



République algérienne démocratique et populaire



Université de Tlemcen

Faculté Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de

l'Univers

Département de Biologie

**Laboratoire de recherche de Physiologie,
Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition**

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master des sciences alimentaires

Option : nutrition et pathologie

*Étude de la toxicité rénale chez des rats soumis au
traitement par les nanoparticules d'or*

Soutenu en : juillet 2019

Présentée par : ZAOUI Imane

MESSAOUDEN Yasmina

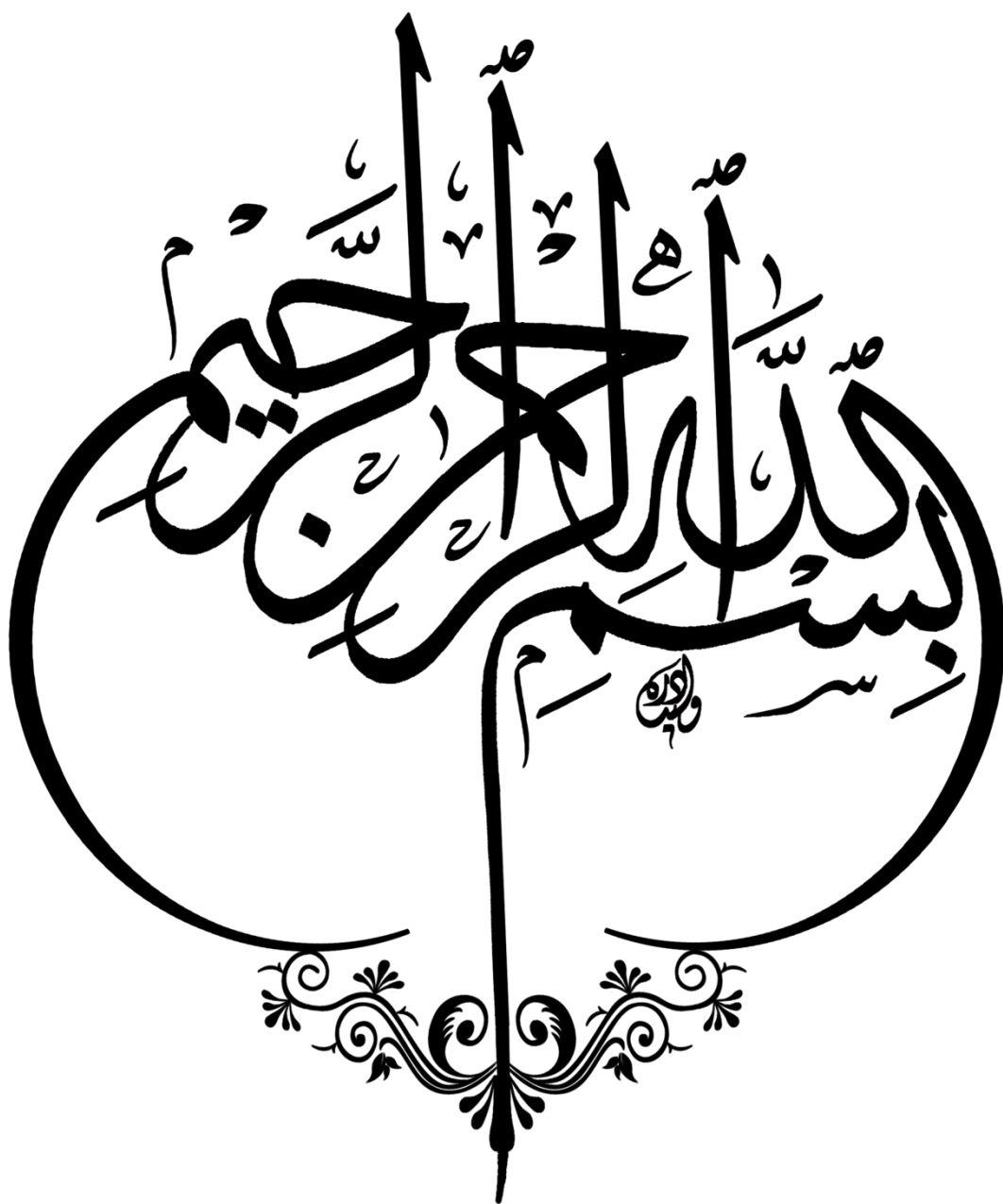
Devant le jury :

Présidente : MOKHTARI Nassima Professeur, Université de Tlemcen

Examinatrice : BOUANANE Samira Professeur, Université de Tlemcen

Directrice : Bekhti-Sari Fadia, Maître de conférences, Université de Tlemcen

Année universitaire : 2018–2019





Remerciements

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

*Au terme de ce travail, nous adressons nos remerciements les plus sincères à notre encadrante **Mme BEKHETI F**, pour nous avoir permis de bénéficier de son grand savoir dans la matière, pour sa pédagogie, ses compétences, sa modestie et son aide précieuse tout au long de ce projet même pendant les moments les plus difficile. Vraiment merci pour une qualité d'encadrement si sérieuse et si consistante.*

Nous tenons également à remercier tous les membres de notre jury d'avoir acceptées d'évaluer notre travail.

*Nous remercions également **Mme SOULIMANE-MOKHTARI N**, professeur à la faculté des sciences de la nature, de la vie, de la Terre et de l'univers, département de biologie, de l'université de Tlemcen pour l'intérêt qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de présider le jury. Et je tiens à lui exprimer mon profond respect et toute mon estime.*

*Nous remercions également **Mme BOUANANE S**, pour ses conseils et son aide précieux, et à qui j'exprime mon profond respect et mes sincères remerciements de m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.*

Nos sincères remerciement et gratitudes s'adressent à tous les enseignants de la spécialité nutrition et pathologie.

*Nous témoignons nos gratitudes à l'ensemble de l'équipe de laboratoire de recherche **PPaBioNut** (Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition), université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen.*

Nous tenons à exprimer toutes nos reconnaissances à tous nos amies et collègues de 2ème année Master, nutrition et pathologie.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mon père :

Cher père reçois ce travail comme remerciement pour tous les efforts et sacrifices que tu as eu à faire. Tu as su montrer le bon exemple à travers ta sérénité, ta grande patience et sans oublier ton effort inlassable pour la réussite de tes enfants.

J'espère cher père que j'ai gagné ta confiance, ta satisfaction et ta fierté.

Trouve ici l'expression de toute ma reconnaissance, de mon amour et de mon profond respect.

Merci papy

Ma mère :

C'est pour moi un jour d'une grande importance car je sais que tu es à la fois fière et heureuse de voir le fruit de ton éducation et de tes efforts inlassable se concrétiser.

Merci maman pour ton amour, ta rigueur et la sévérité avec laquelle tu nous as éduqués. Je reste fasciné par ta forte personnalité et ton savoir-faire.

Je te dédie ce travail, merci pour toute maman, sache que je t'aime.

Merci mamy

A mes frères (et ses conjointes) et ma sœur :

Nous devons cultiver l'entente et l'union afin de hisser le flambeau de la famille que nos parents ont forgé.

Sachez que la récompense se trouve au bout de l'effort. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A toutes la famille « Zaoui et Benmoussa »

En reconnaissance de votre amour et de votre soutien moral, je vous exprime toute ma gratitude.

Vos conseils avisés m'ont conduit jusqu'au bout de ce travail.

Que votre simplicité et générosité puissent être pour nous des modèles que nous devons nous approprier !

*Que ce travail soit l'occasion de vous exprimer ma profonde affection.
Merci pour votre soutien.*

A tous mes amis (e) :

Chères frères et sœurs, je remercie Allah de nous avoir unies dans une si belle amitié. C'était difficile de citer des noms par crainte d'omettre de mentionner quelqu'une, alors que vous êtes tous très chères pour moi et vous dégagez tellement de qualités qui suscitent mon profond et éternel respect.

A toutes la promotion de Nutrition et Pathologie

*A toutes les personnes m'ayant consacré un moment pour m'aider, me conseiller, m'encourager ou simplement me sourire. Plus particulièrement à mes copines : **Ilham, Hayat, Aicha, Houria, Asma, Yasmina et Zineb.***

Zaoui Imane

Dédicace

Je dédie ce travail a :

Ma très chère mère,

*« Tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir.
Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la
reconnaissance que je te port.*

*En témoignage je t'offre ce modeste travail pour te remercier
pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours
entourée. »*

Mon très cher père,

*« L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la
plus digne de mon estime et de mon respect.
Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que dieu te
préserve et te procure santé et longue vie. »*

***A mes très merveilleuses sœurs : Amina, Ikram, Aya et mon
frère Mohamed***

pour leur soutiens et encouragement.

***A mes amies et mes camarades, surtout mon binôme Imane que
dieu la protège.***

A tout la famille : « Messaouden, Benotamne.»

***A mon encadreur Mme BEKHETI F, qui m'a dirigé dans ce
labeur.***

Yasmina

Sommaire

Introduction.....	1
Synthèse bibliographique	
1. Nanotechnologie.....	4
1.1. Définition.....	4
1.2. Nanotechnologie et leur application.....	5
2. Les nanoparticules d'or.....	8
2.1. Définition.....	8
2.2. Classe de nanoparticules d'or.....	8
2.3. Les voies d'exposition humaines aux nanoparticules d'or.....	9
2.3.1. Inhalation.....	9
2.3.2. L'ingestion.....	9
2.3.3. Le contact cutané.....	10
3. Risque pour la santé humain.....	11
4. La cible rénale.....	12
4.1. Rôle et fonction des reins.....	12
4.2. Nanoparticules et stress oxydant.....	14
4.2.1. Les oxydants.....	16
4.2.2. Les antioxydants.....	16
Matériel et méthodes	
1. Protocole expérimental.....	18
2. Préparation des animaux.....	18
3. Préparation des dilutions de nanoparticules : dans le PBS (Phosphate Buffered Saline PH=7.4).....	18
4. Sacrifice et prélèvement de sang d'organe.....	18
5. Analyses biochimiques.....	19
5.1. Détermination de l'urée.....	19
5.2. Détermination de la créatinine.....	19
5.3. Détermination de l'acide urique.....	19
6. Dosages des paramètres du statut oxydant/antioxydant.....	20
6.1. Marqueurs du statut oxydant.....	20
6.1.1. Détermination du Malondialdéhyde (MDA).....	20
6.1.2. Détermination des protéines carbonylées.....	20

6.2. Paramètres du statut antioxydant.....	20
6.2.1. Dosage de glutathion réduit (GSH).....	20
6.2.2. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase.....	21
1.1.1. L'activité enzymatique de la catalase.....	
7. Dosages des paramètres du statut oxydant/antioxydant.....	20
7.1. Marqueurs du statut oxydant.....	20
7.1.1. Détermination du Malondialdéhyde (MDA).....	20
7.1.2. Détermination des protéines carbonylées.....	20
7.2. Paramètres du statut antioxydant.....	20
7.2.1. Dosage de glutathion réduit (GSH).....	20
7.2.2. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase.....	21
8. Analyses statistiques	21
9. Technique histologique.....	21
9.1. Fixation et incubation.....	22
9.2. Enrobage et confection des coupes.....	22
9.3. Coloration et montage des coupes.....	23
9.4. Observation microscopique.....	23
Résultat et interprétation	
2. Exploration des paramètres biochimique.....	25
2.1. Urée	25
2.2. Créatinine.....	25
2.3. L'acide urique.....	25
3. Exploration du statut oxydant.....	25
3.1. Marqueurs du statut oxydant.....	25
3.1.1. Malondialdéhyde (MDA).....	25
3.1.2. Les protéines carbonylées.....	25
3.2. Paramètres du statut antioxydant.....	26
3.2.1. Glutathion réduit (GSH).....	26
3.2.2. L'activité enzymatique de la catalase	26
4. Résultat de l'étude histologique.....	30
Discussion	35
Conclusion.....	41
Références bibliographiques.....	44

Liste des abréviations

ADN : acide desoxyribonucleique

ANOVA : analyse de variance

ARN: Acide RiboNucléique

AU : Or

CeO₂ : Cérium et oxygène

CO : monoxyde de carbone

DCPS : 2-4 dichlorophenolsulfonate

DO : densité optique

DTNB : acide 5,5dithiodis-2-nitrobenzoïque

EOA : espèces oxygénées activées

ERO : espèces réactives d'oxygène

GSH : Glutathionne

H₂O₂: peroxyde d'hydrogène

LEC : liquide extracellulaire

MDA : Malondialdéhyde

min : minute

nm : nanomètre

NPs : nanoparticules

PPaBioNut : Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition

PBS : Phosphate Buffered Saline

PC : protéines carbonylées

PH : potentiel hydrogène

TBA : acide thiobarbiturique

TiO₂ : Titane et oxygène

TiOSO₄: Titanium oxyde sulfate

TNB : acide thionitrobenzoïque

TPP : sodium tripolyphosphate

ONAB : Office National d'Alimentation de Bétails

°C : degré Celsius

ϵ : coefficient d'absorption molaire

λ : longueur d'onde

h : heure

% : Pourcentage

Liste des figures

Figure 01 : Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques

Figure 02 : Répartition en pourcent de l'impact économique global des nanotechnologies en 2010

Figure 03 : différentes voies d'entrée des nanoparticules dans l'organisme

Figure 04 : Un néphron et son tube collecteur

Figure 05 : Rein- coupe sagittale

Figure 06 : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants

Figure 07 : Teneurs de l'urée chez les rats témoins et les rats traités par différentes concentration de nanoparticules (N25, N50, N100, N250).

Figure 08 : Teneurs de la créatinine chez les rats témoins et les rats traités par différentes concentration de nanoparticules (N25, N50, N100, N250).

Figure 09 : Teneurs de l'acide urique chez les rats témoins et les rats traités par différentes concentration de nanoparticules (N25, N50, N100, N250).

Figure 10 : Teneurs du malonaldéhyde chez les rats témoins et les rats traités par différentes concentration de nanoparticules (N25, N50, N100, N250).

Figure 11 : Teneurs des protéines carbonylées chez les rats témoins et les rats traités par différentes concentration de nanoparticules (N25, N50, N100, N250)

Figure 12 : Teneurs de glutathion chez les rats témoins et les rats traités par différentes concentration de nanoparticules (N25, N50, N100, N250)

Figure 13 : Teneurs du catalase chez les rats témoins et les rats traités par différentes concentration de nanoparticules (N25, N50, N100, N250).

Figure 14 : aspect normal du tissu rénal sont apparus avec présence des glomérules et des tubes.

Figure 15 : une coupe histologique transversale des reins des rats traités par les nanoparticules d'or (N25) qui montre l'apparition de deux vaisseaux congestifs.

Figure 16 : une coupe histologique transversale des reins des rats traités par les nanoparticules d'or (N50) qui montre l'apparition d'un grand vaisseau congestif avec quelques éléments inflammatoires.

Figure 17 : une coupe histologique transversale des reins des rats traités par les nanoparticules d'or (N100) qui montre l'apparition des plusieurs congestions.

Figure 18 : aspect normal du tissu rénal sont apparus avec présence des glomérules et des tubes.

Liste des tableaux

Tableau 01 : Applications visées par l'utilisation de nanomatériaux, entreprises concernées et estimation de la production mondiale actuelle.

Introduction

Depuis la révolution industrielle, l'empreinte de l'homme sur son environnement devient de plus en plus importante. Les activités humaines sont en constante évolution et les procédés industriels changent avec chaque nouvelle avancée technologique. Depuis le début du nouveau millénaire, le domaine d'innovation qui progresse le plus rapidement est sans aucun doute la nanotechnologie (**François, 2012**).

