



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Widad HALIS et Zineb KHOUNI
Le : Samedi 10 octobre 2020

Thème

Toxicité aigüe des nanoparticules d'argent *in vivo*

Jury :

Mme. Amel MEGDOUD	MAA	Université de Biskra	Président
Mme. Mouna GUEROUI	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
M. Tarek BENMEDDOUR	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire: 2019 - 2020

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions **ALLAH** ﷻ tout-puissant qui nous a aidé et nous a donné la force, la patience et la volonté d'accomplir ce mémoire.

Deuxièmement, Nous voudrions présenter nos sincères remerciements à notre encadreur D.GUEROUI Mouna Enseignante de Université Mohamed Khider Biskra pour sa patience, ses conseils judicieux, ses précieux efforts, et surtout sa disponibilité qu'elle nous a témoignée pour nous permettre de mener à bien ce travail.

Nous remercions aussi les membres de jury qui nous feront l'honneur de juger notre travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études

A nos familles et nos amis qui par leurs prières et leurs encouragements, on a pu surmonter tous les obstacles.

Enfin, on remercie tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

J'ai l'honneur de dédié ce travail à :

Celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, le soutien moral, source de joie et de bonheur : Mon très cher père : Abdel-Azziz

Celle qui fournit tous mes besoins, le symbole de l'amour et tendresse, le sens de ma vie : Ma très précieuse et aimable mère

Ce travail est le fruit de vos innombrables sacrifices, je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours, et je souhaite Allah, vous accorder la santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

Mes adorables sœurs : Ilham, Nesrine, Lamia et Narimane.

Mes frères : Sahraoui, Azzedine, Taki-Eddine

Celui que sa gentillesse sans égal, que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce travail, l'homme de ma vie mon mari : Abderahman

Mes très chers amis : Nour et Nassima

Dédicace

Avant toute chose je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la santé, la patience et le courage pour réaliser ce travail

Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude

A mes très chers parents en témoignage de ma reconnaissance pour leur patience, leurs sacrifices et leur soutien tout au long de mes études.

Que Dieu le Tout Puissant vous procure, santé et longue vie

A ma sœur : Meriem,

A mes frères : Hamza et Ishak,

A toutes mes très chères amies pour leur présence à mes côtés.

Et tout le dévouement à l'enseignant Fatima LAMID

Et en fin à tous mes collègues de la promo de Biologie option Biochimie appliquée

Zineb

Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Dédicace	
Sommaire	
Liste des Tableaux	I
Liste des Figures.....	II
Liste des abréviations.....	IV
Introduction.....	1
Première partie : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre 1. ARGENT : PROPIETES, APPLICATION ET NANOPARTICULES	
1.1. Propriétés physicochimiques.....	3
1.1.1. Propriétés physiques	3
1.1.2. Propriétés chimiques.....	3
1.2. Nanoparticules d'argent.....	4
1.3. Application d'argent	5
Chapitre 2. LA TOXICITE D'ARGENT	
2.1. Toxicocinétique.....	7
2.1.1. Absorption.....	7
2.1.1.1. Voie orale.....	7
2.1.1.2. Voie cutané	7
2.1.1.3. Voie respiratoire.....	8
2.1.2. Distribution.....	8
2.1.2.1. Voie orale.....	8
2.1.2.2. Voie cutané	9
2.1.2.3. Voie respiratoire.....	9
2.1.3. Métabolisme	9
2.1.4. Excrétion	9
2.2. Toxicité par voie d'administration.....	10

2.2.1. Voie orale	10
2.2.2. Voie cutané.....	10
2.2.3. Voie respiratoire.....	11

Chapitre 3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Matériel biologique et protocole expérimental	12
3.1.1. Travail réalisé	12
3.1.2. Articles analysés	13
3.1.2.1. Condition d'élevage	16
3.1.2.2. Synthèse des nanoparticules	15
3.1.2.3. Les prélèvements.....	15
a. Prélèvement sanguin	15
b. Prélèvement des organes.....	18
3.1.2.4.Évaluation de la variation du poids corporel et les signes cliniques.....	15
3.1.2.5. Analyses biochimiques	15
3.1.2.6. Examen hématologique	15
3.1.2.7. Détermination de quelques paramètres du stress oxydatif	20
3.1.2.8. Etude histopathologiques.....	20
3.1.2.9. Biodistribution	21
3.1.2.10. Etude statistique	22

Chapitre4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1.Évaluation de la variation du poids corporel et les Signes cliniques	23
4.1.1. Résultats	17
4.1.2. Discussion	23
4.2. Effets des nanoparticules d'argent sur les paramètres biochimiques.....	17
4.2.1. Résultats	17
4.2.1.1. Glycémie.....	23
4.2.1.2. Bilan hépatique	23
4.2.1.3. Bilan rénal.....	18
4.2.1.4. Les triglycérides.....	25
4.2.1.5. IL-6 et de TNF- α	25
4.1.2. Discussion	25
4.3. Examen hématologique	27
4.3.1. Résultats	27

4.3.2. Discussion	29
4.4. Variation des marqueurs biologiques du stress oxydatif	30
4.4.1. Résultats.....	30
4.4.2. Discussion	30
4.5. Histopathologie	31
4.5.1. Histopathologie de foie	31
4.5.1.1. Résultats.....	31
4.5.1.2. Discussion.....	34
4.5.2. Histopathologie des reins	36
4.5.2.1. Résultats.....	36
4.5.2.2. Discussion.....	37
4.5.3. Histopathologie de la peau	37
4.5.3.1. Résultats.....	37
4.5.3.2. Discussion.....	38
4.5.4. Histopathologie de rate	39
4.5.4.1. Résultats.....	39
4.5.5. Histopathologie des vésicules séminales	41
4.5.5.1. Résultat	41
4.5.5.2. Discussion.....	42
4.5.6. Histopathologie de prostate.....	22
4.5.6.1. Résultats.....	22
4.5.6.2. Discussion.....	44
4.6. Biodistribution	45
4.6.1. Résultats.....	45
4.6.2. Discussion.....	48
Conclusion	50
Références.....	51
Annexes	
Résumés	

Liste des Tableaux

Tableau 1. Autres propriétés physico-chimiques de l'argent	4
Tableau 2. Principe du protocole expérimental de différentes études analysées.	14
Tableau 3. Les analyses hématologiques	27
Tableau 4. Variation des paramètres hématologiques des rats dans différents groupes	28
Tableau 5. Les concentrations d'argent dans divers tissus (exprimées en ng par gramme de poids humide) au point de temps de 8 h après une seule injection intraveineuse d'AgNPs à 0,2 (faible), 2 (moyen) ou 5 (élevé) mg/kg, respectivement.	44

Liste des Figures

Figure 1. Application d'AgNPs	3
Figure 2. Schéma du corps humain avec les voies d'exposition aux nanoparticules, les organes affectés et les maladies associées d'après des études épidémiologiques, <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i>	11
Figure 3. Solution des AgNPs (Image personnelle)	13
Figure 4. Niveau tissulaire de GSH (A) et MDA(B) dans différents groupes.....	30
Figure 5. Sections de foie taché de souris groupe témoin en 2,7 et 14 jours d'étude (X10).....	31
Figure 6. Sections de foie tachés de souris traitement (nano-argent) en 2, 7 et 14 jours d'étude (X40).....	31
Figure7. Œdème et dégénérescence, changement graisse dans les hépatocytes du lapin exposés à 10 nm d'AgNPs sur 14 jour d'administration post dermique (X40).	32
Figure 8. Photographies histopathologiques du foie des lapins, exposés à 20 nm d'AgNPs par administration post dermique de jour-14 (X100).....	33
Figure 9. Analyse histopathologiques du foie chez les rats (n=4) dans les groupes de traitement blanc, Ag ⁺ , AgNPs et groupe mixte (Ag ⁺ +AgNPs).....	34
Figure 10. Analyses histopathologiques des reins chez les rats (n=4) dans les groupes de traitement blanc , Ag ⁺ , AgNPs et groupe mixte (Ag ⁺ +AgNPs).....	37
Figure 11. Dommages cutanés chez les lapins exposés à 10 nm d'AgNPs par administration post-cutané de 14 jours (X100).	38
Figure 12. Photographies histopathologiques de derme exposé à 20 nm d'AgNPs par administration post dermique de 14 jours (X40).....	38
Figure 13. Photographies histopathologiques de la rate exposée à 10 nm d'AgNPs par administration post-cutané de 14 jours. Cogestion de pulpe rouge splénique, hyperréactivité de pulpe rouge splénique, le trabecule splénique et la congestion sinusoidé	40
Figure 14. Photographies histopathologiques de la rate exposée à 20 nm d'AgNPs par administration post-cutané de 14 jours.	40
Figure 15. Histopathologie de la vésicule séminale des rats témoins, des alvéoles a été doublée par l'épithélium columnar simple (1). Des doublures d'épithélium avec beaucoup de plis (2) H&E 400X	41
Figure 16. Histopathologie de la vésicule séminale de rat I/M (0.4 mg/kg) d'AgNPs. Les alvéoles ont été agrandies (1), et la desquamation des plis (2) H&E.400X	41
Figure 17. Histopathologie de la vésicule séminale de rat I/M d'AgNPs (0.6mg/kg) hyperplasie (1). Agrandissement dans les alvéoles (2), raccourcissement dans les plis alvéoles (3). H&E.400X.....	42
Figure 18. La prostate du rat contrôle avec quelques alvéoles, doublées par l'épithélium cuboïde simple. Les alvéoles ont été remplies de sécrétion acidophile.....	42
Figure 19. Histopathologie de la prostate de rat injectée I/M (0,4 mg/kg) d'AgNPs. Le chiffre a été révélé élargissement des alvéoles prostatique(1), et aplatis des muqueuses épithéliales alvéoles(2). H&E. 100X	43
Figure 20. Histopathologie de la prostate de rats a été injectée I/M (0,6mg/kg) d'AgNPs, a montré des dommages dans les doublures épithéliales de quelques alvéoles prostatique (1),	

Suintement des sécrétions prostatiques dans le C.T interstitiel (2).Elargissement de certains alvéoles prostatiques (3) H&E. 100X.....	43
Figure 21.Biodistribution de l'argent totale chez divers organes chez les rats aux jours 1(a), 3(b) et 5(c) post administration d'Ag ⁺ , AgNPs et le groupe mixte (Ag ⁺ +AgNPs)	46
Figure 22. Concentrations tissulaires en argent après administration IV d'AgNPs et d'AgAc chez les souris	47

Liste des abréviations

AgNPs : Nanoparticules d'argent

Ch-AgNPs : Chitosane nanoparticules d'argent

MCHC : concentration moyenne d'hémoglobine corpusculaire

EDTA : Éthylène Diamine Tétra-Acétique

ALAT : Alanine amino-transférase

ASAT : Aspartate amino-transférase

PAL : phosphatase alcaline

BUN : Azote d'urée sanguine

TG : Triglycérides

TP : Protéines totales

ALB : Albumine

TB : Bilirubine Totale

CRE : Créatine

ROS : Reactive Oxygen Species

Hb : Hémoglobine

GR : Globule rouge

TCMH : Teneur Corpusculaires Moyenne

CMH : hémoglobine corpusculaire moyenne

IDR : Largeur de distribution des cellules rouges

PLT : plaquettes

VPM : Volume moyen des plaquettes

IDP : Largeur de distribution des plaquettes

PCT : Volume occupé par les plaquettes

GB : Globule blanc

HCT : Hématocrite

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

CT : Citrate

PVP : Polyvinylpyrrolidone

Introduction

Introduction

L'argent, symbolisé comme Ag, est un métal brillant, doux, ductile et malléable qui a la conductivité électrique la plus élevée de tous les métaux, et est largement utilisé dans les appareils électriques. Ce métal précieux est chimiquement inactif. Il est principalement utilisé dans la fabrication de pièces de monnaie, d'ornements et de bijoux (Ferdous et Nemmar, 2020).

Avec les progrès récents en nanotechnologie, les nanoparticules d'argent (AgNPs) sont utilisées dans un nombre croissant de domaines (Sung *et al.*, 2011). Ces nanomatériaux sont caractérisés comme des nano-objets ou des matériaux nano-structurés, grâce à leur taille qui se situe entre 1 et 100 nanomètres (nm) (Tabatabaei *et al.*, 2015). Elles se caractérisent par des propriétés chimiques, physiques et électriques et de leurs intéressantes propriétés plasmoniques (Ismail et Jabra, 2017). Les AgNPs sont l'un des nanomatériaux les plus fréquemment utilisés dans les produits de consommation, son usage comme des agents antimicrobiens est largement utilisé, ils peuvent être incorporés dans les plastiques, les textiles, les jouets, les vêtements et les contenants alimentaires... (Ema *et al.*, 2017). En plus, ils ont beaucoup d'applications dans de nombreux aspects de la médecine, la biotechnologie et l'industrie (Tabatabaei *et al.*, 2015).

L'augmentation de l'utilisation d'AgNPs se traduit par un potentiel accru de libération dans l'environnement (Chambers *et al.*, 2014). Les nanoparticules peuvent pénétrer intentionnellement ou non dans l'organisme par inhalation, ingestion d'eau et de nourriture, absorption par la peau, injection intraveineuse ou implantation (Moradi-Sardareh *et al.*, 2018). Argent absorbé dans le corps comme Ag⁺ se lie facilement aux protéines intracellulaires, notamment les albumines sériques et les macroglobulines (Lansdown, 2010).

Les AgNPs peuvent également être transportées vers différents organes par la circulation sanguine (Wang *et al.*, 2015 ; Xu *et al.*, 2020). Par la suite, leur accumulation se fait dans différents organes tels que le foie, la rate, le cerveau, le cœur, les poumons, les reins et les testicules (Moradi-Sardareh *et al.*, 2018). Cette précipitation dans les tissus cibles représente toujours une petite fraction de la dose totale absorbée, alors que la majorité des particules administrées aboutissent dans le foie et la rate et restent finalement dans le corps (Wang *et al.*, 2015).

Par conséquent, la distribution non spécifique de ces nanoparticules peut produire des cytotoxicités telles que la toxicité dermique, oculaire, respiratoire, hépatobiliaire et reproductive (Xu *et al.*, 2020). En plus, une toxicité aigue d'AgNPs peut produire une neurotoxicité en générant un état du stress oxydatif, par surproduction des radicaux libres, ce qui modifie l'expression des gènes, et provoque l'apoptose (Rahman *et al.*, 2009).

Les AgNPs pourront être excrétées à travers les cheveux, l'urine, et majoritairement la matière fécale (Prabhu et Poulouse, 2012).

Les études de toxicité aiguë sont conçues pour déterminer la dose qui produira la mortalité ou des effets toxicologiques graves, après une ou plusieurs administrations (Ochoa, 2013)

A fin de réaliser notre travail, qui s'intéresse sur la toxicité aigue d'AgNPs *in vivo* nous avons choisi dix sept articles scientifiques qui servent à notre étude, celui-ci est subdivisé en deux parties essentielles

Une partie bibliographique : se compose de deux chapitres :

Chapitre 1 : dans lequel nous apportons le concept de l'argent, ces propriétés physicochimiques, les nanoparticules d'argent ainsi que les domaines d'application.

Chapitre 2 : qui vise à étudier la toxicocinétique des nanoparticules d'argent par trois voies : orale, cutanée et respiratoire en montrant leur toxicité.

Une partie expérimentale : englobe deux chapitres :

Chapitre 3 : est principalement consacré aux matériel et méthodes utilisés par les différents articles étudiés, en détaillant leurs principes.

Chapitre 4 : montre et discute les résultats obtenus par ces études, en se basant sur l'évaluation de l'effet d'AgNPs sur la variation de(s) :

- ✓ Poids corporel et signes cliniques,
- ✓ Paramètres biochimiques et hématologiques,
- ✓ Marqueurs biologiques du stress oxydatif,
- ✓ L'histopathologies des différents organes,
- ✓ Et enfin la biodistribution du métal.

Synthèse

Bibliographique

Chapitre 1

Argent : Propriétés, application et nanoparticules

1.1. Propriétés physicochimiques

L'argent est l'un des éléments de base qui composent notre planète. Il s'agit d'un élément rare dans la nature (Wijnhoven *et al.*, 2009).

L'argent est largement distribué dans la nature. Mais son abondance dans la croûte terrestre est très faible (0,05 ppm) que d'autres métaux. Il se produit à la fois dans sa forme pure et dans les minerais (Sivaguru et Bi, 2018).

1.1.1. Propriétés physiques

Comme l'or, l'argent est doux, malléable, et ductile; en fait, c'est le plus ductile des métaux (Butterman et Hilliard, 2004).

L'argent légèrement plus dur que l'or (Wijnhoven *et al.*, 2009).

Apparence de lustre métallique blanc (Singh *et al.*, 2017).

L'argent élémentaire a la conductivité électrique la plus élevée ($1.59 \mu\Omega \text{ cm}$ à $20 \text{ }^\circ\text{C}$), la conductivité thermique ($429 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$), et la réflectivité optique que tout autre métal, mais il a la plus faible résistance au contact électrique, et sa capacité de chaleur spécifique est de $0,23 \text{ J kg}^{-1} \text{ K}^{-1}$ à 25 (Sivaguru et Bi, 2018).

1.1.2. Propriétés chimiques

L'argent est stable dans l'air pur et l'eau, et en présence d'ozone ou de sulfure d'hydrogène ou de soufre dans l'air ou l'eau peut entraîner des ternissements d'argent (Singh *et al.*, 2017; Sivaguru et Bi, 2018)

L'argent naturel est composé des deux isotopes stables ^{107}Ag (51,8 % d'abondance naturelle) et ^{109}Ag (48,2 %) (Butterman et Hilliard., 2004 ; Hartemann *et al.*, 2015).

L'argent métallique lui-même est insoluble dans l'eau, mais les sels métalliques tels que le nitrate d'argent (AgNO_3) et le chlorure d'argent (AgCl) sont solubles dans l'eau (Wijnhoven *et al.*, 2009)

En outre, vingt-huit radioisotopes ont été caractérisés par des demi-vies variables et courtes (Hartemann *et al.*, 2015)

L'argent a quatre états d'oxydation communs (0, +1, +2 et +3) (Singh *et al.*, 2017 ; Sivaguru et Bi, 2019).

Tableau 1. Autres propriétés physico-chimiques de l'argent (Sivaguru et Bi, 2018).

numéro atomique	47
poids atomique	107.880
configuration électronique de l'état du sol	[Kr] 4d 10 5s1
fusion	961,9
point d'ébullition	2212 °C
La chaleur de la fusion	11,28 kJ mol ⁻¹
dureté	2.7 sur l'échelle de Mohs

1.2. Nanoparticules d'argent

Les nanoparticules sont des particules fines dont la taille est de nanomètre, dont la dimension est inférieure à 100 nm (1nm-100nm) .Les AgNPs contiennent de nombreux atomes ou ions argentés qui se regroupent pour former une particule de 1 à 100 nm (Singh *et al.*, 2017).

