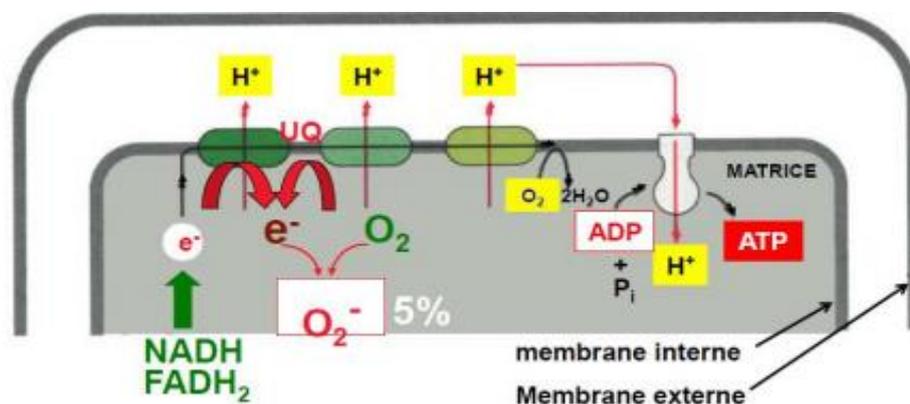


Figure 09 : Production d'anion superoxyde dans la chaîne respiratoire mitochondriale

(**Alberts et al., 2009**).

4. Système antioxydant :

L'organisme est disposé d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO. Le système antioxydant capable de retardé ou inhibé

significativement l'oxydation de substrat oxydable (**Halliwell, 1989**). Les organismes disposent d'un arsenal de défenses antioxydants à la fois enzymatiques et non enzymatiques (**Sies, 1991**).

4.1 System antioxydant enzymatique :

4.1.1 Superoxydes dismutases (SOD) :

Les SOD représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\circ -}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène, (**Haleng et al, 2007**). Comme suivant :

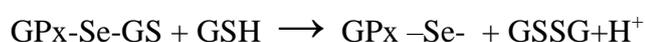
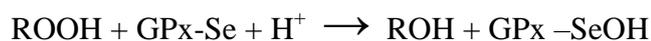


Le réactionnel est catalysé par un métal situé au centre de l'enzyme qui permet de distinguer la SOD à cuivre-zinc présent dans le cytoplasme (Cu-Zn SOD), la SOD à manganèse (MnSOD) présent dans les mitochondries, et une SOD extracellulaire c'est une SOD à cuivre zinc, (**CRAPO, 1996**).

4.1.2 Glutathions peroxydases (GPxs) :

Le GPx est une enzyme formée de quatre sous-unités contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de séléno-cystéine. il est présente dans les liquides extracellulaires et dans les cellules au niveau du cytosol et des mitochondries. la glutathion réductase (**Delattre et al, 2005; Valko et al, 2007**). Jusqu'à présent 5 GPx séléo-cystéine ont été identifiées GPx1, GPx2, GPx3, GPx4 et GPx5 (**COMHAIR, 2002**).

L'ensemble des GPx séléo-cystéine catalysent la réduction des hydroperoxydes minéraux ou organique en eau et en alcool lipidique respectivement, tandis que le glutathion réduit (GSH) est transformé en glutathion oxydé (GSSG), (**DELATTRE et al, 2005**). Elles fonctionnent toutes selon le même mécanisme catalytique suivant:





4.1.3 Catalase :

La catalase est une enzyme tétramérique, chaque sous unité comporte un groupement dans son site actif avec un atome de fer à l'état Fe^{3+} et une molécule de NADPH, H^+ . La fixation du NADPH, H^+ par la catalase lui confère une protection (**DELATTRE et al, 2005**). Elle catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire (**Rousselot et al, 2003**). Comme suit :



4.1.4 Glutathion S-transférase(GST) :

La GST est une grande famille d'enzymes catalysant la conjugaison du glutathion avec de nombreux substrats xénobiotiques ou composés naturels souvent cytotoxiques de nature électrophiles, selon la réaction suivante :



4.2 System antioxydant non enzymatique :

4.2.1 Le glutathion :

Est un tripeptide, dont les propriétés réductrices et nucléophiles jouent un rôle majeur dans la protection contre les altérations oxydantes des lipides, des protéines et des acides nucléiques. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant réside principalement dans sa fonction de co-substrat des glutathion peroxydases. (**Gerard and Chaudiere, 1996**).

4.2.2 Les oligoéléments :

Le cuivre, le zinc, le manganèse, le selenium et le fer sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydant requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique (**Pincemaile et al, 2007**).

4.2.3 La vitamine C :

La vitamine c (ou acide ascorbique) est l'antioxydant plasmatique hydrosoluble le plus puissant, capable de piéger à des concentrations très faibles les espèces réactives de l'oxygène (Césarini, 2004). Elle est capable de donner d'électrons à quasi tous les réactions enzymatiques et non enzymatiques (Blokhina et al;2003). Elle est un réducteur susceptible de limiter la peroxydation lipidique et intervient dans la régénération des autres antioxydants tels que les α -tocophérol (Greff, 2011). La vitamine C est capable d'empêcher l'oxydation des LDL produite par divers systèmes générateurs d'EOA. Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée. L'interaction des radicaux lipidiques avec la vitamine E, celle-ci est transformée en radical tocopheryl. La vitamine C permet de régénérer le radical tocophéryl (vit E oxydée) transformé en vitamine E active. (Gey et al, 1987).

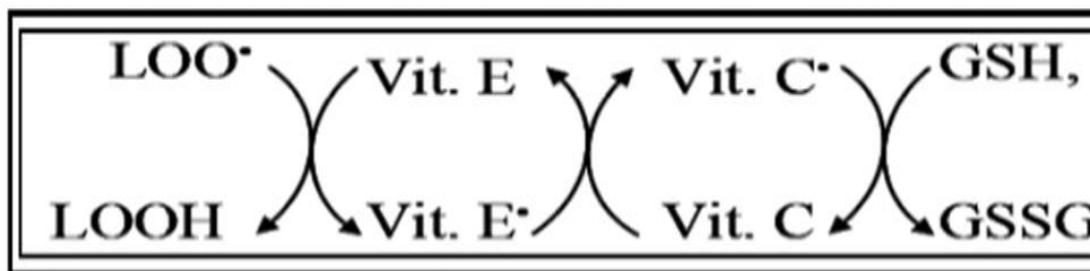


Figure10 : Les réactions d'élimination des radicaux lipidiques par les vitamines E et C (Gey et al. 1987).

