



Université Mohamed Khider de Biskra

Faculté des sciences exactes et science de la nature et de la vie

Département des science de la nature et de la vie

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. :

Présenté par :

Ben Noui Abir

Toxicité chronique des nanoparticules d'argent

in-vivo

Mme Hayat TRABSA

MCB Université de Biskra

Président

Mme Mouna GUEROUI

MCB Université de Biskra

Promoteur

Mr Yacine DERRADJI

MAA Université de Biskra

Examineur

ANNEE UNIVERSITAIRE 2019/2020

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciement

Nous commençons tout d'abord par rendre grâce à الله, le tout puissant de nous avoir illuminé et ouvert les portes de savoir et nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce travail.

On dit souvent que le trajet est aussi important que la destination, ces cinq années nous ont permis de comprendre la signification de cette phrase, ce parcours en effet ne s'est pas réalisé sans défit et soulever de nombreuses questions pour lesquelles les réponses nécessitent de longues heures de travail. Nous tenons à la fin de ce travail, je remercie infiniment mon promotrice de ce travail, **Mme Mouna Gueroui**, pour son assistance et ses conseils afin d'assurer le succès de ce travail

Nous remercions les membres de jury qui nous feront l'honneur de juger ce travail. À tous nos professeurs qui n'ont ménagé aucun effort pour nous transmettre leur savoir faire durant notre cursus universitaire. On remercie également tous nos amis et collègues de la promotion de biologie 2019/2020.

L'équipe du laboratoire de notre Département, l'équipe de la bibliothèque de biologie, les travailleurs de l'administration. Nous remercions également l'ensemble du personnel ainsi que toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Après avoir salué l'islam et mentionné Rahman, je présente cette humble œuvre à mon cher père, que Dieu repose son espérance, qui était mon rêve de succès et de compromis.

Ma mère est la chose la plus précieuse que j'ai, qui a fourni tout le soutien matériel et moral pour terminer cette œuvre. Et leurs sacrifices de tous les instants, sa patience sans limite et l'éducation

qu'elle m'a donnée, je lui dit merci mille fois. Dieu Tout-Puissant vous préserve et vous apporte santé, bonheur et longue vie.

Et à mon partenaire de vie Walid, qui a fait tout ce qu'il a pu pour faire mon travail. Que Dieu le bénisse.

Soutenez Mes chers Frères :

Ayman, Abdelkrim, Ashraf ,Mounir

Et ma seule belle sœur, Lamis.

Et je n'oublie pas ma grand-mère et mon grand-père.

Et Mon Derradji Briza et ma deuxième famille, la mère et le père de mon cher mari.

Et ses bons frères et sœurs.

Et priez pour le Prophète

Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de notre profonde reconnaissance pour tout ce que vous avez fait pour nous Que Dieu le tout puissant vous procure continuellement santé, bonheur et tranquillité.

Table des matières

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	

Première partie :PARTIE THEORIQUE

Chapitre I généralités

1.1. Propriétés physico-chimique	5
1.2 Propriétés physiques	5
1.3 Structure chimique	5
1.4 Nano particules d'argent	6
1.5 Applications	7

Chapitre II : toxicité des nanoparticules d'argent

2.1 Toxicocinétique	9
2.1.1 Absorption.....	9
a- Voie orale.....	9
b-Voie respiratoire	9
c-Voie cutanée.....	9
2.1.2. Distribution	9
a. Voie orale.....	9
b. Voie respiratoire.....	10
2.1.3.Métabolisme	10
2.1.4. Elimination.....	11
2.2Demi-vie Biologique	11
2.3 Toxicité par voie d'administration	11
a. Voie orale.....	11
b. Voie inhalation	12
c. Voie cutanée..... ;	12

Deuxième partie :PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre III. Matériel et méthodes

3.1. Matériel biologique et protocole expérimental	16
3.1.1. Travail réalisé.....	16
3.2. Articles analysés	17
3.2.1. Conditions d'élevage	18
3.2.2-Synthèse des nanoparticules	18
3.2.3. Les prélèvements.....	19
3.2.3.1. Sacrifice des animaux.....	19
3.2.3.2. Prélèvement sanguin	19
3.2.3.3. Dissection et prélèvement des organes.....	20
3.2.4. Méthodes d'analyses biochimiques.....	20
3.2.4.1. Glycémie... ..	20
3.2.4.2. Bilan hépatique.....	20

3.2.4.3. Bilan lipidique	21
3.2.4.4. Bilan rénal	21
3.2.4.5. Quelques électrolytes sanguins	21
3.2.5. Examens hématologiques	21
3.2.6. Techniques Histologiques	21
3.2.7. Distribution tissulaire d'argent	22
3.2.8. Détermination des bio-marqueurs du stress oxydatif	22
3.2.9 .Étude statistique	23

Chapitre VI Résultats et discussions

4.1. Évaluation de la variation du poids corporel, poids des organes et consommation journalière en eau et en aliment	25
4.1.1. Effet sur le poids corporel	25
4.1.2. Consommation journalière en eau et en aliment	25
4.2. . Variation des paramètres biochimiques	25
4.2.1 Glycémie	25
4.2.2 Bilan hépatique	26
4.2.3 Bilan lipidique	28
4.2.4 Bilan rénal	29
4.2.5 Quelque électro sanguins	29
4.3. Evaluation de l'examen hématologique.....	30
4.4. Evaluation de l'étude histopathologie.....	32
4.5. Distribution tissulaire d'argent	38
4.6. Variation des marqueurs biologiques du stress oxydant	40
Conclusion.....	46
Bibliographie	49

Liste de tableaux

Tableau 01. Propriétés physiques de l'argent	5
Tableau 02. Exemples d'applications d'argent d'Ag-NPs	7
Tableau 03. Effet des AgNPs sur le mécanisme cellulaire <i>in vivo</i>	13
Tableau 04. Principe du protocole expérimental de différentes études analysées	17-18
Tableau05. Valeurs sériques de glucose	26
Tableau06. Paramètres biochimiques sanguins chez le rat recevant une diminution orale d'Ag-NPs pendant 28 jours	27
Tableau 07. Effet des nanoparticules d'argent sur le niveau de cholestérol total triglycérides et glycérol libre dans le sérum cher le rat	28
Tableau 08. Effet des nanoparticules d'argent sur le niveau d'HDL-C, de LDL-C et d' indice athérogène dans le sérum chez rat	29
Tableau09. Valeurs sériques des Calcium, phosphore et magnésium.....	30
Tableau10. Variation Des Paramètres Hématologiques.....	30-31
Tableau11 . concentration d'argent dans le foie et les reins	38

Liste figures

Figure 01. Structure chimique d'argent.....	6
Figure 02. Différentes approches de synthèse des nanoparticules d'argent	6
Figure 3. Voies de métabolisme proposées des nanoparticules d'argent dans le corps après exposition orale	11
Figure 04. Représentation schématique des mécanismes de l'argyria	13
Figure 05. Solution de nanoparticule d'argent	16
Figure 06. Photomicrographies de cœur de rat après exposition orale à des nanoparticules d'argent à différentes doses.	32
Figure 07. Photomicrographies de rein de rat après exposition orale à des nanoparticules d'argent à différentes doses	33
Figure 8. Photomicrographies du foie de rat après exposition orale à des nanoparticules d'argent à différents dosages.	34
Figure .9 coloration de la muqueuse de l'iléon par des rats témoins (a).grossissement (x 400)	34
Figure 10. Sections de peau colorées par H&E en toxicité subchronique (x40) C) Anomalies cutanées à faible dose groupe nano-argent.....	35
Figure 11. Coupes de rate colorées par H&E dans une étude de toxicité subchronique (x40)	35
Figure 12. Coupes de micrographies lumineuses pour l'analyse tubulaire × 400	36
Figure 13. Coupes de foie colorées H&E en toxicité subchronique (x40).....	37
Figure 14. Concentration d'argent dans les organes de rat.	39
Figure 15. Effets de l'AgNP-20 et AgNP-PVP sur MDA, GSH, SOD dans les organes	42

Liste des abréviations

AgNPs : nanoparticules d'argent

GSS : GSH Synthétase

GSH : Glutathion

NP : nanoparticules

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Économiques

PVP : Polyvinylpyrrolodine

AAS : spectrométrie d'absorption atomique

LBA : Liquide broncho-alvéolaire

LDH : Lactate déshydrogénase

DL : la dose létale

GSH : glutathion

HSP70 : protéine de choc thermique

MT2A : métallothionéine Protéine 2A

ROS : reactive oxygen species

p53 : protéine 53

p38 : protéine 38

LDH : lactate déshydrogénase

SOD : superoxyde dismutase

GST : glutathion –S –Transférase

(RBC) : les globules rouges (red blood cells)

(HGB) : concentration d'hémoglobine

IL-7 : Interleukine 7

CDKN1 :Inhibiteur de kinase dépendant de la cycline de p21

WBC : White blood cell count ,

RBC : Red blood cells

HGB : concentration d'hémoglobine

HCT : hématocrit

MPV : volume moyen de plaquettes

MCV : volume corpusculaire moyen

HME : hémoglobine

MCHC: concentration moyenne d'hémoglobine corpusculaire

NEUT : nombre de neutrophiles

LYM : nombre de lymphocytes

MONO : nombre de monocytes

EO : nombre de éosinophiles

HDL-C : high-density lipoprotein cholesterol

TG) : triglycerides

LDL-C : low-density lipoprotein cholesterol

EDTA : Éthylènediaminetétraacétique

MDA : malondialdehyde

CBC : complete blood count

ICP-MS : inductively coupled plasma atomic mass spectrometry

Introduction

Introduction

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) se trouvent dans les filtres à eau, les peintures, les cosmétiques, l'élimination des odeurs, vêtements, textiles, emballages alimentaires et plastiques. Citant aussi leur rôle comme agent antimicrobien, dans la médecine alternative, les applications de cuisine, les suppléments de santé et l'industrie (Pourhamzeh *et al.* , 2016 ; Malnto *et al.*,2020). Ces nanoparticules peuvent pénétrer dans le corps humain par inhalation, ingestion, par la peau ou par injection (Crisponi *et al.*, 2017). Les particules d'argent sont relativement absorbées en fonction de la vitesse et du temps habituellement après 24 h. Après l'exposition et selon la morphologie, la taille, la concentration et les caractéristiques de la surface, les particules d'argent ont causé des dommages tels que la nécrose cellulaire (Pandiarjan *et* krishani, 2017). L'absorption d'argent se fait à partir des intestins, les particules sont ensuite transférées à des organes tels que le foie.

Toutefois, les particules peuvent se lier spécifiquement avec les protéines de métallothionine, présentes dans toutes les cellules et qui ont la capacité de s'accrocher à des minéraux tels que le zinc et l'argent, jouant un rôle dans le métabolisme (Peijnenburg *et al.* ,2009), l'excrétion est principalement par la voie biliaire, mais aussi par voie urinaire (Hadrup *et al.*, 2020).

Les AgNPs pourront perturber le biosystème, le système immunitaire et provoquer un auto-déséquilibre (Crispon *et al.*, 2017) .

Aussi, elles peuvent induire le stress oxydatif et la génération de types d'oxygène reactive oxygen species (ROS) et les réactions inflammatoires (Li *et al.*, 2017).

argria, la pigmentation irréversible de la peau, traduit après exposition à l'argent soluble ou sels d'argent (Drake *et* Hazelwood, 2005).

Notre travail vise à étudier la toxicité chronique des nanoparticules d'argent *in vivo*.

Cet objectif est réalisé à partir d'une synthèse bibliographique subdivisée en deux chapitres, le premier chapitre : la définition de l'argent, ses caractéristiques, et ses applications. Un deuxième chapitre intéressé à la toxicité des nanoparticules d'argent : la toxicocinétique et la toxicité par voie d'administration.

Une partie expérimentale, basée principalement sur une analyse d'un nombre important de recherches scientifiques récentes. Nous nous sommes concentrés sur le protocole expérimental, les différentes méthodes utilisées, les résultats obtenus, et la discussion.

Introduction

L'effet toxique du métal a été estimé par analyse de :

- changement dans le poids corporel et le poids des organes,
- consommation journalière d'eau et d'aliments,
- variation des paramètres biochimiques,
- variation des paramètres hématologiques,
- l'examen histologique des organes,
- et la détermination des bio marqueurs du stress oxydatif.

Partie théorique

Chapitre I

Généralités

1.1. Propriétés physico-chimiques

L'argent est un métal précieux naturel, principalement comme minerai en association avec d'autres éléments (More *et al.*, 2018). C'est un élément de transition métallique qui a un aspect brillant et blanc (Martins *et al.*, 2018). Il est présent dans différentes formes dans l'environnement en particulier dans les organismes vivants (Ranganayaki *et al.*, 2017).

1.2. Propriétés physiques

L'argent est un métal noble qui a une conductivité électrique élevée, une stabilité thermique et stabilité à la chaleur ainsi que d'autres propriétés spéciales. Cela a fait populaire à utiliser dans l'industrie électrique et photochimique (Ranganayaki *et al.*, 2017) (tableau 1).

- L'argent sous sa forme métallique, est un matériau ductile, son état d'oxydation le plus courant est 1+, mais 2+ (pour exemple dans AgF_2) et 3+ (dans KAgF_4) se trouvent également (Leitgeb *et al.*, 2014) ;
- deux isotopes naturels $^{106.90}\text{Ag}$ et $^{108.90}\text{Ag}$ avec une abondance de 52 et 48% respectivement. Ils sont utilisés dans une grande variété d'applications car il a quelques propriétés spéciales ;
- en outre, vingt-huit radio-isotopes ont été caractérisés par des demi-vies courtes et variables (Ranganayaki *et al.*, 2017).

Tableau 01. Propriétés physiques de l'argent (Ranganayaki *et al.*, 2017)

Numéro atomique	Poids / masse atomique	État standard	Numéro de groupe	Classe	Point de fusion	Point d'ébullition	spécifique la gravité
47	107.8682 amu	solide à 298 degrés Kelvin	11	Métal, Transition	961.93° C	2212.0°C.	10.50 (20 ° C).

1.3. Structure chimique

Les cations d'argent peuvent être complexés avec divers ligands organiques, et même si des cations d'argent sont toujours présents dans la molécule, la charge globale du complexe peut être connue, car ils ne dissocient pas dans les solutions ou les liquides biologiques. L'argent colloïdal est un état colloïdal de particules contenant de l'argent dans l'eau, avec des particules de 1nm à 1micron d'argent ou de particules contenant de l'argent (More *et al.*, 2018).

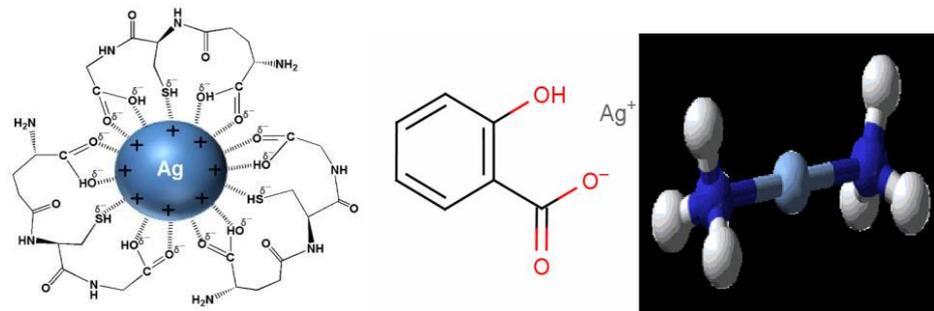


Figure 01. Structure chimique d'argent (Ranganayaki *et al.*, 2017)

1.4. Nanoparticules d'argent

La nanoscience et la nanotechnologie ont été développées dans la bio-fabrication de nanoparticules métalliques (MNPs) (Haggag *et* Mahmoud, 2018), permettant donc la caractérisation, la manipulation et la production de structures, d'appareils et de systèmes par forme et taille sur l'échelle du nanomètre.