L'usage des nanotechnologies s'est développé dans plusieurs domaines : électronique, médecine, agroalimentaire, ect... impliquant la fabrication de structures, de dispositifs et de systèmes à partir d'objets de taille nanométriques. Les nanoparticules (NPs) constituent la base de la nanotechnologie, qui est un domaine fortement exploré et étudié ces dernières années par la communauté scientifique (**Mohamed Lamine, 2008**).

Parmi tous les types de NPs disponibles, les NPs d'or requièrent une place particulière dans le domaine médical. Elles ont des propriétés uniques qui sont utilisées en tant que nouveaux outils de diagnostic médical, médicaments mieux ciblés notamment pour combattre les tumeurs cancéreuses ou d'autres maladies graves comme le Sida (**Poole et Owens, 2003**).

Cependant plusieurs questions fondamentales demeurent quant à l'effet de l'exposition répétée à court terme ou à long terme, à de faibles doses ou à de fortes doses des NPs sur les systèmes biologiques. C'est pour cela que depuis quelques années les scientifiques ont commencé à réaliser un plus grand nombre d'études sur la toxicité des NPs d'or. Elles montrent que les NPs d'or peuvent être responsables de réponses inflammatoires pouvant aggraver des pathologies, principalement au niveau des organes directement exposés mais aussi dans tous les autres organes (**Sherwood et al., 2006 ; Ostiguy et al., 2008**). Parmi tous les organes du vivant, le rein occupe une place particulière dans l'épuration des éléments toxiques. Après inhalation et ingestion, les NPs présentes dans la circulation sanguine peuvent rapidement rejoindre les reins pour y être filtrées et éliminées. La réactivité des NPs avec la cellule fait craindre des effets toxiques pour cet organe, ayant des fonctions essentielles dans la filtration, dans l'élimination de composés et dans la régulation de nombreux processus essentiels à l'organisme (**Pujalté, 2011**).

A la lumière de ces données notre travail a pris naissance. Le but de notre travail est d'évaluer l'impact de ces NPs d'or à des concentrations croissantes (25, 50, 100, 250) mg/kg sur les reins des rats Wistar, pour cela:

- Le dosage des paramètres biochimiques (urée, créatinine et acide urique) permet d'apprécier le fonctionnement rénal.
- Le statut oxydant/antioxydant (malondialdéhyde, protéines carbonylées, glutathion et catalase) permet de d'évalué un déséquilibre de la balance oxydante/antioxydante.
- Enfin l'étude histologique de cet organe permet de révelée d'éventuelles altérations tissulaires.

Synthèse bibliographique

1. Nanotechnologie

1.1. Définition

Le terme nanotechnologie ne fut utilisé pour la première fois qu'en 1974 lorsque Norio Taniguchi, un chercheur de l'Université de Tokyo, l'employa pour décrire la capacité de fabriquer des matériaux à l'échelle nanométrique. Elle définit comme étant impliquant la manipulation de la matière fabriquée par l'homme à l'échelle nanométrique (**Myrella, 2015**).

Elle consiste à concevoir et manipuler des structures qui ne dépassent pas 500 nm dans au moins une de leurs dimensions auxquelles a été donné le nom générique de « nanoparticules » (NPs) (**Eidia, 2011**).

Les NPs possèdent des propriétés qui résultent du fait de leur très petite dimension (**Shvedova et al., 2009**) qui se situe entre les atomes et les molécules (**Hoet et al., 2004**).

La taille nanométrique de ces particules leur confère une grande aire de surface car la majorité des atomes les composants se retrouvent à leur surface. Ainsi, plus grande est l'aire de surface, plus grand sera le nombre d'atomes se trouvant au pourtour des NPs, leur allouant des propriétés réactives prééminentes par rapport à leurs homologues micrométriques. De plus, de nombreuses autres propriétés comme la chimie de surface, la biodégradabilité, le nombre, la forme, la solubilité, la conductivité, la charge de surface, les composants chimiques, la présence d'une couche externe protectrice, leur confèrent des propriétés particulières telles que d'échapper au système immunitaire et la possibilité de traverser la barrière hémato-encéphalique (**Yang et al., 2008**).

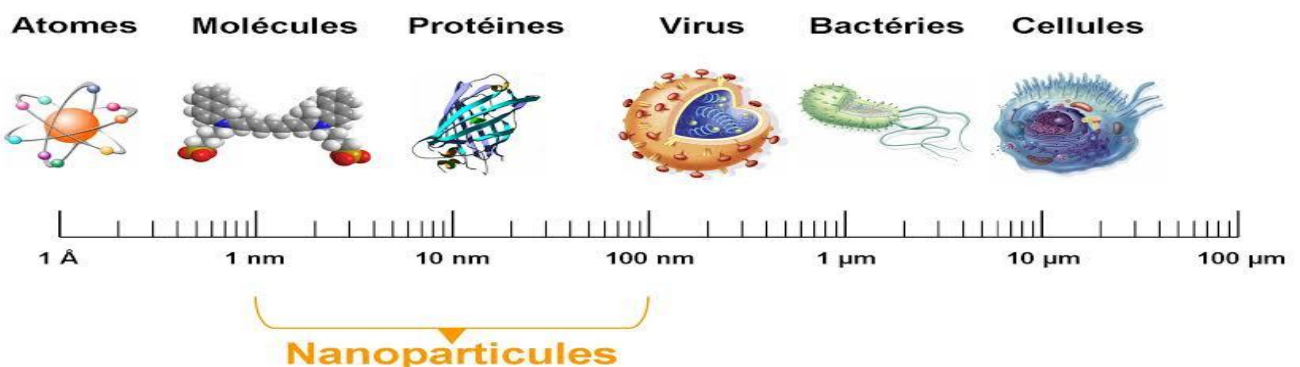


Figure 01 : Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques (**Goutayer, 2008**).

1.2. Nanotechnologie et leur application

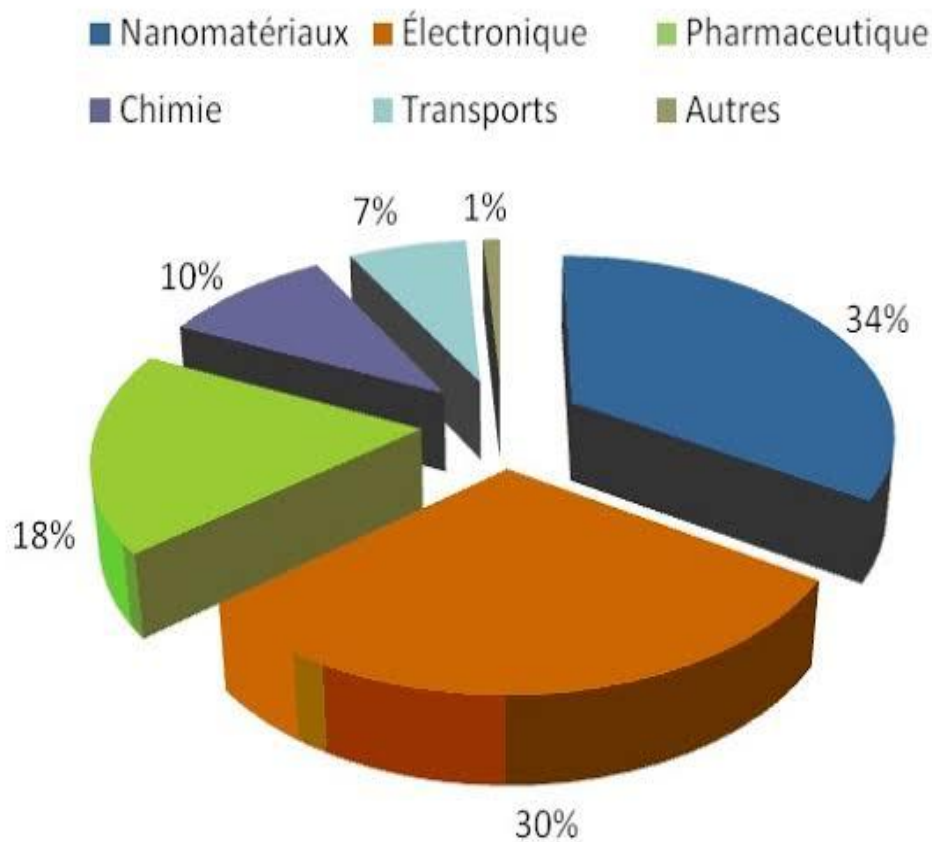
Certains NPs sont utilisés depuis de nombreuses années et surtout dans le domaine agroalimentaire, car ils permettent une meilleure stabilité et une meilleure conservation des produits. Un autre domaine est celui de la nanomédecine où NPs sont utilisées pour le diagnostic et l'imagerie et pour permettre un meilleur ciblage des médicaments. Donc les nanotechnologies sont donc un secteur industriel en forte croissance. Dans le domaine de l'alimentation, les NPs sont utilisées dans les emballages pour permettre une meilleure conservation des produits, comme senseurs pour le suivi de leur durée de vie, dans le domaine des additifs alimentaires, des antiagglomérants par exemple dans le sel et le sucre, comme clarifiants des jus de fruits. Elles sont utilisées pour encapsuler, protéger et délivrer des additifs tels que des caroténoïdes, des phytostérols, des flavonoïdes et des vitamines liposolubles (**Sad Reid et al., 2010 ; Francelyne et al., 2013**)

Ces technologies se développent donc et vont continuer à se développer rapidement (**Afsset, 2006**) :

- ✓ Alimentaire : les nanomatériaux sont actuellement utilisés dans de nombreux produits de consommation courante dont les vêtements, ils permettent une meilleure stabilité et une meilleure conservation des produits. Ils sont utilisés dans le domaine des additifs alimentaires, des antiagglomérants par exemple le sel et le sucre, comme clarifiants des jus de fruits, utilisées par l'industrie agroalimentaire pour encapsuler, protéger et délivrer des additifs tels que des caroténoïdes, des phytostérols, des flavonoïdes et des vitamines liposolubles, sont activement développées.
- ✓ Environnement : utilisation des nanomatériaux pour la réduction des émissions de polluants, le traitement des effluents (photo catalyse et purification des gaz), la production d'eau ultra pure à partir d'eau de mer...
- ✓ Cosmétique : les nanomatériaux sont utilisés pour améliorer les propriétés des produits cosmétiques telles que la brillance, la transparence et les propriétés optiques : filtration des rayonnements ultraviolets, tenue des crèmes solaires à l'eau, anti-âge de la peau.
- ✓ Domaine médical : Les nanotechnologies peuvent avoir une multitude d'applications dans ce domaine : soit pour le diagnostic ou pour la thérapeutique.

Les nanoparticules ont été utilisées comme traitement de certaines maladies tel le cancer.

- ✓ Application dans des réactions d'oxydation : Les catalyseurs à base des nanoparticules sont actifs dans plusieurs réactions telles que l'oxydation de CO, l'oxydation préférentielle de CO en présence d'un excès d'hydrogène (PROX), la réaction de déplacement du gaz à l'eau, l'oxydation sélective des hydrocarbures et des molécules contenant de l'oxygène (aldéhydes, alcools, sucres), l'hydrogénation sélective.
- ✓ Transport: réduire le poids des véhicules, augmenter la résistance des pièces automobiles (rayures), augmenter la tenue à la température de certaines pièces, diminuer la consommation d'énergie.
- ✓ Energie : amélioration des performances des systèmes énergétiques, développement d'énergie propres, économies d'énergie, développement de matériaux pour le stockage de l'hydrogène, éclairage plus économique, matériaux isolants plus efficaces (**Brus, 1986**). (**figure 02**).



❖ **Figure 02** : Répartition en pourcent de l'impact économique global des nanotechnologies en 2010 (**INERIS 2007**).

❖ **Tableau 1** : Applications visées par l'utilisation de nanomatériaux, entreprises concernées et estimation de la production mondiale actuelle (**Afsset, 2006**).

❖ Secteurs	Applications visées	Fabricants utilisateurs	Productions (2010)
Agroalimentaire	Revêtement imperméable Membranes pour le traitement de liquides alimentaires Marquage pour la traçabilité	Laiteries, vins	
Chimie	Catalyseur pour chimie sélective Photocatalyse pour production de H ₂	Rhodia , Arkéma	
Cosmétiques	Anti-UV, anti-vieillessement Antibactérien	L'oréal, BASF DGTec	Oxydes de Ti, Zn, Fe 103t/an
Energie	Pile à combustible, Eclairage à basse consommation Allègement de structure pour éolien Cristaux photoniques pour panneaux solaires	Toshiba, Arkéma, DGTec, Kodak, Phillips	
Environnement	Traitement de pollutions Traitement de l'eau potable	Orelis TAMI, Suez	Oxydes d'Al, Fe 102t/an
Santé, pharmacie	Délivrance ciblée de médicaments Réparation et implants	Arkéma Biometrix, DGTec	nC ₆₀ , quantum dots, oxyde de Fe 1t/an

2. Les nanoparticules d'Or

Il existe une grande variété de nanomatériaux (métaux, oxyde métalliques, carbone...). Parmi eux, les nanoparticules d'or sont les plus anciennes. Elles sont utilisées dans de nombreux objets de la vie quotidienne, mais aussi en médecine (Arvizo et al., 2010 ; Parida et al., 2012). En effet, les NPs d'or ont des caractéristiques intéressantes pour la détection et le traitement de certains types de cancers (Bhattacharyya et al., 2011 ; Almeida et al., 2014).

2.1. Définition

Les NPs d'or sont définis comme des matériaux sous forme de poudre, d'aérosol, de suspension liquide ou de gel. Elles sont caractérisées par le fait qu'au moins une de leurs trois dimensions mesure entre 1 et 100 nm.

Les NPs d'or sont les plus étudiées en raison de leurs propriétés découvertes nouvellement ou mieux comprise. Elles sont constituées d'atomes d'or enveloppés d'une couche protectrice (ligands) qui les stabilise et empêche leur agrégation. Structuellement, le cœur métallique présente une géométrie régulière de forme polyédrique composée d'un nombre caractéristique d'atomes « nombre magique » (Foss et Feldheim., 2002).

2.2. Classes de nanoparticules d'or

Les NPs peuvent être classées selon plusieurs paramètres, tels que le nombre de dimensions à l'échelle nanométrique (une, deux ou trois), leur composition (une phase solide, deux phases solides ou des systèmes à phases multiples) ou leur processus de fabrication (gaz, liquide ou mécanique) (Cao, 2004; Afsset, 2006).

- ✓ Aucune dimension nano : matériaux tels que les nano composites (composites renforcés avec des nanotubes), ou les solides nanocristallins : solide macroscopique constitué de nano cristaux.
- ✓ Une dimension nano : matériaux avec une dimension à l'échelle nanométrique typique des films et des vêtements de surface. Les vêtements ont été utilisés pendant des décennies dans divers champs comme la chimie, l'électronique...
- ✓ Deux dimensions nano : matériaux avec deux dimensions à l'échelle nanométrique par exemple les nano fibres, les nanotubes, les nano filaments et nano bâtonnets.

- ✓ Trois dimensions nanométriques : le matériau est nanométrique dans les trois directions de l'espace, et n'a en conséquence aucune dimension micro ou macro métrique (particules manufacturées ou issues de procédés industriels).

2.3. Les voies d'exposition humaine aux nanoparticules d'Or

L'être humain peut entrer en contact avec les nanoparticules d'or à différents moments de la vie de ceux-ci, que ce soit dans le contexte professionnel (il augmente à la fois dans le secteur industriel par l'augmentation de la production et de l'utilisation des NPs d'or dans différents procédés de fabrication), environnemental ou de consommation. Les voies d'exposition principales sont les voies respiratoires (**Oberdorster et al., 2005**), digestives et transcutanées. Avec l'émergence de la nanomédecine, la voie sanguine représente également une porte d'entrée des NPs dans l'organisme (**Yang, 2007**).

