



N° d'ordre :
N° de série :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ECHAHID HAMMA LAKHDAR D'EL-OUED
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET
MOLECULAIRE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

**Etude de l'effet toxique des nanoparticules de l'oxyde de fer
sur quelques paramètres biologiques chez les lapins**

Présenté par :

OKBA Oum Elkheir et ROUISSI Raja Zohra

Soutenue le : 31 Mai 2015 devant le jury composé de:

Présidente	M ^{elle}	N. NADJI	M.A.B	Université d'El Oued
Promoteur	M ^{elle}	M. AOUIMEUR	M.A.A	Université d'El Oued
Examineur	Mr	S. DEROUCHE	M.A.A	Université d'El Oued

Année universitaire 2014/2015

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à:

A ceux qui m'ont soutenu, m'ont encouragé durant toute ma période d'étude, et pour leurs sacrifices consentis. A ceux qui ont toujours voulu que je sois le meilleur : A ma mère et mon père.

A mon frère : Mohamed El-habib.

A mes sœurs : Raja , Houda , Abir , Wafa et Meriem.

A mon fiancé : Taha.

A tous mes chers amis.

A tous les étudiants de la promotion master Biochimie 2015.

Oum Elkheir

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet : mon fiancé SAMIR.

A toutes mes sœurs: HANA, CHAIMA et ASMA.

A tous mes chers frères: ABDESSLAM, AYMEN et HICHAM.

A tous mes chers amis.

A tous les étudiants de ma promotion.

A ceux qui m'ont soutenu, m'ont encouragé durant toute ma période d'étude, et pour leurs sacrifices consentis.

Raja Zohra

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions **DIEU** le tout puissant de nous avoir accordé la force et le courage pour réaliser ce modeste travail, atteindre notre but et réaliser ainsi un rêve.

Nos vifs remerciements et notre profonde gratitude s'adressent à notre promoteur M^{elle} **AOUIMEUR Meriem**, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son dévouement, ses précieux conseils, ses encouragements, sa patience, sa disponibilité et sa gentillesse.

Merci aussi à la présidente du jury de soutenance M^{elle} **NADJI Nassima** et à l'examineur Mr **DEROUICHE Samir**, tous nos remerciements pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail.

Nos remerciements iront également aux personnels du laboratoire d'EPSP de Guemar et du laboratoire pédagogique de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie pour leur gentillesse et leur participation pendant la réalisation de ce travail.

Nous remercions aussi aux monsieur **HAMAD Brahim** et madame **ADAIKA Aicha** pour leur disponibilités et leur aide.

Nos vifs remerciements aussi à le directeur du laboratoire de CPB **BEN BORDI Yakoub** et le vétérinaire de Tiksebt **ZOUBAIDI Yacin** pour leur aide dans ce travail.

Nous remercions enfin tous ceux qui nous ont rendu service et qui ont contribué de près ou de loin pour accomplir ce travail.

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions **DIEU** le tout puissant de nous avoir accordé la force et le courage pour réaliser ce modeste travail, atteindre notre but et réaliser ainsi un rêve.

Nos vifs remerciements et notre profonde gratitude s'adressent à notre promoteur M^{elle} **AOUIMEUR Meriem**, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son dévouement, ses précieux conseils, ses encouragements, sa patience, sa disponibilité et sa gentillesse.

Merci aussi à la présidente du jury de soutenance M^{elle} **NADJI Nassima** et à l'examineur Mr **DEROUICHE Samir**, tous nos remerciements pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail.

Nos remerciements iront également aux personnels du laboratoire d'EPSP de Guemar et du laboratoire pédagogique de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie pour leur gentillesse et leur participation pendant la réalisation de ce travail.

Nous remercions aussi aux monsieur **HAMAD Brahim** et madame **ADAIKA Aicha** pour leur disponibilités et leur aide.

Nos vifs remerciements aussi à le directeur du laboratoire de CPB **BEN BORDI Yakoub** et le vétérinaire de Tiksebt **ZOUBAIDI Yacin** pour leur aide dans ce travail.

Nous remercions enfin tous ceux qui nous ont rendu service et qui ont contribué de près ou de loin pour accomplir ce travail.

Resumé

L'objectif principale de ce travail est l'étude de l'effet toxique des nanoparticules de l'oxyde de fer sur quelques paramètres biologiques chez les lapins. Notre étude a porté sur 15 lapins; 05 témoins et 10 pour l'expérience. La dose utilisée pour le traitement est de concentration de 75 µg/ml. La période d'étude est divisée en 02; période d'adaptation (20 jours) et période de traitement (14 jours), puis le sacrifice.

Notre étude est concernée par les analyses des paramètres biochimiques, le test de chimie des urines, le poids relatifs des organes (foies, reins, rates, cœurs et poumons) et les coupes histologiques de ces derniers.

Les paramètres biochimiques mesurés sont: glycémie, créatinine, CT, TG, US, TGO, TGP, fer et le FNS. Nous avons enregistrées une diminution significative pour la glycémie et une diminution très hautement significative pour les GR. Et pour le TG, créatinine et TGO on remarque une augmentation significative et une augmentation hautement significative pour l'US et TGP. Aussi on remarque une augmentation très hautement significative pour le fer et PLT. Et une diminution non significative pour le CT, GB et pour l'Hb, Hte il y'a une augmentation non significative.

Pour le test de chimie d'urine on remarque la présence important du sang dans l'urine.

Concernent les poids relatifs des organes on remarque une diminution très hautement significative pour les poumons et une diminution hautement significative pour le cœur. Et pour les foies, reins et rates il y a une diminution non significative.

Dans les coupes histologiques des organes, il y a une inflammation légère dans les foies et les poumons des lapins traités, et un peu d'inflammation dans les reins, et pour la rate ne remarque aucune anomalie.

Les résultats obtenus montrent que l'effet toxique de l'oxyde de fer est claire dans certains tissus des organes et dans le sang. Enfin on peut dire que l'oxyde de fer possède un effet toxique sur l'organisme.

Mots clés: Oxyde de fer, lapins, toxicité.

SOMMAIRE

Introduction générale	
PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I: Généralités sur les oxydes de fer	
I. Définition.....	03
I.1. Fer et son oxydation.....	03
I.1.1. Oxydation abiotique.....	03
I.1.2. Oxydation biotique.....	03
I.1.3. Oxydation chimique.....	04
II. Oxydes de fer et leurs formations.....	04
III. Nanoparticules d'oxydes de fer.....	06
III.1. Synthèse des nanoparticules d'oxydes de fer.....	06
III.2. Optimisation de la synthèse des nanoparticules.....	08
Chapitre II: L'oxyde de fer dans l'organisme	
I.1. Répartition du fer dans l'organisme.....	09
I.1.1. Compartiment fonctionnel.....	09
I.1.2. Compartiment de transport.....	09
I.1.3. Compartiment de réserve.....	10
II. Distribution.....	10
III. Pathologies liée à l'accumulation du fer.....	10
III.1. Hémochromatose.....	10
III.2. Hémosidérose.....	10
IV. Effets toxiques du fer.....	11
IV.1. Effets toxiques du fer par ingestion.....	11
IV.2. Effets toxiques du fer par inhalation.....	11
IV.2.1. Sidérose.....	11
IV.2.2. Sidéro-silicose.....	11
V. Effet cancérogène.....	12
DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE	
Chapitre I : MATERIELS ET METHODES	
I. Matériels.....	13
I.1. Matériels biologiques.....	13
I.1.1. Animaux et conditions expérimentales.....	13

I.2. Matériels de laboratoire.....	13
I.2.1. Matériels et Verreries.....	13
I.2.2. Produits et réactifs.....	13
II. Méthodologie d'étude.....	14
II.1. Période d'adaptation.....	14
II.2. Période de traitement.....	14
II.3. Sacrifice.....	15
II.3.1. Prélèvement du sang.....	15
II.3.2. Dissection des lapins et prélèvement des organes.....	15
II.3.4. Prélèvement des urines.....	15
II.4. Paramètres biologiques mesurés.....	17
II. 4.1. Paramètres hématologiques.....	17
II.4.1.1. Méthode de dosage.....	17
II.4.2. Test de FNS.....	20
II.4.3. Test de chimie des urines.....	20
II.5. Technique d'histologie	20
II.5.1. Préparation des cassettes porteurs les biopsies.....	20
II.5.2. Obtention des coupes histologique.....	20
II.5.3. Coloration.....	20
II.5.4. Montage.....	21
II.5.5. Observation.....	21
II.6. Analyse statistique.....	22
Chapitre II: Résultats et Discussion	
I. Résultats.....	23
I.1. Paramètres biologiques mesurés.....	23
I.1.1. Dosage de paramètres plasmatiques et activités de l'ALAT et de l'ASAT.....	23
I.1.1.1. Glucose.....	23
I.1.1.2. Lipides (Triglycérides et cholestérol total).....	24
I.1.1.3. Urée sanguine	25
I.1.1.4. Créatinine.....	26
I.1.1.5. Fer	27
I.1.1.6. FNS	28
I.1.1.7. Activités de l'ALAT (TGP)et de l'ASAT(TGO).....	30
I.2. Résultats de chimie des urines.....	31

I.3. Résultats des poids relatifs des organes.....	31
I.3.1. Foie.....	31
I.3.2. Poumon.....	32
I.3.3. Reins.....	32
I.3.4. Rate.....	33
I.3.5. Cœur.....	34
I.4. Résultats de l'étude histologique de certains organes.....	34
I.4.1. Foie.....	34
I.4.2. Poumon.....	35
I.4.3. Reins.....	36
I.4.4. Rate.....	37
II. Discussion.....	39
II.1. Paramètres biologiques et activités de l'ALAT et de l'ASAT.....	39
II.2. Chimie des urines.....	41
II.3. Poids relatifs des organes.....	41
II.4. Etude des coupes histologiques.....	42
Conclusion générale.....	44
Références bibliographiques.....	46
Annexes.....	51
Resumé et mots-clés	

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Présentation des treize oxydes de fer ferrique, ainsi que leurs formules.	05
Tableau 2	Principaux étapes de coloration hématine éosine 25 min.	21
Tableau 3	Concentration de glucose des lapins témoins (Tm) et traités (E) avec les nanoparticules d'oxyde de fer.	23
Tableau 4	Concentration des lipides (Triglycérides et cholestérol total) des lapins témoins (Tm) et traités (E) avec les nanoparticules d'oxyde de fer.	24
Tableau 5	Concentration d'urée sanguin des lapins témoins (Tm) et traités (E) avec les nanoparticules d'oxyde de fer.	25
Tableau 6	Concentration du créatinine sérique des lapins témoins (Tm) et traités (E) avec les nanoparticules d'oxyde de fer.	26
Tableau 7	Concentration du fer des lapins témoins (Tm) et traités (E) avec les nanoparticules d'oxyde de fer.	27
Tableau 8	Résultats de FNS des lapins témoins (Tm) et traités (E) avec les nanoparticules d'oxyde de fer.	28
Tableau 9	Résultats des activités enzymatiques de l'ALAT et l'ASAT des lapins témoins (Tm) et traités (E) avec les nanoparticules d'oxyde de fer.	30
Tableau 10	Poids relatifs du foie des lapins témoins (Tm) et traités (E).	31
Tableau 11	Poids relatifs du poumon des lapins témoins (Tm) et traités (E).	32
Tableau 12	Poids relatifs du reins des lapins témoins (Tm) et traités (E).	32
Tableau 13	Poids relatifs du rate des lapins témoins (Tm) et traités (E).	33
Tableau 14	Poids relatifs du cœur des lapins témoins (Tm) et traités (E).	34

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Schéma du réacteur de synthèse.	07
Figure 2	Schéma récapitulatif du protocole expérimental.	16
Figure 3	Glycémie des lapins traités (E) et des témoins (Tm).	24
Figure 4	Concentration des lipides (Triglycérides et cholestérol total) des lapins traités (E) et des témoins (Tm).	25
Figure 5	Variation du concentration d' urée sanguin des lapins traités (E) et des témoins (Tm).	26
Figure 6	Concentration de la créatinine sérique des lapins traités (E) et des témoins (Tm).	27
Figure 7	Concentration de fer des lapins traités (E) et des témoins (Tm).	28
Figure 8	Résultats de FNS des lapins traités (E) et des témoins (Tm).	29
Figure 9	Concentration des transaminases; l'ALAT (TGP) et l'ASAT (TGO) des lapins témoins (Tm) et traités (E) avec les nanoparticules d'oxyde de fer.	30
Figure 10	Variation de poids relatif de foie des lapins traités (E) et des témoins (Tm).	31
Figure 11	Variation de poids relatif de poumon des lapins traités (E) et des témoins (Tm).	32
Figure 12	Variation de poids relatif de reins des lapins traités (E) et des témoins (Tm).	33
Figure 13	Variation de poids relatif de rate des lapins traités (E) et des témoins (Tm).	33
Figure 14	Variation de poids relatif de cœur des lapins traités (E) et des témoins (Tm).	34
Figure 15	Observation microscopique d'une coupe histologique d'un foie de lapin.	35
Figure 16	Observation microscopique d'une coupe histologique d'un poumon de lapin.	36
Figure 17	Observation microscopique d'une coupe histologique des reins de lapin.	37
Figure 18	Observation microscopique d'une coupe histologique de rate de lapin.	38

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN: Acide désoxyribonucléique
Al: Aluminium
ALAT: Alanine Amino Transférase
ASAT: Aspartate Amino Transférase
C: degré Celsius
CPB: Centre du Pathologie Benbordi
CT: Cholestérol Totale
dL: Dciliter
E: Expérience
EDTA: Éthylène Diamine Tétra-Acétique
EPSP: Etablissement Publique de Santé de Proximité
Fe: Fer
FNS: Numération Formule Sanguine
g: Gramme
GB: Globules Blancs
GR: Globules Rouges
h: Heure
Hb: Hémoglobine
HDL: High density lipoprotein
Hte: Hématocrite
IRM: Imagerie par résonance magnétique .
kDa: kilo Dalton
Kg: Kilogramme
L: Liter
LDL: Low density lipoprotein
µm: Micromètre
µl: Microliter
µmol: Micromole
m: Mètre
Mg: Magnesium
mg: Milligramme
min: Minute
ml: Milliliter

mm: Millimètre

mmol: Millimole

NaCl: Chlorure de sodium

NPs: Nanoparticules

NS: Non Significant

O: Oxygène

OH: Groupe hydroxyde

Oh: Octaédriques

p: Probabilité

pH: Potentiel d'Hydrique

PLT: Plaquettes

SPION: Nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques

Td: Tétraédriques

TG: Triglyceride

TGO : Transaminase glutamique oxaloacétique

TGP : Transaminase glutamique pyruvique

Tm: Témoins

UI: Unité internationale

US: Urée Sanguin

UV: Ultra Violet

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Depuis plusieurs années, il y a eu un intérêt croissant dans la recherche en nanotechnologie, qui se concentre sur les particules qualifiées de particules ultrafines dont au moins une dimension est comprise entre 1 et 100 nanomètres encore appelé nanoparticules (NPs). Leurs propriétés physiques, chimiques, voire biologiques découlent spécifiquement de cette taille nanométrique (ALLOUN., 2011).

Aujourd'hui, une majorité d'études a montré que les nanoparticules ont des effets cytotoxiques sur les organismes vivants (DELAMAR., 2009). Certaines nanoparticules (naturelles ou artificielles), diffusées dans l'environnement, notamment par l'air ou via les eaux usées, causent les problèmes inflammatoires pulmonaires les plus vifs, et sont fortement suspectées d'avoir des effets négatifs sur l'environnement, et sur la santé quand elles sont inhalées ou qu'elles pénètrent le corps via la peau, l'eau ou l'alimentation ; les études toxicologiques démontrent clairement que la très petite taille des nanoparticules est un élément-clé au niveau de la toxicité (GATE et *al.*, 2011).

Le fer est l'élément de transition le plus abondant, constituant 4,7 % en masse de la croûte terrestre. On ne le trouve pas sous l'état métallique à la surface terrestre. Par contre, on trouve les minerais principaux : Fe_2O_3 et Fe_3O_4 . Dans l'industrie, l'extraction du fer consiste à séparer le fer de l'oxygène (LACAVA et *al.*, 1999).

Dans la nature, le fer est présent essentiellement sous forme d'oxyde (minéral, notamment hématite), mais aussi dans le sang où il permet aux globules rouges (hématies) de fixer le dioxygène. À l'état pur, il s'agit d'un métal laissé à l'air libre, il se corrode en formant de la rouille (il s'agit en fait d'un retour naturel à l'état d'oxyde, l'état thermo-dynamiquement stable, par réaction avec le dioxygène de l'air) (MAURIZI., 2012).

Les nanoparticules d'oxyde de fer sont classées en deux catégories. Elles sont appelées SPION (Super Paramagnetic Iron Oxides Nanoparticles) si les particules individuelles ont un diamètre supérieur à 50 nm, et USPIO (Ultra small Super Paramagnetic Iron Oxides Nanoparticles) pour des tailles inférieures à 50 nm. Elles possèdent un corps d'oxyde de fer, et enveloppées par des matériaux inorganiques (tels que la silice, l'or) ou des matériaux synthétiques/naturels (tels que les phospholipides, acides gras, polysaccharides, les polymères naturels). Les SPIONs de taille comprise entre 60 et 150nm sont ceux utilisés en tant qu'agent d'IRM ou sont en phase de développement pour être employés en tant que système de délivrance de médicament (GABRIELA et *al.*, 2005; GANDI., 2005).

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet toxique des nanoparticules de l'oxyde de fer sur l'organisme, où on a signalé l'effet toxique de l'oxyde de fer nanoparticule sur quelques paramètres biologiques chez les lapins .

Ce travail est divisé en deux parties.

La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique et elle comporte deux chapitres:

- le premier chapitre concernant les oxydes de fer et leur synthèses.
- Le deuxième chapitre est consacré à les nanoparticules d'oxydes de fer dans l'organisme.

La deuxième partie est consacrée à la partie expérimentale et est partagée en deux chapitres:

- Le premier chapitre résume les matériels et méthodes utilisées durant ce travail.
- Le deuxième chapitre est consacré à les résultats et discussion portant sur la présentation de nos résultats et leur interprétation en se basant sur ce qui était dit dans la bibliographie.