- Le nanomatériau, est un matériau présente toutes les dimensions externes à l'échelle nanométrique ou ayant une structure interne ou structure de surface à l'échelle nanométrique, c'est-à-dire entre 1 nm et 100 nm (Courtois *et al.*, 2019).
- il existe quatre catégories de nanomatériaux tels que les métaux, les polymères, les composés et la céramique, qui ont tous été développés pour des applications potentielles dans le domaine des soins de santé (Haggag *et* Mahmoud., 2018).
- Les nanoparticules d'argent (AgNPs) sont de fines particules d'argent métallique connues sous le nom d'argent colloïdal depuis plus de 100 ans, peuvent être de différentes formes (sphères, tiges, fils, triangles) (Reidy *et al.*, 2013).
- Le schéma ci-dessous résume les principales procédures utilisées dans la synthèse et le développement des nanomatériaux (Shakeel *et al.*, 2016).

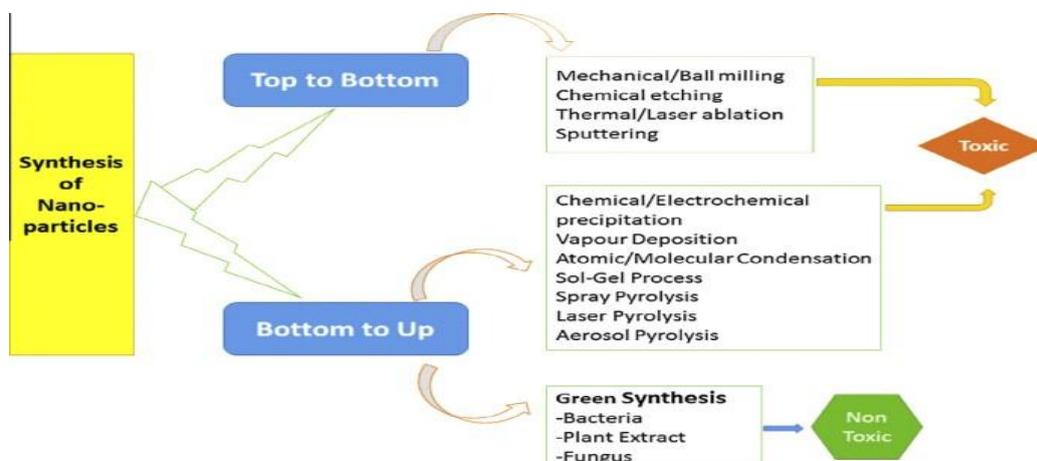


Figure 02. Différentes approches de synthèse des nanoparticules d'argent (Shakeel *et al.*, 2016)

1.5.Applications

Ces dernières années, les nanoparticules d'argent sont devenues plus utilisées dans divers domaines, nous les mentionnons dans le tableau suivant :

Tableau 02. Exemples d'applications d'argent et d'Ag-NPs (Epstein *et al.*, 2014)

Applications	Exemple
Domaine médical	Pansements, textiles, antiseptiques, lits d'hôpital et meubles
Consommateur à domicile des produits	Conditionneurs de tissus, biberons, contenants de conservation des aliments et saladiers, planches à découper de cuisine,
Vêtements et tissus	Vêtements pour bébés, sous-vêtements, chaussettes, chaussures, tissus divers et vinyles
Aliments	Emballage, production de volaille nanobiotique
Construction	Revêtement en poudre (boutons de porte), peintures murales, climatisation, sol en résine époxy, revêtement de sol antimicrobien
Désinfectants	Désinfectants agricoles, désinfectants industriels, désinfectants pour l'aquaculture, désinfectants pour piscines

Chapitre II
Toxicité des
nanoparticules d'argent

2.1 Toxicocinétique**2.1.1 Absorption****a- Voie orale**

L'absorption intestinale de l'argent à partir des nanoAg ingérées est dépendante de la taille de particule initiale, la forme et la présence d'un revêtement de surface. Ces propriétés influencent l'agrégation, la solubilité et la composition chimique au cours du transit intestinal. Une étude chez le rat a évalué la biodisponibilité des AgNPs (7.9 nm) après une administration orale, le taux d'absorption calculé pour cette particule est de l'ordre de 1 à 4 % de la dose administrée (Bisson *et* Marliere . , 2018).

b- Voie respiratoire

Lors d'exposition par inhalation, l'absorption d'Ag a été démontrée par la présence d'Ag dans les poumons et dans différents tissus. Cependant, il n'est pas exclu qu'une partie soit issue d'une absorption gastro-intestinale, ce phénomène étant dépendant de la taille des particules (Bisson *et* Marliere . , 2018).

Après inhalation, le transport et le dépôt des nanoparticules n'est pas uniforme, et est influencé par plusieurs facteurs, dont le débit, la structure des voies respiratoires, les fonction, l'âge et, surtout, la taille des particules (Ferdous *et* Nemmar ,2020)

c- Voie cutanée

L'administration d'argent par cette voie est généralement associée à une exposition professionnelle chronique à argent, avec peu de cas secondaires aux pansements argentés. L'absorption cutanée d'Ag est effective lors de l'utilisation d'Ag dans des pansements sur des peaux brûlées, alors qu'elle n'est pas quantifiée sur de la peau saine (Bisson *et* Marliere . , 2018).

Peu d'études ont suggéré que l'absorption d'argent dans le système circulatoire par des blessures cutanées, pourrait conduire à dysfonctionnements neurologiques, rénaux, hépatiques et hématologiques (Brouillard *et al* ., 2018).

2.1.2. Distribution**a- Voie orale**

L'accumulation du métal est principalement observée dans les tissus suivants : sang, cerveau, rein, foie, poumon, estomac et testicules après une administration orale pendant 28 jours d'AgNPs (60 nm) chez les souris. Les niveaux les plus élevés ont été observés dans l'estomac suivi par le foie, les reins et les poumons ;

- an niveau des reins, une accumulation liée au sexe, la teneur en Ag a été observée deux fois plus chez les souris femelles que chez les souris mâles, tandis que dans d'autres organes, la teneur était similaire (Bisson *et Marliere* , 2018),
- dans une étude supplémentaire, un contenu plus élevé d'Ag dans les reins femelles s'est avéré être présent dans toutes les zones des reins, y compris le cortex, la moelle épinière externe et interne ;
- un dépôt du métal semble avoir trouvé dans les membranes basales suite à une dose récurrente de 90 jours avec 56 nm Ag-NPs (Bisson *et Marliere*, 2018),
- l'administration orale répétée d'AgNPs (60nm) pendant 28 jours a été étudiée, une accumulation dépendante de la dose des nanoparticules a été observée dans le sang, le cerveau, les reins, le foie, les poumons, l'estomac et les testicules (Singh *et Michra*, 2017).

b-Voie respiratoire

Après 13 semaines d'inhalation d'AgNPs chez les rats, le poumon et le foie se sont avérés être organes cibles, et les résultats ont montré une inflammation chronique alvéolaire et hyperplasie des canaux biliaires, respectivement (Cho *et al.*, 2018).

De sa part, une exposition par inhalation de 19 nm d'AgNPs durant 90 jours a montré que des concentrations plus élevées de 0.049, 0.133 et 0.515 mg/m³ d'Ag pourraient être dans le foie, les reins, l'ampoule olfactive, le cerveau et le sang en plus des poumons, confirmant l'adoption d'Ag sous forme de nanoparticules ou sous forme ionique (Cho *et al.*, 2018).

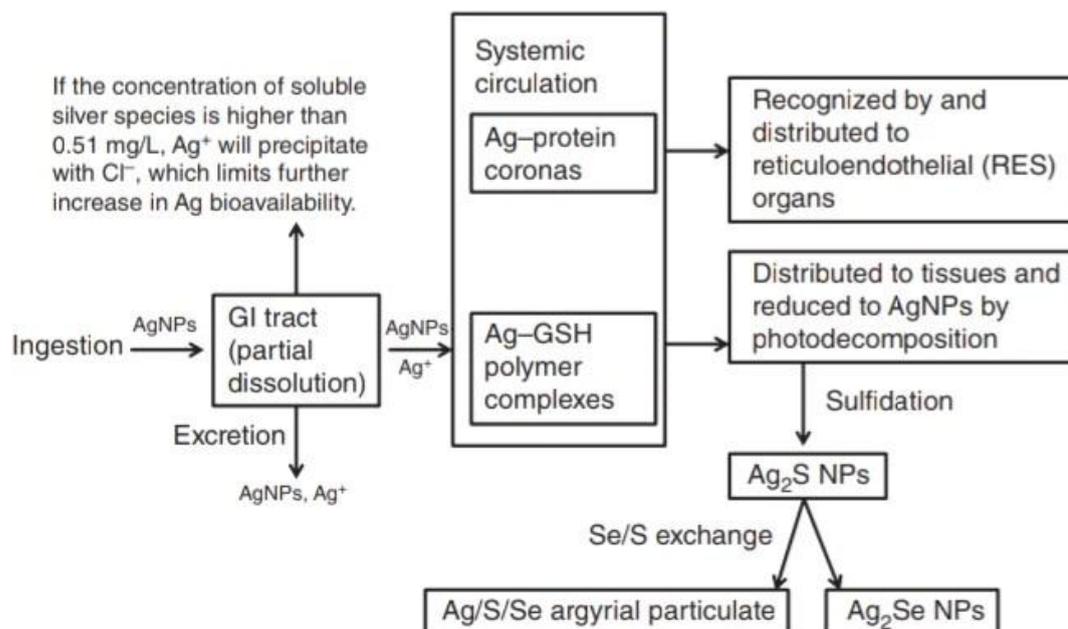
2.1.3-Métabolisme

L'AgNPs peuvent libérer des ions Ag⁺, ces dernières peuvent soit précipiter avec Cl⁻ dans le l'estomac, soit excréter.

Dans la circulation sanguine, Ag⁺ peut se lier aux protéines via des groupements thiol telles que les molécules à faible poids moléculaire comme le glutathion réduit (GSH), qui forme finalement des complexes de polymères (Ag-GSH), qui sont ensuite distribués à divers tissus. Ces complexes Ag-thiol peuvent être réduits à AgNPs zéro valent lors de la photo-décomposition UV/visible.

- AgNPs peuvent également être sulfurées pour produire Ag₂S NPs ;
- les Ag₂S NPs peuvent se réagir avec le sélénium pour former des Ag₂Se NPs par échange du soufre .

finalement, les particules formées sont nommées les particules d'argyrie (figure 3)(Lin *et al.* ,2015) (Zande *et al.* ,2012).



- **Figure 3.** Voies de métabolisme proposées des nanoparticules d'argent dans le corps après exposition orale (Lin *et al.*, 2015) (Zande *et al.*, 2012)

2.1.4- Elimination

. Dans les patients brûlés traités à 1% 231 crème de sulfiazin d'argent pendant jusqu'à 70 jours, la sécrétion d'argent était le pic urinaire 1100 µg/jour (~550 µg/l) (Hadrub *et al.*, 2018).

2.2. Demi-vie Biologique

Des études ont été concentrées sur la détermination de la demi-vie biologique d'argent, précisément sous forme de nanoparticules :

- après une seule prise orale ou intraveineuse d'AgNPs (7.9 nm) avec un revêtement du citrate chez le rat, le T1/2 était de 99 H (1 mg/kg) et 30 heures (10 mg/kg) pour la voie intraveineuse et orale respectivement (Park *et al.*, 2011 ; Lin *et al.*, 2015).

2.3. Toxicité par les voies d'administration

a. Voie orale

Gueroui *et* Kechrid (2015) ont montré qu'une toxicité chronique d'argent pendant 3 mois a mené à une variation des propriétés antioxydantes au niveau du foie, par diminution de l'activité du superoxyde dismutase (SOD) et augmentation de la concentration tissulaire en vitamine E, ainsi que l'observation de certaines altérations hépatiques.

Une autre étude par les mêmes auteurs (Gueroui *et* Kechrid, 2016), a révélé les résultats suivants : une augmentation sérique du lactate déshydrogénase (LDH), de l'activité de la

lipase et le taux de cholestérol, une diminution de l'activité sérique des protéines totales, du calcium et de la phosphatase alcaline (PAL). En outre, les résultats ont exhibé que les ions Ag^+ peuvent affecter le système de défense antioxydant par diminution l'activité SOD et augmentation de la concentration d' α -tocophérol, ainsi qu'un niveau élevé de malondialdéhyde (MDA) dans le tissu cérébral. L'examen neuro-histologique a également prouvé la présence de certaines altérations en citant une hémorragie et une vacuolisation du cytoplasme.

b. Voie d'inhalation

après (90 jours) par le voie d'inhalation ont montré des altérations pulmonaires légères et dose-dépendantes inflammation et des altérations la fonction pulmonaire chez les rats exposés à des AgNPs de 18 nm (Ferdous *et* Nemmar ,2020).

c. Voie cutanée

dans l'étude de Hadrup *et al* (2018), Un homme de 58 ans atteint d'une maladie chronique de la laryngite s'est auto-administrée à l'argent pendant 15 ans sous la forme d'un spray contenant de l'argento-mercapto-3- hydroxy-2-propane-sodium-sulfonate et m-acétyl-amino-p-hydroxy-phényl-sodium-arsenate. L'apport cumulé des deux composés a été estimé à 360 g. Une coloration bleue-grise diffuse de la peau a été remarqué. Le patient est mort d'un carcinome pulmonaire anaplasique à petites cellules, et à l'autopsie, un cancer , Une coloration du cortex rénal et des plexus choroïdes a été observée. Les granules noirs contenant de l'argent étaient de détecté dans tous les organes examinés, à l'exception du parenchyme cérébral.

- Argyrie

Est une décoloration bien connue bleu-gris de la peau qui survient en raison de la longue exposition à l'argent. Il s'agit d'une réponse sensible à la lumière trouvée dans la peau humaine qui résulte après transformation chimique des Ag NPs à l'intérieur du corps,. Il est principalement composé de Se, S et Ag.

Les dépôts argyriaux ne sont pas simplement translocalisés, il s'en résulte plutôt par des particules secondaires formées par dissolution partielle dans le tractus gastro-intestinal (GI) par l'absorption d'ions, la circulation systémique sous forme de complexes organo-Ag, et l'immobilisation en tant que Ag NPs zérovalent par photoréduction dans les régions de peau légèrement affectées (Dubey *et al.*, 2015).