Les nanoparticules (colloïdales) de l'argent sont de fines particules d'argent métallique connu depuis environ 120 ans.

La synthèse se repose sur la réduction de l'argent soluble avec des agents réducteurs tels que le citrate, le glucose, l'alcool éthylique, et le borohydrure de sodium ainsi qu'un agent stabilisateur approprié à fin d'empêcher la croissance et l'agrégation des nanoparticules d'argent formées. (Sivaguru et Bi, 2019).

Les nanoparticules d'argent ont suscité un intérêt croissant en raison de leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques uniques, y compris une conductivité électrique et thermique élevée, la stabilité chimique de diffusion romaine améliorée par surface, l'activité catalytique et le comportement optique non linéaire (Tran *et al.*, 2013 ; More *et al.*, 2018).

Les paramètres principaux des nanoparticules sont leur forme (y compris les rapports d'aspect appropriés), la taille et la sous-structure morphologique du substrat (Pandiarajan *et al.*, 2016).

Les applications potentielles des AgNPs dans la thérapie et l'administration de médicaments font qu'il est nécessaire d'étudier la toxicité possible qui leur est associée et leur bioaccumulation (Elkhawass *et al.*, 2015).

1.3. Application d'argent

L'argent, comme l'or, a été utilisé de trois façons principales : un produit fabriqué, un bien d'investissement, et, jusqu'aux années 1970, un métal monétaire (Butterman et Hialliard, 2004).

Mais, il existe aussi autres domaines d'application :

L'argent est l'un des nanomatériaux les plus utilisés et probablement l'un des plus anciens. Avec l'utilisation en pleine expansion des nanomatériaux dans les applications industrielles et les produits de consommation (Angel *et al.*, 2013).

L'argent colloïdal est destiné à être utilisé comme agent antimicrobien dans les cosmétiques, y compris les dentifrices et les produits de soins de la peau avec une limite de concentration maximale de 1% (Bernauer *et al.*, 2018).

Il est aussi un agent antibactérien dans le traitement des brûlures, des ulcères, et dans la prophylaxie de la conjonctivite néonatale, les dispositifs médicaux, tels que les cathéters, les dispositifs transdermiques d'administration de médicaments (Hadrup *et al.*, 2018).

Depuis les civilisations anciennes, l'homme a utilisé l'argent dans la médecine, ustensiles de cuisine, ornements, pièces de monnaie, vêtements et comme désinfectant pour l'eau et pour le traitement des blessures humaines (Shahare *et al.*, 2013).

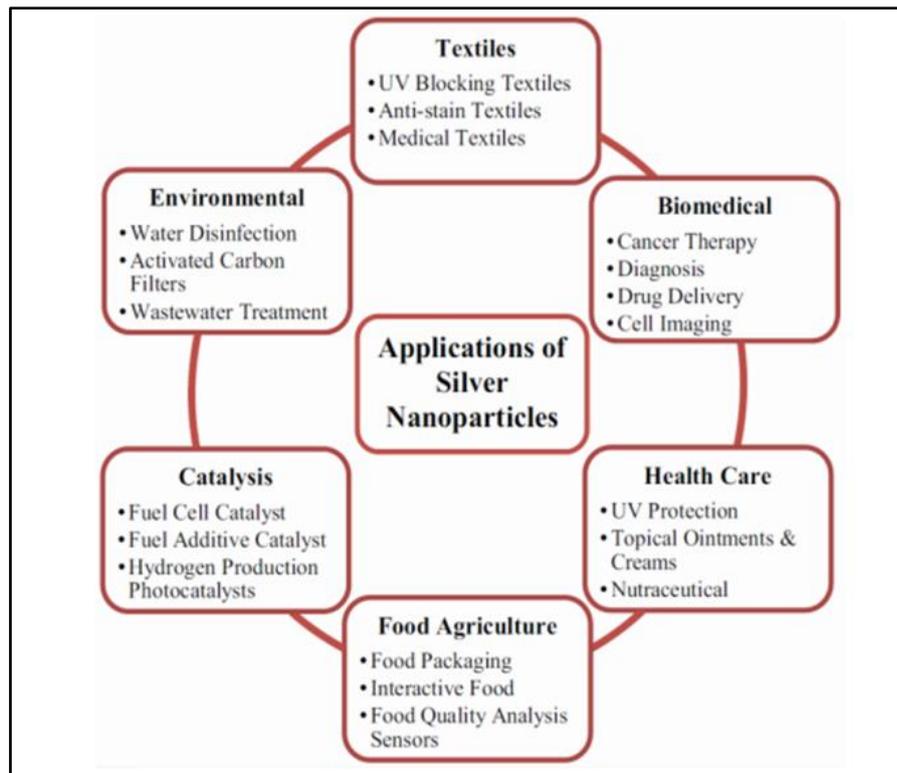


Figure 1. Application d'AgNPs (Calderón-Jiménez *et al.*, 2017)

Chapitre 2

La toxicité d'argent

2.1. Toxicocinétique

2.1.1. Absorption

2.1.1.1. Voie orale

Les principaux itinéraires pour l'absorption buccale ou gastro-intestinale de l'argent sont :

- ✚ Les aliments contaminés ;
- ✚ L'eau potable traitée par le nitrate d'argent ou par l'argent colloïdal ainsi que ;
- ✚ Les médecines alternatives ou complémentaires.
- ✚ Cette absorption est déterminée par l'ionisation de la source d'argent et la disponibilité d'Ag⁺ « libre » pour interagir avec les récepteurs protéiques sur les membranes cellulaires (Lansdown, 2010).

2.1.1.2. Voie cutané

L'argent est en contact dermique par plusieurs applications comme les crèmes de brûlures, l'utilisation d'amalgames et d'aiguilles d'acupuncture, les cathéters, les perforations accidentelles, et le contact avec des bijoux et de l'argenterie (Singh *et al.*, 2017).

Selon l'étude de Korani *et al.* (2017), des cobayes mâles pesant 350 à 400 g ont été exposés à deux concentrations différentes de nano-argent (1000 et 10,000 µg/mL) dans une étude de la toxicité aiguë, les sites d'exposition ont été notés :

L'autopsie n'a montré aucun changement significatif dans le poids d'organes avec aucune détection des changements macroscopiques majeurs,

Alors que des anomalies histopathologiques dose-dépendantes ont été observées dans la peau, le foie, et la rate.

L'empoisonnement par l'argent après l'utilisation d'Acticoat®, pour le traitement des brûlures graves aux jambes chez un patient, a été signalé après le développement d'une décoloration grisâtre dans la zone traitée, s'est plaint d'être fatigué et n'a eu aucun appétit, le 6ème jour.

Mais après le 6ème jour, les niveaux d'argent dans l'urine et le sang se sont avérés pour être élevés (28 and 107 mg/kg, respectivement) (Singh *et al.*, 2017).

2.1.1.3. Voie respiratoire

Le système respiratoire représente un important port d'entrée pour le nano-argent. Des pulvérisations contenant du nano-argent sont déjà disponibles sur le marché, ce qui indique qu'il s'agit d'une voie d'exposition pertinente (Wijnhoven *et al.*, 2009).

La toxicité aiguë d'inhalation des nanoparticules d'argent a été étudiée par Sung *et al.* (2011) chez les rats Sprague-Dawley, qui ont été répartis en fonction de la dose (faible à forte dose). Ils ont ensuite été exposés à des nanoparticules d'argent (diamètre moyen 18-20 nm) pendant 4 heures dans une chambre d'inhalation du corps entier ;

Aucun changement significatif du poids corporel, des signes cliniques ainsi que de la fonction pulmonaire n'a été observé,

Une autre étude d'inhalation de 14 jours (exposition 5 jours par semaine) a été réalisée chez des souris, qui ont été administrées par nébulisation d'une dispersion Ag-NP (5-15 nm) dans une chambre d'inhalation avec une concentration moyenne de 3.3 mg/m³ (Stebounova *et al.*, 2011). Directement après l'exposition :

- Ag ne pouvait être détectée que dans le tissu pulmonaire,
- Les niveaux dans le cœur, le foie, et le cerveau étaient en dessous de la limite de détection,
- La quantité dans le poumon était approximativement 4% de la dose nominale d'Ag administrée (803 µg/g poumon),

Diminution de cette quantité à la 3ème semaine après l'exposition, au moment où deux des cinq souris n'avaient pas d'Ag détectable dans le poumon (Hartemann *et al.*, 2015).

2.1.2. Distribution

2.1.2.1. Voie orale

La biodistribution par voie orale d'AgNPs a été principalement trouvée au niveau des organes suivants : les reins, le foie, la rate, les poumons, le cerveau, et le tractus gastro-intestinal (GI) ; certaines nanoparticules ont traversé ce dernier afin d'être éliminer rapidement dans les excréments (Hartemann *et al.*, 2015).

2.1.2.2. Voie cutanée

La distribution et l'accumulation de nanoparticules d'argent ont été étudiées chez les rats par injection sous-cutanée. Les résultats ont indiqué que les particules ont été distribuées dans le foie, la rate, les reins, le cerveau et les poumons (Kumar *et al.*, 2017).

2.1.2.3. Voie respiratoire

Il existe plusieurs expériences *in vivo* chez les souris et les rats ont suggéré que l'administration d'AgNPs par inhalation a causé la détection du métal au niveau de plusieurs organes, y compris les poumons et le foie, et de traverser la barrière hémato-encéphalique (Singh *et al.*, 2017).

Après l'inhalation, les nanoparticules se déposent dans l'ensemble des voies respiratoires, à partir du nez et du pharynx jusqu'aux poumons.

Une étude a révélé une quantité de 1.7 mg d'Ag au niveau pulmonaire dont 4% était encore restée après sept jours.

Les particules d'AgNPs inhalées peuvent être translocalisées vers d'autres organes tels que le foie, l'ampoule olfactive et le cerveau (Singh *et al.*, 2017).

2.1.3. Métabolisme

La localisation d'argent dans les tissus résulte d'une précipitation des sels d'argent insolubles. Ces derniers peuvent être transformés en composés solubles comme les albuminates de sulfure d'argent, se liant ou se complexant avec les groupements amines et carboxyles de l'acide ribonucléique (ARN), l'acide désoxyribonucléique (ADN) et les protéines ; où ils peuvent être réduits en argent métallique Ag⁰ par l'acide ascorbique ou les catécholamines (Gueroui, 2015).

Une coloration bleu grisâtre de la peau appelée argyrie, est causée par la photoréduction d'AgCl en Ag⁰ durant l'exposition à la lumière ultraviolette. Ce dernier est ensuite oxydé et lié formant des granules noirs d'Ag₂S qui se localisent dans les membranes basales citant l'épiderme, les glomérules et les intestins ainsi que dans les macrophages avec un diamètre de 12 nm (Gueroui, 2015).

2.1.4. Excrétion

Au fil des ans, des études ont prouvé qu'il est difficile d'éliminer complètement l'argent s'il est déposé dans le corps.

- L'excrétion d'après de nombreuses études animales et humaines se fait par les cheveux, l'urine et les fèces principalement,
- L'excrétion biliaire est la principale voie d'élimination.

Une fois administrées oralement, les particules d'argent passent à travers le foie, puis dans la bile, pour être évacuer à partir de la matière fécale.

Dans le cas de l'inhalation, les particules pénètrent dans les poumons et par la suite la circulation sanguine et les autres organes et sont excrétées par les excréments.

De même, les particules d'argent peuvent entrer dans le corps par la peau aussi, d'où elles pénètrent dans la circulation sanguine, prises par divers organes, et finalement excrétées par les deux voies biliaire, et urinaire (Prabhu et Poulouse, 2012).

2.2. Toxicité par voie d'administration

2.2.1. Voie orale

Le LD50 (lethal dose 50%), afin d'évaluer la toxicité aiguë d'une solution colloïdale des AgNPs chez des souris de deux sexe, a été estimé de plus de 5 000 mg/kg (Maneewattanapinyo *et al.*, 2011).

L'administration orale des AgNPs (de 3 à 20 nm) aux souris mâles Swiss-albino pendant 21 jours à différentes doses à montré une altération de la perméabilité de la membrane et la destruction des microvilli.

Par la suite, les cellules épithéliales du tractus gastro-intestinal sont détruites entraînant la diminution du poids corporel des animaux (Shashare *et al.*, 2013).

2.2.2. Voie cutanée

D'après Maneewattanapinyo *et al.* (2011).le LD50 par voie cutanée chez les cobayes est plus de 100 000 ppm d'AgNPs.

Plusieurs recherches ont démontré que les AgNPs peuvent causer de la cytotoxicité des kératinocytes, cultivés à des extraits de plusieurs types d'argent, les résultats ont exhibé que les extraits à base de nanocristallin d'argent sont les plus cytotoxiques,

La prolifération des kératinocytes a été significativement inhibée, et la morphologie cellulaire a été affectée,

Alors que dans une autre étude, l'application de 1% de crème à base d'AgNPs (96,1% est de 50 nm) chez la souris, a conduit à l'apoptose des cellules inflammatoires, mais pas des kératinocytes (Singh *et al.*, 2017).

2.2.3. Voie respiratoire

LC50 (Lethal Concentration 50) d'AgNPs est suggérée plus de 3.1×10^6 particules/cm³ (750 mg/m³ chez les rats Sprague-Dawley (Sung *et al.*, 2011).

Des études *in vivo* ont rapporté le gonflement des astrocytes, la destruction de la barrière hémato-encéphalique, stress oxydatif induit par les radicaux libres, l'altération de l'expression des gènes et la dégénérescence neuronale lors de l'exposition aux nanoparticules d'argent (Kumar *et al.*, 2017).

Un état de stress oxydatif a été reporté après l'inhalation et l'injection intrapéritonéale à court terme, *in vivo* des nanoparticules d'argent à différentes tailles et doses, un état d'inflammation a été aussi observé (Singh *et al.*, 2017).

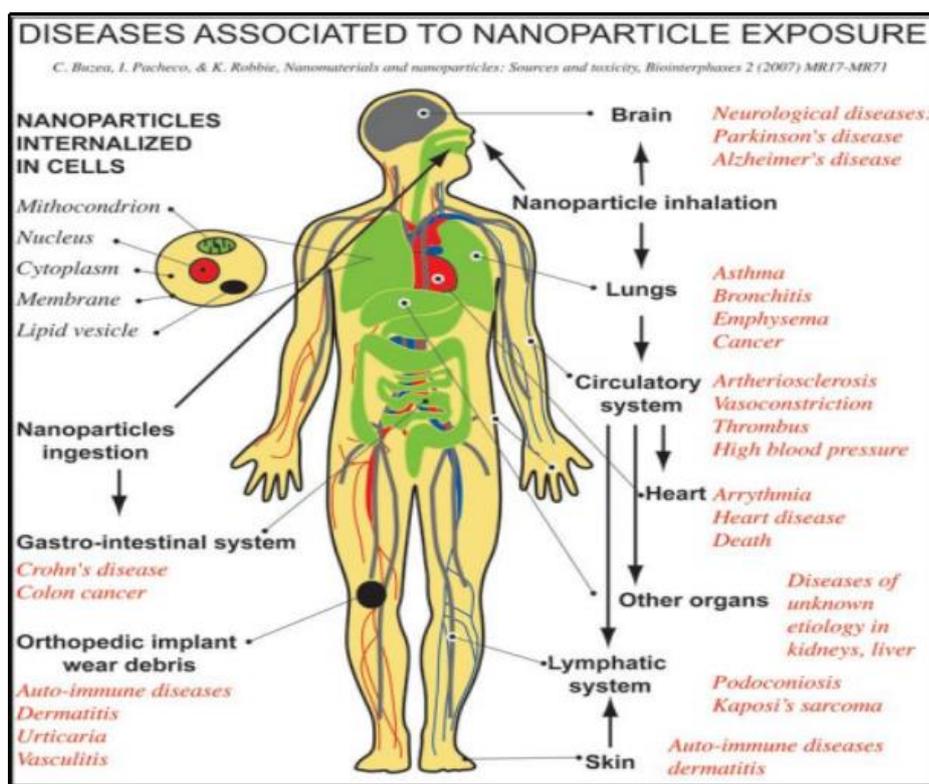


Figure 2. Schéma du corps humain avec les voies d'exposition aux nanoparticules, les organes affectés et les maladies associées d'après des études épidémiologiques, *in vivo* et *in vitro*. Réimprimé à partir de Biointerphases, vol. 2 (4), 2007; Buzea [6, 35], C., Pacheco, I.I., Robbie, K. Nanomatériaux et nanoparticules: Sources et toxicité, 17-71. (Singh *et al.*, 2017).

Chapitre 3

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, ont été 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).

Au cours du même période, nous avons pu préparer une solution des nanoparticules d'argent 13.5 ± 4.7 nm (figure 1), 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 de 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 d' 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.

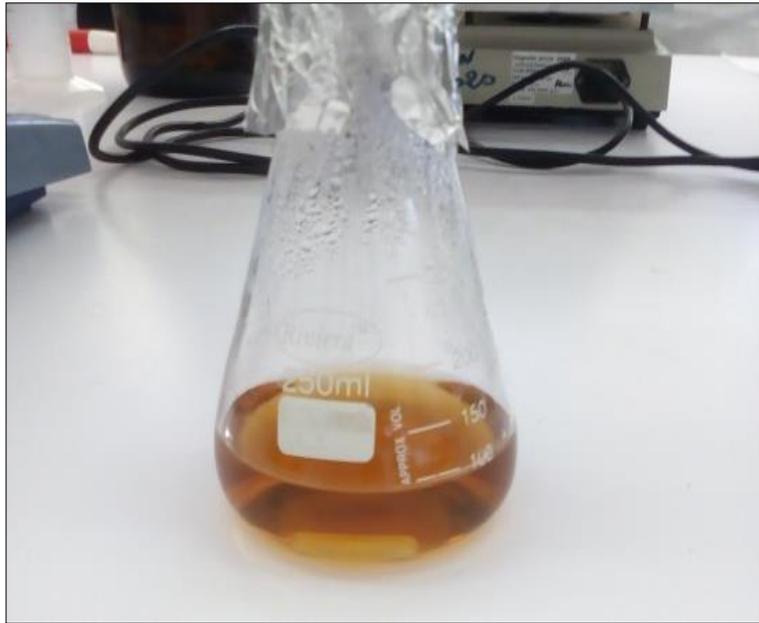


Figure.3. Solution des AgNPs (Image personnelle)

3.1.2. Articles analysés

Le principe de l'ensemble des études analysées dans cette partie, dont l'objectif commun est d'évaluer la toxicité aigue des AgNPs *in vivo*, est regroupé dans le tableau 2.

