



N° série:.....

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية  
Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en  
Sciences biologiques  
Spécialité : Biochimie Appliquée

### THEME

**Etude de l'effet toxique des nanoparticules d'oxyde de  
fer et l'effet antidote de la quercétine sur l'activité  
mitochondriale chez les rattes *Wistar Albinos***

Présenté Par :

M<sup>elle</sup>. BOUMELLA Amina

Mr. GORI EL-HADJ Amara

Devant le jury composé de :

Président : Mr. DEROUCHE S.

M.C.B

Université d'El Oued.

Examinatrice : M<sup>me</sup>. RAMDHANE F.

M.C.B

Université d'El Oued.

Promotrice : M<sup>me</sup>. AOUMEUR M.

M.A.A

Université d'El Oued.

Année universitaire 2017/2018

# Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.*

*Nous tenons à remercier notre encadreur M<sup>me</sup>: AOUIMEUR Meriem, son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury ( Dr.DEROUCHE Samir et M<sup>me</sup>.RAMDANE Farah ) pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Nous tenons à remercier profondément tout qui nous aide pour faire ce travail, et surtout Dr. GASMI Salim et le chef de département de biologie de l'université Larbi Tebessi –Tébessa-, en particulier: M. Menaceur F., Soltani N; les travailleurs du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université Echahid Hamma Lakhdar d'EL-OUED, et tous les travailleurs du laboratoire d'établissement hospitalier public 19 Mars, bab el-oued- d'EL-OUED.*

*Nous n'oublions pas nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience. Ainsi que tout les personnes ayant participées de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Amina*

*Amara*

# DÉDICACE

## *A Mes Très Chers Parents*

*Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.*

*C'est à travers vos encouragements que j'ai opté pour cette noble profession, et c'est à travers vos critiques que je me suis réalisée.*

*Je vous rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle et de mon infini amour. Que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie pour que vous demeuriez le flambeau illuminant le chemin de vos enfants.*

## *A mon frère et mes soeurs*

*Vous m'aviez toujours aidé et ces quelques lignes sont insuffisantes pour exprimer mon profond amour et ma reconnaissance pour les honorables services soutenus.*

*Que Dieu vous protège.*

## *A ma grande famille*

*En témoignage de mon respect et de mon amour.*

## *A mes collègues de travail et mes amis de promotion BC 2018*

*En souvenir des agréables moments partagés.*

*Amina*

# DÉDICACE

*Je dédie ce travail*

*À ceux qui sont la source de mon inspiration et mon courage*

*À qui je dois de l'amour et la reconnaissance.*

*À ma très chère Mère et à mon cher Père*

*À mes sœurs et mes frères*

*À tous les membres de ma belle-famille*

*À tous mes amis et mes collègues de la promotion master*

*Biochimie 2018 pour tous les moments de joies et de peines*

*qu'on a passées ensemble*

*À tous mes enseignants durant ma formation d'étude*

*À tous ceux que j'aime et qui m'aiment.*

*Amara*

### Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet toxique des nanoparticules d'oxyde de fer et de valider l'effet antidote de quercétine au niveau de la mitochondrie chez des ratte femelle *Wistar Albinos*. menée au laboratoire sur 30 ratte qui ont été divisés en six groupes: le 1<sup>ère</sup> groupe considéré comme témoin, le 2<sup>ème</sup> et le 3<sup>ème</sup> (D1, D2) recevant chaque jour respectivement 100 µg/kg, 150 µg/kg des nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétique (SPION) pendant 21 jours, le 4<sup>ème</sup> groupe (Q) recevant chaque jour 10 mg/kg de quercétine pendant 21 jours, le 5<sup>ème</sup> et le 6<sup>ème</sup> groupe (D1Q, D2Q) recevant chaque jour respectivement 100µg/kg, 150µg/kg des nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques pendant 21 jours et traité par 10mg/kg de quercétine pendant 15 jours.

Les résultats obtenus dans la présente étude, montrent que le traitement par les SPION induit une surcharge en fer, hypoglycémie, augmentation d'urée, créatinine, d'acide urique, aussi une augmentation de l'activité des transaminases (TGO, TGP), de phosphatase alcaline qui montre que le SPION induit une perturbation de fonction hépatique et rénale et cérébrale. Nos résultats révèlent également une toxicité hématologique et stress oxydatif chez les groupes contaminés par le NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, une augmentation du taux des globules rouges, des Lymphocyte, des Monocytes, et une diminution du taux d'hémoglobine, aussi une diminution de taux GSH, l'activité des CAT, GST, GPx avec une augmentation du taux de MDA dans les tissus étudiés (foie, reins et cerveau) qui indique une perturbation des paramètres de stress oxydatif mitochondriale. En outre, les résultats obtenus d'après l'étude histologique, montrent la présence d'une inflammation dans les tissus étudiés, et la présence d'une nécrose hépatique et renal et cérébrale induit par le stress oxydatif .

Cependant, l'administration orale de la quercétine a provoqué une diminution de l'effet toxique de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> en maintenant l'homéostasie de fer dans l'organisme donc en inhibant les effets néfastes de la surcharge en fer.

**Mots clés:** SPION, NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, toxicité, stress oxydant, quercétine, mitochondrie, ratte *Albinos Wistar*.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير السمي للجزيئات النانوية لأكسيد الحديد و التحقق من التأثير المضاد للأوكسدة للكبريسيتين عند أنثى فئران *Albinos Wistar*. أجريت في المختبر على 30 ♀♀ موزعة عشوائياً إلى مجموعتين: المجموعة الأولى غير معالجة اذ تعتبر كشاهد، المجموعة الثانية و الثالثة عولجت على الترتيب ب 100 و 150 ميكروغرام/ كيلوغرام ( من الوزن الكلي) بجزيئات أكسيد الحديد النانوية مدة واحد و عشرون يوماً بشكل يومي، مع مراقبة الأعراض السريرية و الفحوصات المخبرية. النتائج أظهرت أن الجرعة 100 ميكروغرام/ كيلوغرام من الكبريسيتين لمدة واحد و عشرون يوماً بشكل يومي، المجموعه المعالجة بالجرعة 100 ميكروغرام/ كيلوغرام عولجت على الترتيب 100 و 150 ميكروغرام/ كيلوغرام بجزيئات أكسيد الحديد النانوية لمدة واحد و عشرون يوماً بشكل يومي لم تظهر أعراض سمية واضحة.

النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة تبين أن المعالجة بجزيئات أكسيد الحديد النانوية تسبب تراكم جزيئات الحديد في الجسم، نقص السكر في الدم وزيادة اليوريا و الكرياتينين و حمض اليوريك، أيضا زيادة النشاطية لنواقل الأمين (TGO, TGP) و زيادة في نشاط  $\text{MDA}$  و هذا يدل على اضطراب وظيفة الكبد و الكلى و الدماغ. تكشف النتائج التي توصلنا اليها أيضا سمية دموية و اجهاد تأكسدي عند المعالجة بجزيئات أكسيد الحديد النانوية، مع زيادة في معدل خلايا الدم الحمراء و اللمفاويات، و وحيدات الفص و انخفاض نسبة الهيموغلوبين، ايضا  $\text{GSH}$  و نشاطية  $\text{GPx}$   $\text{GST}$   $\text{CAT}$  مع زيادة معدل  $\text{MDA}$  (  $\text{MDA}$ ،  $\text{GPx}$ ،  $\text{GST}$ ،  $\text{CAT}$  ) بالاضافة الى ذلك، فان النتائج التي تم الحصول عليها من الدراسة المؤشرات الدالة على الاجهاد التأكسدي الميتوكوندري. بالاضافة الى ذلك، فان النتائج التي تم الحصول عليها من الدراسة التشريحية تبين وجود التهاب مع وجود نخر كبدي، كلوي و دماغي سببه الاجهاد التأكسدي.

كما اثبتت النتائج ان تناول الكيرسيتين عن طريق الفم يؤدي الى تخفيض التأثير السمي لجزيئات أكسيد الحديد النانوية وذلك بالحفاظ على توازن تركيز جزيئات الحديد في الجسم و بالتالي يحول دون الاثارة السلبية لتراكم الحديد الزائد.

**الكلمات المفتاحية:** جزيئات أكسيد الحديد النانوية,  $\text{NPsFe}_2\text{O}_3$  اجهاد تأكسدي، كيرسيتين، ميتوكوندريا، *Wistar Albinos*.

**LISTE DES ABREVIATIONS**

**μmol:** Micromole  
**<sup>1</sup>O<sub>2</sub>:** l'oxygène singlet  
**AGE:** Advanced Glycosylation end Products  
**ALA:** D-aminolévulinique  
**ALT:** Alanine aminotransférase  
**AND:** Acide désoxyribonucléique  
**AST:** Aspartate aminotransférase  
**ATP:** Adénosine triphosphate  
**CAT:** Catalases  
**Cu:** Cuivre  
**DPPH:** 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl  
**EDTA :** Éthylène Diamine Tétra-Acétique  
**ERA:** Espèces réactives azotées  
**ERO:** Espèces réactives oxydantes  
**ESRD:** End stage renal disease  
**FAO:** Formes Actives de l'Oxygène  
**Fe:** Fer  
**Fe<sup>2+</sup>:** Fer ferreux  
**Fe<sup>3+</sup>:** Fer ferrique  
**FNS :** Formule de Numération Sanguine  
**GPx:** Glutathion Peroxydase  
**GR:** Glutathion Réductase  
**GSH:** Glutathion réduit  
**GS-SG:** Glutathion oxydé  
**GST:** Glutathion-S-Transférases  
**H<sub>2</sub>O :** Eau  
**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :** Peroxyde d'hydrogène  
**H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>:** Acide Phosphorique.  
**Hb:** Hémoglobine.  
**HCl:** Acide Chlorhydrique.  
**HEF:** Protéine de l'hémochromatose humaine  
**HNE:** Hydroxynonéal  
**IONPs:** Nanoparticules d'Oxyde de fer

## *Liste des abréviations*

---

**IRM** : Imagerie Résonance Magnétique  
**JNK**: kinase c-Jun N-terminal.  
**MDA**: Malondialdéhyde  
**Mg**: Magnesium  
**MPO**: Myéloperoxydase  
**NADPH**: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit  
**NO**: Oxyde Nitrique  
**NO•**: Monoxyde d'azote  
**NPs**: Les Nanoparticules.  
**O<sub>2</sub>** : l'oxygène moléculaire  
**O<sup>2•-</sup>** : Radical superoxyde  
**O<sub>3</sub>**: Ozone  
**OH•** : Radical hydroxyle  
**OHCl**: Oxydants Chlorés  
**ONOO<sup>-</sup>**: Ion peroxydrite  
**ONOOH**: Acide peroxydrique  
**PAF**: facteur d'activation des plaquettes  
**PAL**: Phosphatase Alcaline  
**QR**: Quercétine  
**RL**: Radicaux Libres  
**ROH**: alcool  
**RONS**: Réactive Oxygen and Nitrogène Species  
**ROO•**: Radical peroxyde  
**ROOH**: Hydroperoxyde lipidique  
**ROS**: Espèces réactives de l'oxygène  
**SOD**: Superoxyde Dismutase.  
**SPION**: Nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques  
**TBA**: Thiobarbituricacid: L'Acide thiobarbiturique.  
**TGO**: Aspartate Aminotransférase  
**TGP**: Alanine Aminotransférase  
**UV**: Ultra Violet  
**Zn**: Zinc  
**α Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>**: L'hématite  
**γ-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>** : Maghémite

**LISTE DES FIGURES**

| <b>Numéro</b>    | <b>Titre</b>                                                                                                                                                                                                                                                            | <b>Page</b> |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>Figure 01</b> | Structures cristallines de la magnétite (a) et de la maghémite (b)                                                                                                                                                                                                      | <b>06</b>   |
| <b>Figure 02</b> | Structure cristalline de l'hématite                                                                                                                                                                                                                                     | <b>06</b>   |
| <b>Figure 03</b> | Schéma des différentes méthodes de synthèse et de transformation des oxydes. Les cadres en pointillés indiquent les espèces en solution aqueuse et les nombreux font référence aux principales voies de synthèse de la goethite et de l'hématite décrites dans le texte | <b>08</b>   |
| <b>Figure 04</b> | Différentes voies d'entrée des nanoparticules dans l'organisme                                                                                                                                                                                                          | <b>11</b>   |
| <b>Figure 05</b> | Effets potentiels des particules ultrafines inhalées                                                                                                                                                                                                                    | <b>13</b>   |
| <b>Figure 06</b> | Principaux effets des nanoparticules de oxyde de fer sur la santé humaine                                                                                                                                                                                               | <b>14</b>   |
| <b>Figure 07</b> | Source endogènes des espèces réactives                                                                                                                                                                                                                                  | <b>20</b>   |
| <b>Figure 08</b> | Sites de production de ROS au niveau de la chaîne respiratoire                                                                                                                                                                                                          | <b>21</b>   |
| <b>Figure 09</b> | Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les ERO                                                                                                                                                                                                       | <b>22</b>   |
| <b>Figure 10</b> | Mécanisme de la peroxydation lipidique                                                                                                                                                                                                                                  | <b>23</b>   |
| <b>Figure 11</b> | Distribution des antioxydants dans la cellule                                                                                                                                                                                                                           | <b>24</b>   |
| <b>Figure12</b>  | Les trois types de la SOD                                                                                                                                                                                                                                               | <b>25</b>   |
| <b>Figure 13</b> | Interaction entre les sélénoprotéines et autres enzymes antioxydantes pour l'élimination des radicaux libres                                                                                                                                                            | <b>26</b>   |
| <b>Figure 14</b> | Structure de la quercétine et leurs caractéristiques                                                                                                                                                                                                                    | <b>30</b>   |
| <b>Figure 15</b> | Schéma récapitulatif du protocole expérimental.                                                                                                                                                                                                                         | <b>37</b>   |
| <b>Figure 16</b> | Poids corporel (PC) chez les rats témoins et traités: Différence entre poids initial et final                                                                                                                                                                           | <b>48</b>   |
| <b>Figure 17</b> | Gain de poids corporel (GP) chez les rats témoins et traités Comparaison avec groupe témoin.                                                                                                                                                                            | <b>48</b>   |
| <b>Figure 18</b> | Poids relatif des organes (foie, reins, cerveau) après 21 jours de traitement par la dose de SPION et la quercétine.                                                                                                                                                    | <b>49</b>   |
| <b>Figure 19</b> | Paramètres hématologiques chez le groupe témoin et les groupes traités. Comparaison avec groupe témoin.                                                                                                                                                                 | <b>51</b>   |

### *Liste des figures*

---

|                  |                                                                                                                                                                  |           |
|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Figure 20</b> | Concentration sérique du glucose, fer, bilirubine totale, acide urique, urée et créatinine chez le groupe témoin et les groupes traités.                         | <b>54</b> |
| <b>Figure 21</b> | Activité enzymatique de TGO, de TGP et de phosphatase alcaline chez le groupe témoin et les groupes traités.                                                     | <b>57</b> |
| <b>Figure 22</b> | Concentrations tissulaires de Malondialdéhyde MDA et glutathion réduit GSH chez le groupe témoin et les groupes traités.                                         | <b>59</b> |
| <b>Figure 23</b> | Activités tissulaires de catalase, CAT et GST chez le groupe témoin et les groupes traités.                                                                      | <b>62</b> |
| <b>Figure 24</b> | Activités tissulaires du glutathion peroxydase GPx chez le groupe témoin et les groupes traités.                                                                 | <b>65</b> |
| <b>Figure 25</b> | Observation microscopique d'une coupe histologique de foie, indique les changements morphométriques après traitement par la dose de SPION, agrandissement x40.   | <b>66</b> |
| <b>Figure 26</b> | Observation microscopique d'une coupe histologique de rein, indique les changements morphométriques après traitement par la dose de SPION, agrandissement x40.   | <b>67</b> |
| <b>Figure 27</b> | Observation microscopique d'une coupe histologique de cerveau, indique les changements morphométriques après traitement par la dose de SPION, agrandissement x40 | <b>68</b> |

## *Liste des tableaux*

---

### LISTE DES TABLEAUX

| Numéro            | Titre                                                                                                                                               | Page      |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tableau 1</b>  | Propriétés physico-chimiques des oxydes de fer                                                                                                      | <b>05</b> |
| <b>Tableau 2</b>  | comparaison des caractéristiques principales des méthodes les plus courantes de synthèse des oxydes de fer                                          | <b>10</b> |
| <b>Tableau 3</b>  | Principales espèces réactives oxydantes radicalaires et non radicalaires                                                                            | <b>18</b> |
| <b>Tableau 4</b>  | Principales sources des RL (endogènes et exogène)                                                                                                   | <b>18</b> |
| <b>Tableau 5</b>  | Propriétés antioxydantes de certains composés.                                                                                                      | <b>27</b> |
| <b>Tableau 6</b>  | Principales caractéristiques de la quercétine                                                                                                       | <b>29</b> |
| <b>Tableau 7</b>  | Teneur en équivalent quercétine de quelques fruits et légumes                                                                                       | <b>30</b> |
| <b>Tableau 8</b>  | Mode opératoire de dosage de glycémie.                                                                                                              | <b>38</b> |
| <b>Tableau 9</b>  | Taux d'hémoglobine, nombre des globules rouges, Hématocrite, Lymphocyte, Monocytes, et des Plaquettes chez le groupe témoin et les groupes traités. | <b>50</b> |
| <b>Tableau 10</b> | Teneurs sérique en glucose, du fer, bilirubine totale, acide urique, urée et créatinine chez le groupe témoin et les groupes traités.               | <b>53</b> |
| <b>Tableau 11</b> | Activité du TGO, TGP, et PAL sérique chez le groupe témoin et les groupes traités.                                                                  | <b>56</b> |
| <b>Tableau 12</b> | Concentrations tissulaires de Malondialdéhyde (MDA) et glutathion réduit (GSH) chez le groupe témoin et les groupes traités.                        | <b>58</b> |
| <b>Tableau 13</b> | Activité de catalase (CAT), Glutathion S Transférase (GST), chez le groupe témoin et les groupes traités.                                           | <b>61</b> |
| <b>Tableau 14</b> | Activité du glutathion peroxydase (GPx), chez le groupe témoin et les groupes traités.                                                              | <b>64</b> |

## SOMMAIRE

|                     |    |
|---------------------|----|
| Dédicaces           |    |
| Remerciements       |    |
| Résumés             |    |
| Liste d'abréviation |    |
| Liste des figures   |    |
| Liste des tableaux  |    |
| Introduction.....   | 01 |

### PREMIÈRE PARTIE: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

| Chapitre I: Nanoparticule D'oxyde de Fer                        |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| I-Généralité sur le Fer                                         | 04 |
| I-1-Oxydes de Fe                                                | 04 |
| I-1-1-Définition d' oxydes de Fer                               | 04 |
| I-1-2-Propriétés physico-chimiques                              | 05 |
| I-1-3-Propriétés structurales                                   | 05 |
| I-1-4-Propriétés magnétiques                                    | 06 |
| I-1-5-Oxydation du fer                                          | 07 |
| I-1-5-1-Oxydation abiotique                                     | 07 |
| I-1-5-2-Oxydation biotique                                      | 07 |
| I-1-5-3-Oxydation chimique                                      | 07 |
| I-1-6-Synthèse des différents oxydes de fer                     | 08 |
| I-2- Nanoparticules d'oxyde de fer                              | 08 |
| I-2-1-Définition                                                | 08 |
| I-2-2- Sources des nanoparticules                               | 09 |
| I-2-3- Propriétés magnétiques des nanoparticules d"oxyde de Fer | 09 |
| I-2-4- Synthèse des nanoparticules                              | 10 |
| I-2-5- Applications cliniques des nanoparticules d'oxyde de fer | 11 |
| I-2-6-Effet des nanoparticules sur l'homme                      | 11 |

|                                                       |    |
|-------------------------------------------------------|----|
| a. voies d'entrée dans l'organisme                    | 12 |
| b. Translocation et devenir dans l'organisme          | 12 |
| c. Effet sur la santé humaine                         | 13 |
| <b>Chapitre II: Stress Oxydatif et Antioxydants</b>   |    |
| II-1-Stress oxydatif                                  | 16 |
| II-1-1-Définition                                     | 17 |
| II-1-2- Radicaux libres                               | 17 |
| II-1-3- Principales espèces réactives oxydantes (ERO) | 17 |
| II-1-3-1- Espèces réactives oxygénées (ERO ou ROS)    | 17 |
| II-1-3-2- Espèces réactives azotées (ERA ou RNS)      | 18 |
| II-1-4-Origine des radicaux libres                    | 18 |
| II-1-4-1-Sources exogènes                             | 19 |
| II-1-4-2-Sources endogènes                            | 19 |
| II-1-5- Conséquences du stress oxydant                | 22 |
| II-1-5-1-Peroxydation lipidique                       | 22 |
| II-1-5-2-Oxydation des protéines                      | 23 |
| II-1-5-3-Oxydation de l'AND                           | 23 |
| II-1-5-4-Oxydation des glucides                       | 23 |
| II-2- Antioxydants                                    | 24 |
| II-2-1- Antioxydants enzymatiques                     | 25 |
| II-2-1-1-Superoxyde dismutases SOD                    | 25 |
| II-2-1-2-Glutathion peroxydase GPx                    | 25 |
| II-2-1-3-Catalase CAT                                 | 26 |
| II-2-1-4-Glutathion réductase GRase                   | 26 |
| II-2-1-5-Glutathion S-transférase GST                 | 26 |
| II-2-2- Antioxydants non enzymatiques                 | 26 |
| <b>Chapitre III: Quercétine</b>                       |    |
| III-1-Définition de la quercétine                     | 29 |
| III-2-Propriétés la quercétine                        | 29 |
| III-3-Classification de et sources de quercétine      | 29 |

|                                                          |    |
|----------------------------------------------------------|----|
| III-4-Mode d'action de la quercétine                     | 30 |
| III-5-Absorption et la Biodisponibilité de la quercétine | 31 |
| III-6-Toxicité de la quercétine                          | 31 |
| III-7-Importance pharmacologique de la quercétine        | 31 |

## DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE

| Chapitre I: Matériels et méthodes                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------|----|
| I-1- Matériels                                                           | 34 |
| I-1-1- Animaux de laboratoire                                            | 34 |
| I-1-2- Produits chimiques et réactifs                                    | 34 |
| I-2- Méthode                                                             | 34 |
| I-2-1-Protocole experimental                                             | 34 |
| I-2-1-1-Conditions d'élevage                                             | 34 |
| I-2-1-2-Répartition et traitement des rattes                             | 34 |
| I-2-1-3-Sacrifices et prélèvement de sang et des organes                 | 35 |
| I-2-1-4-Préparation des suspensions mitochondriales                      | 36 |
| I-2-2-Paramètres d'analysés et méthodes                                  | 38 |
| I-2-2-1-Méthode de dosage des paramètres hématologiques                  | 38 |
| I-2-2-2-Méthodes de dosage des paramétrés biochimiques sérique           | 38 |
| 1- Dosage de la glycémie                                                 | 38 |
| 2- Méthode de dosage de fer sérique                                      | 38 |
| 3- Méthode de dosage de bilirubine totale                                | 39 |
| 4- Méthode de dosage d'acide urique                                      | 39 |
| 5- Méthode de dosage d'urée sérique                                      | 39 |
| 6- Méthode de dosage de créatinine                                       | 39 |
| 7- Méthode de dosage de l'activité de l'aspartate aminotransférase (AST) | 40 |
| 8- Méthode de dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALT)   | 40 |
| 9- Méthode de dosage de l'activité de la phosphatase alcaline (PAL)      | 40 |

|                                                                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| I-2-2-3-Méthode de dosage des paramètres du stress oxydatif                                                                                                  | 41 |
| 1- Dosage des protéines tissulaires                                                                                                                          | 41 |
| 2- Dosage de glutathion GSH                                                                                                                                  | 41 |
| 3- Glutathion peroxydase GPx                                                                                                                                 | 42 |
| 4- Glutathion-S- transférase GST                                                                                                                             | 43 |
| 5- Catalase CAT                                                                                                                                              | 44 |
| 6- Malondialdéhyde MDA                                                                                                                                       | 45 |
| I-2-2-4-Analyse histologique                                                                                                                                 | 46 |
| I-2-2-5-Analyse statistique                                                                                                                                  | 46 |
| <b>Chapitre II: Résultats et Discussion</b>                                                                                                                  |    |
| II-1- Résultats                                                                                                                                              | 48 |
| II- 1-1- Effets des SPION et la quercétine sur les paramètres de la croissance globale des animaux                                                           | 48 |
| II-1-2-Effet de traitement par la quercétine sur des paramètres hématologiques, biochimiques et enzymatique chez les rattes contaminées par la Dose de SPION | 49 |
| II-1-2-1-Étude des paramètres hématologiques                                                                                                                 | 49 |
| II-1-2-2- Effets des SPION et la quercétine sur les paramètres biochimiques                                                                                  | 52 |
| II-1-2-3- Effets des SPION et la quercétine sur les enzymes sériques                                                                                         | 55 |
| II-1-3- Effet de traitement par la quercétine sur des paramètres de stress oxydant chez les rattes contaminées par la Dose de SPION                          | 57 |
| II-1-3-1- Etude de la peroxydation lipidique MDA et le glutathion réduit GSH                                                                                 | 57 |
| II-1-3-2- Etude de l'activité de de catalase, Glutathion S Transférase GST, et du glutathion peroxydase GPx                                                  | 60 |
| II-1-4-Effets de traitement par la quercétine sur l'analyse histologie des tissus chez les rattes contaminées par la Dose de SPION                           | 66 |
| II-2- Discussion                                                                                                                                             | 69 |
| II-2-1-Effet des SPION et la quercétine sur les paramètres de la croissance globale des animaux                                                              | 69 |
| II-2-2-Effet de traitement par la quercétine sur des paramètres hématologiques                                                                               | 70 |
| II-2-3-Effets des SPION et la quercétine sur les paramètres biochimiques                                                                                     | 72 |
| II-2-4-Effets des SPION et la quercétine sur les enzymes sériques                                                                                            | 74 |

|                                                                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| II-2-5-Effet de traitement par la quercétine sur des paramètres de stress oxydant chez les rattes contaminées par la Dose de SPION | 74 |
| II-2-6-Effets de traitement par la quercétine sur l'analyse histologie des tissus chez les rattes contaminées par la Dose de SPION | 77 |

|                                         |            |
|-----------------------------------------|------------|
| <b>Conclusion générale.....</b>         | <b>80</b>  |
| <b>Références bibliographiques.....</b> | <b>83</b>  |
| <b>Annexes.....</b>                     | <b>109</b> |
| <b>Résumé et mots-clés</b>              |            |

# *Introduction générale*

### Introduction générale

Les nanosciences et nanotechnologies ont connu un essor fulgurant ces dernières décennies. Le terme « nano » fait référence à l'échelle du nanomètre ( $10^{-9}$  m). Réduire les dimensions d'un objet jusqu'à l'échelle nanométrique (il est alors appelé nano-objet) peut permettre l'apparition de propriétés nouvelles. Les nanosciences s'intéressent à ces nouvelles propriétés ainsi qu'aux interactions entre ces nano-objets et leur environnement. Les nanotechnologies, quant à elles, ont pour objectif de mettre en application les concepts et les procédés obtenus par les nanosciences. Depuis le discours du physicien Richard Feynman prédisant «There's plenty at the bottom » (il y a plein de choses en bas, sous entendu à découvrir), en 1959, les nanotechnologies se sont développées et diversifiées. Bien que beaucoup d'applications soient encore à réaliser, des progrès remarquables ont déjà été constatés, que ce soit dans le domaine de l'électronique, de l'industrie, de l'environnement ou de la médecine. L'intérêt des industriels et des scientifiques pour les nanotechnologies s'est amplifié, parallèlement aux moyens matériels et financiers permettant leur développement (**Lucie Armand., 2011**). Le développement récent des nanotechnologies va élargir les sources de pollution avec la production accrue de nanomatériaux manufacturés, dont des nanoparticules, qui vont se retrouver en milieu professionnel et, vraisemblablement, en environnement général. Il existe différentes sources de production des nanoparticules: les sources naturelles (incendies, éruptions volcaniques..), les sources accidentelles (feux de bois, gaz d'échappement de véhicule, freinage..) et les sources industrielles (nanoparticules manufacturées intentionnellement par l'homme) (**Baratli., 2015**).

En 2008, l'Organisation internationale de normalisation (ISO) a classé les nanomatériaux en trois groupes principaux, à savoir, les nanoparticules, nanoplaques et nanofibres. Une nanoparticule est définie comme un matériau à trois dimensions externes sur une échelle nanométrique (**Lei et al., 2013**).

À l'heure actuelle, les nanomatériaux les plus importants sont les oxydes métalliques simples, tels que l'oxyde d'aluminium ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), de silice ( $\text{SiO}_2$ ), l'oxyde de zinc ( $\text{ZnO}$ ), l'oxyde de cuivre ( $\text{CuO}$ ), l'oxyde de titane ( $\text{TiO}_2$ ) d'oxyde de manganèse ( $\text{MnO}_2$ ) et l'oxyde de fer ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) (**Szalay et al., 2012**). Parmi tous les types de nanomatériaux disponibles, notre étude s'est restreinte à un type de nanoparticules à savoir des nanoparticules d'oxydes de fer ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) pour leur importance dans le développement actuel des nanotechnologies.

Les nanoparticules d'oxydes de fer et plus spécifiquement la magnétite  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  et la maghémite  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  ont de nombreuses applications biomédicales (**Gupta et al., 2005 ; Ngomsik et al., 2005**). Elles sont utilisées dans le diagnostic médical par imagerie IRM, le

traitement des tumeurs par hyperthermie (**Puppi et al., 2011; Rumenapp et al., 2012**), ou la vectorisation de médicaments pour un ciblage intracellulaire (**Baratli., 2015**) car ces oxydes sont dotés de propriétés magnétiques leur permettant d'être manipulés par un champ magnétique extérieur. Les nanoparticules métalliques de fer sont étudiées et commencent à être employées pour la dépollution des eaux souterraines et des sols contaminés (**Wei-Xian., 2003**).

En mars 2009, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA, aujourd'hui ANSES) a déclaré que les études de toxicité des nanoparticules par voie orale sont lacunaires, le plus souvent limitées à des conditions d'ingestion par gavage sur une période courte. Les caractéristiques physico-chimiques des nanoparticules testées et leur interaction avec la matrice alimentaire sont insuffisamment documentées. Les quelques résultats rapportés sont souvent discordants et ne permettent pas de conclure à un effet dose, à un effet taille, à une relation entre les caractéristiques physico-chimiques de la particule et la toxicité (**Baratli., 2015**). En effet, du fait de leur taille nanométrique, ces particules peuvent pénétrer les barrières physiologiques (respiratoire, encéphalique, cutanée ou digestive) beaucoup plus facilement que leur pendant massif (**Charlotte Vichery., 2012**).

Les rares données de toxicocinétique ont montré que le tube digestif puis tous les organes sont des cibles potentielles des nanoparticules. Seules quelques études ont abordé la toxicité des nanoparticules après ingestion orale. Ces études ont été menées essentiellement avec des métaux ou des oxydes de métal comme le sélénium, le cuivre et le zinc. Aussi sur le plan, *in vitro*, les résultats des études réalisées sur la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer au niveau cellulaire sont différents. En effet, il y a des études qui montrent que ces nanoparticules ne présentent aucune toxicité (**Baratli., 2015**) alors que d'autres études montrent un effet toxique aux fortes concentrations (**Hussain et al., 2005**).

Depuis plusieurs années, l'utilisation des plantes à des fins médicales rencontre un succès grandissant. De nos jours, l'identification de nouveaux principes actifs et la découverte de nouvelles propriétés pharmacologiques, en balance avec les effets néfastes de certains médicaments de synthèse, ont contribué à faire de la phytothérapie une médecine à part entière et à faire comprendre que les plantes pouvaient être d'authentiques médicaments (**Boyaud., 2009**). Parmi ces principes actifs, on trouve les flavonoïdes (**Fiorucci., 2006**).

La quercétine est l'un des composés les plus représentatifs de la famille des flavonoïdes et a été attribué à un certain nombre d'avantages potentiels pour la santé, y compris antioxydant, prévention du cancer, l'action anti-inflammatoire et l'activité cardio-protecteur (**Boots et al., 2008**).

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet toxique des nanoparticules d'oxyde de fer et de valider l'effet antidote de quercétine plus particulièrement à la fonction mitochondriale et, *in vivo*, au stress oxydant chez les ratte *Wistar Albinos*.

Ce travail est divisé en deux parties. La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique qui comporte trois chapitres. Le premier chapitre concernant les nanoparticules d'oxydes de fer et leur effet toxique dans l'organisme, le deuxième chapitre concernant le stress oxydatif et les anti-oxydants, la troisième chapitre concernant la quercétine. La deuxième partie est consacrée à la partie expérimentale qui contient la partie des matériels et méthodes utilisées durant ce travail et la partie des résultats et discussion qui montrent les résultats obtenus et leur interprétation.

# **PREMIÈRE PARTIE**

## *Synthèse Bibliographique*

# ***CHAPITRE I***

## *Nanoparticules d'oxyde de fer*

**I-Généralité sur le Fer**

Le Fer (Fe) est un métal essentiel (**Lacoue L et Thomas., 2007**), c'est le quatrième élément le plus abondant dans la croûte terrestre, et qui constitue en masse d'environ 5,1% (**Straub et al., 2001**), et le second plus abondant au niveau des habitats redox actifs avec une interface aqueuse, ce qui en fait un métal dont le rôle est important dans les cycles biogéochimiques (**Abhijit et Parames., 2014**).

Le fer est présent à raison de 4 voire 5 grammes en moyenne dans notre corps (**Wautier et David B., 2003**). La majeure partie du métal, 70 % environ de la quantité totale soit 2,5 grammes, se trouve dans l'hémoglobine des globules rouges circulants où il assume la fonction bien connue de transporteur de l'oxygène un litre de sang contient donc 500mg de fer (**Rymer ., 1996**).

Le fer est un cofacteur qui joue un rôle critique dans de nombreux processus biologiques, tels que le transport d'oxygène (**Beaumont et Karim., 2013**), ou catalyser des réactions de transfert d'électrons, de fixation d'azote ou de synthèse d'ADN (**Aderien et Mai., 2011**).

Il existe sous deux formes, le fer ionique (le fer ferreux:  $\text{Fe}_2^+$  et le fer ferrique:  $\text{Fe}_3^+$ ), et le fer minéral qui inclut les sulfures (pyrite), les sulfates, les oxydes et hydroxydes (hématite, magnétite) ainsi que les silicates et les carbonates (sidérite) (**Christelle., 2006**). En phase solide se trouve majoritairement dans la nature sous forme de  $\text{Fe(III)}$ . Il est essentiellement lié à l'oxygène pour former des hydroxydes ou des oxydes de fer amorphes qui jouent un rôle important dans le cycle naturel du fer (**Sara., 2009**).

L'oxydation du fer ferreux a d'abord été mise en évidence comme étant un processus chimique s'effectuant en présence d'oxygène à pH neutre. Il y a seulement quelques dizaines d'années qu'il a été observé le même processus mais en présence de bactéries ferro-oxydantes neutrophiles (**Croal et al., 2004**). L'oxydation du fer ferreux à pH neutre est donc un processus compétitif entre l'oxydation abiotique (via l'oxygène) et l'oxydation biotique (via les bactéries ferrooxydantes) (**Emerson et Moyer., 2002**).

**I-1- Oxydes de Fer****I-1-1-Définition d' oxydes de Fer**

De manière générale, un oxyde est un composé chimique composé d'oxygène avec un autre élément chimique moins électronégatif. Selon le composé associé à l'oxygène et son degré d'oxydation, l'oxyde est moléculaire (eau, dioxyde de carbone) ou cristallin avec une structure qui va d'une forte ionicité ( $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{CaO}$ ) à des solides semi-conducteurs ( $\text{FeO}$ ) (**Sara., 2009**).

L'oxyde de fer peuvent être considérés, en première approximation, comme de solides ioniques constitués d'anions oxygène et de cations métalliques. L'oxygéné se trouve dans son état d'oxydation  $-II$ , tandis que le fer existe dans ses états d'oxydation  $+II$  et  $+III$  (Nadour., 2012 ; Babadi., 2013). En fonction de leur degré d'oxydation, on peut distinguer trois catégories d'oxydes de fer : l'oxyde ferreux, l'oxyde magnétique et l'oxyde ferrique. Dans le domaine médical, l'oxyde de fer est souvent employé comme produit de contraste pour pratiquer l'imagerie médicale de resonance magnétique nucléaire (IRM) (Babadi., 2013).

### I-1-2-Propriétés physico-chimiques

Les oxydes de fer existent sous de nombreuses formes. La magnétite ( $Fe_3O_4$ ), la maghémite ( $\gamma-Fe_2O_3$ ) et l'hématite ( $\alpha-Fe_2O_3$ ) sont les plus courantes (Lakhal., 2016 ; Livage et al., 1988) .

Les propriétés physico-chimiques des oxydes de fer (hématite, magnétite et maghémite) à l'état massif sont rassemblées dans le tableau 01

**Tableau 01:** Propriétés physico-chimiques des oxydes de fer (Cornell et Schwertmann., 2003)

| Oxyde de fer | Couleur      | Masse molaire ( $g.mol^{-1}$ ) | Température de fusion ( $^{\circ}C$ ) | Masse volumique ( $kg.m^{-3}$ ) |
|--------------|--------------|--------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|
| Hématite     | Rouge à noir | 160                            | 1350                                  | 5260                            |
| Magnétite    | noir         | 232                            | 1583-1597                             | 5180                            |
| Maghémite    | marron       | 160                            | -                                     | 4870                            |

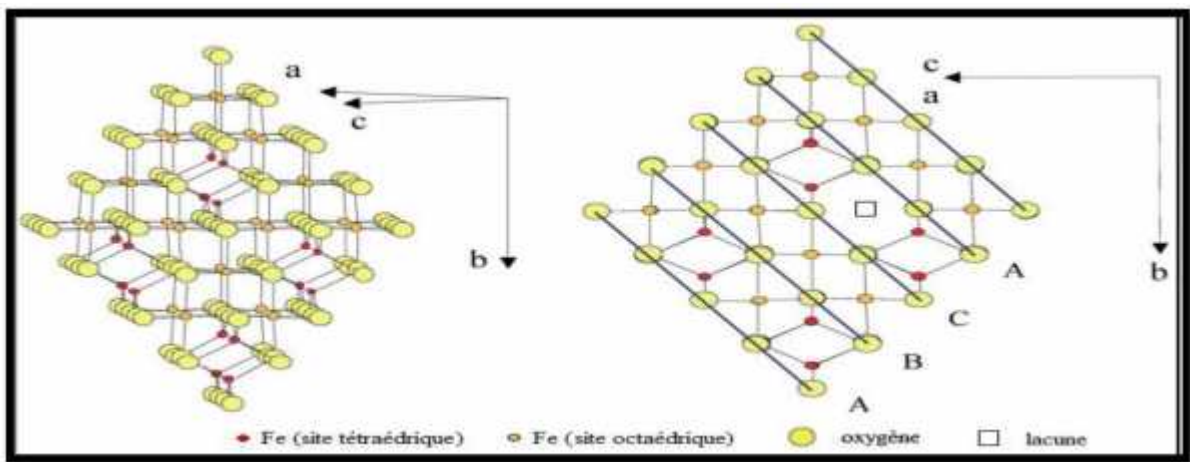
### I-1-3-Propriétés structurales

La magnétite et la maghémite possèdent une structure spinelle. La magnétite ( $Fe_3O_4$ ) est un minéral ferrimagnétique noir contenant à la fois Fe II et Fe III, tandis que La maghémite ( $\gamma-Fe_2O_3$ ) est un minérale rouge-brun, ferromagnétique, isostructural de magnhémite, elle formé par oxydation de la magnétite est bien ordonné, tandis que l'amorçage d'autres oxydes de fer produit un maghémite mal ordonnée (Schwertmann et Cornell., 2003).

