



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département : Biologie Appliquée



MEMOIRE DE MASTER

Domaine: *Sciences de la nature et de la vie*

Filière: *Sciences biologiques*

Option: *Toxicologie*

Thème

Pneumotoxicité de  $\text{TiO}_2$  chez les rats et  
l'effet opposé probable de diférylyol-  
méthane.

Présenté par:

GUIZA ZAINEB

HAMMI MADIHA

Devant le jury:

Me.Boussekine S	MCA	Université de Larbi Tébessi	Présidente
M. Rouabhi R	PROF	Université de Larbi Tébessi	Promoteur
Me. Bouadila S	MAA	Université de Larbi Tébessi	Examinatrice

Date de soutenance: 28/05/2018

Note: ..... Mention: .....

## RESUME

---

Le dioxyde de titane est un constituant répandu dans la nature et abondamment utilisés par l'homme en tant qu'additif alimentaire, pigments et catalyseurs.

Ce travail concerne l'évaluation de la toxicité potentielle des nanoparticules de dioxyde de titane (TiO<sub>2</sub>) et l'effet adverse de diférulyol-méthane (curcumine) et les deux associés (curcumine et TiO<sub>2</sub>) sur les poumons des rats qui sont parfaitement adaptés aux études toxicologiques pour évaluer aisément la toxicité d'un xénobiotiques.

Les rats ont été exposés à 10mg/kg/j de TiO<sub>2</sub> et 20ml/kg/j de curcumine durant une période de traitement de 28 jours.

Nos résultats montrent que le TiO<sub>2</sub>, la curcumine et la combinaison du TiO<sub>2</sub> et la curcumine affectent la croissance des rats.

L'étude des paramètres biochimiques a mis en évidence une perturbation des principales macromolécules à savoir : les protéines, les glucides, les lipides.

Le suivi des biomarqueurs indique une déplétion au taux de GSH, et une augmentation au taux MDA et à l'activité du GPx chez les rats traités par TiO<sub>2</sub> par rapport aux rats témoins. .

Dans notre étude nous avons enregistré une diminution des taux de MDA, GSH, et de l'activité du GPX chez les rats traités par la curcumine par rapport aux rats témoins.

Les résultats ont montré qu'il y a une augmentation du taux de MDA et de l'activité GPX mais une diminution de taux de GSH chez les rats traités par la combinaison du le TiO<sub>2</sub> et la curcumine par rapport aux rats témoins.

L'ensemble de ces résultats sont des signes d'une éventuelle pneumotoxicité du TiO<sub>2</sub>.

**Mots clés :** TiO<sub>2</sub>, Curcumine, Toxicité, Rats, paramètres biochimiques, MDA, GPx, GSH...etc.

Titanium dioxide is a naturally occurring constituent ,widely used by humans as a food additive, pigments and catalysts.

This work was focused the evaluation of the potential toxicity of titanium dioxide nanoparticles ( $\text{TiO}_2$ ) and the adverse effect of diferuloyl-methane (curcumin) and the two associated (curcumin and  $\text{TiO}_2$ ) on the lungs of rats which are perfectly adapted to toxicological studies, to easily assess the toxicity of a xenobiotic.

After we have exposed the rats to 10 mg/ kg/day of  $\text{TiO}_2$  and 20 ml/kg/day of curcumin during a 28-day treatment period,the results showed that  $\text{TiO}_2$ , curcumin and its combination affect rat growth .

The study of biochemical parameters revealed a disturbance of the main macromolecules namely: proteins, carbohydrates, lipids.

Biomarker monitoring indicated GSH depletion, and an increase in MDA and GPx activity in  $\text{TiO}_2$ -treated rats compared to control rats. .

In our study we recorded a decrease in MDA, GSH, and GPx activity in curcumin-treated rats compared to control rats.

The results showed that there was an increase in MDA and GPX activity ,but a decrease in GSH levels in rats treated with the combination of  $\text{TiO}_2$  and curcumin compared to control rats.

All these results are signs of possible pneumotoxicity of  $\text{TiO}_2$ .

Key words:  $\text{TiO}_2$ , Curcumin, Toxicity, Rats, biochemical parameters, MDA, GPx, GSH ... etc.

ثاني أكسيد التيتانيوم هو عنصر موجود على نطاق واسع في الطبيعة ويستخدم من قبل الإنسان كمضاف غذائي أو صبغ ومحفز.

يتعلق هذا العمل بتقييم السمية المحتملة لجسيمات متناهية الصغر هي ثاني أكسيد التيتانيوم والتأثير المضاد لثاني الفلورير الميثان والاثنين معا على جرذان ويستر التي هي مناسبة لدراسة علم السموم لتقييم سمية المواد الغريبة بسهولة ،وقد قمنا بتعريض الجرذان إلى جرعة 10مغ/كغ/يوم من ثاني أكسيد التيتانيوم و 20مل/كغ/يوم من الكركم مدة 28 يوما.

تشير النتائج الأولية إلى أن كلا من ثاني أكسيد التيتانيوم والكركم والاثنين معا، يسببون اضطرابا في النمو، وأظهرت الدراسات البيوكيميائية اضطراب في المكونات الرئيسية بما في ذلك : البروتينات و الكربوهيدرات والدهون.

كذلك تشير المعايير البيولوجية إلى انخفاض في كمية GSH ،وزيادة في كمية MDA ونشاط GPx عند الجرذان المعالجة بثاني أكسيد التيتانيوم، بالنسبة للجرذان الشاهدة .

كما سجلنا من خلال دراستنا في كمية، GSH وزيادة في كمية MDA ونشاط GPx عند الجرذان المعالجة بالكركم، بالنسبة للجرذان الشاهدة .

وأظهرت النتائج أن الجرذان المعالجة بثاني أكسيد التيتانيوم والكركم معا يسجل انخفاض في كمية GSH، لكن زيادة في كمية MDA ونشاط GPx. بالنسبة للجرذان الشاهدة.

**الكلمات المفتاحية :** ثاني أكسيد التيتانيوم، ثاني فلورير الميثان، سمية، MDA ، GPx ، GSH.....الخ



## *Remerciement*

Nous remercions Professeur **ROUABHI RACHID** sur la confiance qu'il nous accordé ainsi que pour les collaborations auxquels il nous fait participer et pour sa disponibilité et nombreux conseils et son souci constant de manière à ce que cette mémoire se passe dans les meilleures conditions possibles.

nous tenons à remercier les membres du jury **notre présidente Me. BOUSSEKINE S. et notre examinatrice Me. BOUADILA S.** qui nous fait l'honneur de juger ce travail de mémoire.

Nous exprimons aussi toutes mes gratitudees à **SARA HENINE** pour s'être pleinement investi à la réalisation de ce travail et sacrifié de son temps pour répondre à nos nombreuses questions, pour ses encouragements et ses nombreux conseils. Nous avons souhaité bonne chance et bon courage pour compléter son thèse de doctorat

Nous remercions amicalement nos collègues et mes amis.

Enfin nous remercions les membres de nos familles pour leur soutien sans faille tout au long de ces enrichissantes années.

**ZAINEB et MADIHA**

# *Dédicace*

## *Je dédie*

*Ce travail, et bien au-delà, je le dois à mes très chers parents qui m'ont fourni au quotidien un soutien et une confiance sans faille et de ce fait, je ne saurais exprimer ma gratitude seulement par des mots. Que dieu vous protège et vous garde pour nous.*

*A mon professeur ROUABHI RACHID*

*AUX docteurs HAFDALLA ABED EL KADER*

*AKRICHE HAMZA; et GASMI SALIM*

*A LA DOCTORANTE HENINE SARA*

*A mes chers frères (HAMID ; BRAHIM ; MOKHTAR ; LAHBIB MOUAYED et MADJED)*

*A mes chères sœur ZOHAÏRA ; NADJOUA ; MAYSEM.*

*A mes adorables amies (ZAINEB ; MADI ; SARA ; MADJDA ; NICHOU), pour leur fidélité*

*Que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin, trouve ici l'expression de ma reconnaissance.*

**ZAINEB**



## *Dédicace*

# *Je dédie ce travail la . . . .*

*A mon très cher père SALAH*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.  
Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A ma très chère mère NAJET GAID*

*Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.*

*Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.*

*Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.*

*Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A mes chères sœurs NESRINE, SANA, HAFIDHA, ABIR, NESRIN  
et la petite DHEKRA AICHA*

*Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite. I love you so much*

*A mon très cher frère HAMZA*

*Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité, Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.*

*A mes chères mères tata MOUNIRA et tata SOUAD*

*Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de joies.*

*A tous les membres de ma famille, petits et grands*

*Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur et de santé.*

*A mes très chères amies ZAINEB, SARA,*

*MAJDA, WARDA et ZEINEB*

*Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur,*

*de santé et de réussite*

*Nhebkommm*

# **MADJHA**



## LISTE DES ABREVIATIONS

Abréviation	Désignation
<b>µm</b>	Micromètre
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique.
<b>ANSES</b>	Nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail .
<b>BBC</b>	Bleu brillant de coomassie
<b>BHT</b>	Butyle hydrox-toluène
<b>BSA</b>	Albumine sérum de bœuf
<b>C</b>	Cellule.
<b>Ca</b>	Calcium.
<b>CCl4</b>	Carbone tétrachloride.
<b>Cm</b>	Centimètre.
<b>CMN</b>	Curcumine.
<b>Co2</b>	Dioxyde de carbone.
<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>-COOH</b>	Acide carboxylique.
<b>CVD</b>	Chemical Vapor Deposition.
<b>DO</b>	Densité optique.
<b>DTNB</b>	Acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman).
<b>EDTA</b>	Acide Ethylène-Diamine-Tétra acétique
<b>Ex</b>	Exemple.
<b>Fe</b>	Fer.
<b>G</b>	Gramme.
<b>g/jour</b>	Gramme par jour.
<b>GPx</b>	Glutathion peroxydase.
<b>GR</b>	Globule rouge.
<b>GSH</b>	Glutathion.
<b>GSSG</b>	Glutathion oxydée.
<b>H</b>	Heure.
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène.
<b>HO •</b>	Hydroxyle
<b>IRM</b>	Imagerie par résonance magnétique.
<b>Kcal</b>	kilocalorie.

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>KJ</b>	kilojoule.
<b>Kmax</b>	Absorption maximale.
<b>LDL</b>	Low-densitylipoprotéine.
<b>M</b>	Mètre.
<b>MDA</b>	Malondialdéhyde
<b>Mg</b>	Magnésium.
<b>Mg</b>	Milligramme.
<b>Nm</b>	Nanomètre.
<b>NPs</b>	Nanoparticules.
<b>O2</b>	Oxygène.
<b>P</b>	Potassium
<b>PECVD</b>	Plasma-enhanced of CVD.
<b>PUF</b>	Particules ultrafines.
<b>RO•</b>	Alkoxy.
<b>ROS</b>	Reactive Oxygen Species.
<b>THC</b>	Tétrahydrocurcumine.
<b>TiO2</b>	Dioxyde de titane.
<b>UV</b>	Ultra violée.
<b>VEGF</b>	Vasculaire endothélial growth factor.
<b>Zn</b>	Zinc.

## LISTE D'ABREVIATION

N° Figure	Titre de figure	N° Page
Figure1	Maladies associés à l'exposition des NPs	03
Figure 2:	Poudre de TiO <sub>2</sub> présente au laboratoire.	04
Figure 3	structure de l'anatase.	07
Figure 4.	structure du Brookite.	08
Figure 5.	structure du rutile.	08
Figure 6 :	l'épice de curcuma.	17
Figure 7 :	le curcuma	18
Figure 8:	Dessin représentant la plante entière.	19
Figure9 :	Port de <i>Curcuma longa</i> . Souche connue sous le nom de curcuma long et de curcuma rond.	20
Figure 10 :	Dessin d'un artiste Indien, représentant l'inflorescence.	21
Figure 11 :	<i>Curcuma longa</i> , Linné.	21
Figure 12:	Les principaux métabolites de la curcumine.	23
Figure 13:	Medicinal properties of curcumin.	28
Figure14:	Dissection d'un rat présentant ses principaux organes.	30
Figure 15 :	rat Wistar.	31
Figure 16:	poumons du rat.	33
Figure17:	rat de laboratoire.	37
Figure 18 :	Rats sacrifiés.	39
Figure 19 :	Poumons prélevées après sacrifice.	39
Figure20:	Extraction et dosage des glucides, lipides et protéines.	42
Figure 21 :	Changements des poids corporels chez les ratstémoins, traités par TiO <sub>2</sub> , Curcumine, et traités par TiO <sub>2</sub> /Curcumine.	48
Figure 22:	Changements des poids relatif du poumon chez les rats témoins, traités par TiO <sub>2</sub> , Curcumine, et traités par TiO <sub>2</sub> /Curcumine.	49
Figure 23 :	Variation de la teneur pulmonaire en glucides chez les rats témoins, traités par TiO <sub>2</sub> , Curcumine, et traités par TiO <sub>2</sub> /Curcumine.	50
Figure 24:	Variation de la teneur pulmonaire en lipide chez les rats témoins, traités par TiO <sub>2</sub> , Curcumine, et traités par TiO <sub>2</sub> /Curcumine.	51
Figure 25 :	Variation des taux de protéine pulmonaire chez les rats témoins, traités par TiO <sub>2</sub> , Curcumine, et traités par TiO <sub>2</sub> /Curcumine.	52
Figure26:	Changement du taux de MDA pulmonaire chez les rats témoins, traités par TiO <sub>2</sub> , Curcumine, et traités par TiO <sub>2</sub> /Curcumine.	53
Figure27 :	Variation de teneur en GSH pulmonaire chez les rats témoins, traités par TiO <sub>2</sub> , Curcumine, et traités par TiO <sub>2</sub> /Curcumine.	54

Figure 28 : Activité enzymatique de GPX pulmonaire chez les rats témoins, traités par TiO <sub>2</sub> Curcumine, et traités par TiO <sub>2</sub> /Curcumine.	55
<b>Figure A</b>	<b>Annexe:</b> Le réactif d'anthrone.
<b>Figure B</b>	<b>Annexe:</b> Le réactif SPV.
<b>Figure C</b>	<b>Annexe:</b> Le réactif de Bradford.
<b>Figure D</b>	<b>Annexe :</b> Courbe d'étalonnage pour le dosage des glucides.
<b>Figure E</b>	<b>Annexe:</b> Courbe d'étalonnage pour le dosage des lipides.
<b>Figure F</b>	<b>Annexe:</b> Courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines.

## LISTE DES TABLEAUX

<b>N° Tableau</b>	<b>Titre de tableau</b>	<b>N° Page</b>
<b>01</b>	<b>Les composants chimiques du curcuma.</b>	<b>22</b>
<b>02</b>	<b>Variation de poids corporel chez les différents groupes expérimentaux.</b>	<b>48</b>
<b>03</b>	<b>Variation de taux des glucides pulmonaire chez les différents groupes expérimentaux.</b>	<b>50</b>
<b>04</b>	<b>Variation de taux des lipides pulmonaire chez les rats dans les différents groupes expérimentaux.</b>	<b>51</b>
<b>05</b>	<b>Variation des taux de protéine pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux.</b>	<b>51</b>
<b>06</b>	<b>Taux de MDA pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux.</b>	<b>52</b>
<b>07</b>	<b>activités enzymatiques de GPx pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux.</b>	<b>53</b>
<b>08</b>	<b>Taux de GSH pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux.</b>	<b>54</b>
<b>A</b>	<b>Réalisation de la courbe d'étalonnage pour dosage des glucides.</b>	
<b>B</b>	<b>Réalisation de la courbe d'étalonnage pour dosage des lipides.</b>	
<b>C</b>	<b>Réalisation de la courbe d'étalonnage pour dosage des protéines.</b>	

Résumé

Abstract

ملخص

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Introduction .....2

## I. Partie Bibliographique

### Chapitre1 : Nanoparticul

II Les nanoparticules.....5

I. Généralité.....5

II. nanoparticules de dioxyde de titane (TiO<sub>2</sub>) .....6

1. Généralité sur le dioxyde de titane .....6

2. Origine du dioxyde de titane .....5

3. Applications .....7

4. Synthèse des nanoparticules de TiO<sub>2</sub> ).....8

4.1. Synthèses en phase liquide.....8

4.2. Synthèses en phase gazeuse .....8

5. Structure de TiO<sub>2</sub> .....9

5.1. La phase Anatase.....9

5.2.La phase Brookite.....9

5.3.La phase rutile .....10

6. Propriétés physiques .....11

7. Propriétés chimiques .....11

8. Toxicocinétique .....11

## TABLE DES MATIERES

---

7.1. Absorption .....	12
7.1. 1.Absorption broncho-pulmonaire .....	12
7.1.2. Absorption cutanée .....	12
7.1.3. Absorption gastro-intestinale .....	12
7.2. Distribution .....	12
7.3. Elimination .....	13
8. Cytotoxicité des nanoparticules de dioxyde de titane .....	13
8.1. Etudes de survie/prolifération cellulaire .....	13
8.2. Stress oxydant .....	14
8.3. Réponse inflammatoire .....	14
8.4. Génotoxicité et Mutagénicité .....	14
8.5. Internalisation cellulaire .....	15
<b>Chapitre2: DIFERULOYL METHANE</b>	
1. Définition .....	17
2. Historique .....	17
3. Classification .....	19
4. Description de la plante.....	19
5. Composition chimique.....	22
6. Pharmacocinétique et métabolisme .....	23
7. Mécanismes d'action de curcuma.....	24
7.1. Effets antioxydants .....	24
7.2. Effets anti-inflammatoires .....	24
8.Propriétés de curcuma.....	25
8.1.Cytotoxicité et mort cellulaire de curcuma .....	25
8.2. Régulation de l'angiogénèse et du processus d'adhésion par curcuma .....	25
8.3. Modulation de l'inflammation.....	25
8.4. Vieillesse cellulaire et curcuma .....	26
8.5. Propriétés anti-oxydantes .....	26

# TABLE DES MATIERES

---

9. Toxicité .....	27
10. Utilisation de curcuma .....	27
10.1. Usages courants .....	27
10.2. Médecine traditionnelle orientale.....	28
<b>Chapitre3: RAT ET POUMON</b>	
I .RAT .....	30
1. Généralité.....	30
2. Classification.....	31
II. POUMON .....	32
1. Définition .....	32
2. Fonction .....	33
2.1. Défense.....	34
2.2.Rôle métabolique .....	34
3.Pneumotoxicité .....	34
<b>PARTIE PRATIQUE</b>	
1. Matériel .....	37
1.1. Matériel chimique.....	37
1.2. Matériel biologique .....	37
1.3. Entretien des animaux.....	38
2. Méthode .....	38
2.1 Lotissement et traitement .....	38
2.2. Mesure du poids.....	38
2.3. Sacrifice et prélèvement des poumons .....	38
2.4. Estimation du poids relatif du poumon .....	40

## TABLE DES MATIERES

---

2.5. Méthodes de dosages des paramètres biochimiques .....	40
2.5.1. Extraction et dosage des métabolites .....	40
2.5.2. Evaluation des paramètres biochimiques.....	40
2.5.2.1. Dosage des glucides.....	40
2.5.2.2. Dosage des lipides.....	41
2.5.2.3. Dosage des protéines.....	41
2.6. Evaluation des paramètres de stress oxydatif.....	43
2.6.1. Malondialdéhyde (MDA).....	43
2.6.2. Dosage du glutathion (GSH).....	44
2.7. Dosage des biomarqueurs enzymatiques.....	45
2.7.1. Dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GPx).....	45
2.8. Analyses statistique.....	46
<b>RESULTATS.....</b>	<b>48</b>
<b>1. Effet du TiO<sub>2</sub> et la curcumine sur les paramètres de la croissance globale des animaux.....</b>	<b>48</b>
1.1. Poids corporel.....	48
1.2. Poids relatif du poumon (PRp).....	49
2.1. Effet sur le taux des glucides .....	49
2.2. Effet sur le taux des lipides .....	50
2.3. Effet sur le taux des protéines .....	51
<b>3. Effet du TiO<sub>2</sub> et la curcumine sur les paramètres de stress dans les poumons chez les rats.....</b>	<b>52</b>
3.1. Effet sur les paramètres non enzymatiques.....	52
3.1.1. Effet sur la teneur en MDA.....	52
3.1.2. Effet sur le taux de GSH .....	53
3.2. Effet sur les paramètres enzymatiques.....	54
3.2. Effet sur l'activité de GPx .....	54

# TABLE DES MATIERES

---

<b>DISCUSSION.....</b>	<b>56</b>
<b>1. les paramètres de la croissance globale des animaux.....</b>	<b>57</b>
<b>2. Les paramètres biochimiques (les métabolites Glucides, Lipides et Protéines).....</b>	<b>57</b>
<b>3. Les paramètre de stress oxydatif (Enzymatique et non enzymatique) .....</b>	<b>58</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>63</b>

**Références bibliographiques**

**Annexes**

# *Introduction*

Depuis plusieurs années, il y a un intérêt croissant dans la recherche en nanotechnologie, qui se concentre sur les particules qualifiées de particules ultrafines dont au moins une dimension est comprise entre 1 et 100 nanomètres encore appelé nanoparticules (NPs) (**Baratli, 2015**).

Leur intérêt repose sur les caractéristiques intrinsèques des nanoparticules, quand leur faible dimension, leur confère des propriétés physico-chimiques, En raison de leur petite taille, les nanoparticules peuvent se localiser dans des vésicules à l'intérieur des cellules et peuvent également atteindre des cibles cellulaires, et provoque des effets nocifs (**Bettini, et al., 2014**).

Nous nous intéresserons plus particulièrement aux nanoparticules dioxyde de titane qui se trouvent dans la croûte terrestre sous trois formes cristallines (anatase, rutile, brookite), Il est majoritairement utilisé comme pigment blanc et additif dans les aliments (**Bettini, et al., 2014**).

Les nanoparticules dioxyde de titane possèdent de grandes potentialités technologiques grâce à ses propriétés spécifiques, ils peuvent être réalisées par différentes techniques (sol-gel, hydrothermale, solvothermale...), Le procédé sol-gel est reconnu comme étant l'une des méthodes d'élaboration des nanopoudres plus simple et plus performante en termes de qualité de la poudre, Le processus hydrothermal met en jeu une réaction hétérogène qui requiert la présence de solvants aqueux sous haute pression et à haute température pour la dissolution et la recristallisation de matériaux qui sont relativement insolubles dans les conditions ordinaires (**Baratli, 2015**).

A l'heure actuelle, on parle beaucoup des nanotechnologies dans l'actualité scientifique, et le cas du dioxyde de titane est particulièrement intéressant et passionnant puisque ses propriétés autant que ses dangers sont, aujourd'hui, mis à l'épreuve. De plus les questions de développement durable et d'écologie sont de plus en plus à la mode, et le dioxyde de titane a des propriétés propres à première vue. (**Site 1**)

La toxicité des nanoparticules de TiO<sub>2</sub> est un sujet de recherche en pleine expansion depuis les années 2000. Le nombre d'articles publiés sur le sujet chaque année ne cesse de croître et a dépassé en 2014 les 550 références, pour un total de 2 975 articles depuis 1996, Les principaux mécanismes de toxicité rapportés sont liés à l'inflammation, au stress oxydant et à la génotoxicité (**Boland, et al., 2014**).

Cette étude est consacrée à une compréhension de l'évaluation de la toxicité potentielle des nanoparticules de dioxyde de titane ( $\text{TiO}_2$ ) et l'effet opposé de diférulyol-méthane (Curcumine) qu'est le pigment principal du curcuma (une plante vivace appartenant à la famille du Zingiberaceae) sur les cellules pulmonaire, en utilise des rats qui sont parfaitement adapté aux l'étude toxicologique pour évaluer aisément la toxicité de xénobiotique.