PREMIÈRE PARTIE :
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I:
GENERALITES SUR LES OXYDES DE FER

I. Définition

Le fer est le quatrième élément le plus abondant de la croûte terrestre, et le second plus abondant au niveau des habitats redox actifs avec une interface aqueuse, ce qui en fait un métal dont le rôle est important dans les cycles biogéochimiques. Il est reconnu que les microorganismes participent au cycle du fer, cependant leur rôle central qui a trait au cycle redox du fer est peu connu et joue un rôle non négligeable dans la conservation de l'énergie (ABHIJIT; PARAMES., 2014).

L'oxyde de fer est un composé chimique qui associe l'oxygène et le fer. En fonction de leur degré d'oxydation, on peut distinguer trois catégories d'oxydes de fer : l'oxyde ferreux, l'oxyde magnétique et l'oxyde ferrique. Dans le domaine médical, l'oxyde de fer est souvent employé comme produit de contraste pour pratiquer l'imagerie médicale de résonance magnétique nucléaire (IRM) (BABADI., 2013).

I.1. Fer et son oxydation

I.1.1. Oxydation abiotique

Le fer existe sous deux formes, le fer ionique (le fer ferreux: Fe^{2+} et le fer ferrique: Fe^{3+}), et le fer minéral qui inclut les sulfures (pyrite), les sulfates, les oxydes et hydroxydes (hématite, magnétite) ainsi que les silicates et les carbonates (sidérite). Le fer est présent sous ses différentes formes, dans de très nombreux environnements terrestres, lacustres ou marins. Cependant la forme ionique bien que largement présente au niveau des sources hydrothermales est en faible quantité dans les environnements tels que l'océan (BARATLI et al., 2013). Il est un des éléments mineurs essentiels à la plus part des organismes; bactéries, champignons, plantes, animaux, et même pour l'homme. Le fer joue un rôle vital dans de nombreux processus biologiques; la photosynthèse, la fixation de l'azote, la méthanogenèse, le transport de l'oxygène ou encore la synthèse de l'ADN. La disponibilité du fer est limitée par sa solubilité et la cinétique de dissolution. Malgré son importance, le fer a également un potentiel de toxicité. Les organismes ont donc développé de nombreux mécanismes de régulation pour leur besoin et leur excédent en fer (ELLEUCH., 2008).

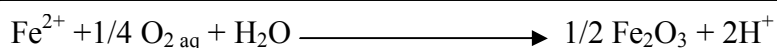
I.1.2. Oxydation biotique

L'oxydation du fer ferreux en fer ferrique peut également être catalysée par des bactéries. Dans un milieu pourvu d'oxygène, l'oxydation bactérienne peut avoir lieu à pH

acide, on parle alors de bactéries ferro-oxydantes acidophiles, ou à pH neutre, on parle alors de bactéries ferro-oxydantes neutrophiles. De plus cette même oxydation a lieu en absence d'oxygène via les bactéries photo-autotrophes. Pour ces bactéries, le taux d'oxydation est corrélé de façon positive à l'intensité lumineuse de leur environnement (FILLET., 1978).

I.1.3. Oxydation chimique

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



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

II. Oxydes de fer et leurs formations

Il existe seize oxydes de fer, que l'on distingue en hydroxyde, oxyde-hydroxyde et oxyde de fer. Ils sont tous composés de fer (Fe) lié avec de l'oxygène (O) ou un groupe hydroxyde (OH). Les oxydes de fer de formule générale AB_2O_4 , sont isostructuraux du spinelle naturel MgAl_2O_4 (CHARPIGNY., 2010). La structure spinelle qui est de symétrie cubique, elle est construite à partir de l'arrangement cubique compact d'ions oxygène à l'intérieur duquel les cations se distribuent parmi les sites octaédriques (Oh) et tétraédriques (Td) (DANTAGNAN., 2009).

La maille élémentaire de la structure spinelle comporte 32 anions O^{2-} et 24 cations métalliques repartis au sein des 32 sites octaédriques et des 64 sites tétraédriques disponibles. Comme seuls 1/2 des sites octaédriques et 1/8 des sites tétraédriques sont occupés, 16 cations sont hexacoordonnés et 8 cations sont tétracoordonnés. Chaque maille élémentaire de formule générale $\text{A}_8\text{B}_{16}\text{O}_{32}$ est constituée de 8 motifs unitaires AB_2O_4 où A et B représentent des

cations métalliques de valences différentes et sont repartis dans les sites Td et Oh (BRUNO., 2007).

Dans la plupart des composés le fer est sous sa forme trivalente, on parle d'oxyde de fer ferrique (on en dénombre treize) (MAHMOUDI *et al.*, 2010). Les oxydes de fer ferrique au sens strict sont ceux où les atomes de fer sont liés à de l'oxygène, de la même manière, les hydroxydes sont liés à un groupement OH, alors que les oxyde-hydroxyde sont liés au deux groupement (O et OH) ce qui leur confère leur propriété d'insolubilité (LUBBE *et al.*, 2010).

Tableau 01 : Présentation des treize oxydes de fer ferrique, ainsi que leurs formules (MAHMOUDI *et al.*, 2010).

Oxyde-hydroxyde et Hydroxyde	Oxydes
Goethite α - FeOOH	Hématite α - Fe ₂ O ₃
Lepidocrocite γ - FeOOH	Maghémite γ - Fe ₂ O ₃ B- Fe ₂ O ₃ E- Fe ₂ O ₃
Akaganéite β - FeOOH	
Schwertmannite Fe ₁₆ O ₁₆ (OH) _y (SO ₄) _z .nH ₂ O	
Feroxyhyte δ - FeOOH δ' -FeOOH	
Ferrihydrite Fe ₅ HO ₈ .4H ₂ O	
Bernalite Fe(OH) ₃	
Green Rusts Fe _x "Fe _y " (OH) _{3x+2y-2} (A ⁻) _z A ⁻ =Cl ⁻ ; 1/2 SO ₄ ²⁻	

La plupart des oxydes de fer ont une structure cristalline où le degré de la structure ainsi que la taille des cristaux dépend des conditions de formation. Seuls la ferrihydrite et la schwertmannite ont une faible structure cristalline, ce qui fait d'elles des oxydes peu stables, qui ne sont souvent qu'un état de transition vers un oxyde de fer plus stable. L'arrangement des atomes est régi par l'arrangement spatial des anions qui ont une taille plus importante. Le diamètre d'un ion O²⁻ est de 0.14nm alors que celui de l'ion ferrique Fe³⁺ est 0.065nm (MILOSEVICI., 2009). Il existe deux systèmes pour représenter la structure cristalline des oxydes de fer, l'une en terme d'arrangement spatial des anions et l'autre en fonction du type d'assemblage spatial à partir du cation (octaédrique ou tétraédrique) (MICHAELA *et al.*, 2011). L'ensemble de ses caractéristiques permet d'obtenir une structure spatiale particulière pour chaque oxyde de fer. La structure des cristaux d'oxydes de fer varie de façon importante

pour un même assemblage ionique, celle-ci dépend de la diffusion des ions, de l'adsorption des ions, de la possibilité de déshydratation, finalement des processus de transport et des réactions chimiques à la surface. Une des caractéristiques majeures est la supersaturation en ions ferriques et oxygène ou hydroxyde dans la solution, permettant ainsi un taux de croissance du cristal important (HALATTE., 2007). La structure du cristal est responsable de nombreuses caractéristiques physico-chimiques de celui-ci comme l'allure de son spectre aux rayons infra-rouge, sa porosité, son comportement magnétique etc (ALAIN D., 2008). La formation des oxydes de fer nécessite deux mécanismes de base:

- la précipitation directe d'une solution contenant des ions ferreux ou ferriques
- la transformation en précurseur d'oxyde de fer par le processus de dissolution/reprécipitation ou via un état de transformation solide (réarrangements internes) (APOPA., 2009).

III. Nanoparticules d'oxydes de fer

Parmi les nanoparticules d'oxydes de fer, on distingue les nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques (appelées SPION) qui possèdent un corps d'oxyde de fer, et enveloppées par des matériaux inorganiques (tels que la silice, l'or) ou des matériaux synthétiques/naturels (tels que les phospholipides, acides gras, polysaccharides, les polymères naturels). Ces SPIONs sont souvent classés en fonction de leur taille qui inclut le corps d'oxyde de fer et le revêtement/fonctionnalisation, appelé le diamètre hydrodynamique (AUFFAN., 2007).

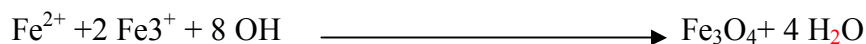
Les SPIONs de taille comprise entre 60 et 150 nm sont ceux utilisés en tant qu'agent d'IRM ou sont en phase de développement pour être employés en tant que système de délivrance de médicament (BECHET et *al.*, 2011).

III.1. Synthèse des nanoparticules d'oxydes de fer

La voie classique de synthèse de ces NPs est la voie chimique (BORDESSOULE., 2006). Des nombreuses méthodes chimiques peuvent être utilisées pour synthétiser des nanoparticules magnétiques : microémulsions, synthèses sol-gel, procédé hydrothermal, hydrolyse et thermolyse de précurseurs (BERGERON., 2014).

Le contrôle de la taille, la forme et composition des NPs dépend du type de sels utilisés, du ratio $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, le pH et la force ionique du milieu (GANDI., 2005). Cependant la méthode la plus commune est la coprécipitation de sels de fer. Elle est probablement la plus

simple et la plus efficace pour obtenir ces nanoparticules d'oxyde de fer qui sont généralement préparées grâce à un mélange stoechiométrique de sels ferreux et ferrique en milieux aqueux. La réaction chimique de formation Fe_3O_4 peut être écrite comme suit: (DONZE., 2010).



Le choix de la synthèse s'est porté sur un protocole de type Massart car connu pour sa reproductibilité et sa grande quantité de matière synthétisée en une étape (LACAVA *et al.*, 1999). Par ailleurs, la méthode d'élimination des contre-ions de réaction utilisée (peptisation en milieu acide couplée à des cycles de centrifugation ou décantation) permet d'obtenir des sols de nanoparticules stabilisés (MAURIZI., 2012).

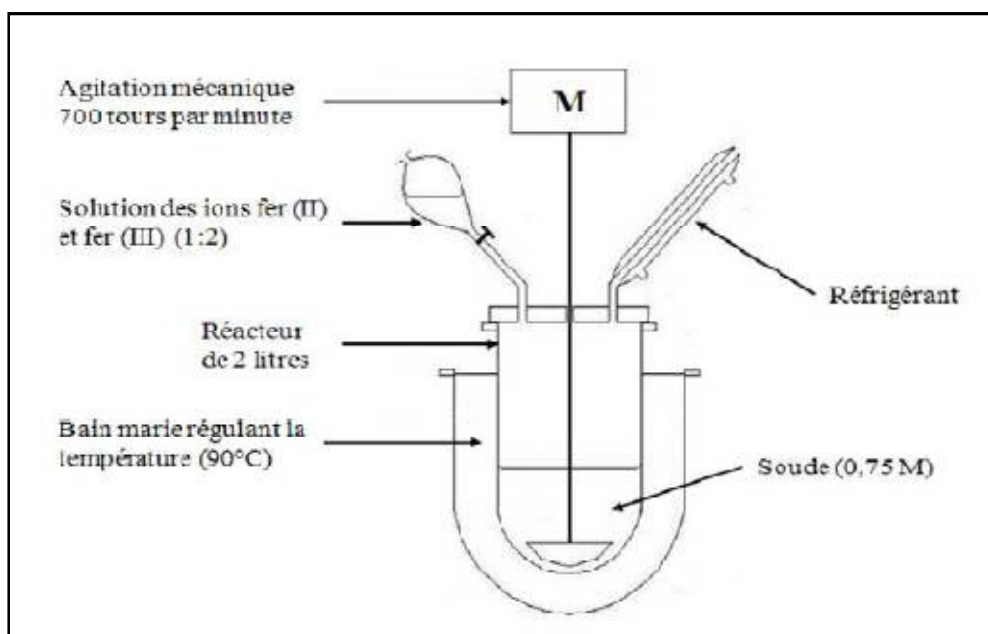


Figure 01: Schéma du réacteur de synthèse (MAURIZI., 2012)..

Les ions métalliques sont ajoutés par ampoule de coulée dans le réacteur contenant de la soude chauffée à 90°C par bain marie. L'ensemble est agité mécaniquement à 700 tours.min⁻¹. Un système de réfrigération est utilisé pour récupérer l'eau qui s'évapore pendant la synthèse (MAURIZI., 2012).

Après synthèse, la suspension contient en plus des nanoparticules, des contre-ions chlorures issus de la réaction, une grande quantité d'ions hydroxydes (OH^-) et une partie d'ions ferriques en excès (quelques ions ferreux s'étant oxydés lors de la réaction) (LUM; ROEBUCK., 2001).

Dans le but d'obtenir un ferrofluide débarrassé de ces ions parasites, des étapes de purification sont nécessaires (LEI., 2013).

Dans un premier temps, pour éviter les lavages par centrifugation, étape pouvant agglomérer les nanoparticules, les sols ont été dialysés. La suspension basique est placée tout de suite après réaction de trente minutes dans une membrane de dialyse de seuil de coupure de 3,5 kDa puis plongée dans de l'eau distillée. Par effet de diffusion, les ions présents dans le dialysat traversent la membrane contrairement aux nanoparticules (HORDE., 2014). Ce phénomène se stabilise quand les potentiels chimiques des ions de part et d'autre de la membrane sont identiques. L'eau de dialyse doit ainsi être renouvelée plusieurs fois jusqu'à ce que la conductivité du dialysat soit proche de celle de l'eau distillée (GATE et *al.*, 2011).

III.2. Optimisation de la synthèse des nanoparticules

Pour éliminer les gros agrégats formés probablement pendant la synthèse ou l'étape de centrifugation et pour optimiser la stabilité de la suspension, de nouveaux cycles de centrifugation ont été réalisés lors d'une nouvelle synthèse suivant le même protocole (HALENG et *al.*, 2007). Dans cette partie, quatre cycles de centrifugation avec des vitesses différentes (respectivement 1000, 2000, 5000 et 10000 tours.min⁻¹) ont été réalisés. Cette nouvelle suspension a été alors caractérisée (ALIS., 2003). Pour les essais ultérieurs, les nanoparticules peptisées à pH = 1 ont été dialysées dans l'acide nitrique dilué jusqu'à pH = 3 pour ne pas acidifier le milieu réactionnel lors d'essais ultérieurs de greffages de polymères à leur surface et éviter la dissolution des particules dans ces conditions (ALLOUN., 2011).

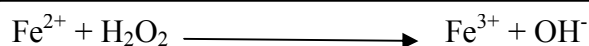
CHAPITRE II:
L'OXYDE DE FER DANS L'ORGANISME

I. Répartition du fer dans l'organisme

Pour la majorité des organismes vivants et particulièrement les mammifères, le fer est à la fois indispensable pour vivre et potentiellement toxique. Le corps humain contient le fer sous deux états d'oxydation différents : Fe^{2+} et Fe^{3+} (BABES et *al.*, 1999).

Fe^{3+} (appelé fer ferrique) est quasiment insoluble. Pour être absorbé au niveau de l'intestin il doit être réduit en Fe^{2+} . Pour le rendre « soluble » dans les fluides organiques il doit être lié à des protéines « transporteur », par exemple la transferrine pour son transport par la voie sanguine (BASTARACHE., 2004).

Fe^{2+} (appelé fer ferreux) est soluble mais il est extrêmement toxique. Il interagit avec H_2O_2 pour générer l'espèce chimique $\text{OH}^\cdot$ qui, de par son instabilité chimique, va en faire le composé oxydant le plus puissant que l'on peut trouver dans la nature après le fluor (BOURGKARD et *al.*, 2009).



Son excès provoque l'oxydation des composés organiques intracellulaires (les lipides, les protéines, l'ADN) (DAOU., 2007).

I.1. Compartiment fonctionnel

Il représente 70% du fer total, soit 2,8g. Il est constitué essentiellement par le fer de l'hémoglobine, un gramme d'Hb contient 3,3 mg de fer. Une faible quantité de fer (0,4g) se trouve dans la myoglobine et dans certaines enzymes cellulaires intervenant dans le métabolisme oxydatif : catalase, cytochromes, myéloperoxydase (DAZZAZI., 2013).

I.2. Compartiment de transport

Il est quantitativement réduit et représente 0,1% du fer total, soit 4 mg. Dans le plasma, le fer est presque exclusivement lié à la transferrine (sidérophiline) (HALENG et *al.*, 2007). La transferrine est une glycoprotéine synthétisée essentiellement par le foie. Son rôle est de transporter le fer aux cellules, sans être consommée lors des échanges. Elle est à l'état physiologique saturée à 30% (DELAMAR., 2009).

I.3. Compartiment de réserve

Il représente environ 1g chez l'adulte soit 25% du fer total. Ce fer est stocké dans les cellules du système des phagocytes mononuclées (du foie, de la rate, de la moelle osseuse) et dans les hépatocytes, sous deux formes cliniquement différentes (Ferritine et hémosidérine) (ABHIJIT; PARAMES., 2014).

II. Distribution

L'absorption du fer par l'appareil gastro-intestinal est ajustée par une homéostasie fine. Dans les conditions normales, environ 5% à 15% du fer des aliments est absorbé, mais l'absorption augmente considérablement dans le cas de déficience en fer ou lorsque les stocks de fer sont bas. Normalement, le corps humain contient environ 3 à 5 g de fer. Les deux tiers de cette quantité sont liés à l'hémoglobine dans le sang (DANTAGNAN., 2009).

Environ 20% à 30% du fer corporel est emmagasiné dans des protéines de stockage (ferritine et hémosidérine). L'élimination est lente et a lieu principalement par l'intermédiaire du saignement et par la desquamation de cellules muqueuses. Dans certaines conditions pathologiques, une plus grande absorption du fer par l'appareil gastro-intestinal peut mener à des dépôts de fer dans divers organes et à des lésions secondaires (hémochromatose). Dans d'autres maladies, la déposition du fer est une séquelle du processus pathologique (hémosidérose) (HORDE., 2014).