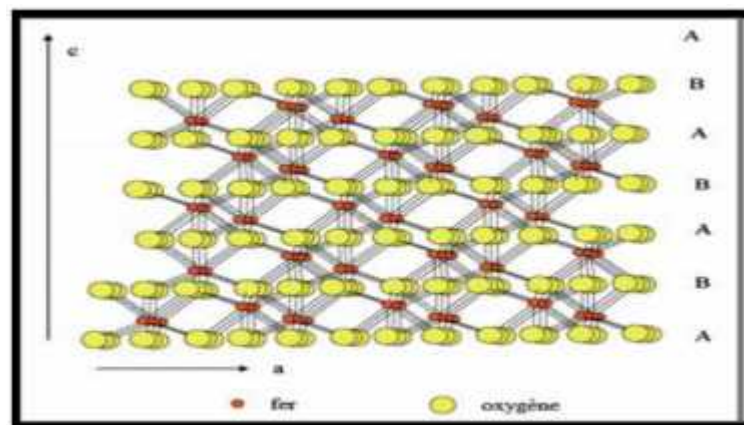
La structure de la magnétite est composée d'un assemblage compact cubique aux faces centrées (ABC) d'ions  $O^{2-}$  délimitant des sites cristallographiques octaédriques et tétraédriques dans lesquels prennent place les différents cations nécessaires à la neutralité de la maille (figure 01- (a)). Les ions  $Fe^{3+}$  sont distribués aléatoirement entre les sites octaédriques et tétraédriques et les ions  $Fe^{2+}$  occupent uniquement les sites octaédriques. La

maghémite possède une structure spinelle similaire à celle de la magnétite mais en diffère par la présence de lacunes distribuées dans le sous-réseau cationique des sites octaédriques (figure 01-(b)). Le paramètre de maille de la magnétite est  $a = 8,396 \text{ \AA}$  et celui de la maghémite est  $a = 8,347 \text{ \AA}$  (Teja et Koh., 2009).

La structure cristalline de l'hématite, quant à elle, est de type rhomboédrique. Cette structure est constituée par des ions oxygène occupant un arrangement hexagonal (ABAB) avec des ions  $\text{Fe}^{3+}$  occupant des sites octaédriques (figure 01). Les paramètres de maille de l'hématite sont  $a = 5,034 \text{ \AA}$  et  $c = 13,75 \text{ \AA}$  (Teja et Koh., 2009).



**Figure 01:** Structures cristallines de la magnétite (a) et de la maghémite (b) (Cudennec et Lecerf., 2005).



**Figure 02:** Structure cristalline de l'hématite (Cudennec et Lecerf., 2005).

#### I-1-4-Propriétés magnétiques

Le magnétisme est un phénomène physique au cours duquel des forces attractives ou répulsives se manifestent entre deux matériaux (Lakhal., 2016).

La magnétite est le minéral magnétique responsable des plus fortes aimantations. Elle est ferrimagnétique à la température ambiante et a une température de Curie de 850 K. La maghémite possède le même réseau cristallin ferrimagnétique que la magnétite. Sa

température de Curie est comprise entre 820 K et 986 K. L'hématite présente un faible ferromagnétisme à la température ambiante (**Yariv et al., 1963**). Elle est paramagnétique à des températures supérieures à sa température de Curie de 956 K (**Lakhal., 2016**).

### I-1-5-Oxydation du fer

#### I-1-5-1-Oxydation abiotique

Le fer est présent sous ses différentes formes, dans de très nombreux environnements terrestres, lacustres ou marins. Cependant la forme ionique bien que largement présente au niveau des sources hydrothermales est en faible quantité dans les environnements tels que l'océan (**Baratli et al., 2013**).

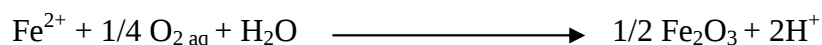
Le fer joue un rôle vital dans de nombreux processus biologiques; la photosynthèse, la fixation de l'azote, la méthanogenèse, le transport de l'oxygène ou encore la synthèse de l'ADN. La disponibilité du fer est limitée par sa solubilité et la cinétique de dissolution. Malgré son importance, le fer a également un potentiel de toxicité. Les organismes ont donc développé de nombreux mécanismes de régulation pour leur besoin et leur excédent en fer (**Elleuch., 2008**).

#### I-1-5-2-Oxydation biotique

L'oxydation du fer ferreux en fer ferrique peut également être catalysée par des bactéries. Dans un milieu pourvu d'oxygène, l'oxydation bactérienne peut avoir lieu à pH acide, on parle alors de bactéries ferro-oxydantes acidophiles, ou à pH neutre, on parle alors de bactéries ferro-oxydantes neutrophiles. De plus cette même oxydation a lieu en absence d'oxygène via les bactéries photo-autotrophes. Pour ces bactéries, le taux d'oxydation est corrélé de façon positive à l'intensité lumineuse de leur environnement (**Fillet., 1978**).

#### I-1-5-3-Oxydation chimique

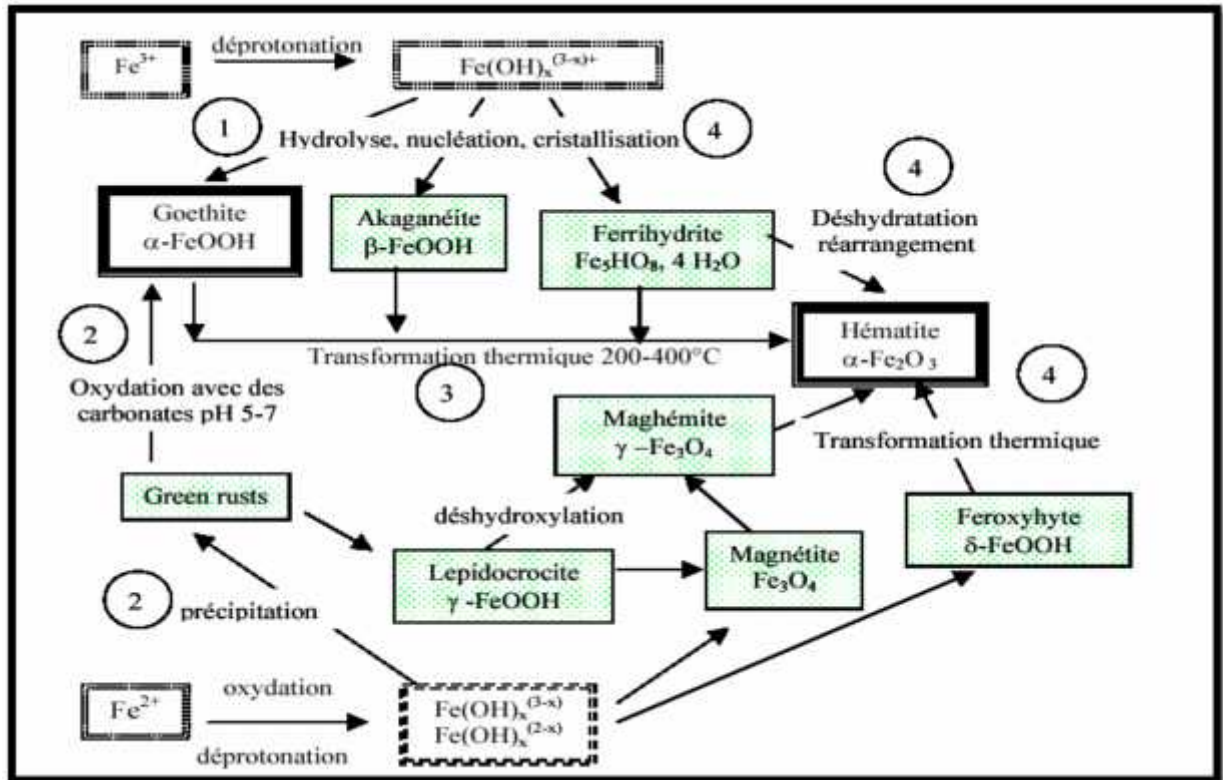
L'oxydation chimique du fer permet la transformation du fer ferreux en fer ferrique, celui-ci est très rapidement réutilisé pour la formation d'oxyde de fer qui est la forme thermodynamiquement stable (**Gabriel et al., 2005**). Dans un environnement de pH proche de la neutralité et en présence de faibles concentrations d'oxygène, le fer ferreux réagit comme-ci:



Cette réaction n'est plus réalisable au-delà d'une température supérieure à 50°C, car l'énergie libre disponible n'est plus suffisante. On remarque que l'énergie libérée pour l'oxydation du fer peut varier selon l'oxyde ferrique formé. De plus il semblerait que ces valeurs varient selon les auteurs, ce qui est peut être due au fait que les mesures proviennent de milieux différents où la concentration en fer ferreux diffère (**Mirkovic et al., 2010**).

### I-1-6-Synthèse des différents oxydes de fer

La figure 03 illustre les méthodes de synthèse et de transformation des oxyhydroxydes de fer entre eux montrant notamment la place de la Goethite et de l'hématite (**Schwertmann et Cornel., 1991**).



**Figure 03:** Schéma des différentes méthodes de synthèse et de transformation des oxydes. Les cadres en pointillés indiquent les espèces en solution aqueuse et les numéros font référence aux principales voies de synthèse de la goethite et de l'hématite décrites dans le texte (Sara., 2009).

## I-2- Nanoparticules d'oxyde de fer

### I-2-1-Définition

On appelle nanoparticules des particules de matière de quelques millièmes de millimètre. Les nanoparticules sont des particules ultra-fines (PUF) dont au moins une dimension est comprise entre 1 et 100 nanomètres (millardième de mètre) (**Baratli et al., 2013**).selon l'utilisation, en matériaux inorganiques ou organiques (**Wu et al., 2008**). Cette taille leur permet l'interagir facilement avec les composants biologiques (**Baratli et al., 2013**). Ils comprennent un grand classe des particules ayant des propriétés médicales, environnementales et commercialement importantes ne figurent pas dans les éléments ou les matériaux en vrac (**Teegarden et al., 2014**).

L'oxyde de fer est l'un des nanoparticules magnétiques le plus populaire en médecine et en biotechnologie ils possèdent des propriétés magnétiques uniques qui font d'elles des matériaux avancés candidats pour la biomédecine (**Alexiou et al., 2000 ; Bulte et al., 1992 ; Pankhurst et al., 2003**), L'application des petites particules d'oxyde de fer dans le diagnostic in vitro a été pratiquée pendant près de 40 ans (**Gilchrist et al., 1957**). Les nanoparticules d'oxyde de fer (IONPs) sont les seuls nanoparticules d'oxyde de métal approuvé pour l'utilisation clinique. Les nanoparticules d'oxyde de fer sont très intéressantes en raison de leurs propriétés superparamagnétiques et leur large application (**Zhang et Olin., 2012**).

### **I-2-2- Sources des nanoparticules**

On distingue trois types de nanoparticules en fonction de leur provenance:

- Les nanoparticules d'origine naturelle résultant essentiellement des phénomènes de nucléation et de condensation des gaz et vapeurs dans l'atmosphère (feux de forêt, lave de volcan) (**Baratli et al., 2013**).
- Les nanoparticules d'origine anthropogénique non-intentionnelle issues des procédés chauds tels que le soudage ou encore de la combustion des moteurs (**Baratli et al., 2013**).
- Les nanoparticules d'origine anthropogénique intentionnelle ou nanoparticules manufacturées (**Baratli et al., 2013**).

### **I-2-3- Propriétés magnétiques des nanoparticules d'oxyde de Fer**

le magnétisme résulte du mouvement des électrons. En effet, une charge électrique en mouvement est une source de champ magnétique et on peut lui associer un moment magnétique (**Lévy., 1997**).

Les ferrites de structure spinelle sont des matériaux ferrimagnétiques en dessous d'une certaine température, appelée température de Néel, mais qui est souvent assimilée à la température de Curie.

Les propriétés magnétiques des particules sont également influencées par l'état nanocristallin comme l'aimantation à saturation et les températures de Curie et de Néel qui diminuent considérablement à l'échelle nanométrique. De plus, le processus d'aimantation change à l'échelle nanométrique au-dessous d'une taille critique ( $R_c$ ) de la particule. En effet, un matériau ferromagnétique constitué de plusieurs domaines magnétiques à l'état massif ne présente plus qu'un seul domaine à l'échelle nanométrique. Un domaine est une région dans laquelle les moments magnétiques sont alignés dans un seul sens. En conséquence, les nanoparticules de taille inférieure à  $R_c$ , deviennent superparamagnétiques. Ce phénomène a lieu à partir d'une température donnée qu'on appelle température de blocage,  $T_B$ , au-dessus

de laquelle la particule se comporte comme si elle n'était pas ferromagnétique (Teja et Koh., 2009 ; Hasany et al., 2012 ; Lahmani et al., 2012).

#### I-2-4- Synthèse des nanoparticules

De nombreuses méthodes ont été utilisées pour synthétiser des nanoparticules d'oxyde de fer (Leonov et Yaresko., 2007 ; Özdemir et al., 1993) La méthode classique de la coprécipitation, décrite par (Massart., 1981) consiste à faire précipiter en phase aqueuse un mélange stœchiométrique de  $\text{Fe}^{2+}$  et  $\text{Fe}^{3+}$  par une base. La taille des particules, comprise entre 5 et 20 nm, varie en fonction de la cinétique de la réaction, et donc en fonction de la concentration en fer, de la base utilisée, de sa vitesse d'ajout et de la température de la solution. L'avantage principal de cette technique est qu'elle permet de synthétiser de grandes quantités de poudre, mais elle présente le désavantage de former des nanoparticules assez polydisperses et qui s'agrègent facilement. Une variante consiste à effectuer cette réaction en milieu confiné, par exemple à l'intérieur de micelles (Lee et al., 2005) ce qui permet d'améliorer la dispersion de taille des nanoparticules, ou dans un système microfluidique (Frenz et al., 2008 ; Abou-Hassan et al., 2009).

Au début des années 2000, un certain nombre de techniques, basées sur la décomposition thermique d'un précurseur organométallique dans un solvant à haute température d'ébullition, ont été présentées dans la littérature. Elles présentent l'avantage de former des particules beaucoup plus monodisperses que la coprécipitation, et d'être fonctionnalisées *in situ*, ce qui évite leur agrégation. Enfin de nombreuses techniques alternatives ont été utilisées, comme par exemple des méthodes hydrothermales (Chen et Xu., 1998) sol-gel (Cannas et al., 1998) ou polyol (Wan et al., 2007). Les avantages et inconvénients des différentes méthodes sont résumés dans le tableau 02.

**Tableau 02:** comparaison des caractéristiques principales des méthodes les plus courantes de synthèse des oxydes de fer (Daou., 2007 ; Gupta A et Gupta M., 2005).

| Méthode de synthèse     | Condition de synthèse | T (°C)  | Temps de réaction   | Solvant         | Taille (nm) | Distribution de taille | Contrôle de la morphologie | Rendement |
|-------------------------|-----------------------|---------|---------------------|-----------------|-------------|------------------------|----------------------------|-----------|
| Coprécipitation         | très simple           | 20-90   | minutes             | Eau             | < 20        | passable               | moyen                      | élevé     |
| Microémulsion           | compliqué             | 20-50   | dizaines de minutes | eau/organique   | < 50        | relativement étroite   | bon                        | passable  |
| Milieu polyol           | très simple           | > 180   | dizaines de minutes | organique       | < 10        | relativement étroite   | très bon                   | moyen     |
| Hydrothermale           | simple haute pression | > 200   | heures              | eau eau/éthanol | < 1000      | relativement étroite   | très bon                   | moyen     |
| Décomposition thermique | compliqué             | 200-350 | heures              | organique       | < 40        | très étroite           | très bon                   | élevé     |

### I-2-5- Applications cliniques des nanoparticules d'oxyde de fer

Les nanoparticules d'oxyde de fer sont d'excellents exemples de l'intérêt de diminuer la taille pour accéder à des propriétés d'usages nouvelles ou améliorées. Les diverses propriétés des nanoparticules d'oxyde de fer permettent une large gamme de domaines d'applications tels que le biomedical (**Lakhal., 2016**).

Les nanoparticules d'oxyde de fer de type magnétite et maghémite ont des applications diverses dans le domaine de la biomédecine (vecteurs biomédicaux, hyperthermie, imagerie par résonance magnétique). Ces nanoparticules sont utilisées dans ce domaine en raison de leur biocompatibilité et de leur faible toxicité pour le corps humain (**Mahdavi et al., 2013**).

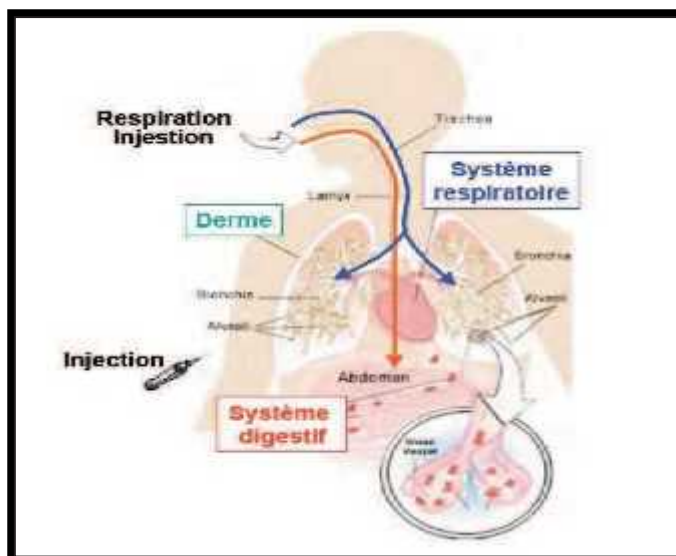
Des nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétique ont été utilisées comme vecteurs biomédicaux. Le fonctionnement de ces vecteurs consiste à délivrer, sous l'effet d'un champ magnétique, le médicament externe vers la zone à traiter où il sera libéré localement (**Wagstaff et al., 2012 ; Marcu et al., 2013**).

Une autre application des nanoparticules d'oxyde de fer est le traitement de tumeurs par hyperthermie. Ce type de thérapie a la même finalité que celle présentée précédemment, mais utilise une élévation de la température, entre 42,5 et 44 °C, induisant ainsi la destruction des cellules malades (**Guardia et al., 2012 ; Ito et al., 2005**).

Ces nanoparticules sont aussi utilisées comme agents de contraste en imagerie par résonance magnétique (IRM) (**Weissleder et al., 1991 ; Di Marco et al., 2007**).

### I-2-6-Effet des nanoparticules sur l'homme

Il existe plusieurs voies d'entrée potentielle des nanoparticules manufacturées dans les organismes vivants. (Figure 04) (**Baratli et al., 2013**).



**Figure 04:** Différentes voies d'entrée des nanoparticules dans l'organisme

voies d'entrée dans l'organisme

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

#### **a- Translocation et devenir dans l'organisme**

L'organisme humain dispose de différents mécanismes de défense pour éliminer ces corps étrangers indésirables. Deux procédés sont impliqués : la dissolution chimique pour les particules solubles et la translocation physique, c'est-à-dire le transport d'un endroit à un autre, pour les particules insolubles ou peu soluble (**Baratli et al., 2013**).

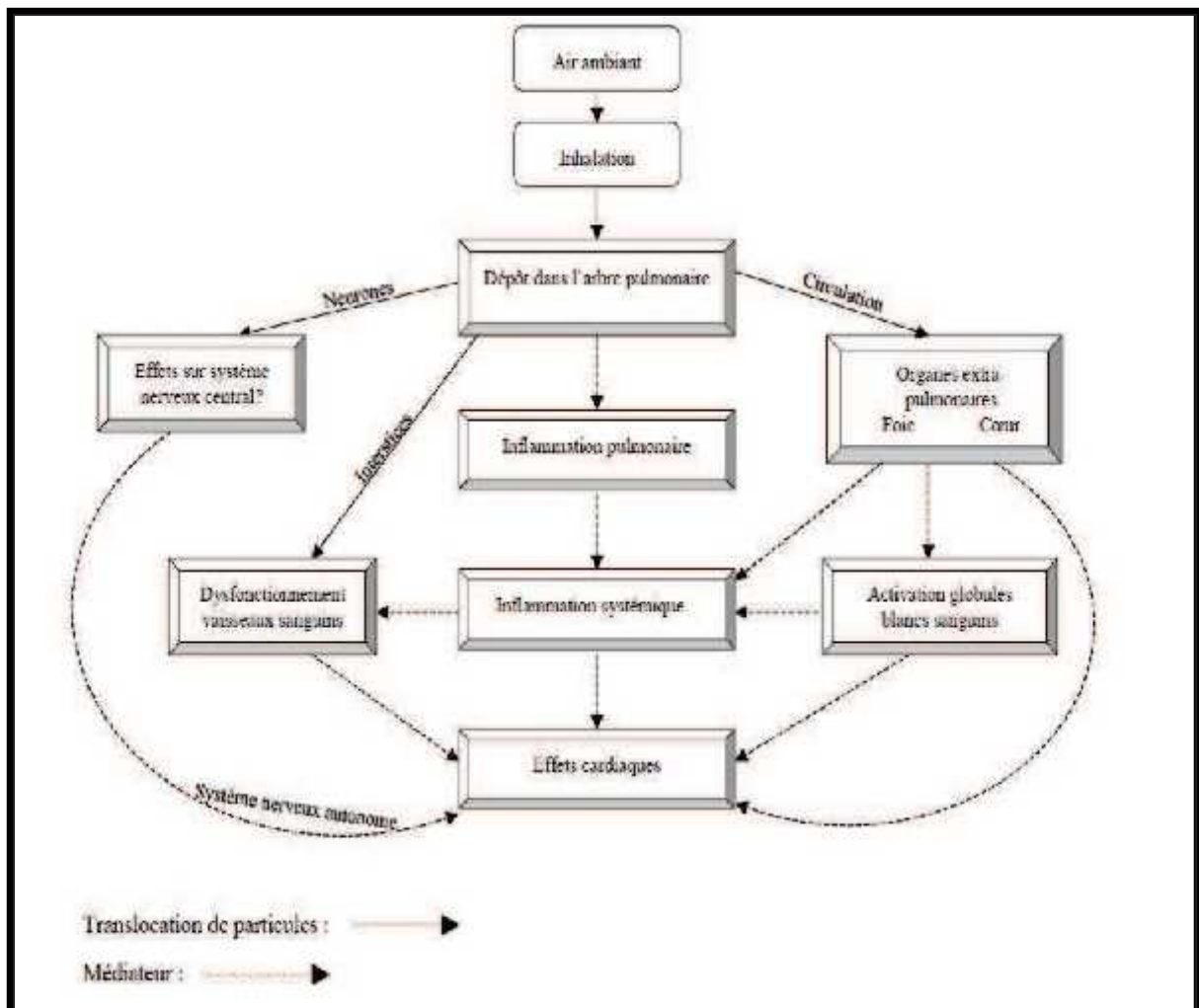
Par la translocation, les particules insolubles ou peu solubles déposées dans l'arbre pulmonaire sont éliminées du système respiratoire en les transportant ailleurs dans l'organisme. Les particules les plus grosses qui se déposent normalement dans les parties supérieures des poumons, principalement au niveau de la trachée et des bronches, sont éliminées par le mécanisme d'ascenseur mucociliaire où les muqueuses de la trachée et des bronches sont recouvertes de cellules ciliées qui forment un ascenseur et repoussent le mucus contenant les particules vers le système digestif. C'est normalement un mécanisme efficace qui élimine les particules en moins de 24 heures, même les particules ultrafines (**Kreyling et al., 2002**).

Bien que les poumons constituent la principale voie d'entrée des nanoparticules dans l'organisme humain *via* l'inhalation, il existe d'autres voies d'exposition au niveau desquelles la distribution et la translocation des nanoparticules varie considérablement. Par exemple après absorption digestive, certaines nanoparticules sont éliminées dans les fèces et dans l'urine (**Nefzger et al., 1984**) et d'autres pénétreraient dans la circulation portale et le foie ou dans le système lymphatique. Le foie et la rate seraient des organes cibles, mais certaines nanoparticules sont retrouvées dans les reins, le poumon, la moelle osseuse et le cerveau (**Jani et al., 1994 ; Wang et al., 2007**). On ne connaît pas précisément les modifications que subissent les nanoparticules dans le tube digestif, en particulier si elles restent libres ou si elles s'agrègent, si elles adsorbent des biomolécules présentes dans la matrice alimentaire ou elles sont transformées par les enzymes digestifs (**Cedervall et al., 2007; Simon et al., 2008**).

Ces modifications des nanoparticules peuvent influencer leur charge de surface, leur

hydrophobicité ou leur lipophilie, leur diffusion dans le mucus et l'eau et leur transport cellulaire et paracellulaire. Dans les liquides biologiques, l'interaction des nanoparticules avec les protéines pourrait favoriser le franchissement des membranes cellulaires et nucléaires (Hong et al., 2006). Certaines nanoparticules passent à travers la barrière digestive essentiellement par transcytose à travers les anthérocytes ou les cellules M des plaques de Peyer, avec une vitesse inversement proportionnelle à leur taille (Hillyer et Albrecht., 2001).

les effets sur l'organisme de l'inhalation de poussières ultrafines de dimensions nanométriques, résume par la figure 05.



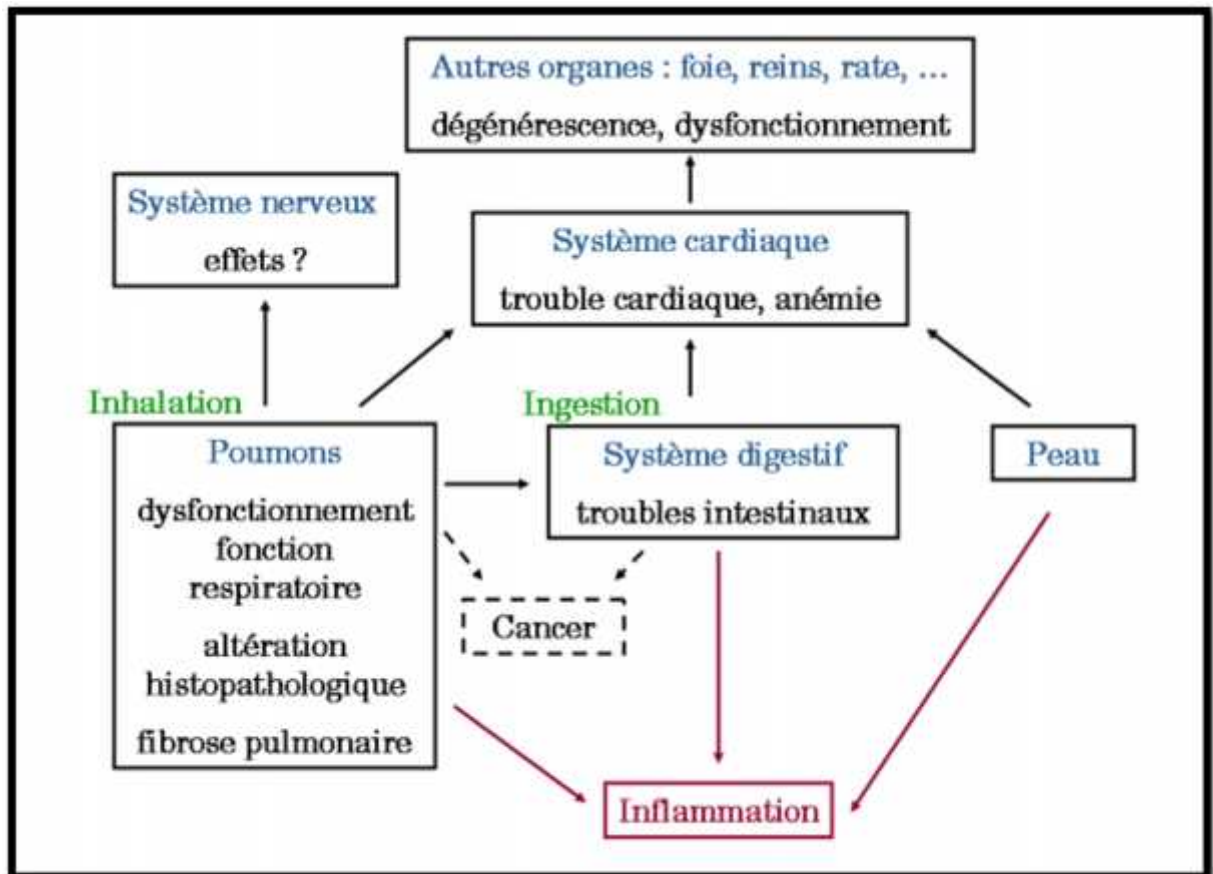
**Figure 05:** Effets potentiels des particules ultrafines inhalées (Oberdorster et al., 2005).

#### b- Effet sur la santé humaine

Actuellement, de nombreuses études sont réalisées afin de mieux connaître le comportement des nanoparticules une fois déposées dans l'organisme de l'homme, mais aucune d'entre elles n'aboutit sur un comportement général pour toutes les nanoparticules. Cependant, des expériences ont montré que des nanoparticules pouvaient être responsables de

pathologies, principalement au niveau des organes directement exposés mais aussi dans tous les autres organes (Figure 06) (Ostiguy et al., 2008).

Une étude montre que la cytotoxicité des nanoparticules d'oxyde de fer est due à une induction de stress oxydant et par conséquent à une apoptose (Naqvi et al., 2010). Il est alors important de connaître leur biocompatibilité et d'étudier leur toxicité, notamment cellulaire (Hofmanni et al., 2010).



**Figure 06 :** Principaux effets des nanoparticules de oxyde de fer sur la santé humaine (Ostiguy et al., 2008).

# ***CHAPITRE II***

## *Stress Oxydatif*

**II- stress oxydatif et antioxydants**

La découverte d'espèces chimiques radicalaires présentes normalement dans l'organisme a bouleversé notre compréhension des mécanismes biologiques. Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable; mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants (**Favier., 2003**).

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » (**Favier., 2003**).

**II-1-Stress oxydatif****II-1-1-Définition**

Le stress oxydatif, parfois appelé stress oxydant (**Atamer et al., 2008**), Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la destruction par des systèmes de défenses anti-oxydantes (**Angelos et al., 2005**) donc c'est un déséquilibre profond de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers (**Baskin et al., 1994 ; Barouki., 2006 ; Jenkins et al., 2007**).

Se définit aussi comme un état dans lequel le niveau de l'oxygène réactif toxique intermédiaires surmonte les défenses antioxydantes endogènes de l'hôte; Il se développe lorsque il y a une surproduction des radicaux libres et un déficit en antioxydantes, c'est-à-dire les molécules oxydants sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par l'organisme, donc l'origine du stress oxydatif sont les radicaux libres principalement (**Koppenol., 2001**).

Les composés métalliques peuvent avoir des effets moléculaires indirects dus à la formation d'espèces d'oxygène réactives qui sont potentiellement préjudiciables pour l'intégrité de certains compartiments cellulaires (**Mule et Lomte., 1994**). Le stress oxydant correspond à l'ensemble des effets néfastes liés aux formes actives de l'oxygène (FAO) (**Narbonne., 1994**). Les FAO dérivent de l'oxygène moléculaire ( $O_2$ ) par réduction électronique univalente (radical superoxyde  $O_2^{\cdot-}$ ) divalent (peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ ) ou

trivalente (radical hydroxyde  $\text{OH}^\bullet$ ). Certains métaux peuvent également induire la formation de FAO en cassant la liaison O-O de la molécule de peroxyde d'hydrogène (Narbonne., 1994 ; Winston et Di Giulio., 1991).

### II-1-2- Radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques indépendantes (Kehrer., 1993), atome, molécules ou leurs fragments (Durackova et al., 2008) possédant un ou plusieurs électrons célibataires (Kehrer., 1993 ; Delattre., 2005 ; Durackova et al., 2008) à sa orbite extérieure ce qu'il rend instable, et se stabiliser en se fixant sur des molécules biologiques (Sies., 1991). Leurs durée de vie est très courte (10-4s) et leur réactivité réside dans la recherche d'un électron afin de ré-apparier leur électron célibataire (Tremellen., 2008).

Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés:

- 1- Addition d'un électron libre à un non radical ( $\text{NR} + e^- \rightarrow \text{R}^\bullet$ ) ;
- 2- Perte d'un électron par un non radical ( $\text{NR} - e^- \rightarrow \text{R}^\bullet$ ) ;
- 3- Scission homolytique d'une liaison covalente ( $\text{A} : \text{B} \rightarrow \text{A}^\bullet + \text{B}^\bullet$ ) (Bonfont et al., 2003).

### II-1-3- Principales espèces réactives oxydantes (ERO)

L'oxygène, en tant que récepteur final d'électrons dans l'organisme, se transforme en molécule d'eau au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette réaction est importante puisqu'elle est associée à la production de 38 molécules d'adénosine triphosphate (ATP) à haut potentiel énergétique à partir d'une molécule de glucose (contre 2 seulement dans un processus anaérobie). Mais tous les organismes aérobies paient le prix de ces avantages métaboliques. En effet, les cellules convertissent 3% de la quantité totale d'oxygène consommée en espèces réactives de l'oxygène (notées ERO) (Aly et al., 2010).

Les ERO sont majoritaires mais des radicaux soufrés, nitrogénés, phosphorés ou carbonés sont également formés. Ces ERO qui peuvent être radicalaires ou non radicalaires. (Tableau03) sont aussi produites en permanence par différents systèmes enzymatiques dont les plus importants sont les NAD(P) H-oxydase et les NO synthase (Tory et al., 2010).

Il existe majoritairement deux grandes familles d'espèces réactives:

#### II-1-3-1- Espèces réactives oxygénées (ERO ou ROS)

Également désignées dans la littérature de dérivés réactifs de l'oxygène ou d'espèces réactives de l'oxygène peuvent être définies comme des molécules qui contiennent de l'oxygène mais qui sont plus réactives que l'oxygène présent dans l'air. Les ERO incluent les radicaux libres comme l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) et le radical hydroxyle ( $\text{OH}^\bullet$ ) et des composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche externe)

comme le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), l'oxygène singlet ( $^1\text{O}_2$ ) et l'ozone ( $\text{O}_3$ ) (Victor et al., 2009). le peroxyde d'hydrogène  $\text{H}_2\text{O}_2$  réagit avec le fer, sous forme  $\text{Fe}^{2+}$  pour former du  $\text{HO}^\bullet$  et du fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ): c'est la réaction de Fenton. Puis le fer ferrique est réduit en fer ferreux par  $\text{O}^{2-}$ . L'ensemble de ces réactions forme la réaction d'Haber Weiss (Migdal et al., 2011). Les fortes concentrations en ERO sont impliquées de façon prépondérante dans les dommages oxydatifs infligés aux biomolécules, pouvant mener la cellule vers l'apoptose ou la nécrose. Toutefois, pour des concentrations faibles ou modérées, les ERO possèdent un rôle important au sein de la signalisation cellulaire (Trachootham et al., 2009).

### II-1-3-2- Espèces réactives azotées (ERA ou RNS)

Ont été définies comme un sous groupe d'oxydants dérivés de l'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote ( $\text{NO}^\bullet$ ). Ceci a poussé certains auteurs à parler de RONS (Réactive Oxygen and Nitrogen Species) au lieu de ROS pour désigner l'ensemble des espèces réactives oxydantes radicalaires ou non radicalaires (Mac., 2007).

**Tableau 03:** Principales espèces réactives oxydantes radicalaires et non radicalaires (Mac., 2007).

| <i>Formes réactive d'oxygène</i>   |                                             |
|------------------------------------|---------------------------------------------|
| <i>Formes radicalaires (RLO)</i>   | <i>Formes non radicalaires (RLO)</i>        |
| Super oxyde $\text{O}^\bullet$     | Peroxyde d'hydrogène $\text{H}_2\text{O}_2$ |
| Hydroxyle $^\bullet\text{OH}$      | Oxygène singlet $^1\text{O}_2$              |
| Peroxyle $\text{ROO}^\bullet$      | Peroxynitrite $\text{ONOO}^\bullet$         |
| Alcoxyle $\text{RO}^\bullet$       | Acide hypochloreux $\text{HOCl}^\bullet$    |
| Hydroperoxyle $\text{HOO}^\bullet$ | Ozone $\text{O}_3$                          |

### II-1-4-Origine des radicaux libres

Des radicaux libres sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogènes qu'exogènes (Tableau 04). Sans vouloir faire du finalisme, nous pouvons considérer que certaines de ces productions sont volontairement programmées par l'organisme à des fins de défense ou d'envoi des signaux (El-Demerdash et al., 2013).