4.2.4 Polyphénol

L'efficacité antioxydante des polyphénols est essentiellement due à la facilité avec laquelle un atome d'hydrogène d'un groupe hydroxyle aromatique est cédé à un radical libre (Dodho et al, 2003). Les polyphénols sont classés en deux groupes : les composés flavonoïdes et les composés non flavonoïdes. Les composés flavonoïdes sont regroupés en diverses familles : flavonols, flavanols, flavones, isoflavones, flavanones et anthocyanes. Les non flavonoïdes sont divisés en acides phénols et dérivés, lignanes et stilbènes (Stevensenet al, 2007)

5. Effets du stress oxydant sur les structures moléculaires :

Lorsque la production des espèces radicalaires n'est pas adéquatement contrôlée par les mécanismes de protection ou de défense existants, il s'en suit un état de stress oxydant. Des molécules biologiques importantes pour le fonctionnement cellulaire constituent des cibles privilégiées des radicaux libres, en particulier les acides gras insaturés (constituants des phospholipides membranaires), les groupes thiols, les acides ribonucléiques et désoxyribonucléiques (figure12) (Rilauwerys, 2007).

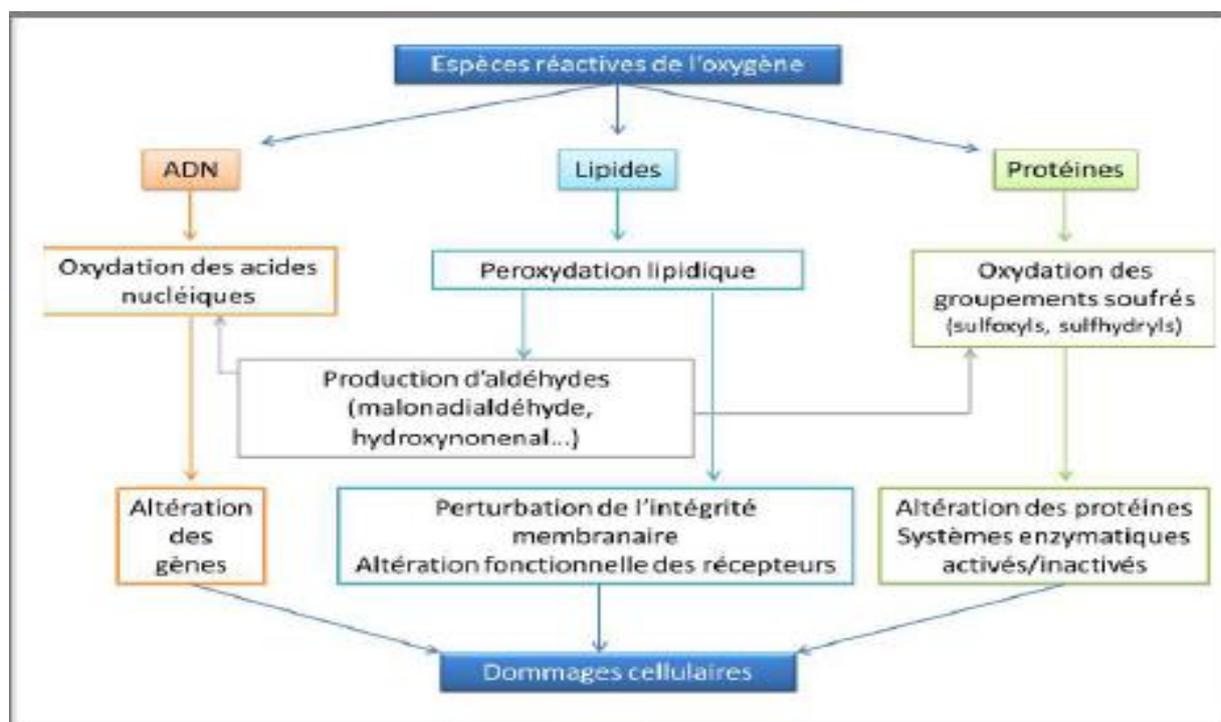


Figure 11: Différentes cibles des espèces réactives de l'oxygène (Poisson, 2013).

5.1 ADN (acide désoxyribonucléique) :

Les radicaux libres en général et les espèces réactives de l'oxygène en particulier peuvent causer d'importantes modifications au niveau des bases nucléotidiques (purines et pyrimidines). Les radicaux $\text{OH}\cdot$ sont parmi les radicaux les plus délétères du stress oxydatif, ils sont ainsi capables de réagir avec les désoxyriboses ou du phosphodiester de la molécule de l'ADN comme ils sont capables de s'ajouter sur les doubles liaisons des bases de l'ADN ou arracher un atome d'hydrogène des groupements méthyles ou des résidus désoxyribose (Birben et al, 2012). Grâce aux mécanismes d'excision et de resynthèse

effectuées par des enzymes de réparation de l'ADN, les dégâts engendrés peuvent être réparés, mais lorsque ces systèmes de protection sont eux même atteints par l'oxydation, de graves altérations du matériel génétique sont induites, comme des mutations pouvant être à l'origine des cancers (**Birben et al, 2012**).

5.2 Lipides

La peroxydation lipidique et la dégradation des acides gras membranaires sont considérées comme un indice des dommages oxydatifs effectués aux lipides. L'autoxydation des acides gras polyinsaturés et monoinsaturés est un processus radicalaire de réaction en chaîne qui se décompose en trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison, les espèces réactives oxygénées arrachent un atome d'hydrogène aux chaînes insaturées des acides gras pour former des radicaux alkyles, au cours de la phase de propagation, les réactions en chaîne interviennent ensuite dans la membrane où les radicaux alkyles réagissent avec l'oxygène moléculaire pour former des radicaux peroxydes. Les conséquences de la peroxydation lipidique sont l'altération de la fluidité des membranes ce qui conduit à leur désorganisation globale jusqu'à leur lyse. Parmi les espèces réactives de l'oxygène, les radicaux hydroxyles et hydroperoxydes sont les plus réactifs vis-à-vis des acides gras polyinsaturés (**Birben et al, 2012**).

5.3 Les protéines

La production des radicaux libres peut mener à l'oxydation des protéines et en particulier à l'oxydation des chaînes latérales des acides aminés, à la formation des ponts entre les protéines, ou à la fragmentation des protéines par l'oxydation des liaisons peptidiques (**Rilauwerys, 2007**). L'oxydation des protéines est impliquée dans plusieurs pathologies telles que l'athérosclérose, les maladies neurodégénératives, le syndrome de détresse respiratoire, la dystrophie musculaire, l'ischémie-reperfusion cardiaque et le vieillissement (**Habbout, 2012**).

Partie pratique

Matériel et méthodes :**1. Matériel chimique**

Le matériel chimique utilisé dans cette expérimentation est un produit commercial représenté dans NP de dioxyde de titane fournit dans le laboratoire de chimie d'Annaba.



Figure 12 : dioxyde de titane sous forme poudre

2. Matériel biologique et conditions d'élevage

Les animaux d'expérience sont des rats males de la souche *Wistar*, provenant de l'institut Pasteur (Centre d'élevage, El kouba- Alger). L'élevage des animaux a été réalisé au sein de l'animalerie de biologie (université de Tébessa). A leur arrivée, ces rats sont placés dans des cages standard pour une période d'acclimatation (30 jours) avant d'être utilisés dans les différentes expériences. Pendant notre expérimentation les animaux ont un accès libre à la nourriture (croquettes provenant de ONAB, El harrouch, Algérie) et à l'eau, maintenus à température constante (22 ± 2) °C et soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h avec une humidité relative minimale de 40%. La composition du régime standard qui a servi à l'alimentation des rats, durant toute la durée de l'expérimentation est résumée dans le tableau 03

Tableau 03. Composition de l'alimentation pour 1 Kg d'aliment (ONAB).

