



UNIVERSITE CHADLI BENDJEDID - ELTARF

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشاذلي بن جديد الطارف

Université Chadli Bendjedid El-Tarf

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie



UNIVERSITE CHADLI BENDJEDID - ELTARF

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master 2 Recherche

« *Toxicologie Fondamentale et appliquée* »

THEME

Evaluation de l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité d'une nanoparticule Al_2O_3 chez la souris.

Présenté Par :

Leghrib feriel

Devant le jury composé de :

Pr Nasri Hichem	Professeur	Président	Université Chadli Bendjedid d'El-Tarf
Dr Benamara Maroua	MCB	Examinatrice	Université Chadli Bendjedid d'El-Tarf
Dr Amrani Amina	MCB	Promotrice	Université Chadli Bendjedid d'El-Tarf
Mlle Zaidi Hadjer	Doctorante	Co-promotrice	Université Chadli Bendjedid d'El-Tarf

Année universitaire : **2019/2020**

Sommaire

Résumé

Abstract	
ملخص	
Remerciements	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	11
CHAPITRE I : synthèse bibliographique	13
I. Les nanoparticules	14
Nanotoxicologie	15
Les nanoparticules d'aluminium	16
Propriétés de l'aluminium	18
La toxicocinétique de l'aluminium	19
Toxicité de l'aluminium	20
• Toxicité aiguë	20
• Toxicité chronique	21
○ Effets neurologiques	21
○ Effets sur le tissu osseux	22
○ Effets respiratoires	22
○ Effets hématologiques	23
○ Effets sur le système digestif	23
○ Effets sur la reproduction	24
• Réaction allergique	25
• Effets cancérogènes	25
L'oxyde d'aluminium Al₂O₃ (alumine)	25

Utilisation et importance d'Al₂O₃	26
• Cosmétique	26
• Non-cosmétique	26
Dans les dispositifs médicaux	26
• Hanche en céramique	26
• Additifs de couleur	26
• Autres appareils	26
Toxicité de l'alumine	27
CHAPITRE II : Matériel ET Méthodes	33
Matériel	32
Matériel chimique	32
Modèle biologique et traitement	32
Dosages des biomarqueurs du stress oxydant	34
Dosage du glutathion GSH	34
Dosage de l'activité glutathion S-transférase (GST)	35
Dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GPx)	36
Dosage des protéines	38
Résultats et interprétation	39
Impact de l'Oxyde d'aluminium sur le taux de glutathion réduit (GSH)	40
Impact de l'Oxyde d'aluminium sur le taux de Glutathion-s-transférase (GST)	41
Impact de l'Oxyde d'aluminium sur le taux de glutathion peroxydase (GPx)	43
Discussion	45
Conclusion et perspectives	50
Référence bibliographique	53
Annexe	61

Liste des figures

Figure 01 : Schéma présente les voies de pénétrations et le devenir des NPs dans l'organisme	13
Figure 02 : Cycle de vie de l'aluminium	14
Figure 03 : Source de l'aluminium dans notre vie	15
Figure 04 : classement de l'aluminium dans le tableau périodique	16
Figure 05 : Distribution de l'aluminium dans l'organisme	18
Figure 06 : Structure 3D d'alumine	24
Figure 07 : oxyde d'alumine	24
Figure 08: Mécanisme de toxicité par induction de stress oxydatif des nanoparticules d' Al_2O_3	29
Figure 09 : Les étapes de préparation de particule d'oxyde d'aluminium	32
Figure 09: Lot 01	33
Figure 10: Lot 02	33
Figure11: Lot 03	33
Figure 12 : Préparation de l'homogénat	34
Figure 13 : dosage de GST	35
Figure 12 : courbe d'étalonnage des protéines	37
Figure 13 : Variations du taux de GSH au niveau du foie chez les souris traitées par le dioxyde d'aluminium.	39
Figure 14 : Variations du taux de GSH au niveau des reins chez les souris traitées par l' Al_2O_3 .	40
Figure 15 : Variations du taux de GST au niveau du foie chez les souris traitées par l' Al_2O_3 .	41

Figure 16 : Variations du taux de GST au niveau des reins chez les souris traitées par l'Al ₂ O ₃ .	41
Figure 17 : Variations du taux de GPx au niveau du foie chez les souris traitées par l'Al ₂ O ₃ .	
Figure 18 : Variations du taux de GPx au niveau des reins chez les souris traitées par l'Al ₂ O ₃	43

Liste de tableau

Tableau 1	L'utilisation de l'aluminium (Klotz et al., 2017)	17
Tableau 2	Propriétés physique et chimique de l'alumine	26

Résumé

Dans le cadre de l'évaluation nanotoxicologique des effets des oxydes métalliques sur la souris qui est parfaitement adaptée aux études toxicologiques, et afin d'établir un profil toxicologique précis des atteintes biologiques induites par les nanoparticules, nous avons évalué l'exposition aux nanoparticules d'oxyde d'aluminium (Al_2O_3) par une approche ciblée au laboratoire, consistant à évaluer les effets d'un éventuel stress oxydatif au niveau du foie et des reins par le suivi de certains bio-marqueurs enzymatiques : GSH, GST, GPX.

Pour définir la toxicité d'oxyde d'aluminium (Al_2O_3) sur la souris, en exposant l'animal à trois doses différentes d'alumine (80, 160, 240 mg/ind) par voie orale (eau de boisson) durant une période de traitement sub-chronique de 45 jours. Nos résultats indiquent une inhibition de système de défense par la diminution significative des activités enzymatiques de GST et GPx et le capteur des espèces réactives d'oxygène ; GSH. Les nanoparticules d'oxyde d'aluminium avaient un pouvoir néphrotoxique important supérieur à leur hépatotoxicité, suite à l'exposition orale.

Mots clés : Nanoparticules, Al_2O_3 , souris, Stress oxydatif, Biomarqueurs, GSH, GST, GPx.

Abstract

As part of the nanotoxicological evaluation of the effects of metal oxides on mice, which is perfectly suited to toxicological studies, and in order to establish a precise toxicological profile of the biological damage induced by nanoparticles, we evaluated exposure to nanoparticles of aluminum oxide (Al₂O₃) by a targeted approach in the laboratory, consisting in evaluating the effects of possible oxidative stress on the liver and kidneys by monitoring certain enzymatic biomarkers: GSH, GST, GPX.

To define the toxicity of aluminum oxide (Al₂O₃) in mice, by exposing the animal to three different doses of alumina (80, 160, 240 mg / ind) orally (drinking water) for a period 45-day sub-chronic treatment. Our results indicate an inhibition of the defense system by the significant decrease in the enzymatic activities of GST and GPx and the sensor of reactive oxygen species; GSH. Aluminum oxide nanoparticles had a significant nephrotoxic power greater than their hepatotoxicity, following oral exposure.

Keywords: Nanoparticles, Al₂O₃, mouse, Oxidative stress, Biomarkers, GSH, GST, GPx.

ملخص

كجزء من التقييم النانوي لتأثيرات أكاسيد المعادن على الفئران، والذي يتناسب تمامًا مع دراسات السمية، ومن أجل إنشاء ملف تعريف دقيق للسمية للضرر البيولوجي الناجم عن الجسيمات النانوية، قمنا بتقييم التعرض للجسيمات النانوية من أكسيد الألومنيوم (Al_2O_3) في المختبر، يتكون من تقييم آثار أي إجهاد تأكسدي على الكبد والكلى من خلال مراقبة بعض المؤشرات الحيوية الأنزيمية: GSH، GST، GPX.

لتحديد سمية أكسيد الألومنيوم (Al_2O_3) في الفئران، عن طريق تعريض الحيوان لثلاث جرعات مختلفة من الألومينا (80، 160، 240 مغ/ الفرد) عن طريق الفم (مياه الشرب) لفترة 45 يومًا من العلاج شبه المزمن. تشير نتائجنا إلى تثبيط نظام الدفاع عن طريق الانخفاض الكبير في الأنشطة الأنزيمية لـ GST و GPX ومستشعر أنواع الأكسجين التفاعلية؛ GSH.

كان لجسيمات أكسيد الألومنيوم النانوية قوة سامة كلوية أكبر من سميتها الكبدية، بعد التعرض عن طريق الفم.

الكلمات المفتاحية: الجسيمات النانوية، Al_2O_3 ، الفئران، الإجهاد التأكسدي، المؤشرات الحيوية، GSH، GST، GPX.

Remerciement

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma gratitude.

Tout d'abord je tiens à remercier *Dieu*, le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force, l'intelligence et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je remercie mon directeur de mémoire, monsieur *Nasri Hichem*, pour le temps qu'il a consacré à m'apporter les outils méthodologiques indispensables à la conduite de cette recherche. Son exigence m'a grandement stimulé.

Je tiens également à remercier Mme *Benamara Maroua* Maître de conférences à l'Université Chadli Bendjedid EL TARF, pour avoir pris sur son temps et accepter d'examiner et juger ce travail et participer à ce jury.

J'exprime ma reconnaissance à madame *Amrani Amina* pour avoir accepté de m'encadrer dans cette étude. Je la remercie pour son implication, son soutien et ses encouragements tout au long de ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à ma co-Promotrice *Zaidi Hadjer*, pour ses remarques, commentaires, recommandations et exigences m'ont guidé tout au long de mes recherches. Je lui exprime ma profonde gratitude. Je la remercie vivement pour sa gentillesse, sa politesse, son aide, ses idées, ses capacités, ses encouragements, et surtout pour les bons moments.

J'adresse mes plus sincères remerciements à mon amis *Fateh*, qui m'a toujours encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire

Enfin, Je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, à mes amis, ma famille, Merci.

Dédicace

À ma très chère mère

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

À mon très cher père

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu te bénisse

À mes sœur fida et dounia et mon frère seyf eddine

À qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite.

À mes Amis.

INTRODUCTION



Introduction

La nanotechnologie est un domaine scientifique moderne qui joue un rôle dominant dans les aspects de la vie quotidienne. Elle traite la production, la manipulation et l'utilisation de matériaux allant en nanomètres (**Kavitha et al., 2013**). Ainsi, elle concerne principalement les nanoparticules ayant une dimension de 1-100 nm (Amudha Murugan et al., 2014) qui sont largement utilisés dans les cosmétiques, aliments et médicaments pour de meilleures performances. (**Gojova et al., 2007**).

Une nanoparticule est définie comme étant une particule dont la dimension est inférieure à 100 nm, sa particularité réside dans le fait que la majorité des atomes qui la constituent se trouve en surface. Cela lui confère une surface d'échanges très importante de plusieurs centaines de mètres carrés par gramme de particule résultant dans des propriétés physiques et chimiques particulières (**Lanone & Boczkowski, 2010**). Cela peut être favorable et être utilisé dans des approches thérapeutiques (transporteurs de médicaments pour leur capacité à franchir les barrières biologiques) ou au contraire défavorable et engendrer une toxicité associée à leur capacité à générer un stress oxydant et à se disperser dans l'organisme. (**Oberdorster et al., 2005**).

Les nanoparticules seront classées en quatre nanoparticules métalliques différentes : nanosystèmes, nanoparticules bimétalliques ou en alliage, nanoparticules d'oxyde métallique et nanoparticules magnétiques (**McNamara & Tofail, 2017**).

Les nanoparticules peuvent être selon **Lanone & Boczkowski, 2010** :

- D'origine naturelle (poussières émises par combustion ou par les volcans, produites par érosion).
- Produites par l'homme de façon non intentionnelle (ou nanoparticules non manufacturées d'origine anthropique).
- Les nanoparticules produites par l'homme de façon intentionnelle (ou nanoparticules manufacturées)

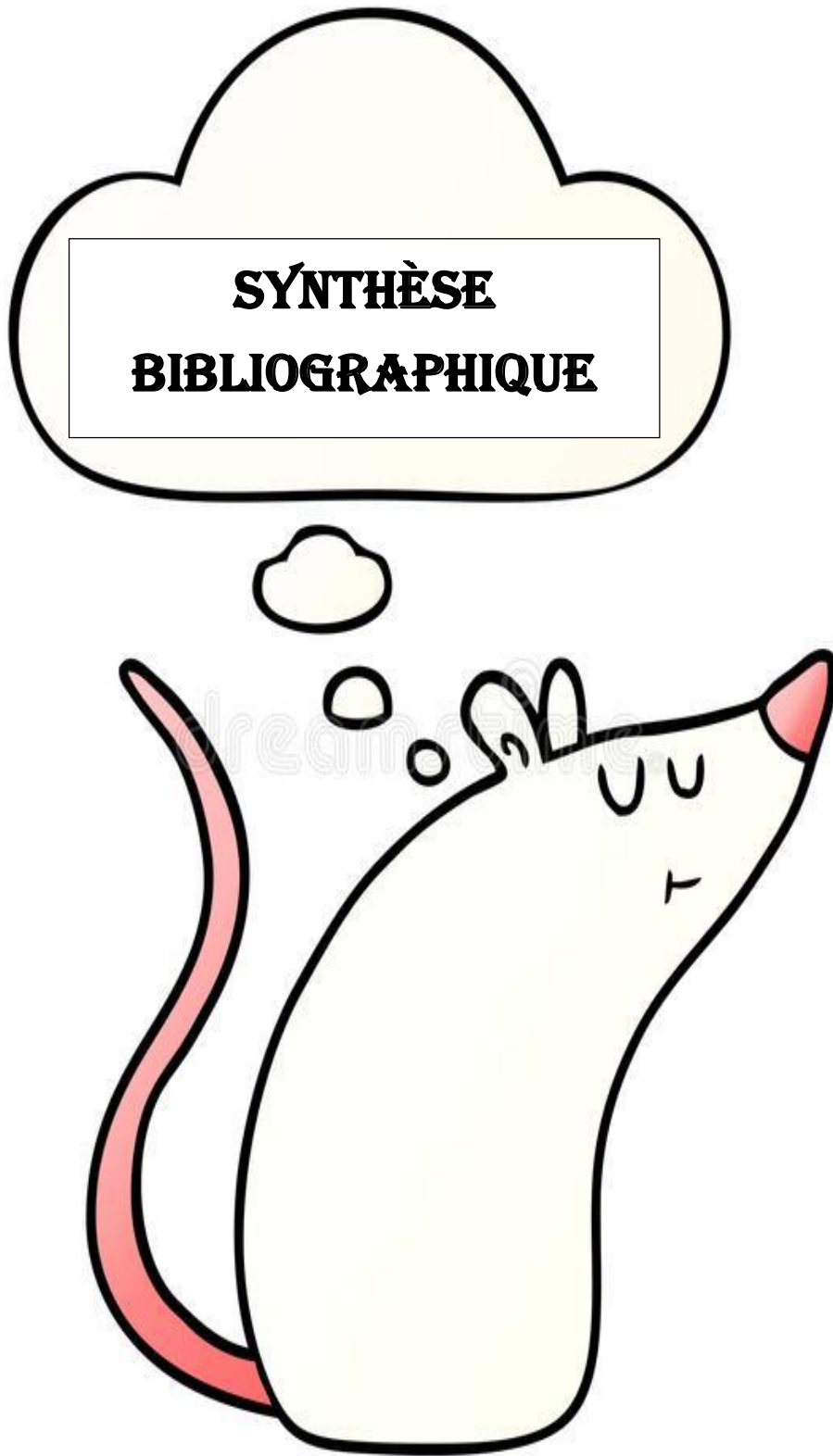
Dans l'industrie, les NP les plus abondamment produits sont des nanotubes de carbone, de l'oxyde de zinc, du dioxyde de titane, et l'oxyde d'aluminium (**Miralles et al. 2012**). Les NP d'oxyde d'aluminium (Al_2O_3) sont parmi les NP les plus utilisés pour produire des charges cosmétiques, des emballages, outils de coupe, produits en verre, produits métalliques, matériaux semi-conducteurs, plastiques, etc. (**Hanemann et Szabó 2010**).

Introduction

Plusieurs études toxicologiques menées *in vivo* et *in vitro* ont reportées que le dioxyde d'aluminium peut avoir un potentielle toxique important, ce type de nanoparticule aurait tendance a s'accumulé dans plusieurs organes y compris principalement le foie, les reins, et le cerveau des rats wistar et souris Albinos et induit des altérations aux hépatocytes. Des effets neurotoxiques , néphrotoxiques et aussi hépatotoxiques ont été bien reportés suit à l'exposition répétée au nanoparticules d' Al_2O_3 ; il semblerait que ces nanoparticules métalliques ont une forte tendance à induire le stress oxydant dans les milieux biologique et accroitre la production d'espèces oxygénées réactives (EROS) et l'augmentation des taux de libération radicaux libres ; il a été décrit que le dioxyde d'aluminium peut effectivement causer des troubles dans les système de défense antioxydantes enzymatique et non enzymatique , ceci suggère que ces particules peuvent en effet être très dangereux pour la sante publique (**Morsy et al.,2013 ; Shrivastava et al., 2013 ; Kumar et al., 2014**).