III. Pathologies liée à l'accumulation du fer

III.1. Hémochromatose

Anomalie héréditaire du métabolisme caractérisée par une absorption accrue de fer qui aboutit après la cinquantaine à une pigmentation cutanée, une cirrhose du foie et parfois à un diabète sucré (GANDI., 2005).

III.2. Hémosidérose

On distingue habituellement l'hémosidérose, qui est une surcharge en fer des tissus, de l'hémochromatose qui comporte des lésions tissulaires dues à l'accumulation martiale(fer). Elle peut être secondaire à l'hémolyse chronique, aux anémies sidéroblastiques, à l'administration excessive de fer par voie parentérale ou, en cas d'anémie sidéroblastique, par voie buccale. Elle se rencontre aussi dans la maladie de Kashin-Beck qui survient dans les régions où l'eau potable est riche en sels de fer (BABES et *al.*, 1999).

Localisée au:

- poumon, lors des hémorragies à répétition comme dans la sténose mitrale; dans l'hémosidérose pulmonaire idiopathique.
- au rein, comme dans l'hémolyse intravasculaire, l'hémoglobinurie nocturne paroxystique.
- au foie, dans la porphyrie cutanée tardive.

IV. Effets toxiques du fer

IV.1. Effets toxiques du fer par ingestion

Les sels solubles de fer, comme ceux trouvés dans les comprimés usuels de fer consommés dans le traitement ou la prophylaxie de l'anémie ferriprive, sont potentiellement très toxiques (MILOSEVICI., 2009). Lors de doses excédant 0.5 mg de fer, les effets toxiques avec vomissements, ulcérations de la muqueuse gastrointestinale, et saignements intestinaux peuvent se produire. Dans les cas graves, des dommages au foie et au rein peuvent également se produire (DELAMAR., 2009).

IV.2. Effets toxiques du fer par inhalation

IV.2.1. Sidérose

L'inhalation de fer, principalement sous forme de fumées d'oxyde de fer, peut provoquer des changements radiologiques pulmonaires dû au dépôt des particules de fer inhalées (LEI., 2013). La poussière déposée dans les poumons produit des images aux rayons-x qui peuvent être difficiles à distinguer de la pneumoconiose fibrotique. Cela peut porter plusieurs noms : sidérose, pneumoconiose du fer, pneumoconiose de l'hématite, pigmentation de fer du poumon, et poumon du soudeur, reflétant le fait qu'on l'a rencontrée dans beaucoup de groupes professionnels exposés aux fumées d'oxyde de fer, y compris les polisseurs d'argent. La plupart des spécialistes considèrent ces changements radiologiques du poumon comme bénins sans aucune influence sur la fonction pulmonaire et ne progressant pas vers la fibrose (HALENG et *al.*, 2007).

IV.2.2. Sidéro-silicose

La sidérose est parfois associée à la silicose parmi les mineurs de minerai de fer si l'exposition à la silice libre est assez sévère pour causer des changements fibrotiques avec détérioration subséquente de la fonction pulmonaire (MAHMOUDI et *al.*, 2010).

V. Effet cancérigène

Quoiqu'une plus grande incidence du cancer du poumon ait été observée parmi des mineurs d'hématite exposés à l'oxyde de fer, vraisemblablement comme résultante de l'exposition concomitante au gaz radon, il n'y a aucune évidence que l'oxyde de fer seul soit cancérigène, autant chez l'homme que chez l'animal (DANTAGNAN., 2009). Dans une importante étude d'une cohorte (10,403 sujets) de mineurs de minerai de fer du Minnesota (hématite), on n'a pas démontré de mortalité accrue pour le cancer du poumon. Cette étude est d'un intérêt particulier, parce que les niveaux de radon des minerais de fer du Minnesota, contrairement à la plupart des autres mines de fer examinées, étaient bas. En outre, le tabagisme était interdit sous terre, et les véhicules au carburant diesel n'étaient pas utilisés (GATE et *al.*, 2011).

Aucune preuve n'a été rencontrée dans une étude d'un risque accru de cancer du poumon dans une usine produisant l'acide sulfurique à partir de la pyrite (FeS_2) où les ouvriers avaient été exposés à de la poussière d'oxyde de fer à des concentrations très élevées (50 à 100 mg/m^3) (BOURGKARD et *al.*, 2009). Ainsi il semble raisonnable de conclure que les oxydes de fer ne sont pas cancérigènes (AUFFAN., 2007).

DEUXIEME PARTIE :

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I:
MATERIELS ET METHODES

I. Matériels

I.1. Matériels biologiques

- Les lapins

Dans cette étude expérimental nous avons choisi des lapins de la race (*Oryctolagus cuniculus*). Les échantillons sont choisis de façon précise après le traitement par deux types du vaccins; Eveen 0.5 ml et Coclavax 1 ml, avec tenir compte du poids, du sexe, du l'âge.

I.1.1. Animaux et conditions expérimentales

Notre étude à porté sur 15 lapins; 05 témoins et 10 pour l'expérience. Les échantillons étudiés choisis selon leur poids (les échantillons étudiés sont de poids entre 700g et 1300g au début de l'expérience), leur sexe (la plupart des échantillons appartiennent à des lapins femelles (12 femelles), le reste sont des lapins mâles (03 mâles)) et leur âge (les lapins de sont entre l'âge de 3 à 4 mois).

Après le sacrifice nous avons prend le sang et sérum pour les analyses biochimique, les organes (foies, poumons, rates et reins) pour réaliser des coupes histologiques sur là qu'elle et l'urine pour le test de chimie des urines.

I.2. Matériels de laboratoire

Les matériels utilisés dans notre étude sont ;

I.2.1. Matériels et Verreries

Micropipettes, empeaux pour pipettes, lames de bistouris, lames et lamelles, flacons. Micropipettes, Couteau, papiers films, cassettes, portes lames, moules, chronomètre, congélateur, étuve, bain marie, microscope optique avec appareil photo (camera), balance, balance analytique de type KERAN 085629, spectrophotomètre UV de type SHIMADZU UV 1800, centrifugeuse pour la séparation du sérum de sang, automate d'hématologie pour le mesure de l'FNS, microtome, bandelettes de chimie d'urine.

I.2.2. Produits et réactifs

Eau distillé, eau de robinet, l'oxyde de fer, formol, NaCl, xylène, ethanol, hématoxyline, éosine, paraffine, kit de glycémie (Glucose TR, Glucose CAL), kit de

cholestérol, kit de TGO, kit de TG, kit de TGP, kit de l'urée sanguine, kit de créatinine, kit de fer.

II. Méthodologie d'étude

Les lapins sont divisés en 03 lots, chaque lots contient 05 lapins. Le premier lots pour les témoins, le deuxième et le troisième lots pour le traitement.

L'alimentation de ces animaux est basée sur un mélange de blé et maïs; pour un régime alimentaire d'augmentation du poids au cour de l'expérience.

La période d'étude est divisée en 02 périodes; période d'adaptation et période de traitement, puis le sacrifice.

II.1. Période d'adaptation

Cette période a été de 20 jours d'adaptation . Durant cette phase les lapins s'adapte de boire 1ml de l'eau distillé chaque jour à l'aide d'un seringue graduée de 1ml (on a utilisé seringue d'insuline), ce processus nécessite deux personnes pour réaliser cette technique, la première personne maintient le lapin en position convenable et l'autre personne introduit le seringue à l'intérieur de leur bouche et libéré le volume du l'eau distillé. En plus, un mesure de poids a été faite chaque jours pour chaque lapin.

II.2. Période de traitement

La durée de traitement est de 14 jours. Le traitement se fait par un solution de nanoparticules d'oxyde de fer qu'est préparé dans le laboratoire.

- **Préparation du solution de nanoparticules d'oxyde de fer**

6 mg de nanoparticules d'oxyde de fer avec 80ml d'eau distillé, on mélange bien Jusqu'à l'obtention d'un solution homogène de nanoparticules d'oxyde de fer pour obtenir une dose de 75 μg /ml.

On a administré à chaque lapin chaque jours un volume de solution selon leur poids. A la fin de cette période , on met les lapins à jeûne. Avant 16 heures de sacrifices

II.3. Sacrifice

Le sacrifice se fait après 16 heures du jeûne. Ce processus se fait par un lame de bistouris et à l'aide de deux personnes . le sacrifice, le prélèvement du sang et les organes a été fait au niveau du laboratoire du faculté des sciences de la nature et de la vie, université d'El Oued.

II.3.1. Prélèvement du sang

Les prélèvements du sang sont réalisés immédiatement avec des tubes à essai secs et d'EDTA au moment de l'abattage (02 tube secs et 01 tube d'EDTA pour chaque lapin).

II.3.2. Dissection des lapins et prélèvement des organes

Ensuite un mesure de poids a été faite du cadavre. Puis une dissection des lapins a été faite pour obtenir les organes (cœurs, foies, riens, rates, et poumons), ces dernières sont lavés par le NaCl et on a mesuré leur poids.

Les organes sont conservés dans le formole pour faire des coupes histologique au niveau du laboratoire de Centre du Pathologie Benbordi (CPB) au Tiksebt.

II.3.4. Prélèvement des urines

Les urines ont été prélevés pour le test de chimie des urines.

Les étapes de notre expérience sont résumés dans le plan suivant:

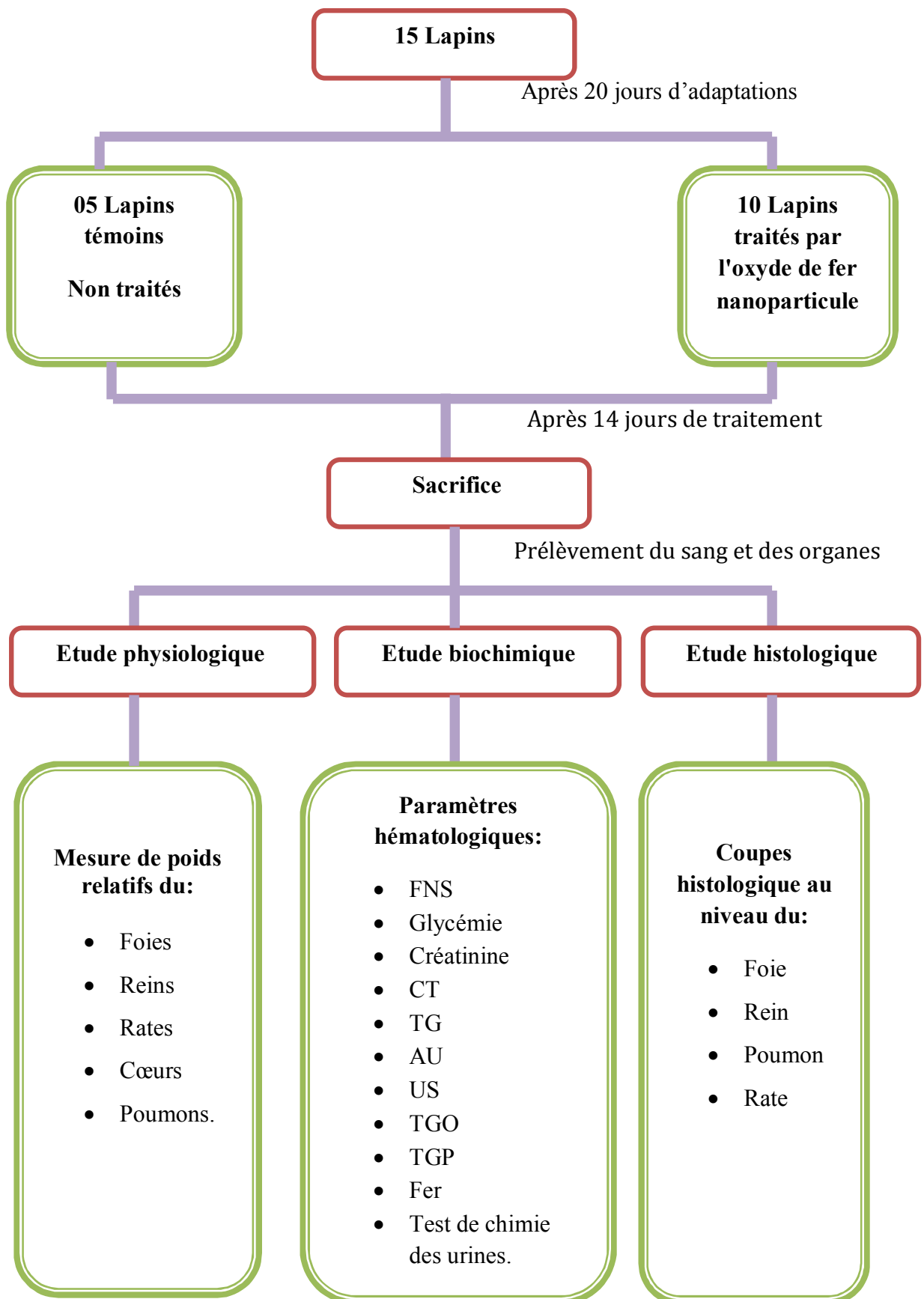


Figure 02: Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

II.4. Paramètres biologiques mesurés

Le mesure des paramètres biochimiques a été réalisé par le spectrophotomètre, le test de l'FNS par l'automate d'hématologie et le test de chimie des urines par les bandelettes spécifique pour elle a été faite dans le laboratoire de l'hôpital de Etablissement Publique de Santé de Proximité (EPSP) du Guemar .

II.4.1. Paramètres biochimiques

Les paramètres biochimiques mesurés sont les suivants:

Glucose, cholestérol, triglycéride, urée sanguin, TGO, TGP, créatinine, et le fer.

Chaque paramètre a un méthode de dosage spécifique et leur valeur lié au spectrophotomètre.

II.4.1.1. Méthode de dosage

- **Glucose (g/L)**

Il s'agit d'un dosage colorimétrique à la suite de deux réactions enzymatiques couplées. Une réaction enzymatique étroitement spécifique (glucose-oxydase) oxyde le glucose présent dans l'échantillon en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier sert de substrat à la peroxydase dans une réaction couplée conduisant à l'oxydation de l'o-dianisidine en un produit coloré. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en glucose. (SHEN., 2009).

On met 1000 µl de réactif dans le tube à essai et on ajoute 10 µl de sérum. On attende 10 min pour la réaction. A l'aide d'un spectrophotomètre UV de type SHIMADZU UV 1800, on mesure l'absorbance A de la substance colorée en solution pour la longueur d'onde λ (= 470 nm) (ALIS., 2003).

- **Cholestérol (g/L)**

La détermination enzymatique de cholestérol par méthode cinétique se fait selon les réactions suivantes:

Cholestérol estérifier $\xrightarrow{\text{Cholestérol estérase}}$ Cholestérol + acide gras libre.

Cholestérol + O₂ $\xrightarrow{\text{Cholestérol oxydase}}$ Cholestone 4 one 3 + H₂O₂.

2 H₂O₂ + Phénol + 4-amino-antipyrine $\xrightarrow{\text{Peroxydase}}$ Quinonéimine + 4 H₂O.

On met 1000 µl de réactif dans le tube à essai et on ajoute 10 µl de sérum. On attende 10 min pour la réaction. A l'aide d'un spectrophotomètre UV de type SHIMADZU UV 1800, on mesure l'absorbance A de la substance colorée en solution pour la longueur d'onde λ (= 505 nm) (GABRIELA et *al.*, 2005).

- **Triglycéride (g/L)**

Sous l'action de la lipoprotéine lipase (LPL), le glycérol, produit par hydrolyse enzymatique des triglycérides, est phosphorylé par l'ATP pour produire la glycérol-3-phosphate et l'ADP à travers une réaction catalysée par la glycérol kinase (GK). La glycérol-3-phosphate oxydase (GPO) catalyse ensuite l'oxydation du glycérol -3-phosphate pour produire le dihydroxyacétone-3-phosphate et H₂O₂. Ce dernier se combine au 4-aminoantipyrine et au 4-chlorophénol pour former la quinonéimine sous l'influence catalytique de la peroxydase (POD). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des triglycérides présente dans l'échantillon (NOT., 2006).

On met 1000 µl de réactif dans le tube à essai et on ajoute 10 µl de sérum. On attende 10 min pour la réaction. A l'aide d'un spectrophotomètre UV de type SHIMADZU UV 1800, on mesure l'absorbance A de la substance colorée en solution pour la longueur d'onde λ (= 505 nm) (ALIS., 2003).

- **Créatinine (mg/L)**

La créatinine réagit avec le picrate alcalin en donnant une coloration jaune orangé, mesurable à 520 nm, proportionnelle à la concentration de créatinine dans l'échantillon (PAULY., 2012).

Dans un tube à essai on met 500 µl de 1^{ier} réactif de créatinine et on ajoute 500 µl de 2^{eme} réactif puis on ajoute 100µl de sérum. On lis la valeur de l'absorbance A directement par le spectrophotomètre UV (BABADI., 2013).

- **TGO et TGP (UI/L)**

Il s'agit d'un dosage colorimétrique selon les réactions suivantes :

TGO: Aspartate + a céto glutarate $\xrightarrow{\text{TGO}}$ oxaloacetate+ glutamate

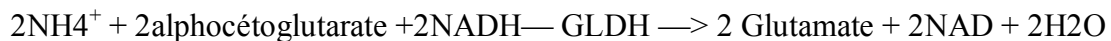
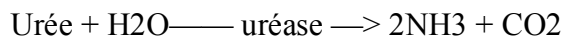
TGP: Alanine + a céto glutarate $\xrightarrow{\text{TGP}}$ pyruvate + glutamate

Le pyruvate ou l'oxaloacétate formés sont dosés sous forme de leurs dérivés 2,4 dinitrophénylhydrazones (SACOTI., 2012).

On met 1000 µl de réactif dans un tube à essai et on ajoute 100 µl de sérum; et directement on mesure la valeur de l'absorbance A par le spectrophotomètre UV et avec un longueur d'onde λ (= 505 nm), mais chaque échantillons reste 03 min pour donne la valeur de A (GABRIELA *et al.*, 2005).

- **Urée sanguin (g/L)**

La détermination enzymatique de l'urée par méthode cinétique se fait selon les réactions suivantes:



GLDH= 2-L-Glutamate déshydrogénase (PAULY., 2012).

