



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
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
كلية علوم الطبيعة و الحياة
Département de biologie Cellulaire et Moléculaire



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE
En Vue de l'obtention du diplôme de Master Aca-démique en Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

**Conception et évaluation d'un système nanohybride oral pour la
prévention de l'ostéoporose et de l'anémie induites par la
dexaméthasone**

Présenté Par :

- Mekhzoumi Nour el houda
 - Arfa Meriem
 - Baghdadi hana
 - Othmani imane

Devant le jury composé de :

Président: Dr. Mahboub Nasma
Examineur: Dr. Houmri Nawel
promoteur: Dr. Ghania Ahmed
co-prmoteur: Dr. Manel azzi

pr
MCA
MCB

Université d'El Oued
Université d'El Oued
Université d'El Oued
Université d'El Oued

Année universitaire : 2025/2026

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سورة الفاتحة



REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous adressons nos louanges et nos remerciements les plus sincères à **ALLAH Tout-Puissant**, pour nous avoir accordé la santé, la persévérance et la force morale nécessaires à l'accomplissement de ce mémoire.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre encadrant, **Dr GHANIA Ahmed**, maître de conférences en **biochimie et analyse des bio-produits**, pour son accompagnement constant, ses orientations précieuses et son expertise scientifique qui ont été un véritable moteur dans la réalisation de ce travail.

Nos remerciements les plus chaleureux vont également à notre co-encadrante, **Dr MANEL AZZI**, docteure en **biochimie appliquée**, pour son aide précieuse, ses conseils avisés et son soutien tout au long de ce parcours.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance à **la Comité de soutenance**, pour avoir accepté d'évaluer ce mémoire et pour leurs remarques constructives.

Houmri Nawel , Mahboub Nasma

Nos vifs remerciements s'adressent également à l'**Université des Echahid Hamma Lakhdar d'El Oued**, à la **Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**, ainsi qu'aux différents **laboratoires** qui nous ont accueillis et permis de mener à bien nos expérimentations. Leur disponibilité et leurs efforts ont été essentiels à la réussite de ce travail.

Enfin, à toutes celles et ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à l'aboutissement de ce mémoire, nous exprimons notre gratitude la plus sincère.

Merci à tous.





Dédicace

À ceux qui ont été la lumière de mon chemin et le soutien dans chaque étape...

À mes chers parents, source d'amour et de sacrifice, qui ne m'ont jamais privé de leur soutien et de leurs prières, je dédie ce travail en signe de fidélité et de reconnaissance pour leur immense bienfait.

À mes frères et sœurs, qui ont été la famille et la compagnie, partageant avec moi les joies et les peines, je vous dédie ces pages qui portent en elles l'empreinte de votre affection et de vos encouragements.

À mes professeurs respectés, qui ont éveillé en moi la passion du savoir et ont été des modèles de sagesse, je dédie ce modeste accomplissement en témoignage de gratitude et d'estime.

À mes amis et camarades, qui ont été l'appui dans les moments difficiles et la compagnie dans les instants de réussite, je vous dédie ce travail comme preuve de sincère amitié.

Et enfin... à tous ceux qui ont cru en moi, prié pour moi, souri à mon visage et laissé une empreinte belle dans ma vie, je dédie cette recherche humble, pour qu'elle demeure un souvenir de gratitude éternelle.

« Et quiconque place sa confiance en Allah, Il lui suffira. » (Sourate At-Talaq, verset 3)

Imane





Dédicace

Avant tout, je me remercie moi-même pour ma patience, mes efforts, ma persévérance et ma détermination tout au long de ce parcours. Malgré les difficultés, je n'ai jamais abandonné et aujourd'hui je suis fière d'avoir accompli ce travail.

Je dédie ce modeste travail

À mes très chers parents, ma mère et mon père, pour leur amour inconditionnel, leurs sacrifices, leur soutien constant et leurs encouragements qui m'ont toujours donné la force d'avancer.

*À mes frères et sœurs, pour leur affection, leur présence et leur soutien.
À mes grands-parents, avec tout mon amour et mon respect. À mes chères amies, pour les beaux moments partagés, leur aide et leurs encouragements. Je tiens également à exprimer mes sincères remerciements*

Enfin, merci à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réussite de ce mémoire.

À ceux qui ont été la lumière de mon chemin et le soutien dans chaque étape...

hana





Dédicace

Je loue Allah, Maître de toute chose, pour Ses bienfaits innombrables.

Sans Sa volonté et Sa miséricorde, ce travail n'aurait jamais vu le jour.

À toi, ma sœur partie trop tôt,

Toi qui es mon étoile silencieuse, mon souffle caché. C'est ton absence qui m'a fait chercher un sens, et c'est ta mémoire qui a allumé l'idée de ce projet. Ce modeste travail est né de ta douleur et de ton courage. Il est pour toi, avant tout et pour toujours. Je t'aime tellement, mon cœur

À ma mère, Toi qui as mis le sommeil de côté pour que je puisse rêver,

Tes mains usées par le ménage et les nuits de maladie sont les plus belles mains de chercheur. Sans toi, je ne serais même pas une lettre dans cet alphabet.

Je t'aime tellement, mon âme.

À mon père, Homme debout dans la tempête,

Ton dos courbé sur le travail m'a appris que la dignité n'a pas de prix.

Pardonne-moi les jours volés à ta présence.

Je t'aime tellement, mon cœur.

À mon frère, Mon épaulé, mon miroir, mon deuxième souffle,

Merci d'avoir cru en moi quand moi-même j'hésitais.

Je t'aime tellement, mon amour.

À mon grand-père et ma grand-mère,

Racines de ma terre, gardiens de mes nuits blanches. Vos prières silencieuses m'ont porté quand mes jambes tremblaient.

Je vous aime tellement, mes chéris.

À mes tantes et oncles,

merci infiniment de croire en moi et pour votre soutien indéfectible. Je vous aime très fort.

À mes oncles et tantes,

merci infiniment pour votre amour et votre soutien.

À tous ceux qui souffrent en silence d'une ostéoporose ou d'une anémie provoquées par les corticoïdes,

que ce modeste travail soit une lueur, même infime, dans leur tunnel. À ceux qui ont été la lumière de mon chemin et le soutien dans chaque étape...

houda





Dédicace

Allah le Très-Haut a dit : « Dis : Louange à Allah »

(Sourate An-Naml, verset 93).

Louange à Allah qui nous a accordé la réussite pour accomplir ce travail, fruit de nos efforts, de notre patience et de notre persévérance, partagé avec ceux que nous tenons à remercier avec amour et gratitude.

À ma chère mère,

merci pour ton amour, ton soutien et tes prières qui ont toujours été ma force.

À mon cher père,

merci pour tes conseils, ta sagesse et tous les sacrifices consentis pour moi.

À mes sœurs,

merci pour votre affection, votre soutien et tous les beaux souvenirs partagés ensemble.

À mon frère,

merci pour ton encouragement et ton soutien permanent.

À mes nièces,

merci pour la joie et le bonheur que vous apportez à ma vie.

À mes chères amies,

merci pour votre sincère soutien et votre présence dans les moments difficiles comme dans les plus heureux.

À mes collègues de travail,

merci pour votre gentillesse, votre accompagnement et les agréables moments partagés.

Meriem



Résumé

Cette étude vise à développer une stratégie innovante en nanotechnologie pour la prévention simultanée de l'ostéoporose et de l'anémie induites par l'utilisation excessive et inappropriée des corticostéroïdes. Pour atteindre cet objectif, deux systèmes nanométriques administrés par voie orale à différents moments de la journée ont été conçus. Le premier est constitué de fer hydroxydé adipaté tartrate et de nanoparticules de sélénium encapsulés dans une matrice de chitosane réticulée par le tripolyphosphate de sodium. Le second associe de l'hydroxyapatite nanométrique et de la vitamine D. Les différents nanomatériaux ont été préparés selon des protocoles chimiques contrôlés puis caractérisés par spectroscopie ultraviolet-visible, spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier et diffraction des rayons X. Les résultats ont confirmé la formation des nanosystèmes et mis en évidence les interactions entre leurs constituants. Le fer hydroxydé adipaté tartrate a présenté une structure faiblement cristalline avec une taille cristalline d'environ 2,7 nm, tandis que les nanoparticules de sélénium ont montré une structure semi-cristalline de taille moyenne de $18,97 \pm 4,46$ nm. Le chitosane extrait des carapaces de crevettes a révélé une structure semi-cristalline caractérisée par un pic principal à 21° . Le système hybride fer-sélénium encapsulé dans le chitosane a présenté une taille cristalline d'environ 18,5 nm. L'hydroxyapatite nanométrique a montré une structure hautement cristalline avec une taille cristalline d'environ 24 nm, conservée après incorporation de la vitamine D avec une légère diminution de la cristallinité. L'étude biologique *in vivo* a été réalisée sur 26 rats répartis en huit groupes expérimentaux. L'ostéoporose et l'anémie ont été induites par l'administration de dexaméthasone pendant 28 jours. Les traitements ont été administrés quotidiennement par gavage. Les groupes de référence ont reçu respectivement un supplément de fer et un supplément de calcium. Les formulations expérimentales ont été administrées séparément au cours de la journée, tandis que le groupe combiné a reçu les deux traitements à des moments distincts. Les analyses hématologiques ont montré que la dexaméthasone a provoqué une diminution importante de l'hémoglobine. À l'inverse, le groupe ayant reçu la combinaison des deux nanosystèmes a présenté une amélioration notable des paramètres hématologiques ainsi que des marqueurs biochimiques hépatiques. L'étude histologique a révélé une réduction marquée de l'épaisseur corticale du fémur chez les animaux traités uniquement par dexaméthasone, alors que le traitement combiné a permis une restauration significative de cette épaisseur. Au niveau hépatique, les observations ont montré une architecture tissulaire proche de la normale chez les animaux ayant reçu la combinaison thérapeutique. Les résultats démontrent la supériorité de la stratégie combinée par rapport aux traitements conventionnels.

Résumé

Cette efficacité est attribuée à l'action synergique des propriétés antioxydantes du sélénium, de la biodisponibilité du fer hydroxydé adipaté tartrate, du potentiel ostéogénique de l'hydroxyapatite nanométrique, du rôle régulateur de la vitamine D et des propriétés du chitosane comme vecteur favorisant l'absorption. Cette approche constitue une perspective prometteuse pour la prévention des complications chroniques associées à l'usage excessif des corticostéroïdes.

Mots-clés : Nanotechnologie ; fer hydroxydé adipaté tartrate ; nanoparticules de sélénium ; hydroxyapatite ; vitamine D ; ostéoporose ; anémie ; corticostéroïdes.

تصميم وتقييم نظام نانو هجين فموي للوقاية من هشاشة العظام وفقر الدم الناجمين عن ديكساميثازون

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تطوير استراتيجية مبتكرة في مجال النانوتكنولوجيا للوقاية المتزامنة من هشاشة العظام وفقر الدم الناتجين عن الاستعمال المفرط وغير الملائم للكورتيكوستيرويدات. ولتحقيق هذا الهدف، تم تصميم نظامين نانويين يُعطيان عن طريق الفم في أوقات مختلفة من اليوم. يتكون النظام الأول من الحديد الهيدروكسيدي أدبيات طرطرات وجسيمات السيلينيوم النانوية المغلفة داخل مصفوفة من الكيتوزان المتشابك بواسطة ثلاثي فوسفات الصوديوم، بينما يجمع النظام الثاني بين الهيدروكسي أدباتيت النانوي وفيتامين D. تم تحضير المواد النانوية المختلفة وفق بروتوكولات كيميائية مضبوطة، ثم توصيفها باستخدام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية، ومطيافية الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييه، وحيود الأشعة السينية. أكدت النتائج نجاح تكوين الأنظمة النانوية وكشفت عن التفاعلات بين مكوناتها. أظهر الحديد الهيدروكسيدي أدبيات طرطرات بنية ضعيفة التبلور بحجم بلوري يقارب 2.7 نانومتر، في حين أظهرت جسيمات السيلينيوم النانوية بنية شبه بلورية بمتوسط حجم بلغ 18.97 ± 4.46 نانومتر. كما أظهر الكيتوزان المستخلص من قشور الروبيان بنية شبه بلورية مميزة بقمة رئيسية عند 21° . وبلغ الحجم البلوري للنظام الهجين حديد-سيلينيوم المغلف بالكيتوزان حوالي 18.5 نانومتر. أما الهيدروكسي أدباتيت النانوي فقد أظهر بنية عالية التبلور بحجم بلوري يقارب 24 نانومتر، مع الحفاظ على هذه البنية بعد دمج فيتامين D مع انخفاض طفيف في درجة التبلور. أجريت الدراسة البيولوجية داخل الجسم الحي على 26 جرذاً موزعة على ثماني مجموعات تجريبية. وتم إحداث هشاشة العظام وفقر الدم بواسطة إعطاء الديكساميثازون لمدة 28 يوماً. أُعطيت العلاجات يومياً عن طريق التجريع الفموي، بينما تلقت المجموعات المرجعية مكملات الحديد والكالسيوم على التوالي. وأعطيت التركيبات التجريبية في أوقات مختلفة من اليوم، في حين تلقت المجموعة المشتركة كلا العلاجين بشكل منفصل. أظهرت التحاليل الدموية أن الديكساميثازون تسبب في انخفاض ملحوظ في مستوى الهيموغلوبين. وعلى العكس من ذلك، أظهرت المجموعة التي تلقت مزيج النظامين النانويين تحسناً واضحاً في المؤشرات الدموية وفي العلامات البيوكيميائية الكبدية. كما بينت الدراسة النسيجية انخفاضاً كبيراً في سماكة القشرة العظمية لعظم الفخذ لدى الحيوانات المعالجة بالديكساميثازون فقط، بينما أدى العلاج المشترك إلى استعادة ملحوظة لهذه السماكة. وعلى مستوى الكبد، أظهرت الملاحظات النسيجية بنية قلبية من الحالة الطبيعية لدى الحيوانات التي تلقت العلاج المركب. تؤكد النتائج تفوق الاستراتيجية العلاجية المشتركة مقارنة بالعلاجات التقليدية، ويُعزى ذلك إلى التأثير التآزري بين الخصائص المضادة للأكسدة للسيلينيوم، والتوافر الحيوي المرتفع للحديد الهيدروكسيدي أدبيات طرطرات، والقدرة المحفزة لتكوين العظم للهيدروكسي أدباتيت النانوي، والدور التنظيمي لفيتامين D، إضافة إلى خصائص الكيتوزان كناقل يعزز الامتصاص. وتمثل هذه المقاربة آفاقاً واعدة للوقاية من المضاعفات المزمنة المرتبطة بالاستخدام المفرط للكورتيكوستيرويدات.

الكلمات المفتاحية: الحديد الهيدروكسيدي أدبيات طرطرات؛ جسيمات السيلينيوم النانوية؛ الهيدروكسي أدباتيت؛ فيتامين

D؛ هشاشة العظام؛ فقر الدم؛ الكورتيكوستيرويدات.

Design and evaluation of an oral nanohybrid system for the prevention of dexamethasone-induced osteoporosis and anemia

Abstract

This study aimed to develop an innovative nanotechnology-based strategy for the simultaneous prevention of osteoporosis and anemia induced by the excessive and inappropriate use of corticosteroids. To achieve this objective, two nanometric systems administered orally at different times of the day were designed. The first system consisted of iron hydroxide adipate tartrate and selenium nanoparticles encapsulated within a chitosan matrix crosslinked with sodium tripolyphosphate. The second system combined nano-hydroxyapatite with vitamin D. The different nanomaterials were prepared using controlled chemical protocols and characterized by ultraviolet–visible spectroscopy, Fourier-transform infrared spectroscopy, and X-ray diffraction. The results confirmed the successful formation of the nanosystems and highlighted the interactions among their components. Iron hydroxide adipate tartrate exhibited a poorly crystalline structure with a crystallite size of approximately 2.7 nm, whereas selenium nanoparticles showed a semi-crystalline structure with an average size of 18.97 ± 4.46 nm. Chitosan extracted from shrimp shells revealed a semi-crystalline structure characterized by a major peak at 21° . The iron–selenium hybrid system encapsulated in chitosan exhibited a crystallite size of approximately 18.5 nm. Nano-hydroxyapatite displayed a highly crystalline structure with a crystallite size of approximately 24 nm, which was maintained after vitamin D incorporation, with only a slight reduction in crystallinity. The in vivo biological study was conducted on 26 rats divided into eight experimental groups. Osteoporosis and anemia were induced by dexamethasone administration for 28 days. Treatments were administered daily by oral gavage. The reference groups received iron and calcium supplements, respectively. The experimental formulations were administered separately throughout the day, whereas the combined-treatment group received both formulations at different time points. Hematological analyses showed that dexamethasone caused a marked decrease in hemoglobin levels. In contrast, the group receiving the combination of the two nanosystems exhibited significant improvement in hematological parameters as well as hepatic biochemical markers. Histological examination revealed a pronounced reduction in femoral cortical thickness in animals treated only with dexamethasone, whereas the combined treatment significantly restored cortical thickness. At the hepatic level, tissue observations demonstrated a nearly normal architecture in animals receiving the combined therapeutic approach. The results demonstrate the superiority of the combined strategy over conventional treatments. This effectiveness can be attributed to the

Abstract

synergistic action of the antioxidant properties of selenium, the high bioavailability of iron hydroxide adipate tartrate, the osteogenic potential of nano-hydroxyapatite, the regulatory role of vitamin D, and the absorption-enhancing properties of chitosan as a delivery carrier. This approach represents a promising perspective for the prevention of chronic complications associated with the excessive use of corticosteroids.

Keywords: Nanotechnology; Iron Hydroxide Adipate Tartrate (IHAT); Selenium Nanoparticles; Hydroxyapatite; Vitamin D; Osteoporosis; Anemia; Corticosteroids.

Liste d'abréviation

Liste d'abréviation

A- C

- **1,25(OH)₂D₃** : 1,25-dihydroxyvitamine D₃ (calcitriol).
- **25(OH)D** : 25-hydroxyvitamine D (calcidiol).
- **7-DHC** : 7-déhydrocholestérol.
- **ACTH** : Adrenocorticotropin Hormone (Hormone adrénocorticotrope).
- **ALAT** : Alanine Aminotransférase.
- **AP-1** : Activator Protein 1 (facteur de transcription).
- **ASAT** : Aspartate Aminotransférase.
- **bFGF** : Basic Fibroblast Growth Factor.
- **BMP-2** : Bone Morphogenetic Protein 2.
- **CaCO₃** : Carbonate de calcium.
- **CAL** : Calcidose.
- **Comp** : Composition complète (IHAT + SeNPs + HAP + Vit D).
- **COX-2** : Cyclooxygénase-2.
- **CRH** : Corticotropin-Releasing Hormone.
- **CS** : Chitosane.
- **CSM** : Cellules souches mésenchymateuses.
- **CYP24A1** : Cytochrome P450 famille 24 sous-famille A polypeptide 1.
- **CYP27A1** : Cytochrome P450 famille 27 sous-famille A polypeptide 1.
- **CYP27B1** : Cytochrome P450 famille 27 sous-famille B polypeptide 1.
- **CYP2R1** : Cytochrome P450 famille 2 sous-famille R polypeptide 1.

D - G

- **DBP** : Protéine de liaison à la vitamine D (Vitamin D Binding Protein).
- **DDS** : Systèmes de distribution de médicaments (Drug Delivery Systems).
- **Dexa** : Dexaméthasone.
- **DHCR7** : 7-déhydrocholestérol réductase.
- **DLS** : Diffusion dynamique de la lumière.
- **DRX / XRD** : Diffraction des rayons X.
- **EPO-R** : Récepteur de l'érythropoïétine.
- **EPR** : Effet de perméabilité et de rétention.
- **FeNPs / IS NPs** : Nanoparticules à base de fer.
- **FNS** : Numération Formule Sanguine.
- **FSH** : Hormone Folliculo-Stimulante sérique.
- **FTIR** : Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier.
- **GB** : Globules Blancs.
- **GCs** : Glucocorticoïdes.
- **GPx** : Glutathion peroxydase.
- **GR** : Globules Rouges / Glucocorticoid Receptor (Récepteur des glucocorticoïdes).
- **GRE** : Éléments de réponse aux glucocorticoïdes.

H - M

- **H&E** : Hématoxyline-éosine (coloration).
- **HAP / HAp** : Hydroxyapatite / Hydroxyapatite nanométrique.
- **Hb** : Hémoglobine.
- **HCl** : Acide chlorhydrique.
- **HCT** : Hématocrite.
- **HHS** : Axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien.
- **HSP** : Protéines de choc thermique (Heat Shock Proteins).
- **H₃PO₄** : Acide orthophosphorique.

Liste d'abréviation

- **IHAT** : Iron Hydroxide Adipate Tartrate.
- **IL-1 β** / **IL-6** : Interleukine-1 bêta / Interleukine-6.
- **IP** : Intrapéritonéale / Immunoprécipitation.
- **MRSA** : Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (staphylocoque doré résistant à la méthicilline).

N - R

- **NaOH** : Hydroxyde de sodium.
- **NPs** : Nanoparticules.
- **OC** : Ostéocalcine.
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.
- **OPG** : Ostéoprotégérine.
- **PAL** : Phosphatase Alcaline.
- **PEG** : Polyéthylène glycol.
- **PI3K/Akt** : Voie de signalisation cellulaire.
- **PLGA** : Poly(acide lactique-co-glycolique).
- **Plaq** : Plaquettes.
- **PVA** : Poly(acétate de vinyle).
- **RANKL** : Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand.
- **ROS** : Espèces réactives de l'oxygène.
- **RXR** : Récepteurs aux rétinoïdes.

S - Z

- **SeNPs** : Nanoparticules de sélénium.
- **SPR** : Résonance plasmonique de surface.
- **STAT-5pY** : Signal Transducer and Activator of Transcription 5 phosphorylé sur la tyrosine.
- **T** : Testostérone.
- **TNF- α** : Tumor Necrosis Factor alpha.
- **TPP** : Tripolyphosphate de sodium.
- **UVB** : Ultraviolet B.
- **VDR** : Récepteur de la vitamine D.
- **VDREs** : Éléments de réponse à la vitamine D.
- **VEGF** : Vascular Endothelial Growth Factor.
- **Vit D** / **Vit D3** : Vitamine D / Vitamine D3.
- **WB** : Western Blot.
- **β -CTX** : Téllopeptides C-terminaux du collagène de type I.
- **γ -GT** / **GGT** : Gamma-Glutamyl Transférase

Liste des Figures

Figure 1: Mécanismes de la perte osseuse induite par les glucocorticoïdes. RANKL : Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand. (Buckley & Humphrey, 2018).....	14
Figure 2: Interaction entre GR : Glucocorticoid Receptor, EPO-R : Erythropoietin Receptor et STAT-5pY : Signal Transducer and Activator of Transcription 5 phosphorylé sur la tyrosine dans les proérythroblastes humains traités soit par.....	15
Figure 3: Schéma illustrant la formulation, le développement du patch et l'étude. Abréviations : NPs = nanoparticules ; PLGA = poly(acide lactique-co-glycolique) ; PEG = polyéthylène glycol ; PVA = poly(acétate de vinyle) ; FeSO ₄ ·7H ₂ O = sulfate de fer heptahydra.....	26
Figure 4:: (A) Synthèse et métabolisme de la vitamine D. (B) Transport du calcitriol vers les tissus cibles. Abréviations : UVB = ultraviolet B ; 7-DHC = 7-déhydrocholestérol ; DHCR7 = 7-déhydrocholestérol réductase	31
Figure 5:Signalisation médiée par la vitamine D et son récepteur (VDR). Abréviations : 1,25(OH) ₂ D ₃ = 1,25-dihydroxyvitamine D ₃ ; DBP = protéine de liaison à la vitamine D ; CYP27B1 = cytochrome P450 famille 27 sous- famille B polypeptide 1 ; CYP24A1 = cytochrome	31
Figure 6:. Représentation graphique des biomarqueurs systémiques du remodelage osseux ; Représentation graphique des biomarqueurs systémiques du remodelage osseux. Abréviations : OC = ostéocalcine ; β-CTX = télopeptides C-terminaux du collagène de type I ; T0 =.....	33
Figure 7: Progression histologique de la cicatrisation des défauts (coloration H&E, 20×). a) Groupe I (Témoin, 1 mois) : absence de tissu osseux ; le défaut est rempli par un tissu conjonctif fibreux avec une cavité centrale. b) Groupe II (HS/Vit. D3, 1 mois) :	34
Figure 8: Comparaison des schémas de pontage osseux. a) Pont osseux fin et délicat, avec un nombre limité de travées, observé après 1 mois. b) Pont osseux épais, constitué de travées robustes bordées d'ostéoblastes, observé après 2 mois dans le groupe	35
Figure 9:Preuve histologique de complication (Groupe III, 1 mois). (a, b) Séquestre osseux accompagné d'un infiltrat dense de cellules inflammatoires composé de polynucléaires neutrophiles, indiquant une ostéomyélite localisée (coloration H&E, 5× et.....	35
Figure 10:Les principales étapes de la synthèse de l'hydroxyapatite à partir de coquilles d'œufs.	42
Figure 11: Résumé visuel du protocole de synthèse et de purification des nanoparticules IHAT	44
Figure 12: Coloration rouge-orangée du milieu réactionnel indiquant la formation des nanoparticules de sélénium (SeNPs).....	45

LISTE DES FIGURES

Figure 13:Schéma de préparation du système nanocomposite IHAT/SeNPs@CS-TPP	48
Figure 14:Bilan du protocole HAP/Vit D : fabrication, suspension et administration	49
Figure 15:Spectrophotomètre UV-Visible	50
Figure 16:Procédure de préparation histologique des tissus hépatiques et osseux.....	55
Figure 17:L'analyse UV–Visible comparative entre IHAT seul et la formulation IHAT–Se NPs/chitosane–TPP	59
Figure 18:. L'analyse UV–Visible comparative entre HAp seul et la formulation HAp– Vitamine D	61
Figure 19:Spectres FTIR comparatifs de l'acide adipique, de l'acide tartrique et de l'IHAT .	62
Figure 20:Spectres FTIR comparatifs IHAT–Se NPs/chitosane–TPP et de l'IHAT	64
Figure 21:Spectres FTIR comparatifs HAp et de HAp–Vitamine D.....	66
Figure 22:Diffractionogramme DRX de l'échantillon IHAT.....	68
Figure 23 : diffractionogramme DRX de l'échantillon SeNPs	69
figure 24 : diffractionogramme DRX de l'échantillon chitosane.....	70
Figure 25:Diffractionogramme DRX de l'échantillon IHAT–Se NPs enrobées par chitosane/TPP	76
Figure 26:Diffractionogramme DRX de l'échantillon HAp	77
Figure 27:Diffractionogramme DRX de l'échantillon HAp–Vitamine D	75
Figure 28:Variation du taux d'hémoglobine (Hb) chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES)	76
Figure 29:Variation du taux de Lymphocytes chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES).....	77
Figure 30:Variation du taux de GR chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES)	78
Figure 31:Variation du taux de Plaquettes chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES	79
Figure 32:Variation du taux de ASAT chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES)...	80
Figure 33:Variation du taux de ALAT chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES) ..	81
Figure 34: Variation du taux de PAL chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES)	82
Figure 35:Variation du taux de γ -GT chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES).....	84
Figure 36:Variation du taux de Urée chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES)	85
Figure 37:Variation du taux de Glycemie chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES)	86
Figure 38:Variation du taux de Calcium chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES)	87
Figure 39:Variation du taux de Fer chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES).....	88

LISTE DES FIGURES

Figure 40:Coupes histologiques du fémur de rat (coloration H&E, grossissement $\times 10$ et $\times 40$) illustrant l'architecture osseuse et médullaire des huit groupes expérimentaux	90
Figure 41:Histopathologie des coupes hépatiques colorées à l'H&E; (G $\times 10$ et G $\times 40$) chez les différents groupes étudiés. (1) Témoin ; (2) Dexa ; (3) Dexa+Fe ; (4) Dexa+CAL ; (5) Dexa+Fe+CAL ; (6) Dexa+HAP+Vit D ; (7) Dexa+IHAT-SeNPs-Cs-TPP ; (8) Dexa+Comp	95

Sommaire

REMERCIEMENTS

Dédicace

Résumé

ملخص

Abstract

Liste d'abréviation

Liste des Figures

Sommaire

Introduction

Partie théorique

CHAPITRE 01

Les corticoides et leur complications systémiques

1.Définition et classification des corticostéroïdes :.....	6
1.1.Définition :.....	6
1.2.classification des corticostéroïdes :	6
2.Mode d'action des corticostéroïdes :	6
2.1.Mécanisme génomique :.....	6
2.2.Mécanisme non génomique :.....	7
3.Utilisation thérapeutiques des corticostéroïdes.....	7
4.Effets secondaires des corticostéroïdes.....	8
4.1.Ostéoporose, fractures et ostéonécrose :.....	8
4.2.Insuffisance surrénalienne :	9
4.3. Caractéristiques cushingoïdes :.....	9
4.4.Diabète et hyperglycémie :.....	9
4.5.Myopathie :.....	9
4.6. Cataracte et glaucome :	10
4.7.Troubles psychiques :	10
4.8.Immunosuppression et risque d'infection :.....	10
4.9. Effets secondaires sur le système cardiovasculaire :	10
4.10.Effets négatifs sur le système digestif :	10
4.11.Effets négatifs sur la peau :	10
4.12.Retard de développement chez l'enfant :.....	11
5. Effets métaboliques des corticostéroïdes :.....	11

Sommaire

5.1. Métabolisme des glucides :	11
5.2. Métabolisme des lipides :	11
5.3. Métabolisme des protéines :	11
6.Limites des corticostéroïdes	11
6.Ostéoporose induite par les corticostéroïdes.....	12
6.1.Quand les corticoïdes freinent la construction osseuse :	12
6.2.Un métabolisme du calcium mis à mal :	13
6.3. Un déséquilibre entre construction et destruction :	13
7. Anémie induite par les corticostéroïdes.....	14
7.1. Dans la moelle osseuse : une érythropoïèse malmenée	15
7.2. Perturbation du métabolisme du fer:	16
7.3.Inflammation et stress oxydatif dans l'anémie cortico-induite:	16

CHAPITRE 02

Stratégies préventives pour réduire les complications liées aux corticostéroïdes

1.Prévention traditionnelle de l'ostéoporose associée aux corticostéroïdes :	20
2.Prévention de l'anémie associée au traitement par corticostéroïdes :	20
3.Limites des solutions traditionnelles :	21
4.La nécessité d'approches préventives innovantes :	21

CHAPITRE 03

Le rôle de la nanotechnologie dans la prévention des complications de la corticothérapie

1.Définition générale des nanoparticules :	24
2. Caractérisation des nanoparticules :	24
2.1.Taille et distribution :	24
2.2. Forme et architecture :	24
2.3. Surface et charge électrique :	25
2.4.Propriétés optiques :	25
2.5.Comportement en milieu liquide :	25
2.6.Interactions avec le vivant et sécurité :	25
3.Les nanoparticules de fer pour la prévention de l'anémie induite par les corticostéroïdes : ..	25
3.1.Définition du problème médicale :	25
3.2.Importance des nanoparticules de fer :	26
4.L'hydroxyapatite nanométrique dans la prévention de l'ostéoporose 4.1) Définition de l'hydroxyapatite nanométrique :	27
4.2. Son rôle dans la santé osseuse :	27

4.3. Applications et résultats expérimentaux :	28
5. La vitamine D en formulations nanométriques comme facteur de soutien à la santé osseuse	30
5.1. Importance de la vitamine D pour la santé osseuse Absorption, physiologie et métabolisme de la vitamine D :	30
5.2. Rôle des formulations nanométriques dans l'absorption et la stabilité	32
5.3. Résultats des études récentes :	32
6. Perspectives de développement de stratégies nanotechnologiques pour réduire les complications médicamenteuses chroniques	35
6.1. Limites des thérapies conventionnelles :	35
6.2. Perspectives et orientations futures :	36

Partie expérimentale

Chapitre 01:

Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes	39
1.2.1. Synthèse de Hydroxyapatite	40
1.2.2 Synthèse de IHAT (Iron Hydroxide Adipate Tartrate)	42
1.2.3 Synthèse de SeNPs (Selenium Nanoparticles)	44
1.2.4 Extraction du chitosane à partir des carapaces de crevettes	46
1.2.5 Synthèse de IHAT/SeNPs@CS-TPP	46
1.2.6 Synthèse de HAP/Vit D	48
2. Caractérisation des nanoparticules	49
3. étude in vivo	50
4. analyses biologiques	54
5. préparation des lames des tissus osseux et hépatique	54
6. analyse statistique des paramètres hématologique et biochimique	55

Chapitre 02:

Resultats et Discussion

1. Rendement des formulations préparées	58
2. UV-Visible	59
3. FT-IR	62
4. DRX	68
5. Analyse des paramètres hématologiques et biochimiques sériques	76
6. Analyse histologique	88
6.1 .Les tissus osseux :	88
6.2. Les tissus hépatique	93

Sommaire

Conclusion.....	98
Liste bibliographique :.....	101
Annexes.....	112

Introduction

Les glucocorticoïdes (corticostéroïdes) comptent parmi les classes pharmacologiques les plus prescrites au monde en raison de leurs puissants effets anti-inflammatoires et immunosuppresseurs. Ils constituent le traitement de référence ou une option majeure dans de nombreuses maladies chroniques : polyarthrite rhumatoïde, asthme sévère, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, lupus érythémateux disséminé, et prévention du rejet de greffe **(Al-Mosawi & Alebadi, 2023)**. Cependant, l'utilisation prolongée, même à des doses modérées (prednisolone ≥ 5 mg/jour), expose à des complications systémiques graves. Parmi celles-ci, l'ostéoporose cortico-induite et l'anémie occupent une place particulière par leur fréquence élevée, leur retentissement fonctionnel et leur impact négatif sur la qualité de vie **(Dodonova et al., 2025 ; Karunarathna et al., 2025)**.

L'ostéoporose cortico-induite résulte de deux mécanismes principaux : une inhibition profonde de la formation osseuse (diminution de la différenciation et de l'activité des ostéoblastes, augmentation de leur apoptose) associée à une stimulation relative de la résorption osseuse via l'axe RANK/RANKL/OPG **(Weinstein et al., 2002 ; Badary et al., 2022)**. Parallèlement, l'anémie cortico-induite est multifactorielle : suppression de l'érythropoïèse médullaire par interférence avec la signalisation du récepteur de l'érythropoïétine (EPO-R), séquestration fonctionnelle du fer par induction de l'hepcidine (secondaire à l'inflammation), et stress oxydatif accru au niveau de la moelle osseuse **(Ginzburg, 2023 ; Pagani et al., 2019)**. Un point fondamental, encore sous-exploité dans la littérature, est que ces deux complications partagent un même terreau physiopathologique : la moelle osseuse. Les progéniteurs ostéoblastiques et les cellules souches hématopoïétiques coexistent dans des niches médullaires communes et répondent à des signaux régulateurs croisés **(Hofbauer et al., 2022 ; Kobza et al., 2020)**. Ainsi, une agression chronique par les corticoïdes perturbe simultanément la solidité du squelette et la production des globules rouges.

Malgré cette intrication, les stratégies préventives actuelles restent fragmentées. D'un côté, on prévient l'ostéoporose par des suppléments de calcium et de vitamine D, voire des bisphosphonates **(Paccou et al., 2023)**. De l'autre, on traite l'anémie par du fer oral (sels ferreux) ou intraveineux. Absence d'une stratégie thérapeutique combinée capable de prévenir simultanément ces deux complications. Bien que plusieurs approches aient été proposées séparément pour corriger l'anémie ou limiter la perte osseuse induites par les glucocorticoïdes, peu d'études ont exploré une stratégie nanotechnologique combinée ciblant simultanément les altérations hématologiques et osseuses. De plus, l'administration

complémentaire de nanoformulations distinctes à base de fer nanométrique, de nanoparticules de sélénium et d'hydroxyapatite fonctionnalisée par la vitamine D demeure encore peu étudiée, notamment dans un modèle d'ostéoporose et d'anémie induites par la dexaméthasone. (**Short & Domagalski, 2013 ; Iolascon et al., 2020**).

Pour répondre à ce besoin clinique, la nanomédecine offre des outils prometteurs. Les nanoparticules, dont la taille est comprise entre 1 et 100 nm, possèdent des propriétés physicochimiques uniques : une grande surface spécifique, une réactivité accrue, et la possibilité de fonctionnaliser leur surface. Ces caractéristiques leur permettent d'améliorer la biodisponibilité des composés actifs, de franchir les barrières biologiques et d'atteindre les tissus cibles. Elles peuvent également être conçues pour une libération contrôlée (monophasique ou biphasique), ce qui prolonge l'effet thérapeutique, réduit le nombre d'administrations et limite les effets secondaires. Par ailleurs, le ciblage actif (par greffage de ligands spécifiques) ou passif (par effet de perméabilité et de rétention) permet d'accumuler le principe actif au niveau des sites inflammatoires ou tumoraux (**Yameny, 2024**). Sur la base de ces avantages, nous proposons de développer une stratégie nutritionnelle nanotechnologique combinée reposant sur l'administration séparée de deux nanoformulations complémentaires, associant :

- Un système à base de chitosane réticulé par le TPP (CS-TPP) encapsulant à la fois un complexe de fer nanométrique (IHAT : Iron Hydroxide Adipate Tartrate) et des nanoparticules de sélénium (SeNPs) – noté IHAT/SeNPs@CS-TPP. Le chitosane protège les actifs de la dégradation gastrique et améliore l'adhésion à la muqueuse intestinale.

Le fer nanométrique offre une meilleure biodisponibilité et évite la réaction de Fenton, tandis que le sélénium exerce un effet antioxydant direct sur la moelle osseuse (**Luo et al., 2015 ; Zhou et al., 2016**).

- Des nanocristaux d'hydroxyapatite fonctionnalisés par la vitamine D (HAP/VitD) , dont la composition mimétique de la phase minérale de l'os leur confère une excellente biocompatibilité. Ils servent d'échafaudage (scaffold) favorisant l'ostéoconduction, améliorent l'absorption du calcium et inhibent la différenciation adipocytaire des cellules souches via le récepteur VDR (**Campos et al., 2019**).

Objectif principal de ce travail : évaluer, chez un modèle murin d'ostéoporose et d'anémie induites par la dexaméthasone, l'efficacité préventive du complément nutritionnel nanotechnologique à double délivrance (IHAT/SeNPs@CS-TPP + HAP/VitD) en comparaison avec les traitements classiques (Tardiféron, Calcidose, et leur association).

Introduction

Ce mémoire comprend deux grandes parties : une partie théorique et une partie expérimentale. La partie théorique est divisée en trois chapitres :

- Chapitre 1 : étude des corticostéroïdes et de leurs complications systémiques, avec un accent sur l'ostéoporose, l'anémie et la relation physiopathologique qui les unit.

- Chapitre 2 : présentation des stratégies préventives classiques et de leurs limites, soulignant la nécessité d'approches innovantes.

- Chapitre 3 : mise en lumière du rôle de la nanotechnologie, en particulier les nanoparticules de fer, l'hydroxyapatite nanométrique et la vitamine D nanoformulée, dans la prévention de ces complications.

La partie expérimentale décrit ensuite les matériels et méthodes utilisés pour la synthèse et la caractérisation des nanoparticules, puis présente les résultats (biochimiques, hématologiques et histologiques) ainsi que leur discussion, et se termine par une conclusion générale incluant les perspectives.

Partie théorique

CHAPITRE 01

Les corticoides et leur complications systémiques

1. Définition et classification des corticostéroïdes :

1.1. Définition :

Les corticostéroïdes, dont il existe deux principaux types les glucocorticoïdes et les minéralocorticoïdes constituent une classe d'hormones stéroïdiennes naturelles synthétisées par le cortex surrénalien. Différents processus physiologiques sont modulés par les glucocorticoïdes ; ils régulent de manière importante le métabolisme des glucides et présentent des caractéristiques immunosuppressives, anti-inflammatoires ou vasoconstrictrices (**Costa et al., 2022**). En agissant sur le transport des ions dans les cellules épithéliales des tubules rénaux, les minéralocorticoïdes régulent l'équilibre électrolytique et l'hydratation de l'organisme (**Costa et al., 2022**).

1.2. Classification des corticostéroïdes :

Les corticostéroïdes sont classés selon la durée d'action et la puissance relative. L'hydrocortisone est la moins puissante puisqu'elle agit rapidement. L'hydrocortisone est la plus faible, avec une durée d'action intermédiaire ; la méthylprednisolone et la prednisone étant 4 à 5 fois plus puissantes. La dexaméthasone a une durée d'action plus longue et est ~25 fois plus puissante que les formulations à courte durée d'action (**Al-Mosawi & Alebadi, 2023**).

Après avoir défini et classé les corticostéroïdes en fonction de leur puissance et de leur durée d'action, l'étape suivante consiste à examiner les mécanismes moléculaires qui permettent à ces hormones d'avoir des effets biologiques.

2. Mode d'action des corticostéroïdes :

2.1. Mécanisme génomique :

Les corticostéroïdes passent surtout par le récepteur des glucocorticoïdes (GR), qui est séquestré dans le cytoplasme accroché à des protéines de choc thermique (HSP). Quand le corticostéroïde se lie, le récepteur change de forme, se détache des HSP et il est transloqué vers le noyau. Là, le duo ligand-GR va se coller sur les éléments de réponse aux glucocorticoïdes (GRE) situés dans les régions promotrices de certains gènes. Résultat : stimule la production de gènes anti-inflammatoires comme la lipocortine-1, I κ B- α ou SLPI, et inhibe l'expression des gènes pro-inflammatoires, type IL-1 β , IL-6, TNF- α ou COX-

2. Les corticostéroïdes font aussi baisser l'expression des molécules d'adhésion, des chimiokines et des métalloprotéinases, ce qui limite le recrutement leucocytaire.

Ces effets sur la transcription mettent quelques heures à se mettre en place, mais ils expliquent pourquoi les corticostéroïdes sont aussi efficaces sur le long terme pour calmer l'inflammation et modérer le système immunitaire (**Karunarathna et al., 2025**).

Les corticoides ont également des effets rapides, appelés non génomiques, qui se produisent en quelques secondes à quelques minutes, en plus de leur voie génomique qui est relativement lente.

