



République Algérienne Démocratique 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

Département de : Biologie Appliquée

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Toxicologie

Thème

**Étude toxicologique des nanoparticules sur le rat *Wistar*,
effet protecteur des substances naturelles.**

Présenté par :
ROUABHIA Mohamed Ziad
GATTAL Haroune
BEGHIL Hana
Devant le Jury :

Dr. BOUADILA S	M.A.A	Université de Tébessa	Président
Pr. MENACEUR F	M.A.A	Université de Tébessa	Rapporteur
Dr. BENAMARA A	M.A.A	Université de Tébessa	Examineur

Date de soutenance : 08/06/2022

Note :

Mention :

Année Universitaire 2021/2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



REMERCIEMENT

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

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

Grand et respectueux remerciement va à **Mme Dr. BENAMARA Amel**

d'avoir accepté d'examiner ce travail, Nous tenons surtout à la remercier pour sa patience et ses précieux conseils, pour sa disponibilité exceptionnelle et ses nombreuses critiques constructives.

Nous remercions infiniment notre encadreur **Mr Pr. MENACEUR Fouad** qui a dirigé ce travail et a veillé à ce qu'il soit mené à terme.

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

A decorative border with intricate floral and scrollwork patterns surrounds the text. The border is black on a white background, featuring various motifs like leaves, flowers, and swirling lines.

Dédicace

Dédicaces avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère. • A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père.

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

A ma chère sœur, et mon partenaire, qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

A mon adorable petite sœur, qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.

A mes grands - mères, mes oncles et mes tantes. Que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

A tous les cousins, les voisins et les amis que j'ai connu jusqu'à maintenant. Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

Par : HAROUNE



Dédicace

Louange à Dieu, qui ma donné la force pour accomplir ce modeste travail.

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... tous les mots ne sauraient exprimer ma gratitude, mon respect, mon amour, ma reconnaissance... C'est, ainsi, tout simplement que... Je dédie cette thèse à ...

A mes très chers parents, en témoignage, de mon profond respect et de l'amour que j'éprouve à leurs égards. Je vous exprime toute ma gratitude pour les sacrifices que vous avez consentis. Vous m'avez donné toute l'attention et tout l'amour.

A mes frères : **TAREK IMAD** et **ABDENNOUR**

A mon sœur : **RANIA**

A toute la famille : **ROUABHIA**

A ma professeure **BOUKHALFA MARWA** Je ne vous oublierai jamais. Votre amour pour votre métier, votre rigueur et sympathie me marqueront à jamais. Votre présence dans ma vie a constitué une réelle différence. Que dieu vous procure santé et bonheur. je vous respecte beaucoup ma plus belle prof dans ma vie.

A mes Amis : **GATTAL HAROUNE ; SALHI ABEDHAMIDE ; MBARKI FARES....**

A mes collègues de promotion de la classe de 2ème année Master Toxicologique.

Je souhaite pour vous la santé et le succès.

Par : **ZIAD**

Dédicace

Louange à Dieu, qui ma donné la force pour accomplir ce modeste travail que je dédie :

A mon père et ma mère, cause de mon existence et qui m'ont entourés de leur amours pour que je me rende joyeuse et comblée et que je puisse m'épanouir dans un bonheur ordent.

A mon frère : Hamza.

A mes sœurs : Nesrine, Souhaïla.

A mes jumeaux : Chaïma et Amîna.

A mes oncles, mes cousins et leurs enfants , surtout mon oncle Djamel.

Et aussi mes chers amis : Randa Mecheri, Ahlem Touati, Khaoula Saadi, Hadjer Gheraibia, Maroua Laidoudi, Hanine Bouhanguel, Bouthaina Dergham, Belkays Mezghiche, Moufida Ghenayete, Djoumana Ghenayet et Razane Ghenayet.

A mes collègues : Abir Khelifi, Youssra Lebiod, Dalel Hadji, Salah Aissaoui, Haroune Gattal et Ziad Rouabhia.

«A la bonne âme de ma grand-mère « Houria » qui attendait toujours ce jour et qui croyait en moi. Je lui dis que ta vision a commencé à se réaliser, j'ai commencé à m'épanouir».

Tout simplement à tous qui ayant un espace dans mon cœur et à tous ceux que je connaissais et m'ont inspiré à être patient, à lutter et à me faire confiance.

Hana

Résumé

Résumé

L'objectif de cette étude était de déterminer la toxicité des nanoparticules de dioxyde de titane (TiO₂) sur le système hépatique chez les rats Wistar et d'évaluer le potentiel protecteur de l'huile essentielle de *Thymus numidicus*.

L'étude a été réalisée pendant 30 jours sur 28 rats répartis en quatre groupes (7 rats dans chacun) : (i) un groupe témoin, (ii) un groupe traité par dioxyde de titane (12 µg/kg/J), (iii) un groupe traité par l'huile essentielle de *Thymus nimidicus Poiret* (10 µl/kg/J) et (iv) un groupe traité par la mixture HE du thym et au dioxyde de titane mêmes doses. Le poids relatif du foie et la concentration en 03 métabolites primaires protéines, lipides et glucides ; ont été utilisées comme biomarqueurs de toxicité.

Nos résultats montrent que la présence des nanoparticules métalliques de TiO₂ provoque une augmentation significative du poids relatif du foie et des perturbations diverses du taux de protéines, lipides et glucides ; ce qui confirme le caractère toxique des nanoparticules de TiO₂ à la dose étudiée. D'une autre part, l'utilisation de l'huile essentielle de *Thymus numidicus* comme agent protecteur a permis la restauration des valeurs physiologiques normale et ce pour tous les paramètres étudiés.

Mots clés : Nanoparticules, Dioxyde de titane, *Thymus nimidicus Poiret*, Rat Wistar, Glucide, Lipide, Protéine.

Abstract:

The objective of this study was to determine the toxicity of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles on the hepatic system in *Wistar* rats and to evaluate the protective potential of *Thymus numidicus* essential oil.

The study was carried out for 30 days on 28 rats divided into four groups (7 rats in each): (i) a control group, (ii) a group treated with titanium dioxide (12 µg/kg/d), (iii) a group treated with the essential oil of *Thymus numidicus* Poiret (10 µl/kg/d) and (iv) a group treated with the HE mixture of thyme and titanium dioxide at the same doses. The relative weight of the liver and the concentration of 03 primary protein, lipid and carbohydrate metabolites; were used as biomarkers of toxicity.

Our results show that the presence of metal nanoparticles of TiO₂ causes a significant increase in the relative weight of the liver and various disturbances in the level of proteins, lipids and carbohydrates; which confirms the toxic nature of the TiO₂ nanoparticles at the dose studied. On the other hand, the use of essential oil of *Thymus numidicus* as a protective agent allowed the restoration of normal physiological values for all the parameters studied.

Keywords: Nanoparticles, Titanium dioxide, *Thymus numidicus* Poiret, *Wistar* rat, Carbohydrate, Lipid, Protein.

ملخص:

كان الهدف من هذه الدراسة هو تحديد سمية جزيئات ثاني أكسيد التيتانيوم (TiO_2) النانوية على الجهاز الكبدي في فئران ويستار وتقييم القدرة الوقائية للزيت العطري *Thymus numidicus*.

أجريت الدراسة لمدة 30 يومًا على 28 جردًا مقسمة إلى أربع مجموعات (7 فئران في كل منها): (1) مجموعة تحكم ، (2) مجموعة عولجت بثاني أكسيد التيتانيوم (12 ميكروغرام / كجم / يوم) ، (3) مجموعة عولجت بالزيت العطري من *Thymus numidicus* Poiret 10 ميكروولتر / كجم / د) و (4) مجموعة عولجت بخليط HE من الزعتر وثاني أكسيد التيتانيوم بنفس الجرعات. الوزن النسبي للكبد وتركيز 03 مستقلبات البروتين الأساسي والدهون والكربوهيدرات ؛ تم استخدامها كمؤشرات حيوية للسمية.

تظهر نتائجنا أن وجود الجسيمات النانوية المعدنية من TiO_2 يسبب زيادة كبيرة في الوزن النسبي للكبد واضطرابات مختلفة في مستوى البروتينات والدهون والكربوهيدرات. مما يؤكد الطبيعة السامة للجسيمات النانوية TiO_2 عند الجرعة المدروسة. من ناحية أخرى ، سمح استخدام الزيت العطري من *Thymus numidicus* كعامل وقائي باستعادة القيم الفسيولوجية الطبيعية لجميع المعلمات المدروسة.

الكلمات المفتاحية: الجسيمات النانوية ، ثاني أكسيد التيتانيوم ، الغدة الصعترية النيميدية ، فأر ويستار ، كربوهيدرات ، دهون ، بروتين..

Liste d'abréviation

Abréviation	Signification
ADN	Acide désoxyribonucléique.
ClOH	Hypochlorite
EOA	Espèces oxygénées activées
ERO	Espèce réactive oxygénées
GPxs	Glutathions peroxydases
GST	Glutathion S-transférase
HOO°	Radicale hydroperoxyde
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
MWCNT	Multi-wall carbon nanotubes
NO°	Radical oxyde nitrique
NPM	Nanoparticules manufacturées
NPs	Nanoparticules
O ₂	Oxygène moléculaire
¹ O ₂	Dioxygène singulet

O ₃	Ozone
OH	Radicale hydroxyle
ONOO°	Peroxinitrite
PUF	Particules ultrafines
R0°	Radicale alkoxye
ROO°	Radicale peroxye
ROOH	Hydroperoxyde
ROS	Espèce réactive oxygénées.
SOD	Superoxydesdismutases
SWCNT	Single-wall carbon nanotubes
TiO ₂	Oxyde de titane
UV	Ultraviolette

Liste des figures :

N°	Liste des figures :	Page
01	Mécanismes d'action des nanoparticules (NPs) manufacturées.	08
02	Les structures cristallines du TiO ₂ anatase (a), rutile (b) et brookite (c).	09
03	Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.	13
04	Production d'anion superoxyde dans la chaîne respiratoire mitochondrial.	15
05	Réseau des antioxydants.	17
06	Les réactions d'élimination des radicaux lipidiques par les vitamines E et C.	19
07	Différentes cibles des espèces réactives de l'oxygène.	20
08	<i>Tymus numidicus</i> Poiret.	23
09	Illustration de la plante de <i>Thymus numidicus</i> Poiret.	29
10	Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger.	30
11	Dioxyde de titane sous forme poudre.	31
12	Traitement des rats par gavage à partir d'une sonde.	32
13	Dissection des rats et isolement des foies.	33
14	Schéma récapitulatif des étapes du protocole expérimental utilisé.	34
5	Principales étapes d'extraction des métabolites: protéines, glucides et lipides.	36
16	Variation du poids relatif du foie (g/100g PC) chez les rats témoins et traités après.	40

17	Variation du taux de glucides en ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du foie chez les rats témoins et traités après 30 jours de traitement.	41
18	Variation du taux de lipides en ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du foie chez les rats témoins et traités après 30 jours de traitement.	42
19	Variation du taux des protéines en ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du foie chez les rats témoins et traités après 30 jours de traitement.	43

Liste des tableaux :

N°	Titre des tableaux :	Page
01	Exemples de champs d'application en fonction du type de nanoparticule.	07
02	Propriétés physiques des 3 formes cristallines du TiO ₂ .	10
03	Récapitulatif des applications du TiO ₂ .	11
04	Les espèces réactifs de l'oxygène radicalaire et non radicalaire.	14
05	Répartition géographique en Algérie.	23
06	Place dans la systématique.	27
07	Composition de l'alimentation pour 1 Kg d'aliment (ONAB).	32
08	Dosage des protéines: réalisation de la gamme d'étalonnage.	37
09	Dosage des glucides: réalisation de la gamme d'étalonnage.	38
10	Dosage des lipides: réalisation de la gamme d'étalonnage.	38

Sommaire

REMERCIEMENT

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste d'abréviation

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
1. Définitions	2
1.1 Les nanoparticules.....	2
1.2. La nanobiologie.....	2
1.3. La nanotoxicologie	3
2. Effets biologiques possibles des NPs	3
3. Les voies d'exposition humaine aux nanoparticules	3
4. Les utilisations des nanoparticules	4
5. Les différents types de nanoparticules	4
5.1. Les nanoparticules naturelles	4
5.2. Les nanoparticules produites par l'homme	5
5.3. Les nanoparticules produites par l'homme de façon intentionnelle (ou nanoparticules manufacturées).....	5
6. Mécanismes d'action des nanoparticules	7
7. Cas de nanoparticule du dioxyde de titane	8
8. Propriétés structurales de dioxyde de titane :	9
9. Domaine d'utilisation du dioxyde de titane	11
10. Toxicité de dioxyde de titane.....	11
Le stress oxydatif :.....	13
1. Espèces réactives d'oxygène.....	13
2. L'origine des espèces réactives de l'oxygène :	14
3. Rôle des espèces réactives de l'oxygène	15
4. Systèmes de défense anti-oxydants :.....	16
5 -Système antioxydant systématique :	17
5.1 System antioxydant enzymatique :.....	17
5.2 System antioxydant non enzymatique :	19