*Partie*  
*Bibliographique*

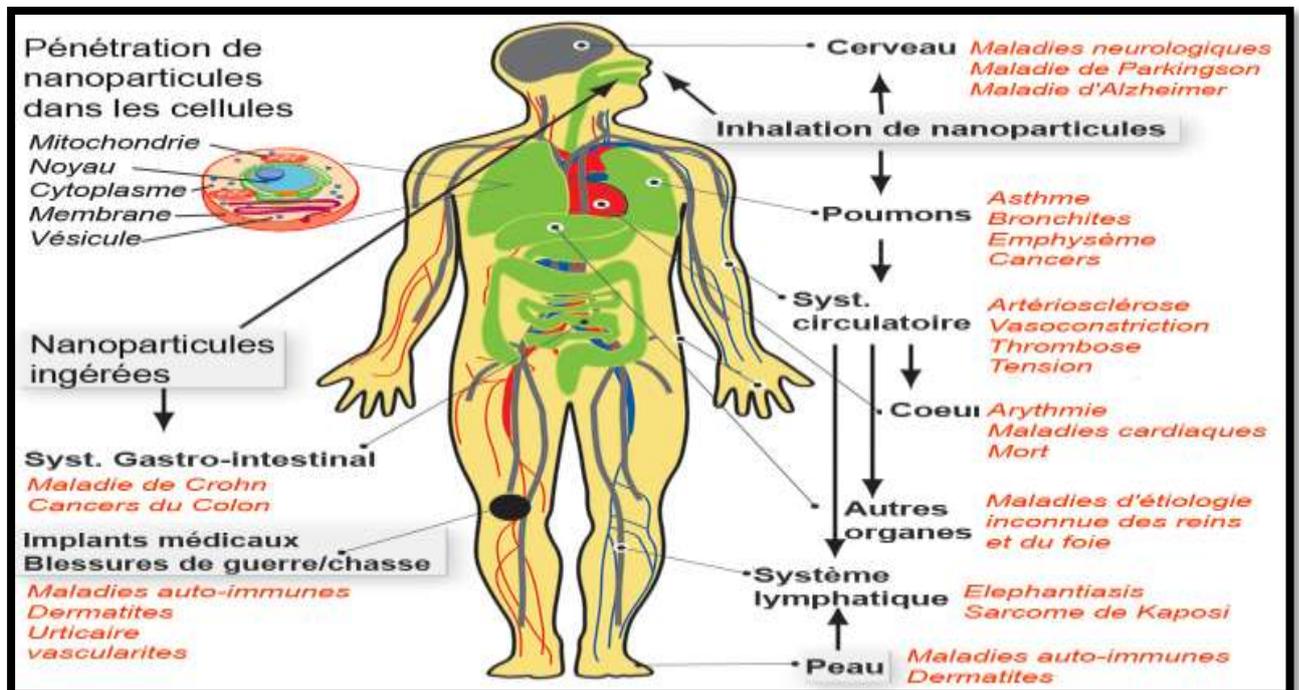
# *Chapitre I : NANOPARTICULES*

## I Généralité sur Les nanoparticules

Les nanoparticules, également appelées particules ultrafines (PUF), sont des molécules dont la taille varie entre 1 et 100 nanomètres ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m} = 0,000000001 \text{ m}$ ). Elles sont donc plus grandes que des atomes et plus petites qu'une cellule. On distingue les nanoparticules « élaborées », fabriquées artificiellement, et les « émissions secondaires », sous-produits d'une réaction, comme les particules présentes dans la fumée de cigarette ou les émissions de diesel (**Site 2**).

Il existe des nanoparticules de n'importe quel matériau : carbones, céramiques, métaux, ... etc. On ne peut donc pas parler de façon générique des nanoparticules : chacune a ses propres caractéristiques, notamment en ce qui concerne la toxicité et la pénétration. Elles sont aujourd'hui utilisées dans de nombreux domaines : électronique, cosmétique, automobile, chimie, textile, pharmacie, agroalimentaire et optique (**Malinski, 1998**).

Les nanoparticules peuvent représenter un risque pour la santé à cause de leur petite taille. Les nanoparticules ont une taille qui les place entre la matière macroscopique et l'échelle moléculaire, elles sont dangereuses pour l'organisme, car elles sont plus petites que nos cellules. Elles sont si petites qu'elles traversent notamment sans difficulté la barrière encéphalique chez les humains (**Malinski, 1998**).



**Figure1** : Maladies associés à l'exposition des NPs. (**Claude, et al 2008**).

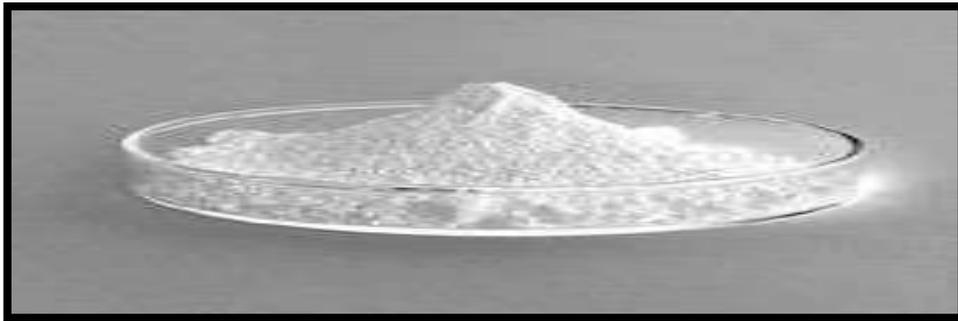
## II nanoparticules de dioxyde de titane (TiO<sub>2</sub>)

### 1. Généralité sur le dioxyde de titane

Le dioxyde de titane ou oxyde de titane (**IV**) est composé d'oxygène et de titane de formule TiO<sub>2</sub>. (**Site 3**), il se trouve à l'état naturel sous trois principales formes cristallines présentes dans les espèces minérales suivantes : rutile, brookite et anatase. (**Hervé et al.,2007**).

Le dioxyde de titane est utilisé comme pigment blanc dans les peintures, les plastiques et dans le papier, ainsi comme additif dans les aliments et aussi dans le domaine pharmaceutique (**Bezrodna et al., 2000**).

Il présente des propriétés spécifiques liées à l'échelle nanométrique. Il est commercialisé soit sous sa forme originale, soit, le cas le plus courant, sous des formes modifiées après traitement de la surface des particules. Ces traitements sont susceptibles de modifier les caractéristiques physico-chimiques et les effets biologiques du dioxyde de titane (**Site 4**).



**Figure 2:** Poudre de TiO<sub>2</sub> (**Site 4**).

### 2. Origine du dioxyde de titane

Le titane est le 9<sup>ème</sup> élément le plus abondant dans la croûte terrestre devant l'hydrogène et derrière le magnésium. Le titane y est majoritairement retrouvé sous sa forme oxydée dans des minerais mixtes tels que l'ilménite (FeTiO<sub>3</sub>), la pérovskite (CaTiO<sub>3</sub>) ou bien la titanite (CaTiSiO<sub>5</sub>) (**Sugimoto et al., 2003**).

Le TiO<sub>2</sub> pur existe également dans la nature sous les formes décrites ci-après. Le titane peut être obtenu par un procédé d'extraction utilisant des chlorures. Cette technique optimisée par le chimiste français *Henri Sainte-Claire Deville* permet d'obtenir le tétrachlorure de titane (TiCl<sub>4</sub>) qui peut ensuite être réduit via le « procédé Kroll » pour obtenir du titane solide pur (**Sugimoto et al., 2003**).

Le TiO<sub>2</sub> peut également être extrait des différents minerais par des traitements à l'acide sulfurique produisant le sulfate de titanyte (TiOSO<sub>4</sub>). Ce composé peut ensuite être hydrolysé et déshydraté pour donner du TiO<sub>2</sub> (**Combres, 1997**).

### 3. Applications

Le dioxyde de titane est utilisé sous forme de poudre micrométrique depuis de nombreuses années (début des années 1920) pour ses propriétés opacifiante et Blanchis sante. Il représente environ 70 % de la production mondiale de pigments devant le noir de carbone et l'oxyde de fer. Depuis le début des années 1990, il est également utilisé sous forme de poudre nanométrique notamment pour ses capacités d'absorption des rayons ultraviolets (**J argot et al., 2013**).

Le dioxyde de titane fin est principalement utilisé comme pigment blanc dans :

- Les peintures, laques, vernis et enduits.
- Les encres d'imprimerie.
- Les plastiques, le caoutchouc et le cuir.
- Les colorants alimentaires.

Les applications les plus importantes du dioxyde de titane fin non pigmentaire sont les suivantes :

- Fabrication de médicaments comme support de certains principes actifs.
- Fabrication de produits cosmétiques (savons, crème et dentifrices).
- Fabrication du papier comme charge.
- Fabrication de teintes comme agent opacifiant (**J argot et al., 2013**).

Le dioxyde de titane ultrafin a aussi de nombreuses applications, notamment dans l'industrie cosmétique, l'architectonique, l'industrie agroalimentaire et l'épuration d'air. :

- Fabrication de produits cosmétiques, notamment de produits de protection solaire, en tant que filtre ultraviolet ;
- Fabrication de ciments et de verres, en raison de ses propriétés photocatalytiques qui permettent de décomposer une large variété de matières organiques, inorganiques et de micro-organismes.

Enrobage et glaçage de produits alimentaires (confiseries...) (**J argot et al., 2013**).

## 4. Synthèse des nanoparticules de TiO<sub>2</sub> :

Les techniques de synthèse des nanoparticules de TiO<sub>2</sub> sont très diverses, Le choix de la méthode dépend des propriétés physico-chimiques désirées :

### 4.1. Synthèses en phase liquide

- ❖ **Sol-gel** (contraction de « solidification-gélification ») : La synthèse de dioxyde de titane par voie sol-gel conduit le plus souvent à l'anatase avec une taille de particules nanométriques. La morphologie des particules peut être modifiée en modulant certains paramètres de la synthèse (**site 5**).
- ❖ **Hydrothermale** : est un autre procédé chimique, surtout utilisé dans l'industrie des céramiques pour l'obtention de petites particules de TiO<sub>2</sub>. La réaction impliquant un précurseur de TiO<sub>2</sub> se déroule en milieu aqueux, à des températures supérieures à 100 °C et à des pressions supérieures à 1 bar ; ce type de synthèse est couramment mené dans des autoclaves contrôlés en température et/ou en pression (**site 5**).
- ❖ **Solvothermale**: Dans cette méthode, la réaction entre l'eau et le précurseur à base de titane se déroule dans un milieu non-aqueux ; l'eau est introduite en faible quantité, en tant que réactif. Des températures plus élevées peuvent être obtenues si les solvants utilisés dans cette voie de synthèse ont des températures d'ébullition supérieures à celle de l'eau. Un meilleur contrôle de la taille, de la forme et de la cristallinité du TiO<sub>2</sub> est obtenu par cette voie de synthèse (**site 5**).

### 4.2. Synthèses en phase gazeuse

Le dépôt chimique en phase vapeur (CVD) : Dans cette méthode, un film mince de TiO<sub>2</sub> est généré sur un substrat, via une réaction entre précurseurs, qui a lieu à la fois en phase vapeur et au niveau de la surface du substrat. L'énergie nécessaire pour que la réaction entre les précurseurs aient lieu peut être apportée sous forme d'énergie thermique, sous forme d'énergie lumineuse (UV) ou par plasma (on parle alors de plasma-enhanced CVD ou PECVD), c'est-à-dire sous forme d'énergie électrique (**site 5**).

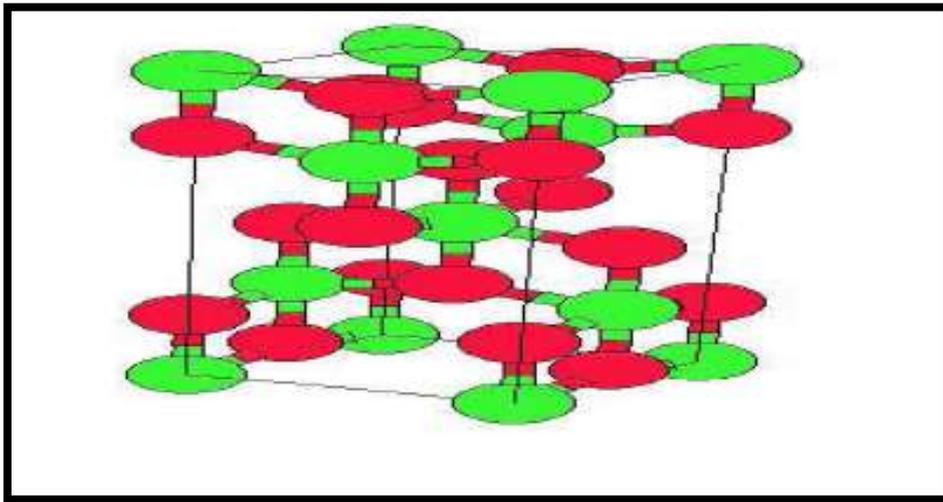
En pratique, les précurseurs sont chauffés (TiCl<sub>4</sub> ou Ti(OiPr)<sub>4</sub> et O<sub>2</sub>) dans une chambre de dépôt : les molécules de précurseurs sont alors vaporisées ; la réaction chimique entre les précurseurs a lieu en phase gazeuse et le dioxyde de titane se dépose sur un substrat. Les films de TiO<sub>2</sub> obtenus par cette méthode sont généralement épais mais cristallins, avec des tailles de grains inférieures à 30 nm (**site 5**).

## 5. Structure de $\text{TiO}_2$

### 5.1. La phase Anatase

C'est une forme de l'oxyde de titane naturel, que l'on rencontre moins fréquemment. L'anatase fut découverte en 1801 par Haüy. Il présente une vaste gamme de teintes, de quasi incolore à brun, en passant par le verdâtre. La maille élémentaire de l'anatase est également de symétrie tétragonale (**Goudjil, 2013**).

L'anatase est une forme métastable qui tend à évoluer vers la structure plus compacte du rutile avec une cinétique plus ou moins lente. Comme dans le rutile, chaque atome de titane se trouve au centre d'octaèdres, Cette structure est stable à des températures plus basses contrairement aux celles de la formation du rutile et du Brookite (**Kertesz, 1991**).

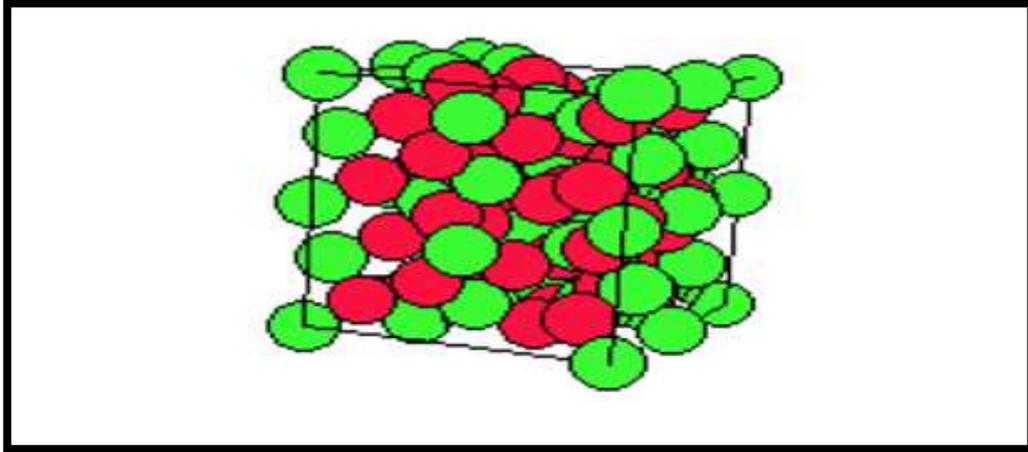


**Figure 3** .structure de l'anatase (**Kertesz, 1991**).

### 5.2. La phase Brookite

La phase Brookite est une phase métastable, donc il est difficile de la préparer pur sous les conditions de laboratoire, mais il est possible de la retrouver comme une phase secondaire avec l'anatase et rutile fut découverte en 1825 par Levy en Snowen (Angleterre).La Brookite appartient au système cristallin orthorhombique (**Goudjil, 2013**).

La structure de la Brookite, autre forme métastable, intermédiaire entre l'anatase et le rutile, a rarement été étudiée du fait de son domaine de stabilité étroit (**Kertesz, 1991**).

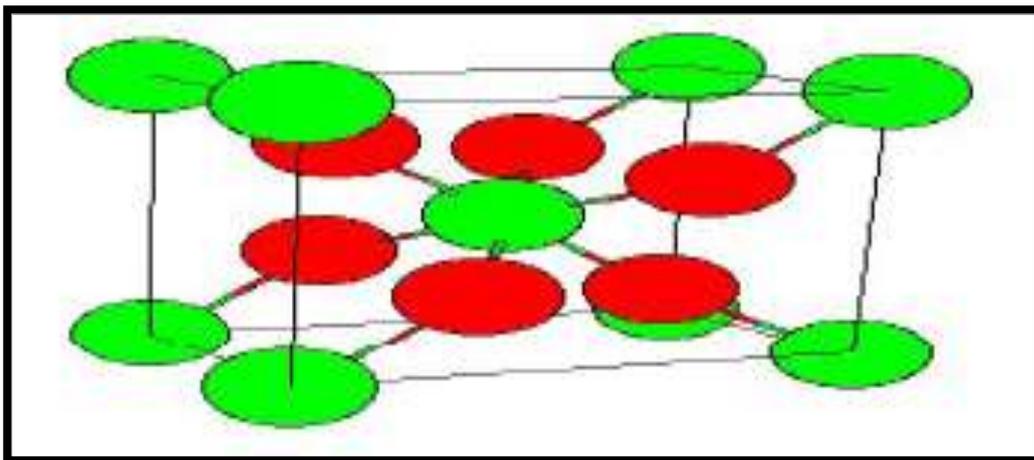


**Figure 4.**structure du Brookite (Kertesz, 1991).

### 5.3. La phase rutile

Le rutile est un minéral composé principalement de 90% à 95% de dioxyde de titane. Il fut découvert en **1803** par **Wener** en Espagne. Le rutile de couleur rouge, est la variété de l'oxyde de titane la plus stable à température élevées. Il se trouve dans les roches magmatiques et métamorphiques (Goudjil, 2013).

La maille élémentaire de cette phase est de symétrie tétragonale. Chaque atome de titane est entouré de six atomes d'oxygène suivant un octaèdre. Ces octaèdres sont disposés en chaînes parallèles à l'axe de la maille La structure la plus stable du dioxyde de titane est le rutile, qu'il se produit à haute température (Kertesz, 1991).



**Figure 5.**structure du rutile (Kertesz, 1991).

## 6. Propriétés physiques

Le dioxyde de titane est un solide blanc réfringent, thermostable, Il est commercialisé sous forme de poudre ou de dispersion dans un liquide. Il est inodore, insoluble dans l'eau, dans l'éthanol et autres solvants organiques, il absorbe les rayons ultraviolets : le degré d'absorption de ces rayonnements UV dépend de la taille des particules. La forme rutile est plus dense et plus stable thermodynamiquement que la forme anatase (**J argot et al., 2013**).

## 7. Propriétés chimiques

Le dioxyde de titane non « ultrafin » est un produit très peu réactif. Il n'est pas attaqué par les acides chlorhydrique ou nitrique, mais attaqué par l'acide sulfurique concentré chaud ainsi que par l'acide fluorhydrique avec lequel il forme l'acide fluotitanique, Il peut également être attaqué par les bases concentrées. Le lithium, le magnésium et le zinc peuvent réduire le dioxyde de titane (**J argot et al., 2013**).

En raison de leur surface spécifique plus élevée, les nanoparticules de dioxyde de titane présentent des propriétés photocatalytiques améliorées par rapport aux particules de plus grande taille : elles sont susceptibles de générer des espèces réactives de l'oxygène (radicaux hydroxyles, oxygène singlet, radical superoxyde) après exposition aux rayons ultraviolets et réactions avec l'eau ou l'oxygène (**J argot et al., 2013**).

## 7. Toxicocinétique

Le dioxyde de titane pénètre dans l'organisme essentiellement par inhalation, et dans une moindre mesure, par voie orale.

Que ce soit sous forme micrométrique ou nanométrique, les données disponibles à ce jour ne sont pas suffisantes pour pouvoir conclure quant à la présence d'une absorption percutanée, à la suite d'une exposition par voie inhalatrice, l'accumulation se fait principalement au niveau des ganglions lymphatiques alors que par voie orale, les particules micro et nanométriques s'accumulent au niveau du foie, de la rate, des poumons et des reins, suite à une translocation (migration des particules à partir de leur site de déposition) circulatoire.

Sous forme nanométrique, elles sont majoritairement excrétées via les urines, après administration intraveineuse (**J argot et al., 2013**).

## 7.1. Absorption

### 7.1.1. Absorption broncho-pulmonaire

La rétention pulmonaire des particules nanométriques (20 nm, anatase) est plus importante que celle des particules fines (250 nm, anatase) : la demi-vie de rétention est estimée à 501 jours pour les nanoparticules et à 174 jours pour les particules fines. Après inhalation, le dioxyde de titane s'accumule dans l'appareil respiratoire, différemment selon la taille des particules ; sous sa forme nanométrique, il est retrouvé au niveau des ganglions lymphatiques et en très faible quantité dans le foie. Après instillation nasale, les nanoparticules de dioxyde de titane peuvent subir une translocation neuronale et être retrouvées dans certaines régions du cerveau (**J argot et al., 2013**).

### 7.1.2. Absorption cutanée

L'absorption percutanée du dioxyde de titane a été étudiée chez des mini-porcs, exposés 4 fois par jour, 5 jours par semaine pendant 22 jours, au niveau du cou, du dos et du ventre, à trois formulations différentes de crèmes solaires. Après 22 jours d'application, les concentrations en dioxyde de titane mesurées dans les ganglions lymphatiques ne sont augmentées de façon significative, par rapport au groupe témoin, la majorité du dioxyde de titane est retrouvée dans l'épiderme. La très faible quantité de particules mise en évidence dans le derme pourrait être le résultat d'une contamination par des restes d'épiderme, lors de la préparation des échantillons de peau. Toutefois, la présence de dioxyde de titane dans les ganglions inguinaux, obtenue sur peau saine, ne permet pas de conclure quant à une absence totale d'absorption percutanée des particules de dioxyde de titane (**J argot et al., 2013**).

### 7.1.3. Absorption gastro-intestinale

Une étude récente met en évidence le faible taux d'absorption gastro-intestinale, les nanoparticules de TiO<sub>2</sub>, localisées au niveau de la muqueuse de l'estomac et de l'intestin grêle de rat, ne passant pas dans la circulation systémique. En effet, les nanoparticules se retrouvent sous forme d'agglomérats de taille importante (comprise entre 1702 et 2080 nm), limitant considérablement absorption et translocation (**J argot et al., 2013**).

## 7.2. Distribution

Par voie orale, les souris exposées à des particules de dioxyde de titane de taille nanométrique (25 et 80 nm) et micrométrique (155 nm) présentent une augmentation par rapport aux témoins, des concentrations en titane au niveau du foie, de la rate, des poumons et des reins, 2 semaines après l'exposition, à la suite d'une translocation circulatoire. Après une

exposition par inhalation, les particules de TiO<sub>2</sub> sont retrouvées au niveau des poumons et des ganglions lymphatiques après instillation nasale, une translocation neuronale est suspectée d'être à l'origine de l'accumulation de nanoparticules de TiO<sub>2</sub> dans certaines parties du cerveau (**J argot et al., 2013**).

