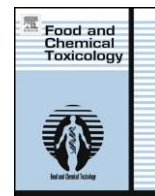


Les listes de contenu sont disponibles sur [ScienceDirect](#)

# Food and Chemical Toxicology

page d'accueil de la revue :



## Évaluation des aspects toxicologiques potentiels de l'exposition alimentaire à la spiruline riche en silicium chez le rat



Joris Vidé <sup>a</sup>, Cindy Romain <sup>a</sup>, Christine Feillet-Coudray <sup>b</sup>, Béatrice Bonafos <sup>b</sup>,  
Jean Paul Cristol <sup>a</sup>, Gilles Fouret <sup>b</sup>, Jean-Max Rouanet <sup>a,1</sup>, Sylvie Gaillet <sup>a,b,1,\*</sup>

<sup>a</sup> Nutrition et Métabolisme, UMR 204 NUTRIPASS, Prévention de la malnutrition et des pathologies liées, Université de Montpellier, Place Eugène Bataillon, Montpellier 34095, France

<sup>b</sup> UMR 866 – Dynamique musculaire et métabolisme, Centre INRA Montpellier, 2 Place Viala, Montpellier 34060, France

### INFORMATIONS SUR

#### Historique de l'article :

Reçu le 26 janvier 2015

Accepté le 24 février 2015

Disponible en ligne le 14 mars 2015

#### Mots-clés :

Toxicité

Silicium

Spiruline

Rats

Statut d'oxydation

Inflammation

### L'ARTICLE

### RÉSUMÉ

Le silicium a des effets bénéfiques notamment sur les os et la peau et est important dans la physiopathologie cardiovasculaire. De plus, chez les rats spontanément hypertendus, il réduit l'hypertension et augmente les expressions des gènes antihypertenseurs et antiathérogènes dans l'aorte. Ainsi, l'incorporation de silicium dans la spiruline pourrait être un moyen de produire un supplément alimentaire biodisponible.

Les effets toxiques potentiels de la spiruline riche en silicium (SES) à travers les paramètres hématologiques et biochimiques et le statut inflammatoire et oxydatif ont été évalués dans le sang et le tissu hépatique des rats. L'étude a consisté en une expérience de 90 jours sur des rats mâles et femelles supplémentés par trois doses (28,5, 57 et 285 mg/kg de PC/jour) de SES. Aucune mortalité, aucun signe clinique anormal, aucun changement de comportement ni aucune constatation macroscopique n'ont été observés, quels que soient les groupes. Les paramètres hématologiques n'ont pas été modifiés dans les groupes traités par SES. Aucun changement marqué n'a été enregistré dans les paramètres biochimiques. Les activités des enzymes antioxydantes endogènes du foie (SOD, GPx, catalase) n'ont pas été modifiées quels que soient le sexe et la dose, tout comme les marqueurs du stress oxydatif (O<sub>2</sub><sup>•</sup>, TBARS, thiols) et de l'inflammation tels que l'IL-6 et le TNF-alpha.

Nos conclusions indiquent que la supplémentation alimentaire de spiruline riche en silicium chez les rats n'a pas d'effets secondaires nocifs

ni toxiques et pourrait être bénéfique surtout en cas de suspicion ou d'installation de pathologies dues au stress oxydatif.

© 2015 Elsevier Ltd. Tous droits réservés.

## 1. Introduction

Le silicium est un élément très important dans le monde vivant (Exley, 1998). Il est soluble essentiellement sous forme d'acide orthosilicique Si(OH)<sub>4</sub> dans les eaux de surface. Mais au-delà de 2 mM et à pH neutre, cet acide se polymérise en diverses formes de silice (solide colloïdal) (Refitt et al., 2003) peu ou pas soluble. Au pH biologique, la chimie du silicium en solution concerne principalement l'acide orthosilicique (Knight et Kinrade, 2001) qui peut former des complexes stables avec des molécules contenant des groupes hydroxyles (Ingri, 1978). Le silicium a été identifié comme étant associé à diverses biomolécules, notamment des protéines et des hydrates de carbone (Bond et McAuliffe, 2003). Le silicium est indispensable à la croissance des cellules et des tissus trophiques chez l'homme comme chez l'animal et, à ce titre, il est un élément essentiel. Son absorption digestive est fonction de sa présentation chimique. Naturellement, le silicium est

<sup>1</sup> Les deux auteurs ont contribué à ce travail à parts égales.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2015.02.021>

0278-6915/© 2015 Elsevier Ltd. Tous droits réservés.

\* Correspondance avec l'auteur. UMR NutriPass, CC 023, Université de Montpellier, Place Eugène Bataillon, 34095 Montpellier Cedex 05, France. Tél. : +33 467 143 520 ; fax : +33 04 67 14 35 21.

Adresse électronique : [gaillet@univ-montp2.fr](mailto:gaillet@univ-montp2.fr) (S. Gaillet).

essentiellement sous une forme insoluble, donc peu disponible (silicium minéral). En revanche, même sous une forme soluble,

le silicium est légèrement stable car il a tendance à se polymériser rapidement à haute concentration, ce qui est le cas de l'acide orthosilicique  $\text{Si}(\text{OH})_4$  qui est la forme la plus soluble du silicium et qui a la meilleure biodisponibilité (Calomme et Vanden Berghe, 1997 ; Jugdaohsingh et al., 2002), bien qu'il reste sous une forme minérale.

L'absorption du silicium chez l'homme se fait en grande partie sous la forme d'acide orthosilicique  $\text{Si}(\text{OH})_4$  présent dans l'eau potable ou formé après l'hydrolyse des aliments par le tube digestif (Refitt et al., 1999). La majeure partie du silicium se trouvant sous forme de silice colloïdale est mal absorbée par l'organisme. Chez l'homme, l'apport quotidien est d'environ 20 à 50 mg et le corps en a besoin de 5 à 6 mg/jour (Anonyme, 2004).

L'importance biologique du silicium doit être considérée dans le contexte de sa répartition dans le corps. Les concentrations les plus élevées se trouvent dans les os et les tissus conjonctifs tels que l'aorte, la trachée, les tendons et la peau, où le silicium apparaît comme un acteur dans les processus de renouvellement par la synthèse du collagène et de l'élastine (Seaborn et Nielsen, 1993). Il a été rapporté que la supplémentation en silicium produit des effets bénéfiques sur ces tissus et en particulier sur les os (Jugdaohsingh, 2007) et la peau (Calomme et Vanden Berghe, 1997). La carence en silicium, en revanche, a été associée à des effets néfastes sur la minéralisation et la croissance des os ou sur l'élasticité et la cicatrisation de la peau (Carlisle,

1976). L'importance du silicium a également été démontrée dans la physiopathologie cardiovasculaire et en particulier dans la prévention de l'athérosclérose (Loeper et al., 1979). Une relation inverse entre l'ingestion de silicium et le développement de l'athérosclérose a été rapportée (Loeper et al., 1988), et chez des rats spontanément hypertendus, la supplémentation en silicium réduit l'hypertension et augmente l'expression des gènes antihypertenseurs et antiathérogènes dans l'aorte (Maehira et al., 2011). Ainsi, une supplémentation peut être justifiée pour prévenir ces effets, notamment en cas de suspicion ou d'installation de pathologies.