**Tableau 04:** Principales sources des RL (endogènes et exogène) (Halliwell., 2006; Durackova., 2008 ; Rees et al., 2008).

| Sources endogènes                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Sources exogènes                                                                                                                                                                                                  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| -NADPH oxydase.<br>-Chaîne respiratoire mitochondriale.<br>-Péroxyosomes.<br>-Cytochrome P450.<br>-Xanthine oxydase.<br>-Cyclo-oxygénases.<br>-Lipo-oxygénases.<br>-Phagocytes.<br>-Réactions des ions de transition.<br>-Inflammation.<br>- Etat d' ischémie-reperfusion.<br>-Atherogénèse.<br>-Hémodialyses.<br>-exercices intensifs. | -Toxiques environnementaux.<br>-Radiations ionisantes.<br>- Radiations UV.<br>-Champs électriques..<br>-Xénobiotiques prooxydants.<br>-Cytokines pro inflammatoires.<br>-Tabagisme.<br>-Chémothérapie.<br>-Ozone. |

#### II-1-4-1-Sources exogènes

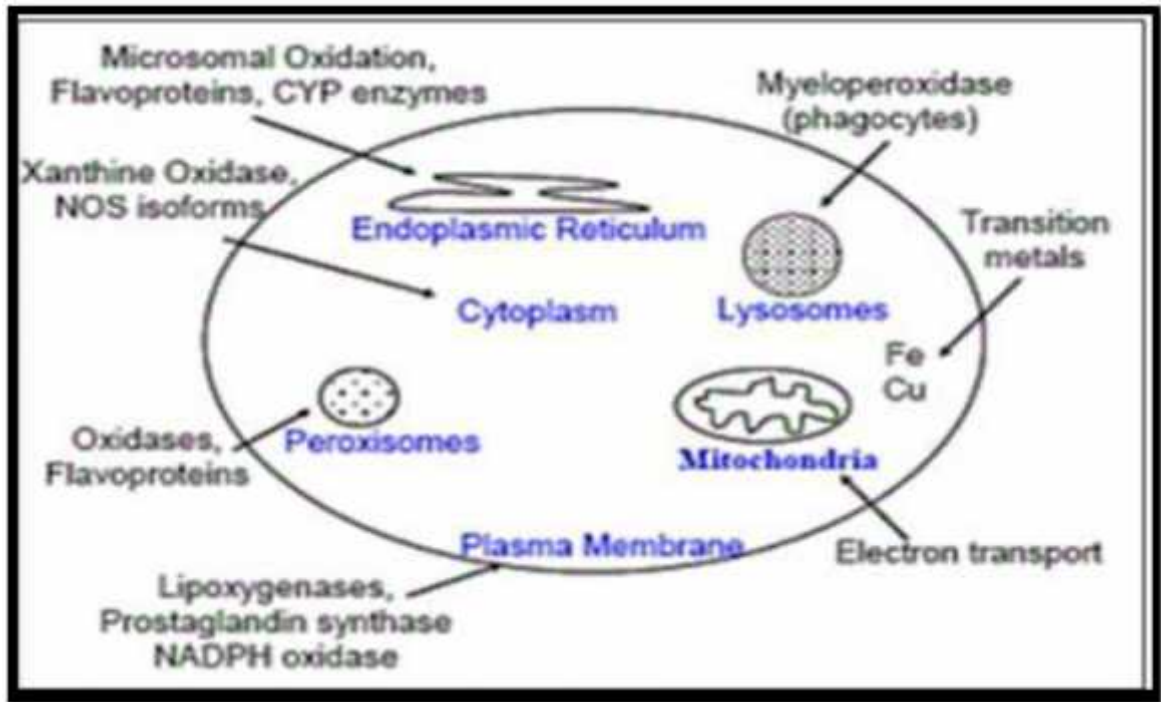
Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux, pollutions diverses, produits chimiques ainsi que des contaminations par des métaux lourds ou certaines carences nutritionnelles (**Priyadarsini., 2005**). Parmi ces facteurs, on retrouve:

- ✓ L' alimentation (antibiotiques, alcool, café, aliments riches en protéines et/ou en lipides et/ou à indice glycémique élevé, faible consommation d' antioxydants) (**Hu et al., 2006; Moller et al., 1996**);
- ✓ Le CO<sub>2</sub> atmosphérique (**Bentes de Souza et al., 2004**);
- ✓ Les polluants (fumée de cigarette, pollution atmosphérique (SO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, hydrocarbures), métaux occupationnels (métaux de transition tels le mercure, le fer, le cadmium et le nickel, arsenic, amiante) (**Valko et al., 2006 ; Valko et al., 2005 ; Moller et al., 1996**). Les métaux lourds ayant une grande affinité avec les groupements sulfhydryles (-SH), ils inactivent facilement les antioxydants contenant du soufre (**Houston C., 2007**);
- ✓ Les médicaments (traitements contre le cancer, psoralène) (**Moller et al., 1996**);
- ✓ Les radiations (ionisantes, ultraviolets, micro-ondes) (**Moller et al., 1996**) ;
- ✓ L'absorption dermique (insecticides, médicaments) (**Moller et al., 1996**).

#### II-1-4-2-Sources endogènes

Les systèmes biologiques les plus simples générant des ROS sont les constituants cellulaires solubles capables d'activer l'oxygène moléculaire lors des réactions d'autooxydation. Ce groupe comprend, parmi d'autres, des thiols, des hydroquinones, des flavines, des catécholamines, des tetrahydropterines, des hémoprotéines, et des métaux de

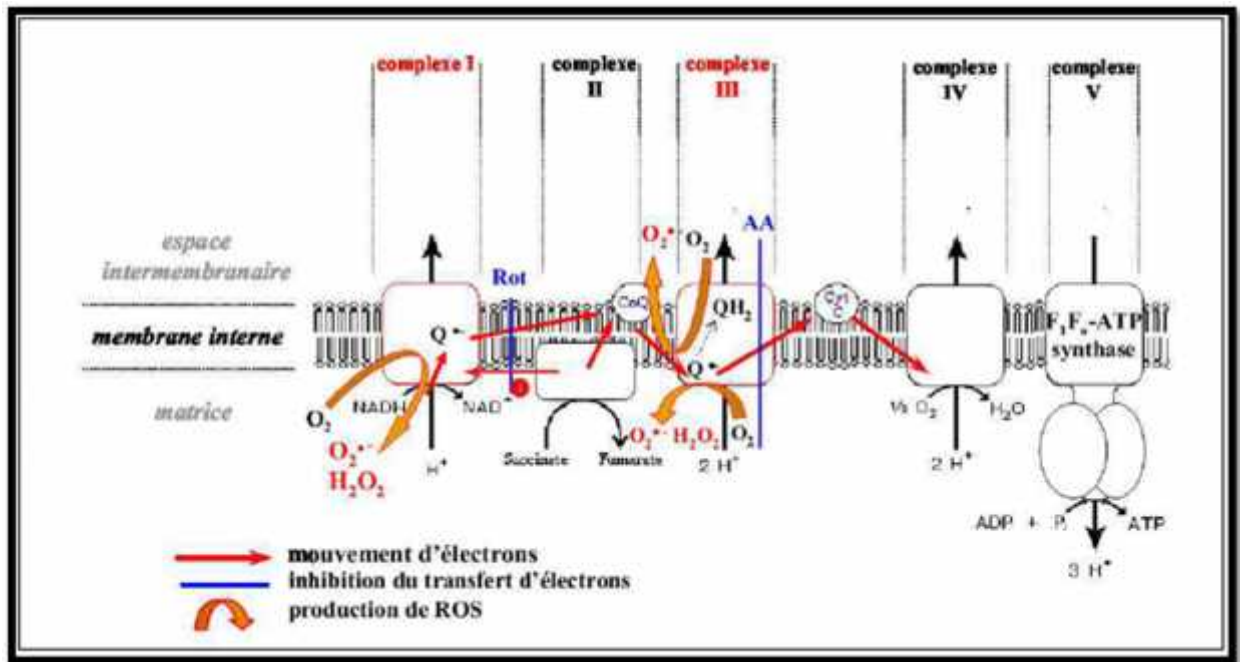
transition (**Maged., 1999**). Les ERO peuvent aussi être produits par la NO Synthase (ou NOS), à des fins de médiation par les neurones, les cellules endothéliales ou les macrophages. De manière générale, toute réaction biochimique faisant intervenir de l'oxygène moléculaire est susceptible d'être à l'origine d'une production des radicaux libres oxygénés (voir figure 07) (**Mao et Paznausky., 1992**).



**Figure 07:** Source endogènes des espèces réactives (**Belkheiri., 2010**).

La principale source des radicaux  $O_2^{\bullet}$  et  $H_2O_2$ , pendant le métabolisme énergétique cellulaire, est la chaîne respiratoire (**Daverman et al., 2002**). Les mitochondries ont été identifiées comme responsables de l'initiation de la plupart des réactions des radicaux libres se produisant dans les cellules (**Fusco et al., 2007**), l'oxygène est réduit à 95 % dans les mitochondries (centrale énergétique de la cellule) par voie enzymatique en molécule non toxique comme  $H_2O$  (**Belkheiri., 2010**).

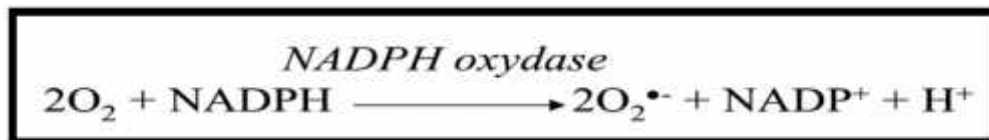
En effet, environ 2 à 5 % de l'oxygène font l'objet d'une réduction monovalente suite à une fuite des électrons dans la matrice mitochondriale au cours de leurs transfert du complexe I au cycle des quinines (**Balaban et al., 2005 ; Vergely et Rochette., 2005**). Cette fuite est plus importante dans le cerveau à cause de ses demandes énergétiques élevées (20% de l' $O_2$  consommé) (**Halliwell., 2006**). En effet, pendant la réduction de l'oxygène par les cytochromes ils se forment les ROS comme l' $O_2^{\bullet}$ ,  $H_2O_2$  et  $HO^{\bullet}$  sous l'effet des complexes I et III considérés comme générateurs potentiels de ces radicaux libres (Figure 08).



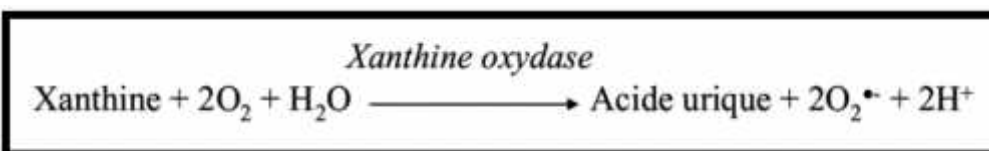
**Figure 08:** Sites de production de ROS au niveau de la chaîne respiratoire (Garait., 2006).

Par ailleurs plusieurs systèmes enzymatiques sont entraînés dans la production des ROS, entre autres la NADPH oxydase, xanthine oxydase, NO synthase, Myéloperoxydase.

- Σ **NAD(P)H oxydase** qui est une enzyme membranaire (Delattre., 2005), présente notamment dans les cellules phagocytaires, et est susceptible de produire de l'anion superoxyde lors de la phagocytose (Maghzal et al., 2012), utilisant NAD(P)H comme substrat et génère  $O_2^{\bullet-}$  (Salvayre et Salvayer., 2005) selon la réaction suivante:

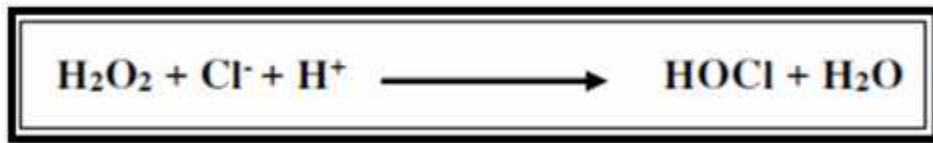


- Σ **Xanthine oxydase (XO)** catalyse la dégradation de l'hypoxanthine en acide urique en condition de forte demande d'ATP et de déficit en oxygène. Mais elle peut également catalyser l'oxydation de la xanthine en acide urique, notamment lors d'ischémie reperfusion ou d'hypoxie (Barouki., 2006 ; Fontaine., 2007).



- Σ **NO synthase** est présente dans la cellule nerveuse et plus abondante chez la cellule phagocytaire et endothéliale (Vamecq et al., 2004).
- Σ **Myéloperoxydase (MPO)** En utilisant le peroxyde d'hydrogène comme substrat oxydant, la myéloperoxydase sous forme pro-MPO et MPO mature exerce une activité

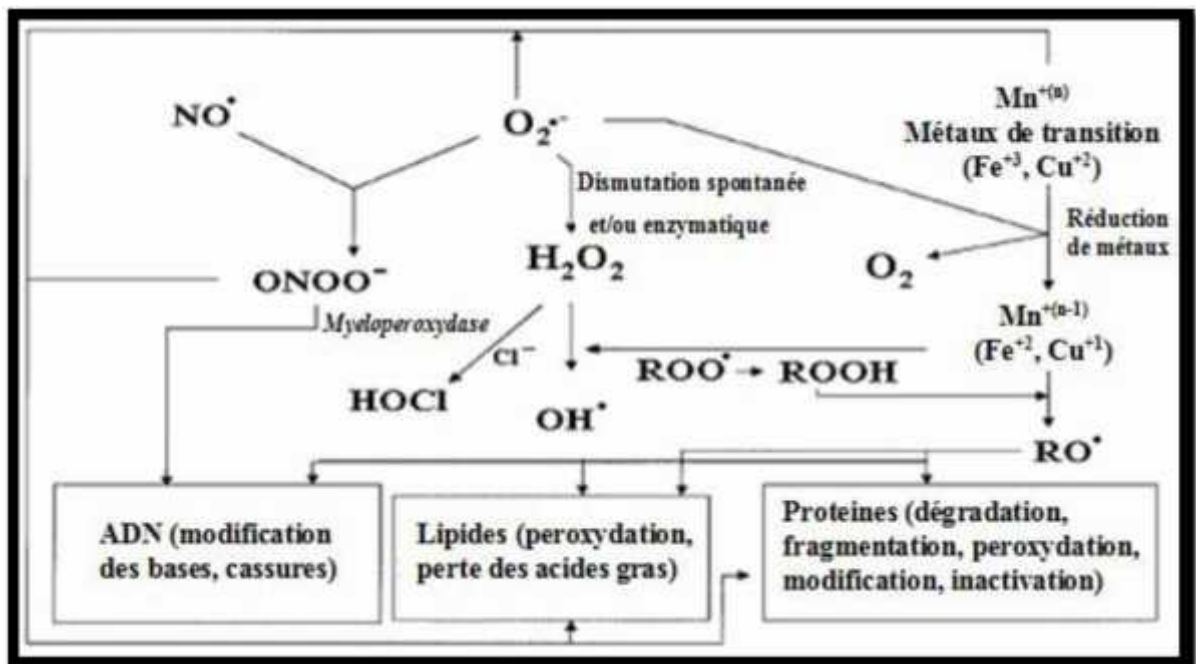
de peroxydase et une activité de chloration (Bossy *et al.*, 1998 ; Barouki., 2006). de son côté catalyse la réaction suivante:



### II-1-5- Conséquences du stress oxydant

Les ERO réagissent avec les premières molécules qu'elles rencontrent (Gamet., 2011), la production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Harris., 2002).

Le stress oxydatif traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires: les lipides avec perturbations des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation (Blandine., 2006) (voir Figure 09).



**Figure 09:** Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les ERO (Blandine., 2006).

#### II-1-5-1-Peroxydation lipidique

les acides gras polyinsaturés (RH) comme l'acide linoléique ou l'acide arachidonique sont les cibles privilégiées des ROS (Etsuo *et al.*, 2005) qui conduisent à la formation des radicaux et des peroxydes lipidiques (Tratner., 2003 ; Delattre., 2005) (Figure 10), qui

modifie la fluidité et la perméabilité de la membrane (Martinez., 1995). L'auto-oxydation de molécules telles que la dopamine, l'adrénaline, les flavines et les hydroquinones est une importante source de ROS (Freeman et Crapo., 1981).

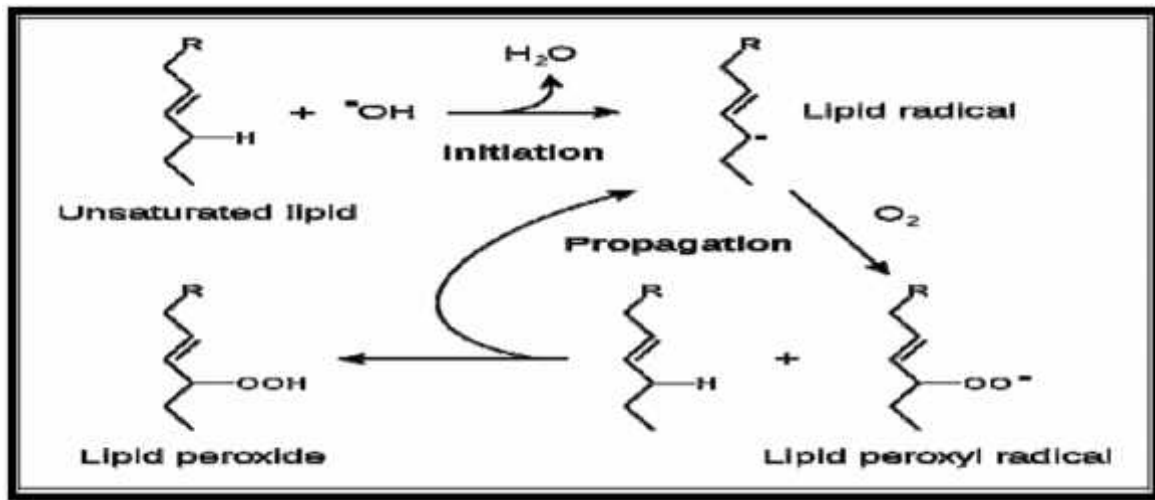


Figure 10: Mécanisme de la peroxydation lipidique (Tim., 2009).

### Σ Lipoprotéines

Les lipoprotéines de faible densité sont susceptibles d'être oxydées par les ROS qui provoquent un changement dans leur structure conduisant à la formation des aldéhydes (MDA et HNE) (Nicolosi et al., 1999).

#### II-1-5-2-Oxydation des protéines

Les protéines sont aussi des cibles pour les ROS en particulier certains acides aminés comme la cystéine, la méthionine et la tyrosine (Tratner., 2003).

La modification des structures primaire, secondaire et tertiaire des protéines par les ROS est à la base de la formation de dérivés protéiques carbonylés (Pincemail J., 2006) et la perte de groupes sulfhydryl critiques (Kehrer., 1993).

#### II-1-5-3-Oxydation de l'AND

Les bases nucléiques sont susceptibles d'être directement oxydées par les ROS, conduisant à la formation de 8-oxo-guanine, à l'origine de mutations géniques (Barouki., 2006) pouvant conduire au développement du cancer (Beckman et Ames., 1997). Encore, Les aldéhydes issus de la peroxydation lipidique (4- HNE et l'MDA) sont des agents carcinogènes via la formation des adduits avec les bases nucléiques (Feng et al., 2004).

#### II-1-5-4-Oxydation des glucides

L'oxydation du glucose conduit à la formation de différents intermédiaires réactifs, dont les produits terminaux de la glycation protéique, les AGE (Advanced Glycosylation End Products) s'accumulent au niveau des protéines à durée de vie longue, entraînant notamment

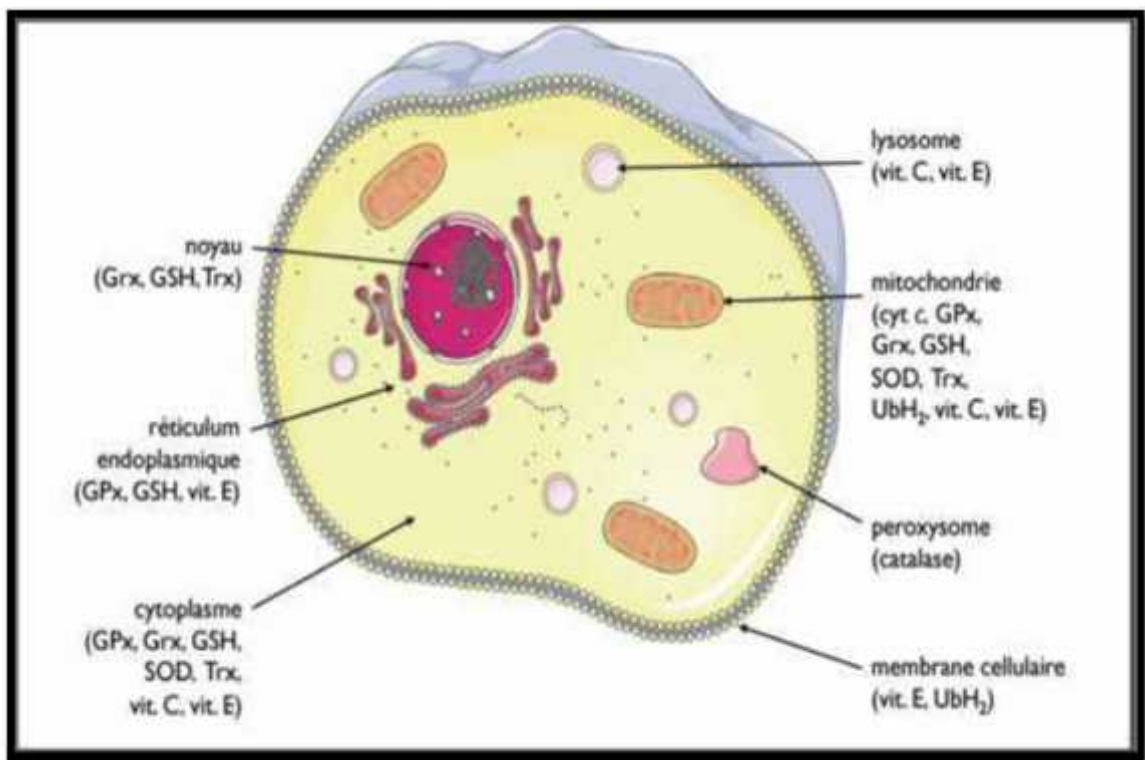
une perte d'élasticité tissulaire au niveau des vaisseaux sanguins et du cristallin (Levine., 2000).

## II-2- Antioxydants

Le corps humain subit les effets du stress oxydatif tout au long de sa vie. C'est pourquoi il a dû évoluer et se créer une barrière de défense naturelle contre les radicaux libres (Gbadegesin et al., 2014). Les cellules possèdent des mécanismes de défense endogènes enzymatiques et non enzymatiques qui, de manière générale, suffisent à renverser le stress oxydant, résultant du métabolisme aérobie, appelés antioxydants (Wassmann et al., 2004).

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui est capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (Comhair et Erzurum., 2002 ; Droge., 2002 ; Mates et al., 1999).

Nous considérons d'une part les molécules non enzymatiques apportées par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, les polyphénols, ubiquinone, flavonoïdes et les oligo-éléments (comme le Zn ou le Se). D'autre part, un système enzymatique endogène détoxifiant composé des superoxyde-dismutases (SOD), des catalases (CAT), des glutathion peroxydases (GPX) etc...et aussi de substances endogènes comme le glutathion (GSH) (voir Figure 11) (Ham et Liebler., 1995).

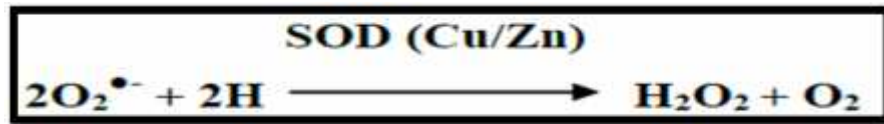


**Figure 11:** Distribution des antioxydants dans la cellule (Ham et Liebler., 1995).

## II-2-1- Antioxydants enzymatiques

### II-2-1-1-Superoxyde dismutases (SOD)

Sont métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion super-oxyde  $O_2^{\bullet-}$  par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène (Fridovich., 1995).



Trois formes de SOD existent chez les mammifères: une forme extracellulaire (Ec-SOD), une forme mitochondriale utilisant le manganèse comme cofacteur (Mn-SOD), et une forme cytosolique utilisant le cuivre et le zinc comme cofacteurs (Cu/Zn-SOD) (voir Figure 12) (Fridovich., 1995).

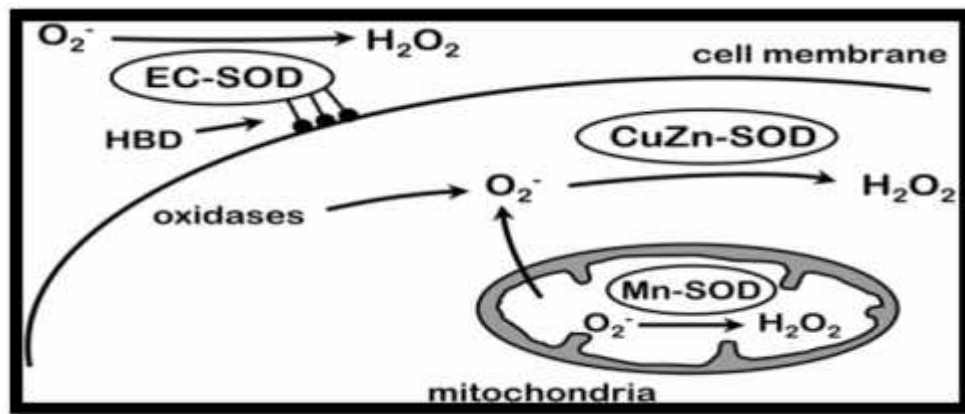
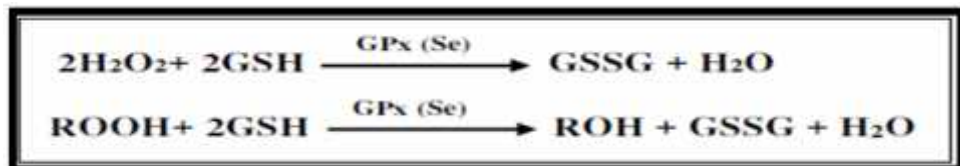


Figure 12: Les trois types de la SOD (Stevnsner et al., 2002).

### II-2-1-2-Glutathion peroxydase (GPx)

C'est la deuxième ligne de défense enzymatique, empêche la formation des radicaux libres, chez les mammifères. C'est une enzyme à sélénium présente dans le cytosol et la mitochondrie. Elle peut réduire d'une part l' $H_2O_2$  en  $H_2O$  et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcool (ROH) (Favier., 2003 ; Fontaine., 2007).



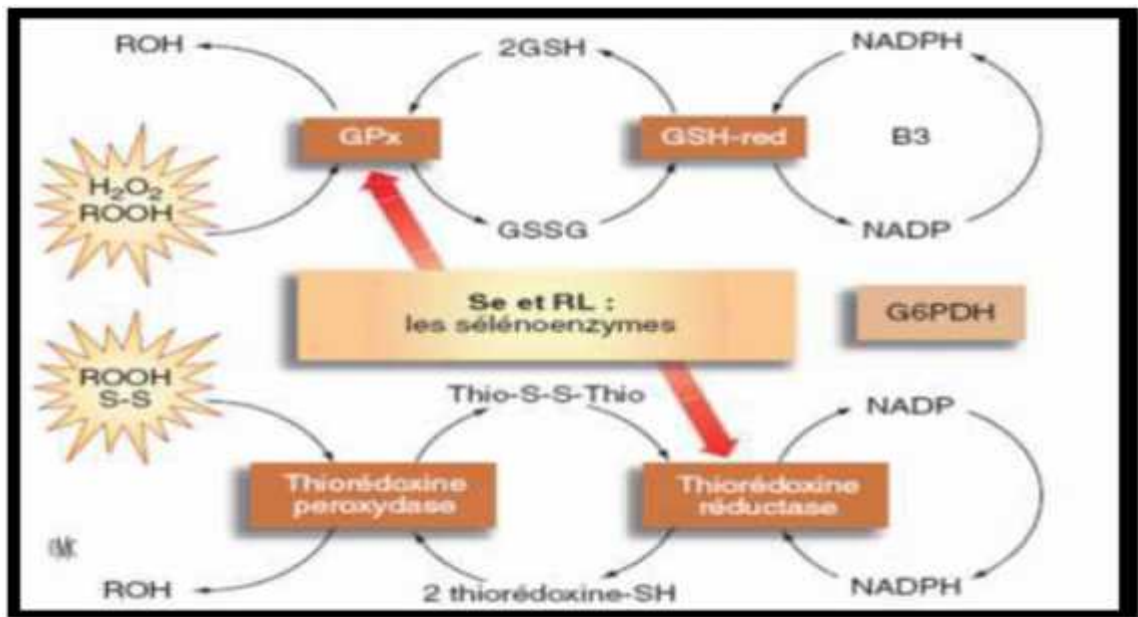
### II-2-1-3-Catalase (CAT)

Est une enzyme capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. Avec le fer comme cofacteur, la catalase est essentiellement présente dans les peroxysomes hépatiques, mais aussi dans les hématies et les mitochondries de cellules cardiaques (Putnam et al., 2000).



#### II-2-1-4-Glutathion réductase (GRase)

La glutathion réductase, quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG, et elle est couplée à l'oxydation du glucose-6 phosphate en 6-phospho gluconate source de NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons. En effet, la concentration cellulaire en glutathion étant limitée, il est nécessaire de le réduire constamment pour que la GSH-Px maintienne sa fonction (voir figure 13) (Garait., 2006).



**Figure 13:** Interaction entre les sélénoprotéines et autres enzymes antioxydantes pour l'élimination des radicaux libres (Roussel et Hininger., 2009).

#### II-2-1-5-Glutathion S-transférase (GST)

Réduit les hydroperoxydes en alcools, mais ne réduit pas l' $\text{H}_2\text{O}_2$  (Garait., 2006).



#### II-2-2- Antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques, sont des micronutriments exogènes apportés par l'alimentation ou des constituants endogènes. On distingue les antioxydants hydrosolubles comme le glutathion, l'acide ascorbique (vitamine C), l'acide urique, l'albumine et les antioxydants liposolubles: l'alpha tocophérol (vitamine E), l'ubiquinone (CoQ10), les caroténoïdes (Ballatori et al., 2009) (voir Tableau 05).

Tableau 05: Propriétés antioxydantes de certains composés.

| Antioxydant      | Activité antioxydante                                                                                                                                                                                          |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| La vitamine E    | prévention de l'oxydation des LDL ( <b>Nicolosis et al., 1999</b> ) l'athérosclérose et d'autres maladies cardiovasculaires ( <b>Thomas et Stocker., 1999; Vivekananthan et al., 2003</b> ).                   |
| La vitamine C    | recyclage de la vitamine E et le glutathion ( <b>Baskin et Salem., 1994</b> ).                                                                                                                                 |
| L'acide lipoïque | Inhibiteur de la glycooxydation ( <b>Cillard et Cillard., 2006</b> ), prévention de la lipodystrophie et la neuropathie diabétique par les ROS ( <b>Schmitt et al., 2006</b> ).                                |
| L'acide urique   | Piégeur puissant des radicaux: $O_2^{\cdot -}$ , $OH^{\cdot}$ , $RO_2^{\cdot}$ ( <b>Durackova et al., 2008</b> ).                                                                                              |
| Le selenium      | Nécessaire à l'activité de nombreuses sélénoprotéines anti-oxydantes: GPx, TRX...etc ( <b>Baskin et Salem., 1994</b> ).                                                                                        |
| Co enzyme Q      | Piégeur puissant des radicaux superoxyde et inhibiteur de la peroxydation lipidique ( <b>Kehrer., 1993</b> ).                                                                                                  |
| Le glutathione   | Participant à l'activité des enzymes antioxydantes.<br>Capture des espèces radicalaires ( <b>Durackova et al., 2008; Beaudeux et Dominique., 2005</b> ).<br>$GSH + R^{\cdot} \rightarrow GS^{\cdot} + RH$      |
| Le zinc          | La prévention des effets toxiques dus aux radicaux libres est primordiale.<br>le maintien de la SOD qui est un piègeur capital des ions superoxydes ( <b>Baskin et Salem., 1994</b> ).                         |
| La bilirubine    | Protection des acides gras libres et de l'albumine contre l'attaque radicalaire ( <b>Beaudeux et Dominique., 2005</b> ).                                                                                       |
| B-carotènes      | Contrôlent efficacement la génération de radicaux libres notamment en captant l'oxygène singulet ( <b>Beaudeux et Dominique., 2005</b> ):<br>$O_2^1 + \text{B-carotènes} \rightarrow \text{B-carotènes} + O_2$ |

# ***CHAPITRE III***

*Quercétine*

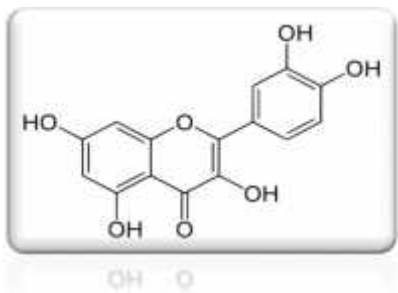
### III-1-Définition de la quercétine

La quercétine est un flavonoïde alimentaire important présent dans plusieurs fruits et légumes (Sashindran *et al.*, 2015). Elle est connue pour être une molécule antiinflammatoire, anticancéreuse, antioxydante et neuroprotecteur contre les dommages de stress oxydatif par l'élimination des actions délétères des radicaux libres auprès de structures cellulaires dont l'ADN et les membranes phospholipidiques et par leur capacité à moduler intracellulaire des signaux favorisant la survie cellulaire (Leclerc *et al.*, 2012 ; Godoy *et al.*, 2016 ; Turner *et al.*, 2016).

### III-2-Propriétés de la quercétine

Le tableau 06 présente les principales caractéristiques physico-chimiques et biologiques de la quercétine.

**Tableau 06:** Principales caractéristiques de la quercétine (Leclerc, 2012; Godoy *et al.*, 2016).

|                                                       |                                                                                                                      |
|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Nom et Formule chimique</b>                        | 3,3',4',5,7-pentahydroxy-2-phénylchromén-4-one (C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub> )                     |
| <b>Structure</b>                                      |                                   |
| <b>Propriétés Physicochimiques</b>                    | Poudre blanche peu hydrosoluble (3 à 4 g/L selon pH) et non volatile (tension de vapeur < 1 µPa à 25°C).             |
| <b>Classement réglementaire</b>                       | T : Directive 67/548/EEC.                                                                                            |
| <b>Persistance d'action</b>                           | Demi-vie sur le sol comprise entre 4 à 6 <b>jours</b> . <b>Délai d'emploi</b> avant récolte selon le type de culture |
| <b>Teneurs max en résidus dans et sur les denrées</b> | 0,03 (Thé noir) à 1800 (Câpre) mg/kg selon le type de culture                                                        |
| <b>DL50</b>                                           | 161 mg/kg/j (oral chez les rats)                                                                                     |
| <b>Organes cibles</b>                                 | SNC : ataxie et trémulations. Foie : hypertrophie lobulaire.                                                         |
| <b>Génotoxicité</b>                                   | Résultats équivoques sur tests in vitro, négatifs sur tests in vivo.                                                 |
| <b>Reprotoxicité</b>                                  | Pas d'effet tératogène ni fœtotoxique (rat, lapin)                                                                   |

### III-3-Classification et sources de quercétine

On trouve la quercétine (QR) dans la catégorie des flavonols. Elle est a comme particularité structurale posséder des groupes hydroxyles (OH) aux positions 3, 5, 7, 3' et 4'.

La QR se trouve le plus couramment dans la nature sous une forme glycosylée (**Guillaume et al., 2010 ; Leclerc., 2012**). Elle se trouve en plus grande quantité dans certains aliments (tableau 07). Sa teneur peut varier fortement selon des facteurs génétiques ou physiologiques liés à la plante (**Bouhaddouda., 2016**).

**Tableau 07:** Teneur en équivalent quercétine de quelques fruits et légumes (**Leclerc., 2012**).

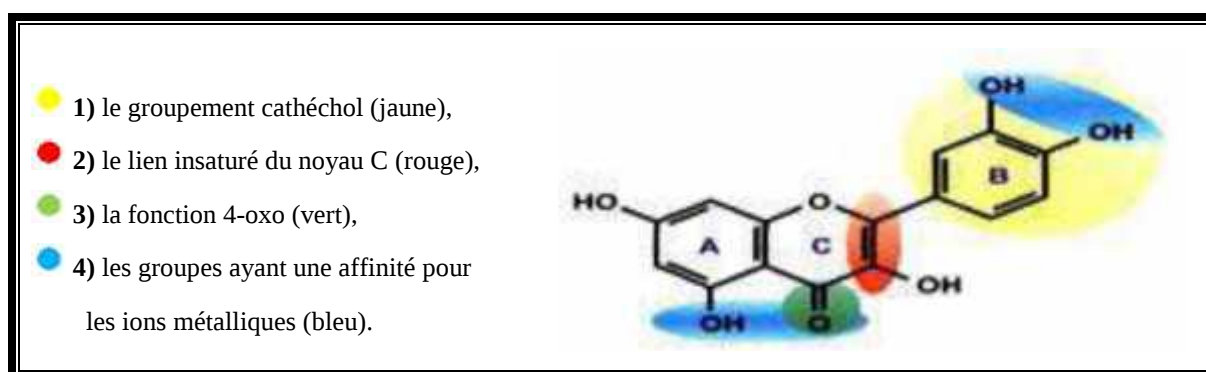
| Fruit ou légume | Quantité (mg/100g) |
|-----------------|--------------------|
| Oignon          | 3,5                |
| Pomme           | 4 - 14             |
| Tomate          | 1,1                |
| Canneberge      | 13                 |
| Olive           | 6 - 12,2           |
| Raisin          | 3,6                |

#### III-4-Mode d'action de la quercétine

La quercétine peut d'abord piéger directement un radical libre et réagir avec lui pour le stabiliser, selon l'équation suivante:



Où le **R'** est le radical libre et le **RH** est le radical libre oxygéné. Ici, c'est le groupement hydroxyle (OH) de la quercétine qui réagit avec le radical libre ( $\text{O}^\circ$ ). Il en résulte une oxydation de la quercétine par le radical libre qui lui devient inactif (**Nijveldt et al., 2001**). Ce sont les deux hydroxyles du groupement catéchol (Figure 14) ainsi que l'accès au paramètre de l'insaturation en 2,3, conjugué à la fonction 4-oxo, du noyau C qui sont responsables de la capacité antioxydante de ce flavonoïde (**Bors et al., 2001**). Une manière de palier à ce manque de solubilité consiste à conjuguer la quercétine pour former un complexe capable de rester en suspension dans le milieu aqueux. Elle est aussi capable d'associer avec certaines molécules solubles comme la cyclodextrine (**Ficarra et al., 2002 ; Calabrô et al., 2004**).



**Figure 14:** Structure de la quercétine et leurs caractéristiques (**Williams et al., 2004**).

### III-5-Absorption et la Biodisponibilité de la quercétine

Dans les aliments, quercétine se produit principalement sous une forme délimitée avec du sucre, des acides phénoliques, des alcools... etc. Le contenu et la forme de tous les dérivés de la quercétine dans les aliments est importante pour leur biodisponibilité (**Williams et al., 2004**). Après ingestion, dérivés de la quercétine sont hydrolysée dans le tube digestif et ensuite absorbés. Après avoir été absorbé dans l'intestin grêle, la quercétine est transportée vers le foie par la circulation portale, où il subit un métabolisme de premier passage. Ensuite, elle est distribuée avec ses métabolites dans différents tissus du corps. Elle est fortement liée à l'albumine dans le plasma avec un niveau plasmatique maximale atteint en 0,7 h à 7,0 heures après son ingestion. et un demi-vie d'élimination d'environ 25 heures (**Young et al., 1999**).

### III-6-Toxicité de la quercétine

A plus fortes doses ( $>40 \mu\text{M}$ ), la quercétine aurait un effet pro-oxydant en favorisant la formation de radicaux libres (**Sakao et al., 2009**). Ce stress oxydatif entraînerait des dommages l'ADN irréversibles, conduisant au déclenchement de l'apoptose (**Manouchehri et al., 2016**). La quercétine utilisée à de telles concentrations aurait donc un effet thérapeutique, et préventif (**Turner et al., 2016**). De façon surprenante, cet effet proapoptotique de la quercétine cible spécifiquement les cellules malignes en épargnant les cellules saines. L'origine de cette spécificité n'est pas encore clarifiée (**Guillaume et al., 2010**).