On met 500 µl de 1^{er} réactif de l'urée sanguin dans un tube à essai et on ajoute 5 µl de sérum, après 5 min on ajoute 500 µl de 2^{eme} réactif. La valeur de l'absorbance A lié après 10min par le spectrophotomètre UV et avec un longueur d'onde λ (= 340 nm) (BABADI., 2013).

- **Fer (µmol/L)**

On effectue tout d'abord une déprotéinisation de l'échantillon par l'acide trichloracétique, puis on procède à la rupture des liaisons fer-transferrine par l'acide chlorhydrique. Enfin, on fait la réduction des ions ferriques en ions ferreux par l'acide thioglycolique. Les ions ferreux ainsi formés sont dosés par formation d'un complexe coloré avec la bathophénantroline disulfonée dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en fer présent dans l'échantillon (RICAUD., 2012).

On met 02 tube à essai pour lis la valeur du fer; dans le 1^{er} tube, on met 1000 µl de 1^{er} réactif avec 40 µl de 2^{eme} réactif puis on enlève 40 µl de se solution et on ajoute 200 µl de sérum. Pour le 2^{eme} tube, on mélange 1000 µl de 1^{er} réactif avec 200 µl de sérum. On attende 10 min pour la réaction et on lis la valeur de l'absorbance A par un longueur d'onde λ (= 535 nm) (ALIS., 2003).

II.4.2. Test de FNS

Le test de l'FNS se fait par l'automate d'hématologie, et on base sur la mesure des paramètres suivantes:

Globules blancs, globules rouges, hémoglobine, hématocrite et plaquettes.

II.4.3. Test de chimie des urines

Le test de chimie des urines se fait par l'introduire d'une bandelette dans le tube de l'urine jusqu'à mouillée et attend 60 secondes pour observer le résultat.

II.5. Technique histologiques

II.5.1. Préparation des cassettes porteurs les biopsies

On met les biopsies (fragments des tissus) dans le formole quelque jours, puis on prend les fragments des tissus et on les met dans les cassettes et ensuite on ajoute la paraffine pour fixer les fragments et en fin on met les cassettes dans le congélateur en -23°C pour la conservation (JULIE H., 2007).

II.5.2. Obtention des coupes histologique

- A l'aide d'un microtome, on fait les coupes histologique.
- On place la cassette qui porte la biopsie dans l'appareil (le microtome) et on fait le coupage par (18 μm puis 5, 8 ou 10 μm) pour obtenir des tranches fines (rubans).
- On met les tranches fines (rubans) dans un bain marie (à 37°C) durant quelques secondes ($\approx 1\text{min}$) pour la paraffine devient friable (détrempé).
- A l'aide des lames, on prend ces rubans du bain marie et on les place sur porte lame.
- Dans un étuve, on pose le porte lame à 110°C durant 7 minutes pour éliminer la paraffine (JEAN A et *al.*, 2008).

II.5.3. Coloration

La technique de coloration utilisée dans ce cas est la méthode éosine hématoxyline, et le tableau suivant indique les principales étapes de cette technique (JULIE H., 2007).

Tableau 02: Principaux étapes de coloration éosine hématoxyline (AUFFAN., 2007)..

La colorant	La duréed'influence
Xylène	2 min
Xylène	3 min
Ethanol 100	30 secondes
Ethanol 95	30 secondes
Ethanol 70	30 secondes
Eau	1 min
Hématoxyline	3-5 min
Eau	3 min
Eosine	5-7 min
Eau	3 min
Ethanol 70	30 secondes
Ethanol 95	30 secondes
Ethanol 100	30 secondes
Xylène	1 min
Xylène	1 min

- **Xylène:** utilisé pour éliminer complètement le paraffine restant après l'utilisation d'étuve.
- **Ethanol:** utilisé pour faciliter l'entré de colorants dans les cellules.
- **Eau de robinet:** utilisé pour le rinçage.
- **Hématoxyline de Harris:** utilisé pour colorer les noyaux des cellules.
- **Eosine:** utilisé pour colorer les cytoplasmes des cellules.

II.5.4. Montage

Après la coloration, on fait la fixation de lamelle sur la lame par eukitt (soit par spray "Fissy" soit par le chaleur), et en fin on obtient une lame préparée et conservée durant long temps (environ 10 ans) (JEAN A et *al.*, 2008)..

II.5.5. Observation

On utilise le microscope optique pour observer les résultats par l'agrandissement x 40.

II.6. Analyses statistiques

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne de cinq répétitions pour les témoins et dix répétition pour les lapins traités ($\pm$ l'écart type), et pour mieux visualiser les résultats on obtenus la représentation graphique choisie est celle des histogrammes, en utilisant l'office Excel 2007. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du l'Office Excel version 2007 et le minitab® 16. On utilise (TEST T) à un critère (traitement), avec $\alpha \leq 0.05$ pour les analyses significatives du facteur de traitement, et pour les comparaisons des moyennes. Qui sert à comparer entre deux échantillons (témoin et traité) si $P \leq \alpha / \alpha = 0.05$ il y a des différences significatives entre les moyennes et on rejette l'hypothèse d'égalité.

CHAPITRE II:
RESULTATS ET DISCUSSION

I. Résultats

Notre étude a été portée sur 15 échantillons des lapins; 05 témoins et 10 pour le traitement, l'âge moyen de ces animaux est de 3 à 4 mois, de poids de 700g à 1300g, et avec une prédominance féminine (12 femelles et 03 mâles).

Cette étude est concernée par la mesure des paramètres biochimiques et activités de l'ALAT et de l'ASAT, test de chimie des urines, les poids relatifs de chaque organe (foie, poumon, reins, rate et cœur) et les coupes histologiques des organes (foie, poumon, reins et rate) pour voir l'effet toxique de l'oxyde de fer sur ces derniers.

I.1. Paramètres biochimiques mesurés

Les paramètres biochimiques qui sont mesurés: Glucose, lipides (Triglycérides et cholestérol total), urée sanguin, créatinine, le fer et le FNS, et l'activité de l'ALAT et de l'ASAT.

I.1.1. Dosage de paramètres biochimiques et activités de l'ALAT et de l'ASAT

Pour chaque paramètre mesuré, nous présentons la valeur moyenne avec l'écart-type pour les témoins et les malades. Les tableaux ci-dessous et les figures suivantes (histogrammes graphiques pour chaque paramètre) présentent les concentrations des différents paramètres biochimiques-plasmatiques et résultats des activités enzymatiques de l'ALAT et de l'ASAT des lapins témoins et des lapins traités avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

I.1.1.1. Glucose

Le tableau et la figure ci-dessous montrent les résultats de la concentration de glucose des lapins témoins et traités avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Tableau 03 : Concentration de glucose des lapins témoins (Tm) et traités (E) avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Variable	Moyenne	Ecart type
Glycémie g/L (Tm)	2.12	0.52
Glycémie g/L (E)	*1.99	0.17

* $p \leq 0,05$: différence statistiquement significative.

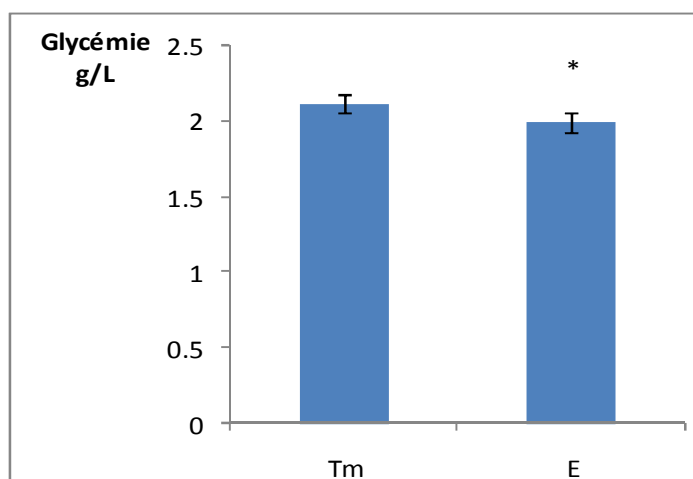


Figure 03: Glycémie des lapins traités (E) et des témoins (Tm).

Selon les résultats dans la **Figure 14**, on remarque que la concentration en glucose du lapins traités par rapport à celui du lapins témoins, présente une diminution significative.

I.1.1.2. Lipides (Triglycérides et cholestérol total)

Le tableau et la figure ci-dessous montrent les résultats de la concentration des lipides (Triglycérides et cholestérol total) des lapins témoins et traités avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Tableau 04 : Concentration des lipides (Triglycérides et cholestérol total) des lapins témoins (Tm) et traités (E) avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Variables	Moyenne	Ecart type
Cholestérol total g/L (Tm)	1.58	0.45
Cholestérol total g/L (E)	^{NS} 1.59	0.71
Triglycéride g/L (Tm)	1.53	0.39
Triglycéride g/L (E)	*2.80	1.55

NS $p > 0,05$: Non significatif ; * $p \leq 0,05$: différence statistiquement significative.

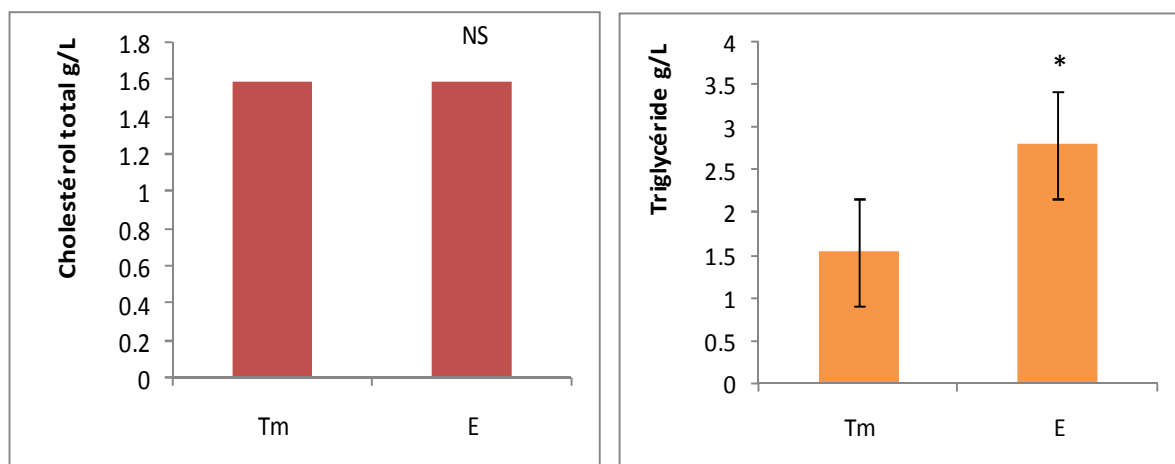


Figure 04: Concentration des lipides (Triglycérides et cholestérol total) des lapins traités (E) et des témoins (Tm).

Selon les résultats dans le **Tableau 04**, on remarque que la concentration en cholestérol total du lapins traités ne présente aucune différence statistiquement significative.

Par contre, la concentration en triglycérides du lapins traités par rapport à celui du lapins témoins, présente une augmentation significative.

I.1.1.3. Urée sanguin

Le tableau et la figure ci-dessous montrent les résultats de la concentration d'urée sanguin des lapins témoins et traités avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Tableau 05 : Concentration d' urée sanguin des lapins témoins (**Tm**) et traités (**E**) avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Variable	Moyenne	Ecart type
Urée sanguine g/L (Tm)	0.332	0.03
Urée sanguine g/L (E)	**0.38	0.04

** $p \leq 0,01$: différence hautement significative.

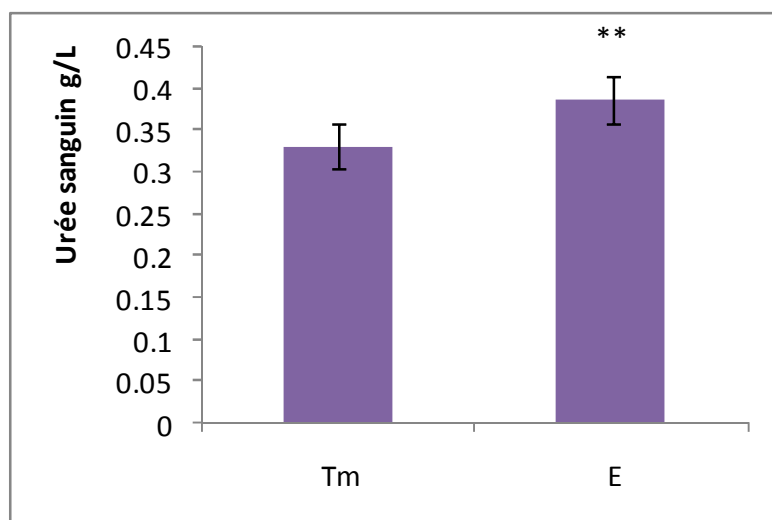


Figure 05: Variation du concentration d'urée sanguin des lapins traités (E) et des témoins (Tm).

Les résultats montrent que: Une élévation hautement significative de la concentration en urée sanguin du lapins traités par comparaison à celle du lapins témoins (**Tableau 05** et **Figure 16**).

I.1.1.4. Créatinine

Le tableau et la figure ci-dessous montrent les résultats de la concentration du créatinine sérique des lapins témoins et traités avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Tableau 06 : Concentration du créatinine sérique des lapins témoins (**Tm**) et traités (**E**) avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Variable	Moyenne	Ecart type
Créatinine mg/L (Tm)	10.5	1.37
Créatinine mg/L (E)	*11.98	1.57

* $p \leq 0,05$: différence significative.

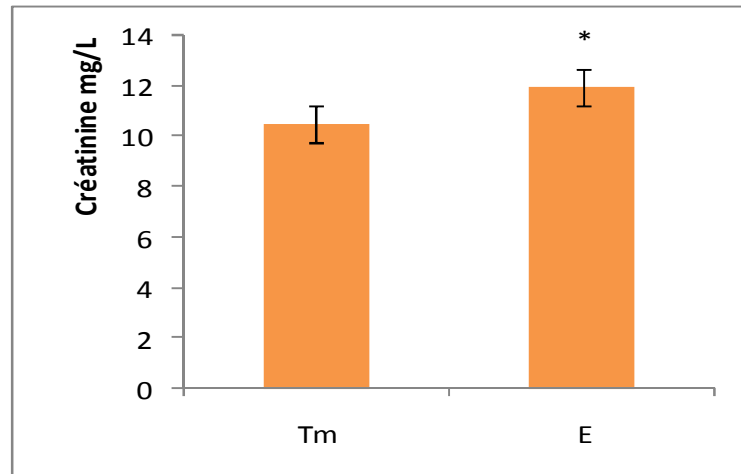


Figure 06: Concentration de la créatinine sérique des lapins traités (E) et des témoins (Tm).

D'après la **Figure 17**, les résultats montrent que: une augmentation de la concentration en créatinine sérique du lapins traités par comparaison à celle du lapins témoins. Cette augmentation est statistiquement significative.

I.1.1.5. Fer

Le tableau et la figure ci-dessous montrent les résultats de la concentration du fer des lapins témoins et traités avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Tableau 07 : Concentration du fer des lapins témoins (Tm) et traités (E) avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Variable	Moyenne	Ecart type
Fer $\mu\text{mol/L}$ (Tm)	19.1	6.15
Fer $\mu\text{mol/L}$ (E)	***26.34	4.56

*** $p \leq 0,001$: différence très hautement significative.

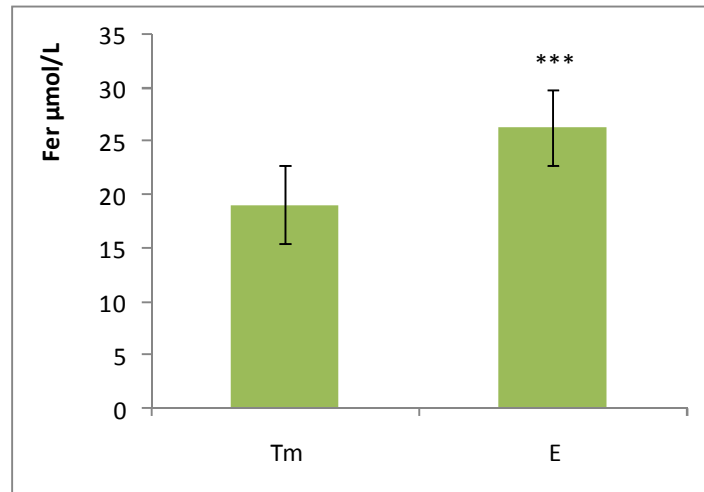


Figure 07: Concentration de fer des lapins traités (E) et des témoins (Tm).

L'analyse des résultats présentés sur la **Figure 18** permet de constater une augmentation de la concentration en fer du lapins traités par comparaison à celle du lapins témoins. Cette augmentation est statistiquement très hautement significative.

I.1.1.6. FNS

Le tableau et la figure ci-dessous montrent les résultats de FNS des lapins témoins et traités avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Tableau 08 : Résultats de FNS des lapins témoins (Tm) et traités (E) avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Variables		Moyenne	Ecart type
FNS	GB $\times 10^6$ /L (Tm)	6460	2639.69
	GB $\times 10^6$ /L (E)	^{NS} 6210	1887
	GR $\times 10^{12}$ /L (Tm)	5.684	0.57
	GR $\times 10^{12}$ /L (E)	^{***} 5.57	0.68
	Hb g/dl (Tm)	13.19	1.02
	Hb g/dl (E)	^{NS} 12.8	1.18
	Hte % (Tm)	39.56	4.01
	Hte % (E)	^{NS} 42.9	5.08
	PLT /L (Tm)	159	9.05
	PLT /L (E)	^{***} 228.2	30.63

NS $p > 0,05$: Non significatif; *** $p \leq 0,001$: différence très hautement significative.