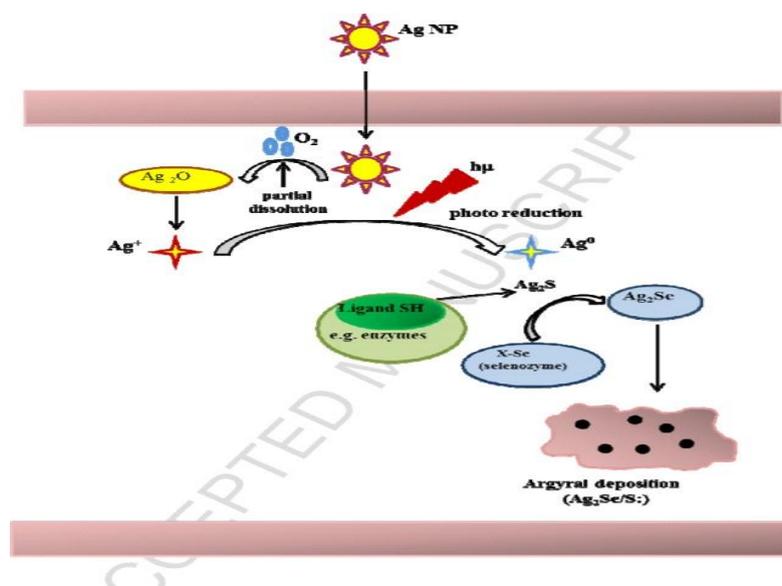


Figure 04. Représentation schématique des mécanisme de l'argyria (Dubey *et al.*, 2015).

• Cytotoxicité des AgNPs

Tableau03. Effet des AgNPs sur les mécanisme cellulaire *in vivo* (Dubey *et al.*, 2015)

Stress oxydatif	Dommages à l'ADN(génotoxicité)	Apoptose	Effet sur l'activité enzymatique
<p>1-Peroxydation lipidique (formation de malondialdéhyde)</p> <p>2-Réduction du niveau de GSH</p> <p>3-Altération de l'expression de gènes de défense antioxydants. (HSP70,MT2A, etc.)</p> <p>4-Augmentation de la formation de ROS</p>	<p>1-Expression des protéines de signalisation cellulaire dans les voies de réparation des dommages à l'ADN comme la réparation de l'ADN liée à p38 protéines.</p> <p>2-Expression de rupture double brin marqueur γ-H2AX</p>	<p>1-Expression liée à l'apoptogènes et point de contrôle du cycle cellulaire protéines p53, caspase 3 et 9 CDKN1, etc.</p> <p>2-Régulation négative de la famille ABC Protéines liées à l'apoptose</p> <p>3-Régulation positive de la pro-apoptotique des gènes, tels que Bax, NOXA et p21.</p>	<p>1-Modifie l'activité du cuivre enzymes dépendantes, telles que tyrosinase, Cu-Zn SOD.</p> <p>2-Augmentation du niveau d'enzyme LDH.</p> <p>3-Enzymes antioxydantes, telles que la SOD et la catalase deviennent significativement augmenté en raison du stress oxydatif.</p> <p>4 L'activité enzymatique de la GST augmente également</p>

Partie expérimentale

Chapitre III

Matériel et méthodes

3.1. Matériel biologique et protocole expérimental

3.1.1. Travail réalisé

Durant la période de fin de Février à Mars 2020, trente rats blanc femelles *Rattus rattus* de la souche Wistar, arrivés de l'institut Pasteur d'Alger, pesant de 128 à 211 g. La période d'incubation était deux semaines. Ils ont été divisés en cinq rats par cage en polyéthylène, celle-ci est tapissée d'une litière composée de copeaux de bois.

La nourriture portée aux animaux est composée principalement de blé et soja. Quant à l'eau de boisson, elle est présentée dans des biberons *ad libitum*. Les rats sont maintenus à une température de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ et une photopériode contrôlée (12 h/12 h).

Il existe différentes façons de préparer les nanoparticules. Ces méthodes varient en coûts, difficultés, outils et installation.

- Au cours du même période, nous avons pu préparer une solution des nanoparticules d'argent 19.9 nm (figure 5), en se basant sur le protocole d'Al-Khateeb et *al.* (2018).
- Préparation de l'agent de stabilité :
- 0.01056 g d'acide ascorbique (pureté 99%) et 0.08816 g de citrate trisodique ont été dissous dans 100 ml d'eau déionisée.
- Laisser la solution sur une plaque chaude sous agitation continue pour atteindre le point d'ébullition de 90°C .
- Ajouter 1 ml nitrat d'argent (AgNO_3) goutte à goutte jusqu'à ce que la couleur de la solution change de l'incolore au jaune dans les 5 à 10 minutes.
- Laisser la solution bouillir pendant une heure en remuant pour obtenir les nanoparticules .
- Conserver la solution dans un milieu sombre.

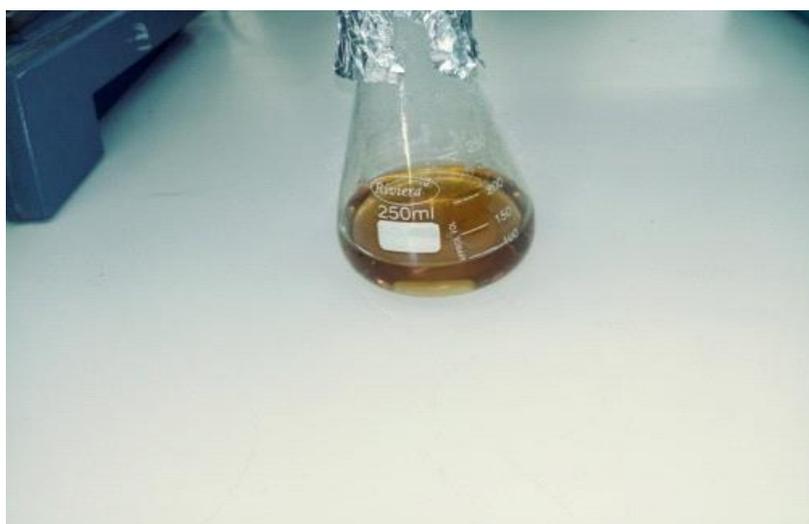


Figure 05. Solution de nanoparticule d'argent (image personnelle)

3.2. Articles analysés

Le principe de l'ensemble des études analysées dans cette partie, dont l'objectif commun est d'évaluer la toxicité aiguë des AgNPs *in vivo*, est regroupé dans le tableau 04

Tableau04. Principe du protocole expérimental de différentes études analysées

Les auteurs	Les animaux, l'âge, le sexe,	La dose	La durée	La taille	Les voies d'administration
Jeong <i>et al.</i> (2009)	Souris Sprague-Dawley 40 souris	30, 300, 1 000 mg/kg	28 jours,	60 nm	orale
Loeschner <i>et al.</i> (2011)	Souris, 4-8 semaines, 107 ± 9 g	9.0 mg/kg	28 jours		orale
Zande <i>et al.</i> (2012)	Souris	15 nanoag de PVP (Ag) - 90 mg/kg, "ou AgNO3 (Ag) 9 mg/kg,	28 jours	20 nm	orale
Espinosa-Cristobal <i>et al.</i> (2013)	Rats Wistar	535 ug/mL / jour	55 jours	14 nm-36nm	orale
Gavanji <i>et al.</i> (2014)	50 mâles adultes 200 ± 25 g et avaient entre 2 et 3 mois	2 à 5, 10, 20 et 40 ppm	30 jours		Gavage
Thakur <i>et al.</i> (2014)	Rats Wistar, 16 rats	20 ug/kg/jour	90 jours	5-20 nm	Gavage
Abd-Elhakeem <i>et al.</i> (2015)	albinos mâle (90 ± 10 g), 4 semaines	100, 50 et 25 mg/kg trois fois par semaine	10 semaines	20-40 nm	orale
Sulaiman <i>et al.</i> (2015)	Rats Wistar	100 mg/kg /J	30 jours		orale
Garcia <i>et al.</i> (2016)	Rats mâles adultes	0, 50, 100 et 200 mg/kg/jour PVP-Ag	90 jours		orale
Pourhamzeh <i>et al.</i> (2016)	40 mâles adultes	30, 125, 300 ou 700 mg/kg	28 jours		orale
Qin <i>et al.</i> (2016)	Souris mâles et femelles	0,5 et 1 mg /kg/jours	28 jours		orale
Gherkholagh <i>et al.</i> (2018)	40 mâles Sprague-Dawley rats 180 - 200 g	30, 125, 300, or 700 mg/kg	28 jours		orale

Korani <i>et al.</i> (2011)	Cobayes albinos mâles	deux à trois fois par semaine et 10 000 g/ml 100g/mL d'AgNO ₃ une fois par jour pendant 13 semaines	13 semaines		Gavage
KOUAME <i>et al.</i> (2018)	24 souris Sprague-Dawley	200 mg/kg /J	8 semaines		orale
Wesierska <i>et al.</i> (2018)	Rats mâles de 10 semaines	30-90 g/j 30 mg/kg B.W. et 1 mg/kg	28-jours	20 nm	orale
Elsharkawy <i>et al.</i> (2019)	Rats mâles 6 à 8 semaines, (80 et 120 g)	5.36, 13.4 mg/kg, deux fois par semaine		six mois	orale
Gan <i>et al.</i> (2019)	Souris des deux sexes 5 semaines	10-250 mg/kg	28-jours	AgNP-20 et AgNP-PVP	Gavage
Kim <i>et al.</i> (2016)	Rats	48,764 mg/kg/j	12 semaines	50-100	inhalation
De Jong <i>et al.</i> (2013)	Souris mâle et femelle Wistar, 8 semaines	une fois par jour	28 jours	100 nm et 20 nm	intraveineuse

3.2.1. Conditions d'élevage

Tous les animaux ont été soumis aux mêmes conditions avant toute étude où, après avoir été amenés d'un institut spécialisé, ils sont placés dans des cages spéciales avec un régime presque similaire chez tous les chercheurs *ad libitum* et l'eau. Les rats sont maintenus à une température différente entre 21 et 25°C, l'humidité était de (60%-50%) (Qin *et al.* 2017) (48,4% -6.0%) (Kim *et al.*, 2010) et une photopériode contrôlée (12 h/12 h).

3.2.2. Synthèse des nanoparticules

Les chercheurs ont utilisé de nombreuses méthodes chimiques pour produire les AgNPs en utilisant les précurseurs d'AgNO₃ et différents réducteurs et stabilisateurs afin de faire différentes tailles et formes des nanoparticules, y compris la méthode d'Espinosa-Cristobal *et al.* (2013) :

- ✓ nanoparticules d'argent avec forme sphérique et deux tailles différentes (14 et 36 nm) ont été synthétisées ;

- ✓ les préparations commencées avec 500 mL d'une solution AgNO₃ de 0.01 M placée dans un récipient de réaction 1-L. Sous l'agitation magnétique, 50 mL d'eau dé ionisée contenant de l'acide gallique (0.5 g pour un échantillon de 14 nm et 2,5 g pour un échantillon de 36 nm) ont été ajoutés à la solution Ag ;
- ✓ après l'ajout d'acide gallique , la valeur du pH de la solution a été immédiatement ajustée (pour l'échantillon de 14 nm, le pH a été porté à 11 avec 1.0 M NaOH et pour un échantillon de 36 nm, le pH a été porté à 10 avec 7.7 M NH₄OH) ;
- ✓ après cela, la valeur le pH de chaque suspension a été fixée à 1.5 à l'aide d'acide nitrique, la suspension résultante est filtrée avec un filtre nitrocellulose (Millipore, 0.1 um diamètre du pore) dans un ballon filtrant sous vide, le SNP a été lavé sur filtre plusieurs fois avec de l'eau dé ionisée jusqu'à ce qu'ils atteignent un pH neutre ;
- ✓ enfin, le SNP a été reconstitué dans de l'eau dé ionisée et dilué à un volume mesuré pour atteindre une concentration de 535 ug/mL / jour (cette concentration était confirmé par l'analyse de l'absorption atomique.

3.2.3. Les prélèvements

3.2.3.1. Sacrifice des animaux

Après la durée du traitement, les animaux ont été anesthésiés avec pentopartibital (Qin *et al.*,2016), par une injection de 75 mg/Kg de kétamine et de 0,5 mg /Kg medetomidine (garcia *et al.*, 2016), par une dose de chloroforme (Thakur *et al.*,2014), ou avec du gaz CO₂ (Kim *et al.*,2010).

3.2.3.2Prélèvement sanguin

Des échantillons de sang ont été prélevés de l'aorte abdominale (Espinosa-Cristobal *et al.* ,2013) et (Jong *et al.*,2013) ou par ponction du cœur (Wesierska *et al.*,2018), recueilli dans un tube soit EDTA, sec Les échantillons de sang ont été autorisés à coaguler pendant 45 min à la température de la chambre ou Hépariné et soumis à la centrifugeuse. C'est presque toujours à 3000g pour 10 min à 4°C.

Il y a des exceptions comme dans l'étude de (Qin *et al.* ,2016) à 2 500 tr/min pour 10 min.

Après la coagulation, le sérum a été séparé par centrifugation à 1500 × g pendant 10 minutes ou à 3 000 tr/min pour 15 min (Abd-Elhakeem *et al.*, 2015 ; Pourhamzeh *et al.*, 2016) , le plasma est conomisé à soit -20°C ou -80°C (Garcia *et al.*,2016 ; Wesierska *et al.*,2018) dans vacutaineurs sans héparinisé Pour les analyses biochimiques(Espinosa-Cristobal *et al.* , 2013).

3.2.3.2. Dissection et prélèvement des organes

Après le sacrifice et prélèvement sanguin, un prélèvement des organes est très nécessaire pour préparer les homogénats tissulaires et l'examen histologique.

Préparation de l'homogénat

Le tissu hépatique a été homogénéisé dans PBS (50mM, PH 7,4) avec EDTA (1mM) en proportion de tissu à tampon 1 :10, les homogénats ont été centrifugés à 10000 g pendant 15min (Wesierska *et al.*, 2018).

Le foie, les reins et le cœur ont été enlevés, barbouillés et pesés. Puis le tissu a été homogénéisé dans la glace froide 0.25M saccharose (Sulaiman *et al.*, 2015).

3.2.4. Méthodes d'analyses biochimiques

3.2.4.1. Glycémie

La glycémie à jeun a été mesurée les jours 0, 14, 28, 42 et 56. Les Animaux testés à l'aide de Roche Accu Chic Active 50 Bandes de glucose sanguin à partir de la veine de la queue des souris par KOUAME *et al.* (2018), ou en utilisant un réactif biochimique par Espinosa-Cristobal *et al.* (2013).

3.2.4.2. Bilan hépatique

Le sérum a été préparé comme un liquide jaunâtre clair _ après la coagulation et pendant 10 minutes dans une centrifugeuse de 3000 g. (Gavanji *et al.*, 2014)

- le sérum séparé afin de tester les activités : alanine aminotransférase (ALAT), aspartate aminotransférase (ASAT), phosphatase Alkaline, et les taux en : Albumine (ALB), protéines totales (TP), bilirubine (BIL), l'analyse est faite à l'aide de kits biochimiques disponibles dans le commerce. (Gavanji *et al.*, 2014 ; Sulaiman *et al.*, 2015 ; Qin *et al.*, 2016; Abd Elhakeem *et al.*, 2015), ou à l'aide d'un auto analyseur (Pourhamzeh *et al.*, 2016 ; kim *et al.*, 2010).
- La teneur en protéines du sérum était estimée en se basant sur la méthode Biuret (Sulaiman *et al.*, 2015).
- Toutes les mesures ont été effectuées à l'aide du spectrophotomètre (Sulaiman *et al.*, 2015).

3.2.4.3. Bilan lipidique

Les concentrations de sérum en cholestérol total (TC), lipoprotéine haute densité (HDL-C) et triglycérides (TG) .