2.2. Mécanisme non génomique :

Certains effets des glucocorticoïdes se manifestent en quelques secondes à quelques minutes, sans passer par la transcription des gènes. Ces effets sont rapides : soit ils passent par des récepteurs sur la membrane, soit le récepteur aux glucocorticoïdes (GR) resté dans le cytoplasme interagit directement avec des voies de signalisation. Par exemple, en quelques minutes, les glucocorticoïdes activent la voie PI3K/Akt, ce qui modifie l'activité de NF- κ B. Ils bloquent aussi la kinase JNK : résultat, l'AP-1 n'est plus actif non plus. Autre effet marquant : ils peuvent envoyer le GR directement vers les mitochondries pour déclencher l'apoptose, toujours sans passer par la transcription. On note aussi des effets ultrarapides sur les mouvements de calcium et l'inhibition de la phospholipase A2, ce qui freine la production d'eicosanoïdes pro-inflammatoires. Ainsi l'ensemble de ces actions non génomiques expliquent pourquoi les glucocorticoïdes peuvent exercer un effet immunosuppresseur rapide, surtout quand on utilise des bolus de méthylprednisolone (Lockett *et al.*, 2024).

3. Utilisation thérapeutiques des corticostéroïdes

Les glucocorticoïdes agissent à la fois par des mécanismes génomiques et non génomiques. Avec leur effet anti-inflammatoire très prononcé, ils sont utilisés préférentiellement pour traiter beaucoup de maladies inflammatoires, qu'elles touchent tout le corps ou seulement certains tissus (Martinez *et al.*, 2024).

On utilise les corticostéroïdes principalement dans trois situations. D'abord, ils remplacent les hormones quand les glandes surrénales n'en produisent pas assez, comme dans la maladie d'Addison ou l'hyperplasie congénitale des surrénales. Ensuite, ils aident à soulager rapidement certains problèmes aigus

: réactions allergiques, crises d'asthme, nausées après chimiothérapie, œdème pulmonaire toxique, poussées de maladies auto-immunes, BPCO ou œdème cérébral. Enfin, ils sont prescrits au long cours pour contrôler des maladies inflammatoires chroniques, des rhumatismes, l'ophtalmopathie baséeowienne ou encore certaines inflammations localisées (Al-Mosawi & Alebadi, 2023).

Les applications prophylactiques servent à prévenir le rejet d'organe après une greffe et à accélérer la maturation des poumons du fœtus quand il y a un risque d'accouchement prématuré. De leur côté, les minéralocorticoïdes jouent un rôle clé dans la régulation

de l'équilibre hydroélectrolytique en contrôlant le transport des ions dans le rein. On les utilise surtout en traitement de substitution lors d'une crise surrénalienne aiguë ou chez les personnes atteintes de la maladie d'Addison **(Al-Mosawi & Alebadi, 2023)**.

Les corticostéroïdes systémiques n'ont pas tous la même puissance. L'hydrocortisone agit peu de temps et c'est la moins forte du groupe. La prednisone et la méthylprednisolone, qui durent un peu plus, sont déjà 4 à 5 fois plus puissantes que l'hydrocortisone. la dexaméthasone, quant à elle : son effet dure longtemps, et elle est environ 25 fois plus puissante **(Al-Mosawi & Alebadi, 2023)**. On utilise ces médicaments dans bien d'autres cas aussi : le croup, la pneumonie à *Pneumocystis* chez les personnes vivant avec le SIDA, certaines maladies de la thyroïde (comme une crise thyrotoxisque, une thyroïdite subaiguë, ou l'ophtalmopathie de Basedow), les douleurs liées aux nerfs ou au cancer, l'hépatite alcoolique sévère, ou encore la méningite causée par *Haemophilus influenzae* ou la tuberculose **(Al-Mosawi & Alebadi, 2023)**.

Les corticostéroïdes sont arrivés en médecine en 1949, d'abord pour traiter la polyarthrite rhumatoïde. Depuis, leur usage s'est répandu un peu partout : en dermatologie, en rhumatologie, dans les maladies du système immunitaire, et en oncologie **(Al-Mosawi & Alebadi, 2023)**.

Malgré leur grande efficacité pour traiter diverses maladies, les corticoïdes peuvent avoir de graves effets secondaires lorsqu'ils sont utilisés sur une longue période. C'est pourquoi il est crucial de les utiliser avec prudence.

4. Effets secondaires des corticostéroïdes

En pratique, on prescrit souvent des glucocorticoïdes artificiels pour leur action anti-inflammatoire et immunosuppressive puissante. On les utilise pour traiter toutes sortes de maladies : allergies, inflammations, rhumatismes, cancers, problèmes vasculaires ou cutanés, et bien d'autres affections générales. Mais prendre ces médicaments à forte dose sur une longue période entraîne souvent des effets secondaires sérieux. Parmi les plus connus, on retrouve des soucis au niveau des muscles et des os, comme l'ostéoporose provoquée par les glucocorticoïdes, des cas d'ostéonécrose ou encore de la myopathie. Ils peuvent aussi bouleverser la façon dont l'organisme gère le glucose et les lipides, d'où l'apparition de diabète, de dyslipidémies ou d'obésité. Sans oublier les répercussions sur le système digestif et cardiovasculaire **(Dodonova et al., 2025 ; Karunarathna et al., 2025)**.

4.1 Ostéoporose, fractures et ostéonécrose :

Les corticostéroïdes perturbent profondément le remodelage osseux. Ils stimulent les

ostéoclastes, qui détruisent l'os, et ralentissent le travail des ostéoblastes, qui le reconstruisent. Résultat, la densité minérale des os chute et le risque de fracture grimpe, même avec une dose assez faible (prednisolone à partir de 5 mg par jour). Et puis il y a l'ostéonécrose surtout celle qui touche la tête fémorale. Elle survient chez 9 à 40 % des patients sur le long terme, et ne va pas de pair avec l'ostéoporose à chaque fois (**Dodonova et al., 2025; Karunarathna et al., 2025**).

4.2 Insuffisance surrénalienne :

Quand la prise de corticostéroïdes s'éternise, l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS) s'endort : le corps fabrique moins de CRH et d'ACTH. À la clé, une insuffisance surrénalienne secondaire. Arrêter brutalement le traitement peut alors déclencher une crise surrénalienne grave, parfois mortelle, surtout si le corps fait face à un stress important. Même les corticostéroïdes en crème ou en inhalation peuvent finir par le provoquer (**Karunarathna et al., 2025**).

4.3 Caractéristiques cushingoïdes :

Quand on prend des corticostéroïdes systémiques, le corps peut vite développer un syndrome de Cushing causé par le traitement. L'abdomen prend du volume, le visage devient rond comme une lune, une bosse s'installe à la base de la nuque (la fameuse "bosse de bison") et des vergetures rouges apparaissent. Tout ça arrive parce que les cellules graisseuses n'évoluent plus comme elles le devraient, et l'organisme devient moins sensible à l'insuline. En général, ces signes se montrent dès les deux premiers mois du traitement (**Karunarathna et al., 2025; Dodonova et al., 2025**).

4.4 Diabète et hyperglycémie :

Les glucocorticoïdes rendent les cellules moins sensibles à l'insuline, forcent le foie à produire trop de glucose et empêchent notre corps d'absorber ce sucre correctement. Résultat: de nombreux patients développent un diabète ou constatent que le leur empire. Dès les premières heures après la prise d'un glucocorticoïde, la glycémie grimpe, surtout après les repas (**Dodonova et al., 2025; Karunarathna et al., 2025**).

4.5 Myopathie :

Les corticostéroïdes peuvent provoquer une myopathie, c'est-à-dire une perte progressive et symétrique de la force musculaire proximale. Cela arrive parce qu'ils augmentent la protéolyse et provoquent un mauvais fonctionnement des mitochondries dans les muscles. Ce problème dure parfois plusieurs semaines, même plusieurs mois. La bonne nouvelle, c'est que si on baisse les doses, la récupération est souvent possible (**Dodonova et al., 2025; Karunarathna et al., 2025**).

4.6 Cataracte et glaucome :

Au niveau des yeux, les corticostéroïdes peuvent entraîner une cataracte postérieure sous-capsulaire et une hausse de la pression intraoculaire, qui peut finir par déclencher un glaucome. Si personne ne s'en occupe, ces complications peuvent causer des lésions irréversibles. Pour ceux qui prennent ces traitements longtemps, il faut vraiment prévoir un suivi ophtalmologique régulier (**Karunarathna et al., 2025**).

4.7 Troubles psychiques :

Les corticoïdes rendent parfois l'humeur instable, troublent le sommeil, créent de l'anxiété, et dans certains cas, déclenchent même une psychose. Le risque grimpe si la dose quotidienne de prednisone dépasse 20 mg. Les symptômes se manifestent rapidement, alors il vaut mieux agir vite et penser à une prise en charge psychiatrique si besoin (**Karunarathna et al., 2025**).

4.8 Immunosuppression et risque d'infection :

Les corticostéroïdes empêchent les neutrophiles de bien circuler, freinent la production de cytokines et diminuent l'activité des lymphocytes. Résultat, on devient plus vulnérable aux infections, qu'elles viennent de bactéries, de champignons ou de virus. Les infections opportunistes, comme la pneumonie à *Pneumocystis jirovecii*, inquiètent tout particulièrement, surtout pendant les traitements forts ou de longue durée (**Karunarathna et al., 2025**).

4.9 Effets secondaires sur le système cardiovasculaire :

Les corticostéroïdes poussent le corps à retenir le sodium et l'eau. Ça fait monter la tension artérielle, favorise la résistance à l'insuline et perturbe les lipides. Tous ces facteurs augmentent le risque de fibrillation auriculaire, d'insuffisance cardiaque et de maladies cardiaques ischémiques (**Karunarathna et al., 2025**).

4.10 Effets négatifs sur le système digestif :

Prendre des corticostéroïdes peut causer des brûlures d'estomac, irriter la muqueuse gastrique ou provoquer un ulcère gastro-duodéal, en particulier si on les associe à des anti-inflammatoires non stéroïdiens. Mélanger les deux multiplie par quatre le risque d'hémorragie digestive (**Karunarathna et al., 2025**).

4.11 Effets négatifs sur la peau :

Quand les fibroblastes arrêtent de se multiplier et que la production de collagène ralentit, la peau s'amincit. On voit alors apparaître du purpura, la guérison devient plus longue, et des vergetures peuvent se former. Souvent, ces effets restent pour de bon, même si parfois, ils s'améliorent quand on arrête le traitement (**Karunarathna et al.,**

2025).

4.12 Retard de développement chez l'enfant :

Chez les enfants, les corticostéroïdes freinent la croissance et retardent la puberté en bouleversant l'axe hormone de croissance IGF-1 et l'activité des ostéoblastes. Si le traitement dure longtemps, la taille adulte finale peut en souffrir (**Karunarathna et al., 2025**).

5. Effets métaboliques des corticostéroïdes :

5.1. Métabolisme des glucides :

Les glucocorticoïdes (GCs) stimulent la production de glycogène à partir du glucose et du lactate (glycogénogenèse), mais ils favorisent aussi la synthèse de glucose à partir de sources non glucidiques comme le glycérol ou certains acides aminés (néoglucogenèse). Quand ils activent différentes enzymes du foie, ça aide l'organisme à économiser le glucose disponible. En parallèle, ces hormones freinent la libération d'insuline, réduisent l'efficacité de son récepteur, et boostent la sécrétion de glucagon (**OuzAID & RekIOuk, 2018**).

5.2. Métabolisme des lipides :

Les glucocorticoïdes accélèrent la dégradation des graisses et ralentissent la synthèse des acides gras à longue chaîne. Résultat : plus de glycérol et d'acides gras libres circulent dans le sang, et le corps utilise surtout ces acides gras pour fabriquer du glucose via la néoglucogenèse

(**OuzAID & RekIOuk, 2018**)

5.3. Métabolisme des protéines :

Les GCs bloquent la fabrication de protéines de deux façons. D'abord, ils freinent l'entrée des acides aminés dans les muscles, ce qui réduit la construction de nouvelles fibres musculaires. Ensuite, ils boostent la libération d'acides aminés à partir des tissus. Ces acides aminés passent alors dans le sang et rejoignent le foie, où ils servent à fabriquer du glucose (**OuzAID & RekIOuk, 2018**).

6. Limites des corticostéroïdes

Bien que les corticostéroïdes présentent une efficacité thérapeutique importante dans la prise en charge de nombreuses pathologies inflammatoires et immunologiques, leur utilisation reste limitée en raison de la fréquence et de la gravité de leurs effets indésirables systémiques. Ces effets secondaires sont étroitement liés à la dose administrée ainsi qu'à la durée du traitement, et peuvent toucher plusieurs systèmes

physiologiques, notamment les systèmes métabolique, osseux, endocrinien et immunitaire.

Ainsi, une exposition prolongée ou à fortes doses augmente significativement le risque de complications cliniques majeures. Pour cette raison, l'utilisation des corticostéroïdes doit être soigneusement contrôlée, privilégiant des traitements de courte durée et une surveillance médicale rigoureuse afin de minimiser les risques associés (Schäcke et al., 2002 ; Strehl & Buttgereit, 2013).

Les glucocorticoïdes peuvent avoir des conséquences métaboliques importantes, notamment l'ostéoporose. L'ostéoporose est un problème majeur parce qu'il est fréquent et qu'il affecte beaucoup la qualité de vie. Nous allons maintenant expliquer les mécanismes spécifiques qui provoquent cette fragilisation osseuse.

7. Ostéoporose induite par les corticostéroïdes

L'ostéoporose causée par les glucocorticoïdes, c'est un vrai problème pour tous ceux qui prennent de la cortisone sur le long terme. Derrière ce mot compliqué, il y a une réalité qu'on ne peut pas ignorer : les os deviennent vite fragiles, la densité osseuse chute, et le risque de fracture grimpe en flèche, parfois même après quelques mois seulement.

Ce n'est pas la même chose que l'ostéoporose de la ménopause. Là, avec les corticoïdes, ce n'est pas juste que l'os se perd plus vite le corps ralentit carrément la production du nouvel os. Résultat : la régénération ne suit pas (Wang, 2023 ; Hsu, 2024).

Tout ça, c'est assez complexe. Il y a des effets directs sur les cellules osseuses, et puis des effets plus indirects qui passent par le calcium, les hormones, ou l'inflammation (Xavier, 2022).

7.1 Quand les corticoïdes freinent la construction osseuse :

Les glucocorticoïdes s'attaquent directement aux ostéoblastes, ces cellules qui fabriquent l'os.

Ils ne se contentent pas de freiner leur production à partir des cellules souches : ils accélèrent aussi leur mort programmée, l'apoptose. Résultat, la matrice osseuse se fabrique mal (Wang, 2023).

Sur le plan cellulaire, ces médicaments brouillent des voies de signalisation essentielles, comme la voie Wnt/ β -caténine, qui joue un rôle clé dans la formation osseuse. Ils déstabilisent aussi l'équilibre entre le renouvellement et la maturation des ostéoblastes (Qiao, 2023).

Des études sur des animaux traités à la dexaméthasone le montrent bien : l'activité

des ostéoblastes s'effondre et la minéralisation de l'os chute fortement (**Chaichit, 2021**). Aujourd'hui, on sait que la perte osseuse sous corticoïdes vient surtout d'un défaut de construction, beaucoup plus que

d'un excès de destruction (**Hsu, 2024**).

7.2 Un métabolisme du calcium mis à mal :

Avec les corticoïdes, le métabolisme du calcium prend un coup. L'intestin absorbe moins bien le calcium, surtout parce que ces médicaments diminuent l'action des transporteurs qui dépendent de la vitamine D. En même temps, les reins en éliminent davantage (**Hsu, 2024**).

Quand le taux de calcium dans le sang baisse, le corps réagit en libérant plus de parathormone. Cette hormone va chercher le calcium dans les os pour rétablir l'équilibre, mais à force, ça finit par déminéraliser l'os (**Wang, 2023**).

D'ailleurs, les analyses sanguines le confirment : sous traitement prolongé, les marqueurs du métabolisme osseux changent nettement, preuve que tout le renouvellement de l'os est perturbé (**Xavier, 2022**).

7.3 Un déséquilibre entre construction et destruction :

Notre squelette est en perpétuel remodelage : des cellules spécialisées résorbent l'os ancien (ostéoclastes) tandis que d'autres assurent sa formation (ostéoblastes). Les glucocorticoïdes rompent profondément cet équilibre dynamique. Ils inhibent l'activité et la survie des ostéoblastes tout en prolongeant celle des ostéoclastes, favorisant ainsi une perte osseuse progressive (**Wang, 2023**).

Comme le démontre la figure 1, l'excès de glucocorticoïdes agit à divers niveaux dans le tissu osseux. Il accroît l'ostéoclastogenèse et prolonge la survie des ostéoclastes, entraînant une augmentation de la résorption osseuse, particulièrement au cours des phases précoces du traitement. Parallèlement, il réprime la différenciation et la fonction des ostéoblastes et provoque leur apoptose, ce qui conduit à une diminution marquée de la formation osseuse. On observe aussi une augmentation du rapport RANKL/OPG (ostéoprotégérine), favorisant l'activation des ostéoclastes et aggravant le déséquilibre du remodelage osseux (**Jha, 2023**).

De plus, les glucocorticoïdes ont un effet délétère sur la survie des ostéocytes matures, en augmentant leur apoptose et en perturbant l'intégrité de la microarchitecture osseuse. La réduction de la perfusion au niveau des canalicules osseux, associée à la détérioration de la qualité osseuse, contribue à une augmentation de la fragilité osseuse. À long terme, l'ensemble de ces mécanismes conduit à une diminution du volume de l'os

trabéculaire et cortical, augmentant ainsi le risque de fractures et pouvant,

dans certains cas, évoluer vers une ostéonécrose (Xavier, 2022 ; Chaichit, 2021).

Ainsi, l'ostéoporose induite par les glucocorticoïdes est caractérisée par une altération du remodelage osseux, dominée par une diminution de la formation osseuse et une augmentation relative de la résorption, ce qui entraîne une détérioration quantitative et qualitative de l'os (Qiao, 2023).

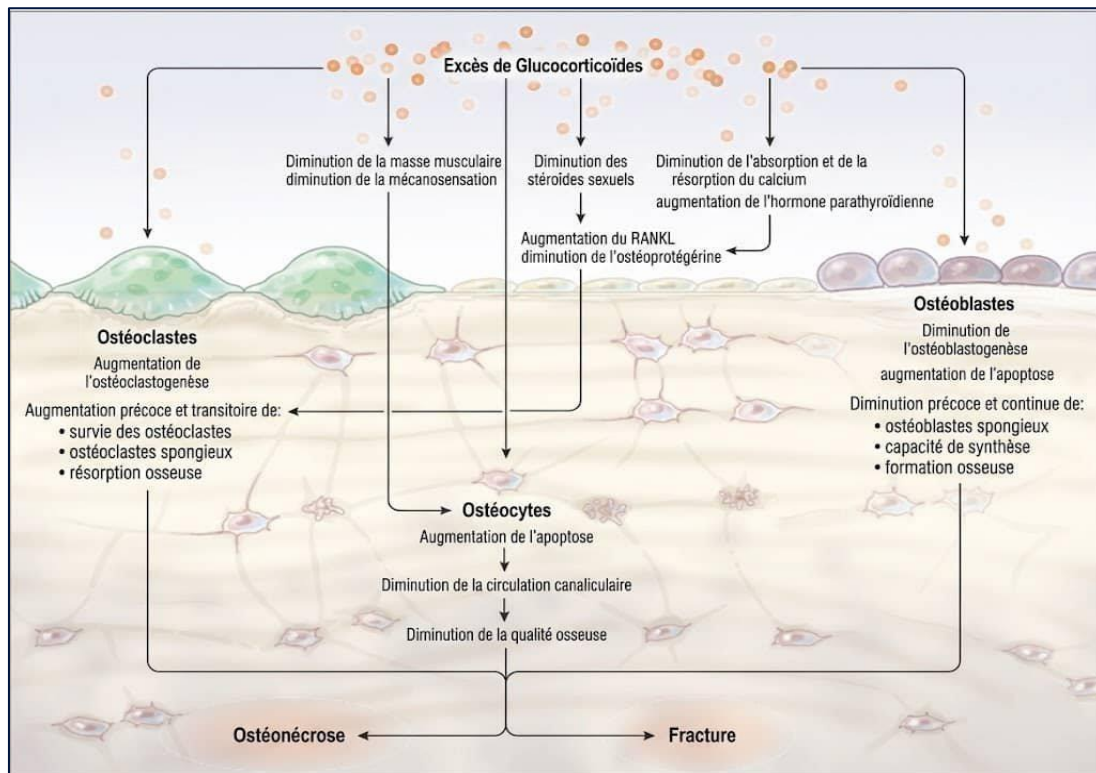


Figure 1 : Mécanismes de la perte osseuse induite par les glucocorticoïdes. RANKL : Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand. (Buckley & Humphrey, 2018).

L'atteinte osseuse n'est pas la seule complication causée par les corticostéroïdes. Les glucocorticoïdes ont également un impact sur la production de cellules sanguines, entraînant une anémie. Cette condition aggrave le pronostic fonctionnel des patients. L'anémie est discutée plus en détail dans la section suivante.

8. Anémie induite par les corticostéroïdes

L'anémie qui touche les personnes sous corticoïdes au long cours passe souvent inaperçue, mais elle reste très courante. Ce n'est jamais une seule cause c'est tout un mélange de mécanismes qui s'emmêlent : la fabrication des globules rouges déraile, la gestion du fer par le corps déraile aussi, et l'inflammation vient compliquer le tableau. Les glucocorticoïdes chamboulent l'hématopoïèse c'est le processus qui fabrique nos cellules sanguines, dérèglent le métabolisme du fer, et favorisent certains stress oxydatifs.

Tout ça finit par réduire la production ou la durée de vie des globules rouges (**Watts, 2025 ; Ginzburg, 2023**).

Au cœur du problème, on retrouve des molécules clés : des facteurs de transcription, des cytokines, ou encore l'axe hepcidine-ferroportine, absolument central pour la régulation du fer. Ajoutez à cela les perturbations du microenvironnement de la moelle osseuse, le lieu de naissance des cellules sanguines, et le tableau s'assombrit encore (**Mansour, 2025 ; Pagani, 2019**).

8.1. Dans la moelle osseuse : une érythropoïèse malmenée

Les glucocorticoïdes affectent directement les premières étapes de l'érythropoïèse. Ils modifient le comportement des cellules souches hématopoïétiques au sein de la moelle osseuse, altérant leur capacité de prolifération, de différenciation et de survie. Ces effets sont principalement médiés par l'activation du récepteur des glucocorticoïdes (GR) ainsi que par son interaction avec des voies majeures régulant l'hématopoïèse, notamment celles impliquant HIF-1 α (**Watts, 2025**).

Comme le montre la figure 2, les glucocorticoïdes interagissent également avec le récepteur de l'érythropoïétine (EPO-R). Une interaction fonctionnelle existe entre le récepteur des glucocorticoïdes (GR) et le récepteur de l'érythropoïétine (EPO-R) concernant la régulation de la phosphorylation de STAT5. Toute perturbation de cette voie de signalisation inhibe la prolifération et la différenciation cellulaires, compromettant ainsi la réponse physiologique à l'érythropoïétine (**Stellacci et al., 2009**).

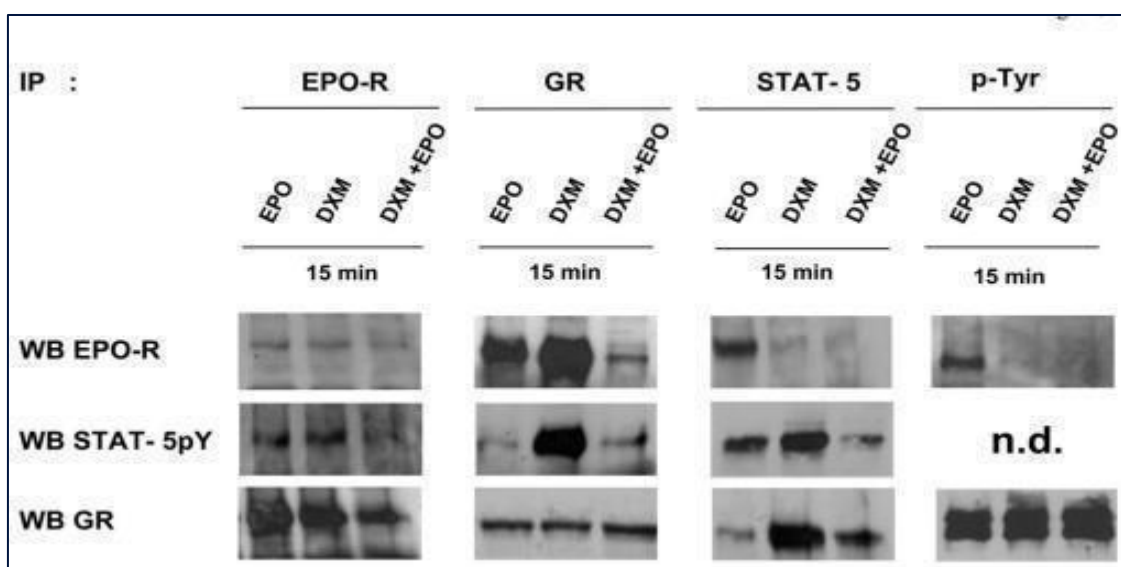


Figure 2: Interaction entre GR : Glucocorticoid Receptor, EPO-R : Erythropoietin Receptor et STAT-5pY : Signal Transducer and Activator of Transcription 5 phosphorylé sur la tyrosine dans les préérythroblastes humains traités soit par DXM : Dexaméthasone seuls, soit en combinaison avec EPO : Erythropoietin ; WB : Western Blot ; IP : Immunoprecipitation ; p-Tyr : Phosphotyrosine ; n.d. : not detected (non détecté). (**Stellacci et al., 2009**).

Par ailleurs, les glucocorticoïdes modifient également le microenvironnement médullaire. En altérant les interactions entre les cellules stromales constituant la niche hématopoïétique et les cellules souches hématopoïétiques, ils perturbent le renouvellement normal des précurseurs érythroïdes. Cette désorganisation conduit à une production insuffisante ou qualitativement altérée des globules rouges, favorisant ainsi l'installation d'une anémie (**Ginzburg, 2023**).

Enfin, des altérations de processus cellulaires tels que l'autophagie et certaines voies de signalisation intracellulaire contribuent également à une maturation inadéquate des érythroblastes (**Li, 2022**).

8.2 Perturbation du métabolisme du fer:

Le fer, c'est la clé pour fabriquer l'hémoglobine, la protéine qui fait circuler l'oxygène dans le sang. Sauf que sous corticoïdes, tout son métabolisme part en vrille. La principale coupable ici, c'est l'hepcidine, une hormone qui contrôle l'absorption du fer dans l'intestin et sa libération depuis les réserves du corps. Les glucocorticoïdes, en jouant sur certaines cytokines inflammatoires, stimulent la sécrétion d'hepcidine. Trop d'hepcidine, et la ferroportine c'est la "porte de sortie" du fer hors des cellules se ferme. Résultat, la moelle reçoit moins de fer, alors qu'elle en a cruellement besoin (**Pagani, 2019 ; Mansour, 2025**).

C'est typique de l'anémie inflammatoire : les réserves de fer sont là, parfois même en excès, mais ce fer reste bloqué, inutilisable. Les macrophages, ces cellules qui recyclent le fer des vieux globules rouges, jouent ici un rôle central. Sous la pression des signaux inflammatoires, ils changent de comportement et gardent le fer pour eux (**Matsuoka, 2024 ; Ginzburg, 2023**).

7.3. Inflammation et stress oxydatif dans l'anémie cortico-induite:

L'inflammation chronique, qui va souvent de pair avec les corticoïdes chez les patients atteints de maladies auto-immunes ou inflammatoires, ne fait qu'empirer la situation. Certaines cytokines, comme l'interleukine-6, boostent encore la production d'hepcidine, ce qui réduit encore plus la disponibilité du fer (**Pagani, 2019 ; Matsuoka, 2024**).

En parallèle, le stress oxydatif débarque c'est ce déséquilibre entre les radicaux libres et les défenses antioxydantes du corps et il abîme directement les globules rouges. Leur membrane devient fragile, leur durée de vie raccourcit. Même les cellules souches dans la moelle osseuse ne sont pas épargnées, ce qui perturbe davantage la production de

globules rouges (**Khalil, 2016**).

Le système immunitaire s'en mêle aussi. Les macrophages s'activent, les médiateurs inflammatoires pleuvent, et le cercle vicieux s'enclenche : le fer devient encore moins accessible, l'érythropoïèse ralentit, et l'anémie s'aggrave (**Louie, 2023**).

Au final, quand le statut antioxydant général est déséquilibré, tous ces dérèglements cellulaires s'accroissent, et le corps devient moins capable de résister à l'agression chronique du traitement ou de la maladie de fond (**Sebastià, 2020**).

9. La relation physiopathologique entre l'ostéoporose et l'anémie sous l'influence des corticostéroïdes :

Le lien entre l'ostéoporose et l'anémie sous l'effet des corticostéroïdes est vraiment compliqué. Tout se joue dans la moelle osseuse, le métabolisme osseux et la formation des globules rouges, où ces différents mécanismes s'entremêlent. Quand on prend des glucocorticoïdes, ils bloquent directement la formation de nouvel os. Ils ralentissent l'activité et la maturation des ostéoblastes, ces fameuses cellules qui construisent l'os, et ils accélèrent la mort des ostéocytes, ce qui rend les os plus fragiles (**Rahman et Haider, 2021; Hofbauer et al., 2022**).

En plus, ils font bosser davantage les ostéoclastes, ces cellules qui grignotent l'os, en activant la voie RANK/RANKL/OPG (**Klein, 2015**). Côté sang, les corticostéroïdes chamboulent la fabrication des globules rouges. Ils perturbent l'ambiance qu'il faut dans la moelle osseuse, ce qui fait baisser la production de globules rouges, poussant à l'anémie, surtout si une carence en fer ou une inflammation chronique s'ajoute à tout ça (**Lambert et Beris, 2019**).

La moelle osseuse, c'est vraiment le point de croisement : les cellules qui fabriquent le sang et celles qui bâtissent l'os vivent côte à côte. Donc, dès que les glucocorticoïdes troublent ce microenvironnement, toute la chaîne trinque aussi bien la solidité des os que la production sanguine (**Kobza et al., 2020**). On voit d'ailleurs dans des études que, quand le taux d'hémoglobine baisse, la densité osseuse chute elle aussi. L'anémie, en privant les tissus d'oxygène, gêne encore plus le travail des ostéoblastes et aggrave l'ostéoporose (**Kim et al., 2021**). Ajoutez à cela que les glucocorticoïdes perturbent le métabolisme du calcium et de la vitamine D : ils réduisent l'absorption intestinale du calcium et en augmentent l'excrétion par les reins. Résultat, les os perdent de la matière et il y a des déséquilibres qui peuvent aussi ralentir la production de globules rouges (**Lanna et al., 2018**). Au final, cette interaction entre ostéoporose et anémie sous corticothérapie tient à un dérèglement profond de la moelle osseuse et des principales voies métaboliques. C'est

pour ça qu'on doit les considérer ensemble quand on veut prévenir ou soigner ces deux complications (**Hofbauer et al., 2022; Kobza et al., 2020**).

CHAPITRE 02

Stratégies préventives pour réduire les complications liées aux corticostéroïdes

Le chapitre précédent a expliqué en détail les complications cortico-induites. Maintenant, nous allons voir comment prévenir classiquement l'ostéoporose et l'anémie causées par les glucocorticoïdes, en montrant leurs limites et en soulignant la nécessité d'utiliser des technologies plus avancées.

1.Prévention traditionnelle de l'ostéoporose associée aux corticostéroïdes :

Pour prévenir l'ostéoporose liée aux corticostéroïdes, on combine toujours plusieurs approches. D'abord, il faut agir vite : c'est dès le début du traitement glucocorticoïde qu'on met en place les mesures. Du côté non pharmacologique, il est important de viser un apport suffisant en calcium (environ 1000 à 1200 mg par jour) et en vitamine D (800 à 1000 UI par jour). Les corticostéroïdes réduisent l'absorption intestinale du calcium et augmentent son élimination par les reins ; il faut donc compenser ces pertes pour protéger les os. À cela s'ajoutent l'exercice physique régulier, surtout les activités qui sollicitent les muscles et les os, pour aider à garder la masse osseuse et limiter les risques de chute. Fumer et boire de l'alcool n'aident pas non plus : arrêter le tabac et limiter la consommation d'alcool reste essentiel, car ce sont deux facteurs qui aggravent la perte osseuse (**Paccou et al., 2023 ; Pereira et al., 2020**).

Côté médicaments, on privilégie les bisphosphonates (comme l'alendronate ou le risédronate) chez les patients à risque modéré ou élevé. Leur efficacité pour freiner la perte osseuse et éviter les fractures vertébrales est bien connue. Si le patient ne supporte pas ces traitements ou présente un risque particulier, d'autres options existent : le tériparatide, qui stimule la formation osseuse, ou le denosumab, qui, lui, bloque la résorption des os. Peu importe le traitement choisi, on surveille régulièrement la densité osseuse par ostéodensitométrie (DXA), et on tient compte des facteurs de risque personnels, comme l'âge, la dose et la durée des corticoïdes, ou encore des fractures antérieures, pour affiner la prévention (**Saag et al., 2023 ; Gyune, 2021**).

Et surtout, on cherche toujours à utiliser la dose de glucocorticoïdes la plus faible, et ce, pendant la durée la plus courte possible, car c'est la meilleure façon d'éviter que l'ostéoporose ne prenne le dessus (**Paccou et al., 2023**).

2.Prévention de l'anémie associée au traitement par corticostéroïdes :

Pour prévenir l'anémie liée aux corticostéroïdes, il faut vraiment voir les choses dans leur ensemble. Les glucocorticoïdes perturbent le métabolisme du fer et jouent aussi sur l'inflammation, ce qui peut soit aggraver une anémie qu'on a déjà, soit en déclencher une nouvelle. Ils dérèglent l'équilibre du fer dans le corps et influencent la production de cytokines (**Kulik-Rechberger et Dubel, 2020**). Du coup, il faut garder un œil attentif sur

les analyses sanguines : surveiller l'hémoglobine, la ferritine, le coefficient de saturation de la transferrine, tout ça aide à repérer rapidement un souci ou une carence (**Kolarš et al., 2021**).

En plus, il ne faut pas négliger l'alimentation. Un apport suffisant en fer, en vitamine B12 et en acide folique fait une vraie différence pour la prévention (**Noreen et al., 2023**). Chez les patients à risque, on recommande parfois carrément une supplémentation en fer, histoire d'éviter qu'une carence ne s'installe (**Kolarš et al., 2021**).

À côté de tout ça, il reste important de contrôler l'inflammation sous-jacente et de n'utiliser les corticostéroïdes qu'à la dose minimale, sur une durée la plus courte possible. Cette approche aide vraiment à limiter le risque d'anémie due aux traitements (**Kulik-Rechberger et Dubel, 2020**).

3.Limites des solutions traditionnelles :

Les méthodes classiques pour traiter l'anémie ferriprive et l'ostéoporose ne sont franchement pas parfaites. Pour l'anémie ferriprive, prendre du fer par voie orale marche, mais ça s'accompagne souvent de désagréments pour l'estomac : nausées, constipation, vous voyez le tableau. Pas étonnant que beaucoup de gens abandonnent le traitement. En plus, l'absorption du fer dépend de ce qu'on mange ou de l'état inflammatoire du corps, donc parfois ça ne fonctionne pas bien (**Short et Domagalski, 2013 ; Iolascon et al., 2020**).

Et puis, si le déficit est sévère ou s'il y a une raison sous-jacente, la supplémentation ne règle pas toujours le problème rapidement. Pour l'ostéoporose, les médicaments classiques comme les bisphosphonates viennent avec leur lot de soucis à long terme : effets secondaires, parfois des complications osseuses rares, et tout ça est vraiment efficace seulement si on suit le traitement à la lettre (**Das et Crockett, 2013 ; Brown, 2017**).

Parfois, ces traitements n'agissent pas comme il faudrait sur les mécanismes complexes de la perte osseuse, surtout pour les cas provoqués par les glucocorticoïdes (**Pereira et al., 2020**). Bref, vu toutes ces limites, il faut trouver des traitements plus ciblés, mieux tolérés, et qui correspondent vraiment aux mécanismes spécifiques de ces maladies (**Chen et al., 2022**).

4.La nécessité d'approches préventives innovantes :

L'anémie ferriprive et l'ostéoporose persistent à des niveaux élevés, même si on dispose de traitements efficaces. Ça montre clairement qu'il faut revoir notre façon de faire de la prévention. Les stratégies classiques s'appuient surtout sur des traitements, mais souvent, on intervient une fois la maladie bien installée.

Résultat : l'effet sur le long terme reste limité, souvent à cause des effets secondaires,

du manque d'adhésion au traitement, ou simplement parce que le diagnostic arrive trop tard. Pour l'anémie ferriprive, les recommandations mettent l'accent sur le dépistage précoce, l'amélioration de l'alimentation, et surtout la prise en charge des vraies causes, pas juste la supplémentation en fer (**Iolascon et al., 2020 ; Short & Domagalski, 2013**).

Pour l'ostéoporose, on sait maintenant que la vraie priorité, c'est la prévention primaire : assurer assez de calcium et de vitamine D, bouger régulièrement et repérer tôt les personnes à risque, surtout les femmes ménopausées et les patients qui prennent des glucocorticoïdes (**Chen et al., 2023 ; Das & Crockett, 2020**).

En plus, les progrès en pharmacologie et la meilleure compréhension des mécanismes moléculaires ouvrent la porte à des approches plus personnalisées. On commence à penser prévention avant même l'arrivée de complications sérieuses comme les fractures ou les anémies graves (**Lee et al., 2021 ; Pereira et al., 2020**). Tout cela pousse à intégrer des stratégies innovantes basées sur la prévention, le dépistage précoce et la médecine personnalisée pour vraiment alléger le poids de ces maladies (**Nehar et al., 2022; Davidson, 2016**).

Même si nous avons des méthodes pour prévenir les problèmes de santé, les traitements traditionnels ont de grandes limites. Les médicaments classiques ne sont pas toujours bien absorbés par le corps, peuvent causer des effets secondaires et les gens ne les prennent pas toujours correctement. C'est pourquoi il est nécessaire de trouver des solutions nouvelles et innovantes, comme la nanomédecine, qui sera présentée dans le chapitre suivant. La nanomédecine offre des principes et des applications qui pourraient améliorer les traitements de santé.

CHAPITRE 03

Le rôle de la nanotechnologie dans la prévention des complications de la corticothérapie

nous allons examiner les limitations des traitements classiques. Dans ce chapitre, nous nous intéressons au rôle de la nanotechnologie. Nous allons aborder plusieurs points importants. Tout d'abord, nous allons définir les nanoparticules et étudier leurs propriétés. Ensuite, nous allons voir comment les caractériser sur le plan physicochimique. Enfin, nous allons explorer les applications spécifiques de certaines nanoparticules, notamment les nanoparticules de fer, l'hydroxyapatite nanométrique et la vitamine D nanoformulée. Ces applications sont particulièrement intéressantes dans la prévention de l'ostéoporose et de l'anémie.

1. Définition générale des nanoparticules :

Les nanoparticules sont des particules très petites, mesurant entre 1 et 100 nanomètres. Elles ont des propriétés différentes de la matière ordinaire en raison de leur grande surface par rapport à leur volume et de phénomènes quantiques (**Yameny, 2024; Suhas et al., 2025**). Les nanoparticules peuvent interagir facilement avec les systèmes biologiques en raison de leur petite taille et de la possibilité de modifier leur surface. Cela les rend utiles pour pénétrer dans les cellules et pour des applications médicales, telles que le transport de médicaments, l'imagerie médicale et de nouvelles thérapies (**Gisbert-Garzarán & Vallet-Regí, 2022; Harish et al., 2022**). Les nanoparticules sont très variées dans leur composition et leur forme. Leur taille, leur forme, leur charge et leur composition chimique influencent leur capacité à être utilisées par l'organisme et leur compatibilité avec les organismes vivants. Par conséquent, il est essentiel de caractériser soigneusement les nanoparticules avant de les utiliser dans des applications médicales (**Yameny, 2024**).

2. Caractérisation des nanoparticules :

Les nanoparticules (NPs) possèdent des propriétés spécifiques à l'échelle nanométrique qui influencent leur biodistribution, leur stabilité et leurs applications biomédicales (**Jha et al., 2020 ; Joudeh & Linke, 2022**).

2.1 Taille et distribution :

La diminution de la taille accroît le rapport surface/volume, renforçant la réactivité et l'adsorption, ce qui améliore la biodisponibilité. La diffusion dynamique de la lumière (DLS) est une méthode courante pour mesurer la taille moyenne et l'indice de polydispersité (**Patel & Prajapati, 2019 ; Carvalho et al., 2014**).

2.2 Forme et architecture :

La morphologie des nanoparticules (NPs) (sphériques, cubiques, étoilées, etc.) influence leurs interactions cellulaires. Les nanoparticules d'or, par exemple, présentent des propriétés optiques et thérapeutiques variables selon leur forme. Des architectures

internes comme les structures « cœur-coquille » ou les matrices polymériques permettent une libération contrôlée des médicaments (Huang & El-Sayed, 2010 ; Hnawate & Deore, 2021).

2.3 Surface et charge électrique :

La charge de surface, mesurée par le potentiel zêta, conditionne la stabilité en suspension. La fonctionnalisation chimique, consistant à greffer des molécules spécifiques, améliore le ciblage et l'efficacité thérapeutique (Joudeh & Linke, 2022 ; Yusuf *et al.*, 2022).

2.4 Propriétés optiques :

Les nanoparticules métalliques, notamment d'or, présentent une résonance plasmonique de surface (SPR), phénomène exploité dans des applications innovantes telles que le diagnostic du cancer et la thérapie photothermique (Huang & El-Sayed, 2010).

2.5 Comportement en milieu liquide :

La solubilité, la nature hydrophile ou hydrophobe et la composition chimique déterminent la dispersion et l'efficacité des nanoparticules. Pour éviter leur agrégation et préserver leurs propriétés, des agents stabilisants ou des polymères sont souvent utilisés (Khan *et al.*, 2015 ; Jha *et al.*, 2020).

2.6 Interactions avec le vivant et sécurité :

Grâce à leur petite taille, les nanoparticules peuvent franchir aisément les barrières biologiques et délivrer des médicaments. Cependant, elles peuvent aussi induire un stress oxydatif ou une cytotoxicité selon leur composition. Une évaluation approfondie de leur biocompatibilité et de leur toxicité est donc indispensable avant toute application clinique (Patel & Prajapati, 2019 ; Khan *et al.*, 2015 ; Yusuf *et al.*, 2022).

3. Les nanoparticules de fer pour la prévention de l'anémie induite par les corticostéroïdes :

3.1 Définition du problème médicale :

Bien que des avancées scientifiques aient été réalisées, l'anémie demeure une problématique majeure de santé publique mondiale. Selon l'OMS(Organisation Mondiale de la Santé), elle touche 40

% des enfants, 37 % des femmes en post-partum et 30 % des femmes en âge de procréer, l'anémie ferriprive étant la forme la plus répandue (OMS, 2021 ; Surekha *et al.*, 2024).

