Discussion

Les nanoparticules peuvent se retrouver dans tous les compartiments environnementaux (eau, sol et air). Par conséquent, l'ensemble des espèces de la Chaîne alimentaire, peut être exposé aux nanoparticules. L'accumulation des polluants anthropogéniques dans le réseau trophique avait déjà été montrée (**Thomann, 1989),** il est important d'évaluer le comportement des nanoparticules manufacturées dans les populations d'organismes constituant les premiers maillons de la chaîne alimentaire
(Angélique, 2008).

Les paramètres biochimiques chez les organismes exposés aux contaminants toxiques ont été utilisés comme biomarqueurs et peuvent constituer un importante outil de diagnostic pour évaluer l'exposition et les effets des xénobiotiques **(Forbes *et al*., 1997; McLoughlin et al., 2000).**

Le stress oxydant qui résulte d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et leur élimination par les défenses anti oxydantes, contribue à l'initiation et à la progression de plusieurs maladies. Les RL sont très réactifs et peuvent attaquer, s'ils ne sont pas détruits, différentes cibles telles que les protéines, l'ADN et surtout les acides gras poly insaturés (peroxydation lipidique) **(Boussekine, 2014).**

1- Effet d'oxyde de fer Fe3O4 (NPs) sur le poid relatif de foie et les paramètres biochimiques sanguins (transaminase : TGO et TGP)

Les transaminases (ou amino transférases) sont des enzymes hépatocytaires (originaire du foie), dont la fonction est de catalyser des réactions de transfert d'un groupe aminé d'un acide alpha-aminé à un acide alphacétonique.

- ✓ Transaminase Glutamate Oxaloacétique (TGO) ou AspertateAminotransférase (ASAT).
- ✓ Transaminase Glutamate pyruvate (TGP) ou Alanine Aminotransfirase (ALAT) Ces transaminases se trouve dans le foie, les reins, le cœur les muscles squelettiques. **(Astier- the fenne *et al*., 2001) (Ardle *et al*., 2004).**

Notre étude a montré que l'exposition au nanoparticule de Fe_3O_4 (NPs) à des doses différentes pendant 2 mois de traitement. Diminution non significative de poids relatif du foie ($p>0,05$) par rapport au témoin. Ceci explicable ; d'une part par l'hypertrophie tissulaire ou hépatomégalie et la destruction des cellules hépatiques, L'infracteur de myocarde et de myopathie. Aussi l'augmentation de TGP résulte d'une hépatite virale ou microbienne et l'hépatite toxique ou médicamenteuse **(Saidi, 2007).**

Associe à une augmentation modéré des transaminases (TGO) signe d'une inflammation, nécrose, cirrhose et altération hépatique, ces résultats qui confirmé par les travaux de **Yu-Mei *et al*. (2009)**

D'après les analyses médicales des transaminases TGO, TGP sériques on observe une augmentation très hautement significative dépendant de la dose.

Aussi la diminution des poids relatifs des organes des animaux est indicatrice de la toxicité de la substance utilisé au cour du traitement. Nos résultats sont accord avec les données bibliographiques de **Aouachria et Aounalla, (2015)** et l'augmentation significative observée dans le taux de ces enzymes indique une lésion des cellules hépatiques et l'accumulation des acides aminés comme l'alanine dans le sang provenant de la dégradation des protéines du corps.

Cette suggestion été appuyé par les résultats de **Aicha et Elham, (2000)** qui ont attribué ces augmentation dans les activités de TGO et TGP sérique aux changements dégénératifs et les effets destructeurs Fe_3O_4 (NPs) sur les tissus hépatiques par conséquent, libérant leur enzymes intracellulaire dans la circulation sanguine.

Autre étude qui explique cette résultat: le mécanisme de cytotoxique induit par le cadmium, dans les hépatocytes qui a démontré que le cadmium induit une augmentation des transaminases ce qui induit une lésion hépatique et s'explique par la fuite des enzymes de tissu vers le plasma due à l'altération de perméabilité membranaire.