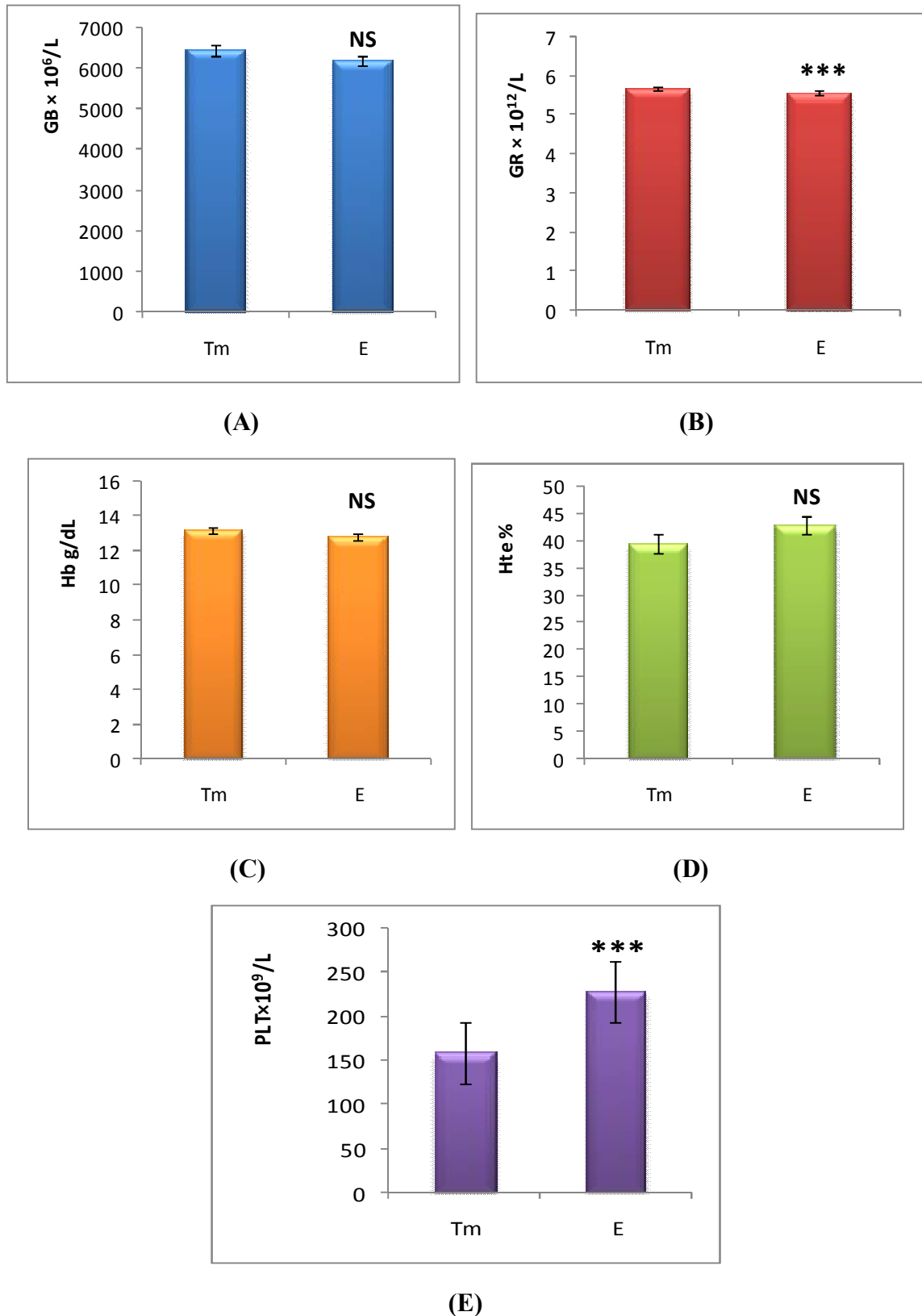


Figure 08: Résultats de FNS des lapins traités (E) et des témoins (Tm).

(A: globules blancs; B: globules rouges; C: hémoglobine; D: hématocrites; E: plaquettes)

D'après le **Tableau 08**, les résultats montrent que pour les globules blancs, l'hémoglobine et les hématocrites, on ne remarque aucune différence significative du lapins

traités par comparaison à celle du lapins témoins (différence statistiquement non significative). Par contre pour les globules rouges et les plaquettes, les résultats montrent que les lapins traités présentent une différence statistique très hautement significative (une augmentation significative pour les plaquettes et une diminution significative pour les globules rouges).¹⁰

I.1.1.7. Activités de l'ALAT (TGP) et de l'ASAT(TGO)

Le tableau et la figure ci-dessous montrent les résultats des activités enzymatiques de l'ALAT et l'ASAT des lapins témoins et traités avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Tableau 09 : Résultats des activités enzymatiques de l'ALAT et l'ASAT des lapins témoins (Tm) et traités (E) avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Variables	Moyenne	Ecart type
TGO UI/L (Tm)	16.2	4.20
TGO UI/L (E)	*27.9	14.66
TGP UI/L (Tm)	23.2	2.86
TGP UI/L (E)	**34.9	10.15

*p ≤ 0,05 : différence statistiquement significative; ** p ≤ 0,01 : différence hautement significative.

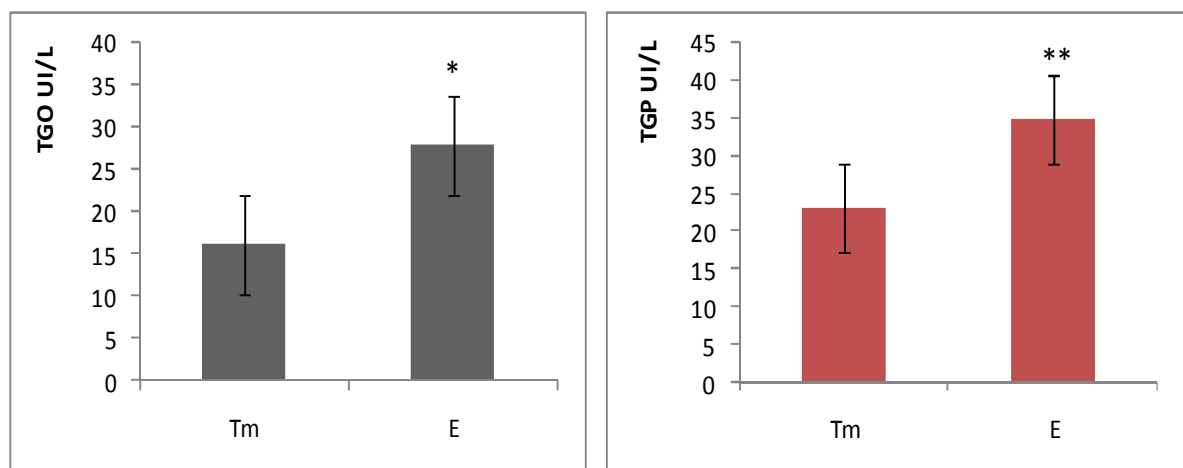


Figure 09: Concentration des transaminases; l'ALAT (TGP) et l'ASAT (TGO) des lapins témoins (Tm) et traités (E) avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Les résultats observés d'après la **Figure 20**, montrent que les lapins traités présentent une activité de l'ALAT différente à celle du lapins témoins avec une augmentation hautement significative.

Quant à l'ASAT, on constate une augmentation statistiquement significative de l'activité de cette enzyme des lapins traités par comparaison à celle des lapins témoins.

I.2. Résultats de chimie des urines

Après l'analyse on trouve que le PH moyen est 6 pour les lapins traités et témoins, et on remarque la présence importante du sang dans l'urine (++) et (+++) des lapins traités par rapport aux témoins.

I.3. Résultats des poids relatifs des organes

On a mesuré le poids relatif de chaque organe (foie, poumon, reins, rate et cœur) d'après cette relation; **Poids relatif (organe) = (Poids de l'organe (g) / Poids du corps (g)) × 100**. Alors les résultats de poids relatifs de chaque organe sont représentés sur les tableaux et les histogrammes suivantes.

I.3.1. Foie

Le tableau et la figure ci-dessous montrent les résultats du poids relatifs du foie des lapins témoins et traités avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Tableau 10: Poids relatifs du foie des lapins témoins (Tm) et traités (E).

Organe (Foie)	Moyenne	Ecart type
Poids relatifs en % (Tm)	2.93	0.98
Poids relatifs en % (E)	^{NS} 2.86	0.31

NS $p > 0,05$: Non significatif.

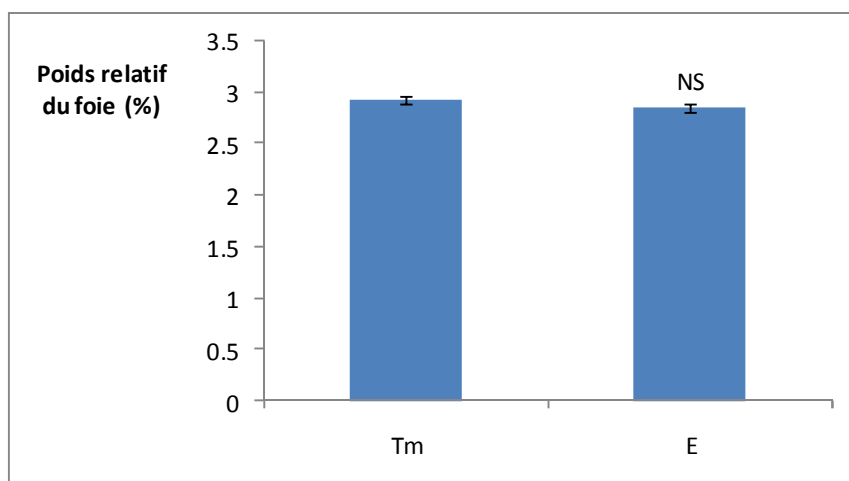


Figure 10: Variation de poids relatif de foie des lapins traités (E) et des témoins (Tm).

On n'observe pas aucun changement chez les lapins traités. Ils ont sensiblement les similaires poids relatifs du foie que les témoins (différence statistique non significative).

I.3.2. Poumon

Le tableau et la figure ci-dessous montrent les résultats du poids relatifs du poumon des lapins témoins et traités avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Tableau 11: Poids relatifs du poumon des lapins témoins (**Tm**) et traités (**E**).

Organe (Poumon)	Moyenne	Ecart type
Poids relatifs en % (Tm)	0.97	0.27
Poids relatifs en % (E)	***0.69	0.15

*** $p \leq 0,001$: différence très hautement significative.

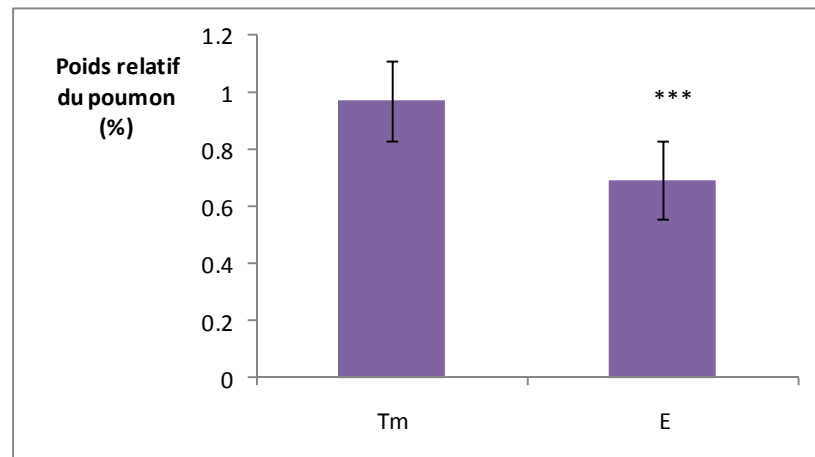


Figure 11: Variation de poids relatif de poumon des lapins traités (E) et des témoins (Tm).

Les résultats montrent : Une diminution statistiquement très hautement significative du poids relatif de poumon du lapins traités par rapport à celui du lapins témoins.

I.3.3. Reins

Le tableau et la figure ci-dessous montrent les résultats du poids relatifs du reins des lapins témoins et traités avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Tableau 12: Poids relatifs du reins des lapins témoins (**Tm**) et traités (**E**).

Organe (Reins)	Moyenne	Ecart type
Poids relatifs en % (Tm)	0.85	0.52
Poids relatifs en % (E)	^{NS} 0.83	0.16

NS $p > 0,05$: Non significatif.

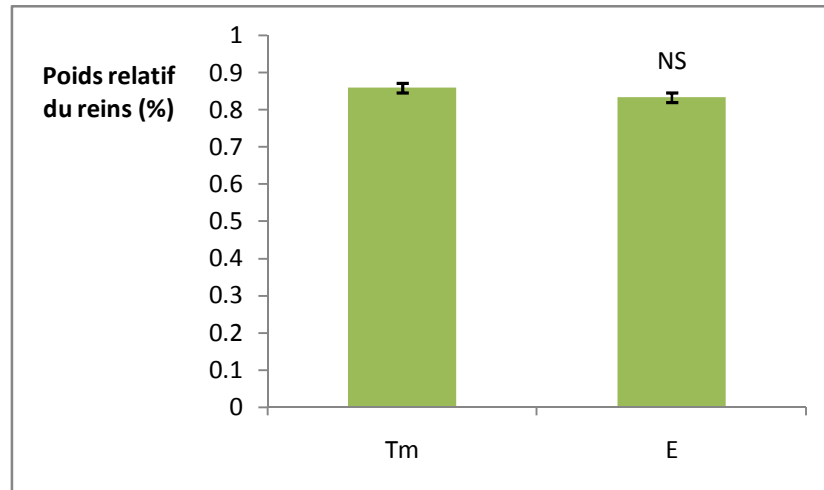


Figure 12: Variation de poids relatif de reins des lapins traités (E) et des témoins (Tm).

Les Résultats indiquent que tous les lapins traités présentent un poids relatif du reins sensiblement similaires à celui du lapins témoins (différence statistiquement non significative).

I.3.4. Rate

Le tableau et la figure ci-dessous montrent les résultats du poids relatifs du rate des lapins témoins et traités avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Tableau 13: Poids relatifs du rate des lapins témoins (Tm) et traités (E).

Organe (Rate)	Moyenne	Ecart type
Poids relatifs en % (Tm)	0.12	0.07
Poids relatifs en % (E)	^{NS} 0.10	0.03

NS $p > 0,05$: Non significatif.

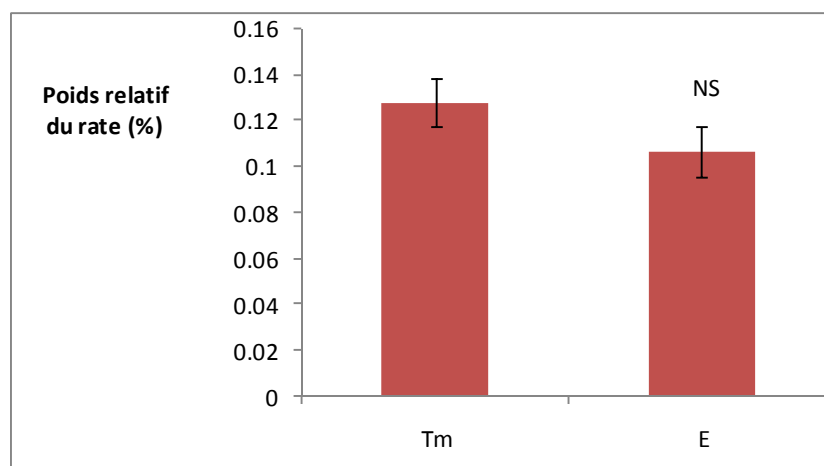


Figure 13: Variation de poids relatif de rate des lapins traités (E) et des témoins (Tm).

Les résultats montrent : Une différence statistiquement non significative du poids relatif de rate du lapins traités par rapport à celui du lapins témoins.

I.3.5. Cœur

Le tableau et la figure suivantes montrent les résultats du poids relatifs du cœur des lapins témoins et traités avec les nanoparticules d'oxyde de fer.

Tableau 14: Poids relatifs du cœur des lapins témoins (Tm) et traités (E).

Organe (Cœur)	Moyenne	Ecart type
Poids relatifs en % (Tm)	0.36	0.14
Poids relatifs en % (E)	**0.31	0.04

** $p \leq 0,01$: différence hautement significative.

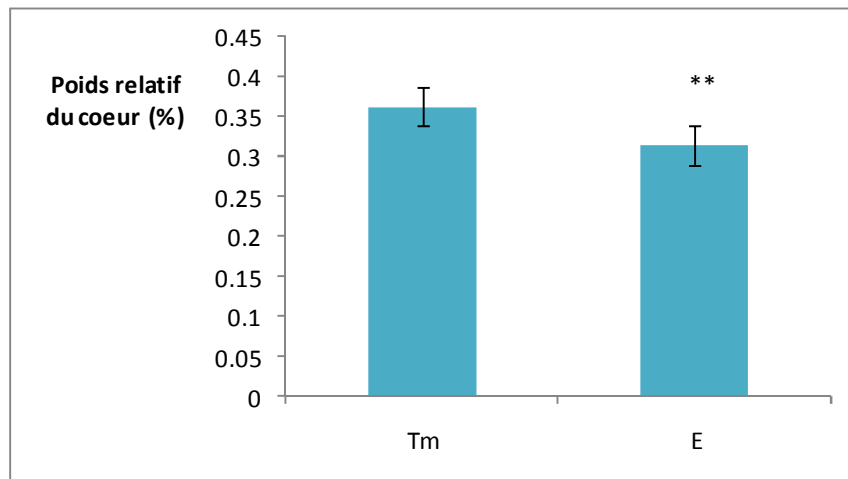


Figure 14: Variation de poids relatif de cœur des lapins traités (E) et des témoins (Tm).

Les résultats montrent : Une diminution hautement significative du poids relatif de cœur du lapins traités par rapport à celui du lapins témoins.

I.4. Résultats de l'étude histologique de certains organes

I.4.1. Foie

La figure suivante montre les résultats des coupes histologiques d'un foie de lapin témoins et d'autre foie endommagé de lapin après traitement avec une dose de nanoparticules d'oxyde de fer.