5.2.2 Les oligoéléments :	19
6-Effets du stress oxydant sur les structures moléculaires :	20
6.1 ADN (acide désoxyribonucléique) :	21
6.2 Lipides	21
6.3 Les protéines	21
Le genre <i>Thymus</i>	22
1. Origine du nom	22
2. Historique de l'utilisation du <i>Thym</i> en phytothérapie	22
3. Distribution géographique :	22
4. Classification de chimiotypes des <i>Thyms</i>	24
5. Principes actifs du <i>Thym</i>	25
6. Propriétés thérapeutiques de cette plante.....	25
7. <i>Thymus numidicus</i>	26
7.1. Position systématique	26
7.2. Description botanique.....	27
7.3. Composition de l'huile essentielle du <i>Tymus numidicus</i>	28
7.4. Propriétés thérapeutiques de cette plante	28
Partie Pratique	29
Matériels et méthodes :	29
I. Matériels.....	29
Matériel végétal	29
1.1 Extraction de l'huile essentielle de <i>Thymus numidicus</i>	29
1.2 Calcul du rendement d'extraction	30
2. Matériel chimique	31
3. Matériel biologique et conditions d'élevage.....	31
3.1 Traitement des rats :	32
3.2. Sacrifices :.....	33
3.3. Prélèvement du foie :	33
4. Étude pondérale :	35
4.1 suivie du poids corporel des rats	35
4.2 Le poids relatif du foie.....	35
5.. Paramètres biochimiques	36
5.1. Dosage des protéines	37
5.2. Dosage des glucides	37
5.3. Dosage des lipides	38
6. Analyse statistique :	39

1. Variation du poids relatif du foie :.....	40
2. Glucides :.....	41
3.Lipides :.....	42
4. Protéine :	43
Discussion :.....	44
Conclusion	48
Référence bibliographie	49

INTRODUCTION
GENERALE

Introduction

Les nanotechnologies constituent un champ de recherche multidisciplinaire impliquant l'utilisation de nouveaux dispositifs permettant d'étudier la matière au niveau moléculaire ou supramoléculaire : les échelles caractéristiques des nanotechnologies vont de 1 à 100 nanomètres (nm). À ces échelles, la matière acquiert des propriétés inattendues et souvent différentes de celles des mêmes matériaux à l'échelle micro- ou macroscopique : il convient de les considérer comme de nouveaux composés chimiques dont les caractéristiques et les toxicités sont différentes (**Chuto ;2010**)

Les nanoparticules (NP) sont des structures composées de quelques centaines à quelques milliers d'atomes. Du fait de leur taille (1 à 100 nanomètres), les propriétés physiques et chimiques de ces nano-objets sont différentes de celles des matériaux classiques. Leur champ de développement est extrêmement vaste et inclut la recherche médicale : on peut différencier deux grands groupes, les NP organiques (système micellaire, NP à base de polymères, nanotubes de carbone, fullerènes) et les NP inorganiques (quantum dots, NP d'oxyde de fer magnétique, sondes Raman). La polyvalence de ces NP est grande car elles peuvent être conçues et modelées pour servir de vecteurs de médicaments (thérapeutique), de sondes d'imagerie (diagnostique), voire les deux à la fois (théranostique). (**Chuto ; 2010**)

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

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

Le premier chapitre décrit les notions sur les nanoparticules en général plus particulièrement le dioxyde de titane. Le deuxième chapitre porte sur le stress oxydatif, les Espèces Réactives à l'Oxygène (EROs) et leurs origines mais aussi le système antioxydant enzymatique et non enzymatique. L'espèce *Thymus numidicus Poiret*.

La deuxième partie a été consacrée à l'étude expérimentale *In-Vivo* en explorant les effets toxiques des NPs du dioxyde de titane, sur les systèmes hépatique et rénal d'un mammifère modèle de l'expérimentation animal ; le rat *Wistar*. Et ce à travers une étude portant sur les variations du poids et d'autres paramètres physiologiques et biochimiques (glucose, protéine lipide).

PARTIE
THEORIQUE

1. Définitions

La nanotechnologie regroupe l'ensemble des savoir-faire permettant d'observer, de manipuler, de fabriquer, de modifier, de façonner la matière jusqu'à des dimensions voisines du nanomètre (**Florin et al., 2008**) Leurs applications biomédicales pour la recherche in vitro et in vivo chez l'animal apportent de nouveaux outils extrêmement utiles pour la compréhension des phénomènes biologiques et le développement de nouvelles méthodes thérapeutiques et diagnostiques.

1.1 Les nanoparticules

Une nanoparticule est définie comme étant une particule dont au moins une direction de l'espace a une dimension inférieure à 100 nm. (**Lanone et al.,2010**)

Les nanoparticules présentent donc des surfaces d'échanges (surface spécifique) très importantes, de plusieurs centaines de mètres carrés par gramme de particule. Cette surface d'échange très importante confère aux nanoparticules des propriétés physiques et chimiques particulières qui peuvent entraîner des effets biologiques propres, qui restent encore largement incompris, si elles rentrent en contact avec le vivant. La réactivité de surface des nanoparticules, qui augmente alors que décroît la taille de la particule, laisse prévoir qu'elles auront une activité biologique plus importante, à masse comparable, que les particules plus grosses. Cela peut être favorable et être utilisé dans des approches thérapeutiques (transporteurs de médicaments pour leur capacité à franchir les barrières biologiques). Cela peut être au contraire défavorable et engendrer une toxicité associée à leur capacité à générer un stress oxydant et à se disperser dans l'organisme. (**Lanone et al.,2010**)

1.2. La nanobiologie

La nanobiologie est une des branches de recherche de la nanoscience et regroupe les chimistes, biologistes, médecins et pharmaciens. Une revue exhaustive des différents types de nanoparticules (NP) et de leurs applications étant impossibles, seules les principales NP utilisées en médecine in vitro et en imagerie cellulaire in vivo et in vitro, ainsi que leur stade de développement clinique, seront décrites. La polyvalence de ces NP est grande car elles peuvent être conçues et modelées pour servir comme vecteurs de substances (thérapeutique),

de sondes d'imagerie (diagnostique), voire les deux à la fois (théranostique) . (**Chuto et al.,2010**)

1.3. La nanotoxicologie

discipline nouvelle, visant à évaluer précisément les dangers liés aux nanotechnologies, ne semble pas obéir aux mêmes règles que la toxicologie classique . La caractérisation physico-chimique des NPs est une étape fondamentale pour l'évaluation de leur toxicité . En effet, la variation de taille, de spéciation, de phase, peut modifier leur pharmacocinétique et influencer leur toxicité . (**Greco et al.,2015**)

2. Effets biologiques possibles des NPs

Après leur entrée dans l'organisme, les voies de translocation et de distribution des NPs aux organes cibles, leurs effets toxiques et leurs voies d'excrétion dépendent notamment de leur taille, de leur forme, de leur état d'oxydation et des phénomènes d'adsorption à leur surface . Pour un même type de NP, l'effet peut également varier si la taille ou l'état d'oxydation change. Après passage des barrières biologiques, les NPs peuvent atteindre des organes cibles et exercer leur toxicité .

Plusieurs mécanismes de toxicité sont avancés :

- Génotoxicité par interaction directe des NPs avec l'ADN ou les organites cellulaires intervenant dans le cycle cellulaire, ou de manière indirecte par modification de la balance redox entraînant la formation de radicaux libres à l'origine de lésions à l'ADN ou altérant les mécanismes de réparation à l'ADN.

- Cytotoxicité liée à une inflammation chronique entretenue par la production d'espèces réactives de l'oxygène après endocytose/phagocytose des NPs. (**Greco et al., 2015**).

3. Les voies d'exposition humaine aux nanoparticules

L'homme est donc multi-exposé dans son quotidien aux NPs. Les voies d'exposition principales sont les voies respiratoire, digestive, et transcutanée. Avec l'émergence de la nanomédecine , la voie sanguine représenté également une porte d'entrée des NPs dans

l'organisme

La production de NPs engendre également une exposition professionnelle, principalement pulmonaire. L'exposition professionnelle est en augmentation à la fois dans le secteur industriel (augmentation de la production et de l'utilisation des NPs dans différents procédés de fabrication) et dans le secteur de la recherche.

En médecine, l'utilisation des NPs offre de nombreux espoirs tant sur le plan diagnostique que thérapeutique, en particulier dans les maladies chroniques inflammatoires et les cancers. Les NPs pourraient être utilisées comme agents de contraste en radiologie et sont à l'étude comme vecteur permettant de cibler spécifiquement les pathogènes intracellulaires viraux ou bactériens.

En effet, la voie d'exposition, les modes de translocation et de dispersion des NPs aux différents organes cibles, ainsi que leur clairance sont autant de données indispensables dans leur évaluation toxicologique. (Greco *et al.*, 2015)

4. Les utilisations des nanoparticules

La taille nanométrique, le ratio surface/volume élevé des NPs, la complexité chimique, la nature et l'expansion des faces minéralogiques leur confèrent des propriétés magnétiques, de résistance mécanique, de réactivité chimique, de conductivité thermique qui permettent de nombreuses applications dans des domaines très variés. Les domaines du textile, des cosmétiques, de l'alimentation, de l'imagerie médicale, de la vectorisation de médicament, de l'environnement, de l'électronique, de la chimie, du bâtiment. . . Font appel aux nanotechnologies. (Greco *et al.*, 2015)

5. Les différents types de nanoparticules

5.1. Les nanoparticules naturelles

Un grand nombre de nanoparticules d'origine naturelle sont présentes dans l'environnement (poussières émises par combustion ou par les volcans, produites par érosion). Parmi elles, on note les imogolites et allophanes, nanoparticules naturelles qui se présentent sous la forme de tubes (imogolites) ou une forme décrite comme sphérique mais dont la structure reste imprécise (allophanes). Les imogolites et allophanes sont des aluminosilicates

structurés à courte distance résultant de l'altération de verres et de cendres volcaniques. **(Lanone et al.,2010)**

5.2. Les nanoparticules produites par l'homme

Dans cette catégorie nous retrouvons les particules atmosphériques « ultrafines » (PUF). L'exposition humaine à des PUF est devenue au cours des dernières années une question importante de santé publique, mise en lumière par l'analyse de la composition des particules atmosphériques et de leurs effets biologiques. En milieu urbain, les PUF peuvent être formées de plus de 80 % de suies fines (inférieur à 1 µm) et ultrafines provenant de la combustion des carburants fossiles.

Ces particules, émises notamment par les véhicules Diesel, les véhicules à essence et les chauffages urbains, ont rapidement été suspectées être à l'origine de la morbidité et de la mortalité cardiorespiratoires observées dans les études épidémiologiques sur les effets à court terme de la pollution atmosphérique. **(Lanone et al.,2010).**

Elles seraient principalement à l'origine de réponses inflammatoires pouvant aggraver des pathologies pulmonaires telles que l'asthme Elles auraient également un effet prothrombotique et pourraient être à l'origine d'athérosclérose et de pathologies cardiovasculaires. **(Lanone et al.,2010)**

5.3. Les nanoparticules produites par l'homme de façon intentionnelle (ou nanoparticules manufacturées)

Le développement récent des nanotechnologies, regroupement de l'ensemble des techniques visant à concevoir, caractériser et produire des matériaux à l'échelle du nanomètre, a commencé à élargir les sources de nanoparticules avec la production accrue de nanomatériaux manufacturés, dont des nanoparticules manufacturées (NPM). En raison des propriétés nouvelles des matériaux ainsi produits, les nanotechnologies connaissent un essor particulièrement important depuis ces dernières années à l'échelle internationale, où l'on observe un investissement grandissant de la part de pays de plus en plus nombreux. **(Lanone et al.,2010)**

Des différences existent entre les PUF et NPM, les premières ayant généralement une assez large distribution de taille et une composition chimique complexe alors que les secondes ont souvent une distribution étroite et une composition chimique définie.

Très schématiquement, il existe des NPM métalliques (dioxyde de titane et de zinc, par

exemple) et des NPM carbonées. Parmi celles-ci, les nanotubes de carbone occupent une importance. Il existe principalement deux catégories de nanotubes de carbone : les single-wall carbon nanotubes (SWCNT) composés d'un seul feuillet de graphène et les multi-wall carbon nanotubes (MWCNT) constitués de plusieurs feuillets emboîtés les uns dans les autres comme des poupées russes. (**Lanone et al.,2010**)

Outre des utilisations industrielles, l'emploi des nanotubes de carbone en médecine est une perspective intéressante. Ils pourraient servir par exemple pour le transport et la délivrance d'agents médicamenteux à l'intérieur des cellules. Les nanotubes de carbone très attractifs posent des questions sur leur potentielle de toxicité, leurs effets secondaires à long terme ou encore leur biodégradabilité. Ces questions constituent un champ de recherche en plein développement.. (**Lanone et al.,2010**).

Tableau 01 : Exemples de champs d'application en fonction du type de nanoparticule(**Greco et al.,2015**).

Champ d'application	Type de NPs	Propriétés
Transports Revêtements Energie Vectorisation de médicaments Imagerie	Nanotubes de carbone	Résistance mécanique (60 fois supérieure aux meilleurs aciers) Légèreté Dissipation électrostatique
Industrie électronique Cosmétique : crèmes solaires, laques Peintures	Fullerènes NPs dioxyde de titane	Supraconductivité Filtre UV Photocatalytique
Pots d'échappement catalytiques – Accélérations des réactions chimiques dans l'industrie (oxydation du monoxyde de carbone)	NPs d'or	Catalytique
Textiles à usage clinique Pansements Traitement de surfaces	NPs d'argent	Antibactérien
Additif dans les carburants diesel De pollution des eaux usées et des sols	NPs de dioxyde de cérium NPs de fer, NPs	Catalytiques Membrane

<p>Additif alimentaire Pneumatiques</p> <p>Revêtements voitures, produits d'entretien ménagers</p> <p>Nanomédecine : vecteurs d'antibiotique pour pathogènes intracellulaires, imagerie et ciblage tumoral</p>	<p>d'aluminium</p> <p>NPs de silices amorphes</p> <p>NPs de silice, d'aluminium, zirconium NPs-PLGA,</p> <p>NPs superparamagnétique iron oxyde</p>	<p>« filtrantes», nano-adsorbants</p> <p>Antiagglomérant Modificateur de viscosité</p> <p>Propriétés antiabrasives et antiadhésives Enrobage biocompatible et biodégradable</p> <p>Propriété magnétique Passage des barrières biologiques</p>
--	--	---

6. Mécanismes d'action des nanoparticules

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

Quand elle n'est pas contrôlée par les systèmes de protection de la cellule, enzymes ou petites molécules antioxydantes, elle conduit au stress oxydant. Le niveau de production de

radicaux libres serait à l'origine d'une réponse par étape. À un niveau mineur la protection anti_ oxydante est activée, quand la production de radicaux libres atteint un niveau plus important elle induit une réponse inflammatoire niveau très élevé les dommages cellulaires peuvent conduire à la mort par nécrose ou apoptose, (Marano,2011).