2.3.1. Inhalation

Dans l'organisme humain, les poumons constituent la principale voie d'entrée des poussières des nanoparticules (**Yang et al., 2008**).

Le potentiel d'aérosolisation des NPs demeure encore inconnu à ce jour (**Pelley et al., 2008**). Les particules peuvent pénétrer par le nez ou par la bouche à l'intérieur du tractus respiratoire qui se compose de trois parties:

- ❖ Les voies aériennes supérieures comprenant la bouche, le nez, le pharynx et le larynx.
- ❖ L'arbre trachéobronchique allant de la trachée aux bronches puis bronchioles.
- ❖ Le parenchyme pulmonaire comprenant les bronchioles terminales, les alvéoles et surtout la barrière alvéolo-capillaire.

L'inhalation pourrait provoquer une absorption importante de NPs d'or dans l'organisme étant donné le contact intime entre le sang et l'air au niveau des alvéoles pulmonaires. Les particules de plus de 20 **nm** de longueur ne pouvant être phagocytées après leur déposition dans les voies respiratoires, elles seront éliminées lentement, persistant donc pour des mois, voire des années dans les poumons (**Yang et al., 2008**).

Ces particules inhalées peuvent se retrouver dans la circulation systémique et être distribuées dans divers organes. Les conséquences physiologiques prédites, suite à l'exposition aux NPs, seront nombreuses telles que de l'inflammation au niveau

systémique et des dommages aux systèmes nerveux et cardiovasculaires (**Ostiguy, 2006**).

2.3.2. L'ingestion :

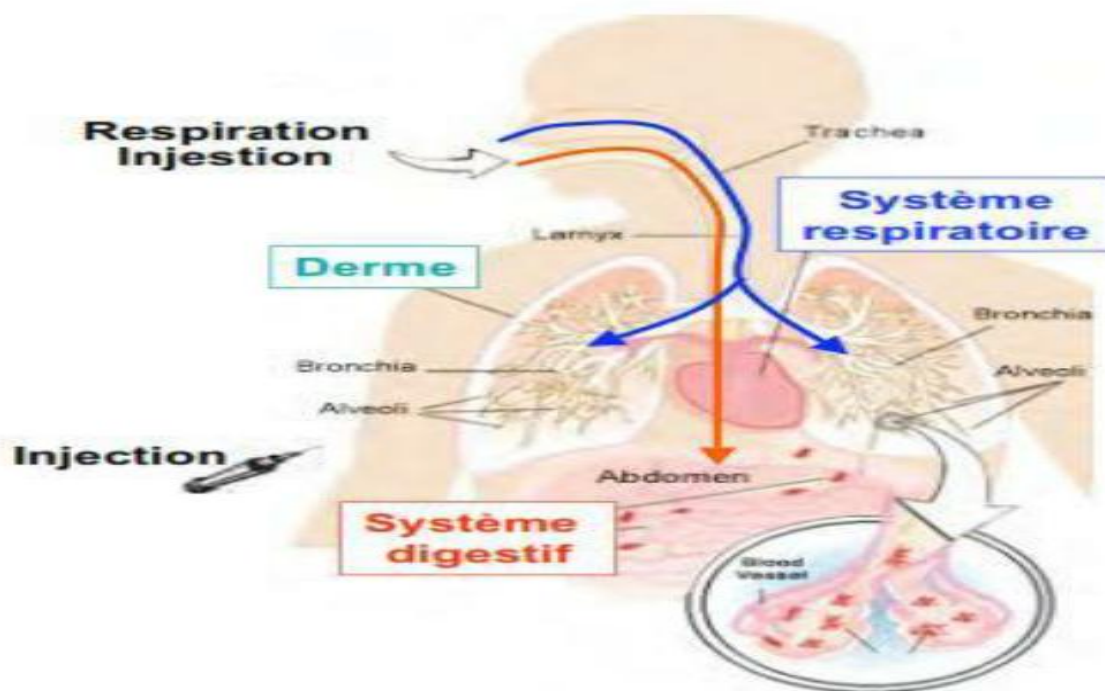
Les principales sources d'ingestions des nanoparticules d'or sont les aliments, les médicaments ou l'eau. A cause de l'application des NPs d'or au niveau alimentaire notamment comme additifs et agent aromatisant, De nombreux chercheurs mettant en évidence que leur ingestion est un mode d'exposition récent (**Duncan, 2011; Sozer et Koniki, 2009**).

Après l'ingestion, les NPs d'or se retrouvant au niveau gastro-intestinal qui peuvent pénétrer l'organisme via les plaques de Peyer, les entérocytes ainsi que par la per sorption (**Hagens et al., 2007**).

Ce processus correspond à la pénétration paracellulaire de particules intactes à travers la paroi intestinale jusque dans la circulation lymphatique et sanguine (**Hagens et al., 2007**). Suite à l'ingestion orale des NPs d'or, il existe une possibilité qu'elles soient excrétée ou accumulées dans les organes et cette accumulation peut provoquer des conséquences graves. Il faut mettre de l'avant la nécessité de bien caractériser la toxicocinétique des NPs d'or utilisées, notamment dans les produits alimentaires (**Hagens, 2007**).

2.3.3. Le contact cutané

L'entrée des NPs d'or à travers la peau peuvent provoquer des risques. Le contact direct avec les NPs causé par leur présence dans les cosmétiques (les crème solaire) ainsi que dans les pansements antibactériens représente donc une voie d'absorption possiblement importante (**Hagens et al., 2007; Crosera et al., 2009**). Finalement, les expositions potentielles liées au milieu de travail pourraient inclure le contact cutané lors de la fabrication des NPs, de l'utilisation de pesticides ou de produits pharmaceutiques contenant des NPs (**El-Ansary et Al-Daihan, 2009**). (**Figure 03**).



❖ **Figure 03** : différentes voies d'entrée des nanoparticules dans l'organisme (Auffan, 2008).

3. Risque pour la santé humain

L'utilisation des nanotechnologies en agroalimentaire peut toutefois présenter des risques pour la santé ou l'environnement. L'un des risques concerne le parcours des NPs d'or dans le corps humains, après ingestion, et leurs accès à divers organes à travers la barrière intestinale, les cellules, les vaisseaux sanguins et les voies pulmonaires (Hagens et al., 2007).

L'identification et la mesure de ces risques suscite actuellement beaucoup de travaux aux niveaux français, européens et international.

Un certain nombre de questions demeurent quant aux effets toxiques des NPs sur la santé. Ces questions sont motivées par l'augmentation du risque d'exposition de la population générale aux NPs, exposition qui va s'amplifier au cours des prochaines années. Les données toxicologiques actuelles sur les NPs demeurent encore insuffisantes.

Les NPs d'or de petite taille (15 nm) peuvent pénétrer plus profondément dans la peau et dans l'intestin que les particules de taille supérieure à 100 nm (**Sonavane et al., 2008**).

Les NPs d'or de 20 nm, mais pas celles de 100 nm, peuvent passer du sang jusqu'à la rétine lorsque injectées par voie intraveineuse à des rats. Leur bio-persistance les réponses biologiques qu'elles induisent en relation avec la dose (**Kim et al., 2009**).

4. La cible rénale

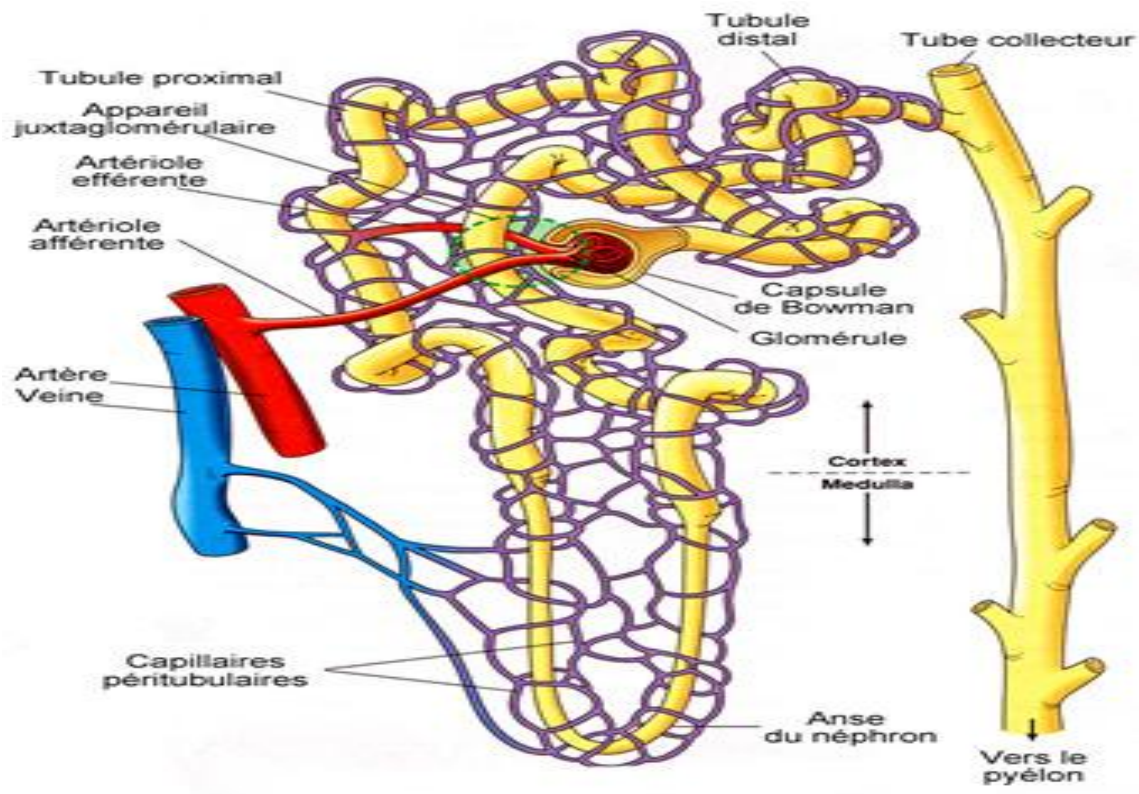
Après leurs inhalations et ingestion, les NPs d'or présentes dans la circulation sanguine peuvent rapidement rejoindre les reins pour y être filtrées et éliminées. La réactivité des NPs avec la cellule fait craindre des effets toxiques pour cet organe, ayant des fonctions essentielles dans la filtration, dans l'élimination de composés et dans la régulation de nombreux processus essentiels à l'organisme (**Pujalté, 2011**).

4.1. Rôle et fonctions des reins

Le rein est un organe essentiels, assumant de nombreuses fonctions dans l'organisme, dont son rôle central dans l'excrétion ou il exerce des fonctions de filtration, de réabsorption et de sécrétion (**Sherwood et al., 2006**). Il a d'autre fonction :

- excrétion des déchets du métabolisme des protéines et des acides nucléiques (urée, créatinine, acide urique).
- maintien de l'équilibre hydro-électrolytique donc du volume et de la composition du liquide extracellulaire (LEC).
- synthèse hormonale (organe endocrine).

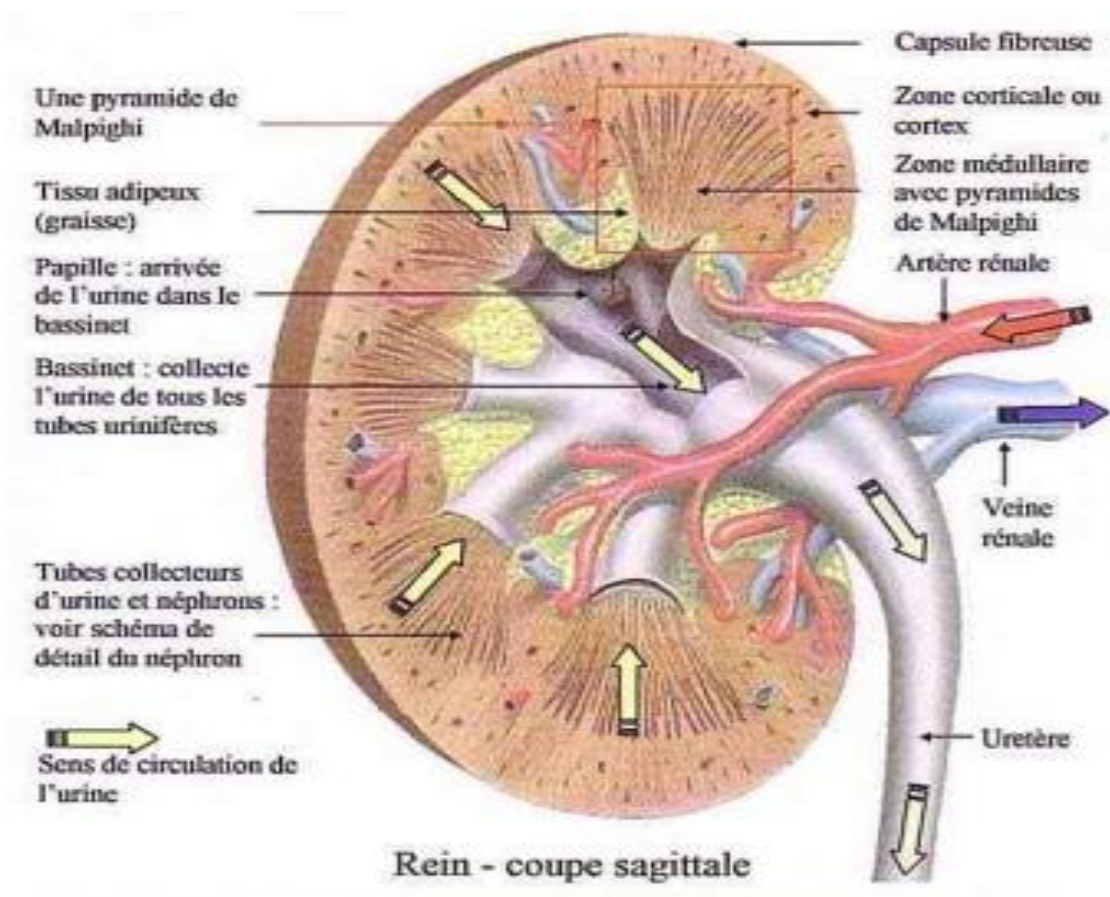
Il est le principal garant de l'homéostasie du milieu que la vie cellulaire tend à bouleverser, grâce à sa disposition particulière et au fonctionnement intègre de son unité fonctionnelle «le néphron». Ce dernier est une unité structurale et fonctionnelle du rein représentant 1 million d'unités par rein, il est formé de deux parties distinctes et complémentaires : le glomérule et le tube (**figure 4**)



❖ **Figure 04** : Un néphron et son tube collecteur (Marieb, 2005).

Le glomérule est une structure importante dans la fonction rénale. Il est en forme de coupe et entoure un réseau de capillaire. Il est responsable de la filtration glomérulaire qui est la première étape de la formation de l'urine. Chaque minute, 125 ml d'ultra filtrat sont produits par l'ensemble des glomérules, chaque jour, le rein génère environ 180 litres d'ultra filtrat, dont la plus grande majorité sera réabsorbée. Au passage du sang dans le glomérule, l'eau et les substances dissoutes (à l'exception des protéines) sont filtrées hors des capillaires vers la capsule de Bowman. Près de 20 % du plasma qui entre dans le glomérule est filtré.

Dans la constitution du rein en différentes parties, se trouve de l'extérieur vers l'intérieur : le parenchyme rénal formé de deux zones (une zone corticale périphérique et une zone médullaire), les calices qui convergent vers les bassinets. De bassinets part l'uretère, par lequel l'urine est avancée jusqu'à l'orifice via la vessie (Pujalté, 2011). (Figure 05).



❖ **Figure 05** : rein-coupe sagittale (Bourouina, 2008).