Tableau 2. Principe du protocole expérimental de différentes études analysées.

Voie d'administration	Auteur (s)	Animaux expérience	Agés et sexe	La durée	Traitement (dose et taille des AgNPs)
Voie orale	Adeyemi et Adewumi, (2014)	40 rats Wistar	/	14jrs	Doses: 100, 1000 et 5000 mg/kg AgNPs: 8_20 nm
	Vasanth et Kurian, (2017)	Rats Wistar	/	15jrs	Dose: 100 mg/kg (méthode chimique et végétale) AgNPs: 300–800 nm
	Elalfy <i>et al.</i> (2019)	18 rats albinos	Femelle	15jrs	1/50 et 1/100 du LD50
	Narciso <i>et al.</i> (2020)	46 souris CD1débretés	Souris femelle et males	3jrs	Doses : 50, 150 et 300 mg/kg AgNPs : 20nm
Voie cutané	kazemKoohi <i>et al.</i> (2011)	72 lapins albinos	Mâle et femelle	14jrs	Dose: 0.5 mL AgNPs :10 , 20 et 30 nm)
	Heydarnejad <i>et al.</i> (2014)	50 Souris BALB/c	8 semaines de souris femelles	14jrs	Dose : 50 ul (10ppm) AgNPs<30nm
	Chen <i>et al.</i> (2016)	Souris Balb/c	/	8h	Dose: 0.2 , 2 , 5 mg /kg AgNPs 38.2 ± 2.1 nm
	Mohammed <i>et al.</i> (2016)	18 rats albinos	Mâle adulte Quatre mois	15jrs	Doses: 0.4mg/kg , 0.6mg/kg. PC) AgNPs : 20 et 200 nm
	Karimi <i>et al.</i> (2020)	24 rats Sprague-Dawley	Mâle	14 jrs	Dose : / AgNPs : /

Voie intrapéritonéale	Sarhan et Hussein, (2014)	20 rats albinos	/	3 jrs	Dose: 2,000 mg/kg AgNPs: 20 nm à 65 nm
	Cho <i>et al.</i> (2018)	souris BALB / c	Femelles de six semaines	6 h	Dose: 0,2 mg AgNPs AgNPs (10 ; 60 et 100 nm)
	Parang et Moghadamnia, (2018)	28 rats Wistar	mâles adultes 2,5-3 mois	14 jrs	Doses: 25 et 100 mg/kg AgNPs: /
	Hassanen <i>et al.</i> (2019)	28 rats albinos Wistar	Mâles	14jrs	Doses: 50 ; 25 ; 10 mg/kg Ch-AgNPs: 20 nm
Voie intraveineuse	Xue <i>et al.</i> (2012)	48 Souris IC	/	15 jrs	Doses: 7.5, 30 et 120 mg / ml AgNPs: 15 nm (12–20 nm)
	Recordati <i>et al.</i> (2016)	Souris CD-1(ICR)	Mâles 4-5 semaines	1jr	Dose: 10 mg/kg G01: AgNPs-PVP (10, 40, 100 nm), G02: AgNPs-CT (10, 40, 100 nm)
	Wen <i>et al.</i> (2017)	Rats Sprague-Dawley	femelles de 16 semaines	24 h	Dose: 5 mg /kg (AgNPs), 0.0003 mg/kg (Ag ⁺) AgNPs : /
	Lai <i>et al.</i> (2020)	rats SD	mâles (6 semaines)	5jrs	Dose: 2mg/kg ; Ag ⁺ (AgNO ₃) , AgNPs, (Ag ⁺ + AgNPs) AgNPs 20.1 ± 2.8 nm

3.1.2.1. Condition d'élevage

Les animaux de laboratoire d'après la plupart des auteurs, ont été acclimatés à l'environnement pendant une ou deux semaines avant le début de l'expérience. Avec l'accès à l'eau et à la nourriture sans restriction, ils sont gardés dans des cages en plastique à 18–24°C, 12 heures de luminosité et 12 heures dans l'obscurité, une humidité relative de 51 - 55 % (Sarhan et Hussein, 2014 ; Cho *et al.*, 2018) ou 40-70% (Xue *et al.*, 2012 ; Wen *et al.*, 2017) et certains avec 12–14 changements d'air par heure (Narciso *et al.*, 2020).

À l'exception, dans l'étude de Hassanen *et al.*, (2019), les animaux ont reçu un éclairage quotidien de 16 h de lumière.

Pour l'alimentation des lapins, les régimes conventionnels de laboratoire comprenant 2390 kcal/kg /j d'énergie métabolique, 10320 kcal/kg/j d'énergie digestible, protéines brutes (19.5%), fibres brutes (10%), phosphore (0.69%) et calcium (0.76%) avec un approvisionnement illimité en eau potable fournie (kazemKoochi *et al.*, 2011).

3.1.2.2. Synthèse des nanoparticules

D'une part, dans la plupart des études, les AgNPs ont été achetées soit sous forme d'une poudre (kazemKoochi *et al.*, 2011 ; Xue *et al.*, 2012 ; Sarhan et Hussein, 2014; Wen *et al.*, 2017; Narciso *et al.*, 2020) soit sous forme de solutions préparées (Heydarnejad *et al.*, 2014 ; Mohammed *et al.*, 2016 ; Recordati *et al.*, 2016 ; Lai *et al.*, 2020).

D'autre part, autres études choisies la synthèse de AgNPs par :

La méthode électrochimique, dans une cellule à deux électrodes à l'aide du système d'électro-analyseur Sama 500 et d'une coulométrie du courant contrôlé (CCC) à température ambiante (Parang et Moghadamnia, 2018),

La méthode chimique soit :

Selon Sarhan et Hussein (2014) par l'ajout de 100 mM d'AgNO₃ à une solution d'acide tannique de 1% (w/v) (pH 8), de polyvinylpyrrolidone (PVP) avec agitation. La solution est devenue jaune pâle (AgNPs),

Selon Vasanth et Kurian (2017) par l'ajout de 100 ml d'AgNO₃ (5 mM) à l'hydrate d'hydrazine (400 µl) et donc les particules de couleur grise obtenues ont été séchées et stockées pour une caractérisation ultérieure. En cas de synthèse verte, le nitrate d'argent (5 mM) a été ajouté à l'extrait de racine aqueux de DG (*D. gangeticum*) (1 mg/ml) en 4:1, et

chauffé pendant 30 min à 80°C avec agitation continue. Les particules de couleur noire ont été séchées et stockées pour une utilisation ultérieure,

Selon Hassanen *et al.* (2019), la réduction chitosane du nitrate d'argent en dissolvant le chitosane dans la solution d'acide acétique (1% v/v), à température ambiante. Par la suite, la solution d'AgNO₃ (0.01 M) a été ajoutée immédiatement dans la suspension sous agitation pendant 2 h. Le borohydrure de sodium (20 ml, 0.04 M) a été ajouté à la suspension précédente et une couleur change immédiatement du jaune pâle au brun. La suspension Ch-AgNPs qui en a résulté a été centrifugée à 20000g pendant 30 min. Le granulé a été resuspendue dans l'eau déionisée. La suspension Ch-AgNPs a été lyophilisée avant d'être utilisée ou analysée davantage.

3.1.2.3. Le prélèvement

a. Prélèvement sanguin

Le prélèvement du sang à partir des animaux de laboratoire devra être précédé par une anesthésie, le réactif utilisé et la procédure suivie diffère d'un auteur à l'autre :

Anesthésie avec l'isoflurane et des échantillons de sang ont été prélevés dans l'aorte abdominal (Wen *et al.*, 2017; Cho *et al.*, 2018),

Anesthésie par l'éther ou le chloroforme soit par dislocation cervical (Hassanen *et al.*, 2019),

Soit par perforation de cœur (Lai *et al.*, 2020),

Des échantillons de sang ont été prélevés dans le ventricule gauche du cœur où environ 1ml de sang a été tiré en enlevant le globe oculaire droit (Xue *et al.*, 2012 ; Adeyemi et Adewumi, 2014; Sarhan et Hussein, 2014; Parang et Moghadamnia, 2018), en enlevant le globe oculaire droit d'une souris avant l'autopsie (Chen *et al.*, 2016),

Le sérum a été séparé par centrifugation du sang entier pendant 15 min à 3000 tr/min (Lai *et al.*, 2020),

Pendant 5 min à 4500 tr/min puis conservés à -20°C (Hassanen *et al.*, 2019),

Ou pendant 15 min à 1000g deux fois dans une centrifugeuse refroidie et stocké à -80°C jusqu'à l'utilisation (Narciso *et al.*, 2020),

Les échantillons du sang sont maintenus pendant 20 minutes dans des conditions de laboratoire, et centrifugés pendant 15 minutes à 5000 rpm (Parang et Moghadamnia, 2018)

Ou à 4000 rpm pendant 5 minutes (Adeyemi et Adewumi, 2014),

Le sang entier est directement mis dans des tubes de collecte de sang contenant de l'EDTA (Éthylènediamine Tétracétique) pour l'analyse hématologique (Chen *et al.*, 2016 ; Hassanen *et al.*, 2019),

900 µl de sang a été autorisé à coaguler pour la séparation de sérum et les analyses biochimiques (Chen *et al.*, 2016).

b. Prélèvement des organes

Après l'anesthésie, tous les animaux sont soumis à une autopsie complète. Le cerveau, le thymus, les poumons, le cœur, la rate, le foie, les reins, ont été excisés (Xue *et al.*, 2012 ; Wen *et al.*, 2017 ; Cho *et al.*, 2018 ; Karimi *et al.*, 2020), en plus la peau (KazemKoochi *et al.*, 2011 ; Karimi *et al.*, 2020), la prostate et les vésicules séminales (Mohammed *et al.*, 2016), certaines études ont prélevé juste le foie (Heydarnejad *et al.*, 2014 ; Parang et Moghadamnia, 2018) ou le foie et les reins (Adeyemi et Adewumi, 2014 ; Lai *et al.*, 2020).

3.1.2.4.Évaluation de la variation du poids corporel et les signes cliniques

Les températures rectales ont été mesurées à l'aide d'un thermomètre rectal, juste avant l'injection à la 1^{ère} heure, la 3^{ème} et la 6^{ème} heure (Cho *et al.*, 2018).

Les signes cliniques des animaux avant l'injection et (0–3 h) après le dosage ont été soigneusement observés, y compris l'apparence physique (y compris le changement du poids, les cheveux, les activités.....), le traumatisme possible, les excréments et la mort (Xue *et al.*, 2012 ; Wen *et al.*, 2017).

3.1.2.5. Analyses biochimiques

Il s'agit de la quantification de certains paramètres biochimiques: l'alanine amino-transférase (ALT), l'Aspartate amino-transférase (AST), la phosphatase alcaline (PAL), le glucose, l'azote d'urée sanguine (BUN), les triglycérides (TG), les protéines totales (TP), l'albumine (ALB), le bilirubine totale (TB) et la créatinine (CRE) (Xue *et al.*, 2012 ; Wen *et al.*, 2017 ; Cho *et al.*, 2018).

Les analyses biochimiques ont été évaluées soit avec un analyseur biochimique automatique (Lai *et al.*, 2020 ; Narciso *et al.*, 2020), soit effectuées selon les instructions des kits commerciaux (ex : SPAN Diagnostics Ltd, Gujarat, Inde, Randox) (Hassanen *et al.*, 2019).

Le dosage de glucose, TB, ALB, TG, CRE, BUN et TP, est déterminé par une méthode colorimétrique, le principe de ce dosage base sur l'intensité de la coloration obtenue qui est proportionnelle à la concentration de ces paramètres dans l'échantillon,

La lecture se fait en spectrophotométrie à une longueur d'onde de 500 nm, à 555 nm, 630 nm, 505 nm, 492 nm, 520 nm, à 540 respectivement,

Les activités enzymatiques (ASAT , ALAT, PAL, LDH) sont déterminés par méthode cinétique en suivant par exemple le taux de diminution de la concentration de NADH mesuré à 340 nm par minute ou la vitesse d'apparition du p-nitrophéno mesuré à 405 nm en cas de PAL (Gueroui, 2015).

Chen *et al.* (2016) ont utilisé la technique immuno-enzymatique ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) par kit ELISA spécifique (eBioscience, San Diego, CA, USA), Pour réaliser le dosage des deux cytokines IL-6 (Interleukin-6) et TNF- α . (Tumor Necrosis Factor α).

Le concept d'Elisa, se repose sur un antigène liant à son anticorps spécifique, qui permet la détection de très petites quantités d'antigènes tels que des protéines, des peptides, des hormones ou des anticorps dans un échantillon de liquide (Gan et Patel, 2013).

3.1.2.6. Examen hématologique

Les paramètres hématologiques sont principalement déterminés à partir du sang prélevé sur tube EDTA.

Il s'agit de :

Nombre d'érythrocytes et l'hémoglobine (Hb) et,

Le volume de cellules emballées (PCV),

Les indices d'érythrocytes comme valeurs corpusculaires moyennes (MCV), concentration moyenne d'hémoglobine corpusculaire (MCHC) et hémoglobine corpusculaire moyenne (MCH) ont été calculés.

Le nombre total de leucocytes et de plaquettes a également été détecté par l'analyseur automatique du sang entier (Elalfy *et al.*, 2019).

3.1.2.7. Détermination de quelques paramètres du stress oxydatif

L'estimation de la peroxydation lipidique par mesure de malondialdéhyde (MDA), ainsi que la détermination des niveaux tissulaires de glutathion réduit (GSH), sont effectuées en utilisant des kits commerciaux (Hassanen *et al.*, 2019).

MDA c'est l'un des principaux produits résultant de la peroxydation, pour doser le GSH la méthode consiste au développement d'une coloration jaune dès l'ajout de DTNB (acide 5,5' dithiodis-2-nitrobenzoïque) aux composés contenant des groupements sulfuriques, parmi ces composés on distingue le glutathion qui se réagit avec le DTNB en libérant l'acide thionitrobenzoïque (TNB) (Gueroui, 2015).

3.1.2.8. Etude histopathologiques

La plupart des études citées dans ce travail ont suivi le même protocole afin de réaliser une étude histopathologiques :

Fixation des tissus dans un formol tamponnée à 10% pendant 48h à température ambiante (Recordati *et al.*, 2016),

Déshydratation dans une série d'alcool graduée (Heydarnejad *et al.*, 2014),

Enrobage en paraffine, dont la section se trouve à 4 µm, 5 µm ou 6 µm d'épaisseur,

Coloration à l'hématoxyline-éosine (H&E),

Mais, certaines études ont modifié quelques étapes :

Prélèvement des tissus, fixation immédiate, rinçage dans un tampon de cacodylate de sodium de 0.1 M (pH 7.2),

Post-fixation pendant 2 heures dans un tétraxide d'osmium de 1 %,

Lavage à nouveau avec tampon de cacodylate de sodium frais,

Déshydratation dans une série ascendante d'éthanol,

Incorporation des spécimens dans les sections Epon 812.19 Semithin (0.5–1 µm d'épaisseur) et ultra-thin (700–800 Å d'épaisseur), couper à l'aide d'un ultramicrotome LKB (LKB Produkter AB, Ltd., Stockholm, Suède),

Coloration des coupes semi-théin avec le bleu de toluidine et les coupes ultra-thin avec l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb,

Les sections tachées ont ensuite été examinées à l'aide du JEM-100CXII fonctionnant à 80 kV (Sarhan et Hussein, 2014).

Les coupes sont ensuite évaluées au microscope optique (kazemKoochi *et al.*, 2011 ; Heydarnejad *et al.*, 2014; Recordati *et al.*, 2016; Hassanen *et al.*, 2019 ; Lai *et al.*, 2020) ou un microscope Olympus (Mohammed *et al.*, 2016).

3.1.2.9. Biodistribution

Le cœur, les poumons, le foie, la rate, les reins et le thymus (n = 3–4) ont été recueillis et pesés pendant l'autopsie. Les tissus de ces organes sont digérés dans 6ml d'acide nitrique concentré, utilisant le système de digestion de micro-ondes (MARS, CEM, USA). Ensuite, les concentrations d'Ag ($\mu\text{g/g}$) dans les organes ont été détectées par spectrométrie de spectrométrie à émission optique couplée à l'ICP (Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy) (ICP-OES, Optima 5300DV, Amérique) (Wen *et al.*, 2017).

En revanche, L'analyse de l'argent a été basée sur la quantification de ^{107}Ag dans divers échantillons à l'aide d'une méthode de spectrométrie plasma-masse (ICP-MS) à couplage inductif. Des échantillons de sang et de tissus ont été prélevés et décongelés. Les échantillons ont été pesés, digérés et analysés pour déterminer la teneur en argent.

En bref, avant l'analyse élémentaire, les échantillons de sang et de tissu d'intérêt ont été digérés dans l'acide nitrique et de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), les mélanges ont été chauffés jusqu'à ce que la digestion soit terminée, l'échantillon a été dilué soit par l'eau (Lai *et al.*, 2020), l'acide nitrique (Xue *et al.*, 2012) ou par HNO_3 et HCl afin de maintenir l'argent sous forme complexe (Recordati *et al.*, 2016).

Finalement, l'ICP-MS (Thermo Elementa X7, Thermo Electron Co., USA) est utilisé. Pour assurer la précision de la technique, la norme de solution d'indium est ajoutée en ligne comme élément standard interne. La limite de détection de l'argent était de 0.001 ng /ml (Xue *et al.*, 2012) ou de 0.4 à 0.7 $\mu\text{g/kg}$, selon les tissus, et était de 0.09 $\mu\text{g/l}$ pour le sang (Recordati *et al.*, 2016).

3.1.2.10. Etude statistique

Les résultats ont été analysés par le logiciel SPSS (Xue *et al.*, 2012 ; Parang et Moghadamnia, 2018 ; Elalfy *et al.*, 2019) par des tests ANOVA (Xue *et al.*, 2012 ; Adeyemi et Adewumi, 2014 ; Vasanth et Kurian, 2017 ; Wen *et al.*, 2017 ; Parang et Moghadamnia, 2018 ; Lai *et al.*, 2020; Karimi *et al.*, 2020 ; Narciso *et al.*, 2020) ou par test Duncan (Xue *et al.*, 2012 ; Parang et Moghadamnia, 2018).

La distribution de tous les paramètres continus a été évaluée à l'aide du test exact de Fisher (Wen *et al.*, 2017), suivie du test de Dunnett pour les comparaisons avec le contrôle (Adeyemi et Adewumi, 2014 ; Wen *et al.*, 2017).