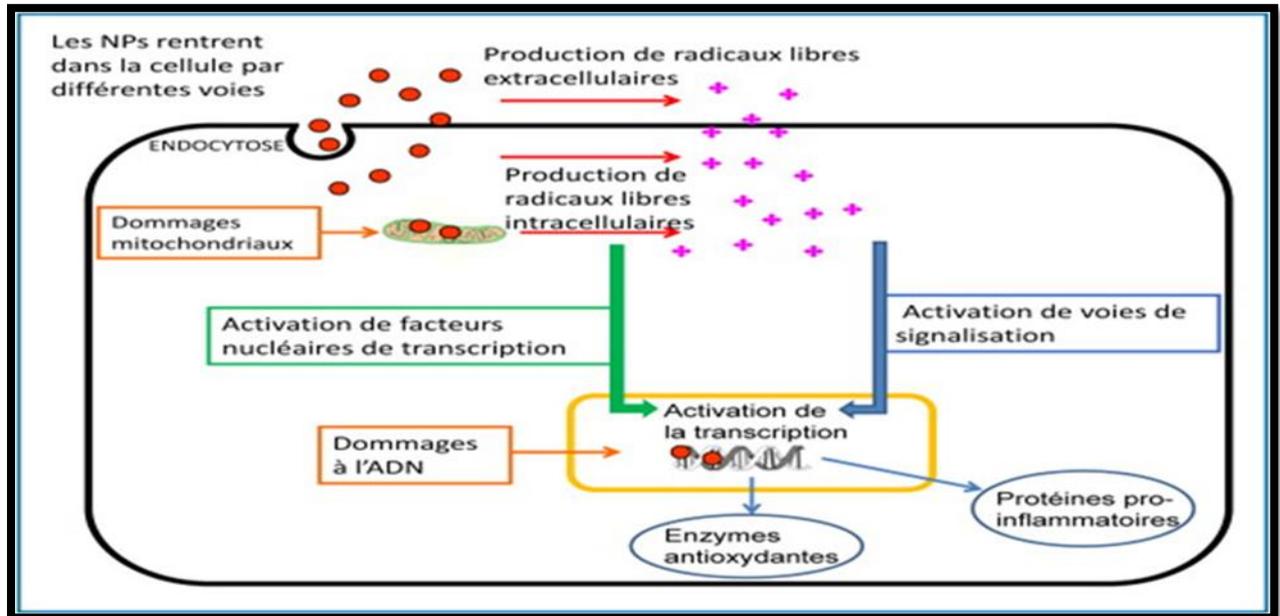


Figure 01 : Mécanismes d'action des nanoparticules (NPs) manufacturées, (Marano F ,2011).

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

7. Cas de nanoparticule du dioxyde de titane

Le dioxyde de titaneProduit à partir du titane, le cinquième élément le plus abondant sur la planète, le dioxyde de titane représente une production de 7 200 000 tonnes/an. Il est recherché pour ses propriétés d'indice de réfraction ainsi que sa stabilité biologique et chimique. Il est traditionnellement utilisé comme pigment dans les revêtements de surface (peintures, vernis et laques), plastiques, papiers et, de façon moins importante, dans les fibres,

caoutchoucs, cuirs, céramiques, encres d'imprimerie, cosmétiques, savons, médicaments et certains produits alimentaires, mais également comme support de catalyse, **(Inc,2011)**.

Environ 0,7% de la production de TiO_2 comprend la fabrication de nano- TiO_2 . Le nano- TiO_2 n'est pas inerte et atténue la radiation ultraviolette (UV). Il est utilisé comme filtre UV (crèmes solaires, cosmétiques, plastiques) et comme catalyseur (produits autonettoyants, filtration de l'air, assainissement de l'environnement)**(Inc, 2011)**.

8. Propriétés structurales de dioxyde de titane :

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

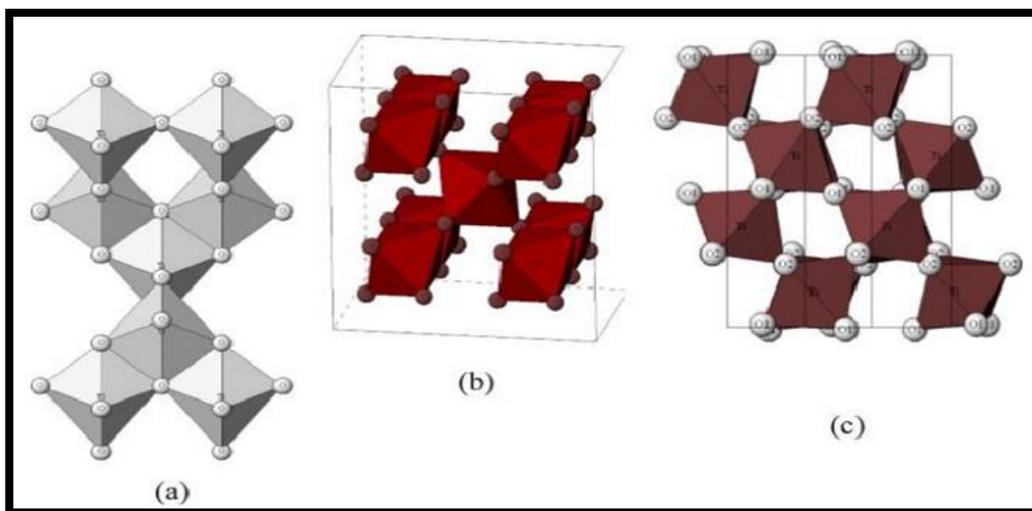


Figure 02 : Les structures cristallines du TiO_2 anatase (a), rutile (b) et brookite (c), **(Pelaez, 2012)**

Tableau 02 : Propriétés physiques des 3 formes cristallines du TiO₂ (INRS, 2013).

Nom Substance	Détails	
Rutile	N° CAS	1317-80-2
	Etat Physique	Solide
	Masse molaire	79,9
	Point de fusion	1 830 - 1 855 °C (avec décomposition à 1 860 °C)
	Point d'ébullition	à partir de 2 500 °C
	Densité	4,13 - 4,24
Anatase	N° CAS	1317-70-0
	Etat Physique	Solide
	Masse molaire	79,9
	Point de fusion	Se transforme en rutile à partir de 915 °C
	Point d'ébullition	à partir de 2 500 °C
	Densité	3,8 - 3,9
Brookite	N° CAS	12188-41-9
	Etat Physique	Solide
	Masse molaire	79,9
	Point de fusion	Se transforme en rutile à partir de 750 °C
	Point d'ébullition	à partir de 2 500 °C
	Densité	4,13

9. Domaine d'utilisation du dioxyde titane

Tableau 03 : Récapitulatif des applications du TiO₂ (Guitou, 2014).

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

10. Toxicité de dioxyde de titane

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

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

programmée) sur une courte période d'exposition. Pour les nanoparticules de TiO₂, c'est à la suite d'une exposition longue et répétée que survient un stress oxydant à l'origine d'effets cytotoxiques in vitro. L'analyse de l'impact des nanoparticules menée in vitro permet donc une approche toxicologique adaptée à la détermination des mécanismes moléculaires et cellulaire (**Guitou,2014**).

Le stress oxydatif :

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

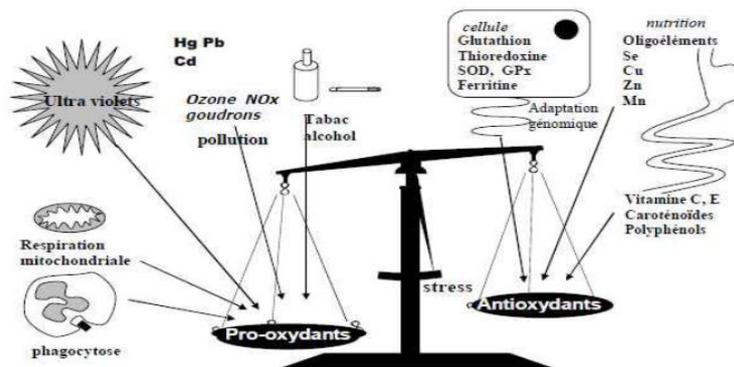


Figure 03: Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006)

1. Espèces réactives d'oxygène

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

Tableau 04 : les espèces réactifs de l'oxygène radicalaire et non radicalaire (**Halliwell, 2006**).

ERO (radicalaire)	Formule chimique
Oxygène moléculaire	O ₂
Dioxygène singulet	¹ O ₂
Anion superoxyde	^o O ₂ ⁻
Radical hydroxyle	^o OH
Radical hydroperoxyde	HOO ^o
Radical peroxyde	ROO ^o
Radical alkoxyde	RO ^o
Radical oxyde nitrique	NO ^o
Peroxinitrite	ONOO ^o
ERO (non radicalaire)	Formule chimique
Hydroperoxyde	ROOH
Hypochlorite	ClOH
Ozone	O ₃
Peroxyde d'hydrogène	H ₂ O ₂

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

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

transport peut intervenir aux niveaux des complexes I et III. Cette fuite d'électron est une source majeure d'EROs dans la cellule (Nohl *et al.*, 2005).

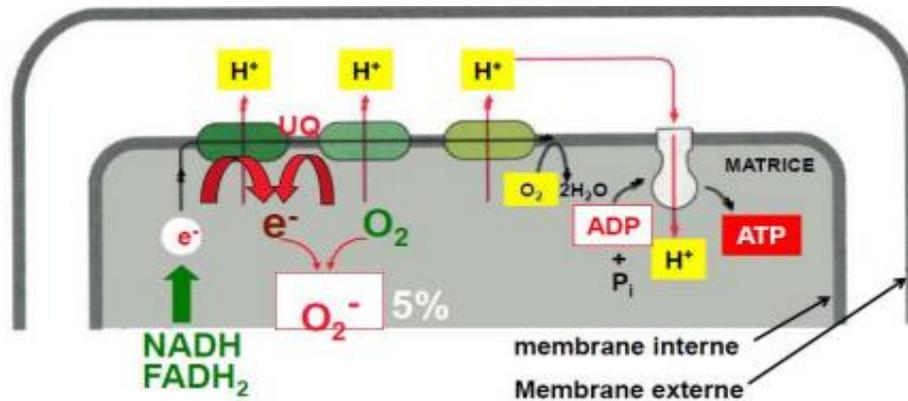


Figure 04 : Production d'anion superoxyde dans la chaîne respiratoire mitochondriale

(Alberts *et al.*, 2009).

3. Rôle des espèces réactives de l'oxygène :

Le rôle des EOA est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans des conditions normales, elles sont générées en faible quantité et jouent un rôle de messagers secondaires capables, notamment, de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription. Citons aussi le processus de fécondation, au cours duquel les spermatozoïdes sécrètent de grandes quantités d'EOA pour percer la paroi membranaire de l'ovule. (Haleng *et al.*, 2007)

Le monoxyde d'azote radicalaire ou NO^\bullet est un composé important; il est notamment synthétisé par les cellules endothéliales via l'action de NO synthétases sur la L-arginine. C'est une molécule labile très diffusible, dont les effets régulateurs s'exercent sur la plupart des fonctions physiologiques de l'organisme (maintien du tonus vasculaire, neurotransmission, fonctionnement rénal ...). Toutefois, le NO^\bullet peut former avec l'anion superoxyde le peroxynitrite ($HOONO$), un oxydant puissant et diffusible, capable d'endommager de nombreuses molécules organiques. Formés en trop grande quantité, les EOA deviennent «pathologiques» en activant l'expression de gènes codant pour des cytokines pro-inflammatoires ou des protéines d'adhésion. (Haleng *et al.*, 2007)

En outre, leur nature instable les rend très réactifs vis-à-vis de substrats biologiques et capables d'induire des modifications oxydatives délétères potentiellement impliquées dans l'apparition de pathologies. (Haleng et al.,2007)

4. Systèmes de défense anti-oxydants :

Les systèmes de défense anti-oxydants comportent :

- Des enzymes, telles que la superoxyde dismutase , la catalase , la peroxydase , capables d'éliminer de façon catalytique des radicaux libres et d'autres «espèces réactives».
- Des protéines, (transferrine, haptoglobine métallothionéine), qui diminuent la disponibilité des pro-oxydants tels que les ions Fe^{2+}/Fe^{3+} , Cu^{2+}/Cu^{+} .
- Des protéines comme les protéines de choc thermique , protégeant les biomolécules contre les agressions , notamment les oxydations.
- Des composés de basse masse moléculaire (glutathion, α -tocophérol, acide ascorbique ; bilirubine , acide urique), capables de piéger les radicaux libres dérivés de l'oxygène et de l'azote.

La composition en anti-oxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires , et les et les mécanismes de protection sont différents dans les milieux intra- et extracellulaires .notons dès à présent que, les systèmes de défense n'assurant pas une protection complète , l'organisme doit disposer de systèmes de réparation afin d'éliminer les molécules endommagés. (Bonfont et al., biochimie pathologique,1987).