Une accumulation de nanoparticules de TiO<sub>2</sub> est observée dans le cerveau (principalement au niveau du cortex cérébral, du thalamus, de l'hippocampe et du bulbe olfactif), signe d'un passage de la barrière hémato-encéphalique. Après l'administration par voie intraveineuse de nanoparticules de TiO<sub>2</sub> dans du sérum (5 ou 10 mg/kg), les niveaux les plus importants sont retrouvés dans le foie, puis de manière décroissante, dans la rate, les poumons et les reins de rats exposés (**J argot et al., 2013**).

À la suite d'une injection sous-cutanée de nanoparticules de TiO<sub>2</sub>, les agglomérats les plus importants sont observés au niveau des ganglions inguinaux et, dans une moindre mesure, au niveau du foie, de la rate et des poumons (**J argot et al., 2013**).

### 7.3. Elimination

Chez le rat, la clairance alvéolaire des particules ultra fines est augmentée, par rapport à celle des fines, du fait d'une translocation plus importante de ces particules dans l'interstitielle pulmonaire.

L'administration par voie intraveineuse met en évidence une excrétion rénale majeure pour les particules nanométriques : le 1 jour après l'injection, 16 % de la dose est retrouvée dans les urines contre 1 % dans les fèces. Aucune information quantitative n'est disponible pour la forme micrométrique (**J argot et al., 2013**).

## 8. Cytotoxicité des nanoparticules de dioxyde de titane

### 8.1. Etudes de survie/prolifération cellulaire

Les effets cytotoxiques aigus se traduisent par une altération de la survie des cellules quiescentes. Les effets toxiques sont fréquemment perceptibles sous forme d'une inhibition de la prolifération cellulaire. Diverses études ont été menées sur différentes lignées cellulaires comme les cellules respiratoires ; nerveuses , de peau , ou encore sanguines et intestinales . En fonction des études, il apparaît ou non une inhibition de la prolifération cellulaire en fonction des propriétés des nanoparticules de TiO<sub>2</sub>. Les études

de viabilité cellulaire sont généralement complétées par d'autres tests de cytotoxicité (**Manon, 2014**).

### 8.2. Stress oxydant

Le stress oxydant est un type d'agression des constituants de la cellule, dû aux espèces réactives oxygénées. Les ROS sont des espèces chimiques extrêmement réactives regroupant les radicaux libres possédant un électron célibataire non apparié (les radicaux hydroxyl HO• ou alkoxy RO• par exemple) et également des dérivés non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par exemple (**Manon, 2014**).

En effet, l'introduction d'espèces hautement réactives dans la cellule ou dans un organe, comme les nanoparticules, peut générer un stress oxydant. Si ces espèces sont nombreuses, les cellules n'arrivent plus à les traiter et peuvent libérer leurs oxydants dans l'organisme en provoquant une réaction inflammatoire exacerbée. L'étude de **Jiang et al. 2008** a évalué la relation entre certaines propriétés physico-chimiques des nanoparticules de TiO<sub>2</sub> (taille, surface d'activité, forme cristalline) et le potentiel de génération d'un stress oxydant. La forte activité de génération d'espèces réactives, observée pour les particules de 30 nm semblerait être corrélée aux propriétés photocatalytiques du TiO<sub>2</sub>. Sous irradiation UV, les nanoparticules de TiO<sub>2</sub> produisent différentes quantités de radicaux hydroxyles en fonction de leur structure cristalline et leur taille. Il semble en effet que plus la particule est petite, et plus elle va créer des dommages oxydatifs (**Manon, 2014**).

### 8.3. Réponse inflammatoire

Un des effets notés suite à une exposition aux nanoparticules de dioxyde de titane est la réponse inflammatoire. Elle correspond à l'ensemble des mécanismes réactionnels de défense par lesquels l'organisme reconnaît, détruit et élimine toutes les substances qui lui sont étrangères. Des facteurs pro inflammatoire s'activent les cellules immunitaires à l'origine de l'inflammation. **Palomäki et al. 2010** ont indiqué que le TiO<sub>2</sub> pur et enrobé de silice induisait une expression accrue des cytokines pro-inflammatoires dans les cellules dendritiques et dans les macrophages de rat. Durant une courte exposition, le TiO<sub>2</sub> active les leucocytes neutrophiles et modifient leur forme, tandis qu'après une plus longue exposition, il y a inhibition de l'apoptose et de la production de cytokines (**Manon, 2014**).

### 8.4. Internalisation cellulaire

Afin de comprendre leurs mécanismes d'action, la localisation de nanoparticules en interaction avec des cellules a été étudiée. La membrane cellulaire forme une barrière exerçant un contrôle du transfert transmembranaire des composés hydrophiles, naturellement imperméabilisants dans les bicouches lipidiques. Les molécules de petites tailles peuvent emprunter des transporteurs enzymatiques ou des pores passifs pour pénétrer dans les cellules. Les macromolécules ou particules polaires peuvent être internalisées par endocytose. Dans une étude, le TiO<sub>2</sub> a été trouvé à l'intérieur des cellules, sous plusieurs formes : en tant que gros agrégats liés à la membrane, ou sous forme d'agrégats plus petits et libres ou encore sous forme de particules individuelles dans le cytoplasme . En particulier il a été localisé par fluorescence (**Manon, 2014**).

## *Chapitre II* : **DIFERULOYL METHANE**

### 1. Définition

La plante curcuma (*Curcuma longa*), une plante vivace appartenant à la famille du Zingiberaceae, est cultivée intensivement dans le sud et le sud-est de l'Asie tropicale. Le rhizome de cette plante est également appelé «racine» et est la partie la plus utile de la plante à des fins culinaires et médicinales. Le composant le plus actif du curcuma est la curcumine, qui constitue 2 à 5% de l'épice. La couleur jaune caractéristique du curcuma est due aux curcuminoïdes (Aggarwal et al., 2003)

La curcumine ou diféruoyl-méthane est le pigment principal du curcuma (*Curcuma longa*), aussi appelé safran des Indes. C'est un pigment polyphénolique (curcumoïde) qui donne une couleur jaune (c'est le colorant alimentaire E100) (Site 6).

### 2. Historique

Le curcuma est une épice qui fait l'objet d'échanges commerciaux depuis tellement longtemps qu'on ne peut déterminer avec certitude son origine. On pense cependant qu'il vient du Sud ou du Sud-est de l'Asie, peut-être plus spécifiquement de l'Inde, d'où il se serait répandu dans toute l'Asie, de même qu'au Proche et au Moyen-Orient, il y a des milliers d'années (PENSO, 1986).



**Figure 6 : l'épice de curcuma (Site 8).**



Figure 7 : le curcuma (Site 7).

### 3. Classification

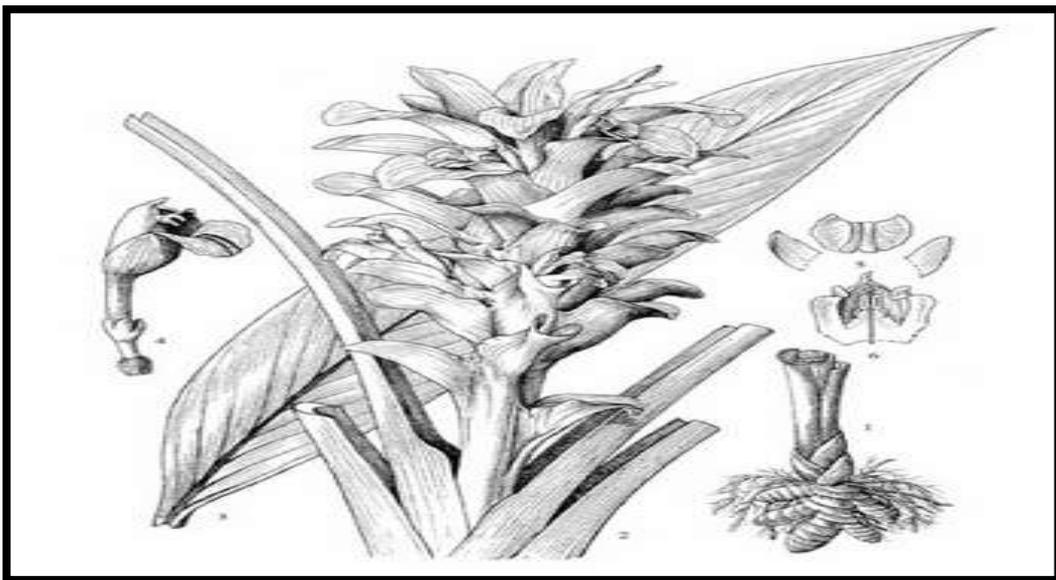
D'après la classification phylogénétique, il existe de nombreuses espèces de *Curcuma* dont les propriétés sont exploitées en santé. Parmi ces espèces peuvent être citées le *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma amada*, *Curcuma aromatica*, *Curcuma brog*, *Curcuma malabarica* ou encore *Curcuma sylvaticas* (**Pierre, 2014**).

L'espèce la plus couramment utilisée et citée dans la littérature est le *Curcuma longa*. Reconnue pour ses propriétés préventives et curatives, Aujourd'hui cette espèce est d'un intérêt croissant en Santé pour les composés actifs qu'elle contient. (**Pierre, 2014**)...etc.

- **Classe** : Liliopsida
- **Subclasse** : Commelinids
- **Ordre** : Zingiberales
- **Famille** : Zingiberaceae
- **Genre** : *Curcuma*
- **Espèce** : *Curcuma longa* (**Anil et al. 2011**).

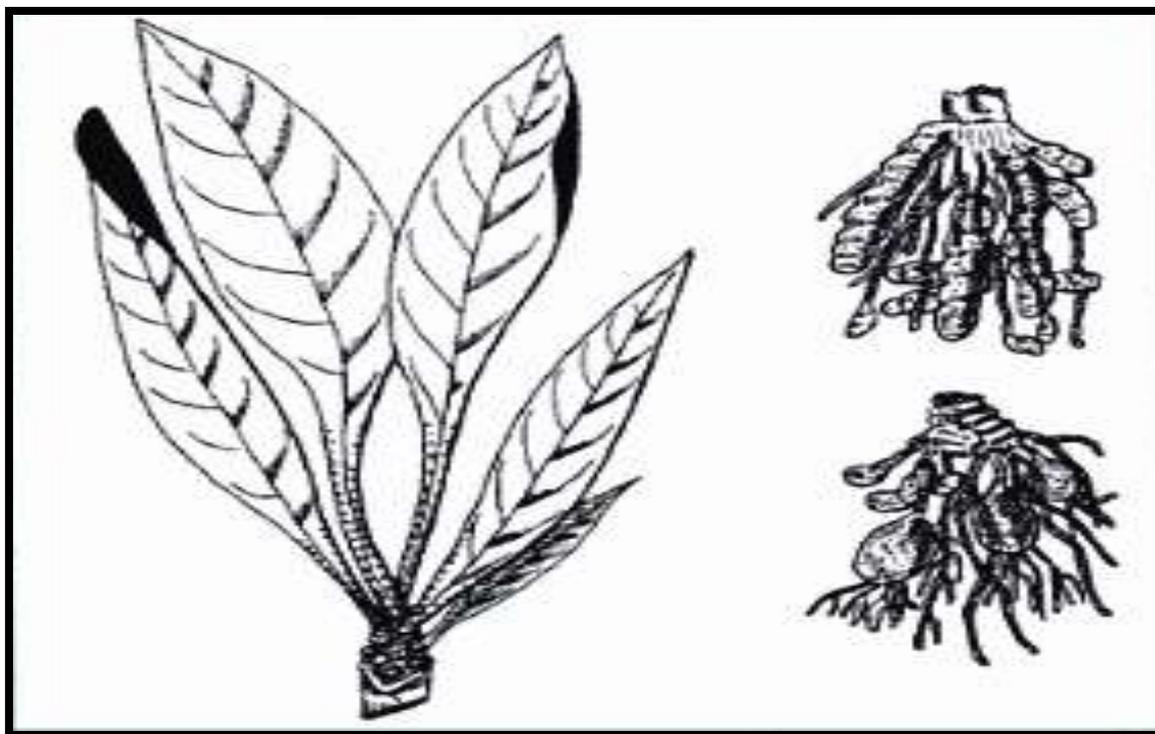
### 4. Description de la plante

*Curcuma longa* L. est une plante vivace atteignant un mètre, pérenne par son rhizome (figure 8).



**Figure 8:** Dessin représentant la plante entière (**Site 9**).

Les rhizomes principaux de forme ovoïde fournissent le curcuma rond et les secondaires le curcuma long. Epais, écailleux, se ridant par dessiccation, ces rhizomes sont d'une couleur jaune orangé en section, gris brunâtre en surface. Une odeur aromatique se dégage après section du rhizome (Delaveau, 1987).



**Figure 9** : Port de *Curcuma longa*. Souche connue sous le nom de curcuma long (en haut) et de curcuma rond (en bas), (BOULLARD, 2001).

Ses feuilles, très longues, oblongues à elliptiques, engainantes, possèdent une puissante nervure axiale et des nervures secondaires parallèles (BOULLARD, 2001). Les gaines des feuilles forment un pseudo tige courte, les limbes sont vert foncé au-dessus, vert très clair en dessous, criblés de points translucides (figure 9).

Au sein des feuilles s'élève l'inflorescence constituée d'un épi cylindrique atteignant 20 cm de long. Celui-ci est formé de bractées imbriquées vert foncé et stériles, à l'aisselle desquelles naissent les fleurs blanches ou jaunâtres, une pour chaque bractée.

Seules les bractées sommitales, roses, sont de plus bel effet (figure 10) (BOULLARD, 2001)

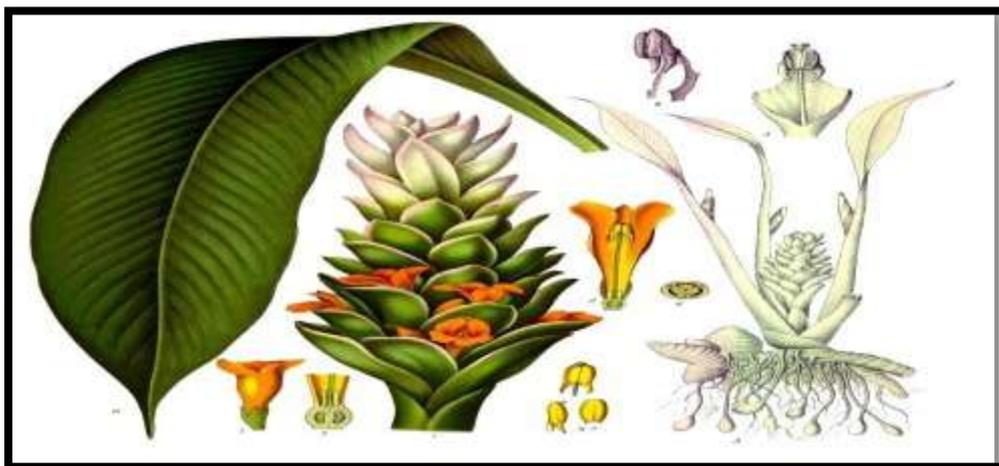


**Figure 10** : Dessin d'un artiste Indien, représentant l'inflorescence [Site 10].

Les fleurs possèdent :

- un calice tubulaire, court, présentant 3 dents inégales
- une corolle tubulaire à sa base, puis divisée en 3 lobes jaunes inégaux
- des étamines dont une seule fertile, bifide, l'anthere présentant un large éperon courbé à la base.
- un ovaire infère, triloculaire, surmonté d'un style terminé par un stigmate simple et en crochet.

Le fruit, rarement produit, est une capsule à trois loges, contenant de nombreuses graines arillées (figure 11) (JANSEN *et al.*, 2005) .



**Figure 11** : *Curcuma longa*, Linné [Site 11].

### 5. Composition chimique

Pour 100 g de partie comestible, la poudre de curcuma contient approximativement :

**Tableau 1** : les composants chimiques du curcuma (**Jalilian et al., 2009**).

Composant	Quantités
<b>Eau</b>	11,4 g
<b>Energie</b>	1481 kJ (354 kcal).
<b>Protéines</b>	7,8 g
<b>Lipides</b>	9,9 g
<b>Glucides</b>	64,9
<b>Dont Amidon</b>	45 à 55% de la composition totale
<b>Fibres alimentaires</b>	21,1 g
<b>Ca</b>	183 mg
<b>Mg</b>	193 mg
<b>P</b>	268 mg
<b>Fe</b>	41,4 mg
<b>Zn</b>	4,4 mg
<b>Vitamine</b>	A traces
<b>Thiamine</b>	0,15 mg
<b>Riboflavine</b>	0,23 mg
<b>Niacine</b>	5,14 mg
<b>Folate</b>	39 µg
<b>Acide ascorbique</b>	25,9 mg

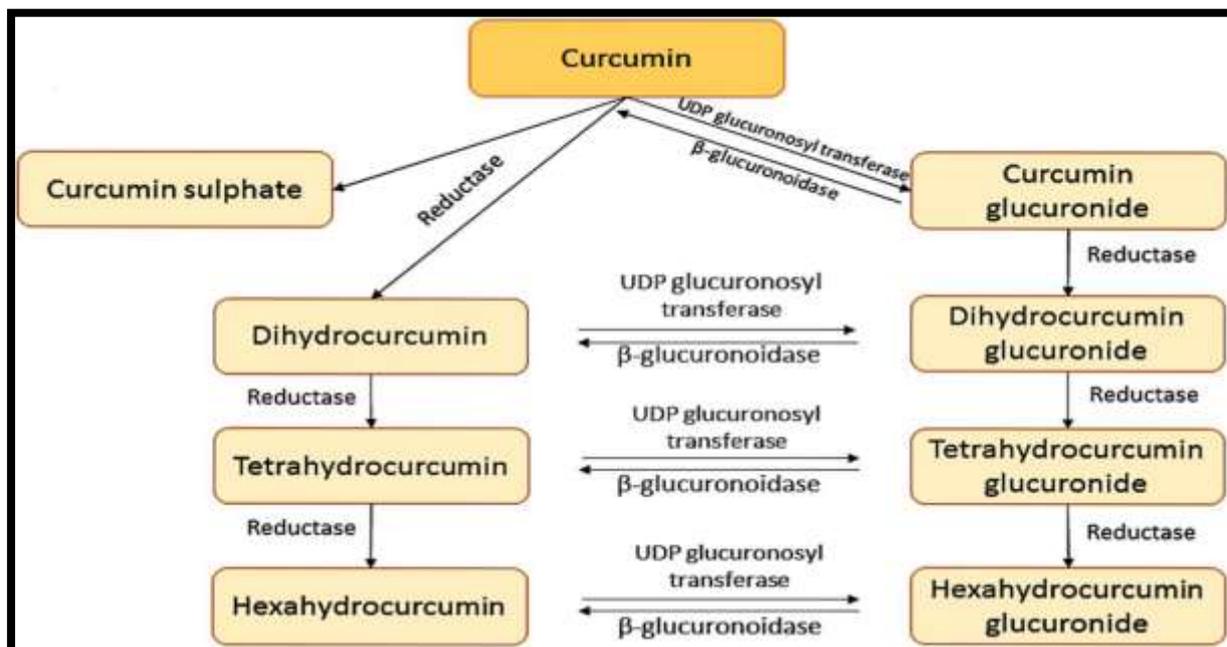
Par distillation à la vapeur d'eau, les rhizomes produisent 2 à 7% d'huile essentielle, qui est rouge orangé et légèrement fluorescente. Ses constituants principaux sont un sesquiterpène, le zingibérène (25%) et ses dérivés cétoniques : la turmérone (35%) et l'ar-turmérone (déhydroturmérone) (12%) L'huile essentielle de curcuma se compose également en petites quantités de monoterpènes oxygénés, associés à de petites quantités de sesquiterpènes hydrocarbonés et de monoterpènes hydrocarbonés. La contribution relative de chaque composant à l'arôme et à la flaveur est mal connue. L'arôme de l'huile essentielle distillée à la vapeur est différent de celui de l'épice, ce qui serait dû, pense-t-on, à la formation d'artefacts lors de la distillation (**Jalilian et al., 2009**).

### 6. Pharmacocinétique et métabolisme

La curcumine est très mal absorbée et est éliminée en grande partie dans les fèces, pour 1/3 sous forme inchangée. Administrée par voie intraveineuse ou intrapéritonéale, son élimination dans la bile sous forme native et de dérivé glucuroconjugué est rapide; puis elle suit un cycle entérohépatique. La curcumine a donc une faible biodisponibilité avec une absorption très limitée et un fort effet de premier passage hépatique et intestinal.

Néanmoins, il a été montré que la pipérine, un alcaloïde naturel du poivre, permet de multiplier par 20 l'absorption de la curcumine en inhibant les processus de métabolisation (Glucuronidation) et d'élimination cellulaire (**Bernard, et al., 2005**).

Il existe peu de données concernant la pharmacocinétique de la curcumine chez l'homme: dans un essai de phase 1, utilisant un mélange de curcuminoïdes par voie orale chez des patients atteints de cancer colorectaux, une dose de 3,6 g est nécessaire pour permettre une augmentation des concentrations plasmatiques de la curcumine et de ses métabolites conjugués sulfatés et glucuronidés (Figure 12) suffisante pour être détectable dans le sérum. Pour des doses beaucoup plus faibles, on retrouve déjà la curcumine et ses dérivés dans l'urine, ce qui permet une surveillance simple et reproductible de la conformité des patients au « traitement ». Le pic des concentrations sériques apparaît au bout de 1 à 2 heures après administration orale puis celles-ci diminuent progressivement dans les 12 heures qui suivent (**Bernard, et al., 2005**).



**Figure 12:** Les principaux métabolites de la curcumine (**Moran, et al., 2016**).

Les biotransformations de la curcumine sont présentées dans la figure 12. La transformation dans l'intestin et le foie peuvent conduire à générer des glucuronides curcumine et les sulfates de curcumine ou, alternativement, des molécules réduites comme hétérahydrocurcumine. La curcumine subit une biotransformation lors de l'absorption intestinale à glucuronides de tétrahydrocurcumine et hétérahydrocurcumine. La curcumine dans le foie est d'abord transformé en dihydrocurcumine et tétrahydrocurcumine par les réductases et ils sont ensuite transformés en conjugués comme le monoglucuronide dihydrocurcumine-glucuronide et de la tétrahydrocurcumine-glucuronide par  $\beta$ -glucuronidase (Moran, et al., 2016).

### **7.Mécanismes d'action de curcuma:**

#### **7.1. Effets antioxydants**

L'eau et les huiles et les graisses qui sont extraits de Curcumine ces composants présentent une forte activité antioxydant, Comparable aux vitamines C et vitamines E, Une étude de l'ischémie indique que ce Le curcuma aide à abaisser le taux de cholestérol dans le sang, tout en augmentant sa fluidité. Une étude dans les labos (AGGARVAL et al., 2004).

Une étude de l'ischémie chez le cœur félin a démontré que la curcumine. Le prétraitement a diminué les changements induits par l'ischémie dans le cœur. Une étude pour le but de connaître les effets de la curcumine dans endothélial hème oxygénase. Une inductible Protéine de stress, a été réalisée à l'aide de cellules endothéliales aortiques bovines. Incubation (18 heures) avec la curcumine a entraîné une résistance cellulaire améliorée à l'oxydation dommage (AGGARVAL et al., 2004).