La lipoprotéine de basse densité (LDL-C) a été calculée par la formule Friedwald, le glycérol libre (FG) tandis que l'indice athérogène est estimé en trouvant un rapport de mise au point triple à HDL-C (Sulaiman *et al.*, 2015).

3.2.2.4. Bilan rénal

Les paramètres suivants ont été évalués à l'aide d'un analyseur automatique Cobas Mira pour créatinine (Garcia *et al.*, 2016), ou Les kits d'analyse pour la créatinine et l'urée (Sulaiman *et al.*, 2015) .

3.2.4.5. Quelques électrolytes sanguins

le calcium (Ca), le phosphore (P) et le magnésium (Mg) à l'aide d'un bio- analyseur chimique du sang (Espinosa-Cristobal *et al.* , 2013).

3.2.5. Examens hématologiques

Le sang a été mélangé dans 10% d'anticoagulant EDTA (Éthylènediaminetétraacétique) et analysé pour déterminer le nombre de globules blancs (WBC), des globules rouges (red blood cells) (RBC), de plaquettes (PLT), la concentration d'hémoglobine (HGB), l'hématocrite (HCT), le volume moyen de plaquettes (MPV), le volume corpusculaire moyen (MCV), la concentration moyenne d'hémoglobine corpusculaire (MCHC), le nombre de neutrophiles (NEUT), le nombre de lymphocytes (LYM), le nombre de monocytes (MONO), pourcentage de monocytes et le nombre de éosinophiles (EO) (De Jong *et al.* , 2013).

Ces paramètres ont été analysés à l'aide de tests d'hématologie automatisés complets (Espinosa-Cristobal *et al.* , 2013 ; De Jong *et al.*, 2013 ; Abd Elhakeem *et al.*, 2015 ; Garcia *et al.*, 2016) .

3.2.6. Techniques Histologiques

- Selon Jeong *et al.* (2010), les rats ont été sacrifiés par dislocation cervicale. L'iléum, le côlon et le rectum ont tous été soigneusement enlevés, puis pesés et fixés dans une solution de 10% formol contenant une solution tampon saline de phosphate neutre. Par la suite, les organes ont été incorporés dans la paraffine, d'hématoxyline et l'éosine (H-E) et un acide périodique Schiff (PAS), et examinés sous un microscope optique.
- Korani *et al.* (2011) ont utilisé le tissu de la peau, du foie et de la rate de trois animaux par groupe pour des études histopathologiques. Les tissus ont été fixés dans une solution de formol tamponnée de 10 % et déshydratés dans une série d'alcool, est placé en xylène, et intégré en cire de paraffine. Plusieurs sections de chaque bloc ont été préparées et d'hématoxyline et d'éosine.

- De même, les organes de souris du groupe Ag1 et de souris du groupe Ctrl1 sont fixés pendant 2 jours dans 4% formaldéhyde et stocké dans 30% de saccharose dans 0.01 M PBS pour 2 jours, les hémisphères ont ensuite été complètement gelés et coupés en 25 micromètres. La section a été préparée et colorée de scrisel violet (Węsierska *et al.*, 2018).
- le même principe de réalisation des coupes histologiques est suivi par Sulaiman *et al.*, (2015) et Kouame *et al.* (2018).
- Toutes les images ont été obtenues par un microscope à lumière transmise (Nikon Microscope de recherche E800) avec caméra vidéo (motic 2000) et des images motiques 2.0 logiciel pour l'acquisition des différences dans l'histomorphologie de tous les groupes étudiés (Gherkholagh *et al.*, 2018).

3.2.7. Distribution tissulaire d'argent

Les tissus ont été digérés avec de l'acide nitrique concentré, et soumis à un système de digestion micro-ondes, la concentration d'argent dans le liquide digéré a été analysée avec une méthode sans flamme s'appuyant sur une absorption atomique spectrométrique, la concentration d'argent dans les tissus a été exprimée comme $\mu\text{g/g}$ de poids humide (Kim *et al.*, 2010).

1 g de tissu (foie et rein) est digéré typiquement, chaque tissu était mélangé avec solution de 70% HNO_3 (7 ml) et 30% H_2O_2 (1 ml), et puis légèrement chauffé dans le système de digestion. Les solutions obtenues ont ensuite été analysées pour déterminer la concentration d'Ag utilisant ICP-MS (inductively coupled plasma atomic-mass spectroscopy) (Abd-Elhakeem *et al.*, 2015).

La même technique a été utilisée par Loeschner *et al.* (2011), afin de quantifier les taux d'argent dans les tissus (estomac, foie, reins, poumons et muscles), le plasma, les urine et les fèces, environ 200 μl d'homogénats, de l'urine et du sang ont été analysés pour leur concentration en argent.

3.2.8. Détermination des bio-marqueurs du stress oxydatif

Les indices de l'oxydation y compris le contenu de MDA et de glutathion réduit (GSH) et l'activité des SOD, ont été détectés selon les instructions des fabricants des kits de détection (Gan *et al.*, 2020).

Elsharkawy *et al.* (2019) ont réalisé une étude sur la variation des paramètres du stress oxydatif dans les homogénats testiculaires, par mesure de l'activité enzymatique SOD, et des taux de MDA, en utilisant aussi des kits d'analyse spécialisés.

3. 1.9 . Étude statistique

- L'analyse statistique a été effectuée à l'aide de la version SPSS. Le test de Bartlett a été utilisé pour tester l'homogénéité des variations,
- les résultats de l'analyse chimique sont d'abord analysés à l'aide de t test, pour comparer les concentrations d'argent entre les groupes de traitement dans les mêmes organes ou plasma (Qin *et al.*, 2016),
- la valeur p était <0.05 considérée comme significative (Qin *et al.*, 2016),
- les données sont exprimées comme moyenne±l'erreur standard (Sulaiman *et al.*, 2015).

Chapitre VI

Résultats et discussion

4.1.Évaluation de la variation du poids corporel, poids des organes et consommation journalière en eau et en aliment

4.1.1. Effet sur le poids corporel

- Le poids corporel et le gain de poids des souris traitées étaient semblables à ceux des témoins du même sexe, d'après les valeurs enregistrées par les courbes de croissance fournies par les éleveurs au cours de la période d'exposition (28 jours), En outre, le rapport poids de l'organe/poids du corps a été calculé pour le foie, la rate, les reins et les testicules, pas de changements remarquables chez les souris traitées par rapport aux témoins (Qin *et al.*, 2016).
- Selon l'étude de Van Der Zande *et al.* (2012), les souris pesaient quotidiennement, le poids des souris exposées à AgNPs/AgNO₃ n'a montré aucune différence significative à celui de groupe témoin, ainsi qu'à la norme incurvée fournie par l'éleveur. En outre, aucune différence de comportement entre les différents groupes n'a été observée tout au long du traitement.

4.1.2. Consommation journalière en eau et en aliment

il n'y avait aucune différence significative entre les rats traités et les témoins du même sexe (Qin *et al.*, 2016).

Discussion

L'administration d'AgNPs n'a pas affecté le poids corporel, le gain du poids et la consommation des aliments, ainsi que le rapport de poids des organes/corps. Cela pourra être la conséquence des doses relativement faibles d'AgNPs administrées dans l'étude actuelle de Qin *et al* (2016) .

4.2. Variation des paramètres biochimiques

4.2.1. Glycémie :

Le taux sanguin de glucose a montré les mêmes niveaux (Kouame *et al.*, 2018), alors qu'une diminution significatif ($p < 0.05$) du taux de glucose dans les deux groupes (14nm - 36nm) traités pendant 25 jours a été remarquée, contrairement au traitement pendant 55 jours , qui a montré une augmentation significatif de la glycémie ($p < 0.05$) pour les deux groupes (14nm-36nm) (Espinosa- Cristobal *et al.* , 2013) .

Tableau05. Valeurs sériques de glucose (Espinosa-Cristobal *et al.*, 2013)

	0 jour		25 jour		55 jour	
	Control	14 nm	36 nm	Control	14 nm	36 nm
GLU (mg/dL)	215 ± 51	126 ± 20	127 ± 22	166 ± 24	184 ± 25	177 ± 29

n = 10 par groupe; Concentration AgNPs 535 ug/mL

Les valeurs sont représentées par Moy±SD.

Les valeurs avec le même caractères en exposant présentent des différences non significatives.

Discussion :

Les données ont montré des valeurs diminuées dans la glycémie, au milieu (SNP 14 et 36 nm) et la fin du traitement (36 nm) par rapport au groupe de contrôle ($p < 0.05$), D'autre part, et dépend de la durée, cela pourrait lier à la physiologie, et l'âge du rat (Espinosa-Cristobal *et al.*, 2013).

4.2.2. Bilan hépatique

L'administration des nanoparticules d'Ag diminue ($p < 0.05$) les activités sériques et tissulaires ASAT et PAL par rapport aux témoins. Toutefois, l'activité d'ALAT sérique et tissulaire a été significativement modifiée. Dans le foie et le cœur de rat, la dose la plus élevée de nanoparticules a produit une augmentation des niveaux ALAT, le niveau des protéines dans le sérum et les tissus était incohérent modifié par le traitement des nanoparticules par rapport au contrôle. Le contenu en protéines était élevé dans le foie. (Sulaiman *et al.*, 2015).

Les analyses biochimiques ont montré une augmentation hautement significative de PAL ($p < 0.005$) dans tous les groupes traités par le métal selon Abd-Elhakeem *et al.* (2015).

Pour les rats mâles traités avec des AgNPs, la PAL a diminué significativement dans les 1,0 mg ($P < 0.05$) par rapport à ceux de contrôle; l'ASAT est augmentée significativement dans les groupes traités par l'AgNPs ($P < 0.01$ et $P < 0.05$ respectivement). Chez les rats femelles traités avec des AgNPs, PAL a diminué de 0.5 et 1 mg kg⁻¹ groupes ($P < 0.05$) (Qin *et al.*, 2016).

Il semble qu'il y ait eu une augmentation non significative de PAL chez les rats mâles dans les groupes recevant des doses moyennes et élevées, la bilirubine totale a connu une augmentation significative ($P < 0.05$) chez les même rats mâles ayant reçu la dose moyenne, les rats femelles dans les groupes à forte dose ont présenté une augmentation hautement significative ($P < 0.01$) de l'activité PAL (kim *et al.*, 2010).

Il n'y a pas eu de changements significatifs dans les paramètres biochimiques sériques, y compris la bilirubine totale, TP, Alb, ASAT, ALAT et PAL, entre les groupes traités ($P > 0.05$) et témoins (Pourhamzeh *et al.*, 2016).

Tableau06. Paramètres biochimiques sanguins chez le rat recevant une administration orale d'Ag-NPs pendant 28 jours (Pourhamzeh *et al.*, 2016)

	TP, mg/dL	T Bil, mg/dl	Alb, mg/dL	AST, IU/I	ALT, IU/I	ALP, IU/I
Control	4.57_0.20	0.34_0.02	3.47_0.05	124.75_18.55	29.66_1.52	625.25_234.60
30 mg/kg	5.30_0.14	0.31_0.02	3.62_0.05	146.50_20.04	37.00_6.16	516.50_51.53
125 mg/kg	4.95_0.34	0.29_0.03	3.22_0.17	134.00_32.62	33.00_11.54	599.75_227.39
300 mg/kg	4.95_0.61	0.34_0.02	3.25_0.36	155.75_21.25	20.75_3.86	543.00_75.49
700 mg/kg	4.60_0.35	0.34_0.01	3.17_0.37	197.00_84.22	28.00_16.47	704.50_144.54

Wesierska *et al.*, (2018), ont aussi rapporté que les AgNPs n'ont pas eu d'effet sur les activités des enzymes mentionnées précédemment dans le sang ou le foie, ce qui indique une toxicité systémique limitée ou inexistante pour des doses estimées de nanoparticules.

De sa part, l'étude de Gavanj *et al.* (2014) n'a indiqué aucune différence significative dans les niveaux d'ASAT et de PAL dans tous les groupes traités et quel que soit la concentration.

Discussion

- La détermination de l'activité des enzymes ASAT et ALAT est la première étape de l'examen des lésions hépatiques, le plus sensible et le plus pratique à reconnaître des enzymes du foie sont ces aminotransférases. ceci est généralement présent dans les cellules de cet organe (Gavanj *et al.*, 2014).

- Les cellules de l'organisme sont en mesure d'acheminer les enzymes vers le sang, l'augmentation du niveau des enzymes indique un dommage, L'étude histologique selon Gavanj *et al.* (2014) était en corrélation avec les analyses du sang, avec absence des lésions cellulaires et des sinusoides et de nécrose.

- Autres auteurs ont exhibé des changements notables dans les activités enzymatiques hépatiques (ALAT et ASAT), comme dans l'étude d'Abd-Elhakeem *et al.* (2015), ils ont suggéré qu'ils sont sensibles aux signes de lésions hépatiques citant la nécrose cellulaire.

- La phosphatase alcaline est une enzyme hydrolytique dont l'activité est observée en pH alcalin, elle se trouve dans le sang et d'autres organes tels que le foie et les os et également dans certains d'autres tissus comme le rein, le placenta, la paroi intestinale, thymus,

poumon et testicules. Le niveau sanguin de PAL augmente dans les dommages causés aux os ainsi que le foie.

D'après d'Abd-Elhakeem *et al.* (2015), l'élévation du PAL reflète des affections associées aux troubles du tractus biliaire en indiquant une légère inflammation du canal biliaire sans nécrose ou fibrose dans les cellules hépatiques. Cela est associé à une maladie du foie connue sous le nom de cholestase.

L'albumine est fabriqué dans le foie et est utile pour mesurer les fonctions synthétiques de foie, la bilirubine est le produit de la dégradation de l'hémoglobine après la dissolution des globules rouges, le niveau élevé peut être associé à une décomposition accrue du sang ou du foie avec complications du métabolisme ou de la sécrétion associée de ces produits (Sulaiman *et al.* 2015).

4.2.3. Bilan lipidique

La variation des taux sériques de CT, TG, FG, HDL-C et LDL-C par rapport au contrôle est présentée dans les deux tableaux 7 et 8.

Le niveau du cholestérol sérique des lipoprotéines de haute densité a été réduit par l'administration des nanoparticules alors que l'IA (indice athérogène) était significativement élevé (Sulaiman *et al.*, 2015).

Tableau 07. Effet des nanoparticules d'argent sur le niveau de cholestérol total, triglycérides et glycéril libre dans le sérum chez le rat (Sulaiman *et al.*, 2015)

Groups	TC (mmol/L)	TAG (mmol/L)	FG (mmol/L)
Control	0.30 ± 0.05	0.46 ± 0.30	0.35 ± 0.30
Ag 10 mg/kg	1.54 ± 0.74	0.86 ± 1.00	0.75 ± 0.10
Ag 50 mg/kg	1.78 ± 0.24	0.79 ± 0.01	0.68 ± 0.01
Ag 100 mg/kg	4.58 ± 0.68	0.61 ± 0.34	0.51 ± 0.26

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (n = 3). Les valeurs dans chaque colonne avec les différents exposants sont présentent des différences significative (p < 0,05). Ag argent ; SEM erreur-type de la moyenne.