Et aussi ces résultats sont ont accord avec les donnés bibliographiques de **pari et Murugavel, (2005)** chez les poulets et **Tandon, *et al*., (1992),** chez les rats qui ont déclaré l'augmentation de ces enzymes.

2- *Effet d'oxyde de fer Fe_3O_4 (NPs) sur les métabolites tissulaires (glucides, lipides et proteines)*

Les glucides, communément appelés sucres, sont une source essentielle d'énergie pour l'organisme. Ils sont apportés via l'alimentation grâce à la destruction des aliments en nutriments par les enzymes digestives et absorbés au niveau intestinal. Ils peuvent être utilisés directement par l'organisme ou stockés sous forme de glycogène dans les muscles et le foie pour constituer des réserves rapidement mobilisables.

Le traitement par le Fe_3O_4(NPs) a diffèrent dose (50, 75, 100 et 125 mg/kg/J) pendant 2 mois chez les lapins est capable de modifier les taux généraux des métabolites hépatiques en comparaison avec de témoin, ces modification reflètent une perturbation générale de métabolisme qui est en encorde avec le travail de **(Rouabhi, 2007).**

L'augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) de taux des glucides hépatiques chez les lapins traité par la dose 50mg/kg/j par contre les autres lots en observe une augmentation non significative, en explique augmentation par les effets inhibiteur Fe_3O_4(NPs) sur l'activité enzymatique et l'arrêt de la chaine de transport. Résultant une accumulation endocellulair du glucide.

Les lipides sont des molécules organiques insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques apolaires comme benzène, chloroforme, éther…, ils sont caractérisés par la présence dans la molécule d'au moins un acide gras ou chaîne grasse. Sont rattachés aux lipides, en raison de leur insolubilité dans l'eau, le cholestérol, les stéroïdes, la vitamine D.

Nos résultat révèlent une diminution significative($P \leq 0.05$) chez les lapins traite par Fe_3O_4 (NPs) a diffèrent dose par rapporte au témoin. Cette diminution expliquée par la dégradation des lipides hépatiques par l'activation de la peroxydation lipidique. Celle voie stimule par les radicaux libres en cas de stress oxydatif génère par le Fe_3O_4 (NPs) notre résultat confirmé par le taux de l'MDA dans le foie (augmentation significative) **(Ferrat et *al*., 2003)** chez les lots traite par rapport au témoins.

Il montre également les résultats de l'utilisation du cadmium mêmes résultats **(Gasmi, Torchane, 2014)**

Dans notre travail, nous avons mis en évidence que le taux des protéines dans le foie augmente très hautement significative d'une manière dose –dépendante en présence

deFe_3O_4(NPs), ces résultats vont dans le même sens que ceux de **Peccini et *al*,. 1994, Masaya et *al*., (2002*)*** qui ont mis en évidence une augmentation significative du taux de protéines totales sous l'effet d'un stress chimique chez des modèles biologiques différents (têtards, protistes ciliés, lapins).

Les effets expliqués par l'induction de la synthèse des protéines de stress par les effets de la peroxydation lipidique généré par ROS **(Michaet et al., 1982).**
Notre hypothèse est que l'augmentation du taux de protéines totales pourrait être liée au déclenchement du processus de détoxication mis en jeu par ce système de régulation, qui se compose d'enzyme, des protéines et de molécules antioxydants **(Nzengue, 2008).**

3- Effet d'oxyde de fer Fe_3O_4 (NPs) sur les paramètres biochimiques tissulaires (MDA, GSH, GST, GPx et CAT)

L'MDA C'est un marqueur génère secondairement par la peroxydation lipidique provoquée par une altération de la membrane plasmique à travers l'attaque des acides gras polyinsaturé.

Cette lipoperoxydation membranaire semble dépend de l'organe qui accumule le plus de métal, et due à un effet indirect de Fe_3O_4 (NPs) par les radicaux libres **(Aouachria et aounallah, 2015).**

Au cours de notre travail nous avons enregistré une augmentation très hautement Significative de taux de MDA hépatique chez les lapins traite par le Fe_3O_4(NPs) par rapport au témoin.