Les traitements actuels présentent plusieurs limites : faible biodisponibilité du fer, effets secondaires désagréables, difficultés d'observance et réticence face aux injections intraveineuses (Surekha *et al.*, 2024).

Pour surmonter ces obstacles, des approches innovantes sont proposées, notamment

l'administration transdermique par patchs à microneedles contenant des nanoparticules de fer. Cette méthode offre un apport continu, indolore et mieux toléré, réduisant les effets indésirables et améliorant l'adhésion thérapeutique (Figure 3). (Surekha *et al.*, 2024).

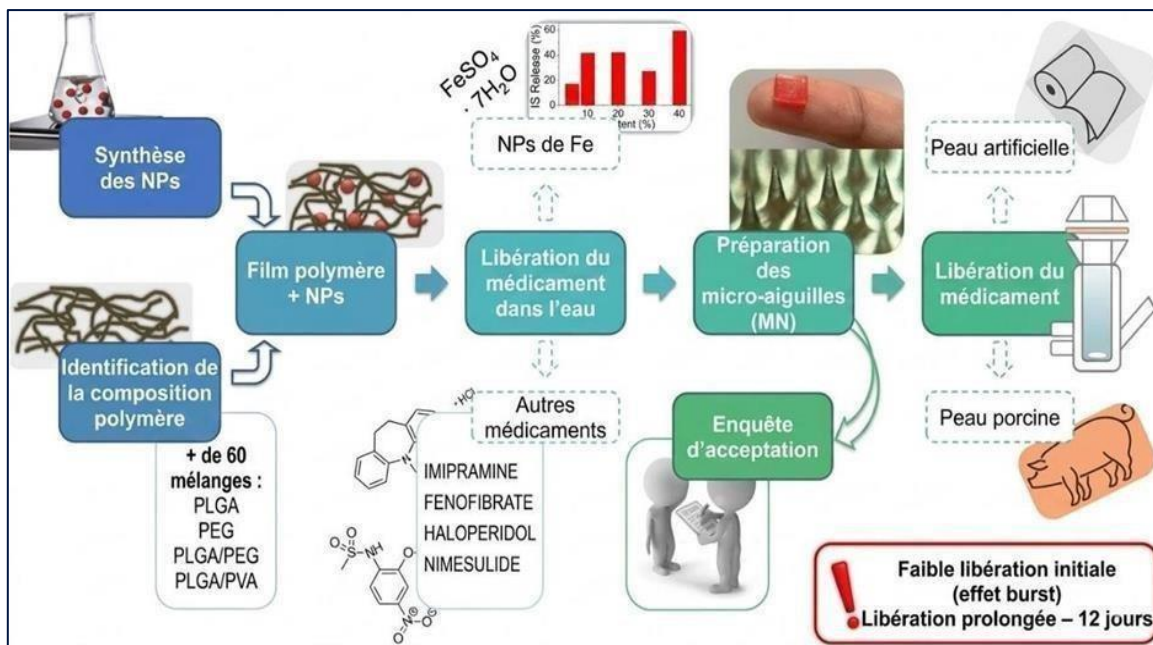


Figure 3: Schéma illustrant la formulation, le développement du patch et l'étude. Abréviations : NPs = nanoparticules ; PLGA = poly(acide lactique-co-glycolique) ; PEG = polyéthylène glycol ; PVA = poly(acétate de vinyle) ; FeSO₄·7H₂O = sulfate de fer heptahydra

3.2 Importance des nanoparticules de fer :

La conversion du sulfate ferrique en nanoparticules constitue une avancée majeure pour le développement de systèmes transdermiques à libération prolongée (Surekha *et al.*, 2024). Les IS NPs (Nanoparticules à base de fer, souvent notées Fe NPs), lorsqu'elles sont encapsulées dans une matrice polymérique, conservent leur taille nanométrique et se dissolvent rapidement en milieu aqueux, garantissant sécurité et efficacité. Comparées aux préparations classiques de fer, elles assurent une distribution homogène et réduisent l'effet de « burst release » grâce à leur nature amorphe et leur répartition uniforme.

Parmi plus de soixante-dix formulations testées, la combinaison optimale PLGA(Poly acide lactique-co-glycolique) (Mw = 60 kDa) et PEG (Polyéthylène glycol) (Mw = 10 kDa) au ratio 70/30, avec une charge de 30 % d'IS NPs(Nanoparticules à base de fer) , a montré une libération quasi linéaire sur une semaine et une polyvalence pour d'autres médicaments. Formulées en patchs à microneedles, elles permettent une administration indolore et prolongée, avec une cinétique de libération biphasique due à la dégradation progressive des microneedles.

Les études sur modèles cutanés et l'enquête sociologique en Inde confirment une forte

acceptabilité, surtout en milieu urbain, malgré quelques hésitations en zones rurales. Ces résultats soulignent l'importance d'une sensibilisation de la population en parallèle à la validation scientifique. En conclusion, les nanoparticules de fer apparaissent comme une approche transdermique prometteuse pour une thérapie prolongée (Surekha et al., 2024).

4. L'hydroxyapatite nanométrique dans la prévention de l'ostéoporose 4.1) Définition de l'hydroxyapatite nanométrique :

L'hydroxyapatite (HA) est un constituant essentiel du squelette et de la dentition. Elle se dégrade en ions calcium et phosphate, indispensables à la formation et à la régénération osseuse. Grâce à sa biocompatibilité et sa capacité à stimuler les ostéoblastes et l'ostéo-intégration, elle est largement utilisée pour la reconstruction et le remplacement osseux et dentaire (Elghareeb et al., 2022).

Ses principales applications incluent le renforcement osseux, le revêtement des implants et l'intégration dans des matrices biomédicales, bénéficiant de propriétés comme l'ostéoconductivité et une bonne tolérance. Toutefois, sa rigidité et sa faible résistance mécanique limitent son utilisation dans les implants soumis à de fortes contraintes. Pour pallier ces limites, l'hydroxyapatite est souvent associée à des polymères ou dopée par des ions métalliques tels que le zinc, le magnésium ou le strontium, afin de former des composites plus robustes et adaptés aux besoins cliniques (Elghareeb et al., 2022).

4.2 Son rôle dans la santé osseuse :

4.2.1 Potentiel de l'Hydroxyapatite :

L'hydroxyapatite (HA) est largement utilisée en biomédecine pour la délivrance de médicaments et l'ingénierie osseuse, en raison de sa forte similarité chimique avec la matrice osseuse naturelle et de sa capacité à se lier directement à l'os hôte, ce qui lui confère un avantage par rapport aux greffes ou implants métalliques (Noor, 2013). Ses principaux atouts incluent une biocompatibilité élevée, une faible biodégradation, une excellente ostéoconductivité ainsi qu'une bonne compatibilité avec les tissus mous. Actuellement, l'HA synthétique est employée dans la réparation des tissus durs, notamment comme additif osseux, revêtement d'implants et matériau de comblement (Noor, 2013).

4.2.2 Microcristaux d'Hydroxyapatite :

Les microcristaux d'hydroxyapatite de calcium, issus d'extraits osseux naturels, contiennent des minéraux en proportions physiologiques ainsi que des composés organiques propres au tissu osseux. Ils présentent une absorption supérieure à celle des compléments classiques de calcium, ce qui explique leur adoption en pratique médicale. Leur administration orale favorise la consolidation et la réparation des fractures, tout en contribuant à la

prévention de l'ostéoporose (Noor, 2013).

4.2.3 Nanocristaux d'Hydroxyapatite :

La recherche en biomatériaux s'oriente vers l'utilisation des nanotechnologies pour dépasser les limites des phosphocalcites. Les nanocristaux d'hydroxyapatite, employés comme greffons

osseux, présentent des propriétés remarquables telles que l'ostéoconduction, la biodégradation et une forte interaction avec le tissu osseux. Leur grande surface active stimule l'activité des ostéoblastes et accélère la cicatrisation, comme l'ont démontré les études expérimentales et cliniques (Noor, 2013). Cependant, leur rigidité et leur faible résistance mécanique limitent leur emploi comme implants soumis à des charges. Pour pallier ces contraintes, ils sont généralement associés à des polymères afin de former des biocomposites ostéoconductifs, largement utilisés en chirurgie orthopédique (Noor, 2013).

4.2.4 Cristaux d'Hydroxyapatite dans l'Ostéoporose

L'ostéoporose se définit par une diminution de la densité minérale osseuse, résultant d'un déséquilibre entre l'activité des ostéoclastes et celle des ostéoblastes. Cette pathologie entraîne des défauts de minéralisation liés à des substitutions atomiques dans la matrice osseuse (Noor, 2013). Les cristaux osseux, de taille nanométrique, contiennent une phase apatite avec 4 à 8 % de carbonates, dont la proportion évolue avec l'âge. Les analyses ont montré que les cristaux de l'os ostéoporotique sont plus petits, moins denses et moins cristallins que ceux de l'os sain. Leur structure atomique apparaît irrégulière et amorphe, contrairement à l'organisation hexagonale régulière observée dans l'os normal (Noor, 2013).

4.3 Applications et résultats expérimentaux :

4.3.1 Effet du nanohydroxyapatite sur la régénération osseuse in vivo :

Les expérimentations ont montré une régénération osseuse nettement supérieure chez les animaux traités avec des échafaudages, greffons ou hydrogels contenant du nanohydroxyapatite (nHA), comparativement aux groupes témoins. Les résultats révèlent une augmentation du volume osseux et tissulaire, une amélioration du rapport BV/TV ainsi qu'un dépôt calcaire au niveau de la zone lésée. En revanche, les animaux non traités n'ont présenté ni formation de pont osseux ni survie durant la période d'étude (Zaffarin *et al.*, 2021).

4.3.2 Amélioration des propriétés ostéogéniques du nHA lorsqu'il est associé à des médicaments ou molécules bioactives :

4.3.2.1 Protéines :

Les études les plus fréquentes montrent que l'incorporation du BMP-2 dans le biomatériau nHA renforce significativement l'ostéostimulation. L'association nHA-BMP-2 accroît le volume

osseux, l'épaisseur trabéculaire et la minéralisation, offrant ainsi de meilleurs résultats radiographiques et histologiques (**Itoh, Tan, Kim, Zhang**).

De plus, la combinaison du BMP-2 avec le VEGF ou le bFGF favorise une régénération et une maturation osseuses plus avancées (Curtin, Su). Enfin, l'association BMP-2-zolédronate améliore la formation et la maturation osseuse, contrairement au zolédronate seul, inefficace dans la réparation osseuse (**Raina, Teotia**).

L'action ostéogénique du nHA est optimisée lorsqu'il est associé au BMP-2, seul ou en synergie avec d'autres molécules bioactives (**Zaffarin et al., 2021**).

4.3.2.2 Antibiotique :

Seules deux études ont examiné l'utilisation du nHA comme vecteur d'antibiotiques, notamment pour la libération de la vancomycine dans le traitement de l'ostéomyélite provoquée par une infection à MRSA. Les résultats montrent que les échafaudages en nHA chargés de vancomycine possèdent à la fois des propriétés antibactériennes et ostéogéniques.

Chez les lapins, **Jiang (2012)** a démontré que l'implantation de nHA-vancomycine permettait une réparation osseuse sans récurrence infectieuse. De son côté, **Krishnan (2020)** a confirmé qu'une concentration plus élevée (15 %) favorisait la régénération et la consolidation osseuse par rapport aux témoins.

En conclusion, le nHA apparaît comme un vecteur efficace de la vancomycine, capable de stimuler la régénération osseuse tout en prévenant la réinfection (**Zaffarin et al., 2021**).

4.3.2.3 Autres médicaments ou molécules bioactives :

Quatre études ont montré que l'utilisation du nHA comme vecteur de molécules bioactives telles que la dexaméthasone, le calcitriol et le cisplatine favorise la régénération osseuse. Chez la souris, les échafaudages enrichis en dexaméthasone ont stimulé la formation osseuse. L'association calcitriol-nHA, sous forme d'hydrogel, a induit l'expression des marqueurs ostéogéniques, tandis que la combinaison cisplatine-nHA a permis une régénération osseuse supérieure aux groupes témoins, révélant un potentiel prometteur dans le traitement des cancers osseux.

L'association du nHA avec la dexaméthasone, le calcitriol ou le cisplatine améliore significativement la régénération osseuse et ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques (**Zaffarin et al., 2021**).

5. La vitamine D en formulations nanométriques comme facteur de soutien à la santé osseuse

5.1 Importance de la vitamine D pour la santé osseuse Absorption, physiologie et métabolisme de la vitamine D :

Les vitamines D existent sous deux formes : D₂ (ergocalciférol, synthétisée par les plantes) et D₃ (cholécalficérol, fabriquée sous l'effet des UVB par la peau et également contenue dans

certaines produits alimentaires animaux). La forme D₃, plus stable et active, est indispensable à l'état de bonne santé des os (**Aggeletopoulou et al., 2024**).

La vitamine D est ensuite acheminée par la DBP au foie, où elle est transformée en calcidiol (25(OH)D), avant d'être métabolisée dans les reins en calcitriol, la forme active (**Aggeletopoulou et al., 2024**).

Le calcitriol est impliqué dans plusieurs processus, notamment l'absorption du calcium et du phosphore par les intestins, leur réabsorption par les reins, ainsi que la minéralisation et la formation osseuses, permettant de prévenir l'ostéoporose (**Aggeletopoulou et al., 2024**). Sa production est induite par la PTH tandis que sa destruction est facilitée par le FGF-23. Enfin, l'inactivité du calcitriol est garantie par l'action de l'enzyme CYP24A1 (Figure 4). (**Aggeletopoulou et al., 2024**).

L'effet du calcitriol s'exerce par le biais du récepteur de la vitamine D (VDR), exprimé dans une grande variété de cellules. Le VDR, qui se caractérise par une régulation nucléaire (action via les récepteurs de rétinoïdes, RXR), permet de réguler le transcriptome. De plus, ce même récepteur possède une action rapide non génique sur la cellule. Par conséquent, le VDR constitue le médiateur central des effets biologiques de la vitamine D, notamment dans la régulation du métabolisme osseux (Figure 5) (**Aggeletopoulou et al., 2024**).

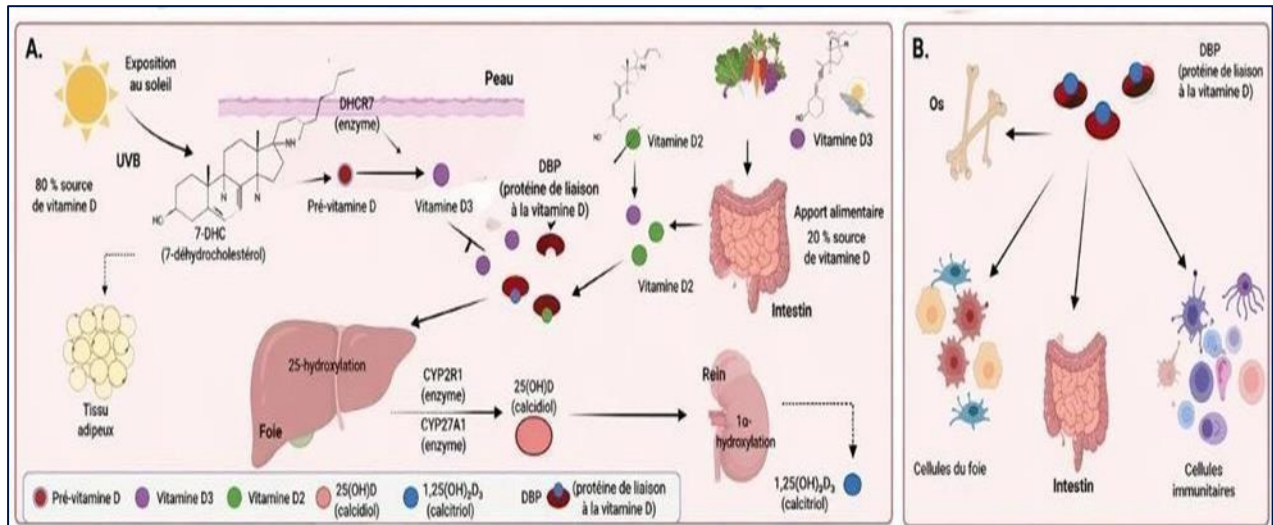


Figure 4:: (A) Synthèse et métabolisme de la vitamine D. (B) Transport du calcitriol vers les tissus cibles. Abréviations : UVB = ultraviolet B ; 7-DHC = 7-déhydrocholestérol ; DHCR7 = 7-déhydrocholestérol réductase; DBP = protéine de liaison à la vitamine D ; CYP2R1 =cytochrome P450 famille 2 sous-famille R polypeptide 1; CYP27A1 = cytochrome P450 famille 27 sous-famille A polypeptide 1 ; 25(OH)D = 25-hydroxyvitamine D ; 1,25(OH)₂D₃=1,25-dihydroxyvitamine D₃(Aggeletopoulou et al., 2024).

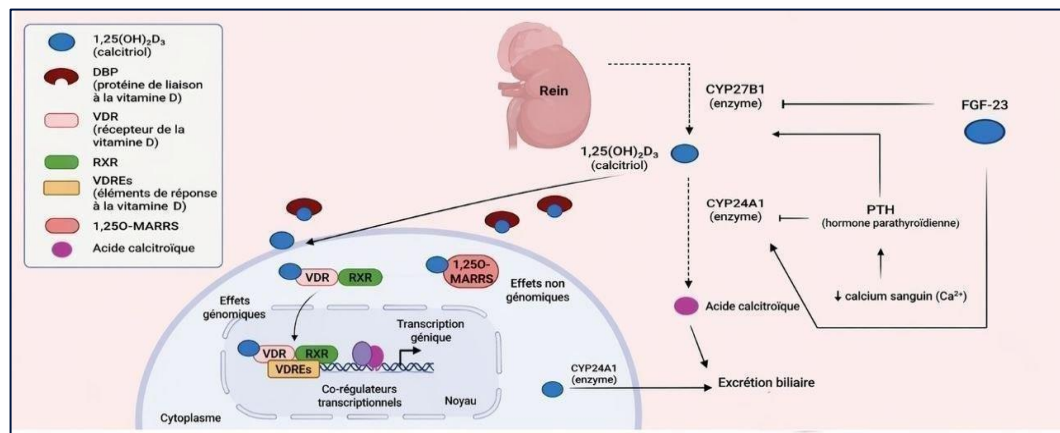


Figure 5:Signalisation médiée par la vitamine D et son récepteur (VDR). Abréviations : 1,25(OH)₂D₃ = 1,25-dihydroxyvitamine D₃ ; DBP = protéine de liaison à la vitamine D ; CYP27B1 = cytochrome P450 famille 27 sous- famille B polypeptide 1 ; CYP24A1 = cytochrome. (Aggeletopoulou et al., 2024).

Le récepteur de la vitamine D (VDR)

calcitriol exerce son action en se liant au récepteur de la vitamine D (VDR), présent dans la majorité des cellules humaines. Ce récepteur nucléaire, codé par le gène VDR, agit comme facteur de transcription et régule l'expression de 3 à 5 % du génome humain (Aggeletopoulou et al., 2024). Il comporte un domaine de liaison au ligand, qui fixe le calcitriol avec une forte affinité, ainsi qu'un domaine de liaison à l'ADN, capable de reconnaître les éléments de réponse à la vitamine D (VDREs). Deux mécanismes d'action sont décrits :

Voie génomique : le VDR activé s'associe au récepteur aux rétinoïdes (RXR) et

régule la transcription de gènes spécifiques.

Voie non génomique : le calcitriol se lie au VDR membranaire (1,25D-MARRS), déclenchant rapidement des cascades de signalisation intracellulaire (MAPK, PLC, PI3K).

Ainsi, le VDR constitue le médiateur principal des effets du calcitriol, jouant un rôle crucial dans la régulation du métabolisme osseux et intervenant également dans de nombreux autres processus biologiques (Aggeletopoulou *et al.*, 2024).

5.2 Rôle des formulations nanométriques dans l'absorption et la stabilité

Les systèmes de distribution de médicaments (DDS) ont pour objectif d'assurer une libération contrôlée de la vitamine D et de ses analogues, afin d'optimiser leur efficacité et leur sécurité thérapeutiques. Ils régulent la vitesse, le moment et le site de libération, tout en garantissant stabilité, fiabilité et facilité d'administration (Aggeletopoulou *et al.*, 2024).

Parmi ces DDS, les nanoporteuses occupent une place centrale. Composées de nanoparticules de tailles et formes variées, elles améliorent les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des substances transportées. L'adressage passif repose sur leurs caractéristiques intrinsèques (taille, surface), favorisant l'accumulation dans certains tissus par effet EPR. L'adressage actif, quant à lui, utilise des ligands spécifiques (anticorps, peptides) permettant une internalisation ciblée par endocytose (Aggeletopoulou *et al.*, 2024).

la modification des nanoparticules par des polymères tels que le PEG accroît leur stabilité dans la circulation sanguine, réduit les interactions indésirables et limite les effets secondaires. Ces approches renforcent l'efficacité thérapeutique de la vitamine D tout en minimisant sa toxicité (Aggeletopoulou *et al.*, 2024).

5.3. Résultats des études récentes :

5.3.1 Évaluation in vivo des nanostructures de vitamine D3 et leur rôle dans la santé osseuse:

5.3.1.1 Évaluation des biomarqueurs du remodelage osseux :

La chirurgie ovarienne a induit un état ostéoporotique confirmé par l'élévation des marqueurs sanguins du remodelage osseux. Quatre semaines après l'intervention (T1), les niveaux d'ostéocalcine (formation osseuse) et de β -CTX (résorption osseuse) étaient significativement plus élevés qu'avant la chirurgie (T0). Le β -CTX avait presque doublé, traduisant une résorption accrue.

Cette augmentation simultanée des marqueurs de formation et de résorption est caractéristique d'une ostéoporose à haut remodelage liée à la carence en œstrogènes, confirmant ainsi la pertinence du modèle expérimental pour l'étude de la régénération

osseuse (Figure 6). (Mureşan *et al.*, 2026).

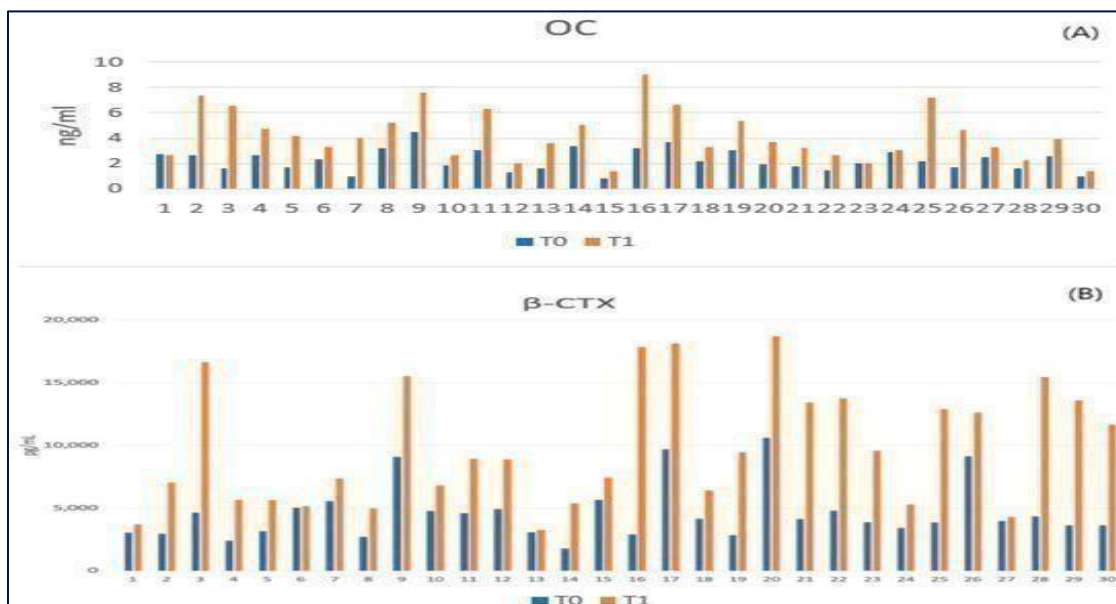


Figure 6:. Représentation graphique des biomarqueurs systémiques du remodelage osseux ; Représentation graphique des biomarqueurs systémiques du remodelage osseux. Abréviations : OC = ostéocalcine ; β-CTX = téloptides C-terminaux du collagène de type I ; T0 =

5.3.1.2 Observations cliniques et validation du modèle

Deux rongeurs du groupe contrôle ont été perdus à cause de complications anesthésiques lors de la première intervention chirurgicale. Après l’ovariectomie, les animaux survivants ont présenté un gain de poids corporel rapide et significatif ($t = 16,22$; $p < 0,001$). Cette évolution traduit l’apparition de perturbations métaboliques liées au déficit en œstrogènes et confirme l’induction réussie du modèle post-ménopausique (Mureşan *et al.*, 2026).

5.3.1.3 Évaluation macroscopique et morphométrie des défauts

Parmi les 44 défauts osseux initiaux, certains ont été perdus : 4 dans le groupe I (décès), 4 dans le groupe II et 8 dans le groupe III (fixation insuffisante ou nécrose). La répartition finale était donc de 16 défauts pour les groupes I et II, et 12 pour le groupe III.

L’examen macroscopique a montré une fermeture variable des défauts, avec une réduction progressive des surfaces résiduelles : $0,34 \pm 0,19 \text{ mm}^2$ pour le groupe I, $0,28 \pm 0,13 \text{ mm}^2$ pour le groupe II et $0,21 \pm 0,10 \text{ mm}^2$ pour le groupe III. Bien que le groupe NS/Vit. D3-2.5 ait présenté la plus petite surface, suggérant une cicatrisation plus rapide, les différences observées n’étaient pas statistiquement significatives ($p = 0,115$; ANOVA) (Mureşan *et al.*, 2026).

5.3.1.4 Analyse histopathologique

A. architecture et minéralisation osseuses locales

L'analyse histologique a confirmé l'état ostéoporotique des rats. Dans le groupe contrôle (I), les travées osseuses apparaissaient minces et irrégulières, traduisant une altération marquée de la structure locale. En revanche, les groupes thérapeutiques II et III n'ont montré que des signes légers d'ostéoporose au niveau du site osseux déficient. L'analyse histologique de la maturation de la matrice osseuse a révélé des différences significatives entre les groupes. Les rats du groupe III (NS/Vit. D3-2.5) présentaient le pourcentage le plus élevé de formation osseuse mature, nettement supérieur à celui du groupe témoin et du groupe HS/Vit. D3 ($p = 0,016$). De plus, la formation osseuse autour de la matrice de greffe était significativement plus importante dans les groupes expérimentaux que dans le témoin ($p = 0,023$). Ces résultats confirment l'effet favorable du traitement sur le remodelage osseux.(Figure 1). (Mureşan *et al.*, 2026).

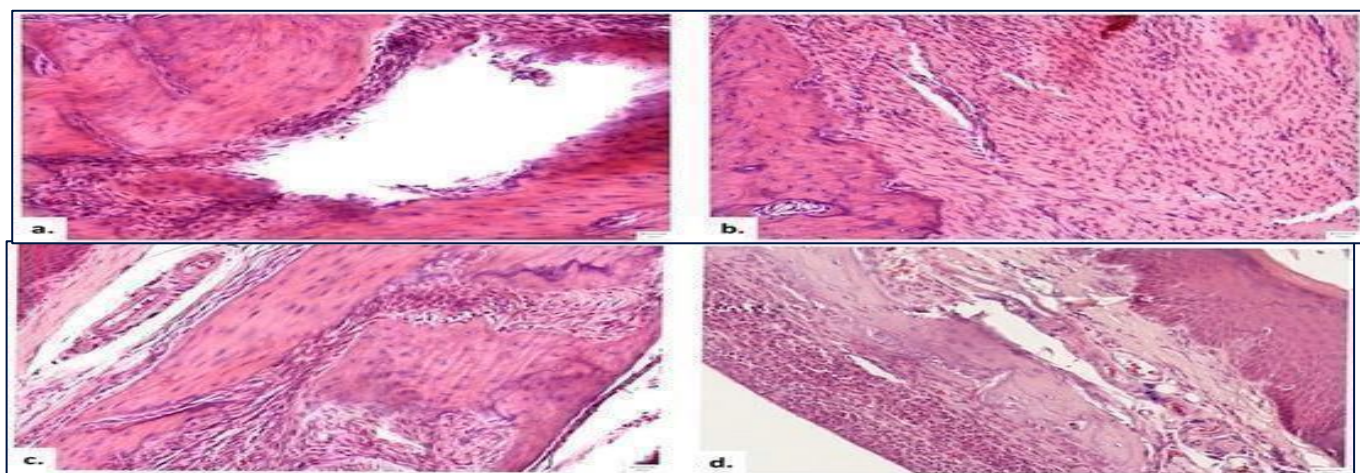


Figure 7: Progression histologique de la cicatrization des défauts (coloration H&E, 20×). a) Groupe I (Témoin, 1 mois) : absence de tissu osseux ; le défaut est rempli par un tissu conjonctif fibreux avec une cavité centrale. b) Groupe II (HS/Vit. D3, 1 mois) :tissu fibreux dense, avec une abondance de fibroblastes. c) Groupe III (NS/Vit. D3-2.5, 1 mois) : tissu conjonctif dense et irrégulier associé à du tissu osseux. d) Groupe III (NS/Vit. D3-2.5, 2 mois) : cicatrization avancée caractérisée par un tissu osseux organisé comblant le défaut. (Mureşan *et al.*, 2026).

B. Pontage osseux et schémas de cicatrization

Les pontages osseux étaient absents chez 83,3 % des sujets du groupe témoin. En revanche, tous les animaux des groupes thérapeutiques (II et III) présentaient des pontages osseux, avec une différence statistiquement significative par rapport au groupe contrôle ($p = 0,001$). De plus, le groupe III (NS/Vit. D3-2.5) a montré des ponts épais dans 66,7 % des cas, contre 33,3 % dans le groupe II, suggérant une meilleure intégrité structurale (Figure 2). (Mureşan *et al.*, 2026).

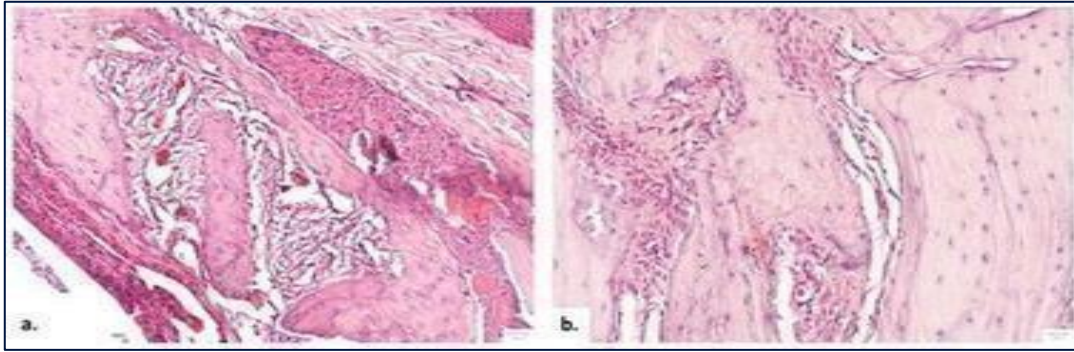


Figure 8: Comparaison des schémas de pontage osseux. a) Pont osseux fin et délicat, avec un nombre limité de travées, observé après 1 mois. b) Pont osseux épais, constitué de travées robustes bordées d'ostéoblastes, observé après 2 mois dans le groupe NS/Vit. D3-2.5(Mureşan et al., 2026).

C. Intégration du greffon et sécurité

La réponse inflammatoire était nettement réduite dans les groupes thérapeutiques par rapport au témoin ($p = 0,033$ après un mois). À la fin de l'étude, tous les spécimens avaient présenté une dégradation complète du support. Le remplacement du matériau par de l'os mature était le plus marqué dans le groupe III ($p = 0,042$), confirmant la biodégradabilité et l'ostéoconductivité du NS. Les complications étaient rares, avec seulement deux cas isolés (un dans le groupe II et un dans le groupe III), exclus de l'analyse (Figure 3). (Mureşan et al., 2026).

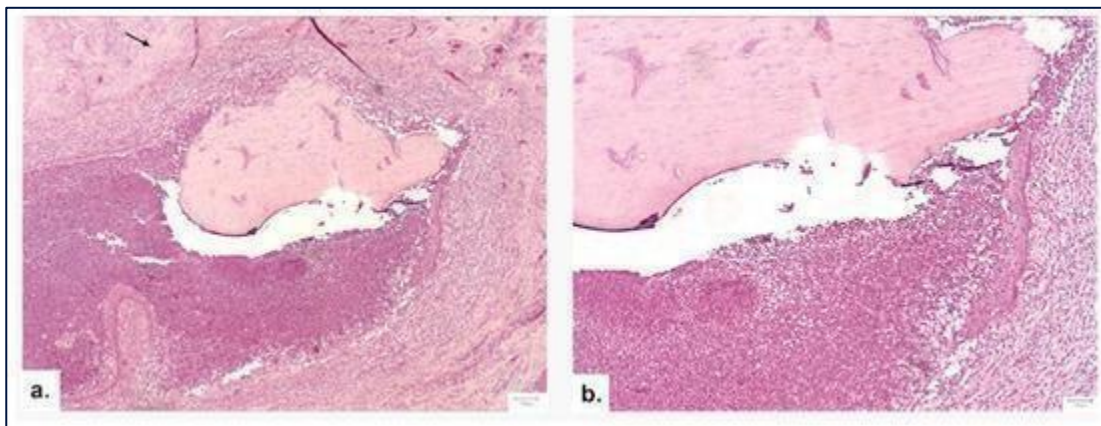


Figure 9:Preuve histologique de complication (Groupe III, 1 mois). (a, b) Séquestre osseux accompagné d'un infiltrat dense de cellules inflammatoires composé de polynucléaires neutrophiles, indiquant une ostéomyélite localisée (coloration H&E, 5× et 10×).(Mureşan et al., 2026).

6. Perspectives de développement de stratégies nanotechnologiques pour réduire les complications médicamenteuses chroniques

6.1 Limites des thérapies conventionnelles :

Les maladies chroniques, telles que les cardiopathies, le diabète, les douleurs persistantes, les maladies auto-immunes et les troubles métaboliques, nécessitent une

prise en charge durable visant à contrôler les symptômes, prévenir les complications et améliorer la qualité de vie. Contrairement aux affections aiguës, elles requièrent des traitements prolongés (Wang, 2025).

- **Cardiopathies** : Les statines, IEC, bêta-bloquants et ARA-II réduisent les risques cardiovasculaires. Les inhibiteurs de PCSK9 constituent une alternative pour le contrôle lipidique.
- **Diabète** : L'insuline, la metformine, les sulfonylurées, les agonistes GLP-1 et les inhibiteurs SGLT2 régulent la glycémie et apportent une protection cardiovasculaire.
- **Douleurs chroniques** : Les AINS, le paracétamol, les opioïdes et les DMARDs sont utilisés dans l'arthrose et la polyarthrite.
- **Maladies auto-immunes** : Les biothérapies et les immunosuppresseurs ciblent la réponse immunitaire pathologique.
- **Polyarthrite rhumatoïde** : Les biothérapies (anti-TNF, bloqueurs d'interleukines) réduisent l'inflammation et les lésions articulaires.
- **Nouveaux traitements**
- Les avancées récentes en **biothérapies** et en **médecine personnalisée** transforment la prise en charge des maladies chroniques. La pharmacogénomique permet d'adapter les traitements au profil génétique du patient, optimisant l'efficacité et réduisant les effets indésirables (Wang, 2025).

6.2 Perspectives et orientations futures :

La nanomédecine doit relever plusieurs défis majeurs : la toxicité potentielle des nanomatériaux, leur biocompatibilité, les contraintes de production et les enjeux éthiques. Les effets à long terme exigent des recherches approfondies et des protocoles standardisés, tandis que la fabrication doit garantir pureté et qualité. Sur le plan éthique, le consentement des patients et la gestion des effets imprévus sont essentiels.

Le cadre réglementaire reste en construction et nécessite des directives claires. Parallèlement, la médecine personnalisée utilisant des nanoparticules adaptées aux profils génétiques et moléculaires des patients ouvre des perspectives prometteuses. Les avancées en génomique, protéomique et biomarqueurs devraient stimuler ce domaine et permettre des traitements plus efficaces et mieux tolérés (Rukundo Sande Kibuuka, 2024).

Polyarthrite rhumatoïde : Les biothérapies (anti-TNF, bloqueurs d'interleukines) réduisent l'inflammation et les lésions articulaires.

Nouveaux traitements :

Les avancées récentes en **biothérapies** et en **médecine personnalisée** transforment la prise en charge des maladies chroniques. La pharmacogénomique permet d'adapter les traitements au profil génétique du patient, optimisant l'efficacité et réduisant les effets indésirables (**Wang, 2025**).

Les données bibliographiques présentées dans ce chapitre soutiennent l'idée qu'un complément nanostructuré qui combine IHAT/SeNPs et HAP/VitD pourrait aider à prévenir l'ostéoporose et l'anémie causées par les corticoïdes. La partie expérimentale qui suit explique comment nous avons créé, étudié et testé ce système combiné sur des organismes vivants.

Partie expérimentale

Chapitre 01: **Matériel et méthodes**

Dans cette étude, plusieurs nanoparticules ont été préparées afin d'évaluer leur efficacité potentielle dans la prévention des complications liées à la corticothérapie, notamment l'anémie et l'ostéoporose. Les nanoparticules préparées comprenaient principalement : des nanoparticules d'IHAT (hydroxyde de fer adipate tartrate), des composites IHAT–SeNPs enrobés de nano-chitosane, de l'hydroxyapatite (HAp) issue de coquilles d'œufs et une formulation HAp–vitamine D.

1. Matériel et méthodes

1.1 Matériel

Les produits chimiques utilisés dans l'ensemble des protocoles expérimentaux sont les suivants :

- Eau distillée / eau ultrapure
- Acide chlorhydrique (HCl, 37 % et 1 M)
- Hydroxyde de sodium (NaOH, 2 M, 10 % et 40–50 %)
- Acide orthophosphorique (H_3PO_4 , 0,6 M)
- Éthanol absolu
- Méthanol absolu
- Acide acétique
- Tripolyphosphate de sodium (TPP)

Précurseurs et composés spécifiques :

- Coquilles d'œufs (source de CaCO_3)
- Carapaces de crevettes (source de chitosane)
- Chlorure de fer (III) (FeCl_3)
- Acide adipique
- Acide tartrique
- Sélénite de sodium (Na_2SeO_3)
- Acide ascorbique

Nanomatériaux et formulations :

- Nanoparticules IHAT (Iron Hydroxide Adipate Tartrate)
- Nanoparticules de sélénium (SeNPs)
- Chitosane

Autres réactifs :

- Tween 20
- Vitamine D₃

1.2 Méthode

1.2.1 Synthèse de Hydroxyapatite

1.2.1.1 Préparation des coquilles d'œufs :

Des coquilles d'œufs blanches ont été utilisées comme source naturelle de calcium en raison de leur forte teneur en carbonate de calcium (CaCO_3).

Les coquilles ont été soigneusement lavées à l'eau du robinet afin d'éliminer les résidus organiques, puis rincées à l'eau distillée pour supprimer les impuretés solubles. Elles ont ensuite été stérilisées dans un autoclave à 134 °C pendant 1 heure afin d'assurer une décontamination complète.

Après stérilisation, les coquilles ont été laissées à sécher à température ambiante jusqu'à élimination totale de l'humidité. Les coquilles sèches ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique afin d'obtenir une poudre fine. La poudre obtenue a été tamisée à travers un tamis de 215 μm afin de garantir une granulométrie homogène, favorable à une calcination uniforme.

1.2.1.2 Première calcination :

La poudre tamisée a été introduite dans un four à haute température et soumise à une première calcination à 700 °C pendant 10 heures.

Ce choix de température et de durée permet d'assurer une décomposition complète du carbonate de calcium tout en garantissant un produit final d'un blanc pur. Une température insuffisante ou un temps de traitement trop court pourrait laisser persister des résidus organiques carbonisés, se traduisant par une coloration sombre compromettant la pureté du matériau. La durée de 10 heures favorise ainsi la transformation complète du CaCO_3 .

Cette étape thermique permet la décomposition du carbonate de calcium (CaCO_3) en oxyde de calcium (CaO) avec dégagement de dioxyde de carbone (CO_2), selon la réaction suivante : $\text{CaCO}_3 \rightarrow \text{CaO} + \text{CO}_2$

Cette transformation est essentielle pour obtenir le précurseur calcique nécessaire à la synthèse de l'hydroxyapatite, conformément aux méthodes décrites par Bayram et al. (2024).

1.2.1.3 Synthèse de l'hydroxyapatite par précipitation chimique

Après refroidissement à température ambiante, 2,8 g de poudre calcinée ont été dispersés dans 50 mL d'eau ultrapure sous agitation magnétique. Cette étape conduit à la formation d'hydroxyde de calcium selon la réaction : $\text{CaO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}(\text{OH})_2$

Une solution d'acide orthophosphorique (H_3PO_4 , 0,6 M) a été ajoutée

progressivement sous agitation continue jusqu'à atteindre un pH de 8,5, mesuré à l'aide d'un pH-mètre préalablement étalonné.

Le contrôle du pH à 8,5 est crucial car il correspond au domaine dans lequel les espèces phosphatées (notamment HPO_4^{2-} et PO_4^{3-}) sont présentes dans des proportions favorables à leur interaction avec les ions Ca^{2+} , permettant ainsi la formation équilibrée du réseau cristallin de l'hydroxyapatite tout en limitant la formation de phases secondaires de phosphates de calcium.

La suspension obtenue a été laissée en maturation pendant 24 heures, puis agitée pendant 30 minutes et à nouveau laissée au repos pendant 24 heures afin de favoriser la formation complète de l'hydroxyapatite (HAp), selon la réaction : $10\text{Ca}(\text{OH})_2 + 6\text{H}_3\text{PO}_4 \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 18\text{H}_2\text{O}$

Cette méthode repose sur la technique de précipitation chimique combinée à la calcination, largement décrite dans la littérature pour la synthèse d'hydroxyapatite à partir de coquilles d'œufs (**Bayram et al., 2024**).

