

Fondements de la nanotoxicologie

Pr. Alain Botta
Aix-Marseille Université



Toxicité humaine des nanoparticules

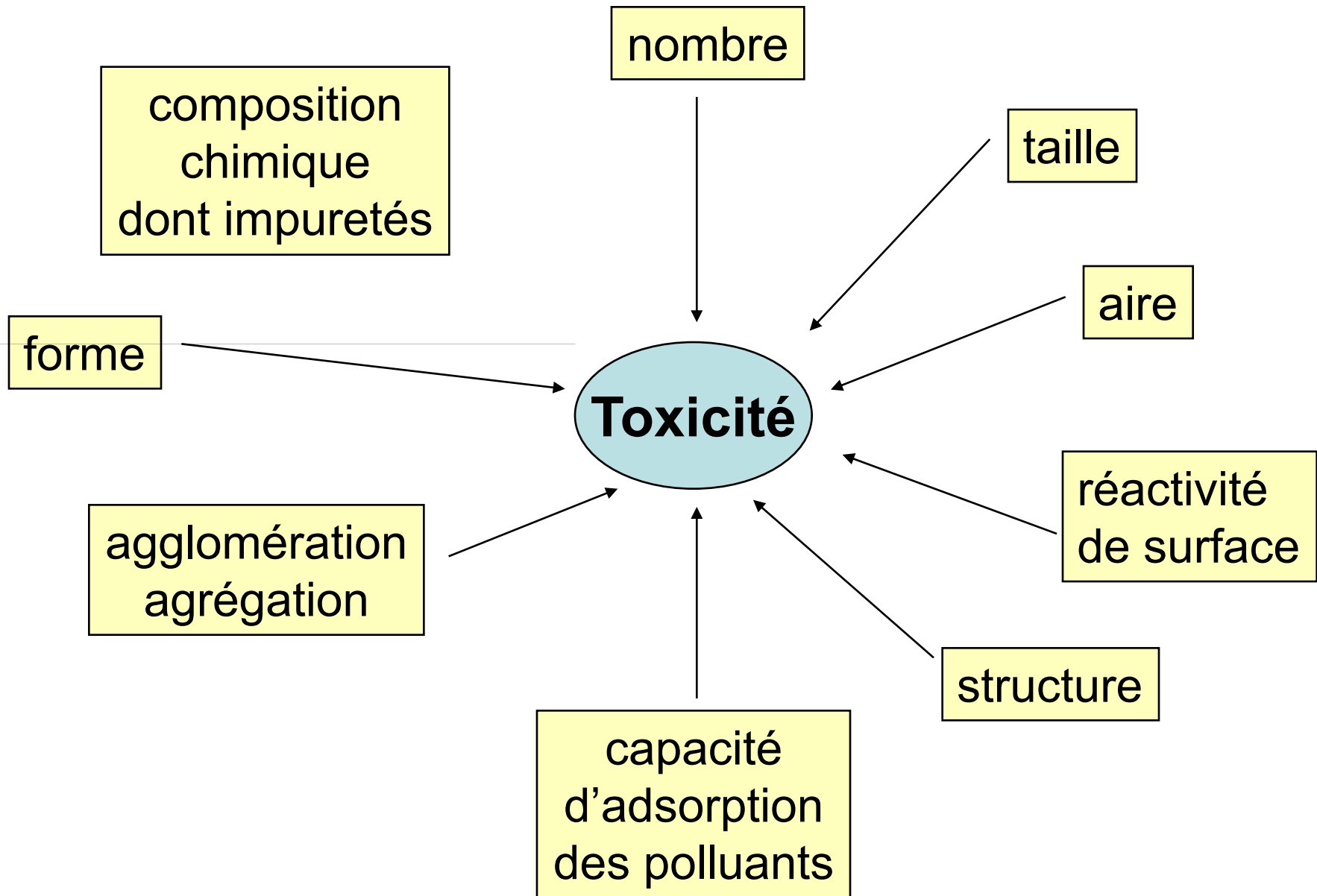
Données limitées

Surtout expérimentation animale sur appareil pulmonaire

Etudes « in vitro » sur cultures cellulaires

Pas encore d'étude d'envergure « ex vivo » chez l'homme exposé

- propriétés physico-chimiques nouvelles
- taille compatible avec organites cellulaires