Une étape fondamentale consiste à transformer le silicium en une forme organique beaucoup plus assimilée par l'organisme que les formes minérales. C'est ce que nous avons obtenu en l'incorporant dans la spiruline.

La cyanobactérie *Spirulina platensis* est commercialement disponible pour la consommation humaine. La spiruline est une bonne source de vitamines et de minéraux et est utilisée comme supplément alimentaire nutraceutique sans effets secondaires toxiques (Chamorro et al., 1988). Elle est particulièrement adaptée à la production de composés bioactifs spécifiques qu'elle est capable d'accumuler sous une forme biotransformée de manière organique. Ainsi, de nouveaux types de suppléments alimentaires ont été développés et pourraient constituer une source riche d'oligo-éléments (Mazo et al., 2007). Le silicium est l'un de ces oligo-éléments essentiels à l'alimentation humaine.

L'incorporation de silicium dans la spiruline est un moyen de produire un supplément alimentaire biodisponible. Ainsi, étant donné les effets bénéfiques du silicium et les propriétés antioxydantes, hypolipidémiques et anti-inflammatoires de la spiruline (Deng et Chow, 2010), un supplément alimentaire a été préparé. Il a été démontré que la spiruline n'avait aucun effet toxique *in vivo* et *in vitro* et ne libérait pas de toxines (Heussner et al., 2012; Yang et al., 2011).

Alors que Buesen et al. (2014) ont rapporté que les nanomatériaux de dioxyde de silicium ne provoquent pas d'effets locaux ou systémiques lors d'une administration orale subaiguë chez le rat et que Horie et al. (2014) ont démontré que les nanoparticules de dioxyde de silicium n'exercent pas de puissants effets cytotoxiques sur les cellules en culture, d'autres ont montré que (i) le dioxyde de silicium augmentait les activités enzymatiques dans le plasma, indiquant une atteinte endothéliale des poumons (Deb et al., 2012), (ii) l'exposition aux nanoparticules de silice déclenchait un état pro-inflammatoire dans les cellules épithéliales bronchiques humaines (Skuland et al., 2014), (iii) le silicium sous forme de carbure de silicium n'induisait aucune cytotoxicité mais déclenchait des réponses pro-oxydantes et pro-inflammatoires d'intensité variable sur les macrophages RAW 264.7 (Boudard et al., 2014).

Ainsi, nous avons voulu étudier ici pour la première fois la sécurité et la toxicité potentielle de l'administration de doses répétées de spiruline riche en silicium (pendant 90 jours) sur des rats. La dose maximale administrée correspond à 5 fois la dose quotidienne recommandée pour l'homme par l'Autorité européenne de sécurité des aliments.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Matériels

La spiruline (produite par PhycoBiotech, Lunel, France) a été cultivée dans des bassins de 25 m<sup>3</sup> sous serre avec de la lumière naturelle, et la température a été contrôlée à 33 °C, dans un milieu de Zarrouk en présence de métagélat de sodium (Na<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Si). Ce milieu contenait du NaHCO<sub>3</sub>, 16,8 g/L ; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,5 g/L ; NaNO<sub>3</sub>, 2,5 g/L ; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1,0 g/L ; NaCl, 1,0 g/L ; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,2 g/L ; CaCl<sub>2</sub>, 0,04 g/L ; FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,01 g/L ; EDTA, 0,08 g/L ; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 2,86 mg/L ; MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 220 mg/L ; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 79 mg/L ; MoO<sub>3</sub>, 15 mg/L ; et Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>, 21 mg/L et recevait une légère aération (30 l/min) et un ajout de 0,03 %

de CO<sub>2</sub>. Le bassin a été continuellement agité par des pompes. À la fin de la culture, la biomasse a été récupérée et filtrée à travers une membrane de 40 µm, puis lavée soigneusement avec de l'eau distillée, congelée et lyophilisée. La spiruline obtenue contenait 1 % de silicium, comme indiqué par le fabricant.

### 2.2. Animaux et conception expérimentale

Trente mâles et trente femelles de rats Sprague-Dawley (Janvier-Labs, Le Genest-St-Isle, France) pesant ~100 g ont été logés à 23 ± 1 °C et ont été répartis aléatoirement dans cinq groupes de six animaux pour chaque sexe, puis soumis à un cycle lumière/obscurité de 12 h avec libre accès à la fois à la nourriture et à l'eau. Les rats ont été traités dans le respect des règles de l'Union européenne et selon les directives du NIH ((Conseil national

de la recherche, 1985) et du Comité pour la protection des animaux de l'Université de Montpellier (France).

Ils ont été nourris *ad libitum* avec un régime standard fourni par SAFE (Scientific Animal Food and Engineering, Augy, France) composé de 236 g/kg de caséine, 3,5 g/kg de L-méthionine, 300 g/kg d'amidon de maïs, 30 g/kg de maltodextrine 10, 290,5 g/kg de saccharose, 50 g/kg de cellulose, 45 g/kg d'huile végétale (10,3 % d'énergie du régime), 35 g/kg de mélange de minéraux et 10 mg/kg de mélange de vitamines. Les mélanges de vitamines et de minéraux ont été formulés conformément aux directives AIN-93 (Reeves et al., 1993). Les rats et les aliments non consommés étaient pesés chaque jour. Pour chaque sexe, les rats de chaque groupe ont reçu quotidiennement par gavage soit de l'eau du robinet (témoin, CTR), soit une suspension aqueuse de spiruline brute (SP) à une dose de 285 mg/kg de PC, soit de la spiruline riche en silicium (SES) à une dose de 28,5 mg/kg de PC (groupe SES1) ou de SES à une dose de 57 mg/kg de PC (groupe SES2), soit de SES à une dose de 285 mg/kg de PC (SES3) pendant 90 jours. Tous les animaux ont été observés deux fois par jour concernant l'aspect général, le comportement, les signes de morbidité et de mortalité (une fois avant le traitement et une fois après). La dose de SES2 (57 mg/kg de PC/jour) correspond aux recommandations de l'EFSA adaptées au rat (EFSA, 2004). La dose de SES1 (28,5 mg/kg de PC/j) est deux fois plus faible, tandis que la dose de SES3 est cinq fois plus élevée que celle de SES2.