Vasanth et Kurian (2017) et Karimi *et al.* (2020) ont utilisé un échantillon t-test afin de comparer le niveau d'argent sérique dans chaque groupe avec le niveau standard

➤ Différence significative entre lots traités et lot témoin:

* Une différence significative $p \leq 0.05$;

** Une différence hautement significative $p \leq 0.01$;

*** Une différence très hautement significative $p \leq 0.001$. (Gueroui, 2015).

Chapitre 4

Résultat et Discussion

4.1.Évaluation de la variation du poids corporel et les Signes cliniques

4.1.1. Résultats

Les souris traitées avec 10 nm AgNPs ont montré la piloérection et une diminution marquée de l'activité 5 heures après traitement, aucune mortalité n'a été observée pour des souris administrées par l'AgNPs pendant la période d'observation de 6 h.

Les températures corporelles des souris traitées avec des AgNPs, à l'exception de 60 nm AgNPs, ont été significativement diminuées par rapport à celles du contrôle (Cho *et al.*, 2018).

Wen *et al.* (2017) ont rapportés une augmentation du taux de respiration et une diminution de l'activité chez tous les animaux du groupe AgNPs immédiatement après administration.

Alors que Xue *et al.* (2012) ont remarqué des urines coloration brun-rouge (2 de 4 animaux) dans les 8 h après administration avec AgNPs, des poumons décolorés, un foie plus foncé et un léger œdème chez 2/6 souris le jour 7 et chez 3/6 souris le jour 14 pour le groupe à forte dose, les autres organes semblaient normaux chez tous les animaux expérimentaux.

Aucun changement significatif dans le poids corporel et le poids relatif des organes des animaux n'a été observé tout au long de la période d'étude d'après Xue *et al.* (2012) et Elalfy *et al.* (2019).

4.1.2. Discussion

Cho *et al.*, 2018 ont lié l'inactivation, la piloérection et une baisse de la température corporelle par un état de stress pourra être induit par le métal.

4.2. Effets des nanoparticules d'argent sur les paramètres biochimiques

4.2.1. Résultats

4.2.1.1. Glycémie

Cho *et al.* (2018) ont trouvé une augmentation dans le groupe traité par AgNPs (10 nm) après 3h ($P < 0.05$) d'injection intra péritonéale et une diminution après 6h ($p < 0.01$).

4.2.1.2. Bilan hépatique

Une augmentation significative d'ALAT et ASAT dans tous les groupes traités par le métal est notée (Vasanth et Kurian, 2017; Wen *et al.*, 2017 ; Cho *et al.*, 2018 ; Parang et Moghadamnia, 2018 ; Hassanen *et al.*, 2019)($p \leq 0.05$).Alors que Lai *et al.* (2020)

ont montré une diminution significative dans l'activité ASAT et ALAT à celle du groupe témoin Ag⁺ (Ag⁺>d'Ag⁺ et d'AgNPs>AgNPs).

Par contre Adeyemi et Adewumi (2014) n'ont pas trouvé des différences significatives dans l'activité d'ASAT par rapport aux témoins et ont noté une réduction significative au niveau d'ALT.

Narciso *et al.* (2020), ont trouvé chez les souris femelles, une diminution significative d'ALAT et ASAT dans 50mg /kg et dans 150mg /kg d'AgNPs, respectivement. Aucune différence significative n'était présente chez les souris mâles.

L'argent sous forme des nanoparticules parait causer une élévation significative de l'activité enzymatique PAL au niveau sérique (Adeyemi et Adewumi , 2014 ; Vasanth et Kurian, 2017 ; Parang et Moghadamnia, 2018), mais, cette activité n'a pas connu une modification notable par rapport aux contrôle, d'après Xue *et al.* (2012).

De même, la bilirubine totale a été aussi affectée en présence des AgNPs, en présentant une augmentation significative selon Cho *et al.* (2018). (P< 0.05) et Wen *et al.* (2017)(p<0.01).

Lai *et al.* (2020) ont remarqué une diminution significative de TB dans le groupe AgNPs par rapport à Ag⁺

Une diminution significative dans le taux sanguin des protéines totale et d'albumine dans groupe d'AgNPs (Xue *et al.*, 2012 p< 0.05 ; Cho *et al.*, 2018 p< 0.01) .Par contre, Parang et Moghadamnia, (2018) ont trouvé une augmentation significative.

Hassanen *et al.* (2019) ont remarqué une diminution significative dans le groupe Ch-AgNPs (50 mg/kg) comparé aux autres groupes.

Une augmentation statistiquement significative de l'activité LDH a été observée, dans le groupe à faible dose par rapport au groupe témoin (Xue *et al.*, 2012).

4.2.1.3. Bilan rénal

Cho *et al.* (2018) ont trouvé une diminution(p < 0.01) de BUN dans la plupart des groupes traités (AgNPs 10, 60 et 100) après 3h et 6h d'administration. D'autre études ont mentionné son augmentation significative (p < 0.05) (Vasanth et Kurian, 2017; Wen *et al.*, 2017 ; Hassanen *et al.*, 2019 ; Narciso *et al.*, 2020).

Les biomarqueurs sériques de la fonction rénale (BUN et CRE) chez les souris mâles présentés par des niveaux sensiblement accrus ($p \leq 0.05$) de BUN dans Ag300, avec aucun effet enregistré chez les souris femelles (Hassanen *et al.*, 2019).

L'administration d'AgNPs a induit une augmentation marquée de créatinine (Vasanth et Kurian, 2017; Wen *et al.*, 2017) ($p < 0.05$; $p < 0.01$ respectivement).

D'après Lai *et al.* (2020), la créatinine sérique a diminué significativement dans le groupe AgNPs comparé au groupe Ag⁺.

Contrairement, ce paramètre n'a exhibé aucune différence significative en présence des nanoparticules d'argent (Xue *et al.*, 2012).

Les animaux administrés par AgNPs synthétisées par la méthode chimique, ont présenté une élévation de l'acide urique ($p < 0.05$) au niveau sanguin (Vasanth et Kurian, 2017).

En revanche, la synthèse par la méthode végétale a causé une diminution ($p < 0.05$) (Adeyemi et Adewumi, 2014).

4.2.1.4. Les triglycérides

Les concentrations sériques des triglycérides sont abaissées dans les groupes traités (AgNPs 10nm, $p < 0.01$) et dans les groupes traités (AgNPs 60nm, 100nm, $p < 0.05$) (Cho *et al.*, 2018).

4.2.1.5. IL-6 et de TNF- α

Le processus inflammatoire testé par les niveaux d'IL-6 et de TNF- α dans le sérum, évalué par Chen *et al.* (2016), a présenté une augmentation significative d'IL-6 chez les rats avec forte dose d'AgNPs et aucun changement significative pour le TNF- α .

4.2.2. Discussion

Cho *et al.* (2018) observe que le glucose montrant une variation circadienne.

D'après le bilan hépatique, une altération de la fonction des enzymes telles que ASAT, ALAT et PAL (Adeyemi et Adewumi, 2014; Vasanth et Kurian, 2017; Wen *et al.*, 2017; Cho *et al.*, 2018; Parang et Moghadamnia, 2018; Hassanen *et al.*, 2019; Lai *et al.*, 2020)

Ainsi qu'une détérioration des taux sérique de TP, TB, ALB (Xue *et al.*, 2012 ; Wen *et al.*, 2017 ; Cho *et al.*, 2018 ; Parang et Moghadamnia, 2018 ; Hassanen *et al.*, 2019 ; Lai *et al.*, 2020).

L'effet de l'administration orale des AgNPs aux rats sur les enzymes hépatiques, est suggéré d'être la cause de l'inactivation partielle de l'activité enzymatique ou la dépression de la synthèse enzymatique.

De sa part, le foie est connu comme l'un des organes cibles et un site dominant d'accumulation de nanoparticules, les altérations des activités ASAT, ALAT ou PAL peuvent être corrélées à l'affinité des AgNPs pour les groupements thiol dans les molécules de protéine (Adeyemi et Adewumi, 2014).

Les effets potentiels des nanoparticules d'argent sur la mort des cellules par apoptose, et les dommages à l'ADN chez les souris albinos ont été étudiés. Il semble qu'elles causent des dommages au niveau du tissu hépatique, provoquant son dysfonctionnement (Parang et Moghadamnia, 2018 ; Hassanen *et al.*, 2019).

L'évaluation de la fonction rénale, en particulier le taux de filtration glomérulaire, est estimée par BUN et la créatinine, présente une variation significative (Vasanth et Kurian, 2017).

Une augmentation significative des niveaux sériques d'azote d'urée et de créatinine dans le groupe qui a reçu 50 mg/kg de Ch-AgNPs (Hassanen *et al.*, 2019).

Mais la variation de BUN n'est pas significative selon Narciso *et al.* (2020).

Ces résultats pourront être expliqués par l'altération de l'architecture rénale, en influençant l'évacuation des produits de biodégradation des protéines, principalement les déchets azotés, les niveaux des biomarqueurs dans l'urine et le sang sont alors altérés.

Des études ont montré que les symptômes pré rénaux soutenus même après le 15^{ème} jour après traitement, ce qui indique l'ampleur de la pathologie.

Cette observation a été étayée par des activités plus élevées de transaminases dans le sang et une ultrastructure hépatique détériorée (Vasanth et Kurian, 2017 ; Hassanen *et al.*, 2019).

En ce qui concerne les biomarqueurs hépatiques et les fonctions rénales, les altérations isolées dans le foie étaient présentes chez les souris femelles seulement, et dans le rein chez les souris mâles Ag300. Les deux critères d'évaluation n'ont pas été soutenus par des altérations histopathologiques et/ou génotoxiques. Pour cette raison, les données de foie ont été considérées indépendamment du traitement (Hassanen *et al.*, 2019).

Les triglycérides (TG) sont des molécules lipidiques non polaires composées d'une molécule de glycérol associée à trois molécules d'acides gras, et elles représentent la principale forme de stockage des lipides et de l'énergie dans l'organisme humain. Un déséquilibre dans ce processus peut conduire à divers troubles métaboliques (Viecili *et al.* 2017).

D'après Lai *et al.*, (2020), les accumulations d'Ag ont eu moins d'impact sur la toxicité combinée des Ag⁺ et AgNPs. Les AgNPs coexposés ont augmenté la production de thiols et donc réduit la toxicité d'Ag⁺, la présence d'AgNPs pourrait soulager le stress induit par les ions Ag⁺.

La détoxification des AgNPs pourrait être attribuée à la réponse protectrice dérivée des AgNPs, comme la production de glutathion (GSH) et de MTs, qui a atténué la toxicité aiguë induite par l'Ag⁺.

L'étude d'Adeyemi et Adewumi (2014) a montré que les doses à 100 mg/kg d'AgNO₃ ont produit des altérations plus importantes des paramètres biochimiques que les doses plus élevées à 1000 et 5000 mg/kg, respectivement.

L'inflammation n'était pas tout à fait évidente au stade précédent après l'exposition d'AgNPs dans cette étude. L'IL-6 a été légèrement augmenté dans le groupe de traitement à forte dose, tandis que le niveau de TNF- α n'a montré aucun changement dans le sérum. En revanche, les AgNPs ont induit de manière significative l'expression de l'IL-6 dans les tissus hépatiques et rénaux, tandis que le TNF- α n'a été induit que dans le foie, du groupe à forte dose. Ceci suggère que le système immunitaire peut exiger plus de 8 heures pour mettre en œuvre des réponses immunitaires élevées représentées par les cytokines de sérum (Chen *et al.*, 2016).

4.3. Examen hématologique

4.3.1. Résultats

Elalfy *et al.* (2019) observe que Les nanoparticules d'argent aux doses 1/50 et 1/100 de LD50 ont des effets hématotoxiques, le niveau diminué d'hémoglobine, GR,GB

Aussi une diminution non significative de HCT et augmentation pas significative de VPM et IDP.

Tableau 3. Les analyses hématologiques (Elalfy *et al.*, 2019).

	Groupe témoin	AgNPs 1/50 de LD50	AgNPs 1/50 de LD 100
Hb (mg /dl)	11.7 ± 0.14	8 ± 0.15*	3.2 ± 0.2*
GR	6.64 × 10 ¹² ± 1.3	4.71 ± 1.3*	1.71 ± 1.2*
HCT %	35.5% ± 2	26.6 ± 2.5	9.6 ± 3.5*
TCMH	53.6 ± 4	56.6 ± 4.1	56.3 ± 4.2
MCH	17.6 ± 3.3	16.9 ± 3.4	18.7 ± 3.4
CCMH	32.9 ± 2.1	30 ± 2.2	33.3 ± 2.35
IDR-cv %	14.9 ± 2.1	13 ± 2.4	14.9 ± 1.9
IDR-sd	26.4 ± 2.4	25.6 ± 3.1	28.8 ± 3.3
PLT	167 × 10 ⁹ /l ± 10	102 ± 11.2*	42 ± 7.1*
VPM	8.6 ± 2.3	10.5 ± 2.1	10.6 ± 2.3
IDP	14.6 ± 2.3	15.9 ± 2.34	16.1 ± 2.4
PCT	0.156 ± 0.01	0.107 ± 0.02	0.044 ± 0.02
GB	7 × 10 ⁹ /l ± 3.5	1.4 ± 0.5*	0.5 ± 0.2*

Hassanen *et al.* (2019) ont été observées des altérations mineures dans les paramètres hématologiques. plusieurs paramètres associés à la génération de globules rouges ont montré une diminution significative de la dose la plus élevée qui pourrait être confisquée par le niveau réduit d'hémoglobine (Hb) dans le groupe qui a reçu 50 mg/kg Ch-AgNPs. Le nombre total de GB, de PLT et de lymphocytes a été significativement diminué dans la dose la plus élevée.

Tableau 4. Variation des paramètres hématologiques des rats dans différents groupes (Hassanen *et al.*, 2019)

Paramètres	G1 :50mg/ kg	G2 :25mg/ kg	G3 :100 mg/kg
GR	7.08±0.04 *	7.4±0.05 *	7.68±0.04
Hb	13.47±0.23*	14.03±0.03*	14.77±0.23
PLT	244.67±0.03*	365.33±2.91*	886±33.53
GB	5.8±0.1*	9.23±0.07*	11.37±0.4
Lymphocyte	51.13±0.13*	61.9±0.56*	70.93±0.99
Macrophage	18.73±0.09*	18.67±0.03*	17.77±0.37

Remarque : *Indique une différence significative $P \leq 0,05$.

Chen *et al.* (2016) ont été trouvé que le nombre totaux de globules blancs n'ont pas été affectés par l'exposition à AgNPs pendant 8 heures. Cependant, le pourcentage de lymphocytes a été significativement diminué dans le groupe de traitement à forte dose.

4.3.2. Discussion

Une courte exposition d'une dose supérieure à 2000 mg/kg n'a eu aucun changement dans l'hématologie chez les rats albinos après 48 h.

Notamment, après une dose orale des AgNPs, près de 90% pourraient être excrétées par le tractus gastro-intestinal, l'exposition intrapéritonéale améliorée la bioaccumulation et la distribution à travers différents tissus. On a constaté que l'argent administré par voie orale était absorbé dans une fourchette de 0,4 à 18 % chez les mammifères d'une valeur humaine de 18 % en augmentant l'hématotoxicité (Elalfy *et al.*, 2019).

Dans l'étude de Hassanen *et al.* (2019), une suppression immunitaire dans le groupe administré avec la dose la plus élevée de Ch-AgNPs. Il y a eu une baisse critique du nombre total de WBC et de lymphocytes, avec une augmentation minimale des monocytes sanguins dans le groupe qui a reçu la dose la plus élevée ce qui indique la moindre modification dans la biochimie clinique et l'hématologie dans les rats recevant jusqu'à 50 mg/kg AgNPs.

4.4. Variation des marqueurs biologiques du stress oxydatif

4.4.1. Résultat

Hassanen *et al.* (2019) ont mentionné que les rats exposés aux Ch-AgNPs ont montré une augmentation dépendante de la dose du niveau de MDA et une diminution de la teneur en GSH dans différents organes (foie, reins et rate). Les rats exposés à 50 mg/kg PC ont montré une diminution significative de la teneur en GSH par rapport au groupe témoin correspondant ($P \leq 0,05$) ; en outre, le niveau de MDA a montré une augmentation significative dans le foie, les reins et la rate par rapport au groupe témoin ($P \leq 0,048$). Il n'y avait aucune différence significative dans les niveaux de MDA et de GSH entre le groupe témoin et ceux traités avec 25 ou 10 mg/kg Ch-AgNPs.

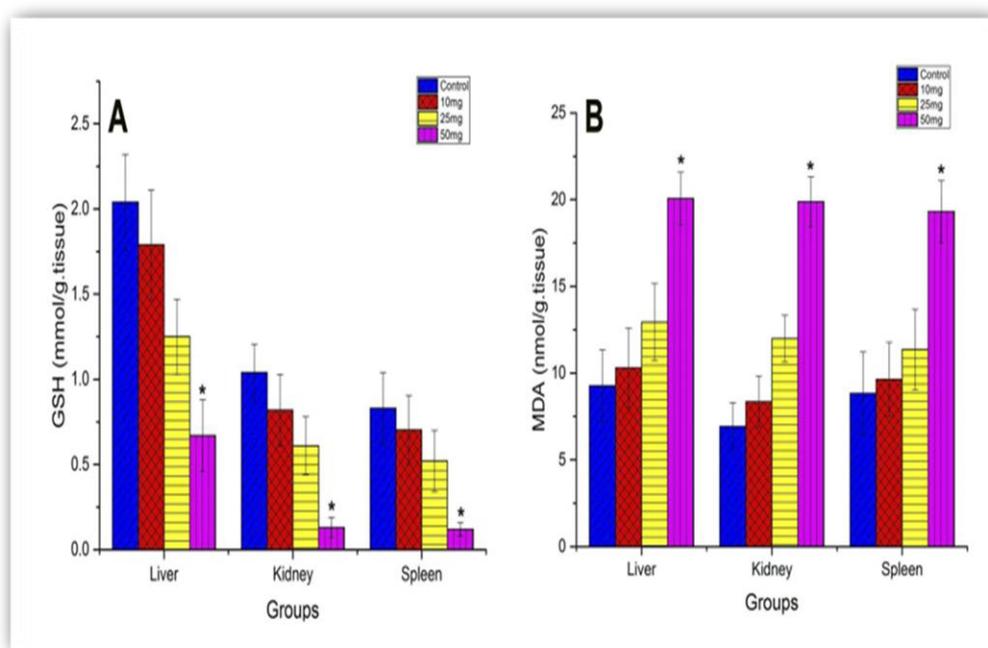


Figure 4. Niveau tissulaire de GSH (A) et MDA(B) dans différents groupes.