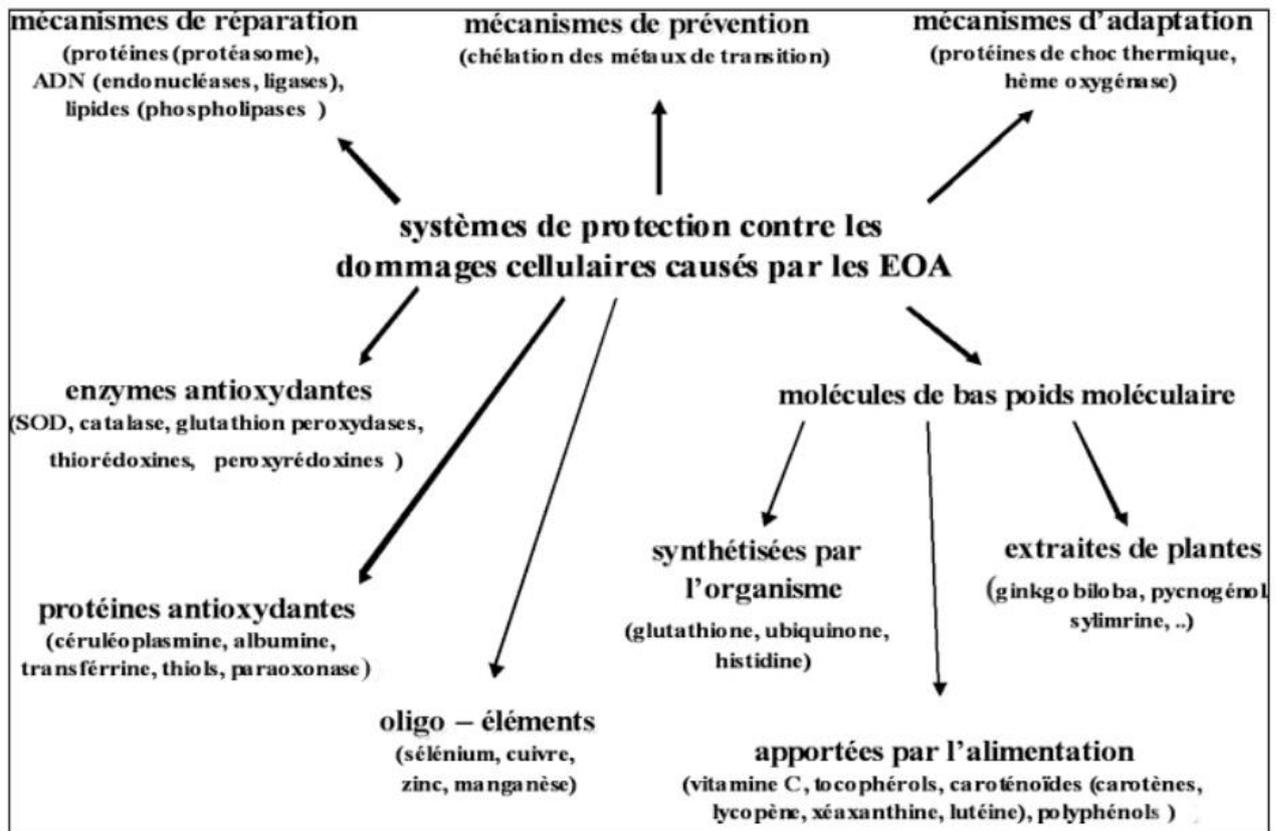


Figure 05 : Réseau des antioxydants (DEFRAIGNE et al.,2008)

5 -Système antioxydant systématique:

L'organisme est disposé d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO. Le système antioxydant capable de retardé ou inhibé significativement l'oxydation de substrat oxydable (Halliwell,1989).Les organismes disposent d'un arsenal de défenses antioxydants à la fois enzymatiques et non enzymatiques(Sies, 1991).

5.1 System antioxydant enzymatique :

5.1.1 Superoxy des dismutases (SOD) :

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



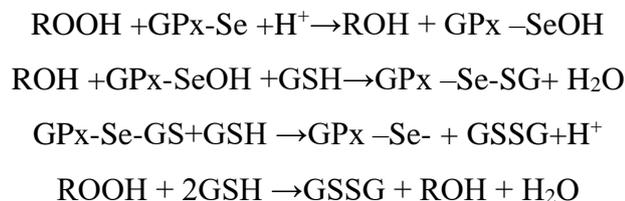
Le réactionnel est catalysé par un métal situé au centre de l'enzyme qui permet de distinguer la SOD à cuivre-zinc présent dans le cytoplasme (Cu-Zn SOD), la SOD à

manganèse (MnSOD) présent dans les mitochondries, et une SOD extracellulaire c'est une SOD à cuivre zinc, (CRAPO, 1996).

5.1.2 Glutathions peroxydases (GPxs) :

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

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



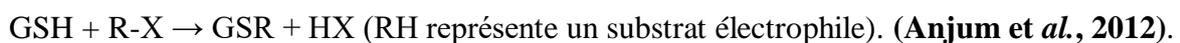
5.1.3 Catalase :

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



5.1.4 Glutathion S-transférase(GST) :

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



5.2 System antioxydant non enzymatique :

5.2.1 Le glutathion :

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

5.2.2 Les oligoéléments :

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

5.2.3 La vitamine C :

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

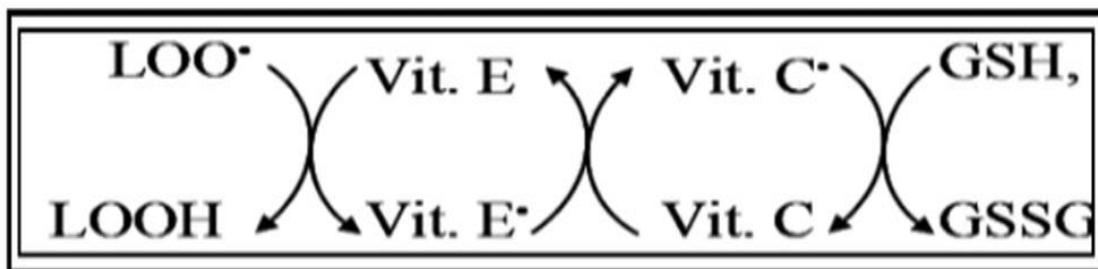


Figure 06 : Les réactions d'élimination des radicaux lipidiques par les vitamines E et C(**Gey et al., 1987**).

5.2.4 Polyphénol :

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

6-Effets du stress oxydant sur les structures moléculaires :

Lorsque la production des espèces radicalaires n'est pas adéquatement contrôlée par les mécanismes de protection ou de défense existants, il s'en suit un état de stress oxydant. Des molécules biologiques importantes pour le fonctionnement cellulaire constituent des cibles privilégiées des radicaux libres, en particulier les acides gras insaturés (constituants des phospholipides membranaires), les groupes thiols, les acides ribonucléiques et désoxyribonucléiques (figure07) (**Rilauwerys, 2007**).

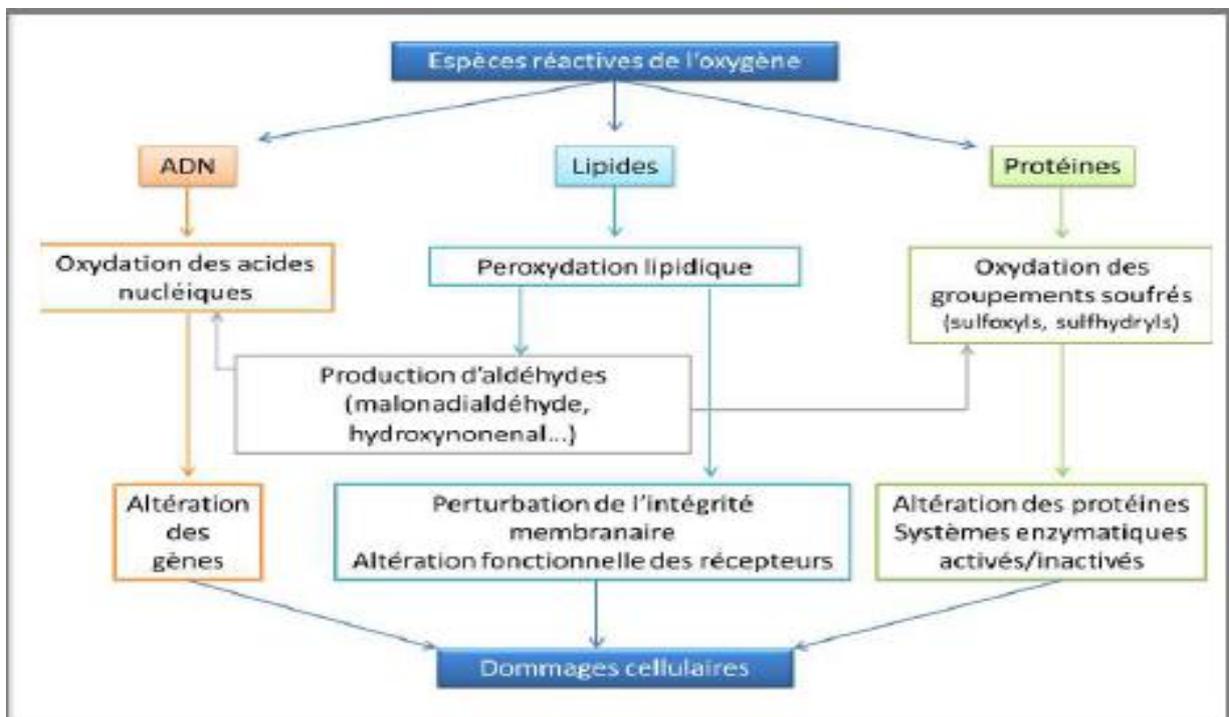


Figure 07: Différentes cibles des espèces réactives de l'oxygène (**Poisson, 2013**).

6.1 ADN (acide désoxyribonucléique) :

Les radicaux libres en général et les espèces réactives de l'oxygène en particulier peuvent causer d'importantes modifications au niveau des bases nucléotidiques (purines et pyrimidines). Les radicaux OH• sont parmi les radicaux les plus délétères du stress oxydatif, ils sont ainsi capables de réagir avec les désoxyriboses ou du phosphodiester de la molécule de l'ADN comme ils sont capables de s'ajouter sur les doubles liaisons des bases de l'ADN ou arracher un atome d'hydrogène des groupements méthyles ou des résidus désoxyribose (**Birben et al., 2012**). Grâce aux mécanismes d'excision et de resynthèse effectuées par des enzymes de réparation de l'ADN, les dégâts engendrés peuvent être réparés, mais lorsque ces systèmes de protection sont eux même atteints par l'oxydation, de graves altérations du matériel génétique sont induites, comme des mutations pouvant être à l'origine des cancers(**Birben et al., 2012**).

6.2 Lipides

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

6.3 Les protéines :

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

Le genre *Thymus*

Ce genre comprend près de 300 à 400 espèces. Les premiers travaux sur le *Thym* datent de 1924 où Ronniger¹ a étudié des populations britanniques de *Thymus* qu'il a divisées en un très grand nombre de micro-espèces. (Kabouche., 2005).

1. Origine du nom :

Le mot «*Thym*» provient du terme grec «*Thymos*» qui signifie «fumée» ,D'autres, enfin, font dériver le mot du grec *Thumus*, qui signifie «courage» (<http://www.passeportsante.net>).

2. Historique de l'utilisation du thym en phytothérapie :

Présente sur l'ensemble du bassin méditerranéen, la plante est utilisée depuis la très haute Antiquité, déjà à Sumer il y a 5 000 ans ou en Egypte afin d'embaumer les morts. Il est employé en Grèce ancienne afin de purifier l'air. De par ses origines mythologiques, il y symbolise aussi le courage. C'est surtout à partir du Moyen Age que ses vertus médicinales commencent à être reconnues, notamment pour lutter contre les épidémies, principalement de lèpre ou de peste. A partir du XVI^e siècle, il est signalé dans les traités de médecine pour traiter une large variété d'affections. Il faudra attendre le XIX^e siècle toutefois pour que ses composants actifs soient répertoriés, le *Thym* servant au siècle précédent surtout à des fins aromatiques. (<http://www.doctissimo.fr>).

3. Distribution géographique :

Dans le monde : il existe près de 350 espèces de *Thym* réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée. C'est un genre très répandu dans le nord-ouest africain (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye), il pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte (Mebarki., 2010).

En Algérie :Le thym, communément appelé 'Zaatar' en Algérie (Kabouche *et al.*, 2005 ;Miura *et al.*, 2002)est caractérisé par une grande extension : il pousse dans les montagnes et sur le littoral (Hilan *et al.*, 2010).

Le *Thym* comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides sa répartition géographique en Algérie, est représentée dans le Tableau 02 (Mebarki., 2010).



Figure 08 : *Thymus numidicus* Poiret (Kabouche, 2005).