### III-7-Importance pharmacologique de la quercétine

La quercétine est reconnue pour ses propriétés d'antioxydant. Les propriétés antioxydants des composés phénoliques sont liées par leur capacité à transférer un atome d'hydrogène ou un électron, ainsi la chélation d'ions métalliques et l'inhibition de l'activité des oxydases. La quercétine est aussi capable de chélater des métaux de transitions, comme le fer. On sait que le fer est impliqué dans la réaction de type Fenton avec le  $\text{H}_2\text{O}_2$  pour produire les radicaux libres la section. Ainsi, la capacité de la quercétine à capter le fer permet de réduire la formation de radicaux libres et il semble que le groupe cathécol de la quercétine participerait à la chélation des métaux (**Brown et al., 1998**). De plus, la quercétine est capable d'inhiber la peroxydation lipidique (**Terao et Piskula., 1999**). Ainsi, la quercétine est un neuroprotecteur, elle a des effets bénéfiques contre les maladies neuro-dégénératives. Aussi, elle est un hépato-protecteur, et anticancéreuse, et joue un rôle dans la prévention des maladies cardiovasculaires (**Lekic et al., 2013 ; Di Santo et al., 2003**).

## **DEUXIÈME PARTIE**

### *Etude expérimentale*

# ***CHAPITRE I***

## ***Matériels et Méthodes***

**I-1- Matériels****I-1-1- Animaux de laboratoire**

Les animaux utilisés dans notre étude réalisées in vivo sont des rattes femelles *Wistar Albinos* au nombre de 30 rattes, âgés de 6 à 8 semaines dont le poids varie de 140 à 197g. elles proviennent de l'institut Pasteur d'Alger, et élevées à l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de vie de l'université Echahid Hamma Lakhdar d'El-oued.

**I-1-2- Produits chimiques et réactifs**

Nanoparticules d'oxyde de fer (poudre), Quercétine (poudre), Chlorure de sodium (NaCl), le 1-butanol, Méthanol, Bleu de Comassie, Tris,  $H_2SO_4$ , EDTA, Sucrose,  $AlCl_3$ -ethanol, Chlorure d'hydrogène (HCl), acide sulfasalicylique (SSA), acide trichloroacétique (TCA), acide thiobarbiturique (TBA), Butylhydroxytoluène (BHT), 34eroxide d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), Tampon phosphate ( $KH_2PO_4$ ), acide salicylique, 5,5'dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB), GSH, 1-chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB). Kit de réactif de l'urée, Kit de réactif de créatinine, Kit de réactif l'acide urique, Kit de réactif de bilirubine totale, Kit de réactif de Fer sérique, Kit de réactif de l'aspartate aminotransférase, Kit de réactif de l'alanine aminotransférase, Kit de réactif de PAL.

**I-2- Méthode****I-2-1-Protocole experimental****I-2-1-1-Conditions d'élevage**

les rattes ont été soumis à une période d'adaptation de 15 jours, aux conditions de l'animalerie; à une température ambiante ( $T^\circ$  de chambre) avec un cycle naturel de lumière et d'obscurité (une photopériode de 12 h/12 h). Étaient mis dans des cages plastiques, celles-ci sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois, Les cages sont nettoyées et la litière est changée une fois par deux jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Ces animaux ont un accès libre de nourriture par un régime standard et d'eau était remplie dans des biberons.

**I-2-1-2-Répartition et traitement des rattes**

Les rattes sont répartissent en six (06) groupes égaux gardés dans les mêmes conditions à raison de cinq (05) rattes par groupe, il s'agit:

**Groupe T:** 5 rattes saines (**Témoin**) reçoit de l'eau distillée par gavage 0.5ml/jour pendant 21jours.

**Groupe (D1):** 5 ratte, recevant chaque jour 100 µg/kg des nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques dissous dans l'eau distillé (1ml/jour) par gavage pendant 21 jours.

**Groupe (D2):** 5 ratte, recevant chaque jour 150 µg/kg des nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques dissous dans l'eau distillé (1ml/jour) par gavage pendant 21 jours.

**Groupe (TQ):** 5 ratte saine (**Témoin de quercétine**) reçoit de la quercétine avec un dose de 10mg/kg par gavage 0,5ml/jour pendant 21jours.

**Groupe (D1+Q):** 5 ratte, recevant chaque jour 100µg/kg des nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques dissous dans l'eau distillé (1ml/jour) par gavage pendant 21 jours et traité par 10mg/kg de quercétine (Q) (0.5ml/jour) pendant 15 jours.

**Groupe (D2+Q):** 5 ratte, recevant chaque jour 150µg/kg des nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques dissous dans l'eau distillé (1ml/jour) par gavage pendant 21 jours et traité par 10mg/kg de quercétine (Q) (0.5ml/jour) pendant 15 jours.

### **I-2-1-3-Sacrifices et prélèvement du sang et des organes**

Après 16h de jeûne, Les ratte sont anesthésiées par chloroforme (94%) et sont sacrifiés par décapitation. Le prélèvement sanguin s'effectue le moment de sacrifice des ratte dans des tubes EDTA pour FNS et des tubes secs pour les analyses biochimiques. Après, centrifugation du sang à 3000 tours/minute pendant 10 minutes. Le sérum est utilisé pour le dosage des paramètres biochimiques (glycémie, l'urée, acide urique, créatinine, bilirubine totale, fer sérique, phosphatase alcalin, TGO, TGP). Après la dissection, le foie, le cerveau et les reins sont soigneusement prélevés, rincés dans l'eau physiologique, séchés et ensuite pesés. Une partie des organes est utilisé pour la préparation des suspensions mitochondriales et l'autre est conservé dans formolaldéhyde (10%) pour faire des coupes histologique. Les suspensions mitochondriales des organes sont utilisés pour le dosage des paramètres du stress oxydatif (protéines, malondialdéhyde (MDA), glutathion (GSH), catalase (CAT), glutathion-S-transférase (GST), et glutathion peroxydase (GPx)).

**I-2-1-4-Préparation des suspensions mitochondriales**

L'extraction des mitochondries se fait au niveau de la faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie de l'université de Larbi Tebessi –Tebessa- selon la méthode décrite par **(Rustin et al ; 1994)** à l'aide de centrifugeuse réfrigérée de type SIGMA 3-16K, il s'agit d'une purification par centrifugation différentielle. Brièvement, après décapitation des ratte, le cerveau, les reins et le foie sont rapidement prélevés et immerger dans du tampon TSE [10mM tris, 250mM sucrose, 0,1mM EDTA, pH 7,2 à 4C°]. Les tissus sont coupés finement et potérisés dans 3,5ml de TSE, ce qui permet la destruction des cellules et la libération des mitochondries. L'homogénat récupéré est centrifugé à 10000t/min pendant 10min permettant ainsi l'élimination des gros débris cellulaires. Le culot récupéré est centrifugé une deuxième fois à 10000t/min pendant 10min. Les surnageant issus des deux centrifugations sont récupérés et centrifugés à 14000t/min à 4C° pendant 10min. Le culot obtenu est resuspendu dans 1ml du TSE et centrifugé à 14000t/mn pendant 10min. Le culot issu de cette dernière centrifugation est resuspendu dans 1ml du tampon TS (250mM sucrose, 50mM tris, pH 7,2 à 20 C°) et centrifugé pendant 10min à 14000t/mn. Le culot final constitué des mitochondries, et est récupéré dans 500µl de tampon TS pour obtenir la suspension mitochondriale fraîche dont une fraction servira directement dans l'évaluation de l'intégrité fonctionnelle des mitochondries, le reste est conservé à -80° C pour la suite des dosages.

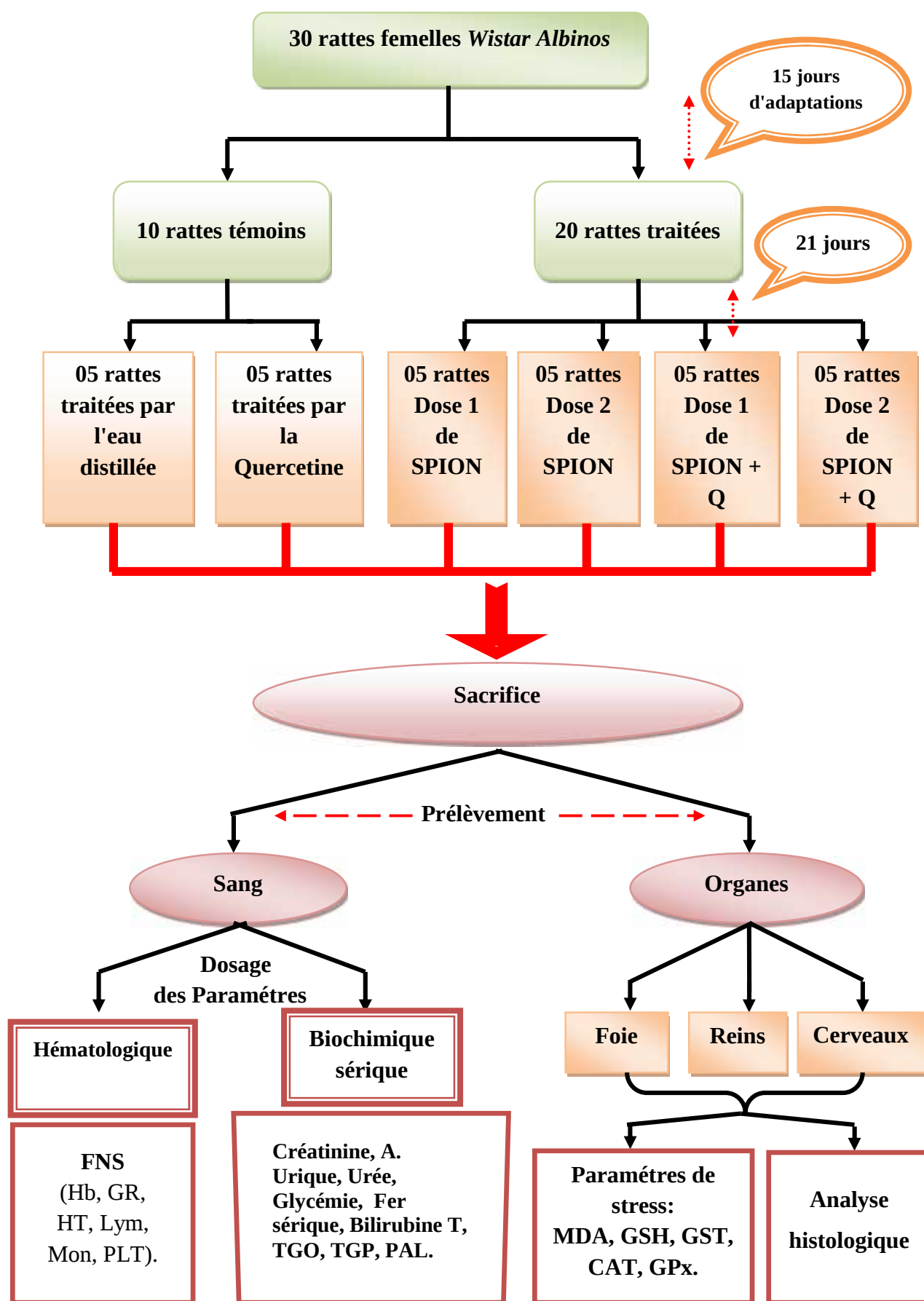


Figure 15: Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

### I-2-2-Paramètres d'analysés et méthodes

#### I-2-2-1-Méthode de dosage des paramètres hématologiques

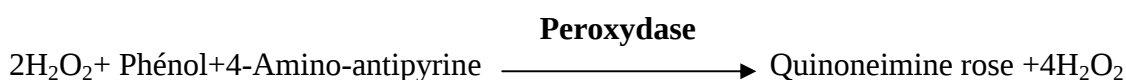
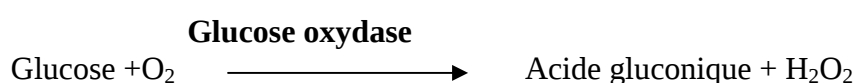
Le dosage des paramètres hématologique se fait par un analyseur hématologique de type Mindray-BC-2800. On a basé sur la mesure des paramètres suivants: globules rouges, hémoglobine, Lymphocyte, Monocyte, Hématocrite et plaquettes.

#### I-2-2-2-Méthodes de dosage des paramétrés biochimiques sérique

##### 1- Dosage de la glycémie

###### • Principe

La glycémie est la détermination enzymatique du glucose se fait selon les réactions suivantes (SHEN., 2009).



###### ❖ Mode opératoire

- Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif
- Doser selon le tableau (08) ci-après. En suite lire la DO après une incubation de 10 minutes à 37°C ou 30 mn à 20-25 °C la coloration est stable 30 minutes.

**Tableau 08 : Mode opératoire de dosage de glycémie**

|                    | Blanc | Standard | Echantillon |
|--------------------|-------|----------|-------------|
| Standard           | --    | 10µl     | --          |
| Echantillon        | --    | --       | 10µl        |
| Réactif de travail | 1ml   | 1ml      | 1ml         |

##### 2- Méthode de dosage de fer sérique

###### • Principe

Le dosage de fer sérique se fait selon une méthode colorimétrique. A pH 4,8 le fer Ferrique (Fe<sup>+++</sup>) est libéré instantanément de la transferrine. L'acide ascorbique le réduit en fer ferreux (Fe<sup>++</sup>). La ferrozine forme avec le fer ferreux, un complexe coloré soluble, mesurable de 560 à 580 nm. La présence de thiourée permet d'éliminer l'interférence des ions cuivreux (Williams., 1977).

### 3- Méthode de dosage de bilirubine totale

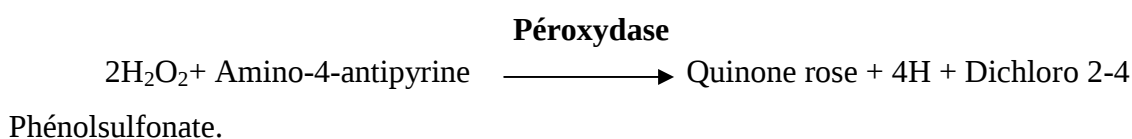
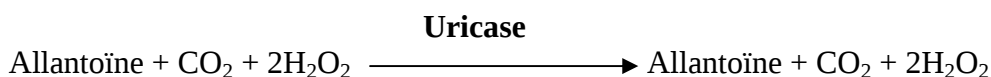
- **Principe**

La bilirubine totale a été déterminée suivant la méthode d'acide sulfanilique. Réaction entre la bilirubine et l'acide sulfanilique diazoté qui conduit à un composé, l'azobilirubine, coloré en milieu très acide ou basique. Principe de Malloy-Evelyn modifié par Walters et al : en solution aqueuse, seule la BD réagit. Pour doser la BT il est nécessaire de rompre la liaison entre la bilirubine indirecte et l'albumine. Cette étape est réalisée par l'addition de diméthyl sulfoxyde (DMSO). L'absorbance de l'azobilirubine ainsi produite est proportionnelle à la concentration en bilirubine et est mesurée à 550 nm (530-580) (**Walters & Gerarde., 1970**).

### 4- Méthode de dosage d'acide urique

- **Principe**

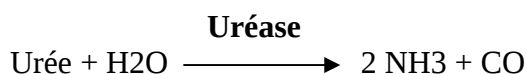
Le dosage d'acide urique est par l'utilisation de test colorimétrique Uricase-PAP. L'acide urique est dosé selon les réactions suivantes (**Barham & Trinder., 1972**):



### 5- Méthode de dosage d'urée sérique

- **Principe**

Le dosage d'urée sérique se fait selon la méthode de Berthelot modifiée. L'urée est dosée en cinétique selon la réaction suivante:



Les ions ammonium, en présence de salicylate et d'hypochlorite de sodium réagissent en formant un composé de couleur verte (Dicarboxylindophenol) dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en urée (**Mac Key & Rackeyll., 1927**).

### 6- Méthode de dosage de créatinine

- **Principe**

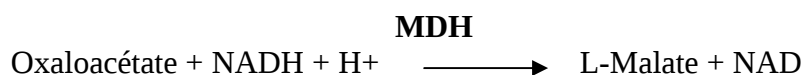
La créatinine a été déterminée suivant une méthode cinétique colorimétrique sans déprotéinisation. La créatinine forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide

picrique. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de créatinine (Larsen., 1972).

### 7- Méthode de dosage de l'activité de l'aspartate aminotransférase (AST)

#### • Principe

Le dosage de l'activité de l'Aspartate aminotransférase (AST ou TGO) est selon une méthode développée par Karmen et optimisée par Henry (Conforme aux recommandations de l'IFCC). Le schéma réactionnel est le suivant:



La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD et proportionnelle à l'activité AST dans le spécimen, est mesurée à 340 nm. L'absence de P5P contribue à une forte amélioration de la stabilité du réactif reconstitué (Henry., 1960).

### 8- Méthode de dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALT)

#### • Principe

Le dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALT ou TGP), est selon une méthode développée par Wroblewski et La Due, et optimisée par Henry et Bergmeyer (conforme aux recommandations de l'IFCC). Le schéma réactionnel est le suivant:



La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD<sup>+</sup> et proportionnelle à l'activité ALT dans le spécimen, est mesurée à 340 nm. L'absence de P5P contribue à une forte amélioration de la stabilité du réactif reconstitué (Bergmeyer., 1978).

### 9- Méthode de dosage de l'activité de la phosphatase alcaline (PAL)

#### • Principe

L'activité de la phosphatase alcaline a été déterminée suivant une méthode cinétique p-Nitrophénylphosphate DGKC. La phosphatase alcaline (PAL) catalyse l'hydrolyse du p-nitrophénylphosphate (pNPP) à pH 10,4 libérant du p-nitrophénole et du phosphate en fonction de la réaction suivante:



La vitesse de formation du p-Nitrophénole, déterminée par photométrie, est proportionnelle à la concentration catalytique de phosphatase alcaline dans l'échantillon testé (Rosalki., 1993).

### I-2-2-3-Méthode de dosage des paramètres du stress oxydatif

#### 1- Dosage des protéines tissulaires

##### • Principe

La concentration des protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)**. Les protéines réagissent avec un réactif coloré contenant de l'acide ortho-phosphorique, de l'éthanol ainsi que le bleu de coomassie (BBC). Ce réactif réagit avec le groupement (NH<sub>2</sub>) des protéines. L'intensité de la couleur reflète la concentration des protéines (**Bradford, 1976**).

##### ❖ Protocole expérimentale

- Prélever 100µl de l'homogénat.
- Ajouter 5 ml du réactif coloré (BBC).
- Agiter et laisser 5 min pour la stabilisation de couleur.
- Mesurer l'absorbance optique à 595nm contre un blanc contenant l'eau distillée à la place de l'homogénat. La densité optique obtenue est rapportée sur la courbe d'étalonnage préalablement tracé (0.2 → 1mg/ml de sérum albumine de bovin) (Courbe d'étalonnage: voir annexe).

#### 2- Dosage de glutathion (GSH)

##### • Principe

Le dosage du glutathion est réalisé selon le procédé de **Weckbeker et Cory (1988)**. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5, 5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Elleman) par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois préparé, l'homogénat doit subir une déprotéinisation (par l'acide sulfosalicylique 0.25%) afin de garder uniquement les groupements-SH spécifique du glutathion (**weckbeker et Cory, 1988**).

##### ❖ Protocole expérimentale

- Une fois préparé, l'homogénat est déprotéinisé; 0.8 ml de ce dernier auquel on ajoute 0.2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique à 0.25%.
- Agiter le mélange et laisser pendant 15 min dans un bain de glace.
- Centrifugé pendant 5min à 1000 t/min.

- Prélever 0.5 ml du surnageant.
- Ajouter 1 ml de tampon tris-HCL+EDTA (0.02M), PH=9.6.
- Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01M dissous dans le méthanol absolu.
- Laisser pendant 5min à température ambiante. puis lecture de la DO à  $\lambda = 412$  nm.

#### ✓ Calcul

La concentration en GSH est obtenue par la formule suivante:

$$[\text{GSH}] = \frac{DO \times 1 \times 1.525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \text{ mg de prt}} \text{ nM GSH/mg prt.}$$

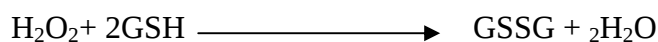
- **DO:** Densité optique;
- **1:** Volume total des solutions utilisées de la déprotéinisation (0.8 ml homogénat + 0.2ml SSA);
- **1.525:** Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant + 1 ml Tris –EDTA + 0.025 ml DTNB);
- **13100:** Coefficient d'absorbance (contenant le groupement –SH à 412 nm);
- **0.8:** Volume de l'homogénat après déprotéinisation trouvé dans un 1 ml;
- **0.5:** Volume du surnageant trouvé dans un 1.525 ml.

On que la concentration de GSH est mesuré par apport à 1 mg de protéine. C'est pour cela ce dosage doit être accompagné par le dosage des protéines.

### 3- Glutathion peroxydase (GPx)

#### • Principe

L'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de **Flohe et Gunzler (1984)**. Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante (**Flohe et Gunzler, 1984**):



#### ❖ Protocole expérimentale

- Dans un tube sec, 0.2 ml de surnageant est additionnée à 0.4 ml de GSH à 0.1 mM (réaction enzymatique) + 0.2 ml de TBS ( Tris 50 mM, NaCl 150 mM, Ph 7.4).
- Incubation au bain marie à 25° C pendant 05 min puis addition de 0.2 ml d' $\text{H}_2\text{O}_2$  (1.3mM) pour initier la réaction.
- Incubation 10 min.
- Addition de 1ml de TCA 1% T pour arrêter la réaction.

- Le mélange se met dans la glace pendant 30 min. Centrifugation durant 10 min à 3000t/min. 0.48 ml de surnageant sont placés dans une cuve et additionnés de 2.2 ml de TBS + 0.32 ml de DTNB à 1mM.
- Mesure de la densité optique à 412 nm dans les 05 min.

#### ✓ Calcul

La détermination de l'activité de la GPx se fait de la façon suivante:

- Activité de GSH consommée/min/gr de protéine
- Blanc = 0.04 micro mole de GSH réduit ----- DO<sub>b</sub>.
- Extrait = 0.04 // // -----DO<sub>e</sub>.
- Donc la concentration de GSH réduit qui sera oxydée (disparue) = DO<sub>e</sub> – DO<sub>b</sub>

$$X = \frac{(DO_e - DO_b) \times 0.04}{DO_b} = \text{quantité de GSH réduite disparue (oxydée)}.$$

L'activité de la GPx = La quantité de GSH réduit disparue X  $\frac{5}{\text{la concentration de protéine}}$

#### 4- Glutathion-S- transférase (GST)

##### • Principe

La mesure de l'activité de la glutathion-S- transférase (GST) est déterminée selon la méthode de (Habig *et al.*, 1974). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-Chloro-2,4 di nitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion (GSH), la conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle ; 1-S-Glutathionyl 2-4 Di nitrobenzène (Habig *et al.*, 1974).

##### ❖ Protocole expérimentale

La valeur de la densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé elle-même liée à l'intensité de l'activité GST. Les échantillons sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (0.1 M, pH 6,5). L'homogénat est centrifugé à 1400 t/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes. Le dosage consiste à faire réagir 200 µl du surnageant avec 1.2 ml du mélange CDNB (1mM), GSH (5mM). La lecture des absorbances est effectuée pendant une minute et chaque 15 secondes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

#### ✓ Calcul

La concentration de la GST est obtenue par la formule suivante:

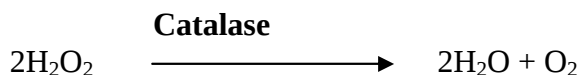
$$\text{GST (nmol GST /min/mg de protéine)} = \frac{(\text{DO échant} / \text{min} - \text{DO blanc} / \text{min})}{9.6 \times \text{mg de protéine}}$$

- **DO:** Densité optique de l'échantillon /min ;
- **DO/min blanc:** Densité optique du blanc /min ;
- **9.6:** Coefficient d'extinction du GSH-CDNB exprimé en mM. Cm.

### 5- Catalase (CAT)

#### • Principe

Les catalases sont présents dans un grand nombre de tissus. Ce sont des enzymes tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en éliminant les espèces réactives et en accélérant la réaction spontanée de l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) toxique pour la cellule en eau et en oxygène (**Aebi., 1984**).



L'activité de la catalase (CAT) est mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en faisant réagir dans 100 mM de tampon phosphate pendant 1 min à pH 7.4, 200 µl d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (500mM) sur 20 µl de l'homogénat, à une température d'incubation de 25°C. Les résultats ont été exprimés en µ moles d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par minute et par mg de protéines.

On note que:

- La lecture contre le blanc réactifs (Tampon phosphate).
- La quantité du surnageant doit être déterminée en fonction de la quantité de protéines qui doit être comprise entre 1 et 1,5 mg/ml, soit une quantité de 10 à 20 µl de solution dilué.
- L'activité décroît rapidement, il est important de mettre toujours le même temps de pipetage et le moment où on place la cuve au spectrophotomètre.
- La lecture de l'absorption se fait après 15 secondes de délai et durent 60 s de mesure.
- Le coefficient d'extinction d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> étant de 0,043 mM-1cm-1.

#### ✓ Calcul

L'activité enzymatique est calculée en termes d'unité internationale par minute et par gramme de protéine (UI/min/g de protéine), selon la formule:

$$\text{UI/g} = (2.3033/T) \times (\log A_1/A_2) / \text{g de protéine.}$$

- **A1 :** Absorbance à la première minute.

- **A2** : Absorbance à la deuxième minute.
- **T** : Intervalle de temps en minute.

## 6- Malondialdéhyde (MDA)

### • Principe

Le MDA peut être détecté par une réaction colorimétrique à l'acide thiobarbiturique (TBA). La détection du MDA issue de la dégradation des acides gras polyinsaturés à 3 ou 4 doubles liaisons peroxydées, constitue une méthode très sensible pour déterminer une lipopéroxydation in vitro. Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode de (**Esterbauer et al., 1992**).

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment (rose). Ce chromogène peut être donc mesuré par spectrophotométrie à 530 nm (**Esterbauer et al., 1992**).

### ❖ Protocole expérimentale

- Prélever 375µl de l'homogénat (surnageant).
- Ajouter 150 µl de la solution tampon TBS (pH7.4).
- Ajouter 375 µl de la solution TCA-BHT
- Vortexer et centrifuger à 1000 tour/min pendant 10min.
- Prélever 400 µl du surnageant.
- Ajouter 80 µl du HCL 0.6 M.
- Ajouter 320 µl de la solution tris-TBA (tris 26mM, TBA120mM).
- Mélanger et incubé au bain marie à une température de 80°C pendant 10 minutes.
- Lecture de la densité optique à  $\lambda=530$  nm.

### ✓ Calcul

La concentration du MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert ( $DO = E.C.L$ ):

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

- **C**: Concentration en nmoles /mg de protéines;
- **DO**: Densité optique lue à 530 nm;
- **$\epsilon$** : Coefficient d'extinction molaire du MDA =  $1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ;
- **L**: Longueur du trajet optique = 0.779 cm;

- **X:** Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml);
- **Fd:** Facteur de dilution :  $Fd = 0.2083$ .

#### I-2-2-4-Analyse histologique

L'analyse histologique a été réalisée au niveau d'une clinique privée de Touggourt. La technique utilisée est celle décrite par (**Houlot., 1984**) qui comporte les étapes suivantes; La fixation des échantillons dans le formol, puis mise de ces échantillons tissulaires dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides. Déshydratation et progressif les échantillons dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 95% et 100%). Inclusion et réalisation des blocs, Les pièces sont alors plongées dans des bains de paraffine liquide. Les tissus étant maintenu et imbibés de paraffine, viennent alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe. La réalisation des coupes minces de quelques microns est possible grâce au Microtomes. Ces coupes sont photographiées à l'aide d'un appareil photos liée à une loupe (*Eso Bx305F*).

#### I-2-2-5-Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne de cinq répétitions (moyen  $\pm$  écart type), et pour mieux visualiser en utilisant l'office Excel 2007 pour représentés ces résultats sous forme des graphiques et des histogrammes. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel MINITAB 13 Fr. La signification de différence entre les groupes témoin et les groupes traités est vérifiée en utilisant le test t «*Student*», et le résultat de comparaison comme suivant:

- $p > 0,05$  = la différence n'est pas significative,
- (\*,  $\alpha$ )  $0,05 > P > 0,01$  = la différence est significative,
- (\*\*,  $\beta$ )  $0,01 > P > 0,001$  = la différence est hautement significative,
- (\*\*\*,  $\gamma$ )  $P < 0,001$  = la différence est très hautement significative.

# ***CHAPITRE II***

## ***Résultats et Discussion***

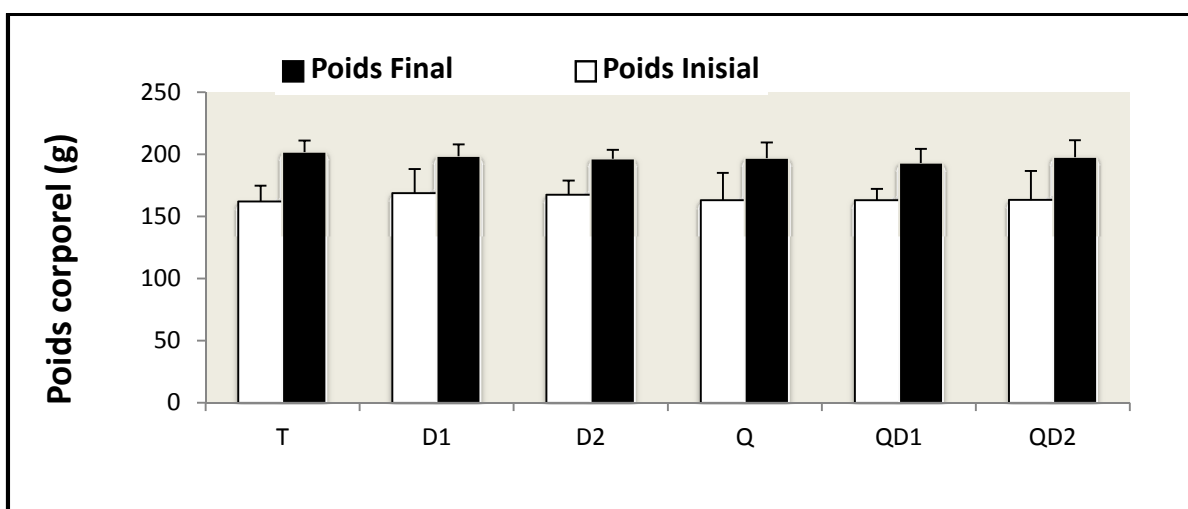
## II-1- Résultats

### II- 1-1- Effets des SPION et la quercétine sur les paramètres de la croissance globale des animaux

Les résultats de l'évaluation des paramètres de croissance en terme de poids corporel, le gain de poids et le poids relatif durant les 21 jours de traitement des différents groupes d'animaux par la dose de SPION et la quercétine sont illustrés par les figures (15- 17).

#### II- 1-1-1- Poids corporel

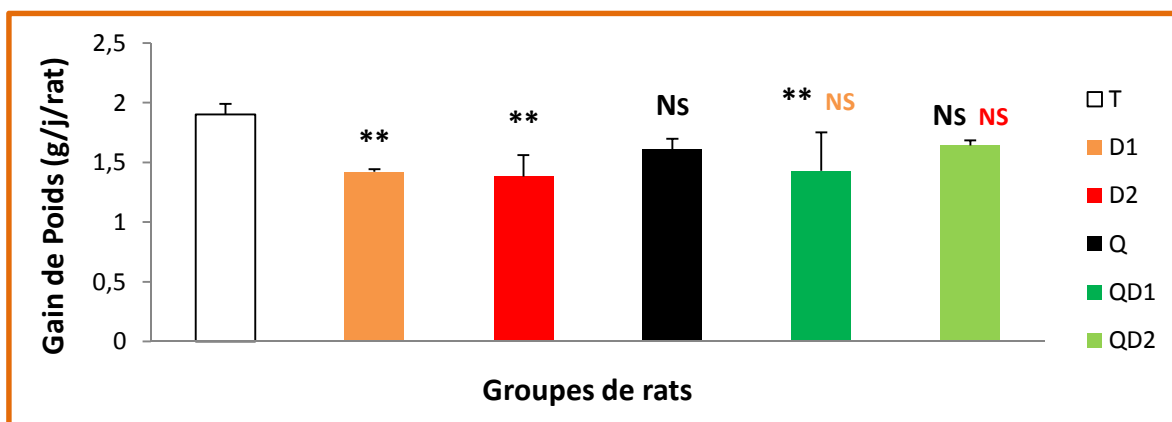
Les résultats de l'évaluation du poids corporel chez les différents groupes traités durant 21 jours par la dose de SPION et à la quercétine (Figure 15).



**Figure 16:** Poids corporel (PC) chez les rats témoins et traités: Différence entre poids initial et final

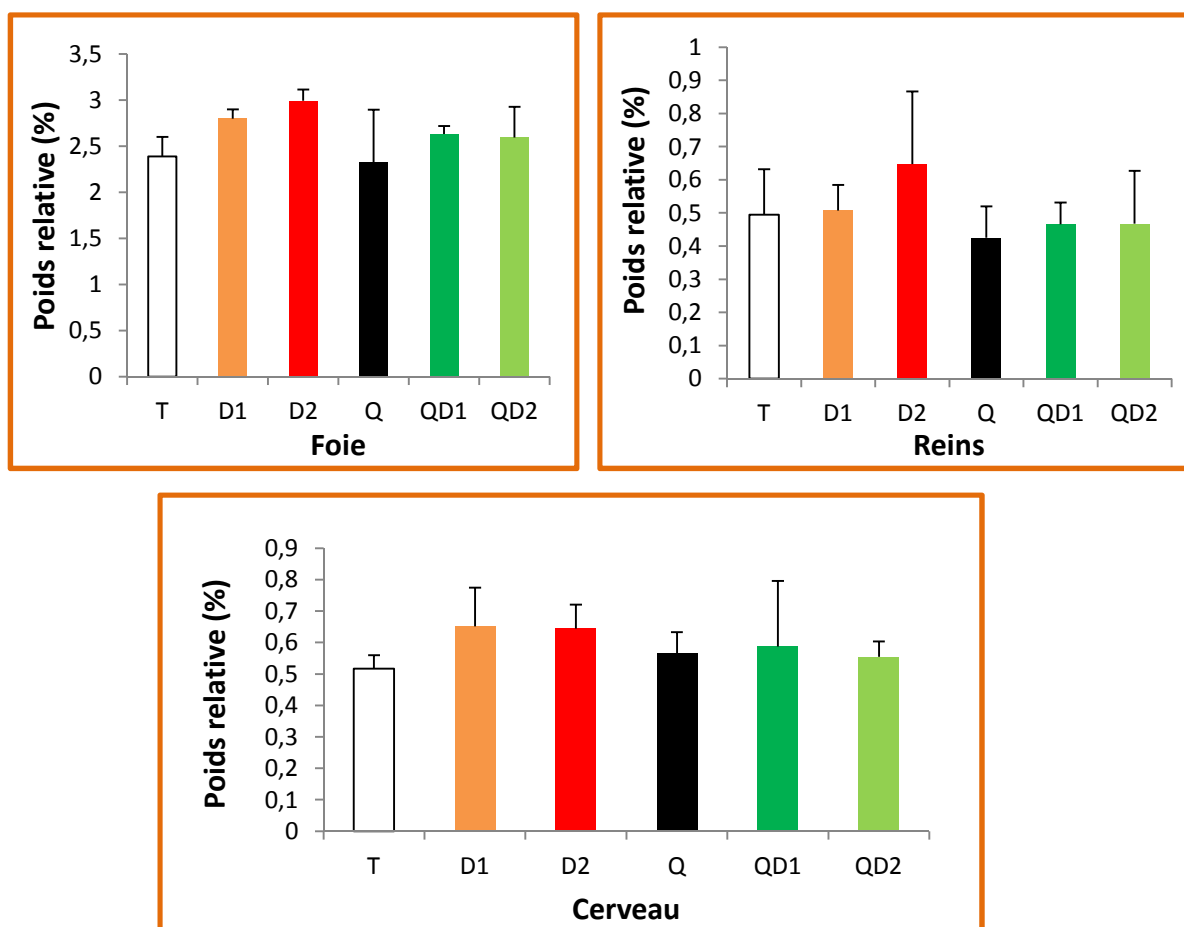
#### II-1-1-2-Gain de poids (GP)

Les résultats de l'évaluation du gain de poids chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement par la dose de SPION et la quercétine (Figure 16).



**Figure 17:** Gain de poids corporel (GP) chez les rats témoins et traités Comparaison avec groupe témoin (T): \*\*p < 0.01

## II-1-1-3- Poids relatif (PR)



**Figure 18:** Poids relatif des organes (foie, reins, cerveau) après 21 jours de traitement par la dose de SPION et la quercétine.

Les résultats obtenus suite à l'évaluation du PR montrent une augmentation non significative ( $P > 0,05$ ) du poids relatif des organes (foie, reins, cerveau) chez le groupe traité par la dose de SPION et diminution non significative de la quercétine.

## II-1-2-Effet de traitement par la quercétine sur des paramètres hématologiques, biochimiques et enzymatique chez les rattes contaminées par la Dose de SPION

### II-1-2-1-Étude des paramètres hématologiques

Les résultats obtenus suite à l'évaluation des paramètres hématologiques sont illustrés dans le (tableau 09).

**Tableau 09:** Taux d'hémoglobine, nombre des globules rouges, Hématocrite, Lymphocyte, Monocytes, et des Plaquettes chez le groupe témoin et les groupes traités.

|                           | Moy ± S.E.M  |                 |                |                            |                             |                             |
|---------------------------|--------------|-----------------|----------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| FNS                       | T            | D1              | D2             | Q                          | QD1                         | QD2                         |
| Hémoglo-bine (g/dl)       | 11,275±0,171 | 10,565±0,097*** | 9,105±0,263*** | 11,266±0,327 <sup>NS</sup> | 10,47±0,553 <sup>NSNS</sup> | 11,622±0,678 <sup>NSβ</sup> |
| Globules rouges (x103/μl) | 5,077±0,0435 | 5,382±0,088**   | 6,06±0,423*    | 5,372±0,232 <sup>NS</sup>  | 5,065±0,125 <sup>NSa</sup>  | 5,445±0,273 <sup>NSα</sup>  |
| Hématocrite (%)           | 35,7±0,658   | 34,1±0,424**    | 31,17±0,702**  | 35,15±0,465 <sup>NS</sup>  | 34,64±0,427 <sup>NSNS</sup> | 36±1,273 <sup>NSβ</sup>     |
| Lymphocyte (x103/μl)      | 3,8±0,316    | 4,65±0,332**    | 5,975±0,499**  | 3,675±0,585 <sup>NS</sup>  | 3,104±0,386 <sup>NSb</sup>  | 4,55±0,465 <sup>NSβ</sup>   |
| Monocytes (x103/μl)       | 0,375±0,097  | 0,64±0,049**    | 0,92±0,122**   | 0,401±0,047 <sup>NS</sup>  | 0,455±0,01 <sup>NSb</sup>   | 0,525±0,095 <sup>NSβ</sup>  |
| Plaquettes (x103/μl)      | 653±39,33    | 437,67±11,24**  | 347,55±38,9**  | 642,5±49,9 <sup>NS</sup>   | 280±23,87 <sup>***c</sup>   | 303±4,51 <sup>***γ</sup>    |

Moy ± S.E.M de 05 rattes de chaque groupe.