### 23. Échantillonnage

À la fin de la période expérimentale, les rats ont été privés de nourriture pendant la nuit et des échantillons de sang ont été prélevés sous anesthésie par ponction cardiaque. Le foie a été perfusé avec du NaCl 0,15 M pour éliminer le sang résiduel, rapidement excisé, pesé, sectionné pour les analyses et stocké à -80 °C. Le cœur, la rate et les reins ont été rapidement excisés, séchés et pesés.

### 24. Paramètres hématologiques et biochimiques du plasma

Tous les échantillons ont été prélevés au début de la journée de travail afin de réduire les variations biologiques. Des tubes à essai contenant de l'EDTA, comme anticoagulant, ont été utilisés pour l'hématologie. Les paramètres hématologiques (globules rouges (RBC), hémoglobine, hématocrite, volume corpusculaire moyen (MCV), hémoglobine corpusculaire moyenne (MCH), concentration d'hémoglobine corpusculaire moyenne (MCHC), globules blancs (WBC), neutrophiles, éosinophiles, basophiles, lymphocytes, monocytes, plaquettes) ont été déterminés avec un analyseur automatisé de sang total ABX Pentra DX 120 (Horiba ABX, Montpellier, France).

Des tubes héparinés ont été utilisés pour la biochimie du sang. Tous les paramètres (urée, créatinine, cholestérol (CH), triglycéride (TG), chlorure (Cl), calcium (Ca), phosphore (P), bilirubine, aspartate transaminase (ASAT), alanine transaminase (ALAT) et gamma-glutamyl transférase (GGT)) ont été déterminés dans des échantillons de plasma, après centrifugation (2 500 tr/min, 15 min), avec un analyseur automatisé Cobas® 6000 (Roche, Meylan, France).

### 25. Statut d'oxydation

La production d'anions superoxyde du foie ( $O_2^{\bullet-}$ ) par la NADPH oxydase a été évaluée par l'intensité de la chimiluminescence améliorée par lucigénine (10  $\mu$ M de lucigénine), mesurée avec un luminomètre (Perkin Elmer Wallac, Victor, Turku, Finlande) sur des homogénats de tissus, comme décrit précédemment (Romain et al., 2012). Les résultats ont été exprimés en unités relatives de lumière (RLU/mg de protéine).

L'indice de peroxydation des lipides a été déterminé à partir de l'homogénat de foie en mesurant les espèces réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) selon Sunderman et al. (1985). Après la réaction de l'acide thiobarbiturique avec le malondialdéhyde, le produit de la réaction a été mesuré par spectrométrie à 532 nm. Les imperfections optiques ont été corrigées selon Allen (1950) à 508 et 556 nm. Les résultats ont été exprimés en nanomoles de TBARS par gramme de tissu.

Les thiols totaux (SH) ont été déterminés selon Faure et Lafond (1995). La méthode est basée sur la réaction de 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque) (DTNB) avec les échantillons produisant un produit jaune, l'acide thionitrobenzoïque (TNB), mesuré par spectrométrie à 412 nm. Les résultats ont été exprimés en nanomoles de SH par milligramme de protéine.

La teneur en protéines a été déterminée à l'aide d'un test commercial (Sigma, Saint Quentin Fallavier, France) selon la méthode de Smith et al. (1985) et en utilisant la sérum-albumine bovine comme norme.

Les tissus du foie ont été homogénéisés dans un tampon de phosphate 50 mM (pH 7,0) et centrifugés à 3 500 g pendant 15 min à 4 °C. L'activité de la superoxyde dismutase (SOD) a été dosée dans le surnageant selon la méthode de Marklund et Marklund (1974) et Marklund (1976), basée sur une compétition entre la réaction d'oxydation du pyrogallol par l' $O_2^{\bullet-}$  et la dismutation de l' $O_2^{\bullet-}$  par la SOD. Le produit de la réaction a été mesuré par spectrométrie à 320 nm. Les résultats ont été exprimés en activité unitaire par milligramme de protéine. L'activité de la glutathion peroxydase (GPx) a été évaluée selon la méthode de Flohé et Günzler (1984), et l'activité a été exprimée en milli-unités par milligramme de protéine. L'activité de la catalase (CAT) a été mesurée selon Beers et Sizer (1952). L'enzyme catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau. L'activité était exprimée en unités par milligramme de protéine.

### 26. Évaluation des facteurs inflammatoires

Pour la détermination des cytokines pro-inflammatoires, le tissu hépatique a été homogénéisé dans un tampon Tris 10 mM (pH 7,4) contenant du NaCl 2M, de l'EDTA 1 mM, du Tween 80 0,01 %, du phénylméthylsulfonyle fluorure 1 mM, et centrifugé à 9 000 g pendant 30 min à 4 °C.

Le ainsi obtenu a été utilisé pour la détermination des cytokines. Les niveaux du facteur de nécrose tumorale- $\alpha$  du foie (TNF jour  $\alpha$ ) et de l'interleukine-6 (IL-6) ont été quantifiés par ELISA en utilisant des kits commerciaux de R&D Systems (Lille, France).

### 2.7. Analyses statistiques

Les données sont indiquées sous forme de moyennes  $\pm$  SEM. L'analyse statistique des données a été effectuée à l'aide du logiciel StatView IV (Abacus Concept, Berkeley, CA) par une analyse de la variance à un facteur (ANOVA) suivie d'un test de Student. Les différences ont été considérées comme significatives à  $p < 0,05$ .

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Évaluation toxicologique à doses répétées (90 jours)

Tous les animaux ont survécu à la période de traitement de 90 jours. Aucun signe clinique anormal, aucun changement de comportement ni aucune constatation macroscopique n'ont été observés. Aucune différence significative n'a été constatée entre les groupes en ce qui concerne la consommation de nourriture (Tableau 1) et d'eau. Comme le montre le Tableau 1, il n'y a pas de différences significatives dans le gain de poids corporel. En ce qui concerne le poids des organes principaux, le traitement n'a eu aucun effet, sauf pour le poids du cœur des femelles SES2 qui était cependant à la limite de pertinence ( $p = 0,0476$ ).

### 3.2. Paramètres hématologiques et biochimiques

Certains paramètres hématologiques différaient entre les groupes témoins et certains groupes traités (Tableau 2). Chez les rats femelles, une diminution de 10 % du nombre de globules rouges est apparue, tout comme une augmentation significative du pourcentage de basophiles dans le groupe SES2 par rapport au groupe CTR. Il n'y a pas de différences entre les groupes mâles. En outre, toutes les valeurs se situaient dans les limites habituelles (Bailly et Duprat, 1990 ; Fallon, 1996).