Les données sont représentées comme moyennes \pm SEM.

*Indique une différence significative par rapport au groupe témoin correspondant à $P \leq 0,05$ (Hassanen *et al.*, 2019).

4.4.2. Discussion

Les Ch-AgNPs peuvent induire des dommages oxydatifs. La toxicité de l'AgNPs semble augmenter la production de ROS (Reactive Oxygen Species) avec une augmentation du revêtement de chitosane.

Les auteurs ont conclu que les mécanismes de toxicité d'AgNPs incluent la génération du stress oxydatif par élévation significative de LPO (Peroxydation des lipides) et l'épuisement de GSH, ce qui est conforme aux enquêtes précédentes, induisant une cytotoxicité dans différents tissus (foie, rein, et la rate) des rats exposés (Hassanen *et al.*, 2019).

Le GSH est considéré comme la première ligne du mécanisme de défense cellulaire contre les dommages oxydatifs.

4.5. Histopathologie

4.5.1. Histopathologie de foie

4.5.1.1. Résultats

Des augmentations significatives de la congestion, de la vacuolisation de l'hépatocyte, des inclusions cytoplasmiques et de la nécrose unicellulaire dans le foie ont été observées dans le groupe AgNPs de 10 nm après 6 h. La mitose dans le foie a été significativement augmentée dans le groupe AgNPs de 60 nm à 1 h et 3 h et dans le groupe AgNPs de 100 nm à 1 h (Cho *et al.*, 2018).

En revanche, d'après Parang et Moghadamia (2018) les tissus hépatiques sont légèrement changés dans le groupe expérimental 1, mais les groupes expérimentaux 2 et 3 ont montré plus de dommages (gonflement du cytoplasme, gonflement nucléaire, formation de vacuole, hémorragie anormale, congestion cellulaire et nécrose).

Autres études ont remarqué la dégénérescence multifocale de cellules de foie, la dégénérescence diffuse d'hyaline dans les cellules épithéliales tubulaires rénales (Wen *et al.*, 2017), L'œdème et le cytoplasme lâche sur les cellules de foie ont été trouvés dans les souris de traitement d'AgNPs à haute dose. Aucune infiltration des cellules inflammatoires n'était présente sur les cellules hépatiques (Xue *et al.*, 2012).

Selon Heydarnejad *et al.* (2014), dans tous les jours d'échantillonnage (jours 2, 7 et 14), le groupe témoin a montré un tissu hépatique normal sans blessure spécifique (Figure 5). En revanche, les résultats pathologiques du groupe AgNPs ont montré les changements pathologiques dans le foie, y compris la dilatation dans la veine centrale, l'hyperémie, le gonflement cellulaire, l'augmentation des cellules de Kupffer et l'inflammatoires par infiltration leucocytaire (figure 6). De plus, un arrangement radial des cellules du foie a été perdu. Le degré de ces dommages hépatiques dépend du temps.

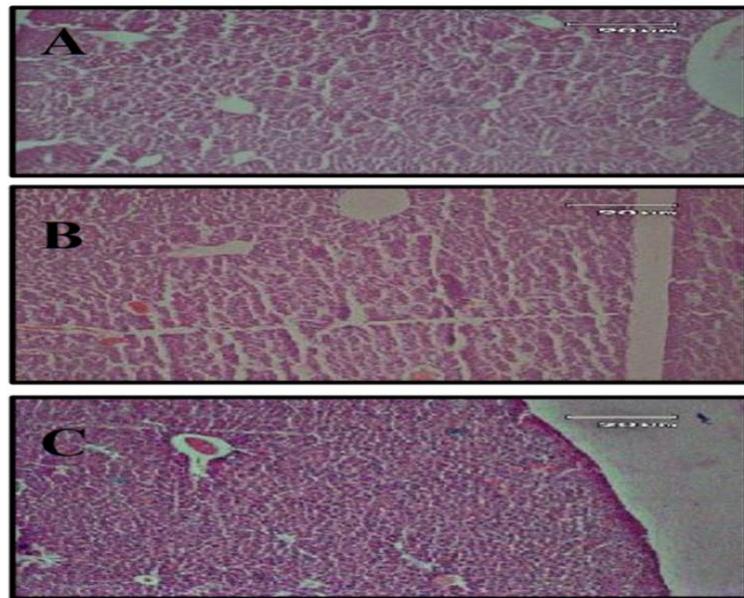


Figure 5. Sections de foie taché de souris groupe témoin en 2,7 et 14 jours d'étude (X10)
(Heydarnejad *et al.*, 2014).

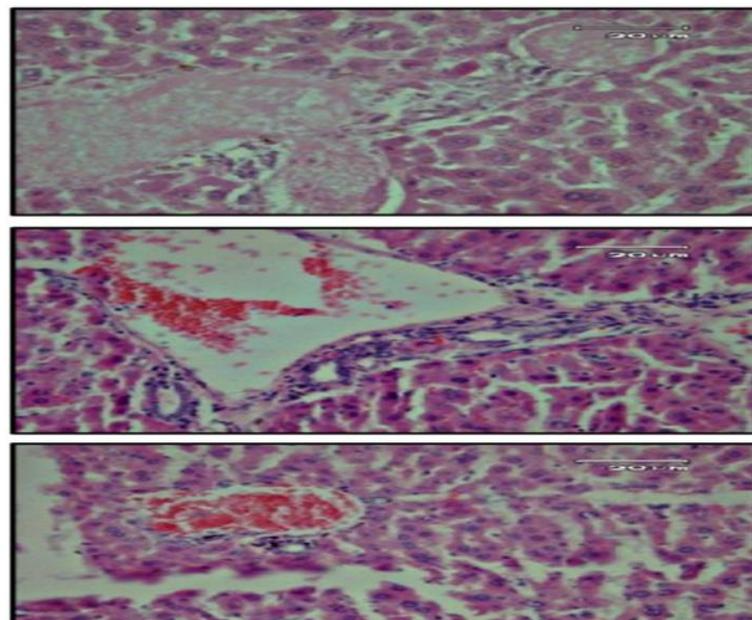


Figure 6. Sections de foie tachés de souris traitement (nano-argent) en 2, 7 et 14 jours d'étude
(X40).

(Heydarnejad *et al.*, 2014).

L'examen histologique du foie des lapins après l'exposition à 10 nm d'AgNPs a révélé une nécrose hépatique moyenne, une infiltration mononucléaire dans la zone porte et une modification de la graisse hépatique (KazemKoochi *et al.*, 2011).

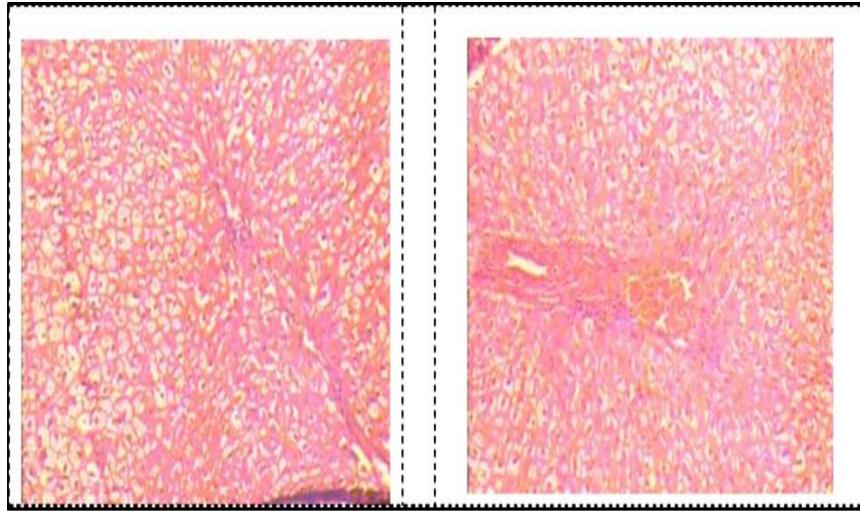


Figure 7. Œdème et dégénérescence, changement de graisses dans les hépatocytes du lapin exposés à 10 nm d'AgNPs après 14 jours d'administration post dermique (X40) (kazemKoochi *et al.*, 2011).

L'examen histologique du foie à 20 nm d'AgNPs a révélé une nécrose hépatique midzonale et périacinaire. Une modification de la graisse du foie, une hyperémie/congestion hépatique et une hyperémie de la veine centrale ont été détectées sans aucun signe d'inflammation

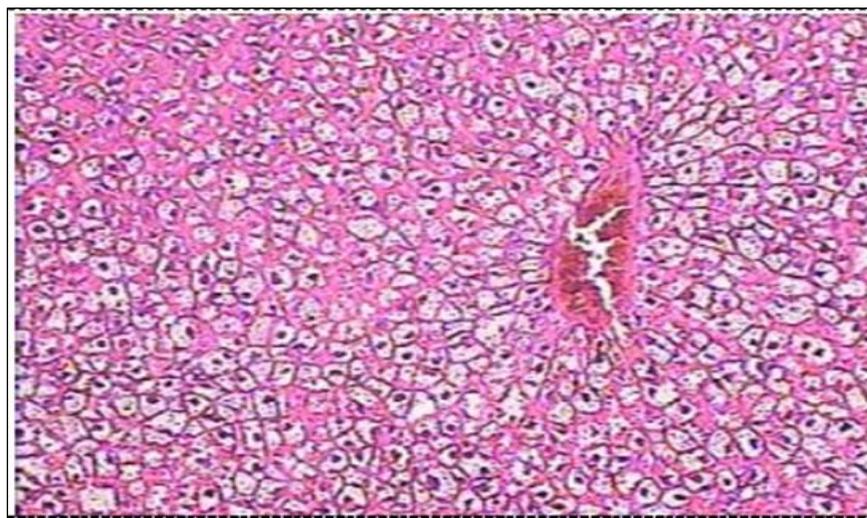


Figure 8. Photographies histopathologiques du foie des lapins, exposés à 20 nm d'AgNPs par administration post dermique de jour-14 (X100) (kazemKoochi *et al.*, 2011).

Dans l'expérience de Lai *et al.* (2020), des analyses histopathologiques ont été effectuées pour évaluer la toxicité induite par Ag après 1, 3 et 5 jours d'administration (figure9). Des dommages remarquables existaient dans le foie et les reins au niveau des tissus. Dans le groupe témoin blanc, les lésions pathologiques n'ont pas été observées dans le foie tout au long de l'étude.

Dans le groupe témoin Ag⁺, la nécrose massive et la prolifération évidente des cellules Kupffer ont été observés dans le foie.

Dans le groupe témoin d'AgNPs, les AgNPs ont montré une toxicité négligeable pour les organes, seule une légère prolifération de cellules Kupffer a été trouvée dans le foie.

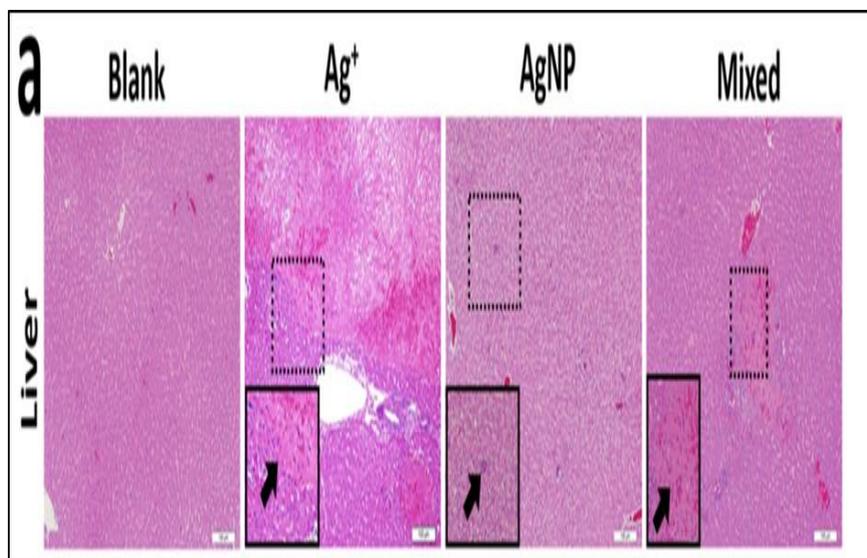


Figure 9. Analyse histopathologiques du foie chez les rats (n=4) dans les groupes de traitement blanc, Ag⁺, AgNPs et groupe mixte (Ag⁺ +AgNPs) après 1 jour d'administration (Lai *et al.*, 2020)

4.5.1.2. Discussion

Les différentes incidences de lésions dans le foie dans les groupes AgNPs de 60 et 100 nm peuvent être dues à des taux d'absorption ou de génération de ROS plus faibles que ceux du groupe AgNPs de 10 nm. Une réactivité élevée et une facilité de transport dans la cellule peuvent entraîner une toxicité aussi élevée pour les petits NPs. Une étude a montré un effet stimulant dans lequel de faibles concentrations d'AgNPs accélèrent la prolifération a été rapporté dans les cellules souches embryonnaires de souris et les cellules hepG2

Cho *et al.* (2018) ont conclu que les puissances toxiques de 60 et 100 nm AgNPs sont évidemment plus faibles que celle de 10 nm AgNPs.

Les nanoparticules d'argent à une concentration de 200 mg / kg élèvent la production de ROS, suivie par des dommages cellulaires (Parang et Moghadamnia ,2018).

Une augmentation des niveaux d'ALAT, BUN, TBil et Créat est en corrélation avec l'apparition de lésions hépatiques et rénales aiguës chez les rats SD (Wen *et al.*,2017).

L'étude de Heydarnejad *et al.* (2014) a clairement montré que les AgNPs utilisés pour la cicatrisation des plaies chez les souris adultes peuvent produire les anomalies histopathologiques dans le foie d'une manière dépendante du temps ,

Des études indiquent qu'AgNPs peut entrer dans la circulation sanguine quand ils sont utilisés pour les blessures. Ces résultats ont été confirmés par l'utilisation d'Acticoat™ comme pansement de blessure, pour les patients avec des brûlures en Australie occidentale,

De très petits diamètres d'AgNPs peuvent avoir des effets profonds sur le cerveau, les reins et le foie. Le foie contient normalement des niveaux élevés de protéines riches en thiol tels que le glutathion, par conséquent, AgNPs s'accumulent principalement dans le foie,

De même, les résultats d'une étude ont montré que les AgNPs se sont accumulés principalement dans le foie et la rate. Ils ont observé l'hyperémie et l'enflure cellulaire à faible concentration (4 ppm), la veine centrale dilatée, l'hyperémie et le changement de graisse grave à plus de concentrations (8 et 12 ppm) et une augmentation du tissu conjonctif (fibroplasie) et de la nécrose focale des hépatocytes à la concentration la plus élevée (12 ppm),

La surproduction de cellules kupffer s'est produite dans le foie de souris du groupe AgNPs. Il a été démontré que les cellules Kupffer sont importantes dans l'élimination des nanoparticules,

Lorsque les nanoparticules sont retirées du foie par les macrophages (en raison de la phagocytose), la génération de radicaux libres augmente considérablement, ce qui peut contribuer à endommager la membrane cellulaire et, en fin nuire à la fonction hépatique. Ainsi, le nombre de cellules Kupffer peut montrer la degré de dommages dans le tissu hépatique

Dans la présente étude, également une augmentation significative du nombre de Kupffer et des cellules inflammatoires (lymphocytes mononucléaires, des éosinophiles, et des cellules plasmiques) après 7 jours a été vue qui peut montrer la blessure pathologique du foie d'une manière dépendante du temps,

En se basant sur les études microscopiques précédentes, les AgNPs semblent causer des lésions légères à graves dépendantes de dose dans les cellules hépatiques telles que l'accumulation des cellules inflammatoires, la nécrose dans les cellules hépatiques, et une augmentation du tissu conjonctif (fibroblastes).

Les indicateurs hépatiques et de fonction rénale ont été nettement élevés, qui a confirmé les dommages au foie et aux reins (Kazemkoohi *et al.*, 2011).

4.5.2. Histopathologie des reins

4.5.2.1. Résultats

La dégénérescence cellulaire critique et la nécrose dans les reins observés dans le groupe AgNPs est compatible avec la biodistribution et les résultats biochimiques, en raison des concentrations élevées d'Ag qui se sont accumulées dans ces organes (Wen *et al.*, 2017).

L'étude histopathologique du tissu rénal observe qu'il n'y avait aucun signe d'anomalie ou de toxicité d'argent (Xue *et al.*, 2012; Karimi *et al.*, 2020).

Dans le groupe de traitement mixte, les AgNPs administrés peuvent réduire efficacement la toxicité aiguë d'Ag⁺ dans la coexposition des AgNPs et Ag⁺, seule une nécrose partielle dispersée dans tout le foie a été observée, et le degré de dommages était inférieur à celui du groupe témoin Ag⁺ (Lai *et al.*, 2020).

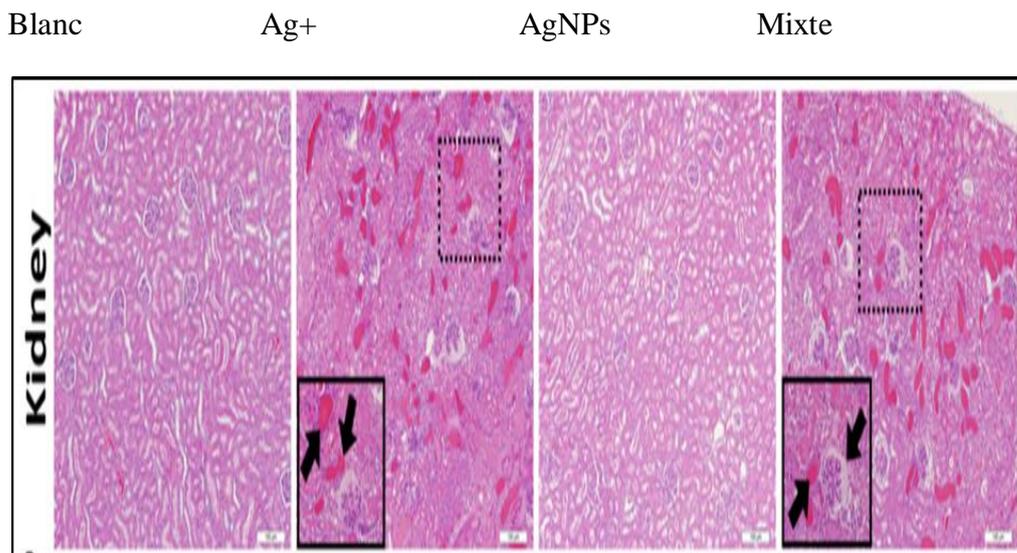


Figure 10. Analyses histopathologiques des reins chez les rats (n=4) dans les groupes de traitement blanc, Ag⁺, AgNPs et groupe mixte (Ag⁺ +AgNPs)

(Lai *et al.*, 2020).