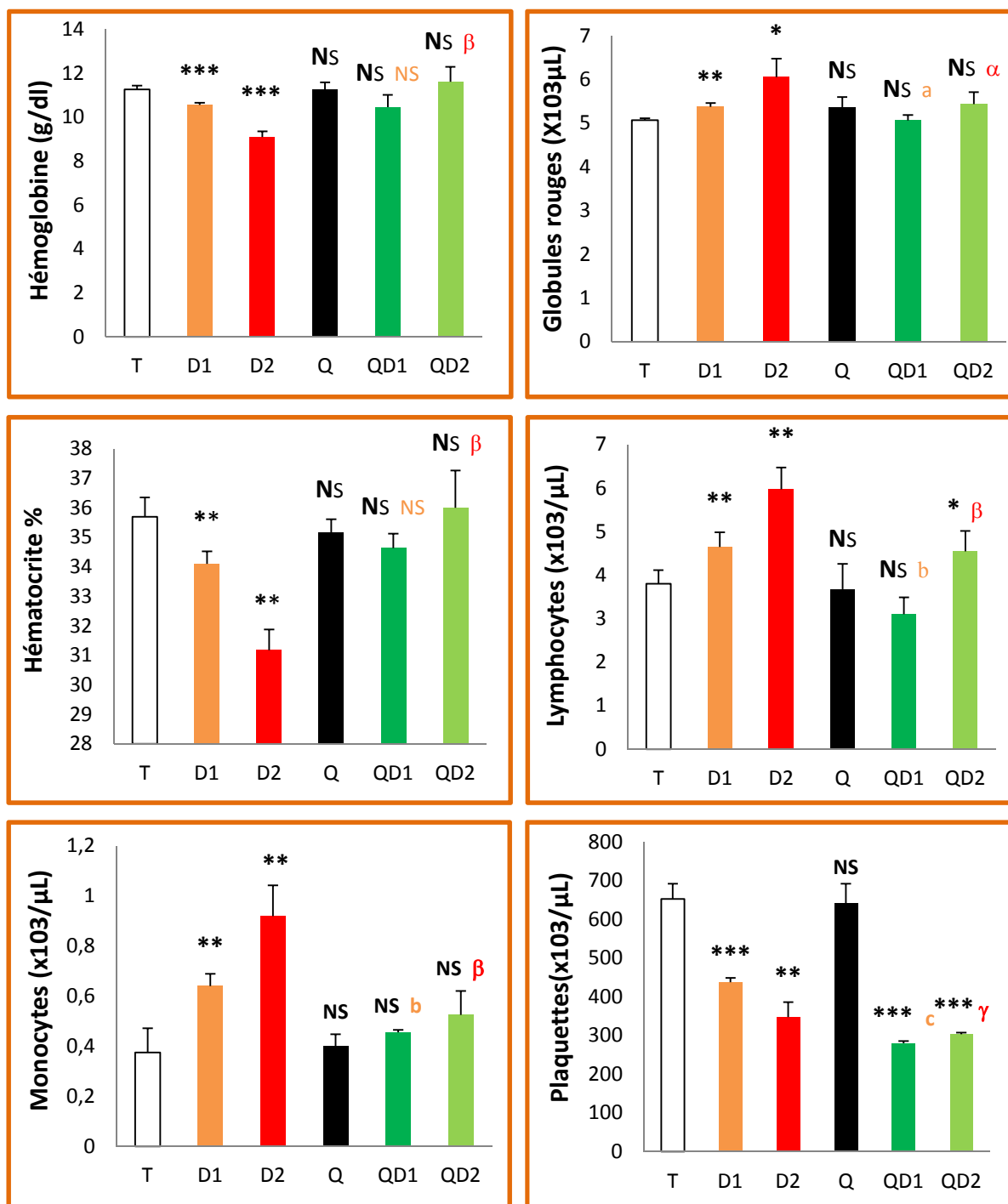
\*p < 0.05 ; \*\*p < 0.01; \*\*\*p < 0.001 comparaison avec le groupe témoin.

**a** p < 0.05 ; **b** p < 0.01; **c** p < 0.001 comparaison avec le groupe Dose1 de SPION.

**α** p < 0.05 ; **β** p < 0.01; **γ** p < 0.001 comparaison avec le groupe Dose2 de SPION.

## Chapitre II

### Résultats et Discussion



**Figure 19:** Paramètres hématologiques chez le groupe témoin et les groupes traités. Comparaison avec groupe témoin (T): \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ , avec groupe traité par la Dose 1 de SPION : a  $p < 0,05$  ; b  $p < 0,01$ ; c  $p < 0,001$ , avec groupe traité par la Dose 2 de SPION : α  $p < 0,05$  ; β  $p < 0,01$ ; γ  $p < 0,001$ .

Nos résultats montrent une diminution très hautement significative de la concentration de l'hémoglobine chez les deux groupe dose de SPION par rapport au témoin. et les résultats obtenus montrent que le traitement par la quercétine aux ratte intoxiquées par la D2 de

## ***Chapitre II***

### ***Résultats et Discussion***

---

SPION a induit une augmentation hautement significative de la concentration de l'hémoglobine par rapport au groupe D2 de SPION.

Nos résultats indiquent aussi une augmentation des globules rouges de façon hautement significative chez le groupe D1 de SPION et significative chez le groupe D2 de SPION par rapport au témoin ,et diminution significative des globules rouges chez les deux groupe traité par la quercétine par rapport au les deux groupe dose de SPION.

Nos résultats montrent aussi une diminution hautement significative de pourcentage d'hématocrite chez les deux groupe dose de SPION par rapport au témoin ,et augmentation hautement significative chez le rattes traité par la quercétine (QD2) par rapport le D2

Notre étude indique une augmentation hautement significative des monocytes et des lymphocytes chez les deux groupes contaminées par dose de SPION par rapport au témoin ,et diminution hautement significative des monocytes et des lymphocytes chez les deux groupe traité par la quercétine par rapport les deux groupe dose de SPION.

Les résultats obtenues montrent une diminution très hautement significative des plaquettes chez le groupe D1 et une diminution hautement significative chez le groupe D2 de SPION par rapport au témoin.

Ainsi, les résultats obtenus montrent une augmentation très hautement significative de nombre des plaquettes chez les deux groupes traité par la quercétine par rapport les deux groupes dose de SPION.

#### **II-1-2-2- Effets des SPION et la quercétine sur les paramètres biochimiques**

Les résultats obtenus suite à l'évaluation des paramètres biochimique sont illustre dans le (tableau 10).

**Tableau 10:** Teneurs sérique en glucose, du fer, bilirubine totale, acide urique, urée et créatinine chez le groupe témoin et les groupes traités.

| Paramètres               | Moy± S.E.M   |                 |                 |                            |                              |                               |
|--------------------------|--------------|-----------------|-----------------|----------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                          | T            | D1              | D2              | Q                          | QD1                          | QD2                           |
| Glycémie (g/l)           | 1,204±0,0646 | 0,957±0,0359 ** | 0,8475±0,0403** | 1,142±0,0206 <sup>NS</sup> | 1,18±0,0091 <sup>NS NS</sup> | 1,277±0,0295 <sup>NS NS</sup> |
| Fer sérique (mg/l)       | 1,005±0,052  | 1,332±0,069 *   | 2,065±0,16 **   | 1,111±0,0416 <sup>NS</sup> | 1,16±0,0316 <sup>** a</sup>  | 1,475±0,066 <sup>NS γ</sup>   |
| Bilirubine Totale (mg/l) | 4,14±0,773   | 6,44±1,222 *    | 8,605±1,7991 *  | 4,255±0,003 <sup>NS</sup>  | 5,55±0,443 <sup>NS a</sup>   | 5,723±0,708 <sup>NS α</sup>   |
| Acide urique (mg/l)      | 11,4±1,673   | 14±0,816 *      | 16±1,414 **     | 10,2±0,814 <sup>NS</sup>   | 10±1,816 <sup>NS a</sup>     | 13±1,5 <sup>NS γ</sup>        |
| Urée sérique (g/l)       | 0,436±0,009  | 0,525±0,111 *   | 0,907±0,13 **   | 0,362±,143 <sup>NS</sup>   | 0,32±0,154 <sup>NS a</sup>   | 0,372±0,12 <sup>** γ</sup>    |
| Créatinine (mg/l)        | 7,246±0,731  | 7,988±0,375 *   | 9,25±0,465 **   | 7,025±0,754 <sup>NS</sup>  | 8,175±0,239 <sup>** a</sup>  | 8,65±0,332 <sup>** γ</sup>    |

Moy ± S.E.M de 05 rattes de chaque groupe.

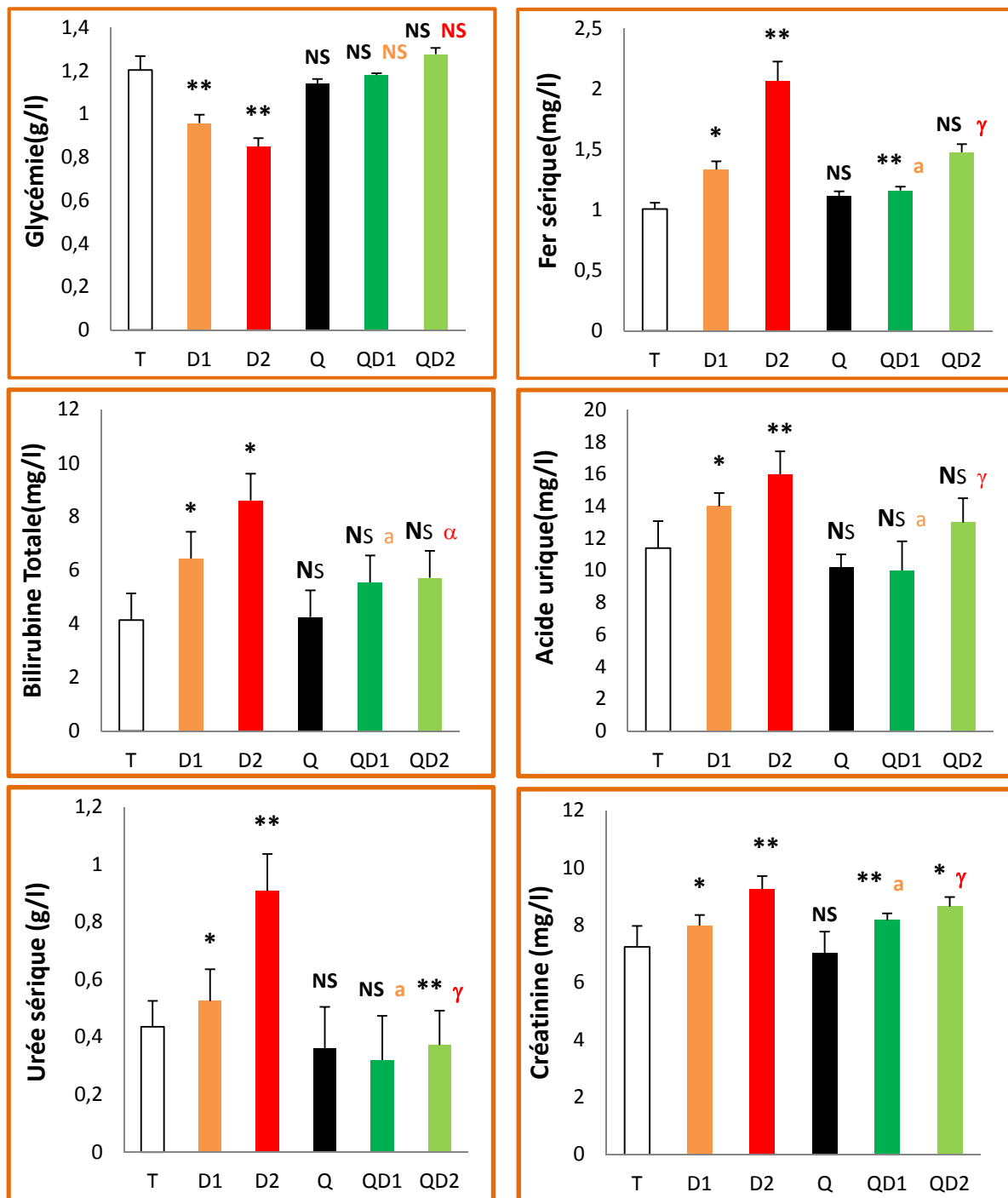
\*p < 0.05 ; \*\*p < 0.01; \*\*\*p < 0.001 comparaison avec le groupe témoin.

**a** p < 0.05 ; comparaison avec le groupe Dose1 de SPION.

**α** p < 0.05 ; **γ** p < 0.001 comparaison avec le groupe Dose2 de SPION.

## Chapitre II

### Résultats et Discussion



**Figure 20:** Concentration sérique du glucose, fer, bilirubine totale, acide urique, urée et créatinine chez le groupe témoin et les groupes traités.

\*p < 0.05 ; \*\*p < 0.01; \*\*\*p < 0.001 comparaison avec le groupe témoin.

a p < 0.05 ; comparaison avec le groupe Dose1 de SPION.

α p < 0.05; γ p < 0.001 comparaison avec le groupe Dose2 de SPION.

## ***Chapitre II***

### ***Résultats et Discussion***

---

Pour la glycémie, les résultats obtenus montrent une diminution hautement significative chez les deux groupe dose de SPION par rapport au témoin.

résultats montrent que la concentration de fer sérique est augmentée significative chez le groupe D1 et de façon hautement significative chez le groupe D2 de SPION par rapport au témoin et les résultats de traitement par la quercétine aux rattes intoxiquées par la D1 SPION a induit une diminution significative et de façon hautement significative chez le groupe D2 de SPION de la concentration de fer sérique.

la concentration de la bilirubine totale augmentation de façon significative chez les deux groupes dose de SPION par rapport au témoin ,et le traitement par la quercétine aux rattes intoxiquées par le SPION a induit une diminution significative de la concentration de la bilirubine totale.

Notre étude indique une augmentation significative de la concentration d'acide urique, de l'urée sérique, et de la créatinine chez le groupe contaminé par la D1 de SPION et de façon hautement significative chez le groupes D2 de SPION par rapport au témoin , le traitement des rattes avec la quercétine a restauré la fonction rénale. L'effet protecteur de la quercétine été reflété par la diminution des concentrations sériques de d'acide urique, de la créatinine et de l'urée sérique de façon significative chez le groupe QD1 par apport au groupe D1 et diminution de façon très hautement significative chez le groupe QD2 par apport au groupe D2.

#### **II-1-2-3- Effets des SPION et la quercétine sur les enzymes sériques**

Les résultats obtenus suite à l'évaluation des enzymes sériques sont illustre dans le (tableau11).

**Tableau 11:** Activité du TGO, TGP, et PAL sérique chez le groupe témoin et les groupes traités.

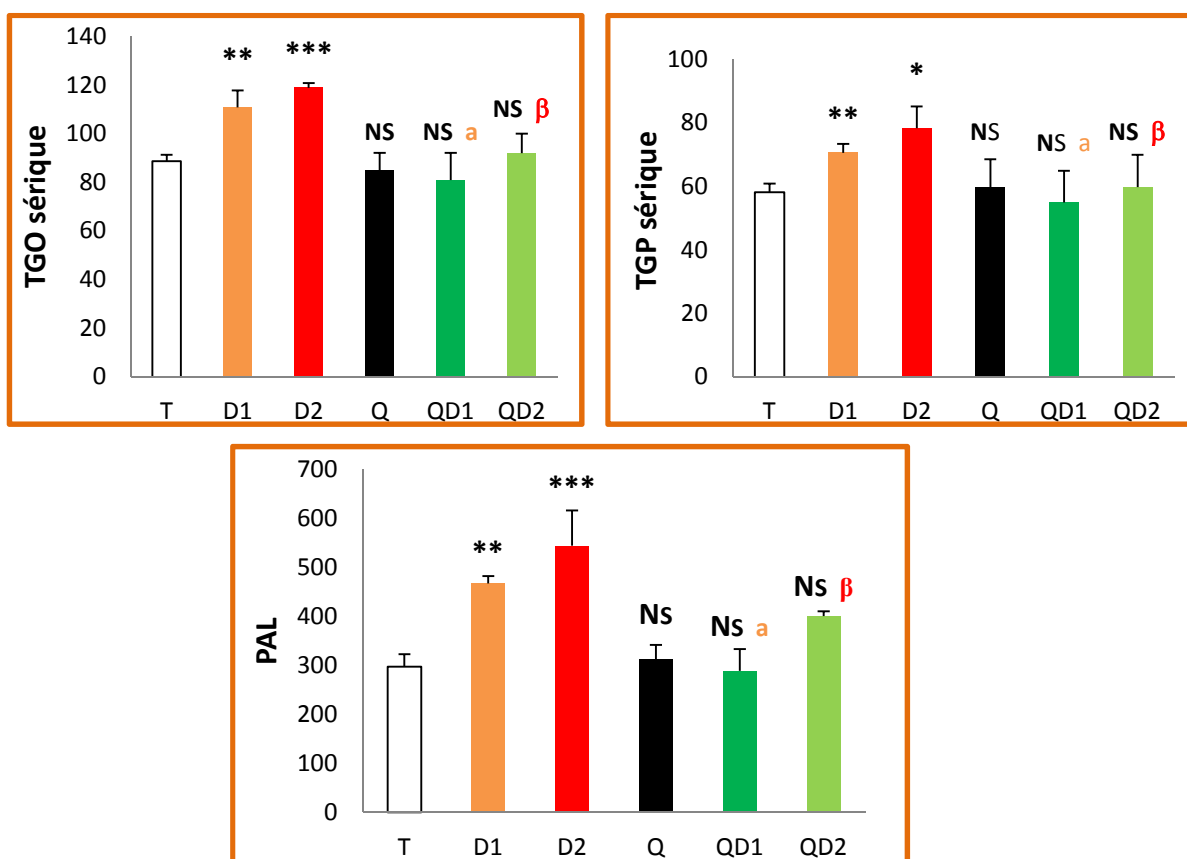
|                      | Moy± S.E.M |               |                |                          |                             |                             |
|----------------------|------------|---------------|----------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Paramètres<br>(IU/l) | T          | D1            | D2             | Q                        | QD1                         | QD2                         |
| TGO sérique          | 88,78±2,63 | 110,84±7,04** | 118,85±2,02*** | 84,84±7,25 <sup>NS</sup> | 81±11,1 <sup>NS a</sup>     | 91,96±8,05 <sup>NS β</sup>  |
| TGP sérique          | 58,2±2,74  | 70,58±2,91**  | 78,38±6,91*    | 59,68±8,88 <sup>NS</sup> | 54,96±10,04 <sup>NS a</sup> | 59,78±10,23 <sup>NS β</sup> |
| PAL sérique          | 297±26,1   | 467,4±14,52** | 544,4±71,8***  | 313±28,5 <sup>NS</sup>   | 288,8±44,5 <sup>NS a</sup>  | 400,5±9,98 <sup>NS β</sup>  |

Moy ± S.E.M de 05 rattes de chaque groupe.

\*p < 0.05 ; \*\*p < 0.01; \*\*\*p < 0.001 comparaison avec le groupe témoin.

<sup>a</sup> p < 0.05 comparaison avec le groupe Dose1 de SPION.

<sup>β</sup> p < 0.01 comparaison avec le groupe Dose2 de SPION.



**Figure 21:** Activité enzymatique de TGO, de TGP et de phosphatase alcaline chez le groupe témoin et les groupes traités.

Comparaison avec groupe témoin (T): \* $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ .

avec groupe traité par la Dose 1 de SPION : <sup>a</sup>  $p < 0.05$  . avec groupe traité par la Dose 2 de SPION: <sup>α</sup> $p < 0.05$ ; <sup>β</sup>  $p < 0.01$

Nos résultats montrent une augmentation hautement significative de l'activité de TGO, TGP et phosphatase alcaline (PAL) chez le groupe D1 de SPION par rapport au témoin. et de façon très hautement significative de l'activité TGO, PAL et de façon significative de l'activité TGP chez le groupes D2 de SPION par rapport au témoin. Ainsi, les résultats obtenus montrent que après le traitement par la quercétine D1 provoque une diminution significative de l'activité de TGO, TGP et phosphatase alcaline par rapport les le groupe D1 de SPION et de façon hautement significative chez le groupe traitement par la quercétine D2 par rapport les le groupe D2 de SPION.

### II-1-3- Effet de traitement par la quercétine sur des paramètres de stress oxydant chez les rattes contaminées par la Dose de SPION

#### II-1-3-1- Etude de la peroxydation lipidique MDA et le glutathion réduit GSH

Les résultats obtenus suite à l'évaluation MDA et GSH illustre sont dans le (tableau 12).

**Tableau 12:** Concentrations tissulaires de Malondialdéhyde (MDA) et glutathion réduit (GSH) chez le groupe témoin et les groupes traités.

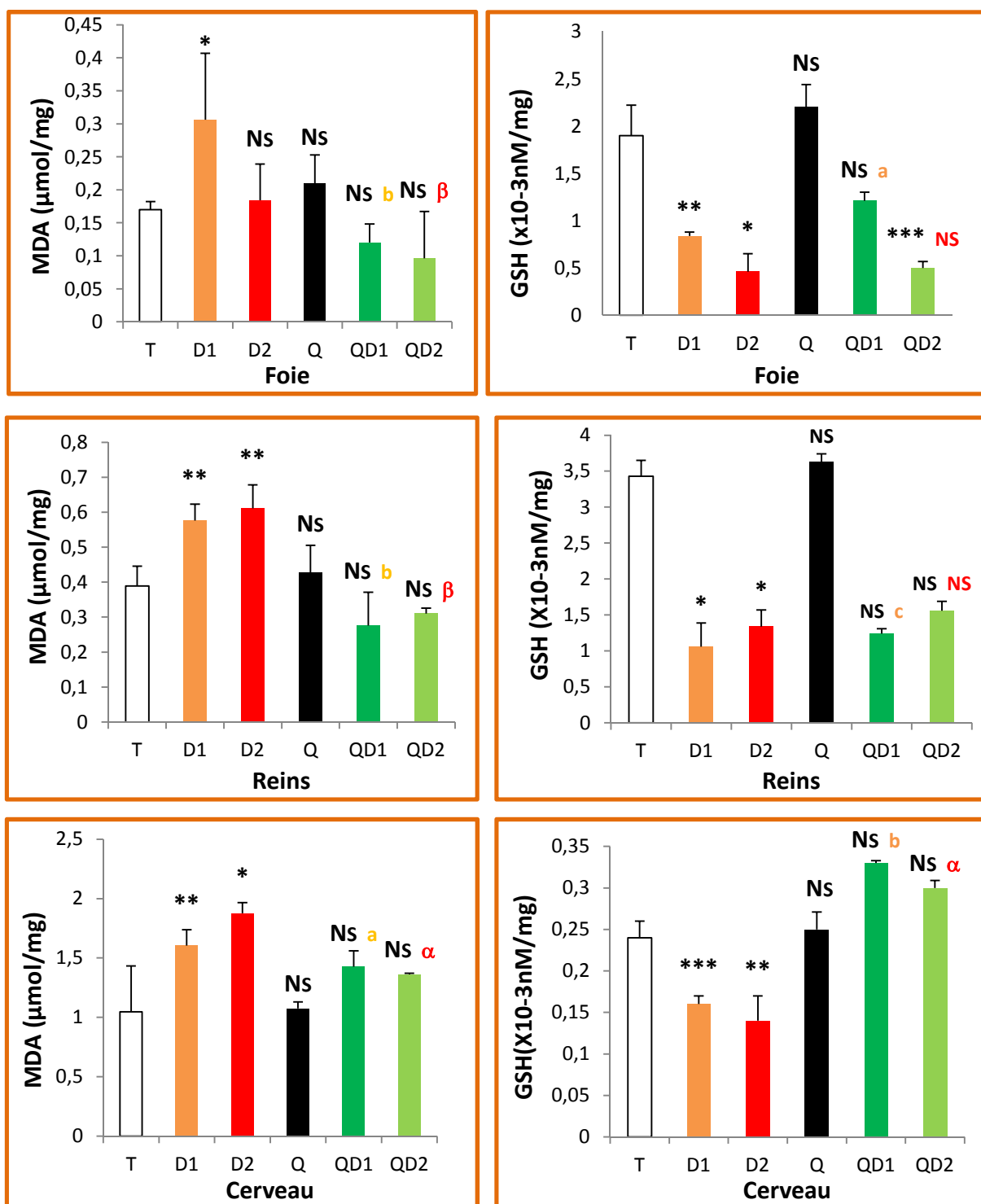
|                                   |         | Moy± S.E.M  |               |                           |                           |                             |                                               |
|-----------------------------------|---------|-------------|---------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------------------------|
| Paramètres                        |         | T           | D1            | D2                        | Q                         | QD1                         | QD2                                           |
| MDA<br>( $\mu\text{mol/mg}$ )     | Foie    | 0.17±0,012  | 0.306±0,101*  | 0.184±0,055 <sup>NS</sup> | 0.21±0,043 <sup>NS</sup>  | 0.12±0,028 <sup>NS b</sup>  | 0.096±0,071 <sup>NS <math>\beta</math></sup>  |
|                                   | Reins   | 0.389±0,057 | 0.576±0,47**  | 0.611±0,067**             | 0.426±0,079 <sup>NS</sup> | 0.276±0,095 <sup>NS b</sup> | 0.31±0,016 <sup>NS <math>\beta</math></sup>   |
|                                   | Cerveau | 1.047±0,387 | 1.605±0,132** | 1.877±0,089*              | 1.076±0,055 <sup>NS</sup> | 1.427±0,133 <sup>NS a</sup> | 1.362±0,0096 <sup>NS<math>\alpha</math></sup> |
| GSH ( $\text{X}10^{-3}$<br>nM/mg) | Foie    | 1.9±0,32    | 0.84±0,04**   | 0.46±0,19*                | 2.2±0,24 <sup>NS</sup>    | 1.21±0,09 <sup>NS a</sup>   | 0.5±0,07*** <sup>NS</sup>                     |
|                                   | Reins   | 3.43±0,22   | 1.06±0,33*    | 1.34±0,23*                | 3.63±0,11 <sup>NS</sup>   | 1.24±0,07 <sup>NS c</sup>   | 1.56±0,13 <sup>NS<math>\text{NS}</math></sup> |
|                                   | Cerveau | 0.24±0,02   | 0.16±0,01***  | 0.14±0,03**               | 0.25±0,21 <sup>NS</sup>   | 0.33±0,0028 <sup>NS b</sup> | 0.3±0,009 <sup>NS<math>\alpha</math></sup>    |

Moy ± S.E.M de 05 rattes de chaque groupe.

\*p < 0.05 ; \*\*p < 0.01; \*\*\*p < 0.001 comparaison avec le groupe témoin.

**a** p < 0.05 ; **b** p < 0.01; **c** p < 0.001 comparaison avec le groupe Dose1 de SPION.

**$\alpha$**  p < 0.05 ;  **$\beta$**  p < 0.01 comparaison avec le groupe Dose2 de SPION.



**Figure 22:**Concentrations tissulaires de Malondialdéhyde MDA et glutathion réduit GSH chez le groupe témoin et les groupes traités.

\*p < 0.05 ; \*\*p < 0.01; \*\*\*p < 0.001 comparaison avec le groupe témoin.

a p < 0.05 ; b p < 0.01; c p < 0.001 comparaison avec le group et Dose1 de SPION.

α p < 0.05 ; β p < 0.01; γ p < 0.001 comparaison avec le groupe Dose2 de SPION.

Les résultats montrent une augmentation hautement significative de concentrations MDA dans les reins et le cerveau chez le groupe D1 et dans les reins chez le groupe D2 par rapport

au groupe témoin. et le résultats obtenir après le traitement par la quercétine montrent une diminution hautement significative de concentrations MDA dans le foie et les reins chez les groupes QD1 et QD2 par rapport au groupe de D1 et D2. D'autre par, ils montrent une augmentation significative de concentrations MDA dans le cerveau chez le groupe QD1 et QD2 par rapport au groupe de D1 et D2.

Les résultats montrent une diminution significative de la concentration de GSH dans les reins chez le groupe traité D1, D2 et dans le fois chez le groupe D2 par rapport au groupe témoin. d'autre par, montrent une diminution hautement significative de GSH dans le foie chez le groupe D1 et dans le cerveau chez le groupe D2, ils montrent aussi une diminution très hautement significative dans le cerveau chez le groupe D1 de SPION par rapport au groupe témoin. et le résultats obtenir après le traitement par la quercétine montrent une augmentation non significative de concentrations GSH dans le foie et les reins chez les groupes QD2 par rapport au groupe de D2. D'autre par, ils montrent une augmentation significative de concentrations GSH dans le foie chez le groupe QD1 par rapport au groupe de D1. et une augmentation hautement significative dans le cerveau chez groupe QD1 par rapport au groupe de D1. Aussi montrent une augmentation très hautement significative dans les reins QD1 par rapport au groupe de D1.

### **II-1-3-2- Etude de l'activité de de catalase CAT, Glutathion S Transférase GST, et du glutathion peroxydase GPx**

Les résultats obtenus suite à l'évaluation des CAT, GST et GPx illustre dans le (tableau 13- 14).

**Tableau 13:** Activité de catalase (CAT), Glutathion S Transférase (GST), chez le groupe témoin et les groupes traités.

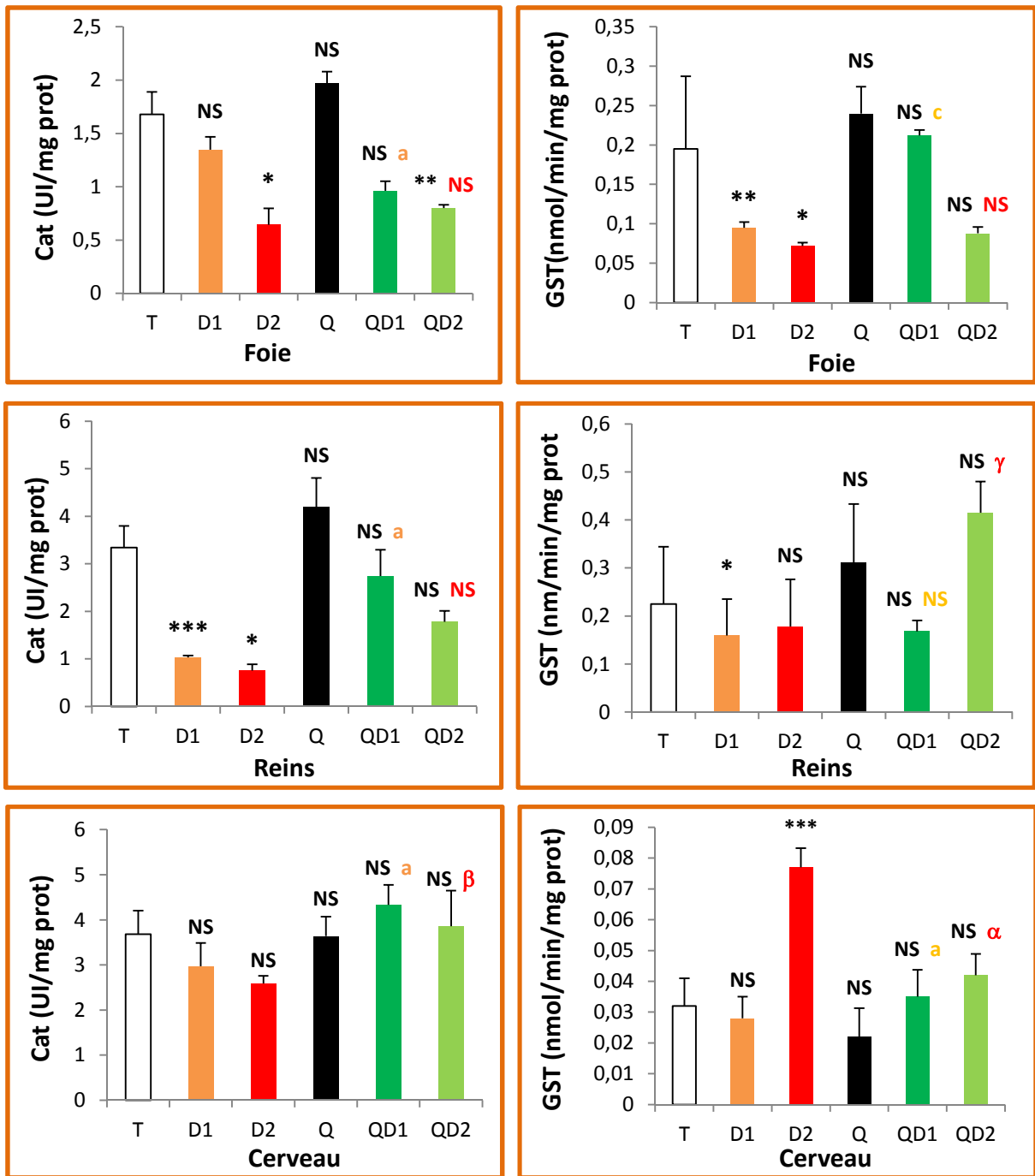
|                              |         | Moy± S.E.M  |                           |                           |                            |                              |                              |
|------------------------------|---------|-------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Paramètres                   |         | T           | D1                        | D2                        | Q                          | QD1                          | QD2                          |
| Catalase<br>(UI/mg<br>prot)  | Foie    | 1.678±0,211 | 1.346±0,123 <sup>NS</sup> | 0.6443±0,154*             | 1.97±0,11 <sup>NS</sup>    | 0.962±0,09 <sup>NS a</sup>   | 0.8±0;03** <sup>NS</sup>     |
|                              | Reins   | 3.343±0,45  | 1.03±0,04***              | 0.755±0,129*              | 4.196±0,61 <sup>NS</sup>   | 2.742±0,554 <sup>NS a</sup>  | 1.781±0,23 <sup>NSNS</sup>   |
|                              | cerveau | 3.68±0,521  | 2.97±0,52NS               | 2.589±0,17 <sup>NS</sup>  | 3.638±0,432 <sup>NS</sup>  | 4.33±0,445 <sup>NS a</sup>   | 3.86±0,787 <sup>NS β</sup>   |
| GST(nmo<br>l/min/mg<br>prot) | Foie    | 0.195±0,092 | 0.095±0,007**             | 0.072±0,0042*             | 0.24±0,034 <sup>NS</sup>   | 0.212±0,007 <sup>NS c</sup>  | 0.088±0,008 <sup>NSNS</sup>  |
|                              | Reins   | 0.225±0,119 | 0.159±0,076*              | 0.178±0,098 <sup>NS</sup> | 0.311±0,122 <sup>NS</sup>  | 0.168±0,226 <sup>NSNS</sup>  | 0.415±0,065 <sup>NS γ</sup>  |
|                              | cerveau | 0.032±0,009 | 0.028±0,007 <sup>NS</sup> | 0.077±0,0062***           | 0.022±0,0093 <sup>NS</sup> | 0.035±0,0087 <sup>NS a</sup> | 0.042±0,0069 <sup>NS α</sup> |

Moy ± S.E.M de 05 rattes de chaque groupe.

\*p < 0.05 ; \*\*p < 0.01; \*\*\*p < 0.001 comparaison avec le groupe témoin.

a p < 0.05 ; c p < 0.001 comparaison avec le groupe Dose1 de SPION.

α p < 0.05 ; β p < 0.01; γ p < 0.001 comparaison avec le groupe Dose2 de SPION.



**Figure 23:** Activités tissulaires de catalase, CAT et GST chez le groupe témoin et les groupes traités.

\* $p < 0.05$  ; \*\* $p < 0.01$  ; \*\*\* $p < 0.001$  comparaison avec le groupe témoin.

a  $p < 0.05$  ; c  $p < 0.001$  comparaison avec le groupet Dose1 de SPION.

$\alpha$   $p < 0.05$  ;  $\beta$   $p < 0.01$  ;  $\gamma$   $p < 0.001$  comparaison avec le groupe Dose2 de SPION.

Les résultats montrent une diminution non significative de la concentration de CAT dans le foie chez le groupe D1 et dans le cerveau chez les groupe D1 et D2. d'autre par, montrent une diminution significative dans le foie et les reins chez le groupe de D2 , ils

montrent aussi une diminution très hautement significative dans les reins chez le groupe D1 de SPION par rapport au groupe témoin.

Les résultats montrent une diminution non significative de la concentration de GST dans les reins et le cerveau chez les groupe D2 et D1 respectivement. d'autre par, montrent une diminution significative dans le foie et les reins chez les groupes de D2 et D1 respectivement, ils montrent aussi une diminution hautement significative dans le foie chez le groupe D1 et une augmentation très hautement significative dans le cerveau chez le groupe D2 de SPION par rapport au groupe témoin .

Nos résultats obtenir après le traitement par la quercétine montrent une augmentation significative de concentrations CAT dans le foie, les reins et le cerveau chez les groupes QD1 par rapport au groupe de D1. D'autre par, ils montrent une augmentation non significative de concentrations CAT dans le foie et les reins chez le groupe QD2 par rapport au groupe de D2. et une augmentation hautement significative dans le cerveau chez groupe QD2 par rapport au groupe de D2.

Nos résultats obtenir après le traitement par la quercétine montrent une augmentation non significative de concentrations GST dans le foie et les reins chez les groupes QD2 et QD1 respectivement par rapport au groupe de D2 et D1. D'autre par, ils montrent une augmentation significative de concentrations GST dans le cerveau chez les groupes QD1 et QD2 par rapport au groupe de D1 et D2. et une augmentation très hautement significative dans le foie et les reins chez groupe QD1 et QD2 respectivement par rapport aux groupes de D1 et D2.

Tableau 14: Activité du glutathion peroxydase (GPx), chez le groupe témoin et les groupes traités.