Comme le montre le Tableau 3, les paramètres biochimiques n'ont pas été affectés quel que soit le groupe, sauf chez les rats femelles, qui ont montré une réduction de 29 % ( $p = 0,0028$ ), 21 % ( $p = 0,0223$ ) et 38 % ( $p = 0,0002$ ) de l'activité ALAT dans les groupes SP, SES2 et SES3 respectivement, par rapport aux témoins. Chez les rats mâles, aucun paramètre n'a changé, quelle que soit la dose administrée. Les rats femelles présentaient également des taux de triglycérides réduits, alors que les mâles non. Cependant, les données se situaient dans des fourchettes normales selon Moraillon et al. (2010).

**Tableau 1**

Poids du corps et des organes chez les rats témoins (CTR) et après un traitement de 90 jours avec de la spiruline brute (SP) à 285 mg/kg/PC/jour, ou de la spiruline riche en silicium à 28,5 (SES1), 57 (SES2) et 285 mg/kg/PC/jour (SES3).<sup>a</sup>

	Femelle				
	CTR	SP	SES1	SES2	SES3
Consommation alimentaire (g/jour)	21,3 $\pm$ 2,2	19,6 $\pm$ 3,6	21,6 $\pm$ 2,8	21,0 $\pm$ 1,9	21,9 $\pm$ 2,3
Prise de poids corporel (g)	216 $\pm$ 17	184 $\pm$ 8	193 $\pm$ 6	186 $\pm$ 10	213 $\pm$ 12
Poids des organes (% PC)					
Foie	3,00 $\pm$ 0,14	3,27 $\pm$ 0,12	3,03 $\pm$ 0,14	3,09 $\pm$ 0,08	2,85 $\pm$ 0,20
Coeur	0,34 $\pm$ 0,01	0,37 $\pm$ 0,01	0,37 $\pm$ 0,02	0,38 $\pm$ 0,01*	0,35 $\pm$ 0,01
Rate	0,17 $\pm$ 0,01	0,20 $\pm$ 0,15	0,19 $\pm$ 0,01	0,19 $\pm$ 0,01	0,19 $\pm$ 0,01
Reins	0,61 $\pm$ 0,01	0,67 $\pm$ 0,17	0,67 $\pm$ 0,03	0,66 $\pm$ 0,01	0,67 $\pm$ 0,03
	Mâle				
	CTR	SP	SES1	SES2	SES3
Consommation alimentaire (g/jour)	30,8 $\pm$ 3,9	29,7 $\pm$ 3,2	30,8 $\pm$ 3,0	29,9 $\pm$ 4,0	30,3 $\pm$ 3,7

### 3.3. État d'oxydation du foie

$O_2^{\circ-}$  est le principal radical libre et nous avons mesuré sa production dans le foie *via* l'activité de l'enzyme NADPH oxydase. Le niveau de TBARS a été analysé comme marqueur de la peroxydation des lipides, et le niveau de thiols totaux a été mesuré pour évaluer l'étendue des protéines du dommage oxydatif. Pour ces trois paramètres du stress oxydatif hépatique, il n'y a pas de

différence entre les groupes, à l'exception du groupe de femelles SES3 (Tableau 4). Seul le niveau de TBARS pour le groupe de femelles SES3 a augmenté de 97,5 % par rapport au groupe CTR et cela est probablement dû au fait que deux animaux du groupe ont répondu différemment, ce qui a conduit à des valeurs moyennes et SEM élevées. Cependant, l'activité de la NADPH oxydase, une enzyme pro-oxydante, mesurée par la production d' $O_2^{\circ-}$ , tout comme la teneur en thiols, n'a pas été modifiée quelle que soit la dose SES. Ces résultats suggèrent que le traitement par SES n'a induit aucun stress oxydatif. De plus, les femelles ont notamment montré une production d' $O_2^{\circ-}$  plus faible et un taux de thiols plus faible que les mâles, ce qui pourrait s'expliquer par une action œstrogénique puisque l'on sait qu'elle protège contre l'oxydation (Chakrabarti et al., 2014 ; Shwaery et al., 1998).

Les activités des enzymes antioxydantes du foie SOD, GPx et CAT n'ont pas été modifiées par le traitement par SES (Tableau 5). Comme nous l'avons vu plus haut pour la production d' $O_2^{\circ-}$  et de thiols, des activités SOD et GPx plus importantes sont apparues chez les femelles en raison des hormones œstrogéniques (Borrás et al., 2010 ; Wu et al., 2014).

### 3.4. État inflammatoire du foie

Les niveaux d'IL-6 et de TNF- $\alpha$  ont été mesurés en tant que marqueurs pro-inflammatoires. Comme le montre le Tableau 6, les deux niveaux n'étaient pas significativement différents entre les groupes. Cela suggère que le traitement SES ne déclenche pas d'état inflammatoire, ce qui renforce les valeurs obtenues sur l'état de stress oxydatif. En fait, le stress oxydatif et l'inflammation sont étroitement liés. Les voies qui génèrent des médiateurs de l'inflammation tels que les interleukines sont étroitement liées au stress oxydatif (Reuter et al., 2010).

## 4. Conclusions

Cette étude représente les premières données toxicologiques standard sur la spiruline riche en silicium. Aucune anomalie hématologique ou biochimique n'a été constatée. Le traitement par SES n'a révélé aucun changement dans la consommation d'aliments

112	Prise de poids corporel (g)	469 ± 19	<i>J. Vidé et al./Food and Chemical Toxicology 80 (2015) 2108–2114</i>	476 ± 24	458 ± 18
	Poids des organes (% PC)				
	Foie	2,50 ± 0,13	2,72 ± 0,13	2,65 ± 0,06	2,50 ± 0,13
	Cœur	0,28 ± 0,01	0,32 ± 0,03	0,28 ± 0,01	0,29 ± 0,01
	Rate	0,23 ± 0,01	0,26 ± 0,02	0,21 ± 0,01	0,25 ± 0,01
	Reins	0,52 ± 0,01	0,53 ± 0,01	0,51 ± 0,02	0,54 ± 0,01

<sup>a</sup> Les données sont exprimées en moyenne ± SEM.

\* P < 0,05 par rapport aux rats non traités (groupe CTR).