Le mécanisme de la toxicité de l'aluminium est relativement bien connu et bien documenté dans de nombreuses publications (**Dogan et al.2 014 ; Matsumoto 2000**), alors que le mécanisme d'interaction et le sort des NP d' Al_2O_3 après leur libération dans les écosystèmes n'ont pas été entièrement compris (**Nel et al. 2006 ; Riahi-Madvar et al. 2012**).

L'objectif primordial de cette étude est d'évaluer l'impact d'une exposition sub-chronique au dioxyde d'aluminium sur la souris, en utilisant une batterie de biomarqueurs de stress oxydant ; le glutathion réduit, le glutathion-s-transférase et le glutathion peroxydase.



I. Les nanoparticules

La nanotechnologie est un domaine scientifique moderne qui joue un rôle dominant dans les aspects de la vie quotidienne. La nanotechnologie traite la production, la manipulation et l'utilisation de matériaux allant en nanomètres (**Kavitha et al., 2013**). La nanotechnologie concerne principalement les nanoparticules ayant une dimension de 1-100 nm (**Amudha et al., 2014**) qui sont largement utilisés dans les cosmétiques, aliments et médicaments pour de meilleures performances. (**Gojova et al., 2007**).

Une nanoparticule est définie comme étant une particule dont la dimension est inférieure à 100 nm. La particularité d'une nanoparticule réside dans le fait que la majorité des atomes qui la constituent se trouve en surface. Cela confère à la nanoparticule une surface d'échanges (surface spécifique) très importante de plusieurs centaines de mètres carrés par gramme de particule résultant dans des propriétés physiques et chimiques particulières. (**Lanone & Boczkowski, 2010**) Cela peut être favorable et être utilisé dans des approches thérapeutiques (transporteurs de médicaments pour leur capacité à franchir les barrières biologiques) ou au contraire défavorable et engendrer une toxicité associée à leur capacité à générer un stress oxydant et à se disperser dans l'organisme. (**Oberdorster et al., 2005**).

Les nanoparticules seront classées en quatre nanoparticules métalliques différentes : nanosystèmes, nanoparticules bimétalliques ou en alliage, nanoparticules d'oxyde métallique et nanoparticules magnétiques. (**mcnamara & Tofail, 2017**)

Les nanoparticules peuvent être : (**Lanone & Boczkowski, 2010**)

- D'origine naturelle (poussières émises par combustion ou par les volcans, produites par érosion).
- Produites par l'homme de façon non intentionnelle (ou nanoparticules non manufacturées d'origine anthropique).
- Les nanoparticules produites par l'homme de façon intentionnelle (ou nanoparticules manufacturées)

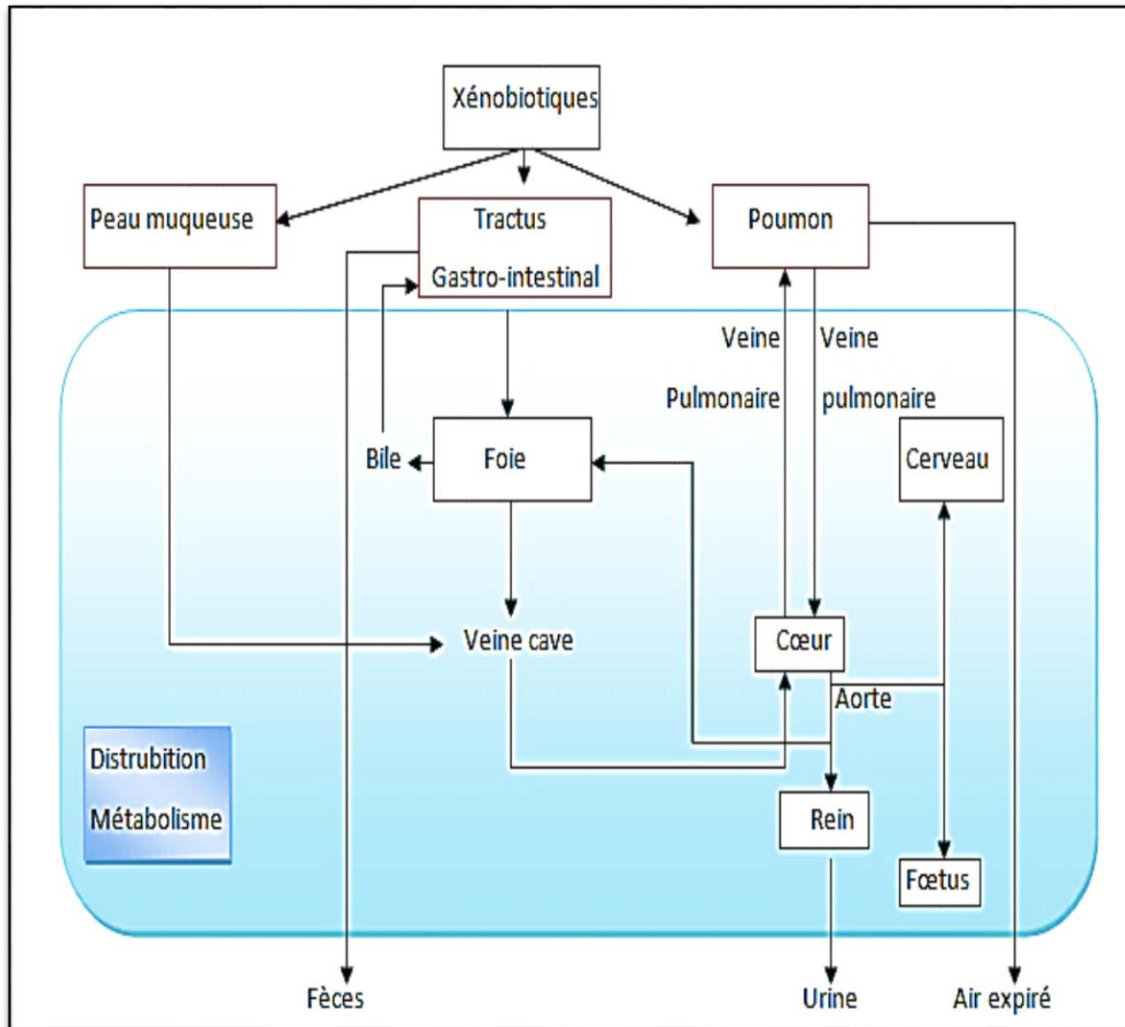


Figure 01: Schéma présente les voies de pénétrations et le devenir des NPs dans l'organisme.

II. Nanotoxicologie

La Nanotoxicologie s'intéresse particulièrement aux risques associés aux NPs puisqu'elles sont retrouvées tant au niveau domestique dans les produits de consommations (écrans solaires, cosmétiques) (Nohynek et al., 2007) qu'au niveau industriel dans les usines de fabrication. De plus, les voies d'exposition potentielles aux NPs sont nombreuses (inhalation, ingestion et cutanée) (Pelley et al., 2009). C'est pourquoi, des auteurs ont suggéré que les études de nanotoxicité soient basées sur l'induction du stress oxydatif, par la production de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO), afin d'établir un standard permettant une comparaison du potentiel toxique des NPs (Shvedova et al., 2010 ; Xia et al., 2006).

III. Les nanoparticules d'aluminium

L'aluminium est le troisième élément le plus abondant dans la croûte terrestre après l'oxygène et le silicium et se trouve naturellement dans l'environnement, les denrées alimentaires et l'eau potable, il représente environ 8% sur l'épaisseur de la croûte terrestre. (Klotz et al., 2017)

Il est issu de l'extraction de l'alumine (ou oxyde d'aluminium Al_2O_3) à partir de la bauxite (des roches riches en aluminium (45 à 60%) constituent actuellement la source quasi exclusive de ce métal), et est utilisé dans de nombreux secteurs industriels. En solution, on le trouve sous la forme Al^{3+} . En raison de sa forte réactivité, il se retrouve très rarement sous forme libre, s'associant à l'oxygène, au silicium, au fluor ou à d'autres composés. (afssap, 2011)

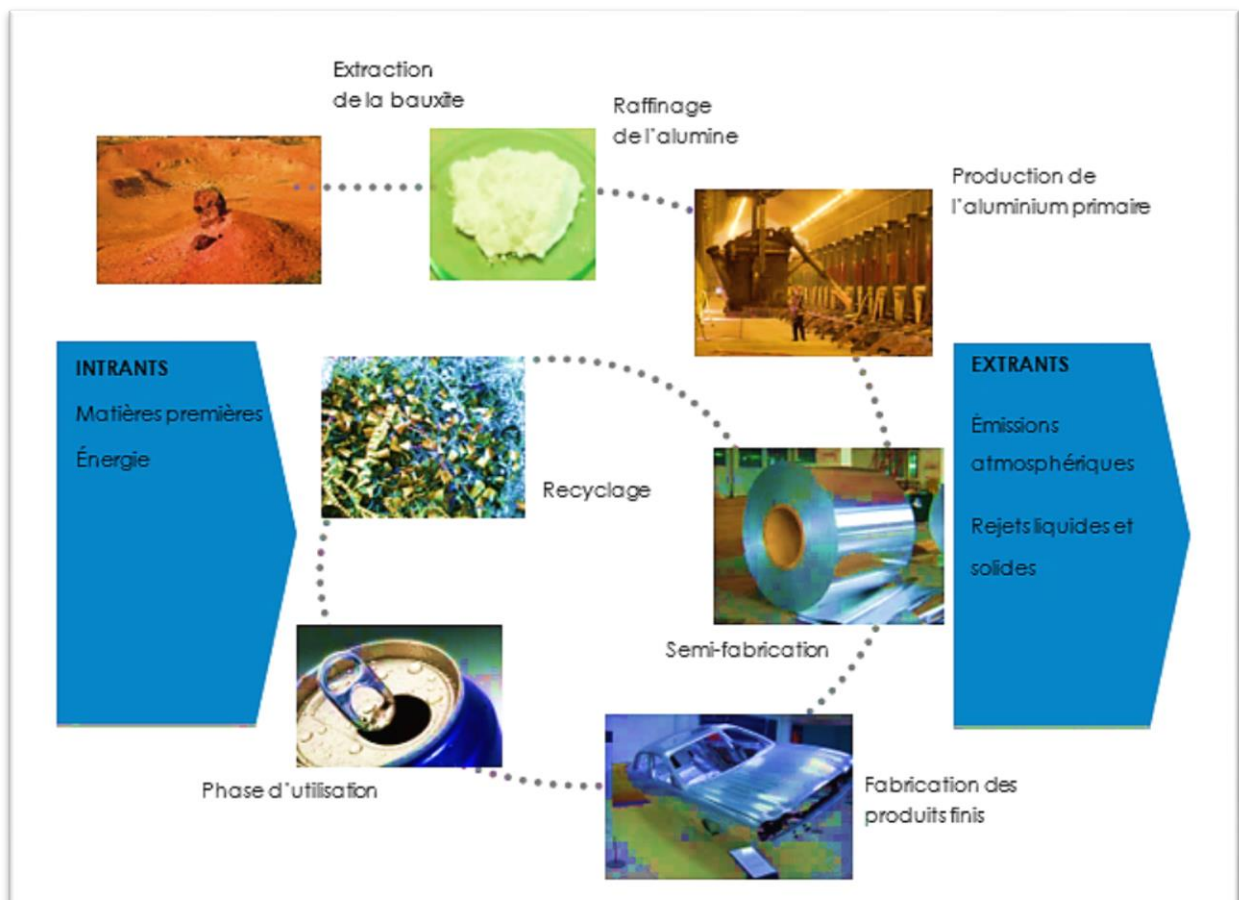


Figure 02 : Cycle de vie de l'aluminium

Utilisation	Exemples
Aliments transformés	-additif alimentaire.
Matériaux et articles	- Emballage alimentaire contenant de l'aluminium - Feuilles d'aluminium - Ustensiles de cuisine et plateaux de cuisson
Produits cosmétiques	-les anti sudorifiques. -le soleil crème. -dentifrice.
Médicaments	-agents antiacides.

Tableau 01 : l'utilisation de l'aluminium (Klotz et al., 2017)



Figure 03 : Source de l'aluminium dans notre vie

III.I.1. Propriétés de l'aluminium

L'aluminium élément chimique, appartient au groupe III A (colonne 13) du tableau périodique. Sa position de premier métal non ferreux repose bien évidemment sur ses propriétés particulières.

Il est classé en tête de la liste des métaux les plus utilisés dans l'industrie d'aujourd'hui.

Figure 04 : classement de l'aluminium dans le tableau périodique. Le tableau périodique est présenté avec l'élément Aluminium (Al) mis en évidence en vert. Une flèche pointe vers sa position dans le tableau. Les données de l'Aluminium sont : Numéro atomique 13, Symbole Al, Masse molaire 26,982.

hydrogène 1 H 1,0079																	hélium 2 He 4,0026						
lithium 3 Li 6,941	béryllium 4 Be 9,0122																	boron 5 B 10,811	carbone 6 C 12,011	azote 7 N 14,007	oxygène 8 O 15,999	fluorine 9 F 18,998	néon 10 Ne 20,180
sodium 11 Na 22,990	magnésium 12 Mg 24,305																	aluminium 13 Al 26,982	silicium 14 Si 28,086	phosphore 15 P 30,974	soufre 16 S 32,065	chlorure 17 Cl 35,453	argon 18 Ar 39,948
potassium 19 K 39,098		calcium 20 Ca 40,078		scandium 21 Sc 44,956		titane 22 Ti 47,867	vanadium 23 V 50,942	chrome 24 Cr 51,996	manganèse 25 Mn 54,938	fer 26 Fe 55,845	cobalt 27 Co 58,933	nickel 28 Ni 58,693	cuivre 29 Cu 63,546	zinc 30 Zn 65,39	gallium 31 Ga 69,723	germanium 32 Ge 72,61	arsenic 33 As 74,922	sélénium 34 Se 78,96	bromine 35 Br 79,904	krypton 36 Kr 83,80			
rubidium 37 Rb 85,468	strontium 38 Sr 87,62	yttrium 39 Y 88,906	zinc 40 Zn 91,224	niobium 41 Nb 92,906	molibdène 42 Mo 95,94	technétium 43 Tc 98	ruthénium 44 Ru 101,07	rhodium 45 Rh 102,91	paladium 46 Pd 106,42	argent 47 Ag 107,87	cadmium 48 Cd 112,41	mercure 49 Hg 114,82	indium 50 In 114,82	étain 51 Sn 118,71	antimoine 52 Sb 121,76	tellure 53 Te 127,60	polonium 54 Po 209	astatine 55 At [210]	xénon 54 Xe 131,29	radon 56 Rn [222]			
caésium 55 Cs 132,91	barium 56 Ba 137,33	* 57-70		lutécium 71 Lu 174,97	hafnium 72 Hf 178,49	tantalum 73 Ta 180,95	wolfram 74 W 183,84	réthénium 75 Re 186,21	osmium 76 Os 190,23	iridium 77 Ir 192,22	platine 78 Pt 195,08	or 79 Au 196,97	mercure 80 Hg 200,59	thallium 81 Tl 204,38	plomb 82 Pb 207,2	bismuth 83 Bi 208,98	polonium 84 Po [209]	astatine 85 At [210]	radon 86 Rn [222]	francium 87 Fr [223]	radium 88 Ra [226]		
* Lanthanide series		lanthane 57 La 138,91	cerium 58 Ce 140,12	praseodyme 59 Pr 140,91	néodyme 60 Nd 144,24	prométhium 61 Pm [145]	samarium 62 Sm 150,36	europium 63 Eu 151,96	gadolinium 64 Gd 157,25	terbium 65 Tb 158,93	dysprosium 66 Dy 162,50	holmium 67 Ho 164,93	erbium 68 Er 167,26	thulium 69 Tm 168,93	ytterbium 70 Yb 173,04								
** Actinide series		actinium 89 Ac [227]	thorium 90 Th 232,04	protactinium 91 Pa 231,04	uranium 92 U 238,03	néptunium 93 Np [237]	plutonium 94 Pu [244]	américium 95 Am [243]	curium 96 Cm [247]	berkélium 97 Bk [247]	californium 98 Cf [251]	éinsteinium 99 Es [252]	fermium 100 Fm [257]	mendelevium 101 Md [258]	noébiium 102 No [259]								

Figure 04 : classement de l'aluminium dans le tableau périodique

Les principaux atouts de l'aluminium sont : (Guy, 2010).