Tableau 05 : Répartition géographique en Algérie (Mebarki, 2010)

Espèces	Découverte par	Localisation	Nom local
<i>Thymus capitatus</i>	Hoffman et Link	Rare dans la région de Tlemcen	Zaâteur
<i>Thymus fontanesii</i>	Boiss et Reuter	Commun dans le Tell, Endémique Est Algérie-Tunisie	Zaâteur
<i>Thymus commutatus</i>	Battandier	Endémique Oran	-
<i>Thymus numidicus</i>	Poiret	Assez rare dans le sous-secteur de l'atlas tellien ; la grande et la petite Kabylie ; de Skikda à la frontière tunisienne et tell constantinois	Tizaâtar
<i>Thymus guyonii</i>	Noé	Rare dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois, oranais et constantinois	-

<i>Thymus lancéolatus</i>	Desfontaine	Rare dans le secteur de l'atlas tellien (Terni de Médéa Benchicao) et dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois, oranais (Tiaret) et constantinois.	Zaâteur
<i>Thymus pallidus</i>	Coss	Très rare dans le sous-secteur de l'atlas saharien et constantinois	Tizerdite
<i>Thymus hirtus</i>	Willd	Commun sauf sur le littoral.	Djertilhamrya
<i>Thymus glandulosus</i>	Lag	Très rare dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois	-
<i>Thymus algériensis</i>	Boiss et Reuter	Très commun dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois et oranais	DjertilZaitra
<i>Thymus munbyanus</i>	Boiss et Reuter	Endémique dans le secteur nord algérois	Djertil

4. Classification de chimiotypes des *Thyms* :

La classification et la reconnaissance des thyms sont très complexes. Cent variétés sont actuellement connues, ils s'hybrident assez facilement et certaines espèces ne se différencient que par la variation de l'HE ou par la couleur des fleurs, la forme des feuilles et l'odeur, **englobe** sept grandes variétés (chimiotypes) de *Thyms* : Thymol, Linalol, Thujanol, Carvacrol, Géraniol, Alpha terpinéol et Paracymène.

- **Chimiotype thymol** : on le retrouve dans tous les types de sols où le thym peut évoluer, des sols extrêmement chauds et secs aux sols plus humides, particulièrement remarquable dans toutes les maladies infectieuses, les troubles broncho-pulmonaires, les diarrhées infectieuses et les grosses fatigues, c'est également un puissant désinfectant aérien.
- **Chimiotype Linalol**: réputé chasser les parasites intestinaux, les infections génitales, les vaginites et les mycoses, c'est un tonique utérin.

- **Chimiotype Thujanol:** une autre variété médicinale majeure, en particulier pour tout ce qui concerne les problèmes immunitaires (antivirales, antibactériens, antifongiques...) mais aussi et surtout pour les problèmes hépatiques, liés donc au foie et à la vésicule biliaire.
- **Chimiotype géraniole :**est, quand-à lui, moins efficace pour l'immunité, mais plus adapté aux jeunes enfants et pour les problèmes de peau.
- **Chimiotype Paracymène:**plus connu pour son action sur les douleurs ostéopathiques, l'arthrose, les rhumatismes, les névralgies diverses comme les névralgies dentaires.
- **Chimiotype Saturéole (à bornéole):** est particulièrement puissant pour les troubles immunitaires, c'est un antibactérien à très large spectre, d'ailleurs en aromathérapie le thym Saturéole est considéré comme une huile essentielle majeure et comme un puissant tonique général, ayant une action aphrodisiaque lié à sa tonicité, et très efficace pour tout ce qui concerne les troubles respiratoires.
- **Chimiotype Serpolet** (qui n'est pas du *Thymus vulgaris*): parmi les autres variétés de *Thym*, il existe le Serpolet (*Thymus serpyllum*), particulièrement efficace pour les maux de gorge, la toux et comme neurotonique (**Hilan et al., 2010; Ginseng, 2013**).

Les types γ - terpinène et p - cymène sont deux précurseurs de la biosynthèse végétale du thymol et du carvacrol. Les groupements *Thymol* et carvacrol sont installés sur des sols rouges, argileux, plus ou moins caillouteux, peu profonds et sont physiologiquement les plus secs de la région (**Hilan et al., 2010**).

5. Principes actifs du *Thym* :

- **Les acides phénoliques:** acide caféique, acide rosmarinique(**Zeghad., 2009**).
- **Les flavonoïdes:** hespéridine, eriotréicine, narirutine(**Zeghad, 2009**), Lutéoline(**Bazylo et Strzelecka., 2007**).
- **Les polyphénols:** tannin (**Zeghad., 2009**).

6. Propriétés thérapeutiques de cette plante :

- Le *Thym* utilisé principalement dans le domaine médical pour ses propriétés antiseptique, antispasmodique et antitussive (**Ben El Hadj et al., 2014**).

- Le *Thym* est la plante médicinale la plus utilisée en médecine traditionnelle algérienne comme expectorant, stomachique, carminatif et diurétique. Il est aussi utilisé comme condiment, En usage cosmétique (parfums, soins de beauté) (**Kabouche., 2005**).

Indiqué en cas d'infections respiratoires telles que la bronchite, la grippe, la toux et les maux de gorge. Ainsi, il est possible de l'employer dans un diffuseur de parfum pour désinfecter la chambre d'un malade (**Ginseng., 2013**).

- L'huile essentielle de *Thym* possède une activité antifongique (**Rubertoet al., 1993**) et caractérisée par un fort potentiel antimicrobien (**Cosentinoet al., 1999**).
- Effet antioxydant (**Economouet al., 1991**), liés principalement à la présence de composés phénoliques en grandes proportions dans cette huile essentielle. Le *Thymol*, le carvacrol et le p-cymène-2, 3-diol isolé à partir de l'huile essentielle du thym confirment également cette activité antioxydant (**Ternes et al., 1995**).

7. *Thymus numidicus* :

Thymus numidicus Poiret. (Lamiacées) est une plante largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne pour ses propriétés thérapeutiques (**Djeddiet al., 2015**).

Noms vernaculaires :

•En Français :

- *Thym* (**Mebarki., 2010**).

•En Arabe :

-*Tizaâtarte* (**Mebarki., 2010**).

-*Zaatar* (**Kaboucheet al., 2005**).

Nom scientifique :

Thumus numidicus (**Mebarki., 2010**).

7.1. position systématique :

Tableau 06 : Place dans la systématique (Mebarki., 2010).

Règne	Plante
Division	<i>Spermaphytes</i>
Subdivision	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédone</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiacées</i>
Genre	<i>Thymus</i>
Espèces	<i>Thymus numidicus Poiret</i>

7.2. Description botanique :

C'est un très petit arbuste, haut, de cinq à six pousses au plus, dont les racines font grêles, ses branches font chargées presque dès leurs base de rameaux nombreux, épars, presque'opposés, étalés, un peu anguleux, droit, légèrement pubescents à leur partie supérieure, garnis de feuilles opposées, presque sessiles, plus longues que les entre-nœuds très ouvertes, étroites, linéaires, très entières, glabres à leurs deux faces, rétrécis à leur base, aiguës à leurs sommet, longues de quatre à cinq lignes, larges d'un peu plus d'une demi-ligne.

Les fleurs font réunies à l'extrémité des rameaux en épis courts, capité, garnis de bractées ovales, lancéolées, aiguës, élargies à leur base, ciliées, ponctuées, le calice très velu coloré, à cinq dents sétacées, fortement ciliées de longs poils blanchâtres, la corolle petite, de couleur rose ou un peu purpurine, les étamines plus longues que la corolle, les anthères un peu globuleuses, à deux loges, le style presque de la même longueur que les étamines, deux stigmates aigus (**Benayache., 2013**).

Assez rare : dans le sous-secteur de l'atlas tellien, la grande et la petite Kabylie de Skikda à la frontière tunisienne, Tell constantinois. Il existe en Algérie et en Tunisie (**Mebarki., 2010**).

7.3. Composition de l'huile essentielle du *Tymus numidicus* :

40 composants, représentant 99.7% de l'huile essentielle du *Tymus numidicus*, ont été identifiés .Cette huile est majoritairement composée de thymol (68.2 %), carvacrol (16.9%) et de Linalol (11.5%).

L'huile essentielle du *T. numidicus*, présente les plus hauts pourcentages en thymol + carvacrol (68.2+16.9%), jamais observés, dans une huile essentielle d'espèce *Thymus* (**Kaboucheet al., 2005**)

7.4. Propriétés thérapeutiques de cette plante

- L'huile essentielle de *Thymus numidicus* possède une activité antibactérienne (**Zeghibet al., 2013**).
- Les extraits méthanolique et méthanol-eau ont une très grande activité de piégeage des radicaux libres du DPPH et du peroxyde d'hydrogène (**DJEDDI et al., 2015**).
- Utilisé principalement dans le domaine médical pour ses propriétés antitussives, anthelminthique, antifongique, anti-inflammatoire et diurétique, carminatif, analgésique, Antispasmodique et antibroncholitique (**Benkiniouaret al., 2010**).
- Insecticide (**Kaboucheet al., 2005**)

Partie

Pratique

Matériels et méthodes :

I. Matériels :

Le but de notre travail est d'étudier et d'évaluer l'effet d'une plante médicinale ; *le Thymus numidicus* chez des rats *Wistar*, Et ce à travers une étude portant sur les variations du poids et d'autres paramètres physiologiques et biochimiques (glucide, protéine et lipide).

1. Matériel végétal :

Les échantillons de la partie aérienne (tiges, feuilles et fleurs) de *T. numidicus* *Poiret* ont été récoltés au mois de février dans la région de Constantine (Est de l'Algérie). Les feuilles ont été nettoyées, lavées avec de l'eau du robinet et séchées à l'ombre. Elles ont été ensuite stockées dans des sacs propres.



Figure09 : Illustration de la plante de *Thymus numidicus* *Poiret*.

1.1 Extraction de l'huile essentielle de *Thymus numidicus* :

L'extraction de l'huile essentielle est effectuée au niveau du laboratoire de toxicologie laboratoire, département de biologie appliquée dans un appareil de type Clevenger (figure 11), Environ 40 g des feuilles de thym secs ont été mélange avec 480 ml d'eau distillée, l'ensemble est ensuite porté à ébullition dans un ballon à trois cols ou fiole d'un litre d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant (**Benchekroun et al., 2012**).

Les vapeurs chargées d'huile et qui traversent le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule a décanter. L'eau et l'huile se séparent par différence de densité (**Benchekroun et al., 2012 ;Mohammedi., 2006**). L'extraction a durée 3 heures. L'huile obtenue est ensuite conservée dans un réfrigérateur a une température de 4°C, dans des flacons en verre emballés avec du papier aluminium.

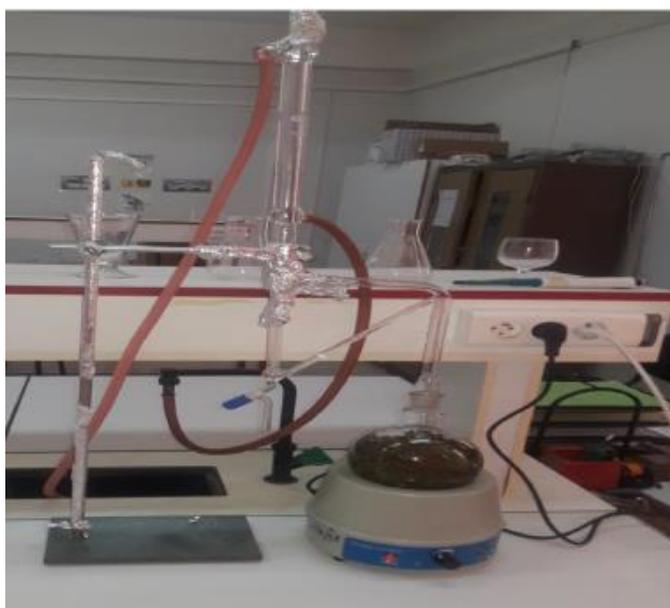


Figure 10: Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger.

1.2 Calcul du rendement d'extraction :

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse de la matière végétale utilisée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante:

Ou :

$$\text{RHE}(\%) = \text{M1} / \text{M2} \times 100$$

RHE : rendement en huile essentielle ;

M1 : masse de l'huile essentielle obtenue en g;

M2 : masse du thym en g.

Matériel chimique

Le matériel chimique utilisé dans cette expérimentation est un le Dioxyde de Titane sous forme de nanoparticules en poudre fourni par le Laboratoire de Chimie de l'Université d'Annaba.



Figure 11 : Dioxyde de titane sous forme poudre

3. Matériel biologique et conditions d'élevage :

Les animaux d'expérimentation sont des rats males de la souche *Wistar*, provenant de l'institut Pasteur (Centre d'élevage, Kouba- Alger). L'élevage des animaux a été réalisé au sein de l'animalerie de biologie (université de Tébessa). A leur arrivée, ces rats ont été placés dans des cages standards pour une période d'acclimatation de 30 jours avant d'être utilisés dans les différentes expériences.

Pendant notre expérimentation les animaux ont eu un accès libre à la nourriture (croquettes provenant de ONAB, El Harrouch, Skikda, Algérie) et à l'eau et étaient maintenus à température constante (22 ± 2 °C) et soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h avec une humidité relative minimale de 40%. La composition du régime standard qui a servi à l'alimentation des rats, durant toute la durée de l'expérimentation est résumée dans le tableau

Tableau 07. Composition de l'alimentation pour 1 Kg d'aliment (ONAB).

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

3.1 Traitement des rats :

Les rats utilisés dans cet étude sont des adultes leurs poids moyen est de 312 g ; ils ont été répartis en quatre lots à raison de 3 rats pour chacun. Le traitement a été effectué comme suit :

- **Lots 1** : rats témoins ont reçu l'eau distillée.
- **Lots 2** : rats traités par le dioxyde de titane TiO_2 dissout dans l'eau distillée. Le dioxyde de titane est administré aux rats par voie orale à l'aide d'une sonde à raison de $12\mu g/kg/jour$ pendant 30 jours.
- **Lots 3** : (*Thymus*) rats ont reçu une dose de 10 mg/kg/jour de l'huile essentielle de *Thymus nimidicus* Poiret par voie orale pendant 30 jours.
- **Lots 4** : (TiO_2+ *Thymus*) un groupe traité par la mixture HE du *Thym* et au dioxyde de titane mêmes doses. pendant 30 jours.



Figure 12 : Traitement des rats par gavage à partir d'une sonde.