NANOPARTICULES ET FRANCHISSEMENT DES BARRIERES BIOLOGIQUES

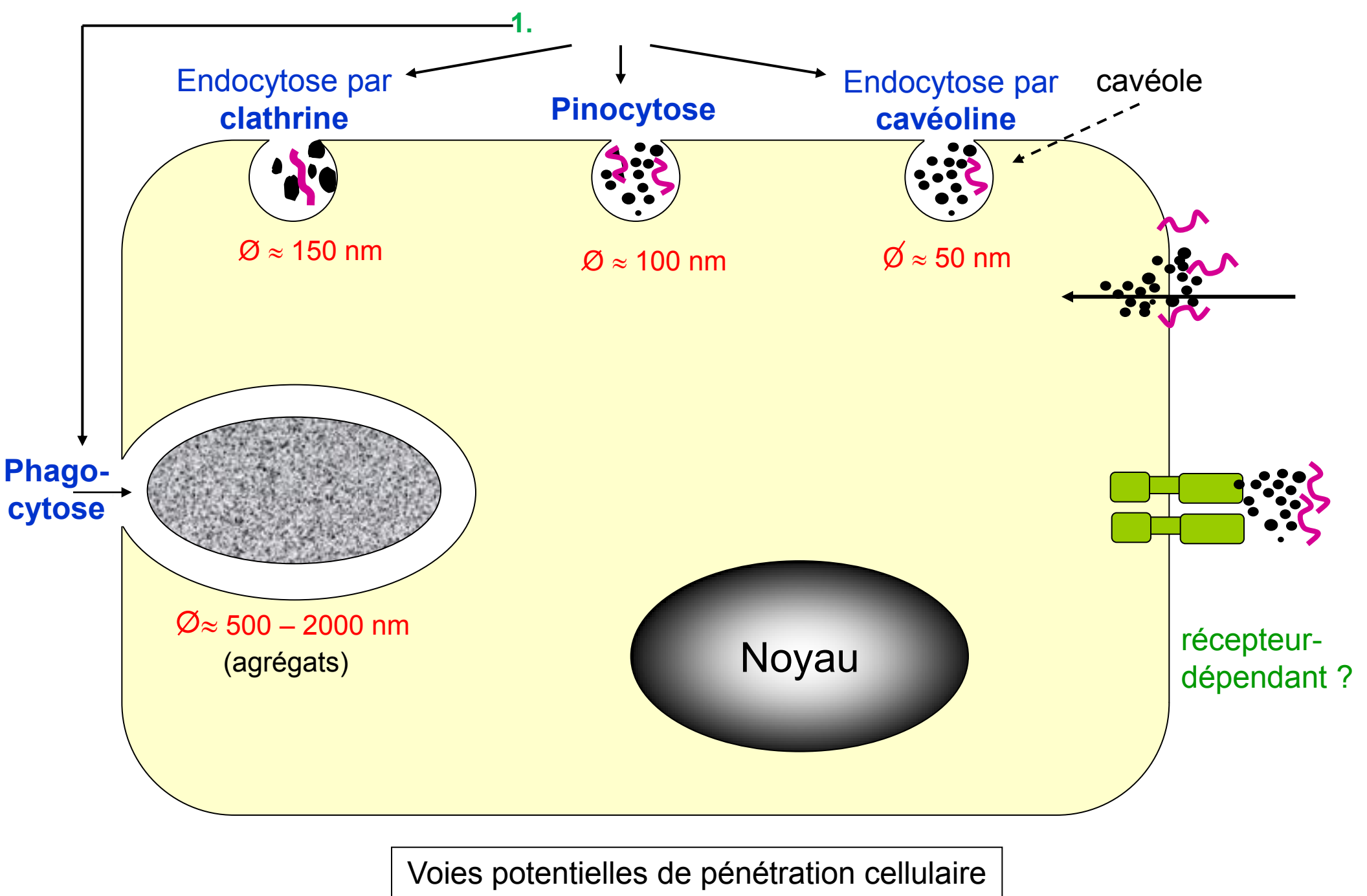
Longtemps discuté

Actuellement admis au moins pour certains produits
(avancement des recherche sur la vectorisation des médicaments)

Deux exemples:

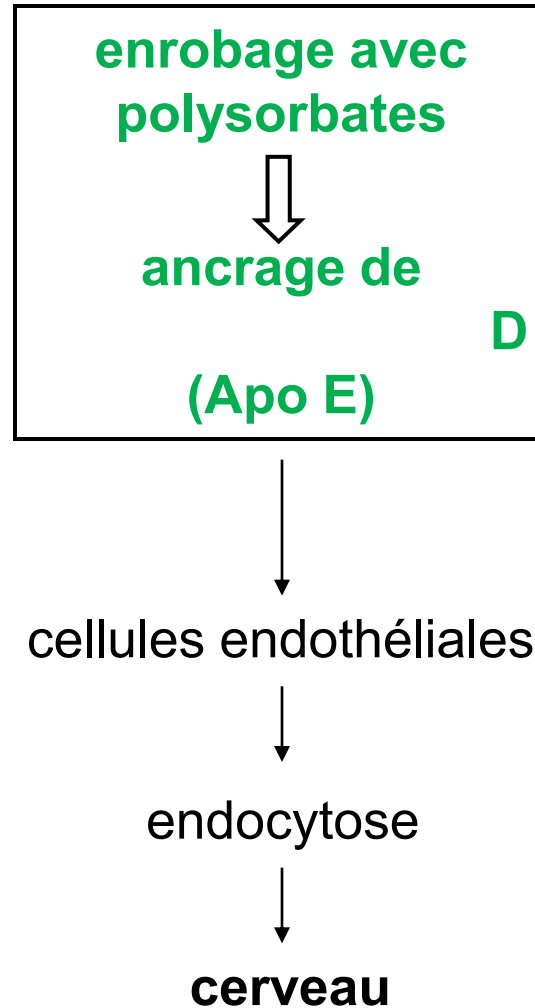
Membrane cellulaire

Barrière hémato-encéphalique



Nanoparticules et barrière hémato-encéphalique (1)

Observation : passage du compartiment sanguin au cerveau par diffusion passive et endocytose



Nanoparticules et barrière hémato-encéphalique (2)

Paradoxe

```
graph TD; Paradoxe[Paradoxe] --> ApoE[Apo E variant 4]; ApoE --> FacteurRisque[facteur de risque]; FacteurRisque --> RisqueAccru[risque accru de contracter la maladie]; Paradoxe --> Recherches[recherches en cours sur nano vectorisation de molécules destructrices des peptides β-amyloïdes en dépôt]; Recherches --> Traitement[traitement de la maladie];
```