- Sa légèreté (le plus léger des matériaux usuels : $\rho_{Al}=2,7 \text{ g.cm}^{-3}$),
- Sa conductivité thermique (environ 60% de celle du cuivre) $237 \text{ W/(m} \cdot \text{K)}$,
- Sa conductivité électrique $0,0265 \mu\Omega \cdot \text{m}$ à $20 \text{ }^\circ\text{C}$,
- Sa facilité de mise en œuvre,
- Son recyclage (entre 65% et 85% de l'aluminium est recyclé),
- Son aptitude aux traitements de surface,
- Sa résistance à la corrosion.

III.I.2. La toxicocinétique de l'aluminium

L'aluminium n'est pas soumis à un métabolisme au sens strict, cependant des variabilités interindividuelles peuvent apparaître, au niveau de l'absorption, la distribution et l'élimination de l'aluminium, en relation avec divers facteurs susceptibles de modifier chacune de ces étapes (complexation avec divers éléments, pH, solubilité, mécanismes de transport...).(AFSSAP, 2011)

L'aluminium est faiblement absorbé par voie orale à partir de l'eau (environ 0,3 %) et l'aliment (environ 0,1 %), ces composés semblent également peu absorbés par voie cutanée, les résultats d'absorption cutanée in vitro, fortement variables, conduisent à utiliser la valeur de 0,5 % pour l'absorption sur peau normale et 18 % pour l'absorption sur peau lésée. (AFSSAP, 2011)

Par voie orale, l'aluminium présente une toxicité faible, bien que variable selon le composé.

Après administration d'aluminium à doses répétées, des effets neurotoxiques ainsi que des effets sur les testicules, l'embryon et le développement du système nerveux sont observés chez l'animal (EFSA, 2008b).

Les effets de l'aluminium chez l'Homme (neurotoxicité, atteinte osseuse, anémie) sont bien connus chez les insuffisants rénaux exposés de façon chronique, ainsi que chez les prématurés alimentés par voie parentérale.

L'analyse des données épidémiologiques et des études chez l'animal n'a pas pu mettre en évidence de lien entre cancer et exposition à l'aluminium par voie orale. De plus, aucun élément pertinent ne permet non plus de considérer l'exposition par voie cutanée à l'aluminium comme présentant un risque cancérigène. (EFSA, 2008b).

Chez l'homme, la majorité de l'aluminium ingéré n'est pas absorbée et est retrouvée dans les fèces (> 95%). La voie urinaire est la principale voie d'excrétion de l'aluminium absorbé (83%). L'élimination urinaire chez les individus à fonction rénale normale est comprise entre 3 et 20 µg/L (Kaehny 1977, Valkonen & Aitio 1997, Lauwerys 2001).

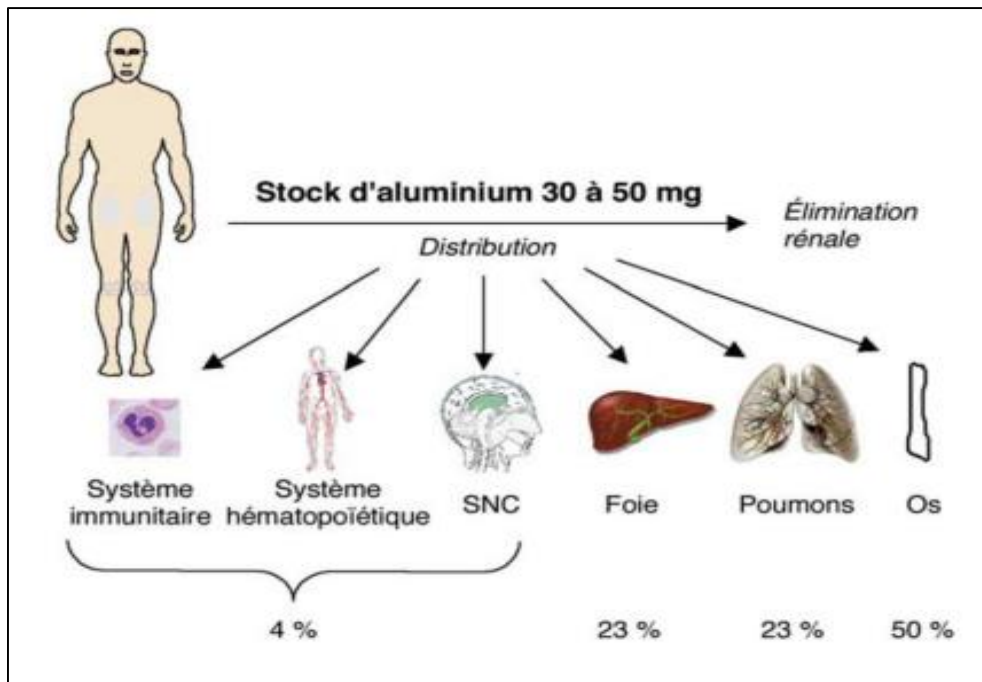


Figure 05 : Distribution de l'aluminium dans l'organisme

III.I.3. Toxicité de l'aluminium

Pour étudier la toxicité des NPs en général, un paramètre de l'étude doit être prédéfini : le temps d'exposition. C'est-à-dire chercher une toxicité aiguë, subaiguë, ou chronique. Pour la toxicité aiguë, l'effet est recherché 24h après l'administration des NPs. Cependant, pour la toxicité subaiguë, l'exposition est de 2-14 voire même 28 jours, durée jugée parfois correspondre à un effet chronique qui est généralement supérieur à 30 jours (**Parasuraman, 2011; Dominguez et al., 2016**).

Certaines NPs peuvent induire une toxicité qui devrait être connue et étudiée pour bien comprendre le mode d'action de ces NPs dans l'organisme. Ainsi, plusieurs études in vitro et in vivo ont été menées dans ce cadre, en utilisant plusieurs modèles cellulaires et différentes voies d'exposition chez les rats. Les résultats obtenus dépendent notamment de la taille des NPs, la nature de la voie d'administration, la dose, et le temps de l'exposition. (**Muller., et al 2005**).

III.I.3.1. Toxicité aiguë

L'intoxication aiguë correspond à une intoxication causée par de fortes quantités de toxique sur une période très brève. Comme les cas d'intoxications aiguës à l'aluminium sont très rares, il existe par conséquent peu de données sur cette toxicité. Les sels solubles

d'aluminium (chlorure, fluorure, sulfate et citrate) sont généralement les causes de ces intoxications. Chez les animaux, il a été mis en évidence dans les études que la DL 50 (Dose Létale 50) par voie orale variait de 140 à 6200 mg d'aluminium/kg de poids corporel suivant les espèces. Elle est de 164 à 980 mg d'aluminium/kg de poids corporel chez le rat. A titre de comparaison, les DL 50 par voie intrapéritonéale chez le rat sont inférieures et comprises entre 25 à 108 mg d'aluminium/kg de poids corporel (AFSSAPS, 2011).

Chez l'homme, il y a peu de cas de décès par ingestion d'une importante quantité d'aluminium. Le seul effet nocif qui a été identifiés sont des éruptions cutanées, des ulcérations des lèvres et de la bouche, des troubles gastro-intestinaux et des douleurs musculaires chez des sujets qui on accidentellement bu de l'eau contaminée par d'importantes quantités de sulfate d'aluminium. La concentration retrouvée dans l'eau lors de cet accident variait de 30 à 620 mg/L). De la même manière, pour la voie respiratoire, aucun effet nocif ou décès n'est pour l'instant directement imputable à une exposition brève et à de fortes doses d'aluminium (gourier & frery, 2004 ; INVS, AFSSA, AFSSAPS, 2003)

III.I.3.2. Toxicité chronique

A. Effets neurologiques

L'aluminium est un neurotoxique humain bien établi. Ceci est basé sur les preuves chez l'homme résultant d'une exposition professionnelle élevée ainsi que d'observations chez des patients sous dialyse rénale qui prennent des médicaments contenant de l'aluminium. Les études en laboratoire sur animaux (rats et souris) montrent également que l'aluminium est néfaste pour le développement du système nerveux. (CSS, 2015)

Une toxicité de l'aluminium lors de contact direct avec le système nerveux est prouvée chez l'animal : L'injection intraventriculaire ou intracérébrale d'aluminium induit de l'épilepsie et une encéphalopathie sévère. (CSS, 2015)

Une toxicité de l'aluminium a également été démontrée chez des animaux soumis à une intoxication prolongée par des doses élevées d'aluminium ingéré : des troubles comportementaux et d'apprentissage ont été observés et des modifications histologiques ont été rapportées telles dégénérescences neurofibrillaires évoquant celles que l'on rencontre dans les démences de type Alzheimer mais il ne s'agit pas exactement des mêmes lésions. De très nombreuses interactions avec des réactions biologiques physiologiques ont été rapportées dans des modèles expérimentaux avec l'aluminium : altérations d'expressions géniques,

troubles du métabolisme énergétique, altérations de la neurotransmission et des flux ioniques, peroxydation lipidique, modifications du flux axonal et du fonctionnement synaptique accumulation de protéines anormales, apoptose neuronale et astrocytaire (**Kawahara & KatoNegishi, 2011**).

Le rôle et la toxicité de l'aluminium ont aussi été largement décrits chez des patients dialysés qui ont développé une encéphalopathie qui fut décrite dès les années 70 et qui était liée à la présence d'aluminium dans le liquide de dialyse et peut-être dans certains médicaments.

C'est surtout la possibilité du rôle de l'aluminium présent dans l'eau de boisson dans la survenue de la maladie d'Alzheimer qui a été à l'origine d'une controverse très prolongée. De nombreuses études épidémiologiques ont suggéré une relation entre la présence d'aluminium dans l'eau potable et l'incidence de la maladie d'Alzheimer tandis que d'autres infirmaient une telle corrélation. (**CSS, 2015**)

B. Effets sur le tissu osseux

Le squelette, représentant le site principal de dépôt de l'aluminium, constitue un réservoir de relargage, à partir duquel ce dernier sera progressivement libéré dans la circulation.

Un dépôt excessif d'aluminium au sein du squelette peut conduire à l'instauration d'un syndrome, communément appelé « aluminum-induced bone disease » ou AIBD, qui présente chez l'homme deux types d'expressions histologiques : ostéomalacie et « adynamic bone disease ». Des pathologies osseuses reliées à l'aluminium ont été suspectées chez l'homme lorsqu'elles ont été retrouvées chez des patients dialysés. (**CSS, 2015**)

C. Effets respiratoires

Les effets ont été uniquement rapportés chez les professionnels de l'aluminium. La population générale n'est pas concernée par ces effets.

L'atteinte du système respiratoire chez les professionnels de l'aluminium est connue de longue date car les premiers cas de fibroses pulmonaires ont été décrits en 1947 chez des ouvriers travaillant sur les fours des fonderies de bauxite. (**Gourier-Frery & Frery, 2004**)

Chez l'animal, les principaux effets observés sont un épaississement de la paroi alvéolaire (lié à une infiltration de macrophages et de neutrophiles au niveau des jonctions broncho-alvéolaires) et la présence de petits foyers granulomateux contenant de l'aluminium.

Une augmentation du poids sec des poumons a également été retrouvée chez les animaux.

Chez l'homme, les lavages broncho-alvéolaires réalisés chez les patients atteints de fibrose ont mis en évidence la présence d'une grande quantité d'aluminium. **(INVS, AFSSA, AFSSAPS, 2003 ; Institut de veille sanitaire, 2003).**

Le "potroom astma" est le nom que l'on donnait à l'asthme qui se développait chez les professionnels de l'aluminium et notamment chez ceux exposés aux vapeurs des cuves d'électrolyse. Ce syndrome se caractérise par la survenue de crises asthmatiques associant à la fois des troubles de la ventilation et une hyperréactivité bronchique. **(INVS, AFSSA, AFSSAPS, 2003 ; Institut De Veille Sanitaire, 2003).**

D. Effets hématologiques

Des effets hématologiques ont également été observés chez les patients dialysés ayant une insuffisance rénale chronique et une surcharge importante en aluminium. Chez les patients présentant une intoxication faible il a été mis en évidence des anémies normochromes normocytaires (diminution de la teneur sanguine d'hémoglobine associée à une taille normale des globules rouges et à une concentration d'hémoglobine dans ces globules rouges normale) tandis que chez les patients présentant une intoxication massive (concentration sérique supérieure à 100 µg/L), c'est une anémie microcytaire hypochrome (diminution de la teneur sanguine d'hémoglobine associée à une diminution de la taille des globules rouges et à une diminution de la concentration en hémoglobine dans ces globules rouges) qui a été retrouvée. Quel que soit le type d'anémie, la sévérité est liée à la concentration plasmatique et érythrocytaire en aluminium. Ces anémies sont réversibles à l'arrêt de l'exposition à l'aluminium et lors de l'utilisation de déféroxamine ou tout autre traitement chélateur d'aluminium **(institut de veille sanitaire, 2003).**

Les études animales ont permis de révéler le mécanisme d'action de l'aluminium dans cette pathologie. Il agirait à la fois sur les globules rouges circulants et sur le métabolisme du fer dans les pro-érythrocytes **(gourier-frery & frery., 2004).**

E. Effets sur le système digestif

L'aluminium peut avoir des effets sur le système digestif. En effet, il a été montré dans différentes études animales que l'aluminium avait la capacité d'inhiber l'absorption du calcium en réduisant la sensibilité de la vitamine D pour cet élément. L'aluminium pourrait également diminuer l'absorption de calcium en agissant sur l'expression de la protéine de transport du calcium : la calbindine. L'aluminium serait en effet capable de diminuer la transcription et la stabilité des brins d'ARNm (Acide Ribonucléique messager) codant pour la calbindine. Des études réalisées chez le rat ont également mis en évidence que l'administration parentérale d'aluminium pouvait entraîner une diminution de la liaison de la taurine aux acides biliaires (la taurine est un acide aminé soufré présent dans la structure des acides biliaires). Ce phénomène peut engendrer une cholestase hépatique par diminution de l'écoulement biliaire (**INVS, AFSSA, AFSSAPS, 2003**)

Chez l'homme, aucun de ces effets digestifs n'a été rapporté chez la population générale. Cependant, des études cliniques ont montré une cholestase, une inflammation péri-portale et une dégénération des hépatocytes chez des enfants ayant une surcharge en aluminium (liée à une nutrition parentérale). Pour expliquer ces effets, les scientifiques ont émis l'hypothèse que l'aluminium serait capable de majorer l'excrétion biliaire de la transferrine et de se lier à celle-ci pour rentrer dans les hépatocytes (**INVS, AFSSA, AFSSAPS, 2003**)

F. Effets sur la reproduction

L'aluminium peut également avoir des effets sur les fonctions de reproduction. En effet, il a été observé chez les animaux que l'aluminium pourrait être responsable d'une diminution du nombre et de la mobilité des spermatozoïdes, de nécroses des tubes séminifères et d'une diminution du poids testiculaire chez la souris mâle. Des études réalisées chez la souris femelle mettent quant à elles en évidence des irrégularités du cycle œstrogénique (**INVS, AFSSA, AFSSAPS, 2003**).

Mais ces effets n'ont été, jusqu'à présent, que très peu mis en évidence chez l'homme. Cependant, une récente étude parue en octobre 2014 dans la revue *Reproductive Toxicology* a retrouvé d'importantes quantités d'aluminium dans le sperme de plusieurs

hommes. Cette étude, qui a une fois de plus été réalisée par Exley en collaboration avec des chercheurs français (CHU de Lyon et de Saint-Etienne), a porté sur 62 hommes français ayant déjà consulté pour des problèmes d'infertilités. Les résultats ont révélé des concentrations très élevées (surtout par rapport à celles habituellement retrouvées dans les liquides biologiques ou les tissus) d'aluminium dans le sperme de ces sujets. Les concentrations d'aluminium les plus élevées ont été retrouvées chez les patients présentant une concentration anormalement basse de spermatozoïdes dans leur sperme (oligospermie). Cependant, aucune relation significative n'a été relevée entre les concentrations en aluminium dans le sperme de ces hommes et la diminution de mobilité et de vitalité des spermatozoïdes. (Klein et al., 2014).