4.5.2.2. Discussion

L'Ag⁺ a induit des dommages graves de tissu. Des blessures graves, telles que l'exsudation de glomérules, les moulages rénaux et la dilatation de glomérules, ont été observés dans les reins. Cependant, une accumulation beaucoup plus faible et une toxicité beaucoup plus élevée ont été observées pour Ag dans les reins que dans la rate. Ces résultats indiquent que la tolérance des organes à Ag⁺ est un facteur crucial dans les dommages aux organes. Heureusement, les organes vitaux, tels que le cerveau et le cœur, sont insensibles aux espèces Ag, car aucune lésion pathologique n'a été observée tout au long de l'expérience

(Lai *et al.*, 2020).

4.5.3. Histopathologie de la peau

4.5.3.1. Résultats

La peau traitée par Ag a montré l'hyperkératose, les follicules remplis de cheveux et la papillomatose dans l'épiderme et une fibrose irréguliers, hyperémie, érythème, œdème intracellulaire et hyalinisation du collagène dans le derme (KazemKoochi *et al.*, 2011).

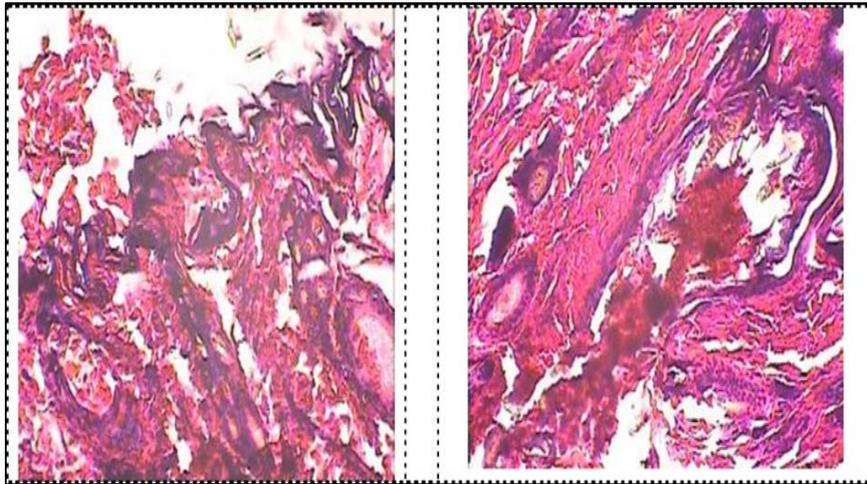


Figure 3. Dommages cutanés chez les lapins exposés à 10 nm d'AgNPs par administration post-cutané de 14 jours (X100). Hyperkératose, follicules capillaire, papilomatose dans l'épiderme et la fibrose, hyperémie, érythème, oedème intracellulaire et hyalinisation du collagène (kazemKoochi *et al.*, 2011)

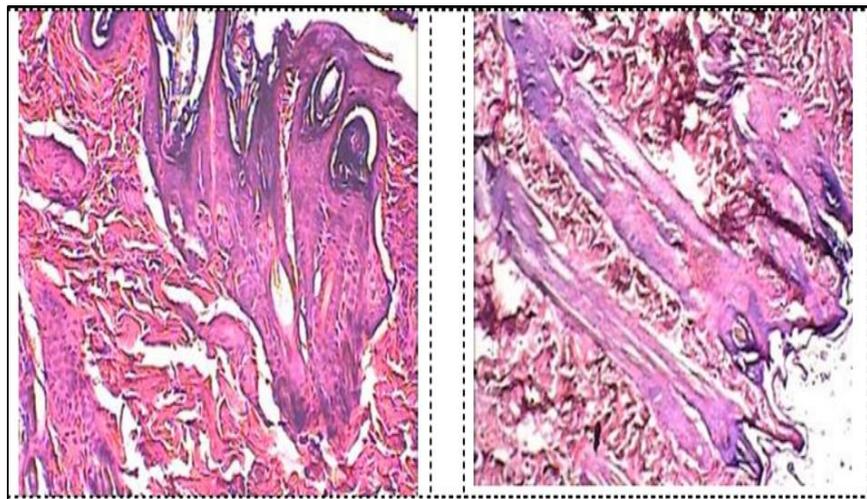


Figure 4. Photographies histopathologiques de derme exposé à 20 nm d'AgNPs par administration post dermique de 14 jours (X40).

4.5.3.2. Discussion

KazemKoochi *et al.* (2011) ont mentionné qu'AgNPs peuvent causer des effets inflammatoires, oxydatifs, génotoxiques et cytotoxiques. Il a été démontré que les nanoparticules d'argent d'une taille moyenne de 25 nm pénètrent dans les couches supérieures de l'épiderme dans la peau humaine excisée dans les cellules de diffusion statique. Les nanoparticules intradermiques pouvaient pénétrer dans les lymphocytes sous-cutanés, la phagocytose des nanoparticules dans la peau par les macrophages et les cellules de Langerhans et les désordres du système immunitaire par ces particules. Les nanoparticules d'argent pourraient également activer des mastocytes.

Les cellules traitées d'AgNPs ont montré des aberrations chromosomiques, l'arrestation mitotique, les déformations de cytosquelette, le volant de surface cellulaire, les modifications significatives de morphologie de cellules, la régulation de la métallo-thionine, le gène d'oxygène-1 d'hème a diminué la fonction mitochondriale. Certaines observations cliniques ont également montré la cicatrisation retardée des plaies et l'inhibition de la réépithélialisation des plaies après l'utilisation de certains pansements argentés topiques.

Cependant, les observations microscopiques ont montré l'inflammation focale et la localisation de nanoparticule d'argent sur la surface et dans les couches supérieures de corneum de la peau. Les dommages aux membranes cellulaires semblent être une autre partie du mécanisme de cytotoxicité d'AgNPs.

4.5.4. Histopathologie de rate

4.5.4.1. Résultats

KazemKoochi *et al.* (2011). Comme le montre la figure 15, la congestion splénique de pulpe rouge, l'hyper réactivité de pulpe blanche splénique, la trabecule splénique et la congestion sinusoidale ont été trouvées après administration post-cutanée de 14 jours

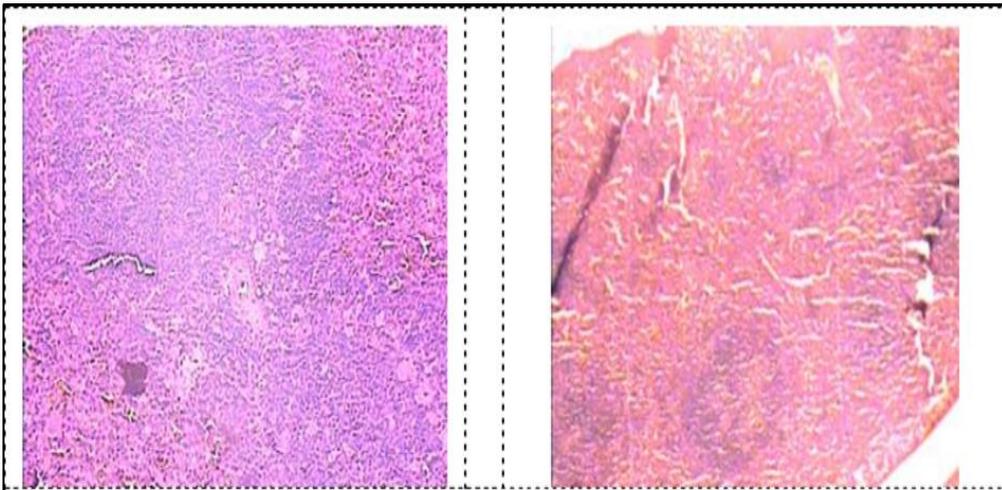


Figure 5. Photographies histopathologiques de la rate exposée à 10 nm d'AgNPs par administration post-cutané de 14 jours. Cogestion de pulpe rouge splénique, hyperréactivité de pulpe rouge splénique, le trabecule splénique et la congestion sinusoire (kazemKoohi *et al.*, 2011)

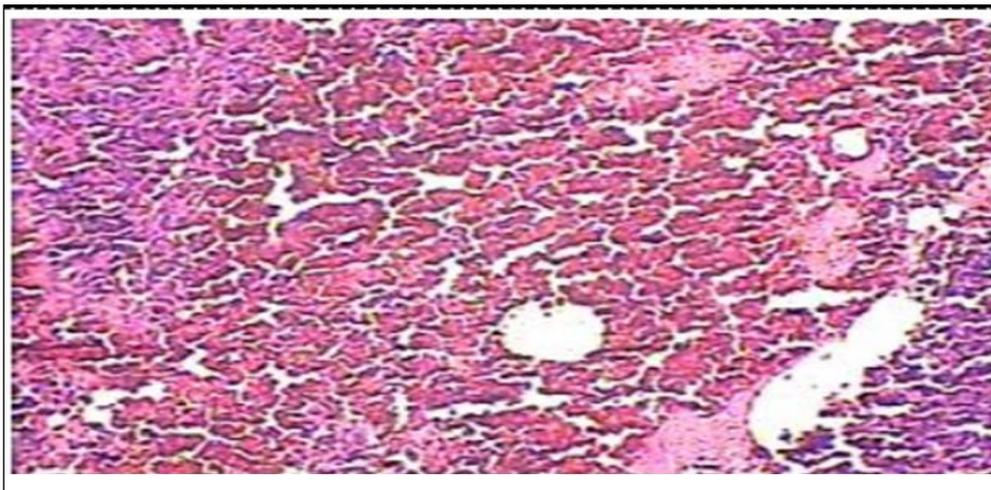


Figure 6. Photographies histopathologiques de la rate exposée à 20 nm d'AgNPs par administration post-cutané de 14 jours (kazemKoohi *et al.*, 2011)

4.5.5. Histopathologie des vésicules séminales

4.5.5.1. Résultat

D'après l'étude de Mohammed *et al.* (2016). Des changements histopathologiques des vésicules séminales sont suivis : Pour le groupe témoin : les sections séminales de vésicule ont montré que les alvéoles étaient doublées par un épithélium columnar simple.

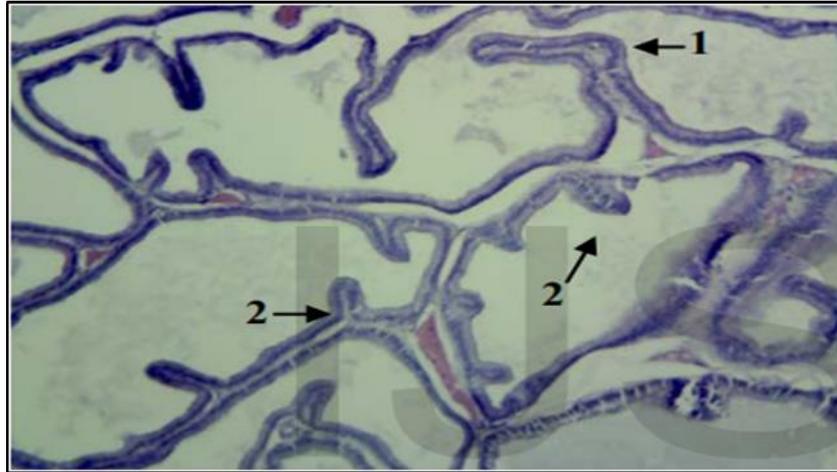


Figure 7. Histopathologie de la vésicule séminale des rats témoins, des alvéoles a été doublée par l'épithélium columnar simple (1). Des doublures d'épithélium avec beaucoup de plis (2) H&E 400X (Mohammed *et al.*, 2016)

Deuxième groupe traité avec AgNPs (0.4 mg/kg/jour : les sections de vésicales séminales ont montré l'augmentation des plis de la glande, et l'augmentation de la hauteur des doublures épithéliales glandulaires et l'augmentation des sécrétions alvéolaires.

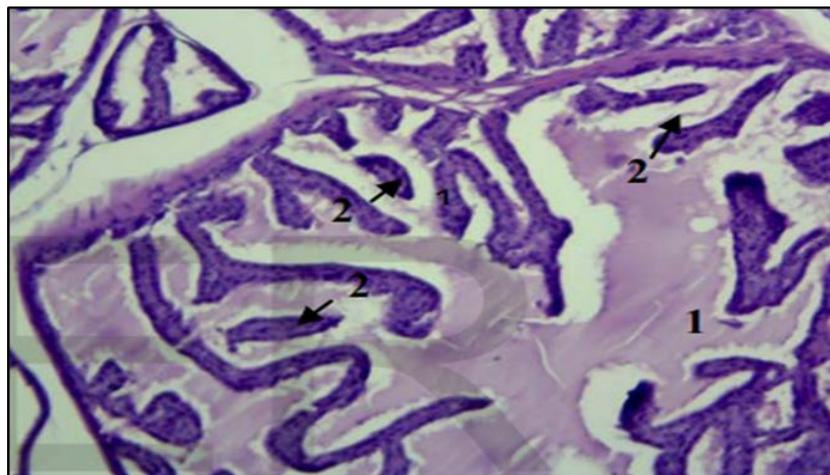


Figure 8. Histopathologie de la vésicule séminale de rat I/M (0.4 mg/kg) d'AgNPs. Les alvéoles ont été agrandies (1), et la desquamation des plis (2) H&E.400X (Mohammed *et al.*, 2016)

Le troisième groupe traité avec des AgNPs (0.6 mg/kg/jour), la section a été noté une hyperplasie de tissu conjonctif, agrandissement dans les alvéoles et raccourcissement dans les plis d'alvéoles.

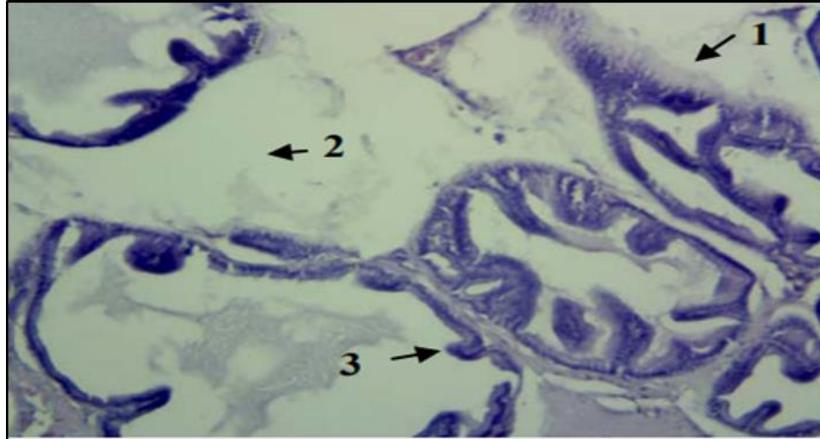


Figure 17. Histopathologie de la vésicule séminale de rat I/M d'AgNPs (0.6mg/kg) hyperplasie (1). Agrandissement dans les alvéoles (2), raccourcissement dans les plis alvéolaires (3). H&E.400X (Mohammed *et al.*, 2016)

4.5.5.2. Discussion

L'étude de Mohammed *et al.* (2016) a montré l'effet cytotoxique des nanoparticules d'argent à la dose (0.4mg/kg.bw) et (0.6 mg/kg PC) sur la vésicule séminale de rat, ces observations correspondent aux études actuelles qui ont été réalisées sur le système reproducteur masculin en raison de l'effet des nanoparticules d'argent (20nm et 200nm) conduisant à l'apoptose, la nécrose et le déclin de la prolifération des cellules testiculaires humaines

4.5.6. Histopathologie de prostate

4.5.6.1. Résultats

D'après l'étude de Mohammed *et al.* (2016), les sections de prostate ont montré des alvéoles doublées par l'épithélium cuboïde simple, et remplies de sécrétion.

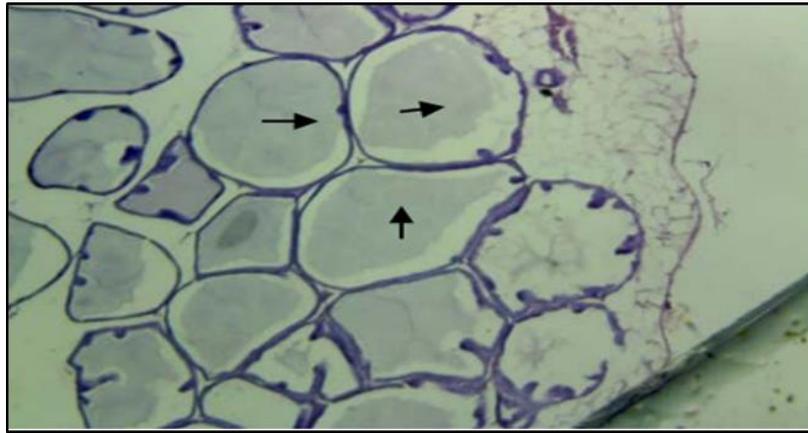


Figure 9. La prostate du rat contrôle avec quelques alvéoles, doublées par l'épithélium cuboïde simple. Les alvéoles ont été remplies de sécrétion acidophile. H&E

(Mohammed *et al.*, 2016)

Deuxième groupe traité avec AgNPs (0.4 mg/kg/jour) ; les sections de prostate ont montré une hyperplasie de la doublure épithéliale des alvéoles glandulaires et de l'élargissement des alvéoles prostatiques, et aplaties des muqueuses épithéliales alvéoles.

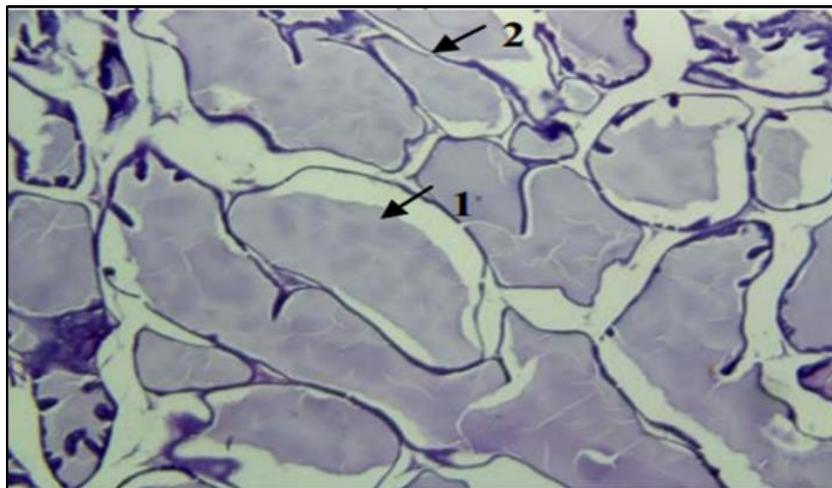


Figure 10. Histopathologie de la prostate de rat injectée I/M (0,4 mg/kg) d'AgNPs. Le chiffre a été révélé élargissement des alvéoles prostatique(1), et aplaties des muqueuses épithéliales alvéoles(2). H&E. 100X (Mohammed *et al.*, 2016)

Le troisième groupe traité avec des AgNPs (0.6 mg/kg de poids corporel/jour) ; les sections de la prostate ont montré des dommages dans les doublures épithéliales de quelques alvéoles prostatiques, l'agrandissement de quelques alvéoles prostatiques, Suintement des sécrétions prostatiques dans le tissu conjonctif interstitiel (Mohammed *et al.*, 2016).