Matière alimentaire	Quantité en g/Kg d'aliment	Pourcentage (%)
Mais	620	62
Soja	260	26
Phosphate	16	1,6
Calcaire	9	0,9
Cellulose	10	1,0
Minéraux	10	1,0

3. Traitement des rats :

Les rats utilisés dans cette étude sont des adultes leur poids moyen est de 312g ils sont répartis en deux lots à raison de 3 rats pour chaque un le traitement a été effectué comme suit :

- Lots 1: rats témoins ont reçu l'eau distillée
- Lots 2 : rats traités par le dioxyde de titane TiO_2 dissout dans l'eau distillée. Le dioxyde de titane est administré aux rats par voie orale à l'aide d'une sonde à raison de $12\mu g/kg$ de poids corporels chaque jour pendant 30 jours.



Figure 13 : traitement des rats par gavage à partir d'une sonde

3.1. Sacrifices :

Après 30 jours de traitement, les rats ont été pesés puis sacrifiés (par décapitation).

3.2. Prélèvement des reins :

Les animaux sacrifiés ouverts ventralement pour le prélèvement des reins. L'organe a été pesés puis stockés au congélateur à -20°C jusqu'à le dosage des paramètres du stress oxydant.



Figure 14: dissection des rats et isolement des reins

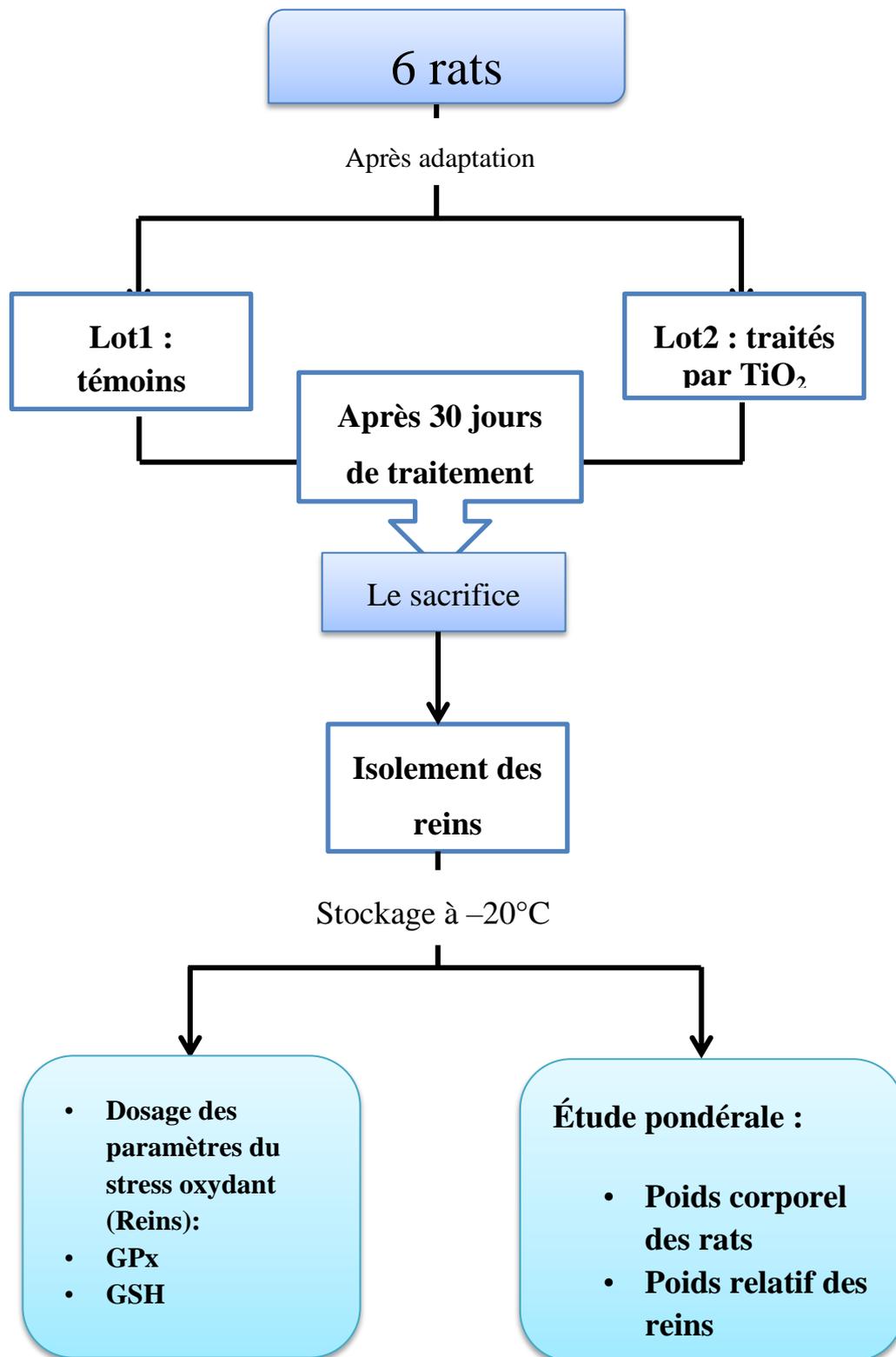


Figure15 : schéma récapitulatif des étapes du protocole expérimental utilisé.

4. Étude pondérale :

4.1 suivie du poids corporelle des rats

Les rats sont pesés individuellement avant et après le traitement, le suivie de poids durant 30 jours de traitement se fait à l'aide d'une balance. Ce critère est recommandé pour évaluer de façon quotidienne les effets TiO₂ sur les rats adultes (*wistar*).

4.2 Le poids relatif des reins

Nous avons suivi l'évolution du poids des reins chez les rats témoins et les rats recevant le TiO₂ après le sacrifice à l'aide d'une balance de précision.

Le poids relatif des reins extraits des rats (PRR [g/100g de poids corporel]) est calculé par rapport au poids total du rat selon la formule suivant :

$$PRR (g/100g \text{ de } PT) = PR/PT \times 100$$

PR: poids du rein (g).

PT : poids total de rat (g).

PRR : poids relatif des reins (g)

5. Dosage des paramètres du stress oxydant :

5.1 Préparation de l'homogénat :

Un gramme de rein des rats des deux groupes étudiés, a été utilisé. Après broyage et homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (9000 tours/min, 4°C, 15 min). Les surnageant obtenus sont mis dans des tubes eppendorfs puis conservés à -20°C en attendant d'effectuer les dosages des paramètres du stress oxydatif.