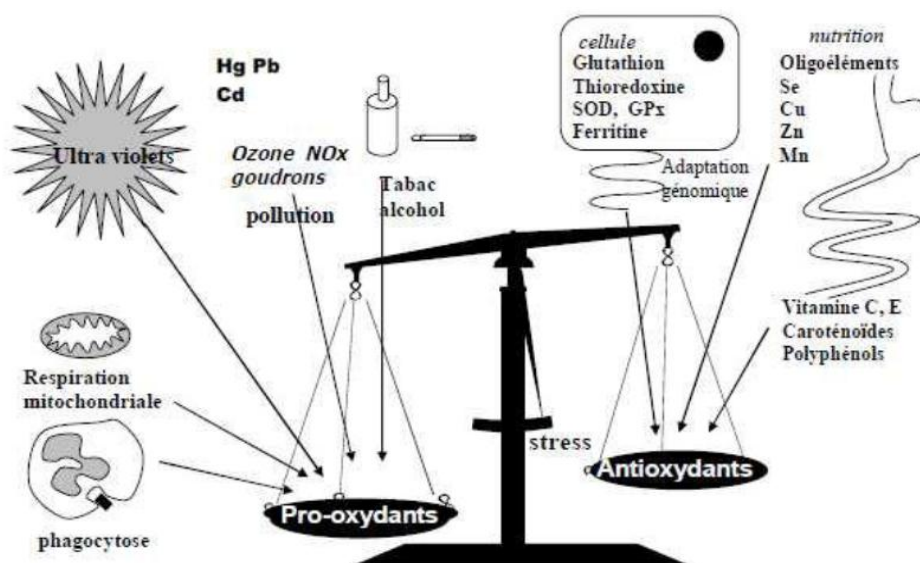
4.2. Nanoparticules et stress oxydant

Lors de la production d'énergie par la mitochondrie, des électrons peuvent s'échapper et réagir directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme donnant naissance à des espèces oxygénées activées (EOA). Celles-ci soient des radicaux libres.

Un déséquilibre profond dans la balance entre les prooxydants, producteurs d'espèces radicalaires, et les antioxydants, au profit des premiers est la définition du stress oxydant.

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO. Le terme d'antioxydant désigne toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (Halliwell, 1990). Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (Delattre et al., 2005).

Le stress oxydant peut servir de base au déclenchement d'autres effets toxiques. La production d'ERO est considérée comme faisant partie des signaux initiaux de l'inflammation. Les ERO peuvent induire une libération des médiateurs chimiques à partir de cellules immunitaires (macrophages, monocytes, etc.), mais aussi, à partir de cellules épithéliales ou endothéliales (Park and Park, 2009; Gustafsson et al., 2011). (Figure 06).



❖ **Figure 06** : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006).

Si les ERO excèdent la capacité de la machinerie antioxydante cellulaire, des dommages oxydatifs peuvent survenir, engendrant un stress oxydant, et affecter considérablement la cellule et son fonctionnement. Lors d'un stress oxydant, les ERO non détoxifiés par le système antioxydant vont oxyder les macromolécules, telles les lipides, protéines, sucres et acides nucléiques, désorganisant leurs structures chimiques et altérant leurs fonctions biologiques (Wu et al., 2009).

4.2.1. Les oxydants

- **Malondialdhyde MDA** : est un marqueur généré après la peroxydation lipidique, il constitue une source endogène des dommages de l'ADN (**Marnett, 2002**). La peroxydation lipidique est suivie d'un changement structural des membranes biologiques ou d'autre élément contenant des lipides (**Al-Mutairi et al., 2007**) .
- **Les protéines carbonylées** : sont des marqueurs de l'oxydation des protéines.

4.2.2. Les antioxydants

- **Glutathion réduit** : le GSH sous sa forme réduite, est un tripeptide formé par la condensation d'acide glutamique, de cystéine et de glycine: 1-L-glutamyl-cystéinyl-glycine (**Charef et Diffalah, 2016**). Il joue un rôle dans le mécanisme de défense antioxydante et les mécanismes de détoxifications et considéré comme un piègeur direct des radicaux (**Sathishsekar et Subramanian, 2005**).
- **Catalase** : est un enzyme qui catalyse le peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire pour prévenir la formation de radicaux hydroxyles (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003**). Il est sensible à certains métaux toxiques (**Almeida et al., 2007**).

Des études impliquent le stress oxydant dans l'origine de la cytotoxicité des NPs et montrent l'apparition de dégâts oxydatifs (peroxydation lipidique, altération des protéines, dommages à l'ADN). Ainsi, la formation de résidus de la peroxydation lipidique (MDA) résultant d'une augmentation intracellulaire d'ERO, a été observée lors de l'exposition in vitro à différentes NPs (Au, TiO₂, C60, etc.) (**Ghosh et al., 2010; Li et al., 2010**).

Matériel et méthodes

1. Protocole expérimental

Pour notre étude, nous avons utilisé des rats de type Wistar provenant de l'institut Pasteur, Alger, et élevés à l'animalerie du laboratoire de recherche PPaBioNut (Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition), université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen.

2. Préparation des animaux

Notre étude est réalisée sur des rats mâles albinos de souche Wistar. Tous les rats ont reçus une nourriture standard de l'Office National d'Alimentation de Bétails (ONAB) et l'eau potable à satiété, avec des conditions respectables, d'une température de 25°C à 30°C et un taux d'humidité compris entre 60% et 70%. Nous avons choisi pour notre étude des rats d'un poids corporel compris entre 180 et 200 g.

3. Préparation des dilutions de nanoparticules : dans le PBS (Phosphate Buffered Saline PH=7.4) :

Des nanoparticules d'ors synthétisés par l'équipe de l'université de Limerick (Irlande) laboratoire matériel and surface Science Bernal Institute sont utilisées sous forme d'une poudre.

A partir d'une solution mère différentes concentrations sont préparées dans du PBS (Phosphate Buffer Saline à pH 7.5) 250, 100, 50 et 25 mg/kg de poids corporel. Les rats sont répartis en 5 groupes de (3rats/groupes) :

- Groupe Témoin (3rats), rats recevant par injection caudale unique 1ml de solution tampon PBS.
- Groupe N25 (3rats), rats recevant par injection caudale unique 1ml de solution à 25mg/kg.
- Groupe N50 (3rats), rats recevant par injection caudale unique 1ml de solution à 50mg/kg.
- Groupe N100 (3rats), rats recevant par injection caudale unique 1ml de solution à 100mg/kg.
- Groupe N250 (3rats), rats recevant par injection caudale unique 1ml de solution à 250mg/kg.

4. Sacrifice et prélèvement de sang et d'organes :

Après 15 jours qui suivent l'injection caudale, les rats sont anesthésiés par une injection de pentobarbital sodique à 6% (0.1ml par 100g du poids corporel).

Les rats, sont ouverts ventralement pour faire le prélèvement d'organes:

Les reins sont rincés avec de NaCl à 0.9% puis. Un poids déterminé des reins est additionné à une de solution tampon PBS suivie par un broyage en utilisant un homogénéisateur WiseTIS® (HG-15A). L'échantillon est centrifugé 6000 tours/min pendant 10 min pour obtenir l'homogénats des organes. Le surnageant est pour le dosage des paramètres du stress oxydant.

- Pour réaliser des coupes histologique, une partie des reins est fixer dans du formol.

Le sang est prélevé par ponction dans l'aorte abdominale, et récupéré dans des tubes EDTA. Ces échantillons sanguins sont centrifugés pendant 10 min à 3000 tours /min, Le plasma récupéré est conservé à -80°c jusqu'à son utilisation dans les dosages biochimiques (urée, créatinine, acide urique).

5. Analyses biochimiques

5.1. Détermination de l'urée

L'urée est dosée par une méthode enzymatique et colorimétrique. L'uréase est un enzyme qui hydrolyse l'urée en produisant de l'ammoniac(NH_4^+) et dioxyde de carbone(CO_2).

Les ions ammonium réagissent en milieu alcalin avec le salicylate et l'hypochlorite(NaClO) pour former l'indophénol bleu que l'on peut quantifier par la spectrophotométrie.

La lecture se fait à 600 nm et l'intensité de la coloration formée est proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon.

5.2. Détermination de la créatinine

La créatinine est déterminée par une méthode cinétique colorimétrique enzymatique.

Elle réagisse avec le picrate de sodium. C'est la réaction de **JAFFE** pour donner un complexe coloré, la lecture se fait à 500nm et l'intensité de la coloration formée est proportionnelle à la concentration de la créatinine dans l'échantillon.

5.3. Détermination de l'acide urique

L'enzyme uricase oxyde l'acide urique en allantoiné et peroxyde d'hydrogène, qui sous l'influence de la peroxydase, 4-aminophenazone (4-AP) et 2-4 dichlorophenolsulfonate (DCPS) forme un composé de quinone imine rouge. La lecture se fait à une longueur d'onde de 520nm.

6. Dosage des paramètres du statut oxydant/antioxydant (kit SPINREACT)

6.1. Marqueurs du statut oxydant

6.1.1. Détermination du malondialdéhyde (MDA)

Le MDA ou Malondialdéhyde est un marqueur de l'oxydation des lipides. Il est considéré comme un des produits terminaux des acides gras poly-insaturés.

Le niveau de peroxydation lipidique a été évalué avec la méthode de **NourouzZadeh et al ; 1996**. Après traitement par l'acide à chaud, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un produit de condensation chromogénique consistant en deux molécules de TBA et une molécule de MDA. Cette condensation permet la formation d'un pigment absorbant à 532 nm. La concentration du MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA : $\epsilon = 1,56 * 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ selon la formule suivante : **[MDA]= DO/ $\epsilon \cdot L$**

Avec : **L**: la longueur de la cuve= 1 cm. **DO** : la densité optique de l'échantillon à 532 nm. La concentration de l'échantillon est exprimée en **$\mu\text{mol/l}$** .

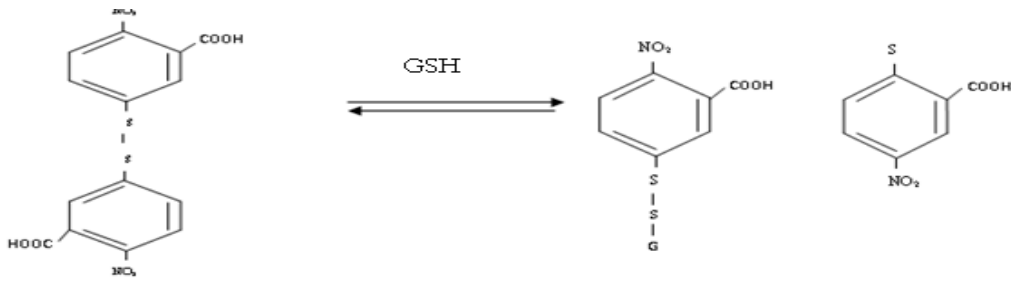
6.1.2. Détermination des protéines carbonylées

La mesure de l'ensemble des protéines carbonylées (PC) est utilisée pour mesurer l'oxydation des protéines par la méthode de **LEVINE et al.1990** selon la réaction au 2,4-dinitrophénylhydrazine. Cette réaction aboutit à la formation de la dinitrophénylhydrazone colorée. Les concentrations des groupements carbonylés sont déterminées par lectures à 350 et 375 nm et calculées selon un coefficient d'extinction ($\epsilon = 21.5 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).

6.2. Paramètres du statut antioxydant

6.2.1. Dosage de glutathion réduit (GSH)

Le taux de GSH est mesuré selon la méthode de **Ellman et al ; 1959**. Cette méthode est réalisée par le réactif d'**Ellman** (DTNB) qui permet de couper la molécule d'acide 5,5dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB). Ce dernier à pH alcalin (8-9) présente une absorbance à 412 nm avec un coefficient d'extinction $13,6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.



DTNB

Acide thionitrobenzoïque (TNB)

6.2.2. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase

Une catalase est une oxydoréductase qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène. L'activité de la catalase est mesurée au niveau d'homogénats d'organe selon la méthode **Aebi, 1984** par l'analyse spectrophotométrique du taux de la composition de peroxyde d'hydrogène. En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de H_2O_2 en fonction du temps. Après incubation, le réactif Titanium oxyde sulfate ($TiOSO_4$) est ajouté. La lecture se fait à 420 nm. Les concentrations du H_2O_2 restant sont déterminées à partir d'une gamme étalon de H_2O_2 . L'activité spécifique est exprimée en U/min/ml d'homogénats d'organe.

7. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne erreur standard ($n=3$). Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes entre le groupe témoin et le groupes test est réalisée par le test T de *student*. Les différences sont considérées significatives à * p 0.05, très significatives à ** p 0.01 et hautement significatives à *** p 0.001. Tous les calculs sont réalisés par l'Excel.

8. Technique histologique

Les coupes histologiques ont été réalisées suivant la technique classique de (**Houlot, 1984**), cette technique nous permet d'obtenir des coupes minces de ces reins. Elle comprend plusieurs étapes :

8.1. Fixation et incubation

Les reins, précédemment prélevés, ont été fixés dans une solution contenant un volume, 10 fois plus important que l'organe, de formol à 10% pendant une durée d'environ 48h à 4°C.

Cette étape a pour but de préserver la morphologie cellulaire et tissulaire afin de garder l'échantillon dans un état aussi proche que possible de l'état in vivo tout en renforçant la consistance du tissu (**Djoudad-Kadji et al., 2011**).

Les organes ont été par la suite découpés transversalement puis placés dans des cassettes histologiques marquées avant d'être plongées dans un erlenmeyer contenant le fixateur. Ces cassettes ont ensuite été mises dans un panier de l'appareil automate de circulation qui a permis la réalisation de trois étapes :

8.1.1. La déshydratation

Les échantillons sont ensuite déshydratés pendant 12 heures au minimum, Cette étape permet d'éliminer l'eau des tissus pour les préparer à l'inclusion (**Alturkistanu et al., 2016**) dans un milieu hydrophobe (la paraffine). Cette opération nécessite le passage du tissu dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70% à 100%).

8.1.2 La clarification

Elle a été effectuée par passage du panier dans deux bains de xylène. Cette opération permet l'élimination totale de traces d'éthanol dans l'échantillon (**Alturkistanu et al., 2016**).

8.1.3 L'inclusion (imprégnation)

Dernière étape qui a été faite par immersion des cassettes dans deux bains successifs de paraffine de 1h30 chacun à une température de 56°C.

8.2. Enrobage et confection des coupes

Les échantillons ont été prélevés des cassettes à l'aide d'un pince puis placés dans des moules en inox immergés dans la paraffine chauffée. Après refroidissement, le bloc est démoulé et ce bloc est ferme et facile à couper, pour y être placés dans un microtome afin de confectionner des coupes d'environ 3 µm. Le ruban de coupe est étalé dans un bain marie à 37°C, récupéré sur des lames ordinaires, puis mis dans une

étuve pour sécher et faire adhérer la paraffine à la lame. Cette opération permet la pénétration des colorants hydrophiles dans les tissus.

8.3. Coloration et montage des coupes

La coloration permet l'analyse de l'architecture du tissu, des cellules, de cytoplasme, de leur noyau et des constituants extracellulaires. Mais les coupes ne seront pas prêtes à recevoir les colorants qu'après déparaffiner et hydrater les lames à l'eau du robinet puis rincer à l'eau distillée.

La coloration des lames a été faite avec deux colorants qui permettent de mettre en évidence la morphologie cellulaire et tissulaire : l'hématoxyline basique qui colore le noyau acide (basophile) en bleu-violet et l'éosine acide qui colore le cytoplasme basique (acidophile) en rose.

La dernière étape se déroule par le passage des lames dans un bain d'éthanol suivi d'un bain contenant un mélange d'éthanol/xylène et pour finir dans deux bains successifs de xylène. Quelques gouttes d'Eukit (colle biologique) ont été déposées sur des lamelles avant d'être placées sur les lames (Figure 6B). L'ensemble lame et lamelles a été par la suite séché à l'air libre.