1.2.1.4 Rinçage, séchage et seconde calcination :

À la fin de la maturation, le précipité a été transféré dans des tubes de centrifugation afin de séparer le culot du surnageant. Seule la fraction solide a été conservée pour les étapes de purification ultérieures. Le protocole de lavage a été réalisé comme suit :

- Lavage du précipité à l'eau ultrapure pendant 15 minutes sous agitation, afin d'éliminer les impuretés solubles résiduelles.
- Lavage à l'éthanol pendant 5 minutes, permettant une déshydratation partielle et l'élimination d'éventuelles traces organiques.
- Lavage au méthanol pendant 5 minutes, afin de faciliter l'élimination des solvants résiduels et d'optimiser l'étape de séchage.

Ces durées de lavage ont été choisies afin d'assurer une purification efficace du précipité sans altérer la structure de l'hydroxyapatite en formation. Après les étapes de lavage, le matériau a été séché dans une étuve à 60 °C pendant toute une nuit afin d'éliminer toute trace de solvant résiduel.

La poudre sèche obtenue a ensuite été soumise à une seconde calcination à 700 °C pendant 2 heures afin d'améliorer la cristallinité et la stabilité structurale de l'hydroxyapatite synthétisée.



Figure 10: Les principales étapes de la synthèse de l'hydroxyapatite à partir de coquilles d'œufs.

1.2.2 Synthèse de IHAT (Iron Hydroxide Adipate Tartrate)

1.2.2.1 Préparation des solutions de régulation du pH :

Une solution diluée d'acide chlorhydrique (HCl 1M) a été préparée en prélevant 50 mL d'HCl concentré (37%) et en les diluant dans 500 mL d'eau distillée sous agitation.

Une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH 2M) a été préparée en dissolvant 80 g de NaOH solide dans 400 mL d'eau distillée sous agitation magnétique jusqu'à dissolution complète. Ces solutions ont été utilisées pour l'ajustement précis du pH du milieu réactionnel.

1.2.2.2 Synthèse des nanoparticules IHAT (Iron Hydroxide Adipate Tartrate) – Protocole optimisé :

Ce protocole est une adaptation de celui de Powell et al. (2014), avec les modifications expérimentales suivantes : ratio molaire Fe : Ligands = 1:0,3:0,3, utilisation combinée de l'acide adipique et de l'acide tartrique, et purification par solvants organiques.

1.2.2.3 Préparation des solutions organiques :

Dissolution de 0,292 g (2,0 mmol) d'acide adipique ($C_6H_{10}O_4$, PM = 146,14 g/mol) dans 50 mL d'eau ultrapure. Dissolution de 0,300 g (2,0 mmol) d'acide tartrique ($C_4H_6O_6$, PM = 150,09 g/mol) dans 50 mL d'eau ultrapure. Mélange des deux solutions sous agitation magnétique continue (volume total

~100 mL), sans chauffage (20-25°C) pour préserver l'intégrité du complexe organométallique.

1.2.2.4 Incorporation du fer et ajustement du pH :

Sous agitation constante et sans chauffage, ajout progressif de 1,08 g (6,66 mmol) de FeCl_3

(PM = 162,2 g/mol) au mélange de ligands. pH initial $\approx$ 3-4 .Ratio molaire final : Fe : Tartrate : Adipate

= 1 : 0,3 : 0,3 .Ajustement précis du pH à l'aide d'un pH-mètre:

Phase acide : ajout goutte à goutte de HCl 1M jusqu'à pH = $2,0 \pm 0,1$ (couleur : jaune clair).

Phase basique : ajout très lent de NaOH 2M à raison de 0,05 mL toutes les 30 secondes, jusqu'à pH final

= $7,4 \pm 0,1$, avec formation progressive d'un précipité brun rougeâtre (ferrihydrite).

1.2.2.5 Phase de sédimentation :

Transfert de la suspension dans un récipient fermé et conservation à 4°C pendant 24 heures pour permettre la maturation et la sédimentation naturelle des particules.

1.2.2.6 Purification :

Centrifugation initiale : Centrifugation de la suspension à $39\,000 \times g$ pendant 10 minutes à température ambiante. Élimination du surnageant et récupération du culot.

Lavage à l'eau : Reprise du culot dans 50 mL d'eau distillée avec agitation vortex et brève sonication, puis centrifugation à $39\,000$

$\times g$ pendant 10 minutes. Élimination du surnageant.

Lavages aux solvants organiques:

- **Éthanol** : Reprise du culot dans 25 mL d'éthanol absolu, agitation vigoureuse, centrifugation à $39\,000 \times g$ pendant 5 minutes. Élimination du surnageant.
- **Méthanol** : Reprise du culot dans 25 mL de méthanol absolu, agitation vigoureuse, centrifugation à $39\,000 \times g$ pendant 5 minutes. Élimination du surnageant.

Cette méthode de purification permet d'éliminer efficacement les ligands résiduels et les impuretés, tout en préservant la structure nanométrique des particules.

1.2.2.7 Lyophilisation :

Reprise du culot purifié dans 5-10 mL d'eau ultrapure. Congélation rapide à -80°C pendant 3 jours pour éviter la formation de gros cristaux de glace.

Lyophilisation pendant 48 à 72 heures jusqu'à évaporation complète de la glace. Environ 0,4 g de poudre de nanoparticules IHAT, de couleur brun rougeâtre.



Figure 11: Résumé visuel du protocole de synthèse et de purification des nanoparticules IHAT

1.2.3 Synthèse de SeNPs (Selenium Nanoparticles)

1.2.3.1. Préparation des solutions :

Une solution de sélénite de sodium (Na_2SeO_3) a été préparée en dissolvant 0,05 g de Na_2SeO_3 dans 45 mL d'eau distillée sous agitation magnétique jusqu'à dissolution complète.

Dans un second bécher, une solution d'acide ascorbique ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) a été préparée en dissolvant 0,7 g d'acide ascorbique dans 50 mL d'eau distillée sous agitation magnétique jusqu'à dissolution totale. Toutes les préparations ont été réalisées à température ambiante (20–25°C).

1.2.3.2 Synthèse des nanoparticules de sélénium (SeNPs) :

La synthèse des nanoparticules de sélénium a été réalisée par réduction chimique du sélénite de sodium par l'acide ascorbique, sous agitation magnétique continue. Sous agitation magnétique constante, la solution d'acide ascorbique a été ajoutée progressivement à la solution de sélénite de sodium. La réaction de réduction entraîne la formation de sélénium élémentaire (Se^0), généralement accompagnée d'un changement de couleur du mélange réactionnel vers une teinte rouge-orangé, indiquant la formation de nanoparticules de sélénium.



Figure 12: Coloration rouge-orangée du milieu réactionnel indiquant la formation des nanoparticules de sélénium (SeNPs).

Le mélange réactionnel a ensuite été maintenu sous agitation magnétique continue pendant 12 heures à température ambiante afin d'assurer une formation complète des nanoparticules.

1.2.3.3 Purification des nanoparticules :

Après la synthèse, les nanoparticules ont été purifiées par centrifugation successive.

1.2.3.3.1 Centrifugation initiale :

La suspension obtenue a été centrifugée à $39\,000 \times g$ pendant 10 minutes à température ambiante afin de séparer les nanoparticules du surnageant. Le surnageant a été éliminé et le culot contenant les nanoparticules a été récupéré.

1.2.3.3.2 Lavage à l'eau distillée :

Le culot a été redispersé dans 50 mL d'eau distillée, suivi d'une agitation vortex et d'une brève sonication pour assurer une bonne dispersion des particules. La suspension a ensuite été centrifugée à $39\,000 \times g$ pendant 10 minutes, puis le surnageant a été éliminé.

1.2.3.3.3 Lavages aux solvants organiques :

Afin d'éliminer les impuretés résiduelles et les réactifs non consommés, deux lavages successifs ont été réalisés :

- **Éthanol:** Le culot a été redispersé dans 25 mL d'éthanol absolu, agité vigoureusement puis centrifugé à $39\,000 \times g$ pendant 5 minutes. Le surnageant a été éliminé.

- **Méthanol:** Le culot a ensuite été redispersé dans 25 mL de méthanol absolu, suivi d'une agitation vigoureuse et d'une centrifugation à $39\,000 \times g$ pendant 5 minutes. Le surnageant a été éliminé.

Ces étapes de purification permettent d'éliminer efficacement les résidus de réactifs et d'améliorer la pureté des nanoparticules.

1.2.3.4 Séchage des nanoparticules :

Le culot purifié a été récupéré puis placé à l'abri de la lumière et de la chaleur afin de permettre un séchage naturel.

Après séchage complet, une poudre de nanoparticules de sélénium (SeNPs) de couleur rouge-orangé a été obtenue, prête pour les analyses physicochimiques ultérieures.

1.2.4.Extraction du chitosane à partir des carapaces de crevettes

Les carapaces de crevettes ont été soigneusement lavées à l'eau froide afin d'éliminer les impuretés, puis séchées à l'air libre. Elles ont ensuite été broyées en petits fragments et conservées à basse température (entre 0 et $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$) jusqu'à leur utilisation.

La déminéralisation a été réalisée en traitant les carapaces avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 7 % pendant 1 heure à $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ sous agitation continue. Après réaction, le mélange a été filtré et lavé plusieurs fois à l'eau distillée afin d'éliminer les résidus acides.

La déprotéinisation a ensuite été effectuée à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 10 % pendant 2 heures à $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ sous agitation continue. Le produit obtenu a été lavé jusqu'à neutralité ($\text{pH} \approx 7$), correspondant au chitin. Une étape de décoloration a été réalisée afin d'éliminer les pigments résiduels et d'obtenir un chitin plus pur.

La désacétylation du chitin a été effectuée en utilisant une solution concentrée de NaOH (40–50

%) à une température d'environ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant plusieurs heures, permettant sa transformation en chitosane. Le produit final a été soigneusement lavé à l'eau distillée jusqu'à neutralité, puis séché pour obtenir le chitosane sous forme solide.

Le chitosane sec a ensuite été finement broyé afin d'obtenir une poudre homogène, prête à être utilisée pour la préparation des solutions. **(Ben Amor, 2024)**

1.2.5.Synthèse de IHAT/SeNPs@CS-TTP

Pour la préparation de la solution de chitosane, 0,75 g de chitosane en poudre ont été dissous progressivement dans 247,5 mL d'eau distillée contenant 2,5 mL d'acide

acétique, sous agitation continue à l'aide d'un agitateur magnétique. Le chitosane a été ajouté progressivement (en petites quantités) avec un intervalle d'environ 5 minutes entre chaque ajout afin d'assurer une bonne dissolution et homogénéisation. La solution obtenue a été laissée sous agitation pendant une nuit complète à température ambiante, sans chauffage, afin d'obtenir une solution de chitosane à une concentration finale de 0,3 % (m/v). Avant utilisation, la solution de chitosane doit être légèrement

agitée, puis son pH doit être mesuré et ajusté dans une plage de 5,3 à 5,6 ; si nécessaire, l'ajustement est réalisé par addition de NaOH.

Ensuite, les nanoparticules ont été incorporées en ajoutant progressivement 0,103 g de IHAT et 0,0014 g de SeNPs à la solution de chitosane sous agitation continue. Le mélange a été maintenu sous agitation pendant 10 minutes, puis soumis à un bain de sonication pendant 15 minutes afin d'assurer une dispersion homogène des nanoparticules. Après sonication, la suspension a été replacée sur agitateur et maintenue sous agitation pendant 10 minutes supplémentaires.

Par la suite, une solution de TPP (tripolyphosphate de sodium) à une concentration de 0,1 % (m/v) a été ajoutée goutte à goutte (5,2 mL) à l'aide d'une micropipette pendant une durée de 15 minutes, tout en maintenant l'agitation. Après la fin de l'ajout, l'agitation a été poursuivie pendant 30 minutes afin de permettre la formation des nanoparticules par gélification ionique.

La suspension obtenue est homogène sous agitation, mais peut apparaître légèrement hétérogène au repos en raison d'une sédimentation partielle des particules. Le système final a été conservé dans un flacon brun ou enveloppé dans du papier aluminium, à 4°C, avec une durée de stabilité estimée entre 7 et 10 jours. Avant chaque utilisation, la suspension doit être homogénéisée par vortex pendant 10 à 15 secondes.

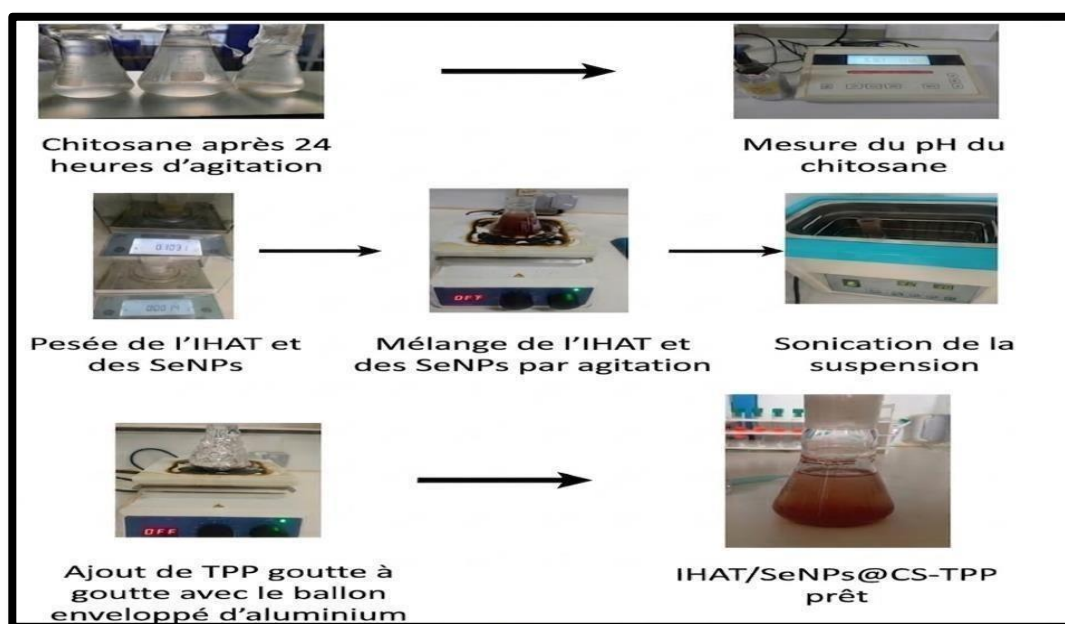


Figure 13: Schéma de préparation du système nanocomposite IHAT/SeNPs@CS-TPP

1.2.6. Synthèse de HAP/Vit D

Le principe de ce protocole repose sur la préparation d'un produit sec HAP/Vit D réalisé une seule fois pour couvrir toute la durée expérimentale (28 jours), tandis que la préparation de la suspension est effectuée de manière hebdomadaire afin d'assurer une meilleure stabilité et limiter la sédimentation des particules.

La dose administrée est de 50 mg de HAP par jour et par rat (≈ 250 g), correspondant à environ 25 UI de vitamine D. Pour un groupe de 8 rats sur une période de 28 jours, le nombre total de doses est de 224, ce qui correspond à une quantité totale de HAP de 11,2 g. La charge en vitamine D est fixée à 500 UI par gramme de HAP, ce qui correspond à 8400 UI pour 8,4 g. En utilisant une solution de Vit D3 dosée à 200 000 UI/mL (soit 200 UI/ μ L), le volume nécessaire est de 21 μ L.

Pour la préparation du produit sec, 8,4 g de HAP ont été introduits dans un flacon en verre brun, puis humidifiés avec 50 mL d'éthanol à 95 %. Ensuite, 21 μ L de Vitamine D3 ont été ajoutés, et le mélange a été maintenu sous agitation pendant 2 heures à l'abri de la lumière afin de favoriser l'adsorption de la vitamine D sur le support minéral. L'éthanol a ensuite été laissé à évaporation, puis le produit a été séché dans un four pendant 1 heure maximum jusqu'à obtention d'un produit sec.

Le produit final a été conservé dans un flacon brun à 4°C et constitue la réserve pour toute la durée de l'expérimentation.

La préparation de la suspension est réalisée chaque semaine. Pour 8 rats sur 7 jours,

56 doses sont nécessaires, correspondant à un volume total de 56 mL (1 mL par rat et par jour). La quantité de HAP/Vit D nécessaire par semaine est de 2,8 g, déjà chargée en vitamine D selon le ratio initial. La suspension est préparée en introduisant 46 mL d'eau distillée dans un flacon, suivie de l'ajout de 0,28 mL de Tween 20 comme agent dispersant. Ensuite, 2,8 g de HAP/Vit D sont ajoutés progressivement sous agitation. Le mélange est soumis à un bain de sonication afin d'améliorer la dispersion, puis complété avec de l'eau distillée jusqu'à un volume final de 56 mL. La suspension est ensuite homogénéisée par agitation (vortex).

La suspension obtenue est destinée à une utilisation hebdomadaire et doit être conservée à 4°C dans un flacon brun. Avant chaque utilisation, elle doit être homogénéisée par agitation afin d'assurer une distribution uniforme des particules.



Figure 14: Bilan du protocole HAP/Vit D : fabrication, suspension et administration .

2. Caractérisation des nanoparticules :

Afin de caractériser les matériaux synthétisés et d'évaluer leurs propriétés physicochimiques, plusieurs techniques analytiques ont été utilisées, notamment la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), la spectroscopie UV-Visible et la

diffraction des rayons X (DRX).

1.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) :

La spectroscopie FTIR a été utilisée pour identifier les groupements fonctionnels présents dans les différents échantillons et vérifier la nature des liaisons chimiques formées. Les analyses ont été réalisées dans une gamme de nombres d'onde comprise entre 4000 et 400 cm^{-1} .

2.2 Spectroscopie UV-Visible :

La spectroscopie UV-Visible a été utilisée afin d'étudier les propriétés optiques des échantillons, notamment leur capacité d'absorption dans le domaine ultraviolet et visible. Les mesures ont été effectuées dans une gamme de longueurs d'onde allant de 200 à 800 nm.

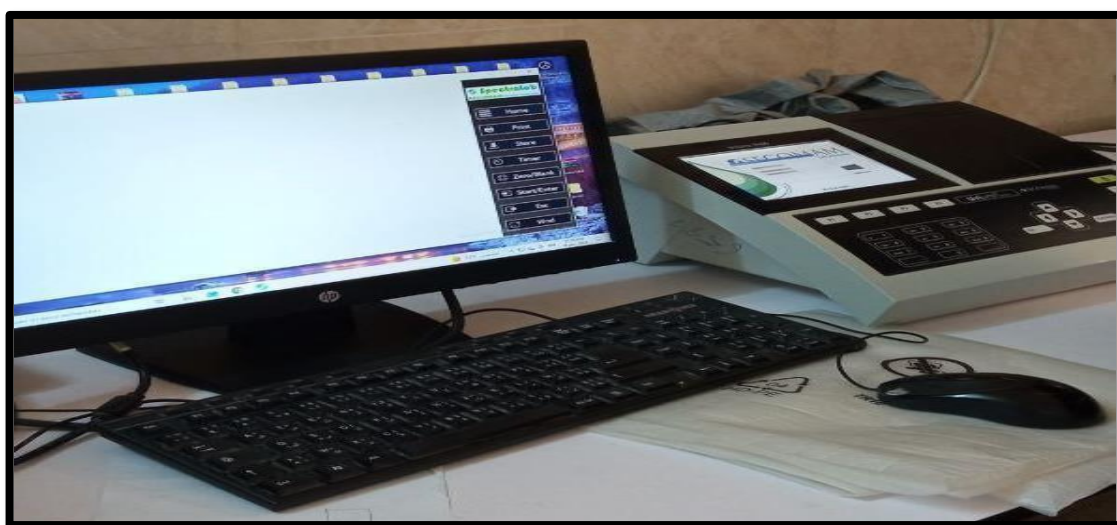


Figure 15: Spectrophotomètre UV-Visible

2.3 Diffraction des rayons X (DRX) :

La diffraction des rayons X (DRX) a été utilisée pour analyser la structure cristalline des matériaux synthétisés et évaluer leur degré de cristallinité. Les diffractogrammes ont été enregistrés dans une gamme de 2θ comprise entre 10° et 80° . Ces techniques complémentaires permettent d'obtenir des informations essentielles sur la composition, la structure et les propriétés des matériaux préparés.

3. Étude in vivo

3.1 Animaux expérimentaux :

L'étude a été réalisée sur des rats albinos de type Wistar, pesant entre 200 et 250 g. Les animaux ont été maintenus dans des conditions standards de laboratoire (température $22 \pm 2^\circ\text{C}$, cycle lumière/obscurité 12 h/12 h), avec un accès libre à l'eau et à

l'alimentation.

3.2 Répartition des groupes expérimentaux :

Les animaux ont été répartis en huit groupes expérimentaux comme suit :

- Groupe 1 (Témoin) : 3rats ne recevant aucun traitement, en raison de contraintes expérimentales.
- Groupe 2 (Malade) : 3 rats ayant reçu de la dexaméthasone pour induire l'ostéoporose et l'anémie. 3 rats ayant reçu de la dexaméthasone (1 mg/kg de poids corporel, un jour sur deux pendant 28 jours) afin d'induire l'ostéoporose et l'anémie.
- Groupe 3 (Référence anémie) : 3 rats malades traités par un médicament antianémique de référence (Tardyferon®).après induction de l'anémie par la dexaméthasone.
- Groupe 4 (Référence ostéoporose) : 3 rats malades traités par un médicament anti-ostéoporotique de référence (Calcidose®).après induction de l'ostéoporose par la dexaméthasone
- Groupe 5 (Double référence) : 3 rats malades traités par Tardyferon® le matin et Calcidose® le soir.après induction par la dexaméthasone
- Groupe 6 (Formulation expérimentale HAP/Vit D) : 3 rats malades traités par la formulation expérimentale HAP/Vit D.après induction par la dexaméthasone.
- Groupe 7 (Formulation expérimentale IHAT/SeNPs@CS-TPP) : 3 rats malades traités par la formulation expérimentale IHAT/SeNPs@CS-TPP.après induction par la dexaméthasone
- Groupe 8 (Traitement combiné expérimental) : 4 rats malades traités le matin par la formulation IHAT/SeNPs@CS-TPP et le soir par la formulation HAP/Vit D.après induction par la dexaméthasone

3.3 Provocation de l'ostéoporose et de l'anémie :

L'provocation de l'ostéoporose et de l'anémie a été réalisée par administration de dexaméthasone par voie intrapéritonéale (IP). La solution de dexaméthasone a été préparée en diluant une solution initiale à 4 mg/mL avec de l'eau injectable (1 mL de dexaméthasone + 3 mL d'eau), afin d'obtenir une solution finale à 1 mg/mL.

La dexaméthasone a été administrée à une dose de 1 mg/kg de poids corporel, soit environ 0,25 mg par rat (pour un poids moyen de 250 g), correspondant à 0,25 mL par rat de la solution préparée, un jour sur deux (toutes les 48 heures), pendant toute la durée de l'expérimentation (28 jours), conformément à (**Liu et al., 2011**).

3.4 Administration des traitements :

- Les traitements ont été administrés par voie orale (gavage) à raison de 1 mL par rat et par jour, sauf pour le groupe combiné où les administrations étaient fractionnées.
 - Tardyferon® (médicament antianémique de référence) : un comprimé dosé à 80 mg a été dissous dans 45 mL d'eau distillée, permettant d'obtenir une concentration de 1,775 mg/mL. La dose administrée a été ajustée en fonction du poids corporel (7,1 mg/kg), correspondant approximativement à 1 mL par rat, selon (*El-Kady et al., 2025*).
 - Calcidose® (calcium + vitamine D) : le contenu d'un sachet contenant 500 mg de calcium a été dissous dans 10 mL d'eau distillée, soit une concentration de 50 mg/mL. Chaque rat a reçu 1 mL par jour, correspondant à 50 mg de calcium/jour, avec un apport d'environ 40 UI de vitamine D.
 - Formulation expérimentale HAP/Vit D : cette formulation a été conçue pour fournir à chaque rat (≈ 250 g) une dose journalière d'environ :
 - 50 mg de HAP
 - 25 UI de vitamine D
 - Formulation expérimentale IHAT/SeNPs@CS-TPP : la formulation a été préparée pour un volume final de 28 mL, avec les doses journalières suivantes par rat :
 - IHAT = 3,7 mg
 - SeNPs = 0,05 mg
 - Groupe combiné expérimental (Groupe 8) : les rats ont reçu deux administrations quotidiennes :
 - le matin : IHAT/SeNPs@CS-TPP
 - le soir : HAP/Vit D
 - afin d'évaluer un éventuel effet synergique entre les deux formulations.

3.5 Durée du traitement :

L'ensemble des traitements a été administré pendant une période de 28 jours. L'induction par la dexaméthasone a été maintenue durant toute cette période selon le protocole décrit (administration un jour sur deux).

Le poids des rats a été surveillé régulièrement afin d'ajuster les doses si nécessaire.

Avant chaque administration, les suspensions ont été homogénéisées par agitation (vortex) afin d'assurer une distribution uniforme.

3.6 Considérations expérimentales :

Toutes les manipulations ont été réalisées dans le respect des bonnes pratiques de laboratoire, en minimisant le stress des animaux, et conformément aux recommandations éthiques en vigueur.

3.7 Méthode de sacrifice, de prélèvements et préparation des échantillons

histologiques

Le sacrifice des animaux a été réalisé à la fin de la période expérimentale, conformément aux règles d'éthique et aux bonnes pratiques de laboratoire.

Les rats ont été préalablement anesthésiés afin d'induire une perte de conscience et de minimiser la douleur. Une incision a ensuite été pratiquée au niveau de la région cervicale à l'aide d'une lame chirurgicale stérile (n°24), permettant une saignée complète.

Le sang a été recueilli immédiatement dans des tubes appropriés (tubes contenant de l'EDTA et de l'héparine) en vue des analyses biochimiques et hématologiques. Cette procédure a conduit au décès des animaux.

Après confirmation de la mort, une dissection a été réalisée dans des conditions aseptiques.

Les organes suivants ont été prélevés :

- le foie
- les fémurs droit et gauche

Dans cette étape, aucune observation microscopique n'a été réalisée ; le travail s'est limité à la préparation des échantillons.

Les tissus mous, notamment le foie, ont été fixés dans une solution de formol tamponné à 10

% pendant 24 heures afin de préserver leur architecture histologique.

Les tissus osseux ont été soumis à une étape de décalcification à l'aide d'une solution d'acide nitrique dilué pendant 2 heures et 30 minutes, sous surveillance, jusqu'à obtention d'une consistance compatible avec la coupe histologique.

Ces étapes ont permis de préparer les échantillons en vue des phases ultérieures de traitement histologique.

4. Analyses biologiques

Les paramètres analysés dans cette étude comprennent la Numération Formule Sanguine (FNS), ainsi que plusieurs paramètres biochimiques sériques liés aux fonctions

hépatiques, rénales, minérales et au métabolisme du fer. Les analyses réalisées incluent l'Aspartate Aminotransférase (ASAT), l'Alanine Aminotransférase (ALAT), la Gamma-Glutamyl Transférase (γ -GT), la Phosphatase Alcaline (PAL), le glucose, l'urée, le fer sérique et le calcium.

Ces dosages ont été effectués à l'aide d'un analyseur automatique adapté aux analyses biochimiques et hématologiques, en utilisant des kits diagnostiques spécifiques conformément aux protocoles du fabricant. Les mesures ont été réalisées selon des méthodes colorimétriques et enzymatiques appropriées, avec des longueurs d'onde spécifiques à chaque paramètre analysé.

Les détails des méthodes analytiques utilisées pour les analyses biochimiques et hématologiques sont présentés dans les annexes.

5. Préparation des lames des tissus osseux et hépatique

Après la fixation des organes dans le formol, des fragments tissulaires de petite taille ont été prélevés pour l'étude histologique. Pour le foie, les prélèvements ont été réalisés à partir de la région centrale de l'organe afin d'obtenir un tissu représentatif et d'éviter les artefacts périphériques. Concernant l'os, un fragment a été prélevé au niveau de la tête osseuse, précisément dans la partie médiane et non sur les bords latéraux.

Les fragments obtenus ont ensuite été placés dans des cassettes histologiques puis introduits dans un automate de déshydratation pendant une durée de 16 heures. Cette étape permet l'élimination progressive de l'eau contenue dans les tissus à l'aide de bains successifs d'alcools de concentrations croissantes ainsi que de solvants organiques.

Après déshydratation, les échantillons ont été inclus dans de la paraffine fondue de manière à recouvrir totalement les tissus. Les blocs de paraffine obtenus ont été placés au congélateur pendant environ 4 heures afin d'assurer leur solidification complète.

Les blocs ont ensuite été taillés puis coupés à l'aide d'un microtome afin d'obtenir des coupes histologiques fines. Les sections obtenues ont été déposées dans un bain-marie chauffé pour éliminer les plis et les rétractions tissulaires, puis récupérées sur des lames histologiques.

Les lames ont été mises à sécher dans une étuve pendant une nuit complète afin d'assurer une bonne adhésion des coupes sur les lames.

Par la suite, les coupes ont subi une étape de déparaffinage dans deux bains successifs de xylène pendant 15 minutes chacun. Les lames ont ensuite été réhydratées par passage dans des bains d'éthanol de concentrations décroissantes : 90 %, 80 %, 70 %, 60 % et 50 %, selon des durées variables, puis rincées à l'eau distillée.

La coloration histologique a été réalisée par l'hématoxyline-éosine (H&E). Les coupes ont été immergées dans l'hématoxyline pendant 30 secondes afin de colorer les noyaux cellulaires, suivie d'un rinçage dans de l'eau chaude à environ 60 °C pendant 10 minutes. Ensuite, les lames ont été colorées par l'éosine aqueuse pendant 20 secondes afin de mettre en évidence le cytoplasme et les structures extracellulaires.

Après coloration, les lames ont été rincées à l'eau distillée puis séchées dans une étuve pendant 10 minutes. Enfin, une goutte de milieu de montage a été déposée sur chaque coupe avant la pose d'une lamelle. Les lames ont ensuite été laissées à sécher complètement, puis transférées pour l'observation au microscope optique afin d'évaluer les différentes modifications histologiques .

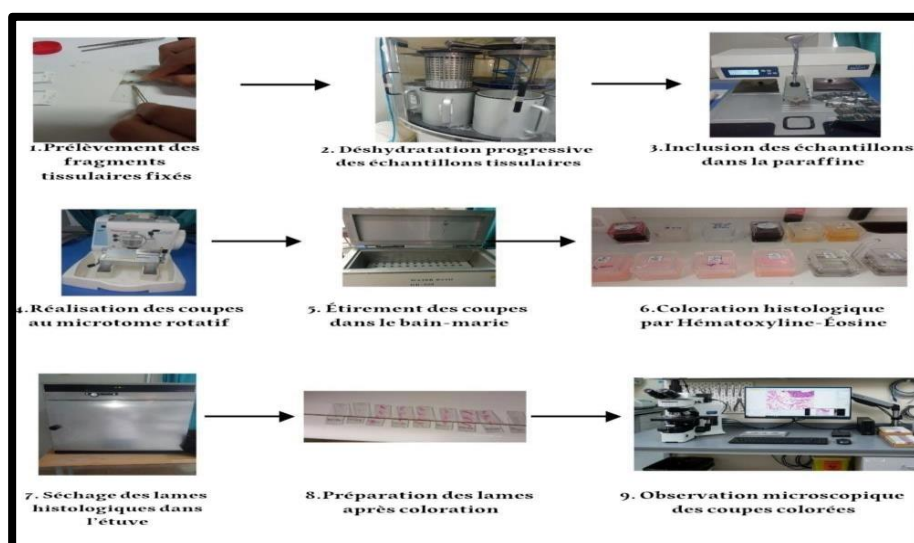


Figure 16: Procédure de préparation histologique des tissus hépatiques et osseux

6. Analyse statistique des paramètres hématologiques et biochimiques

Les résultats ont été analysés à l'aide d'une ANOVA unidirectionnelle, suivie d'un test post-hoc de Dunnett, en utilisant le logiciel SPSS. Le groupe pathologique, qui a reçu uniquement de la dexaméthasone, a servi de groupe de référence pour les comparaisons.

Les différences observées ont été considérées comme significatives lorsque la valeur de p était inférieure à 0,05. Pour indiquer les niveaux de significativité sur les figures, les symboles suivants ont été utilisés :

- ns pour les différences non significatives ($p \geq 0,05$),

- * pour les différences significatives ($p < 0,05$),
- ** pour les différences hautement significatives ($p < 0,01$),
- *** pour les différences très hautement significatives ($p < 0,001$).

✓ **graphiques annotés avec des significations statistiques**

Chaque barre représente la moyenne $\pm$ SE. Les annotations placées au-dessus des colonnes correspondent au test post hoc de Dunnett strict, en comparant chaque groupe au contrôle pathologique M7 Dexaméthasone. M7 est indiqué comme Ref.

Chapitre 02:

Resultats et Discussion

1. Rendement des formulations préparées

Le rendement de synthèse constitue un paramètre fondamental dans l'évaluation des formulations nanostructurées, car il permet d'estimer l'efficacité globale du procédé expérimental ainsi que les pertes survenues au cours des différentes étapes de synthèse, de purification et de récupération. Dans notre étude, les rendements obtenus ont présenté une variation notable selon la nature de chaque formulation et la complexité du protocole expérimental utilisé.

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{Masse du produit obtenu} / \text{Masse théorique du produit}) \times 100$$

Concernant l'hydroxyapatite (HAP) synthétisée à partir des coquilles d'œufs, un rendement de 36,42 % a été obtenu. Ce résultat est jugé acceptable pour une synthèse à partir de sources naturelles riches en carbonate de calcium. En effet, la conversion du carbonate de calcium en hydroxyapatite dépend fortement des conditions opératoires telles que la température de calcination, le pH du milieu réactionnel ainsi que les étapes de lavage et de filtration (Noor, 2013). Noor (2013) a montré que les matériaux à base d'hydroxyapatite d'origine naturelle présentent fréquemment des pertes de matière lors des étapes de purification et de transformation chimique, ce qui peut réduire le rendement final.

Pour les nanoparticules de fer (IHAT), le rendement obtenu était de 27,77 %, ce qui reste modéré mais cohérent avec les données de la littérature. Ces pertes peuvent être expliquées par les étapes de centrifugation, de lavage et de récupération, ainsi que par l'agrégation des particules. Les nanoparticules métalliques présentent souvent une diminution du rendement en raison de leur tendance à s'agréger et à rester partiellement dispersées dans le surnageant après centrifugation (Rostamnejadi *et al.*, 2020).

Concernant les nanoparticules de sélénium (SeNPs), le rendement était très faible (0,2 %). Cette valeur peut s'expliquer par la faible concentration du précurseur utilisé et par les pertes importantes lors des étapes de purification. Les SeNPs présentent également une stabilité colloïdale limitée et une forte tendance à l'agrégation, ce qui réduit leur récupération effective (Husen & Siddiqi, 2014).

Le rendement obtenu pour le chitosane était de 10,68 %, à partir de 50 g de matière première ayant permis d'obtenir 5,3429 g de chitosane purifié. Ce rendement relativement faible peut être expliqué par les nombreuses étapes nécessaires à l'extraction du chitosane, notamment la déprotéinisation, la déminéralisation et la désacétylation, qui entraînent souvent des pertes importantes de matière. De plus, la qualité de la matière première, la concentration des solutions alcalines utilisées ainsi que les conditions de traitement

thermique influencent fortement le rendement final. Selon **Younes et Rinaudo (2015)**, les rendements du chitosane extrait à partir de sources naturelles varient considérablement selon les protocoles expérimentaux et le degré de désacétylation recherché. Malgré ce rendement modéré, le chitosane obtenu conserve des propriétés biologiques et physicochimiques intéressantes pour les applications biomédicales et nanoparticulaires.

Pour le système nanocomposite IHAT/SeNPs@CS-TPP, le rendement massique n'a pas pu être déterminé avec précision, la formulation finale étant obtenue sous forme de suspension colloïdale. Dans ce type de systèmes polymériques, l'évaluation repose généralement sur l'efficacité d'encapsulation, la stabilité colloïdale et la capacité de chargement plutôt que sur le rendement gravimétrique classique (**Kumari et al., 2010**).

Enfin, pour la formulation HAP/Vitamine D, le rendement n'a pas été mesuré précisément en raison de la faible quantité de vitamine D utilisée et de l'absence de pesée finale après séchage. Toutefois, l'adsorption directe de la vitamine D sur la surface de l'hydroxyapatite sans pertes majeures suggère un rendement global relativement élevé.

Globalement, les variations des rendements observées peuvent être attribuées à la nature des matériaux, aux conditions de synthèse, à la taille des nanoparticules ainsi qu'aux pertes lors des étapes de séparation, de lavage et de purification. Malgré ces limitations, les formulations obtenues restent cohérentes avec les données rapportées dans la littérature scientifique

2.UV-Visible

2.1 IHAT et des IHAT-Se NPs/chitosane-TPP :

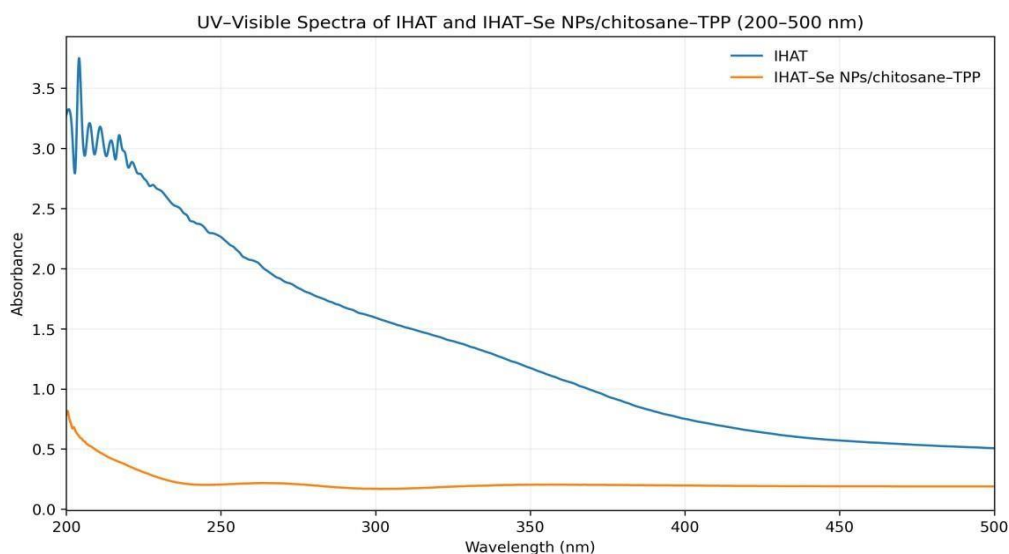


Figure 17: L'analyse UV-Visible comparative entre IHAT seul et la formulation IHAT-Se NPs/chitosane-TPP

L'analyse UV–Visible comparative entre l'Iron Hydroxide Adipate Tartrate (IHAT) seul et la formulation IHAT–Se NPs/chitosane–TPP met en évidence une modification réelle du comportement d'absorption après formulation.

Le spectre UV–Visible de l'IHAT seul présente une absorption intense dans la région UV profonde, avec un maximum observé autour de 204 nm, suivie d'une diminution progressive de l'absorbance lorsque la longueur d'onde augmente. Aucun pic intense et bien individualisé n'est observé dans le domaine visible. Ce comportement reste cohérent avec la nature ferrihydrite nanométrique et faiblement organisée de l'IHAT. Les systèmes ferrihydrite présentent généralement des profils UV–Visible larges et progressivement décroissants plutôt que des bandes optiques étroites fortement définies (**Hiemstra, 2013**)

Après incorporation du sélénium et formation du système IHAT–Se NPs/chitosane–TPP, le profil UV–Visible devient nettement plus atténué. L'absorbance maximale reste localisée dans la région proche de 200–201 nm, mais avec une intensité beaucoup plus faible que celle observée pour l'IHAT seul. Au-delà d'environ 250 nm, le spectre devient relativement faible et peu structuré.

Contrairement à certaines nanoparticules métalliques présentant des bandes plasmoniques nettes dans le domaine visible, aucune bande fortement individualisée n'est clairement observée dans notre formulation. Toutefois, plusieurs études consacrées aux Selenium nanoparticles (SeNPs) rapportent que les nanoparticules de sélénium peuvent présenter des bandes UV–Visible larges et peu résolues dans la région **250–300 nm**, particulièrement lorsqu'elles sont de très petite taille ou stabilisées par des polymères (**Al-Darwesh et al., 2025**).

Dans notre cas, aucune large bande nettement individualisée autour de 250–300 nm n'est clairement visible. Cependant, la modification globale du profil UV–Visible après formulation reste compatible avec la présence d'un système hybride contenant des SeNPs dispersées et enrobées. Cette atténuation peut être liée:

- à la très faible taille des domaines nanométriques,
- à la dispersion du sélénium dans la matrice IHAT,
- ainsi qu'à l'effet de l'enrobage chitosane/TPP.

Des travaux consacrés aux SeNPs enrobées de chitosane montrent en effet que le recouvrement polymérique peut modifier fortement le profil UV–Visible des nanoparticules et conduire à une diminution, un élargissement ou une atténuation des absorptions initiales après fonctionnalisation (**Ibrahiem et al., 2025**).

Ainsi, les résultats UV–Visible obtenus montrent principalement une modification du profil d’absorption après formulation plutôt qu’une apparition de nouvelles bandes fortement individualisées. Ces observations restent compatibles avec la formation d’un système hybride IHAT–Se NPs/chitosane–TPP, dans lequel le sélénium est probablement dispersé dans une matrice ferrique polymérique faiblement organisée.

2.2 HAp et HAp–Vitamine D :

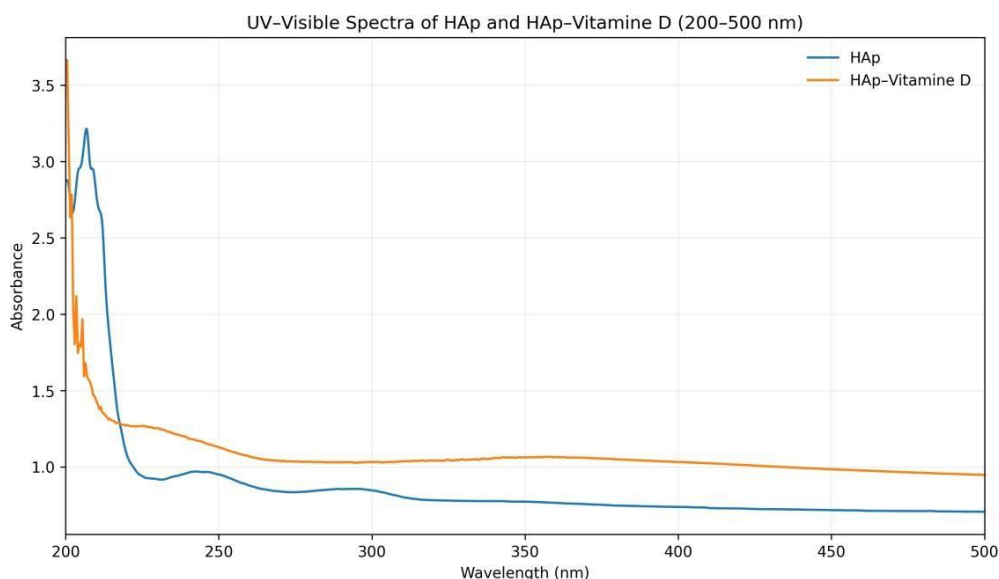


Figure 18: L’analyse UV–Visible comparative entre HAp seul et la formulation HAp–Vitamine D

Le spectre de l’HAp seul présente une absorption maximale autour de 206–207 nm, suivie d’une diminution progressive de l’absorbance lorsque la longueur d’onde augmente. Ce comportement indique que l’hydroxyapatite absorbe principalement dans la région UV profonde.