Apo E variant 4



facteur de risque



risque accru de contracter
la maladie

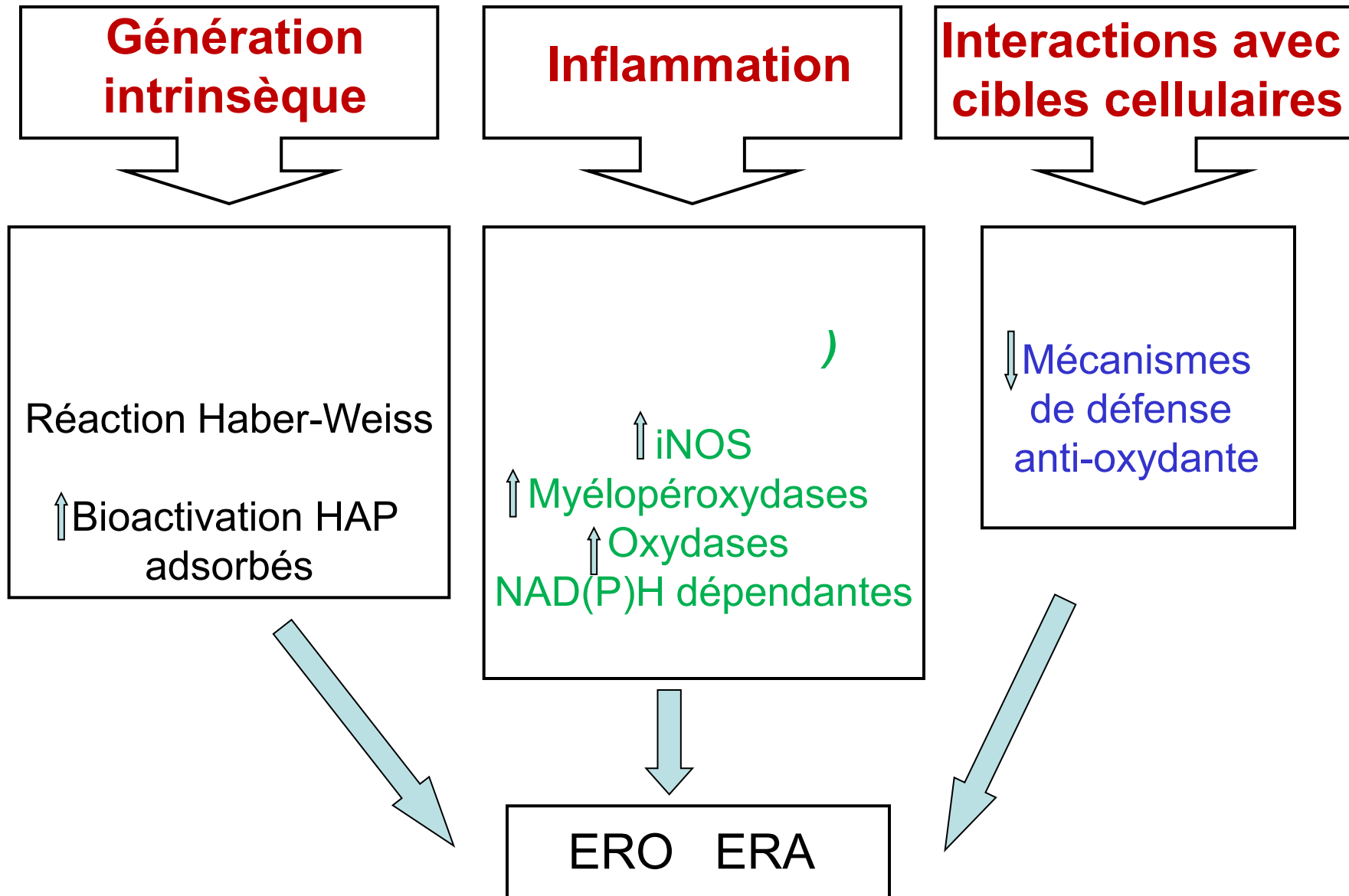
recherches en cours sur
nano vectorisation de
molécules destructrices
des peptides β -amyloïdes en dépôt



traitement
de la maladie

Le stress oxydant induit par les ERO et ERA joue un rôle-clé dans les effets toxiques et notamment génotoxiques des nanoparticules

GENERATION DE ERO ET ERA PAR LES NANOPARTICULES



**La réaction inflammatoire
paraît le processus majeur**

D N D

‘ ‘

Inflammation

Processus complexe de défense

Contre toute forme d'agression exogène ou endogène
physique, chimique, bactérienne, virale, antigénique