5.2 Dosage des protéines :

La concentration des protéines est déterminée selon la méthode de **bradford** (1976) qui utilise le bleu de coomassie comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines (NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines.

Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- Prélever 0,1 ml de l'homogénat.
- Ajouter 5 ml du bleu de coomassie.
- Agiter et laisser reposer 5 minutes.
- Lire à 595 nm les densités optiques contre le blanc.

La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme d'étalon d'albumine sérique bovine (1mg/ml) préalablement réalisée dans les mêmes conditions

(Annexes, figure).

5.3 Dosage du glutathion (GSH) :

• Principe :

Le dosage du glutathion est réalisé selon le procédé de **Weckbeker et Cory** (1988). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-marcapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Elleman) par les groupements (-SH) du glutathion.

• Protocole expérimental :

Les échantillons (250 mg de l'organe étudié de chaque animal) sont mis individuellement en présence de 10 ml de solution d'EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique) à 0,02 M. Le mélange mis dans des glaçons est broyé à l'ultrason pendant 35 secondes (figure). On

procède ensuite à la déprotéinisation de l'homogénat en prélevant 0,8 ml de ce dernier auquel on ajoute 0,2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique à 0,25%. Ce mélange obtenu est mis 15 min au congélateur puis centrifugé pendant 5 min à 1000 tr/min. Le surnageant récolté est utilisé pour le dosage de GSH. Le dosage se fait comme suit : 1 ml de tampon tris, HCl à 0,4 M et 0,025 ml de DNTB (Acide 5-5 dithiobis- 2-nitrobenzoïque) à 0,01 M sont ajoutés à 0,5 ml du surnageant. La concentration en GSH est obtenue par la formule suivante :

$$GSH(nmolGSH/mg\ de\ protéine) = \frac{(Do \times 1 \times 1,525)}{(13100 \times 0,8 \times 0,5 \times mg\ protéine)}$$

Do : Densité optique.

1 : Volume total des solutions utilisées de la déprotéinisation (0,8 ml homogénat + 0,2 ml acide salicylique).

1,525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0,5 ml surnageant + 1 ml Tris- EDTA + 0,025 ml DTNB).

13100 : Coefficient d'absorbance du groupement -SH à 412 nm.

0,8 : Volume de l'homogénat.

0,5 : Volume de surnageant.



Figure16 : broyage et homogénéisation des tissus dans l'EDTA

5.4 Dosage de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) :

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de Flohe et Gunzler (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



Pour cela que, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- Prélever 0.2 ml de l'homogénat (surnageant).
- Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM).
- Ajouter 0.2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4).
- Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min.
- Ajouter 0.2ml de H₂O₂ (1.3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes.
- Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction.
- Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
- Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes.
- Prélever 0.48 ml du surnageant.
- Ajouter 2.2 ml de la solution tampon TBS.
- Ajouter 0.32 ml de DTNB (1.0 mM)
- Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.
- La détermination de l'activité enzymatique de la GPx se fait à l'aide de la formule suivante :

$$\text{GPx } (\mu\text{molGSH/mg protéine}) = \frac{(\text{Do échantillon} \times \text{Do étalon}) \times 0,04}{\text{Do étalon}} \times \frac{5}{\text{mg protéine}}$$

- **DO échantillon** : Densité optique de l'échantillon.
- **DO étalon** : Densité optique de l'étalon.
- **0.04** : Concentration de substrat (GSH).

6. Traitement statistique des résultats :

Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart type moyen, les moyennes ($m \pm S$) sont comparées par un test t de Student.

L'analyse statistique des données a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (Version 13.31).

Les différences sont considérées comme :

- Significatives lorsque ($P \leq 0,05$).
- Hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$).
- Très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,001$). Avec P : Seuil de signification.
- Non significative ($P > 0,05$).

Résultats

1. Etude pondérale

1.1 Variation du poids corporel :

Après 30 jours de traitement par le TiO_2 administré par gavage à la dose de $12\mu\text{g}/\text{kg}$ de poids corporel chez les rats wistar, on note chez les témoins une valeur de poids initial de 309g et de poids final de 320,33g cependant chez les rats traités la valeur de poids passe de 297,67g au début de l'expérience à 343,67 g après le traitement (Tab 04).

L'analyse statistique montre une légère variation non significative avec ($P > 0,05$) du poids des animaux du lot traité par TiO_2 par rapport au Témoin (figure 17).

1.2 Variation du poids relatif des reins

Chez les rats traités par TiO_2 le poids relatif des reins est de 0,59 g/100g de poids corporel, mais chez les témoins est de 0,60 g/100g de poids corporel (tableau 04)

Le test T de Student ne montre pas un effet significatif ($P > 0,05$) sur l'évolution du poids relatif des reins chez les traités par rapport au groupe témoin (figure 18).

Tableau 04 : Variation de poids corporel (g) et de poids relatif (g/100g de poids corporel) des reins chez les rats témoins et traités après 30 jours de traitement. (m+s, n=3)

Paramètre	Les lots expérimentaux	
	Témoin	TiO_2
Poids initial (g)	(309,33±18,33)	(297,66±35,72)
Poids final (g)	(320,33±30,03)	(343,66±22,50)
Poids relatif des reins	(0,60±0,0271)	(0,59±0,0274)

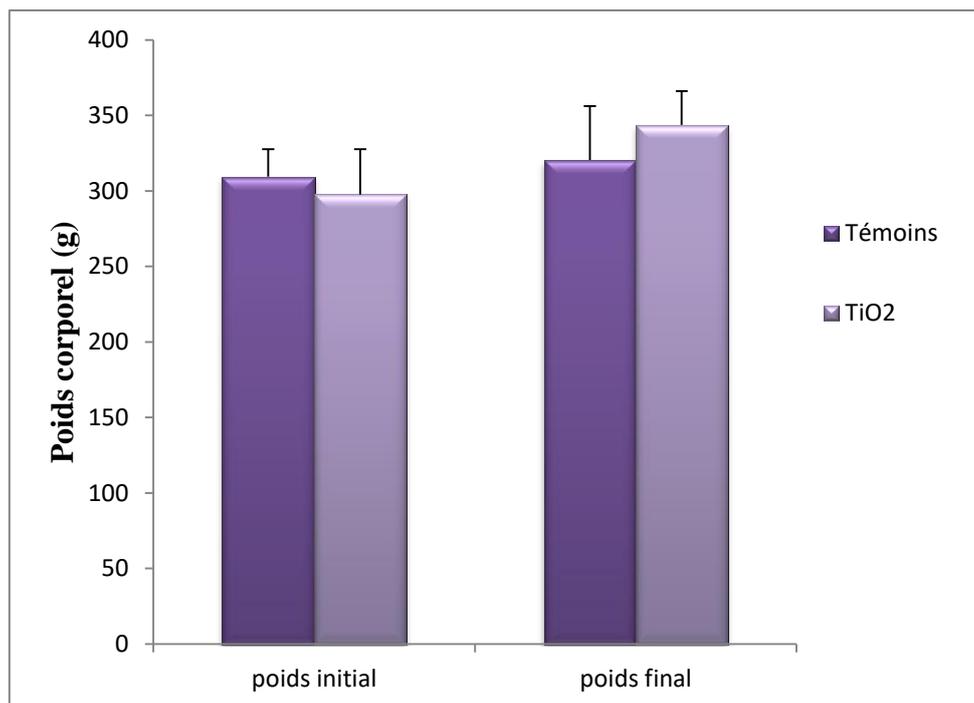


Figure 17. Variation de poids corporel en (g) des rats témoins et traités après 30 jours de traitement. (m+s, n=3).