Après incorporation de la vitamine D, la formulation HAp–Vitamine D présente également une absorption maximale proche de 200–201 nm, avec une absorbance légèrement plus élevée que celle de l’HAp seul dans la région UV initiale. Après environ 250 nm, le profil spectral de la formulation reste globalement plus élevé que celui de l’HAp seul, bien qu’aucune bande nouvelle fortement individualisée ne soit observée.

Cette modification du comportement d’absorption suggère une interaction entre la matrice HAp et la phase organique introduite. Toutefois, aucune bande spécifique de la vitamine D ne peut être identifiée avec certitude par UV–Visible seul. Dans les systèmes hybrides associant hydroxyapatite et molécules organiques, plusieurs études rapportent que l’incorporation de composés organiques entraîne principalement des modifications globales du profil UV–Visible — telles qu’une variation d’intensité ou un léger élargissement

spectral — plutôt que l'apparition de nouveaux pics fortement définis.

3. FTIR

3.1. Acide adipique, Acide tartrique et IHAT :

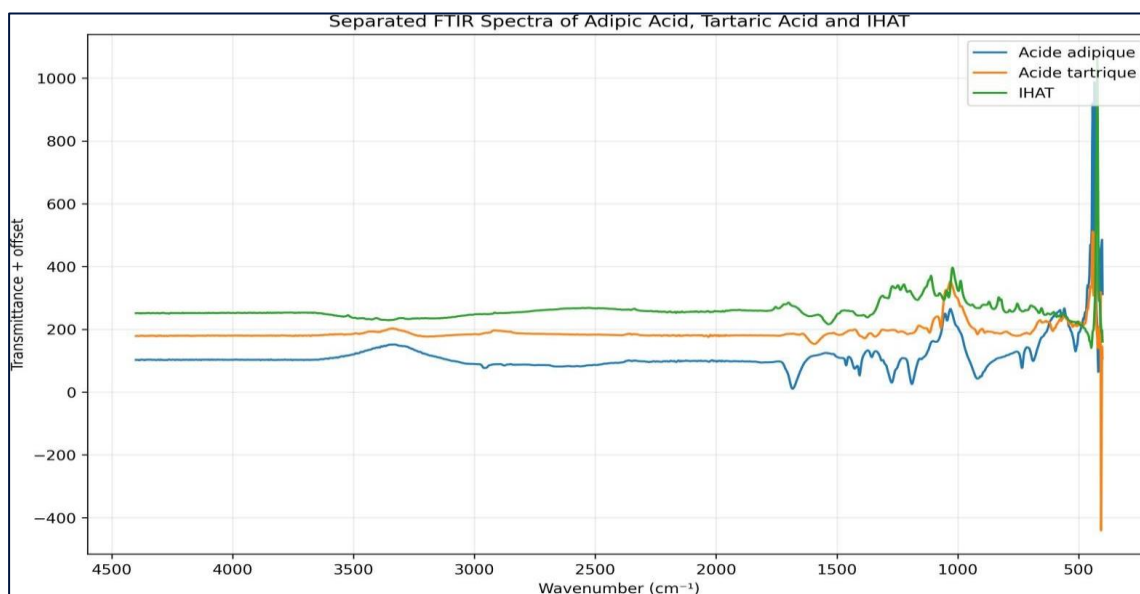


Figure 19: Spectres FTIR comparatifs de l'acide adipique, de l'acide tartrique et de l'IHAT

L'analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) a été réalisée afin d'évaluer les modifications structurales induites par l'interaction de l'acide adipique et de l'acide tartrique avec la matrice ferrique dans l'Iron Hydroxide Adipate Tartrate (IHAT). La comparaison des spectres FTIR des deux acides libres avec celui de l'IHAT met en évidence plusieurs changements significatifs dans les régions caractéristiques des fonctions carboxyliques.

Le spectre de l'Adipic Acid présente une bande intense autour de 1683 cm^{-1} , attribuée à la vibration d'élongation du groupement carbonyle C=O des fonctions carboxyliques libres. D'autres bandes observées dans les régions 1410 cm^{-1} et $1270\text{--}1190\text{ cm}^{-1}$ peuvent être associées respectivement aux vibrations de déformation O-H/C-H et aux vibrations C-O des groupements carboxyliques. Le spectre de l'Tartaric Acid montre également une large bande dans la région $3200\text{--}3350\text{ cm}^{-1}$, attribuée aux vibrations O-H des fonctions hydroxyles et carboxyliques, ainsi qu'une contribution dans la région carbonyle/carboxylate.

Dans le spectre FTIR de l'IHAT, des modifications importantes sont observées dans la région des groupements carboxyliques. La bande caractéristique du C=O libre observée dans l'acide adipique

devient moins marquée, tandis que des bandes importantes apparaissent autour de

1533 cm^{-1} et 1373 cm^{-1} . Ces bandes peuvent être attribuées respectivement aux vibrations asymétriques et symétriques des groupements COO^- , suggérant une interaction entre les ligands organiques et les ions ferriques dans la structure IHAT.

Cette interprétation est cohérente avec les travaux décrivant les systèmes ferriques modifiés par des ligands carboxylates. Le brevet original de l'IHAT indique que les ligands adipate et tartrate participent à la modification structurale de la ferrihydrite par interaction avec le fer, conduisant à une structure de type ferrihydrite modifiée compatible avec une liaison métal-carboxylate. **(Pereira et al., 2017)**

Par ailleurs, l'European Food Safety Authority rapporte que les analyses FTIR, XRD, STEM, TEM et EELS montrent que l'IHAT correspond à une ferrihydrite modifiée par le tartrate, décrite comme une "disrupted or strained ferrihydrite structure". Cette description est cohérente avec les modifications spectrales observées dans notre étude après incorporation des ligands organiques. **(EFSA Panel on Nutrition et al., 2021)**

Des études antérieures portant sur les complexes métal-carboxylate indiquent également que la diminution des bandes caractéristiques du C=O des acides libres, accompagnée de l'apparition de bandes COO^- , constitue un indicateur fréquent de coordination des groupements carboxylates avec les ions métalliques **(Nakamoto, 2009)**.

La présence d'une large bande dans la région 3200–3500 cm^{-1} dans le spectre de l'IHAT peut être attribuée aux vibrations O–H des hydroxyles de surface et/ou de l'eau adsorbée, compatibles avec une matrice ferrique hydratée. Des contributions observées dans la région basse fréquence, notamment autour de 580 cm^{-1} , peuvent être associées aux vibrations Fe–O/Fe–OH, bien que cette attribution reste indicative dans le cadre de l'analyse FTIR seule.

Ainsi, les résultats FTIR montrent que l'IHAT ne correspond pas simplement à un mélange physique d'acide adipique et d'acide tartrique. Les modifications observées dans la région des fonctions

carboxyliques suggèrent une interaction probable entre les ligands organiques et le fer au sein d'une structure ferrihydrite modifiée, en accord avec les données rapportées dans la littérature scientifique.

3.2 IHAT–Se NPs enrobées par chitosane/TPP :

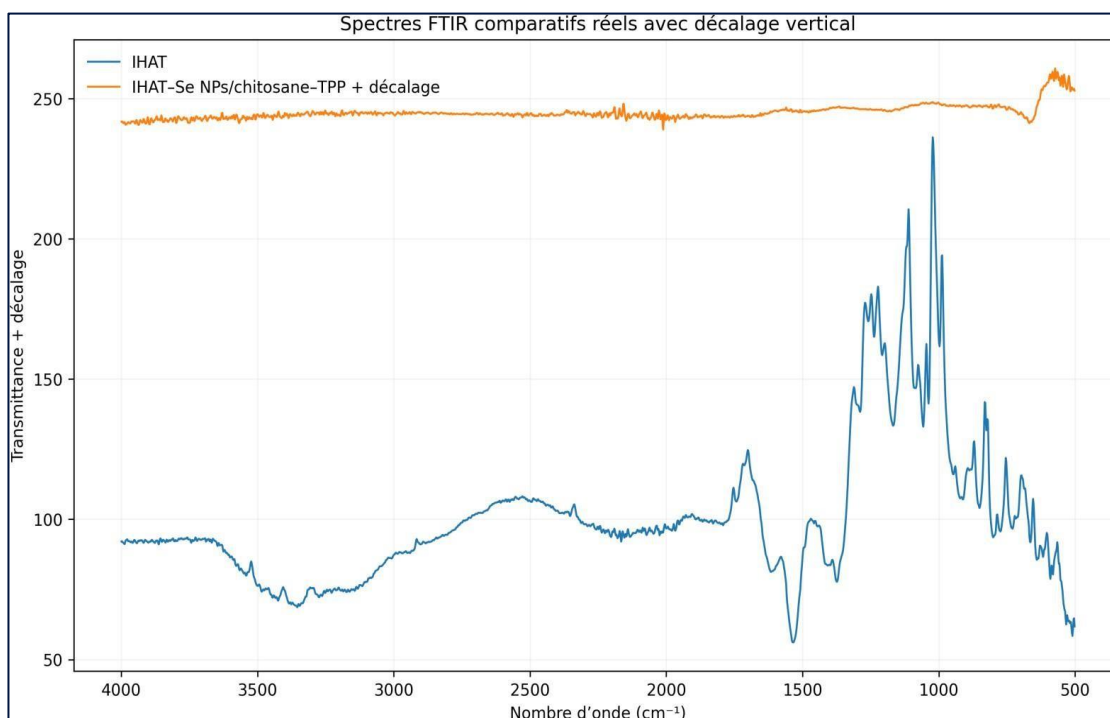


Figure 20: Spectres FTIR comparatifs IHAT–Se NPs/chitosane–TPP et de l’IHAT

L’analyse FTIR comparative entre l’IHAT seul et la formulation IHAT–Se NPs/chitosane–TPP montre une modification nette du profil spectral après formulation. Le spectre de l’IHAT seul présente plusieurs bandes bien visibles, notamment autour de 3357 cm^{-1} , attribuable aux vibrations O–H, ainsi que des bandes autour de 1533 cm^{-1} et 1381 cm^{-1} , compatibles avec les vibrations des groupements carboxylates des ligands adipate/tartrate associés à la matrice ferrique. (EFSA Panel on Nutrition *et al.*, 2021) D’autres contributions sont également observées vers $1171\text{--}1066\text{ cm}^{-1}$ et dans la région basse fréquence autour de 469 cm^{-1} , indiquant un profil spectral riche et relativement distinct.

Après incorporation du sélénium et enrobage par chitosane/TPP, le spectre de la formulation devient beaucoup moins résolu. Les bandes caractéristiques observées dans l’IHAT seul, en particulier celles situées vers 3357 , 1533 et 1381 cm^{-1} , ne sont plus clairement visibles dans la formulation finale.

Cette atténuation importante suggère que l’environnement chimique de l’IHAT a été modifié après association avec les autres constituants du système. Elle peut également être expliquée par l’effet de recouvrement de l’enrobage chitosane/TPP, qui peut masquer

les vibrations propres de l'IHAT et réduire leur intensité apparente.

Dans le spectre de la formulation IHAT–Se NPs/chitosane–TPP, les principales variations réellement observables sont situées dans la région basse fréquence, notamment autour de 671 cm^{-1} . Ces signaux doivent être interprétés avec prudence. Ils peuvent être associés à des vibrations de réseau de type Fe–O/Fe–OH provenant de la matrice ferrique, et éventuellement à des contributions de déformation des groupements phosphates du TPP. Cependant, ils ne peuvent pas être attribués directement et uniquement au sélénium. Le sélénium élémentaire ou les SeNPs ne donnent généralement pas de bandes FTIR fortes et spécifiques dans la région moyenne infrarouge; la FTIR ne permet donc pas de confirmer directement sa présence.

Il est également important de noter que les bandes attendues du chitosane et du TPP ne sont pas clairement individualisées dans le spectre final. Cela ne signifie pas forcément l'absence d'enrobage, mais plutôt que les signaux du chitosane/TPP peuvent être faibles, superposés ou masqués par le profil global du nanocomposite. La formulation finale est un système complexe contenant IHAT, SeNPs, chitosane et TPP; le chevauchement spectral entre ces composants peut conduire à une perte de résolution et à l'apparition d'un spectre plus aplati. Donc l'absence de bandes nettes du chitosane dans le spectre final ne signifie pas nécessairement l'absence du polymère, mais peut refléter un fort chevauchement spectral et une désorganisation structurale du système hybride **(Rinaudo, 2006)**.

Ainsi, la disparition relative des bandes caractéristiques de l'IHAT dans la formulation finale constitue un indice important de modification du système après incorporation du sélénium et enrobage polymérique. Cette observation suggère que l'IHAT n'est plus dans le même environnement chimique que dans l'échantillon seul.

3.2. HAp et HAp–Vitamine D :

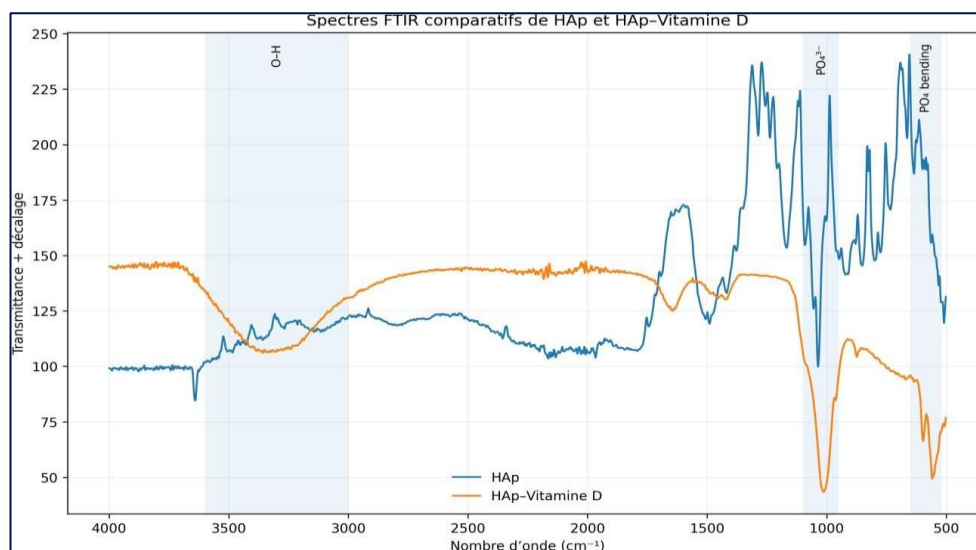


Figure 21: Spectres FTIR comparatifs HAp et de HAp–Vitamine D

L'analyse FTIR comparative entre l'Hydroxyapatite (HAp) seul et la formulation HAp–Vitamine D met en évidence une modification du profil spectral après incorporation de la vitamine D, tout en conservant les principales contributions caractéristiques de l'hydroxyapatite.

Le spectre de l'HAp seul présente plusieurs bandes bien visibles, notamment une large contribution autour de 3357 cm^{-1} , attribuable aux vibrations des groupements hydroxyles et/ou de l'eau adsorbée. Des bandes importantes sont également observées autour de 1035 cm^{-1} et dans la région basse fréquence vers $560\text{--}600\text{ cm}^{-1}$, correspondant aux vibrations des groupements phosphates PO_4^{3-} caractéristiques de l'hydroxyapatite. D'autres contributions apparaissent également autour de 933 cm^{-1} et 1170 cm^{-1} , compatibles avec les vibrations du réseau apatite. Ces résultats sont cohérents avec les bandes FTIR classiquement rapportées pour l'hydroxyapatite (**Marković et al., 2004**) .

Après incorporation de la vitamine D, le spectre de la formulation HAp–Vitamine D montre plusieurs modifications du profil spectral. Une large contribution reste observable autour de 3330 cm^{-1} , indiquant que les vibrations associées aux groupements hydroxyles sont toujours présentes dans le système final. Des bandes apparaissent également autour de 1647 cm^{-1} et 1435 cm^{-1} , pouvant être associées à des contributions organiques, à des interactions par liaisons hydrogène et/ou à l'environnement modifié de surface après incorporation de la vitamine D. Toutefois, ces bandes ne peuvent pas être attribuées

exclusivement à la vitamine D de manière définitive.

Malgré ces modifications, les bandes principales associées aux groupements phosphates de l'HAp restent présentes dans la formulation finale, notamment autour de 1012 cm^{-1} et 548 cm^{-1} . Cela indique que la structure phosphate caractéristique de l'hydroxyapatite est globalement conservée après incorporation de la vitamine D. Cependant, les variations observées au niveau des positions et de l'intensité des bandes suggèrent une modification de l'environnement chimique de la matrice HAp après formulation.

Comparativement à l'HAp seul, certaines bandes deviennent moins nettes ou légèrement déplacées dans la formulation finale. Cette évolution peut être liée à l'interaction entre la surface de l'HAp et la phase organique, ainsi qu'au chevauchement spectral entre les contributions minérales et organiques du système hybride. La présence de la vitamine D peut ainsi modifier localement l'environnement des groupements hydroxyles et phosphates sans provoquer la disparition complète des bandes caractéristiques de l'hydroxyapatite.

Il est important de souligner que la FTIR ne permet pas, à elle seule, de confirmer de manière absolue la présence de la vitamine D dans le système final. Les modifications observées doivent plutôt être interprétées comme des indices compatibles avec une interaction entre l'HAp et une phase organique après formulation. Ainsi, la conservation des bandes phosphates de l'HAp, associée à l'apparition et à la modification de certaines contributions dans les régions hydroxyles et organiques, suggère la formation d'un système hybride HAp–Vitamine D.

Ces résultats restent cohérents avec les systèmes HAp–molécules organiques décrits dans la littérature, où l'incorporation d'une phase organique peut entraîner des modifications du profil FTIR de l'hydroxyapatite sans disparition complète de la structure apatite principale .

4. DRX

4.1. IHAT :

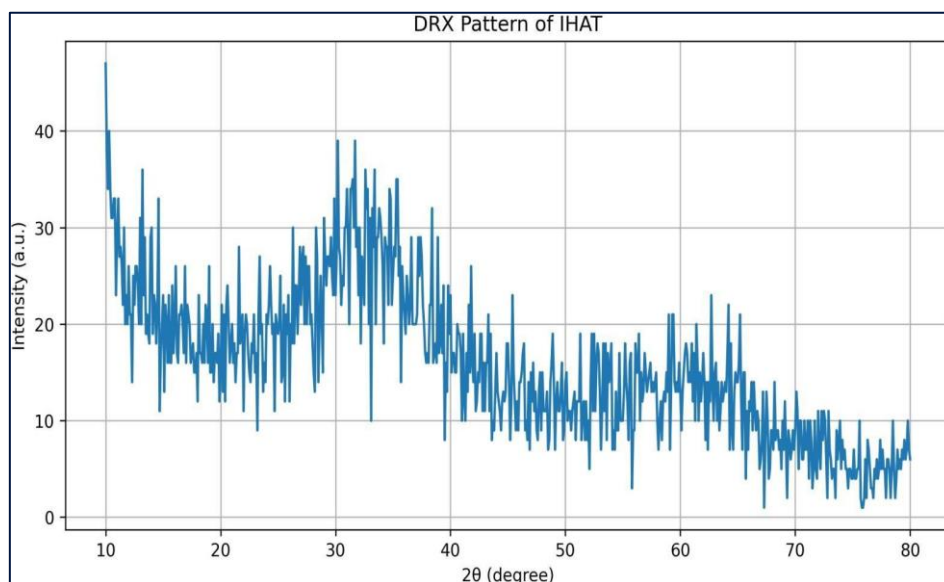


Figure 22: Diffractogramme DRX de l'échantillon IHAT

L'analyse par diffraction des rayons X de l'échantillon IHAT montre un diffractogramme caractérisé par une bande large et diffuse, centrée approximativement autour de $2\theta \approx 31-32^\circ$, sans apparition de pics cristallins intenses et bien définis (**Figure 21**). Ce comportement indique que l'IHAT possède une structure faiblement cristalline, proche d'une phase ferrihydrite modifiée qui caractérisée par une large bande diffuse autour de 35° (2θ) (**Vallina B et al., 2014**) . plutôt qu'une structure cristalline ordonnée.

Cette observation est cohérente avec les travaux de (**Powell et al. (2014)**) , qui ont décrit l'IHAT comme un analogue synthétique du noyau ferritine, constitué de nanoparticules de Fe(III) oxo-hydroxyde modifiées par des ligands organiques. Les auteurs ont montré que l'incorporation du tartrate pendant la coprécipitation perturbe l'organisation structurale de la ferrihydrite, retarde la croissance cristalline et conduit à une structure élargie ou contrainte. Leur étude rapporte également une taille primaire de l'ordre de 2–5 nm, ce qui est très proche de la taille cristalline estimée dans notre échantillon IHAT, soit environ 2,7 nm.

De même, l'avis scientifique de (**EFSA Panel on Nutrition et al., 2021**) confirme, à partir de plusieurs techniques de caractérisation incluant la DRX, STEM, FTIR, TEM et EELS, que l'IHAT correspond à une ferrihydrite modifiée par le tartrate, présentant une

structure disrupted or strained ferrihydrite. Cette description soutient directement l'absence de pics nets dans notre diffractogramme et confirme que la faible cristallinité est une caractéristique attendue de l'IHAT, et non une anomalie expérimentale.

La présence d'une bande large autour de $31-32^\circ$ peut donc être attribuée à des domaines ferrihydrite très petits et désordonnés. Contrairement à des oxydes ou oxyhydroxydes de fer plus cristallins, l'IHAT ne présente pas de réflexions fines, car les ligands organiques, notamment le tartrate et l'adipate, limitent la croissance des cristallites et stabilisent une structure nanométrique désorganisée.

Cette interprétation est également renforcée par le document technique de l'EFSA sur l'IHAT, qui décrit ce matériau comme une ferrihydrite dopée par des ligands organiques, amorphe par rapport à la ferrihydrite classique, avec des particules de l'ordre de 2–5 nm. (EFSA, 2022) .

Ainsi, le résultat obtenu dans notre étude est en bon accord avec la littérature. La taille cristalline calculée par l'équation de Scherrer, estimée à environ 2,7 nm, confirme la nature nanométrique de l'IHAT.

4.2 Se NPs

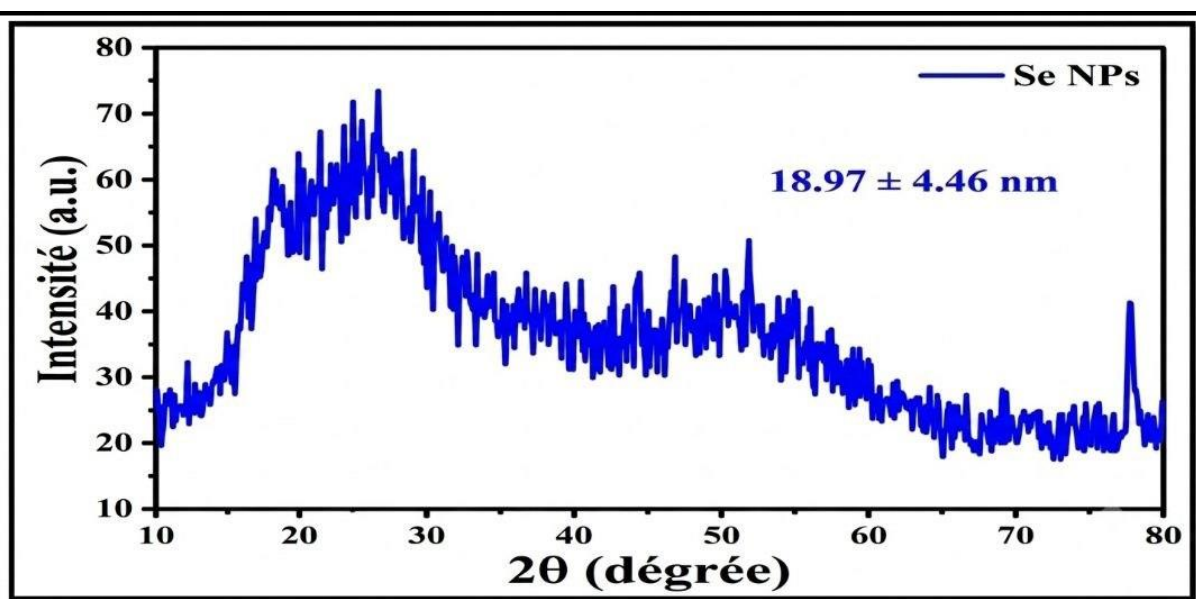


Figure 23: Diffractogramme DRX de l'échantillon Se NPs enrobées par chitosan

On observe un large pic important, où des pics larges et peu définis, donc c'est un caractère amorphe ou faiblement cristallin. Après le calcul de l'équation de la taille cristalline estimée : 18.97 ± 4.46 nm.

Le diagramme de diffraction des rayons X révèle que les nanoparticules de sélénium sont amorphes (Figure 23). Ce résultat concorde avec les valeurs précédemment rapportées par (Chen

et al 2009)(Z.Chen et *al.*, 2009).

Néanmoins, le diagramme de diffraction des rayons X a pu être indexé selon la phase trigonale du sélénium, ce qui a pu être réalisé à partir de l'apparition des pics de diffraction caractéristiques de ces phases de sélénium, dont les constantes de réseau sont $a = 4,366 \text{ \AA}$ et $c = 4,956 \text{ \AA}$ (dossier JCPDS n° 06-362) . (F.Yang et *al.*, 2012). (C.Shah et *al.*, 2010).

Les pics Se NPs centrés sur les valeurs 2θ de $23,5^\circ$, $29,2^\circ$, $41,4^\circ$, $43,3^\circ$, $45,4^\circ$, $52,5^\circ$, $55,7^\circ$ et $62,7^\circ$ étaient liés aux plans cristallins des plans (100), (101), (110), (102), (111), (201), (112) et (202) de la norme . S.Satpathy et *al.* (2024).). De plus, le spectre préparé indique le polymorphisme des nanoparticules de sélénium synthétisées.

En général, le sélénium présente une structure moins cristalline, probablement amorphe ou semi-cristalline. Ceci est typique des nanoparticules de Se synthétisées biologiquement .

4.3 Chitosane

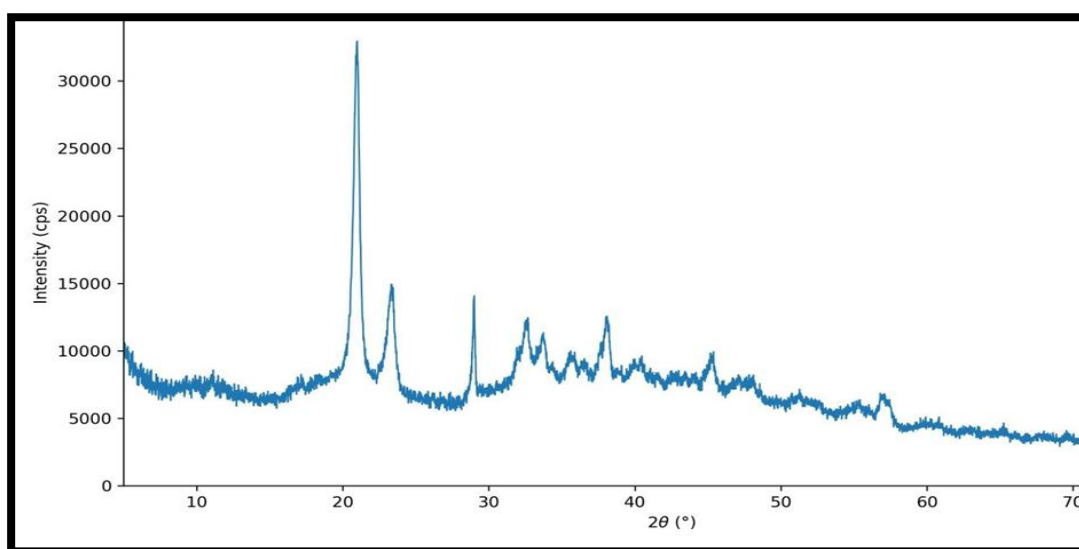


Figure 24. Diffractogramme de diffraction des rayons X (XRD) du chitosane extrait des carapaces de crevettes montrant sa structure semi-cristalline.

Le diffractogramme RX (XRD) de l'échantillon présente plusieurs réflexions cristallines, avec un pic principal très intense situé vers $2\theta \approx 21^\circ$, accompagné de pics secondaires autour de 23° , 29° , $33-39^\circ$, 45° et 57° . Cette configuration confirme que le matériau obtenu possède une structure semi-cristalline, caractéristique du chitosane issu de déchets de crevettes (Queiroz Antonino et *al.*, 2017). Dans la littérature, le chitosane pur présente généralement deux pics caractéristiques localisés autour de 10° et 20° (2θ), correspondant respectivement aux plans cristallographiques (002) et (101). Ces pics sont associés à l'organisation régulière des chaînes polymériques maintenues par des liaisons

hydrogène intra- et intermoléculaires (**Queiroz Antonino et al., 2017**). Dans votre échantillon, le pic dominant observé vers 21° est en excellent accord avec les valeurs rapportées pour le chitosane commercial et le chitosane extrait des carapaces de crevettes. La forte intensité de ce pic suggère une bonne organisation cristalline ainsi qu'un degré de désacétylation relativement élevé, ce qui favorise le rapprochement des chaînes de glucosamine et augmente la cristallinité du polymère (**Eddy et al., 2020**). Cependant, plusieurs réflexions supplémentaires apparaissent dans la région comprise entre 29° et 58° . Ces pics ne sont généralement pas dominants dans le chitosane hautement purifié. Leur présence peut être attribuée à des résidus minéraux provenant de la carapace (calcite CaCO_3), à des traces de phosphate de calcium, à une élimination incomplète de la fraction inorganique lors de la déminéralisation, ou encore à la coexistence de domaines de chitosane plus ordonnés (**Miron et al., 2022**). En particulier, le signal observé autour de 29° est fréquemment associé à la présence de calcite résiduelle, issue d'une déminéralisation incomplète des carapaces de crevettes. Plusieurs études ont montré que les pics proches de $29-30^\circ$ constituent un indicateur de traces de carbonate de calcium restant dans le matériau final (**Miron et al., 2022**). Par ailleurs, l'absence d'un pic nettement marqué autour de 10° peut résulter de plusieurs phénomènes : une désacétylation poussée ayant modifié l'organisation cristalline, une réduction de la fraction hydratée du polymère, ou encore un élargissement ou un masquage du signal par le bruit de fond expérimental (**Tapia et al., 2025**).

4.3 IHAT–Se NPs/chitosane :

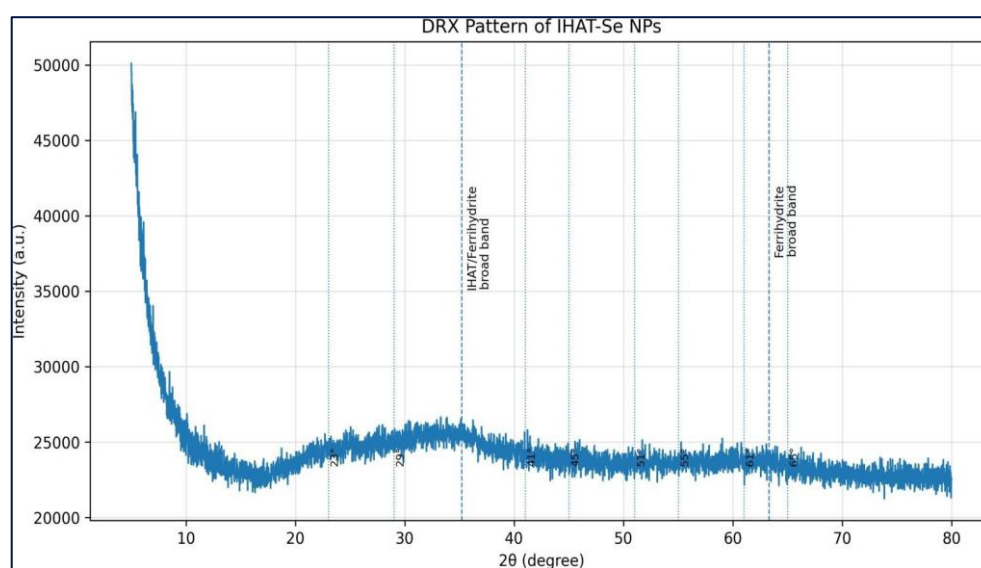


Figure 25: Diffractogramme DRX de l'échantillon IHAT–Se NPs enrobées par chitosan

L'analyse par diffraction des rayons X (DRX) des IHAT–Se NPs enrobées par chitosane/TPP montre un diffractogramme dominé par un profil large et faiblement résolu, caractéristique d'un système globalement peu cristallin. Le diffractogramme présente principalement une large bande diffuse centrée autour de $2\theta \approx 33,86^\circ$, accompagnée de quelques faibles contributions réparties dans différentes régions angulaires. L'absence de pics fins et fortement individualisés indique que le matériau obtenu possède une structure partiellement amorphe ou fortement désordonnée.

Ce comportement est cohérent avec la nature structurale de l'Iron Hydroxide Adipate Tartrate (IHAT). En effet, l'European Food Safety Authority décrit l'IHAT comme une ferrihydrite modifiée par le tartrate présentant une structure ferrihydrite perturbée ou contrainte ("disrupted or strained ferrihydrite structure"), expliquant ainsi l'apparition de bandes larges plutôt que de réflexions cristallines nettes (**EFSA Panel on Nutrition *et al.*, 2021**)

Dans notre échantillon, la large bande observée dans la région $33\text{--}35^\circ$ peut donc être attribuée principalement à la matrice IHAT de type ferrihydrite modifiée. La largeur importante de cette contribution traduit une faible organisation cristalline et la présence probable de domaines nanométriques fortement désordonnés. Ce résultat est cohérent avec les structures ferrihydrite nanocristallines rapportées dans la littérature.

Après incorporation du sélénium et formation de l'enrobage chitosane/TPP, le profil DRX devient encore plus diffus et moins résolu. Cette évolution peut être liée à plusieurs facteurs combinés: la faible cristallinité intrinsèque de la matrice IHAT, la dispersion nanométrique du sélénium, ainsi que la présence de l'enrobage polymérique chitosane/TPP, généralement associé à une structure peu cristalline voire amorphe. L'enrobage polymérique peut également masquer certaines réflexions faibles du noyau minéral et diminuer la visibilité des contributions cristallines initialement observées.

Contrairement à une phase cristalline de sélénium bien ordonnée, aucune réflexion intense et clairement individualisée du Se n'est observée dans le diffractogramme. Toutefois, de faibles contributions dans les régions proches de $52\text{--}56^\circ$ et $59\text{--}65^\circ$ peuvent être compatibles avec la présence de domaines de sélénium nanodispersés. (**Fardsadegh *et al.*, 2019**)

En raison de leur faible intensité et de leur chevauchement avec le fond diffus de la matrice IHAT et de l'enrobage polymérique, ces signaux doivent être interprétés comme des indices possibles plutôt que comme une preuve cristallographique définitive du sélénium.

La taille cristalline apparente des IHAT–Se NPs/chitosane–TPP, estimée à partir de l'ensemble des réflexions détectables du diffractogramme par l'équation de Scherrer, est d'environ 18,5 nm. Cette valeur confirme le caractère nanométrique du matériau obtenu. Toutefois, cette taille doit être interprétée avec prudence, car le diffractogramme est dominé par une large bande diffuse traduisant une forte désorganisation structurale. Ainsi, la valeur calculée correspond essentiellement à une estimation des domaines cristallins apparents et ne représente pas nécessairement la taille réelle des nanoparticules hybrides enrobées.

Ainsi, les résultats DRX suggèrent la formation d'un système hybride IHAT–Se NPs/chitosane–TPP à structure globalement faiblement cristalline. Le diffractogramme confirme principalement le maintien d'un comportement de type ferrihydrite modifiée associé à une forte désorganisation structurale après incorporation du sélénium et de l'enrobage polymérique.

3.1. Hydroxyapatite (HAp) synthétisée à partir des coquilles d'œufs :

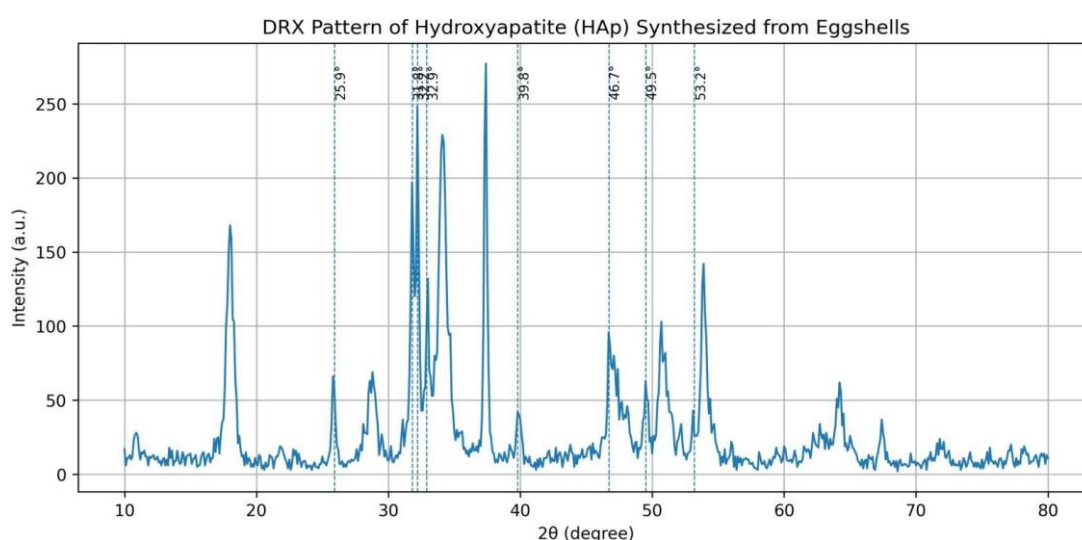


Figure 26. Diffractogramme DRX de l'échantillon HAp

L'analyse par diffraction des rayons X (DRX) de l'échantillon d'hydroxyapatite synthétisé à partir des coquilles d'œufs révèle la présence de pics caractéristiques de la phase apatite hexagonale. Les principales réflexions observées autour de $2\theta \approx 25,9^\circ$, $31,8^\circ$, $32,2^\circ$, $32,9^\circ$, $39,8^\circ$, $46,7^\circ$, $49,5^\circ$ et $53,2^\circ$

correspondent respectivement aux plans cristallographiques (002), (211), (112), (300), (310), (222),

(213) et (004) de l'hydroxyapatite hexagonale (**Figure 26**), conformément à la carte standard JCPDS n° 09-0432.

La présence de ces pics confirme la formation réussie de l'hydroxyapatite sans apparition notable de phases secondaires importantes telles que le carbonate de calcium résiduel ou le β -tricalcium phosphate. L'intensité relativement élevée et la finesse des pics observés traduisent également une bonne cristallinité du matériau obtenu. La taille cristalline calculée à partir de l'équation de Scherrer est estimée dans l'échelle nanométrique, avec une valeur moyenne d'environ 24 nm. Cette taille réduite est caractéristique des nanoparticules d'HAp synthétisées par voie chimique à partir de ressources naturelles riches en calcium. La nanostructuration de l'HAp est particulièrement recherchée dans les applications biomédicales, car elle améliore la surface spécifique, la bioactivité et l'ostéoconductivité du matériau.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de **(Singh et al., 2016)** qui ont synthétisé de l'hydroxyapatite nanocristalline à partir de coquilles d'œufs et ont observé des pics DRX similaires correspondant à la phase apatite hexagonale. Les auteurs ont rapporté que les coquilles d'œufs constituent une excellente source de calcium biocompatible permettant l'obtention d'HAp nanométrique hautement cristallin.

Des observations similaires ont également été rapportées par Mohd Pu'ad N et al (2019), qui ont montré que l'HAp dérivé des coquilles d'œufs présente des réflexions DRX typiques de l'hydroxyapatite avec une cristallinité élevée et une taille nanométrique favorable aux applications biomédicales. Les auteurs ont souligné que le calcium issu des coquilles d'œufs possède une forte réactivité chimique facilitant la formation rapide de la phase apatite **(Mohd Pu'ad et al., 2019)**.

Par ailleurs, **Rivero-Buceta S et collaborateurs (2015)** ont confirmé que les nanoparticules d'hydroxyapatite obtenues à partir de sources naturelles présentent généralement des pics DRX bien définis associés à la structure hexagonale apatite, avec des tailles cristallines comprises entre 20 et 40 nm, ce qui concorde avec les résultats obtenus dans notre étude **(Rivero-Buceta et al., 2015)**.

L'ensemble de ces résultats confirme que les coquilles d'œufs constituent un précurseur naturel efficace pour la synthèse d'hydroxyapatite nanocristalline. La bonne cristallinité observée, l'absence de phases secondaires significatives et la taille nanométrique obtenue démontrent la qualité structurale du biomatériau synthétisé et son potentiel pour des applications biomédicales, notamment en ingénierie osseuse et en régénération tissulaire.