En principe bénéfique

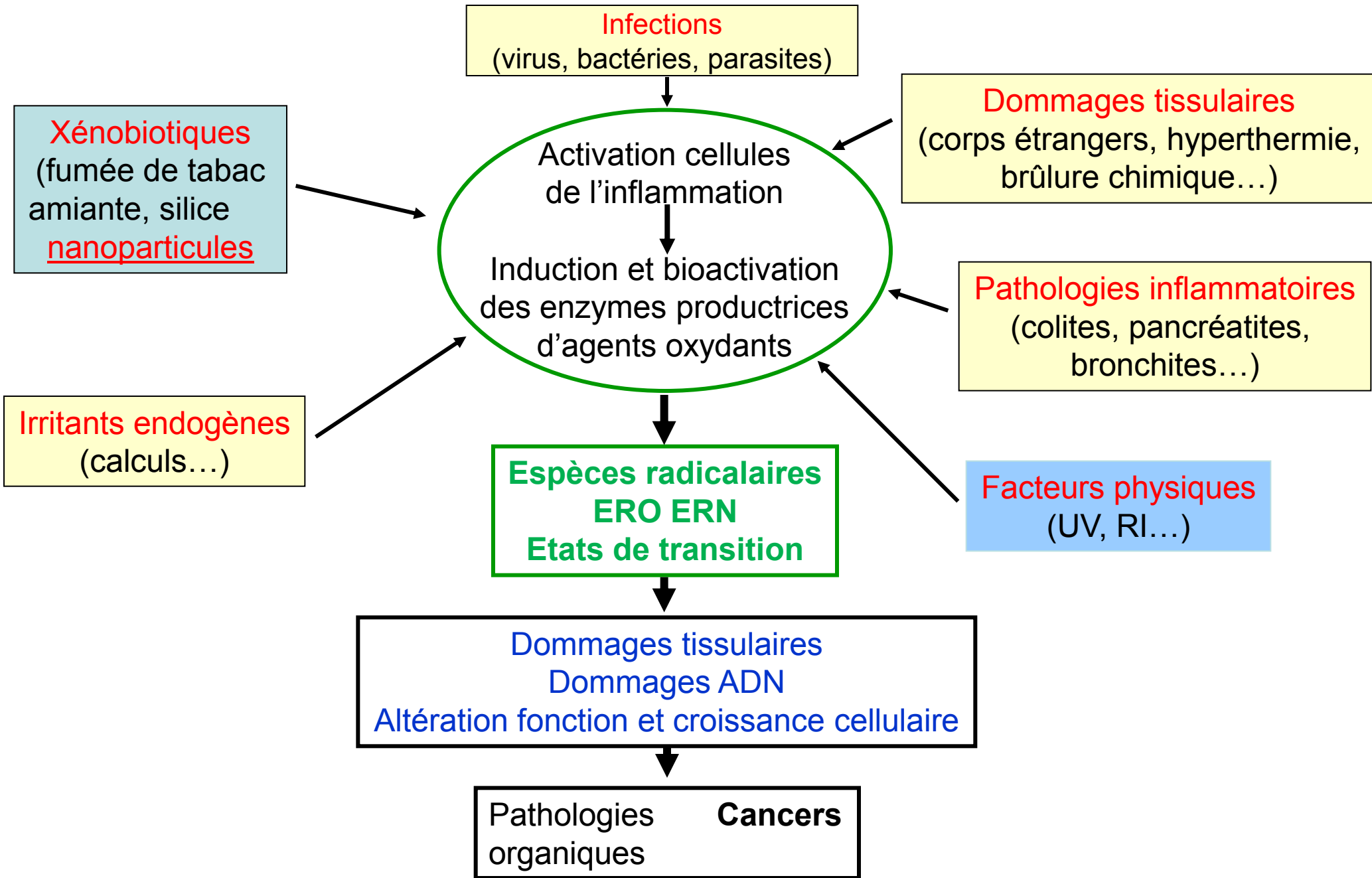
En réalité \pm contrôlé \longrightarrow dysfonctionnements cellulaire
tissulaire
organique

Inflammation

Intervention - des macrophages (phagocytes)
- des polynucléaires neutrophiles

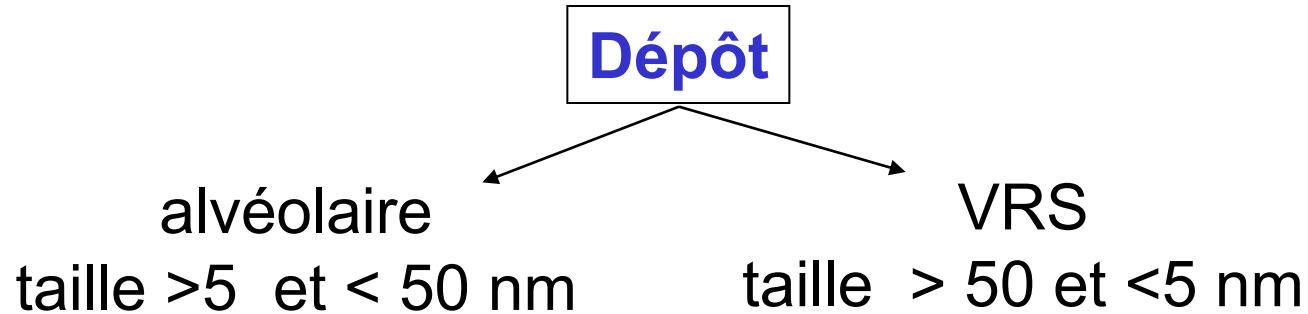
Mise en jeu de :

- ❖ ERO et ERA (NO°)
- ❖ phénomènes immunologiques
- ❖ médiateurs chimiques (histamine...)
- ❖ cytokines (IL, Interférons, TNF)
- ❖ prostaglandines
- ❖ leucotriènes



Nanoparticules et appareil respiratoire

Tendance à s'agglomérer par collisions mouvements browniens pour les plus petites



Phagocytose

macrophages alvéolaires

Biopersistance

Facteur fondamental peu documentée

Parait dépendre fortement des caractéristiques physico-chimiques

Translocation

Fosses nasales → **nerf olfactif** → **SNC**

Air → **sang** possible (données contradictoires) études en cours

Pénétration au cerveau par voie nasale des nanoparticules

biopersistance

transport actif ?
(méthallothionéine ?)