3.2. Sacrifices :

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

3.3. Prélèvement du foie :

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



Figure 13 : dissection des rats et isolement du foie.

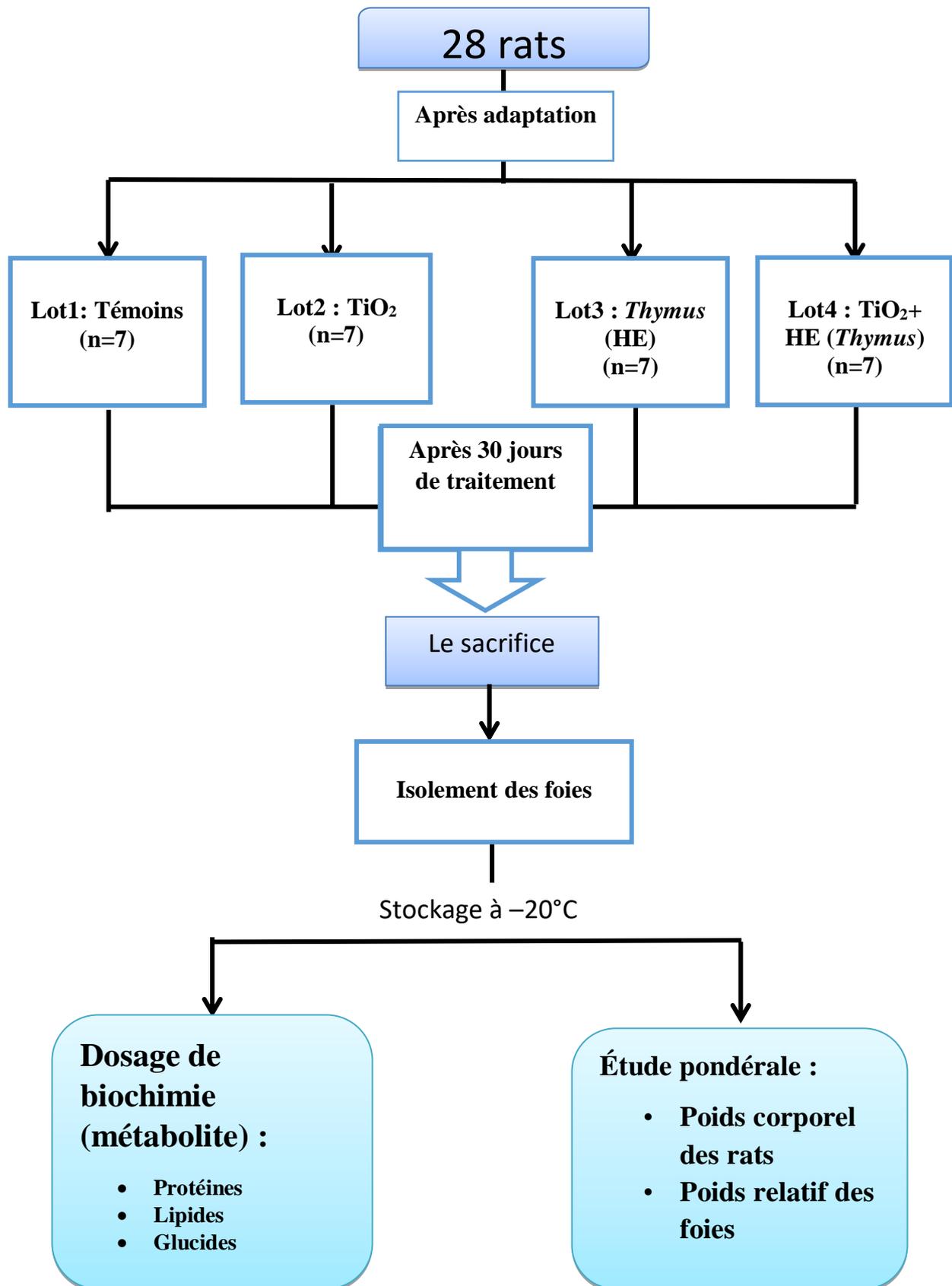


Figure14 : schéma récapitulatif des étapes du protocole expérimental utilisé.

4. Étude pondérale :

4.1 suivie du poids corporel des rats :

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

4.2 Le poids relatif du foie :

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

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

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

PR: poids du foie (g).

PT : poids total de rat (g).

PRR : poids relatif des foie (g)

5. Paramètres biochimiques :

Dosage des métabolites :

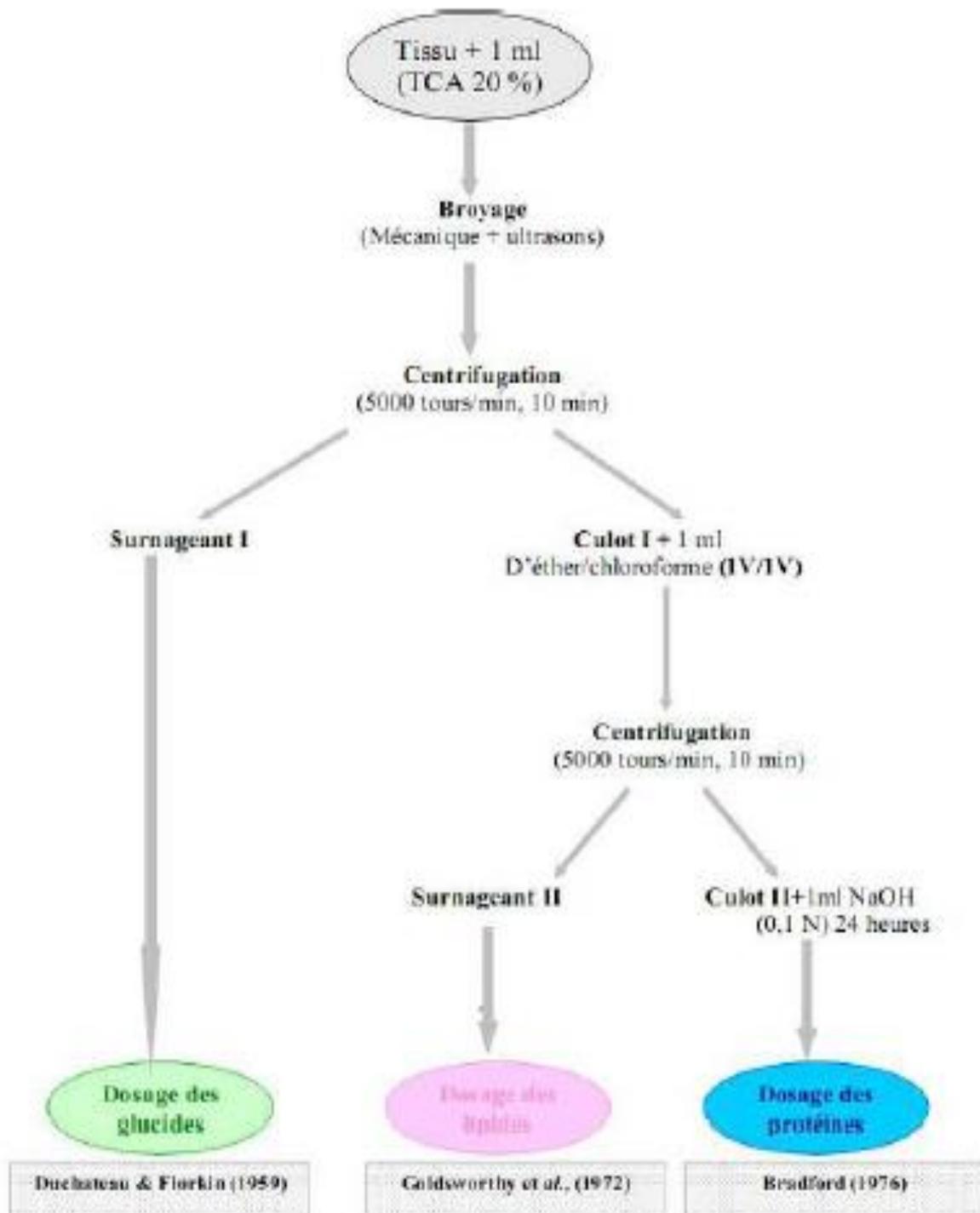


Figure 15: Principales étapes d'extraction des métabolites: protéines, glucides et lipides (Shibko et al., 1966).

5.1. Dosage des protéines :

Les protéines contenues dans les gonades ont été quantifiées selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu brillant de coomassie G 250 (BBC) comme réactif (100mg de BBC+50ml d'éthanol. Agitation pendant deux heures + 100ml d'acide orthophosphorique + H₂O distillée q.s.p. 1000ml) et l'albumine de sérum de boeuf (BSA) comme standard.

Le dosage des protéines a été effectué dans une fraction aliquote (100µl). Les absorbances ont été obtenues grâce à un spectrophotomètre et la lecture a été réalisée à une longueur d'onde de 595nm contre un blanc de gamme. (Tableau 08).

Tableau 08: Dosage des protéines: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
B.S.A (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

5.2. Dosage des glucides :

Le dosage des glucides a été réalisé selon **Duchateau et Florkin (1959)**. Cette méthode utilise l'antrone comme réactif (150mg d'antrone, 75ml d'acide sulfurique et 25ml d'eau distillée) et le glucose comme standard. La gamme d'étalonnage a été réalisée à partir d'une solution mère de glucose (1g/l).

Après l'addition du réactif, un chauffage au bain marie à 80°C pendant 10 mn permet l'obtention d'une coloration verte. Le dosage des glucides à été effectué dans une fraction aliquote (100µl).

Les absorbances ont été obtenues grâce à un spectrophotomètre et la lecture a été réalisée à une longueur d'onde de 620 nm contre un blanc de gamme. (Tableau 09).

Tableau 09: Dosage des glucides: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Glucose (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4

5.3. Dosage des lipides

La concentration des lipides totaux a été estimée selon **Goldsworthy *et al.*, (1972)** utilisant le réactif sulfophospho vanillinique (0,38 g de vanilline, 55ml d'eau distillée et 195ml d'acide orthophosphorique à 85%). La solution mère des lipides est préparée en utilisant l'huile de table (Cevital) selon la procédure suivante: 25mg d'huile de table pesés dans un tube eppendorf; cette quantité est ensuite reprise dans 10ml du mélange (éther / chloroforme) (1V/1V) (Tableau 10).

Tableau 10 : Dosage des lipides: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant Ether/Chloroforme (µl)	100	80	60	40	20	0

6. Analyse statistique :

- Tous les tests ont été réalisés par Triplet.
- Les résultats sont présentés en moyenne \pm écart-type.
- L'analyse de la variance à un facteur ANOVA a été appliquée à toutes les données suivie par un test de t-Student.
- Les graphes ont été générés par le logiciel Microsoft Excel 2007.
- Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel IBM SPSS 20.

Les différences sont considérées comme :

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

Résultats

1. Variation du poids relatif du foie :

Nos résultats montrent, d'une part, une augmentation non significative ($P > 0,05$) du poids relatif du foie dans le lot traité au dioxyde de titane (T) par rapport aux rats témoins, avec des valeurs allant de ($2,01 \pm 0,26$ % de PC) chez les rats témoins à ($2,26 \pm 0,14$ % de PC) chez les rats traités au dioxyde de titane (T).

Mais aucune variation significative ($P > 0,05$) n'est notée chez les autres lots des rats traités (P et T+P) et ce toujours par rapport aux rats témoins (Figure 16)

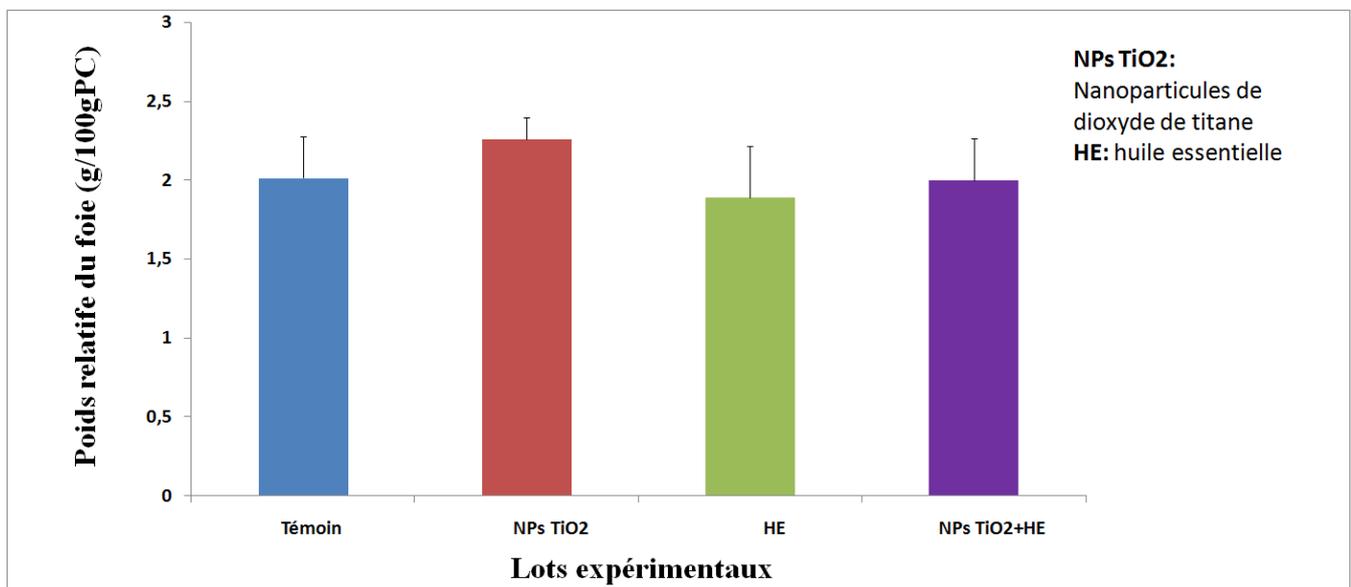


Figure 16: Variation du poids relatif du foie (g/100gPC) chez les rats témoins et traités après 30 jours de traitement (n=7).