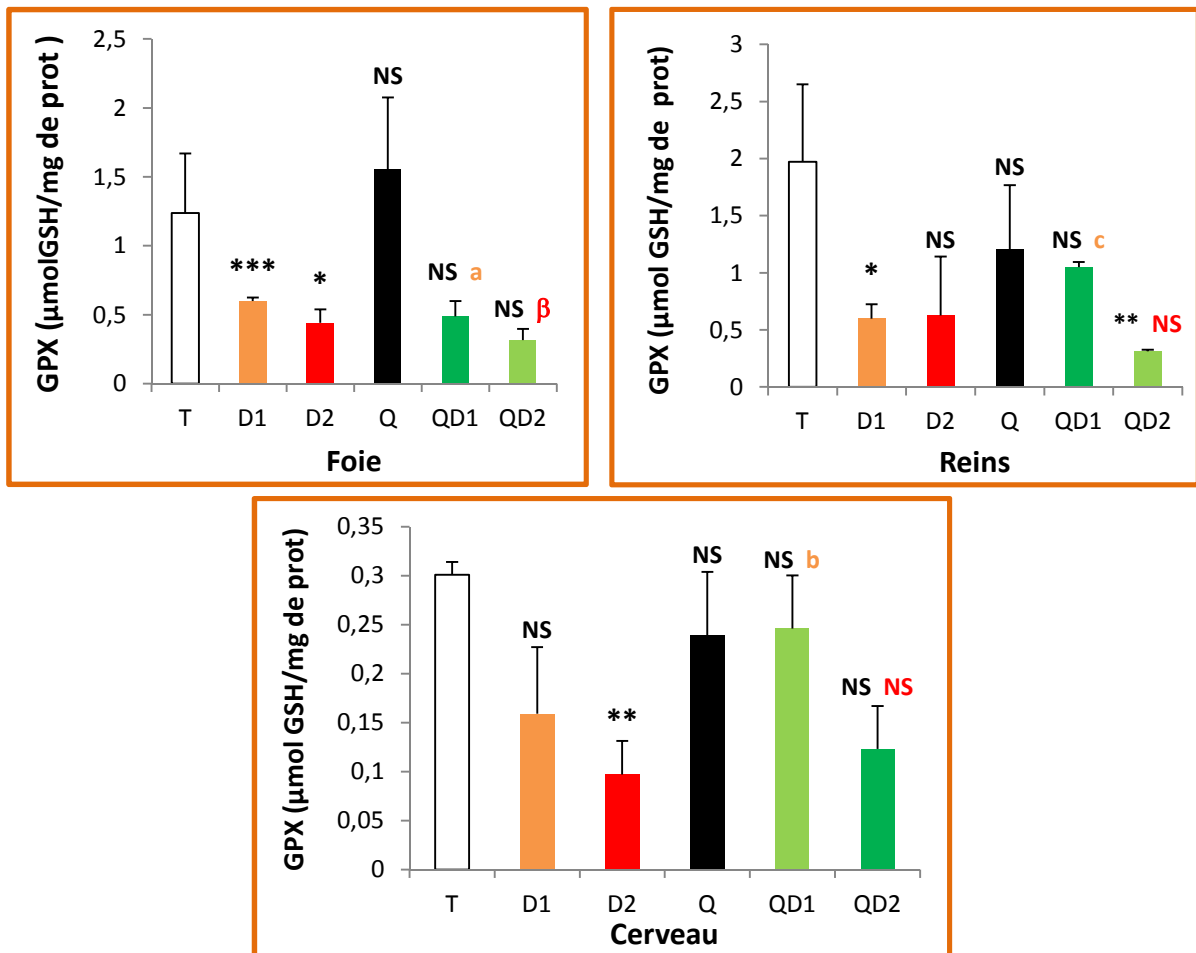
|                                             |         | Moy± S.E.M  |                           |                           |                           |                             |                                              |
|---------------------------------------------|---------|-------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|----------------------------------------------|
| Paramètres                                  |         | T           | D1                        | D2                        | Q                         | QD1                         | QD2                                          |
| GPx<br>( $\mu\text{molGSH}/$<br>mg de prot) | Foie    | 1,237±0,433 | 0,598±0,026***            | 0,44±0,099**              | 1,553±0,523 <sup>NS</sup> | 0,487±0,111 <sup>NS a</sup> | 0,316±0,082 <sup>NS <math>\beta</math></sup> |
|                                             | Reins   | 1,973±0,678 | 0,598±0,127*              | 0,625±0,517 <sup>NS</sup> | 1,207±0,559 <sup>NS</sup> | 1,05±0,045 <sup>NS c</sup>  | 0,313±0,013** <sup>NS</sup>                  |
|                                             | Cerveau | 0,301±0,013 | 0,159±0,068 <sup>NS</sup> | 0,097±0,034**             | 0,239±0,065 <sup>NS</sup> | 0,246±0,054 <sup>NS b</sup> | 0,123±0,045 <sup>NSNS</sup>                  |

Moy ± S.E.M de 05 rattes de chaque groupe.

\*p < 0.05 ; \*\*p < 0.01; \*\*\*p < 0.001 comparaison avec le groupe témoin.

**a** p < 0.05 ; **b** p < 0.01; **c** p < 0.001 comparaison avec le groupe Dose1 de SPION.

**$\beta$**  p < 0.01; comparaison avec le groupe Dose2 de SPION.



**Figure 24:** Activités tissulaires du glutathion peroxydase GPx chez le groupe témoin et les groupes traités.

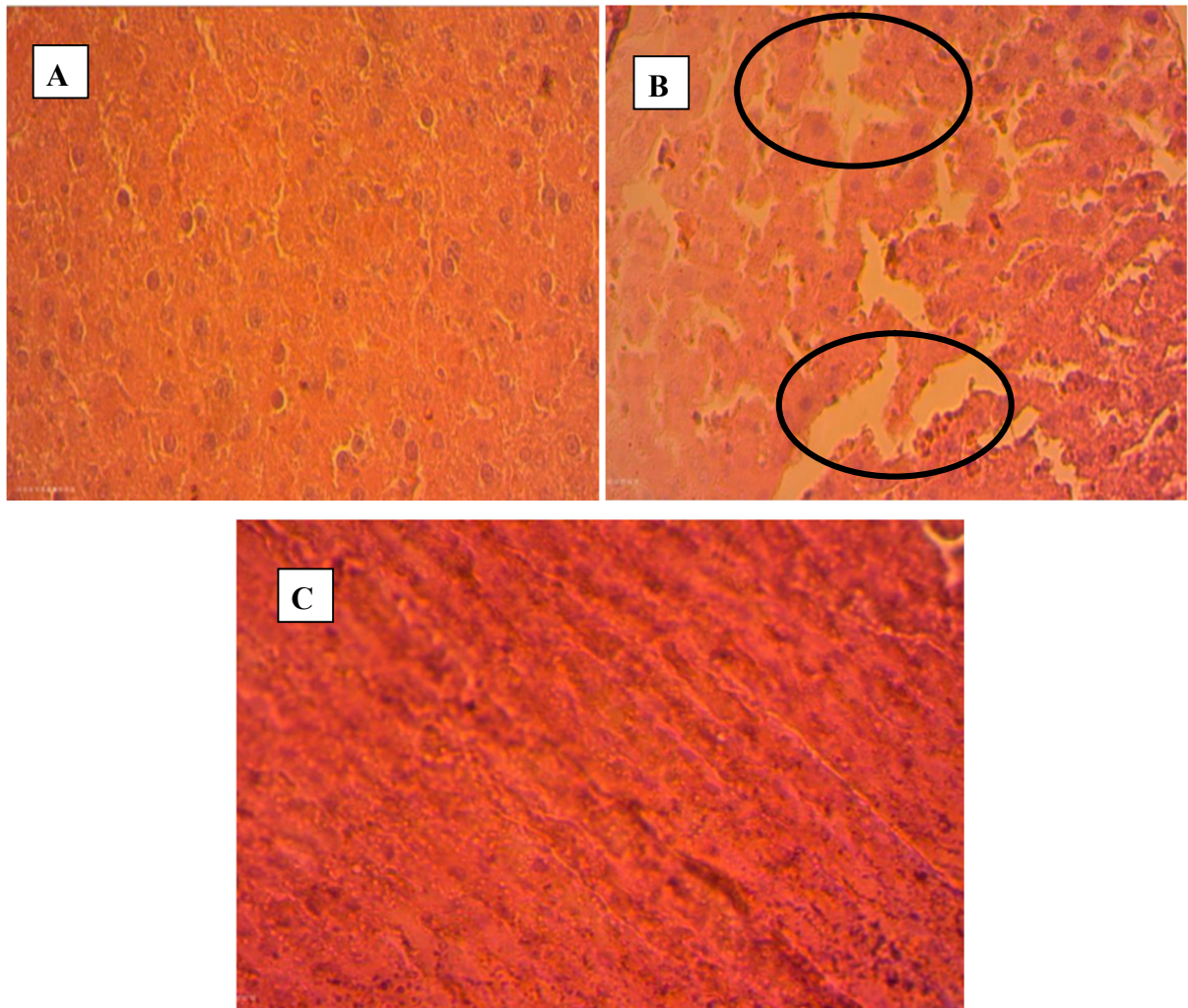
\*p < 0.05 ; \*\*p < 0.01; \*\*\*p < 0.001 comparaison avec le groupe témoin.

a p < 0.05 ; b p < 0.01; c p < 0.001 comparaison avec le groupe Dose1 de SPION.

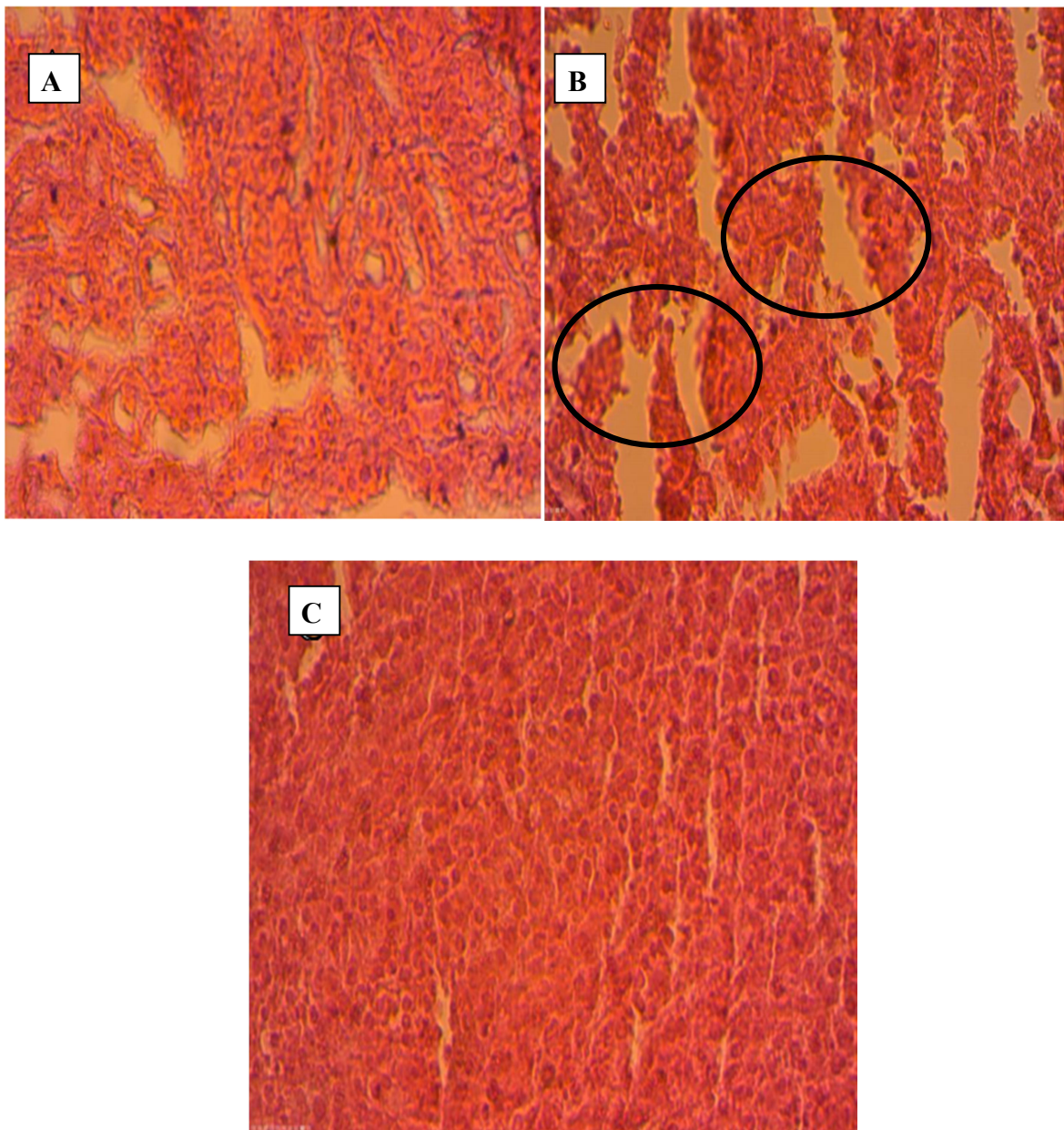
β p < 0.01; γ p < 0.001 comparaison avec le groupe Dose2 de SPION.

Les résultats montrent une diminution non significative de la concentration de GPx dans les reins et le cerveau chez les groupe D2 et D1 respectivement. d'autre par, montrent une diminution significative dans le foie et les reins chez les groupes de D2 et D1 respectivement, ils montrent aussi une diminution hautement significative dans le cerveau chez le groupe D2 et une diminution très hautement significative dans le foie chez le groupe D1 de SPION par rapport au groupe témoin ,et après le traitement par la quercétine montrent une diminution non significative de concentrations GPx dans les reins chez le groupe QD2 par rapport au groupe de D2. Ils montrent une diminution significative et hautemet significative dans le fois chez QD1 et QD2 respectivement par apport au groupe D1 et D2. D'autre par, ils montrent une augmentation hautement significative de concentrations GPx dans le cerveau chez les groupes QD1 par rapport au groupe de D1. et une augmentation très hautement significative dans les reins et le cerveau chez groupe QD1 et QD2 respectivement par rapport aux groupes de D1 et D2.

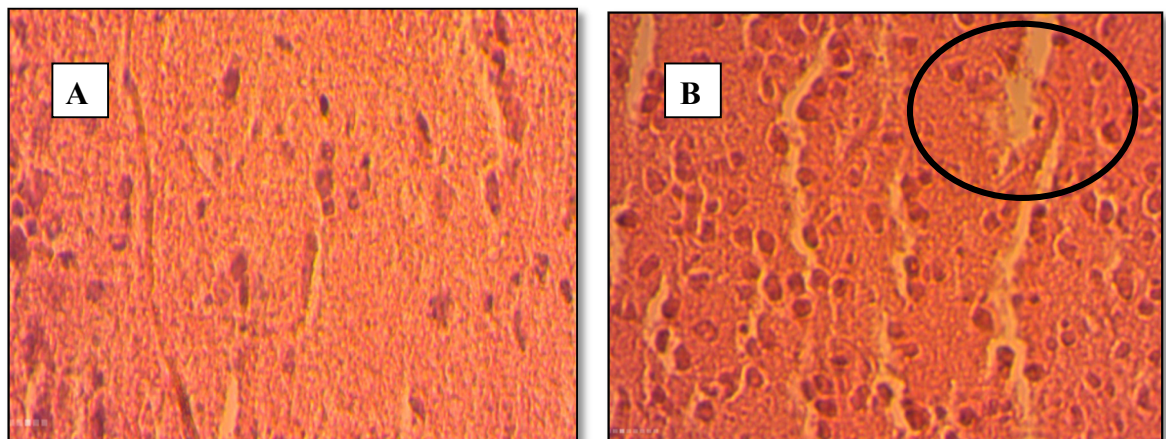
#### II-1-4-Effets de traitement par la quercétine sur l'analyse histologie des tissus chez les rattes contaminées par la Dose de SPION

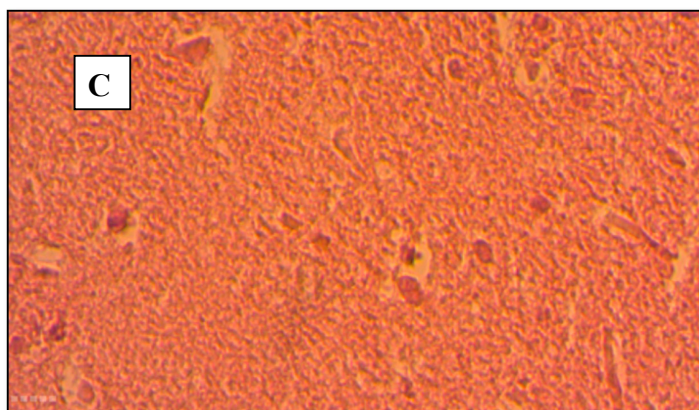


**Figure 25:** Observation microscopique d'une coupe histologique de foie, indique les changements morphométriques après traitement par la dose de SPION, agrandissement x40 (Photo originale, 2017); **A)**-Témoin, **B)**-Dose de SPION, **C)**-Dose de SPION + Quercétine.



**Figure 26:** Observation microscopique d'une coupe histologique de rein, indique les changements morphométriques après traitement par la dose de SPION, agrandissement x40 (Photo originale, 2017); A)-Témoin, B)-Dose de SPION, C)-Dose de SPION + Quercétine,





**Figure 27:** Observation microscopique d'une coupe histologique de cerveau, indique les changements morphométriques après traitement par la dose de SPION, agrandissement x40 (Photo originale, 2017); **A)**-Témoin, **B)**-Dose de SPION, **C)**-Dose de SPION + Quercétine,

## II-2- Discussion

Les nanoparticules d'oxyde de fer ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$  et  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) font l'objet de nombreuses recherches sur leurs applications potentielles dans la médecine ainsi qu'ils sont utilisées dans des procédés industriels au cours desquels une exposition professionnelle peut se produire. Malgré cela, leurs propriétés toxicologiques n'ont pas été étudiées de manière approfondie. Les premières études ont été faites sur des nanoparticules d'oxyde de fer associé au dextran **(Weissleder et al., 1997)**. Ces premières études ont été conduites pour comprendre le mécanisme de l'assimilation cellulaire des nanoparticules **(Moore et al., 1997 ; Neuwelt et al., 1994)**.

En 1996, **Mueller et al.** ont rapporté que les nanoparticules d'oxyde de fer pourraient induire une toxicité significative. Plusieurs années plus tard, **(Berry et al., 2004 ; Berry et al., 2003)** ont montré que les nanoparticules d'oxyde de fer non associées ou associées au dextran pourraient causer différent degré de mort cellulaire ainsi que des perturbations dans le squelette des fibroblastes dermiques. Ces observations ont été reconfirmées par Gupta et al **(Gupta et al., 2003 ; Gupta et Curtis., 2004 ; Gupta et Gupta., 2005)** qui ont clairement démontré la cytotoxicité des nanoparticules d'oxyde de fer non couvert.

Les mitochondries sont indispensables pour la production d'énergie cellulaire nécessaire au maintien de la fonction cellulaire **(Clayton et Doda., 2001 ; David et al., 2014 ; Lin et Beal., 2006)**. Les Dommages mitochondriaux contribuent à une diminution de la production d'ATP **(Cassarino et Bennettjr., 1999 ; Datta et Kaviraj., 2003)**. Des altérations dans l'un des complexes mitochondriaux provoquent la production des radicaux libres, ce qui conduit à la dépolarisation de la membrane mitochondriale et une activation ultérieure des récepteurs voltage-dépendants, ce qui permet l'afflux de calcium dans la cellule et le déclenchement des voies de la mort cellulaire **(Lin et Beal, 2006 ; Romero et al., 2012 ; Rodriguez et al., 2016)**.

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'effet toxique des nanoparticules d'oxyde de fer au niveau de la mitochondrie de chacun de ces organes: le foie, les reins, le cerveau. Et de valider l'effet antidote de quercétine chez les rattes *Albinos Wistar*.

### II-2-1-Effet des SPION et la quercétine sur les paramètres de la croissance globale des animaux

Les résultats obtenus n'indiquent aucune variation significative dans le poids corporel et dans le poids relatif de foie, des reins et de cerveau par apport au témoin. Aussi, l'étude de

Szalay *et al.* (2011) n'indique aucune variation significative de poids relatif de foie, de rein et de cerveau.

### II-2-2-Effet de traitement par la quercétine sur des paramètres hématologiques

Nos résultats montrent une diminution très hautement significative de la concentration de l'hémoglobine chez les deux groupe dose de SPION par rapport au témoin. Ce résultat est en accord avec l'étude d'Abdou et Hassan (2014) qui ont montré la diminution de taux d'hémoglobine après la contamination des rattes par le SPION. Cela peut signifier une hématotoxicité révéler par une anémie dues à l'inhibition de la synthèse d'hème, et donc de l'hémoglobine (Landrigan et Br Ind., 1989). En outre, ALA synthase catalyse la synthèse de l'acide D-aminolévulinique (ALA), le premier précurseur commun dans la biosynthèse de l'hème. Il peut être considéré comme l'enzyme contrôlant la vitesse de biosynthèse de l'hème dans la plupart des circonstances (Herbert *et al.*, 1979). La surcharge en fer dans le foie quelle que soit la voie de sa demande, a entraîné une augmentation non seulement de fer, mais aussi du zinc et du manganèse dans le foie. L'augmentation du zinc et du manganèse dans le foie suite une surcharge en fer était probablement un résultat non seulement de l'augmentation de l'absorption intestinale, mais aussi de l'augmentation de l'absorption à partir de la cellule (Vayenas *et al.*, 1998). D'autre part, le zinc réduit l'activité d'ALA synthase (Cable *et al.*, 1993) et donc diminue la synthèse de l'hème.

Dans notre étude, l'augmentation d'érythropoïétine est causée par la surcharge en fer. En effet, la surcharge en fer induit une diminution de concentration de l'hémoglobine (Gundabolu *et al.*, 2013), cette diminution peut provoquer une hypoxie anémique qui cause une diminution de la capacité du sang à transporter l'oxygène (Smeltzer *et al.*, 2010).

Ainsi, Selon l'étude de Scalbert (2002), le mécanisme de la quercétine à diminuer l'effet toxique des SPIONs est par la diminution de l'absorption intestinal de fer en inhibant l'accumulation de fer dans l'organisme.

Nos résultats indiquent aussi une augmentation des globules rouges de façon hautement significative chez le groupe D1 de SPION et significative chez le groupe D2 de SPION par rapport au témoin. D'après Scholz *et al.* (1990), lorsque la moelle osseuse dispose d'une quantité suffisante d'EPO, cela augmente la production et la fabrication de globules rouges. En outre, si la concentration d'hémoglobine diminue, les taux d'érythropoïétine commencent à augmenter exponentiellement (Reckziegel *et al.*, 2016). Donc, EPO induit une augmentation de la masse de globules rouges en stimulant la formation et la différenciation des cellules précurseurs érythroïdes dans la moelle osseuse (Scholz *et al.*, 1990). D'autre part, et selon l'étude de Pretorius *et al.* (2014), les concentrations sériques exceptionnellement élevé de

ferritine amène les globules rouges une morphologie anormale, peut être le stress oxydative causé par l'excès de fer provoque une perturbation de l'érythropoïèse, ce qui donne des globules rouges morphologiquement anormales.

La diminution d'hématocrite et d'hémoglobine peut signifier la présence d'une anémie hypochrome microcytaire. Ce type d'anémie, connue par son petit, pâle globule rouge car, un défaut de la production de globules rouges donne des globules rouges défectueuses (**Insel et al., 2011**). Aussi un déficit de vitamine B6 peut induit un anémie microcytaire (**McGuire & Beerman. 2013**).

D'autres part, , ce qui indique que la quercétine agissent comme agent régulateur de la processus de l'érythropoïèse (**Sagesak et al., 1994**).

Ces résultats montrent la présence d'une inflammation due à une réponse de l'état de stress oxydative induit par le fer (**Olivier., 2011**). Les ROS peuvent induire une réponse inflammatoire en médiant/activant des kinases sensibles au stress (kinase c-Jun N-terminal [JNK], isoformes de la protéine kinase C [PKC], protéine kinase activée par mitogène [p38-MAPK], inhibiteur de la kinase kappa B [IKK- $\beta$ ]), lesquelles activent des facteurs de transcription nucléaires sensibles au redox tels que activator protein 1 (AP-1) et nuclear transcription factor  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B). Ces facteurs de transcription sont essentiels pour l'expression de gènes inductibles associés avec les réponses inflammatoires et immunitaires, incluant les cytokines (ex. TNF $\alpha$ , IL-6), les molécules d'adhésion cellulaire (ex. MCP-1), et la NO synthase inductible (**Lavrovsky., 2000**).

D'après **Williamson et al (1996)**, la quercétine freine l'engrenage des phénomènes inflammatoires, inhibe fortement les enzymes qui favorisent les inflammations et de ce fait, un effet positif sur le cours de tous les processus inflammatoires (**Chattopadhyay et al., 2004 ; Liu et al., 2005**)

Selon l'étude de **Manasa & Vani(2016)**, le stress oxydatif est l'une des causes de la diminution de l'efficacité et la durée de vie des plaquettes. Le mécanisme toxique principal du Fer réside dans sa capacité à induire la formation des radicaux, qui peuvent induire la diminution de nombre des plaquettes. D'autres part, la protéine HFE, synthétisée localement, modifie l'affinité du récepteur à la transferrine pour la transferrine. En effet, lors de l'absence ou de la déficience de la protéine HFE, le DMT1 n'est plus régulé. Il s'exprime de façon importante, permettant une entrée trop élevée de fer dans les cellules. Elles sont, à des degrés plus ou moins importants, responsables de l'hémochromatose ou maladie de surcharge ferrique génétique (**Pietrangelo et al., 2004**).

Selon l'étude d'**Alrawaiq & Abdullah(2014)** qui ont été montrés que l'administration orale de la quercétine augmente la rétention de fer au sein du duodénum et a donné lieu à une diminution des niveaux de fer et de saturation de la transferrine sérique et tissulaire. C'est pourquoi, la quercétine est considéré comme un chélateur puissant du fer.

### II-2-3-Effets des SPION et la quercétine sur les paramètres biochimiques

Les travaux de **Li & Chen (2011)** ont interprétés que le SPION provoque des effets néfastes sur le pancréas et plus exactement sur l'excrétion d'insuline par les îlots de Langerhans, c'est-à-dire un état d'hyperglycémie. Dans notre étude, on peut expliquer la diminution de la glycémie par l'intervention de l'érythropoïétine, qui a un rôle dans l'érythropoïèse, EPO joue un rôle important dans les métabolismes cellulaires (**Maiese et al., 2005**). Selon l'étude, de **Montel-Hagen et al (2009)** indique que l'abaisse de glucose sanguin associé à l'exposition à des niveaux élevés d'EPO peut résulter d'une augmentation des chiffres d'érythrocytes et de leur absorption conséquente de glucose. D'autres part, l'excès en fer inversement corrélée avec le taux de l'hémoglobine, ce qui induit une augmentation d'érythropoïétine (**Gundabolu et al., 2013**). Dans notre étude, on peut expliquer la diminution de la glycémie par l'intervention de l'érythropoïétine. L'érythropoïétine (EPO) est une glycoprotéine synthétisée par les reins et joue un rôle dans la régulation de l'évolution de globules rouges et leur survie (**Ge et al., 2015**). En plus de son rôle dans l'érythropoïèse, EPO joue un rôle important dans les métabolismes cellulaires (**Maiese et al., 2005**). Les résultats de l'étude clinique de patients à l'ESRD ont indiqué que le traitement EPO peut améliorer le taux d'insuline à jeun (**Tuzcu et al., 2004**).

Nos Ce resulta est en accord avec l'étude de **Kong et al (2011)** qui montre que l'exposition à SPION provoque une surcharge en fer dans l'organisme. Les SPION sont biodégradables sous l'action des enzymes lysosomales à faible pH dans l'estomac; donc les ions fer libres s'augmentent dans le corps (**Singh et al., 2010**). La régulation du fer dans le sang est contrôlée par deux protéines d'absorption et d'exportation. La carence ou l'excès en fer peut être potentiellement toxique pour les cellules, c'est pourquoi son transport est rigoureusement contrôlé (**Gunnar et al., 2007**). Mais, avec un surdosage de fer, la mesure dans laquelle cette régulation est maintenue reste inconnue, mais il est supposé d'être submergé, permettant une absorption massive de fer, par ce qu'il n'y a pas un mécanisme physiologique efficace pour excréter l'excès de fer (**Raghupathy et al., 2010**).

Ainsi, Par ce qu'il n'y a pas des voies connues pour éliminer l'excès de fer dans le corps et donc l'homéostasie du fer est maintenue en modifiant l'absorption alimentaire, le mécanisme de la quercétine à diminuer l'effet toxique des SPIONs est par la diminution de

l'absorption intestinal de fer en inhibant l'accumulation de fer dans l'organisme, par conséquence inhibe l'événement de stress oxydative (**Formica & Regelson., 1995**). De plus la quercétine est les flavonoïdes qui peuvent interagir fortement avec Fe III à pH 5,5. La complexation a lieu sur le site du groupement 5-hydroxy-4-carbonyl, ce qui pourrait être expliqué par la réduction préalable de Fe III en Fe II (**Mira., 2002**).

La bilirubine est un pigment de couleur jaune qui provient de la dégradation de l'hémoglobine. On la retrouve principalement dans la bile et en faible quantité dans le sang (**Haleng et al., 2007**). On peut expliquer cette augmentation par une dysfonctionnement du foie et la vésicule biliaire est suspecté c'est-à-dire un problème au niveau de l'étape qui permet l'excrétion de la bilirubine dans la bile (**Vaishnav et al., 2015**).

En outre, nos résultats montrent que des études sur la quercétine indiquent leur rôle dans l'augmentation de l'excrétion biliaire de la bilirubine, par conséquent, la diminution du taux de bilirubine sérique (**Igarashi., 1995 ; Kamada et al., 2005**).

Selon l'étude de **Barbosa et al (2015)** qui montrent qu'une surcharge en fer induit une augmentation de taux d'acide urique, de l'urée sérique et de la créatinine. En effet, **El-Nekeety et al (2009)** ont montré que l'augmentation des taux d'urée dans le sang avec la diminution des taux de protéines sanguines peut indiquer par l'augmentation de catabolisme des protéines et/ou d'un dysfonctionnement rénal. Notre étude présente une absence d'une variation de concentration des protéines totale. Ceci confirme la présence d'une néphropathie caractérisée par une réduction de la filtration glomérulaire.

D'autre part, les résultats de l'étude de **Mainous et al (2011)** démontrent l'utilité de l'acide urique comme un marqueur de la surcharge en fer qui peut guider le dépistage ciblé de la toxicité de fer. L'acide urique est associé à l'inflammation, mais il fonctionne également comme un puissant endogène antioxydant, ce qui est plus probable est que l'augmentation de l'acide urique sérique, plutôt que d'être protectrice, peut refléter un mécanisme de compensation pour contrer l'augmentation du stress oxydatif. En outre, la créatinine est dérivée du métabolisme de créatine (**Rennke & Denker., 2007**).

Le niveau anormalement élevé de créatinine sérique était compatible avec la fonction rénale altérée (**Almeida et al., 2012**), car la surcharge en fer peut provoquer un stress oxydative, qui peut affecter à la fois les cellules rénales endothéliales et épithéliales conduisant à une dysfonction rénale (**Schetz et al., 2010**).

Dans notre étude, D'après l'étude de **Lozoya et al (1994)**, la quercétine permet d'améliorer l'activité rénale.

Le stress oxydatif due à l'augmentation la production de ROS qui joue un rôle clé dans le déclenchement et la progression de nanoparticules d'oxyde de fer a incité la mort cellulaire (**Buyukhatipoglu et Clyne., 2011**). Les niveaux accrus de ROS provoquent une perturbation dans l'équilibre entre l'oxydation et les systèmes de défense antioxydant, qui mènent à l'apoptose via des dégâts oxydatifs aux protéines intracellulaires et l'ADN (**Naziroglu et al., 2009 ; Bartsch et Nair., 2000**). Ainsi, les dégâts pourraient s'accumuler plus rapidement dans la mitochondrie que dans les restes des composants cellulaires (**Brooks et al., 2007**).

#### **II-2-4-Effets des SPION et la quercétine sur les enzymes sériques**

Ces résultats sont en accord avec l'étude de **Najafi et al (2012)** qui indiquent que l'activité de TGO, de TGP, et de PAL augmentent significativement avec la consommation 150µg /kg de nanoparticules d'oxyde de fer en comparaison du groupe normal. Aussi l'étude de **Lin & Adams (1991)** indique que l'excès de fer induit une augmentation de l'activité de PAL. Ces enzymes sont normalement contenues dans des cellules de foie. Si le foie est blessé, les cellules de foie renversent les enzymes dans le sang, le niveau est augmenté dans les cas de mort de cellule de foie résultant de cas, comme le choc ou la toxicité de médicament (drogue).(**Hutchison et al., 2000; Sally et al., 2001 ; Pratt & Kaplan., 2000**).D'autres part, dans notre étude l'examen histologique montre que les nanoparticules d'oxyde ferrique ont causé de graves dommages dans les tissus du foie, ce qu'explique que l'augmentation de ces enzymes est induit par la surcharge en fer (**Picon., 1992**).

Ce qui signifie que la quercétine inhibent les dommages hépatiques causés par le l'excès de fer. Ceci pourrait être dû à la réduction de l'accumulation des radicaux libres et la protection contre le stress oxydant (**Wiert., 2006**). D'après les études de **Shu-jun (2002); Kubo (1992)**.

#### **II-2-5-Effet de traitement par la quercétine sur des paramètres de stress oxydant chez les rattes contaminées par la Dose de SPION**

##### **1- MDA**

Mêmes résultats ont été obtenus par **Alarifi et al (2014) et El-Bahr (2007)**. Ils suggèrent que le traitement des rats par les nanoparticules d'oxyde de fer a induit une augmentation du taux du MDA tissulaire de foie et les reins. Ce résultat est expliqué par l'accumulation des radicaux libres. Ceci montre bien que les nanoparticules d'oxyde de fer sont capables d'inciter la génération des ROS, qui se traduit par la peroxydation lipidique dans les tissus hépatiques et rénaux, suggérant leurs effets néfastes dans ces tissus. La peroxydation des lipides membranaires par les espèces réactives de l'oxygène ROS détruit la structure et le

fonctionnement des membranes. Donc elle rend les membranes plus rigides et moins fluides (**Ahamed et Siddiqui., 2007**).

D'après les études de **Bacon et al (1983)** ; **Galleano et al (1994)** ont montrés une surcharge de fer des cellules de foie et de rein avec une augmentation de peroxydation des lipides hépatiques et rénal surtout les lipides mitochondriale.

Le MDA a été largement utilisé depuis de nombreuses années comme biomarqueur de la peroxydation lipidique. Il est l'un des marqueurs les plus populaires qui déterminent le stress oxydatif dans des situations cliniques, en raison de leur forte réactivité et de leur toxicité (**Ayala et al., 2014**).

Le fer libre peut potentiellement traverser la membrane mitochondrial et dans ce dernier cas, le fer libre sous la forme d'ions ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) peut réagir avec du peroxyde d'hydrogène et de l'oxygène produit par les mitochondries pour produire des radicaux hydroxyles hautement réactifs et des ions ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) via la réaction de Fenton (**Singh et al., 2010**). L' $\text{OH}^\cdot$  est un oxydant beaucoup plus fort que radical superoxyde anion et pourrait déclencher l'oxydation de la chaîne de phospholipides polyinsaturés donc la génération de MDA, ce qui conduit à la dégradation de la fonction membranaire (**Browne & Armstrong, 2000**).

En effet, l'exposition aigue aux nanoparticules d'oxyde de fer a la concentration de 40 mg  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{kg}$  induit une augmentation de la concentration du MDA hépatique, en accord avec l'étude de **Ma et al.;2012**

La quercétine pourrait empêcher l'altération induite par SPION, et jouent ainsi un rôle important dans la prévention des maladies résultant de la peroxydation lipidique. Cela peut être dû à la fort activité antioxydante de la quercétine (**Mete Tanir et al., 2005 ; Kumar et al, 2003**).

## 2- GSH

Selon l'étude d'**Abhijit et Parames (2014)**, ont montré une diminution de l'activité de GSH chez les rats intoxiqués au SPION. Cette baisse de GSH est expliquée par l'augmentation du taux des radicaux libres.

Une fonction majeure de GSH est la détoxification et l'élimination d'espèces réactives de l'oxygène. Ces composés sont conjugués avec GSH soit spontanément, soit par voie enzymatique dans des réactions catalysées par la GSH-S-transférase (GSTs). Les conjugués formés sont généralement éliminés à partir de la cellule ou dans la bile, comme dans le cas des hépatocytes. Bien que la plupart des réactions de conjugaison GSH entraînent détoxification du composé, de temps en temps le produit lui-même est hautement réactif (**DeLeve & Kaplowitz, 1990**). GSH conjugaison consomme de manière irréversible le GSH intra-

cellulaire, ce qui peut être expliqué la diminution de concentration tissulaire de GSH dans le foie.

La quercétine augmentent la concentration de GSH de manière importante dans les tissus étudiés. Donc, la quercétine pourraient empêcher l'altération induite par la SPOIN, et jouent ainsi un rôle important dans la neutralisation des radicaux libres (**Abhijit et Parames., 2014**).

Par contre, les résultats indiquent une augmentation non significative de concentrations tissulaires de MDA et GSH dans le foie, les reins et le cerveau chez le groupe Q.

### 3- CAT, GST et GPx

Pour neutraliser les effets indésirables des molécules oxydantes dans les tissus, les cellules utilisent des enzymes d'antioxydant comme Catalase, GST, et GPx pour enlever ROS superflu (**Ghosh et al., 2012 ; Ercal et al., 1996**). Nos résultats ont montré une diminution significative et hautement significative de l'activité de catalase dans le foie et les reins respectivement chez les ratte contaminées par SPION. Ce résultat est en accord l'étude d'**Abdala et al (2011)** qui montre que l'excès de fer diminue l'activité de catalase dans le foie et les reins. on peut expliquer la diminution de l'activité de catalase par la surcharge de fer intracellulaires a diminué l'activité de cette enzyme d'antioxydant (**Khan et al., 2012**). D'autres études montre que la production accru de ROS réduit l'activité des enzymes d'antioxydants superoxyde dismutase, GSH et le catalase à suggérer que des nanoparticule d'oxyde de fer causés déséquilibre entre la production et la dégradation de ROS (**Kakkar et al., 1984**).

Le système enzymatique contient également la glutathion S-transférase qui catalyse la réaction entre le glutathion réduit et les molécules oxydantes avec la formation des métabolites glutathion-conjugués (GSSG). Nos résultat est confirmé par l'étude **Alarifi et al (2014)**. D'autre part, l'étude de **Li et al (2013)** montre la présence d'une corrélation entre la diminution de GSTs et l'apparition de stress oxydatif.

Dans la présente étude, les résultats montrent une diminution significative de GPx dans les tissus étudiés (foie, reins). Ce résultat est confirmé par l'étude d'**Abhijit et Parames (2014)** qui ont montrés que la surcharge de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  intracellulaire a diminué l'activité de GPx.

L'étude d'**El-Bahr. (2007)** indique que la surcharge en fer a également provoqué une augmentation significative de l'activité de la GSTs en comparaison avec le groupe témoin. D'autre part, l'étude de **Li et al. (2013)** montre la présence d'une corrélation entre la diminution de GSTs et l'apparition de stress oxydative.

La surcharge en fer provoque une diminution significative de l'activité glutathion peroxydase (GPx) de foie, rein, cœur, et rate. Ces résultats est contre l'étude de **Abdalla et al. (2011)** qui montre que l'excès de fer diminue l'activité de catalase.

D'une manière générale, l'épuisement d'un antioxydant peut perturber l'équilibre entre les antioxydants et les ERO en favorisant les ERO, ce qui peut provoquer un dommage au niveau des organes. En général, et d'après les résultats de l'activité tissulaire des antioxydants suggèrent que chaque organe a un effet antioxydant spécifique (**Galleano et al., 1994**), ce qui rend la gravité de l'attaque oxydative différente entre les organes, c'est pourquoi on trouve que la variation des antioxydants défère d'un organe à autre.

Nous avons observé que le traitement par la quercétine a augmenté les activités d'enzymes antioxydants réduits (Catalase, GST, et GPx). Les mêmes résultats sont confirmés par l'étude de **Hui et al (2012)** qui ont été montrés que le traitement par la quercétine a augmenté des activités d'enzymes antioxydants notamment Catalase, GST et GPx. L'augmentation de l'activité de ces enzymes antioxydants peut servir de mécanisme de compensation supplémentaire pour maintenir l'intégrité de la cellule et la protection contre les dommages des radicaux libres.