8.4. Observation microscopique

Une fois l'histologie terminée, les lames sont analysées avec le microscope optique de type Leica DM1000LED muni d'un appareil photo numérique intégrée **Leica EC3**.

Résultats et interprétation

1. Exploration des paramètres biochimiques

1.1. L'Urée

Concernant les rats soumis à différentes concentrations en nanoparticules (N25, N50, N100), nos résultats montrent une augmentation hautement significative des concentrations des teneurs en urée par rapport au lot témoin. Et ce qui concerne le lot N250, on observe une augmentation très significative (**figure 7**).

1.2. La Créatinine

Selon **la figure 08**, les résultats montrent une élévation hautement significative des teneurs en créatinine concernant le lot N100 et N250 comparés au lot témoin. En ce qui concerne le lot N50, une diminution très significative des concentrations en créatinine sont observées comparés au lot témoin. En revanche, aucune différence n'est observée dans le lot N25 en comparaison avec lot témoin.

1.3. L'acide urique

Selon **la figure 09**. La concentration de l'acide urique est diminuée de façon hautement significative au niveau du lot N50 par rapport au lot témoin. En revanche, aucune différence n'est observée au niveau des lots N25, N100, N250 comparées à leurs témoins.

2. Exploration des paramètres du statut oxydant/antioxydant

2.1. Marqueurs du statut oxydant

2.1.1. Malondialdéhyde (MDA)

Selon **la figure 10**, une augmentation très significative de la concentration de MDA au niveau des lots N50 et N250 par rapport au lot témoin est observée. En revanche, aucune différence n'est observée au niveau des lots N25 et N100 comparés à leurs témoins.

2.1.2. Les protéines carbonylées

Selon **la figure 11**, les protéines carbonylées dans les reins sont diminuées de manière hautement significative au niveau des lots N25, N100 et N250 par rapport au lot témoin. En revanche, aucune différence n'est observée au niveau du lot N50 comparé au lot témoin.

2.2. Paramètres du statut antioxydant

2.2.1. Le glutathion réduit (GSH)

Selon la **figure 12**, on remarque une augmentation très significative du glutathion au niveau des lots N25, N100 et N250 par rapport au lot témoin. Une augmentation significative est notée pour le lot N50 comparée au témoin.

2.2.2. L'activité enzymatique de la catalase

Selon la **figure13**, l'activité enzymatique antioxydante de la catalase est très significativement élevée au niveau des lots N25, N50, N100, N250 par rapport au lot témoin.

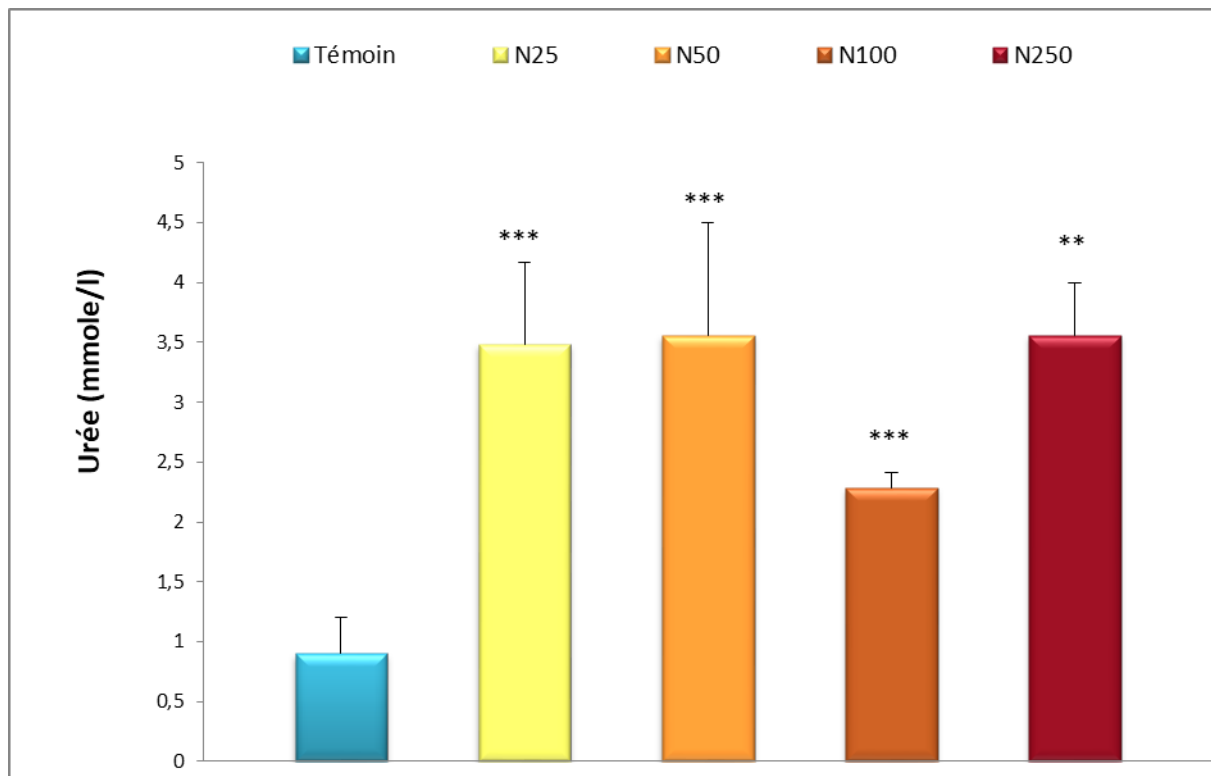


Figure 07 : teneurs de l'urée chez les rats témoins et les rats traités par différentes concentration de nanoparticules (N25, N50, N100, N250).

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard (n=3). Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes entre le groupe témoin et le groupes test est réalisée par le test T de student. Les différences sont considérées très significatives à $**p < 0.01$ et hautement significatives à $***p < 0.001$.

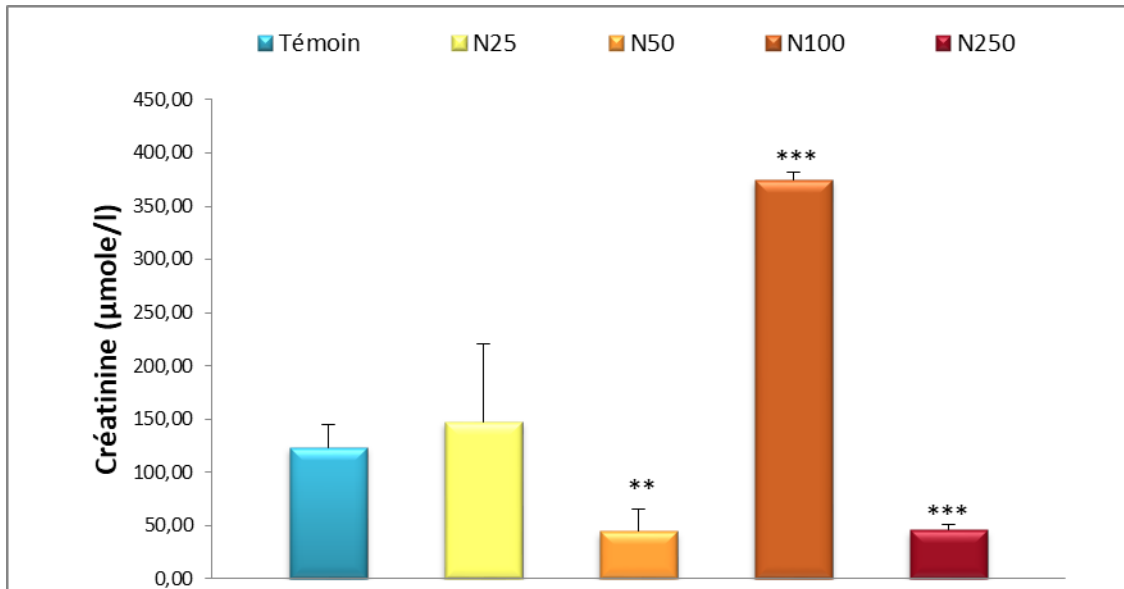


Figure 08 : teneurs de la créatinine chez les rats témoins et des rats traités par différents concentration de nanoparticules (N25, N50, N100, N250).

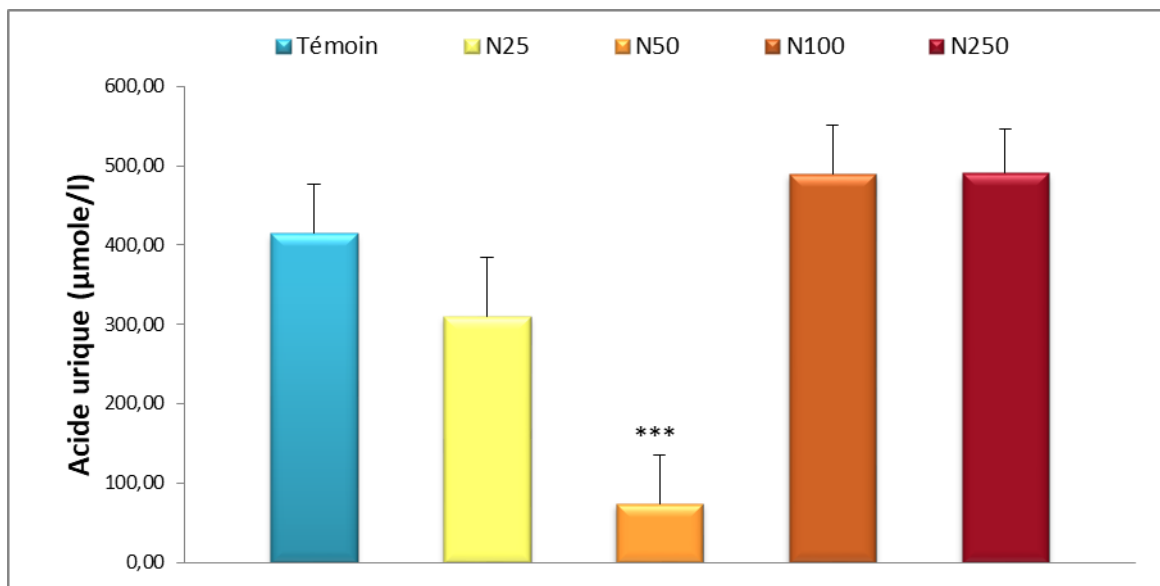


Figure 09 : teneurs de l'acide urique chez les rats témoins et des rats traités par différents concentration de nanoparticule (N25, N50, N100, N250).

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard (n=3). Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes entre le groupe témoin et le groupes test est réalisée par le test T de student. Les différences sont considérées très significatives à $**p < 0.01$ et hautement significatives à $***p < 0.001$.

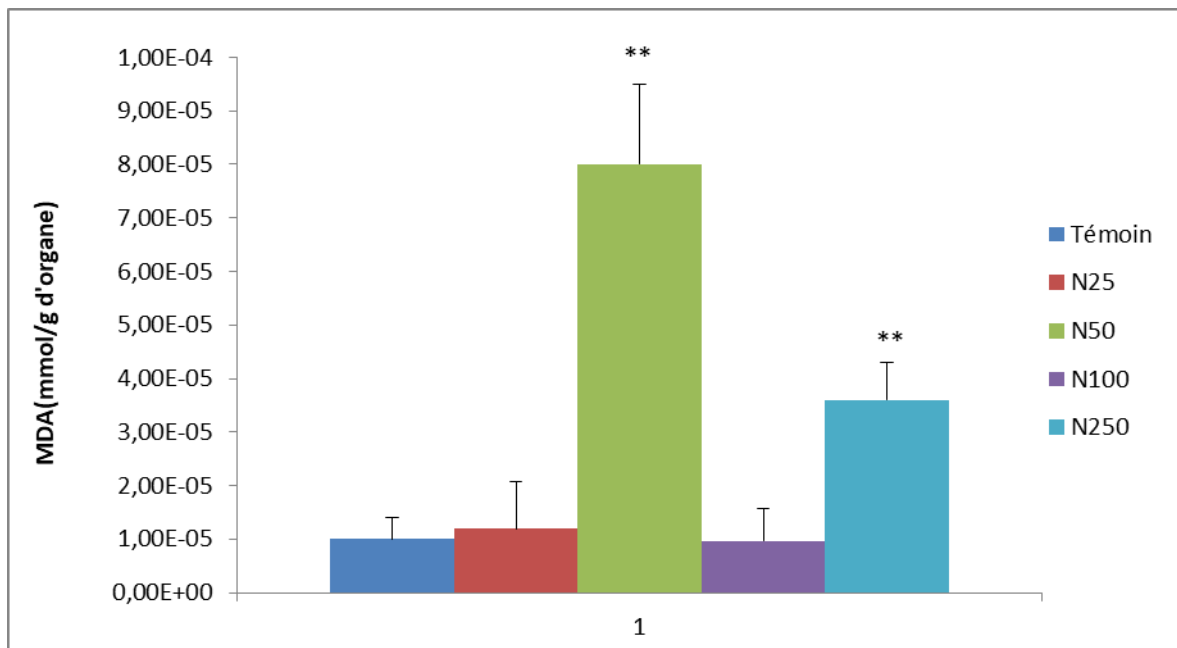


Figure 10 : teneurs du malondialdéhyde au niveau du rein chez les rats témoins et les rats traités par différents concentration des nanoparticules (N25, N50, N100, N250).

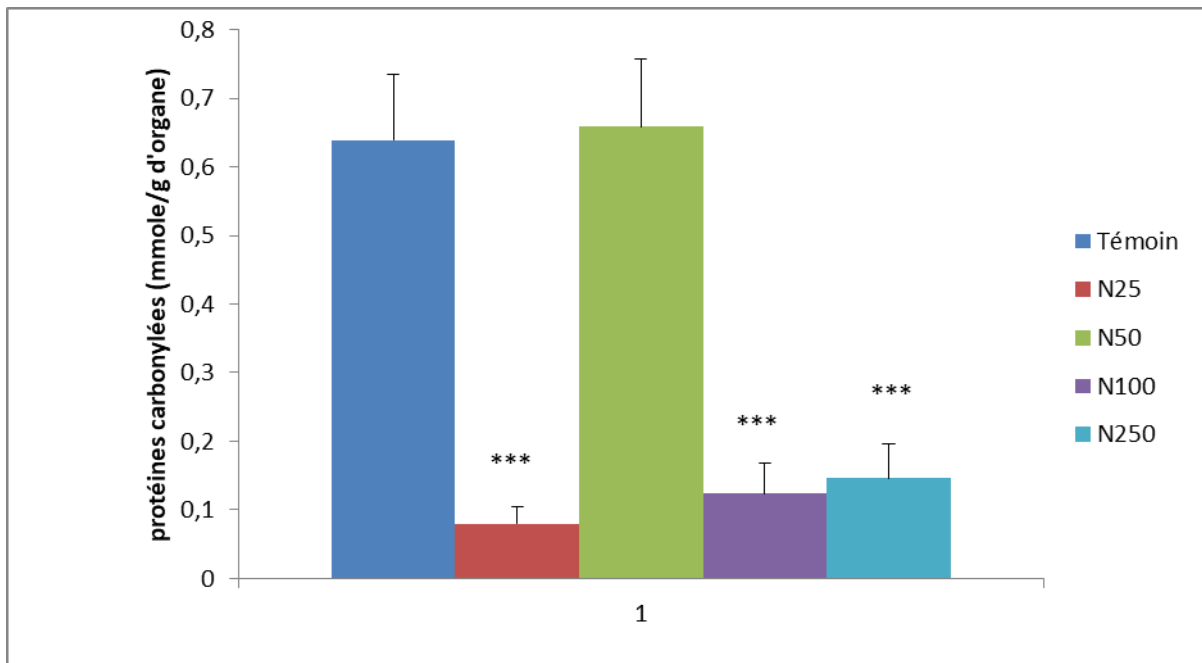


Figure 11 : teneurs des protéines carbonylées au niveau du rein chez les rats témoins et les rats traités par différents concentration des nanoparticules (N25, N50, N100, N250).