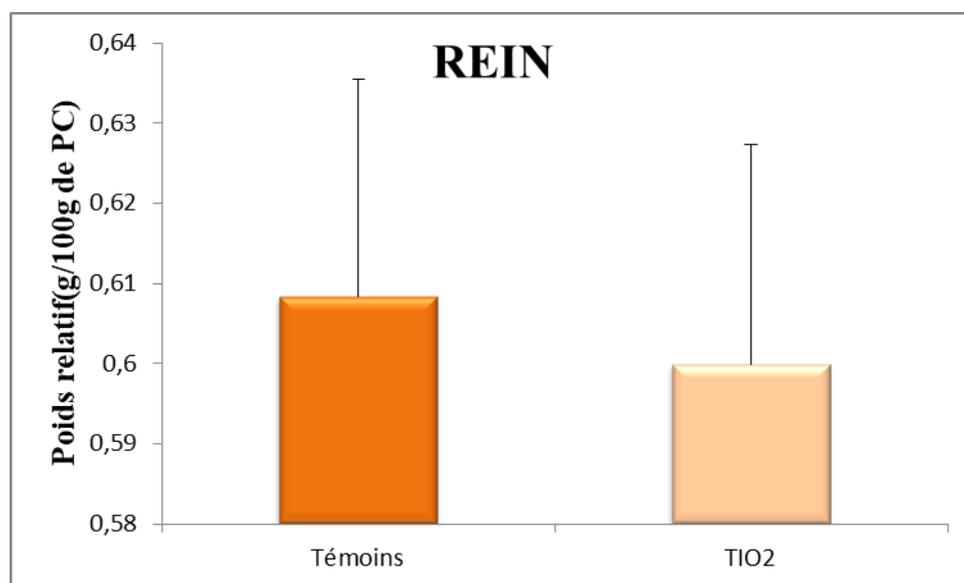


Figure 18. Variation du poids relatif des reins en (g/100 g de pc) chez les rats témoins et traités après 30 jours de traitement. (m+s, n=3).

2. Paramètres du stress oxydant

2.1. Effet des NPs de TiO₂ sur le taux de Glutathion (GSH)

D'après le tableau 05 : le taux de GSH passe de 0,002 nmol/mg de protéine chez les rats témoins à 0,0018 nmol/mg de protéine chez les traités.

L'étude statistique révèle une variation non significative avec ($p > 0,05$) du taux de GSH cellulaire au niveau des reins chez traités par TiO₂ quand ils sont comparés aux témoins. (Figure 19)

2.2. Effet des NPs de TiO₂ sur l'activité enzymatique de la Glutathion peroxydase (GPx)

Le tableau 05 et la figure 20 montrent que le traitement par les NPs de TiO₂ n'a pas d'effet significatif ($p > 0,05$) sur l'activité enzymatique de la Glutathion peroxydase (GPx) dans les reins par rapport aux témoins.

Tableau 05 : Variation de glutathion (GSH) (nmol /mg de protéine) et glutathion peroxydase (GPx) ($\mu\text{molGSH/mg}$ protéine) dans les reins chez les rats témoins et traités après 30 jours de traitement (m+s, n=3).

Paramètre	Lots expérimentaux	
	Témoin	TiO ₂
GSH	(0,0024±0,00006)	(0,0018±0,00047)
GPx	(212,27±80,55)	(178,18±14,30)

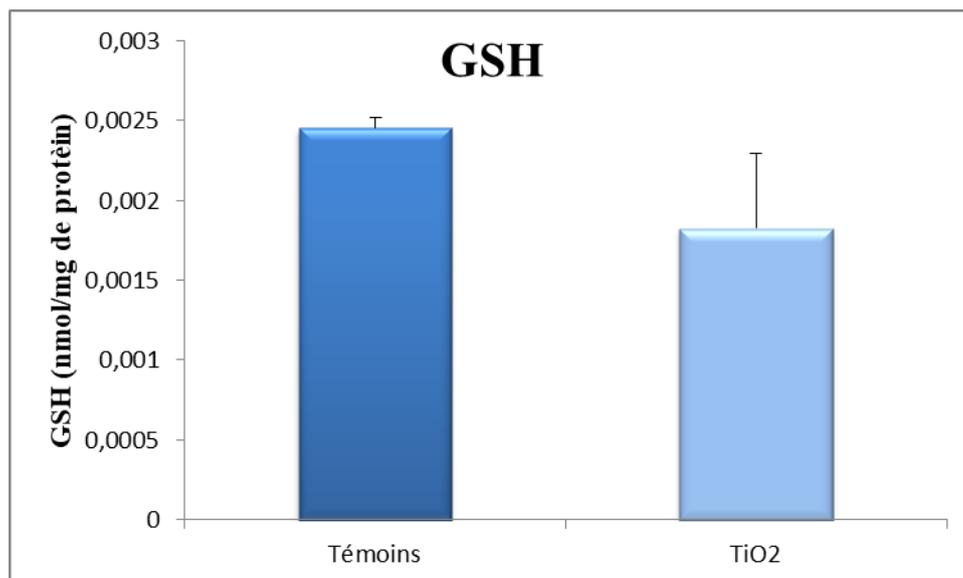


Figure 19. Variation de la teneur cellulaire en glutathion (GSH) (nmol/mg protéine) dans les reins chez les rats témoins et traités après 30 jours de traitement. (m+s, n=3).

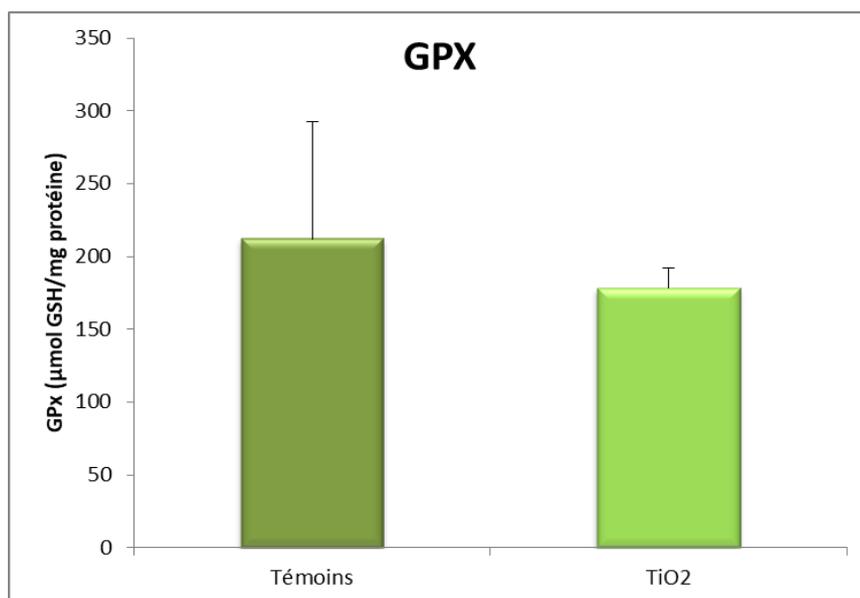


Figure 20. Variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (µmol GSH/mg de protéine) dans les reins chez les rats témoins et traités après 30 jours de traitement (m+s, n=3).