bulbe olfactif

vers le
cerveau

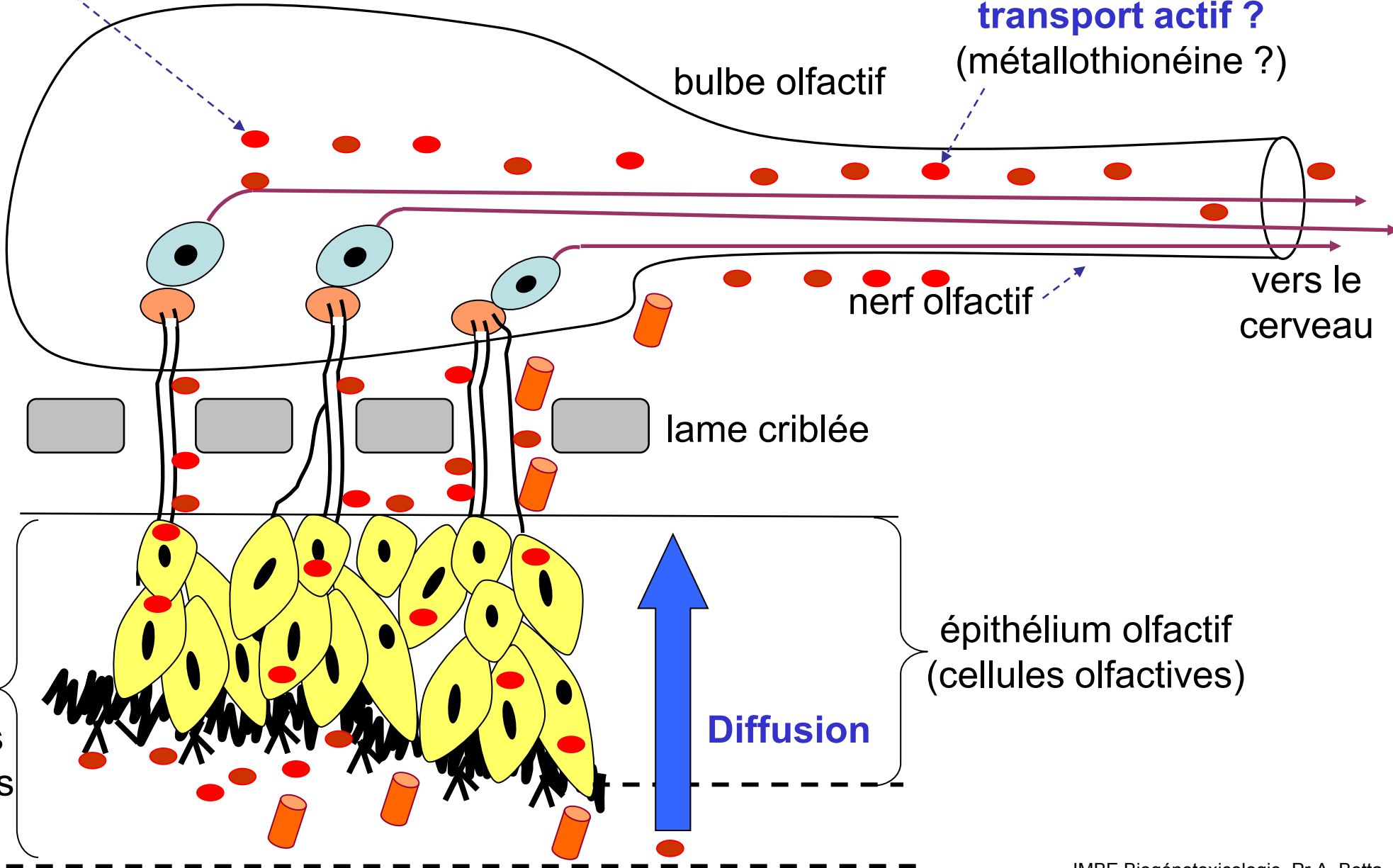
nerf olfactif

lame criblée

épithélium olfactif
(cellules olfactives)

Diffusion

partie
sup.
des
fosses
nasales



Nanoparticules et peau

Pénétration cutanée taille-dépendante ?

Mécanisme complexe en discussion



Parait possible
pour
fullerènes
quantum dots
NC

En question pour
oxydes métalliques

Quasi nulle sur peau
saine pour TiO₂ (2012)

Quid sur peau lésée ?