Par contre, les résultats indiquent une augmentation non significative de concentrations tissulaires de CAT, GST et GPx dans tout les organes, mais montrent une diminution non significative dans la concentration de CAT, GPx et GST au niveau de cerveau et dans la concentration de GPx dans les reins chez le groupe Q.

#### **II-2-6-Effets de traitement par la quercétine sur l'analyse histologie des tissus chez les rattes contaminées par la Dose de SPION**

En général, et d'après les résultats de l'activité tissulaire des antioxydants suggèrent que chaque organe a un effet antioxydant spécifique (**Galleano et al., 1994**), ce qui rend la gravité de l'attaque oxydative différente entre les organes, c'est pourquoi on trouve que la variation des antioxydants défère d'un organe à autre.

L'étude histologique de foie, indique la présence d'une surcharge de fer dans le tissus hépatique chez le groupe intoxiqué par SPION avec la présence d'un nécrose cellulaire. Ces résultats sont en accord avec l'étude de **Babadi et al (2012)** qui montre que le traitement avec les SPIONs induit une surcharge de fer dans les tissus hépatique avec une dommage de ces tissus surtout au niveau des cellules de Kupffer. Cette surcharge en fer dans les hépatocytes peut-être parce que la réserve de fer se trouve essentiellement au niveau des cellules réticulo-endothéliales du foie (**Ganong., 2004**). Aussi les résultats indiquent la présence d'une

inflammation au niveau de tissu hépatique. Cette inflammation est induite par le stress oxydative (**Closa et Folch-Puy., 2004**).

Selon l'étude de **Sánchez-Valle et al (2012)**, le stress oxydative perturbe les lipides, les protéines et l'ADN, induit une nécrose et l'apoptose des hépatocytes et amplifie la réponse inflammatoire.

D'après les résultats de la présente étude, l'exposition au SPION produit des dommages histologiques dans les reins inclure une nécrose, dilatation, nécrose glomérulaire, hémorragie, cellules inflammatoires. Des changements similaires chez les rattes ont été rapportés par des recherches antérieures **d'El-Nekeety et al (2009)** et **Kansal et al (2011)**. ce qui pourrait être dû à la production excessive des radicaux libres et à la suite de la peroxydation lipidique induite par SPION (**Aziz., 2012**).

Généralement, afin de limiter l'adsorption de protéines et de prolonger le temps de résidence des particules dans les organismes, les nano-oxydes de fer sont enrobées de molécules organiques (polyéthylène glycol, poloxamines, dextran, transferrine...) (**Kim et al., 2001 ; Goetze et al., 2002 ; Lacava et al., 2002 ; Chunfu et al., 2004 ; Xu et al., 2005**). Cet enrobage a pour but de fonctionnaliser les nano-oxydes afin de les rendre reconnaissables par les cellules cibles uniquement. Ainsi, il a été démontré sur des rats, que des nanoparticules magnétiques étaient capables de délivrer des substances médicamenteuses directement dans des tumeurs cérébrales (**Kreuter., 2005**).

Dans notre étude, on ne trouve pas une différence bien claire entre l'effet des différentes doses de SPION sur les paramètres biochimiques et hématologiques étudiées. Mais pour les paramètres de stress oxydative, on trouve que l'effet toxique de la première dose de SPION (groupe D1) est faible. Selon l'étude histologique, on trouve que la deuxième dose de SPION (groupe D2) a un grand effet toxique sur le foie, les reins et le cerveau.

Dans notre étude, nous avons évalués la capacité da quercétine à éliminer ou à diminuer l'effet toxique des SPION chez les rattes. Nos résultats montrent que les groupes traités par le SPION et le quercétine (D1Q, D2Q) ne présente aucune variation significative par rapport au témoin dans la quasi-totalité des paramètres biochimique, hématologique et de stress oxydative étudiés, ce qui indique que la quercétine corrige les perturbations induites par l'excès de fer par augmentation ou diminution significative par rapport aux groupes D1, D2.

# *Conclusion Générale*

### Conclusion générale

À ce jour, beaucoup d'études ont porté sur les effets biologiques des nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétique (SPION) qui ont attiré beaucoup d'attention en raison de leur grand potentiel dans plusieurs applications cliniques biomédicales et in vivo. Malgré la large gamme d'applications, il y a un grave manque d'informations sur l'impact toxique de ces nanoparticules sur la santé.

Ce travail a pour objectif principal d'étudier l'effet toxique des nanoparticules d'oxyde de fer et de valider l'effet antioxydant de la quercétine chez les rattes *Wistar Albinos* sur la fonction mitochondriale et le stress oxydatif. La dose utilisée pour le traitement est de concentration de 100 et 150µg/kg de SPION. Pour cela, nous avons porté notre attention sur l'étude des paramètres de croissance globale (Poids corporel, Gain de poids, Poids relative ); hématologique (Globules rouges, Hémoglobine, Hématocrite, Lymphocyte, Monocyte et Plaquette); biochimiques (Teneurs sérique en glucose, du fer, bilirubine totale, acide urique, urée et créatinine); activité des enzymes sériques ( TGO, TGP, PAL), les paramètres de stress oxydant (MDA, GSH, GST, CAT, GPx) de quelque organe (le foie, les reins et le cerveau) et des coupes histologiques chez le groupe des témoins et le groupe des rattes traitées pour faire une comparaison entre elles. Cette étude a permis de tirer les conclusions suivantes:

Les résultats obtenus montrent que le traitement par les SPION induit une surcharge en fer, hypoglycémie, augmentation d'urée, créatinine, et d'acide urique, aussi une augmentation de l'activité des transaminases (TGO, TGP), de phosphatase alcaline qui montre que le SPION induit une perturbation de fonction hépatique et rénale et cérébrale. Nos résultats révèlent également une toxicité hématologique et stress oxydatif chez les groupes contaminés par le SPION, une augmentation du taux des globules rouges, des Lymphocyte, des Monocytes, et une diminution du taux d'hémoglobine, aussi une diminution de taux GSH, l'activité des CAT, GST, GPx avec une augmentation du taux de MDA dans les tissus étudiés (foie, reins et cerveau) qui indique une perturbation des paramètres de stress oxydatif mitochondriale. En outre, les résultats obtenus d'après l'étude histologique, montre la présence d'une inflammation dans les tissus étudiés, et la présence d'une nécrose hépatique et rénale et cérébrale induit par le stress oxydatif .

Cependant, l'administration orale de la quercétine a provoqué une diminution de l'effet toxique de SPION en maintenant l'homéostasie de fer dans l'organisme donc en inhibant les effets néfastes de la surcharge en fer.

L'accumulation du fer dans la mitochondrie peut augmenter le dysfonctionnement mitochondrial et les dégâts oxydatifs favorisant la possibilité d'apoptose et ainsi L'étude

## ***Conclusion générale***

---

histologique du foie confirme nos résultats car elle indique la présence d'un dommage hépatique qui est exprimé par l'existence d'une nécrose des hépatocytes.

Selon les études précédentes, l'exposition à SPION induit une cytotoxicité au niveau des tissus du foie, reins et de cerveau, génotoxicité, d'inflammations cellulaires et des altérations cellulaires via le stress oxydatif. En outre, nos résultats montrent également que les nanoparticules d'oxyde de fer provoque un stress oxydatif, donc, une augmentation de la peroxydation lipidique dans les tissus étudiés. Alors, on conclut que les nanoparticules d'oxyde de fer conduit à l'apparition des anomalies rénales, cérébrale, hématologiques et principalement hépatiques.

D'autre part, Un grand nombre des preuves indiquent que la quercétine possède de puissantes propriétés antioxydantes. Elle est connue pour être une molécule anti-inflammatoire, anticancéreuse et neuroprotecteur contre les dommages de stress oxydatif par l'élimination des actions délétères des radicaux libres auprès de structures cellulaires dont l'ADN et les membranes phospholipidiques et par leur capacité à moduler intracellulaire des signaux favorisant la survie cellulaire

## *Bibliographiques Références*

**Références bibliographiques**

*-A-*

- A. Yariv, R. C. C. Leite, Appl. Phys. Lett., 1963, p.55.**
- Abdalla, M.Y., Fawzi, M., Al-Maloul, S.R., El-Banna, N., Tayyem, R.F., & Ahmad, I.M., 2011.** Increased oxidative stress and iron overload in Jordanian  $\beta$ -thalassemic children. *Hemoglobin*, 35(1), 67-79. doi: 10.3109/03630269.2010.544624.
- Abdoun, H.M., & Hassan, M.A., 2014.** Protective role of omega-polyunsaturated fatty acid against lead acetate-induced toxicity in liver and kidney of female rats. *BioMed Research International*, 1-11.
- ABHIJIT S., PARAMES C., 2014.** Iron oxide nanoparticles mediated cytotoxicity via PI3K/AKT pathway: Role of quercetin. *Annale de ELSEVIER*. vol. 71(1) : 1-10.
- Abhijit, S., Parames, C.S., 2014.** Iron oxide nanoparticles mediated cytotoxicity via PI3K/AKT pathway: Role of quercetin. *Food and Chemical Toxicology* 71, 106-115.
- Abou-Hassan, A.; Sandre, O.; Neveu, S.; Cabuil, V., 2009.** Synthesis of Goethite by Separation of the Nucleation and Growth Processes of Ferrihydrite Nanoparticles Using Microfluidics. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 48 (13), 2342-2345.
- Aderien Bedossa., Mai 2011.** Métabolisme du Fer physiologie et pathologie. BIOFORMA, Paris; N°48; p: 160.
- Aebi.1984.** Catalase, methods in enzymology. In: L. Packer (Ed). *Academic pres, Orlando*. 105: 121-125.
- Ahamed, M., et Siddiqui, M.K.J., 2007.** Low-level lead exposure and oxidative stress: current opinions. *CLINICA CHIMICA ACTA*, 383: 57-64. doi: 10.1016/j.cca.2007.04.024
- Alarifi, S., Ali, D., & Alkahtani, S., 2014.** Iron Oxide Nanoparticles Induce Oxidative Stress, DNA Damage, and Caspase Activation in the Human Breast Cancer Cell Line. *Springer Science+Business Media New York*. PP7-9.
- Alexiou, C., Arnold, W., Klein, R. J., Parak, F.G., Hulin, P., Bergemann, C., Erhardt, W. S., & Wagenpfeil, A. S., 2000.** Lubbe, Locoregional cancer treatment with magnetic drug targeting, *Cancer Res*, 60 (23), 6641-6648.
- Almeida, D.A.T., Braga, C.P., Novelli, E.L.B., & Fernandes, A.A.H., 2012** Evaluation of lipid profile and oxidative stress in STZ induced rats treated with antioxidant vitamin. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 55(4), 527-536.
- Alrawaiq, N.S., & Abdullah, A., 2014.** A Review of Flavonoid Quercetin: Metabolism, Bioactivity and Antioxidant Properties. *International Journal of PharmTech Research*.

- Aly N., El-Gendy K., Mahmoud F., El-Sebae A.K., 2010.** Protective effect of vitamin C against chlorpyrifos oxidative stress in male mice. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 97:7-12.
- Angelos, M. G. Kutala, V. K. Torres, C. A. He, G. Stoner, J. D. Mohammed, M, Oerannan, K., 2005.** Hypoxic reperfusion of the ischemic heart and oxygen radical generation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. Vol 290: 341-347.
- Atamer A, Bilici A, Yenice N, Selek S, Ilhan N & Atamer Y., 2008.** The importance of paraoxonase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis. *J Int Med Res* 36, 771-776.
- Ayala, A., Muñoz, M.F., & Argüelles, S., 2014.** Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 1-31. doi: 10.1155/2014/360438.
- Aziz, F.M., 2012.** Protective Effects of Latex of *Ficus carica* L. against Lead Acetate-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 5 (3) : 175-182.

**-B-**

- Babadi, Y., 2013.** Evaluation of Iron Oxide nanoparticles effects on tissue and Enzymes of Thyroid in Rats. *Annale de l'ISSN*. vol. 2 (7): 1-3.
- Bacon, B.R., Tavill, A.S., Brittenham, G.M., Park, C.H., & Recknagel, R., 1983.** Hepatic lipid peroxidation in vivo in rats with chronic iron overload. *J. Clin. Invest*, 71, 429-439.
- Balaban RS, Nemoto S, Finkel T., 2005.** Mitochondria, Oxidants and Aging. *Cell* 120: 483-495.
- Ballatori N., Krance S., Notenboom S., Shi S., Tieu M., Hammond C., 2009.** Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases. *P*: 191-195.
- Baratli Y., Charles A., Wolff V., Ben Tahar L., Smiri L., Bouitbir J., Zoll J., Piquard F., Tebourbi O., Sakly M., Hamed A., Bernard G., 2013.** Impact of iron oxide nanoparticles on brain, heart, lung, liver and kidneys mitochondrial respiratory chain complexes activities and coupling. *Annale de ELSEVIER*. vol. 27(1) : 1-7.
- Baratli Yosra., 2015.** Etude de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) chez le rat - analyses mitochondriales et du stress oxydant. Thèse de doctorat, p189.
- Barbosa, M.C., Santos, T.E., Souza, G.F., Assis, L.C., Freitas, M.V., & Gonçalves, R.P., 2015.** Impact of iron overload on interleukin-10 levels, biochemical parameters and

oxidative stress in patients with sickle cell anemia. *Rev Bras Hematol Hemoter*, 35(1), 29-34. doi: 10.5581/1516-8484.20130011.

**Barham, & Trinder., 1972.** *Analyst*, 97, 142. Cité par fiche technique BIOMAGHREB. Réf. 20091.

**Barouki R., 2006.** Stress oxydant et vieillissement. *Medecine & Sciences* 22(3): 266-272.

**Bartsch, H., Nair, J., 2000.** New DNA-based biomarkers for oxidative stress and cancer chemoprevention studies. *Eur. J. Cancer* 36, 1229-1234.

**Baskin S.I and Salem H., 1994.** Oxidant, Antioxidant and Free Radicals. Academic press Inc. 363 (25-62).

**Beaudeux J.L and Dominique B.R., 2005.** Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Edition médicales. internationales p : 550.

**Beaumont. C., Karim. Z (Janvier 2013).** « Actualité du métabolisme du fer ». *La Revue De Médecine Interne* ; Vol.34 ; N°.1 ; p : 17-25.

**Beckman K and Ames B.N., 1997.** Oxidative decay of DNA. *J Biol Chem*, , 272 : 19633-19636.

**Belkheiri N., 2010.** Dérivés phénoliques à activité antiathérogènes .Thèse de 3ème cycle. *Université de Paul Sabatier*. Toulouse, France, 244 pages.

**Bentes de Souza AM, Wang CC, Chu CY, Briton-Jones CM, Haines CJ & Rogers MS., 2004.** In vitro exposure to carbon dioxide induces oxidative stress in human peritoneal mesothelial cells. *Hum Reprod* 19, 1281-1286.

**Bergmeyer, H.U., 1978.** *Clin Chem*, 24, 58-73. Cité par fiche technique BIOLABO. Réf. 80027.

**Berry, C.C., Wells, S., Charles, S., Aitchison, G., Curtis, A.S., 2004.** Cell response to dextran- derivatised iron oxide nanoparticles post internalisation. *Biomaterials* 25, 5405-5413.

**Berry, C.C., Wells, S., Charles, S., Curtis, A.S., 2003.** Dextran and albumin derivatised iron oxide nanoparticles: influence on fibroblasts in vitro. *Biomaterials* 24, 4551-4557.

**Blandine G., 2006.** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la Glisodin, Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, France. 159 pages.

**Bonnefont R D ;Thérond P ; Delattre J., 2003.** Radicaux libres et antioxydants. *Biochimie pathologique*. Flammarion, Paris. 317.

**Boots, A.W., Haenen, M.M., & Bast, A. 2008.** Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *Eur. J. Pharmacol.*, 585, 325-337. doi:10.1016/j.ejphar.2008.03.008.

- Bors W, Michel C and Stettmaier K., 2001.** Structure-activity relationship governing antioxidant capacities of plant polyphenols. *Methods in Enzymology* 335: 166-180.
- Bossy-Wetzel E, Newmeyer D, Green D., 1998.** Mitochondrial cytochrome c release in apoptosis occurs upstream of DEVD-specific caspase activation and independently of mitochondrial transmembrane depolarization. *EMBO Journal* 17:37-49.
- Bouhaddouda N., 2016.** Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local: *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. These Doctorat. Univ Annaba. 205pp.
- Boyaud, C., 2009.** Phytothérapie et vigilance : enquête auprès des pharmaciens *officinaux de l'Isère*. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Joseph Fourier, Grenoble.
- Bradford, M.M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Academic Press.*, 72(57), 248-254. doi:10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- Brooks, C., Wei, Q., Feng, L., Dong, G., Tao, Y., Mei, L., Xie, Z.J., Dong, Z., 2007.** Bak regulates mitochondrial morphology and pathology during apoptosis by interacting with mitofusins. *Proc Nat Acad Sci USA*.104:11649-11654.
- Brown J.E, Khodr H., Hider R.C., & Rice-Evans C.A., 1998.** Structural dependence of flavonoid interactions with Cu<sup>2+</sup> ions: implications for their antioxidant properties. *Biochem J*.330 (Pt 3):1173-1178.
- Browne, R.W., & Armstrong, D., 2000.** HPLC analysis of lipid derived polyunsaturated fatty acid peroxidation products in oxidatively modified human plasma. *Clinical Chemistry*, 46(6), 829-836.
- Bulte, J. W., Hoekstra, Y., Kamman, R. L., Magin, R. L., Webb, A. G., Briggs, R. W., Go, K. G., Hulstaert, C. E., & Miltenyi, S. T. H., 1992.** The, Specific MR imaging of human lymphocytes by monoclonal antibody-guided dextran-magnetite particles, *Magn. Reson. Med*, 25 (1), 148-157.
- Buyukhatipoglu, K., Clyne, A.M., 2011.** Superparamagnetic iron oxide nanoparticles change endothelial cell morphology and mechanics via reactive oxygen species formation. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 96. 186-195.

-C-

- Cable, E.E., Cable, J.W., Bonkovsky, H.L., 1993.** Repression of hepatic delta-aminolevulinate synthase by heme and metalloporphyrins: relationship to inhibition of heme oxygenase. *Hepatology*, 18(1), 119-127. doi: 10.1002/hep.1840180119.

- Calabrô ML, Tommasini S, Donato P, Raneri D, Stancanelli R, Ficarra P, Ficarra R, Costa C Catania S, Rustichelli C, Gamberini MC., 2004.** Effects of  $\alpha$ - and  $\beta$ -cyclodextrins complexation on the physicochemical properties and antioxydant activity of some 3-hydroxyflavones. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 35: 365-377.
- Cannas, C.; Gatteschi, D.; Musinu, A.; Piccaluga, G.; Sangregorio, C., J. Phys. Chem. B., 1998.** Structural and Magnetic Properties of  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  Nanoparticles Dispersed over a Silica Matrix. 102 (40), 7721.
- Cassarino D, Bennett Jr J., 1999.** An evaluation of the role of mitochondria in neurodegenerative diseases: mitochondrial mutations and oxidative pathology. Protective nuclear responses and cell death in neurodegeneration. *Brain Res Rev* 29: 1-25.
- Cedervall, T., Lynch, I., Lindman, S., Berggard, T., Thulin, E., Nilsson, H., Dawson, K.A., Linse, S., 2007.** Understanding the nanoparticle-protein corona using methods to quantify exchange rates and affinities of proteins for nanoparticles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 2050-2055.
- Charlotte Vichery., 2012.** Procédé de recuit protégé appliqué à des nanoparticules d'oxyde de fer : étude des relations structure / propriétés magnétiques. Matériaux. Ecole Polytechnique X, Français. 144p.
- Chattopadhyay, P., Besra, S.E., Gomes, A., Das, M., Sur, P., Mitra, S., Vedasiromoni, J.R., 2004.** Anti-inflammatory activity of tea (*Camellia sinensis*) , *Life sci*, 74(15), 1839-1849.
- Charlotte Vichery., 2012.** Procédé de recuit protégé appliqué à des nanoparticules d'oxyde de fer : étude des relations structure / propriétés magnétiques. Matériaux. Ecole Polytechnique X, Français. 144p
- Chen, D.; Xu, R., 1998.** Hydrothermal synthesis and characterization of nanocrystalline  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  powders. *Mater. Res. Bull.*, 33 (7), 1015.
- Christelle, N., 2006.** caractérisation de l'oxydation du fer ferreux en présence de deux bactéries ferro-oxydantes neutrophiles, du champ hydrothermal de loihi, hawaï. Thèse de mémoire. UDM. 151p.
- Chunfu, Z., Jinqian, C., Duanzhi, Y., Yongxian, W., Yanlin, F. and Jiaju, T., 2004.** Preparation and radiolabeling of human serum albumin (HSA)-coated magnetite nanoparticles for magnetically targeted therapy. *Applied Radiation and Isotopes*, 61(6): 1255.
- Cillard J and Cillard P., 2006.** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des antioxydatons. *OCL Vol 13n°1* : 24-29.
- Clayton DA and Doda JN., 2001.** Isolation of mitochondria from cells and tissues. Press

Beijing China 356-361.

**Closa, D., & Folch-Puy, E., 2004.** Oxygen free radicals and the systemic inflammatory response. *IUBMB Life*, 56(4), 185–191. doi: 10.1080/15216540410001701642.

**Comhair S.A, Erzurum S.C., 2000.** Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J Physio*. Vol 283:246-255.

**Cornell, R. M., Schwertmann, U., 2003.** The iron oxides: structure, properties, reactions, occurrences and uses, Second Edition, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.

**Cornell, R. M.; Schwertmann, U., 1996.** The iron oxides: structure, properties, reactions, occurrences, and uses. Wiley VCH.

**Croal, L.R., Johnson, C.M., Beard, B.L., and Newman, D.K., 2004.** Iron isotope fractionation by Fe(II)-oxidizing photoautotrophic bacteria. *Geochimica ET Cosmochimica Acta*, 68(6): 1227-1242.

**Cudennec, Y., Lecerf, A., 2005.** Topotactic transformations of goethite and lepidocrocite into hematite and maghemite, *Solid State Sciences*, 7(5): 520-529.

**-D-**

**Daou, T. J., 2007.** Synthèse et fonctionnalisation de nanoparticules d'oxydes de fer magnétiques. Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg.

**Datta M and Kaviraj A., 2003.** Acute Toxicity of the Synthetic Pyrethroid Deltamethrin to Freshwater Catfish *Clarias gariepinus* 296-299.

**Davermann D., Martinez M., McKoy J., Patel N., Averbeck D., Moore CW., 2002.** Impaired mitochondrial function protects against free radical-mediated cell death. *Free Radic Biol Med* 33(9) : 09-12.

**David A, Clayton S, Gerald S., 2014.** Isolation of Mitochondria from Tissue Culture Cells, *Cold Spring Harb Protocols*. Doi : 10.1101/080002.

**Delattre J., 2005.** Radicaux libres et stress oxydant ed : TECDOC. Londres-paris –new york.p :620.

**DeLeve, L., Kaplowitz, N., 1990.** Importance and regulation of hepatic GSH. *Sem Liver Dis*, 10, 251-266.

**Di Marco, M., Sadun, C., Port, M., Guilbert, I., Couvreur, P., Dubernet, C., 2007.** Physicochemical characterization of ultrasmall superparamagnetic iron oxide particles (USPIO) for biomedical application as MRI contrast agents, *International Journal of Nanomedicine*, 2(4): 609-622.

- Di Santo, A., Mezzetti, A., & Napoleone. E., 2003.** Resveratrol and quercetin downregulate Tissue factor expression by human stimulated vascular cells. *J Thromb Haemost*, 1,1089-1095. *toxicology*, 23 (1): 21-48.
- Droge K.S., 2002.** Free radicals in physiological control of cell function. *Physiol.Rev.* Vol 82 :47-95.
- Du Trémolet de Lacheisserie, E., 2000.** Magnétisme. I. 1. Fondements, EDP Sciences, Les Ulis.
- Durackova Z., Djrolo F., Hounbe H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N., Avimadj M., 2008.** Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. Mitochondrial medicine. Gvozdzjakova A (ed). P :19-43.

*-E-*

- E. Snitzer, H. Osterberg, J. Opt. Soc. Amer., 1961.** 51, p. 499.
- El-Bahr, S.M., 2007.** The protective effect of turmeric on iron overload in albino rats. *Egyptian Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 25(2), 94-113. doi: 10.4314/ejbmb.v25i2.35948.
- El-Demerdash F.M., Dewar Y., Elmazoudy R.H., Attia A.A., 2013.** Kidney antioxidant status, biochemical parameters and histopathological changes induced by methomyl in CD-1mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 65: 897-901.
- ELLEUCH H., (2008).** Le fer : métabolisme et explorations. *Annale de FAMS*. vol. 9(15): 1-17.
- El-Nekeety, A.A., El-Kady, A.A., Soliman, M.S., Hassan, N.S. et Abdel-Wahhab, M.A., 2009.** Protective effect of *Aquilegia vulgaris* (L.) against lead acetate-induced oxidative stress in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47(9). doi: 10.1016/j.fct.2009.06.019.
- Emerson, D., and Moyer, C.L., 2002.** Neutrophilic Fe-oxidizing bacteria are abundant at the Loihi Seamount hydrothermal vent and play a major role in Fe oxide deposition. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(6): 3085-3093.
- Ercal, N., Treeratphana, P., Lutz, P., Hammond, T.C., Richard, H., et Matthews, C., 1996.** IV-acetylcysteine protects Chinese hamster ovary (CHO) cells from lead-induced oxidative stress. *Toxicology*, 108(162): 57-64. doi:10.1016/S0300-483X(95)03273-I.
- Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jungens G. 1992.** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med* 13:341.

**Etsuo N., Yasukazu Y., Yashiro S and Noriko N., 2005.** Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects.4.

**-F-**

**Favier Alain., 2003.** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Mécanismes biochimiques. l'actualité chimique, p: 108-115.

**Feng Z ., Hu W and Tang M-s., 2004.** Trans-4-hydroxy-2-nonenal inhibits nucleotide excision repair in human cells: A possible mechanism for lipid peroxidation-induced carcinogenesis. 8598–8602 \_ PNAS . vol. 101 \_ no. 23: 8598-860.

**Ficarra R, Tommasini S, Raneri D, Calabrô ML, Di-Bella MR, Rustichelli C, Gamberini MC, Ficarra P., 2002.** Study of flavonoids/p cyclodextrins inclusion complexes by NMR, FT-IR, DSC, X-ray investigation. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 29: 1005-1014.

**FILLET G., 1978.** Le cycle de fer physiopathologie et exploration. Annale de FNRS. vol. 1(6) : 1-7.

**Fiorucci, S., 2006.** Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes: approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat en chimie, Université Nice-Sophia Antipolis, France.

**Flohe L et Gunzler W.1984.** Analysis of glutathione peroxidase, Methods Enzymol. P : 114–117.

**Fontaine E., 2007.** Radicaux libres et vieillissement. Cah Nutr Diét 42(2): 110-115.

**Formica, J.V, Regelson, W., 1995.**Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. Food Chem Toxicol;33:1061-1080.

**Freeman BA and Crapo JD., 1981.** Hyperoxia increases oxygen radical production in rat lungs and lung mitochondria. J Biol Chem 256: 10986-10992.

**Frenz, L.; El Harrak, A.; Pauly, M.; Bégin-Colin, S.; Griffiths, A. D.; Baret, J.-C., 2008.** Droplet-Based Microreactors for the Synthesis of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles. Angew. Chem. Int. Ed., 47 (36), 6817-6820.

**Fridovich I., 1995.** Superoxide radical and superoxide dismutase. *Annu Rev Biochem* 64: 97-112.

**Fusco D., Colloca G., Lo-Monaco MR., Cesari M., 2007.** Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clin Interv Aging* 2(3):77-87.

-G-

**GABRIELA C., VASIL E., DUMITRU C., COJOCAR U., COSTIC M., ELENA C., 2005.** L'étude de l'activité des quelques enzymes du stress oxydatif dans le tissu musculaire a des différents cyprinidés de culture. *Annale de SAUAC*. vol. 7(1) : 1-4.

**Galleano, M., Farre, S.M., Turrens, J.F., & Puntarulo, S., 1994.** Resistance of rat kidney mitochondrial membranes to oxidation induced by acute iron overload. *Toxicology*, 88, 141-149. doi:10.1016/0300-483X(94)90116-3.

**Gamet-Payraastre Laurence., 2011.** Effets physiopathologiques des mélanges de pesticides. Original Research Article *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. Volume 46, Issue 2: 82-85.

**Ganong, W. F., 2004.** *Physiologie médicale* (M. Jobin, Trad.). Bruxelles: De Boeck. (Œuvre originale publiée en 2003).

**Garait B., 2006.** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®. These Doctorat. University of Joseph Fourier - Grenoble 1. 198pp.

**Gbadegesin M.A., Owumi S.E., Akinseye V., Odunola O.A., 2014.** Evaluation of hepatotoxicity and clastogenicity of carbofuran in male Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*. 65: 115-119.

**Ge, Z., Zhang, P., Hong, T., Tang, S., Meng, R., Bi, Y., & Zhu, D., 2015.** Erythropoietin alleviates hepatic insulin resistance via PPAR $\gamma$ -dependent AKT activation. *Scientific*, 5, 1-11. doi: 10.1038/srep17878.

**Gérard, A., 2012.** *Histologie en Pratique*, Faculté de Médecine .p :14

**Gilchrist, R.K., Medal, R., Shorey, W.D., Hanselman, R.C., Parrot, J.C., & Taylor, C.B. 1957.** Selective inductive heating of lymph nodes. *Ann Surg*, 146, 596–606.

**Godoy JA, Lindsay C, Quintanilla RA, Carvajal FJ, Cerpa W, Inestrosa WC., 2016.** Quercetin Exerts Differential Neuroprotective Effects Against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and  $\alpha$ -Aggregates in Hippocampal Neurons: the Role of Mitochondria. *Mol Neurobiol*. Doi : 10.1007/s12035-016-0203-x

**Goetze, T., Gansau, C., Buske, N., Roeder, M., Gornert, P. and Bahr, M., 2002.** Biocompatible magnetic core/shell nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 252: 399.

- Guardia, P., Di Corato, R., Lartigue, L., Wilhelm, C., Espinosa, A., Garcia-Hernandez, M., Gazeau, F., Manna, L., Pellegrino, T., 2012.** Water-soluble iron oxide nanocubes with high values of specific absorption rate for cancer cell hyperthermia treatment, *ACS nano*, 6(4): 3080-3091.
- Guillaume J, Sarah S, Olivier Mh., 2010.** Combining naturally occurring polyphenols with TNF-related apoptosis-inducing ligand: a promising approach to kill resistant cancer cells? *Cellular and Molecular Life Sciences* Doi: 10.1007/s00018-010-04076.
- Gundabolu, K., Chen, H., Li, H., Shakaladevanapura, L., Bhagat, T.D., Vallumsetla, N., Ginzburg, Y., & Verma, A., 2013.** Inhibition of erythropoiesis by iron overload is mediated through TGF $\beta$  signaling. *Blood*, 122(21), 2787-2787.
- Gunnar, F., Nodberg, T., Bruce, A., Nodberf, F.W., & Friberg L., 2007.** Handbook on the toxicologie of metals. 3eme edition. Academic Press, 1024 p. ISBN: 978-0123694133.
- Gupta, A. K.; Gupta, M., 2005.** Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, 26 (18), 3995.
- Gupta, A.K., Berry, C., Gupta, M., Curtis, A., 2003.** Receptor-mediated targeting of magnetic nanoparticles using insulin as a surface ligand to prevent endocytosis. *IEEE Trans Nanobioscience* 2, 255-261.
- Gupta, A.K., Curtis, A.S., 2004.** Lactoferrin and ceruloplasmin derivatized super-paramagnetic iron oxide nanoparticles for targeting cell surface receptors. *Biomaterials* 25, 3029-3040..
- Gupta.,A.K., Gupta, M., 2005.** Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials* 26, 3995-4021.

-H-

- Habig H., Pabst MJ., Jacobi WB.1974.** The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J.Biol Chem* 249:7130-7136.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., & Chapelle, J.P., 2007.** Le stress oxydant. *Rev Med Liege*, 62(10), 628-638.
- Halliwell B., 2006.** Phagocyte-derived reactive species: salvation or suicide. *TRENDS in biochemical sciences*. Vol 31. n°9: 509-15.
- Ham A., Liebler C., 1995.** Vitamin E oxidation in rat liver mitochondria. *Biochemistry*. 34: 5754-5761.

- HARRIS A.L., 2002.** Hypoxia--a key regulatory factor in tumor growth. *Nat Rev Cancer*. 2 (1): P.p. 38-47.
- Hasany, S. F., Ahmed, I., Rajan, J., Rehman, A., 2012.** Systematic review of the preparation techniques of iron oxide magnetic nanoparticles, *Nanoscience and Nanotechnology*, 2(6): 148-158.
- Henry, R.J., 1960.** *Am J clin Path.*, 34, 381-398. Cité par fiche technique BIOLABO. Réf. 80025.
- Herbert, L., Bonkowsky, H.L., Sinclair, P.R., & Sinclair, J.F., 1979.** Hepatic heme metabolism and its control. *The Yale journal of biology and medicine*, 52, 13-37.
- Hillyer, J.F., Albrecht, R.M., 2001.** Gastrointestinal persorption and tissue distribution of differently sized colloidal gold nanoparticles. *J Pharm Sci* 90, 1927-1936.
- Hofmanni, A., mtenbrink, M., Hofmann, H., & Montet, X., 2010.** Superparamagnetic Nanoparticles I a tool for early diagnostics. *Swiss Med Wkly*. Sep 17; 140: w13081. doi: 10.4414/smw. 2010. 13081.
- Hong, S., Leroueil, P.R., Janus, E.K., Peters, J.L., Kober, M.M., Islam, M.T., Orr, B.G., Baker, J.R., Jr., Banaszak Holl, M.M., 2006.** Interaction of polycationic polymers with supported lipid bilayers and cells: nanoscale hole formation and enhanced membrane permeability. *Bioconjug Chem* 17, 728-734.
- Houlot R., 1984.** *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie*. Ed. Maloine. 1921, 225 227.
- Houston MC., 2007.** The role of mercury and cadmium heavy metals in vascular disease, hypertension, coronary heart disease, and myocardial infarction. *Altern Ther Health Med* 13, S128-133.
- Hu Y, Block G, Norkus EP, Morrow JD, Dietrich M & Hudes M., 2006.** Relations of glycemic index and glycemic load with plasma oxidative stress markers. *Am J Clin Nutr* 84, 70-76; quiz 266-267.
- Hui, L., Lei, Z., Shaoping, L., 2012.** Evaluation of Antioxidant and Immunity Activities of Quercetin in Isoproterenol-Treated Rats. *ISSN*. 17, 4281-4291.
- Hussain, S.M., Hess, K.L., Gearhart, J.M., Geiss, K.T., Schlager, J.J., 2005.** In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicol. In Vitro* 19, 975–983.
- Hutchison, T.A., Shahan, DR., Anderson, ML., 2000.** Drugdex System. Englewood, CO; Micromedex Inc. Expires: December.

- I.M. Thomas., 1994.** Optical coating fabrication. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Igarashi, K., & Ohmuma, M., 1995.** Effects of isorhamnetin, rhamnetin, and quercetin on the concentrations of cholesterol and lipoperoxide in the serum and liver and on the blood and liver antioxidative enzyme activities of rats. *Biosci Biotechnol Biochem*, 59, 595-601. doi: 10.1271/bbb.59.595.
- Insel, P., Ross, D., McMahon, K., & Bernstein ,M. 2011.** Nutrition (4è éd.). USA: Jones and Bartlett publishers.
- Ito, A., Shinkai, M., Honda, H., Kobayashi, T., 2005.** Medical application of functionalized magnetic nanoparticles, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100(1): 111.

*-J-*

- J. Livage, M. Henry, C. Sanchez, Prog. Solid. St. Chem., 1988.** 18, p.259.
- Jani, P., McCarthy, D., Florence, A. T., 1994.** Titanium dioxide (rutile) particle uptake from the rat GI tract and translocation to systemic organs after oral administration. *International journal of pharmaceutics* 105, 157-168.
- Jenkins A.J., Hill M.A. and Rowley K.G. 2007.** Diabetes and Oxidant Stress. *Atherosclerosis and Oxidant Stress. A New Perspective.* Holtzman J.L (ed).p123-160.

*-K-*

- Kakkar, P., Das, B., Viswanathan, P., 1984.** A modified spectrophotometric assay of superoxide dismutase. *Indian J. Biochem. Biophys.* 21, 130.
- Kamada, C., Silva, E.L., Ohnishi-Kameyama, M., Moon, J.H., Terao, J., 2005.** Attenuation of lipid peroxidation and hyperlipidemia by quercetin glucoside in the aorta of high cholesterol-fed rabbit. *Free Radic Res*, 39, 185-194.  
doi: 74 10.1080/10715760400019638106.
- Kandori, K. (2006).** Iron oxide particles (2è éd.). Somasundaran, P. (Ed.) (2008).
- Kansal, L., Sharma, V., Sharma, A., Lodi, S., et Sharma, S.H., 2011.** Protective role of coriandrum sativum (coriander) extracts against lead nitrate induced oxidative stress and tissue damage in the liver and kidney in male mice. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2: 65-82. En ligne [http://www.ijabpt.org/applied-biology/protective-role-of-coriandrum-sativumcoriander-extractsagainst-lead-nitrate induced-oxidative-stress-and-tissuedamage-inthe-liver-and-kidney-in-male-mice.pdf](http://www.ijabpt.org/applied-biology/protective-role-of-coriandrum-sativumcoriander-extractsagainst-lead-nitrate-induced-oxidative-stress-and-tissuedamage-inthe-liver-and-kidney-in-male-mice.pdf).

- Kehrer J.P., 1993.** Free radicals as mediators of tissue injury and disease. Critical review in toxicology, 23 (1): 21-48.
- Khan, M.I., Mohammad, A., Patil, G., Naqvi, S.A., Chauhan, L.K., Ahmad, I., 2012.** Induction of ROS, mitochondrial damage and autophagy in lung epithelia.
- Kim, D., El-Shall, H., Dennis, D. and Morey, T., 2005.** Interaction of PLGA nanoparticles with human blood constituents. Colloid Surface B, 40(2): 83.
- Kong, B., Seog, J.H., Graham, L.M., Lee, S.B., 2011.** Experimental considerations on the cytotoxicity of nanoparticles. Nanomedicine 6, 929-941.
- LeBel, C.P., Bondy, S.C., 1990.** Sensitive and rapid quantitation.
- Koppenol W. H., 2001.** 100 years of peroxynitrite chemistry and 11 years of peroxynitrite biochemistry. Redox Rep.; 6(6) : 339-41.
- Kreuter, J., 2005.** Application of nanoparticles for the delivery of drugs to the brain. International Congress Series, 1277: 85.
- Kreyling WG, Semmler M, Erbe F, Mayer P, Takenaka S, Schultz H et al., 2002.** Translocation of ultrafine insoluble iridium particles from lungs epithelium to extrapulmonary organs in size dependent but very low. J Tox Environ Health 65 (20) : 1513-1530.
- Kubo, I., 1992.** J. Agric. Food Chem., 40, 245-248.
- Kumar, P., Sharma, S., Khanna, M., and Raj, H.G., 2003.** Effect of Quercetin on lipid peroxidation and changes in lung morphology in experimental influenza virus infection. Int J Exp Pathol. 84:127-133.