Discussion

Discussion :

Les nanoparticules sont très étudiées actuellement. L'évaluation de leurs risques et de leurs bénéfices s'avère être nécessaire.

Les données toxicologiques actuelles sur l'exposition humaine aux nanoparticules sont encore très incertaines. Cependant, les données d'exposition sur l'animal ou in vitro sur les cellules en culture laissent supposer un risque pour la santé humaine. De nombreux indices prétendent que les nanoparticules peuvent pénétrer dans l'organisme par les voies pulmonaires, cutanées ou intestinales et ce, malgré la présence de barrières biologiques. Rapidement après l'entrée des nanoparticules dans l'organisme, une toxicité locale peut s'exprimer, et contrairement aux particules de taille micrométriques, les NPs sont distribuées de façon systémique vers des organes éloignés, où elles peuvent exercer une toxicité (en particulier pour les reins, le foie et la rate) (**Muhlfeld et al, 2008**).

La majorité des études indique que les NPs sont internalisées par endocytose. Cependant, quelques études supposent que l'internalisation des NPs peut se produire par diffusion passive lorsque les particules sont de petite taille (**Geiser et al, 2005**). Certaines NPs comme le TiO₂ pourraient franchir les membranes intracellulaires et se retrouver dans le cytoplasme où elles peuvent atteindre les compartiments mitochondriaux ou nucléaire (**Muhlfeld et al, 2008**). Comme le TiO₂ peut induire la production des radicaux libres, et donc modifier la balance entre les radicaux libres générés et les systèmes anti-oxydants, et altérer l'équilibre pro-oxydant/antioxydant, et par conséquent induire le stress oxydant (**Hultberg et al., 2001**).

Le rein est un organe essentiel, assumant de nombreuses fonctions dans l'organisme, dont son rôle central dans l'excrétion où il exerce des fonctions de filtration, de réabsorption et de sécrétion (**Sherwood et al, 2006**).

Notre étude sur l'effet des nanoparticules métalliques au niveau de l'organe d'élimination chez des rats wistar de poids moyenne 312 g traité par gavage de TiO₂ à la dose de (12µg/kg/j pendant 30 jours).

Dans cette expérimentation, nous avons étudié le poids corporel des rats, ainsi que l'évolution du poids des reins chez les rats témoins et les rats traités après le sacrifice à l'aide

d'une balance de précision. Les résultats montrent une variation non significative du poids corporel des rats et de poids relatif des reins des lots recevez du TiO₂ par rapport aux témoins, on peut dire que la dose de TiO₂ (12µg/kg de PC/j) appliquée dans notre expérimentation sur les rats n'est pas toxique et elle est proche a la dose journalière de TiO₂ (10µg/kg/PC) utilisée comme additif alimentaire.

Nos résultats ne concordent pas les travaux de **(Klibet, 2009)** qui indique que le sélénite de sodium administré chez les rats traités par l'arsénite de sodium provoque une diminution de la croissance corporelle des rats et une augmentation du poids relatif des reins.. Ainsi que les travaux de **(Gassmi, 2018)** sur l'évaluation des paramètres pondéraux suggèrent que l'administration d'AC et de DM à des doses de 3,14mg/kg/j et de 0,32mg/kg/j du poids corporel respectivement chez les rats mâles adultes provoquent une diminution significative de la croissance corporelle chez les différents groupes des rats.

Le GSH est un tripeptide bien connu pour être un élément de la première ligne de défense contre le stress, il est maintient l'intégrité cellulaire grâce à sa propriété réductrice et sa participation active dans le métabolisme cellulaire. Certains des rôles importants de glutathion sont la réduction ou l'inactivation des ROS par la formation de glutathion disulfure (GSSG), la conjugaison du glutathion réduit (GSH) pour l'élimination des xénobiotiques **(Sauer, 2014)** et aussi le GPx qui est une enzyme séléno-dépendante unique dans les cellules de mammifères, cet enzyme intervient dans les réactions de réduction des peroxydes organiques et inorganiques, utilisant le glutathion réduit comme donneur de protons, ce qui provoque l'oxydation de glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG) et la production d'alcool primaire non toxique **(Kebieche et al, 2009)**.

D'après nos résultats on observe une variation non significative du taux de GSH et de l'activité enzymatique de GPx dans les reins chez les rats traités par TiO₂ quand ils sont comparés aux témoins. Ce résultat peut être due d'une part à la durée de traitement (30jours)qui ne suffit pas pour provoquer une perturbation de la fonction rénal, d'autre part à la dose de 12µg/kg/j appliqué sur les rats, mais peut être aussi expliqué par l'insolubilité de dioxyde de titane dans l'eau observé dans l'étude de **(Béatrice, 2015)**, qui montre que la toxicité des nanoparticules dépend de leurs solubilité et que le dioxyde de titane, insoluble et

aggloméré dans le milieu de culture, n'entraîne que peu d'effets (forte agglomération des nanoparticules d'oxyde de titane atténuée peut être leur caractère « nano »).

Les résultats des taux de GSH ne concordent pas avec les résultats de **(Klibet, 2016)**, qui explique l'épuisement des taux de GSH après le traitement par l'arsenic, par une réponse adaptative au stress oxydatif,

aussi les résultats de l'activité enzymatique de GPx ne sont pas en accord avec les résultats de **(Klibet, 2016)** qui montrent une diminution de l'activité de la GPx dans les reins ainsi que les résultats de **(Gasmi, 2018)** sur l'impact de DM et AC dose 3,14mg/kg/j et 0,32mg/kg/j du poids corporel chez les rats mâles adultes au niveau de système nerveux qui révèlent une diminution significative des activités enzymatiques de GPx dans les mitochondries que dans le cytosol du cerveau total, l'hippocampe et le striatum chez les rats exposés chroniquement aux DM et AC seuls ou en mixture.

Conclusion et perspective :

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet des nanoparticules de dioxyde de titane sur les reins chez les rats blancs mâles de la souche Wistar.

A la lumière des résultats obtenus, il semblerait que le dioxyde de titane nanométrique administré par voie orale à la dose 12 μ g /kg de poids corporel chez les rats mâles adultes durant 30 jours, ne perturbe pas la fonction rénale.