Irritation dose-dépendante

Altérations cellulaires
(apoptose, hypo adhésions)
pour les nanotubes de carbone



Hypersensibilité

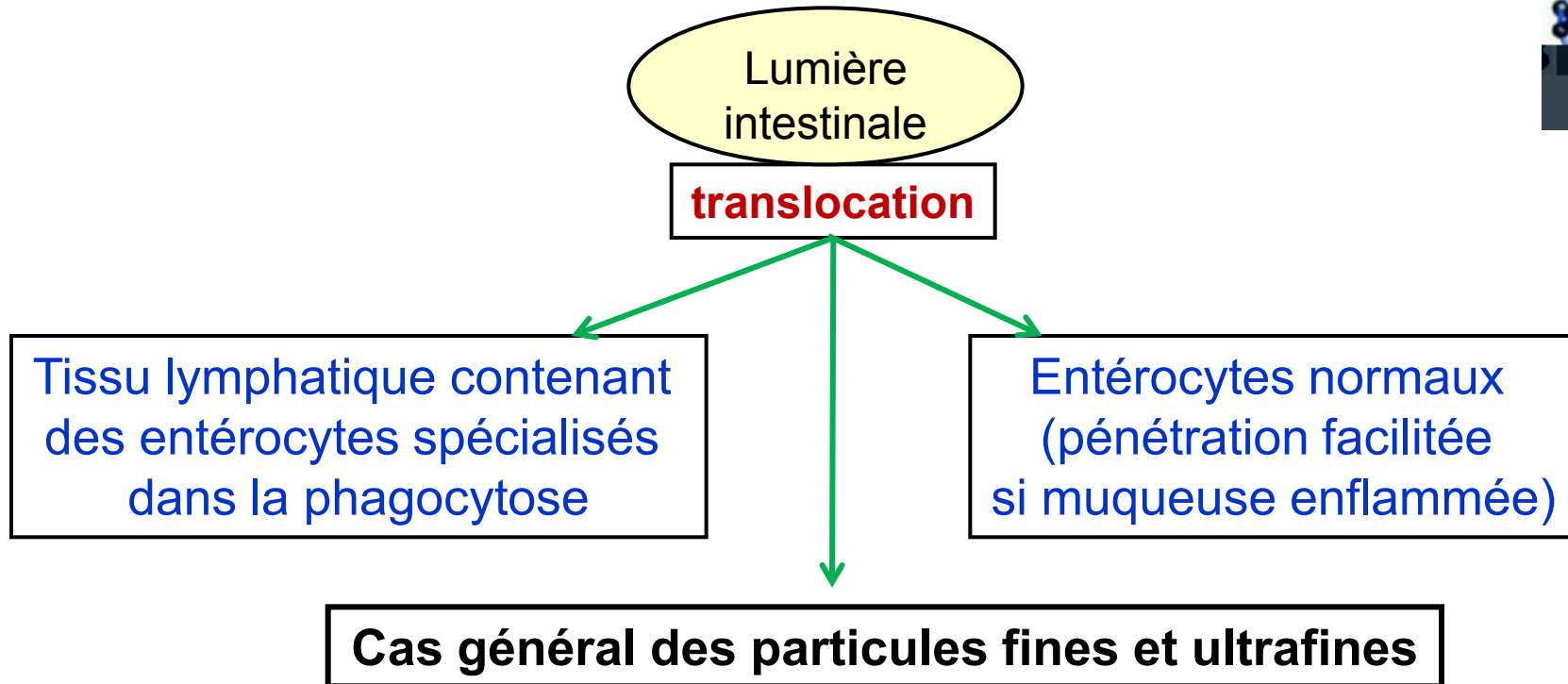
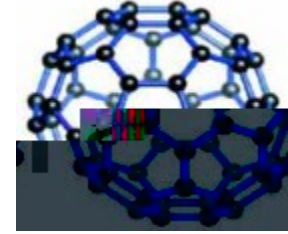
Génotoxicité

Mutagenèse

études en cours

Nanoparticules et tractus intestinal

Etudes réalisées sur Fullerènes C₆₀



Taille < 1 μ m (1000 nm)
phagocytose par **cellules M**
(bordant les plaques de Peyer)
puis transport jusqu'au domaine basal

Taille >1 μ m (1000 nm)
id mais piégées dans les plaques de Peyer

Nanoparticules et génotoxicité

La génotoxicité paraît être en relation forte
avec la production de ERO et ERA

Rôle probablement majeur de la réaction inflammatoire



M D N D

ERO

ERA

lésions oxydatives
M

nitration protéines
(nitrotyrosine)

↓
effet génotoxique
aneugène ?

hypothétique

8-OH-dG
attaque directe

démontrée avec TiO₂

Ethéno
Propano } adduits ADN

relayés par peroxydation
lipidique → MDA, 4HN

études en cours avec
CeO₂, TiO₂
fullerènes

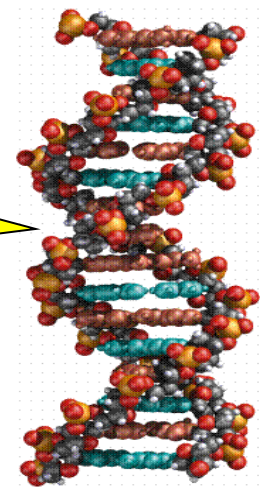
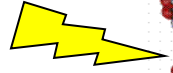
CSB } ADN
CDB }

attaque directe durant le
processus de réparation
coupure du cycle du
désoxyribose

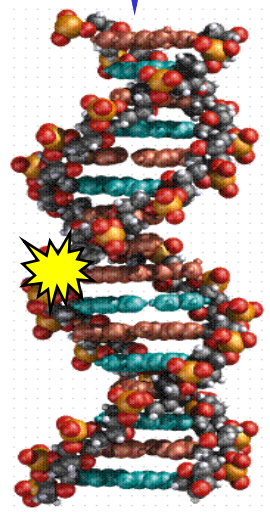
démontrée
avec TiO₂, CeO₂



**Stress oxydant
Génotoxicité**

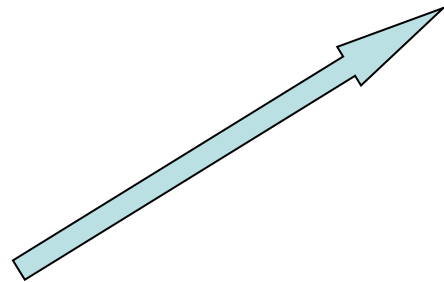
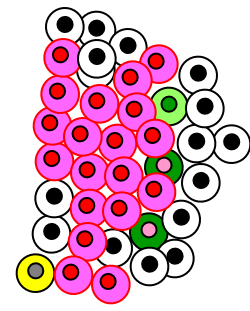