Tableau 08. Effet des nanoparticules d'argent sur le niveau d'HDL-C, de LDL-C et d' indice athérogène dans le sérum chez rat (Sulaiman *et al.*2015)

Group	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	indice athérogène
Control	0.49 ± 0.17	0.06 ± 0.03	1.80 ± 0.22
Ag 10 mg/kg	0.46 ± 0.08	0.17 ± 0.01	10.37 ± 0.32
Ag 50 mg/kg	0.62 ± 20.06	0.16 ± 0.00	7.18 ± 0.35
Ag 100 mg/kg	0.66 ± 0.06	0.12 ± 0.03	17.64 ± 0.19

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (n = 3).

Les valeurs dans chaque colonne avec les différents exposants présentent les différences significatives (p < 0.05). Ag ¼ argent ; SEM ¼ erreur-type de la moyenne.

Discussion :

Les nanoparticules ont montré une capacité à modifier le profile lipidique en élevant le contenu des TC, TAG, LDL-C et FG. Le niveau de HDL-C a été épuisé, ce qui a permis d'augmenter l'IA. HDL-C est appelé "bon" cholestérol et a été signalé à réduire le risque de développement de l'athérosclérose. Par contraste, le LDL-C est généralement appelé "mauvais" cholestérol et prédispose à l'athérosclérose. À l'heure actuelle, aucune raison ne pourrait être avancée pour l'effet des nanoparticules d'Ag sur les lipides. Toutefois, il convient de noter que les nanoparticules d'argent ont augmenté L'IA, qui permet de prédisposer une maladie cardiovasculaire (Sulaiman *et al.*,2015).

4.2.4. Bilan rénal

La créatinine, l'urée et les niveaux d'azote uréique sanguin, marqueurs biologiques de la fonction rénale, ne sont pas influencés par le métal (Abd-Elhakeem *et al.*,2015 ; Garcia *et al.* ,2016).

Discussion :

Les niveaux inchangeables de l'urée et la créatinine pourront indiquer la réduction de la toxicité cellulaire des AgNP sur les reins pendant le traitement (Abd-Elhakeem *et al.*,2015) .

4.2.5. Quelques électrolytes sanguins

De même que le bilan rénal, la calcémie, la phosphorémie et la magnésium semble constante selon tableau suivants (Espinosa-Cristobal *et al.* , 2013).

Tableau9. Valeurs sériques des Calcium, phosphore et magnésium .(Espinosa-Cristobal *et al .*, 2013)

	0 jour		25 jour		55 jour	
	Control	14 nm	36 nm	Control	14 nm	36 nm
Ca	11.1 ± 2.7	12 ± 0.7	11.6 ± 2.0	11 ± 01.2	11.8 ± 1.6	11 ± 0.1.7
P	9.2 ± 11.8	10.1 ± 1.6	11.2 ± 1.9	7.8 ± 1.3	7.0 ± 1.0	6.8 ± 1.3
Mg	2.2 ± 0.7	2.1 ± 0.2	2.6 ± 0.7	2.8 ± 0.9	2.7 ± 0.3	2.3 ± 0.5

n = 10 par groupe; Concentration AgNPs 535 ug/mL

Moy±SD, Ca (mg/dL), P (mg/dL), Mg (mg/dL).

4.3.Évaluation de l'examen hématologique

Les paramètres hématologiques des animaux exposés n'ont pas montré de changements significatifs par rapport à ceux des groupes témoins dans étude de (Garcia *et al.*,2016)

Un test sanguin complet a montré des changements non significatifs sur le nombre de cellules sanguines, y compris les globules blancs, les globules rouges et de plaquettes, pendant cinq à dix semaines (Abd-Elhakeem *et al.*2015) .

Les résultats d'Espinosa-Cristobal *et al.*(2013) sont décrits dans le tableau 10.

Tableau10. Variation des paramètres hématologiques (Espinosa-Cristobal *et al.* , 2013)

	0 days	25 days		55 days		
	Contro l	14 nm	36 nm	Control	14 nm	36 nm
LYO	2.7 ± 1.5	12.7 ± 3 , *	8.7 ± 2.2 , *	2.1 ± 0.5	3.6 ± 2.0	2.9 ± 1.4
GRA	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.3	0.6 ± 0.5	0.3 ± 0.2
%LYO	80.5 ± 7	89 ± 1.8	86 ± 3.7	76.4 ± 10	76.4 ± 6.3	79.0 ± 6.2
%GRA	12 ± 3.2	3.2 ± 0.8	5.0 ± 1.4	9.2 ± 5.5	11.6 ± 6.8	9.7 ± 6.2
HCT*	38.3 ± 6.9	52.4 ± 3.4 a, *	48.7 ± 3.3 , *	44.9 ± 7.0	46.3 ± 2.4	46.1 ± 0.8
VGM	63.6 ± 6.9	62.5 ± 3.3 a, *	61.4 ± 2.5	60.2 ± 3.9	62.0 ± 1.5	60.2 ± 2.8
MCH	20.6 ± 0.9	20.7 ± 0.9	20.2 ± 1.0	19.6 ± 0.8	20.9 ± 0.7	20.3 ± 1.1
MCHC	32.6 ± 1.3	33.1 ± 0.5	33.4 ± 0.5	32.9 ± 1.3	34.1 ± 0.6	33.9 ± 0.6
PLT	565 ± 205	754 ± 214	871 ± 198	780 ± 195	630 ± 180	623 ± 93
WBC	3.4 ± 1.8	14.2 ± 3.8 *	10.1 ± 2.6 , *	2.8 ± 1.1	4.8 ± 2.7	3.6 ± 1.8
Hb*	12.5 ± 2.7	17.2 ± 0.6*	16.3 ± 0.6b,*	14.7 ± 2.2	16.0 ± 0.9	15.7 ± 0.5

• n = 10 par groupe ; concentration de SNP 535 lg/mL ; Moy±SD, les valeurs ayant le même exposant présentent des différences (p < 0,05).

WBC (K/IL), LYO (K/IL), GRA granulocytes (K/IL), %; érythrocytes (M/IL), hémoglobine (g/dL), VGM (fL), HCM (pg), concentration moyenne d'hémoglobine corpusculaire de l'HCM (g/dL), PLT (K/IL).

- ✓ D'après cette étude, les paramètres hématologiques des groupes AgNPs (14 et 36 nm) au milieu et au début du traitement ont été comparés et les différences ont été obtenues. Des différences ont été constatées lorsqu'on compare le groupe AgNPs 14 nm et groupe AgNPs 32 nm dans les WBC, lymphocytes, pourcentage en granulocytes, RBCs, Hb, et HTC (p<0.05), le groupe AgNPs 36 nm avait des différences statistiques dans WBC, GRA, lymphocytes, lymphocytes pour ,RBCs, Hb, HTC, MCV et PLTs (p<0.05).

- ✓ Les comparaisons d'hématologie entre les groupes AgNPs et le groupe de contrôle à la fin du traitement (55 jours d'exposition), ont montré des différences statistiques dans l'Hb (14 nm) et MCHC (14 nm et 36 nm) ($p < 0.05$) (Espinosa-Cristobal *et al.*, 2013).

Discussion :

Selon les résultats obtenus grâce à l'étude d'Abd-Elhakeem *et al.* (2015), nous concluons que les changements non significatifs dans l'hématologie indique que les organes hématopoïétiques ne sont pas les principaux organes cibles pour la toxicité des AgNP.

- Espinosa-Cristobal *et al.* (2013) indiquent que l'oxygénation anormale dans les poumons, pointant vers un manque d'oxygène dans le sang avec augmentation RBC et HB, bien que ces valeurs soient des paramètres normaux. Une autre différence statistique a été constatée dans les Valeurs MCHC à 14 et 36 nm SNP par rapport au groupe témoin, à la fin du traitement ($p < 0,05$); cela peut aussi refléter une diminution de l'oxygène du sang, accompagné par une augmentation des globules rouges, mais les valeurs obtenues pour les deux groupes sont aussi des valeurs normales. Une faible concentration de Hb peut être le résultat d'une sorte de dysfonctionnement des poumons pour l'oxygène sanguin .

4.4. Evaluation de l'étude histopathologique

Des sections de tissu de rat ont été préparées et observées sous un microscope optique pour les changements morphologiques après l'exposition aux nanoparticules d'Ag. L'examen histologique a révélé des lésions cellulaires dans le tissu cardiaque, rénal, et hépatique (figures 6 et 8). Les lésions morphologiques comprenaient l'inflammation, l'hyperchromique l'anémie, l'infiltration polymorphe du glomeruli, et dégénérescence cellulaire. Ces altérations cellulaires n'était pas accidentel (Sulaiman *et al.*, 2015).

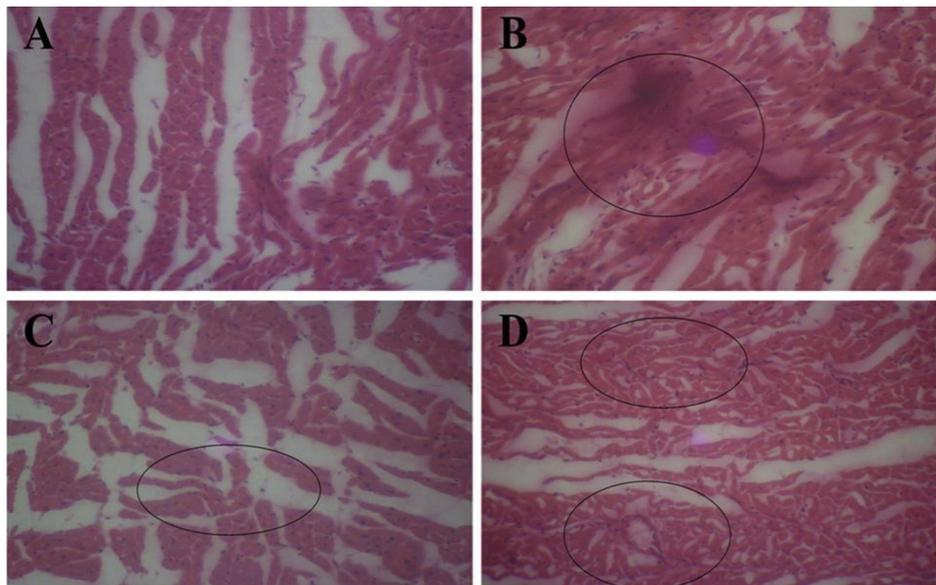


Figure 06. Photomicrographies de cœur de rat après exposition orale à des nanoparticules d'argent à différentes doses (Sulaiman *et al.*, 2015).

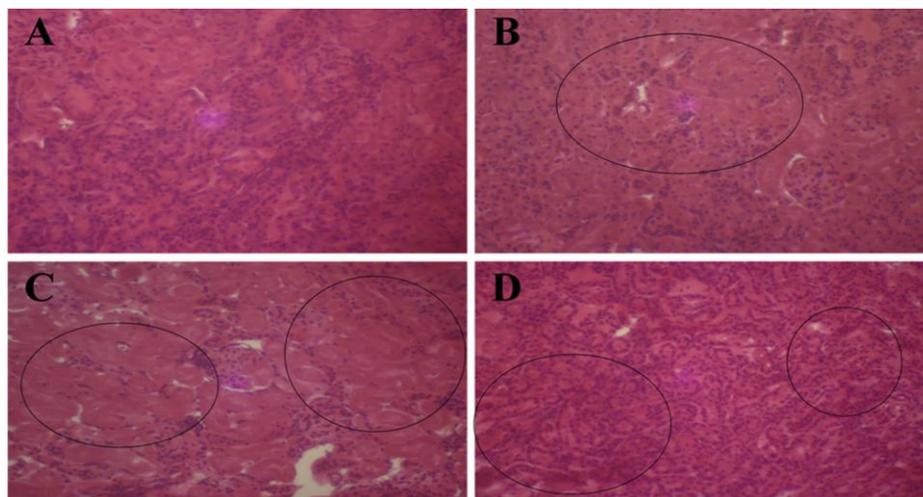


Figure 07. Photomicrographies de rein de rat après exposition orale à des nanoparticules d'argent à différentes doses (Sulaiman *et al.*, 2015).

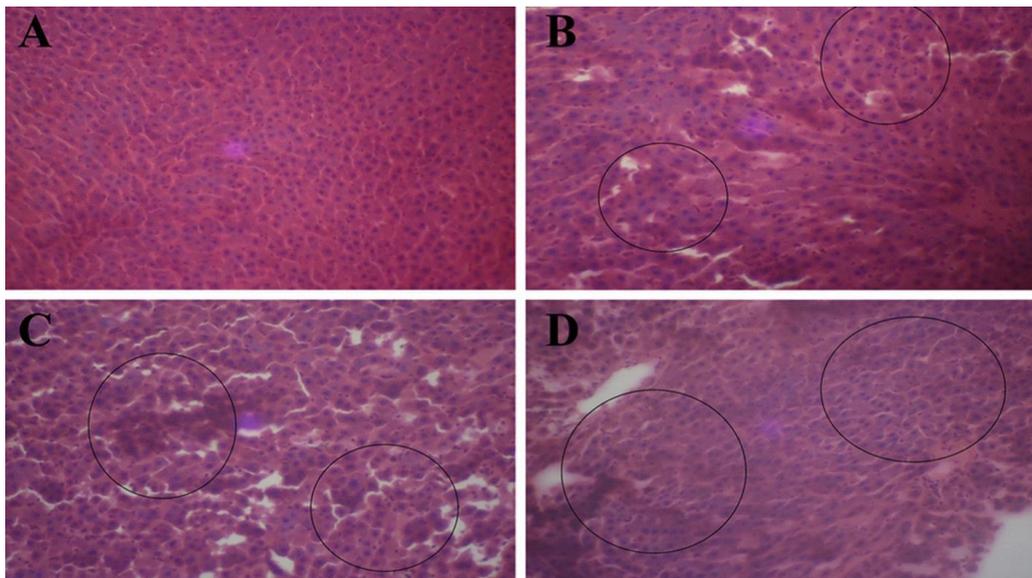


Figure 8. Photomicrographes du foie de rat après exposition orale à des nanoparticules d'argent à différents dosages. (Sulaiman *et al.* , 2015).

- dans toutes les images précédentes , les lettres représentent:
 (A) Groupe témoin ayant reçu de l'eau distillée montrant intact morphologie cellulaire; (B) groupe recevant des nanoparticules d'argent à 10 mg / kg de poids corporel montrant une légère inflammation et une dégénérescence cellulaire; (C) groupe donné de l'argent nanoparticules à 50 mg / kg de poids corporel présentant une inflammation et une dégénérescence cellulaire; et (D) groupe recevant des nanoparticules d'argent à 100 mg / kg de poids corporel montrant une inflammation et une dégénérescence cellulaire. Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (Sulaiman *et al.* , 2015).

- **L'intestin**

Un plus grand nombre de nanoparticules d'argent ont également été trouvées dans la lamina (tissu conjonctif sous épithéliale) dans le gros intestin, et à la fin du villi supérieur dans l'iléum et la surface saillante du pli dans le côlon (pas indiqué), dans l'iléum de rat témoin (Jeong *et al.* ,2010).

Chez les rats administrés par des nanoparticules d'argent, aucun changement dans l'architecture de l'épithéliale n'a été observé par rapport aux rats témoins (Jeong *et al.* ,2010).