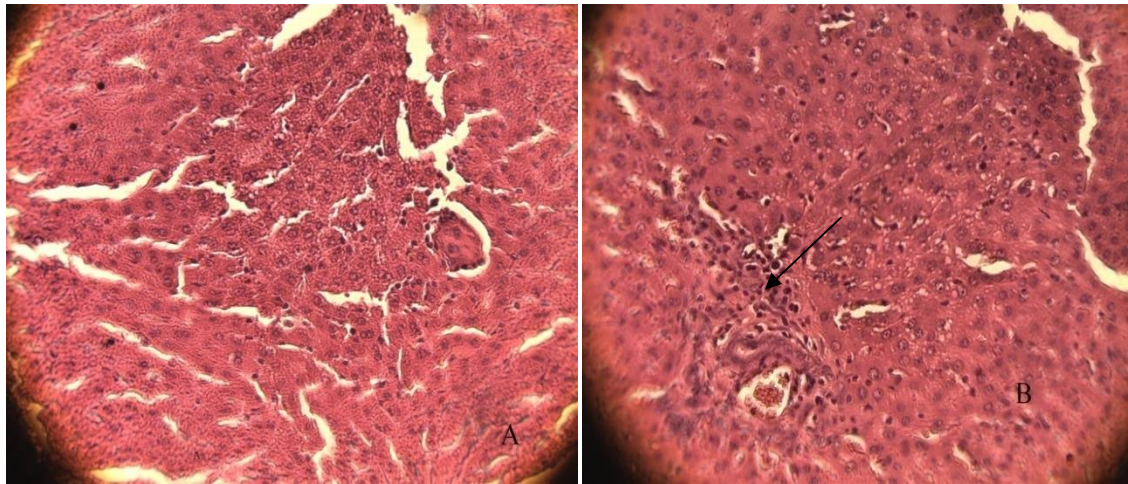


Figure 15: Observation microscopique d'une coupe histologique d'un foie de lapin, indique les changements morphométriques après traitement avec dose de nanoparticules d'oxyde de fer, agrandissement x 400 (**Photo originale., 2015**).

A (Figure à gauche) : Foie normal de lapin comme un contrôle.

B (Figure à droite): le foie endommagé de lapin après traitement avec une dose de nanoparticules d'oxyde de fer (nécroses cellulaires au niveau le flèche).

Si on compare l'histologie du tissu hépatique des lapins traités avec les témoins, on remarque la présence de nécroses cellulaires; c'est une inflammation des lymphocytes c'est-à-dire la présence d'une hépatite hémorragique légère (**Figure 15 A et B**).

I.4.2. Poumon

La figure suivante montre les résultats des coupes histologiques d'un poumon de lapin témoins et d'autre poumon endommagé de lapin après traitement avec une dose de nanoparticules d'oxyde de fer.

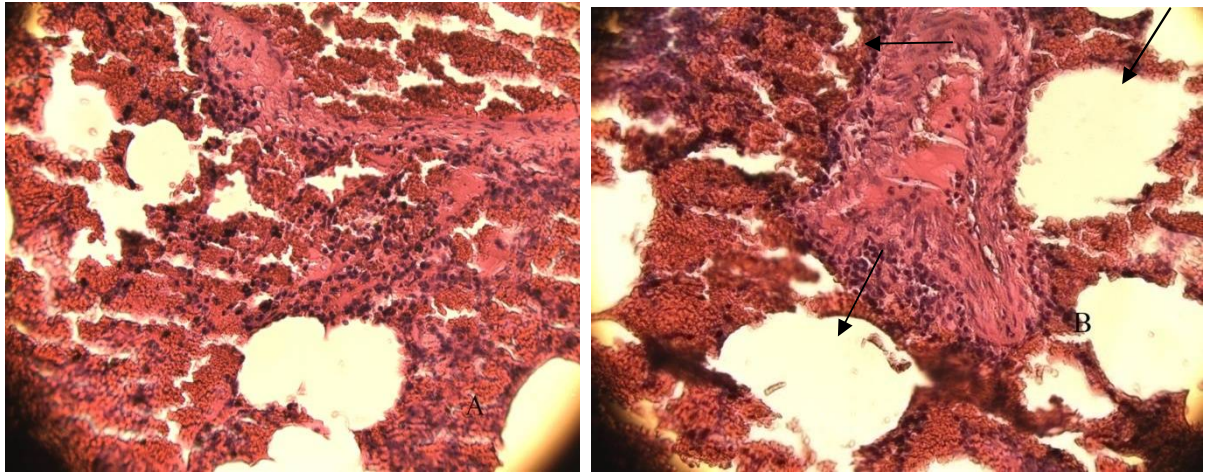


Figure 16: Observation microscopique d'une coupe histologique d'un poumon de lapin, indique les changements morphométriques après traitement avec dose de nanoparticules d'oxyde de fer, agrandissement x 400 (**Photo originale., 2015**).

A (Figure à gauche): Poumon normal de lapin comme un contrôle.

B (Figure à droite) : le poumon endommagé de lapin après traitement avec une dose de nanoparticules d'oxyde de fer (nécroses cellulaires et destruction alvéolaire au niveau les flèches).

L'histologie du poumon des lapins traités montre une présence d'une alvéolite c'est-à-dire la présence de destruction des alvéoles par comparaison aux lapins témoins. On remarque alors la présence de nécroses cellulaires; c'est une inflammation légère (**Figure 16 A et B**).

I.4.3. Reins

La figure suivante montre les résultats des coupes histologiques des reins de lapin témoins et d'autre endommagé de lapin après traitement avec une dose de nanoparticules d'oxyde de fer.

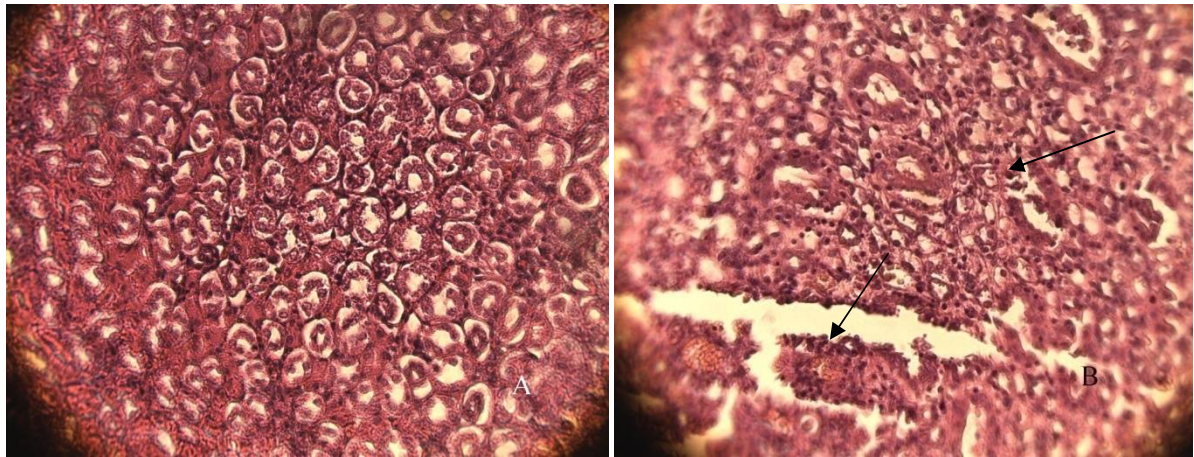


Figure 17: Observation microscopique d'une coupe histologique des reins de lapin, indique les changements morphométriques après traitement avec dose de nanoparticules d'oxyde de fer, agrandissement x 400 (**Photo originale., 2015**).

A (Figure à gauche): Rein normal de lapin comme un contrôle.

B (Figure à droite): le rein endommagé de lapin après traitement avec une dose de nanoparticules d'oxyde de fer (inflammation au niveau les glomérules et leur entourage au niveau les flèches).

Par comparaison aux lapins témoins, l'histologie du reins des lapins traités montre une présence d'une inflammation au niveau les glomérules et leur entourage (**Figure 17 A et B**).

I.4.4. Rate

La figure suivante montre les résultats des coupes histologiques de rate de lapin témoins et d'autre rate de lapin traité avec une dose de nanoparticules d'oxyde de fer.

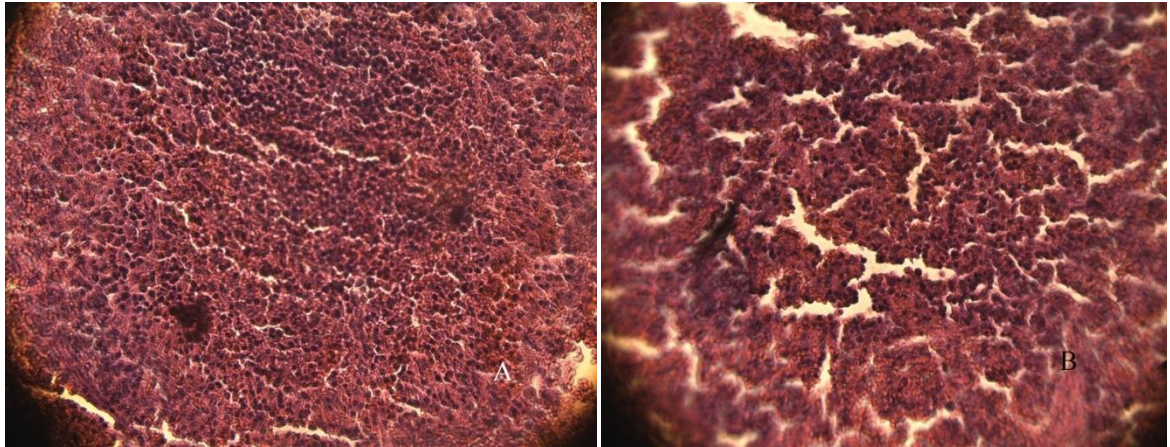


Figure 18: Observation microscopique d'une coupe histologique de rate de lapin, indique les changements morphométriques après traitement avec dose de nanoparticules d'oxyde de fer, agrandissement x 400 (**Photo originale., 2015**).

A (Figure à gauche): Rate normal de lapin comme un contrôle.

B (Figure à droite): le rate endommagé de lapin après traitement avec une dose de nanoparticules d'oxyde de fer.

L'histologie du rate de tous les lapins traités ne témoigne aucune anomalie par comparaison aux lapins témoins (**Figure 18 A et B**).

II. Discussion

L'objectif de cette étude est l'étude et la détermination de l'effet toxique de l'oxyde de fer nanoparticule sur quelques paramètres biologiques chez les lapins.

Cette étude est concernée par la mesure des paramètres biologiques et activités de l'ALAT et de l'ASAT, test de chimie des urines, les poids relatifs de chaque organe (foie, poumon, reins, rate et cœur) et les coupes histologiques des organes (foie, poumon, reins et rate) pour voir l'effet toxique de l'oxyde de fer nanoparticule sur ces derniers.

II.1. Paramètres biochimiques et activités de l'ALAT et de l'ASAT

L'étude des paramètres suivant: Glycémie, lipides (Triglycérides et cholestérol total), acide urique, "les marqueurs" de la toxicité rénale (urée sanguin et créatinine), le fer, le FNS, et l'activités de l'ALAT et de l'ASAT a montré que :

Pour la glycémie, les mesures prises après sacrifice des lapins traités ont montré une hypoglycémie significative, il y a eu donc un effet de l'oxyde de fer nanoparticule sur cette paramètre. Cette hypoglycémie peut s'expliquer que par une augmentation de la sécrétion de l'insuline (ABHIJT et *al.*, 2014). La diminution de la concentration de cette paramètre est à relier au dysfonctionnement pancréatique chez les lapins à cause de l'effet des nanoparticules de l'oxyde de fer sur les cellules pancréatiques β ; qu'ils sont augmentés la sécrétion de l'insuline (SHEN., 2009).

En ce qui concerne le dosage des paramètres lipidiques effectués, on retrouve une augmentation significative des triglycérides des lapins traités par comparaison à celle des lapins témoins. Ce qui confirme que l'oxyde de fer nanoparticule a eu un effet toxique sur cette paramètre. Les lapins traités présentent une différence non significative ($p > 0,05$) de la concentration en cholestérol total par comparaison aux lapins témoins, il n'y a pas eu donc aucun effet toxique sur cette paramètre. Les mêmes résultats ont été rapportés par (NEENU., 2007), sur l'action d'IONPS sur les triglycérides, et par (NICOLAS., 2013), sur l'effet d'IONPS, sur le cholestérol total. Plusieurs études sur les animaux ont mentionné que l'effet d'IONPS pourrait être toxique sur ces paramètres (NOT., 2006).

L'urée et la créatinine sont des marqueurs significatifs de la fonction rénale (PAULY., 2012). Il apparaît que la concentration en urée et en créatinine des lapins traités est sensiblement différente à celle des lapins témoins avec une élévation significative pour la concentration en créatinine (créatininémie), qui confirme que l'oxyde de fer nanoparticule a eu un grand effet toxique sur cette paramètre, et avec une élévation hautement significative

pour la concentration en urée (l'urémie). Ce qui confirme que l'oxyde de fer nanoparticule a eu un grand effet toxique sur les reins durant le traitement. L'élévation de la concentration de ces deux paramètres est à relier au dysfonctionnement rénal chez les rats (PIVA., 2008), résultant de la toxicité d'IONPS sur les reins (néphropathie). Des études ont montré la néphrotoxicité d'IONPS sur les reins d'animaux (PRIPREM., 2010).

Le fer est un oligo-élément minéral qui entre dans la composition de l'hémoglobine des globules rouges, de la myoglobine des muscles, et de nombreuses réactions enzymatiques nécessaires à la respiration des cellules. On constate une augmentation très hautement significative (il y a une différence statistiquement très hautement significative) de la concentration de fer du lapins traités par comparaison à celle du lapins témoins. Il y a donc un effet élevé de l'oxyde de fer nanoparticule sur cette paramètre. Ce résultat pourrait être lié à la toxicité de l'oxyde de fer sur le poumon (inflammation et destruction des alvéoles), le foie et les reins, et a été retrouvé par certains auteurs (RICAUD., 2012) et par (ROJAN., 2011).

En ce qui concerne le FNS, les résultats ont montrés que pour les globules blancs, l'hémoglobine et les hématocrites, il n'y a aucune différence statistique significative du lapins traités par comparaison à celle du lapins témoins (différence statistiquement non significative), c'est à dire il n y a pas donc aucun effet toxique sur ces paramètres. Cependant l'étude de (ROJAS et *al.*, 2009) a montré que l'oxyde de fer nanoparticule a un effet sur l'hémoglobine et les hématocrites chez les rats. Par contre pour les globules rouges et les plaquettes, les résultats montrent que les lapins traités présentent une différence statistique très hautement significative. Ce qui confirme que l'oxyde de fer nanoparticule a eu un effet toxique élevé sur ces paramètres, et a été retrouvé par certains auteurs (POLYAK et *al.*, 2009). L' intérêt du dosage des globules rouges c'est une baisse peut être liée à une hémorragie, une hémolyse, une maladies hématologiques ou médullaires osseuses, ainsi qu'à un syndrome inflammatoire : maladies infectieuses, maladies hématologiques, anémies inflammatoires et maladies de l'hémoglobine . Le dosage des plaquettes est pour dépister un risque hémorragique, ou les syndromes infectieux ou inflammatoires après une hémorragie importante (OLIVIER., 2011).

L'ASAT et l'ALAT sont deux enzymes hépatiques et leur rôle est de transférer un groupe amine lors des nombreux processus chimiques qui se déroulent au niveau hépatique (RYE., 2009). Leur augmentation est due principalement à leur fuite à travers le cytosol hépatique et leur déversement dans le flot sanguin (SABA., 2010; NAJAFI et *al.*, 2012). Leur

activité est proportionnelle au degré de dommages hépatiques (SACOTI., 2012). Ils sont donc deux bons indicateurs de l'hépatotoxicité (SHEN., 2009; SONG et *al.*, 2007). Le dosage de leur activité a révélé que les lapins traités présentent une activité de l'ALAT différente à celle du lapins témoins avec une augmentation hautement significative (différence statistique hautement significative) et pour l'ASAT, on constate une augmentation significative (différence statistiquement significative) de son activité du lapins traités par comparaison à celle du lapins témoins. Il y a eu donc à priori de toxicité hépatique ou bien qu'il y a un élevé effet toxique de l'oxyde de fer nanoparticule. Certaines études ont mentionné que l'étendue des lésions hépatiques dépend de la quantité et de la voie d'injection d'IONPS (NOT., 2006).

II.2. Chimie des urines

Les résultats obtenus par l'analyse des urines, montrent une présence importante de sang dans les urines des lapins traités par rapport les témoins, cette présence traduit également un dysfonctionnement rénal (GAW et *al.*, 2004).

II.3. Poids relatifs des organes

En plus de l'étude de l'effet des nanoparticules de l'oxyde de fer, nous n'avons pas omis d'étudier ses effets toxiques possibles sur certains organes (foie, poumon, reins, rate et cœur) en mesurant leur poids relatifs; car il est admis que l'augmentation de ce dernier est un indicateur de la toxicité des substances administrées (XU., 2007).

Tous les poids relatifs des organes (foie et reins) des lapins traités par l'oxyde de fer nanoparticule ont présenté une différence non significative, c'est à dire il n'y a aucun effet d'IONPS sur les organes. Les résultats différentes ont été rapportés par (MIRKOVIC et *al.*, 2010), sur l'action d'IONPS sur les poids du foie, et par (WICK., 2009), sur l'effet d'IONPS, sur les poids du reins, leurs résultats sont en faveur du présence d'hépto-toxicité d'IONPS et du présence un grand effet toxique de l'oxyde de fer nanoparticule sur les reins avec une dose de 12 mg/ kg, mais la dose utilisée dans notre étude n'atteindre pas à la seuil qui provoque une hypertrophie. Ces résultats ne sont conformes aux notre résultats retrouvés dans le dosage de l'activité des deux enzymes: ASAT et ALAT et dans le dosage de l'urée et la créatinine. En effet tous les lapins traités ont des coupes histologiques anormales, du foie et du reins, et a été retrouvé par certains auteurs (BABES et *al.*, 1999; MIRKOVIC et *al.*, 2010).

Les poids relatifs du poumon des lapins traités par l'oxyde de fer nanoparticule ont présentés une diminution très hautement significative par rapport à celui du lapins témoins c'est à dire il y a un effet élevé d'IONPS sur le poumon. Ce résultat pourrait être lié à la

toxicité de l'oxyde de fer (inflammation et destruction des alvéoles), et a été retrouvé par certains auteurs (WAHAJUDDIN et *al.*, 2012) et par (HALENG et *al.*, 2007). On peut dire donc qu'il y a une hypotrophie du poumon, il désigne la diminution du volume d'un organe par rapport aux modifications anatomiques dues à des altérations de son fonctionnement (GABRIELA et *al.*, 2005).