#### **7.2. Effets anti-inflammatoires**

Les huiles volatiles et la curcumine de Curcuma Longa présentent une puissance aux effets anti-inflammatoires. Aussi la curcumine présente une solution pour les cas d'inflammation aiguë ont été jugés aussi efficaces que la cortisone ou la phénylbutazone et la moitié aussi efficace dans les cas d'inflammation chronique. Chez les rats, Freund adjuvant trouve qu'elle est efficace pour l'arthrite. La Curcuma longa Diminue significativement l'enflure inflammatoire par rapport aux contrôles. Chez les singes, la curcumine est capable dans les cas de l'agrégation des neutrophiles associée à une inflammation. Curcuma longa a des propriétés anti inflammatoires peuvent être attribuées à sa capacité d'inhibition. à la foie la biosynthèse des prostaglandines inflammatoires à partir de l'acide arachidonique et la fonction de neutrophile pendant les états inflammatoires. La curcumine peut également être

appliquée topiquement pour contrarier l'inflammation et l'irritation associées à une inflammation des maladies de la peau et l'allergie (AGGARVAL *et al.*, 2004).

### 8. Propriétés de curcuma

#### 8.1. Cytotoxicité et mort cellulaire de curcuma

Dans l'organisme, la curcumine induit les processus de cytotoxicité et d'apoptose. En effet, cette molécule a la propriété d'avoir un effet immunogène Médie par l'activation des macrophages et de cellules tueuses. La curcumine participe donc a l'immunité cellulaire. Par ailleurs, des expériences *in vitro* menées sur des lignées cellulaires colorectales malignes démontrent une inhibition du processus de prolifération des cellules cancéreuses et une Induction du mécanisme d'apoptose en présence de curcumine ( Jalilian *et al.*, 2009).

Des résultats similaires sont observés dans le rein, le foie et la protase [VI]. Ainsi, la curcumine possède la capacité d'induire la mort cellulaire dans certaines conditions physiologiques ( Jalilian *et al.*, 2009).

#### 8.2. Régulation de l'angiogénèse et du processus d'adhésion par curcuma

Des expériences menées *in vivo* chez la souris mettent en évidence une inhibition Du processus d'angiogénèse en présence de curcumine ( Sajem *et al.*, 2006).

Ce Phénomène biologique est un processus de croissance de nouveaux vaisseaux sanguins a partir de vaisseaux existants. D'un Point de vue moléculaire, la curcumine va affecter des facteurs de croissance activateurs comme le vasculaire endothélial groxth factor (VEGF), Les inhiber, freinant ainsi la croissance de nouveaux vaisseaux. Cette Molécule peut également réguler le processus d'adhésion cellulaire. La CMN affecte les protéines d'adhésion de type  $\beta$  catenine, E Catherine. Son action engendre une réduction de l'expression de ces protéines à la surface des cellules. Ses effets sur les processus d'apoptose, d'angiogénèse et d'adhésion cellulaire garantissent à la CMN des propriétés de lutte contre la carcinogénèse. L'action De la CMN contribue donc à ralentir activement l'établissement d'une tumeur maligne au sein d'un organisme ( Sajem *et al.*, 2006).

#### 8.3. Modulation de l'inflammation

La CMN est également reconnue pour ses propriétés anti-inflammatoires. Aigue ou chronique, l'inflammation est une réaction de défense de l'organisme face à une agression extérieure. Plusieurs agents peuvent en être responsables. Ainsi sont distingués les agents infectieux (comme les virus et bactéries), les agents physiques (la température, et les

irradiations par exemple) et les agents chimiques (tels l'acide chlorhydrique et les agents de détergence) (Wang et al.,2010).

Physiologiquement, cette réaction se traduit par quatre signes distincts : chaleur, rougeur, douleur et œdème. Ce processus, divisé en une phase vasculaire et une phase cellulaire, est donc indispensable au bon fonctionnement de l'organisme. Les cyclo-oxygénases 1 et 2 sont les enzymes clés, qui orchestrent et induisent ce processus. Leur action, lors de la phase vasculaire de l'inflammation, convertit l'acide arachidonique en prostaglandines et thromboxanes. Cependant, certaines conditions peuvent être responsables d'une surexpression de ces enzymes. Ce dérèglement peut créer un état physiologique d'activation permanent, propice au développement de cancers. La curcumine possède la capacité d'inhiber la transcription de ces deux enzymes et donc, les effets délétères de leur surexpression (Wang et al.,2010).

### 8.4. Vieillesse cellulaire et curcuma

Cette propriété du *Curcuma longa* est médiée par les fortes concentrations de curcuminoïdes et notamment de CMN qu'il contient. Cette fonction, qui va être décrite par la suite, s'avère être primordiale pour la protection de certains organes comme la peau. Mais avant de détailler précisément cette action, il est nécessaire de se concentrer sur la physiologie de la peau et de comprendre les mécanismes qui l'altèrent (Wang et al.,2010).

### 8.5. Propriétés anti-oxydantes

Donnent au curcuma de puissantes vertus préventives anti-cancers. En laboratoire, plusieurs études ont montré qu'en stimulant l'autodestruction des cellules cancéreuses (apoptose), le curcuma inhibe la progression tumorale dans l'organisme. La curcumine pourrait donc prévenir plusieurs types de cancers (poumon, côlon, estomac, foie, peau, sein, testicules, ovaires, œsophages, lymphomes et leucémie). Elle pourrait protéger également la muqueuse de l'estomac contre la bactérie *Helicobacter pylori*, responsable du cancer de l'estomac et accélérer la guérison des ulcères gastro-intestinaux. On constate d'ailleurs que dans les pays où la consommation du curcuma est quotidienne, les cancers sont moins fréquents que dans les pays occidentaux (Roger, 2014).

### 9. Toxicité

Aucun effet toxique majeur n'a été répertorié avec des doses orales allant jusqu'à 8 g/jour, à part quelques troubles gastro-intestinaux du type diarrhées et nausées, s'amendant spontanément sans interruption du traitement. Enfin quelques rares cas de dermatite allergique de contact ont été répertoriés (**Bernard, et al., 2005**).

### 10. Utilisation de curcuma

#### 10.1. Usages courants

Curcuma longa est cultivé pour ses rhizomes, d'abord comme colorant, ensuite comme épice pour la cuisine.

En Afrique de l'Ouest, il est surtout utilisé pour teindre en jaune d'or des produits tels que le cuir tanné, les tissus en coton, le fil et les fibres de palme. Ses rhizomes servent aussi de produits de beauté pour le corps et le visage en Afrique et en Asie (**Bernard, et al., 2005**).

Ils sont un article de bon augure dans tous les rites religieux domestiques des hindous, et ont de nombreux usages dans la vie courante pour ce qui a trait à la naissance, au mariage et à la mort, ainsi qu'en agriculture (**Bernard, et al., 2005**).

En Occident, les rhizomes de curcuma réduits en poudre sont employés dans l'industrie alimentaire, notamment en tant que colorant dans les aliments transformés et les sauces. Il sert également de colorant dans les produits pharmaceutiques, la confiserie et la teinture textile (**Bernard, et al., 2005**).

Les rhizomes entrent dans la fabrication de médicaments traditionnels employés comme stomachiques, stimulants et purificateurs sanguins, ainsi que pour soigner les douleurs au foie, les affections hépatiques et la jaunisse. Mélangés à du lait chaud, ils servent à guérir le rhume du cerveau, la bronchite et l'asthme. Le jus extrait du rhizome frais permet de traiter de nombreuses infections cutanées, tandis que la décoction est efficace contre les infections oculaires.

A Madagascar, on mélange de la poudre de curcuma aux récoltes de grains pour les mettre à l'abri des ravageurs de greniers (**Bernard, et al., 2005**).

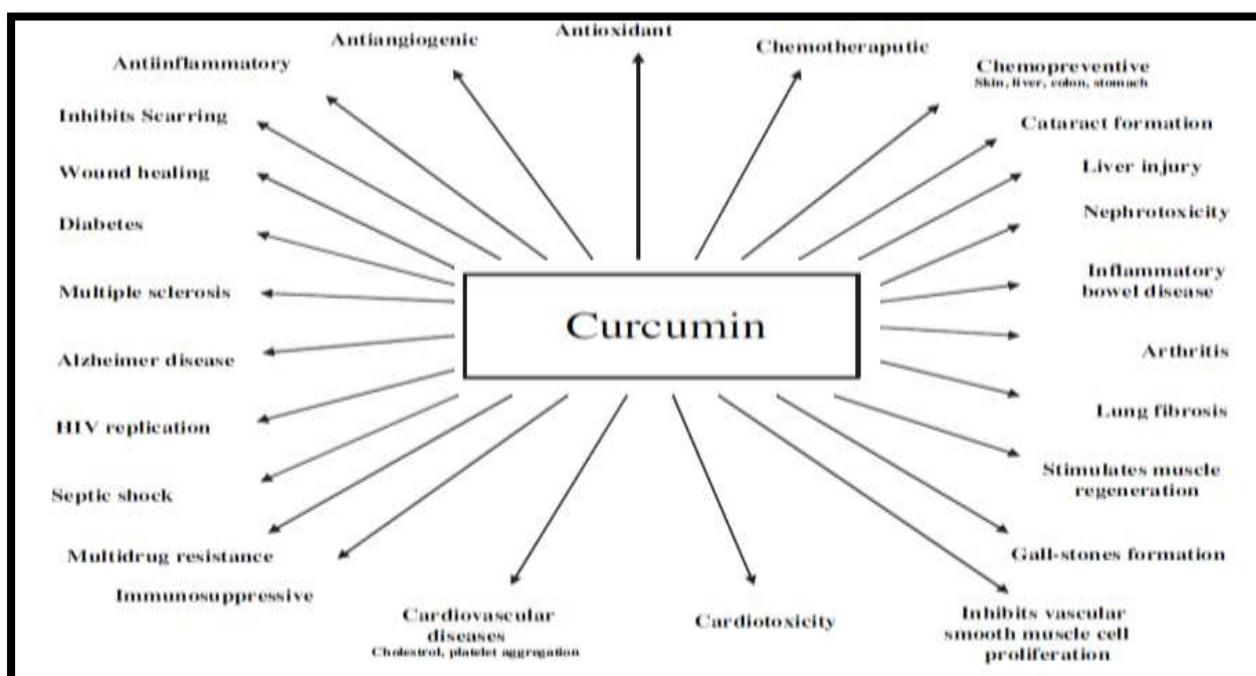
### 10.2. Médecine traditionnelle orientale

Le curcuma et ses curcuminoïdes ont fait l'objet de préparations thérapeutiques à travers les siècles dans différentes parties du monde. En médecine ayurvédique, la curcumine est un traitement efficace pour diverses affections respiratoires, par exemple l'asthme, l'allergie, ainsi que les désordres hépatiques, l'anorexie, les rhumatismes, les rhumes, les sinusites (ARAUJO, *et al.*, 2001).

Par exemple, dans la tribu Jaintia au Nord-Est de l'Inde, des pilules fabriquées à partir de rhizome écrasé sont prises avant les repas pour contrecarrer la dyspepsie (SAJEM, *et al.*, 2006).

En médecine traditionnelle chinoise, le curcuma est utilisé pour traiter les maladies associées aux douleurs abdominales (AGGARVAL *et al.*, 2004).

Dans l'ancienne médecine hindoue, il était utilisé pour traiter les entorses et les enflures (ARAUJO, *et al.*, 2001). A travers l'Orient, il est utilisé comme anti-inflammatoire (AGGARVAL *et al.*, 2003).



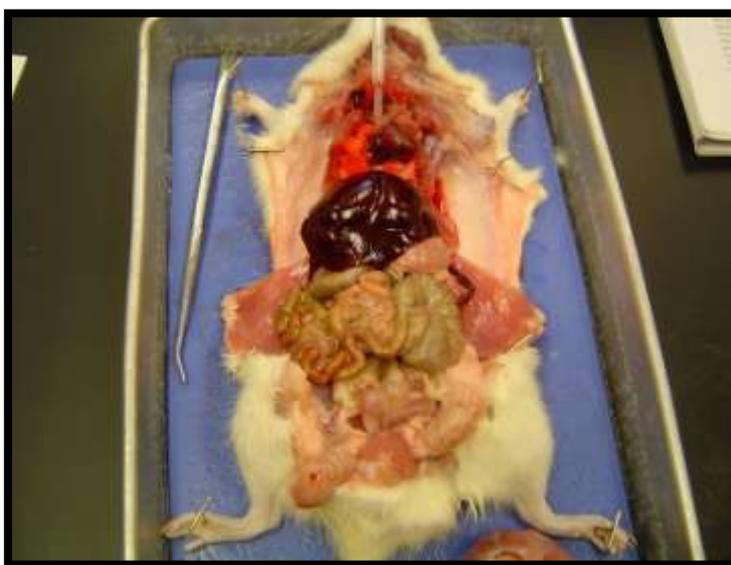
**FIGURE 13:** Medicinal properties of curcumin (Site 12).

## ***Chapitre III : RATS ET POUMON***

### I RAT

#### 1. Généralité

On appelle rat de laboratoire des souches ou lignées de rats sélectionnées et élevés et reproduits pour les besoins de l'expérimentation animale en laboratoires, ou parfois pour les leçons d'anatomie et de dissection.(figure 14) (George,2000).



**Figure 14 :** Dissection d'un rat présentant ses principaux organes (George, 2000).

Le rat Wistar est un rat albinos non consanguin. Cette race a été développée à l'Institut Wistar en 1906 pour la recherche biologique et médicale, Plus de la moitié de toutes les souches de rats de laboratoire descendent de la colonie originale établie par le physiologiste Henry Donaldson, l'administrateur scientifique Milton J. Greenman, et la chercheuse en génétique / embryologiste Helen Dean King (Site 13).

En toxicologie et en pharmaco toxicologie, le Rat Wistar est devenu une espèce de choix en raison des similarités métaboliques avec l'espèce humaine. Le rat wistar est un Omnivore Opportuniste qui se caractérise par sa tête large, ses longues oreilles et sa longueur de queue toujours inférieure à la longueur de son corps (35 à 50 cm avec la queue, longueur de la queue de 17 à 23 cm) (Site 16), et d'un poids de 150g à 500g avec une moyenne autour de 300g pour les femelles, et 250 à 500g, avec une moyenne de 450g à 500g pour les males (Site 14), sa nature relativement docile, sa faible longévité (2 – 3 ans), et sa courte période de gestation (21 à 23 jours) (Descat , 2002).



**Figure 15 : rat wistar (George, 2000).**

### **2. Classification**

- L'embranchement : Vertébrés
- Classe : Mammifères
- Ordre : Rongeurs
- Sous- ordre : Myomorphes
- Famille : Muridés
- Sous famille : Muridés.

On distingue quatre grandes variétés de souches : les souches consanguines (in bred), les souches non consanguines (out bred), les hybrides de première génération et les souches mutantes. Il existe au total plus de 1400 souches et sous-couches répertoriées et utilisées en recherche biomédicale (Descat , 2002).

### **3. Utilisation en recherche**

Après la souris d'expérimentation, le rat est le mammifère d'expérimentation le plus utilisé comptant pour à peu près 20 % du nombre total de mammifères utilisés en recherche (FESTING, 1979).

Depuis les quatre-vingts dernières années, le rat a été utilisé dans presque tous les aspects de la recherche biomédicale et comportementale et de la toxicologie. Les mutations génétiques et la sélection ont produit de nombreux modèles de recherche extrêmement valables dont nous donnerons des exemples à l'item 3. Sélection. Une publication récente sur les applications en recherche biomédicale donne une liste de domaines de recherche dans lesquels le rat est largement utilisé et particulièrement utile: toxicologie, tératologie, oncologie expérimentale, gérontologie expérimentale, recherche cardiovasculaire,

immunologie, recherche dentaire, immunogénétique et parasitologie expérimentale (**BAKER, et al., 1980**).

### II .POUMON

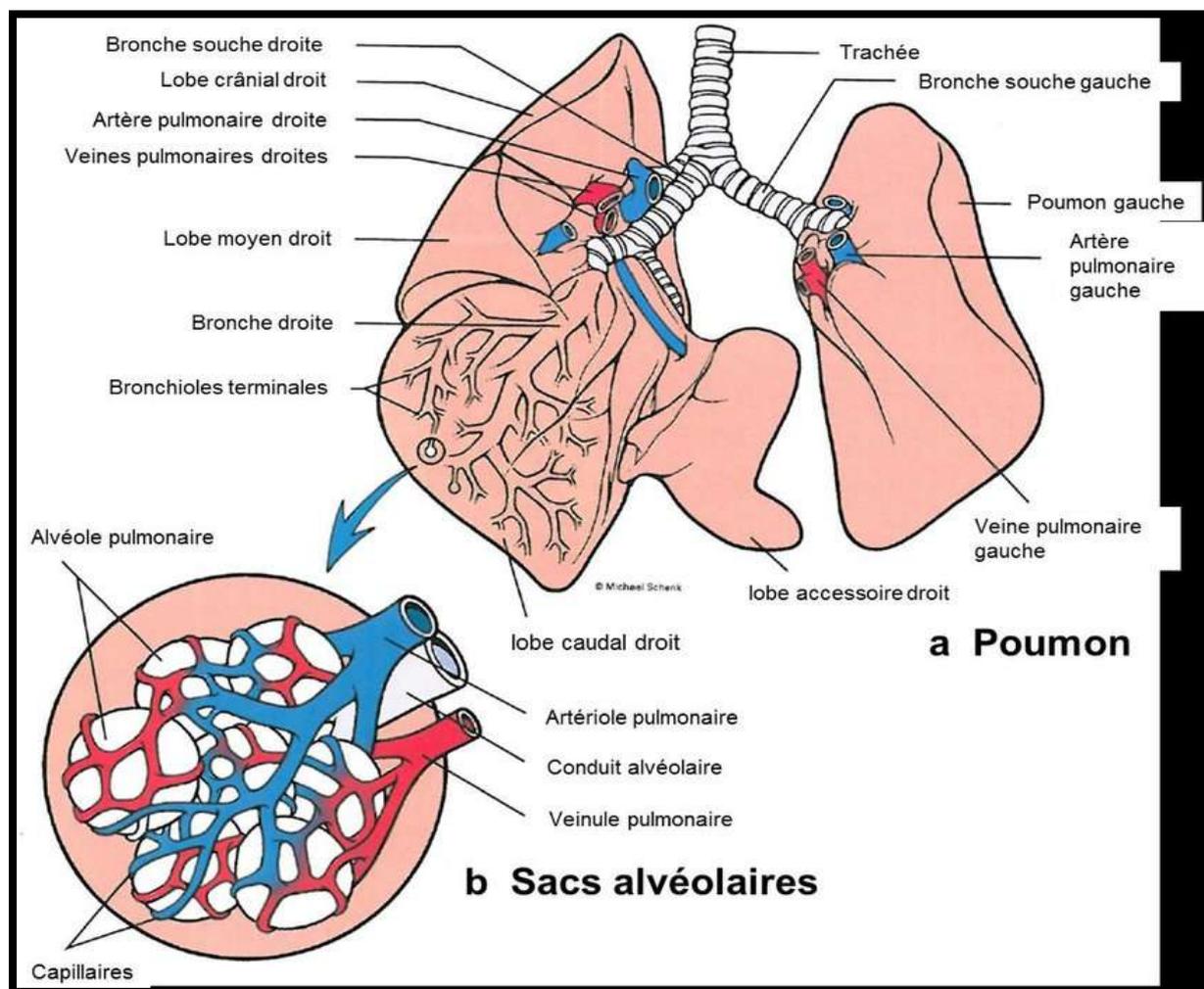
#### 1. Définition

Les poumons sont les organes de la respiration. Ils sont contenus dans le thorax, jouant un rôle fondamental dans la respiration en permettant les échanges gazeux. Elles fournissent l'oxygène à l'ensemble de l'organisme et permettent l'élimination du gaz carbonique contenu dans le sang (**Site18**), L'oxygène est nécessaire au métabolisme de l'organisme, et le dioxyde de carbone doit être évacué (**Site 16**).

Les poumons sont deux, un droit et un gauche; ils sont formés de lobes, deux pour le gauche, trois pour le droit. On distingue deux parties dans les poumons: les bronches qui forment un réseau de tubes qui se divisent en ramifications de plus en plus petites pour se terminer par les alvéoles pulmonaires, dont la paroi est très fine, de l'ordre de 0.1 à 0.3  $\mu\text{m}$ , lieu des échanges gazeux (**Site 17**).

Ils sont entourés de la plèvre, formée de deux feuillets, qui assurent la liberté de variation de volume lors des mouvements inspiratoires et expiratoires. Un des feuillets adhère au poumon, c'est la plèvre viscérale, l'autre à la paroi thoracique, c'est la plèvre pariétale. Entre les deux feuillets existe un espace de glissement virtuel, l'espace pleural (**Site 17**).

Le poumon fait partie de l'appareil respiratoire qui comprend en outre les voies aériennes, les vaisseaux pulmonaires et les muscles respiratoires (**Site 18**) ils jouent également le rôle de défenseur du corps contre les substances nuisibles présentes dans l'air, comme la fumée, la pollution, les bactéries et les virus. Ces substances peuvent passer par le nez et être emprisonnées dans les poumons (**Site 16**).



**Figure 16:** poumons du rat (Site 15).

Le transport de l'O<sub>2</sub> est du CO<sub>2</sub> dépendant de 4 processus distincts :

- La ventilation pulmonaire (mouvement des gazes dans et hors des poumons).
- La diffusion alvéolo-capillaire
- Le transport de l'O<sub>2</sub> est du CO<sub>2</sub> par le sang.
- Le passage des gazes des capillaires vers les tissus (respiration cellulaire) (Site 17).

### 2. Fonction

L'appareil respiratoire assure trois fonctions essentiellement :

- l'hématose
- la défense contre les agents pathogènes inhalés, infectieux ou toxiques

- plusieurs fonctions métaboliques, dont la synthèse du surfactant pulmonaire et une partie de l'équilibre acido-basique (**Site 18**).

### 2.1.Défense

L'arbre bronchique est en rapport permanent avec l'air atmosphérique et les agents pathogènes aéroportés, infectieux, organiques, toxiques.

Au niveau des voies aériennes supérieures, les fosses nasales retiennent les grosses particules.

Au niveau de la trachée et des bronches, la muqueuse bronchique contient deux types de cellules, des cellules qui fabriquent le mucus qui va piéger les agents extérieurs et des cellules qui possèdent des cils vibratiles qui vont faire progresser ce «tapis muqueux» vers l'extérieur, aboutissant au rejet ou à la déglutition de l'ensemble (**Site 19**).

Au niveau des alvéoles, le rôle de défense est assuré par des cellules du système immunitaire, les macrophages, qui vont phagocyter les particules et être éliminés par le tapis mucociliaire.

Il existe aussi d'autres cellules immunitaires, qui vont fabriquer des anticorps, dès lors qu'elles vont être en contact avec des agents extérieurs et assurer le capital de défense de l'organisme (**Site 19**).

### 2.2.Rôle métabolique

Les poumons, en éliminant le gaz carbonique, vont jouer un rôle dans le contrôle du pH sanguin, c'est à dire l'équilibre acido-basique de l'organisme. Toute perturbation de la fonction respiratoire va avoir des conséquences sur le pH sanguin, et inversement, une perturbation du pH d'ordre métabolique, comme dans le diabète, entraînera des modifications de la fréquence respiratoire pour augmenter ou diminuer l'élimination du gaz carbonique (**Site 20**).

## 3. Pneumotoxicité

- Les poumons, ces organes spongieux, volumineux et conique, jouent un rôle vital puisqu'ils sont chargés de l'apport en oxygène dans l'organisme.

- Peuvent être sujet à l'action de certains toxiques soit par inhalation ou par voie systémique (**Site 16**).