G. Réaction allergique :

Concernant les réactions locales au point d'injection après vaccination, les sels d'aluminium sont responsables de ces réactions. De nombreux cas ont été décrits, surtout pour les vaccins contenant de l'hydroxyde et de l'oxyde d'aluminium. Les réactions apparaissent très rapidement après l'injection et se manifestent par un érythème et une induration. Ensuite, un nodule peut apparaître. Ce dernier est sensible à la palpation et peut persister quelques semaines pour enfin disparaître spontanément. Ce nodule peut persister plusieurs mois ou années. Une exérèse chirurgicale peut même s'avérer nécessaire pour les cas les plus sévères. D'un point de vue histologique, un eczéma peut être retrouvé à la surface du derme. Dans le derme et l'hypoderme, on observe des cellules géantes ainsi que des lymphocytes et plasmocytes qui évoquent une réaction inflammatoire allergique (institut de veille sanitaire, 2003).

H. Effets cancérigènes

L'analyse critique des données épidémiologiques et des études chez l'animal n'a pas permis de mettre en évidence un lien entre cancer et exposition à l'aluminium par voie orale. De plus, aucun élément pertinent ne permet non plus de considérer l'exposition par voie cutanée à l'aluminium comme présentant un risque cancérigène. Toutefois, des études épidémiologiques complémentaires restent nécessaires pour appuyer cette conclusion. (css, 2015)

II. L'oxyde d'aluminium Al₂O₃ (alumine) :

L'alumine, ou trioxyde d'aluminium, de formule chimique Al₂O₃, est l'oxyde métallique le plus abondant de la croûte terrestre après la silice. Elle se présente soit sous forme de silicate d'aluminium pure ou mélangé avec d'autres métaux, mais jamais comme un métal libre. (Sanchez-Valente et al., 2004 ; Souza et al., 2000).

Sa bonne tenue mécanique à haute température, sa dureté élevée, son excellente résistance à l'usure, sa grande résistivité électrique et son inertie chimique importante font de l'alumine un matériau utilisé dans des domaines très variés.

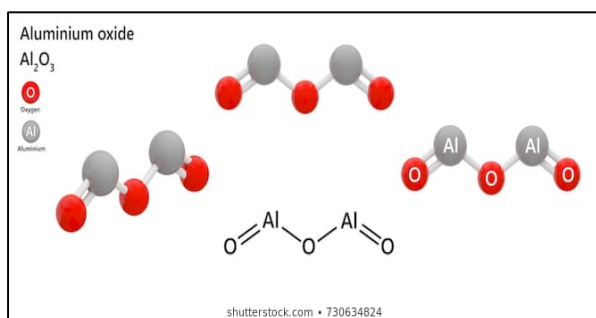


Figure 06 : Structure 3D d'alumine

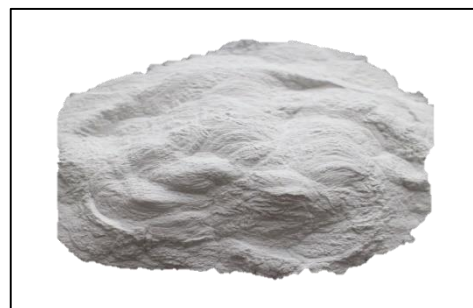


Figure 07 : oxyde d'alumine

Tableau 02 : propriétés physique et chimique de l'alumine

Propriétés physique (Kelly, 1994)	Propriétés chimique (Pastore & Kiekens, 2000)
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Présente une température de fusion élevée. ❖ Un coefficient de dilatation proche de celui des aciers. ❖ Une tenue mécanique aux températures remarquable. ❖ Une bonne conductivité thermique. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Insolubles dans l'eau. ❖ Offre une résistance élevée à la corrosion. ❖ Possèdent une bonne résistance aux acides (dilués et concentrés), aux alcalins, aux halogènes ainsi qu'aux métaux.

<ul style="list-style-type: none"> ❖ Une grande résistivité électrique. ❖ Une excellente dureté. ❖ Bonne résistance à l'usure. 	
---	--

III.II.1. Utilisation et importance d'Al₂O₃

- **Cosmétique**

L'alumine était utilisée dans 523 produits sans rinçage à des concentrations allant jusqu'à 60% (dans les produits pour les ongles). Il serait utilisé dans 40 produits à rincer. Les formulations comprennent 84 produits utilisés autour de l'œil à des concentrations allant jusqu'à 30%, 87 rouges à lèvres jusqu'à 6,7% et 104 préparations de soins de la peau jusqu'à 25%. (FDA, 2010)

- **Non-cosmétique**

L'alumine est utilisée comme adsorbant, déshydratant et abrasif. Il est utilisé comme enduit pour peintures et vernis. Il est également utilisé dans la fabrication d'alliages, de matériaux céramiques, d'isolateurs et de résistances électriques, de ciments dentaires, de verre, d'acier et de gemmes artificielles. Il est utilisé dans les revêtements pour métaux et autres surfaces et comme catalyseur ou substrat de catalyseur pour les réactions chimiques organiques. (The Merck Index, 2012).

- **Dans les dispositifs médicaux**

- **Hanche en céramique**

L'utilisation de têtes fémorales en céramique constituées d'un composite alumine / céramique pour le remplacement de l'articulation de la hanche chez l'homme. Un produit de remplacement de la hanche serait ~ 75% d'alumine, ~ 25% de zircone et <1% d'oxydes de chrome. (Lombardi et al., 2010)

- **Additifs de couleur**

Les couleurs qui contiennent de l'alumine sont approuvées par la FDA pour être utilisées pour colorer les cosmétiques, les aliments, les compléments alimentaires, les médicaments à usage interne et externe et les dispositifs médicaux (c.-à-d. Le ciment osseux, les sutures chirurgicales). (U.S.FDA, 2010)

○ Autres appareils

L'alumine a été approuvée pour une utilisation dans les piliers d'implants dentaires endosseux. Le composite alumine / céramique est utilisé pour fabriquer une endoprothèse interne pour le traitement de la trachéomalacie. Ces endoprothèses sont implantées dans la trachée. (Göbel et al., 2007)

III.II.2. Toxicité de l'alumine

Al_2O_3 -NPs provoquent une inhibition des activités hépatiques et rénales (Gamal et al., 2013). En fait, l'administration chronique d' Al_2O_3 NPs a provoqué des dysfonctionnements du myocarde. (El-Hussainy et al., 2016)

Al_2O_3 -NPs altèrent la capacité d'apprentissage et de mémoire, elles entraînent une diminution de l'activité de l'acétylcholinestérase, l'accumulation d'aluminium (Al) et la perturbation l'homéostasie des éléments minéraux dans l'hippocampe. Il existe une relation entre le stress oxydatif, la perturbation de l'homéostasie des éléments minéraux et l'accumulation d'Al dans l'hippocampe, ce qui entraîne un déficit de mémoire spatiale. (Anitha et al., 2017). L' Al_2O_3 accumulé dans le cerveau est à l'origine des changements histologiques, biochimiques entraînant des troubles émotionnels. (Imen M et al., 2017)

Les nanoparticules d'alumine administrées par voie orale présentaient une altération significative de l'activité des aminotransférases, ALP, LDH et GSH suivi par divers changements ultra-structuraux dans le tissu hépatique. De plus, la taille plus petite du nanomatériau se révèle être plus puissant et toxique. (Anitha et al., 2017)

Les Al_2O_3 NP » induits une amélioration dans les architectures de neurones cérébraux à divers degrés. (Aly et al., 2018)

Plusieurs études ont reporté des effets toxiques multiples et à différents degrés liés à l'exposition aux nanoparticules d'oxyde d'aluminium, lors d'expérimentations toxicologiques menées sur différents modèles biologiques, il semblerait que l'oxyde d'aluminium aurait un puissant potentiel neurotoxique (Kumar et al., 2014).

L'exposition à ce type de nanoparticules peut effectivement induire des effets toxiques considérables dans le système nerveux, essentiellement à cause de leur potentielle

d'accumulation et leur mécanisme de toxicité associé à l'induction de stress oxydant et la surproduction d'EROS et la libération des radicaux libres (**Kumar et al., 2014**).

Gonzales et al. (2007) ont décrit des effets hépatotoxiques et des altérations des voies biliaires chez les rats après expositions sub-chronique par voie intrapéritonéale (IP) à l'hydroxyde d'aluminium ; l'évaluation du potentiel toxique a été effectuée par la mesure des biomarqueurs ; Glutathion réduit (GSH), Glutathion peroxydase (GPx), Glutathion-S-transférases (GST), Catalase (CAT) et les indicateurs de la peroxydation lipidique (TBARS) ; les résultats ont montré une diminution significative des biomarqueurs avec en parallèle une augmentation des indicateurs de peroxydation lipidique TBARS ; selon l'auteur ces modifications et altérations du système de détoxification dans le foie sont fortement liées à l'induction de stress oxydant causé principalement par la génération d'EROS ; au niveau histologique l'administration des particules d'Al₂O₃ a induit plusieurs dommages tissulaires et cellulaires dans le foie des rats notamment : importante nécrose hépatocellulaire, avec prolifération et fibrose légère.

La relation stress oxydatif et exposition aux nanoparticules d'oxyde d'aluminium a été aussi démontrée par **Morsy et al., (2013)**, ce type de nanoparticule métallique a une forte tendance à s'accumuler dans les milieux biologiques et cause des effets toxiques due principalement à l'induction de stress oxydant.

L'administration de l'oxyde d'aluminium par voie intrapéritonéale pendant 28 jours, a induit un bouleversement dans le système de défense antioxydant et de détoxification des rats Wistar dans différents organes (Foie, reins, cerveau) ; des mesures de taux de GSH, GPX, CAT, superoxyde dismutase (SOD), Malondialdéhyde (MDA) ont été effectuées pour évaluer l'impact des nanoparticules ; les résultats ont montré une diminution des taux de biomarqueurs dans le foie, les reins, et le cerveau et une augmentation des indicateurs de peroxydation lipidique MDA ; ceci prouve d'une part, que les nanoparticules d'oxyde d'aluminium peuvent s'accumuler dans différents organes et induire un stress oxydant, d'autre part, suggère que ce type de particule n'est pas seulement neurotoxique mais peut aussi être hépatotoxique et néphrotoxique à la fois (**Morsy et al., 2013**).

Une autre étude a montré que l'oxyde d'aluminium peut s'accumuler et induire des effets toxiques considérables dans le foie et le cerveau des souris Swiss Albinos ; l'exposition via l'eau de boisson contaminée par Al₂O₃ pendant une période subaiguë de 21 jours chez les souris a causé des altérations dans les enzymes de défense au niveau du foie et du cerveau des

individu exposées ; une augmentation significative des taux d'EROS produits a été aussi détectée suite à l'exposition dans les deux organes et dans les érythrocytes , une diminution importante des niveaux de GSH , GPX , SOD et CAT a été observée avec en parallèle une augmentation de TBARS ; en plus une augmentation d'expression des gènes ARN des CAT et SOD a été détectée ; une microscopie à transmission d'électrons TSM sur les tissus hépatique des souris a montré que les vésicules cytoplasmiques et des complexes de Golgi contenant des nanoparticules et également une nécrose du noyau chez les souris exposée à l' Al_2O_3 (**Shrivastava et al., 2013**). Ces résultats suggèrent en effets que ces nanoparticules peuvent être hépatotoxique et neurotoxique à la fois par un mécanisme très lié au stress oxydant ; l'oxyde d'aluminium peut s'accumuler et induire une surproduction d'EROS responsable en grande partie des effets toxiques attribués à ces nanoparticules (**Shrivastava et al., 2013**).

La toxicité de l'oxyde d'aluminium a aussi été reporté lors d'étude de cytotoxicité *in vitro*, l'exposition aux nanoparticules d' Al_2O_3 sur des lignées de cellules de saumon hinnok (CHSE-214) de poissons d'eau douce a révélé plusieurs effets toxiques ; le test de viabilité cellulaire (MTT) a montré une diminution dose-dépendante de la viabilité des cellules ; la mesure des activités des biomarqueurs de stress oxydant et de détoxification a montré une réduction significative des taux de GSH et l'activité des SOD et CAT avec une augmentation significative des indicateurs de peroxydation lipidique TBARS et de l'activité du Glutathion s-transférases GST; avec des altérations dans la morphologie cellulaire au fur et à mesure de l'augmentations des doses de nanoparticules ; ces résultats peuvent être expliqués par le fait que les nanoparticules d'oxyde d'aluminium ont induits un stress oxydant chez les cellules (CHSE-214) ce qui a causé une génération importante d'EROS principalement incriminée dans les effets cytotoxique observés ; l'oxyde d'aluminium peut être donc toxique pour plusieurs modèles biologiques (**Srikanth et al.,2015**).

Durant une étude conduite sur les rats Wistar dont l'objectif final était de déterminer la toxicité aiguë des nanoparticules d'oxyde d'aluminium ; il s'est avéré que la DL_{50} de l'oxyde d'aluminium était approximative à 15.10 et 12.88 g / kg PC., pour 24h et 48h respectivement, suite à l'administration de doses aiguës relativement élevées a montré une forte accumulation des nanoparticules d'oxyde d'aluminium dans plusieurs organes des rats notamment le foie , le cerveau , les reins , les intestines et les poumons ; des effets

génétoxique au niveau du cerveau suit à l'exposition aigu ont aussi été démontrés par le test COMETE ; en s'appuyant sur résultats ont peut affirmer que ces nanoparticules possède effectivement un potentielle d'accumulation très élevé et une toxicité non négligeable (**Morsy et al., 2013**) .

Des effets toxiques ont été reportés par **Alshatwi et al., (2013)**, suit à l'exposition de lignées cellulaires Humain ; cellules souches mésenchymateuses ; à différentes doses de l'oxyde d'aluminium ; la viabilité cellulaire a fortement affecté ; les niveaux d'expression des gènes des enzyme de détoxification de CYP1A et POR ont été régulés avec une réduction significative de l'expression de l'enzyme antioxydant SOD. En outre, des changements dépendants de la dose dans les niveaux d'ARNm de GSTM3, GPX et GSR ont été notés ; les résultats obtenus peuvent démontrer que les nanoparticules d' Al_2O_3 ont un mécanisme de toxicité médié par la production d'espèces réactives d'oxygènes et l'induction d'un état de stress oxydatif.

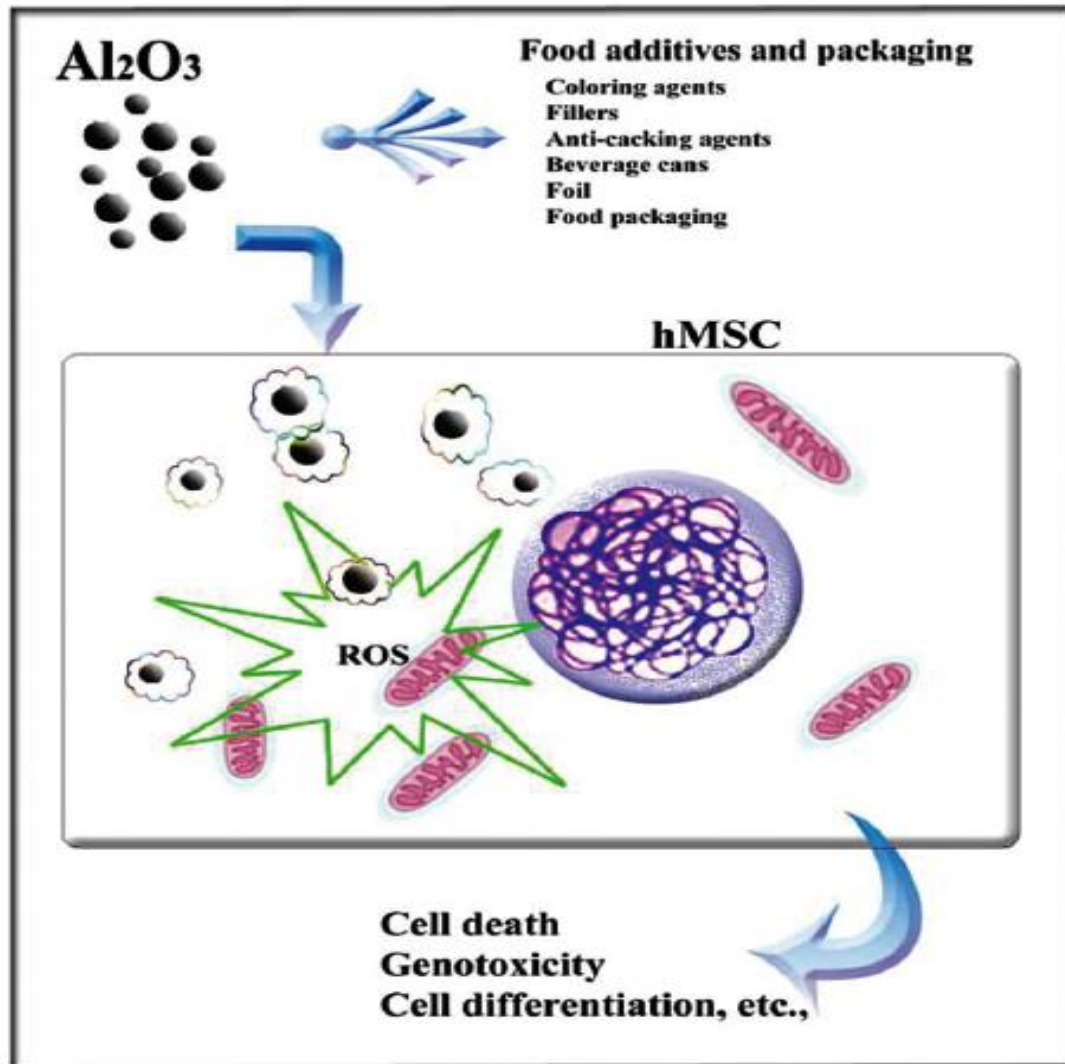


Figure 08: Mécanisme de toxicité par induction de stress oxydatif des nanoparticules d' Al_2O_3



Objectifs de travail

Notre travail de recherche a pour objectif d'évaluer la toxicité d'une molécule nanométrique (l'oxyde d'aluminium) chez les souris, avec une approche histologique et biochimique.