**Tableau 2**

Paramètres hématologiques chez les rats témoins (CTR) et après un traitement de 90 jours avec de la spiruline brute (SP) à 285 mg/kg/PC/jour, ou de la spiruline riche en silicium à 28,5 (SES1), 57 (SES2) et 285 mg/kg/PC/jour (SES3).<sup>a</sup>

	Femelle				
	CTR	SP	SES1	SES2	SES3
RBC ( $\times 10^4/\text{mm}^3$ )	720 $\pm$ 17	707 $\pm$ 16	729 $\pm$ 26	647 $\pm$ 38*	703 $\pm$ 28
Hémoglobine (g/dL)	14,40 $\pm$ 0,40	14,18 $\pm$ 0,48	13,38 $\pm$ 0,48	13,40 $\pm$ 0,20	14,27 $\pm$ 0,59
Hématocrite (%)	38,90 $\pm$ 0,93	39,70 $\pm$ 1,25	39,80 $\pm$ 1,53	37,30 $\pm$ 0,40	39,40 $\pm$ 1,25
MCV (fl)	53,80 $\pm$ 0,80	54,30 $\pm$ 0,76	54,50 $\pm$ 0,56	54,30 $\pm$ 0,33	54,20 $\pm$ 0,75
MCH (pg)	20,0 $\pm$ 0,40	20,10 $\pm$ 0,29	19,00 $\pm$ 0,50	19,60 $\pm$ 0,31	20,30 $\pm$ 0,30
MCHC (g/dL)	36,90 $\pm$ 0,28	35,80 $\pm$ 0,63	35,90 $\pm$ 0,97	35,90 $\pm$ 0,58	36,20 $\pm$ 0,40
WBC ( $\times 10^2/\text{mm}^3$ )	27,0 $\pm$ 4,0	24,0 $\pm$ 1,4	28,0 $\pm$ 2,7	25,0 $\pm$ 4,8	28,0 $\pm$ 3,4
Neutrophiles (%)	12,00 $\pm$ 1,74	13,50 $\pm$ 1,15	13,20 $\pm$ 1,03	12,40 $\pm$ 0,72	13,00 $\pm$ 0,80
Éosinophiles (%)	0,60 $\pm$ 0,18	0,60 $\pm$ 0,25	0,50 $\pm$ 0,16	0,90 $\pm$ 0,16	0,70 $\pm$ 0,24
Basophiles (%)	0,17 $\pm$ 0,03	0,23 $\pm$ 0,03	0,28 $\pm$ 0,03	0,32 $\pm$ 0,06*	0,23 $\pm$ 0,04
Lymphocytes (%)	86,3 $\pm$ 1,9	84,4 $\pm$ 1,1	85,0 $\pm$ 1,2	85,8 $\pm$ 0,7	85,0 $\pm$ 0,9
Monocytes (%)	0,9 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,0*	1,0 $\pm$ 0,1
Plaquettes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	697 $\pm$ 82	698 $\pm$ 76	710 $\pm$ 63	638 $\pm$ 112	597 $\pm$ 43
	Mâle				
	CTR	SP	SES1	SES2	SES3
RBC ( $\times 10^4/\text{mm}^3$ )	821 $\pm$ 40	791 $\pm$ 47	757 $\pm$ 77	823 $\pm$ 20	732 $\pm$ 38
Hémoglobine (g/dL)	14,82 $\pm$ 0,63	14,95 $\pm$ 0,99	13,70 $\pm$ 1,29	14,98 $\pm$ 0,21	13,86 $\pm$ 0,72
Hématocrite (%)	41,60 $\pm$ 1,81	42,80 $\pm$ 2,35	40,80 $\pm$ 3,86	42,20 $\pm$ 0,66	39,50 $\pm$ 1,86
MCV (fl)	50,80 $\pm$ 0,86	51,30 $\pm$ 0,33	51,80 $\pm$ 0,60	51,50 $\pm$ 0,86	52,20 $\pm$ 0,54
MCH (pg)	18,10 $\pm$ 0,37	18,90 $\pm$ 0,59	18,30 $\pm$ 0,21	18,30 $\pm$ 0,28	18,60 $\pm$ 0,20
MCHC (g/dL)	35,70 $\pm$ 0,37	36,70 $\pm$ 1,01	35,30 $\pm$ 0,29	35,50 $\pm$ 0,13	35,60 $\pm$ 0,21
WBC ( $\times 10^2/\text{mm}^3$ )	68,0 $\pm$ 8,7	66,0 $\pm$ 1,1	54,0 $\pm$ 7,4	58,0 $\pm$ 6,6	60,0 $\pm$ 1,1
Neutrophiles (%)	10,20 $\pm$ 1,55	11,00 $\pm$ 1,37	10,20 $\pm$ 0,61	11,20 $\pm$ 1,91	7,90 $\pm$ 0,46
Éosinophiles (%)	0,40 $\pm$ 0,18	0,60 $\pm$ 0,16	0,40 $\pm$ 0,14	0,30 $\pm$ 0,03	0,40 $\pm$ 0,08
Basophiles (%)	0,10 $\pm$ 0,03	0,13 $\pm$ 0,04	0,20 $\pm$ 0,09	0,13 $\pm$ 0,05	0,12 $\pm$ 0,03
Lymphocytes (%)	87,2 $\pm$ 1,7	86,4 $\pm$ 1,6	87,5 $\pm$ 1,0	86,6 $\pm$ 1,9	98,5 $\pm$ 0,5
Monocytes (%)	2,0 $\pm$ 0,4	1,9 $\pm$ 0,3	1,7 $\pm$ 0,4	1,8 $\pm$ 0,1	2,1 $\pm$ 0,6
Plaquettes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	646 $\pm$ 71	602 $\pm$ 74	528 $\pm$ 74	590 $\pm$ 782	561 $\pm$ 97

<sup>a</sup> Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM.

\* P < 0,05 par rapport aux rats non traités (groupe CTR).

**Tableau 3**

Paramètres biochimiques sanguins chez les rats témoins (CTR) et après un traitement de 90 jours avec de la spiruline brute (SP) à 285 mg/kg/PC/jour, ou de la spiruline riche en silicium à 28,5 (SES1), 57 (SES2) et 285 mg/kg/PC/jour (SES3).<sup>a</sup>