Concernant le poids relatifs du rate des lapins traités par l'oxyde de fer, les résultats ont présentés une différence statistiquement non significative par rapport à celui du lapins témoins c'est à dire il n'y a aucun effet d'IONPS sur la rate. Les mêmes résultats ont été rapportés par (AUFFAN., 2007; GAW et *al.*, 2004), sur l'action d'IONPS sur la rate . Ce qui confirme que les résultats des coupes histologiques de la rate des lapins traités ont ne montrent aucune anomalie par comparaison aux lapins témoins. Car son rôle est lymphoïde et également elle a un rôle important pour la dégradation des globules rouges âgés (ELLEUCH., 2008; XU., 2007).

En ce qui concerne le poids relatif du cœur des lapins traités présente une diminution statistiquement hautement significative par rapport à celui des lapins témoins, ce qui pourrait vouloir signifier que l'IONPS pourrait être la cause d'une toxicité (GABRIELA et *al.*, 2005). Les résultats ont montré que le présence d'un grand effet toxiques d'IONPS sur le cœur. Ce résultat est conformé aux résultats retrouvés par (BOURGKARD et *al.*, 2009), sur l'action d'IONPS sur les poids du cœur. Donc il y a une hypotrophie du cœur, il désigne la diminution de volume du cœur en rapport avec les modifications anatomiques dues à des altérations de son fonctionnement. L'hypotrophie du cœur est due à la diminution du volume de chaque cellule cardiaque, puisque celles-ci ont perdu leur pouvoir de se reproduire. C'est grâce à un entraînement physique intense que le cœur va s'hypotrophier (BOWES., 2013).

II.4. Etude des coupes histologiques

L'étude histologique réalisée révèle que l'examen des coupes de foie montre une présence de quelques nécroses cellulaires et une inflammation des lymphocytes c'est-à-dire la présence d'une hépatite hémorragique légère. La destruction de certaines cellules hépatique expliquerait le taux des enzymes transaminases ASAT (TGO) et ALAT (TGP) observé chez les lapins traités (BECHET et *al.*, 2011). Le foie est le principal site de biotransformation et de défense contre les éléments étrangers du corps humain (BARATLI et *al.*, 2013). Alors l'activité de ces enzymes est normalement utilisée pour évaluer la fonction de foie. En temps normal, ces enzymes résident dans les cellules du foie. Mais quand le foie est blessé, ces enzymes sont renversées dans la circulation sanguine (BABES et *al.*, 1999).

Les coupes histologiques du poumon des lapins traités présentent une alvéolite c'est-à-dire la présence de destruction des alvéoles par comparaison aux lapins témoins avec la présence de nécroses cellulaires; c'est une inflammation légère. Ces lésions tissulaires expliqueraient la toxicité pulmonaire s'agit de déterminer la cytotoxicité de nanoparticules et leur capacité à induire une réponse cellulaire de type nécrotique ou apoptotique (mort cellulaire) (NOT., 2006).

Les dégâts des membranes de macrophages alvéolaire, pneumocytes ont indiqué la toxicité d'IONPS. l'Application de ces NPS a causé la blessure permanente aux membranes cellulaires, avec la perturbation des composants oligosaccharide structuraux dans les membranes cellulaires (GABRIELA *et al.*, 2005).

D'autres études mentionnent également que les changements pathologiques de l'épithélium alvéolaire peuvent avoir un rôle important dans l'initiation et la maintenance de processus inflammatoires dans les poumons. Les cellules épithéliales alvéolaires produisent un certain nombre de molécules par lesquelles ils peuvent régler les inflammations et des réactions immunitaires dans le microenvironnement alvéolaire (XU., 2007).

En plus de l'étude de les coupes histologiques réalisée révèle que l'examen des coupes du reins des lapins traités présente une inflammation au niveau les glomérules et leur entourage.

Le rein est le principal organe de filtration et d'élimination de toxiques présents dans la circulation. Certaines nanoparticules sont excrétées par les reins (MIRKOVIC *et al.*, 2010). Ce résultat pourrait être lié à les résultats de chimie des urines, la présence importante de sang dans les urines des lapins traités expliquerait également un dysfonctionnement rénal, et a été retrouvé par certains auteurs (GAW *et al.*, 2004). Et il pourrait être lié à l'intérêt du dosage de la créatinine et d'urée plasmatique c'est pour dépister l'insuffisance rénale, soit augmentation de la créatininémie (créatinine dans le sang), soit augmentation de l'urémie (urée dans le sang) (OLIVIER., 2011).

Les résultats des coupes histologiques du rate des lapins traités ont ne montré aucune anormalité par comparaison aux lapins témoins, Cela pourrait signifier que les IONPS ne présentent pas aucuns effets sur la rate. Les mêmes résultats ont été rapportés par (ROJAS *et al.*, 2009) et par (ABHIJIT *et al.*, 2014), sur l'effet de d'IONPS sur la rate. La rate est l'organe lymphoïde le plus volumineux du corps. Son rôle est lymphoïde mais elle a également un rôle important pour la dégradation des globules rouges âgés (ELLEUCH., 2008).

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Ce travail avait pour objectif principal l'étude de l'effet toxique des nanoparticules de l'oxyde de fer sur quelques paramètres biologiques. La dose utilisée pour le traitement est de concentration de 75 µg/ml. Pour cela, nous avons porté notre attention sur l'étude des paramètres biochimiques, chimie des urines, poids relatifs de quelques organes et les coupes histologiques chez le groupe des témoins et le groupe des lapins traités pour faire une comparaison entre elles.

Cette étude a permis de tirer les conclusions suivantes:

Pour les paramètres biochimiques, on marque une diminution statistiquement significative pour la concentration du glycémie (hypoglycémie). Pour les lipides; on marque une augmentation significative pour la concentration des triglycérides, et une différence non significative pour le CT; c'est à dire il y a un effet sur les TG et il n'y a aucune influence de l'oxyde de fer sur le cholestérol totale. Aussi on remarque une augmentation significative pour l'US et la créatinine; donc il y a un grand effet de traitement sur ces paramètres, L'élévation de la concentration de ces deux paramètres est à relier au dysfonctionnement rénal. Et pour le fer il y a une augmentation très hautement significative, donc il y a un effet élevé de traitement sur ce paramètre. Concernant la concentration des transaminases (TGO et TGP), on remarque une augmentation significative, ils sont donc deux bons indicateurs de l'hépatotoxicité.

Pour le FNS on remarque une différence non significative pour les GB, Hb et Hte; et une diminution très hautement significative pour les GR et une augmentation très hautement significative pour les PLT chez les lapins traités par les nanoparticules de l'oxyde de fer, donc ce qui confirme que la présence d'une hémolyse et d'une inflammation.

Pour le test de chimie d'urine on remarque la présence importante du sang dans l'urine des lapins traités. Ces résultats montrent une présence importante de sang dans les urines des lapins traités par rapport aux témoins, cette présence traduit également un dysfonctionnement rénal.

Concernant les poids relatifs des organes on remarque un effet élevé de traitement sur le poids des poumons des lapins traités par rapport aux témoins, qui montrent une diminution très hautement significative, et pour le cœur on remarque une diminution hautement significative; donc il y a un grand effet de traitement leurs poids, alors il y a une hypotrophie

de ces organes. Et on n'observe aucune influence sur le poids des foie, reins et rates car les résultats montrent une différence non significative.

Pour les coupes histologiques des organes étudié, on marque une inflammation des lymphocytes et des hépatocytes donc il y a une présence d'une hépatite hémorragique légère au niveau du foie.

L'histologie du poumon des lapins traités montre une présence d'une alvéolite c'est-à-dire la présence de destruction des alvéoles par comparaison aux lapins témoins. On remarque alors la présence de nécroses cellulaires (inflammation légère). Pour les reins des lapins traités montre une présence d'une inflammation au niveau des glomérules et leur entourage. Et pour la rate de tous les lapins traités ne témoigne aucune anomalie par comparaison aux lapins témoins.

En générale, la concentration utilisé de l'oxyde de fer nanoparticules dans cette étude induite une intoxication dans l'organisme des lapins traités par rapport aux lapins témoins. Et pour mieux de résultats de l'effet de l'oxyde de fer sur la variation de ces paramètres, il faut améliorer autres conditions sur l'expérience qui sont comme le suivant:

- L'augmentation de la dose utilisée de l'oxyde de fer .
- L'utilisation au moins de deux doses différentes de l'oxyde de fer pour faire une comparaison entre elle.
- La prolongation de la durée de l'expérience.

Références bibliographiques

- ABHIJIT S., PARAMES C., 2014- Iron oxide nanoparticles mediated cytotoxicity via PI3K/AKT pathway: Role of quercetin. *Annale de ELSEVIER*. vol. 71(1) : 1-10.
- ALAIN D., 2008- Physiologie et régulation du FER. *Annale de UFRSMBH*. vol. 9(1) : 1-62.
- ALIS S., 2003- Characterization of Biophysical and Metabolic Properties of Cells Labeled with Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles and Transfection Agent for Cellular MR Imaging. *Annale de RSNA*. vol. 229 (3) : 1-9.
- ALLOUN K., 2011- Etude de la cytotoxicité des nanoparticules d'oxydes de fer. *Mémoire toxicologie*. Paris. LIAB. 22p.
- APOPA P., 2009- Iron oxide nanoparticles induce human microvascular endothelial cell permeability through reactive oxygen species production and microtubule remodeling. *Annale de PFT*. vol. 6(1) : 1-14.
- AUFFAN M., 2007- Nanoparticules d'oxydes métalliques : relations entre la réactivité de surface et des réponses biologiques. Thèse doctorat géosciences de l'Environnement. Marseille. Université Paul Cézanne Aix-Marseille III. 205p.
- BABADI Y., 2013- Evaluation of Iron Oxide nanoparticles effects on tissue and Enzymes of Thyroid in Rats. *Annale de l'ISSN*. vol. 2 (7) : 1-3.
- BABES L., DENIZOT B., TANGUY G., 1999- Synthesis of iron oxide nanoparticles used as MRI contrast agents: A parametric study. *Annale de JCIS*. vol. 21(2) : 1-12.
- BARATLI Y., CHARLES A., WOLFF V., BEN TAHAR L., SMIRI L., BOUITBIR J., ZOLL J., PIQUARD F., TEBOURBI O., SAKLY M., HAFEDH A., BERNARD G., 2013- Impact of iron oxide nanoparticles on brain, heart, lung, liver and kidneys mitochondrial respiratory chain complexes activities and coupling. *Annale de ELSEVIER*. vol. 27(1) : 1-7.
- BASTARACHE E., 2004- Oxyde de fer et hématite. *Annale de SCFR*. vol. 19(12) : 1-7.
- BECHET D., SEVE A., PERNOT M., 2011- Application des nanoparticules à la thérapie photodynamique. *Annale de NANO*. vol. 16(1-5) : 1-2.
- BERGERON B., 2014- Synthèse de nanoparticules à structure coeur-coquille d'oxyde de fer et d'or. *Mémoire maîtrise en chimie*. Canada. LAVAL. 56p.

- BORDESSOULE D., 2006- L'erythropoïèse et étude dynamique du fer. Annale de FACMD. vol. 2(1) : 1-33.
- BOURGKARD E., WILD P., COURCOT B., DISS M., 2009- Mortalité par cancer du poumon et exposition aux oxyde de fer dans une usine sidérurgique française. Annale d'INRS. vol. 66(3) : 1-12.
- BOWESE B., 2013- L'hypertension pulmonaire (hypertension artérielle pulmonaire). Annale de UOHI. vol. 6(1) : 1-2.
- BRUNO M., 2007- Nanocomposites d'oxydes de fer en couches minces. Etudes de leur élaboration et de leurs propriétés en vue de leur utilisation comme matériaux sensibles pour la détection thermique. Thèse doctorat Sciences et génie des matériaux. Toulouse. PUCVL. 226p.
- CHARPIGNY D., 2010- Quantification des nanoparticules à base d'oxyde de fer pour l'IRM moléculaire. Approche basée sur la déconvolution du défaut de champ magnétique. Thèse doctorat électronique, électrotechnique, automatique. France. INSAL. 190p.
- DANTAGNAN P., 2009- Les différentes constantes biologiques du sang et des urines. Annale de MGAR. vol. 17(1) : 1-31.
- DAOU T., 2007- Synthèse et fonctionnalisation de nanoparticules d'oxydes de fer magnétiques. Thèse doctorat physique et chimie-physique des matériaux. Strasbourg I. ULP-IPCMS. 258p.
- DAZZAZI A., 2013- Synthèse et caractérisation des nanoparticules d'oxydes métalliques par voie organométallique : vers des applications biomédicales. Thèse doctorat chimie organométallique et de coordination. France. UPSTF. 155p.
- DELAMAR F., 2009- Les pigments à base d'oxyde de fer et leur utilisation en peinture pariétale et murale. Annale de EMP. vol. 17(1) : 1-12.
- DONZE N., 2010- Paramètres biochimiques du métabolisme du fer. Annale de ICHV. vol. 12(11) : 1-2.
- ELLEUCH H., 2008- Le fer : métabolisme et explorations. Annale de FAMS. vol. 9(15) : 1-17.
- FILLET G., 1978- Le cycle de fer physiopathologie et exploration. Annale de FNRS. vol. 1(6) : 1-7.
- GABRIELA C., VASIL E., DUMITRU C., COJOCAR U., COSTIC M., ELENA C., 2005- L' étude de l'activité des quelques enzymes du stress oxydatif dans le tissu musculaire a des différents cyprinidés de culture. Annale de SAUAC. vol. 7(1) : 1-4.

- GANDI K., 2005- Détermination des paramètres hématologiques et biochimiques des petits ruminants du Tchad. Annale de LRVZF. vol. 156(4) : 1-5.
- GATE L., DARNE C., BINET S., 2011- Evaluation de la toxicité pulmonaire de particule de Fe₂ O₃ nano- et submicrométriques par instillation intratrachéale chez le rat Spragne Dawley. Annale d'INRS. vol. 6(1-9) : 1-2.
- GAW A., MURPHY M.J., COWAN R.A., OREILLY D., STEWART M.J., SHEPHERD J., 2004- Biochimie Clinique. Ed. Elsevier-SAS, France. 116p.
- HALATTE V., 2007- Nanotechnologies, Nanomatériaux et Nanoparticules Quels impacts ? sur l'homme et l'environnement. Annale de l'INERIS. vol. 12(1-3) : 1-20.
- HALENG J., PINCEMAIL C., DEFRAIGNE J., CHARLIER C., CHAPELLE J., 2007- Le stress oxydant. Annale de REVML. vol. 62(10) : 1-11.
- HORDE P., 2014- L'oxyde de fer est employé comme produit de contraste pour pratiquer l'imagerie médicale de résonance magnétique nucléaire (IRM). Annale de PCMD. vol. 3(1) : 1-6.
- JEAN A., MARTIN C., JEAN J M., ESTELLE E., GEORGES K., JACQUES P., 2008- Histologie : les tissus. Annale de PAES. vol. 14(2) : 3-15.
- JULIE H., 2007- Les colorations histologiques: colorations de routine et colorations spéciales. Annale de IRIC. vol. 8(3) : 1-27.
- LACAVA Z., AZEVEDO R., MARTINS E., 1999- Biological effects of magnetic fluids: Toxicity studies. Annale de JMMM. vol. 20(1-3) : 1-4.
- LEI L., 2013- Toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Research strategies and implications for nanomedicine. Annale de Chin. Phys. B. vol. 22(12) : 1-10.
- LUBBE AS., ALEXIOU C., BERGEMANN C., 2001- Clinical applications of magnetic drug targeting. Annale de JSRS. vol. 95(2) : 1-6.
- LUM H., ROEBUCK A., 2001- Oxidant stress and endothelial cell dysfunction. Annale de AJPCP. vol. 28(4) : 1-25.
- MAHMOUDI M., SANT S., WANG B., LAURENT S., SEN T., 2011- Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): development, surface modification and applications in chemotherapy. Annale d'INRS. vol. 63(24) : 1-12.
- MAURIZI L., 2012- Elaboration de nanoparticules fonctionnelles : applications comme agents de contraste en IRM. Thèse doctorat chimie physique. France. UBCNRS. 255p.

- MICHAELA C., HOHNHOLT A., MARK G., RALF D., 2011- Treatment with iron oxide nanoparticles induces ferritin synthesis but not oxidative stress in oligodendroglial cells. *Annale de ELSEVIER*. vol. 7(1) : 1-9.
- MILOSEVICI I., 2009- Emulsions structurées et nanoparticules magnétiques dans un hydrogel: réalisation, caractérisation et validation en tant que système de délivrance thermomagnétique. Thèse doctorat physique et chimie de la matière et des matériaux. France. PUCVL. 171p.
- MIRKOVIC B., LAH-TURNSEK T., KOS J., 2010- Nanotechnology in the treatment of cancer. *Annale d'INRS*. vol. 79(15) : 1-15.
- NAJAFI L., BABADI Y., NAJAFI A., GHOLAMI H., BEIGI M., GOLZADEH J., AMRAIE E., SHIRBAND A., 2012- Evaluation of iron oxide nanoparticles effects on tissue and enzymes of liver in rats. *Annale de JPBMS*. vol. 23(4) : 1-5.
- NEENU S., 2010- Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). *Annale de NANO R*. vol. 10 (1) : 1-15.
- NICOLAS G., 2013- Homéostasie du fer chez les mammifères et ses dérégulations. *Annale de CNRS*. vol. 2(4) : 1-45.
- NOT C., 2006- Caractérisation de l'oxydation du fer ferreux en présence de deux bactéries ferro-oxydantes neutrophiles, du champ hydrothermal de Loihi, Hawi. Mémoire biologie. Québec. UQM. 151p.
- OLIVIER W., 2011- Risques liés aux nanoparticules et aux nanomatériaux. *Annale de l'INRS*. vol. 19(1-4) : 1-90.
- OSSENI S., 2012- Nanoplateformes hybrides multimodales pour l'imagerie médicale. Thèse doctorat Sciences et génie des matériaux. Toulouse. PUCVL. 166p.
- PAULY M., 2012- Structuration de nanoparticules magnétiques d'oxyde de fer en film et étude de leur propriétés magnétiques et magnéto transport. Thèse doctorat physique et chimie-physique. Strasbourg. IPCMS. 230p.
- PIVA A., 2008- Fer et ses métalloprotéines. *Annale de FMMN*. vol. 2(1) : 1-5.
- POLYAK B., FRIEDMAN G., 2009- Magnetic targeting for site-specific drug delivery: Applications and clinical potential. *Annale de EPDD*. vol. 6(1) : 1-13.
- PRIPREM A., 2010- Cytotoxicity Studies of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles in Macrophage and Liver Cells. *Annale de ISSN*. vol. 1(2) : 1-8.
- RICAUD M., 2012- Les fumées de soudage et des techniques connexes. *Annale d'INRS*. vol. 61(3) : 1-32.