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de biodiversité et pollution des écosystèmes dirigé par Pr Nasri Hichem, professeur en biologie, université Chadli Ben Djedid El-Taref.

III. Matériel

3.1. Matériel chimique

Le matériel chimique utilisé dans cette expérimentation est une préparation commerciale de nanoparticules à base d'oxyde d'aluminium.

3.2. Modèle biologique et traitement

Pour cette étude nous avons réceptionné 12 souris femelles (*Mus musculus*), âgés de 7 semaines, de l'animalerie de l'Université Constantine 3. Les animaux étaient hébergés dans des cages en polyéthylène munies d'étiquettes où sont mentionnés le nom du lot, le traitement subit et les dates des expérimentations, les cages sont tapissées d'une litière en copeaux de bois nettoyées quotidiennement.

Ces souris ont été soumis à une période d'adaptation d'un mois environ, aux conditions de l'animalerie ; à une température de ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) et une photopériode naturelle (12/12 H). Elles ont été nourries avec un concentré énergétiquement équilibré et l'eau. Le poids vif moyen des rats au début de l'expérimentation est environ 20g.

Après la période d'acclimatation, les animaux ont été reparti au hasard en quatre groupes, de trois souris chacun. Puis coupler avec des males matures pendant une semaine. Ensuite les animaux sont laissés à jeun pendant 24h avant l'expérimentation.

Les différents traitements des souris sont comme suivis :

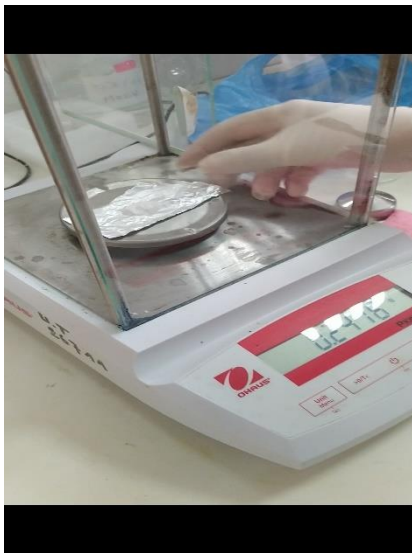
Lot 1 (T) : groupe témoin, les souris reçoivent 500 ml d'eau minérale.

Matériel et méthode

Lot 2 : les souris reçoivent 500 ml d'eau minérale contenant 80 mg/ind d' Al_2O_3 .

Lot 3 : les souris reçoivent 500 ml d'eau minérale contenant 160 mg/ind d' Al_2O_3 .

Lot 4 : les souris reçoivent 500 ml d'eau minérale contenant 240 mg/ind d' Al_2O_3 .



Pesage de 80,160, 240
mg/ind d' Al_2O_3



Mettre le produit dans un
biberon de 500 ml



Ajouter 500 ml



Mélangez le tout avec le vortex

Figure 09 : Les étapes de préparation de particule d'oxyde d'aluminium



Figure 09: Lot 01



Figure 10: Lot 02



Figure11: Lot 03

après 45 jour d'exposition, les souris sont sacrifiées par décapitation, et les organes visés (foie et rein) sont prélevés et fixés immédiatement dans des solutions tampons et conservés au congélateur à -20°C , pour le dosage des biomarqueurs du stress oxydant

3.3. Dosages des biomarqueurs du stress oxydant

Les dosages des biomarqueurs sont effectués sur la glande digestive des escargots (hépatopancréas).

3.3.1. Dosage du glutathion GSH

❖ **Principe** : le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de **Weckbecker et Cory (1988)**. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements thiols (-SH) du glutathion. Pour cela une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion.

❖ **Préparation de l'homogénat** : 100 mg de chaque tissu (100 μl de plasma) ont été mis en présence de 1 ml d'une solution d'acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA) à 0,02 M,

puis broyés en utilisant un broyeur ultrason pendant 5 min et centrifugé à froid (4 °C) (10.000 trs/ 10min) pour obtenir un homogénat.

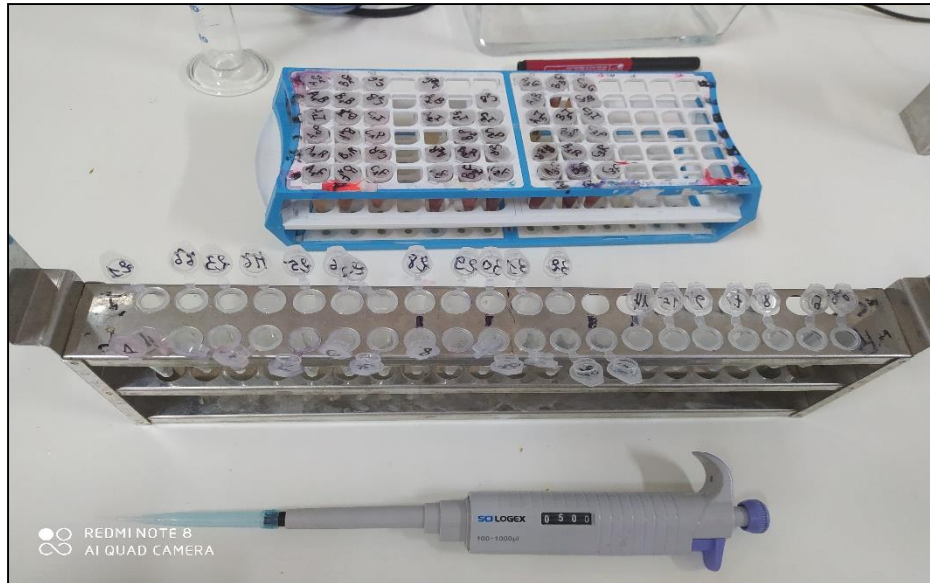


Figure 12 : Préparation de l'homogénat (photo personnel)

❖ Mode opératoire :

1. Prélever 0,8 ml de l'homogénat.
2. Déprotéiniser en ajoutant 0,2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (ASS) 0,25 %.
3. Agiter le mélange et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
4. Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
5. Prélever 0,5 ml du surnageant.
6. Ajouter 1 ml du tampon Tris + EDTA (0.02 M d'EDTA), pH 9,6.
7. Mélanger et ajouter 0,025 ml de DTNB à 0,01 M (dissous dans le méthanol absolu).
8. Laisser pendant 5 min à température ambiante pour la stabilisation de la couleur qui se développe instantanément.
9. Lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

❖ La concentration du glutathion est obtenue par la courbe d'étalonnage du glutathion.

3.3.2. Dosage de l'activité glutathion S-transférase (GST)

❖ **Principe** : la mesure de l'activité des GSTs a été réalisée par la méthode de **Habig et al. (1974)**, celle-ci consiste à fournir à l'enzyme un substrat en général du 1-chloro, 2,4-dinitrobenzène (CDNB), qui se conjugue facilement avec glutathion sous l'action de nombreuses formes de GST. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une molécule nouvelle qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde.

❖ **Préparation de l'homogénat** : 100 mg de tissu a été mis en présence de 1 ml d'une solution Tris HCl à 10mM, pH 7.4, puis ont été broyés à froid (4 °C) en utilisant un broyeur ultra son et centrifugés à 10 000g pendant 10min à 4°C.

❖ **Mode opératoire :**

1. Prélever 50 µl de l'homogénat.
2. Ajouter 1.05 ml du tampon tris 100 mM (pH 7.4)
3. Ajouter 50µl de CDNB à 1mM.
4. Ajouter 50µl du GSH à 1mM.
5. Agiter bien le mélange.
6. L'activité enzymatique a été déterminée en surveillant les changements d'absorbance à 340 nm chaque minute pendant cinq (05) minutes.

Le taux du GST est déterminé avec le coefficient d'absorbance $\epsilon = 9.6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

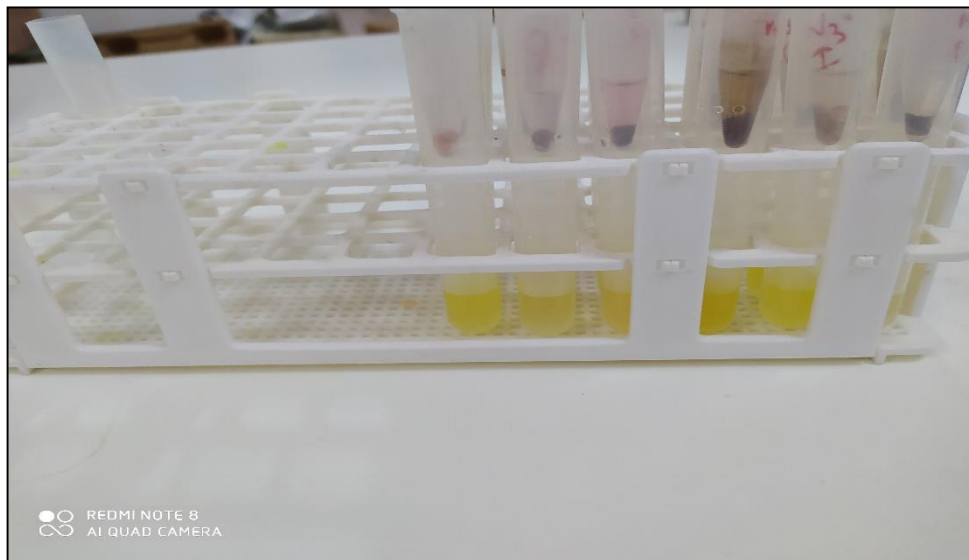
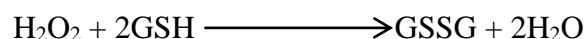


Figure 13 : dosage de GST (photo personnel)

3.3.3. Dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GPx)

❖ **Principe** : l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de **Flohé et Günzler (1984)**. Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



❖ **Préparation de l'homogénat** : 100 mg de tissu a été mis en présence de 1 ml d'une solution Tris-HCl (10 mM, pH 7.4), puis broyés en utilisant un broyeur ultrason pendant 5 min et centrifugé à froid (4 °C) (10.000 trs/ 10min) pour obtenir un homogénat.

❖ **Mode opératoire** :

1. Prélever 0.2 ml de l'homogénat.
2. Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM).
3. Ajouter 0.2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4).
4. Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min.
5. Ajouter 0.2ml de H_2O_2 (1,3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes.
6. Ajouter 1 ml de TCA (1 %) pour arrêter la réaction.
7. Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
8. Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes.
9. Prélever 0,48 ml du surnageant.
10. Ajouter 2,2 ml de la solution tampon TBS.
11. Ajouter 0,32 ml de DTNB (1 mM)
12. Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

Le taux du GPx est déterminé avec le coefficient d'absorbance $\epsilon = 2470 M^{-1} \cdot cm^{-1}$

3.3.4. Dosage des protéines

❖ **Principe** : la concentration de protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)** qui utilise le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amine ($-NH_2$) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

❖ **Mode opératoire** :

1. Prélever 0.1 mL de l'homogénat

2. Ajouter 5 mL du réactif de Bradford
3. Agiter et laisser reposer 5 min
4. Lire la densité optique à 595 nm, contre le blanc

❖ **Calcul de la concentration des protéines :** la densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée. La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1 mg/mL) réalisée dans les mêmes conditions.

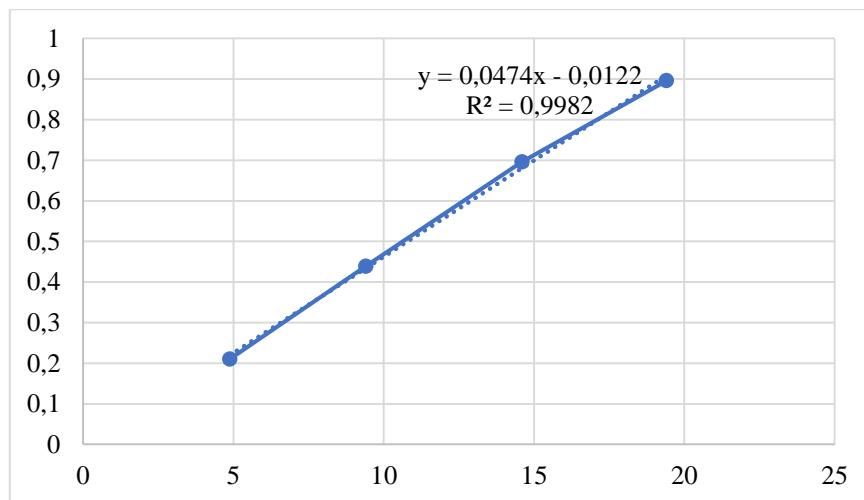
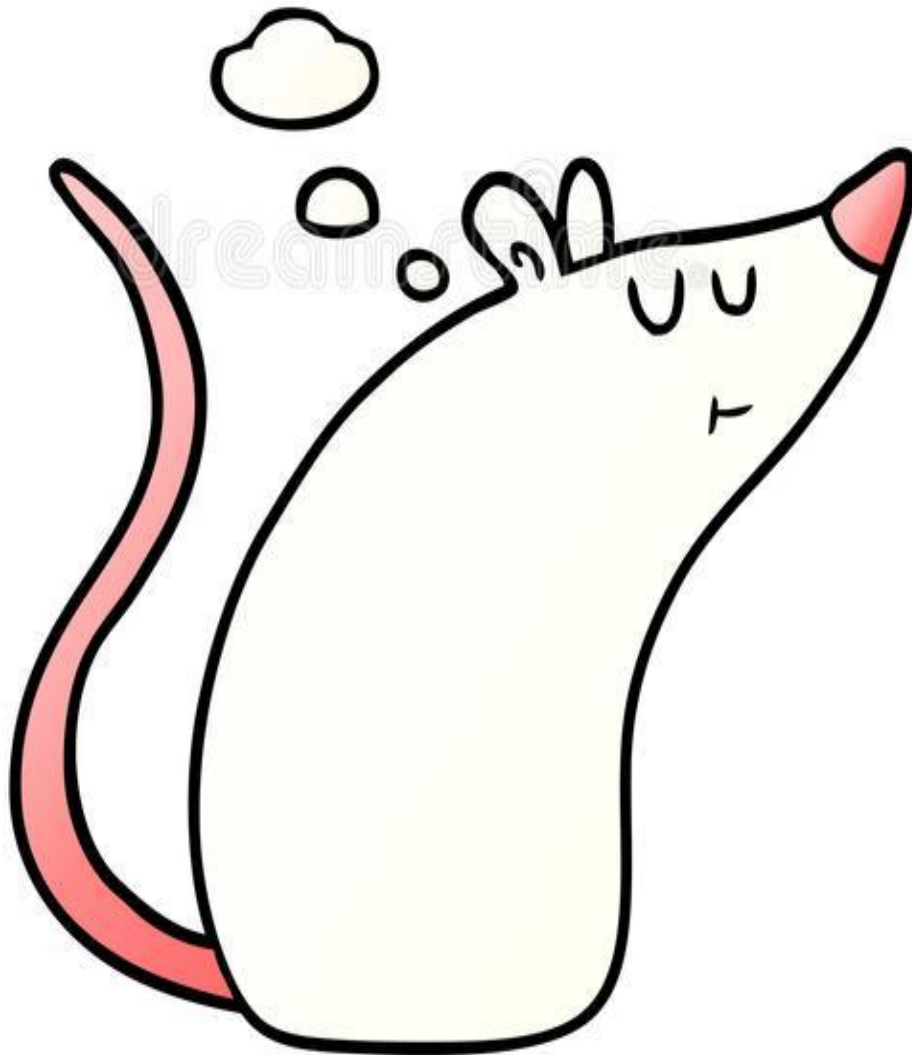


Figure 12 : courbe d'étalonnage des protéines.