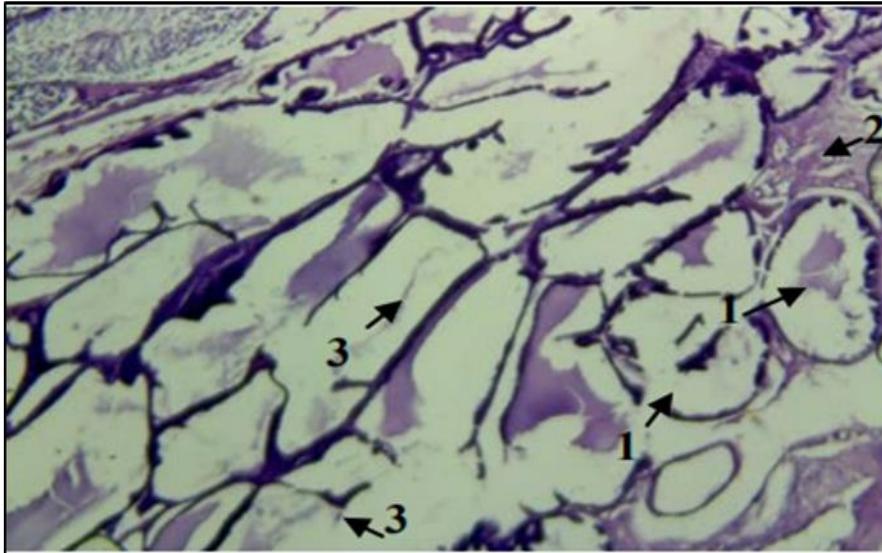


Figure 110. Histopathologie de la prostate de rat a été injectée I/M (0,6mg/kg) d'AgNPs, a montré des dommages dans les doublures épithéliales de quelques alvéoles prostatique (1), Suintement des sécrétions prostatiques dans le C.T interstitiel (2).Elargissement de certains alvéoles prostatiques (3) H&E. 100X .(Mohammed *et al.*, 2016)

4.5.6.2. Discussion

L'effet des nanoparticules d'argent (AgNPs) sur les glandes annexes du tractus génital mâle, chez les mammifères ont besoin de plus d'études futures. Les études précédentes ont mentionnées que les nanoparticules d'argent capables de pénétrer dans les cellules reproductrices en réduisant la mobilité de sperme et ont mené au dysfonctionnement des spermatozoïdes.

Les observations sur l'effet de nanoparticules d'argent sur la glande prostate étaient identiques aux études actuelles, qui ont mentionné, les effets toxiques des nanoparticules d'argent sur la spermatogenèse, ces ouvriers ont été administrés des nanoparticules d'argent par voie intraveineuse dans les rats mâles, ils ont remarqué une diminution du nombre de spermatozoïdes épидидymaires et une augmentation des niveaux de dommages causés par l'acide désoxyribonucléique dans les cellules germinales et une modification des mesures morphométriques dans les tubules séminifères (Mohammed *et al.*, 2016).

4.5.7. Biodistribution

4.5.7.1. Résultats

La biodistribution d'Ag a été étudiée après une administration intraveineuse à dose unique comme indiqué dans le tableau 5. Le rang d'Ag détecté dans les organes du groupe AgNPs par l'intermédiaire de l'ICP-MS du plus haut au plus bas est le cœur, la rate, le poumon, le foie, le rein, le thymus et. En revanche, la teneur en Ag est indétectable dans tous les organes d'animaux dosés avec l'Ag⁺ libéré. Comparé au groupe Ag⁺, le groupe AgNPs a démontré un modèle de distribution différent, montrant les poumons, la rate et le foie enrichis d'Ag (Wen *et al.*, 2017).

Par contre, autre étude n'a marqué détection d'Ag dans les organes des souris dans le groupe témoin. Après une dose intraveineuse unique de 120 mg / kg, les niveaux d'argent étaient les plus élevés dans la rate, suivie dans un ordre décroissant par le foie, les poumons et les reins. (Xue *et al.*, 2012).

Chen *et al.* (2016) ont trouvé que l'argent s'est principalement accumulé dans le foie et la rate, suivi par le poumon, les reins, le cœur et le cerveau. Après le traitement avec AgNPs, les distributions d'élément Ag étaient dépendantes de dose dans la gamme de 34.7% à 73.2% dans le foie, 5.6% à 23.5% dans la rate des NPs d'argent administrés. La quantité d'élément Ag dans d'autres organes était inférieure à 1% de l'administration totale. Les niveaux d'argent dans ces organes pourraient être surestimés en raison des contributions d'argent des résidus sanguins dans le cœur, les reins et le cerveau.

Tableau 5. Les concentrations d'argent dans divers tissus (exprimées en ng par gramme de poids humide) au point de temps de 8 h après une seule injection intraveineuse d'AgNPs à 0.2 (faible), 2 (moyen) ou 5 (élevé) mg/kg, respectivement

Les donnés ont été exprimées en moyenne \pm SD, n = 3

Groupe	Cerveau	Cœur	Poumon	Foie	Rate	Rein
Faible	8.6 \pm 1.0	63.5 \pm 3.2	149.2 \pm 1.9	1022.0 \pm 33.9	2254.6 \pm 138.2	48.8 \pm 3.6
Moyen	49.3 \pm 3.1	192.6 \pm 7.1	1051.5 \pm 50.4	17 527.8 \pm 4108.1	28419.0 \pm 2837.6	262.9 \pm 23.5
Elevé	84.6 \pm 10.6	425.1 \pm 1.6	4663.2 \pm 27.1	53 872.8 \pm 1217.4	234 688.3 \pm 32 057.9	644.2 \pm 18.1

Lai *et al.* (2020) ont montré que la concentration d'argent la plus élevée a été détectée dans le foie pour tous les groupes, suivie de la rate, des reins et du poumon. En outre, les espèces d'Ag dans le groupe témoin d'AgNPs étaient plus enclines à être accumulées dans le poumon plutôt que dans le rein, mais des conséquences opposées ont été trouvées dans les groupes de contrôle et de traitement mixtes d'Ag⁺. Cependant, les espèces d'argent étaient moins susceptibles d'être accumulées dans le cœur et le cerveau après l'administration. Plus important encore, la figure 2 montre que la teneur totale en masse d'Ag dans chaque organe de rat du groupe mixte de traitement était presque égale à celle des groupes de traitement indépendants Ag⁺ et AgNPs le même jour après l'administration, à l'exception de la très faible accumulation d'Ag dans le cerveau, qui s'approchait de la limite de détection.

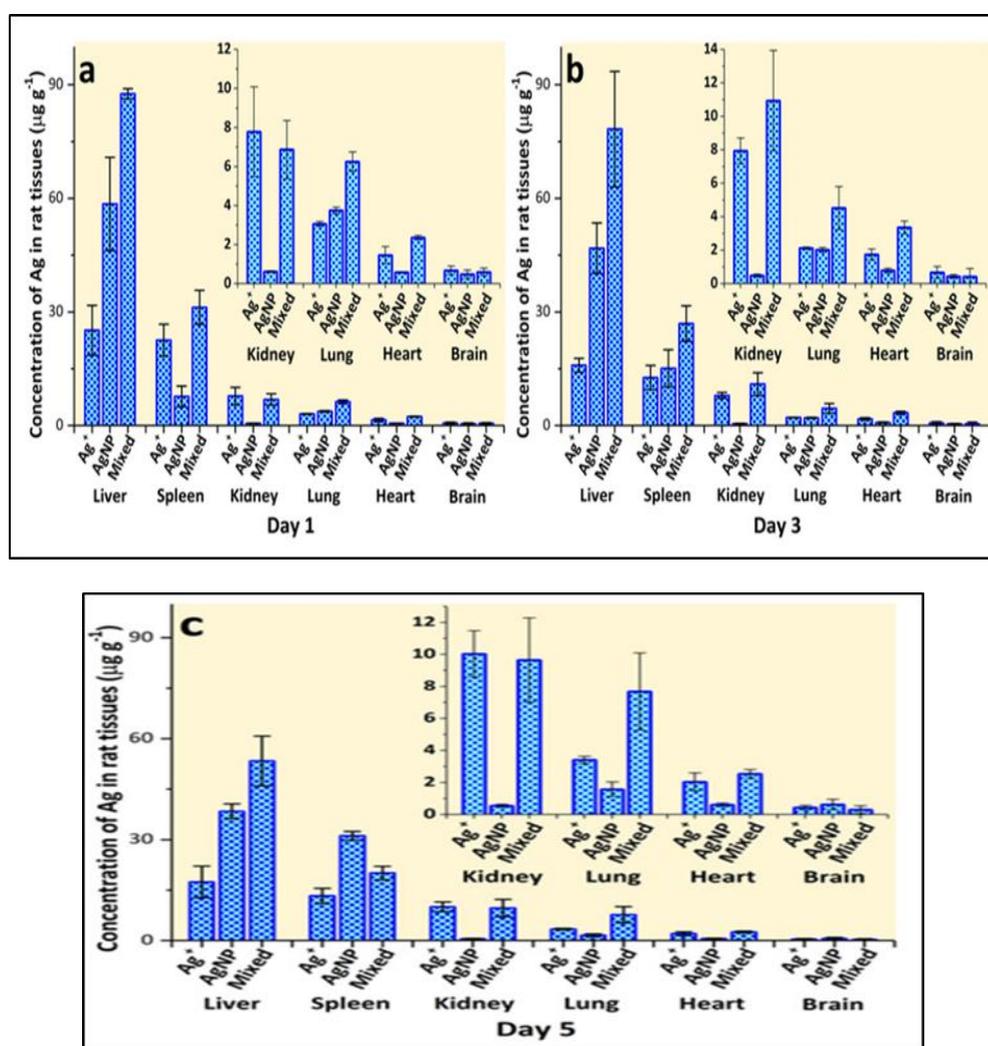


Figure 12. Biodistribution de l'argent total chez divers organes chez les rats aux jours 1(a), 3(b) et 5(c), post administration d'Ag⁺, AgNPs et le groupe mixte (Ag⁺ + AgNPs)

(Lai *et al.*, 2020)

Recordati et al. (2016) mentionnés que les animaux traités, à 24 h après administration, la concentration d'argent dans le sang a été considérablement réduite dans tous les groupes par rapport aux concentrations maximales attendues sur la base de la dose administrée. Dans le sang de 10 nm AgNPs-traités souris argent était environ 1,5 fois et 3,5 fois plus élevé que chez les souris traitées avec 40 nm et 100 nm AgNPs, respectivement. Pour toutes les tailles de particules, indépendamment de leur revêtement, les concentrations d'argent les plus élevées ont été trouvées dans la rate et le foie, suivies par le poumon, les reins et le cerveau. Pour tous les AgNPs testés environ 40 % de la dose administrée a été trouvé dans le foie, ce qui a eu comme conséquence pour être l'organe cible principal de la distribution d'argent, suivie par la rate, le poumon, le rein, et le cerveau.

À l'exception du foie, où des concentrations d'argent similaires ont été identifiées indépendamment de la source de l'argent administré (AgNPs ou ions d'argent), dans les autres organes examinés, les concentrations d'argent étaient plus élevées chez les souris traitées avec 10 nm AgNPs (y compris les deux particules enduites de CT et PVP) que chez les souris traitées avec des particules plus grosses (40 nm, 100 nm), et les concentrations ont diminué avec la taille croissante des AgNPs. Puisque les concentrations d'argent trouvées dans le cerveau et le rein étaient comparables ou inférieures à celles trouvées dans le sang, la contribution d'argent du sang résiduel contenu dans ces organes ne peut pas être complètement exclue.

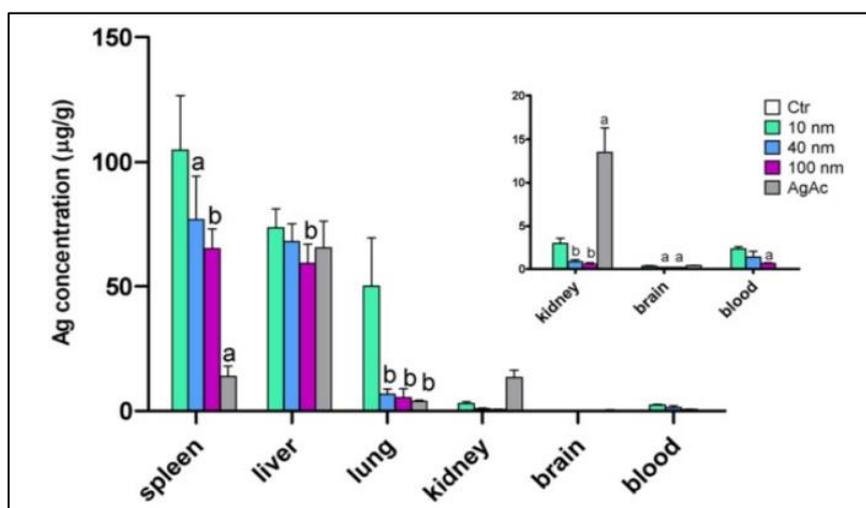


Figure 13. Concentrations tissulaires en argent après administration IV d'AgNPs et d'AgAc chez les souris (Recordati *et al.*, 2016)

Les données sont exprimées en moyennes \pm DD. Importance statistique : a = p 0,05; b = p < 0,01 vs 10 nm (Recordati *et al.*, 2016).

4.5.7.2. Discussion

Les particules d'argent étaient principalement concentrées dans la rate, suivies par le foie, les poumons et les reins. Les résultats sont en accord avec les rapports précédents décrivant la distribution des AgNPs à plusieurs tissus. Selon la voie d'exposition, les concentrations les plus élevées ont été trouvées dans les poumons, l'estomac, la peau, le foie et les reins. En utilisant l'administration intraveineuse En outre, des différences liées au genre dans les profils biocinétiques dans le sang et la distribution dans les poumons et les reins à la suite d'une injection intraveineuse d'AgNPs ont été observées dans cette étude,

La présente étude suggère que l'accumulation d'AgNPs dans les reins féminins de souris ne dépendait pas de la voie d'administration, qui est d'accord avec les résultats des études orales et des études d'inhalation. Cependant, la différence entre les sexes pour l'accumulation d'argent dans les poumons n'a pas été précédemment rapportée. Les propriétés biocinétiques dépendantes du sexe peuvent, en partie, expliquer la différence entre les sexes de l'accumulation d'argent dans les reins et les poumons après injection intraveineuse chez la souris. D'autres études concernant des mécanismes spécifiques de la différence entre les sexes pour la distribution des AGNP in vivo sont justifiées (Xue *et al.*, 2012).

Chen *et al.* (2016) Conformément aux rapports précédents, les fractions principales des AgNPs ont été détectées dans le foie et la rate. Cependant, il convient de noter qu'il y a une concentration assez élevée d'AgNPs maintenu dans le poumon, bien que le niveau relatif dans le poumon soit beaucoup plus bas que dans le foie et la rate. La distribution d'organes pourrait refléter l'organe cible potentiel le plus important qui est directement exposé aux nanoparticules. Le dépôt d'AgNPs dans les tissus a une relation directe avec le développement de la toxicité des organes.

Lai *et al.* (2020) ont montré que les espèces d'Ag sont rapidement distribuées du système circulatoire aux organes dans les minutes dans les rats après l'administration i.v. les organes de rat sont les cibles dominantes de la distribution d'argent

Le foie soit considéré comme l'un des organes cibles les plus importants pour les AgNPs, compte tenu de sa capacité d'accumulation d'AgNPs et de son rôle dans l'excrétion

biliaire des AgNPs .Le rôle des macrophages en général, et des cellules kupffer en particulier, dans le dégagement et l'accumulation de nanoparticules a été le même observé après l'administration intraveineuse d'autres nanoparticules métalliques (Recordati *et al.*, 2016).

En résumé, l'argent s'est principalement accumulé dans le foie et la rate, suivi par le poumon, les reins, le cœur et le cerveau (Chen *et al.*, 2016 ; Recordati *et al.*,2016 ; Lai et al.,2020) , les concentrations d'argent étaient plus élevées chez les souris traitées avec 10 nm AgNPs (y compris les deux particules enduites de CT et PVP) que chez les souris traitées avec des particules plus grosses (40 nm, 100 nm) indiquant que la taille des particules est plus importante que le revêtement et les concentrations ont diminué avec la taille croissante des AgNPs (Recordati *et al.*, 2016) .

Conclusion

Conclusion

D'après les études analysées on trouve que la contamination par les nanoparticules d'argent est responsable de l'apparition d'un certain nombre de troubles au niveau de corps des êtres vivantes tels que ;

- ✚ La variation du poids corporel et les signes cliniques,
- ✚ La variation paramètres hématologique.
- ✚ Altération de la fonction des enzymes telles que (ASAT, ALAT, PAL) et détérioration des taux sérique de (TB, ALB, TP).
- ✚ Influencer système de défense antioxydant.
- ✚ l'argent s'est principalement accumulé dans le foie et la rate, suivi par le poumon, les reins, le cœur et le cerveau pour sa on marquée des altérations du foie et la rate principalement et les autres tissus secondairement.

En se basant sur les études microscopiques, les AgNPs semblent causer des lésions légères à graves dépendantes de dose dans les cellules hépatiques telles que l'accumulation des cellules inflammatoires, la nécrose dans les cellules hépatiques, et une augmentation du tissu conjonctif (fibroplases).

La dégénérescence cellulaire critique et la nécrose dans les reins observés dans le groupe AgNPs est compatible avec la biodistribution et les résultats biochimiques, et en raison des concentrations élevées d'Ag qui se sont accumulées dans ces organes

A la fin, nous concluons à partir d'études que l'effet de la toxicité aiguë augmente plus que la taille des AgNPs diminue et plus la dose est grande, tandis que le revêtement (CT ou PVP) possède un effet négligeable sur la toxicité effectuée par ce métal

En perspectives, il est intéressant d'approfondir cette recherche par :

Une étude immunologique, génétique et sur la fonction thyroïdienne est nécessaire;

Le dosage d'un certain neurotransmetteur ainsi que de chercher le dépôt du métal dans des organes

Les effets locaux et éloignés des organes sont influencés par la taille des particules, le revêtement, la route et la durée de l'exposition, les doses et le temps de mesure du point final.