### **Définition de pneumotoxicité**

- Ensemble des altérations fonctionnelles et structurelles du système respiratoire, induites directement ou indirectement par un Xénobiotique, quelle que soit la voie de pénétration.
- Peut être aigue ou chronique ; réversible ou irréversible (**Site 16**).

*Partie*  
*Pratique*

### 1. Matériel

#### 1.1. Produits chimique

Dans ce travail, nous avons utilisé d'une part les nanoparticules à base dioxyde de titane  $TiO_2$  pour le traitement des rats sous forme solution à une dose de 10mg/kg/jour pour le traitement des rat, et d'autre parts le curcumine (diferylol-méthane) en solution aqueuse à une dose 0.2g/Kg/jour.

#### \*Préparation de la solution aqueuse de curcumine

Pour la préparation de l'extrait de curcumine nous avons met 10g de curcumine en poudre de la marque locale avec 100ml eau distillé dans le bain marie 60°C pendant 2 heure puis filtré par les papiers filtre. L'extrait va diluer (1:10) et administrer aux rats par voie orale (**Asadi.et al., 2014**).

#### 1.2. Matériel biologique

Les expérimentations ont été effectuées au niveau de laboratoire de l'université L'Arbi Tébéssi de Tébéssa sur 20 rats blancs de la souche Wistar, Les rats utilisés sont des rats Wistar âgés de 09 semaines et ayant un poids corporel entre 90 et 200 g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans les recherches scientifiques.

#### \*Les animaux de laboratoire

La présente étude a été réalisée sur des rats mâles *Rattus rattus* de la souche Wistar au nombre de 20 rats, provenant de l'institut Pasteur d'Alger, âgés de 09 semaines pesant environ 90-200g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs largement utilisés dans divers domaines de la recherche expérimentale.



**Figure17:** rat de laboratoire.

### 1.3. Entretien des animaux

Les rats ont été répartis en cinq (05) lots à raison de cinq(05) rats par lot. Ils ont été soumis à une période d'adaptation de 28 jours dans l'animalerie de département de biologie, Faculté des Sciences, Université de Tébessa. La température ambiante est de  $23\pm 2^{\circ}\text{C}$  et une photopériode naturelle 12/12H avec une hygrométrie de 60 %. Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène (05 rats pour chaque cage) qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages sont nettoyées et la litière est changée une fois par deux jours jusqu'à la fin de l'expérimentation.

## 2. Méthode

### 2.1 Lotissement et traitement

Notre expérience est divisée en 4 lots les suivants

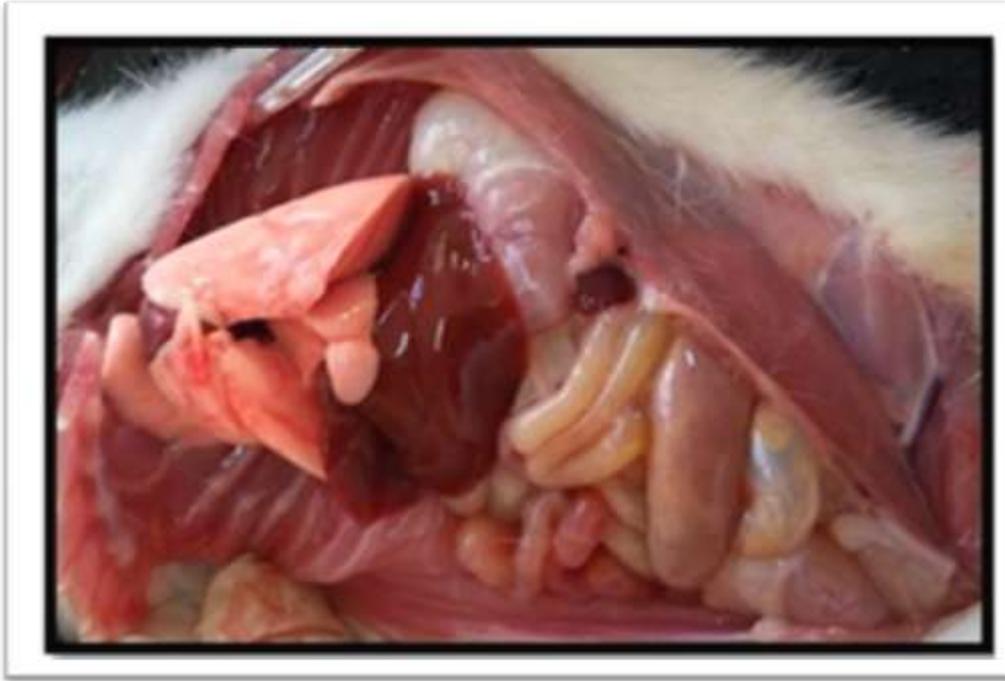
- Lots n°1 : contient 5 rats comme témoin ne subit aucun traitement
- Lots 2 : contient 5 rats traités par  $\text{TiO}_2$  en raison de 10 mg/Kg/pc par voie orale
- Lots 3 : contient 5 rats traités par le diferylol-méthane en raison 20 ml/Kg par voie orale
- Lots 4 : contient 5 rats traités par la mixture de  $\text{TiO}_2$  et le diferylol-méthane (10 mg/Kg et 20 ml/Kg) par voie orale.

### 2.2. Mesure du poids

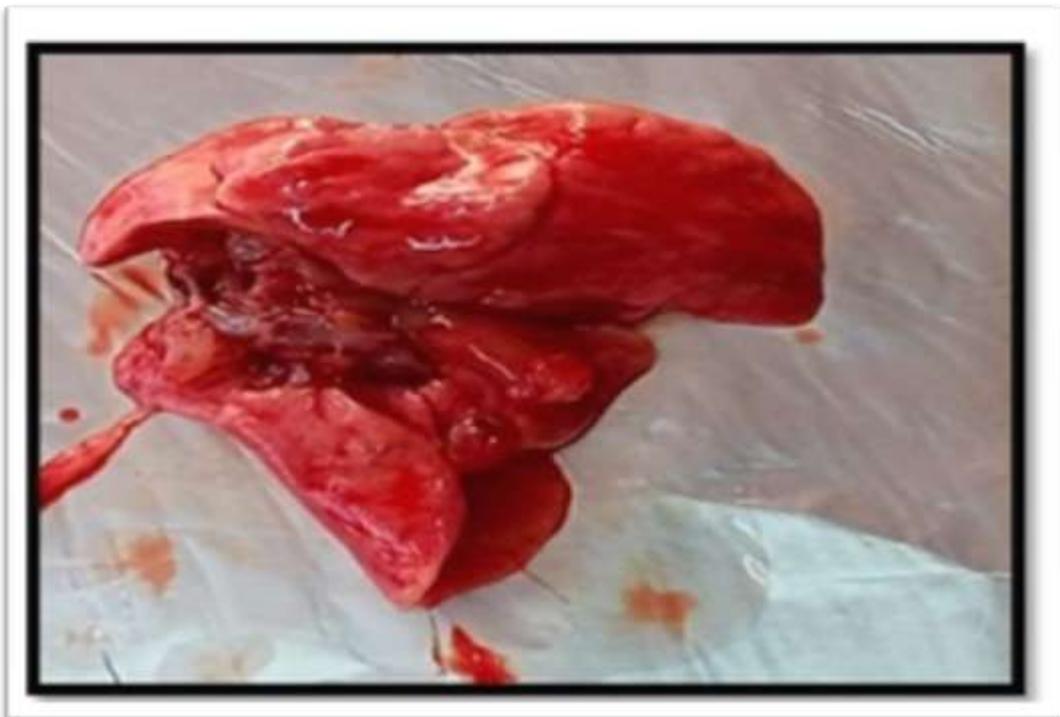
La mesure de poids est effectuée sur les rats tous les jours d'une façon régulière pendant la durée d'élevage, soit au cours d'adaptation ou traitement à l'aide de balance électronique.

### 2.3. Sacrifice et prélèvement des poumons

A la fin de la période d'administration des xénobiotiques ( $\text{TiO}_2$  et CURCUME) de 28 jours, les animaux sont sacrifiés par décapitation, les poumons ont été rapidement prélevés et rincés dans une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0,9% puis pesé et conservé pour les dosages des différents paramètres.



**Figure 18** : Rats sacrifiés



**Figure 19** : Poumons prélevés après sacrifice

### 2.4. Estimation du poids relatif du poumon

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

$$\text{PRP (g/100g de PT)} = \text{PP/PT} \times 100$$

**PP** : poids des poumons (g). **PT** : poids total de rat (g). **PRp** : poids relatif des poumons (g)

### 2.5. Méthodes de dosages des paramètres biochimiques

#### 2.5.1. Extraction et dosage des métabolites

L'extraction et le dosage des glucides, lipides et protéines ont été réalisés selon le procédé de (Shibko *et al.*, 1966). Les échantillons témoins et traités sont broyés à l'aide d'un broyeur magnétique dans l'acide trichloracétique (TCA) à 20% (200 mg d'organe 1ml de TCA). Après une première centrifugation (5000 tours/mn, pendant 10mn), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides. Au culot I, on ajoute 1 ml du mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 tours/mn, pendant 10mn), on obtient le surnageant II et le culot II. Le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides et le culot II, dissout dans le NaOH (0,1N), servira au dosage des protéines.

#### 2.5.2. Evaluation des paramètres biochimiques

##### 2.5.2.1. Dosage des glucides

Le dosage des glucides est réalisé selon la méthode de (Duchateau *et al.*, 1959).

Cette méthode utilise l'anthrone comme réactif (150 mg d'anthrone, 75 ml d'acide sulfurique et 25ml d'eau distillée) et une solution mère de glucose (1g/l) comme standard, la méthode consiste à:

- Additionner à une fraction aliquote de 100 µl de surnageant des différents échantillons, 4 ml de réactif d'anthrone;
- Chauffer le mélange dans un bain marie (80°C pendant 10 min) une coloration verte se développe;
- L'intensité de la coloration mesurée à une longueur d'onde de 620 nm.

### 2.5.2.2. Dosage des lipides

Le taux de lipides est déterminé selon la méthode de (**Goldsworthy et al. 1972**). Cette méthode utilise la vanilline comme réactif (0,38g de vanilline, 195ml d'acide orthophosphorique à 85% et 55 ml d'eau distillée) et une solution mère de lipides (2,5mg/ml) comme standard. Et additionné 1 ml d'acide sulfurique (98%), après agitation, les tubes sont chauffés un bain marie (100°C pendant 10 min); de chaque tube 200 µl sont ensuite prélevés et il est ajouté 2,5 ml de réactif.

Les absorbances ont été lues après 30 min d'obscurité à une longueur d'onde de 530 nm.

### 2.5.2.3. Dosage des protéines

Les protéines sont quantifiées selon la méthode de (**Bradford, 1976**) qui utilise le bleu brillant de coomassie (BBC) comme réactif et (B.S.A) comme standard. La gamme d'étalonnage a été réalisée à partir d'une solution mère de B.S.A. (1 mg/ml) et le B.B.C (conservation environ 21 jours à 4°C) qui se prépare comme suit:

- 100 mg de BBC + 50 ml d'éthanol Agitation pendant deux heures;
- 100 ml d'acide orthophosphorique sont alors ajoutés et le tout est complété à 1000 ml avec de l'eau distillée;
- Le dosage des protéines a été effectué dans une fraction aliquote (100 ml);
- Les absorbances ont été lues à une longueur d'onde de 595 nm.

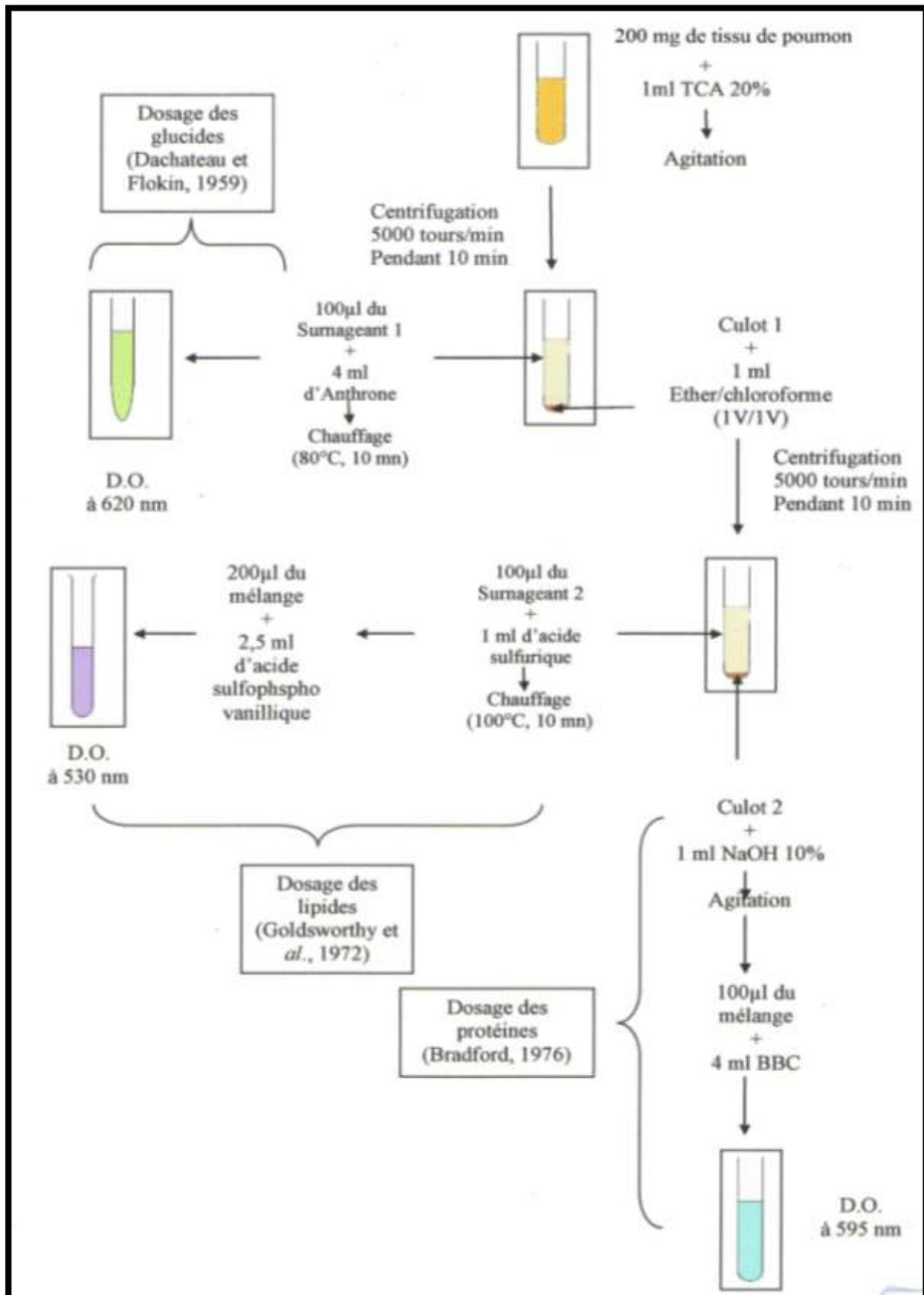


Figure 20: Extraction et dosage des glucides, lipides et protéines selon la méthode de (Shibko et al., 1967).

### 2.5.3. Evaluation des paramètres de stress oxydatif

#### 2.5.3.1. Dosage des biomarqueurs non enzymatiques

##### 2.5.3.1.1. Malondialdéhyde (MDA)

Les Malondialdéhyde (MDA) sont dosé selon la méthode de **(Buege and Aust, 1984)**. Cette méthode est basée sur la mesure colorimétrique de la réaction entre l'acide thiobarbiturique (TBA) et le malondialdéhyde (MDA) dans un milieu acide et chaud (100°C) en donnant un produit rouge brun dont l'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 530 nm.

- **Protocole expérimental**

- Préparer les homogénats à partir de 200mg d'organe avec tampon d'homogénéation TP (pH 7,4);
- Centrifuger à 3000 tours/min pendant 10 min;
- Prélever 375 µl de surnageant;
- Ajouter 150 µl de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4);
- Ajouter 375 µl de solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%);
- Agiter et centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min;
- Prélever 400 µl de surnageant;
- Ajouter 80 µl d'HCl 0.6 M;
- Ajouter 320 µl de solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120 mM);
- Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80°C pendant 10 min;
- Lire La densité optique à  $\lambda = 530$  nm.

L'absorbance est directement proportionnelle à la quantité de MDA formé, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés. La concentration du MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert (DO = E.C.L) :

$$[C] \text{ (nmol/mg protéine)} = \frac{DO \cdot 10^6}{\epsilon \cdot L \cdot X \cdot Fd}$$

- C : la concentration en nmole/mg de protéines.
- DO : densité optique lue à 530 nm.
- $\epsilon$  : Coefficient d'extinction molaire du MDA =  $1,56 \cdot 10^5$  M-/cm.U
- L : Longueur de la cuve utilisée (1cm).
- X : concentration de l'extrait en protéines (mg/ml)
- Fd : Facteur de dilution (Fd = 0.2083).

### 2.5.3.1.2. Dosage du glutathion (GSH)

- **Principe de la méthode**

Le principe de ce dosage repose sur la mesure de la densité optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman ou DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois préparé, l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique à 0,25% afin de protéger les groupements (-SH) du glutathion [Weeckbeker et al., 1988].

- **Protocole expérimental**

- Préparer les homogénats à partir de 1ml de culture avec tampon phosphate EDTA (0,02M);
- Prélever 0,8ml de l'homogénat auquel y ajouter 0,2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) 0,25%;
- Agiter le mélange et laisser pendant 15 min dans un bain de glace;
- Centrifuger à la vitesse de 1000tours/min pendant 5min;
- Prélever 0,5 de surnageant;
- Ajouter au mélange : 1ml de tampon Tris-EDTA (0,02M d'EDTA, pH 9,6), 0,025ml de DTNB et 0,5ml du surnageant;
- Laisser reposer pendant 5 minutes à température ambiante pour la stabilisation de la couleur. La réaction colorimétrique se développe instantanément;
- Mesurer les absorbances à 412 nm contre le blanc.
  - ❖ La concentration du glutathion est obtenue après application de la formule suivante :

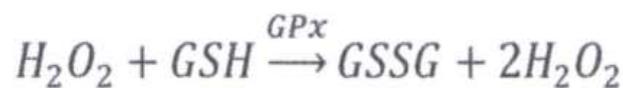
$$GSH \left[ M \frac{GSH}{mg} GSH/mg \text{ des protéines} \right] \frac{DO \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0,8 \times 0,5}$$

- DO : la densité optique.
- 1: Le volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,8 ml de l'homogénat + 0,2ml de l'acide salicylique).
- 1,525 : Le volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0,5ml surnageant + 1ml Tris-EDTA + 0,025ml DTNB).
- 13100 : Coefficient d'absorbance (concernant le groupement (-SH) à 412 nm).
- 0,8 : Le volume de l'homogénat.
- 0,5 : Le volume du surnageant trouvé dans un 1,25ml.

### 2.5.3.2. Dosage des biomarqueurs enzymatiques

#### 2.5.3.2.1. Dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de (Flohe et al., 1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en présence du glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de GPx selon la réaction suivante :



#### • Protocole expérimental

- Préparer les homogénats à partir de 200mg d'organe avec tampon d'homogénéation TP (pH 7,4);
- Centrifuger à 3000 tours/min pendant 10 min;
- Prélever 0.2 ml de surnageant;
- Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM);

- Ajouter 0.2 ml de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4);
- Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min;
- Ajouter 0.2 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1.3 mM) pour initier la réaction, laissé agir pendant 10 min;
- Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction;
- Mettre le mélange dans un bain de glace pendant 30 min;
- Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /min;
- Prélever 0.48ml de surnageant;
- Ajouter 2.2ml de solution tampon TBS;
- Ajouter 0.32ml de DTNB (1mM);
- Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.

La détermination de l'activité enzymatique de la GSH-Px se fait à l'aide de la formule suivante:

$$\text{GPx}(\mu\text{mol. mg de protéine}) = \frac{(\text{DOe} - \text{DOb}) \cdot 0,04}{\text{DOb}}$$

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

### 2.5.4. Analyses statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne de cinq répétitions (moyen ± écartype), et pour mieux visualiser en utilisant l'office Excel 2007 pour représentés ces résultats sous forme des graphiques et des histogrammes. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Minitab® 17.1. La signification de différence entre le lot témoin et les lots traités est vérifiée en utilisant le test de *Dunette* et le test de Tukey, et le résultat de comparaison comme suivant :

-  $p > 0,05$  = la différence n'est pas significative,

- (\*)  $0,05 > P > 0,01$  = la différence est significative,
- (\*\*)  $0,01 > P > 0,001$  = la différence est hautement significative,
- (\*\*\*)  $P < 0,001$  = la différence est très hautement significative.

## 1. Effet du TiO<sub>2</sub> et la diferylol-méthane sur les paramètres de la croissance globale des animaux

Les résultats de l'évaluation des paramètres de croissance en termes de poids corporel, et le poids relatif durant les 28 jours de traitement des différents groupes d'animaux, sont représentés dans les figures 21 et 22.

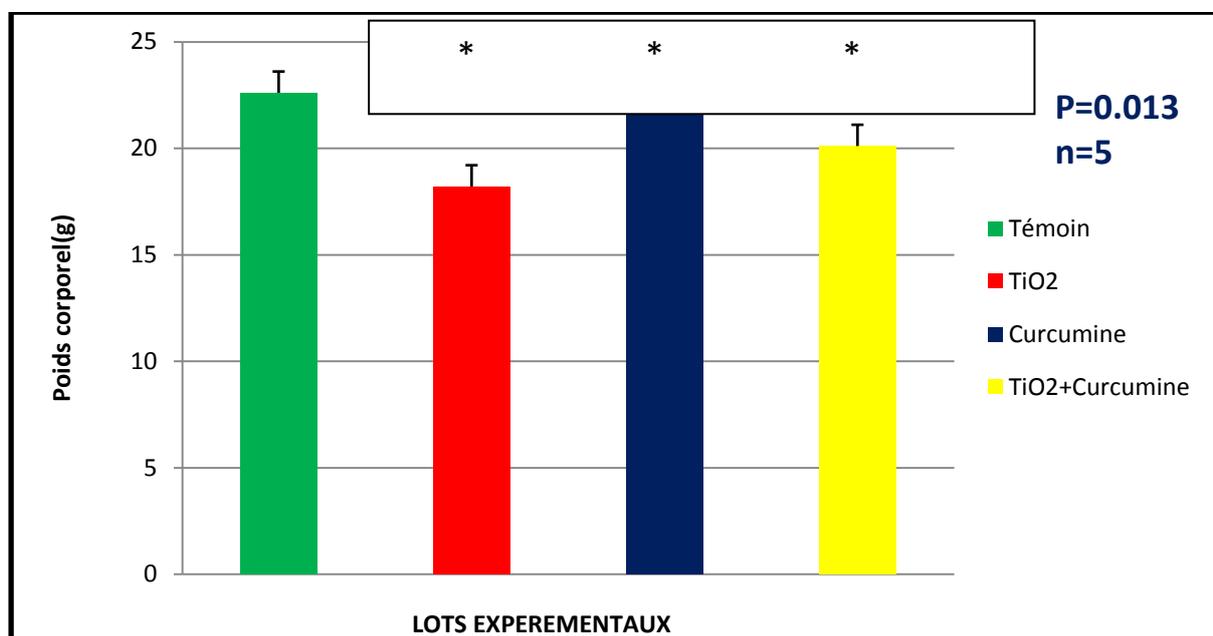
### 1.1. Poids corporel

Pour le suivi des changements des poids corporels chez les rats témoins et les rats traités. Nous remarquons d'après la figure 19 qu'il y a une différence significative ( $0.05 > P > 0.01$ ).