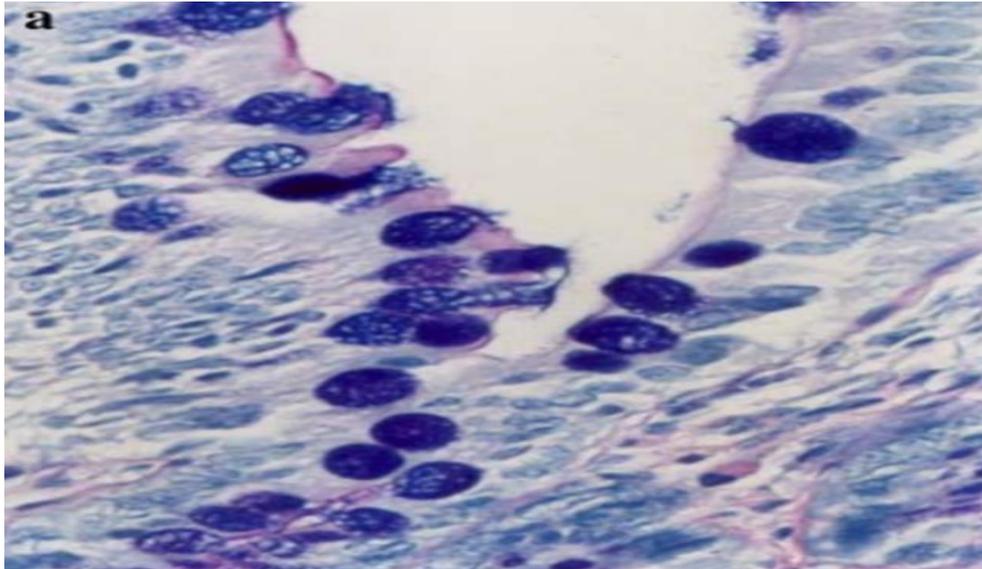


Figure 9. l'histologie de l'iléon des rats exposés à Ag (Jeong *et al.* , 2010)

- **Peau**

Diminution de l'épiderme et le derme a été détectée, avec inflammation, et une couche papillaire plissée avec fibre de collagène régulière(Korani *et al.* , 2011).

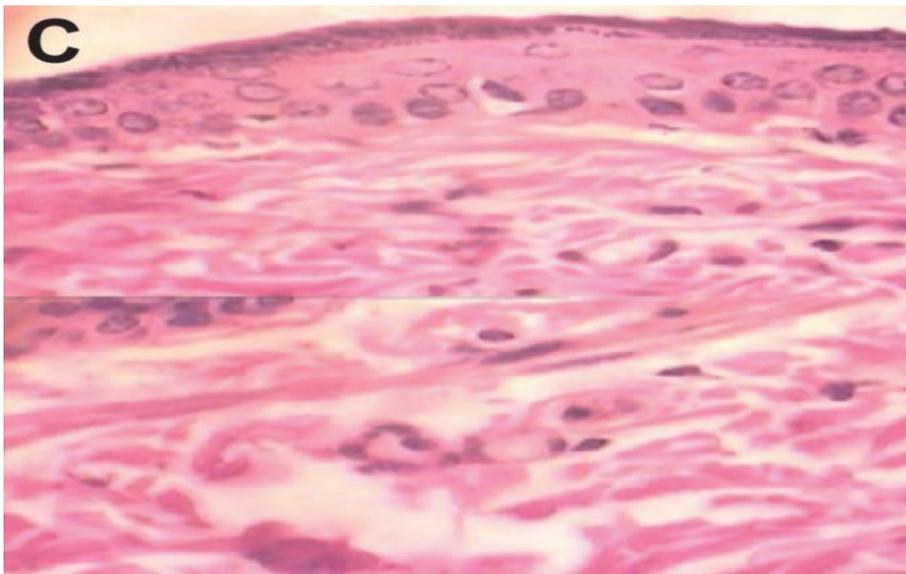


Figure 10. Sections de peau colorées par H&E en toxicité subchronique (x40) (Korani *et al.* ,2011)

C) Anomalies cutanées à faible dose groupe nano-argent (Korani *et al.* ,2011)

- **Foie**

L'observation change clairement avec nécrose à la concentration maximale de nano-particule d'argent .

L'effet hépatotoxique dépendant de la dose des nano-particule d'argent par exposition cutanée.

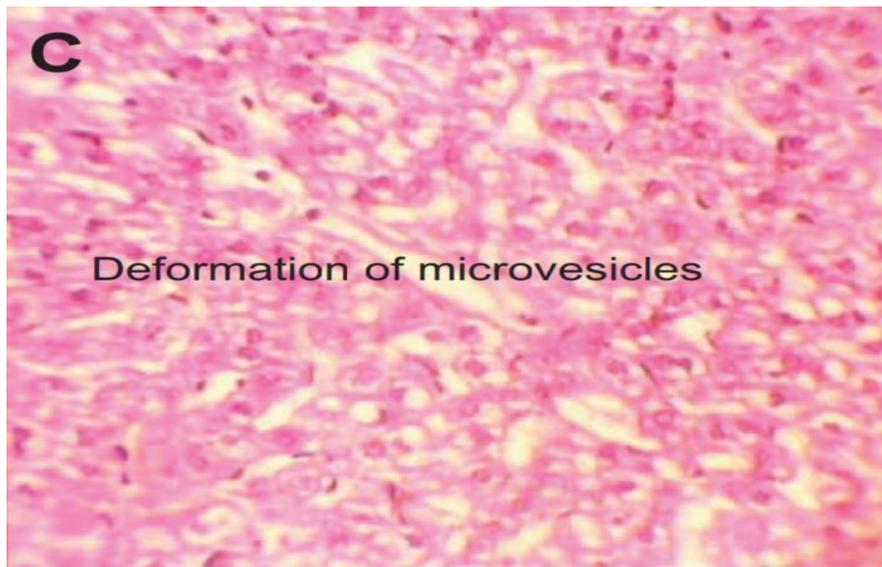


Figure11. Coupes de foie colorées H&E en toxicité subchronique (x40)

C) Surproduction de cellules Kupffer et dégénérescence des hépatocytes dans le groupe des nano-argents à faible dose (Korani *et al.* ,2011)

- **Rate**

Les capsules étaient beaucoup plus fines, avec des signes d'inflammation, accumulation de globules rouges et atrophie de la pulpe blanche (Korani *et al.* ,2011)

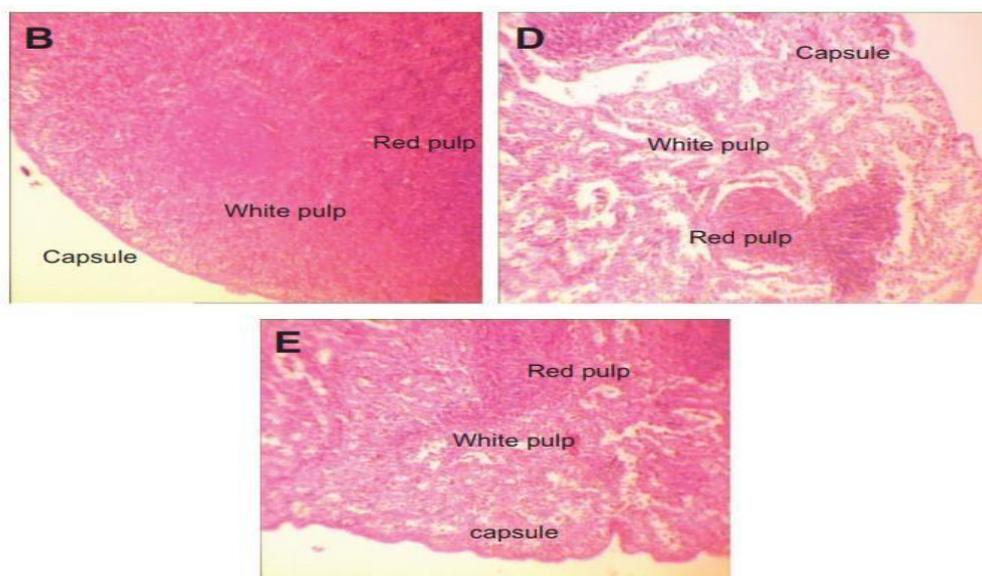


Figure12. Coupes de rate colorées par H&E dans une étude de toxicité subchronique (x40) (Korani *et al.*, 2011)

B) Capsule rouge fine avec inflammation et pulpe blanche hypertrophie dans le groupe AgNO₃ ; D) Capsules minces avec inflammation, accumulation de globules rouges et atrophie de la pulpe blanche dans le groupe des nano-argents à dose moyenne ; E) Les

niveaux les plus élevés d'inflammation de la pulpe rouge, atrophie de la pulpe blanche, et capsule la plus fine du groupe des nanoparticules d'argent à forte dose (Korani *et al.*,2011) .

- Dans l'étude de Gherkholagh *et al.*(2018), les changements histopathologiques ont été évalués pour trois composants : Tubulaire, glomérulaire et interstitiel , Les sections des rats témoins ont montré que les structures du tissu rénal, y compris, les structures proximaux et des tubes distaux contournés des corpuscules rénaux et tissu interstitiel des tubules étaient intacts et aucun des dommages cellulaires et tissulaires ont été trouvés (figure 10). la région corticale du rein de 30, 125, 300, 700 mg/kg AgNPS a exhibé la dégénérescence mousseuse des cellules épithéliales vacuolées, la congestion des boucles capillaires et l'infiltration des cellules inflammatoires.

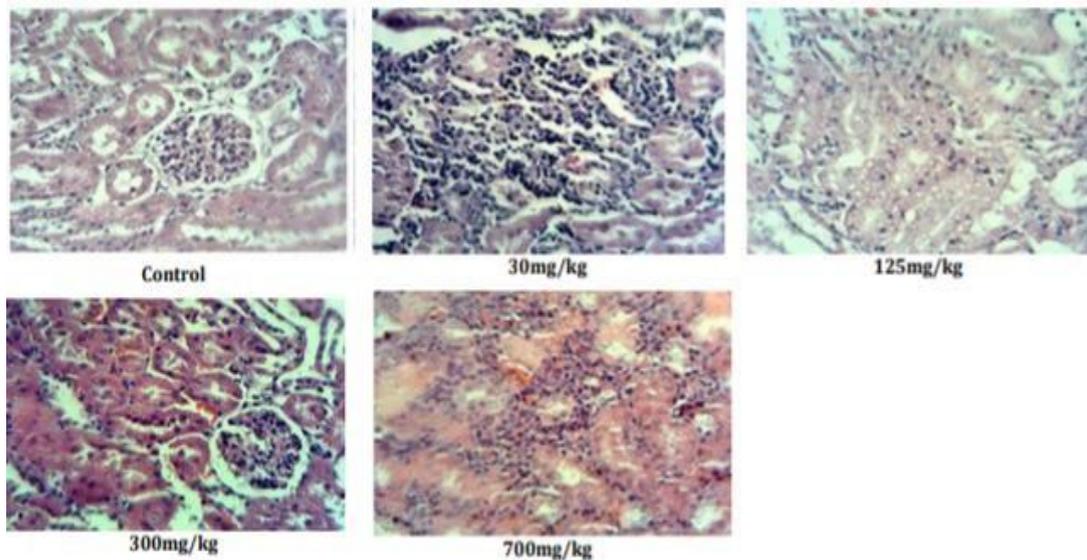


Figure13.Coupes de micrographies lumineuses pour l'analyse tubulaire $\times 400$ (Gherkholagh *et al.*,2018)

Discussion

- L'administration des nanoparticules Ag a causé plusieurs altérations à l'architecture cellulaire du tissu cardiaque, rénal, et tissu hépatique chez le rat par rapport au contrôle. L'inflammation et la dégénérescence cellulaire causée par les nanoparticules sont des preuves à l'appui du potentiel de la nanoparticule à provoquer des altérations biochimiques entraînant des dommages cellulaires. De récentes études ont montré le potentiel des nanoparticules pour séquestrer dans les tissus et causer ainsi des dommages cellulaires (Sulaiman *et al.* , 2015).
- La présence de mucus sialytique dans la propria lamina du côlon dans l'étude de Jeong *et al.*(2010) , qui n'ont pas été trouvés chez les rats témoins, semble indiquer que

l'exposition répétée aux nanoparticules d'argent peut produire des Zones pathologiques.

- L'atrophie tubulaire néphropathique a conduit finalement aux dommages dans les corpuscules rénaux, indiqué par l'élargissement des régions mésangiales, l'accumulation de matrice mésangiale, et la diminution de l'épaisseur de Bowman, et de l'espace et le diamètre des corpuscules (Gherkholagh *et al.*,2018)
- Le nano-argent peut provoquer des anomalies histopathologiques de la peau, du foie et de la rate des animaux, qui peuvent être amplifiée par des concentrations accrues à l'exposition à long terme. L'étude de Korani *et al.* (2011) a également confirmé que Les animaux traités de façon chronique présentent une toxicité cutanés et hépatiques supérieurs, et des signes de toxicité immunologique par rapport aux animaux traités de manière aigue.

4 .5. Distribution tissulaire d'argent

- Dans les organes de souris traitées avec des AgNPs, le rapport n'a mentionné que 40 à 50 % des concentrations d'argent dans les reins, l'estomac, le cerveau et le plasma, 10-20% dans les muscles et souris pulmonaires exposées à 14 nm PVP-AgNPs par rapport à Ceux qui sont exposés à l'acétate d'argent (Qin *et al.* ,2016)

- Une excrétion de $63\pm 23\%$ des agNPs dans les matières fécales après une dose orale quotidienne. Les agNP restants sont principalement accumulés dans le foie et les reins. Les résultats obtenus (tableau11) ont montré la présence d'argent dans les deux organes en quantité notable. Il y a eu une augmentation statistiquement significative ($P<005$) dépendante de la concentration d'argent de tous les tissus provenant des groupes exposés aux nanoparticules d'argent. En outre, les résultats montrent une augmentation significative de la concentration d'argent avec la période d'exposition en particulier dans le foie qui apparaît comme l'organe cible principal. En outre, durant la période de récupération, un recul de la concentration d'argent dans les foies et les reins a été signalé (Abd-Elhakeem *et al.*,2015).

Tableau11 .concentration d'argent dans le foie et les reins(Abd-Elhakeem *et al.*,2015)

Temps	Organe	Concentration d'argent (ng/g wet tissue)			
		Controle	Group I	Group II	Group III
Cinq semaines	foie	4.00	1000.10±65.11	647.34±78.49	148.38±29.87
	rein	0.00	1120.27±89.24	578.28±55.65	218.21±33.96
dix semaines	foie	2.00	3070.57±187.21	1878.35±168.22	698.25±58.87
	rein	1.00	1300.44±177.99	700.54±99.63	354.88±51.66
récupération	foie	2.00	650.56±71.44	390.47±40.22	68.99±12.54
	rein	0.00	590.54±58.98	334.12±35.47	44.14±14.88

- En outre, une accumulation deux fois plus élevée d'argent dans les reins des rats femelles par rapport aux rats mâles s'est produite dans tous les groupes de dose indiquant une distribution marquée dépendante du sexe.(kim *et al.*,2010)

- La figure suivante présente les concentrations d'organes en argent chez des rats exposés à l'AgNP et à l'AgAc. La concentration d'argent dans les organes des animaux de contrôle était inférieure à la limite détection (2 ng/g de tissu humide).