Références

Bibliographiques

Références

- ❖ Adeyemi. O. S., & Adewumi I. (2014). Biochemical evaluation of silver nanoparticles in wistar rats. *International scholarly research notices*. 2014.
- ❖ Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (1990). Toxicological Profile for Silver. Atlanta .U.S. Public Health Service. 157 p. Disponible sur : [«https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp146.pdf»](https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp146.pdf).
- ❖ 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. PolA*. 134 : 217-221.
- ❖ Angel B. M., Batley G. E., Jarolimek C. V., & Rogers N. J. (2013). The impact of size on the fate and toxicity of nanoparticulate silver in aquatic systems. *Chemosphere*. 93(2) :359-365.
- ❖ Bernauer U., Bodin L., Chaudhry Q., Coenraads P. J., Dusinska M., Gaffet, E., ... & De Jong W. H. (2018). " OPINION ON Colloidal Silver (nano)" -SCCS/1596/18–Final.
- ❖ Butterman W. C., & Hilliard H. E. (2004). Mineral commodity profiles. Selenium. Rapport US Department of the Interior US Geological Survey: 1-20.
- ❖ Calderón-Jiménez B., Johnson M. E., Montoro Bustos A. R., Murphy K. E., Winchester M. R., & Vega Baudrit J. R. (2017). Silver nanoparticles: technological advances, societal impacts, and metrological challenges. *Frontiers in chemistry*. 5-6.
- ❖ Chambers B. A., Afrooz A. N., Bae S., Aich N., Katz L., Saleh N. B., & Kirisits M. J. (2014). Effects of chloride and ionic strength on physical morphology, dissolution and bacterial toxicity of silver nanoparticles. *Environmental science & technology*. 48(1): 761-769.
- ❖ Chen R., Zhao L., Bai R., Liu Y., Han L., Xu Z., ... & Chen, C. (2016). Silver nanoparticles induced oxidative and endoplasmic reticulum stresses in mouse tissues: implications for the development of acute toxicity after intravenous administration. *Toxicology research*. 5(2) : 602-608.
- ❖ Cho Y. M., Mizuta Y., Akagi J. I., Toyoda T., Sone M., & Ogawa K. (2018). Size-dependent acute toxicity of silver nanoparticles in mice. *Journal of toxicologic pathology*. 31(1): 73–80.

- ❖ Elalfy M. M., Abdraheem E. E., &Abouelmagd M. Effect of oral administration of silver nanoparticles on blood parameters and bone marrow cells of female albino rats 2019. *Clin Pharmacol Toxicol Res.* Vol 2 No 2.
- ❖ Elkhawass E. A., Mohallal M. E., &Soliman M. F. (2015). Acute toxicity of different sizes of silver nanoparticles intraperitoneally injected in Balb/C mice using two toxicological methods.*Int J Pharm Pharm Sci.* 7(2): 94-99.
- ❖ Ferdous Z., & 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.* 21(7). 2375.
- ❖ Gan S. D., & Patel K. R. (2013). Enzyme immunoassay and enzyme-linked immunosorbent assay. *J Invest Dermatol.* 133(9). e12.
- ❖ Hadrup N., Sharma A. K., &Loeschner K. (2018). Toxicity of silver ions, metallic silver, and silver nanoparticle materials after in vivo dermal and mucosal surface exposure: A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology.* 98: 257-267.
- ❖ Hartemann P., Hoet P., Proykova A., Fernandes T., Baun A., De Jong W., ... &Norppa H. (2015). Nanosilver: Safety, health and environmental effects and role in antimicrobial resistance. *Materials Today.* 18(3): 122-123.
- ❖ Hassanen E. I., KhalafA. A., Tohamy A. F., Mohammed E. R., &Farroh, K. Y. (2019). Toxicopathological and immunological studies on different concentrations of chitosan-coated silver nanoparticles in rats.*International journal of nanomedicine.* 14: 4723.
- ❖ Heydarnejad M. S., Yarmohammadi-Samani P., MobiniDehkordi M., Shadkhast M., &Rahnama, S. (2014). Histopathological effects of nanosilver (Ag-NPs) in liver after dermal exposure during wound healing. *Nanomedicine Journal.* 1(3): 191-197.
- ❖ Ismail M., & Jabra R. (2017). Investigation the parameters affecting on the synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and printing a conductive pattern. *J. Mater. Environ. Sci.* 8(11): 4152-4159.
- ❖ Karimi H., Latifi N. A., Mehrjerdi A. Z., Jafarnejad B., & Karimi A. M. (2020). Histopathological Changes of Organs (Lungs, Liver, Kidney, and Brain) After Using Two Types of AgiCoat and Acticoat Nanosilver Dressings on Deep Second-Degree Burn in Rat. *Journal of burn care & research : official publication of the American Burn Association,* 41(1): 141–150.
- ❖ kazemKoochi M., Hejazy M., Asadi F., &Asadian P. (2011). Assessment of dermal exposure and histopathologic changes of different sized nano-silver in healthy adult

- rabbits. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 304. No. 1. p. 012028). IOP Publishing.
- ❖ Korani M., Rezayat S. M., Gilani K., Bidgoli S. A., & Adeli S. (2011). Acute and subchronic dermal toxicity of nanosilver in guinea pig. *International journal of nanomedicine*. 6. 855.
 - ❖ Lai Y., Dong L., Zhou H., Yan B., Chen Y., Cai Y., & Liu J. (2020). Coexposed nanoparticulate Ag alleviates the acute toxicity induced by ionic Ag⁺ in vivo. *Science of The Total Environment* 723. 138050.
 - ❖ Lansdown A. B. G. (2010). A pharmacological and toxicological profile of silver as an antimicrobial agent in medical devices. *Advances in pharmacological sciences*. 16 p.
 - ❖ Maneewattanapinyo P., Banlunara W., Thammacharoen C., Ekgasit S., & Kaewamatawong T. (2011). An evaluation of acute toxicity of colloidal silver nanoparticles. *Journal of Veterinary Medical Science*. 73(11) : 1417-1423.
 - ❖ Mohammed A. S., Salman R. A., & Jafer, A. J. (2016). The effect of different doses levels of silver nanoparticles (AgNPs) on the seminal vesicles and prostate in Albino male Rat. *Histopathological study. International Journal of Scientific & Engineering Research*. 7(3) : 980-983.
 - ❖ Moradi-Sardareh H., Basir, H. R. G., Hassan Z. M., Davoudi M., Amidi F., & Paknejad, M. (2018). Toxicity of silver nanoparticles on different tissues of Balb/C mice. *Life sciences*. 211 : 81-90.
 - ❖ Narciso L., Coppola L., Lori G., Andreoli C., Zjino A., Bocca B., ... & Maranghi F. (2020). Genotoxicity, biodistribution and toxic effects of silver nanoparticles after in vivo acute oral administration. *NanoImpact*. 100221.
 - ❖ Ochoa R. (2013). Pathology issues in the design of toxicology studies. In *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology* (pp. 595-618). Academic Press.
 - ❖ Pandiarajan J., Balaji S., Mahendran S., Ponmanickam P., & Krishnan M. (2016). Synthesis and toxicity of silver nanoparticles. In *Nanoscience in Food and Agriculture* 3 (pp. 73-98). Springer. Cham.
 - ❖ Parang Z., & Moghadamnia D. (2018). Effects of silver nanoparticles on the functional tests of liver and its histological changes in adult male rats. *Nanomedicine Research Journal*. 3(3) : 146-153.
 - ❖ Prabhu S., & Poulouse E. K. (2012). Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International nanoletters* 2(1):32.

-
- ❖ Recordati C., De Maglie M., Bianchessi S., Argenti S., Cella C., Mattiello S., ... & Lenardi, C. (2015). Tissue distribution and acute toxicity of silver after single intravenous administration in mice: nano-specific and size-dependent effects. *Particle and fibre toxicology*. 13(1): 12.
 - ❖ Sarhan O. M., & Hussein R. M. (2014). Effects of intraperitoneally injected silver nanoparticles on histological structures and blood parameters in the albino rat. *International journal of nanomedicine*. 9: 1505–1517.
 - ❖ Shahare B., Yashpal M., & Gajendra. (2013). Toxic effects of repeated oral exposure of silver nanoparticles on small intestine mucosa of mice. *Toxicology mechanisms and methods*. 23(3): 161-167.
 - ❖ Singh S. P., Bhargava C. S., Dubey V., Mishra A., & Singh Y. (2017). Silver nanoparticles: Biomedical applications, toxicity and safety issues. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 4(2): 01-10.
 - ❖ Sivaguru P., & Bi, X. (2019). Introduction to Silver Chemistry. *Silver Catalysis in Organic Synthesis*. 1-32.
 - ❖ Sung J. H., Ji J. H., Song K. S., Lee J. H., Choi K. H., Lee S. H., & Yu I. J. (2011). Acute inhalation toxicity of silver nanoparticles. *Toxicology and industrial health*. 27(2): 149-154.
 - ❖ Sung J. H., Ji J. H., Song K. S., Lee J. H., Choi K. H., Lee S. H., & Yu I. J. (2011). Acute inhalation toxicity of silver nanoparticles. *Toxicology and industrial health*. 27(2): 149-154.
 - ❖ Tabatabaei S. R. F., Moshrefi M., & Askaripour M. (2015). Prenatal exposure to silver nanoparticles causes depression like responses in mice. *Indian journal of pharmaceutical sciences*. 77(6):681.
 - ❖ Vasanth S. B., & Kurian G. A. (2017). Toxicity evaluation of silver nanoparticles synthesized by chemical and green route in different experimental models. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*. 45(8): 1721-1727.
 - ❖ Viecili P. R. N., da Silva B., Hirsch G. E., Porto F. G., Parisi M. M., Castanho A. R., ... & Klafke J. Z. (2017). Triglycerides Revisited to the Serial. In *Advances in Clinical Chemistry* (Vol. 80. pp. 1-44). Elsevier.

-
- ❖ Wang Z., Xia, T., & Liu S. (2015). Mechanisms of nanosilver-induced toxicological effects: more attention should be paid to its sublethal effects. *Nanoscale*, 7(17). 7470-7481.

 - ❖ Wen H., Dan M., Yang Y., Lyu J., Shao A., Cheng X., Chen L., & Xu L. (2017). Acute toxicity and genotoxicity of silver nanoparticle in rats. *PloS one*. 12(9). e0185554.

 - ❖ Wijnhoven S. W., Peijnenburg W. J., Herberts C. A., Hagens W. I., Oomen A. G., Heugens E. H., ... & Dekkers, S. (2009). Nano-silver—a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology*. 3(2) :109-138.

 - ❖ Xu L., Wang Y. Y., Huang J., Chen C. Y., Wang Z. X., & Xie, H. (2020). Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics*. 10(20): 8996.

 - ❖ Xue Y., Zhang S., Huang Y., Zhang T., Liu X., Hu Y., Zhang Z., & Tan M. (2012). Acute toxic effects and gender-related biokinetics of silver nanoparticles following an intravenous injection in mice. *Journal of applied toxicology : JAT*. 32(11): 890–899.

Annexes

Les articles Analysés

1. Adeyemi. O. S., & Adewumi I. (2014). Biochemical evaluation of silver nanoparticles in wistar rats. *International scholarly research notices*. 2014.
2. Chen R., Zhao L., Bai R., Liu Y., Han L., Xu Z., ... & Chen, C. (2016). Silver nanoparticles induced oxidative and endoplasmic reticulum stresses in mouse tissues: implications for the development of acute toxicity after intravenous administration. *Toxicology research*. 5(2) : 602-608.
3. Cho Y. M., Mizuta Y., Akagi J. I., Toyoda T., Sone M., & Ogawa K. (2018). Size-dependent acute toxicity of silver nanoparticles in mice. *Journal of toxicologic pathology*. 31(1): 73–80.
4. Elalfy M. M., Abdraheem E. E., & Abouelmagd M. Effect of oral administration of silver nanoparticles on blood parameters and bone marrow cells of female albino rats. 2019. *Clin Pharmacol Toxicol Res*. Vol 2 No 2.
5. Hassanen E. I., Khalaf A. A., Tohamy A. F., Mohammed E. R., & Farroh, K. Y. (2019). Toxicopathological and immunological studies on different concentrations of chitosan-coated silver nanoparticles in rats. *International journal of nanomedicine*. 14: 4723.
6. Heydarnejad M. S., Yarmohammadi-Samani P., MobiniDehkordi M., Shadkhast M., & Rahnema, S. (2014). Histopathological effects of nanosilver (Ag-NPs) in liver after dermal exposure during wound healing. *Nanomedicine Journal*. 1(3): 191-197.
7. Karimi H., Latifi N. A., Mehrjerdi A. Z., Jafarnejad B., & Karimi A. M. (2020). Histopathological Changes of Organs (Lungs, Liver, Kidney, and Brain) After Using Two Types of AgiCoat and Acticoat Nanosilver Dressings on Deep Second-Degree Burn in Rat. *Journal of burn care & research : official publication of the American Burn Association*. 41(1): 141–150.
8. kazemKoochi M., Hejazy M., Asadi F., & Asadian P. (2011, July). Assessment of dermal exposure and histopathologic changes of different sized nano-silver in healthy adult rabbits. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 304. No. 1. p. 012028). IOP Publishing.
9. Lai Y., Dong L., Zhou H., Yan B., Chen Y., Cai Y., & Liu J. (2020). Coexposed nanoparticulate Ag alleviates the acute toxicity induced by ionic Ag⁺ in vivo. *Science of The Total Environment*. 723. 138050.
10. Mohammed A. S., Salman R. A., & Jafer, A. J. (2016). The effect of different doses levels of silver nanoparticles (AgNPs) on the seminal vesicles and prostate in Albino male Rat. Histopathological study. *International Journal of Scientific & Engineering Research*. 7(3) : 980-983.
11. Narciso L., Coppola L., Lori G., Andreoli C., Zjino A., Bocca B., ... & Maranghi F. (2020). Genotoxicity, biodistribution and toxic effects of silver nanoparticles after in vivo acute oral administration. *NanoImpact*. 100221.

-
- 12.** Parang Z., & Moghadamnia D. (2018). Effects of silver nanoparticles on the functional tests of liver and its histological changes in adult male rats. *Nanomedicine Research Journal*. 3(3) : 146-153.
- 13.** Recordati C., De Maglie M., Bianchessi S., Argenti S., Cella C., Mattiello S., ... & Lenardi, C. (2015). Tissue distribution and acute toxicity of silver after single intravenous administration in mice: nano-specific and size-dependent effects. *Particle and fibre toxicology*. 13(1): 12.
- 14.** Sarhan O. M., & Hussein R. M. (2014). Effects of intraperitoneally injected silver nanoparticles on histological structures and blood parameters in the albino rat. *International journal of nanomedicine*. 9: 1505–1517.
- 15.** Vasanth S. B., & Kurian G. A. (2017). Toxicity evaluation of silver nanoparticles synthesized by chemical and green route in different experimental models. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*. 45(8): 1721–1727.
- 16.** Wen H., Dan M., Yang Y., Lyu J., Shao A., Cheng X., Chen L., & Xu L. (2017). Acute toxicity and genotoxicity of silver nanoparticle in rats. *PloS one*, 12(9). e0185554.
- 17.** Xue Y., Zhang S., Huang Y., Zhang T., Liu X., Hu Y., Zhang Z., & Tan M. (2012). Acute toxic effects and gender-related biokinetics of silver nanoparticles following an intravenous injection in mice. *Journal of applied toxicology : JAT*. 32(11): 890–899

Résumés

الملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة السمية الحادة للجسيمات النانوية الفضية في الجسم الحي ، استنادا على العوامل الكيميائية الحيوية والدمية ، وكذلك على بعض عوامل الإجهاد التأكسدي ، دراسة أنسجة بعض الأعضاء بعد العلاج بجرعات وأحجام مختلفة من الجسيمات النانوية الفضية (AgNPs). تظهر النتائج المتحصل عليها، تبايناً في وزن الجسم والعلامات السريرية، والمؤشرات الدموية، وتغييراً في وظيفة الإنزيمات مثل (AST ، ALT ، PAL) وتدهور مستويات المصل (TB ، ALB ، TP). وهكذا، أظهرت النتائج أن AgNPs أثرت على نظام الدفاع المضاد للأكسدة، وأظهرت الدراسة النسيجية بعض التعديلات في أنسجة الكبد والطحال الذي يعتمد أساساً على تراكم المعادن في هذه الأجهزة. في الختام، اعتماداً على جرعة وحجم AgNPs ، سبب هذا المعدن آثار ضارة في أجسام الكائنات الحية.

الكلمات الرئيسية : سمية حادة ، جسيمات نانوية فضية ، جرعة ، حجم .

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier la toxicité aiguë des nanoparticules d'argent *in vivo*, en fonction des paramètres biochimiques et hématologiques, ainsi que sur quelques paramètres de stress oxydatif, l'histopathologie de certains organes après le traitement par différentes doses et tailles de nanoparticules d'argent (AgNPs). Les résultats obtenus montrent, une variation du poids corporel et les signes cliniques, les paramètres hématologiques, une altération de la fonction des enzymes telles que (AST, ALT, PAL) et détérioration des taux sériques de (TB, ALB, TP). Ainsi, les résultats ont montré que les AgNPs ont affecté le système de défense antioxydant, et l'étude histologique a exhibé quelques altérations du tissu de foie et rate principalement dépend de l'accumulation de métal dans ces organes. En conclusion, dépendant à la dose et la taille d'AgNPs, ce métal causé des effets nuisibles dans les corps des êtres vivants.

Mots clés : toxicité aiguë, nanoparticules d'argent, dose, taille.

Abstract

The objective of this work is to study the acute toxicity of silver nanoparticles *in vivo*, based on biochemical and hematological parameters, as well as on some parameters of oxidative stress, the histopathology of certain organs after treatment by differential doses and sizes of silver nanoparticles (AgNPs). The results obtained shows, a variation in body weight and clinical signs, hematological parameters, an alteration in the function of enzymes such as (AST, ALT, PAL) and deterioration of serum levels of (TB, ALB, TP). Thus, the results showed that AgNPs affected the antioxidant defense system, and the histological study exhibited some alterations of liver tissue and spleen mainly depends on the accumulation of metal in these organs. In conclusion, depending on the dose and size of AgNPs, this metal caused harmful effects in the bodies of living things.

Keywords: acute toxicity, silver nanoparticles, dose, size.