Nous observons une diminution illustrée dans le lot traité au TiO<sub>2</sub> et au lot traité au mixture (TiO<sub>2</sub>/Curcumine).

**Tableau 2** : Variation de poids corporel chez les différents groupes expérimentaux.

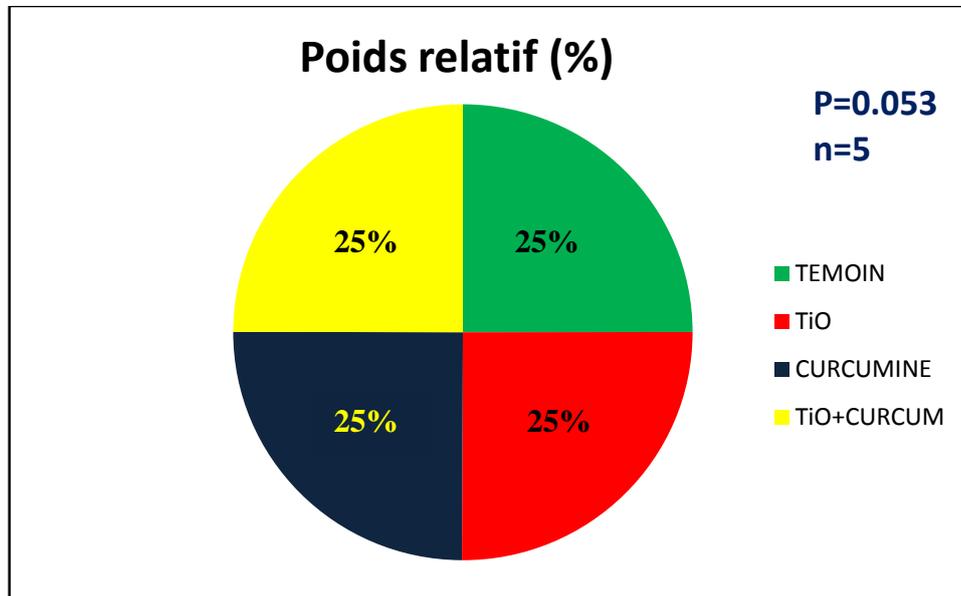
Groupes	Témoin	TiO <sub>2</sub>	Curcumine	TiO <sub>2</sub> +Curcumine
Poids corporel(g)	22,6±6,348	18,2±3,086 *	22,4±5,092 *	20.1±4,949 *



**Figure 21** : Changements des poids corporels chez les rats témoins, traités par TiO<sub>2</sub>, Curcumine, et traités par TiO<sub>2</sub>/Curcumine après 28 jours de traitement

### 1.2. Poids relatif du poumon (PRp)

Pour le suivi des changements des poids relatif du poumon des rats pendant la période du traitement. Nous remarquons d'après la figure 22, aucune différence entre le groupe témoin et tous les groupes traités (par  $\text{TiO}_2$ , Curcumine et  $\text{TiO}_2/\text{Curcumine}$ ).



**Figure 22 :** évaluation des poids relatif du poumon chez les rats témoins, traités par  $\text{TiO}_2$ , Curcumine, et traités par  $\text{TiO}_2/\text{Curcumine}$  après 28 jours de traitement

## 2. Effet du $\text{TiO}_2$ et la curcumine sur les paramètres biochimiques dans les poumons chez les rats

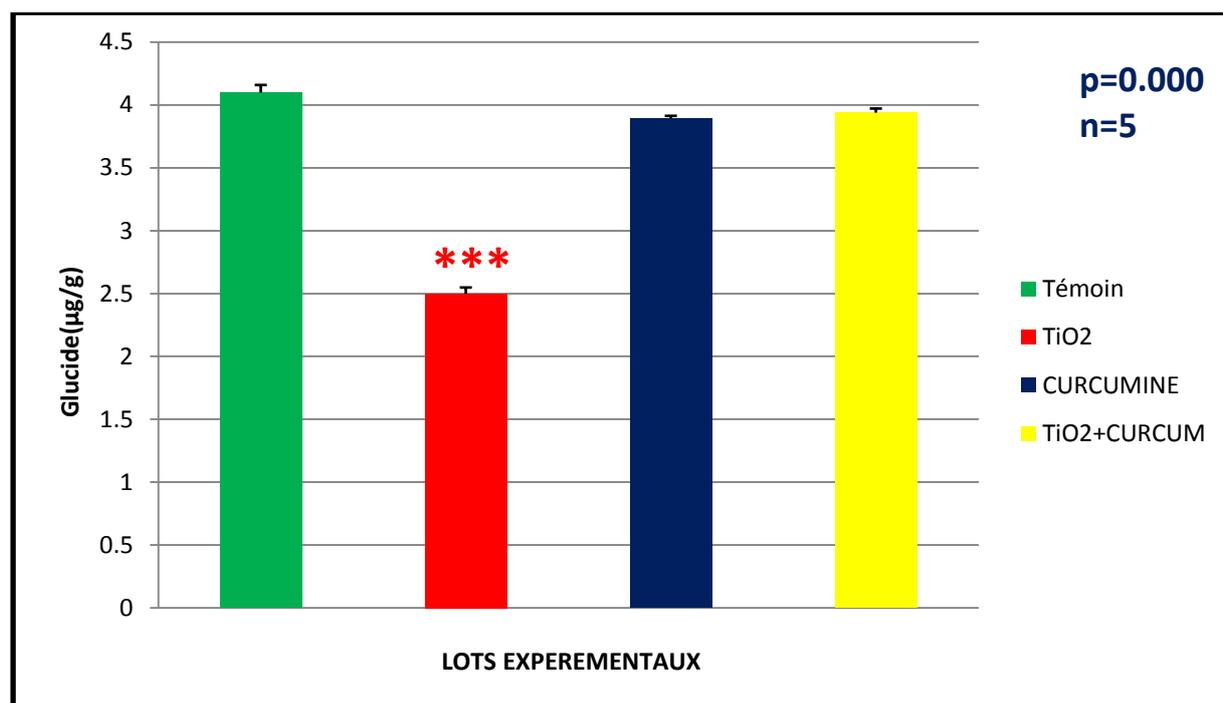
### 2.1. Effet sur le taux des glucides

La variation du/ taux des glucides dans les poumons chez les rats témoins et les rats traités sont représentées dans la figure 23 et le tableau 3.

Les résultats obtenus montrent une diminution de la teneur pulmonaire en glucide avec une différence très hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) chez les rats traités par [ $\text{TiO}_2$ ], cette diminution est neutralisée de façon très hautement significative après l'addition du curcumine par rapport au témoin

**Tableau 3** : Variation de taux des glucides pulmonaire chez les différents groupes expérimentaux.

Groupes	Témoin	TiO <sub>2</sub>	Curcumine	TiO <sub>2</sub> +Curcumine
Glucide (µg/g)	4,096±0,062	2,497±0,049 ***	3,892±0,02	3,938±0,033



**Figure 23** : Variation de la teneur pulmonaire en glucides chez les rats témoins, traités par TiO<sub>2</sub>, Curcumine, et traités par TiO<sub>2</sub>/Curcumine après 28 jours de traitement

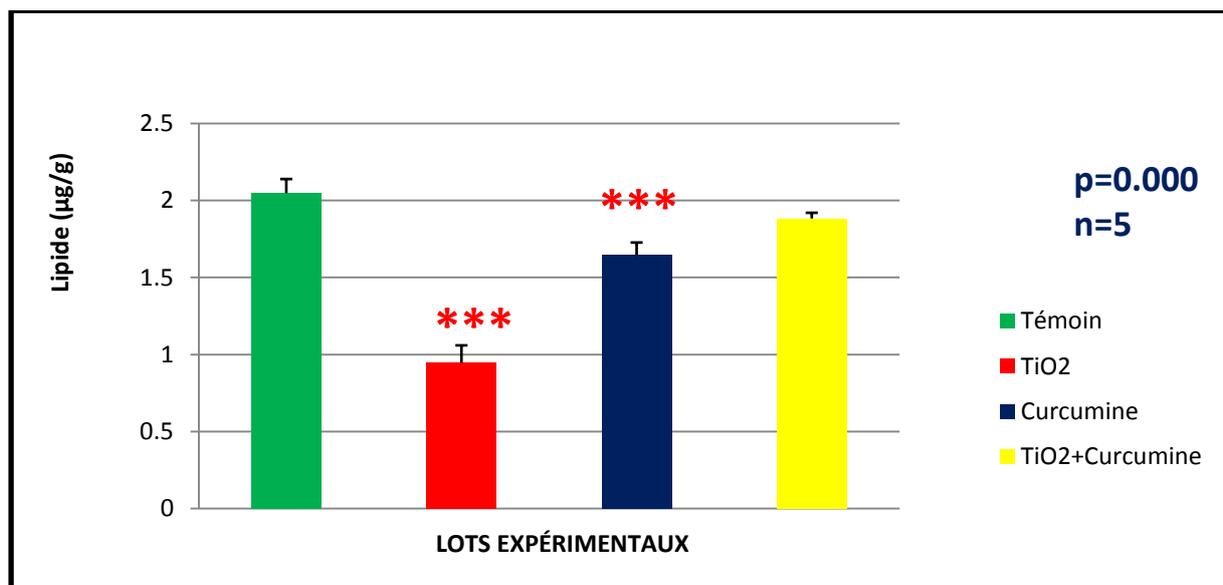
### 2.2. Effet sur le taux des lipides

Variation de la teneur pulmonaire en lipide chez les rats témoins, traités par TiO<sub>2</sub> et traités par curcumine / TiO<sub>2</sub> représenté dans le tableau 04 la figure 24.

Les résultats montrent une diminution de la teneur de lipide pulmonaire avec une différence très hautement significative chez les rats traité par [TiO<sub>2</sub>] et la curcumine cette diminution est neutralisée de façon très hautement significative après l'addition du curcumine par rapport au témoin.

**Tableau 4 :** Variation de taux des lipides pulmonaire chez les rats dans les différents groupes expérimentaux.

Groupes	Témoin	TiO <sub>2</sub>	Curcumine	TiO <sub>2</sub> +Curcumine
Lipides (µg/g)	2,047±0,091	0,945±0,113 ***	1,647±0,079 ***	1,883±0,036



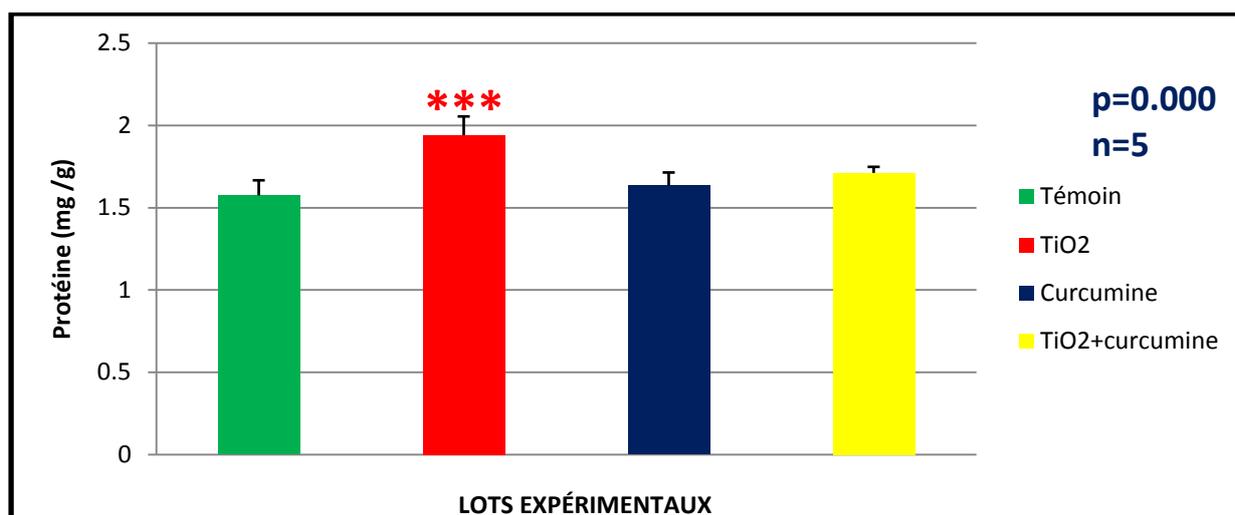
**Figure 24 :** Variation de la teneur pulmonaire en lipide chez les rats témoins, traités par TiO<sub>2</sub>, Curcumine, et traités par TiO<sub>2</sub>/Curcumine après 28 jours de traitement

### 2.3. Effet sur le taux des protéines

La présente étude sur l'effet de le dioxyde de titane et la curcumine montre une augmentation très hautement significative de taux des protéines chez le groupe traité par le dioxyde de titane, cette augmentation est neutralisée après l'addition de curcumine par rapport aux témoins (tableau 05, figure 25).

**Tableau 5 :** Variation des taux de protéine pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux.

Groupes	Témoin	TiO <sub>2</sub>	Curcumine	TiO <sub>2</sub> +Curcumine
Protéines (mg/g)	1,574±0,032	1,94±0,009 ***	1,634±0,088	1,71± 0,189



**Figure 25:** Variation des taux de protéine pulmonaire chez les rats témoins, traités par TiO<sub>2</sub>, Curcumine, et traités par TiO<sub>2</sub>/Curcumine après 28 jours de traitement

### 3. Effet du TiO<sub>2</sub> et la curcumine sur les paramètres de stress dans les poumons chez les rats

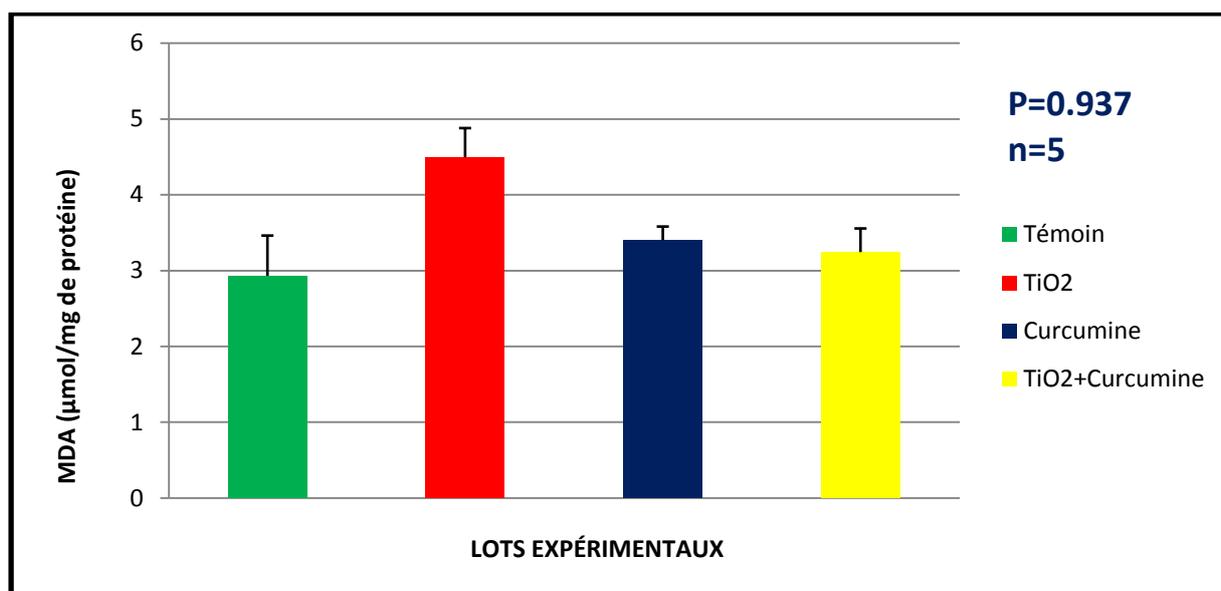
#### 3.1. Effet sur les paramètres non enzymatiques

##### 3.1.1. Effet sur la teneur en MDA

D'après les résultats présentés dans le tableau 06 et la figure 26, on observe une augmentation du taux de MDA pulmonaire avec une différence non significative ( $p > 0.005$ ) chez les rats traités, cette augmentation est régulée après l'addition de curcumine par rapport aux témoins.

**Tableau 6:** Taux de MDA pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux.

Groupes	Témoin	TiO <sub>2</sub>	Curcumine	TiO <sub>2</sub> +Curcumine
MDA ( $\mu\text{mol/mg}$ de protéine)	2,93 $\pm$ 0,53	4,493 $\pm$ 0,384	3,403 $\pm$ 0,177	3,243 $\pm$ 0,311



**Figure 26 :** Variation du taux de MDA pulmonaire chez les rats témoins, traités par TiO<sub>2</sub>, Curcumine, et traités par TiO<sub>2</sub>/Curcumine après 28 jours de traitement

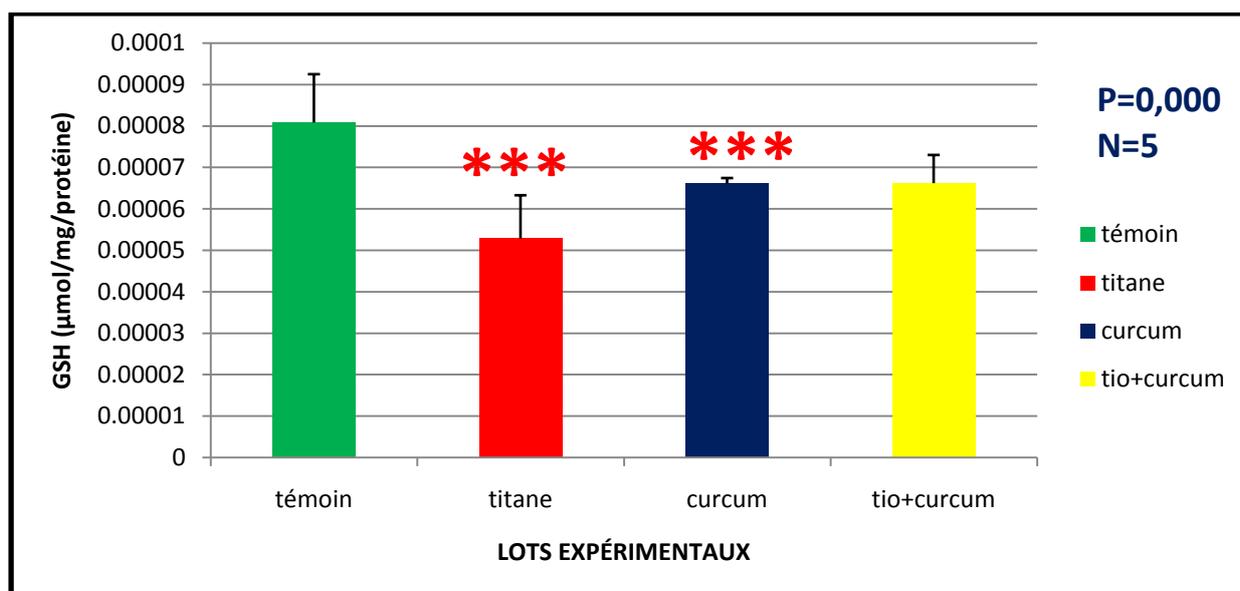
### 3.1.2. Effet sur le taux de GSH

La variation de taux de GSH chez les rats traités et témoins la curcumine est présentée dans le tableau 7 et la figure 27.

La présente étude sur l'effet de la dioxyde de titane et la curcumine montre une diminution très hautement significative de taux de GSH chez les groupes traités par la dioxyde de titane et la curcumine, cette diminution est neutralisée après l'addition de curcumine par rapport aux témoins.

**Tableau 7 :** Taux de GSH pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux.

Groupes	Témoin	TiO <sub>2</sub>	Curcumine	TiO <sub>2</sub> +Curcumine
GSH (μmol/mg de protéine)	8,075±1,162	5,284±1,045 ***	6,613±1,293 ***	6,618±6,804



**Figure 27 :** Variation de teneur pulmonaire en GSH pulmonaire chez les rats témoins, traités par  $\text{TiO}_2$ , Curcumine, et traités par  $\text{TiO}_2$ /Curcumine après 28 jours de traitement

### 3.2. Effet sur les paramètres enzymatiques

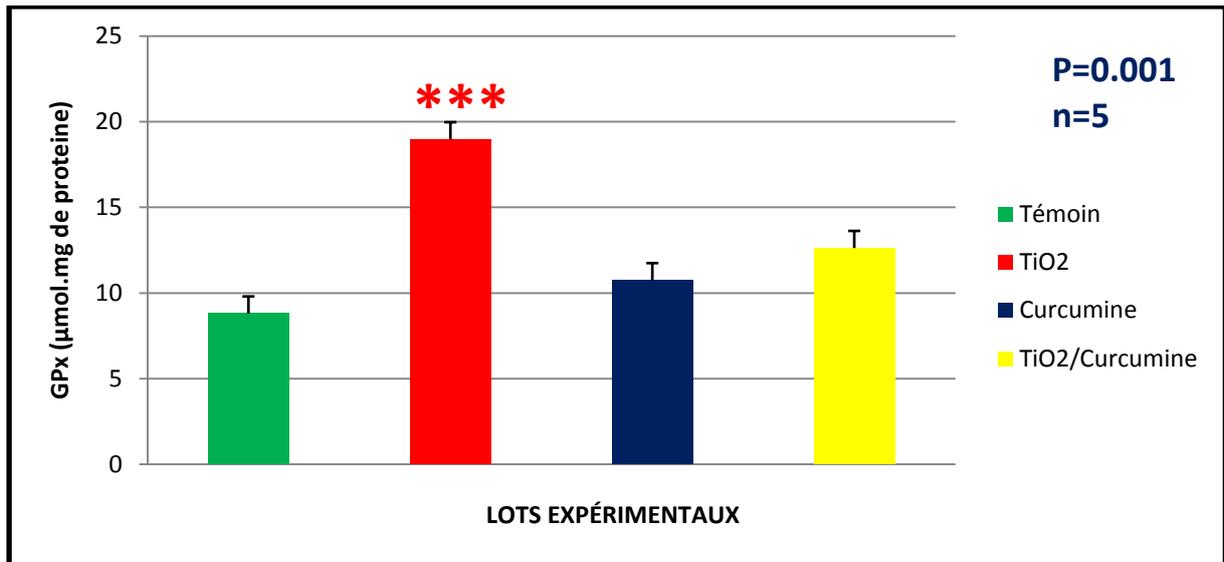
#### 3.2. 1. Effet sur l'activité de GPx

Le tableau 8 et la figure 28 présentent la variation de l'activité enzymatique de GPx dans les poumons des rats témoins et traités par  $\text{TiO}_2$  et curcumine individuellement et en combinaison.

Nos résultats montrent une augmentation Très hautement significative de l'activité enzymatique de GPx pulmonaire chez le groupe traité par le dioxyde de titane, cette augmentation est neutralisée après l'addition du curcumine par rapport aux témoins.

**Tableau 8 :** activité enzymatique de GPx pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux.

Groupes	Témoin	$\text{TiO}_2$	Curcumine	$\text{TiO}_2$ +Curcumine
GPx (µmol .mg de protéine)	8.795±3.583	18.966±2.59	10.741±2.921	12.621±4.4339



**Figure28** : Activité enzymatique de GPX pulmonaire chez les rats témoins, traités par TiO<sub>2</sub> , Curcumine, et traités par TiO<sub>2</sub>/Curcumine après 28 jours de traitement

Les nanoparticules sont des molécules dont la taille varie entre 1 et 100 nanomètres, elles peuvent représenter un risque pour la santé, les NPs sont dangereuses pour l'organisme, car elles sont plus petites que nos cellules. Elles peuvent également avoir un impact négatif sur l'environnement, car à cause de leur taille, elles ne sont pas filtrées dans l'eau ou dans l'air et se répandent directement dans la nature (**Pompella , et al., 2003**).