- Analyse statistique

Toutes les analyses ont été effectuées à l'aide d'IBM SPSS Statistics 25. Le test Shapiro-Wilk a été utilisé pour vérifier si les variables suivaient une distribution normale et s'étaient affichées comme moyennes \pm SE. Les moyens des groupes ont été comparés à l'aide d'ANOVA à un facteur, alors qu'ANOVA était une comparaison multiple significative des valeurs moyennes qui étaient séparées par le test de Tukey. Les différences statistiques ont été déterminées au niveau $P < 0,05$ pour toutes les analyses.

RÉSULTATS ET
INTERPRÉTATION



IV.1. Impact de l'Oxyde d'aluminium sur le taux de glutathion réduit (GSH)

Des souris swiss albinos ont été exposées via l'eau à trois doses de l'oxyde d'aluminium Al_2O_3 (80, 160 et 240 mg) pendant 45 jours. Le taux de glutathion réduit (GSH) détecté au niveau du foie et des reins des rats traités et témoins.

IV.1.1. Au niveau du foie

La figure N° illustre la variation de niveau du biomarqueur non enzymatique « GSH » dans le foie des souris. Une diminution significative de taux de GSH est rencontrée suite à 45 jours d'exposition à une eau contaminée par 80 mg de l' Al_2O_3 (1.68 ± 1.60 nmol/mg de protéine), alors qu'une augmentation légère est notée au niveau des deux autres groupes qu'ont bu 160 mg et 240 mg de l'alumine avec respectivement ; 13.81 ± 2.40 et 12.71 ± 4.32 nmol/mg de protéine, en comparant avec un témoin de 8.8 ± 0.71 nmol/mg de protéine.

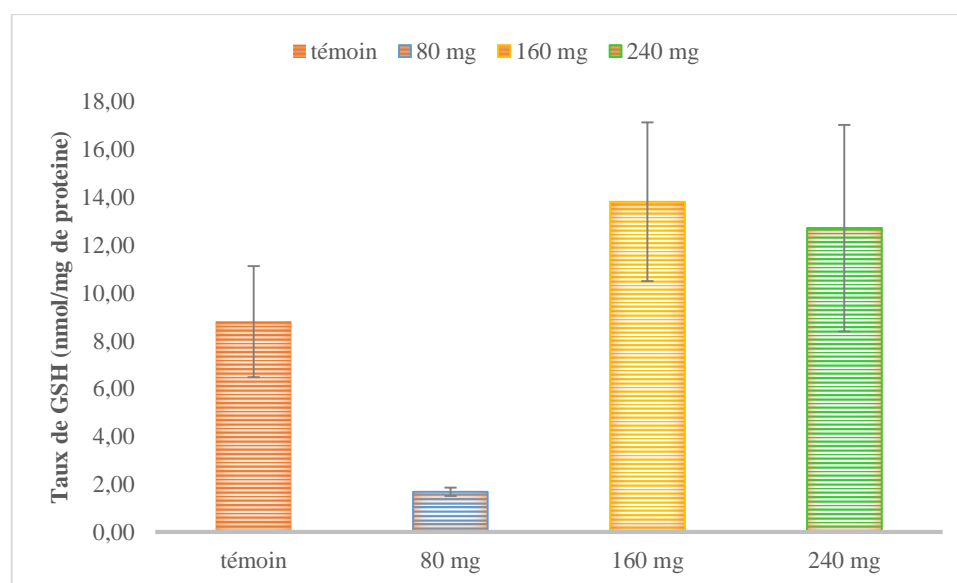


Figure 13 : Variations du taux de GSH au niveau du foie chez les souris traitées par le dioxyde d'aluminium.

IV.1.2. Au niveau des reins

Une réduction très hautement significative de GSH est remarquée au niveau des reins après la consommation de l'eau contaminée par l'alumine ($p=0.000$; figure N°).

La forte diminution est notée chez les souris traitées par la faible et la forte dose (80 et 240 mg) de l' Al_2O_3 , dont les valeurs de GSH étaient respectivement, 2.43 ± 1.60 et 3.76 ± 2.81 nmol/mg de protéine, alors que son niveau chez les souris témoins est 18.32 ± 0.71 nmol/mg de protéine.



Figure 14 : Variations du taux de GSH au niveau des reins chez les souris traitées par l' Al_2O_3 .

IV.2. Impact de l'Oxyde d'aluminium sur le taux de glutathion-s-transférase (GST)

IV.2.1. Au niveau du foie

Une stabilité du niveau de GST après l'exposition à l'oxyde d'aluminium au niveau du foie des souris ($p>0.05$; figure N°). Une légère diminution non significative est notée dans l'organe des individus consommés la faible dose 80 mg Al_2O_3 ; 5.53 ± 1.70 nmol/min/mg de protéine par rapport à leur témoin ; 9.48 ± 0.74 nmol/min/mg de protéine.

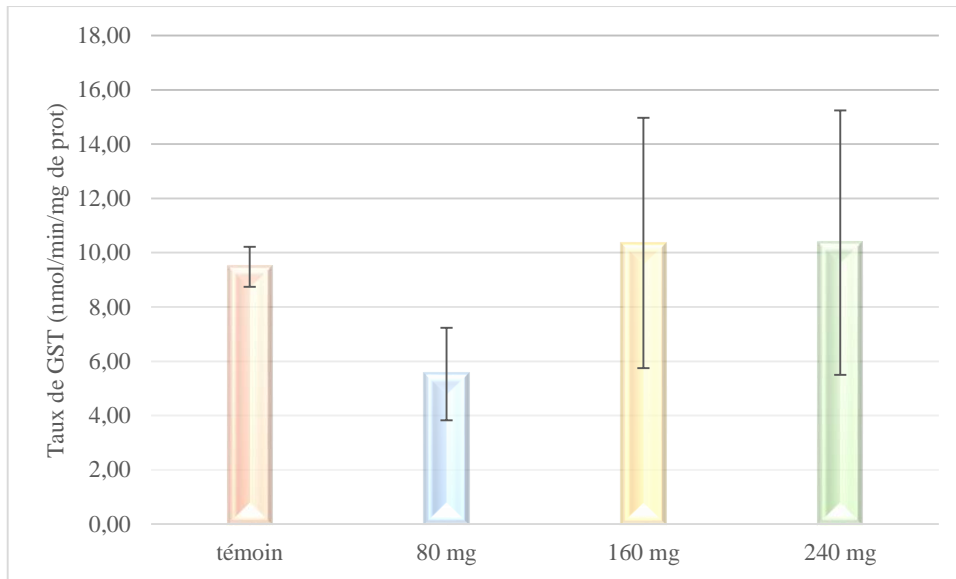


Figure 15 : Variations du taux de GST au niveau du foie chez les souris traitées par l'Al₂O₃.

IV.2.2. Au niveau des reins

La figure N° montre une induction significative de l'activité enzymatique de GST ($p < 0.01$) au niveau des reins des souris traitées par le dioxyde d'aluminium. Une forte augmentation de GST est notée après l'exposition à 160 mg de l'alumine, avec 18.75 ± 4.6 nmol/min/mg de protéine, tandis que les reins des souris témoins, bu l'eau minérale pendant 45 jours, 5.66 ± 0.54 nmol/min/mg de protéine.

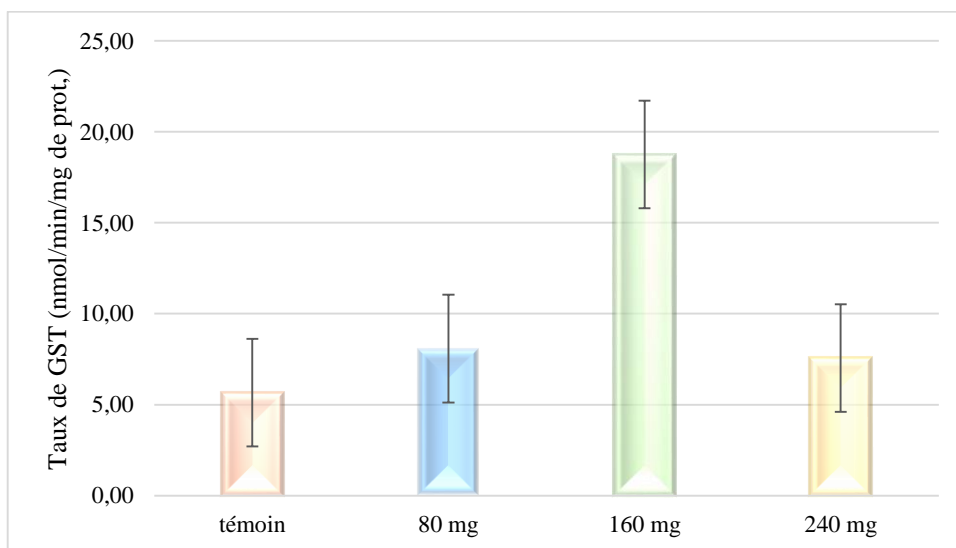


Figure 16 : Variations du taux de GST au niveau des reins chez les souris traitées par l'Al₂O₃.

IV.3. Impact de l'Oxyde d'aluminium sur le taux de glutathion peroxydase (GPx)

IV.3.1. Au niveau du foie

Les variations de l'activité du glutathion peroxydase au niveau de foie des souris traitées par l'oxyde d'aluminium sont représentées dans la Figure N°.

Les résultats obtenus nous révèlent que l'exposition sub-chronique aux trois extraits de Al_2O_3 a provoqué une inhibition significative de la GPx ($p=0.000$), dont la plus faible valeur notée au sein des souris exposés à la forte dose de Al_2O_3 ; 240 mg ($p=0.000$), avec 15.59 ± 1.64 nmol GSH/mg de protéine, par rapport à rat témoin qui ont bu de l'eau minérale ; $157,33 \pm 6.33$ nmol GSH/mg de protéine.

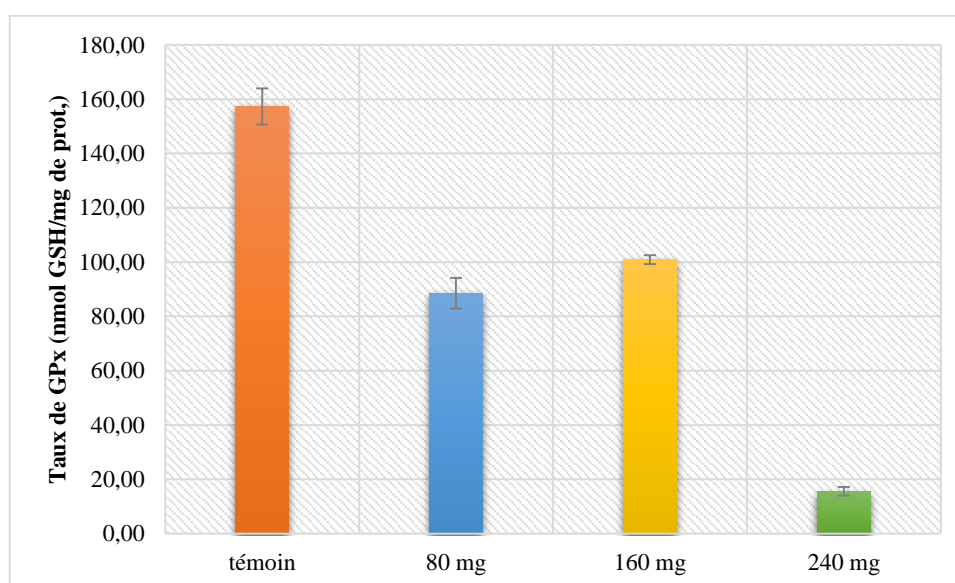


Figure 17 : Variations du taux de GPx au niveau du foie chez les souris traitées par l' Al_2O_3 .

IV.3.2. Au niveau des reins

L'effet de 45 jours de consommation d'une eau contaminée par l'oxyde d'aluminium, est illustré dans la Figure N°. Les résultats ont mis en évidence une relation dose-effet de l'activité enzymatique de GPx, au niveau des reins ($p \leq 0.01$), les valeurs chez le témoin est 148.99 ± 14.78 nmol GSH/mg de protéine, alors que chez les traités étaient respectivement, 120.53 ± 31.11 , 87.94 ± 24.46 et 43.16 ± 17.12 nmol GSH/mg de protéine.

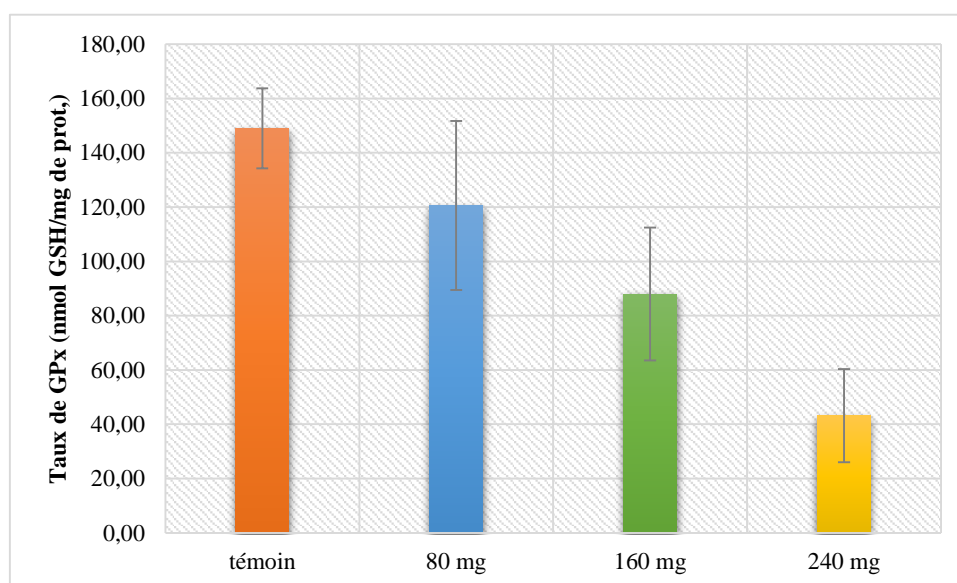


Figure 18 : Variations du taux de GPx au niveau des reins chez les souris traitées par l' Al_2O_3 .



Les nanoparticules (NP) peuvent être définies comme des matériaux qui ont au moins une dimension inférieure à 100 nm (Balasu-bramanyam et al., 2009). En raison de leurs propriétés chimiques, mécaniques et biologiques uniques, ils sont souhaitables pour les applications industrielles et médicales (Oberdorster et al., 2005). Cependant, l'augmentation de la surface spécifique des NP peut présenter une plus grande activité biologique, comme une génération accrue d'espèces réactives d'oxygène (ROS) par rapport aux grosses particules à masse équivalente (Liu et al., 2010).

Le stress oxydatif est considéré comme le mécanisme de toxicité le plus courant lié à l'exposition aux nanoparticules (Yang et al., 2009). Le stress oxydatif induit par les nanoparticules entraînant la production des radicaux libres et entraînant une altération des antioxydants. Différentes nanoparticules sont impliquées dans la perturbation de la fonction mitochondriale par la formation d'espèces réactives d'oxygène (ROS) dans un certain nombre de lignées cellulaires (Long et al., 2007; Kang et al., 2008; Park et al., 2008). Les ROS provoquent un certain nombre de lésions, notamment l'oxydation des protéines, des lipides et de l'ADN (Shigenaga et Ames, 1991 ; Srikanth et al., 2014).

Notre travail consiste à étudier l'impact d'une toxicité sub-chronique par le dioxyde d'aluminium chez la souris. Cette toxicité est détectée par trois biomarqueurs de stress oxydants ; le glutathion réduit, le glutathion-s-transférase et le glutathion peroxydase, et cela au niveau de deux organes ; le foie et les reins.