* différence significative ($p \leq 0,05$)

** différence hautement significative ($p \leq 0,01$)

*** différence très hautement significative ($p \leq 0,001$)

P: Seuil de signification

2. Glucides :

Selon les résultats de la figure 17, nous constatons une diminution hautement significative ($P < 0,01$) de la teneur en glucides chez les rats traités par le dioxyde de titane (T) par rapport à celle des rats témoins, avec des valeurs variant entre ($309,39 \pm 77,67 \mu\text{g}/\text{mg}$) de tissu chez les rats témoins à ($138,56 \pm 34,09 \mu\text{g}/\text{mg}$) de tissu chez les rats traités par le dioxyde de titane (T). Mais aucune variation significative ($P > 0,05$) est noté chez les autres lots des rats traités (P et T+P) et ceux toujours par rapport aux rats témoins .

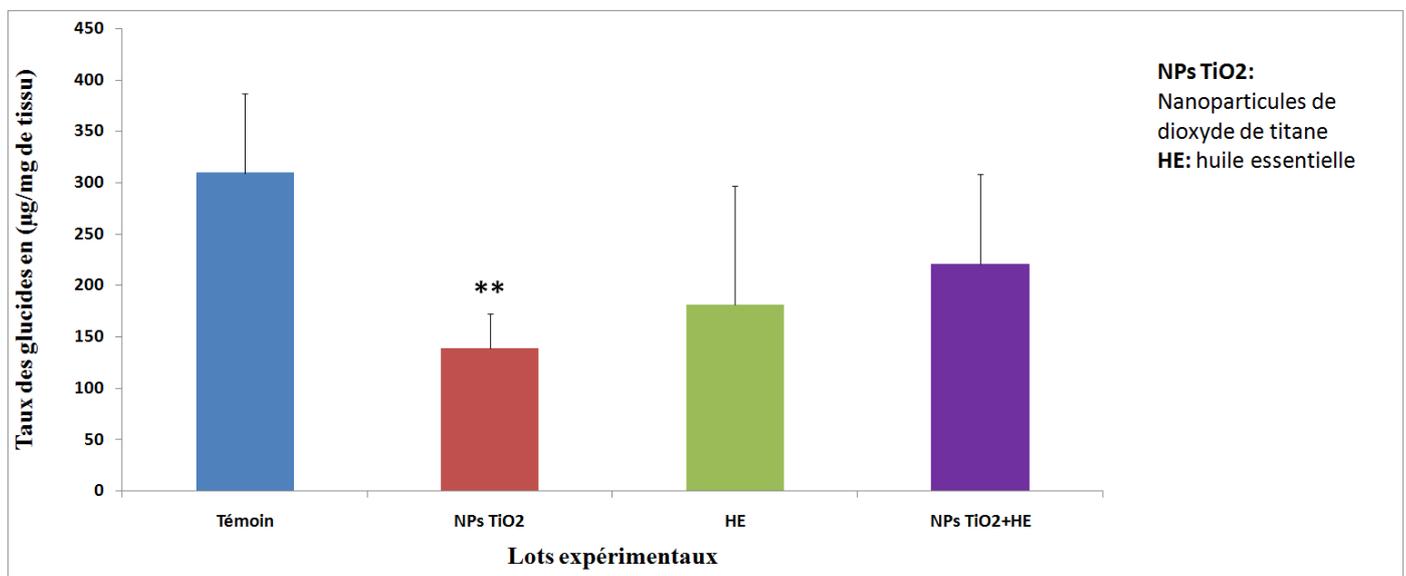


Figure 17 : Variation du taux de glucides en ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du foie chez les rats témoins et traités après 30 jours de traitement ($n=7$).

* différence significative ($p \leq 0,05$)

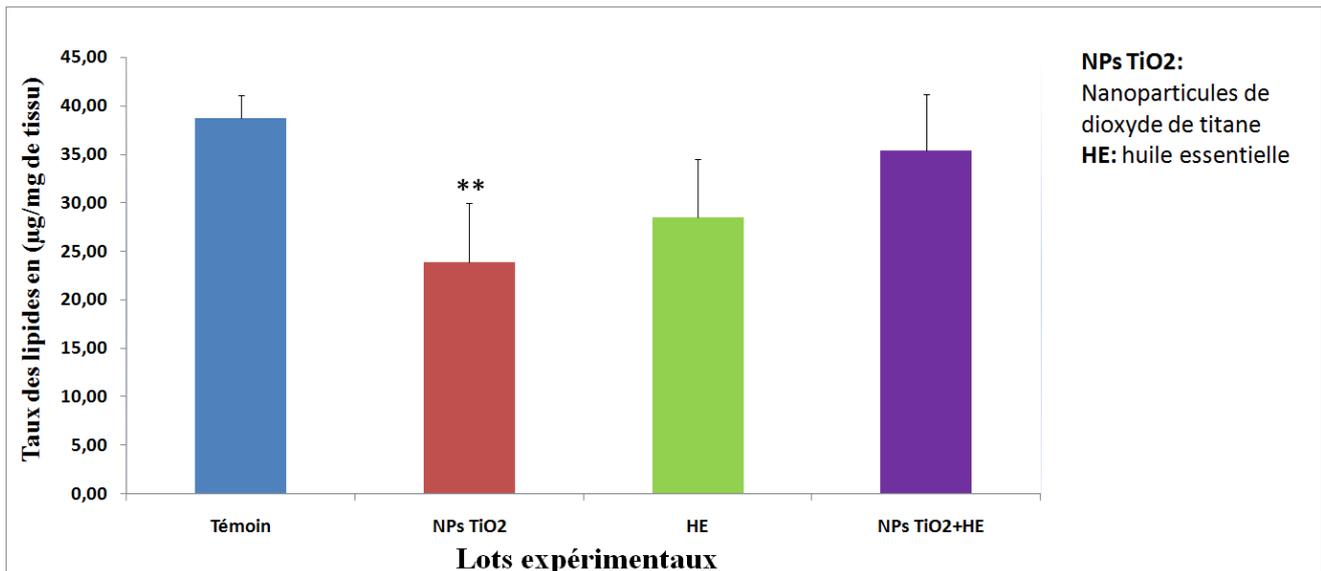
** différence hautement significative ($p \leq 0,01$)

*** différence très hautement significative ($p \leq 0,001$)

P: Seuil de signification

3.Lipides :

La teneur en lipide hépatique des rats auquel un traitement aux nanoparticules de titane a été réalisée ($23,85 \pm 6,14 \mu\text{g}/\text{mg}$), a connu une régression hautement significative ($P < 0,01$) par rapport aux animaux n'ayant subi aucun traitement ($38,76 \pm 2,33 \mu\text{g}/\text{mg}$). Une administration des huiles essentielle de *Thymus* a permis le rétablissement du taux de lipide à



des valeurs normales.

Figure 18 : Variation du taux de lipides en ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du foie chez les rats témoins et traités après 30 jours de traitement ($n=7$).

* différence significative ($p \leq 0,05$)

** différence hautement significative ($p \leq 0,01$)

*** différence très hautement significative ($p \leq 0,001$)

P: Seuil de signification

4. Protéine :

Selon les résultats de la figure 19 le xénobiotique étudié (NPs de dioxyde de titane) a provoqué un taux des protéines hépatiques ($36,66 \pm 3,00 \mu\text{g}/\text{mg}$) hautement supérieure à celui du groupe témoin ($30,8 \pm 1,09 \mu\text{g}/\text{mg}$). Une remise des concentrations de protéines au niveau du tissu hépatique à des valeurs proches à celles observées chez le témoin a été constatée chez le groupe traité par un mélange de nanoparticules de dioxyde de titane et d'huile essentielle.

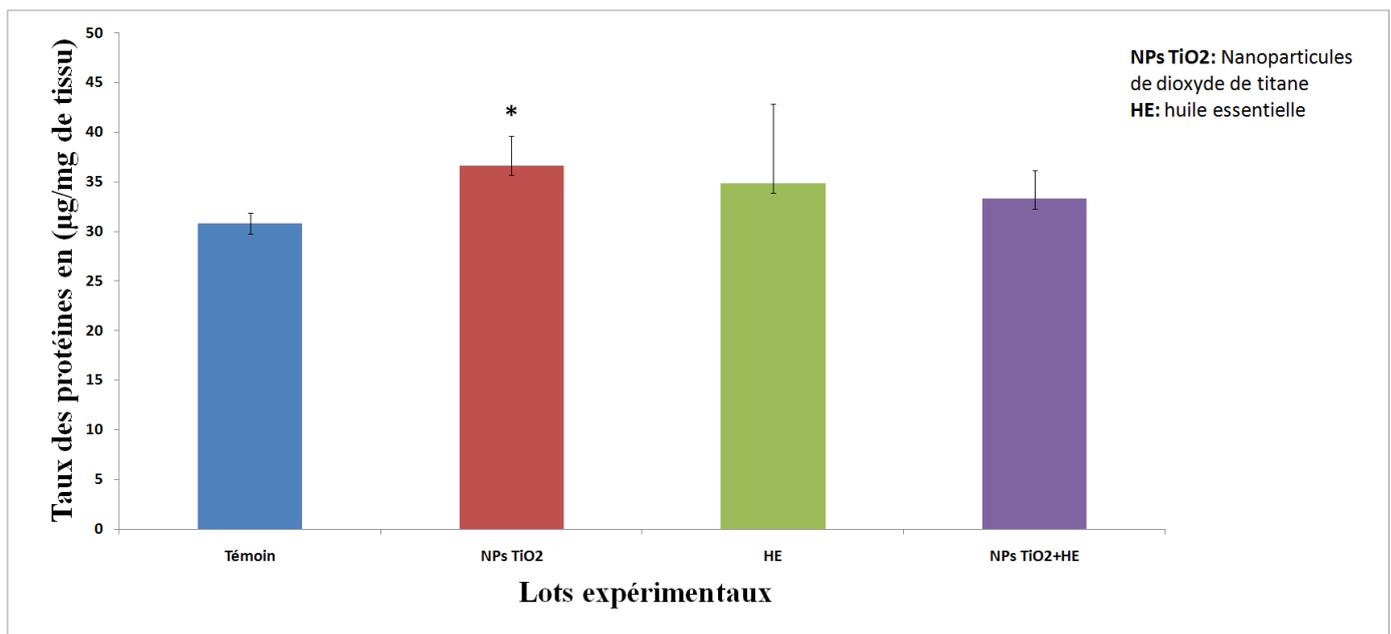


Figure 19 : Variation du taux des protéines en ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du foie chez les rats témoins et traités après 30 jours de traitement (n=7).

* différence significative ($p \leq 0,05$)

** différence hautement significative ($p \leq 0,01$)

*** différence très hautement significative ($p \leq 0,001$)

P: Seuil de signification

Discussion :

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

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

La majorité des études indique que les NPs sont internalisées par endocytose. Cependant, quelques études supposent que l'internalisation des NPs peut se produire par diffusion passive lorsque les particules sont de petite taille (**Geiser et al., 2005**). Certaines NPs comme le TiO₂ pourraient franchir les membranes intracellulaires et se retrouver dans le cytoplasme où elles peuvent atteindre les compartiments mitochondriaux ou nucléaire (**Muhlfeld et al., 2008**).

Dans notre travail nous avons choisi comme modèle biologique les rats Wistar qui sont largement utilisés dans les recherches scientifiques à cause des similitudes physiologiques avec l'être humain et la possibilité d'extrapoler les résultats vers l'Homme (**Orsini et al., 1989**). Nous avons cherché à évaluer les effets toxiques des nanoparticules de dioxyde de titane au niveau hépatique par le suivi de l'activité de certains bio-marqueurs biochimiques (protéines, lipides et glucides).

Rendement en huiles essentielles :

Le rendement en huile essentielle extraite de *Thymus algeriensis* était de 1,56% ; ce qui est plus élevé par rapport à celle obtenue par **Amarti et al., (2010)** à partir de la partie aérienne de *Thymusalgeriensis* du Maroc (0,3 %). Ce dernier taux est légèrement faible par rapport à celui obtenu par **Dob et al., (2006)** qui est de 1,13 %.

Le résultat obtenu s'est avéré plus faible que celui obtenu par **Haddouchi et al., (2009)** à partir des feuilles de *Thymus fontanesii* de la région de Mostaganem qui est de 2% et moins faible par rapport à celui obtenu par **Amarti et al., (2010)** qui est de 1,2% à partir de la partie aérienne du *Thymus ciliatus* du Maroc, et en (2011) à partir de la partie aérienne de *Thymus zygis* qui est de 1,1%.

Ces différences de rendement en huile essentielle peuvent dépendre de nombreux facteurs (stade de croissance, conditions pédoclimatiques, technique d'extraction et la région de la récolte...etc.) (**Sefidkon et al., 2001**).

Poids relatif du foie :

Dans cette expérimentation, nous avons étudié le poids corporel des rats. Les résultats montrent une augmentation non significative du poids relatif du foie des lots ayant reçu du TiO₂ par rapport aux témoins, on peut dire que la dose de TiO₂ (12 µg/kg de PC/j) appliquée dans notre expérimentation sur les rats considéré comme toxique. Cette augmentation du poids relatif peut être due à une surproduction d'hormone de croissance, à des kystes dans les organes...etc.

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

La supplémentation par l'huile essentielle de thym agit comme un agent protecteur contre la toxicité des nanoparticules étudiées ; comme le montre la remise de la valeur du poids relatif des foies à des seuils similaires aux rats témoins.