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard (n=3). Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes entre le groupe témoin et le groupes test est réalisée par le test T de student. , la comparaison des moyennes entre le groupe témoin et le groupes test est réalisée par le test T de student. Les différences sont considérées très significatives à $**p < 0.01$ et hautement significatives à $***p < 0.001$.

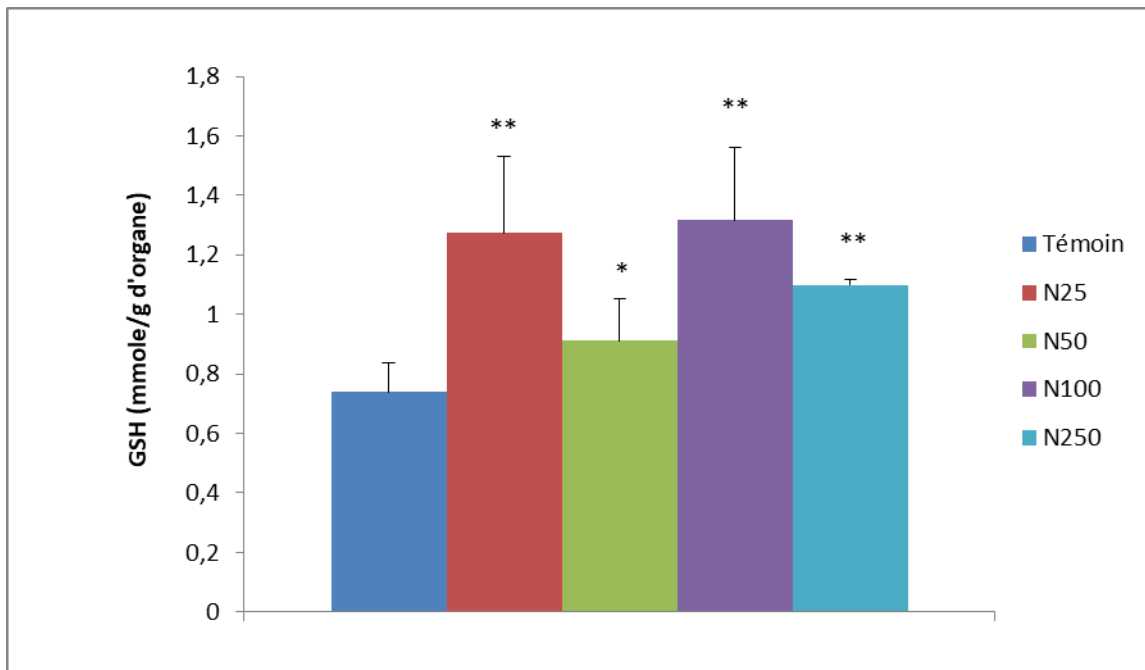


Figure 12 : teneurs de glutathion réduit au niveau du rein chez les rats témoins et les rats traités par différents concentration des nanoparticules (N25, N50, N100, N250).

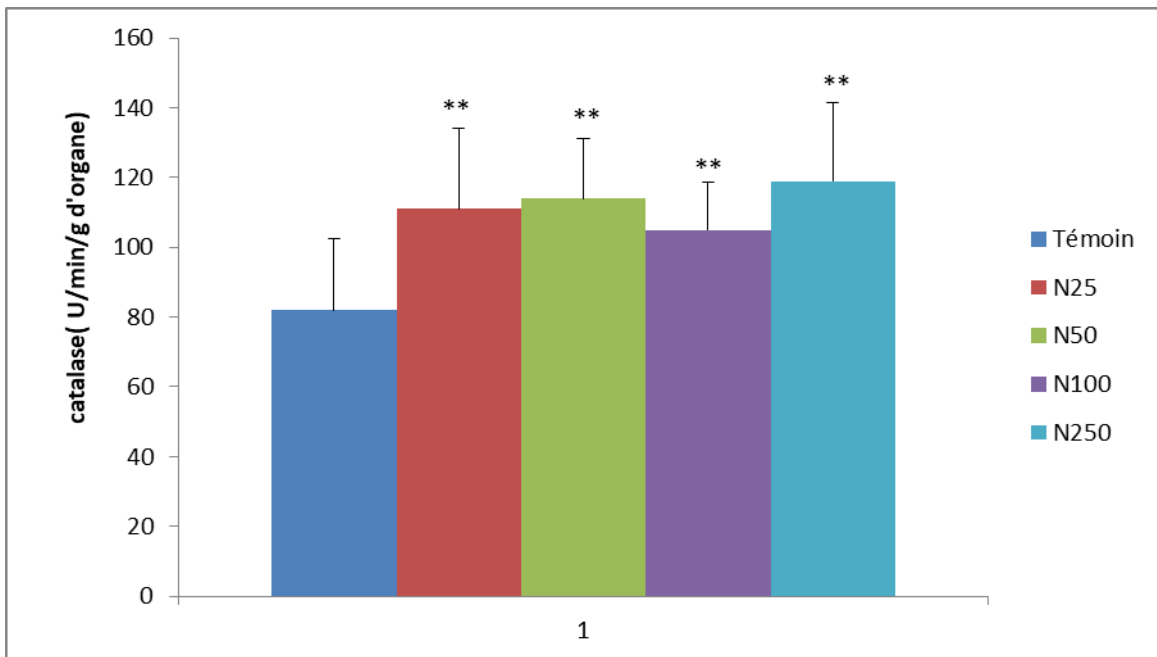


Figure 13 : activité enzymatique de la catalase au niveau du rein chez les rats témoins et les rats traités par différents concentration des nanoparticules (N25, N50, N100, N250).

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard (n=3). Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes entre le groupe témoin et le groupes test est réalisée par le test T de student. , la comparaison des moyennes entre le groupe témoin et le groupes test est réalisée par le test T de student. Les différences sont considérées significatives à $*p < 0.05$ et très significatives à $**p < 0.01$.

3. Résultats de l'étude histologique

L'observation microscopique des reins des souris témoins X10 a révélé une architecture normale du tissu rénal contenant une structure normale des tubules rénaux et les glomérules (**figure 14**).

Aspect du tissu rénal après traitement par les différentes concentrations de nanoparticule d'or :

- **Rein : N25 X 10** : L'observation microscopique des reins des souris traitées aux nanoparticules d'or à concentration N25 a montré une congestion de deux vaisseaux (**figure 15**).
- **Rein : N50 X 10** : L'observation microscopique des reins des souris traitées aux nanoparticules d'or à concentration N50 a montré l'apparition d'un grand vaisseau congestif (**figure 16**). Ces observations indiquent que la dose utilisée des nanoparticules d'or provoque l'apparition de diverses lésions dans le tissu rénal.
- **Rein : N100 X 10** : La comparaison des coupes histologiques des reins des rats expérimentaux par rapport aux rats témoins montre la présence de plusieurs congestions. Ces observations indiquent que la dose utilisée des nanoparticules d'or provoque l'apparition de diverses lésions dans le tissu rénal.
- **Rein : N250 X 10** : La comparaison des coupes histologiques des reins des rats expérimentaux (N250) par rapport aux rats témoins montre qu'il n'y a aucune différence dans la structure tissulaire rénale concernant les tubules rénaux et les glomérules.

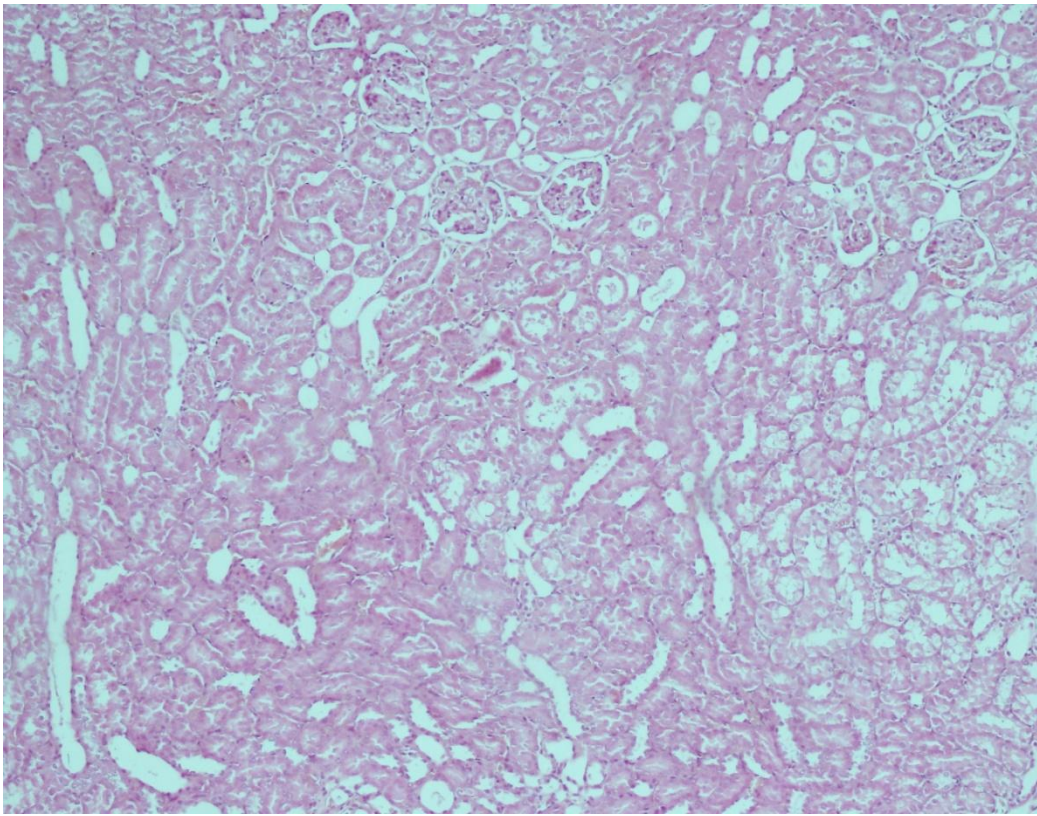


Figure 14: Témoin X10: Aspect normal du tissu rénal avec présence des glomérules et des tubes.

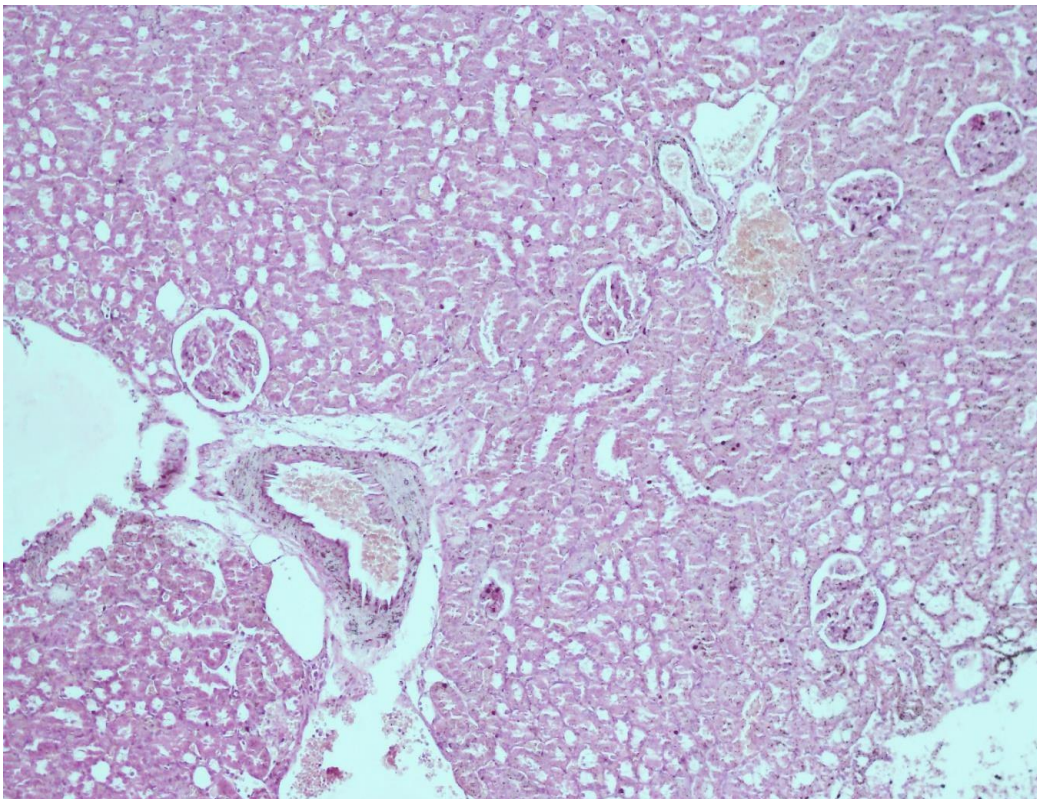


Figure 15 : Rein : N25 X 10 : une coupe histologique transversale des reins des rats traités par des nanoparticules d'or (N25) montrant la présence de deux vaisseaux congestifs.

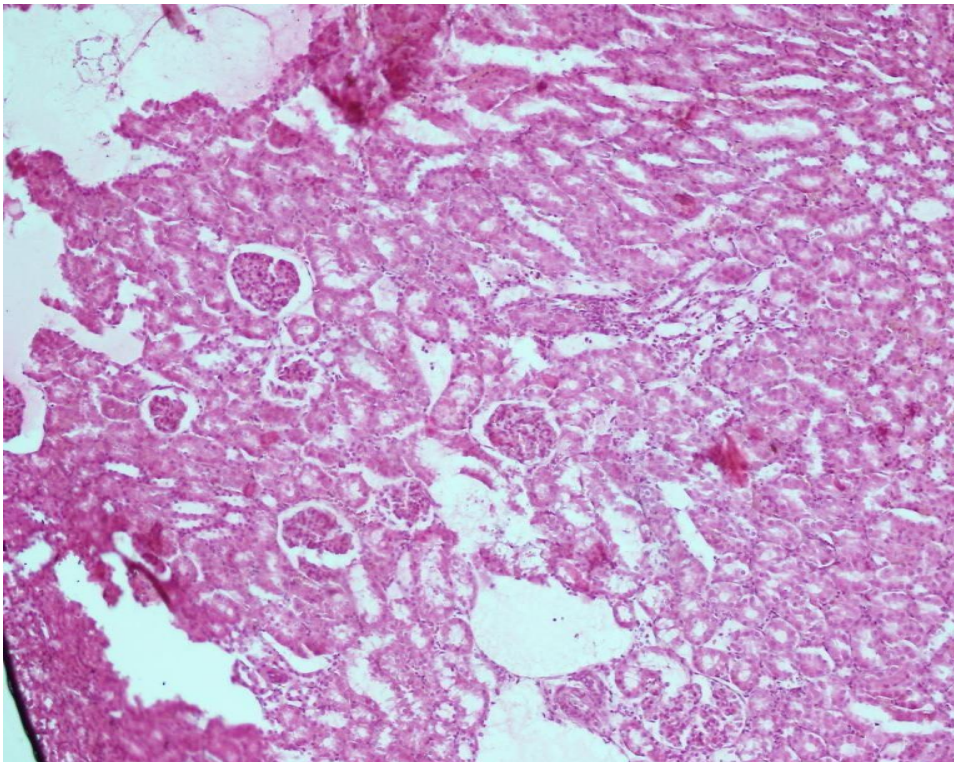
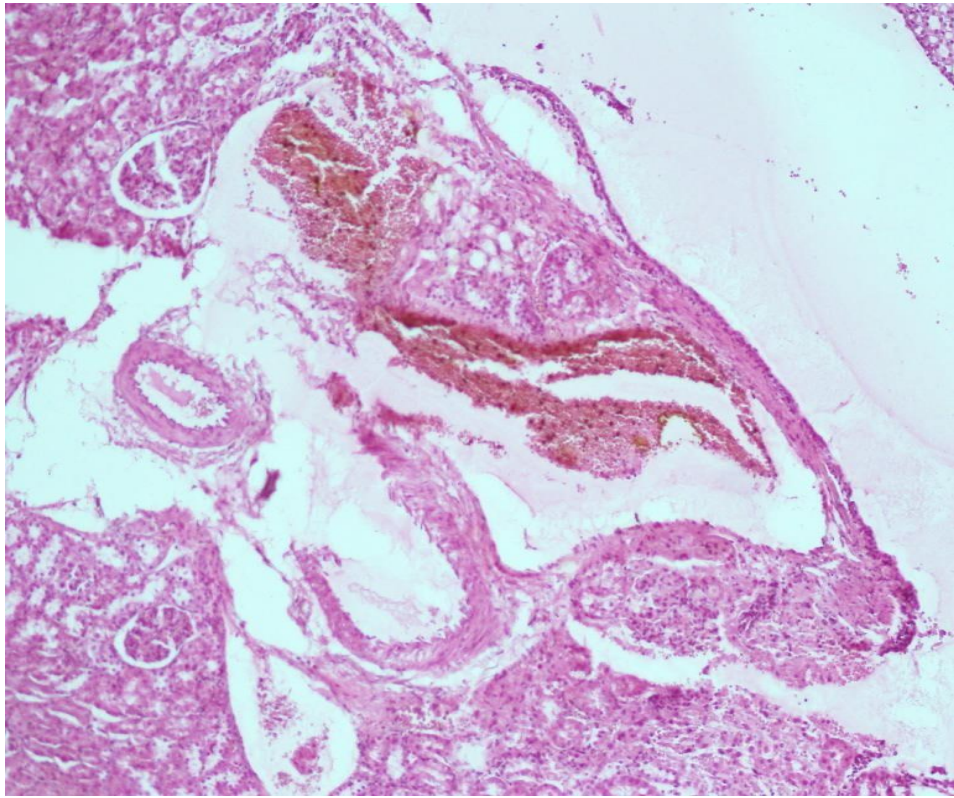