En générale la dose des NPs de TiO₂ utilisé dans cette étude n'a aucun effet au niveau de l'organe d'élimination le rein.

Vue l'importance de ces résultats, il serait intéressant de poursuivre la recherche, en prenant en considération les recommandations suivantes :

- De réaliser une étude histologique sur les différents organes de rat wistar
- Doser d'autres paramètres du stress oxydant (MDA, SOD, GST, CAT, ...).
- Quantifier le taux de TiO₂ au niveau des reins par absorption atomique
- Etudier le risque des nanoparticules sur le système immunitaire
- Utilisé des doses supérieures à notre dose pour voir l'impact des nanoparticules de dioxyde de titane.

Référence bibliographique

A

- Allouche, J., Synthesis of Organic and Bioorganic Nanoparticles: An Overview of the Preparation Methods, in *Nanomaterials: A Danger or a Promise?*, R. Brayner, F. Fiévet, and T. Coradin, Editors 2013, Springer London. p. 27-74.
- ALBERTS B, BRAY D, HOPKIN K et al. (2009). *Essential Cell Biology*. 3rd ed. Garland, 860 p
- Anjum, N.A., Ahmad, I., Mohmood, I., Pacheco, M., Duarte, A.C., Pereira, E., Umar, S., Ahmad, A., Khan, N.A., Iqbal, M., 2012. Modulation of glutathione and its related enzymes in plants' responses to toxic metals and metalloids-a review. *Environ. Exp. Bot.* 75, 307-324.
- Astruc, D., E. Boisselier, and C. Ornelas, *Dendrimers Designed for Functions: From Physical, Photophysical, and Supramolecular Properties to Applications in Sensing, Catalysis, Molecular Electronics, Photonics, and Nanomedicine*. *Chemical Reviews*, 2010. 110(4): p. 1857-1959.

B

- Baan RA. Carcinogenic hazards from inhaled carbon black, titanium dioxide, and talc not containing asbestos or asbestiform fibers: recent evaluations by an IARC Monographs Working Group. *Inhal Toxicol* 2007; 19 Suppl 1:213–228.
- BABIOR BM. The activity of leucocyte NAD (P) H oxydase: regulation by p47phox cysteine and serine residues. *Antioxid Redox Signal*. 2002; 4: 35-8.
- Bansal M and Kaushal N. *Oxidative stress mechanisms and their modulation*. 2014. Springer India edition. P 19-53.
- Bavykin, D.V., J.M. Friedrich, and F.C. Walsh, *Protonated Titanates and TiO₂, Nanostructured Materials: Synthesis, Properties, and Applications*. *Advanced Materials*, 2006, 18(21): p. 2807 2824
- BEAUDEUX JL, PEYNET J, BONNEFONT - ROUSSELOT P, THEROND J, DELATTRE A. Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote,

implication dans la transcription et la régulation des gènes. *Ann Pharm Fr.* 2006 ; 64 : 373-381 .

- Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S and Kalayci O. 2012. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal.* 5: 5-19.
- Blokhina O, Virolainen E and Fagerstedt K V (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a Review. *Annals of Botany*, 91, 179-194
- Bonnefont-Rousselot, D., Théron, P., Delattre, J. (2003). Radicaux libres et anti-oxydants. In : Delattre, J., Durand, G., Jardillier, J.C. *Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires.* Médecine-sciences Flammarion, Paris. 59-81.
- Brayner, R., et al., Zno Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Ecotoxicological Studies. *Langmuir*, 2010. 26(9): p. 6522-6528.
- Brun E, Carrière M, Mabondzo A. In vitro evidence of dysregulation of blood-brain barrier function after acute and repeated/long-term exposure to TiO₂ nanoparticles. *Biomaterials* 2012; 33:886–896.

C

- CAPRON L. (1996). Evolution des theories sur l'atherosclerose. *Rev.*
- Carp, "Photoinduced reactivity of titanium dioxide," *Prog. Solid State Chem.*, vol. 32, no. 1–2, pp. 33–177, 2004
- C. Contado, « Nanomaterials in consumer products: a challenging analytical problem », *Front. Chem.*, vol. 3, 2015.
- Christopherson, K. S., et D. S. Bredt. 1997. « Nitric Oxide in Excitable Tissues: Physiological Roles and Disease ». *The Journal of Clinical Investigation* 100 (10): 2424-29. doi: 10.1172/JCI119783.
- Choi HS, Liu W, Misra P, Tanaka E, Zimmer JP, Ito B, et al. Renal clearance of quantum dots. *Nat. Biotechnol.* 2007; 25(10):1165–70.
- Chuto G, P. Chaumet-Riffaud, et le Groupe Oncologie de la Société française de médecine nucléaire et imagerie moléculaire (SFMN). 2010. Les nanoparticules. *Médecine Nucléaire* 34 (2010) 370 –376.
- COMHAIR S.A., ERZURUM S.C. (2002). Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 283: 246 - 255.

- Cooke, C.L.M., Davidge, S.T., 2003. Endothelial-dependent vasodilation is reduced in mesenteric arteries from superoxide dismutase knockout mice. *Cardiovasc. Res.* 60, 635–642.

D

- Delattre J, Beaudeau JL, Bonnefont-Rousselot D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant: Aspects biologiques et pathologiques (broché). *L'actualité Chimique*. 108-115.
- Donaldson K, Tran L, Jimenez LA, Duffin R, Newby DE, Mills N, MacNee W, Stone V. Combustion-derived nanoparticles: a review of their toxicology following inhalation exposure. *Part Fibre Toxicol* 2005; 2:10.

E

- Ehrenfreund, P. and B.H. Foing, Fullerenes and Cosmic Carbon. *Science*, 2010. 329(5996): p. 16. 17. 1159-1160.

F

- Favier. (2003). Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108-115.
- Favier M. & Favier I.H., 2005 : Zinc et grossesse. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*. 33, 253-258.
- Future Markets Inc., *The World Market for Nanoparticle Titanium Dioxide: Production, Revenues, Markets and Producers*. 2011

G

- Garcia, M.A., Surface plasmons in metallic nanoparticles: fondamentale and applications. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2011. 44(28): p. 283001
- Gerard-Monnier,D.Chaudiere,J. 1996.Metabolisme and antioxidant function of glutathione.*Pathol Biol*.Vol 44 77-85

- Gasmi Salim, Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltamethrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat, 2018, Thèse Doctorat, Université de
- Tébessa. 217p.
- Gey, KF, Brubacher, GB and Stâhelin, HB. (1987).Plasma levels of antioxidant vitamins in relation to ischemic heart disease and cancer. *Am J Clin Nutr*, 45, 1368-1377
- Greff, M. (2011). Post UFMC –HGE : paris, du 24au 27 marsSpringer Edition P39