Ce résultat est confirmé par les études de ***El –Sharaky, et al*., (2007)** ; qui présent le rôle de sélénium dans le traitement d'intoxication rénal par le cadmium.

Face au dommage oxydatif causé par les radicaux libres oxygénés (souvent endogènes), et à l'effet toxique provoqué par les métabolites actifs des xénobiotiques, la cellule vivante peut se défendre grâce à plusieurs systèmes de détoxification dont le plus important est celui du glutathion. Cette propriété réside dans sa grande capacité de détoxifier un grand nombre de composés dont l'organisme vivant n'a pas besoin. Ces composés nuisibles peuvent être endogéniques (métabolites actifs des hormones), ou exogéniques (métabolites toxiques des xénobiotiques).

De notre travail le traitement par les différentes doses d'oxyde de fer Fe_3O_4 (NPs) chez les lapins pendant 2 mois résulte une diminution non significative de taux de GSH dans tous les lots expérimentaux par rapport au témoin.

En explique cette diminution probablement par :

- L'absence d'utilisation de GSH par l'enzyme GPX et GST inhibée.
- Ou d'une modification structurale au niveau de GSH (effet directe d'oxyde de fer ; fixation de Fe_3O_4 (NPs) aves le substrat GSH).

La diminution du taux de la GSH a été également signalée chez plusieurs espèces animales traitées par divers xénobiotiques : Selon **Drarja-Beldi et Soltani, (2003) ; Zaidi, (2005),** l'exposition des poissons femelles de *G.affinis*au diflubenzuron provoque également une réduction du taux de GSH hépatique. **Wistar (*Ratusratus)*, Merzoug, (2005)**, a observé également après 45 jours de traitement, une diminution de la teneur hépatique en glutathion. Une diminution de la GSH a été rapportée par **Thoma** et **Wofford, (1984)** chez le Mulet (*Mugilcephalus*) après une exposition à un mélange de cadmium et de mercure.

La GST est une enzyme qui catalyse dans le cytosol la réaction de conjugaison des xénobiotiques à caractère électrophile et de leurs métabolites avec un ligand endogène polaire qui est le glutathion **(Habig et *al*.1974).** Cette enzyme a été employée dans le laboratoire et dans les études sur terrain comme biomarqueur pour plusieurs contaminants **(Alman*et al.*, 1998 ; Fenet, 1998 ; Yu*et al*., 2000 ; 2002).** En marge de la GST cytosolique, il existe la GST membranaire, une isoenzyme qui est activée par les espèces réactives de l'oxygène. Elle participe à la protection cellulaire vis-à-vis des dommages induits par des molécules oxydantes **(Aniya et Anders, 1989).**

De notre travail le traitement par les différentes doses d'oxyde de fer Fe_3O_4 (NPs) chez les lapins pendant 2 mois résulte une diminution significative de taux de GST dans tous les lots expérimentaux par rapport au témoin.

L'induction de l'activité de la GST a été observée par **Leinio *et al*. (2005)** chez *Perna viridis*exposé aux hydrocarbures aromatiques polycycliques et aux pesticides organochlorés et par **Yao *et al.*, (2002)** chez *Sogatellafurcifera,* un insecte ravageur de riz récolté au niveau du site pollué de Zhejianj (Chine).

D'après les résultats de notre travail, nous constatons que la diminution significative de l'activité de GST est accompagnée de la diminution non significative du taux de GSH.
L'inhibition de l'activité de GST s'explique par la carence et l'absence de biotransformation des xénobiotiques et des substances androgéniques. La GST joue donc un rôle important dans la neutralisation et la détoxication de certains xénobiotiques en augmentant leur hydrosolubilité et en facilitant ainsi leur élimination **(Vander et *al*., 2003).**

La catalase est une enzyme du système antioxydant. Elle est majoritairement localisée dans le cytosol et dans les péroxysomes principalement du foie et des reins où elle catalyse la réduction du péroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. Sa rapidité est l'une de ses caractéristiques, elle peut convertir 40 millions de molécules de péroxyde d'hydrogène en une seule seconde.