En général, la distribution des organes était similaire pour les deux formes de doses, AgNPs et AgAc. Les concentrations d'argent les plus élevées, énumérés par ordre décroissant, ont été trouvés dans les tissus de l'intestin grêle, de l'estomac, des reins et du foie des animaux exposés, les concentrations d'argent qui en résultent dans les reins, les poumons, les muscles, le cerveau et le plasma étaient plus faibles ($p < 0,05$), par rapport aux animaux exposés à l'AgAc. Lorsqu'ils sont normalisés aux doses de 12,6 et 9 mg Ag/kg p.c./jour utilisées pour les groupes AgNP et AgAc, respectivement, les concentrations d'argent dans les tissus des animaux exposés aux AgNP étaient d'environ 40 à 50 % de celles correspondant à l'administration de l'AgAc pour rein, estomac, cerveau et plasma, et 10 à 20 % pour les muscles et les poumons (Loeschner *et al.*, 2011).

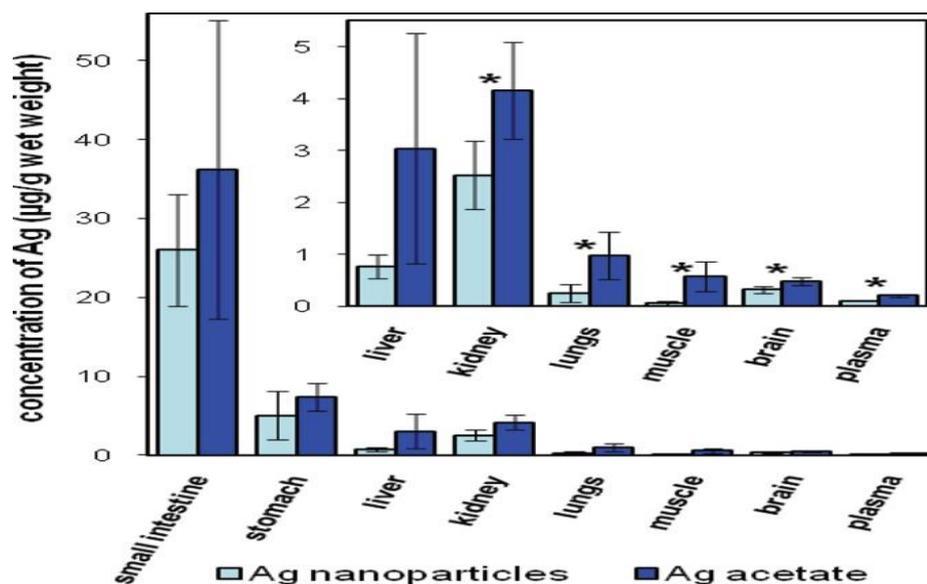


Figure 14. Concentration d'argent dans les organes de rat (Loeschner *et al.*, 2011)

Concentrations d'argent (moyenne \pm 1s.d., N = 5-7) dans les organes du rat après 28 jours par voie orale, administration de nanoparticules d'argent et d'acétate d'argent. Les différences significatives ($p < 0,05$) entre les groupes sont marquées avec des astérisques (*). Les concentrations d'argent chez les animaux témoins étaient en dessous de la limite de détection (Loeschner *et al.*, 2011).

Discussion

- Une étude de Abd-Elhakeem *et al.* (2015) met en lumière les produits commerciaux qui contiennent des AgNPs, l'utilisation à long terme de ces produits peut entraîner une accumulation d'argent dans le foie et peuvent provoquer l'hépatotoxicité.
- L'étude de Qin *et al.* (2016) a constaté qu'il existe une différence statistique dans les concentrations d'argent dans les organes des souris mâles traitées avec AgNPs, alors qu'il n'y a aucune différence dans la distribution d'argent chez les souris femelles. Les causes de cette observation peuvent être liées aux taux d'absorption le plus faible de l'argent d'AgNPs en raison de tailles, Cette conclusion indique que la distribution des AgNPs peuvent être hormonaux dépendante. En fait, il convient que la distribution et la toxicité des nanoparticules dépend des propriétés des particules, y compris la taille, la forme, la peinture, et de nombreux autres facteurs expérimentaux comme les espèces animales, l'âge, le sexe, plus d'étude sur l'absorption, la distribution et l'excrétion sont nécessaires. Il est nécessaire de mieux comprendre le comportement et d'expliquer la toxicité d'AgNPs dans le corps vivant. Si les AgNPs sont toxiques en raison des nanoparticules d'argent, des ions ou les deux sont encore controversé.

4. 6. Variation des marqueurs biologiques du stress oxydant

Les résultats de MDA, GSH et SOD sont présentés à la figure 14, par rapport au groupe HPMC 1 %, la teneur en MDA dans Le groupe AgNO₃ n'a augmenté de manière significative que dans le foie, et tous les groupes d'AgNP ont augmenté en fonction de la dose, ce contenu était plus élevé des groupes AgNP-PVP que celui des groupes AgNP-20, et par rapport au groupe AgNO₃, le MDA a augmenté dans les deux groupes d'AgNP dans le foie, qui était la même que celle du groupe AgNP-20 à forte dose, et quelque soit la dose des AgNP-PVP sur les poumons et les doses moyennes et élevées d'AgNP-PVP sur le rein.

Par rapport au groupe HPMC 1 %, la teneur en GSH du foie a d'abord augmenté, puis a diminué avec l'augmentation des doses, tandis que les groupes AgNP-PVP à faible et moyenne dose ont augmenté de manière significative chez les souris traitées, La teneur en GSH dans les poumons a diminué en fonction de la dose. Dans le rein, on a également constaté une tendance pour une diminution significative de la teneur en GSH en fonction de la dose. Cette diminution est remarquée uniquement dans le groupe AgNP-PVP à forte dose. Par rapport à l'AgNO₃, la teneur en GSH du foie est augmentée de manière significative dans le groupe à faible dose d'AgNP-PVP, tandis que celle des poumons est diminuée dans les groupes AgNP-20 à forte dose et AgNP-PVP à dose moyenne et forte.

La SOD est une enzyme antioxydante essentielle qui élimine l'excès de radicaux les résultats ont montré que par rapport au groupe HPMC, l'activité de la SOD dans le foie est augmentée de façon proportionnelle à la dose dans les groupes traités des deux AgNP, tandis que dans les poumons, elle est diminuée de manière proportionnelle à la dose.

Dans le rein, en fonction des doses de l'AgNP, l'activité de la SOD est d'abord augmentée et est ensuite diminuée. Par rapport aux deux groupes de contrôle, l'activité SOD du foie a augmenté de manière significative à la dose élevée AgNP-20 et tous les groupes AgNP-PVP, et celle des poumons est diminuée de manière significative dans les groupes à dose moyenne et à dose élevée de la deux AgNP.

Il convient de noter que les fortes doses de PNP-Ag ont induit plus la libération de MDA dans les reins des souris, qui était plus élevée que celle de l'AgNP-20 à la même dose, mais il n'y avait pas de différences significatives dans la SOD et le contenu en GSH entre les deux AgNP. Par rapport au groupe AgNO₃, les deux groupes AgNP ont montré des résultats plus substantiels des changements, en particulier dans le groupe AgNP-PVP à la dose élevée (Gan *et al.*,2020).

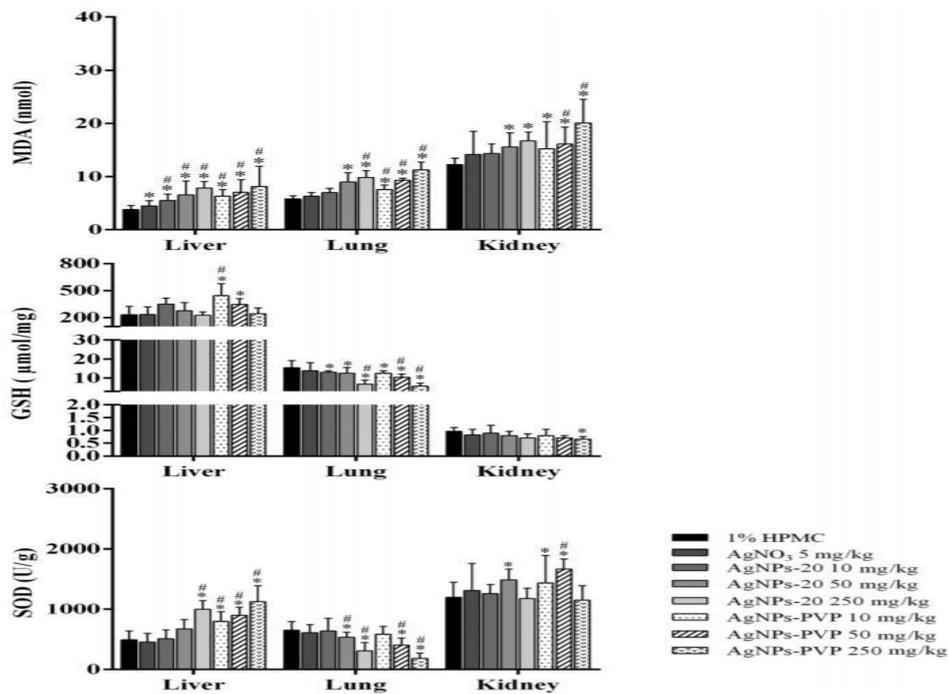


figure 15. Effets de l'AgNP-20 et AgNP-PVP sur MDA, GSH, SOD dans les organes (Gan *et al.*, 2020)

Les organes (foie, poumon et rein) de souris à différentes doses, après l'exposition.

*Comparaison avec le groupe HPMC 1 %, $P < 0,05$.

#Par rapport au groupe AgNO₃, $P < 0,05$.

Les données sont exprimées en moyenne \pm standard déviation.

HPMC, hydroxypropylméthyle cellulose ;PVP, polyvinylpyrrolidone

- Elsharkawy *et al.* (2019) ont rapporté que l'activité de la SOD dans l'homogénat de testicule a montré une diminution d'une façon significative pendant toute la durée de l'expérience en G2 et G3 par rapport au contrôle. Il existe une différence significative entre G2 et G3 au 1er et 2ème mois d'exposition.

Les niveaux de MDA dans l'homogénat de testicule ont montré une augmentation significative pendant toute la période d'expérimentation en G2 et G3 en comparaison avec contrôle. Il existe une différence significative entre G2 et G3 au 1er, 2 e, 3 e et 4 e mois d'exposition (Elsharkawy *et al.*,2019).

Discussion

Le stress oxydatif a été détecté dans le foie, les poumons et les reins le premier jour après l'exposition.

Les trois indicateurs du stress oxydatif testés ont des rôles différents dans l'organisme.

Le MDA est une substance aldéhyde produite lors du processus de peroxydation des lipides induite par les radicaux libres. La teneur en MDA reflète le degré de la peroxydation des lipides et du stress oxydatif, et reflète indirectement des dommages au corps (Gan *et al.*, 2020).

La SOD est une enzyme importante pour la défense humaine contre les dommages oxydatifs dans un environnement interne et externe, qui peut superoxyder des ions disproportionnés pour produire de l' H_2O_2 , donc protéger les cellules des dommages causés par les radicaux libres toxiques de l'oxygène, après 28 jours d'exposition par gavage, la teneur en MDA dans le foie, les poumons et les reins de souris ont montré une tendance à la hausse dans chaque groupe de dose (Gan *et al.*, 2020).

Les résultats ont montré que le stress oxydatif était produit dans les organes de souris que nous avons mentionné ci-dessus, ce qui a entraîné l'augmentation du contenu en MDA.

Le GSH peut fournir des ions hydrogène par le biais d'un processus enzymatique ou non enzymatique des catalyseurs pour contrer la toxicité des radicaux libres de l'oxygène, et éliminer les ions superoxydes et autres radicaux libres *in vivo*. La teneur en GSH dans le foie a d'abord augmenté, puis a diminué avec l'augmentation des doses, ce qui indique que la teneur en radicaux libres de l'oxygène a augmenté dans le foie et le GSH a augmenté pour faire les décharges des radicaux libres. En outre, la teneur en GSH dans les poumons et les reins a diminué de manière dose-dépendante, ce qui pourrait être causé par la consommation de GSH pour éliminer la concentration élevée de radicaux libres oxygénés dans les poumons et les reins (Gan *et al.*, 2020).

L'activité de la SOD a augmenté de manière proportionnelle à la dose dans tous les groupes de dose des deux AgNPs, et les radicaux libres d'oxygène dans le foie ont augmenté ; cela suggère que l'organisme a empêché les dommages oxydatifs et a induit l'amélioration de la capacité antioxydante, et donc de la teneur en SOD a augmenté (Gan *et al.*, 2020).

La SOD dans les poumons a diminué aux doses moyennes et élevées des deux AgNPs, indiquant que la production de radicaux libres d'oxygène dans les poumons des souris ont augmenté après l'exposition aux AgNPs. Avec la forte concentration de radicaux libres dépassant la compensation de la corps, la SOD élimine l'excès de radicaux libres du corps, ce qui entraîne une diminution de l'activité de la SOD (Gan *et al.*, 2020).

Avec l'augmentation des doses dans les deux groupes AgNP, l'activité de la SOD a montré une tendance non linéaire d'augmenter d'abord et de diminuer ensuite dans le rein, ce qui était lié à l'augmentation de l'autocompensation à faibles doses. Le foie est le principal organe pour la synthèse de GSH, et la plus forte concentration de GSH était trouvée dans le foie (Gan *et al.*, 2020).

Parmi les changements de ces trois indicateurs, qu'elle ait augmentés ou diminués, les changements de l'AgNP-PVP les groupes ont montré un degré plus élevé que les autres groupes (Gan *et al.*, 2020).

- En plus de ces études sur les rongeurs, les études sur les poissons jouent un rôle pour montrer l'implication des AgNP dans la médiation du stress oxydatif. Par exemple, les niveaux de GSH et MDA, produit final de la peroxydation des lipides, ont augmenté dans les tissus hépatiques des poissons *zèbres* exposés à AgNPs, tandis que les niveaux des enzymes en scannant les radicaux oxygène, la catalase, et GPx1a, ont été réduits. De plus, les émissions oxydantes des gènes liés au stress, tels que le GST et le MT, ont été régulés à la hausse dans des tissus de poissons *medaka* après leur exposition aux AgNP. Le travail avec la mouche des fruits (*Drosophila melanogaster*) a également indiqué un rôle pour les AgNP dans la stimulation du stress oxydatif. L'ingestion par les larves de mouches des fruits a activé des voies de stress oxydatif impliquant SOD, catalase, MDA et GSH (Elsharkawy *et al.*, 2019).

Conclusion

CONCLUSION :

Nous avons examiné dans cette étude sur la toxicité chronique des AgNPs de nombreuses recherches scientifiques, elles sont responsables de l'apparition d'un certain nombre de troubles au niveau cellulaire et par conséquent au niveau tissulaire :

- trouble des enzymes hépatiques telles que l'insuffisance ou l'augmentation de l'activité ASAT et PAL, changement de l'activité ALAT dans le foie et le cœur en fonction de la dose,
- altération du profil lipidique,
- variation des paramètres hématologiques, rapportée par certaines études,
- MDA a observé une augmentation dans le foie, le tissu pulmonaire, les reins et des testicules
- Une augmentation de la valeur du GSH dans foie, puis une diminution avec une dose plus élevée, il varie dans les poumons en fonction de la dose, et il est constant au niveau rénal, en augmentant que dans la dose élevée de AgNP-PVP
- Augmentation de la valeur du SOD dans foie et des reins et de son diminution dans les poumons et les testicules de manière proportionnelle à la dose
- Des lésions morphologiques comprenaient l'inflammation, l'hyperpigmentation anémie, l'infiltration polymorphe du glomérule, et dégénérescence et altérations cellulaires, la première n'a montré aucun changement dans l'architecture de l'épithéliale, Diminuer l'épiderme et réduits de cellules de Langerhans, l'inflammation, une couche papillaire plissée avec fibre de collagène régulière. inflammation, accumulation de globules rouges et atrophie de la pulpe blanche dans La rate.