Effet sur le taux des protéines :

Nos résultats indiquent une augmentation du taux des protéines chez le groupe traité par les nanoparticules de dioxyde de titane.

Ces résultats vont dans le même sens que ceux de **(Grara et al., 2016)** qui ont mis en évidence une augmentation similaire de la concentration en protéines hépatiques de manière dose dépendante en présence de poussières métalliques. Il en est de même, en ce qui est des résultats trouvés par **Kahli (2015)**, concernant l'effet du TiO₂ sur *Helix aspersa*. L'augmentation du taux de protéines totales peut être expliquée par le déclenchement du processus de détoxification mis en jeu par un système de régulation qui se compose d'enzymes, des protéines et de molécules anti-oxydantes **(Nzengue, 2008)**.

Les groupes témoins et celui ayant subi un traitement aux NPs Tio₂+Huile essentielle présentes des résultats comparables par rapport à la concentration en protéines. Ceci pourrait être due à l'induction de la synthèse d'enzymes de détoxification et demétabolisation sous l'effet du stress oxydative produit à la présence de différents composés bioactifs **(Nahid et al., 2015)**.

Effet sur le taux des lipides :

Le traitement des rats *Wistar* par les nanoparticules étudiées a provoqué une nette diminution du taux des lipides comparativement aux témoins.

Ces résultats vont dans le même sens que ceux de **Husain et al., (2013)** qui ont montré chez la souris une perturbation du métabolisme lipidique suite à l'instillation intratrachéale de faibles doses de NPs de TiO₂ à savoir 18 ; 54 et 162 µg/souris. Selon **(Arousseau, 2002)** les nanoparticules métalliques peuvent être à l'origine de radicaux oxygénés libres toxiques via la dégradation des lipides « induction de la peroxydation lipidique » ; induisant ainsi une perte en molécules lipidiques.

L'ajout de l'huile essentielle de thym au traitement administré aux rat *Wistar* a permis de retrouver des valeurs de la contenance en lipides hépatiques proches de celle du groupe témoin.

Les huiles essentielles du genre *Thymus* sont connues pour leur richesse en composés terpénique et phénoliques possédant un fort pouvoir antioxydant tel que le Carvacrol. Cette composition explique l'inhibition du potentiel oxydant des radicaux libres au niveau hépatique.

Effet sur le taux des glucides :

Une diminution le taux des glucides chez le groupe traité par nanoparticules de dioxyde de titane peut être clairement observée. Ces résultats vont dans le même sens que ceux de **Armand et al., (2016)** **Chen et al. (2018)** ayant mis en évidence une perturbation négative du métabolisme du glucose suite à une exposition à des NP de TiO₂.

Ceci peut être expliquée par l'utilisation directe du glycogène pour la régénération d'énergie ou suite à une l'hypoxie. Les glucides sont les sources d'énergie primaires et immédiates, en état d'effort des réserves glucidiques sont épuisées pour satisfaire des demandes énergétiques accrues.

Le taux de glucides normal a été rétabli suite à une addition des huiles essentielle de thym ce qui se concordent avec les travaux de **El-Soud et al., (2011)** qui ont réalisé une étude sur l'effet des HEs sur le taux des glucides chez les rats. Ils ont trouvé que les petites doses HEs exercent un équilibre du taux du glucose. A fort dose, il se manifeste des irritations surtout oculaires et une hyperglycémie.

CONCLUSION

Conclusion

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons proposer qu'en général ; la dose des nanoparticules de dioxyde de titane utilisée possèdent un effet toxique sur le système hépatique des rats Wistar.

L'huile essentielle de *Thymus numidicus* a remis les valeurs des paramètres biochimiques retenus pour cette étude à leurs niveaux normaux. Cette huile essentielle a ainsi agit comme un antidote contre nanoparticules de dioxyde de titane.

Dans ce travail, nous n'avons pas accomplir tous les aspects de recherche envisagées à cause des difficultés liées à la disponibilité en temps et en moyens d'expérimentation. Néanmoins, et vue l'importance des résultats de cette étude, il serait intéressant de la faire poursuivre, en prenant en considération les recommandations suivantes :

- Réaliser une étude histologique sur les différents organes de rat *Wistar*.
- Inclure d'autres biomarqueurs du stress oxydatifs (Enzymatiques et non-enzymatiques).
- Utilisé des doses différentes des nanoparticules de dioxyde de titane.
- Evaluer la toxicité des huiles essentielles du *Thymus* sur une période plus longue afin de mettre en évidences leurs possibles effets nocifs sur les rats.

BIBLIOGRAPHIE

Référence bibliographie

A

- **ALBERTS B, BRAY D, HOPKIN K et al., (2009).** Essential CellBiology. 3rd ed. Garland, 860 p
- **Anjum, N.A., Ahmad, I., Mohmood, I., Pacheco, M., Duarte, A.C., Pereira, E., Umar, S., Ahmad, A., Khan, N.A., Iqbal, M., 2012.** Modulation of glutathione and its related enzymes in plants' responses to toxic metals and metalloids-a review. Environ. Exp. Bot. 75, 307-324.
- **Aurousseau B. 2002.** Les radicaux libres dans l'organisme des animaux : Conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRA Prod. Anim. 15(1). p. (67-82). Badji Mokhtar. Annaba. 74 p.

B

- **BABIOR BM. The activity of leucocyte NAD (P) H oxydase: regulation by p47phox cysteine and serine residues.** Antioxid Redox Signal. 2002; 4: 35-8.
- **Bazylo A., etStrzelecka H. A HPTLC densitometric determination of luteolin in Thymus vulgaris and its extracts Fitoterapia.78.2007. 391-395**
- **Blokhina O, Virolainen E and Fagerstedt K V (2003).** Antioxidants, oxidative damage and oxygendeprivation stress: aReview. Annals of Botany, 91, 179-194
- **BENAYACHE Feryal.** Etude phytochimique et biologique del'espèce Thymus numidicus Poiret. Université Constantine 1 Faculté Des Sciences Exactes.2013.p 59
- **BenchekrounH K., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A. & Chaouch A. 2012.** Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Artemisiamesaltantica, plante endémique du Maroc. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège.81:4-21.
- **Ben El HadjImen Ali., RadhiaBahri, Maher Chaouachi., Mohamed Boussaïd., FethiaHarzallah-Skhirib.** Phenolic content, antioxidant and allelopathic activities of variousextracts of Thymus numidicusPoir. Organs. Industrial Crops and Products .62.2014.188–195.

- **Benkinouar R., Touil A., Zaidi F., Rhouati S., Chosson E., Seguin E et al., 2010.** *J.SocAlger Chim*20(1) :11-15.
- **Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S and Kalayci O. 2012.** Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*. 5: 5-19.

C

- **CAPRON L. (1996).** Evolution des theories sur l'atherosclerose. *Rev.*
- **Carp, —**Photoinduced reactivity of titanium dioxide, *Prog. Solid State Chem.*, vol. 32, no. 1–2, pp. 33–177, **2004**
- **Chuto G ,P. Chaumet-Riffaud ,** et le Groupe Oncologie de la Société française de médecine nucléaire et imagerie moléculaire (SFMN).**2010.** Les nanoparticules. *Médecine Nucléaire* 34 (2010) 370 –376.
- **COMHAIR S.A., ERZURUM S.C. (2002).** Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 283: 246 - 255.
- **Cosentino S., Palmas F.** In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Letters in Applied Microbiology*, 29.**1999.**130— 135

D

- **Delattre J, Beaudoux JL, Bonnefont-Rousselot D. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: Aspects biologiques et pathologiques (broché). *L'actualité Chimique*. 108-115
- **Defraing J.O , PINCIMAL.2008.**stress oxydant et antioxydants mythes et réalités.p.10-19
- **DjeddiSamah .,ElinaYannakopoulou., KyriakosPapadopoulos et Helen Skaltsa.**
Activités anti-radicalaires de l'huile essentielle et des extraits bruts de *Thymus numidicus* Poiret., Algérie. *Afrique Science* 11.**2015.**58 – 65

E

- **Economou K. D., Oreopoulou V., Thomopoulos C. D.** Antioxidant properties of some plant extract of the Labiatae family. *J Am. Chem. Soc.* 68.**1991.**109— 113.

F

- **Favier. (2003).** Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique, 108-115.
- **Florin Prosie, François-Xavier Lesage, Frédéric Deschamps.2008.** Nanoparticules : structures, utilisations et effets sur la santé.

G

- **Gasmi Salim,** Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltamethrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat, 2018, Thèse Doctorat.
- **Gerard-Monnier,D.Chaudiere,J. 1996.**Metabolisme and antioxidant function of glutathione.PatholBiol.Vol 44 77-85
- **Gey, KF, Brubacher, GB and Stâhelin, HB. (1987).**Plasma levels of antioxidantvitamins in relation to ischemicheart disease and cancer. Am J Clin Nutr, 45, 1368-1377
- **Ginseng.2013.** mr-ginseng.com/thym/.
- **Greco, F, .B. Courbière , J. Rose , T. Orsière , I. Sari-Minodier , J.-Y. Bottero , M. Auffan , J. Perrin .2015.** Toxicity of nanoparticles on reproduction. Revue de la littérature
- **Greff, M. (2011).** Post UFMC –HGE : paris, du 24au 27 marsSpringer Edition P39
- **Guitou, M.2014.** Nanoparticules et santé : des applications aux risques potentiels. L'exemple du TiO2. Sciences pharmaceutiques. P 80-82.
- **Grara N., Atailia A., Boucenna M, Berrebbah H., Djebbar M.R., 2016.** Etude biochimique et histopathologique de la toxicité des poussières métalliques du complexe sidérurgique d'Annaba (Nord- Est Algérien) chez *Helix aspersa*. Journal of Materials and Environmental Science ; 7 (12) :(4733-4741).

H

- **Habbout, A. (2012).** Etude des conséquences métaboliques, oxydatives et cardiovasculaires de la suralimentation postnatale chez le rat et la souris. Thèse de doctorat. Université de Bourgogne.
- **Haleng, J .Pincimal, J, O. Defraing.C.Charlier.J.P.Chapelle.2007.**le stress oxydant.p 628-638.

- **Halliwell, B, Gutteridge, J. (2000).** Reactivespecies as usefulbiomolecules. Free Radicals in Biology and Medicine. 467- 481
- **Halliwell B, 2006. ReactiveSpecies and Antioxidants.** Redox Biology Is aFundamental Theme of Aerobic Life. Plant Physiology 141(2), 312-322.
- **HALLIWELL B. (1989).** Free radicals, reactiveoxygenspecies and human disease: à critiqueévaluation with specialreference to atherosclerosis. Br J Exp Pathol, 70 : 737 - 757.
- **Hilan Christo., Rabiha Sfeir et Souad Aitour.** Chimiotypes de plantes Communes au liban du genre origanum et du genre micromeria (LAMIACEAE). Lebanese Science Journal, Vol. 12.2010.79-91.
- <http://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliments>.
- http://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante_medicinale/thym.htm.

K

- **Kahli H, 2015.** Evaluation du stress oxydatif induit par les nanoparticules chez *Helix aspersa* : Cas du dioxyde de titane. Université Badji Mokhtar Annaba, P53.
- **Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., Ait-Kaki Z., Benlabed K., 2005.** Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils form Algeria. The Inernational Journal of Aromatherapy, 15, 129-133.

L

- **Lanone S , Boczkowski J ,2010.** Les sources de nanoparticules. Revue française d'allergologie 50 (2010) 211–213.

M

- **Marano F, Hussain S, Rodrigues-Lima F, Baeza-Squiban A, Boland S.Nanoparticles:** molecular targets and cell signalling.ArchToxicol 2011; 85(7):733—41.
- **MebarkiN.**Extraction de l'huile essentielle de thymus fontanesii et application a la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne. Université –M'Hamed BougaraBoumerdes.2010.

- **Mohammedi Z. 2006.** Etude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelques plantes de la région de Telemcen. Thèse Magister. Université Abou Bakrbelkaïd *Telemcen*. 155p.

N

- **Nel AE, Madler L, Velego ID, Xia T, Hoe kEM, Somasundaran P**, et al. Understanding biophysicochemical interactions at the nanobiointerface. *Nat Matter* **2009**; 8: 543—57.
- **NOHL H, GILLE L, STANIEK K.** Intracellular generation of reactive oxygen species by mitochondria. *Biochem Pharmacol*. **2005**; 69 : 719-23
- **Nzengue, 2008.** Comparaison des mécanismes de toxicité redox du cadmium, du cuivre et du zinc : place des métallothionéines et de p.53

P

- **Poisson, C. (2013).** Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. Thèse de Doctorat. Université de Paris-Sud 11.
- **Pincemail J., Degruene F., Voussure S., Malherbe C., Paquot N., Defraigne JO.** Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et de marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition Clinique et Métabolisme* **2007**; (21)2 : 66-75

R

- **Rilauwerys, R., Haufroid, V., Hoet, P., Lison D. (2007).** Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. Masson Elsevier. pp : 44
- **Ruberto G., Biondi D., Ciana P., Geraci.** Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. *Flavour and Fragrance J*, **8.1993**. 331 —337.

S

- **Sies, H., 1991.** Oxidative stress: From basic research to clinical application. *Am. J. Med.*, Oxidants And Antioxidants: Pathophysiologic Determinants and Therapeutic Agents 91, S31–S38. Doi:10.1016/0002-9343(91)90281-2

T

- **Ternes W., Gronemeyer H., Schwarz K.** Determination of p-cymene-2,3-diol, thymol and carvacrol in different food stuffs. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 201.**1995**. 544 - 547.

Z

- **Zeghad N.** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Université Mentouri Constantine.**2009**. PP :7

LA FIN