3.2. HAp–Vitamine D :

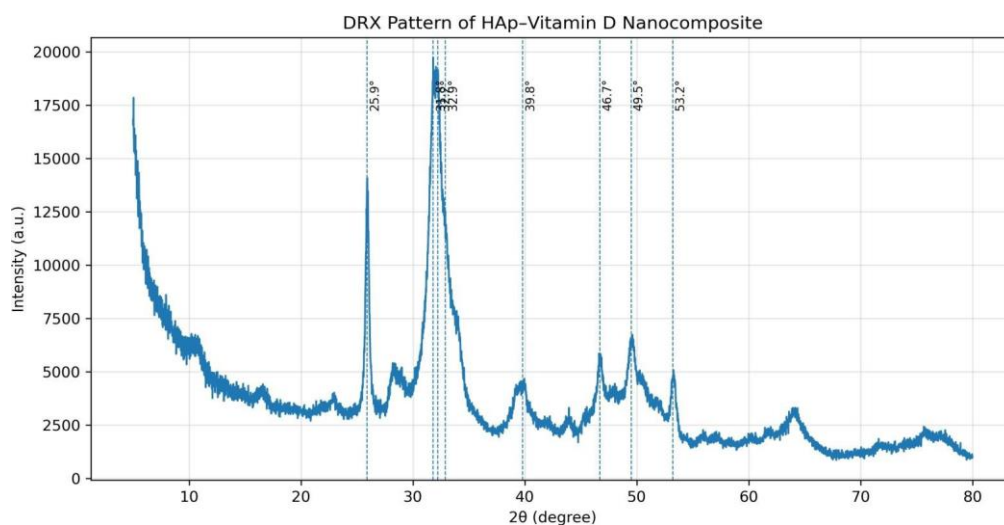


Figure27. Diffractogramme DRX de l'échantillon HAp–Vitamine D

L'analyse par diffraction des rayons X (DRX) de l'échantillon HAp–Vitamine D montre la présence des principaux pics caractéristiques de l'hydroxyapatite hexagonale. Les réflexions observées autour de $2\theta \approx 25,9^\circ$, $31,8^\circ$, $32,2^\circ$, $32,9^\circ$, $39,8^\circ$, $46,7^\circ$, $49,5^\circ$ et $53,2^\circ$ correspondent aux plans cristallographiques typiques de l'hydroxyapatite selon la carte standard JCPDS/PDF n° 09-0432 (Marković et al., 2004), confirmant ainsi la conservation de la structure apatite après incorporation de la vitamine D.

Comparativement à l'HAp seule, le diffractogramme de HAp–Vitamine D présente une légère diminution de l'intensité de certaines réflexions ainsi qu'un élargissement modéré des pics DRX. Ce comportement suggère une réduction partielle de la cristallinité après incorporation de la vitamine D. Cette diminution reste cependant faible, indiquant que la phase apatite principale demeure stable après chargement de la molécule bioactive.

L'absence de nouveaux pics cristallins intenses attribuables à la vitamine D suggère que cette dernière est principalement adsorbée ou dispersée sous forme faiblement cristalline/amorphe au sein de la matrice HAp. Ce résultat est cohérent avec la nature organique de la vitamine D, généralement moins cristalline que la phase minérale apatite. La taille cristalline moyenne de l'HAp seule a été estimée à environ 24 nm, tandis que celle du système HAp–Vitamine D est d'environ 21 nm, calculée à partir des principaux pics DRX par l'équation de Scherrer. Cette légère diminution de la taille cristalline peut être attribuée à l'interaction entre les molécules de vitamine D et la surface des nanoparticules d'HAp, entraînant un élargissement modéré des pics DRX ainsi qu'une réduction partielle de l'ordre cristallin, sans altération significative de la structure apatite.

Ces observations sont en accord avec plusieurs études rapportant que l'incorporation

de molécules organiques ou bioactives dans l'hydroxyapatite provoque généralement une légère diminution de la cristallinité tout en conservant la phase HAp principale.

Ainsi, les résultats DRX obtenus confirment la formation réussie d'un système hybride HAp–Vitamine D nanocristallin, dans lequel l'hydroxyapatite conserve sa structure cristalline principale tout en servant de matrice de support pour la vitamine (**Dissanayake et al., 2021**).

5. Analyse des paramètres hématologiques et biochimiques sériques

5.1 Bilan hématologique :

5.1.1 Hémoglobine:

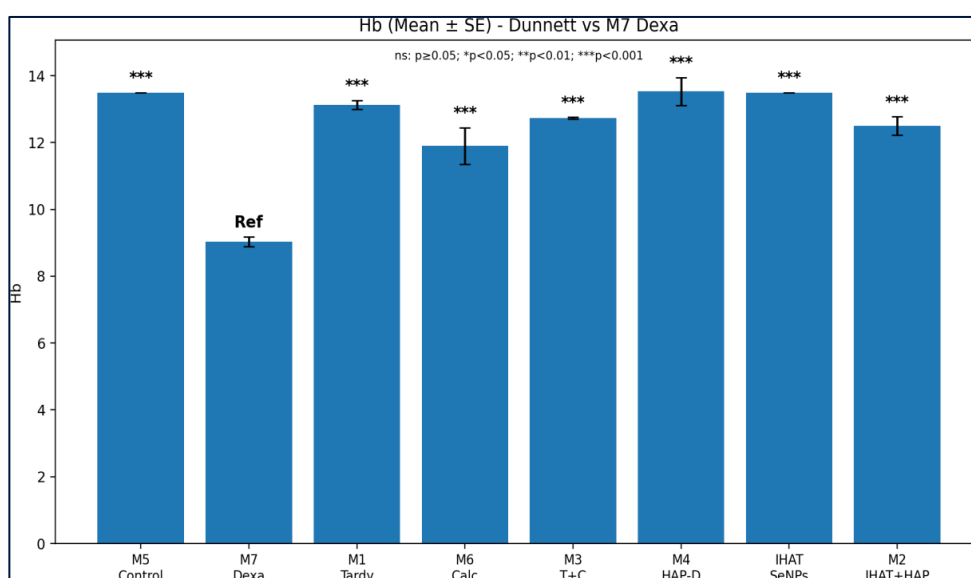


Figure 28. Variation du taux d'hémoglobine (Hb) chez les différents groupes de rats (moyenne $\pm$ ES)

Les résultats obtenus montrent que le groupe traité par la dexaméthasone présente une diminution nette du taux d'hémoglobine ($9,03 \pm 0,15$ g/dL) par rapport au groupe témoin normal ($13,50 \pm 0,00$ g/dL), avec une différence hautement significative.

En revanche, les autres groupes traités ont montré une amélioration notable des valeurs d'hémoglobine, en particulier les groupes ayant reçu le Tardyferon, le HAP-VitD et le IHAT-SeNPs-Cs-TPP. Les valeurs observées chez ces groupes se rapprochent de celles du groupe témoin.

Cette diminution peut s'expliquer par les effets des glucocorticoïdes sur l'hématopoïèse, notamment l'érythropoïèse au niveau de la moelle osseuse. L'administration prolongée de dexaméthasone peut réduire la production d'érythropoïétine, perturber le métabolisme du fer et augmenter le stress oxydatif. Ces mécanismes contribuent à l'altération des membranes érythrocytaires et à la diminution de la synthèse de l'hémoglobine.

Ces résultats sont en accord avec les observations rapportées par plusieurs études montrant que l'utilisation prolongée des corticostéroïdes induit des perturbations hématologiques et métaboliques importantes (Oray et al., 2016).

L'amélioration observée après les différents traitements pourrait être liée à l'apport en fer fourni par le Tardyferon, élément essentiel à la synthèse de l'hémoglobine, ainsi qu'aux propriétés antioxydantes du

Sélénium et de la vitamine D. Par ailleurs, l'utilisation des nanoparticules pourrait améliorer la biodisponibilité et le ciblage des composés actifs.

Ces observations concordent également avec les travaux de Rayman, qui ont mis en évidence le rôle protecteur du sélénium contre les dommages induits par le stress oxydatif cellulaire (Rayman, 2012).

5.1.2 Lymphocytes :

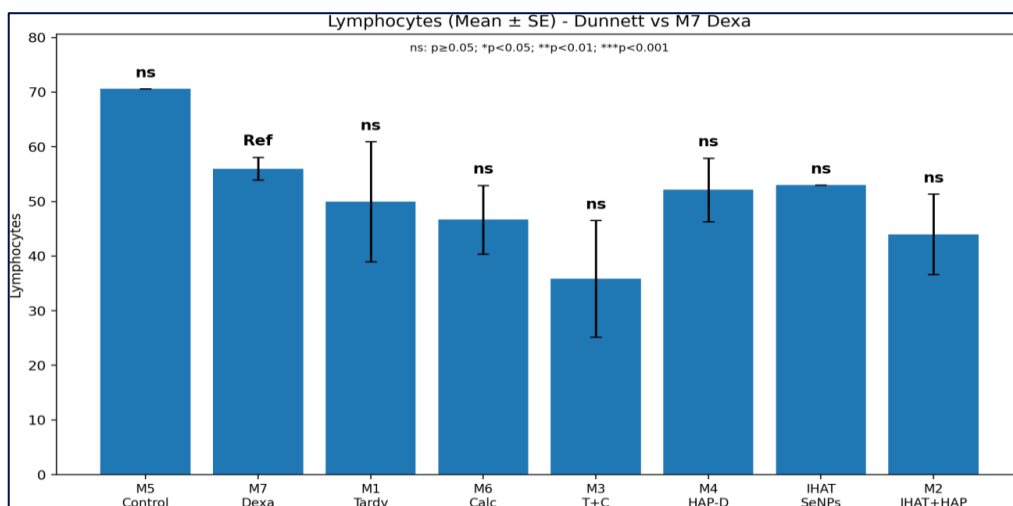


Figure 29. Variation du taux de Lymphocytes chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES)

Les résultats obtenus montrent une diminution du taux lymphocytaire dans le groupe traité par la dexaméthasone (Dexa) par rapport au groupe témoin normal, bien que cette baisse ne soit pas statistiquement significative ($p > 0,05$). Aucune amélioration significative de ce paramètre n'a été observée après l'administration des différents traitements.

Cette diminution peut s'expliquer par l'effet immunosuppresseur bien documenté des glucocorticoïdes. En effet, la dexaméthasone inhibe la prolifération lymphocytaire et induit l'apoptose des lymphocytes, en particulier des lymphocytes T, tout en réduisant la production des cytokines pro-inflammatoires. Les glucocorticoïdes exercent également une modulation importante de la réponse immunitaire, entraînant une lymphopénie ainsi qu'une redistribution des cellules immunitaires vers les compartiments tissulaires (Cain et Cidlowski, 2017).

L'absence de différence significative entre les groupes pourrait être liée à la durée relativement courte du traitement et/ou à la taille réduite de l'échantillon expérimental. Par ailleurs, les propriétés antioxydantes et immunomodulatrices du sélénium et de la vitamine D pourraient avoir contribué à atténuer partiellement les perturbations immunitaires induites par la dexaméthasone, sans toutefois produire un effet statistiquement significatif dans les conditions expérimentales de cette étude.

5.1.3 Globules rouges :

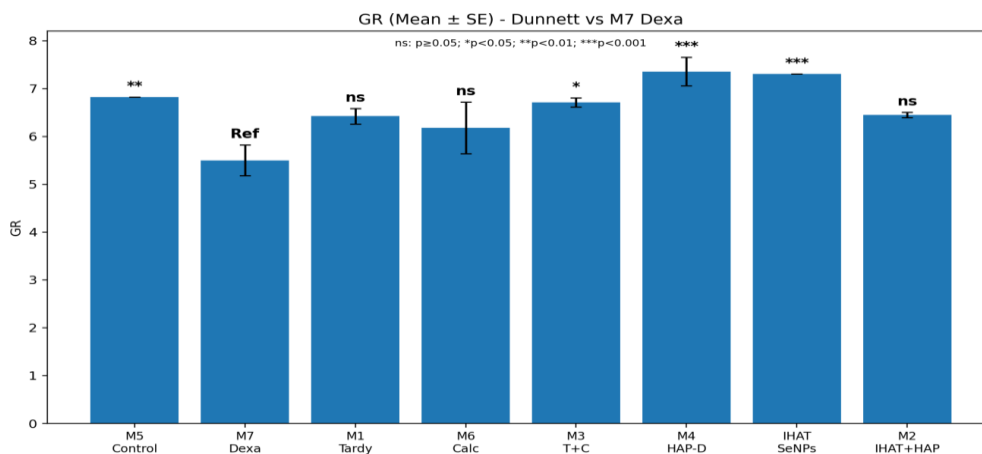


Figure30. Variation du taux de GR chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES)

Les résultats montrent une diminution du nombre de globules rouges (GR) dans le groupe Dexa ($5,50 \pm 0,32$) par rapport au groupe témoin normal ($6,82 \pm 0,00$). En revanche, les groupes traités ont présenté une amélioration progressive de ce paramètre, notamment les groupes HAP-VitD et IHAT-SeNPs-Cs-TPP. L'analyse statistique par ANOVA a révélé une différence significative entre les groupes ($p < 0,01$).

Cette diminution des globules rouges pourrait être liée à l'effet inhibiteur de la dexaméthasone sur l'activité hématopoïétique médullaire, ainsi qu'à une augmentation du stress oxydatif susceptible d'altérer l'intégrité des membranes érythrocytaires et de réduire leur durée de vie. (Iuchi et al., 2007) ont montré que le stress oxydatif constitue un facteur majeur impliqué dans les dommages des globules rouges et la perturbation de leurs fonctions physiologiques. De plus, (Costantini et al., 2011) ont rapporté que les glucocorticoïdes peuvent induire un stress oxydatif systémique susceptible d'altérer plusieurs fonctions cellulaires et physiologique

L'amélioration observée dans les groupes traités pourrait s'expliquer par une limitation du stress oxydatif et une protection des membranes cellulaires grâce aux composés antioxydants. De plus, les nanoparticules pourraient améliorer la biodisponibilité et la distribution tissulaire des principes actifs, favorisant ainsi une meilleure récupération

des paramètres hématologiques.

5.1.4 Plaquettes :

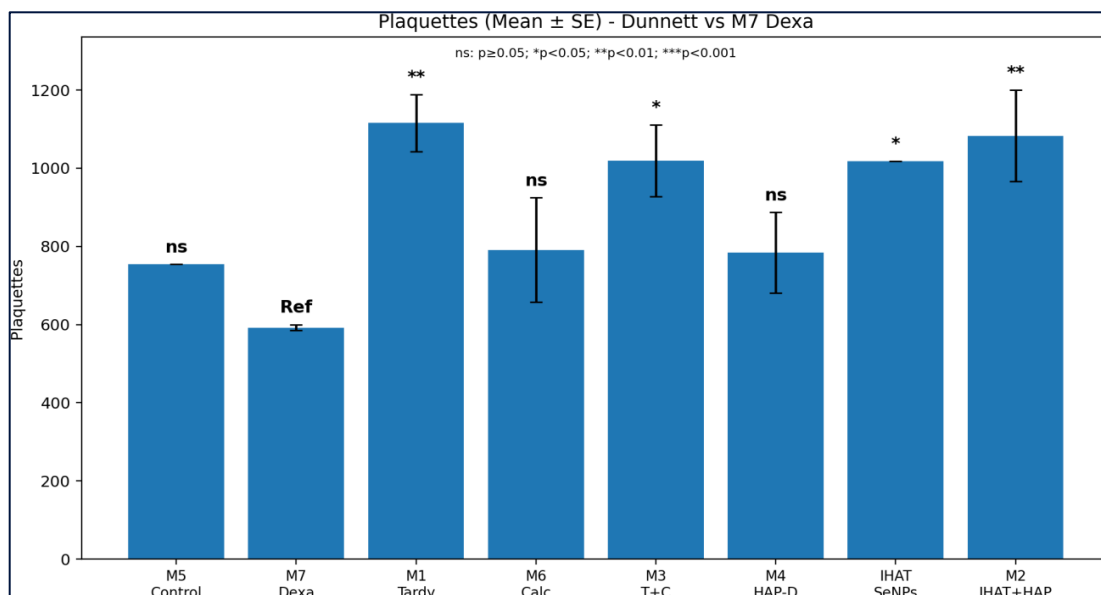


Figure31. Variation du taux de Plaquettes chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES)

Les résultats obtenus montrent une diminution du nombre de plaquettes dans le groupe Dexa ($592,33 \pm 7,22$) par rapport au groupe témoin normal ($754,00 \pm 0,00$). À l'inverse, plusieurs groupes traités ont présenté une augmentation du nombre plaquettaire, notamment les groupes Tardyferon et IHAT-SeNPs-Cs-TPP. L'analyse statistique a révélé des différences significatives entre les groupes ($p < 0,01$).

Cette thrombocytopénie observée dans le groupe Dexa pourrait être liée à une altération de l'activité médullaire hématopoïétique, ainsi qu'à un stress oxydatif susceptible d'affecter les mégacaryocytes, cellules responsables de la production des plaquettes. Par ailleurs, les glucocorticoïdes peuvent perturber l'équilibre de l'hématopoïèse et favoriser une augmentation de la destruction périphérique des cellules sanguines (**Schäcke et al., 2002**). De plus, une exposition prolongée aux glucocorticoïdes peut induire des déséquilibres hématologiques et immunitaires via des mécanismes liés au stress oxydatif et à la modulation de la moelle osseuse (**Strehl et al., 2019**).

L'amélioration du taux plaquettaire observée après traitement pourrait refléter une restauration partielle de la fonction médullaire, ainsi qu'une réduction du stress oxydatif. Cet effet pourrait être attribué aux propriétés antioxydantes et protectrices du sélénium et des autres composés administrés, contribuant à la stabilisation du microenvironnement hématopoïétique et à la régulation de l'hémostase.

5.2 Bilan hépatique

5.2.1 aspartate aminotransférase :

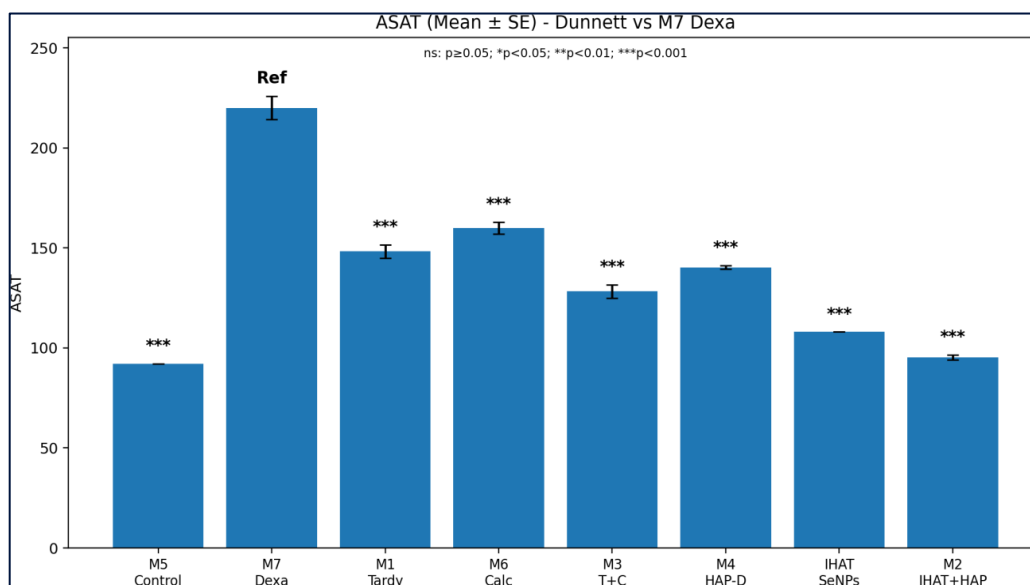


Figure 32. Variation du taux de ASAT chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES)

L'analyse des paramètres biochimiques sériques a montré une augmentation du taux d'ASAT dans le groupe pathologique traité par la dexaméthasone, tandis que les groupes traités par les formulations nanoparticulaires ont présenté une tendance à la diminution de cette enzyme par rapport au contrôle pathologique.

L'ASAT est une enzyme intracellulaire présente principalement au niveau hépatique, mais également dans les tissus musculaires et cardiaques. Son élévation sérique traduit une altération cellulaire liée à une cytotoxicité hépatique ou tissulaire. L'augmentation observée dans le groupe DEXA pourrait être expliquée par les effets oxydatifs et métaboliques des glucocorticoïdes, incluant le stress oxydatif, la dysfonction mitochondriale et l'altération des membranes cellulaires, entraînant une libération accrue des transaminases.

Ces mécanismes ont été rapportés par (**Kohen et Nyska ,2002**), qui ont montré que le stress oxydatif est fortement impliqué dans les dommages cellulaires hépatiques et peut contribuer à l'augmentation des enzymes hépatiques. De plus, (**Aranaz et al., 2010**) ont confirmé l'effet hépatoprotecteur des nanoparticules et dérivés de chitosane, attribué principalement à leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Par ailleurs, (**Hassan et al., 2017**)) ont démontré que l'exposition

Prolongée aux glucocorticoïdes peut induire des lésions hépatiques associées à une élévation des transaminases, en lien avec le stress oxydatif et la perturbation du métabolisme hépatique.

La diminution de l'ASAT observée dans les groupes traités (IHAT–SeNPs/chitosane–TPP et HAp–Vitamine D) pourrait refléter un effet protecteur contre les lésions hépatiques induites par la dexaméthasone. Cet effet est probablement lié aux propriétés antioxydantes du sélénium, notamment via l'activation des systèmes enzymatiques de défense comme la glutathion peroxydase, contribuant à la réduction du stress oxydatif et à la protection des membranes cellulaires.

Par ailleurs, la vitamine D du système HAp–Vitamine D pourrait renforcer cet effet grâce à ses propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes, tandis que l'hydroxyapatite améliorerait la stabilité et la biodisponibilité du principe actif, optimisant ainsi son efficacité biologique.

Ainsi, la diminution du taux d'ASAT suggère que les formulations nanoparticulaires développées pourraient exercer un effet hépatoprotecteur contre les altérations induites par la dexaméthasone

5.2.2 Alanine aminotransférase :

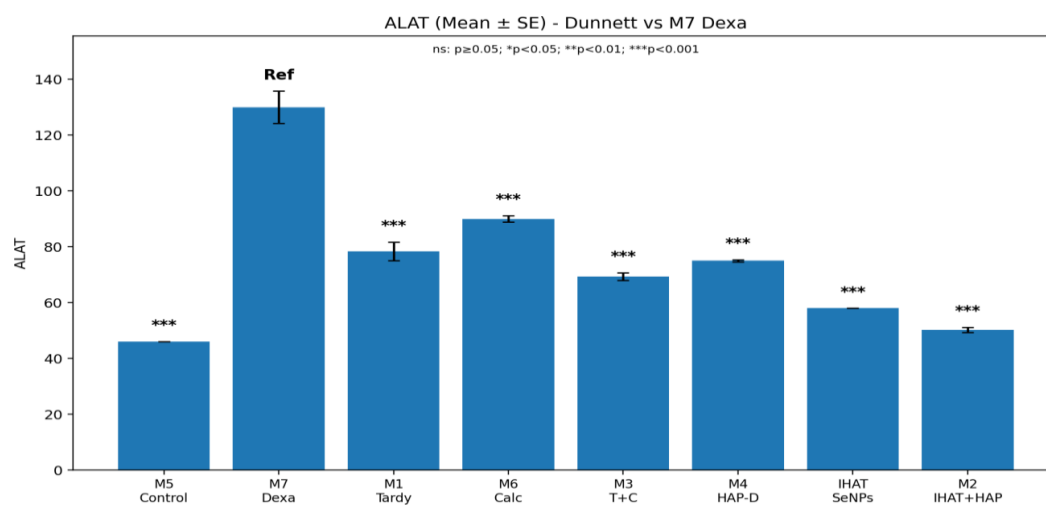


Figure33. Variation du taux de ALAT chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES)

Les résultats obtenus pour l'ALAT montrent une augmentation du taux sérique dans le groupe traité par la dexaméthasone, alors qu'une diminution relative est observée dans les groupes recevant les

Formulations nanoparticulaires par rapport au contrôle pathologique.

L'élévation de l'ALAT reflète une atteinte hépatocellulaire liée à l'effet hépatotoxique des glucocorticoïdes, impliquant notamment le stress oxydatif et les perturbations métaboliques hépatiques. Ces mécanismes ont été rapportés par (Schäcke *et al.*, 2002), qui ont mis en évidence les effets secondaires hépatiques des glucocorticoïdes, ainsi que par

(Rhen & Cidlowski, 2017), qui ont confirmé leur implication dans les déséquilibres métaboliques et oxydatifs.

À l'inverse, la diminution de l'ALAT dans les groupes traités pourrait être associée aux propriétés antioxydantes et protectrices des nanoparticules de sélénium, capables de limiter la peroxydation lipidique et les lésions membranaires, ainsi qu'à l'effet stabilisant du chitosane améliorant la délivrance du principe actif. Ces effets sont en accord avec (Rayman, 2012), qui a souligné le rôle essentiel du sélénium dans la défense antioxydante et la protection cellulaire contre le stress oxydatif. De plus, (Dash et al, 2011) ont mis en évidence les propriétés biomédicales du chitosane, notamment son potentiel en tant que vecteur de libération et agent protecteur des tissus via des mécanismes antioxydants et anti-inflammatoires.

Concernant le système HAp–vitamine D, l'amélioration observée pourrait être attribuée aux propriétés immunomodulatrices et anti-inflammatoires de la vitamine D, ainsi qu'au rôle de l'hydroxyapatite comme vecteur améliorant la biodisponibilité et la libération prolongée du principe actif.

Ainsi, ces résultats suggèrent que les formulations nanoparticulaires pourraient atténuer les effets hépatotoxiques induits par la dexaméthasone tout en améliorant les paramètres biochimiques hépatiques.

5.2.3 phosphatase alcaline:

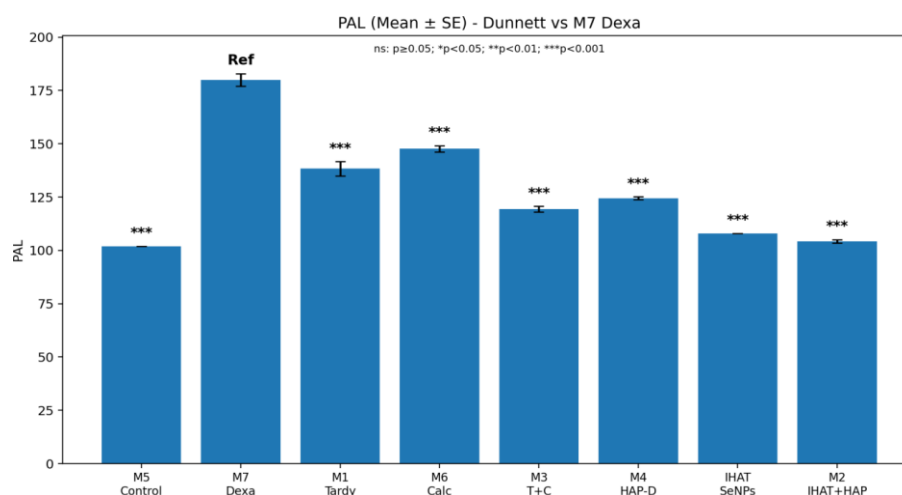


Figure34. Variation du taux de PAL chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES)

Les résultats obtenus dans cette étude sont en accord avec plusieurs travaux antérieurs ayant montré que le traitement par les glucocorticoïdes, notamment la dexaméthasone, induit une altération profonde du métabolisme osseux et un déséquilibre du remodelage osseux. Dans la présente étude, une augmentation de l'activité de la phosphatase alcaline (PAL) a été observée chez les animaux traités par la dexaméthasone par rapport au groupe témoin,

reflétant un turnover osseux anormal et un déséquilibre entre la formation et la résorption osseuse **(Weinstein, 2011)**.

Weinstein a rapporté que les glucocorticoïdes diminuent la formation osseuse en inhibant la différenciation et l'activité des ostéoblastes, entraînant une altération progressive du tissu osseux. Cependant, l'augmentation observée de la PAL dans cette étude peut s'expliquer par une activation compensatoire du remodelage osseux en réponse à la perte de masse osseuse.

De même, Compston a confirmé que l'ostéoporose induite par les corticoïdes est caractérisée par un remodelage osseux déséquilibré, associant une résorption accrue et une formation osseuse inefficace, conduisant à une perte nette de masse osseuse et à une dégradation de la qualité de la matrice osseuse **(Compston, 2018)**, ce qui peut justifier l'élévation des marqueurs d'activité osseuse tels que la PAL.

Par ailleurs, Almeida et al. ont montré que le stress oxydatif induit par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) contribue à l'apoptose des ostéoblastes et à la diminution de leur fonctionnalité (Almeida et al., 2007). L'activation des voies inflammatoires, notamment NF- κ B, favorise également la résorption osseuse via la stimulation des ostéoclastes, entraînant un déséquilibre du remodelage osseux susceptible de s'accompagner d'une augmentation des marqueurs enzymatiques tels que la PAL, en lien avec des mécanismes compensatoires de réparation tissulaire.

Concernant l'approche thérapeutique, l'amélioration des valeurs de la PAL observée dans les groupes traités de cette étude suggère une stimulation de l'activité ostéoblastique et une amélioration partielle du remodelage osseux. Les travaux de Gadow et al. ont montré que les revêtements à base d'hydroxyapatite possèdent une forte ostéoconductivité, favorisant l'adhésion cellulaire, la différenciation des ostéoblastes et la régénération osseuse grâce à leur similitude avec la phase minérale de l'os **(Gadow et al., 2010)**.

Enfin, plusieurs études ont confirmé le rôle essentiel de la vitamine D dans le métabolisme osseux. Holick a montré que la carence en vitamine D entraîne une altération de la minéralisation osseuse et un déséquilibre des marqueurs du remodelage osseux, notamment la phosphatase alcaline, tandis que sa correction améliore l'homéostasie calcique et les processus de formation osseuse **(Holick, 2007)**.

5.2.4 Gamma glutamyl transférase :

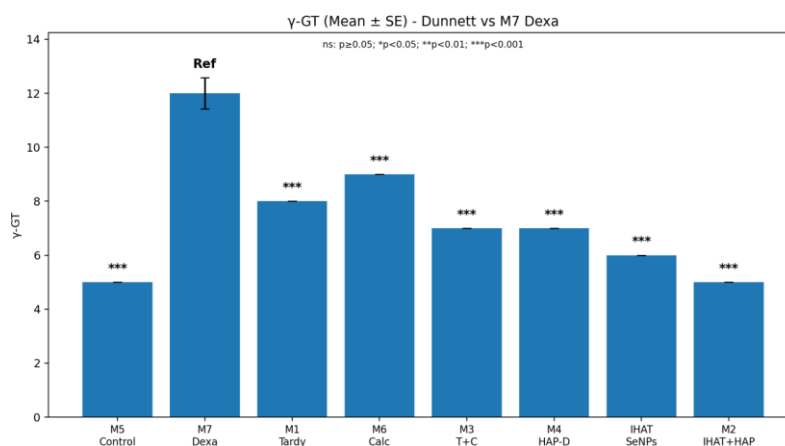


Figure 35. Variation du taux de γ -GT chez les différents groupes de rats (moyenne $\pm$ ES)

Les résultats de la Gamma-glutamyl transférase (GGT) montrent une légère variation entre les groupes expérimentaux, avec une tendance à l'augmentation chez le groupe traité par la dexaméthasone comparativement au groupe témoin. Cette augmentation peut traduire un début d'atteinte hépatique ou une perturbation du métabolisme hépatobiliaire induite par les glucocorticoïdes. En effet, les corticostéroïdes sont connus pour influencer le métabolisme hépatique et induire un déséquilibre oxydatif cellulaire par augmentation des espèces réactives de l'oxygène (ROS), susceptibles d'altérer les hépatocytes et de modifier les enzymes hépatiques (Sies, 2015).

Cependant, l'augmentation observée dans notre étude reste modérée et non sévère. Cela pourrait s'expliquer par la durée relativement limitée du traitement expérimental, probablement insuffisante pour induire une hépatotoxicité importante ou des lésions hépatiques profondes. Il a été démontré que les

altérations hépatiques associées aux glucocorticoïdes sont plus marquées lors des expositions prolongées et des doses élevées (Schacke *et al.*, 2002).

Les groupes traités par HAP/IHAT et par les associations contenant calcium et vitamine D ont montré des valeurs plus proches du témoin, ce qui pourrait suggérer un effet protecteur indirect contre le stress oxydatif hépatique. Plusieurs études ont montré que les nanoparticules et les nutriments antioxydants, notamment le calcium et la vitamine D, contribuent à améliorer l'homéostasie cellulaire et à réduire les dommages oxydatifs (Bouillon *et al.*, 2019).

5.3 Fonction rénale

5.3.1 Urée sérique:

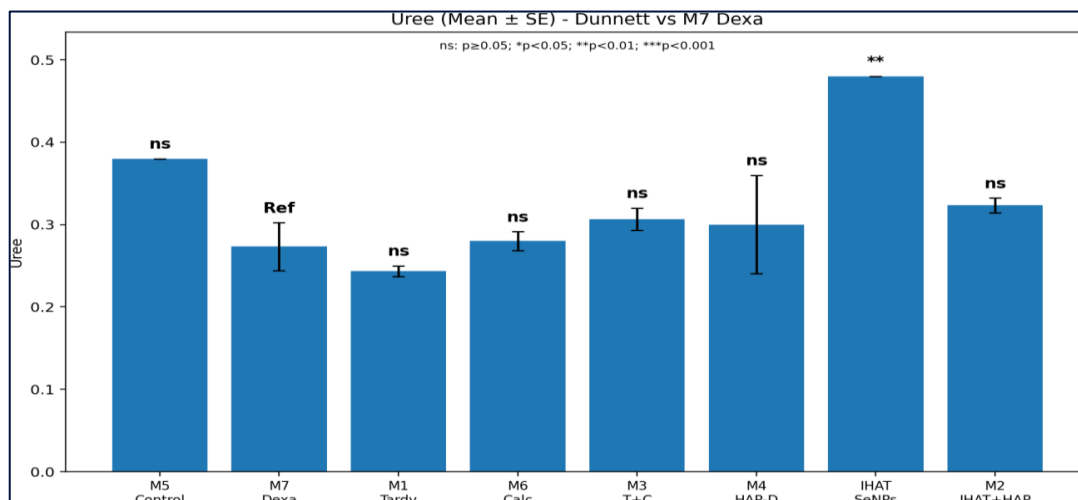


Figure36. Variation du taux de Urée chez les différents groupes de rats (moyenne $\pm$ ES)

Les résultats de l'urée montrent seulement de faibles variations entre les groupes expérimentaux. Le groupe traité par la dexaméthasone n'a pas présenté une augmentation très importante par rapport au groupe témoin, suggérant l'absence d'une atteinte rénale sévère au cours de l'expérimentation.

Les glucocorticoïdes sont connus pour augmenter le catabolisme protéique et influencer le métabolisme azoté, ce qui peut conduire à une élévation de l'urée sanguine lors d'expositions prolongées (**Schakman et al., 2013**). Toutefois, dans notre étude, cette augmentation est restée modérée, ce qui pourrait être expliqué par la durée limitée du traitement, insuffisante pour induire des altérations rénales significatives.

Par ailleurs, l'absence d'élévation majeure de l'urée pourrait indiquer que les mécanismes d'adaptation rénale sont restés fonctionnels malgré l'exposition aux corticostéroïdes. Des études ont montré que les effets systémiques des glucocorticoïdes deviennent plus marqués lors d'administrations prolongées ou à fortes doses (**Schacke et al., 2002**).

Les groupes traités par HAP/IHAT et par les associations contenant calcium et vitamine D ont présenté des valeurs relativement stables, ce qui pourrait refléter un effet protecteur indirect contre le stress oxydatif et les perturbations métaboliques induites par la dexaméthasone (**Bouillon et al., 2019**).

5.4 Bilan métabolique

5.4.1 Glycemie :

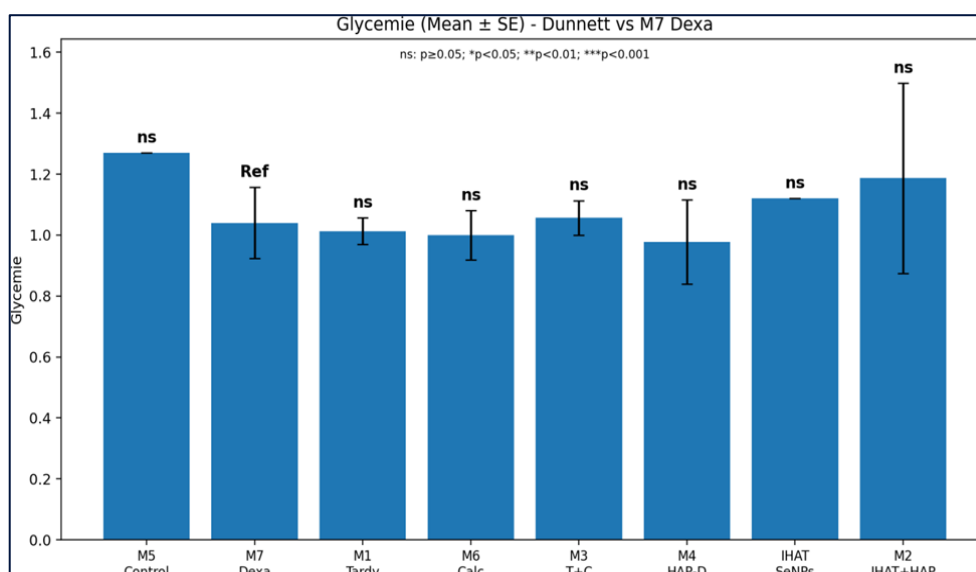


Figure37. Variation du taux de Glycemie chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES)

Les résultats obtenus montrent que les valeurs de la glycémie ne présentent pas d'augmentation importante chez le groupe traité par la dexaméthasone par rapport aux autres groupes, notamment le groupe

témoin négatif. Cette observation suggère que la corticothérapie administrée durant l'expérimentation n'a pas induit de perturbation glucidique sévère.

Bien que les glucocorticoïdes soient connus pour stimuler la néoglucogenèse hépatique et induire une résistance à l'insuline, les variations observées restent faibles et relativement proches entre les groupes. Cela peut être expliqué par la durée limitée du traitement, insuffisante pour induire une hyperglycémie persistante (**Van Raalte et al., 2009**).

Certaines études confirment que les corticostéroïdes peuvent provoquer une hyperglycémie, surtout lors d'expositions prolongées ou à fortes doses, avec une variabilité individuelle importante dans la réponse métabolique (**Clore & Thurby-Hay, 2009**).

Par ailleurs, il a été démontré que les glucocorticoïdes altèrent la sensibilité à l'insuline et le métabolisme du glucose via des effets sur le foie, le muscle et le tissu adipeux (**Andrews & Walker, 1999**).

Enfin, l'hyperglycémie induite par les glucocorticoïdes est généralement transitoire lors des traitements de courte durée, en raison des mécanismes compensatoires de régulation métabolique (**Tamez-Pérez et al., 2015**).

5.4.2 Calcium sérique :

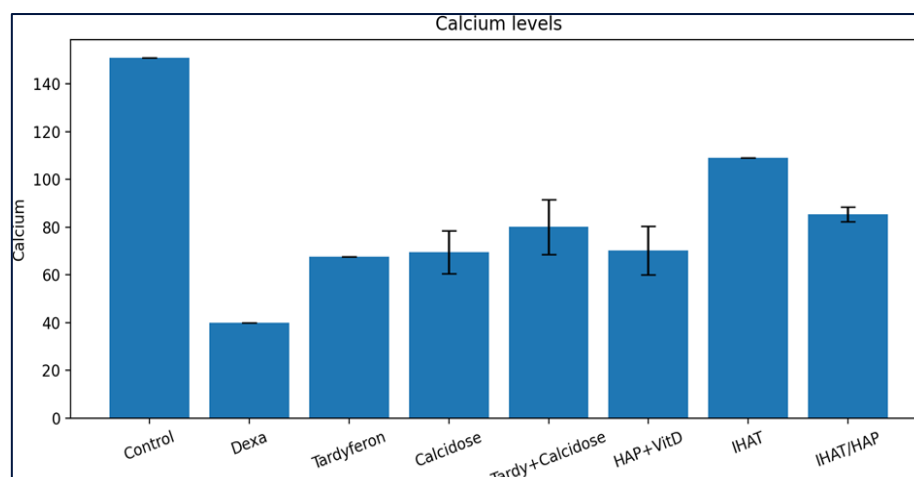


Figure38. Variation du taux de Calcium chez les différents groupes de rats (moyenne $\pm$ ES)

Les résultats montrent une diminution importante du calcium chez le groupe traité par la dexaméthasone comparativement aux autres groupes, notamment le groupe témoin négatif. Cette baisse traduit l'effet délétère bien connu des glucocorticoïdes sur le métabolisme phosphocalcique et l'homéostasie osseuse.

Les corticostéroïdes diminuent l'absorption intestinale du calcium et augmentent son excrétion rénale, ce qui entraîne une hypocalcémie relative et favorise la résorption osseuse (Canalis *et al.*, 2007). Ils inhibent également la différenciation et l'activité des ostéoblastes tout en stimulant indirectement la résorption osseuse, accélérant ainsi la perte minérale osseuse (Weinstein, 2011).

Le stress oxydatif constitue également un mécanisme important dans la perte osseuse induite par les glucocorticoïdes. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) favorisent l'apoptose des ostéoblastes et perturbent le remodelage osseux, aggravant ainsi la déminéralisation (Almeida *et al.*, 2007).

Contrairement au groupe traité par dexaméthasone seule, les groupes recevant HAP, calcium et vitamine D ont présenté des valeurs plus élevées de calcium, suggérant un effet protecteur contre la perte minérale osseuse. L'hydroxyapatite nanométrique agit comme un matériau biomimétique favorisant l'ostéoconduction et la minéralisation osseuse (Dorozhkin, 2010 ; Gadow *et al.*, 2010), tandis que la vitamine D améliore l'absorption intestinale du calcium et contribue au maintien de l'homéostasie phosphocalcique (Holick, 2007).

5.4.3 Fer sérique :

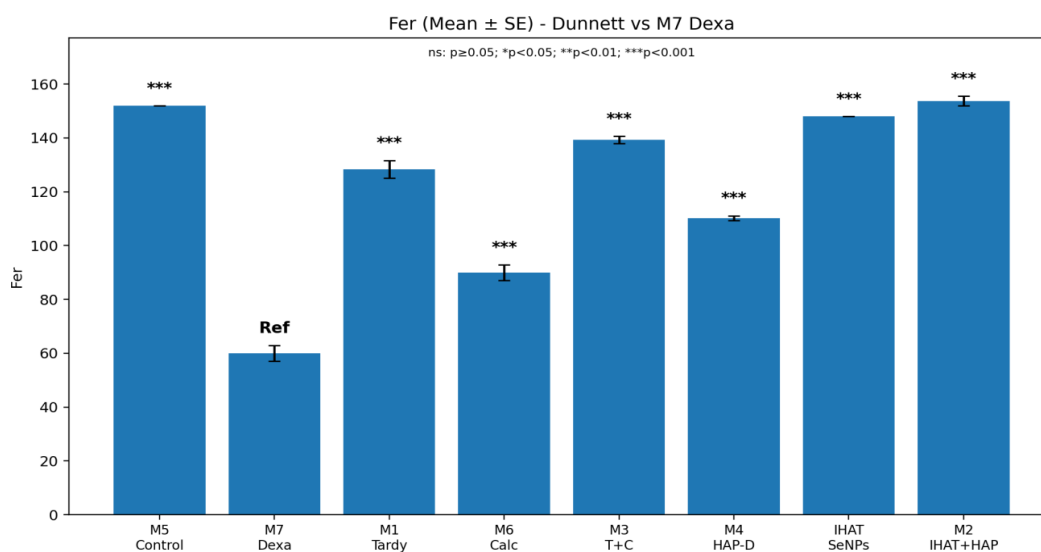


Figure39. Variation du taux de Fer chez les différents groupes de rats (moyenne ± ES)

Les résultats du fer sérique montrent une diminution chez le groupe traité par la dexaméthasone comparativement au groupe témoin, ce qui traduit une perturbation du métabolisme du fer induite par les glucocorticoïdes. Cette diminution reste toutefois modérée, probablement en raison de la durée relativement courte de l'expérimentation.