H

- Habbout, A. (2012). Etude des conséquences métaboliques, oxydatives et cardiovasculaires de la suralimentation postnatale chez le rat et la souris. Thèse de doctorat. Université de Bourgogne.
- Hagens WI, Oomen AG, de Jong WH, Al. E. What do we (need to) know about the kinetic properties of nanoparticles in the body? *Regul. Toxicology Pharmacol.* 2007; 49:217–28.
- Haleng, J .Pincimal, J, O. Defraing.C.Charlier.J.P.Chapelle.2007.le stress oxydant.p 628-638.
- HALLIWELL B. (1989). Free radicals, reactive oxygen species and human disease: à critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Pathol*, 70 : 737 - 757.
- Halliwell, B, Gutteridge, J. (2000). Reactive species as useful biomolecules. *Free Radicals in Biology and Medicine.* 467- 481.
- Halliwell B, 2006. Reactive Species and Antioxidants. *Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. Plant Physiology* 141(2), 312-322.
- Hansen, B.H., Romma, S., Garmo, O.A., Olsvik, P.O., Andersen, R.A. (2006). Antioxidative stress proteins and their gene expression in brown trout (*Salmo trutta*) from three rivers with different heavy metal levels. *Comp. Biochem. Physiol. Toxicol. Pharmacol.* 143, 263–274.
- Hummel TZ, Kindermann A, Stokkers PCF, Benninga MA, ten Kate FJW. Exogenous pigment in Peyer patches of children suspected of having IBD. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014; 58:477–480.

K

- Klibet fahima, Impact du sélénium sur la cytotoxicité induite par l'arsenic chez le rat de la souche *Wistar* : Exploration des effets protecteurs de Pistacia lentiscusA 2015, thèse doctorat, UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA, 199p

L

- Laura Daragnes. Les nanoparticules de dioxyde de titane, leur place dans l'industrie cosmétique et ses dangers. Sciences pharmaceutiques. 2018. dumas-01906388
- Lewis A.E., Review of metal sulphide precipitation. Hydrometallurgy, 2010. 104(2): p. 222- 234.
- Lgor bujalté .de la toxicité de nanoparticules métalliques (TiO_2, ZnO) sur la cible rénale thèse de doctorat université bordeaux 2011
- Lowry GV, Espinasse BP, Badireddy AR, Richardson CJ, Reinsch BC, Bryant LD, Bone AJ, Deonarine A, Chae S, Therezien M, Colman BP, Hsu-Kim H, et al. Long-term transformation and fate of manufactured Ag nanoparticles in a simulated large scale freshwater emergent wetland. Environ Sci Technol 2012; 46:7027–7036.

M

- Marano F, Hussain S, Rodrigues-Lima F, Baeza-Squiban A, Boland S. Nanoparticles: molecular targets and cell signalling. Arch Toxicol 2011; 85(7):733—41.
- Marie-Anne Guitou. Nanoparticules et santé : des applications aux risques potentiels. L'exemple du TiO_2 . Sciences pharmaceutiques. 2014. dumas-01011269
- M. Shakeel, F. Jabeen, S. Shabbir, M. S. Asghar, M. S. Khan, et A. S. Chaudhry, « Toxicity of Nano-Titanium Dioxide (TiO_2 -NP) Through Various Routes of Exposure: à Review », Biol. Trace Elem. Res., vol. 172, no 1, p. 1-36, 2016.
- Mochalin, V.N., et al., The properties and applications of nanodiamonds. Nat Nano, 2012. 7(1): p. 11-23

N

- Nel AE, Madler L, Velego ID, Xia T, Hoe kEM, Somasundaran P ,et al. Understanding biophysicochemical interactions at the nanobiointerface. *Nat Matter* 2009;8:543—57.
- NOHL H, GILLE L, STANIEK K. Intracellular generation of reactive oxygen species by mitochondria . *Biochem Pharmacol* . 2005 ; 69 : 719-23
- Nowack B., and Bucheli T.D. (2007) Occurrence, Behavior and Effects of Nanoparticles in the Environment. *Environmental Pollution*, 150, 5-22

O

- Oberdorster et al. in *Environ Health Perspect* ,2005 113:823–839, 2005
- Oberdorster G, Oberdorster E, Oberdorster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect* 2005;

P

- Pan, B. and B. Xing, Chapter Three - Manufactured Nanoparticles and their Sorption of Organic Chemicals, in *Advances in Agronomy*, L.S. Donald, Editor. 2010, Academic Press. p. 137-181.
- Pincemail J., Degrune F., Voussure S., Malherbe C., Paquot N., Defraigne JO. Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et de marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 2007 ; (21)2 : 66-75
- Poisson, C. (2013). Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. Thèse de Doctorat. Université de Paris-Sud 11.

R

- Rao, J.P. and K.E. Geckeler, Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. *Progress in Polymer Science*, 2011. 36(7): p. 887-913.
- Rilauwerys, R., Haufroid, V., Hoet, P., Lison D. (2007). Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. Masson Elsevier. pp : 44.

- R. J. B. Peters et al. « Characterization of Titanium Dioxide Nanoparticles in Food Products: Analytical Methods To Define Nanoparticles », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 62, no 27, p. 6285-6293, 2014.
- Ryman-Rasmussen JP, Riviere JE, Monterio-Riviere NAPenetration (2006) of intact skin by quantum dots with diverse physicochemical properties. *Toxicol Sci* 91:159-165

S

- Sies, H., 1991. Oxidative stress: From basic research to clinical application. *Am. J. Med., Oxidants And Antioxidants: Pathophysiologic Determinants and Therapeutic Agents* 91, S31–S38. Doi:10.1016/0002-9343(91)90281-2
- Smalley, R.E., *Discovering the Fullerenes (Nobel Lecture)*. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 1997. 36(15): p. 1594-1601.
- Song Y, Li X, Du X. Exposure to nanoparticles is related to pleural effusion, pulmonary fibrosis and granuloma. *Eur Respir J* 2009; 34:559–567.

T

- Thanan R., Oikawa S., Hiraku Y., Ohnishi S., Ma N., Pinlaor S., Yongvanit P., Kawanishi S and Murata M. 2015. Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *International journal of molecular sciences*. 16: 193-217

Y

- Yosra bratli, Etude de toxicité des nanoparticule d'oxyde de fer chez les rat analyse mitochondriales et des stress oxydant 2015 thèse de doctorat universite de stasbourg et universite de carthage

W

Référence bibliographique

- Wang Y, Chen Z, Ba T, Pu J, Chen T, Song Y, Gu Y, Qian Q, Xu Y, Xiang K, Wang H, Jia G. Susceptibility of young and adult rats to the oral toxicity of titanium dioxide nanoparticles. *Small Weinh Bergstr Ger* 2013; 9:1742–1752.
- Warheit DB. Nanoparticles. *Mater Today* 2004; 7:32–35.
- Wu Y, Zhou Q, Li H, Liu W, Wang T, Jiang G. Effects of silver nanoparticles on the development and histopathology biomarkers of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) using the partial-life test. *Aquat Toxicol Amst Neth* 2010; 100:160–167.