En fin, et de là, on peut dire que les AgNPs n'est pas adapté au traitement des maladies chroniques.

Il est intéressant d'approfondir les recherches chez l'animal, en étudiant implication d'argent dans le traitement des maladies chroniques, par la recherche d'une alternative à l'argent sur le plan médical.

Bibliographies

Bibliographies

1. Abd-Elhakeem, M. A. Badawy, I., El-Feky, S. Abdel Ghaffar, F. R. Abd-Elghafar, O. S. Adel, A.... et Gomaa, R. (2015). Hepatotoxicity and Nephrotoxicity of Repeated Oral Administration of Silver Nanoparticles in Rats. *Nanomedicine and Nanobiology*
2. Ahmed, S. Ahmad, M. Swami, B. L. et Ikram, S. (2016). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise. *Journal of advanced research*, 7(1), 17-28
3. Al-Khateeb, H. M., Alzoubi, F. Y., Alqadi, M. K., & Mohammed, M. A. (2018). Stability of Colloidal Silver Nonoparticle Solutions Prepared by Chemical Reduction. *Acta Phys. Pol. A*, 134, 217-221
4. Blanco, J. Tomás-Hernández, S. García, T. Mulero, M. Gómez, M., Domingo, J. L., et Sánchez, D. J. (2018). Oral exposure to silver nanoparticles increases oxidative stress markers in the liver of male rats and deregulates the insulin signalling pathway and p53 and cleaved caspase 3 protein expression. *Food and Chemical Toxicology*, 115, 398-404
5. BISSON .M. MARLIERE. M. (2018) . Synthèse des analyses relatives à la toxicologie des nanoparticules d'argent lors d'expositions environnementales par voie respiratoire ou orale.
6. Brouillard, C. Bursztejn, A. C., Latache, C. Cuny, J. F. Truchetet, F. Goullé, J. P. et Schmutz, J. L. (2018). Silver absorption and toxicity evaluation of silver wound dressings in 40 patients with chronic wounds. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 32(12), 2295-2299
7. Crisponi, G. Nurchi, V. M. Lachowicz, J. I. Peana, M. Medici, S. et Zoroddu, M. A. (2017). Toxicity of nanoparticles: etiology and mechanisms. In *Antimicrobial Nanoarchitectonics* (pp. 511-546). Elsevier
8. Cho, Y. M. Mizuta, Y. Akagi, J. I. Toyoda, T. Sone, M. et Ogawa, K. (2018). Size-dependent acute toxicity of silver nanoparticles in mice. *Journal of toxicologic pathology*, 31(1), 73-80
9. da Silva Martins, L. H. Rai, M. Neto, J. M., Gomes, P. W. P. et da Silva Martins, J. H. (2018). Silver: biomedical applications and adverse effects. In *Biomedical Applications of Metals* (pp. 113-127). Springer, Cham
10. De Jong, W. H. Van Der Ven, L. T. Sleijffers, A. Park, M. V. Jansen, E. H. Van Loveren, H. & Vandebriel, R. J. (2013). Systemic and immunotoxicity of silver nanoparticles in an intravenous 28 days repeated dose toxicity study in rats. *Biomaterials*, 34(33), 8333-8343.

11. Drake, P. L. et Hazelwood, K. J. (2005). Exposure-related health effects of silver and silver compounds: a review. *The Annals of occupational hygiene*
12. Dubey, P. Matai, I. Kumar, S. U. Sachdev, A. Bhushan, B. et Gopinath, P. (2015). Perturbation of cellular mechanistic system by silver nanoparticle toxicity: Cytotoxic, genotoxic and epigenetic potentials. *Advances in colloid and interface science*, 221, 4-21
13. Elsharkawy, E. E. Abd El-Nasser, M. et Kamaly, H. F. (2019). Silver nanoparticles testicular toxicity in rat. *Environmental toxicology and pharmacology*, 70, 103194.
14. Espinosa-Cristobal, L. F., Martinez-Castanon, G. A., Loyola-Rodriguez, J. P., Patino-Marin, N., Reyes-Macias, J. F., Vargas-Morales, J. M., et Ruiz, F. (2013). Toxicity, distribution, and accumulation of silver nanoparticles in Wistar rats. *Journal of nanoparticle research*
15. Ema, M., Okuda, H. Gamo, M. et Honda, K. (2017). A review of reproductive and developmental toxicity of silver nanoparticles in laboratory animals. *Reproductive Toxicology*, 67, 149-164
16. Ferdous, Z. et Nemmar, A. (2020). Health Impact of Silver Nanoparticles: A Review of the Biodistribution and Toxicity Following Various Routes of Exposure. *International Journal of Molecular Sciences*,
17. Jeong, G. N. Jo, U. B. Ryu, H. Y. Kim, Y. S. Song, K. S. et Yu, I. J. (2010). Histochemical study of intestinal mucins after administration of silver nanoparticles in Sprague–Dawley rats. *Archives of toxicology*
18. Johnston, H. J. Hutchison, G. Christensen, F. M. Peters, S. Hankin, S. et Stone, V. (2010). A review of the in vivo and in vitro toxicity of silver and gold particulates: particle attributes and biological mechanisms responsible for the observed toxicity. *Critical reviews in toxicology*, 40(4), 328-346
19. Hadrup, N. Sharma, A. K. Loeschner, K. et Jacobsen, N. R. (2020). Pulmonary toxicity of silver vapours, nanoparticles and fine dusts: A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 104690

20. Garcia, T. Lafuente, D. Blanco, J. Sánchez, D. J. Sirvent, J. J. Domingo, J. L. et Gómez, M. (2016). Oral subchronic exposure to silver nanoparticles in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 92, 177-187
21. Gavanji, S. Sayedipour, S. S. Doostmohammadi, M., et Larki, B. (2014). The Effect of different Concentrations of Silver Nanoparticles on Enzyme Activity and Liver Tissue of Adult Male Wistar Rats in-vivo Condition. *International Journal of Scientific Research in Knowledge*, 2(4), 182.
22. Gherkholagh, M. H. Alizadeh, Z. Asari, M. J. & Sohrabi, M. (2018). In Vivo Induced Nephrotoxicity of Silver Nanoparticles in Rat after Oral Administration. *J. Res. Med. Dent. Sci*, 6, 43-51
23. Gueroui, M. et Kechrid, Z. (2016). Evaluation of some biochemical parameters and brain oxidative stress in experimental rats exposed chronically to silver nitrate and the protective role of vitamin E and selenium. *Toxicological research*, 32(4), 301-309
24. KOUAME, K. Peter, A. I., Akang, E. N. Adana, M. Moodley, R. Naidu, E. C., et Azu, O. O. (2018). Effect of long-term administration of Cinnamomum cassia silver nanoparticles on organs (kidneys and liver) of Sprague-Dawley rats. *Turkish Journal of Biology*, 42(6), 498.
25. Kim, Y. S. Song, M. Y. Park, J. D. Song, K. S. Ryu, H. R. Chung, Y. H. ... et Hwang, I. K. (2010). Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles. *Particle and fibre toxicology*
26. Korani, M., Rezayat, S. M., Gilani, K., Bidgoli, S. A., et Adeli, S. (2011). Acute and subchronic dermal toxicity of nanosilver in guinea pig. *International journal of nanomedicine*, 6, 855
27. Kuempel ED. Roberts JR. Roth G . Zumwalde RD. Drew N. Hubbs A. Dunn KL. Trout D. Holdsworth G. Cincinnati. (2018) . Health 19 Effects of Occupational Exposure to Silver Nanomaterials. Revised External Review Draft - Current Intelligence Bulletin
28. Leitgeb, N. Auvinen, A. Danker-hopfe, H. et Mild, K. H. (2016). SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks). Potential health effects of exposure to electromagnetic fields (EMF), Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks SCENIHR Opinion on Potential health, 10, 75635.
29. Li, Y. Qin, T. Ingle, T. Yan, J., He, W. Yin, J. J. et Chen, T. (2017). Differential genotoxicity mechanisms of silver nanoparticles and silver ions. *Archives of toxicology*, 91(1), 509-519

30. Lin, Z. Monteiro-Riviere, N. A. et Riviere, J. E. (2015). Pharmacokinetics of metallic nanoparticles. Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology,
31. Loeschner, K. Hadrup, N. Qvortrup, K. Larsen, A. Gao, X., Vogel, U.et Larsen, E. H. (2011). Distribution of silver in rats following 28 days of repeated oral exposure to silver nanoparticles or silver acetate. *Particle and fibre toxicology*, 8(1), 18.
32. Mohammadpour, R., Dobrovolskaia, M. A., Cheney, D. L., Greish, K. F., et Ghandehari, H. (2019). Subchronic and chronic toxicity evaluation of inorganic nanoparticles for delivery applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 144, 112-132
33. Manaloto, E. Gowen, A. Lesniak, A. He, Z. Casey, A. Cullen, P. J. et Curtin, J. (2020). Cold Atmospheric Plasma induces silver nanoparticle uptake, oxidative dissolution and enhanced cytotoxicity in Glioblastoma multiforme cells.
34. More, S. B., Belapurkar, P. Patil, G. et Mohan, M. (2018). Toxicity by Silver Nanoparticles. *International Journal for Advance Research and Development*,
35. *Nanomed* Fayaz A M, Balaji K, Girilal M, Yadav R, Kalaichelvan P T et Venketesan R 2010. *Nanotechnol.* **6** 103
36. Pandiarajan, J. et Krishnan, M. (2017). Properties, synthesis and toxicity of silver nanoparticles. *Environmental Chemistry Letters*, 15(3), 387-397.
37. Park K, Park EJ, Chun IK, Choi K, Lee SH, Yoon J, Lee BC. Bioavailability and toxicokinetics of citrate-coated silver nanoparticles in rats. *Arch Pharm Res* 2011, 34:153–158
38. POORHAMZE, M. GHOLAMI, M. Z. Saidijam, M., ASARI, M. J. et Alizadeh, Z. (2016). The effect of silver nanoparticles on the biochemical parameters of liver function in serum, and the expression of caspase-3 in the liver tissues of male rats
39. Ranganayaki, P. Thangam, Y. et Rabeeth, M. Bioassay on Metal Silver and Toxicity Studies in Freshwater Fish “Cyprinus carpio
40. Reidy, B. Haase, A. Luch, A., Dawson, K. A. et Lynch, I. (2013). Mechanisms of silver nanoparticle release, transformation and toxicity: a critical review of current knowledge and recommendations for future studies and applications
41. Singh, S. P., Bhargava, C. S., Dubey, V., Mishra, A., et Singh, Y. (2017). Silver nanoparticles: Biomedical applications, toxicity, and safety issues. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*
42. Sulaiman, F. A. Adeyemi, O. S. Akanji, M. A. Oloyede, H. O. B. Sulaiman, A. A. Olatunde, A.... et Nafiu, M. O. (2015). Biochemical and morphological alterations caused by silver nanoparticles in Wistar rats. *Journal of Acute Medicine*, 5(4), 96-102.
43. Thakur, M. Gupta, H. Singh, D. Mohanty, I. R. Maheswari, U. Vanage, G. et Joshi, D. S. (2014). Histopathological and ultra structural effects of nanoparticles on rat testis following 90 days (Chronic study) of repeated oral administration. *Journal of nanobiotechnology*, 12(1), 1-13
44. van der Zande M, Vandebriel RJ, Van Doren E, Kramer E, Herrera Rivera Z, Serrano-Rojero CS, Gremmer ER, Mast J, Peters RJ, Hollman PC, et al. Distribution,

Bibliographies

- elimination, and toxicity of silver nanoparticles and silver ions in rats after 28-day oral exposure. *ACS Nano* 2012, 6:7427–7442.
45. Węsierska, M. Dziendzikowska, K. Gromadzka-Ostrowska, J. Dudek, J. Polkowska-Motrenko, H. Audinot, J. N.... et Kruszewski, M. (2018). Silver ions are responsible for memory impairment induced by oral administration of silver nanoparticles. *Toxicology Letters*, 290, 133-144.

Annexes

Annexes

Résumé :

Ce travail vise à étudier la toxicité chronique des nanoparticules d'argent dans le corps vivant. Par l'étude de certains facteurs biochimiques ainsi que les changements pathologiques du tissu hépatique, les reins, le cerveau, les testicules, et les indicateurs vitaux du stress oxydatif. Selon les résultats obtenus, une augmentation des activités de certains paramètres tels que la montée de l'enzyme alcaline phosphatase et l'albumine ont été enregistrées. Un test sanguin a également montré une augmentation des globules blancs et rouges. Les changements pathologiques des tissus ont reflété une certaine sorte de nécrose et des dommages au niveau du foie, les études analysées ont enregistré une augmentation du niveau de SOD, la viabilité cellulaire, nous concluons que les particules d'argent affectent négativement le corps des humains et des animaux

Mots-clés : toxicité chroniques, argent, rats

ملخص

يهدف هذا العمل الى دراسة سمية الجسيمات النانوية الفضية في الجسم الحي ودراسة بعض العوامل البيوكيميائية والصيغة الدموية وكذلك التغيرات المرضية لأنسجة الكبد والكلى المخ الخصيتين وعلى مؤشرات لحيوية لإجهاد التأكسدي حسب النتائج المتحصل عليها تم تسجيل ارتفاع في انشطة بعض الإنزيمات مثل ارتفاع انزيم الفوسفاتاز القوي وزيادة طفيفة او منعدمة لكل من زائل امين الالبين واسبرينات الالبومين كما اظهر فحص الدم ارتفاع في كريات الدم البيضاء والحمراء عكست التغيرات المرضية لأنسجة زوعا ما من النخر والتلف على مستوى الكبد هناك اثر على النسيج الدماعي الذي ادى الى ضعف الذاكرة كما اوضحت النتائج تأثير جزيئات النانوية الفضية على مضادات ألكسدة حيث سجلنا ارتفاع في مستوى سوبر اكسيد ديسميوتاز حيوية الخاليا
نتيجة ان جزيئات النضة تضر سلبا على جسم الزئبان والحيوان
الكلمات المفتاحية : السمية المزمنة، الفضة، نئران

Abstract

This work aims to study the chronic toxicity of silver nanoparticles in the living body.

And the study of some biochemical factors and the dying formula as well as pathological changes of the liver tissues, the kidneys of the brain, the testicles, and the vital indicators of oxidative stress.

Results obtained, a rise in the activities of certain enzymes such as the rise of the alkaline phosphatase the enzyme was slightly or absent in both the albumin transporter and the albumin carrier registered. A blood test also showed a rise in white and red blood cells. The pathological changes of tissues reflected some kind of necrosis and damage at the liver level there are effects on the brain tissue that led to memory weakening the results of correcting the effect of silver nanoparticles on antioxidants the web recorded a spike in the superoxide dismutase level is an indication of the vitality of a cell.

Conclusion according to several factors of the treatment of silver nanoparticles used in this study and the results obtained we conclude that silver particles negatively affect the body of humans and animals

Keywords: chronic toxicity, silver, rats