Le foie a facilité des systèmes de transport spécifiques pour l'absorption d'Al (Wilhelm et al., 2001), et comme d'autres organes qui l'accumulent, il n'est pas surprenant que le foie soit une cible de la toxicité d'Al. Une hépatotoxicité a été rapportée dans des modèles in vivo d'intoxication à l'Al, comme déduit de l'élévation dans le plasma des marqueurs enzymatiques de l'hépatotoxicité (Yousef, 2004 ; Demerdash, 2004). Le même phénomène était apparent dans les modèles in vitro, comme indiqué par la libération accrue d'enzymes cytosoliques par des hépatocytes en culture exposés de façon subaiguë à Al (Abreo et al., 2004) ou par du foie de rat perfusé isolé exposé de façon aiguë au métal (Wilhelm et al., 2001).

L'origine des altérations de l'intégrité de la membrane hépatocellulaire peut être multifactorielle, mais le stress oxydatif induit par l'Al pourrait être crucial. Les résultats obtenus ici montrent que l'équilibre entre les forces antioxydantes et oxydantes est perturbé

chez les souris traitées à l'Al, résultant uniquement de l'augmentation de la production de radicaux libres mais aussi d'une diminution des défenses antioxydantes, y compris la teneur en GSH, GPx et GST.

Une diminution significative de GSH lorsqu'elle est exposée à Al₂O₃-NPs pendant 45 jours, indique une condition de stress oxydatif dans le foie et les reins, et cela est due à la production des ROS et au système de défense antioxydant (Alshatwi et al., 2013), sachant que les NP d'alumine causent aussi, des dommages à la membrane mitochondriale par interaction avec les groupes thiol (Almofti et al., 2003 ; Alshatwi et al., 2013).

Le glutathion (GSH) est un tripeptide de cystéine, de glycine et d'acide glutamique, possède une puissante capacité antioxydante. Il joue un rôle important non seulement dans la protection des tissus contre les effets dégénératifs des dommages oxydatifs en éliminant les radicaux libres des composés endogènes ou exogènes (Reed, 1986), mais aussi en détoxifiant directement de nombreux composés exogènes (Lee et al., 1996 ; Mizutani et al., 1999).

Une diminution similaire des niveaux de GSH a été observée par Zhang et al. (2000). En outre, Srikanth et al., (2015), avaient exposé des lignées cellulaires à des doses différentes d'oxyde d'aluminium, une déplétion de GSH dose-dépendante dans les cellules CHSE-214 était notée, qui reflétait le stress oxydatif dans les cellules exposées aux NPs. Des résultats similaires sont perceptibles dans les cellules PMEF exposées à différents types de NPs comme rapporté par Yang et al. (2009). Une baisse similaire du GSH a été observée dans les cellules HepG2 exposées aux NP de silice (Ahmad et al., 2012).

Le travail de Morsy et al. (2013), visait à évaluer le stress oxydatif de la nano-alumine par des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques dans le cerveau, le foie et les reins des rats, après 2 jours d'injection d'une dose aiguë unique (3,9 ou 6,4 ou 8,5 g/kg) et une dose sublétales de 1,3 g/kg une fois tous les 2 jours pendant une période de 28 jours. Les activités de la superoxyde dismutase (SOD), de la catalase (CAT) et de la glutathion peroxydase (GPx) ainsi que les niveaux de glutathion (GSH) et de LPO ont été significativement affectés par les doses injectées. Le coefficient de corrélation indique que le stress oxydatif dépend principalement de l'aluminium accumulé dans les organes étudiés. En comparaison avec les témoins correspondants, les doses aiguës et sublétales d'Al₂O₃-NPs ont provoqué une

inhibition significative des activités cérébrales, hépatiques et rénales des SOD, CAT, GPx et une réduction sévère et marquée des concentrations de GSH.

Alshatwi et al. (2013) ont prouvé l'impact d' Al_2O_3 -NPs sur les cellules souches mésenchymateuses humaines (hMSC), des changements dépendant de la dose dans les niveaux d'ARNm de GSTM3, GPx et GSR ont été notés. Ces résultats suggèrent que la toxicité des Al_2O_3 -NPs dans les hMSC peut être médiée par une augmentation du stress oxydatif.

Nos résultats indiquent aussi, une stabilité de l'enzyme de métabolisation ; GST, au niveau du foie mais son induction au niveau des reins après la consommation des souris de l'eau contaminée par l'oxyde d'aluminium pendant 45 jours.

Le GST intervient dans la biotransformation cellulaire lorsque l'organisme est confronté à des xénobiotiques en les conjuguant au groupe sulfhydryle (-SH) du glutathion (GSH), ce qui améliore leur excrétion cellulaire. L'augmentation de l'activité du GST est donc considérée comme un signal de stress chimique. L'augmentation significative de cette activité enzymatique consécutive à l'exposition à la Al_2O_3 observée dans la présente étude pourrait être due à des taux plus élevés de conjugaison de la nanoparticule dans les cellules, ainsi qu'à la biotransformation des composants cellulaires endommagés par les ROS (Storey, 1995). En fait, les cellules CHSE-214 exposées à des Al_2O_3 -NPs ont indiqué une augmentation significative de l'activité de la GST en fonction de la dose (Srikanth et al., 2015).

Les Al_2O_3 -NPs peuvent induire la production de radical hydroxyle par oxydation qui aurait pu induire l'augmentation de l'activité du GST. Dans les hMSC exposés aux ANP, aucun changement significatif n'a été observé dans les niveaux d'ARNm de GST par rapport à leurs témoins respectifs (Alshatwi et al., 2013).

Les GPx constituent une famille d'enzymes capables de réduire des composés hydroperoxydes en composés hydroxyles correspondants en utilisant du glutathion ou des agents réducteurs équivalents comme cosubstrats (Gladyshef et al., 1998). L'activité enzymatique de la GPx au niveau des reins et du foie a diminué pour tous les groupes traités par Al_2O_3 comparativement aux témoins. Ces résultats sont en accord avec les travaux antérieurs de Ben Amara et al. (2011) effectués sur des rats traités avec un pesticide, le diméthoate. Ces auteurs ont attribué cette diminution à l'effet du stress oxydatif. En effet,

l'augmentation de la peroxydation lipidique affaiblit aussi bien le fonctionnement des membranes par la baisse de leur fluidité que l'activité des enzymes membranaires et cytoplasmiques (Pallavi et al., 2003).

De l'hydroxyde d'aluminium a été administré par voie IP (27 mg/kg de poids corporel, trois fois par semaine, pendant 90 jours), chez des rats wistar, a provoqué augmentation de la peroxydation lipidique (+ 50%) et diminution de taux de glutathion hépatique (-43%) et activité de la glutathion peroxydase (-50%) et de la catalase (-88%) au niveau du foie (Gonzalez et al., 2007).

Dans le travail de Canli et al. (2018), des nanoparticules (NP) d'aluminium (Al_2O_3), de cuivre (CuO) et de titane (TiO_2) ont été administrées par gavage oral à des rats femelles matures (*Rattus norvegicus* var. Albinos) pendant 14 jours avec une dose séries de 0 (contrôle), 0,5, 5 et 50 (mg/kg pc/jour). Les activités des enzymes associées aux métabolismes du glutathion (GR, GPx, GST) ont également été modifiées de manière significative par les NP. L'activité GPx a augmenté chez les rats recevant Al_2O_3 , CuO NPs, tandis que l'activité GR n'a augmenté que par Al_2O_3 . Cependant, il y a eu des augmentations (TiO_2) et des diminutions (CuO) de l'activité de la GST dans le foie des rats.



Conclusion et perspective

Le dioxyde d'aluminium fait partie des nanoparticules métalliques les plus largement utilisées dans multiples domaines, les particules d' Al_2O_3 sont en interaction continue avec l'Homme et l'environnement du fait de leurs utilisations massive et souvent non contrôlé ; ces nanoparticules sont utilisées dans divers industries notamment agro-alimentaire, pesticides et fertilisant mais aussi dans le secteur Médicale et pharmaceutique ; et ceci malgré les risques liées à leur potentielle toxicité connue.

Notre étude a pour but ultime de déterminer la toxicité des nanoparticules d' Al_2O_3 sur les Souris Albinos, après une exposition orale sub-chronique via l'eau de boisson, en évaluant les effets induits sur trois bio marqueurs : GSH, GST et GPX, au niveau du foie et des reins ; les résultats obtenus montrent que :

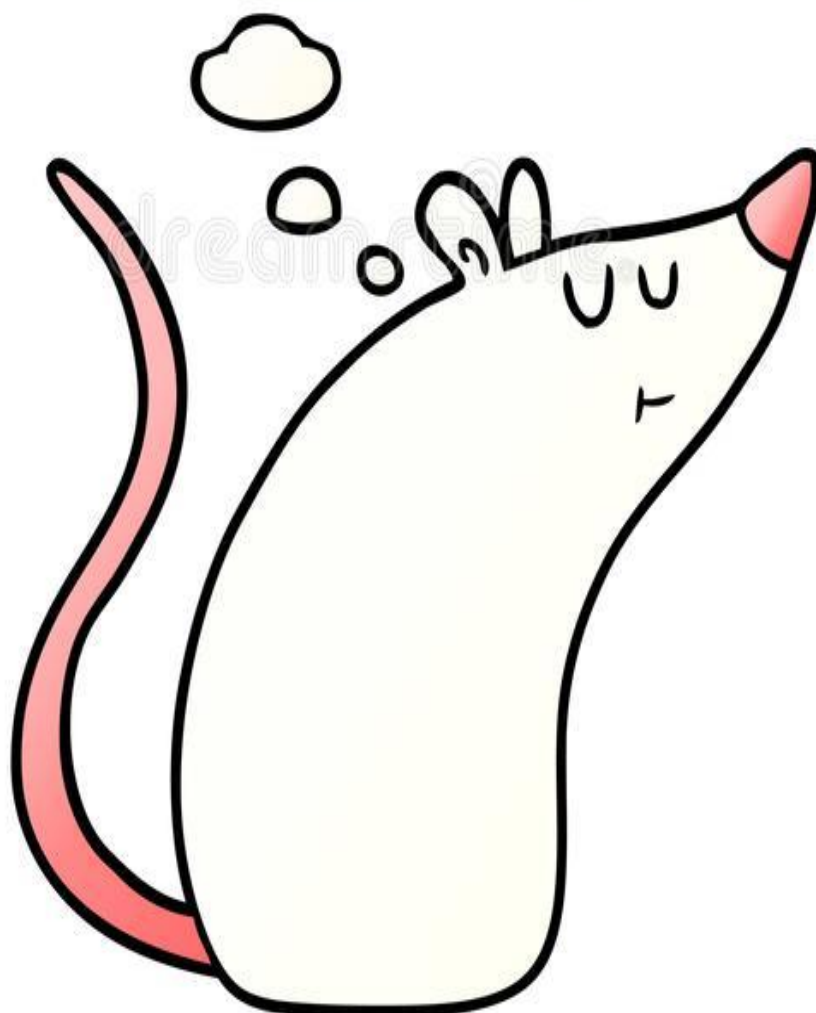
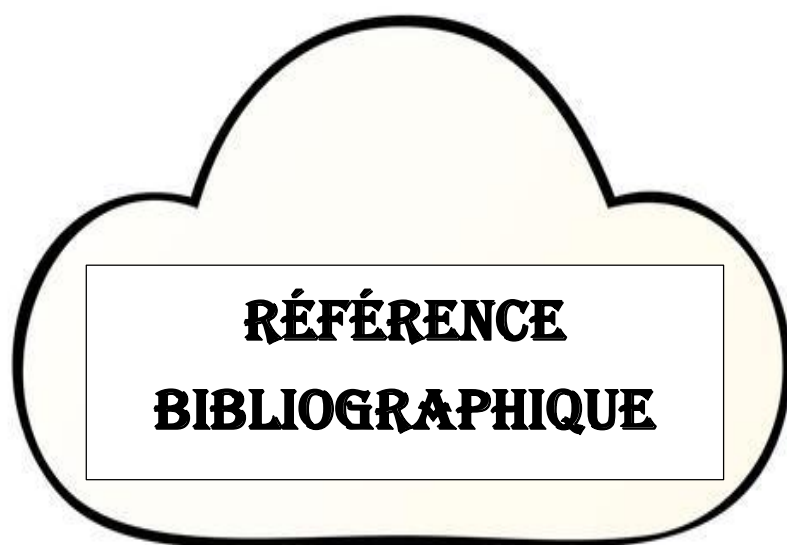
- ✚ Une réduction des taux de GSH dans le foie des souris traitées avec la faible dose, alors qu'une induction au niveau des deux autres groupes.
 - ✚ Une néphrotoxicité intense traduite par une diminution des valeurs de GSH.
 - ✚ Une stabilité légère dans l'activité des GST dans le foie et une augmentation significative dans les reins
 - ✚ Une diminution des taux de GPX dans le foie, et une diminution progressive dose-dépendante très forte dans les reins des souris.
- ✓ Selon nos résultats il semblerait que les nanoparticules d'oxyde d'aluminium ayant un pouvoir néphrotoxique important supérieur à leur hépatotoxicité, suite à l'exposition orale.

En perspective nous suggérons les points suivants :

- La réalisation d'autres approches toxicologiques sur ce type de nanoparticules afin d'élargir les connaissances sur leurs mécanismes de toxicité

Conclusion et perspective

- Une législation nationale sur les nanoparticules en général et spécifique sur le dioxyde d'aluminium, avec des lignes directives, limitation d'usage et restriction
- Un control sévère et efficace des utilisations industrielles et médicales d' Al_2O_3 , avec limitation d'usage massive
- Une évaluation environnementale nationale sur les taux d' Al_2O_3 , pour déterminée les risques probables sur le sante publique.



A

- Afssap :AGENCE FRANCAISE DE SECURITE SANITAIRE DES PRODUITS DE SANTE. Évaluation du risque lié à l'utilisation de l'aluminium dans les produits cosmétiques. AFSSAPS, 2011. 44 p.
- Amudha Murugan, Krishna Kumara, Shanmugasundaram, 2014. Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using the aqueous extract of vitex negundo. linn. World J. Pharm. pharm. Sci., 3(8): 1385 1393.
- Anitha, S. L., Sabarima, S. P., & Priya, B. (2017). Ultrasound assisted extraction of pectin from waste Artocarpus heterophyllus fruit peel. Ultrasonics Sonochemistry, 34, 525–530. doi:10.1016/j.ultsonch.2016.06.015
- Alshatwi, A. A., Subbarayan, P. V., Ramesh, E., Al-Hazzani, A. A., Alsaif, M. A., & Alwarthan, A. A. (s. d.). *Aluminium oxide nanoparticles induce mitochondrial-mediated oxidative stress and alter the expression of antioxidant enzymes in human mesenchymal stem cells*. 11.

C

- Concise encyclopedia of composite materials, A. Kelly, 1994.
- Css : Conseil Supérieur de la Santé 2015

D

- Domínguez, G.G. Brown, K.D. Sautter, C.M.R. De Oliveira, E.C. De Vasconcelos, C.C. Niva, M.L.C. Bartz, J.C. Bedano, Toxicity of AMPA to the earthworm Eisenia andrei Bouché, 1972 in tropical artificial soil, Sci. Rep. 6 (2016). doi:10.1038/srep19731.

- Dominguez, G. A., Youn, J.-I., Kossenkov, A. V., Mony, S., Alicea-Torres, K., ... Gabrilovich, D. I. (2016). Lectin-type oxidized LDL receptor-1 distinguishes population of human polymorphonuclear myeloid-derived suppressor cells in cancer patients. *Science Immunology*, 1(2), aaf8943–aaf8943. doi:10.1126/sciimmunol.aaf8943

E

- european Food safety agency (eFsa) (2008b). Annex of the opinion on safety of aluminium from dietary.
- El-Hussainy, E.-H. M. A., Hussein, A. M., Abdel-Aziz, A., & El-Mehasseb, I. (2016). Effects of aluminum oxide (Al₂O₃) nanoparticles on ECG, myocardial inflammatory cytokines, redox state, and connexin 43 and lipid profile in rats: possible cardioprotective effect of gallic acid. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 94(8), 868–878. doi:10.1139/cjpp-2015-0446

F

- F. M. El-Demerdash, Antioxidant effect of vitamin E and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium, *J. Trace Elements Med. Biol.* 18,113–121 (2004).