- ROJAN S., 2011- Les inhibiteurs de l'absorption du fer et les activateurs de l'absorption. Annale de UMVF. vol. 5(3) : 1-13.
- ROJAS E., LOPIS E., 2009- Etude de l'absorption cellulaire et de la cytotoxicité des nanoparticules d'oxyde métallique. Annale de LBCIC. vol. 18(4) : 1-2.
- RYE S., 2009- Nanomatériaux : Préoccupations sur la Santé et l'Environnement. Annale de BBE. vol. 7 (10) : 1-15.
- SABA N., 2010- Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress. Annale de l'IJN. vol. 5 (4) : 1-7.
- SACOTI H., 2012- Lésions élémentaires des cellules, tissus et organes. Annale de COPATH. vol. 3(1) : 1-29.
- SHEN Y., 2009- Preparation and application of magnetic Fe₃O₄ nanoparticles for wastewater purification. Annale de SPT. vol. 68(3) : 1-8.
- SONG M., MOON K., KIM Y., LIM D., SONG C., YOON W., 2007- Labeling efficacy of superparamagnetic iron oxide nanoparticles to human neural stem cells: Comparison of ferumoxides, monocrystalline iron oxide, cross-linked iron oxide (CLIO)-NH₂ and tat-CLIO. Annale de KJR. vol. 8(5) : 1-24.
- SZALAY B., 2012- Iron oxide nanoparticles and their toxicological effects: *in vivo* and *in vitro* studies. Thèse doctorat médecine. Szeged. UNVS. 154p.
- WAHAJUDDIN A., ARORA S., 2012- Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: magnetic nanoplatforms as drug carriers. Annale d'INTJ. vol. 7 (1) : 1-25.
- WICK P., 2009- Déceler les risqué des nanoparticules. Annale de EMPA. vol. 6(6) : 1-2.
- XU C., 2007- Monodisperse magnetic nanoparticles for biomedical applications. Annale de POINT. vol. 56(7) : 1-6.

ANNEXES

- **Annexe 1**

Matériels de laboratoire utilisés dans l'étude (Photo originale., 2015)

I. Matériels et Verreries



1. Balance



2. Centrifugeuse



3. Automate d'hématologie



4. Spectrophotomètre UV de type SHIMADZU
UV 1800.



5. Microtome



6. Balance analytique de type KERAN 085629



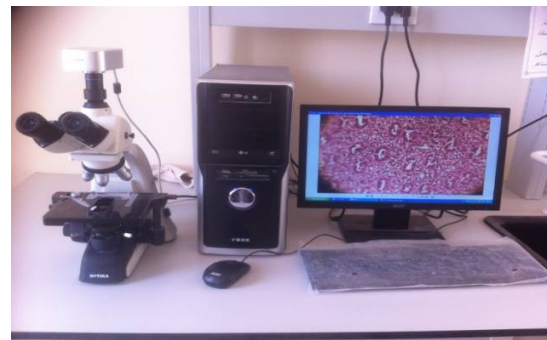
7. Bain marie



8. Etuve



9. Bandelettes de chimie d'urine



10. Microscope optique avec appareil
photo (caméra)



11. Cassettes conservées



12. Bichers



13. Micropipettes



14. Seringues



15. Lames de bistouris

II. Produits et réactifs



16. Eau distillé



17. Solution de l'oxyde de fer



18. Formol



19. Na Cl



20. kit de glycémie (Glucose TR, Glucose CAL)



21. kit de cholestérol



22. kit de TGO



23. kit de TGP



24. kit de TG



25. kit de l'urée sanguine



26. kit de créatinine



27. kit de fer



28. Xylène



29. Ethanol



30. Hématexylène



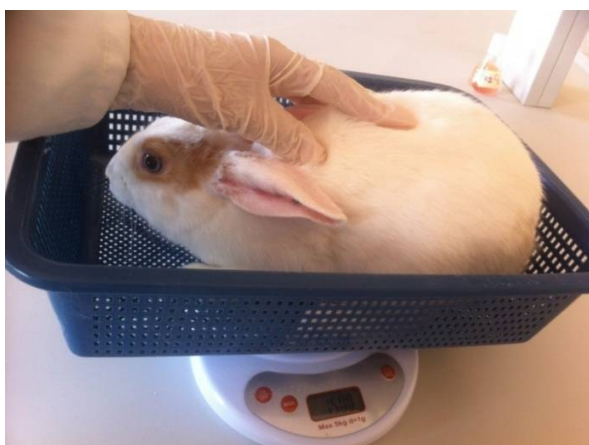
31. Eosine

- Annexe 2

Lapins au cours de l'expérience, sacrifice et dissection des lapins, prélèvement et mesure de poids des organes et prélèvement des urines, du sang et sérum (Photo originale., 2015)



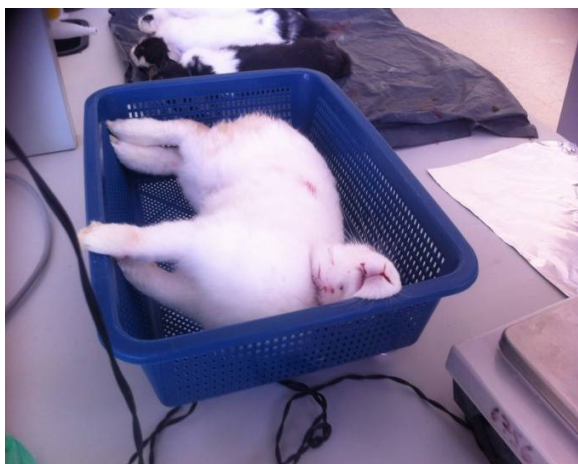
1. Lapins au cours de l'expérience



2. Mesure du poids du lapin



3. Sacrifice et prélèvement du sang



4. Mesure de poids des lapins après le sacrifice



5. Dissection des lapins



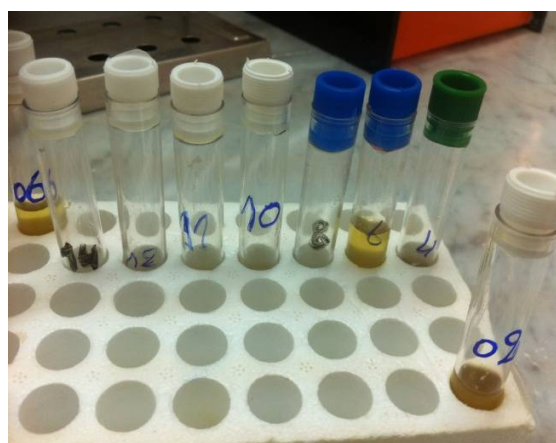
6. Mesure de poids de foie



7. Mesure de poids des reins



8. Mesure de poids de la rate



9. Prélèvements des urines



10. Prélèvements du sang



11. Prélèvements du sérum

- **Annexe 3**

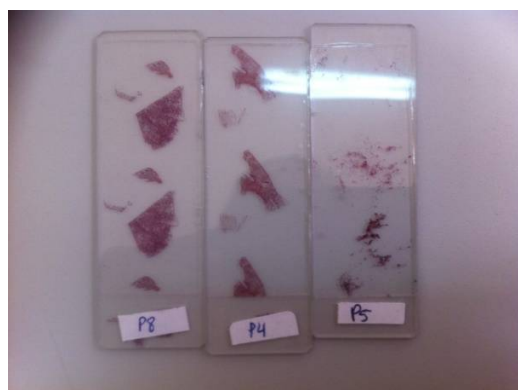
Les lames préparées de chaque organe (Photo originale., 2015)



1. Lames préparées des reins des lapins traités 2. Lames préparées des reins des lapins témoins



3. Lames préparées des foies des lapins traités 4. Lames préparées des foies des lapins témoins



5. Lames préparées des rates des
lapins traités et témoins

6. Lames préparées des poumons des
lapins traités et témoins

- **Annexe 4**

Les cassettes conservées de chaque organe (Photo originale., 2015)



1. Cassettes conservées des foies



2. Cassettes conservées des reins



3. Cassettes conservées des rates



4. Cassettes conservées des poumons

- **Annexe 5**

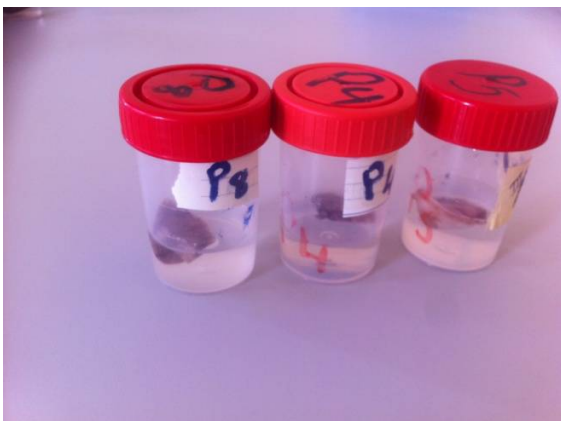
Les coupes des organes dans le formol (Photo originale., 2015)



1. Coupes du foies dans le formol



2. Coupes du reins dans le formol



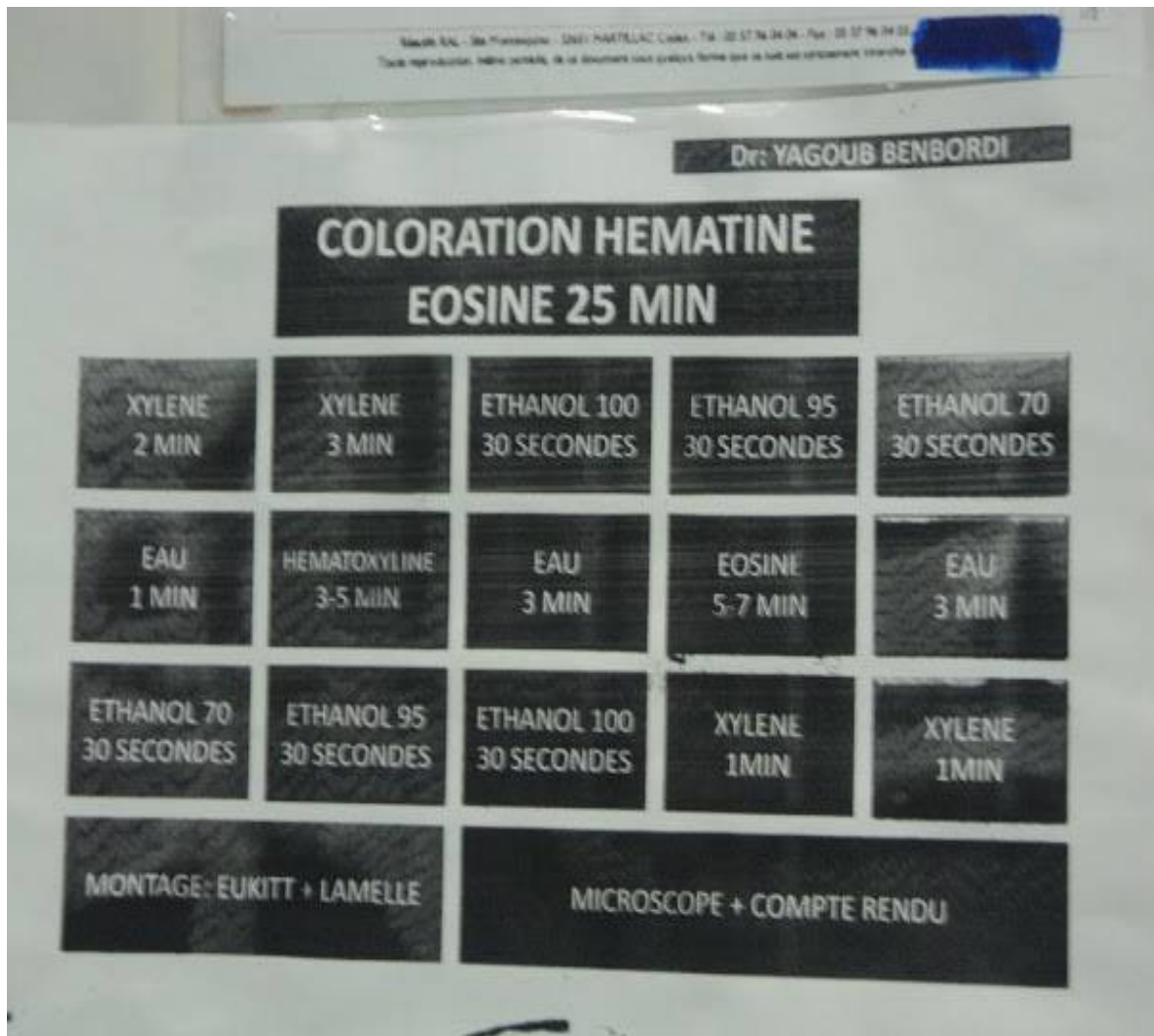
3. Coupes du poudons dans le formol



4. Coupes du rates dans le formol

- Annexe 6

Principaux étapes de coloration éosine hématoxyline (Photo originale., 2015)



Resumé

L'objectif principale de ce travail est l'étude de l'effet toxique des nanoparticules de l'oxyde de fer sur quelques paramètres biologiques chez les lapins. Notre étude a porté sur 15 lapins; 05 témoins et 10 pour l'expérience. La dose utilisée pour le traitement est de concentration de 75 µg /ml. La période d'étude est divisée en 02; période d'adaptation (20 jours) et période de traitement (14 jours), puis le sacrifice.

Notre étude est concernée par les analyses des paramètres biochimiques, le test de chimie des urines, le poids relatifs des organes (foies, reins, rates, cœurs et poumons) et les coupes histologiques de ces derniers.

Les paramètres biochimiques mesurés sont: glycémie, créatinine, CT, TG, US, TGO, TGP, fer et le FNS. Nous avons enregistrées une diminution significative pour la glycémie et une diminution très hautement significative pour les GR. Et pour le TG, créatinine et TGO on remarque une augmentation significative et une augmentation hautement significative pour l'US et TGP. Aussi on remarque une augmentation très hautement significative pour le fer et PLT. Et une diminution non significative pour le CT, GB et pour l'Hb, Hte il y'a une augmentation non significative.

Pour le test de chimie d'urine on remarque la présence important du sang dans l'urine.

Concernant les poids relatifs des organes on remarque une diminution très hautement significative pour les poumons et une diminution hautement significative pour le cœur. Et pour les foies, reins et rates il y a une diminution non significative.

Dans les coupes histologiques des organes, il y a une inflammation légère dans les foies et les poumons des lapins traités, et une petite inflammation dans les reins, et pour la rate ne remarque aucune anomalie.

Les résultats obtenus montrent que l'effet toxique de l'oxyde de fer est claire dans certains tissus des organes et dans le sang. Enfin on peut dire que l'oxyde de fer possède un effet toxique sur l'organisme.

Mots clés: Oxyde de fer, lapins, toxicité.

ملخص

الهدف الأساسي لهذا العمل هو دراسة التأثير السمي للجسيمات النانوية لأكسيد الحديد على بعض المتغيرات البيولوجية عند الأرناب. شملت دراستنا 15 أرناب؛ 05 شواهد و 10 للتجربة. الجرعة المستعملة للعلاج ذات تركيز 75 ميكرو غرام/مل. مدة الدراسة قسمت إلى مرحلتين؛ مرحلة التكيف (20 يوم) و مرحلة العلاج (14 يوم) ثم الذبح. هذه الدراسة معنية بتحليل مكونات الدم، اختبار كيمياء البول، الوزن النسبي للأعضاء (الكبد، الكلية، الطحال، القلب و الرئة) مع انجاز مقاطع نسيجية لهذه الأعضاء.

مكونات الدم المقاسة هي: السكر، الكرياتينين، الكوليستيرول الكلي، ثلاثي الغليسريد، البول الدموي، الاسبارتات امينو ترانسفيراز، الالانين امينو ترانسفيراز، الحديد و مكونات الدم. سجلنا نقص إحصائي هام في السكر ونقص جد واضح وهام في الكريات الحمراء. في ثلاثي الغليسريد، الكرياتينين و الاسبارتات امينو ترانسفيراز سجلنا زيادة هامة و زيادة واضحة وهامة في البول الدموي و الالانين امينو ترانسفيراز. أيضا سجلنا زيادة جد واضحة و هامة في الحديد و الصفائح. ونقص غير هام في الكوليسترول، الكريات البيضاء وفي الهيموغلوبين و الهيماتوكريت يوجد زيادة غير هامة.

في اختبار كيمياء البول لاحظنا وجود مهم للدم في بول الأرناب. فيما يخص الوزن النسبي للأعضاء سجلنا نقص إحصائي جد واضح و هام في الرئة ونقص واضح و هام في القلب. وبالنسبة للكبد، الكلى والطحال يوجد نقص إحصائي غير هام.

في المقاطع النسيجية للأعضاء يوجد التهاب طفيف في الكبد والرئتين عند الأرناب المعالجة، وقليل من الالتهاب في الكلى، وبالنسبة للطحال لم نلاحظ أي شذوذ عليها.

النتائج المحصل عليها أبدت أن التأثير السمي لأكسيد الحديد كان واضح في بعض أنسجة الأعضاء وفي الدم. أخيرا نستطيع القول أن أكسيد الحديد أثر سمي على العضوية.

الكلمات المفتاحية: أكسيد الحديد، أرناب، سمية.