Les nanoparticules ont des caractéristiques chimiques et physiques très spécifiques de taille, de forme qui facilite ses applications médicales et biologiques. Ce matériau est distribué dans tout le corps rapidement. Après injection par circulation et atteint tous les organes et tissus (**Berry et al., 2004**). Avant son application comme équipement de médicaments, les effets des nanoparticules sur l'environnement, la biocompatibilité et ses effets toxiques sur les humains et les animaux devraient être évalués. Ces particules à cause de la taille réduite ont une superficie élevée et elles sont hautement réactives, c'est une raison importante pour ses effets toxiques (**Carlson et al., 2008**). TiO<sub>2</sub> nanoparticule ont des applications très importantes dans diverses industries, y compris industrielles Pigments, blocs solaires (**Mital et al., 2011**).

Le traitement par le TiO<sub>2</sub> a engendré une perturbation des paramètres métaboliques et du stress oxydant.

Une étude montre que la cytotoxicité des NPs de Dioxyde de Titane est due à une induction de stress oxydant et par conséquent à une apoptose (**Naqvi et al., 2010**).

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 (**Haleng et al., 2007**).

Tout d'abord, l'effet de la curcumine sur la peroxydation lipidique a été étudié par plusieurs auteurs et sur des modèles variés. La curcumine est un bon antioxydant et inhibe la peroxydation lipidique qui joue un rôle important dans l'inflammation, les maladies cardiovasculaires et le cancer. De plus, l'activité antioxydante de la curcumine est méditée par des enzymes antioxydants telles que la super oxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase. La curcumine est un accepteur dans la réaction de Michael, ce qui lui permet de réagir avec le glutathion et la thioredoxine. La réaction de la diferylol-méthane avec ces composés réduit le glutathion intracellulaire dans les cellules (**Aggarwal et al., 2006**).

Dans ce travail nous avons fixée comme objectif en premier lieu la mise en évidence d'une éventuelle toxicité des nanoparticules de Dioxyde de Titane et l'effet opposé du diféruylol méthane sur les rats Wistar comme un modèle biologique.

Les résultats de notre étude ont montré que le traitement oral, des rats Wistar par les nanoparticules de Dioxyde de Titane entraîne une pneumotoxicité.

Et pour diminuer l'effet des NPs de Dioxyde de Titane et échapper le stress oxydatif nous avons introduit le diféruylol méthane comme antidote (antioxydant).

### **1. les paramètres de la croissance globale des animaux**

Les résultats de l'évaluation des paramètres pondéraux suggèrent que l'administration de  $TiO_2$  provoque une diminution significative de la croissance corporelle des différents groupes de rats traités. La réduction du poids corporel peut être le résultat du phénomène anorexique que les animaux puissent subir avec le temps de l'exposition aux xénobiotiques et l'état de stress dans lequel vivent durant la période de cette exposition (**Viviana, 2015 ; Chakroun et al., 2016**). Ces résultats sont en accord avec les travaux d' **Monir Doudi et Mahbubeh Setorki, 2015**, qui ont signalé une réduction dans la consommation de la nourriture chez les rats males survenue à une toxicité subchronique. Par ailleurs, l'utilisation de la curcumine a montré une amélioration de ces paramètres pondéraux des animaux. Ceci pourrait être la conséquence de son pouvoir antioxydant en normalisant l'homéostasie redox intracellulaire et le rétablissement de l'état psychique des animaux (**Ho et al., 2011**).

### **2. Les paramètres biochimiques (les métabolites Glucides, Lipides et Protéines)**

Les résultats de la présente étude indiquent que le mécanisme pour la toxicité induite par  $TiO_2$  inclut une altération des substances biochimiques, des antioxydants et pourrait résulter du stress oxydatif causé par les nanoparticules (**Bheeman et al , 2014**).

Nanoparticules  $TiO_2$  augmentent la libération de molécules réactives d'oxygène et une oxydation accrue des protéines qui causent la mort cellulaire ou réduisant ainsi les cellules (**Carlson et al., 2008**) .

Nos résultats sont en parfait accord avec ceux cités ci-dessus puisque nous avons mis en évidence une perturbation du taux de tous les métabolites (augmentation du taux de protéines totales mais une diminution de taux du glucides et les lipides à la fin du traitement).

L'observation des résultats rend compte d'une toxicité plus évidente des nanoparticules TiO<sub>2</sub>, puisque nous constatons une perturbation dans le le taux des lipides, glucides et protéines, ces variations par rapport aux témoins et qui mettent en évidence la perturbation de plusieurs systèmes enzymatiques à la fois selon les espèces. Ils seraient à l'origine d'une perturbation du métabolisme lipidique (**HENINE et al., 2016**).

Les résultats ont montré que les nanoparticules de dioxyde de titane provoquent la production de radicaux libres dans les cellules et peut altérer la structure des protéines, (**Praetorius et al., 2007, Ghorbanzadeh et al., 2012**) produites sous forme d'anatase nanoparticulaire TiO<sub>2</sub> déclencher une cascade de réactions telles que la peroxydation lipidique, la diminution de la capacité d'antioxydation totale et les activités des enzymes antioxydants (**Linglan et al., 2010**).

L'augmentation de taux des protéines nous confirmait les résultats trouves sur les paramètres de stress oxydant notamment l'activité enzymatique (**ROUABHI et al. , 2006**)

Ce qui concerne le taux lipides nous avons remarqué qu'il y'a une diminution ce qui concorde avec les résultats de (**Aurousseau , 2002**), qui a expliqué que la diminution du taux des lipides est provoqué par les radicaux oxygénés libres qui mènent a la peroxydation lipidique confirmé par le taux élevé du MDA.

L'adition de diféruoyl-méthane a provoque une augmentation du taux des lipides qui peut être expliquer par une régénérescence cellulaire pour lutter contre le TiO<sub>2</sub>.

### **3.Les paramètres de stress oxydatif(Enzymatique et non ezymatique) :**

L'effet biologique défavorable des nanoparticules est un problème scientifique inévitable parce que de leur petite taille et de leur grande activité de surface. Dans cette revue, nous concentrons sur le TiO<sub>2</sub> pour clarifier l'effet toxicologique et la réponse cytotoxique afin d'explorer les mécanismes de toxicité des NPs.

Le MDA ou Malondialdéhyde plasmatique est un marqueur de la peroxydation des lipides. Il est considéré comme un des produits terminaux de l'oxydation des acides gras polyinsaturés. Les taux élevés de MDA signent donc un stress oxydatif, portant notamment sur l'oxydation des lipides (**Gasmi et al. , 2017**).

Le malondialdéhyde est un composé chimique de formule CH<sub>2</sub>(CHO)<sub>2</sub>, il est présent naturellement dans les tissus, où il est une manifestation du stress oxydant. Il est issu notamment de l'action des dérivés réactifs de l'oxygène sur les acides gras polyinsaturés.

La présente étude montre une augmentation du taux de le MDA, cette dernière est en accord avec (**Ma et al., 2012**), l'élévation est causée suite a une peroxydation lipidique qui mène a une désintégration de la membrane cellulaire favorisant la mort cellulaire ce qui explique la phénomène de la pneumotoxicité.

Nos résultat ont révélé que une augmentation du taux de MDA chez les rats traités par TiO<sub>2</sub> rejoignent ceux **Aliabadi et al. (2016)** qui ont suggéré que l'exposition au TiO<sub>2</sub> a entraîné l'augmentation du contenu de MDA, selon **Smolinski et al. (1999)** la production de malondialdéhyde (MDA) comme indice pour évaluer les lésions de la membrane cellulaire par peroxydation lipidique, Nous avons observé qu'il y avait une augmentation exponentielle de la production de MDA.

Nos résultats ont montré que l'exposition au TiO<sub>2</sub> a augmenté le taux de (MDA) dans les poumons, ce résultat s'accorde avec l'étude de (**Li et al., 2005**). On peut dire que le TiO<sub>2</sub> a un effet sur l'augmentation du taux de l'MDA.

Le GSH est un tripeptide, un antioxydant et un nucléophile puissant, critique pour la protection cellulaire. C'est un antioxydant, empêchant les dommages aux composants cellulaires importants causés par des espèces réactives d'oxygène telles que les radicaux libres et les peroxydes (**Pompella , et al., 2003**). Toutes les cellules sont capables de synthétiser le glutathion .

On peut constater à partir de notre étude que la toxicité du système induit par des NPs de TiO<sub>2</sub> chez les rats Wistar. Les NPs de TiO<sub>2</sub> a diminué les taux du GSH. Nos résultats sont en accord avec l'étude de (**Poonam et al., 2014**) qui a montré une diminution par rapport aux témoins.

Dans notre travail, nous avons mis en évidence une réduction du taux de GSH chez les rats traités par TiO<sub>2</sub> parallèlement à une induction de l'activité du GPx.

D'après **Bheeman et al., (2014)**, l'administration orale de TiO<sub>2</sub> provoque des altérations importantes antioxydants glutathion (GSH), glutathion peroxydase (GPx) par rapport aux groupes témoins. **Goldsworthy et al. 1972** ont montré que l'effet du TiO<sub>2</sub> était significatif.

L'induction de l'activité du GPx et la diminution du taux de GSH, sont dues au fait que Le glutathion est l'antioxydant non enzymatique majeur dans les Cellules animales, c'est le thiol cellulaire le plus abondant, impliqué dans le métabolisme, les Procédés de transport et dans la protection des cellules contre les effets toxiques des composés Endogènes et

exogènes, y compris les espèces réactives de l'oxygène et les métaux lourds (**Dickinson et al, 2002 ;Viarengo et al 1993; Viarengo, 1994**).

Les glutathion peroxydases (GPx) est une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés. Cependant, sa synthèse étant rénale et hépatique, d'autres facteurs tels que l'insuffisance rénale ou la cytolysse hépatique peuvent modifier sa concentration (**Byung et al., 2008**).

D'après nos résultats on observe une augmentation de l'activité enzymatique de GPx pulmonaire des rats traités, cette augmentation est neutralisée après l'addition du curcumine par rapport aux témoins, cette augmentation s'accord avec **Savina (2014)** qui étudie la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer( $Fe_3O_4$ ) chez le rat analyse mitochondriale et du stress oxydant, à montré une augmentation de la GPx, cet effets explorait par la forte présence du peroxyde d'hydrogène, en effet l'augmentation de la GPx est associer a leur interaction avec ( $H_2O_2$ ) puisque elle est responsable de son élimination.

Dans notre étude nous avons traités des rats par le dioxyde de titane et remarquons des perturbations des différents paramètres enzymatiques et non enzymatiques, cependant le prétraitement par la diféruylol de méthane (composé de la curcumine), a régulé et neutralisé ces changements.

Nos résultats montrent que la diféruylol de méthane (curcumine) a amélioré l'équilibre de détoxification et a diminué les effets néfastes du dioxyde de titane. Il augmente le taux de protéine, MDA et l'activité enzymatique de GPx dans les poumons, d'une part, et d'autre part, nous avons observés une diminution des taux de GSH, lipides et glucides.

Le taux de glutathion réduit (GSH) a été notablement réduit, tandis que la peroxydation lipidique, exprimée en taux du MDA a été augmentée (**Almeida et al., 2007**).

Ces résultats ont montré que l'administration de curcumine diminue les dommages causés dans les poumons par les NPs de  $TiO_2$  probablement par la régulation de l'équilibre oxydant / anti-oxydant.

L'analyse des résultats a montré des changements qui touchent les rats traité par les NPs de  $TiO_2$  par rapport aux autres lots. Ces effets sont la réponse des résultats passés (GSH, CAT, MDA...), parce que les NPs de  $TiO_2$  capable d'induit un cas de stress par l'augmentation des radicaux libres, l'inhibition enzymatiques et la dégradation cellulaire, elle est capable de

changer l'état de ces rats et causer par conséquence plusieurs symptômes et maladie neurologiques.

Mais l'effet antioxydant de la curcumine responsable a l'amélioration des résultats des rats traités par la combinaison NPs de TiO<sub>2</sub>/Curcuma, par l'élimination des radicaux libres induit par les NPs de TiO<sub>2</sub>. Et aussi car la curcumine entre par des quantités très fine comme cofacteur ou/ et oligoélément dans les métalloenzymes (**Keith et al., 2000**).

L'ensemble de ces résultats montre que la dose de la curcumine semble protéger tout le corps contre les effets toxiques et stress oxydative induit par les NPs de TiO<sub>2</sub> dans cette expérimentation.

*Conclusion*  
*Et*  
*Perspectives*

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

---

Les nanoparticules utilisées dans cette étude sont les NPs de dioxyde de titane  $\text{TiO}_2$ , qui entraînent une perturbation des paramètres de croissance et de stress oxydant qui diffèrent en fonction de la dose d'administration, et l'effet préventif de diférylyol-méthane sur la pneumotoxicité par ces nanoparticules.

Nous avons étudié l'effet de dioxyde de titane  $\text{TiO}_2$  sur quelque paramètre biochimique des poumons tels que les protéines, glucides et lipides ; également sur les paramètres de stress enzymatiques et non enzymatiques (GPx, MDA et GSH), et aussi nous avons évalué l'effet protecteur de diférylyol méthane contre cette toxicité.

Nous sommes consacré à chercher l'effet de dioxyde de titane  $\text{TiO}_2$  et l'effet opposé du diférylyol-méthane, et cela était organisé dans 4 groupes des rats Wistar.

Après avoir fait les dosages nécessaires nous avons trouvé qu'il y'a une perturbation au niveau des paramètres évaluer conclure comme suivant :

- Une diminution significative au poids corporel
- une diminution très hautement significative du taux de glucide.
- une diminution très hautement significative dans le taux de lipide.
- une augmentation très hautement significative dans le taux de protéine.
- une augmentation non significative dans le taux de MDA.
- une augmentation très hautement significative dans l'activité de GPx
- une diminution très hautement significative dans le taux de GSH.

Donc, les NPs dioxyde de titane  $\text{TiO}_2$  changer ces paramètres de manière très claire, et provoquer une pneumotoxicité. Au contraire, la curcumine corrige ces perturbations.

Et comme perspective, il est nécessaire de faire des études histopathologiques et physiologiques, même comportementales pour bien élucider les effets de ces nanométaux et aussi de voir les processus moléculaires de la correction par le diférylyol-méthane.

# *Références*

### A

**AGGARVAL et al., 2004:** AGGARVAL BB, TAKADA Y, OOMMEN OV From chemoprevention to chemotherapy: common targets and common goals *Expert Opin Investig Drugs* 2004; 13:1327-38.

**Aggarwal et al, 2006:** Bharat B. Aggarwal et Shishir Shishodia, 2006. Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochemical Pharmacology*. Vol. 71(10), 1397-1421.

**Aggarwal et al., 2003:** Aggarwal BB, Kumar A, Bharti AC. *Anticancer Res.* 2003 Jan-Feb; 23 (1A):363-98. Review. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies.

**Aliabadi et al. 2016:** Amir A. Aliabadi, Ralf M. Staebler, Michael Liu et Andreas Herber, 2016. Characterization and Parametrization of Reynolds Stress and Turbulent Heat Flux in the Stably-Stratified Lower Arctic Troposphere Using Aircraft Measurements. *Boundary-Layer Meteorol.* 161:99–126.

**Almeida et al., 2007 :** Eduardo Alves de Almeida, Afonso Celso Dias Bainy, Ana Paula de Melo Loureiro, Glaucia Regina Martinez, Sayuri Miyamoto, Janice Onuki, Lúcia Fujita Barbosa, Camila Carriço Machado Garcia, Fernanda Manso Prado, Graziella Eliza Ronsein, Carlos Alexandre Sigolo, Cláudia Barbosa Brochini, Ana Maria Gracioso Martins, Marisa Helena Gennari de Medeiros, Paolo Di Mascio, 2007. Oxidative stress in *Perna perna* and other bivalves as indicators of environmental stress in the Brazilian marine environment: Antioxidants, lipid peroxidation and DNA damage, Comparative. *Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*,

**Anil et al, 2011:** Anil K., Jyotsna D., Anup S ., 2011 - A REVIEW ON SPICE OF LIFE CURCUMA LONGA (TURMERIC). *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. Volume: 2. ISSN 0976-4550:372.

**ARAUJO, et al., 2001:** ARAUJO CC, LEON LL. Biological activities of *Curcuma longa* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001;96:723-28.

**Aurousseau., 2002 :** Aurousseau B., 2002. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité des produits. *INRA Prod. Anim.*, 15, 67-82. Vol. 146( 4): 588-600.

### B

- Baratli , 2015 :** Baratli Y, 2015 Etude de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Chez le rat, analyse mitochondriales et stress oxydants.
- Bernard , et al., 2005 :** Bernard M, Couderc R, Cynober L. Les aliments traditionnels: Remèdes de bonne femme Ou pharmacopée du XXI<sup>e</sup> siècle l'exemple de la curcumine. 2005; Cah.Nutr. Diét. 40 (6): 325-333.
- Berry et al., 2004:** B. A. Berry, A. W. Confer, C. R. Krehbiel, D. R. Gill, R. A. Smith et M. Montelongo, 2004. Effects of dietary energy and starch concentrations for newly received feedlot calves: II. Acute-phase protein response. J. Anim. Sci. 82:845–850.
- Bettini, et al., 2014 :** Bettini S., et Eric H. 2014. Exposition orale aux nanoparticules de dioxyde de titane (TiO<sub>2</sub>) : du franchissement de l'épithélium buccal et intestinal au devenir et aux effets dans l'organisme Biologie Aujourd'hui, 208 (2).p168.
- Bezrodna et al., 2000 :** Bezrodna, G. Puchkovska, V. Shimanovska, I. Chashecnikova, T. Khalyavka, J. Baran, Appl, Pyridine-TiO<sub>2</sub> surface interaction as a probe for surface active centers analysis, 87– 89 (2000) 1237.
- Bheeman et al , 2014 :** Dinesh Bheeman, Sinjula Cheerothsahajan, Sathish Sugumaran, Sankaran Mathan, Ramesh Mathan, Sivanesan Dakshanamurthy, Ranjithkumar Rajamani, and Chandar Shekar Bellan, 2014. Indium Titanium Oxide Nanoparticles Induced Hepatic Damage: Hepatoprotective Role of Novel 2-Imino-4-methyl-1, 2-Dihydropyrimido [5, 4C] Quinoline-5(6H)-one. Advances in Toxicology. Volume 2014, 7 pages. .
- Bradford, 1976:** Bradford M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.
- Boland, et al., 2014 :** Boland, S., Hussain, S., and Baeza-Squiban, A. (2014). Carbon black and titanium dioxide nanoparticles induce distinct molecular mechanisms of toxicity: Carbon black and TiO<sub>2</sub> induce different mechanisms of toxicity. Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology 6, 641–652.
- BOULLARD, 2001:** BOULLARD B.Dictionnaire des plantes médicinales du monde.Paris Estem, 2001, p.174

## LISTE DES REFERENCES

---

**Byung et al., 2008:** Byung K Y, Guk N k, Yong I J, Hun J, Pradeep M, chi-hyun, 2008. Hypoglycemic effects of exo-biopolymers produced by Five Different medicinal mushrooms in STZ-induced diabetic Kat-the Kaream society of mycology.p.45-49

### C

**Carlson et al., 2008 :** C. Carlson, S. M. Hussain, A. M. Schrand, L. K. Braydich-Stolle, K. L. Hess, R. L. Jones, and J. J. Schlager, 2008. *The Journal of Physical Chemistry B* **2008** Unique Cellular Interaction of Silver Nanoparticles: Size-Dependent Generation of Reactive Oxygen Species. *112* (43), 13608-13619.

**Chakroun et al., 2016 :** Maïssa Chakroun, Núria Banyuls, Yolanda Bel, Baltasar Escriche et Juan Ferré, 2016. Bacterial Vegetative Insecticidal Proteins (Vip) from Entomopathogenic Bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* June. Vol. 80 no. 2 329-350

**Claude, et al 2008 :** Claude Ostiguy (IRSST), Brigitte Roberge (IRSST), Luc Ménard (CSST), Charles-Anica Endo (Nano-Québec), Guide de bonnes pratiques favorisant la gestion des risques reliés aux nanoparticules de synthèse , Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST), Québec, Canada, 2008 [PDF], 73 p. Publication évaluée par des pairs.

**Combres, 1997:** Combres, Y., Métallurgie et recyclage du titane et de ses alliages. Techniques de l'ingénieur Métallurgie extractive et recyclage des métaux de transition, 1997.

### D

**Delaveau, 1987 :** DELAVEAU P. Les épices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. Paris : Albin Michel, 1987, p.130-136.

**Descat , 2002 :** Descat, Fleur. Hématologie Du Rat: Hémogramme et Myélogramme. [Thèse]. Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, 2002. Disponible : <http://oatao.univ-toulouse.fr/678/>.

**Dickinson et al, 2002 :** Dickinson DA, Forman HJ, 2002. Glutathione in defense and signaling: lessons from a small thiol. *Ann N Y Acad Sci.* 973:488-504

**Duchateau et al, 1959:** Duchateau G. et Florkin M., 1959. Sur la tréhalosémie des insectes and sa signification. *Arch. Int. Physiol. Biochem* 67: 306-314.

## LISTE DES REFERENCES

---

### F

**FESTING, 1979:** FESTING, M.F.W. 1979. Suitability of the Rat for Different Investigations. In: Inbred and Genetically Defined Strains of Laboratory Animals, Part I, Mouse and Rat (P.L Altman, D.D. Katz, eds.). Fed. Am. Soc. Exper. Biol. Bethesda, MD. pp. 237-238.

### G

**Gasmi, et al., 2017:**Salim Gasmi<sup>1</sup>& Rachid Rouabhi<sup>1</sup>& Mohamed Kebieche<sup>2</sup>& Samira Boussekine<sup>1</sup>&Aya Salmi <sup>1</sup>& Nadjiba Toualbia<sup>1</sup> & Chahinez Taib<sup>1</sup>& Zina Bouteraa<sup>1</sup>& Hajer Chenikher<sup>1</sup>&Sara Henine<sup>1</sup> & Belgacem Djabri.<sup>2017</sup>. *Effects of Deltamethrin on striatum and hippocampus mitochondrial integrity and the protective role of Quercetin in rats*. Environ Sci Pollut Res

**George, 2000:** (George J. Krinke, *The Laboratory Rat (Handbook of Experimental Animals)*, Academic Press, 15 juin 2000, 3–16 p. (ISBN 0-124-26400-X), « History, Strains and Models »).

**Ghorbanzadeh et al., 2012:** V. Ghorbanzadeh, S. J.Moshtaghian, S.Habibian, A. G.Ebadi, O.BavandVandechali, The effects of nano titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) in spermatogenesis in wistar rat. Eur. J. Exper. Biol, 2, 1367.

**Goldsworthy et al. 1972:** Goldsworthy G.J., Mordue W., Guthkelch J., 1972. Studies on insect adipokinetic hormones. General and Comparative Endocrinology 18(3) : 545-551.

**Goudjil, 2013:** étude de l'oxyde de titane en couches minces en hétérojonction avec le silicium,application photovoltaïque. université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou. Pp 6-8.

### H

**Henine et al.,2016 :**Henine S,RouabhiR,Gasmi S,Amarouche A,Salmi A ,Toualbia N, Taib C,Bouteraa Z,Chenikher H,Boussekine S,Kebieche M ,Aouimer M(2016).Oxidative stress status,caspase-3,stromal enzymes and mitochondrial respiration and swelling of Paramecium caudatum in responding to the toxicity of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticules.Environ Health Sci 8(2) : 161-167

**Haleng et al., 2007:** J. Haleng, J. Pincemail, J.O. Defraigne, C. Charlier, J.P. Chapelle, 2007. Le stress oxydant. Rev Med Liege. 62(10): 628-638.