	Femelle				
	CTR	SP	SES1	SES2	SES3
Urée (mmol/L)	5,04 $\pm$ 0,43	4,79 $\pm$ 0,46	5,93 $\pm$ 0,36	5,51 $\pm$ 0,47	4,72 $\pm$ 0,31
Créatinine ( $\mu\text{mol/L}$ )	32,28 $\pm$ 2,16	32,77 $\pm$ 3,11	34,82 $\pm$ 1,31	36,00 $\pm$ 4,20	30,68 $\pm$ 1,38
CH (mmol/L)	2,74 $\pm$ 0,32	2,51 $\pm$ 0,40	2,38 $\pm$ 0,27	1,97 $\pm$ 0,08	2,01 $\pm$ 0,12
TG (mmol/L)	2,21 $\pm$ 0,53	0,80 $\pm$ 0,13*	0,90 $\pm$ 0,17*	0,64 $\pm$ 0,06*	1,14 $\pm$ 0,11
Cl (mmol/L)	97,30 $\pm$ 0,84	98,20 $\pm$ 0,70	98,50 $\pm$ 0,85	98,30 $\pm$ 0,33	98,00 $\pm$ 0,45
Ca (mmol/L)	2,72 $\pm$ 0,04	2,70 $\pm$ 0,05	2,66 $\pm$ 0,06	2,65 $\pm$ 0,02	2,70 $\pm$ 0,03
P (mmol/L)	1,71 $\pm$ 0,10	1,87 $\pm$ 0,15	1,49 $\pm$ 0,08*	1,85 $\pm$ 0,07	2,00 $\pm$ 0,15
Bilirubine ( $\mu\text{mol/L}$ )	2,50 $\pm$ 0,22	2,33 $\pm$ 0,21	2,00 $\pm$ 0,00	2,33 $\pm$ 0,21	2,33 $\pm$ 0,21
ASAT (U/L) <sup>b</sup>	85,60 $\pm$ 4,21	86,20 $\pm$ 6,17	82,40 $\pm$ 7,84	86,40 $\pm$ 3,98	75,83 $\pm$ 3,14
ALAT (U/L) <sup>b</sup>	37,2 $\pm$ 2,35	26,20 $\pm$ 2,92*	31,00 $\pm$ 2,70	29,50 $\pm$ 1,65*	23,00 $\pm$ 1,63*
GGT (UI/L) <sup>b</sup>	3,33 $\pm$ 0,66	3,80 $\pm$ 0,37	4,00 $\pm$ 0,68	3,33 $\pm$ 0,42	4,50 $\pm$ 0,50
	Mâle				
	CTR	SP	SES1	SES2	SES3
Urée (mmol/L)	5,73 $\pm$ 0,15	6,04 $\pm$ 0,31	6,57 $\pm$ 0,44	6,54 $\pm$ 0,22	6,51 $\pm$ 0,32
Créatinine ( $\mu\text{mol/L}$ )	38,80 $\pm$ 1,03	40,28 $\pm$ 0,99	39,08 $\pm$ 1,73	39,23 $\pm$ 1,57	37,63 $\pm$ 2,78
CH (mmol/L)	1,71 $\pm$ 0,09	1,57 $\pm$ 0,03	1,71 $\pm$ 0,08	1,51 $\pm$ 0,09	1,50 $\pm$ 0,06
TG (mmol/L)	1,03 $\pm$ 0,08	1,04 $\pm$ 0,15	1,31 $\pm$ 0,17	1,14 $\pm$ 0,07	0,98 $\pm$ 0,14
Cl (mmol/L)	98,50 $\pm$ 1,15	97,50 $\pm$ 0,56	97,20 $\pm$ 0,31	98,00 $\pm$ 0,63	98,00 $\pm$ 0,84
Ca (mmol/L)	2,68 $\pm$ 0,06	2,62 $\pm$ 0,02	2,68 $\pm$ 0,02	2,68 $\pm$ 0,02	2,65 $\pm$ 0,05
P (mmol/L)	2,28 $\pm$ 0,08	2,25 $\pm$ 0,05	2,41 $\pm$ 0,72	2,27 $\pm$ 0,06	2,46 $\pm$ 0,05
Bilirubine ( $\mu\text{mol/L}$ )	2,17 $\pm$ 0,17	2,00 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,00	2,17 $\pm$ 0,17	2,00 $\pm$ 0,00
ASAT (U/L) <sup>b</sup>	106,60 $\pm$ 9,13	97,00 $\pm$ 2,70	90,60 $\pm$ 6,30	93,80 $\pm$ 5,72	96,33 $\pm$ 4,46
ALAT (U/L) <sup>b</sup>	46,80 $\pm$ 1,99	43,80 $\pm$ 2,76	44,80 $\pm$ 3,20	41,80 $\pm$ 3,66	44,60 $\pm$ 3,96
GGT (UI/L) <sup>b</sup>	0,83 $\pm$ 0,17	1,00 $\pm$ 0,00	1,33 $\pm$ 0,33	1,00 $\pm$ 0,00	0,83 $\pm$ 0,17

<sup>a</sup> Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. \* P < 0,05 par rapport aux rats non traités (groupe CTR).<sup>b</sup> ASAT : aspartate transaminase ; ALAT : alanine transaminase ; GGT : gamma-glutamyl transférase.

**Tableau 4**

Marqueurs de stress oxydatif chez les rats témoins (CTR) et après un traitement de 90 jours avec de la spiruline brute (SP) à 285 mg/kg/PC/jour, ou de la spiruline riche en silicium à 28,5 (SES1), 57 (SES2) et 285 mg/kg/PC/jour (SES3).<sup>a</sup>

	Femelle				
	CTR	SP	SES1	SES2	SES3
O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> (RLU/mg prot.)	1526 ± 229	1581 ± 222	1292 ± 134	1407 ± 234	1241 ± 178
TBARS (nmol/g)	292,2 ± 65,0	323,3 ± 88,4	389,9 ± 79,9	370,6 ± 88,6	577,3 ± 162,7*
SH (nmol/mg prot.)	98,0 ± 23,9	77,1 ± 24,7	81,3 ± 29,5	79,4 ± 17,0	75,0 ± 18,1
	Mâle				
	CTR	SP	SES1	SES2	SES3
O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> (RLU/mg prot.)	2432 ± 278	2593 ± 311	2312 ± 360	2115 ± 274	1947 ± 249
TBARS (nmol/g)	193,8 ± 64,4	191,3 ± 32,1	208,7 ± 36,6	227,9 ± 45,0	219,9 ± 45,3
SH (nmol/mg prot.)	87,4 ± 27,3	107,7 ± 13,4	102,2 ± 13,4	105,8 ± 10,1	101,2 ± 10,4

<sup>a</sup> Les données sont exprimées en moyenne ± SEM.

\* P < 0,05 par rapport aux rats non traités (groupe CTR).

**Tableau 5**

Activités enzymatiques antioxydantes du foie chez les rats témoins (CTR) et après un traitement de 90 jours avec de la spiruline brute (SP) à 285 mg/kg/PC/jour, ou de la spiruline riche en silicium à 28,5 (SES1), 57 (SES2) et 285 mg/kg/PC/jour (SES3).<sup>a</sup>

	Femelle				
	CTR	SP	SES1	SES2	SES3
SOD (U/mg prot.)	20,3 ± 1,8	20,9 ± 2,9	20,9 ± 3,3	20,7 ± 3,7	21,6 ± 2,5
GPx (mU/mg prot.)	6865 ± 202	6674 ± 571	7091 ± 892	6694,4 ± 384	7421 ± 636
CAT (U/mg prot.)	702 ± 89	691 ± 112	676 ± 175	628 ± 82	667 ± 98
	Mâle				
	CTR	SP	SES1	SES2	SES3
SOD (U/mg prot.)	17,5 ± 1,8	17,7 ± 3,1	18,2 ± 2,1	18,3 ± 2,6	17,2 ± 1,6
GPx (mU/mg prot.)	3338 ± 562	4203 ± 886	3674 ± 496	3884 ± 420	3556 ± 533
CAT (U/mg prot.)	728 ± 96	772 ± 134	711 ± 42	787 ± 108	749 ± 119

<sup>a</sup> Les données sont exprimées en moyenne ± SEM.