Elle apporte une information importante quant à l'exposition des organismes à des polluants inducteurs de stress oxydant et à leur capacité de défense vis-à-vis de ce dernier. Elle peut être mesurée soit par détermination monomérique de l'oxygène dégagé soit par dosage par le permanganate du H_2O_2 non transformé.
Dans notre travail les résultats ont montré que les différentes doses de Fe_3O_4 (NPs) utilisées ont causé une diminution très hautement significative de l'activité de catalase dans le foie des lapins.

D'autres études montrent une diminution de l'activité CAT **(Ognjanovie et al, 2008.)** chez les rats après la contamination par (15mg/kg de masse corporelle sur jour) de cadmium, une augmentation de la CAT a été aussi observée chez les poissons R*hamdia quelen* après 7 et 14 jours du traitement par le cadmium **(Pretto, *et al*., 2011)**.

L'activité du système antioxydant subit une augmentation ou une inhibition sous l'effet d'un stress (**Winston. 1991).**

Parmi ces systèmes de défense enzymatiques le glutathion peroxydase (GSH-Px ou GPx) joue un rôle principal dans la protection de l'organisme contre les dommages induits par le peroxyde d'hydrogène H_2O_2, mais aussi des peroxydes organiques formés par oxydation des acides gras ou du cholestérol. Une diminution très hautement significative dans le taux de GPx a été observée chez les lots traités par le Fe_3O_4 (NPs) de diffèrent dose en comparaison avec le témoin **(Zhu et al. 2010).**

En explique cette diminution par :

- La modification structurale de substrat GSH
- Ou l'inhibition d'enzyme GPx exacte le site actif

Nos résultats sont en accord avec les travaux de **(Zhu et al. 2010),**utilisant l'oxyde de titane (5 et 10 mg / L) sur *Daphnia magna*, qui montre une augmentation progressive de l'activité GPx en fonction de la concentration de NPs. les mêmes effets ont été observé chez '*Helix pomatia* traités par le Cu (100 µM), ceci serait dû au mécanisme de défense primaire contre les espèces réactives de l'oxygène «ERO» qui catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en H_2O dans les cellules de l'hépatopancréas (**Halliwell et Chirico, 1993).**

4- Changements comportementaux et morphologiques

L'analyse des résultats a montré des changements comportementaux qui touchent les lapins après l'administration de Fe_3O_4(NPs) à diffèrent dose par rapport au temoin. Ces effets sont la réponse des résultats passés (poids relatif, GSH, CAT, MAD, GPx, GST, TGO, TGP…), parce que Fe_3O_4(NPs) capable d'induit un cas de stress par l'augmentation des radicaux libres, l'inhibition enzymatiques et la dégradation cellulaire, elle est capable de changer le comportement de ces lapins et causer plusieurs symptômes et maladies.

Le fer soit un élément essentiel à la vie, une augmentation de sa concentration en milieu cellulaire peut générer la formation de ROS **(Alberts et *al*., 1983).** Or, dans la plupart de leurs applications, les nanoparticules d'oxyde de fer sont en contact avec les cellules voire le milieu intracellulaire. Il est donc probable que les interactions nanoparticules d'oxyde de fer/cellules ne soient pas anodines. C'est notamment le cas des nanoparticules de magnétite dont la toxicité vis-à-vis des cellules humaines a été démontré **(Berry et *al*., 2003 ; 2004).** Les nanoparticules d'oxyde de fer utilisées à des fins biomédicales **(Gupta et *al*., 2005)** sont généralement fonctionnalisées en surface via le greffage de composés organiques **(Kim et *al*., 2001 ; Goetze et *al*., 2002 ; Lacava et*al*., 2002 ; Chunfu et *al*., 2004 ; Xu et *al*., 2005 ; Kim et *al*., 2005).** Cette couche organique limite les contacts directs entre le fer des nanoparticules et les composants cellulaires.