Les glucocorticoïdes et les états inflammatoires peuvent perturber l'homéostasie du fer via la régulation de l'hepcidine, hormone clé du métabolisme du fer. L'augmentation de l'hepcidine entraîne une inhibition de la ferroportine, réduisant ainsi la libération du fer vers la circulation sanguine (Nemeth *et al.*, 2004). De plus, l'inflammation systémique peut contribuer à une séquestration du fer dans les macrophages, entraînant une diminution de sa disponibilité plasmatique (Ganz & Nemeth, 2015).

Par ailleurs, le stress oxydatif peut contribuer à l'altération des globules rouges et à leur destruction prématurée, réduisant ainsi les réserves circulantes en fer (Valko *et al.*, 2007).

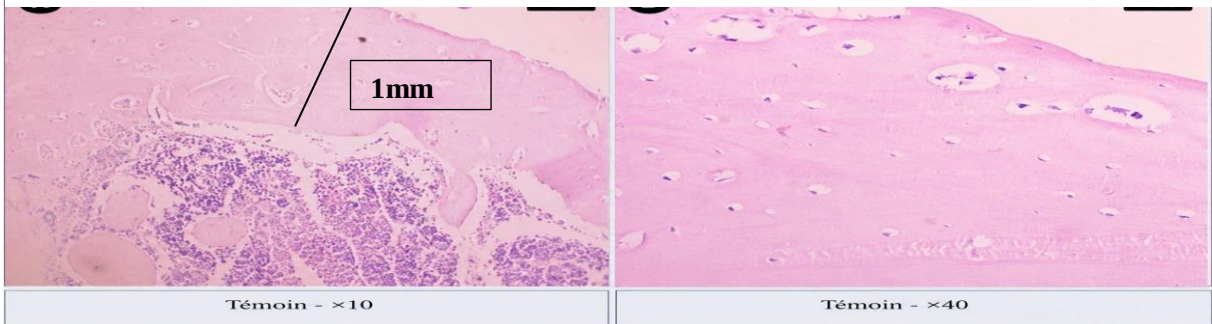
Nos résultats sont cohérents avec les données de (Weiss et Goodnough ,2005), qui rapportent que les perturbations du métabolisme du fer apparaissent progressivement lors des états inflammatoires ou sous traitements prolongés, suggérant que les variations observées dans notre étude correspondent à un stade précoce d'altération.

Les groupes traités par IHAT ont montré une amélioration des concentrations en fer sérique, ce qui est en accord avec les travaux de (Ganz & Nemeth, 2015) et (Auerbach & Adamson, 2016), qui ont montré que la modulation du métabolisme du fer et l'optimisation de sa biodisponibilité peuvent améliorer les concentrations en fer circulant et limiter les perturbations liées à l'inflammation.

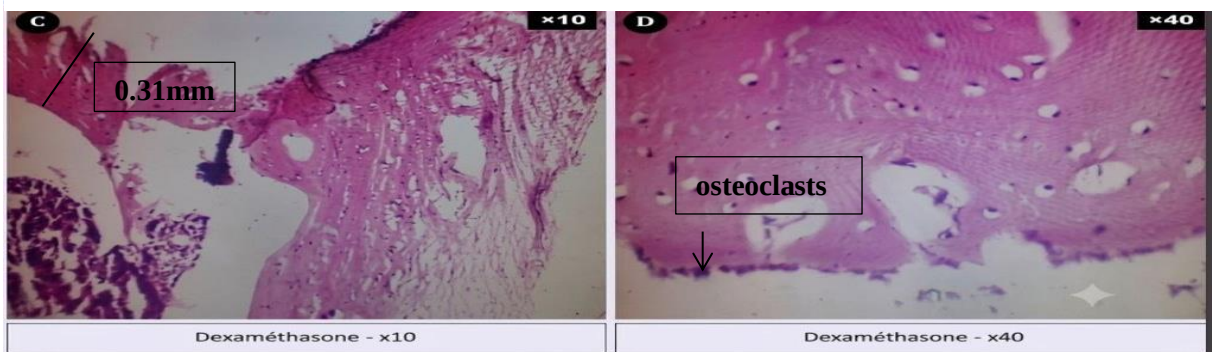
6. Analyse histologique

6.1 Les tissus osseux :

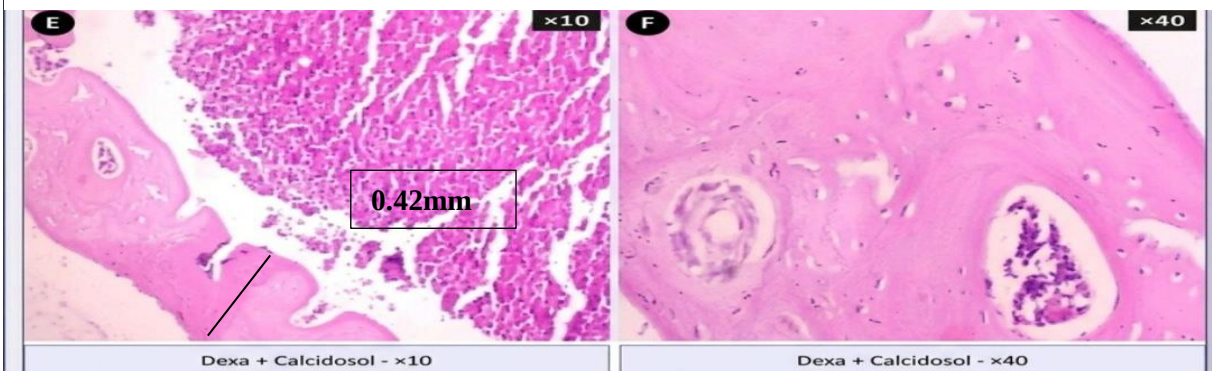
Groupe 1 : contrôle normal



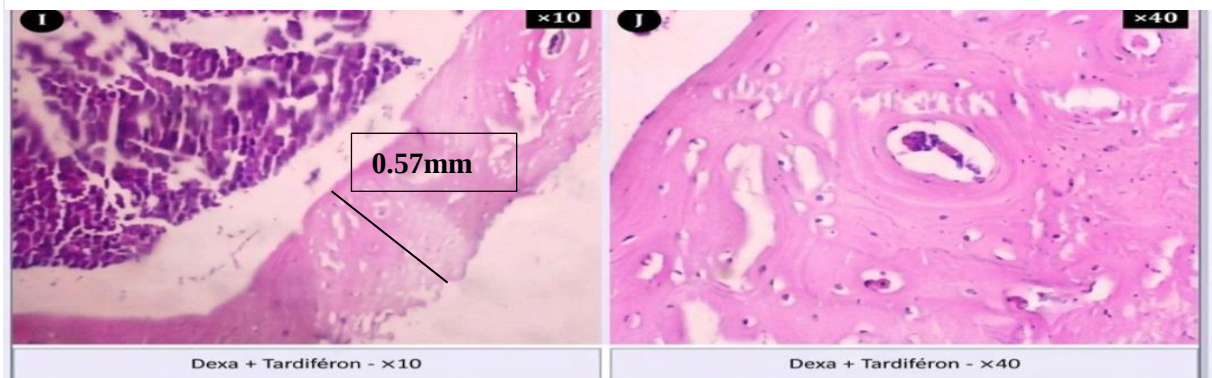
Groupe 2 : Dexaméthasone seule



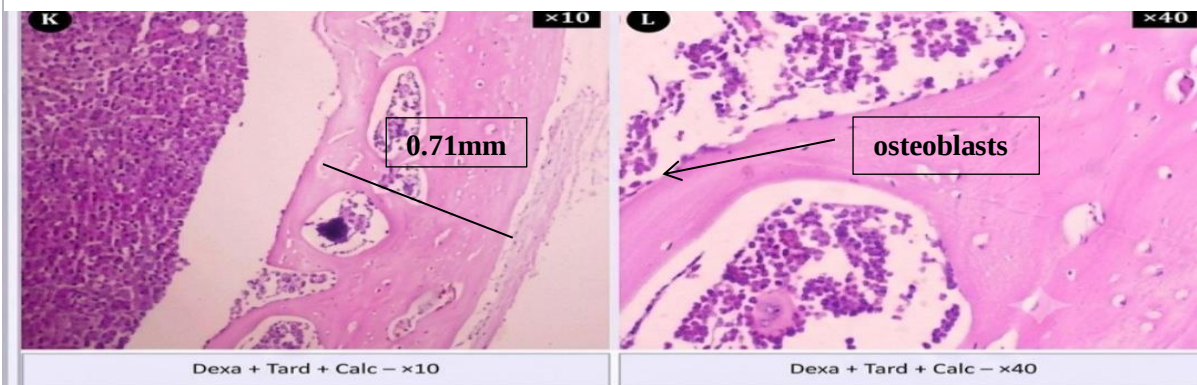
Groupe 3 (Dexaméthasone + Calcidosol) :



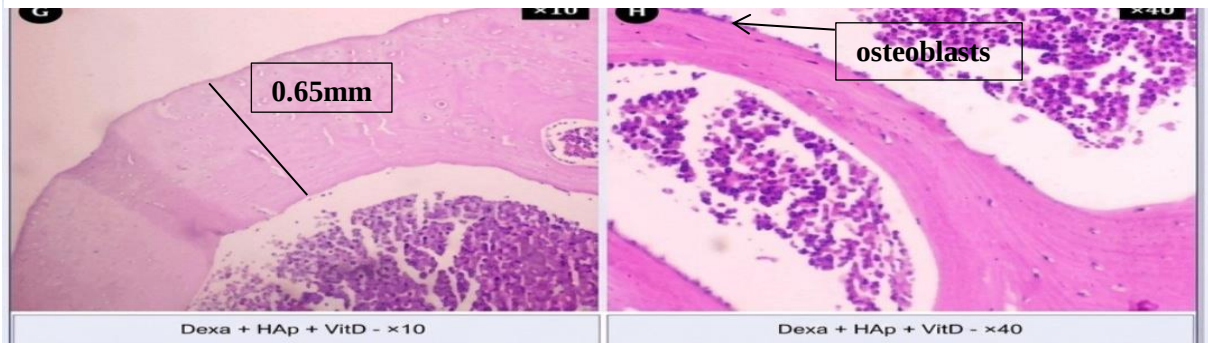
Groupe 4 : (Dexaméthasone + Tardyferon) :



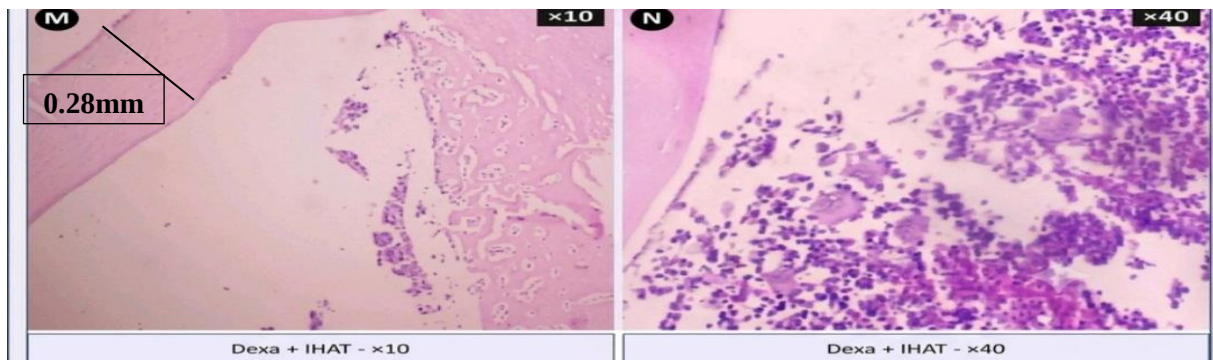
Groupe 5 : Dexa + Tardiféron + Calsidose



Groupe 6 : Dexa + HAp + Vit D3



Groupe 7 : Dexa + IHAT + Se



Groupe 8 : Dexa + IHAT + Se + nano-HAp + Vit D3

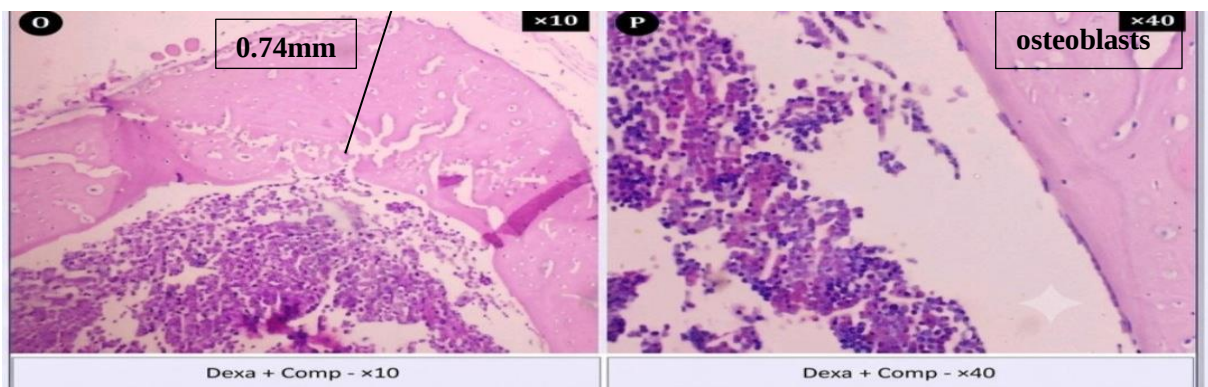


Figure40.:Coupes histologiques du fémur de rat (coloration H&E, grossissement $\times 10$ et $\times 40$) illustrant l'architecture osseuse et médullaire des huit groupes expérimentaux

- ✚ **Groupe 1 (Contrôle normal)** : présente l'épaisseur corticale la plus élevée, avec 1 mm, reflétant une architecture osseuse intacte, avec des lamelles concentriques bien organisées autour des canaux de Havers et des ostéocytes viables (**Weinstein et al., 2002**).
- ✚ **Groupe 2 (Dexaméthasone seule)** : entraîne une réduction drastique de l'épaisseur corticale à 0,31 mm, soit une perte de 69 % par rapport au témoin. Cette amincissement sévère est la conséquence directe de l'hyperactivité ostéoclastique, de l'apoptose ostéocytaire et de la quasi-absence d'ostéoblastes fonctionnels, mécanismes bien documentés dans la littérature (**Weinstein et al., 2002 ; Badary et al., 2022**).
- ✚ **Groupe 3(Dexaméthasone + Calcidose)** : montre une légère récupération à 0,42 mm, représentant une amélioration de +35 % par rapport au groupe Dexa seule, mais qui demeure insuffisante (58 % de la valeur témoin). Cette récupération partielle reflète la capacité limitée du Calsidose à contrecarrer les effets cataboliques des corticoïdes sans ciblage cellulaire spécifique (**Badary et al., 2022**).
- ✚ **Groupe 4(Dexaméthasone + Tardyferon)** : présente paradoxalement une épaisseur de 0,57 mm, supérieure au groupe Calsidose seul. Cependant, cette valeur doit être interprétée avec prudence : les observations histologiques révèlent simultanément une zone d'érosion focale, des lacunes de Howship et des ostéoclastes hyperactifs, suggérant que ce remodelage apparent est pathologique et instable, possiblement lié au stress oxydatif induit par la réaction de Fenton du fer libre (**Zhang et al., 2018**).
- ✚ **Groupe 5 (Dexa + Fe + Calcidose)** : atteint 0,71 mm, valeur numériquement proche du Groupe 8. Toutefois, l'analyse histologique révèle la présence simultanée d'ostéoblastes et de lacunes de Howship, témoignant d'un remodelage déséquilibré et non d'une véritable restauration. Cette dissociation entre épaisseur corticale et qualité tissulaire souligne les limites des traitements non vectorisés (**Casado-Díaz et al., 2013**).
- ✚ **Groupe 6 (Dexa + HAP + VitD)** : montre une épaisseur de 0,65 mm (65 % de la valeur témoin), avec une amélioration qualitative notable : présence d'ostéoblastes actifs et régression de la stéatose médullaire. Ces résultats confirment le potentiel ostéoconducteur de l'hydroxyapatite combinée à la vitamine D3, tout en soulignant les limites de leur biodisponibilité sous forme non vectorisée (**Campos et al., 2019**).
- ✚ **Groupe 7 (Dexa + IHAT-SeNPs-Cs-TPP)** : présente la valeur la plus basse après le Groupe 2, avec 0,28 mm seulement. Ce résultat apparemment paradoxal s'explique par le fait que ce groupe représente une formulation incomplète : le système de délivrance

ciblée du fer (IHAT) et le sélénium neutralisent le stress oxydatif, mais en l'absence de nano-HAp et de vitamine D3, la reconstruction osseuse reste insuffisante malgré la présence d'une zone d'érosion focale en régression (**Luo et al., 2015 ; Hoffmann et al., 2007**).

✚ **Groupe 8 (Dexa + Comp)** : atteint 0,74 mm, soit la valeur la plus élevée parmi les groupes traités (74 % de la valeur témoin). Contrairement aux Groupes 4 et 5 qui présentent des épaisseurs comparables mais une histologie pathologique, le Groupe 8 combine épaisseur satisfaisante ET qualité tissulaire restaurée : présence d'ostéoblastes actifs, absence d'aplasie médullaire sévère, et zones d'érosion résiduelles cliniquement négligeables. La synergie entre IHAT (neutralisation du fer libre), sélénium (réduction des ROS via GPx), nano-HAp (charpente biomimétique) et vitamine D3 (inhibition de l'adipogenèse) explique cette supériorité (**Zhou et al., 2016 ; Campos et al., 2019**).

L'ensemble des observations histologiques confirme que la dexaméthasone seule induit une ostéoporose sévère, caractérisée par une apoptose ostéocytaire marquée, une hyperactivité ostéoclastique (médiée par le ratio RANKL/OPG) et une déviation adipogénique des cellules souches mésenchymateuses médullaires (**Weinstein et al., 2002 ; Badary et al., 2022 ; Casado-Díaz et al., 2013**).

Ces altérations sont confirmées par les mesures histomorphométriques de l'épaisseur corticale : le groupe Dexaméthasone seule (Groupe 2) enregistre la valeur la plus basse parmi les groupes pathologiques, avec 0,31 mm, soit une perte de 69 % par rapport au groupe témoin sain (Groupe 1 : 1 mm), traduisant la destruction architecturale profonde induite par les corticoïdes.

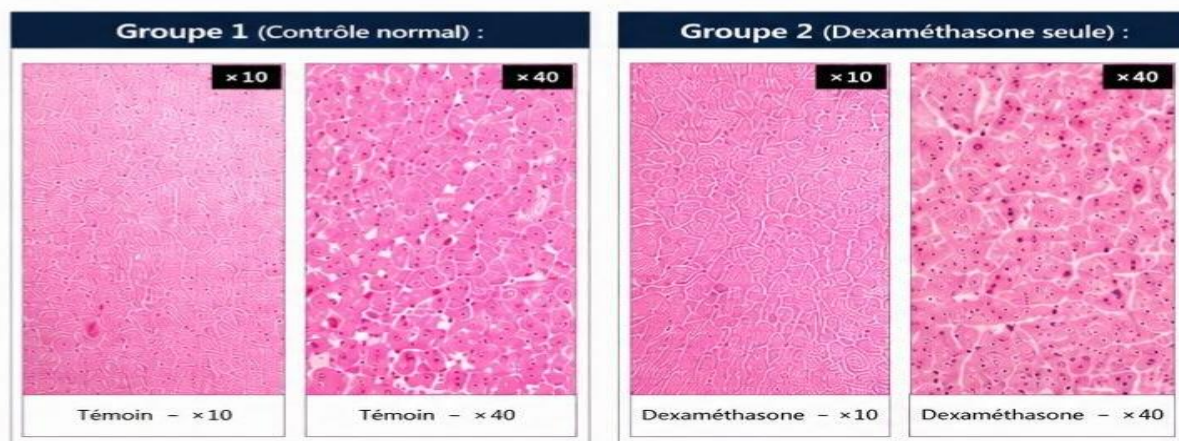
Les traitements conventionnels non vectorisés (Calsidose, Tardiféron, ou leur association) démontrent une efficacité limitée. Le Calsidose ne permet qu'une amélioration partielle, avec une épaisseur corticale de 0,42 mm (Groupe 3), soit seulement 42 % de la valeur témoin. Le Tardiféron (Groupe 4 : 0,57 mm) aggrave paradoxalement les lésions par le stress oxydatif induit par la réaction de Fenton du fer libre, malgré une épaisseur numériquement supérieure au Groupe 3 ; en effet, l'analyse histologique révèle simultanément des zones d'érosion focale et des ostéoclastes hyperactifs, témoignant d'un remodelage pathologique et instable (**Zhang et al., 2018**).

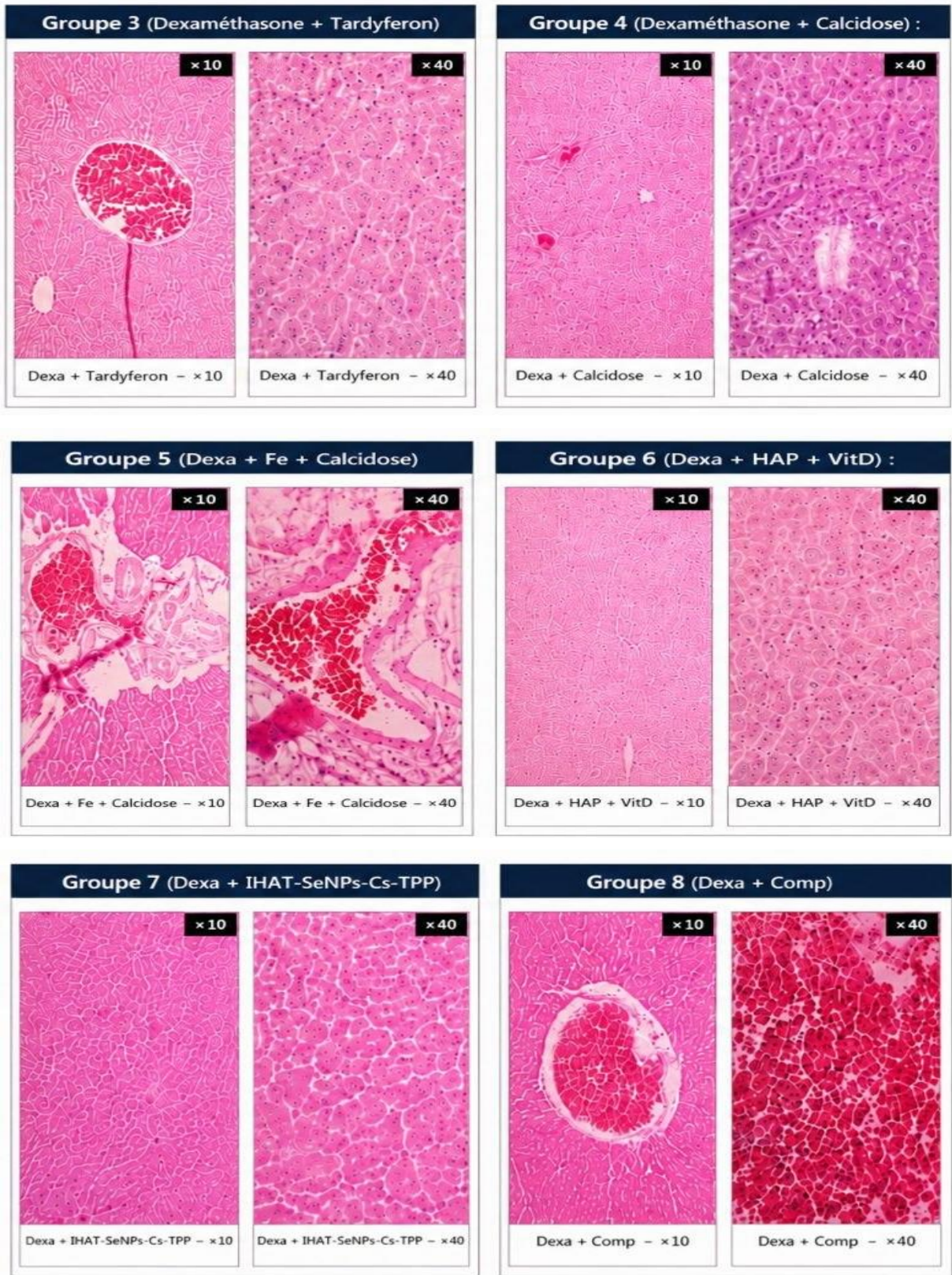
L'association Tardiféron + Calsidose (Groupe 5 : 0,71 mm) présente une épaisseur numériquement proche du Groupe 8, mais l'histologie révèle un remodelage déséquilibré avec coexistence d'ostéoblastes et de lacunes de Howship, confirmant l'inefficacité qualitative de

cette association (**Casado-Díaz et al., 2013**). L'utilisation d'hydroxyapatite classique combinée à la vitamine D3 (Groupe 6 : 0,65 mm), bien qu'améliorant l'ostéoconduction avec présence d'ostéoblastes actifs et régression de la stéatose médullaire, reste restreinte par une biodisponibilité suboptimale sous forme non vectorisée (**Campos et al., 2019**).

À l'inverse, les formulations nanotechnologiques se distinguent par une supériorité structurelle et fonctionnelle nette. Le système de délivrance ciblé à base de nanochitosane neutralise la toxicité du fer libre via le système IHAT ; le sélénium, par son action sur la glutathion peroxydase (GPx), atténue efficacement le stress oxydatif (ROS) ; la nano-hydroxyapatite fournit une charpente biomimétique optimale pour la minéralisation ; et la vitamine D3 inhibe le basculement adipogénique (**Luo et al., 2015 ; Hoffmann et al., 2007**). Le Groupe 7 (Dexa + IHAT + Se), bien que bénéficiant de la neutralisation du stress oxydatif, présente une épaisseur corticale de seulement 0,28 mm, la plus basse de tous les groupes traités, en raison de l'absence de nano-HAp et de vitamine D3, indispensables à la reconstruction osseuse active. La synergie entre ces quatre composants, au sein de la formulation nano-hybride complète (Groupe 8 : 0,74 mm, soit 74 % de la valeur témoin), permet une prévention quasi totale de l'ostéoporose et de l'aplasie médullaire cortico-induites. Contrairement aux Groupes 4 et 5 qui affichent des épaisseurs comparables mais une histologie pathologique, le Groupe 8 combine épaisseur satisfaisante et qualité tissulaire restaurée, avec des ostéoblastes actifs alignés sur la bordure endostéale et une moelle osseuse sans adipocytes. Les micro-lésions résiduelles dans ce groupe sont cliniquement négligeables, confirmant le potentiel thérapeutique des systèmes nanohybrides à base de nanochitosane dans la gestion des effets secondaires osseux et médullaires des corticoïdes (**Zhou et al., 2016 ; Campos et al., 2019**).

6.2 Les tissus hépatique :





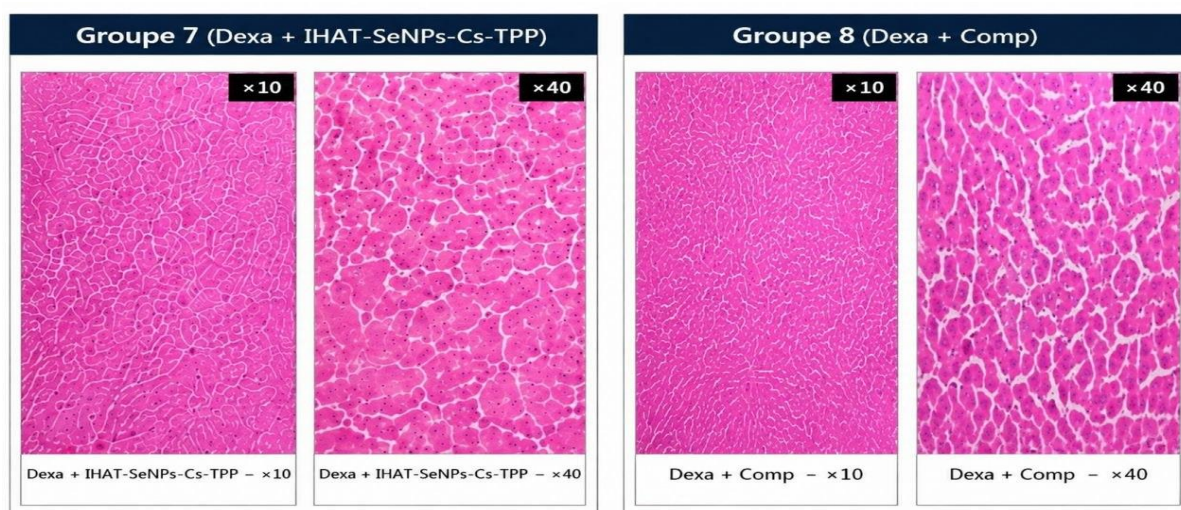


Figure 41. Histopathologie des coupes hépatiques colorées à l'H&E; (G×10 et G×40) chez les différents groupes étudiés. (1) Témoin ; (2) Dexa ; (3) Dexa+Fe ; (4) Dexa+CAL ; (5) Dexa+Fe+CAL ; (6) Dexa+HAP+Vit D ; (7) Dexa+IHAT-SeNPs-Cs-TPP ; (8) Dexa+Comp

- **Dexa** : Dexaméthasone
- **Fe** : Tardyferon (Fer)
- **CAL** : Calcidose
- **HAP** : Hydroxyapatite
- **Vit D** : Vitamine D
- **IHAT-SeNPs-Cs-TPP** : Système nanoparticulaire complexe
- **Comp** : Composition complète (IHAT+SeNPs+HAP+Vit D).

✓ **Observations analytiques des groupes histologiques hépatiques**

- ✚ **Groupe 1 (Contrôle normal)** : Structure hépatique normale et typique ; cellules disposées autour de veines centrolobulaires bien définies, et absence totale de signes de congestion ou de dégénérescence, représentant l'état physiologique idéal.
- ✚ **Groupe 2 (Dexaméthasone seule)** : Signes d'histotoxicité manifestes ; hydronéphrose hépatocytaire marquée, désorganisation des travées hépatiques et congestion des sinus et des veines centrolobulaires due au stress oxydatif.
- ✚ **Groupe 3 (Dexaméthasone + Tardyferon)** : Aggravation de la congestion veineuse ; accumulation dense et anormale de globules rouges observée dans les gros vaisseaux, avec compression et distorsion marquées des tissus environnants, suggérant que le fer seul pourrait ne pas être bénéfique dans ce contexte pathologique.
- ✚ **Groupe 4 (Dexaméthasone + Calcidose)** : Réponse positive ; les tissus présentaient une structure relativement préservée, avec une nette amélioration de l'organisation hépatocytaire et une décongestion vasculaire aiguë par rapport au groupe traité par

dexaméthasone seule.

- ✚ **Groupe 5 (Dexa + Fe + Calcidose) :** Détérioration histologique par rapport au groupe 4 ; une congestion veineuse sévère et des altérations de l'intégrité des parois des vaisseaux sanguins ont été observées, avec l'apparition d'espaces intercellulaires et le début de marqueurs de fibrose, reflétant une réaction négative ou une inefficacité de cette association thérapeutique.
- ✚ **Groupe 6 (Dexa + HAP + VitD) :** Structure hépatique stable et de haute qualité ; les cellules ont conservé leur forme normale et des noyaux clairs, sans congestion, soulignant l'efficacité de cette association pour la protection et la réparation.
- ✚ **Groupe 7 (Dexa + IHAT-SeNPs-Cs-TPP) :** Ce groupe a présenté une détérioration sévère ; des hémorragies tissulaires importantes étaient fréquentes et des dépôts sombres recouvraient le champ microscopique, entraînant une perte significative de la structure hépatique normale.
- ✚ **Groupe 8 (Dexa + Comp) :** Meilleur résultat ; les tissus étaient identiques à ceux du groupe témoin (groupe 1), avec une régularité cellulaire complète et une absence totale de signes d'hémorragie, de congestion ou de lésion tissulaire.

L'analyse histologique montre que l'administration chronique de dexaméthasone entraîne une hépatotoxicité manifeste. Ces résultats concordent avec les études de **(Schakman et al., 2008)**, qui ont démontré que les corticostéroïdes induisent un stress oxydatif systémique conduisant à une dégénérescence hépatique et à des dommages des structures vasculaires.

La réponse différenciée des groupes traités est particulièrement instructive ; le groupe 4 (Dexa + Calcidose) a montré une préservation de l'intégrité tissulaire, ce qui renforce les travaux de **(Li et al., 2015)** affirmant que l'homéostasie calcique est vitale pour maintenir l'intégrité des membranes plasmiques des hépatocytes sous stress. En revanche, le groupe 5 (Dexa + Fe + Calcidose) a présenté une dégradation aggravée. Ce résultat peut être interprété selon les principes exposés par **(Puntarulo, 2005)**, où l'apport de fer exogène, en présence de stress oxydatif, stimule la « réaction de Fenton », exacerbant ainsi la formation de radicaux hydroxyles toxiques, ce qui explique les signes de fibrose et d'hémorragie observés.

Concernant le groupe 6 (HAP + Vit D), notre observation d'une restauration quasi complète concorde avec les recherches de **(Zhang et al., 2019)** sur le rôle cytoprotecteur de l'hydroxyapatite et de la vitamine D, qui agissent en renforçant les barrières cellulaires et en modulant positivement la réponse inflammatoire.

Quant à l'effet observé dans le groupe 7 (Dexa + IHAT-SeNPs-Cs-TPP) — malgré sa sévérité — il nous rappelle les mises en garde de **(Hosnedlova et al., 2018)** concernant la toxicité dose-dépendante des nanoparticules de sélénium. Une surcharge ou une accumulation locale de ce composé complexe peut induire des dommages oxydatifs inverses au lieu de les réduire, ce qui explique l'hémorragie observée ici.

Enfin, le succès du groupe 8 (Dexa + Comp) constitue l'aboutissement de cette étude ; cette restauration complète de l'architecture hépatique confirme la validité de l'approche de **(Valko et al., 2007)**, qui préconise des thérapies combinées « multi-cibles » pour contrer le stress oxydatif complexe induit par les traitements prolongés aux corticostéroïdes. La synergie entre les composants minéraux et nanotechnologiques dans la formulation du groupe 8 permet non seulement de neutraliser les radicaux libres, mais aide également à rétablir l'équilibre vasculaire.

Conclusion

Conclusion

Générale L'utilisation prolongée des corticostéroïdes, malgré leur efficacité thérapeutique incontestable, demeure associée à de nombreuses complications systémiques, parmi lesquelles l'ostéoporose et l'anémie figurent parmi les plus fréquentes et les plus invalidantes. Ces deux pathologies partagent plusieurs mécanismes physiopathologiques impliquant des perturbations du métabolisme osseux, de l'hématopoïèse et du stress oxydatif, ce qui justifie le développement d'approches préventives capables de les cibler simultanément.

Dans ce contexte, le présent travail a permis de concevoir et d'évaluer une stratégie nanotechnologique innovante reposant sur l'association de deux systèmes complémentaires administrés par voie orale : un nanocomposite à base d'IHAT et de nanoparticules de sélénium encapsulés dans une matrice de chitosane réticulée par le TPP (IHAT/SeNPs@CS-TPP), destiné à prévenir l'anémie et le stress oxydatif, ainsi qu'un système constitué d'hydroxyapatite nanométrique associée à la vitamine D (HAp/Vit D), destiné à soutenir la santé osseuse. Les différentes analyses physicochimiques réalisées par UV-Visible, FTIR et DRX ont confirmé la synthèse et la stabilité des nanomatériaux élaborés, ainsi que l'intégration réussie des différents constituants au sein des formulations développées.

Les résultats ont également mis en évidence des caractéristiques structurales favorables pouvant contribuer à améliorer leur biodisponibilité et leur activité biologique. L'évaluation biologique réalisée sur un modèle murin d'ostéoporose et d'anémie induites par la dexaméthasone a démontré l'efficacité du traitement combiné.

Les résultats hématologiques et biochimiques ont révélé une amélioration significative des paramètres altérés par la corticothérapie, tandis que les analyses histologiques ont montré une préservation remarquable de l'architecture osseuse et hépatique chez les animaux ayant reçu la combinaison des deux nanosystèmes. Ces effets protecteurs apparaissent supérieurs à ceux observés avec les traitements conventionnels utilisés comme références.

Ainsi, les résultats obtenus confirment l'intérêt de l'approche nanotechnologique combinée développée dans cette étude. L'association des propriétés antioxydantes des nanoparticules de sélénium, de la biodisponibilité élevée de l'IHAT, du potentiel ostéogénique de l'hydroxyapatite nanométrique, du rôle essentiel de la vitamine D et des capacités de vectorisation du chitosane a permis d'obtenir une action synergique particulièrement prometteuse. En perspective, des études complémentaires portant sur la toxicité à long terme, les mécanismes moléculaires impliqués, les paramètres pharmacocinétiques ainsi que l'optimisation galénique de ces formulations seraient nécessaires avant toute application clinique.

Conclusion

Néanmoins, cette stratégie représente une voie innovante et prometteuse pour la prévention des complications chroniques associées à la corticothérapie prolongée et ouvre de nouvelles perspectives dans le domaine de la nanomédecine préventive.