**Tableau 6**

Taux de cytokines pro-inflammatoires dans le foie chez les rats témoins (CTR) et après un traitement de 90 jours avec de la spiruline brute (SP) à 285 mg/kg/PC/jour, ou de la spiruline riche en silicium à 28,5 (SES1), 57 (SES2) et 285 mg/kg/PC/jour (SES3).<sup>a</sup>

	Femelle				
	CTR	SP	SES1	SES2	SES3
IL-6 (pg/mg prot.)	726,8 ± 149,9	719,2 ± 217,8	611,9 ± 209,5	849,7 ± 274,5	649,41 ± 125,1
TNF-α (pg/mg prot.)	417,6 ± 99,1	299,0 ± 99,0	457,8 ± 142,3	471,6 ± 73,5	418,1 ± 141,6
	Mâle				
	CTR	SP	SES1	SES2	SES3
IL-6 (pg/mg prot.)	1083,5 ± 476,1	1098,7 ± 411,3	1061,7 ± 449,8	873,4 ± 120,0	1063,7 ± 280,2
TNF-α (pg/mg prot.)	764,9 ± 244,1	634,0 ± 195,3	883,7 ± 373,1	837,8 ± 171,5	742,7 ± 260,0

<sup>a</sup> Les données sont exprimées en moyenne ± SEM.

et d'eau (non montré) et dans les comportements. Sur la base de ces résultats, la SES a été bien tolérée à des doses quotidiennes de 28,5, 57 et 285 mg/kg de poids corporel/jour pendant 90 jours chez les rats et il n'y a pas de preuves d'effets indésirables et de toxicité systémiques et hépatiques. En outre, aucun signe de stress oxydatif ou d'inflammation du foie n'a été observé, même avec la dose maximale de SES utilisée, ce qui démontre l'innocuité de ce supplément alimentaire.

Ces résultats suggèrent que la spiruline riche en silicium n'induit pas de changements physiologiques, biochimiques ou pathologiques défavorables et pourrait avoir des applications potentielles dans plusieurs situations où le stress oxydatif et/ou l'inflammation sont accrus, comme les maladies cardiovasculaires. Cela est conforme à Yang et al. (2011) et Heussner et al. (2012) en ce qui concerne la spiruline, et corrobore les conclusions de Buesen et al. (2014) et Horie et al. (2014) bien que le silicium ait été sous forme de nanoparticules de dioxyde de silicium dans ces deux dernières études. Par ailleurs, des recherches supplémentaires sont nécessaires

pour comprendre par quels mécanismes la SES pourrait protéger le système antioxydant.

### Conflit d'intérêts

Les auteurs déclarent qu'il n'y a pas de conflits d'intérêt.

### Document sur la transparence

Le [document sur la transparence](#) associé à cet article se trouve dans la version en ligne.

### Remerciements

Les auteurs remercient la société Phyco-Biotech pour son intérêt dans ce travail et son don généreux de spiruline. Joris Vidé



a été soutenu par une « subvention CIFRE » (Convention Industrielle de Formation par la Recherche, n° 0084/2012) de Phyco-Biotech (Montpellier, France) et de l'Association Nationale de la Recherche et de la Technologie.