G

- Gojova et al (2007) Environ Health Perspect 115 :403 – 409
- GOURIER-FRERY C., FRERY N. « Aluminium ». EMC - Toxicol.-Pathol. juillet 2004. Vol. 1, n°3, p. 79 - 95.
- Göbel G, Karaiskaki N, Gerlinger I, and Mann WJ. Tracheal ceramic rings for trahomalacia: A review after 17 years. Laryngoscope. 2007;117:1741-1744.
- Guy Murry. Généralité sur L'aluminium et ses alliages. Aide-mémoire Métallurgie. Dunod, Paris, 2004, 2010. Page (202-213). (Deuxièmes édition).
- Gourier-Frery, C, Zmirou, D, Cicoella, A, Bonnard, R, and Dujardin, R. Evaluation of the residual sanitary risk for people spending time on the beaches polluted by the Erika fuel, after the depollution; Evaluation du risque sanitaire résiduel pour les populations fréquentant les plages polluées par le fioul rejete par l'ERIKA, apres depollution. France: N. p., 2004.
- Gonzalez, M. A., Alvarez, M. D. L., Pisani, G. B., Bernal, C. A., Roma, M. G., & Carrillo, M. C. (2007). Involvement of oxidative stress in the impairment in biliary secretory function induced by intraperitoneal administration of aluminum to rats. *Biological Trace Element Research*, 116, 20.



- INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE. Aluminium : quel risque pour la santé ? - Synthèse des études épidémiologiques. 2003. 184 p.
- INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE. Evaluation des risques sanitaires liés à l'exposition de la population française à l'aluminium : eaux, aliments, produits de santé. INVS, AFSSA, AFSSAPS, 2003. 193 p.
- intake-scientific opinion of the panel on Food additives, Flavourings, processing aids and Food contact materials (aFfC). annex to the eFsa Journal (2008) 754, 1-34 opinion" safety of aluminium from dietary intake".

J

- J. Muller, F. Huaux, N. Moreau, P. Misson, J.F. Heilier, M. Delos, M. Arras, A. Fonseca, J.B. Nagy, D. Lison, Respiratory toxicity of multi-wall carbon nanotubes, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 207 (2005) 221–231. doi:10.1016/j.taap.2005.01.008.

K

- K. Abreo, M. Sella, X. Alvarez-Hernandez, and S. Jain, Antioxidants prevent aluminum-induced toxicity in cultured hepatocytes, *J. Inorg. Biochem.* 98, 1129–1134 (2004).
- Kaehny WD, Hegg AP, Alfrey AC. Gastrointestinal absorption of aluminum from aluminumcontaining antacids. *New England Journal of Medicine* 1977;296(24):1389-90.
- Kavitha, K.S., Syed Baker, Rakshith, D., Kavitha, H.U., Yashwantha Rao, H.C., Harini B., Pand Satish, S. 2013. Plants as green source towards synthesis of nanoparticles. *Int. Res. J. Biol. Sci.*,2(6) : 66 76
- Kawahara M, Kato-Negishi M. Link between Aluminum and the Pathogenesis of Alzheimer's Disease: The Integration of the Aluminum and Amyloid Cascade Hypotheses. *Int J Alzheimers Dis* 2011;2011:276393.
- KLEIN J. P., MOLD M., MERY L., COTTIER M., EXLEY C. « Aluminum content of human semen: Implications for semen quality ». *Reprod. Toxicol.* octobre 2014. Vol. 50, p. 43 - 48.
- Klotz, K., Weistenhöfer, W., Neff, F., Hartwig, A., van Thriel, C., & Drexler, H. (2017). The Health Effects of Aluminum Exposure. *Deutsches Aerzteblatt Online*. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2017.0653>

- [Kumar, N., Maherchandani, S., Kashyap, S., Singh, S., Sharma, S., Chaubey, K., & Ly, H. \(2014\). Peste Des Petits Ruminants Virus Infection of Small Ruminants: A Comprehensive Review. *Viruses*, 6\(6\), 2287–2327. doi:10.3390/v6062287](#)
- Kumar, V. (2014). *Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in aluminium neurotoxicity and its amelioration : A review*. 13.

L

- Lanone, S., & Boczkowski, J. (2010). Les sources de nanoparticules. *Revue Française d'Allergologie*, 50(3), 211-213. <https://doi.org/10.1016/j.reval.2010.01.039>
- Lauwerys R.R., Hoet P. *Industrial chemical exposure: Guidelines for biological monitoring*. Lewis publishers. 3rd Ed. 2001;638p.
- Lombardi AVJ, Berend KR, Seng BE, Clarke IC, and Adams JB. Delta ceramic-on-alumina ceramic articulation in primary THA: prospective, randomized FDA-IDE study and retrieval analysis. *Clinical orthopaedics and related research*. 2010;468(2):367-374

M

- McNamara et Tofail—2017—Nanoparticles in biomedical applications.pdf. (s. d.).
- M. I. Yousef, Aluminium-induced changes in hemato-biochemical parameters, lipid peroxidation and enzyme activities of male rabbits: protective role of ascorbic acid, *Toxicology* 199, 47–57 (2004).

- M. Wilhelm, D. E. Jaeger, H. Schull-Cablitz, D. Hafner, and H. Idel, Hepatic clearance and retention of aluminium: studies in the isolated perfused rat liver, *Toxicol. Lett.* 89, 257–263 (2001).
- M.M. ŞOVAR, “ Du tri-isopropoxyde aux oxyde d’aluminium par dépôt chimique en phase vapeur : Procédé composition et propriété des revêtements obtenus “, Thèse doctorat, institut national polytechnique de Toulouse.
- Muller, D., Judd, C. M., & Yzerbyt, V. Y. (2005). When moderation is mediated and mediation is moderated. *Journal of Personality and Social Psychology*, 89(6), 852–863. <https://doi.org/10.1037/0022-3514.89.6.852>
- Morsy, G. M., Abou El-Ala, K. S., & Ali, A. A. (2016). Studies on fate and toxicity of nanoalumina in male albino rats : Oxidative stress in the brain, liver and kidney. *Toxicology and Industrial Health*, 32(2), 200-214. <https://doi.org/10.1177/0748233713498462>
- Morsy, G. M., El-Ala, K. S. A., & Ali, A. A. (2016). Studies on fate and toxicity of nanoalumina in male albino rats : Lethality, bioaccumulation and genotoxicity. *Toxicology and Industrial Health*, 32(2), 344-359. <https://doi.org/10.1177/0748233713498449>

N

- Nohynek, G. J., Lademann, J., Ribaud, C., & Roberts, M. S. (2007). Grey Goon the Skin? Nanotechnology, Cosmetic and Sunscreen Safety. *Critical Reviews in Toxicology*, 37(3), 251–277. doi:10.1080/10408440601177780.

O

- Oberdorster G, Maynard A, Donaldson K, Castranova V, Fitzpatrick J, Ausman K, et al. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Part Fibre Toxicol* 2005;2:8.

P

- Pelley, M. E., Suret, M. B., & Beesley, T. (2009). Learned predictiveness effects in humans: A function of learning, performance, or both? *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 35(3), 312–327. <https://doi.org/10.1037/a0014315>
- Parasuraman, S. (2011). Toxicological screening. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 2(2), 74. doi:10.4103/0976-500x.81895

S

- S. Parasuraman, Toxicological screening, *J. Pharmacol. Pharmacother.* 2 (2011) 74. doi:10.4103/0976-500X.81895.
- Sanchez-Valente, J., Bokhimi, X., Toledo, J.A. Synthesis and catalytic properties of nanostructured aluminas obtained by sol-gel method. *App. Catal. A: General* 264(2) (2004) 175-181.
- Souza Santos, P., Souza Santos H., Toledo S.P. Standard transition aluminas. Electron microscopy studies. *Materials Research*, 3(4) (2000) 104-114.
- Surface characteristics of fibers and textiles, *Surfactant science series*, volume 94, Pastore C et Kiekens P, 2000.
- Shvedova, A. A., & Kagan, V. E. (2010). The role of nanotoxicology in realizing the âhelping without harmâ paradigm of nanomedicine: lessons from studies of pulmonary effects of single-walled carbon nanotubes. *Journal of Internal Medicine*, 267(1), 106–118. doi:10.1111/j.1365-2796.2009.02188.x

- Shrivastava, R., Raza, S., Yadav, A., Kushwaha, P., & Flora, S. J. S. (2014). Effects of sub-acute exposure to TiO_2 , ZnO and Al_2O_3 nanoparticles on oxidative stress and histological changes in mouse liver and brain. *Drug and Chemical Toxicology*, 37(3), 336-347. <https://doi.org/10.3109/01480545.2013.866134>
- Srikanth, K., Mahajan, A., Pereira, E., Duarte, A. C., & Venkateswara Rao, J. (2015). Aluminium oxide nanoparticles induced morphological changes, cytotoxicity and oxidative stress in Chinook salmon (CHSE-214) cells: Capping agent affects uptake and toxicity. *Journal of Applied Toxicology*, 35(10), 1133-1140. <https://doi.org/10.1002/jat.3142>

T

- The Merck Index. 14 ed. Merck, Sharp & Dohme Corporation, 2012.

V

- Valkonen S, Aitio A. Analysis of aluminium in serum and urine for the biomonitoring of occupational exposure. *Science of the Total Environment* 1997;199(1-2):103-10

X

- Xia, T., Kovochich, M., Brant, J., Hotze, M., Sempf, J., Oberley, T., ... Nel, A. E. (2006). *Comparison of the Abilities of Ambient and Manufactured Nanoparticles To Induce Cellular Toxicity According to an Oxidative Stress Paradigm. Nano Letters*, 6(8), 1794–1807. doi:10.1021/nl061025k



Annexe N°1 ; test de Normalité

Tests de normalité

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistiques	ddl	Sig.	Statistiques	ddl	Sig.
GSHF	,158	12	,200*	,927	12	,348
GSHR	,161	12	,200*	,884	12	,100
GSTF	,154	12	,200*	,952	12	,668
GSTR	,203	12	,185	,828	12	,020
GPXF	,197	12	,200*	,884	12	,098
GPXR	,144	12	,200*	,952	12	,663

*. Il s'agit de la borne inférieure de la vraie signification.

a. Correction de signification de Lilliefors

Annexe N°2 ; Test ANOVA à un facteur

ANOVA

		Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
GSHF	Intergroupes	270,956	3	90,319	10,302	,004
	Intragroupes	70,139	8	8,767		
	Total	341,095	11			
GSHR	Intergroupes	477,544	3	159,181	38,066	,000
	Intragroupes	33,454	8	4,182		
	Total	510,998	11			
GSTF	Intergroupes	47,932	3	15,977	1,320	,334
	Intragroupes	96,839	8	12,105		
	Total	144,772	11			
GSTR	Intergroupes	314,889	3	104,963	9,270	,006
	Intragroupes	90,585	8	11,323		
	Total	405,474	11			
GPXF	Intergroupes	30573,004	3	10191,001	501,334	,000
	Intragroupes	162,622	8	20,328		
	Total	30735,627	11			
GPXR	Intergroupes	18598,870	3	6199,623	11,938	,003
	Intragroupes	4154,622	8	519,328		
	Total	22753,492	11			

Annexe N°3 ; test de Tukey

Comparaisons multiples :

Différence significative de Tukey

Variable dépendante	(I) variable	(J) variable	Différence moyenne (I-J)	Erreur standard	Sig.	Intervalle de confiance à 95 %	
						Borne inférieure	Borne supérieure
GSHF	1,00	2,00	7,12000	2,41762	,072	-,6221	14,8621
		3,00	-5,01000	2,41762	,240	-12,7521	2,7321
		4,00	-3,91667	2,41762	,420	-11,6587	3,8254
	2,00	1,00	-7,12000	2,41762	,072	-14,8621	,6221
		3,00	-12,13000*	2,41762	,005	-19,8721	-4,3879
		4,00	-11,03667*	2,41762	,008	-18,7787	-3,2946
	3,00	1,00	5,01000	2,41762	,240	-2,7321	12,7521
		2,00	12,13000*	2,41762	,005	4,3879	19,8721
		4,00	1,09333	2,41762	,967	-6,6487	8,8354
	4,00	1,00	3,91667	2,41762	,420	-3,8254	11,6587
		2,00	11,03667*	2,41762	,008	3,2946	18,7787
		3,00	-1,09333	2,41762	,967	-8,8354	6,6487
GSHR	1,00	2,00	15,89000*	1,66968	,000	10,5431	21,2369
		3,00	7,91000*	1,66968	,006	2,5631	13,2569
		4,00	14,56000*	1,66968	,000	9,2131	19,9069
	2,00	1,00	-15,89000*	1,66968	,000	-21,2369	-10,5431
		3,00	-7,98000*	1,66968	,006	-13,3269	-2,6331
		4,00	-1,33000	1,66968	,854	-6,6769	4,0169
	3,00	1,00	-7,91000*	1,66968	,006	-13,2569	-2,5631
		2,00	7,98000*	1,66968	,006	2,6331	13,3269
		4,00	6,65000*	1,66968	,017	1,3031	11,9969
	4,00	1,00	-14,56000*	1,66968	,000	-19,9069	-9,2131
		2,00	1,33000	1,66968	,854	-4,0169	6,6769
		3,00	-6,65000*	1,66968	,017	-11,9969	-1,3031
GSTF	1,00	2,00	3,94667	2,84077	,539	-5,1505	13,0438
		3,00	-,87667	2,84077	,989	-9,9738	8,2205
		4,00	-,90000	2,84077	,988	-9,9971	8,1971
	2,00	1,00	-3,94667	2,84077	,539	-13,0438	5,1505
		3,00	-4,82333	2,84077	,384	-13,9205	4,2738
		4,00	-4,84667	2,84077	,380	-13,9438	4,2505
	3,00	1,00	,87667	2,84077	,989	-8,2205	9,9738
		2,00	4,82333	2,84077	,384	-4,2738	13,9205

		4,00		-,02333	2,84077	1,000	-9,1205	9,0738
	4,00	1,00		,90000	2,84077	,988	-8,1971	9,9971
		2,00		4,84667	2,84077	,380	-4,2505	13,9438
		3,00		,02333	2,84077	1,000	-9,0738	9,1205
GSTR	1,00	2,00		-2,42000	2,74750	,815	-11,2185	6,3785
		3,00		-13,08667*	2,74750	,006	-21,8851	-4,2882
		4,00		-1,90333	2,74750	,897	-10,7018	6,8951
	2,00	1,00		2,42000	2,74750	,815	-6,3785	11,2185
		3,00		-10,66667*	2,74750	,020	-19,4651	-1,8682
		4,00		,51667	2,74750	,997	-8,2818	9,3151
	3,00	1,00		13,08667*	2,74750	,006	4,2882	21,8851
		2,00		10,66667*	2,74750	,020	1,8682	19,4651
		4,00		11,18333*	2,74750	,015	2,3849	19,9818
	4,00	1,00		1,90333	2,74750	,897	-6,8951	10,7018
		2,00		-,51667	2,74750	,997	-9,3151	8,2818
		3,00		-11,18333*	2,74750	,015	-19,9818	-2,3849
GPXF	1,00	2,00		68,84033*	3,68128	,000	57,0516	80,6291
		3,00		56,37600*	3,68128	,000	44,5872	68,1648
		4,00		141,73967*	3,68128	,000	129,9509	153,5284
	2,00	1,00		-68,84033*	3,68128	,000	-80,6291	-57,0516
		3,00		-12,46433*	3,68128	,039	-24,2531	-,6756
		4,00		72,89933*	3,68128	,000	61,1106	84,6881
	3,00	1,00		-56,37600*	3,68128	,000	-68,1648	-44,5872
		2,00		12,46433*	3,68128	,039	,6756	24,2531
		4,00		85,36367*	3,68128	,000	73,5749	97,1524
	4,00	1,00		-141,73967*	3,68128	,000	-153,5284	-129,9509
		2,00		-72,89933*	3,68128	,000	-84,6881	-61,1106
		3,00		-85,36367*	3,68128	,000	-97,1524	-73,5749
GPXR	1,00	2,00		28,39833	18,60695	,467	-31,1877	87,9843
		3,00		61,04867*	18,60695	,045	1,4627	120,6347
		4,00		105,82567*	18,60695	,002	46,2397	165,4117
	2,00	1,00		-28,39833	18,60695	,467	-87,9843	31,1877
		3,00		32,65033	18,60695	,359	-26,9357	92,2363
		4,00		77,42733*	18,60695	,013	17,8413	137,0133
	3,00	1,00		-61,04867*	18,60695	,045	-120,6347	-1,4627
		2,00		-32,65033	18,60695	,359	-92,2363	26,9357
		4,00		44,77700	18,60695	,153	-14,8090	104,3630
	4,00	1,00		-105,82567*	18,60695	,002	-165,4117	-46,2397
		2,00		-77,42733*	18,60695	,013	-137,0133	-17,8413
		3,00		-44,77700	18,60695	,153	-104,3630	14,8090