Liste bibliographique :

Liste bibliographique :

1. Articles scientifiques

- Aggeletopoulou, I., Kalafateli, M., Geramoutsos, G., & Triantos, C. (2024). Progrès récents dans l'utilisation de nanotransporteurs organiques de la vitamine D pour la délivrance de médicaments. *Biomolecules*, 14(9), 1090. <https://doi.org/10.3390/biom14091090>
- Akrout, A., et al. (2001). Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris*. *Flavour and Fragrance Journal*, 16(5), 337–339.
- Al-Darwesh, M. Y., Manai, M., Chebbi, H., & Klein, A. (2025). Green synthesis of chitosan-coated selenium nanoparticles for paclitaxel delivery. *Nanomaterials*, 15(16), 1276. <https://doi.org/10.3390/nano15161276>
- Almeida, M., Han, L., Martin-Millan, M., O'Brien, C. A., & Manolagas, S. C. (2007). Oxidative stress antagonizes Wnt signaling in osteoblast precursors by diverting β -catenin from T cell factor- to Forkhead box O-mediated transcription. *Journal of Biological Chemistry*, 282(37), 27298–27305. <https://doi.org/10.1074/jbc.m702811200>
- Al-Mosawi, R. H., & Alebadi, N. A. M. (2023). Utilisation des corticostéroïdes comme agents thérapeutiques dans les maladies. *Medical Journal of Babylon*, 20, 447–450.
- Andrews, R. C., & Walker, B. R. (1999). Glucocorticoids and insulin resistance: Old hormones, new targets. *Clinical Science*, 96(5), 513–523. <https://doi.org/10.1042/cs0960513>
- Aranaz, I., Mengibar, M., Harris, R., Panos, I., Miralles, B., Acosta, N., Galed, G., & Heras, A. (2009). Functional characterization of chitin and chitosan. *Current Chemical Biology*, 3(2), 203–230. <https://doi.org/10.2174/187231309788166415>
- Auerbach, M., & Adamson, J. W. (2015). How we diagnose and treat iron deficiency anemia. *American Journal of Hematology*, 91(1), 31–38. <https://doi.org/10.1002/ajh.24201>
- Badary, O. A., et al. (2022). Glucocorticoid-induced osteoporosis: Role of RANKL/RANK/OPG pathway and therapeutic potential of vitamin D. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 224, 106168.
- Bayram, N., Dikmen, S., & Malkoç, S. (2024). Effet de différentes températures de calcination sur des hydroxyapatites synthétisées à partir de déchets de coquilles d'œufs. *Eskişehir Technical University Journal of Science and Technology A - Applied Sciences and Engineering*, 25(4), 590–601. <https://doi.org/10.18038/estubtda.1539308>
- Bouillon, R., Marcocci, C., Carmeliet, G., Bikle, D., White, J. H., Dawson-Hughes, B., Lips, P., Munns, C. F., Lazaretti-Castro, M., Giustina, A., & Bilezikian, J. (2018). Skeletal and extraskeletal actions of vitamin D: Current evidence and outstanding questions. *Endocrine Reviews*, 40(4), 1109–1151. <https://doi.org/10.1210/er.2018-00126>
- Brown, J. P. (2021). Traitement à long terme de l'ostéoporose postménopausique. *Endocrinology and Metabolism*, 36(3), 544–552. <https://doi.org/10.3803/enm.2021.301>
- Cain, D. W., & Cidlowski, J. A. (2017). Immune regulation by glucocorticoids. *Nature Reviews Immunology*, 17(4), 233–247. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.1>

- Campos, J. M., et al. (2019). Hydroxyapatite scaffolds for bone regeneration: A review of recent advances. *Materials Science and Engineering: C*, 105, 110048.
- Canalis, E., Mazziotti, G., Giustina, A., & Bilezikian, J. P. (2007). Glucocorticoid-induced osteoporosis: Pathophysiology and therapy. *Osteoporosis International*, 18(10), 1319–1328. <https://doi.org/10.1007/s00198-007-0394-0>
- Carvalho, P. M., Felício, M. R., Santos, N. C., Gonçalves, S., & Domingues, M. M. (2018). Application des techniques de diffusion de la lumière à la caractérisation et au développement des nanoparticules. *Frontiers in Chemistry*, 6, 237. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00237>
- Casado-Díaz, A., et al. (2013). Dexamethasone induces adipogenesis in mesenchymal stem cells through activation of glucocorticoid receptors. *Journal of Cellular Biochemistry*, 114(12), 2751–2760.
- Chaichit, S., Sato, T., Yu, H., Tanaka, Y., Ogra, Y., Mizoguchi, T., & Itoh, M. (2021). Évaluation de l'ostéoporose induite par la dexaméthasone in vivo à l'aide d'écaillés de poisson zèbre. *Pharmaceuticals*, 14(6), 536. <https://doi.org/10.3390/ph14060536>
- Chen, Y.-J., Jia, L.-H., Han, T.-H., Zhao, Z.-H., Yang, J., Xiao, J.-P., Yang, H.-J., & Yang, K. (2024). Traitement de l'ostéoporose : médicaments actuels et développements futurs. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1456796. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1456796>
- Clore, J. N., & Thurby-Hay, L. (2009). Glucocorticoid-induced hyperglycemia. *Endocrine Practice*, 15(5), 469–474. <https://doi.org/10.4158/ep08331.rar>
- Compston, J. (2018). Glucocorticoid-induced osteoporosis: An update. *Endocrine*, 61(1), 7–16. <https://doi.org/10.1007/s12020-018-1588-2>
- Costantini, D., Marasco, V., & Møller, A. P. (2011). A meta-analysis of glucocorticoids as modulators of oxidative stress in vertebrates. *Journal of Comparative Physiology B*, 181(4), 447–456. <https://doi.org/10.1007/s00360-011-0566-2>
- Crockett, J., & Das. (2013). L'ostéoporose – Une vue actuelle de la prévention et du traitement pharmacologiques. *Drug Design, Development and Therapy*, 7, 435–448. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S31504>
- Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R., & Chiellini, E. (2011). Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 36(8), 981–1014. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.02.001>
- Davidson, M. R. (2003). Pharmacothérapeutique pour la prévention et le traitement de l'ostéoporose. *Journal of Midwifery & Women's Health*, 48(1), 39–52. [https://doi.org/10.1016/S1526-9523\(02\)00359-8](https://doi.org/10.1016/S1526-9523(02)00359-8)
- Dissanayake, R. K., Perera, K. D. C., Perera, W. P. T. D., Wijesinghe, W. P. S. L., & Unagolla, J. M. (2021). Enteric coated oral delivery of hydroxyapatite nanoparticle for modified release vitamin D3 formulation. *Journal of Nanomaterials*, 2021, 9972475.
- Dodonova, S. A., Zhidkova, E. M., Kryukov, A. A., Valiev, T. T., Kulikov, E. P., Yakubovskaya, M. G., & Lesovaya, E. A. (2025). Effets secondaires des glucocorticoïdes : modèles in vivo et mécanismes sous-jacents. *Discover Oncology*, 2, 212.
- Dorozhkin, S. V. (2009). Bioceramics of calcium orthophosphates. *Biomaterials*, 31(7),

- 1465–1485. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.11.050>
- Effects of different doses of dexamethasone on bone qualities in rats.* (2011). PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21936372/>
- Elghareeb, M. M., Elshopakey, G. E., Elkhooley, T. A., Salama, B., Samy, A., Bazer, F. W., Elmetwally, M. A., Almutairi, M. H., & Rezk, S. (2022). Estradiol et hydroxyapatite nanométrique dopée au zinc comme agents thérapeutiques dans la prévention de l'ostéoporose : statut du stress oxydatif, inflammation, remodelage osseux, densité minérale osseuse et altérations histologiques chez des rats ovariectomisés. *Frontiers in Physiology*, 13, 989487. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.989487>
- El-Kady, M. M., Bastawy, N., Amin, M., Elmorsy, S., Shaker, O., Mostafa, A., Nadwa, E. H., & Abdel-Rahman, M. (2025). La prise fractionnée quotidienne de fer oral améliore la correction de l'anémie ferriprive chez les rats. *Anemia*, 2025(1), 9976840. <https://doi.org/10.1155/anem/9976840>
- Fardsadegh, B., Vaghari, H., Mohammad-Jafari, R., et al. (2019). Biosynthesis, characterization and antimicrobial activities of selenium nanoparticles. *Microbial Pathogenesis*, 129, 211–217.
- Gadow, R., Killinger, A., & Stiegler, N. (2010). Hydroxyapatite coatings for biomedical applications deposited by different thermal spray techniques. *Surface and Coatings Technology*, 205(4), 1157–1164. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2010.03.059>
- Ganz, T., & Nemeth, E. (2010). Hepcidin and disorders of iron metabolism. *Annual Review of Medicine*, 62, 347–360. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-050109-142444>
- Geer, E. B., Islam, J., & Buettner, C. (2014). Mechanisms of glucocorticoid-induced insulin resistance. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 43(1), 75–102. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2013.10.005>
- Ginzburg, Y., An, X., Rivella, S., & Goldfarb, A. (2023). Communication normale et dérégulée entre le métabolisme du fer et l'érythropoïèse. *eLife*, 12. <https://doi.org/10.7554/eLife.90189>
- Gisbert-Garzarán, M., & Vallet-Regí, M. (2022). Nanoparticules pour applications biomédicales. *Nanomaterials*, 12(7), 1189. <https://doi.org/10.3390/nano12071189>
- Harish, V., Tewari, D., Gaur, M., Yadav, A. B., Swaroop, S., Bechelany, M., & Barhoum, A. (2022). Revue sur les nanoparticules et matériaux nanostructurés : bio-imagerie, biosenseurs, délivrance de médicaments, ingénierie tissulaire, antimicrobien et applications agroalimentaires. *Nanomaterials*, 12(3), 457. <https://doi.org/10.3390/nano12030457>
- Hassan, H. M., Guo, H., Yousef, B. A., et al. (2017). Dexamethasone pretreatment alleviates hepatotoxicity via inhibition of oxidative stress. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 133. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00133>
- Hiemstra, T. (2013). Surface and mineral structure of ferrihydrite. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 105, 316–325.
- Hofbauer, L. C., Compston, J. E., Saag, K. G., Rauner, M., & Tsoordi, E. (2025). Ostéoporose induite par les glucocorticoïdes : nouveaux concepts et implications cliniques. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 13(11), 964–979. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(25\)00251-8](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(25)00251-8)
- Hoffmann, P. R., et al. (2007). The selenium–vitamin E–GPx axis in immune function and

- oxidative stress. *Annual Review of Nutrition*, 27, 205-226.
- Holick, M. F. (2007). Vitamin D deficiency. *New England Journal of Medicine*, 357, 266–281. <https://doi.org/10.1056/nejmra070553>
- Hosnedlova, B., Fernandez, C., Bjørklund, G., Sochor, J., Wang, J., & Cupka, P. (2018). Nanodrugs and selenium toxicity: Dose-response analysis and oxidative stress modulation. *Nanotechnology Reviews*, 7(5), 459-478.
- Hsu, C. H., Hsu, C. L., Langley, A., Wojcik, C., Iraganje, E., & Grygiel-Górniak, B. (2024). Ostéoporose induite par les glucocorticoïdes — du mécanisme moléculaire à la pratique clinique. *Drugs & Therapy Perspectives*, 40(8), 315–329. <https://doi.org/10.1007/s40267-024-01079-4>
- Huang, X., & El-Sayed, M. A. (2010). Nanoparticules d'or : propriétés optiques et applications en diagnostic du cancer et thérapie photothermique. *Journal of Advanced Research*, 1(1), 13–28. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2010.02.002>
- Husen, A., & Siddiqi, K. S. (2014). Phytosynthesis of nanoparticles: Concept, controversy and application. *Nanoscale Research Letters*, 9(1), 229. <https://doi.org/10.1186/1556-276x-9-229>
- Ibrahiem, S. A., Reda, F. M., Abd-ElAzeem, E. M., Hashem, M. S., & Ammar, H. A. (2025). Mycosynthesis of chitosan-selenium nanocomposite and its activity as an insecticide against the cotton leafworm *Spodoptera littoralis*. *Scientific Reports*, 15(1), 1012.
- Iolascon, A., Andolfo, I., Russo, R., Sanchez, M., Busti, F., Swinkels, D., Martinez, P. A., Bou-Fakhredin, R., Muckenthaler, M. U., Unal, S., Porto, G., Ganz, T., Kattamis, A., De Franceschi, L., Cappellini, M. D., Munro, M. G., & Taher, A. (2024). Recommandations pour le diagnostic, le traitement et la prévention de la carence en fer et de l'anémie ferriprive. *HemaSphere*, 8(7), e108. <https://doi.org/10.1002/hem3.108>
- Iuchi, S., et al. (2007). Multiple loss-of-function of Arabidopsis gibberellin receptor AtGID1s. *The Plant Journal*, 50(6), 958–966. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313x.2007.03098.x>
- Jha, S. S. (2023). Ostéoporose induite par les glucocorticoïdes (GIOP). *Indian Journal of Orthopaedics*, 57(Suppl. 1), 181–191. <https://doi.org/10.1007/s43465-023-01037-8>
- Joudeh, N., & Linke, D. (2022). Classification des nanoparticules, propriétés physicochimiques, caractérisation et applications : une revue complète pour biologistes. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1), 262. <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01477-8>
- Khan, I., Khan, I., Saeed, K., Khan, I., & Khan, I. (2017). Nanoparticules : propriétés, applications et toxicités. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 908–931. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
- Kim, S., Yoo, D., Min, C., & Choi, H. (2021). Association entre ostéoporose et faibles taux d'hémoglobine : étude cas-témoins nichée. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(16), 8598. <https://doi.org/10.3390/ijerph18168598>
- Klein, G. L. (2015). Effet des glucocorticoïdes sur l'os et le muscle. *Osteoporosis and Sarcopenia*, 1(1), 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.afos.2015.07.008>
- Kobza, A. O., Herman, D., Papaioannou, A., Lau, A. N., & Adachi, J. D. (2021). Comprendre et gérer l'ostéoporose induite par les corticostéroïdes. *Open Access Rheumatology*:

- Research and Reviews*, 13, 177–190. <https://doi.org/10.2147/OARRR.S282606>
- Kohen, R., & Nyska, A. (2002). Oxidative stress phenomena and redox reactions. *Toxicologic Pathology*, 30(6), 620–650. <https://doi.org/10.1080/01926230290166724>
- Kolarš, B., Jovin, V. M., Živanović, N., Minaković, I., Gvozdenović, N., Kokeza, I. D., & Lesjak, M. (2025). Carence en fer et anémie ferriprive : aperçu complet des concepts établis et émergents. *Pharmaceuticals*, 18(8), 1104. <https://doi.org/10.3390/ph18081104>
- Kulik-Rechberger, B., & Dubel, M. (2024). Carence en fer, anémie ferriprive et anémie inflammatoire – aperçu général. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 31(1), 151–157. <https://doi.org/10.26444/aaem/171121>
- Kumari, A., Yadav, S. K., & Yadav, S. C. (2009). Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75(1), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.09.001>
- Lanna, C. M. M., Montenegro, R. M., Jr., & Paula, F. J. A. (2003). Physiopathologie de l'ostéoporose induite par les glucocorticoïdes. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 47(1), 9–18. <https://doi.org/10.1590/S0004-27302003000100004>
- Leah, E. (2013). Reprogrammation métabolique des cellules T dans la PR. *Nature Reviews Rheumatology*, 9(11), 635. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2013.158>
- Lee, K. I., Chen, J., & Chen, K. (2026). Ostéoporose après la ménopause et après un traitement médicamenteux : mécanisme moléculaire de la perte osseuse et son traitement. *International Journal of Molecular Sciences*, 27(2), 641. <https://doi.org/10.3390/ijms27020641>
- LeGeros, R. Z. (2008). Calcium phosphate-based osteoinductive materials. *Chemical Reviews*, 108(11), 4742–4753. <https://doi.org/10.1021/cr800427g>
- Li, J., Wang, S., & Li, Z. (2018). Chitosan-coated nanoparticles: Challenges in biocompatibility, cellular interaction, and toxicological implications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 1145–1158.
- Li, X., Hu, X., Tian, G. G., Cheng, P., Li, Z., Zhu, M., Zhou, H., & Wu, J. (2019). C89 induit l'autophagie des cellules souches germinales féminines via l'inhibition de la voie PI3K-Akt in vitro. *Cells*, 8(6), 606. <https://doi.org/10.3390/cells8060606>
- Li, X., Li, Y., & Li, M. (2015). Calcium homeostasis and its role in protecting hepatocytes against glucocorticoid-induced stress. *Journal of Cellular Physiology*, 230(9), 2150–2162.
- Lockett, J., Inder, W. J., & Clifton, V. L. (2024). Le récepteur des glucocorticoïdes : isoformes, fonctions et contribution à la sensibilité aux glucocorticoïdes. *Endocrine Reviews*, 45(4), 593–632. <https://doi.org/10.1210/endrev/bnae008>
- Louie, D. A. P., & Liao, S. (2019). Les macrophages du sinus sous-capsulaire des ganglions lymphatiques comme première ligne de défense immunitaire lymphatique. *Frontiers in Immunology*, 10, 347. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00347>
- Luo, Y., et al. (2015). Chitosan-based nanoparticles for controlled release of iron: Preparation and characterization. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 1235–1245.
- Mansour, G. K., Hajjar, A. W., & Sajid, M. R. (2025). Ciblage thérapeutique de l'axe hepcidine-ferroportine et des modulateurs érythropoïétiques : revue narrative.

- Frontiers in Medicine*, 12, 1726337. <https://doi.org/10.3389/fmed.2025.1726337>
- Marković, M., Fowler, B. O., & Tung, M. S. (2004). Preparation and comprehensive characterization of a calcium hydroxyapatite reference material. *Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology*, 109(6), 553–568.
- Matsuoka, T., Abe, M., & Kobayashi, H. (2024). Métabolisme du fer et médiateurs inflammatoires chez les patients atteints de dysfonction rénale. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(7), 3745. <https://doi.org/10.3390/ijms25073745>
- Mohd Pu'ad, N. A. S., Koshy, P., Abdullah, H. Z., Idris, M. I., & Lee, T. C. (2019). Syntheses of hydroxyapatite from natural sources. *Materials Today: Proceedings*, 16, 1119–1125.
- Mureșan, C. G., Mirica, I. C., Forray, A., Petrescu, N., Soritau, O., Gherman, L.-M., Iusan, S. A. L., Vanea, E., Oprita, E., Condor, A., Aluas, M., Miha, C. M., Boșca, B. A., Mocan, L. P., Onofrei, M. M., Pop, R. M., Andone, B.-A., Barbu-Tudoran, L., Boca, S., & Hedesiu, M. (2026). Nanostructures de chitosane chargées en vitamine D pour la régénération osseuse : évaluation in vitro et in vivo dans un modèle de rat ostéoporotique. *Medicina*, 62(1), 73. <https://doi.org/10.3390/medicina62010073>
- Nehar, K. N., Bakal, R. L., Hatwar, P. R., Gawai, A. Y., & Diwnale, S. S. (2024). Anémie ferriprive : étiologie, physiopathologie, diagnostic et approches thérapeutiques. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 14(11), 185–199. <https://doi.org/10.22270/jddt.v14i11.6899>
- Nemeth, E., et al. (2004). Heparidin regulates cellular iron efflux. *Science*, 306(5704), 2090–2093. <https://doi.org/10.1126/science.1104742>
- Noor, Z. (2013). Application de la nanohydroxyapatite dans la prise en charge de l'ostéoporose. *International Journal of Biomaterials*, 2013, 679025. <https://doi.org/10.1155/2013/679025>
- Paccou, J., Yavropoulou, M. P., Naci, A. M., Chandran, M., Messina, O. D., Rolvien, T., Carey, J. J., D'Oronzo, S., Anastasilakis, A. D., Saag, K. G., & Lems, W. F. (2024). Prévention et traitement de l'ostéoporose induite par les glucocorticoïdes chez l'adulte : recommandations de la Société européenne du tissu calcifié. *European Journal of Endocrinology*, 191(6), G1–G17. <https://doi.org/10.1093/ejendo/lvae146>
- Pagani, A., Nai, A., Silvestri, L., & Camaschella, C. (2019). Heparidine et anémie : une relation étroite. *Frontiers in Physiology*, 10, 1294. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01294>
- Patel, M. (2022). Revue sur les nanoparticules : stratégies de formulation, caractérisation et applications thérapeutiques. *Nanomedicine & Nanotechnology Open Access*, 7(1). <https://doi.org/10.23880/nnoa-16000216>
- Pereira, D. I. A., Bruggaber, S. F., Faria, N., Poots, L. K., Tagmount, M. A., Aslam, M. F., Frazer, D. M., Vulpe, C. D., Anderson, G. J., & Powell, J. J. (2014). L'oxyhydroxyde de fer(III) nanoparticulaire délivre du fer sûr, bien absorbé et utilisé chez l'humain. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 10(8), 1877–1886. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2014.06.012>
- Pereira, R. M. R., De Carvalho, J. F., & Canalis, E. (2010). Ostéoporose induite par les glucocorticoïdes dans les maladies rhumatismales. *Clinics*, 65(11), 1197–1205. <https://doi.org/10.1590/S1807-59322010001100024>

- Powell, J. J., Bruggraber, S. F. A., Faria, N., Poots, L. K., Hondow, N., Pennycook, T. J., Latunde-Dada, G. O., Simpson, R. J., Brown, A. P., & Pereira, D. I. A. (2014). A nano-disperse ferritin-core mimetic that efficiently corrects anemia without luminal iron redox activity. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 10(7), 1529–1538. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2013.12.011>
- Puntarulo, S. (2005). Iron, oxidative stress and human health: The mechanism of the Fenton reaction in cellular injury. *Molecular Aspects of Medicine*, 26(4-5), 299-312.
- Qiao, X., Yang, Y., Zhao, Y., Wu, X., Zhang, L., Cai, X., Ji, J., Boström, K. I., & Yao, Y. (2023). L'kinase Aurora A régule les transitions cellulaires dans la perte osseuse induite par les glucocorticoïdes. *Cells*, 12(20), 2434. <https://doi.org/10.3390/cells12202434>
- Rahman, A., & Haider, M. F. (2024). Revue complète sur l'ostéoporose induite par les glucocorticoïdes : une maladie induite par les médicaments. *Steroids*, 207, 109440. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2024.109440>
- Rayman, M. P. (2012). Selenium and human health. *The Lancet*, 379(9822), 1256–1268. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(11\)61452-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(11)61452-9)
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7), 603–632.
- Rivero-Buceta, S., Arroyo-Currás, N., Román, J. S., & Vallet-Regí, M. (2015). Hydroxyapatite-based nanomaterials from natural sources for biomedical applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 26, 1–10.
- Sang Gyune, S. (2025). Ostéoporose induite par les stéroïdes : causes, mécanismes, risques, diagnostic, traitement et prévention. *Journal of Osteoporosis and Physical Activity*, 13(2), 451. <https://doi.org/10.35841/2329-9509.25.13.451>
- Schacke, H. (2002). Mécanismes impliqués dans les effets secondaires des glucocorticoïdes. *Pharmacology & Therapeutics*, 96(1), 23–43. [https://doi.org/10.1016/S0163-7258\(02\)00297-8](https://doi.org/10.1016/S0163-7258(02)00297-8)
- Schakman, O., et al. (2013). Glucocorticoid-induced skeletal muscle atrophy. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 45(10), 2163–2172.
- Schakman, O., Gilson, H., Kalista, S., & Thissen, J. P. (2008). Glucocorticoid-induced skeletal muscle atrophy and hepatic metabolic stress. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 40(10), 2163-2172.
- Seal, S. V., & Turner, J. D. (2021). Le « Jekyll et Hyde » de la néoglucogenèse : adversité précoce et stress ultérieur, et troubles métaboliques. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3344. <https://doi.org/10.3390/ijms22073344>
- Sebastià, N., Olivares-González, L., Montoro, A., Barquinero, J., Canyada-Martinez, A. J., Hervás, D., Gras, P., Villaescusa, J. I., Martí-Bonmatí, L., Muresan, B. T., Soriano, J. M., Campayo, J. M., Andani, J., Alonso, O., & Rodrigo, R. (2020). Statut redox, dose et apport en antioxydants chez les travailleurs de la santé exposés professionnellement aux rayonnements ionisants. *Antioxidants*, 9(9), 778. <https://doi.org/10.3390/antiox9090778>
- Short, M. W., & Domagalski, J. E. (2013). Anémie ferriprive : évaluation et prise en charge. *American Family Physician*, 87(2), 98–104.
- Sies, H. (2015). Oxidative stress concept. *Redox Biology*, 4, 180–183.

- <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.002>
- Singh, R., Kumar, R., Kumar, P., & Singh, D. (2016). Synthesis and characterization of hydroxyapatite from eggshell-derived precursors. *Materials Letters*, 162, 198–201.
- Stellacci, E., Di Noia, A., Di Baldassarre, A., Migliaccio, G., Battistini, A., & Migliaccio, A. R. (2009). Interaction entre les récepteurs des glucocorticoïdes et de l'érythropoïétine dans les cellules érythroïdes humaines. *Experimental Hematology*, 37(5), 559–572. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2009.02.005>
- Strehl, C., et al. (2019). Glucocorticoids and immune system. *Frontiers in Immunology*, 10, 1744. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01744>
- Suhas, K. S., Reddy, V. K., Reddy, T., & Pai, Y. (2025). Revue complète sur les nanoparticules : classification, propriétés et effets mécaniques. *Discover Materials*, 6(1). <https://doi.org/10.1007/s43939-025-00455-9>
- Suprapti, E., Hadju, V., Ibrahim, E., Indriasari, R., Erika, K. A., & Balqis, B. (2025). Anémie : étiologie, physiopathologie, impact et prévention : une revue. *Iranian Journal of Public Health*, 54(3), 509–520.
- Surekha, B., Misra, P., Thippaiah, A. C., Shamanna, B. R., Madathil, A., & Rajadurai, M. (2024). Patch transdermique à microneedles chargé en nanoparticules de fer(II) pour une délivrance non invasive et prolongée contre l'anémie. *RSC Advances*.
- Tamez-Pérez, H. E. (2015). Steroid hyperglycemia. *World Journal of Diabetes*, 6(8), 1073. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i8.1073>
- Valko, M., et al. (2006). Free radicals and antioxidants. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 44–84.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease: The multi-target therapeutic approach. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- Vallina, B., Rodriguez-Blanco, J. D., Brown, A. P., et al. (2014). Enhanced magnetic coercivity of α -Fe₂O₃ obtained from carbonated 2-line ferrihydrite. *Hyperfine Interactions*, 226, 65–70.
- Wang, L., Chen, L., & Chen, K. (2023). Ostéoporose hormonale et médicamenteuse : aperçu cellulaire et moléculaire. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), 5814. <https://doi.org/10.3390/ijms24065814>
- Weinstein, R. S. (2011). Glucocorticoid-induced bone disease. *New England Journal of Medicine*, 365(1), 62–70.
- Weinstein, R. S., et al. (2002). Glucocorticoid-induced osteocyte apoptosis: Mechanisms and implications for bone health. *Journal of Clinical Investigation*, 109(6), 739-748.
- Weiss, G., & Goodnough, L. T. (2005). Anemia of chronic disease. *New England Journal of Medicine*, 352, 1011–1023.
- Xavier, A., Toumi, H., & Lespessailles, E. (2021). Modèle animal pour l'ostéoporose induite par les glucocorticoïdes : revue systématique de 2011 à 2021. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 377. <https://doi.org/10.3390/ijms23010377>
- Yameny, A. A. (2024). Revue complète sur les nanoparticules : définition, préparation, caractérisation, types et applications médicales. *Journal of Medical and Life Science*, 6(4), 663–672. <https://doi.org/10.21608/jmals.2024.419629>

- Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources: Structure, properties and applications. *Marine Drugs*, 13(3), 1133–1174. <https://doi.org/10.3390/md13031133>
- Yusefi-Tanha, E., Fallah, S., Rostamnejadi, A., & Pokhrel, L. R. (2020). Root system architecture, copper uptake and tissue distribution in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) grown in copper oxide nanoparticle (CuONP)-amended soil and implications for human nutrition. *Plants*, 9(10), 1326. <https://doi.org/10.3390/plants9101326>
- Yusuf, A., Almotaury, A. R. Z., Henidi, H., Alshehri, O. Y., & Aldughaim, M. S. (2023). Les nanoparticules comme systèmes de délivrance de médicaments : revue de l'implication des propriétés physicochimiques des nanoparticules sur les réponses biologiques. *Polymers*, 15(7), 1596. <https://doi.org/10.3390/polym15071596>
- Zaffarin, A. S. M., Ng, S.-F., Ng, M. H., Hassan, H., & Alias, E. (2021). La nano-hydroxyapatite comme système de délivrance pour la régénération osseuse in vivo : revue systématique. *Nanomaterials*, 11(10), 2569. <https://doi.org/10.3390/nano11102569>
- Zhang, Y., Wang, X., & Liu, H. (2019). Hydroxyapatite and vitamin D: A synergistic role in mineral homeostasis and hepatoprotection. *Journal of Hepatology Research*, 45(2), 180-195.
- Zhang, Z., et al. (2018). Iron overload-induced oxidative stress and bone loss: Role of Fenton reaction in the bone marrow microenvironment. *Free Radical Biology and Medicine*, 126, 178-189.
- Zhou, J., et al. (2016). Selenium protects against glucocorticoid-induced osteoporosis by activating GPx and inhibiting oxidative stress. *Bone*, 85, 41-49.
- 2. Chapitres d'ouvrage / Livres**
- Lambert, J.-F., & Beris, P. (2009). Physiopathologie et diagnostic différentiel de l'anémie. Dans *The handbook 2009 edition* (pp. 108–141). European School of Haematology.
- Nakamoto, K. (2009). *Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds, part B: Applications in coordination, organometallic, and bioinorganic chemistry*. John Wiley & Sons.
- Pereira, D. I. A., Powell, J. J., & The University of Cambridge. (2017). *Methods for producing carboxylate ligand modified ferric iron hydroxides* (Patent No. WO2017060441A1). World Intellectual Property Organization (WIPO).
- 3. Thèses, mémoires et rapports institutionnels**
- Ben Amor, I. (2024). *Synthèse et caractérisation des nanoparticules métalliques par le chitosane* [Thèse de doctorat, Université Echahid Hamma Lakhdar El Oued, Algérie].
- EFSA Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA), Turck, D., Bohn, T., Castenmiller, J., De Henauw, S., Hirsch-Ernst, K. I., ... & Knutsen, H. K. (2021). Safety of iron hydroxide adipate tartrate as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283 and as a source of iron in the context of Directive 2002/46/EC. *EFSA Journal*, 19(12), e06935. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6935>
- European Food Safety Authority [EFSA]. (2022). *IHAT – Iron Hydroxide Adipate Tartrate: Lesson learned* [Présentation]. https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/2022-04/Presentation_Day2_IHAT_Lesson%20learned.pdf

Ouzaid, F. F. Z., & Rekiouk, S. (2018). *Les indications des corticoïdes en péri opératoire* [Mémoire de doctorat en pharmacie, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen].

4. Travaux de recherche / Manuscrits non publiés

Karunarathna, I., Gunasena, P., Aluthge, P., Perera, N., Gunathilake, S., De Alvis, K., Gunawardana, K., Rajapaksha, S., Rathnayak, B., Warnakulasooriya, A., Athulgama, P., Abeyek, M., Dius, S., Ranwala, R., Bandar, S., Godage, S., Senadeera, S., Wijepala, J., Rodrigo, P. N., & Hapuarachchi, T. M. B. (2025). *Corticostéroïdes : mécanismes, applications cliniques, surveillance et prise en charge*. UVA Clinical Anaesthesia and Intensive Care.

Kibuuka, R. S. (2024). *Nanomédecine et délivrance ciblée de médicaments : avancées et défis*. Faculty of Science and Technology, Kampala International University.

Martinez, G. J., Appleton, M., Kipp, Z. A., Loria, A. S., Min, B., & Hinds, T. D., Jr. (2024). *Glucocorticoïdes, leurs usages, dimorphismes sexuels et maladies : nouveaux concepts, mécanismes et découvertes* [Manuscrit non publié]. Department of Pharmacology and Nutritional Sciences, University of Kentucky.

Wang, R. (2025). *Stratégies pharmacologiques pour la gestion des maladies chroniques : tendances actuelles et orientations futures*. Vanke School of Public Health, Tsinghua University.

Annexes

PRESENTATION

R1 : 2 x 50 ml

R2 : 2 x 10 ml

Standard : 100 µg/dl

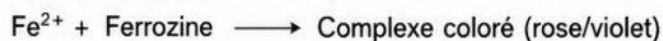
FER SÉRIQUE

Méthode colorimétrique

Ferrozine

PRINCIPE

Le fer libéré de la transferrine en milieu acide est réduit en fer ferreux (Fe^{2+}) qui forme un complexe coloré avec la ferrozine. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en fer.

**RÉACTIFS**

R1 : Solution tampon acétate (pH 4,5)

R2 : Ferrozine

Standard : Fer 100 µg/dl

PRÉLÈVEMENT

Sérum (sans hémolyse).

MODE OPÉRATOIRE

Longueur d'onde : 560 nm (540–570 nm)

Température : 20–25°C

Cuve : 1 cm d'épaisseur

Dans des tubes :

	Blanc	Standard	Échantillon
R1	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Standard (100 µg/dl)	–	20 µl	–
Échantillon	–	–	20 µl
R2	0,25 ml	0,25 ml	0,25 ml

Bien mélanger, laisser 10 min à T.A.

Lire l'absorbance contre le blanc.

CALCUL

$$\text{Fer sérique (µg/dl)} = \frac{\text{Abs. Échantillon}}{\text{Abs. Standard}} \times 100$$

Valeurs usuelles : Hommes : 60 – 170 µg/dl

Femmes : 50 – 150 µg/dl

REMARQUE

La stabilité des réactifs après ouverture et au travail : se référer à la notice du fabricant.
Les valeurs usuelles peuvent varier selon l'âge, le sexe et la méthode utilisée.

PRESENTATION

R1 : 2 x 50 ml

R2 : 2 x 12,5 ml

R1 + R2

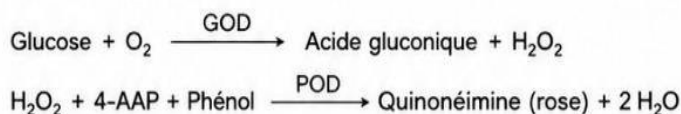
GLYCÉMIE À JEUN

Détermination cinétique

Méthode GOD-PAP

PRINCIPE

La glucose oxydase (GOD) oxyde le glucose en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène. En présence de peroxydase (POD), le peroxyde d'hydrogène réagit avec le 4-amino-antipyrine (4-AAP) et le phénol pour former un composé coloré. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en glucose.

**RÉACTIFS**

R1 : Tampon
Phénol
4-Amino-antipyrine
Enzymes (GOD, POD)

R2 : Glucose standard 100 mg/dl (5,55 mmol/l)

PRÉPARATION

Réactif de travail :

Mélanger : R1 4 volumes

R2 1 volume

PRÉLÈVEMENT

Sérum ou plasma fluoré (NaF).

MODE OPÉRATOIRE

Longueur d'onde : 505 nm (490–520 nm)

Température : 37°C

Cuve : 1 cm d'épaisseur

Dans des tubes :

	Blanc	Standard	Échantillon
Réactif de travail	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Standard	–	10 µl	–
Échantillon	–	–	10 µl

Bien mélanger, incubé 10 min à 37°C.

Lire l'absorbance contre le blanc.

CALCUL

$$\text{Glycémie (mg/dl)} = \frac{\text{Abs. Échantillon}}{\text{Abs. Standard}} \times 100$$

Valeurs usuelles à jeun : 70 – 100 mg/dl (3,9 – 5,6 mmol/l)

REMARQUE

La stabilité des réactifs après ouverture et au travail : se référer à la notice du fabricant.
Les valeurs usuelles peuvent varier selon l'âge, le sexe et la méthode utilisée.

PRESENTATION

R1 : 2 x 50 ml

R2 : 2 x 10 ml

Standard : 10 mg/dl

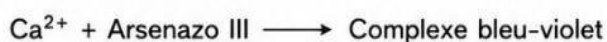
CALCIUM TOTAL

Méthode colorimétrique

Arsenazo III

PRINCIPE

Le calcium réagit avec l'Arsenazo III en milieu alcalin pour former un complexe coloré bleu-violet. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en calcium.

**RÉACTIFS**

R1 : Tampon alcalin

R2 : Arsenazo III

Standard : Calcium 10 mg/dl (2,5 mmol/l)

PRÉLÈVEMENT

Sérum ou plasma hépariné.

MODE OPÉRATOIRE

Longueur d'onde : 650 nm (620–660 nm)

Température : 20–25°C

Cuve : 1 cm d'épaisseur

Dans des tubes :

	Blanc	Standard	Échantillon
R1	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Standard (10 mg/dl)	–	10 µl	–
Échantillon	–	–	10 µl
R2	0,05 ml	0,05 ml	0,05 ml

Bien mélanger, laisser 5 min à T.A.

Lire l'absorbance contre le blanc.

CALCUL

$$\text{Calcium (mg/dl)} = \frac{\text{Abs. Échantillon}}{\text{Abs. Standard}} \times 10$$

Valeurs usuelles : 8,5 – 10,5 mg/dl (2,1 – 2,6 mmol/l)

REMARQUE

La stabilité des réactifs après ouverture et au travail : se référer à la notice du fabricant.

Les valeurs usuelles peuvent varier selon l'âge, le sexe et la méthode utilisée.

PRESENTATION

R1 : 1 x 50 ml

R2 : 1 x 10 ml

Standard : 50 mg/dl

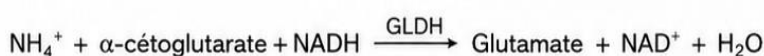
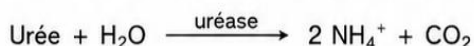
URÉE

Méthode enzymatique UV

Uréase – GLDH

PRINCIPE

L'urée est hydrolysée par l'uréase en ammoniac et dioxyde de carbone. L'ammoniac réagit avec le 2-oxoglutarate en présence de glutamate déshydrogénase (GLDH) pour former du glutamate et entraîner la réduction du NAD⁺ en NADH. L'augmentation de l'absorbance à 340 nm est proportionnelle à la concentration en urée.

**RÉACTIFS**

R1 : Tampon phosphate

R2 : Uréase, GLDH, α -cétoglutarate, NADH

Standard : Urée 50 mg/dl (8,3 mmol/l)

PRÉLÈVEMENT

Sérum ou plasma hépariné.

MODE OPÉRATOIRE

Longueur d'onde : 340 nm (340–365 nm)

Température : 37°C

Cuve : 1 cm d'épaisseur

Dans des tubes :

	Blanc	Standard	Échantillon
R1	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Standard (50 mg/dl)	–	10 μ l	–
Échantillon	–	–	10 μ l
R2	0,05 ml	0,05 ml	0,05 ml

Bien mélanger, incuber 5 min à 37°C.

Lire l'absorbance initiale (A₁) puis après 5 min (A₂) contre le blanc.**CALCUL**

$$\text{Urée (mg/dl)} = \frac{\text{Abs. Échantillon (A}_2 - \text{A}_1)}{\text{Abs. Standard (A}_2 - \text{A}_1)} \times 50$$

Valeurs usuelles : 15 – 45 mg/dl (2,5 – 7,5 mmol/l)

REMARQUE

La stabilité des réactifs après ouverture et au travail : se référer à la notice du fabricant.
Les valeurs usuelles peuvent varier selon l'âge, le sexe et la méthode utilisée.

PRESENTATION

R1 : 2 x 50 ml

R2 : 1 x 10 ml

Standard : 10 U/l

PAL

Méthode cinétique IFCC (pNPP)

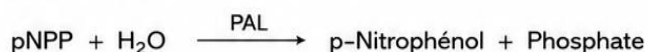
Phosphatase Alcaline

PRINCIPE

La phosphatase alcaline hydrolyse le p-nitrophénylphosphate (pNPP) en p-nitrophénol et phosphate dans un milieu alcalin.

Le p-nitrophénol libéré développe une couleur jaune en milieu alcalin.

L'augmentation de l'absorbance à 405 nm est proportionnelle à l'activité de la PAL.

**RÉACTIFS**

R1 : Tampon diéthanamine

R2 : p-Nitrophénylphosphate (pNPP)

Standard : p-Nitrophénol 10 U/l

PRÉLÈVEMENT

Sérum ou plasma hépariné.

MODE OPÉRATOIRE

Longueur d'onde : 405 nm (405–415 nm)

Température : 37°C

Cuve : 1 cm d'épaisseur

Dans des tubes :

	Blanc	Standard	Échantillon
R1	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Standard (10 U/l)	10 µl	10 µl	–
Échantillon	–	–	10 µl
R2	0,25 ml	0,25 ml	0,25 ml

Bien mélanger, incuber à 37°C pendant 1 min.

Lire l'absorbance initiale (A_1) puis après 3 min (A_2) contre le blanc.

CALCUL

$$\text{PAL (U/l)} = \frac{\text{Abs. Échantillon (} A_2 - A_1 \text{)}}{\text{Abs. Standard (} A_2 - A_1 \text{)}} \times 10$$

Valeurs usuelles : 40 – 130 U/l

(Enfants : 100 – 300 U/l)

(Nouveau-nés : 80 – 350 U/l)

REMARQUE

La stabilité des réactifs après ouverture et au travail : se référer à la notice du fabricant.
Les valeurs usuelles peuvent varier selon l'âge, le sexe et la méthode utilisée.

PRESENTATION

R1 : 2 × 50 ml

R2 : 2 × 12,5 ml

R1 + R2

ALAT (ALT)

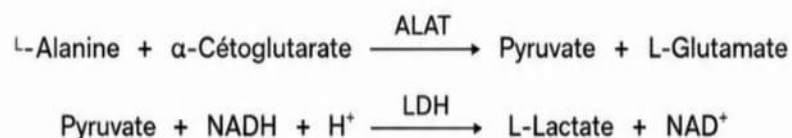
Détermination cinétique

Méthode IFCC

PRINCIPE

L'alanine aminotransférase (ALAT) catalyse le transfert du groupement aminé de l'alanine à l' α -cétooglutarate pour former le pyruvate et le glutamate.

Le pyruvate formé est ensuite réduit en lactate par la lactate déshydrogénase (LDH) en présence de NADH. La diminution de la concentration en NADH est proportionnelle à l'activité ALAT.

**RÉACTIFS**

R1 : Tampon

L-Alanine

 α -Cétooglutarate

NADH

R2 : Lactate déshydrogénase (LDH)

PRÉPARATION

Réactif de travail :

Mélanger : R1 4 volumes

R2 1 volume

PRÉLÈVEMENT

Sérum ou plasma.

MODE OPÉRATOIRE

Longueur d'onde : 340 nm (330–365 nm)

Température : 37°C

Cuve : 1 cm d'épaisseur

Dans des tubes :

	Blanc	Échantillon
Réactif de travail	1,0 ml	1,0 ml
Échantillon	–	100 μ l

Bien mélanger, incuber 1 min à 37°C.

Lire la diminution d'absorbance par minute ($\Delta A/\text{min}$).**CALCUL**ALAT (U/L) = $\Delta A/\text{min} \times 1746$

Valeurs usuelles à 37°C : < 40 U/L (à vérifier selon le laboratoire)

REMARQUE

La stabilité des réactifs après ouverture et au travail : se référer à la notice du fabricant.

Les valeurs usuelles peuvent varier selon l'âge, le sexe et la méthode utilisée.

PRESENTATION

R1 : 2 x 50 ml

R2 : 1 x 10 ml

Standard : 40 U/l

ASAT (AST)

Méthode cinétique UV

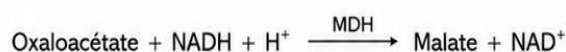
IFCC sans P-5-P

(Aspartate Aminotransférase)

PRINCIPE

L'ASAT catalyse le transfert du groupement aminé de l'aspartate à l' α -cétooglutarate pour former l'oxaloacétate et le glutamate. L'oxaloacétate est ensuite réduit en malate par la malate déshydrogénase (MDH) en présence de NADH.

La diminution de l'absorbance à 340 nm, due à l'oxydation du NADH en NAD^+ , est proportionnelle à l'activité ASAT dans l'échantillon.

**RÉACTIFS**

R1 : Tampon Tris, L-aspartate, MDH, LDH, NADH

R2 : α -cétooglutarate

Standard : Solution d'ASAT 40 U/l

PRÉLÈVEMENT

Sérum ou plasma hépariné.

MODE OPÉRATOIRE

Longueur d'onde : 340 nm (340–365 nm)

Température : 37°C

Cuve : 1 cm d'épaisseur

Dans des tubes :

	Blanc	Standard	Échantillon
R1	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Standard (40 U/l)	–	10 μ l	–
Échantillon	–	–	10 μ l
R2	0,25 ml	0,25 ml	0,25 ml

Bien mélanger et incuber 1 min à 37°C.

Lire l'absorbance initiale (A_1) puis après 1, 2 et 3 min (A_2 , A_3) contre le blanc.Calculer la différence de DO par minute : $\Delta A/\text{min} = (A_1 - A_3) / 2$ **CALCUL**

$$\text{ASAT (U/l)} = \frac{\Delta A/\text{min Échantillon}}{\Delta A/\text{min Standard}} \times 40$$

Valeurs usuelles : 10 – 40 U/l (Selon le sexe, l'âge et la méthode utilisée)

REMARQUE

La stabilité des réactifs après ouverture et au travail : se référer à la notice du fabricant.

Les valeurs usuelles peuvent varier selon l'âge, le sexe et la méthode utilisée.

PRESENTATION

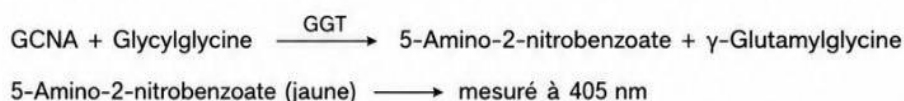
R1 : 2 × 50 ml
 R2 : 2 × 12,5 ml
 R1 + R2

GAMMA GT (GGT)

Méthode cinétique IFCC

 γ -Glutamylcarboxynitroanilide**PRINCIPE**

La GGT catalyse le transfert du groupement γ -glutamyl du substrat γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide (GCNA) vers la glycylglycine.
 Le 5-amino-2-nitrobenzoate (jaune) libéré est mesuré cinétiquement.

**RÉACTIFS**

R1 : Tampon TRIS, pH 8,25
 R2 : Substrat (GCNA) + Glycylglycine

PRÉLÈVEMENT

Sérum (sans hémolyse).

MODE OPÉRATOIRE

Longueur d'onde : 405 nm (400–420 nm)
 Température : 37°C
 Cuve : 1 cm d'épaisseur

Dans des tubes :

	Blanc	Échantillon
R1	1,0 ml	1,0 ml
Échantillon	–	50 μ l
R2	0,2 ml	0,2 ml

Bien mélanger, incuber 1 min à 37°C.

Lire l'absorbance chaque minute pendant 3 minutes.

$$\Delta A/\text{min} = (A_2 - A_1) / \text{temps (min)}$$

CALCUL

$$\text{GGT (U/l)} = \Delta A/\text{min} \times \text{Facteur}$$

Facteur : 1746 (à 405 nm)

Valeurs usuelles : Hommes : 10 – 71 U/l
 Femmes : 6 – 42 U/l

REMARQUE

La stabilité des réactifs après ouverture et au travail : se référer à la notice du fabricant.
 Les valeurs usuelles peuvent varier selon l'âge, le sexe et la méthode utilisée.