Figure 16 : Rein : N50 X 10 : des coupes histologiques transversales des reins des rats traités par des nanoparticules d'or (N50) qui montre l'apparition d'un grand vaisseau congestif (en haut) avec quelques éléments inflammatoires (en bas).

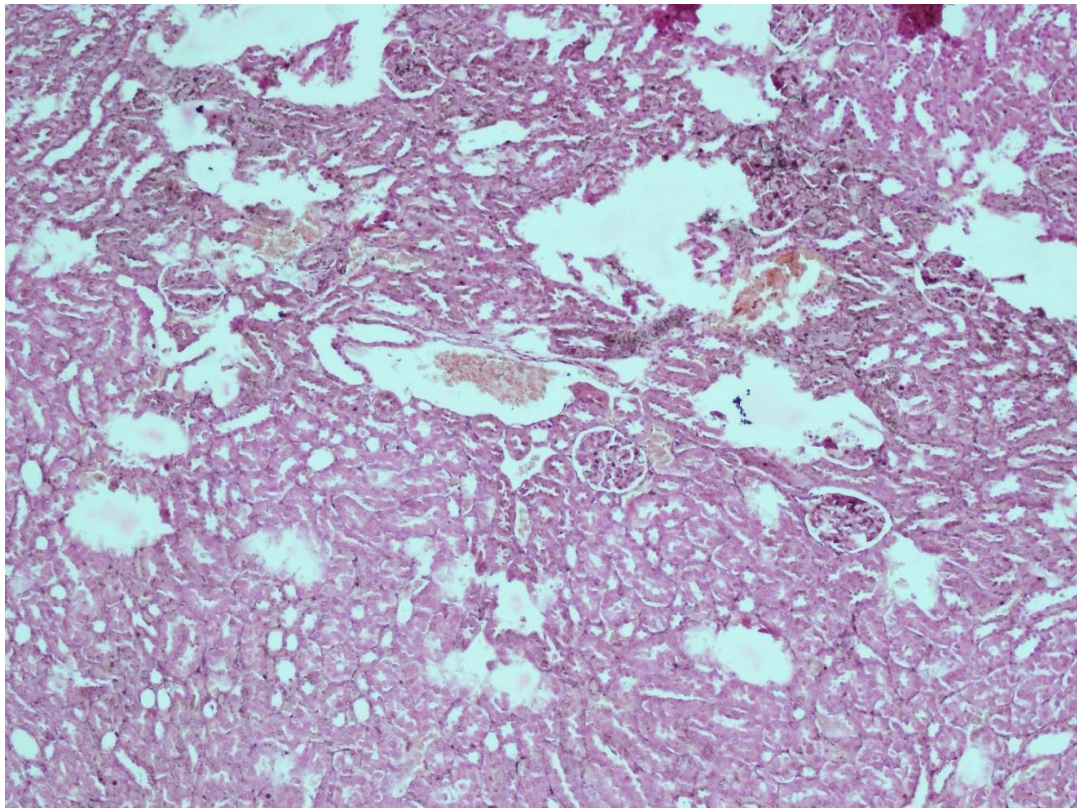


Figure 17 : Rein : N100 X10: une coupe histologique transversale des reins des rats traités par des nanoparticules d'or (N100) qui montre l'apparition des plusieurs congestions.

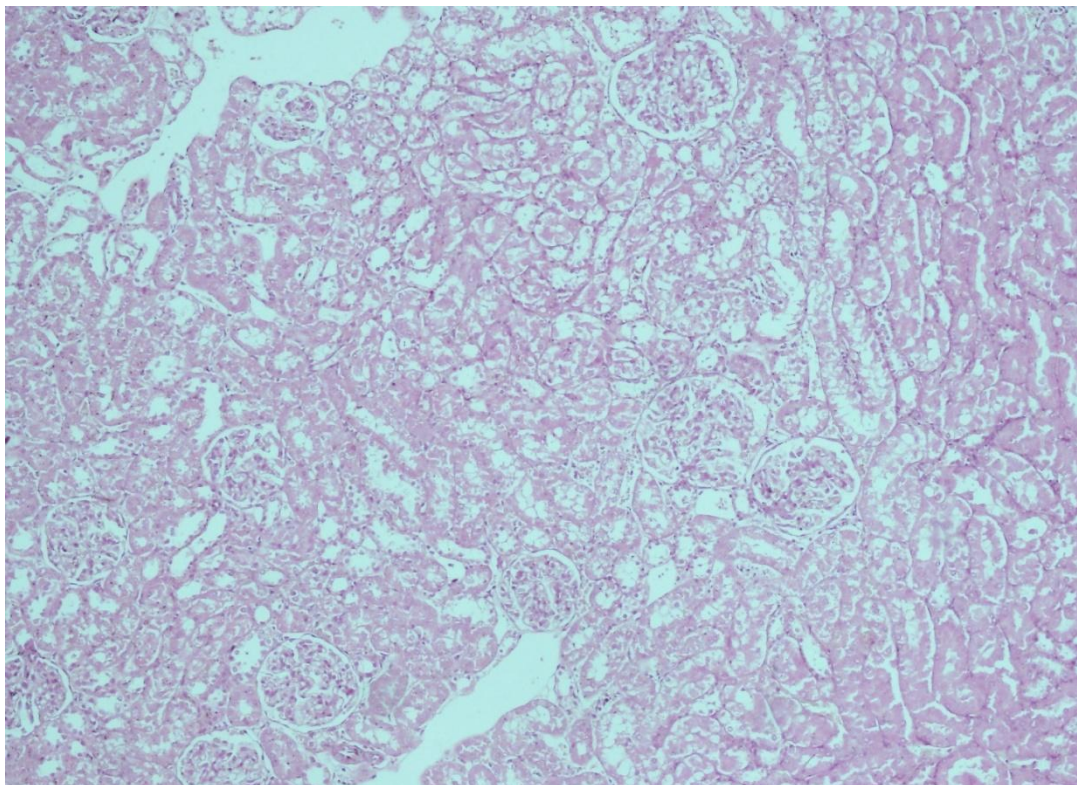


Figure 18 : Rein : N250 X10 : Aspect normal du tissu rénal sont apparus avec présence des glomérules et des tubes.

Discussion

les NPs d'or retrouvent dans des applications très variées dans plusieurs domaines comme l'électronique, les pigments et les technologies biomédicales comme l'imagerie ou la thérapie de certain types de cancer .Mais actuellement, des études montrent que ces NPs ont des effets secondaires sur l'organisme **(Buzea et al., 2007)**.

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés aux effets des NPs d'or *in-vivo* sur la fonction rénale. L'intérêt de ce travail est d'évaluer l'impact de ces nanoparticules d'or à des concentrations croissantes sur les paramètres biochimiques rénales (urée, créatinine et acide urique), sur le statut oxydant/antioxydant (malondialdéhyde, protéines carbonylées, glutathion et catalase) ainsi que l'aspect histologique au niveau du rein.

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

Les résultats des différentes recherches concernant la toxicité des NPs d'or retrouvées sont contradictoires et beaucoup reste encore à découvrir. Le risque toxicologique de ces composés est cependant difficile à évaluer car plusieurs aspects des mécanismes de toxicité des nanomatériaux ne sont pas encore bien compris **(François, 2012)**.

Le profil biochimique est d'une importance cruciale dans le diagnostic de plusieurs maladies. Pour les reins le dosage de l'urée, créatinine et acide urique plasmatique constitue un bon outil qui renseigne sur le dysfonctionnement de cet organe.

L'urée est un bon marqueur de la fonction rénale. Il est la forme principale d'élimination des déchets azotés provenant du catabolisme des protéines chez l'homme. L'accumulation des déchets azotés est la conséquence directe de la baisse de filtration glomérulaire. Par conséquent cette accumulation n'est observée qu'en cas d'urée très élevée **(Kleinknecht et al., 1972)**. Aussi l'augmentation de l'urée sanguine traduit un déficit de la fonction d'excrétion des reins, avec ou sans lésion de l'organe Son cycle se déroule essentiellement dans le foie ; elle est complètement filtrée par le glomérule est réabsorbé partiellement au niveau du tubule rénal de façon inversement proportionnelle au débit urinaire **(Picard et al., 1855)**.

Nos résultats montrent une augmentation du taux de l'urée entre les rats traités par les NPs d'or comparés aux rats témoins. Ces résultats confirment que ces NPs d'or provoquent une accumulation des déchets azotés et donc traduit un déficit de la fonction d'excrétion rénale.

- Concernant la créatinine, elle provient de la dégradation de la créatine provenant soit de l'alimentation ou produite par l'organisme. Elle est exclusivement éliminée par les reins. La créatinine est filtrée au niveau glomérulaire, mais n'est pas réabsorbée au niveau tubulaire. En revanche, il existe une sécrétion tubulaire qui augmente dans certaines situations pathologiques, en particulier au cours de l'insuffisance rénale **(Dimitrios et Binrt, 2006)**.

Nos résultats montrent une élévation hautement significative de la créatinine plasmatique chez les rats traités par les NPs pour les concentrations (N100 et N250) comparés aux rats les témoins. Cette augmentation peut-être attribuable à une diminution de filtration glomérulaire pouvant conduire à l'apparition de certaines pathologies telles l'insuffisance rénale.

- L'acide urique est un déchet au stade final de la dégradation des protéines et plus particulièrement de la famille chimique des purines. Ces purines (ou base puriques) sont un groupe de substances azotées intervenant dans la formation des acides nucléiques (ADN ou ARN). L'acide urique est filtré par le glomérule, puis est réabsorbé par le tubule contourné proximal. Au total, 95 % de l'acide urique filtré est réabsorbé le long du tubule proximal **(Pruna et Daudon, 2008)**.

L'élimination d'acide urique peut être le symptôme de plusieurs maladies comme une insuffisance rénale, des pathologies hépatiques et l'accumulation toxique de cuivre dans l'organisme. Nos résultats, montrent également une diminution hautement significative du taux sérique d'acide urique chez les rats traités par les NPs d'or et ce pour la concentration N50 comparés aux rats témoins. En revanche, aucune modification n'est observée aux rats traités par les NPs d'or pour les concentrations N25, N100, N250.

- ❖ Les ERO peuvent oxyder les macromolécules tels les lipides, protéines, sucres et acides nucléiques en désorganisant leurs structures chimiques et en altérant leurs fonctions biologiques. Lorsque la génération d'ERO excède la machinerie de défense antioxydante, une toxicité due à des dommages oxydatifs apparaît **(Leonard et al.,**

2004). Une relation étroite entre NPs et stress oxydant a souvent été constatée *in vitro* et *in vivo* sur plusieurs organes (**Bergamaschi et al., 2006; Li et al., 2010**).

- Le MDA est un marqueur généré secondairement après la peroxydation lipidique provoquée par une altération de la membrane plasmique à travers l'attaque des acides gras polyinsaturés. La peroxydation lipidique est suivie d'un changement structural des membranes biologiques (**Bebianno et al., 2005**) ou d'autres éléments contenant des lipides (**Al-Mutairi et al., 2007**). La production de MDA est parallèle à la peroxydation lipidique, et constitue une source endogène des dommages de l'ADN (**Marnett, 2002**). La mesure du MDA est le test le plus largement utilisé comme bio marqueur de stress oxydatif (**Zhang et al., 2009**).

Nos résultats montrent que les homogénats de rein présentent des taux de MDA élevés d'une façon très significative chez les groupes traités aux NPs d'or à des concentrations (N50, N250) en comparaison avec le groupe témoin, cette augmentation indique une peroxydation lipidique

Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres études qui ont mis en évidence une augmentation de la peroxydation lipidique après traitement par les NPs (**Kulbacka et al., 2009**). Cependant nos résultats ne montrent aucune différence entre les groupes traités par les NPs d'or à des concentrations de N25 et N100 comparés au groupe témoin.

- Les PC sont considérés comme des marqueurs de l'oxydation des protéines. Les teneurs en protéines carbonylées chez les rats expérimentaux sont significativement diminuées à des concentrations (N25, N100, N250) comparées aux valeurs obtenues chez leurs témoins. Ceci témoigne d'une baisse d'oxydation des PC en présence des NPs d'or.
- Le GSH joue un rôle multifactoriel dans le mécanisme de défense antioxydante et les mécanismes de détoxification (**Sathishsekar et Subramanian, 2005**). C'est un piègeur direct des radicaux libres. Par conséquent, les changements dans l'état redox du GSH peuvent être considérés comme un indicateur particulièrement sensible du stress oxydant. Dans cette étude nous avons constaté une augmentation significative

des taux en GSH dans les homogénats de rein des rats expérimentaux par rapport aux rats témoins. Cette augmentation en GSH est une réponse à l'augmentation des radicaux libres générés par les NPs d'or (**Taleb-Senouci et al., 2009**). Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres études qui ont mis en évidence une augmentation de taux de GSH après traitement par les NPs (**Girja et al., 1988**).

- La catalase est une enzyme responsable de la détoxification des quantités significatives de peroxydes d'hydrogène (H_2O_2) sensible à certains contaminants inducteurs de stress oxydatif comme les métaux toxiques (**Almeida et al., 2007**).

Nos résultats montrent une augmentation très significative de taux de catalase chez les rats traités par les nanoparticules d'or par rapport aux rats témoins. Cette augmentation peut présenter une réponse adaptative au stress oxydatif entraîné par les NPs d'or.