**Hervé et al.,2007:** Hervé-Bazin B et al. Les Ulis : EDP Sciences ; 2007 : 701 p, 2011, [www.cdc.gov/niosh/docs/2011-160/](http://www.cdc.gov/niosh/docs/2011-160/).

## LISTE DES REFERENCES

---

**Ho et al., 2011** : Ho M, Wu K-Y, Chein H-M, Chen L-C, Cheng T-J, 2011. Pulmonary toxicity of inhaled nanoscale and fine zinc oxide particles: Mass and surface area as an exposure metric. *Inhal Tox.* 23: 947-956.

### J

**J argot et al., 2013**: J argot F., s. robert S. 2013. base de données fiches toxicologiques, sur le site web l'inrs : [www.inrs.fr/fichetox](http://www.inrs.fr/fichetox). inrs .Pp 2-5.

**Jalilian et al., 2009** : Jalilian A, Panahifar A, Mahmoudi M, Akhlaghi M et Simchi A, 2009. Presentation and biological evaluation of <sup>67</sup>Co-Labeled-superparamagnetic nanoparticles In normal radiochimica acta.p.51-56.

### K

**Keith, et al., 2000** : Keith D. A., Auld T. D., Ooi M. K. J. & Mackenzie B. D. E., 2000. Sensitivity analyses of decision rules in World Conservation Union (IUCN) Red List criteria using Australian plants. *Biological Conservation* **94**, 311–319.

**KERTESZ ,1991** : Structure et propriétés amphotères de gels de dioxyde de titane. Université de paris. p33.

**Khebbeb et al., 1997** : M. E. H. Khebbeb, J. Delachambre et N. Soltani, 1997. Lipid Metabolism during the Sexual Maturation of the Mealworm (*Tenebrio molitor*): Effect of Ingested Diflubenzuron. *Pesticide Biochemistry and Physiology* : **58**, 209–217.

### L

**Li et al., 2005** : Li B, et al. Li B, Pattenden SG, Lee D, Gutiérrez J, Chen J, Seidel C, Gerton J, Workman JL., 2005. Preferential occupancy of histone variant H2AZ at inactive promoters influences local histone modifications and chromatin remodeling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102(51):18385-90.

**Linglan et al., 2010** : Linglan, M.A., J. Zhao, J. Wang, J. Liu and Y. Duan et al., 2009. The acute liver injury in mice caused by nano-anatase TiO<sub>2</sub>. *Nanoscale Res. Lett.*, 4: 1275- 1285.

### M

**Ma et al., 2012** : Ma, X., Huang, J., Yang, L., Yang, Y., Li, W., Xue, L., 2012. NOPO modulates Egr-induced JNK-independent cell death in *Drosophila*. *Cell Res.* 22(2): 425-431.

**Malinski, 1998**: N,Malinski T 1998 p.1080-1085.

## LISTE DES REFERENCES

---

**Manon, 2014:** Manon R. 2014 : Utilisation des nanoparticules de dioxyde de titane dans les émulsions cosmétiques Impact sur la santé humaine et l'environnement .université du havre thèse .Pp 78-80.

**Mital et al., 2011 :** Jadhav-Chakankar, Mital & Kagalkar, Anuradha & Jadhav, Sheetal & Govindwar, Sanjay., 2011. Isolation, characterization, and antifungal application of a biosurfactant produced by Enterobacter sp. MS16. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 113(10):1002.

**Monir Doudi et Mahbubeh Setorki, 2015 :** Monir Doudi et Mahbubeh Setorki, 2015. Influence of Titanium Dioxide Nanoparticles on Oxidative Stress and Pulmonary Dysfunction. *Res Med Sci*. 17(9):e1062.

**Moran, et al., 2016:** Pulido-Moran M, Moreno-Fernandez J, Ramirez-Tortosa C and Ramirez-Tortosa MC. Curcumin and Health. *Molecules* 2016, 21(3), 264.

### N

**Naqvi et al., 2010 :** S.W. A. Naqvi<sup>1</sup>, H. W. Bange, L. Farias, P. M. S. Monteiro, M. I. Scranton et J. Zhang, 2010. Marine hypoxia/anoxia as a source of CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O. *Biogeosciences*, 7, 2159–2190.

### P

**PENSO, 1986 :** PENSO G. Les plantes médicinales dans l'art et l'histoire. Paris : Roger Da Costa ed., 1986

**Pierre, 2014:** Pierre S. Le Curcuma, un agent naturel de lutte contre le vieillissement cutané. Synthèse Bibliographique en Biologie et Biotechnologie Master Biologie- Gestion. Université de Rennes 2014. P6.

**Pompella, et al., 2003 :** Pompella A<sup>1</sup>, Visvikis A, Paolicchi A, De Tata V, Casini AF., 2003. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochem Pharmacol*. 15;66(8):1499-503.

**Poonam et al., 2014:** Sharma, Poonam & Aslam Khan, Irshad & Singh, Dr Rambir., 2014. Curcumin and Quercetin Ameliorated Cypermethrin and Deltamethrin-Induced Reproductive System Impairment in Male Wistar Rats by Upregulating The Activity of Pituitary-Gonadal Hormones and Steroidogenic Enzymes. *International journal of fertility & sterility*. 12. 72-80.

## LISTE DES REFERENCES

---

**Praetorius et al., 2007:** Praetorius, Natalie P. et Mandal, Tarun K., 2007. Engineered Nanoparticles in Cancer Therapy. Recent Patents on Drug Delivery & Formulation. Vol 1(1), pp. 37-51(15).

### R

**Roger, 2014:** Roger L, Nanotoxiques. Une enquête. Actes Sud, Paris, 2004.

**Rouabhi et al., 2006 :** Rouabhi R, Djebbar H, Djebbar MR, (2006). Toxicity evaluation of flucycloxuron and diflubenzuron on the cellular model, paramecium sp. African journal of Biotechnology. 045-048.

### S

**SAJEM, et al., 2006:** SAJEM A.L., GOSAI K. Traditional use of medicinal plants by the Jaintia tribes in North Cachar Hills district of Assam, northeast India. J Ethnobiol Ethnomed. 2006; 2: 33.

**Savina, 2014 :** Savina P, 2014. Synthèse Bibliographique en Biologie et Biotechnologie Master Biologie Gestion.

**Scheen, 2007:** AJ. Scheen, R. Radermecker, J. De Flines, J. Ducobu, 2007. Actualités thérapeutiques en lipidologie. Rev Med Liege. 62: (5-6): 324-328.

**Shibko et al., 1966:** Shibko S., Koivistoinen P., Tratyneck C.A., Newhall A.R. and Freidman L., 1966. A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. Analytical Biochemistry. 3(19): 415-428.

**Smolinski et al. (1999):** Smolinski, S., Maness, P.-C., Blake, D. M., Huang, Z., Wolfrum, E. J., & Jacoby, W. A., 1999. Bactericidal Activity of Photocatalytic TiO<sub>2</sub> Reaction: toward an Understanding of Its Killing Mechanism. Applied and Environmental Microbiology. 65(9), 4094–4098.

**Sugimoto et al., 2003:** Sugimoto, T., X. Zhou, and A. Muramatsu, Synthesis of uniform anatase TiO<sub>2</sub> nanoparticles by gel-sol method: 3. Formation process and size control. Journal of Colloid and Interface Science, 2003. 259(1): p. 43-52.

### V

**Viarengo et al, 1993:** Viarengo,A. et Nott, J.A., 1993. Mechanisms of heavy metal cation homeostasis in marine invertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 104C, 355-372.

**Viarengo, 1994:** A. Viarengo, L. Canesi, M. N. Moore, 1994, Effects of  $Hg^{2+}$  and  $Cu^{2+}$  on the cytosolic  $Ca^{2+}$  level in molluscan blood cells evaluated by confocal microscopy and spectrofluorimetry *Marine Biology*, Volume 119 (4), Page 557.

**Viviana, 2015:** Viviana Peña. (2015). Keynote: "Revisiting the European maerl and rhodolith beds in the 21 century".

### W

**Wang et al.,2010 :** Wang Y F Tsai P J Chen C W Chen D R Hsu D J .2010 Using A Modified Electrical Aerosol Detector To Predict Nanoparticules Exposures To Different Regions Of The Respiratory Tract For Workers In A Carbon Black Manufacturing Industry.

**Weeckbeker et al, 1988:** Weeckberker G.; Cory G., 1988. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemial L1210 cells in vitro. *Cancer letters* 40 : 257-264.

### WEB

**Site 1:** <https://dioxydedetitanetpe.blogspot.com/2009/12/introduction.html>.

**Site 2 :** <https://www.novethic.fr/lexique/detail/nanoparticules.html>

**Site 3 :** [https://fr.wikipedia.org/wiki/Dioxyde\\_de\\_titane](https://fr.wikipedia.org/wiki/Dioxyde_de_titane)

**Site 4:** [monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol93/ mono93.pdf](http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol93/mono93.pdf)

**Site 5 :** <http://culturesciences.chimie.ens.fr/print/1761?print=yes&nid=1761>.

**Site 6:** [Passeportsanté.net](http://passeportsanté.net).le 25 novembre 2009.

**Site7 :** <https://www.parisdepices.com/2016/08/31/le-curcuma/>

**Site 8 :** <https://toutelathailande.fr/le-curcuma-lepice-sante/>

**Site 9 :** [http://khartasia-crcc.mnhn.fr/fr/content\\_fr/curcuma-longa-l](http://khartasia-crcc.mnhn.fr/fr/content_fr/curcuma-longa-l).

**Site 10** [http://www.plantcultures.org/plants/turmeric\\_landing.html](http://www.plantcultures.org/plants/turmeric_landing.html), consulté le 12 juillet 2009.

**Site 11 :** [Http://fr.wikipedia.org/wiki/Curcuma](http://fr.wikipedia.org/wiki/Curcuma), consulté le 19 juillet 2009.

## LISTE DES REFERENCES

---

**Site 12:** Curcumin-\_Biological\_and\_medicinal\_properties.

**Site 14:** [http://www.ratoupedia.org/archive/Syst%C3%A8me\\_respiratoire/index.html](http://www.ratoupedia.org/archive/Syst%C3%A8me_respiratoire/index.html)

**18\_Site 15:** <https://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/poumons>.

**Site 16 :** <https://fr.wikipedia.org/wiki/Poumon>.

**Site 17 :** <http://www.pneumo-info.com/>.

**Site 18:** <http://www.pneumo-info.com/anatomie/physiologie.shtml>.

**Site 19 :** <http://www.pneumo-info.com/anatomie/physiologie/defense.shtml>

**Site 20 :** [http://www.pneumo-info.com/anatomie/physiologie/role\\_metabolique.shtml](http://www.pneumo-info.com/anatomie/physiologie/role_metabolique.shtml)

# *Annexes*

## 1-Matériel utilisé dans les différentes étapes de l'étude

### 1-1-Matériel chimique

- ✓ Eau distillée.
- ✓ TCA (Trichloro acétique).
- ✓ Anthrone.
- ✓ Acide sulfurique.
- ✓ Acide orthophosphorique (à 85%).
- ✓ Vanilline.
- ✓ BBC (Bleu Brillant de Coomassie).
- ✓ Ether.
- ✓ Chloroforme.
- ✓ Ethanol (à 95%).
- ✓ BSA (Albumine sérum de bœuf).
- ✓ Glucose.
- ✓ Huile de tournesol.
- ✓ Sodium phosphate dibasique.
- ✓ ASS (Acide sulfosalicylique).
- ✓ Sodium phosphate monobasique.
- ✓ Tris.
- ✓ HCl.
- ✓ NaOH.
- ✓ Méthanol absolu.
- ✓ EDTA (Acide éthylène diamine tétracétique).
- ✓ DTNB (l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque).

### 1-2-Grand matériel et appareils

- ✓ Centrifugeuse (SELECTA).
- ✓ Balance analytique
- ✓ Balance de précision (KERN).
- ✓ Etuve (HERAEUS).
- ✓ pH mètre.
- ✓ Agitateur magnétique (WITEG).
- ✓ Matériel de dissection.

- ✓ Centrifugeuse sigma 1-15.
- ✓ Réfrigérateur.
- ✓ Bain marie (MEMMERT).
- ✓ Agitateur Vortex (THERMOS).
- ✓ Spectrophotomètre (UV mini 1240, SHIMADZU).

### 1-3-Petit matériel

- ✓ Mortier + Pilon (Broyeur manuel).
- ✓ Pissette.
- ✓ Verre de montre.
- ✓ Spatule.
- ✓ Baromagnétique.
- ✓ Micropipettes de 100 $\mu$ l et 1000 $\mu$ l.
- ✓ Pipettes graduées.
- ✓ Portoirs.
- ✓ Tubes à essai.
- ✓ Tubes secs en verre et en plastique.
- ✓ Tubes eppendorf pour les centrifugeuses sigma.
- ✓ Cuves pour la spectrophotométrie (en plastique et en quartz).
- ✓ Papier d'aluminium.
- ✓ Papier Wattman N° 01.
- ✓ Becher.
- ✓ Erlenmeyers.
- ✓ Entonnoirs.
- ✓ Eprouvettes graduées.

- ✓ Fioles jaugées.
- ✓ Flacons en verre.

### 2-Préparation des solutions du dosage

#### 2-1-Solution TCA (Trichloro-acétique) 20%

Dissoudre **20g** de TCA dans **100ml** d'eau distillée.

#### 2-2-Dosage des glucides

##### A-Réactif d'anthrone

Dissoudre **150mg** d'anthrone dans **75ml** d'acide sulfurique puis ajouter **25ml** d'eau distillée, le réactif est de couleur verte et il doit être stocké à l'obscurité.



**Figure A:** Le réactif d'anthrone.

##### B-Solution mère de glucides

Dissoudre **5mg** de glucose dans **5ml** d'eau distillée.

### 2-3-Dosage des lipides

#### A-Réactif SPV (Acide sulfophosphovanylique)

Dissoudre **0,38g** de vanilline dans **55ml** d'eau distillée et ajouter **195ml** d'acide orthophosphorique à **85%**, le réactif est de couleur rose clair, il doit être conservé dans l'obscurité.



**Figure B:** Le réactif SPV.

#### B-Solution mère de lipides

Peser **25mg** d'huile dans un tube eppendorf et ajouter **10ml** ether/chloroforme (1V/1V).

### 2-4-Dosage des protéines

#### A-Solution NaOH 10%

Dissoudre **10g** de NaOH dans **100ml** d'eau distillée.

#### B-Réactif BBC (Bleu brillant de Coomssie)

Faire dissoudre **100mg** du BBC dans **50ml** d'éthanol à **95%**, à cette solution 100ml d'acide phosphorique à **85%** a été ajouté. La solution obtenue est diluée dans un volume final de **1 litre**. Les concentrations finales dans le réactif de **0,01%** de bleu de Coomassie: **4,7%** d'éthanol et de **8,5%** d'acide phosphorique, le réactif obtenu est de couleur bleu clair, il faut qu'il soit conservé aux froides et utilisé dans un délai de **2 à 3** semaines.



**Figure C:** Le réactif de Bradford.

### **C-Solution BSA (Albumine sérum de bœuf)**

Dissoudre **5mg** BSA dans **5ml** d'eau distillée.

### **2-5-Dosage du glutathion (GSH)**

#### **A-PBS (Tampon phosphate salin) (0,2M, pH 6,4)**

On ajoute **13,25ml** du sodium phosphate dibasique  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (**35,61g/l**) et **36,75ml** du sodium phosphate monobasique  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (**27,6g/l**), puis les deux solutions sont diluées à **100ml** d'eau distillée.

#### **B-Solution d'acide sulfosalicylique 0,25%**

Dissoudre **250mg** d'acide sulfosalicylique dans **100ml** d'eau distillée.

#### **C-Solution Tris/EDTA (0,4M, pH 9,6)**

Dissoudre **12,114g** de Tris et **1,871g** de l'EDTA (Acide éthylène diamine tétracétique) dans **250ml** d'eau distillée et ajuster le pH à **9,6** en ajoutant HCl ou NaOH.

#### **D-Solution DTNB (Acide dithionitrobenzoïque) (10 mM)**

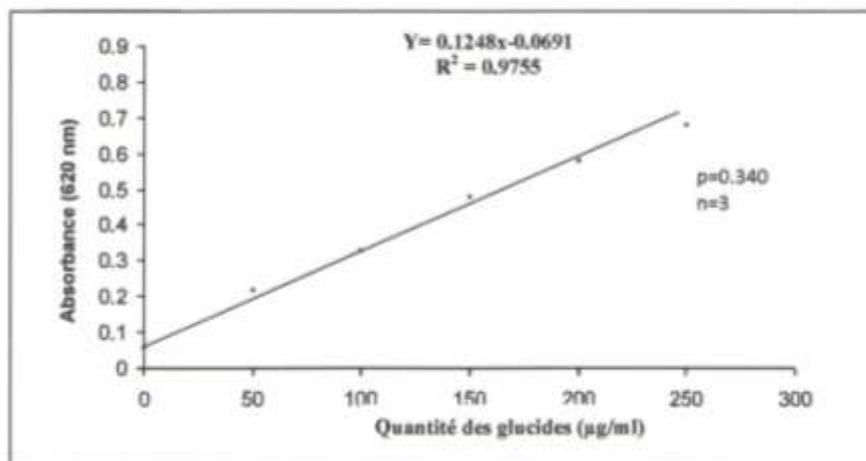
Dissoudre **200mg** de DTNB dans **50ml** de méthanol absolu.

### 3-Courbes d'étalonnage pour le dosage des métabolites

#### 3-1-Courbe d'étalonnage pour dosage des glucides

**Tableau A:** Réalisation de la courbe d'étalonnage pour dosage des glucides.

Tube	1	2	3	4	5	6
Solution mère de glucide (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif d'Anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4

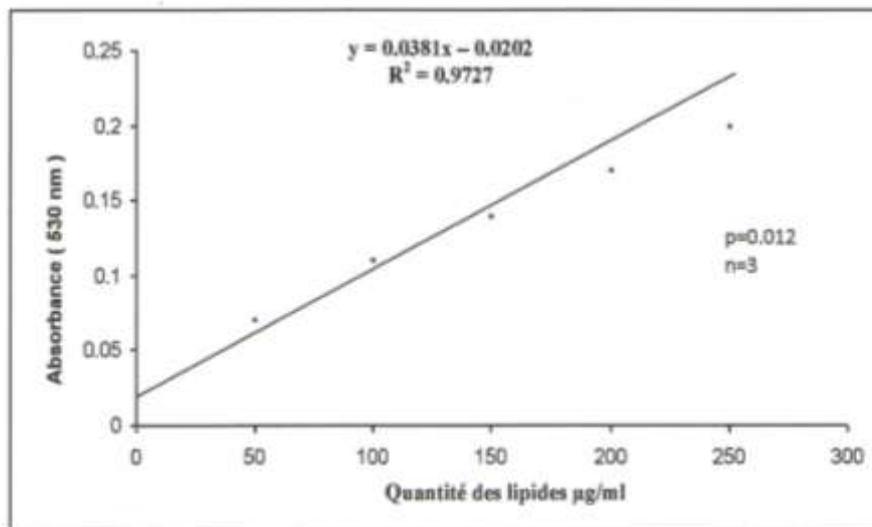


**Figure D:** Courbe d'étalonnage pour le dosage des glucides.

## 3-2-Courbe d'étalonnage pour dosage des lipides

**Tableau B:** Réalisation de la courbe d'étalonnage pour dosage des lipides.

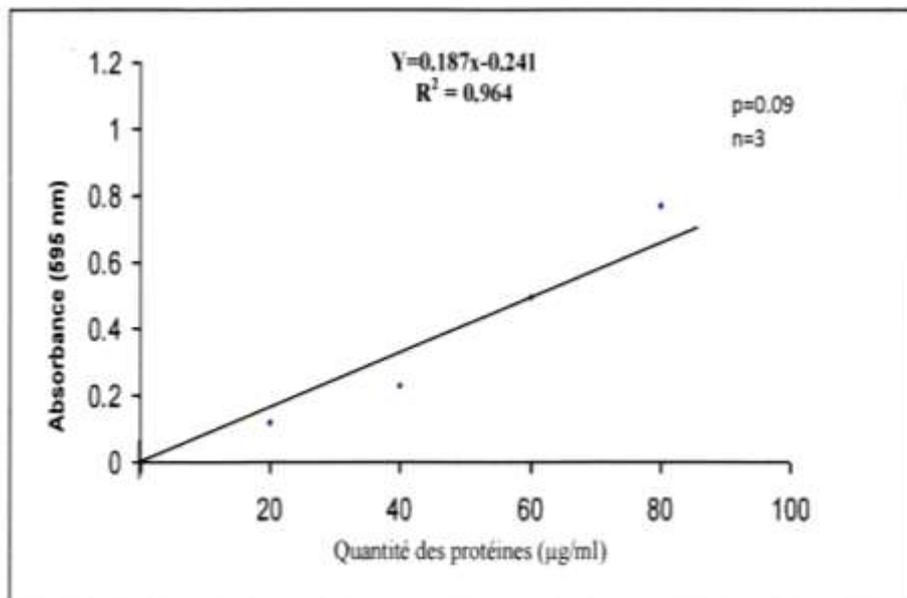
Tube	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipide (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant éther/chloroforme (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5

**Figure E:** Courbe d'étalonnage pour le dosage des lipides.

### 3-3-Courbe d'étalonnage pour dosage des protéines hépatiques

**Tableau C:** Réalisation de la courbe d'étalonnage pour dosage des protéines.

Tube	1	2	3	4	5	6
Solution d'albumine $\mu\text{l/ml}$	0	20	40	60	80	100
Eau distillée ( $\mu\text{l}$ )	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC ml	4	4	4	4	4	4



**Figure F:** Courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines.



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Larbi Tébessi - Tébessa  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

**Déclaration sur l'honneur de non-plagiat**  
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : GUIZA ZINEB

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : Biologie

N° de carte d'étudiant : 2013/1572/340177743

Année universitaire : 2017/2018

Domaine : Biologie Appliquée

Filière : Toxicologie

Spécialité : Toxicologie

Intitulé du mémoire : Prescription de T.O. chez les rats et l'effet opposé probable de chlorure de méthyle

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

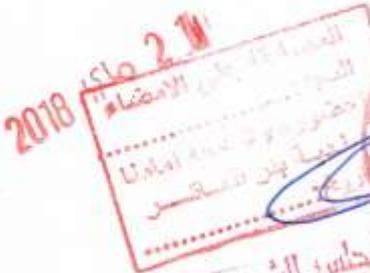
**Sanctions en cas de plagiat prouvé :**

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : 15/05/2018

Signature de l'étudiant(e) :



المجلس الشعبي البلدي  
بئر اسعيد الحبيبة  
الولاية الجزائرية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Larbi Tébessi - Tébessa  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

**Déclaration sur l'honneur de non-plagiat**  
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : Hammi Matha

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : Biologie

N° de carte d'étudiant : 2013/3401692

Année universitaire : 2017/2018

Domaine : Biologie Appliquée

Filière : Toxicologie

Spécialité : Toxicologie

Intitulé du mémoire : Pneumotoxicité de  $TiO_2$  chez les rats et l'effet appréhendé probable de diféculoyl-méthane

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

**Sanctions en cas de plagiat prouvé :**

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : 15/05/2018

Signature de l'étudiant(e) :