Mutagenèse

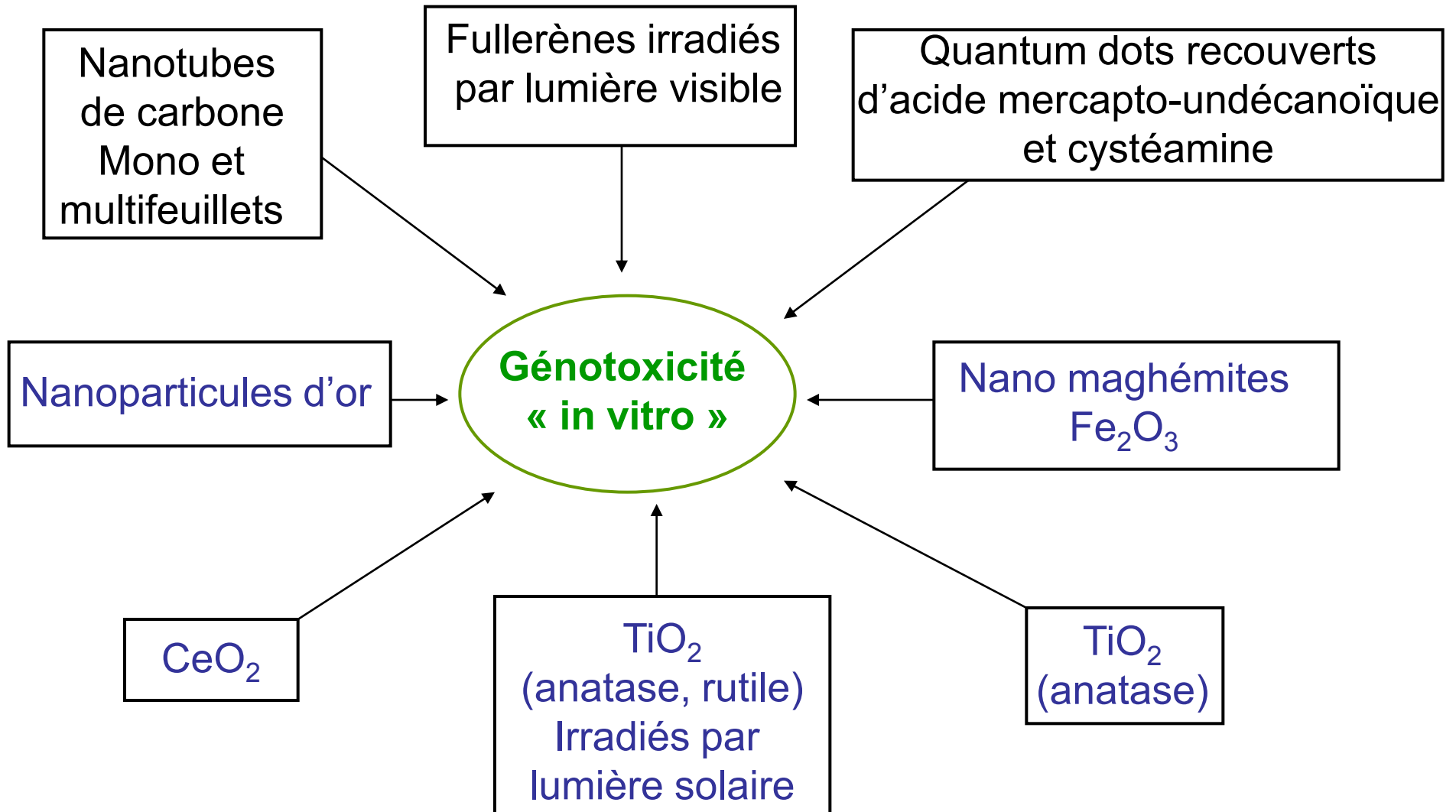


**Cancérogenèse
environnementale**

Cancérogenèse



Exemples de nanoparticules ayant conduit à des effets génotoxiques et/ou mutagènes



Nanoparticules et cancer (1)

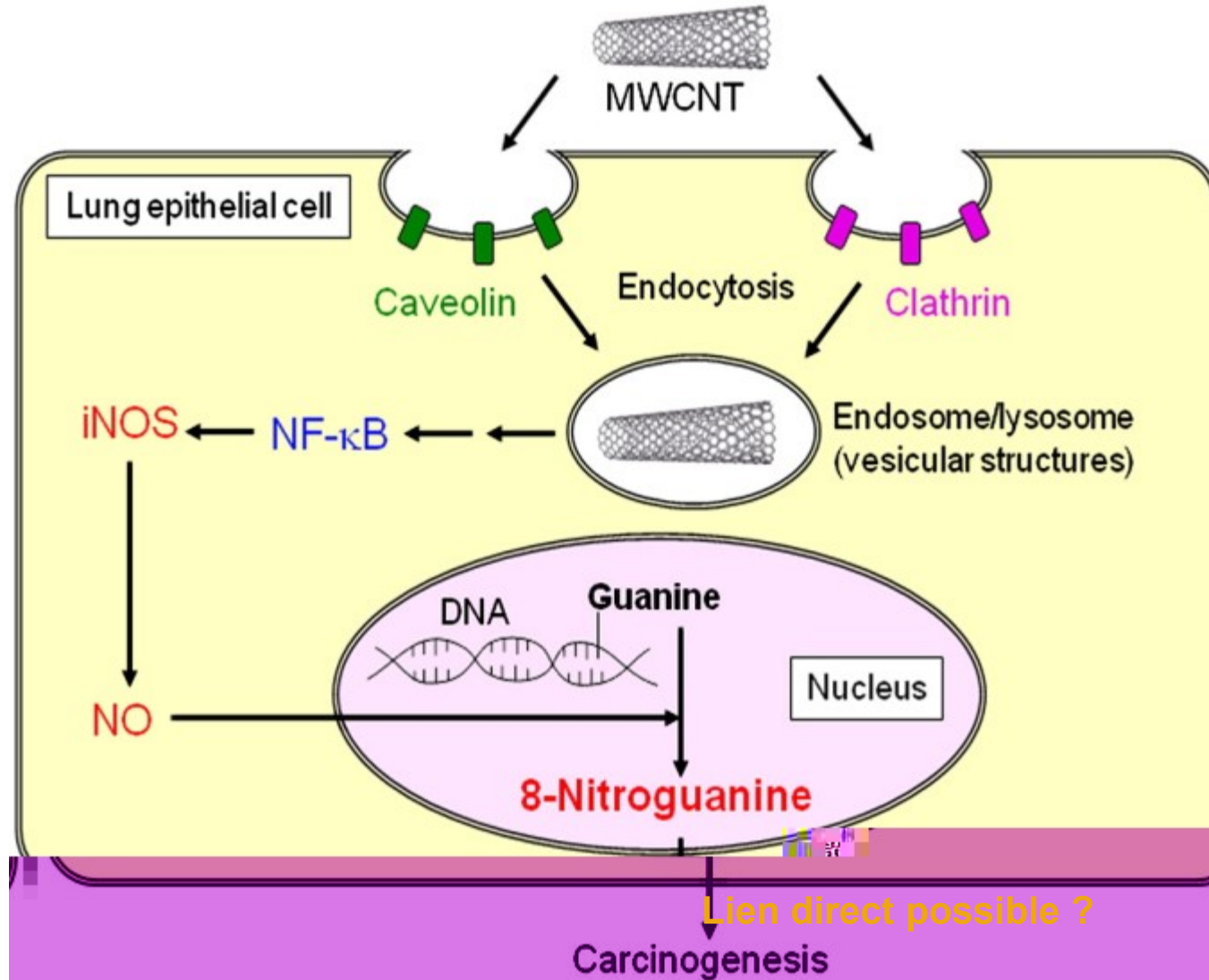
Hypothèse uniquement
sur le cancer du poumon
par analogie avec
connaissance de la
pollution atmosphérique
particulaire