- ❖ Concernant l'étude histologique, les coupes histologiques des reins colorés à l'hématoxyline éosine (H&E) des rats du groupe témoin et ceux des groupes traités aux nanoparticules d'ors à différentes concentrations (N25, N50, N100, N250) ont permis de mettre en évidence d'éventuelles altérations tissulaires provoquées par ce traitement.

- L'observation microscopique des reins des rats traités aux nanoparticules d'or à concentrations N25, N50, N100 a montré des congestions des vaisseaux. Ces observations indiquent que la dose utilisée des nanoparticules d'or provoque l'apparition de diverses lésions dans le tissu rénal. La congestion est la dilation des vaisseaux sanguins sous l'effet d'une concentration trop élevée de sang. Cette congestion peut présenter un processus inflammatoire provoquant l'apparition de diverses lésions dans le tissu rénal. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Boucenna et al**, qui ont mis en évidence des dommages tissulaires au niveau du rein en réponse à la toxicité des NPs.

- La comparaison des coupes histologiques des reins des rats expérimentaux à concentration (N250) comparés aux rats témoins montre qu'il n'y a aucune différence dans la structure tissulaire rénale concernant les tubules rénaux et les glomérules. L'explication selon la courbe de la cytotoxicité qui se superpose, démontrant que la toxicité des NPs n'est pas liée à leur concentration mais plutôt à la forme et la structure chimique (**pujalté, 2011**).

Conclusion

Les NPs d'or sont utilisées dans plusieurs domaines, ils ayant des propriétés pour les diagnostics et traitements de diverses maladies, tel le cancer. Mais il y a des études qui montrent que ces NPs présentent des effets secondaires considérables.

Cette étude, nous a permis d'explorer la fonction rénale après injection de NPs d'or à des concentrations croissantes (N25, N50, N100, N250), sur le profil biochimique, le statut oxydant/antioxydant et histopathologique chez les rats Wistar males. A la lumière de nos résultats obtenus on peut conclure que:

- ✓ Pour les paramètres biochimiques :
 - Une augmentation du taux de l'urée pour les rats traités par les NPs d'or, une élévation de la créatinine chez les rats traités par les NPs et ce pour les concentrations (N100 et N250).
 - Une diminution du taux sérique d'acide urique chez les rats traités par les NPs d'or uniquement pour la concentration N50.

- ✓ Pour les paramètres de statut oxydant/antioxydant :
 - Une augmentation du marqueur de la peroxydation lipidique (MDA) d'une façon très significative chez les groupes traités à des concentrations (N50, N250) en comparaison avec le groupe témoin.
 - Les teneurs en protéines carbonylées chez les rats expérimentaux sont significativement diminuées comparées aux valeurs obtenues chez leurs témoins.
 - Une augmentation des teneurs du GSH et de l'activité de la catalase chez les rats traités par les nanoparticules d'or par rapport au rat témoin.

- ✓ Pour l'étude histologique :
 - L'observation microscopique des reins des rats traités aux nanoparticules d'or à concentrations N25, N50, N100 a montré une congestion des vaisseaux. Ces observations indiquent que la dose utilisée des nanoparticules d'or provoque l'apparition de diverses lésions dans le tissu rénal. En revanche, La comparaison des coupes histologiques des reins des rats expérimentaux à concentration (N250) par rapport aux rats témoins montre qu'il n'y a aucune différence dans la structure tissulaire rénale concernant les tubules rénaux et les glomérules.

A la lumière des résultats obtenus on peut conclure que les nanoparticules d'or perturbent le fonctionnement rénale sur le plan biochimique, du statut oxydant/antioxydant et histologique.

L'intensité de ces perturbations est variable en fonction de la concentration des nanoparticules et la concentration N250 n'induit aucune lésion.

En perspective, la partie, *in vivo*, peut être complétée par :

- Un traitement de rats Wistar par les nanoparticules d'or en utilisant les mêmes concentrations (N25, N50, N100, N250) sur des rats cancéreux et sur d'autres paramètres du stress oxydant.
- Réaliser une technique de coloration de ces nanoparticules d'or pour les détectés et voir le dépôt de ces nanoparticules dans les reins ainsi que différents organes.

Références bibliographiques

A

Aebi , H. (1984) Methods Enzymol. *PACKER L.* **26**, 227 – 231.

Afsset. (2006) Les nanomatériaux : effets sur la santé de l'homme et sur l'environnement. *Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail*, 2005-2010.

Almeida et al. (2007) Oxidative stress in *Perna perna* and other bivalves as indicators of environmental stress in the Brazilian marine environment: antioxidants, lipidperoxidation and DNA damage. *Comp Biochem Physiol.* **146**, 588-600.

Alturkistani, H. A., Tashkandi, F. M. and Mohammedsaleh, Z.M. (2016) Histological Stains: A Literature Review and Case Study. *Global Journal of Health Science.* **8**: 72–79.

Al-Mutairi et al. (2007) Induction of oxidative cell damage by photo-treatment with zinc meta N-methylpyridylporphyrin. *Free radical research*, **41**, 89-96.

Auffan, M., Rose, J., Wiesner, M. et Bottero, J. (2008) Chemical stability of metallic nanoparticles: a parameter controlling their potential toxicity in vitro. *Pollut.* **157**, 1127-1133.

B

Bargnoux et al. (2009) Stress carbonylé et modification oxydatives des protéines au cours de l'insuffisance rénale chronique. *Annales de biologie clinique.* **67**, 153-158.

Bebianno et al. (2005) Antioxidant systems and lipidperoxidation in *Bathymodiolus azoricus* from Mid-Atlantic Ridge hydrothermal vent fields. *Aquat Toxicol.* **75**, 354-373.

Boucenna et al. (2015) *Global Veterinaria* .**14**, 189-198.

Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., Delattre J. (2003) Radicaux libres et antioxydants. En: Delattre J., Durand G., Jardillier J-C. *Biochimie pathologique.* Flammarion, Paris. P: 317.

Bourouina, R. (2008) Manuel d'anatomie et de physiologie. *Edition Lamarre.*

Brus, (1986) Electronic wave functions in semiconductor clusters: experiment and theory. *Journal of Physical Chemistry*. **90**, 2512-255.

C

Cao, G. (2004) Nanostructures & nanomaterials: synthesis, properties & applications. *Imperial College Press*. **20**, 179-190.

Charef et Diffalah. (2016) Variation des paramètres mitochondriaux apres une neurotoxicité par Fe₃O₄ (NPs) chez les rats. *Mémoire de Master*. Université de Larbi Tebessi-Tébessa.

Chen, Z., Meng, H., Xing, G., Chen, C., Zhao, Y., Jia, G., Wang, T., Yuan, H., Ye, C., Zhao, F., Chai, Z., Zhu, C., Fang, X., Ma, B., and Wan, L. (2006) Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicol Lett*. **163**, 109-120.

Crosera, M., Bovenzi, M et al. (2009) Nanoparticle dermal absorption and toxicity: a review of the literature. *Int Arch Occup Environ Health* **82**, 1043-1055.

D

Dimitrios, T. et Isabelle, B. (2006) Appréciation de la fonction rénale créatininurie, urée et filtration glomérulaire. *Forum med suiss*. **6**, 414-419.

Djoudad-Kadji, H., Benslimane, S., Chevalier, C., Kadji, B., Exbrayat, J-M., and Iguer-Ouada, M. (2011) Visualisation des coupes histologiques des follicules ovariens de barbus callensis variation de fixateurs et de colorants. *Revue Française d'Histotechnologie*, **24** : 21-28.

Duncan, T. V. (2011) The communication challenges presented by nanofoods. *Nat Nanotechnol*. **6**, 683-688.

E

El-Ansary, A. et Al-Daihan, S. (2009) On the toxicity of therapeutically used nanoparticles: an overview. *J Toxicol*, Article ID754810.

Ellman GL (1959) Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*. **82**, 70-77.

F

Favier, A. (2006) stress oxydant et pathologies humaines. *Annals of Pharmacotherapy SAGE Journal*. **64**, 390-396.

Ferrat L., Pergent Martini C. et Roméo M. (2003) Assessment of the use of biomarkers in aquatic plants for the evaluation of environmental quality: Application to sea grasses. *Aquatic. Toxicol.* **65**, 187-207.

Foss et Feldheim. (2002) Metal Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Applications, Marcel Dekker, New York.

Francelyne, M et Guadagnini, R. (2013) Les nanoparticules dans l'alimentation: quels risques pour le consommateur?. **48**, 142-150.

François P. (2012) Toxicité des nanoparticules métalliques chez différents modèles biologiques. *Thèse de doctorat*, Université du Québec à Montréal.

Frohlich. (1993) A risk factor for coronary heart disease. *Uricacid.* **270**, 378-379.

G

Ghosh, M., Bandyopadhyay, M., and Mukherjee, A. (2010) Genotoxicity of titaniumdioxide (TiO₂) nanoparticle at two trophic levels: plant and human lymphocytes. *Chemosphere.* **81**, 1253-1262.

Goutayer, M. (2008) nano-émulsions pour la vectorisation d'agents thérapeutiques ou diagnostiques: étude de la biodistribution par imagerie de fluorescence in vivo. *Biotechnologie. Thèse de doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie.*

Gupta, S. (1998). *Nat. Biotechnol.* **16**.

Gustafsson, A., Lindstedt, E., Elfsmark, L. S., and Bucht, A. (2011) Lung exposure of titaniumdioxide nanoparticles induces innate immune activation and long-lasting lymphocyte response in the Dark Agouti rat. *J Immunotoxicol.* **8**, 111-121.

H

Hagens, W. I., Oomen, A. G et al. (2007) What do we (need to) know about the kinetic properties of nanoparticles in the body?. *Regul Toxicol Pharmacol.* **49**, 217-229.

Hoet Bruske-Hohlfeld, et al. (2004) Nanoparticles - known and unknown health risks. *J Nanobiotechnology.* 2-12.

Houssam E. (2011) Cytotoxicité de nanoparticules polymériques vecteurs de médicaments. *Thèse de doctorat* de l'Université Henri Poincare.

I

INERIS, (2007). Institut national de l'environnement industriel et des risques.

K

Kim J et al. (2009) Intravenously administered gold nanoparticles pass through the blood-retinal barrier depending on the particle size, and induce no retinal toxicity. *Nanotechnology.* **20**, 1-8.

Kleinknecht et al. (1972) Uremic and non-uremic complications in acute renal failure: evaluation of early and frequent dialysis on prognosis. *Kidney Int.* **1**, 190-196.

Kreibig and M. Vollmer. (1995) Optical properties of metal clusters. *Springer, Berlin.*

L

Levine, R. (1990) Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology.* **186**, 464-478.

Li, J. J., Hartono, D., Ong, C. N., Bay, B. H., and Yung, L. Y. (2010) Autophagy and oxidative stress associated with gold nanoparticles. *Biomaterials.* **31**, 5996-6003.

M

Marieb, E. (2005) Anatomie et physiologie humaines. *6ème édition, PEARSON Education*. 1024-1028.

Marnett L.J. (2002) Oxyradicals, lipidperoxidation and DNA damage. *Toxicology*. 219-222.

Mesbahi A. (2010) A review on gold nanoparticules radio sensitization effect in radiation therapy of cancer. *Rep Pract Oncol Radiother*. **15**, 176-180.

Messerli FH et al. (1980) Serumuricacid in essential hypertension: an indicator of renal vascular involvement. *Ann Intern Med*. **93**, 817-821.

Mohamed lamine. (2008) thèse de magister, Constantine.

Myrella B. (2015) Nanotoxicité des points quantique : étude in vitro chez les cellules épithéliales alvéolaires humaines. Thèse de mémoire de l'université de Montréal.

N

NOUROOZ-ZADEH J., TAJADDINI-SARMADI J., LING KLE., WOLFF SP. (1996) Low density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxydes in plasma. *Biochem.J*. **313**, 781-786.

O

Oberdorster G, Oberdorster E, Oberdorster J. (2005) nanotoxicology : an emerging discipline evolvingfromstudies of ultrafineparicles. *Environ health perspect*. **113**, 823-39.

Ostiguy, C., Lapointe, G., Ménard, L., Cloutier, Y., Trottier, M., Boutin, M., Antoun, M. et Normand, C. (2006) Nanoparticles - Current Knowledge about Occupational Health and SafetyRisks and Prevention Measures. *Studies and Research Projects / Report R-470, Montréal, IRSST*. **100**.

Ostiguy, C., Soucy, B., Lapointe, G., Woods, C., Ménard, L. (2008). Les effets sur la santé reliés aux nanoparticules. *Technical report, IRSST Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail*. **704**.

P

Park, E. J., and Park, K. (2009) Oxidative stress and pro-inflammatory responses induced by silica nanoparticles in vivo and in vitro. *Toxicol Lett.* **184**, 18-25.

Pampanin D.M., Camus L., Gomiero A., Marangon I., Volpato E., Nasci C. (2005). Susceptibility to oxidative stress of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in the Venice.

Pelley, J. L., A. S. Daar, et al. (2009) State of academic knowledge on toxicity and biological fate of quantum dots. *ToxicolSci.* **112**, 276-296.

Picard J. (1855) Quelques observations de choléra chez des femmes enceintes. *Gazette médicale de Strasbourg.* 1855, 399-405.

Poole et Owens. (2003) Introduction to Nanotechnology. *Wiley-Interscience.*

Pujalté, I. (2011) étude in vitro de la toxicité des nanoparticules métalliques sur la cible rénale. Thèse de mémoire, 95-120.

Pruna A., Daudon M. (2008) Lithiase Urique. *Traité d'Urologie. EMC.*

R

Ratner, M.(2003) Nanotéchnologie, la révolution de demain. *Nanotechnology: a gentle introduction to a big idea.* 152-170.

S

Sadrieh N, Wokovich AM, Gopee NV, Zhenj J, Haines D, Parmited D, et al. (2010) Lack of significant dermal penetration of titanium dioxide from sunscreen formulations containing nano and submicron-size TiO₂. *ParticletoxicolSci.* **115**, 156-166.

Sathishsekar & Subramanian, (2005) Antioxidant properties of Momordica Charantia (bitter melon) seeds on streptozotocin-induced diabetic rats. *AsiaPac J Clin Nutr.* **14**, 153-158.

Sherwood, L., Lockhart, A., and Molotchnikoff, S. (2006) Physiologie humaine. *De Boeck*, 768.

Shvedova et al. (2009) Mechanisms of pulmonary toxicity and medical applications of carbon nanotubes: Two faces of Janus?. *PharmacolTher.* **121**, 192-204.

Sonavane, G., K. Tomoda, A. Sano, H. Ohshima, H. Terada et K. Makino. (2008) In vitro permeation of gold nanoparticles through rat skin and rat intestine: Effect of particle size. *Colloid Surface B.* **65**, 1-10.

Sozer, N. and J. L. Kokini. (2009) Nanotechnology and its applications in the foodsector. *Trends Biotechnol.* **27**, 82-89.

T

Taleb-Senouci. (2009) Antioxidant effect of Ajugaiva aqueous extract in Streptozotocin Induced diabetic rats. *Phytomedicine: International journal of phytotherapy and Phytopharmacology.* **16**, 623-31.

W

Wu, J., Liu, W., Xue, C., Zhou, S., Lan, F., Bi, L., Xu, H., Yang, X., and Zeng, F. D. (2009) Toxicity and penetration of TiO₂ nanoparticles in hairless mice and porcine skin after subchronic dermal exposure. *Toxicol Lett.* **191**, 1-8.

Y

Yang X. (2007) nano- and microparticle-based imaging of cardiovascular interventions : overview. *Radiology.* **243**, 340-347.

Yang, W., J. I. Peters, et al. (2008) Inhaled nanoparticles--a current review. *Int J Pharm.* **356**, 239-247.