-ℒ-

- Lacava, L.M., Lacava, Z.G.M., Azevedo, R.B., Chaves, S.B., Garcia, V.A.P., Silva, O., Pelegrini, F., Buske, N., Gansau, C., Da Silva, M.F. and Morais, P.C., 2002.** Use of magnetic resonance to study biodistribution of dextran-coated magnetic fluid intravenously administered in mice. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 252: 367.
- Lacava, L.M., Lacava, Z.G.M., Azevedo, R.B., Chaves, S.B., Garcia, V.A.P., Silva, O., Pelegrini, F., Buske, N., Gansau, C., Da Silva, M.F. and Morais, P.C., 2002.** Use of magnetic resonance to study biodistribution of dextran-coated magnetic fluid intravenously administered in mice. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 252: 367.

- Lacoue- Labarthe., Thomas., 2007.** Incorporation des métaux dans les oeufs de la seiche commune *Sepia officinalis* et effets potentiels sur les fonctions digestives et immunitaires. Thèse de doctorat: Océanologie Biologique & Environnement Marin., 200 p.
- Lahmani, M., Bréchignac, C., Houdy, P., 2012.** Les nanosciences. 2. Nanomatériaux et nanochimie, Deuxième Edition, Belin, Paris.
- Lakhal, R., 2016.** Nouveau procédé d'élaboration de micro et nanoparticules d'oxyde de fer en voie sèche: caractérisation, étude du procédé et proposition d'un mécanisme réactionnel. Thèse doctorat, INP. Toulouse, 384p.
- Landrigan, P.J., Br Ind, J.M., 1989.** Editorial toxicity of lead at low dose. *British journal of industrial medicine*, 46(9): 593-596. En ligne: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1009833/pdf/brjindmed00137\\_0001.pdf](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1009833/pdf/brjindmed00137_0001.pdf).
- Larsen, K., 1972.** *Clin. Chim. Acta*, 66, 209. Cité par fiche technique BIOMAGHREB. Réf. 20151.
- Lavrovsky, Y., 2000.** Role of redox-regulated transcription factors in inflammation, aging and age-related diseases. *Exp Gerontol*, 35(5): p. 521-32.
- Leclerc PL., 2012.** Elaboration de nanoparticules de protéines de lactosérum comme système d'administration de quercétine en système gastro-intestinal. Thèse doctorat en Sciences et technologie des aliments (Ph.D.) Université Laval Québec. 12-44, 57-110
- Lee, Y.; Lee, J.; Bae, C. J.; Park, J. G.; Noh, H. J.; Park, J. H.; Hyeon, T., 2005.** Large-scale synthesis of uniform and crystalline magnetite nanoparticles using reverse micelles as nanoreactors under reflux conditions. *Adv. Funct. Mater*, 15 (3), 503-509.
- Lei, L., Ling-Ling, J., Yun, Z., & Gang, L., 2013.** Toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Research strategies and implications for nanomedicine. *Chin. Phys. B*, 22(12), 1-10. doi: 10.1088/1674-1056/22/12/127503.
- Lekic N, Canova N, Horinek A, & Farghali, H., 2013.** The involvement of heme oxygenase 1 but not nitric oxide synthase 2 in a hepatoprotective action of quercetin in lipopolysaccharide-induced hepatotoxicity of D-galactosamine sensitized rats. *Fitoterapia*, 87: 20-26. doi:10.1016/j.fitote.2013.03.016.
- Leonov, I.; Yaresko, A. N., 2007.** On the Verwey charge ordering in magnetite. *J. Phys.: Condens. Matter*, (2), 021001.
- Levine R.L., Garland D., Oliver C.N., Amici A., Climent I., Lenz A.G., Ahn B.W., Shaltiel S., Mc Cord JM., 2000.** The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med*. 108: 652-659.
- Lévy, L.P., 1997.** Magnétisme et supraconductivité, EDP Sciences, Les Ulis.

- Li, T., Zhao, X-P., Wang, L-Y., Gao, S., Zhao, J., Fan, Y-C., & Wang, K., 2013.** Glutathione S-transferase P1 correlated with oxidative stress in hepatocellular carcinoma. *Int Med Sci*, 10(6), 683-690. doi:10.7150/ijms.5947.
- Li, Y.F &Chen, C., 2011.** Fate and toxicity of metallic and metal-containing nanoparticles for biomedical applications. *Small* 7:2965-2980
- Lin MT and Beal MF., 2006.** Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neuro-degenerative diseases. *Nat* 787-95.
- Lin, E., & Adams, P.C., 1991.** Biochemical liver profile in hemochromatosis. A survey of 100 patients. *J Clin Gastroenterol.* 13(3), 316-320.
- Liu, J., Li, X., Yue, Y., Li, J., and He, Y., 2005.** The inhibitory effect of quercetin on IL-6 production by LPSstimulated neutrophils. *Cell Mol Immunol.* 2: 455-460.
- Lozoya, X., Meckes, M., Abou-Zaid, M., Tortoriello, J., Nozzolillo, C & Arnason, J.T., 1994.** Quercetin glycosides in Psidium guajava L. leaves and determination of a spasmolytic principle. *Arch Med Res Spring*; 25(1):11-15.
- Lucie Armand., 2011.** Effet des nanoparticules de dioxyde de titane sur les métalloprotéases, **Laurent. S, D. Forge, M. Port, A. Roch, C. Robic, L. V. Elst, and R. N. Muller., 2008.** "Magnetic iron oxide nanoparticules : synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications," *Chem. Rev.*, vol. 108, pp. 2064-2110, influence des paramètres physicochimiques. *Toxicologie. AgroParisTech. Français.* 253p.

-M-

- Ma, P., Luo, Q., Chen, J., Gan, Y., Du, J., Ding, S., Xi, Z., Yang, X., 2012.** Intraperitoneal injection of magnetic Fe(3)O(4)-nanoparticle induces hepatic and renal tissue injury via oxidative stress in mice. *Int J Nanomedicine* 7, 4809-4818.
- Mac Key, E.M., Rackeyll, J., 1927.** *Clin. Invest, J. Clin. Invest.*, 4, 295. Cité par fiche technique BIOMAGHREB. Réf. 20141.
- Mac Laren D., 2007.** Advances in sports and exercise science series. Nutrition and Sport. Antioxidants and free radicals by Close GL and Mc Ardle F. Elsevier.
- Maged Younes., 1999.** Free Radicals and Reactive Oxygen Species. International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva, Switzerland. Academic Press. p 111-117.

- Maghzal GJ, Krause KH, Roland SR, Jaquet V., 2012.** Detection of reactive oxygen species derived from the family of NOX NADPH oxidases. *Free Radical Biology and Medicine* 53: 1903-1918.
- Mahdavi, M., Ahmad, M. B., Haron, M. J., Namvar, F., Nadi, B., Ab Rahman, M. Z., Amin, J., 2013.** Synthesis, surface modification and characterisation of biocompatible magnetic iron oxide nanoparticles for biomedical applications, *Molecules*, 18(7): 7533-7548.
- Maiese, K., Li, F., & Chong, Z.Z., 2005.** New Avenues of Exploration for Erythropoietin. *JAMA*, 293(1), 90-95. doi:10.1001/jama.293.1.90.
- Maiese, K., Li, F., & Chong, Z.Z., 2005.** New Avenues of Exploration for Erythropoietin. *JAMA*, 293(1), 90-95. doi:10.1001/jama.293.1.90.
- Mainous, A.G., Knoll, M.E., Everett, C.J., Matheson, E.M., Hulihan, M.M., & Grant, A.M., 2011.** Uric acid as a potential cue to screen for iron overload. *J Am Board Fam Med*, 24, 415-421. doi: 10.3122/jabfm.2011.04.110015.
- Manasa, K., & Vani. R., 2016.** Influence of oxidative stress on stored platelets. *Advances in Hematology*, 1-6. doi. 10.1155/2016/4091461.
- Manouchehri MJ, Kalafatis M and Lindner D., 2016.** Evaluation of the efficacy of TRAIL plus quercetin as a potential breast carcinoma therapeutic. Doi : 10.1158/1538-7445.
- Mao GO et Paznausky HJ., 1992.** Electron spins resonance study on the permeability of superoxide radicals in lipid bilayers and biological membranes. *PEBSlett* 305 (3): 3-6.
- Marcu, A., Pop, S., Dumitrache, F., Mocanu, M., Niculite, C. M., Gherghiceanu, M., Lungu, C. P., Fleaca, C., Ianchis, R., Barbut, A., Grigoriu, G., Morjan, I., 2013.** Magnetic iron oxide nanoparticles as drug delivery system in breast cancer, *Applied Surface Science*, 281: 60-65.
- Martfnez-Cayuela M., 1995.** Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie* 77: 147-161.
- Massart, R., 1981.** Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acidic media. *IEEE Trans. Magn*, 17 (2), 1247.
- Mates J.M, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I., 1999.** Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*. Vol 32:595-603.
- McGuire, M., & Beerman, K.A. 2013.** Nutritional sciences: From fundamentals to food (3è éd.). USA: Wadsworth, CENGAGE learning.
- Mete Tanir, H., Turgay, S., Mine, I., Fahrettin, A., Kubilay, U., Ergul, S., 2005.** Effect of quercetine and glutathione on the level of superoxide dismutase, catalase, malonyldialdehyde, blood pressure and neonatal outcome in a rat model of pre-eclampsia

induced by NG-nitroL-arginine-methyl ester. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 118, 190-195.

**Migdal, C. and Serres, M., 2011.** "[Reactive oxygen species and oxidative stress]." *Med Sci (Paris)* 27(4): 405-412.

**Mira, L., (2002).** *Free Radical. Res.*, 36, 1199-1208.

**Mirkovic B., Lah-Turnsek T., Kos J., 2010.** Nanotechnology in the treatment of cancer. *Annale d'INRS*. vol. 79(15) : 1-15.

**Moller P, Wallin H & Knudsen LE., 1996.** Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. *Chem Biol Interact* 102, 17-36.

**Montel-Hagen, A., Sitbon, M., & Taylor, N., 2009.** Erythroid glucose transporters. *Curr Opin Hematol*, 16(3), 165-172. doi: 10.1097/MOH.0b013e328329905c.

**Moore, A., Weissleder, R., Bogdanov, A., Jr., 1997.** Uptake of dextran-coated monocrystalline iron oxides in tumor cells and macrophages. *J Magn Reson Imaging* 7, 1140-1145.

**Mueller, R. H., Maassen, S., Weyhers, H., Specht, F., Lucks, J. S., 1996.** Cytotoxicity of magnetite-loaded polylactide, polylactide/glycolide particles and solid lipid nanoparticles. *Int J Pharm* 138, 85-94.

**Mule MB, Lomte VS., 1994.** Effect of heavy metals (CuSO<sub>4</sub> and HgCl<sub>2</sub>) on the oxygen consumption of the freshwater snail *Thiara tuberculata*. *J Environ Biol*; 15: 263-8.

## *-N-*

**Nadour, E.H., 2012.** Synthèse par Co- précipitations d'un oxyde mixte de fer et de chrome et caractérisation physico-chimique. Thèse magister, UMM. Tizi-Ouzou, 65p.

**Najafi , L., Babadi,VY., Najafi, A., Gholami, H., Beigi Zarji,ME., Golzadeh, J., Amraie, E., et Shirband, A., 2012.** Evaluation of iron oxide nanoparticles effects on tissue and enzymes of liver in rats. *JPBMS*, 23 (04).

**Naqvi, S., Samim, M., Abdin, M., Ahmed, F.J., Maitra, A., Prashant, C., & Dinda, A .K., 2010.** Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by Increased oxidative stress. *Int J Nanomedicine*.16;5:983-9.

**Narbonne JF., 1994.** Toxicité de l'oxygène et bioindicateurs. *Anal Mag*, 22 : 16-7.

**Naziroglu, M., Uguz, A.C., Kocak, A., Bal, R., 2009.** Acetaminophen at different doses protects brain microsomal Ca<sup>2+</sup> -ATPase and the antioxidant redox system in rats. *J. Membr Biol* 231:57-64.

**Nefzger, M., Kreuter, J., Voges, R., Liehl, E., Czok, R., 1984.** Distribution and elimination of polymethyl methacrylate nanoparticles after peroral administration to rats. *J Pharm Sci* 73, 1309-1311.

**Neuwelt, E.A., Weissleder, R., Nilaver, G., Kroll, R.A., Roman-Goldstein, S., Szumowski, J., Pagel, M.A., Jones, R.S., Remsen, L.G., McCormick, C.I., et al., 1994.** Delivery of virus- sized iron oxide particles to rodent CNS neurons. *Neurosurgery* 34, 777-784.

**Ngomsik, A. F., Bee, A., Draye, M., Cote, G., Cabuil, V., 2005.** Magnetic nano-andmicroparticles for metal removal and environmental applications: a review. *Comptes Rendus Chimie* 8, 963-970.

**Nicolosi R.J., Lawton C.W and wilson T.A., 1999.** Vitamin E reduced plasma LDL-C, LDL oxidation, and early aortic atherosclerosis compared with black tea in hypercholesterolemic Hamsters. *Nutrition research* vol 19 n 8:1201-1214.

**Nijveldt RJ, Nood VE, Van Hoom DE, Boelens PG, Van Norren K, Van Leeuwen PA., 2001.** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition* 74: 418-425.

**-O-**

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

**Olivier, W., 2011.** Risques liés aux nanoparticules et aux nanomatériaux. *Annale de l'INRS*. vol. 19(1-4) : 1-90.

**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.

**Özdemir, Ö.; Dunlop, D. J.; Moskowitz, B. M., 1993.** The effect of oxidation on the Verwey transition in magnetite. *Geophys. Res. Lett*, 20 (16), 1671.

**-P-**

**P. Tartaj, M. P. Morales, S. Veintemillas-Verdaguer, T. Gonzalez-Carreño, and C. J. Serna., 2003.** “The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine,” *J. Phys. D: Appl. Phys.*, vol. 36, pp. R182–R197.

- Pankhurst, Q., Connolly, A.J., Jones, S. K., & Dobson, J., 2003.** Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine, *J. Phys. D: Appl. Phys*, 36, 167-181.
- Picon, L., 1992.** Alimentation et santé. Alimentation et pathologie. Dupin, H., Cuq, J-L., Malewiak, M-I., Leynaud-Rouaud, C., Berthier, A-M. (Eds.). Alimentation et santé. Paris: ESF éditeur.
- Pietrangelo, A., Engl, N., Med, J., 2004.** HFE related hemochromatosis. 766-790.
- Pratt, D.S., & Kaplan, M.M., 2000.** Evaluation of abnormal liver-enzyme results in a symptomatic patients. *The New England Journal of Medicine*, 342, 1266-1271. doi: 10.1136/pmj.79.932.307.Publisher. 29- 48.
- Pretorius, E., Vermeulen, N., Bester, J., Plooy, J.L., & Gericke, G.S., 2014.** The effect of iron overload on red blood cell morphology. *Lancet*, 383, 722. doi: 10.1016/S0140-6736(13)61208-8.
- Priyadarsini K. I., 2005.** Molecular Mechanisms Involving Free Radical Reactions of Antioxidants and Radioprotectors. Founder's Day Special Issue : 1-6.
- Puppi, J., Mitry, R.R., Modo, M., Dhawan, A., Raja, K., Hughes, R.D., 2011.** Use of a clinically approved iron oxide MRI contrast agent to label human hepatocytes. *Cell Transplant* 20, 963-975.
- Putnam C., Arvai S., Bourne Y., Tainer J., 2000.** Active and inhibited human catalase structures: ligand and NADPH binding and catalytic mechanism. *J Mol Biol.* 296: 295-309.

- Q -

- Q. A. Pankhurst, N. K. T. Thanh, S. K. Jones, and J. Dobson., 2009.** "Progress in applications of magnetic nanoparticles in biomedicine," *J. Phys. D : Appl. Phys.*, vol. 42, p. 224001.

- R -

- Raghupathy, R., Manwani, D., & Little, J.A., 2010.** Iron Overload in Sickle Cell Disease. *Advances in Hematology*, 2010, 1-9. doi:10.1155/2010/272940.
- Reckziegel, P., Dias, V.T., Benvegnú, D.M., Bouffleur, N., Barcelos, R.C., Segat, H.J., Pase C.S., Santos, C.M., et Bürger, M.E., 2016.** Antioxidant protection of gallic acid against toxicity induced by Pb in blood, liver and kidney of rats, *Toxicology reports*.

**Rees M.D., Kennett E.C., Whitelock J.M and Davies M.J., 2008.** Oxidative damage to extracellular matrix and its role in human pathologies. *Free radical biology & Medicine* 44: 1973-20010.

**Rennke, H.G., & Denker, B.M., 2007.** Renal pathophysiology: The essentials (2è éd.). USA: Lippincott Williams & Wilkins.

**Rodríguez JL, Ares IV, Castellano M, Martínez MR, Martínez A, Anadónn MA., 2016.** Effects of exposure to pyrethroid cyfluthrin on serotonin and dopamine levels in brain regions of male rats. *Envi Research Environmental Research* 146(7): 388-394.

**Romero A, Ramos E, Castellano V, Martínez MA, Ares I, Martínez M, Martínez-Larrañaga MR, Anadón A., 2012.** Cytotoxicity induced by deltamethrin and its metabolites in SH-SY5Y cells can be differentially prevented by selected antioxidants. *Toxicol In Vitro* 26: 823-830.

**Romero A, Ramos E, Castellano V, Martínez MA, Ares I, Martínez M, Martínez-Larrañaga MR, Anadón A., 2012.** Cytotoxicity induced by deltamethrin and its metabolites in SH-SY5Y cells can be differentially prevented by selected antioxidants. *Toxicol In Vitro* 26: 823-830.

**Rosalki, S., 1993.** *Clin Chem*, 39(4), 648-652. Cité par fiche technique SPINREACT. Réf. 1001130.

**Roussel A., Hininger-Favier I., 2009.** Éléments-trace essentiels en nutrition humaine : chrome, sélénium, zinc et fer. EMC, Elsevier Masson SAS, Paris, Endocrinologie- Nutrition. 21: 213-214.

**Rustin P, Chrétien D, Bourgeron T, Gérard B, Rotig A, Munnich A., 1994.** Biochemical & mol investigation in respiratory chain deficiencies. *Clin Chem Acta* 35-51.

**Rymer J-C., janvier-février 1996.** « Aspects récents du métabolisme du fer; les outils biochimiques-:" de son exploration» *Hématologie*. Vol. 2, N°1 : 45-56.

-S-

**Sagesak, Y.M., Uemura, T., Watanabe, N., Sakata, K., Uzawa, J., 1994.** A new glucuronide saponin from tea leaves (*Camellia sinensis* var. *sinensis*). *Biosci Biotech Biochem*, 58(11), 2036-2040.

**Sakao K, Fujii M, Hou DX., 2009.** Clarification of the role of quercetin hydroxyl groups in superoxide generation and cell apoptosis by chemical modification. *Biosci Biotechnol Biochem* 73: 2048-2053.

- Sally, A., Tice, R. P. H., Dean Parry, R. P., 2001.** Medications that need hepatic Monitoring. *Hospital Pharmacy*; 36 (4): 456-64.
- Salvayre A.N et Salvayre R., 2005.** Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif: implication en physiopathologie vasculaire. *OCL*. Vol 12 n° 5 : 433-438.
- Sánchez-Valle, V., Chávez-Tapia, N.C., Uribe, M., & Méndez-Sánchez, N., 2012.** Role of oxidative stress and molecular changes in liver fibrosis. *Curr Med Chem.*, 19(28), 4850-4860. doi: 10.2174/092986712803341520
- Sara BELATTAR., 24 novembre 2009.** Réactivités thermiques et photochimiques du fer en solution aqueuse vis-à-vis de molécules organiques en phase homogène et hétérogène; MAGISTER EN CHIMIE, p: 134.
- Sashindran R, Balasundaram M, Jegathambigai R and Kumar P., 2015.** Evaluation of Neuroprotective effect of Quercetin and coenzyme q10 in ethanol induced neurotoxicity in mice. *IJABPT* 67-71pp.
- Scalbert, A., et al., 2002.** Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56, 276-282. doi:10.1016/S0753- 3322(02)00205-6
- Schetz, M., Vanhorebeek, I., Gunst, J., & Berghe, G.V. 2010.** Glucose, insulin, and the kidney. Jorres, A., Ronco, C., & Kellum, J.A. (Eds.). *Management of acute kidney problems*. Berlin: Springer.
- Schmitt B., Ferry C., Daniel N., Weill P., Kerhoas N et Legand P., 2006.** Effet d'un régime riche en acides gras  $\omega 3$  et en CLA9-cis, 11 trans sur l'insulinorésistance et les paramètres du diabète de type 2. *OCL* Vol 13n°1 : 70-75.
- Scholz, H., Schurek, H.J., Eckardt, K.U., & Bauer, C., 1990.** Role of erythropoietin in adaptation to hypoxia. *Experientia*, 46(11-12), 1197-1201. doi: 10.1007/BF01936936
- Schwertmann U., Cornel R.M., 1991.** *Iron Oxides in the laboratory- preparation and characterization*, edition VCH.
- shen Y., 2009-** Preparation and application of magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles for wastewater purification. *Annale de SPT*. vol. 68(3) : 1-8.
- Shu-jun, C., 2002.** *Tea Bioactivity and Therapeutic Potential*. CRC Press. 192- 210.
- Sies H., 1991.** Role of reactive oxygen species in biological processes. *Klin Wochenschr* 69 : 8-10.
- Simon, P., Joner, E., (2008).** Conceivable interactions of biopersistent nanoparticles with food matrix and living systems following from their physicochemical properties. *Journal of Food and Nutrition Research* 47, 51-59.

**Singh, N., Jenkinsa, G.J.S., Asadib, R., & Doaka, S.H., 2010.** Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). *Nano Reviews*,1, 1-15. doi: 10.3402/nano.v1i0.5358.

**Smeltzer, S.C., Bare, B., Hinkle, J.L., & Cheever, K.H., 2010.** Brunner & Suddarth's textbook of medical-surgical nursing. USA: Lippincott Williams & Wilkins.

**Stevnsner T., Tharslund T., Desouza-pinto N., Boher V., 2002.** Mitochondrial repair of 8-oxoguanine and changes with aging. *Exp. Gerontol.* 37: 1189-1196.

**Straub, K.L., Benz, M., & Schink, B., 2001.** Iron metabolism in anoxic environments at near neutral pH. *FEMS Microbiology Ecology*, 34, 181-186. doi: 10.1016/S0168-6496(00)00088-X.

**Szalay, B., Tátrai, E., Nyíró, G., Vezérb, T., & Duraa, G., 2012.** Potential toxic effects of iron oxide nanoparticles in in vivo and in vitro experiments. *J. Appl. Toxicol*, 32(6), 446-453. doi: 10.1002/jat.1779.

-T-

**Teeguarden, J.G., Mikheev, V.B., Minard, K.R., Forsythe, W.C., Wang, W., Sharma, G., Karin, N., Tilton, S.C., Waters, K.M., Asgharian, B., Price, O.R., Pounds, J.G., & Thrall, B.D. 2014.** Comparative iron oxide nanoparticle cellular dosimetry and response in mice by the inhalation and liquid cell culture exposure routes. *Particle and Fibre Toxicology*, 11(46), 1-18. doi: 10.1186/s12989-014-0046-4.

**Terao, J., & Piskula, M.K., 1999.** Flavonoids and membrane lipid peroxidation inhibition. *Nutrition*. 15:790-791.

**Thomas S.R and Stocker R., 1999.** Molecular action of vitamin E in lipoprotein oxidation: implication for atherosclerosis. *Free radical biology & medicine*. Vol 28:1795-1805.

**Tim V., 2009.** Radical chain reaction mechanism of lipid peroxidation. *J Am Med Inform Assoc*. 16(4):471-9.

**Trachootham D, Alexandre J, Huang P., 2009.** Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? *Nat Rev Drug Discov.*, vol. 8, n° 7, p. 579-91.

**Tratner I., 2003.** Chacun souhaite vivre longtemps, mais personne ne veut être vieux. *Médecine/Sciences* n°12. Vol 19 :1291-1292.

**Tremellen K., 2008.** Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. *Hum Reprod Update.*, 14: 243-258.

**Troy Seidle, Sally Robinson, Tom Holmes, Stuart Creton, Pilar Prieto, Julia Scheel, and Magda Chlebus., 2010.** Cross-Sector Review of Drivers and Available 3Rs Approaches for Acute Systemic Toxicity Testing. *Toxicol Sci.* 116(2): 382–396.

**Turner K, Lindner D and Kalafatis M., 2016.** Sensitization of malignant melanomas to TRAIL-induced apoptosis by quercetin. Doi: 10.1158/1538-7445.

-v-

**Uzcu, A., Bahceci, M., Yilmaz, E., Bahceci, S., & Tuzcu, S., 2004.** The comparison of insulin sensitivity in non-diabetic hemodialysis patients treated with and without recombinant human erythropoietin. *Hormone and Metabolic Research*, 36, 716-720. doi:10.1055/s-2004-826021.

-v-

**Vaishnav, D., Holkar, S., & Hivre, M., 2015.** Serum bilirubin as a marker of oxidative stress in patients with hypertension. *Int J Health Sci Res.*, 5(5), 190-194.

**Valko M, Morris H & Cronin MT., 2005.** Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem* 12, 1161-1208.

**Valko M, Rhodes Cl, Moncol 1, Izakovic M & Mazur M., 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 160, 1-40.

**Vamecq J, Vallée L, Storme L, Gelé P, Bordet R., 2004.** Les acteurs immédiats du stress oxydatif: Key players in oxidative stress. *La lettre de Pharmacologie* 18(1) :11.

**Vayenas, D.V., Repanti, M., Vassilopoulos, A., & Papanastasiou, D.A., 1998.** Influence of iron overload on manganese, zinc, and copper concentration in rat tissues in vivo: study of liver, spleen, and brain. *Int J Clin Lab Res*, 28(3), 183-186.

**Vergely C and Rochette L., 2005.** Le stress oxydatif : Les radicaux libres, des composés à fonction biologique méconnue : à côté de leur action physiopathologique, ce sont des régulateurs avant d'être des destructeurs. *Affections Métaboliques AMC pratique* 114: 28-30.

**Victor VM, Rocha M, Banuls C, Sanchez-Serrano M, Sola E, Hernandez-Mijares A., 2009.** Mitochondrial complex I impairment in leukocytes from PCOS patients with insulin resistance. *J Clin EndocrinolMetab.* 94: 3505-3512.

**Vivekananthan D.P., Penn M.S., Sapp S.K., Hsu A and Topol E.J., 2003.** Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials. *The lancet.* Vol 36: 2017-2023.

**-W-**

- Wagstaff, A. J., Brown, S. D., Holden, M. R., Craig, G. E., Plumb, J. A., Brown, R. E., Schreiter, N., Chrzanowski, W., Wheate, N. J., 2012.** Cisplatin drug delivery using gold-coated iron oxide nanoparticles for enhanced tumour targeting with external magnetic fields, *Inorganica Chimica Acta*, 393: 328-333.
- Walters, M., & Gerarde, H., 1970.** *Microchem J*, 15, 231-243. Cité par fiche technique BIOLABO. Réf. 80403.
- Wan, J.; Cai, W.; Meng, X.; Liu, E., 2007.** Monodisperse water-soluble magnetite nanoparticles prepared by polyol process for high-performance magnetic resonance imaging. *Chem. Commun*, (47), 5004-5006.
- Wang, J., Zhou, G., Chen, C., Yu, H., Wang, T., Ma, Y., Jia, G., Gao, Y., Li, B., Sun, J., Li, Wautier J -L et David B., septembre-octobre., 2003.** « Conséquences à moyen et long terme des transfusions » *Hématologie*. Vol. 9, n05: 419-23.
- Wassmann, S. Wassmann, K. Nickenig, G., 2004.** Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hyperten*. Vol 44: 381-386.
- Weckbeker G et Cor J. 1988.** Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letter* 40: 257-260.
- Weissleder, R., Cheng, H.C., Bogdanova, A., Bogdanov, A., Jr., 1997.** Magnetically labeled cells can be detected by MR imaging. *J Magn Reson Imaging* 7, 258-263.
- Weissleder, R., Lee, A. S., Fischman, A. J., Reimer, P., Shen, T., Wilkinson, R., Callahan, R. J., Brady, T. J., 1991.** Polyclonal human immunoglobulin G labeled with polymeric iron oxide: antibody MR imaging, *Radiology*, 181(1): 245-249.
- Wei-xian, Z., 2003.** Nanoscale Iron Particles for Environmental Remediation: An Overview. *J. Nanoparticle Research* 5, 323-332.
- Wiert, C., 2006.** Anti-inflammatory plants ethnopharmacology of medicinal plants: asia and the pacific. USA: Totowa.
- Williams RJ, Spencer JPE, Rice-Evans C., 2004.** Serial review: Flavonoids and isoflavones: Absorption, metabolism and bioactivity. *Free Radical Biology and Medicine* 36: 838-849.
- Williams., 1977.** *Clin. Chem.*, 23, 237. Cité par fiche technique BIOMAGHREB. Réf. 20061.

**Williamson G, Plumb G.W., Uda Y., Price K.R., and Rhodes M.J. Dietary., 1996.** quercetin glycosides: antioxidant activity and induction of the anticarcinogenic phase II marker enzyme quinone reductase in HepaIcIc7 cells. *Carcinogenesis*; 17(11):2385-2387.

**Winston GW, Di Giulio RT., 1991.** Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquat Toxicol*, 19 : 137-61.

**Wu, W., He, Q., & Jiang, C. 2008.** Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis and surface functionalization strategies. *Nanoscale Res Lett*, 3, 397–415. doi: 10.1007/s11671-008-91749.

**-X-**

**X. Batlle and A. Labarta., 2002.** “Finite-size effects in fine particles : magnetic and transport properties,” *J. Phys. D : Appl. Phys.*, vol. 35, p. R15.

**Xu, X.Q., Shen, H., Xu, J.R., Xu, J., Li, X.J. and Xiong, X.M., 2005.** Core-shell structure and magnetic properties of magnetite magnetic fluids stabilized with dextran. *Applied Surface Science*, 252(2): 494.

**-Y-**

**Y., Jiao, F., Zhao, Y., Chai, Z., 2007.** Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicol Lett* 168, 176-185.

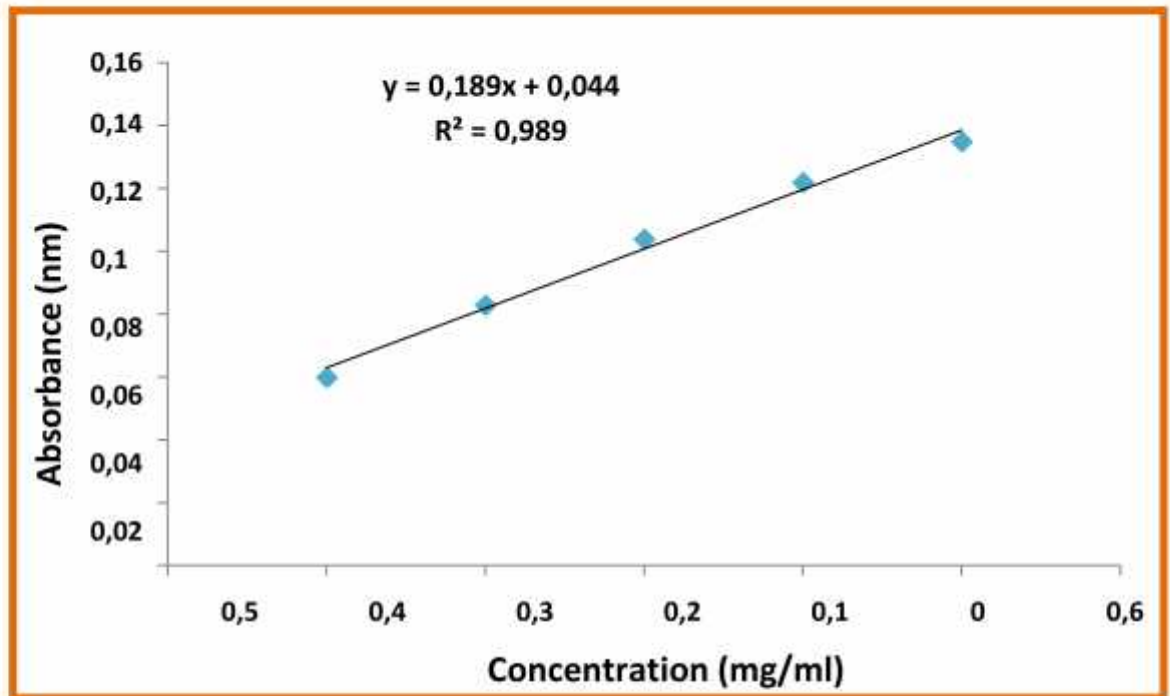
**Young, J., Nielsen, S., & Haraldsdottir, J., 1999.** Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. *Am J Clin Nutr*, 6, 87-94.

**-Z-**

**Zhang, R., & Olin, H. 2012.** Magnetic nanoparticles in biomedical applications. Barh, D., Blum, K., & Madigan, M.A. (Eds) (2012). *OMICS: Biomedical perspectives and applications*. USA: Taylor & Francis.

**Zhang, Z.; Satpathy, S., 1991.** Electron states, magnetism, and the Verwey transition in magnetite. *Phys. Rev. B*, 44 (24), 13319.

# *Annexes*



**Figure 01:** Courbe d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines tissulaire.



**Figure 02:** centrifugeuse réfrigérée de type SIGMA 3-16K (photo originale., 2018).



**Figure 03:** Centrifugeuse horizontale de type SIGMA (photo originale., 2018).



**Figure 04:** Analyseur hématologique de type SFRI BCC 3 diff (photo originale., 2018).



**Figure 05:** Spectrophotométrie à transmission moléculaire de type UV- VIS -1240 (photo originale., 2018).



**Figure 06:** Analyseur biochimique de type SFRI BCC 3 (photo originale., 2018).



**Figure 07:** Analyseur biochimique (TGO,TGP,PAL) de type SFRI BCC 3 (photo original., 2018)



**Figure 08:** Bain-marie de type MEMMERT (photo originale., 2018).



**Figure 09:** Microscope optique avec appareil photo (camera) (**photo originale., 2018**).

## Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet toxique des nanoparticules d'oxyde de fer et de valider l'effet antidote de quercétine au niveau de la mitochondrie chez des ratte femelle *Wistar Albinos*. menée au laboratoire sur 30 ratte qui ont été divisés en six groupes: le 1<sup>ère</sup> groupe considéré comme témoin, le 2<sup>ème</sup> et le 3<sup>ème</sup> (D1, D2) recevant chaque jour respectivement 100 µg/kg, 150 µg/kg des nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétique (SPION) pendant 21 jours, le 4<sup>ème</sup> groupe (Q) recevant chaque jour 10 mg/kg de quercétine pendant 21 jours, le 5<sup>ème</sup> et le 6<sup>ème</sup> groupe (D1Q, D2Q) recevant chaque jour respectivement 100µg/kg, 150µg/kg des nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques pendant 21 jours et traité par 10mg/kg de quercétine pendant 15 jours.

Les résultats obtenus dans la présente étude, montrent que le traitement par les SPION induit une surcharge en fer, hypoglycémie, augmentation d'urée, créatinine, et d'acide urique, aussi une augmentation de l'activité des transaminases (TGO, TGP), de phosphatase alcaline qui montre que le SPION induit une perturbation de fonction hépatique et rénale et cérébrale. Nos résultats révèlent également une toxicité hématologique et stress oxydatif chez les groupes contaminés par le NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, une augmentation du taux des globules rouges, des Lymphocyte, des Monocytes, et une diminution du taux d'hémoglobine, aussi une diminution de taux GSH, l'activité des CAT, GST, GPx avec une augmentation du taux de MDA dans les tissus étudiés (foie, reins et cerveau) qui indique une perturbation des paramètres de stress oxydatif mitochondriale. En outre, les résultats obtenus d'après l'étude histologique, montrent la présence d'une inflammation dans les tissus étudiés, et la présence d'une nécrose hépatique et renal et cérébrale induit par le stress oxydatif.

Cependant, l'administration orale de la quercétine a provoqué une diminution de l'effet toxique de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> en maintenant l'homéostasie de fer dans l'organisme donc en inhibant les effets néfastes de la surcharge en fer.

**Mots clés:** SPION, NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, toxicité, stress oxydant, quercétine, mitochondrie, ratte *Albinos Wistar*.

## المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير السمي للجزيئات النانوية لأكسيد الحديد و التحقق من التأثير المضاد للأكسدة للكيرسيتين عند أنثى فئران *Albinos Wistar*. أجريت في المختبر على 30 مجموعة من الفئران: المجموعة الأولى غير معالجة اذ تعتبر كشاهد, المجموعة الثانية و الثالثة عولجت على الترتيب بـ 100 و 150 ميكروغرام/ كيلو غرام ( من الوزن الكلي) بجزيئات أكسيد الحديد النانوية مدة واحد و عشرون يوما بشكل يومي, المجموعة الخامسة و السادسة عولجت على الترتيب 100 و 150 ميكروغرام/ كيلو غرام بجزيئات أكسيد الحديد النانوية لمدة واحد و عشرون يوما بشكل يومي بالإضافة الى 10مليغرام/ كيلو غرام من الكيرسيتين لمدة خمسة عشريوما بشكل يومي.

النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة تبين أن المعالجة بجزيئات أكسيد الحديد النانوية تسبب تراكم جزيئات الحديد في الجسم, نقص السكر في الدم, زيادة اليوريا و الكرياتينين و حمض اليوريك, أيضا زيادة النشاطية لـ TGO, TGP, و زيادة في نشاط الفوسفاتاز القلوي, و هذا يدل على اضطراب وظيفة الكبد و تكشف النتائج التي توصلنا اليها أيضا سمية دموية و اجهاد تأكسدي عند المعالجة بجزيئات أكسيد الحديد النانوية, مع زيادة في معدل خلايا الدم الحمراء و اللبافويات, و وحيدات الفص و انخفاض نسبة الهيموغلوبين. أيضا نقص في GSH, و نشاطية CAT, GST, GPx مع زيادة معدل MDA في الكبد, الكلى, الدماغ) التي تعني وجود خلل في المؤشرات الدالة على الاجهاد التأكسدي الميتوكوندري. بالإضافة الى ذلك, فان النتائج التي تم الحصول عليها من الدراسة التشريحية تبين وجود التهاب مع وجود نخر كبدي, كلوي و دماغي سببه الاجهاد التأكسدي.

كما اثبتت النتائج ان تناول الكيرسيتين عن طريق الفم يؤدي الى تخفيض التأثير السمي لجزيئات أكسيد الحديد النانوية وذلك بالحفاظ على توازن تركيز جزيئات الحديد في الجسم و بالتالي يحول دون الاثارة السلبية لتراكم الحديد الزائد.

**الكلمات المفتاحية:** جزيئات أكسيد الحديد النانوية, NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, تسمم, اجهاد تأكسدي, كيرسيتين, ميتوكوندريا, فئران *Wistar Albinos*.