## Références

- Allen, W.M., 1950. A simple method for analyzing complicated absorption curves used in the colorimetric determination of urinary steroids. *J. Clin. Endocrinol.* 10, 71–83.
- Anonymous, 2004. Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the commission related to the tolerable upper intake level of silicon. *EFSA J.* 60, 1–11.
- Bailly, Y., Duprat, P., 1990. Normal blood cell values. *Rat. Hemopoietic Syst.* 27–38. doi:10.1007/978-3-642-84110-1; Monographs on Pathology of Laboratory Animals.
- Beers, R.F., Sizer, I.W., 1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J. Biol. Chem.* 195, 133–140.
- Bond, R., McAuliffe, J.C., 2003. Silicon biotechnology: new opportunities for carbohydrate science. *Aust. J. Chem.* 56, 7–11.
- Borrás, C., Gambini, J., López-Grueso, R., Pallardó, F.V., Viña, J., 2010. Direct antioxidant and protective effect of estradiol on isolated mitochondria. *Biochim. Biophys. Acta* 1802, 205–211.
- Boudard, D., Forest, V., Pourchez, J., Boumandi, N., Tomatis, M., Fubini, B., et al., 2014. In vitro cellular responses to silicon carbide particles manufactured through the Acheson process: impact of physico-chemical features on pro-inflammatory and pro-oxidative effects. *Toxicol. In Vitro* 28, 856–865.
- Buesen, R., Landsiedel, R., Sauer, U.G., Wohlleben, W., Groeters, S., Strauss, V., et al., 2014. Effects of SiO<sub>2</sub>, ZrO<sub>2</sub>, and BaSO<sub>4</sub> nanomaterials with or without surface functionalization upon 28-day oral exposure to rats. *Arch. Toxicol.* 88, 1881–1906.
- Calomme, M.R., Vanden Berghe, D.A., 1997. Supplementation of calves with stabilized orthosilicic acid. Effect on the Si, Ca, Mg, and P concentrations in serum and the collagen concentration in skin and cartilage. *Biol. Trace Elem. Res.* 56, 153–165.
- Carlisle, E.M., 1976. In vivo requirement for silicon in articular cartilage and connective tissue formation in the chick. *J. Nutr.* 106, 478–484.
- Chakrabarti, M., Haque, A., Banik, N.L., Nagarkatti, P., Nagarkatti, M., Ray, S.K., 2014. Estrogen receptor agonists for attenuation of neuroinflammation and neurodegeneration. *Brain Res. Bull.* 109, 22–31.
- Chamorro, G.A., Herrera, G., Salazar, M., Salazar, S., Ulloa, V., 1988. Subchronic toxicity study in rats fed Spirulina. *J. Pharm. Belg.* 43, 29–36.
- Deb, U., Lomash, V., Raghuvanshi, S., Pant, S.C., Vijayaraghavan, R., 2012. Effects of 28 days silicon dioxide aerosol exposure on respiratory parameters, blood biochemical variables and lung histopathology in rats. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 34, 977–984.
- Deng, R., Chow, T.J., 2010. Hypolipidemic, antioxidant, and anti-inflammatory activities of microalgae Spirulina. *Cardiovasc. Ther.* 28, e33–e45.
- EFSA, 2004. Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the commission related to the tolerable upper intake level of silicon. *EFSA J.* 60, 1–11.
- Exley, C., 1998. Silicon in life: a bioinorganic solution to bioorganic essentiality. *J. Biol. Inorg. Chem.* 69, 139–144.
- Fallon, M.T., 1996. Rats and mice. Dans : Laber-Laird, K., Swindle, M.M., Flecknell, P. (Eds.), *Handbook of Rodent and Rabbit Medicine*. Pergamon/Elsevier Science Ltd., Oxford, pp. 1–38.
- Faure, P., Lafond, J.L., 1995. Measurement of plasma sulfhydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation. Dans : Favier, A.E., Cadet, J., Kalnyanamam, B., Fontecave, M., Pierre, J.L. (Eds.), *Analysis of Free Radicals in Biological Systems*. Birkhauser Press, Basel, Boston, Berlin, pp. 237–248.
- Flohé, L., Günzler, W.A., 1984. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 105, 114–121.
- Heussner, A.H., Mazija, L., Fastner, J., Dietrich, D.R., 2012. Toxin content and cytotoxicity of algal dietary supplements. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 265, 263–271.
- Horie, M., Nishio, K., Kato, H., Endoh, S., Fujita, K., Nakamura, A., et al., 2014. Evaluation of cellular effects of silicon dioxide nanoparticles. *Toxicol. Mech. Methods* 24, 196–203.
- Ingri, N., 1978. Aqueous silicic acid, silicates and silicate complexes. Dans : Bendz, G., Lindquist, I. (Eds.), *Biochemistry of Silicon and Related Problems*. Plenum Press, New York, pp. 3–50.
- Jugdaohsingh, R., 2007. Silicon and bone health. *J. Nutr. Health Aging* 11, 99–110.
- Jugdaohsingh, R., Anderson, S.H., Tucker, K.L., Elliott, H., Kiel, D.P., Thompson, R.P., et al., 2002. Dietary silicon intake and absorption. *Am. J. Clin. Nutr.* 75, 887–893.
- Knight, C.T.G., Kinrade, S.D., 2001. A primer on the aqueous chemistry of silicon. Dans : Datnoff, G.H., Snyder, G.H., Korndöfer, G.H. (Eds.), *Silicon in Agriculture*. Elsevier, Amsterdam, pp. 57–84.
- Loeper, J., Goy-Loeper, J., Rozensztajn, L., Fragny, M., 1979. The antiatheromatous action of silicon. *Atherosclerosis* 33, 397–408.
- Loeper, J., Goy, J., Fragny, M., Troniou, R., Bedu, O., 1988. Study of fatty acids in atheroma induced in rabbits by an atherogenic diet with or without silicon I.V. treatment. *Life Sci.* 42, 2105–2112.
- Maehira, F., Motomura, K., Ishimine, N., Miyagi, I., Eguchi, Y., Teruya, S., 2011. Soluble silica and coral sand suppress high blood pressure and improve the related aortic gene expressions in spontaneously hypertensive rats. *Nutr. Res.* 31, 147–156.
- Marklund, S., 1976. Spectrophotometric study of spontaneous disproportionation of superoxide anion radical and sensitive direct assay for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 251, 7504–7507.
- Marklund, S., Marklund, G., 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* 47, 469–474.
- Mazo, V.K., Gmshinski, I.V., Zorin, S.N., 2007. New food sources of essential trace elements produced by biotechnology facilities. *Biotechnol. J.* 2, 1297–1305.
- Moraillon, R., Legeay, Y., Boussarie, D., Sénécat, O., 2010. *Dictionnaire pratique de thérapeutique chien, chat et NAC*. MASSON.
- National Research Council, 1985. *Guide for the Care and the Use of Laboratory Animals*. Publication no. 85-23 (rev.). National Institutes of Health, Bethesda, MD.
- Reeves, P.G., Nielsen, F.H., Fahey, G.C., Jr., 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76 rodent diet. *J. Nutr.* 123, 1939–1951.
- Refitt, D.M., Jugdaohsingh, R., Thompson, R.P.H., Powell, J.J., 1999. Silicic acid: its gastrointestinal uptake and urinary excretion in man and effects on aluminium excretion. *J. Inorg. Biochem.* 76, 141–147.
- Refitt, D.M., Ogston, N., Jugdaohsingh, R., Cheung, H.F.J., Evans, B.A.J., Thompson, R.P.H., et al., 2003. Orthosilicic acid stimulates collagen type I synthesis and osteoblastic differentiation in human osteoblast-like cells in vitro. *Bone* 32, 127–135.
- Reuter, S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M., Aggarwal, B.B., 2010. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic. Biol. Med.* 49, 1603–1616.
- Romain, C., Gaillet, S., Carillon, J., Vidé, J., Ramos, J., Izard, J.C., et al., 2012. Vineatrol and cardiovascular disease: beneficial effects of a vine-shoot phenolic extract in a hamster atherosclerosis model. *J. Agric. Food Chem.* 60, 11029–11036.
- Seaborn, C.D., Nielsen, F.H., 1993. Silicon: a nutritional beneficence for bones, brains and blood vessels? *Nutr. Today* 28, 13–18.
- Shwaery, G.T., Vita, J.A., Keaney, J.F., 1998. Antioxidant protection of LDL by physiologic concentrations of estrogens is specific for 17-beta-estradiol. *Atherosclerosis* 138, 255–262.
- Skuland, T., Ovrevik, J., Lag, M., Schwarze, P., Refsnes, M., 2014. Silica nanoparticles induce cytokine responses in lung epithelial cells through activation of a p38/TACE/TGF-alpha/EGFR-pathway and NF-kappa B signalling. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 279, 76–86.
- Smith, S.K., Krohn, R.I., Mallia, A.K., Provenzano, M.D., Fujimoto, E.K., Goeke, N.M., et al., 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* 150, 76–85.
- Sunderman, F.W., Jr., Marzouk, A., Hopfer, S.M., Zaharia, O., Reid, M.C., 1985. Increased lipid peroxidation in tissues of nickel chloride-treated rats. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 15, 229–236.
- Wu, J., Williams, D., Walter, G.A., Thompson, W.E., Sidell, N., 2014. Estrogen increases Nrf2 activity through activation of the PI3K pathway in MCF-7 breast cancer cells. *Exp. Cell Res.* 328, 351–360.
- Yang, Y., Park, Y., Cassada, D.A., Snow, D.D., Rogers, D.G., Lee, J., 2011. In vitro and in vivo safety assessment of edible blue-green algae, *Nostoc commune* var. *sphaeroides* Kützinger and *Spirulina plantensis*. *Food Chem. Toxicol.* 49, 1560–1564.