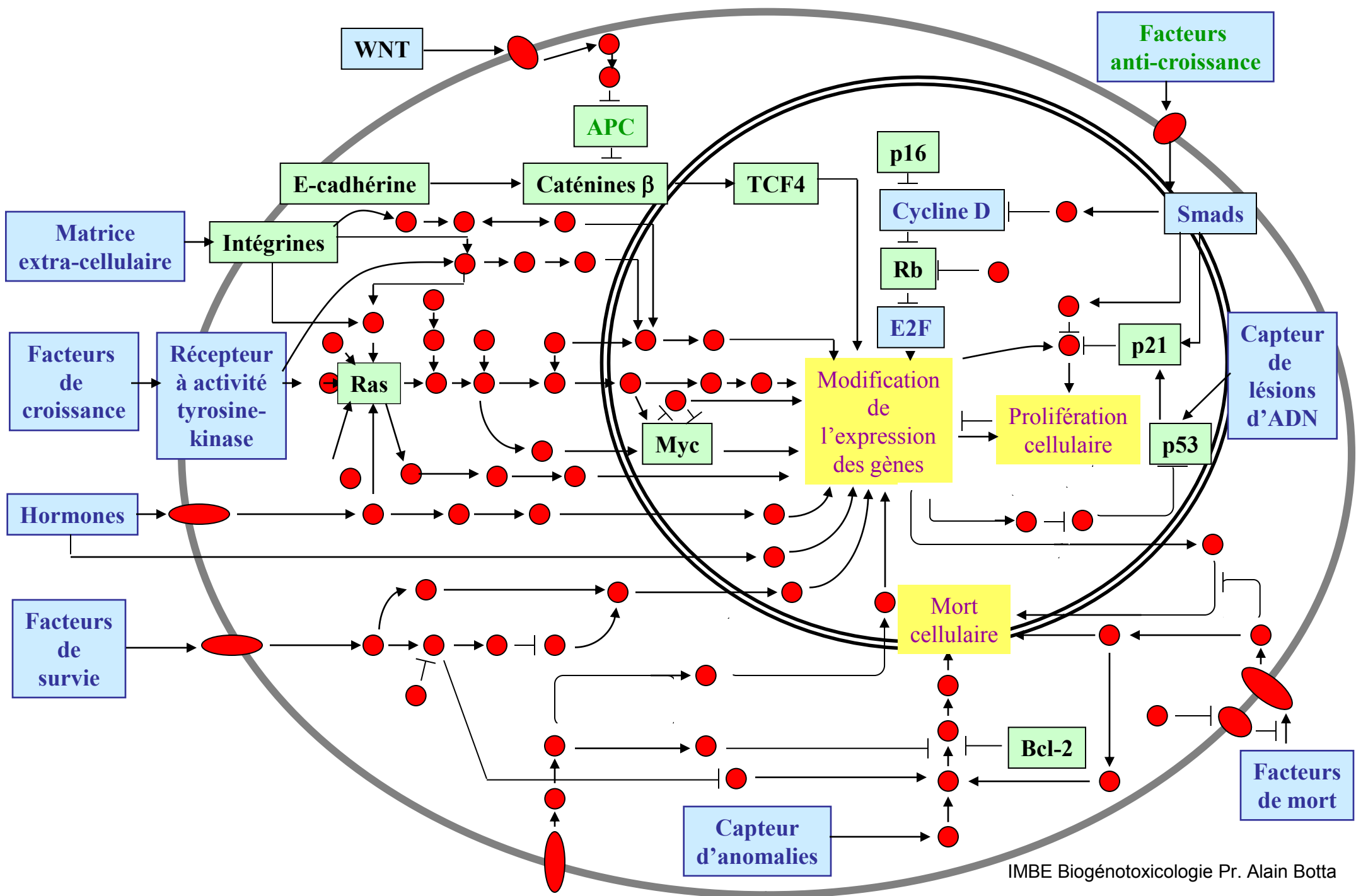
Rôle majeur
de la génotoxicité
indirecte
via l'inflammation
(ERO, ERN)
Ex. des NCMF



La nitrosation de la guanine
est le point de départ
de la cancérogenèse

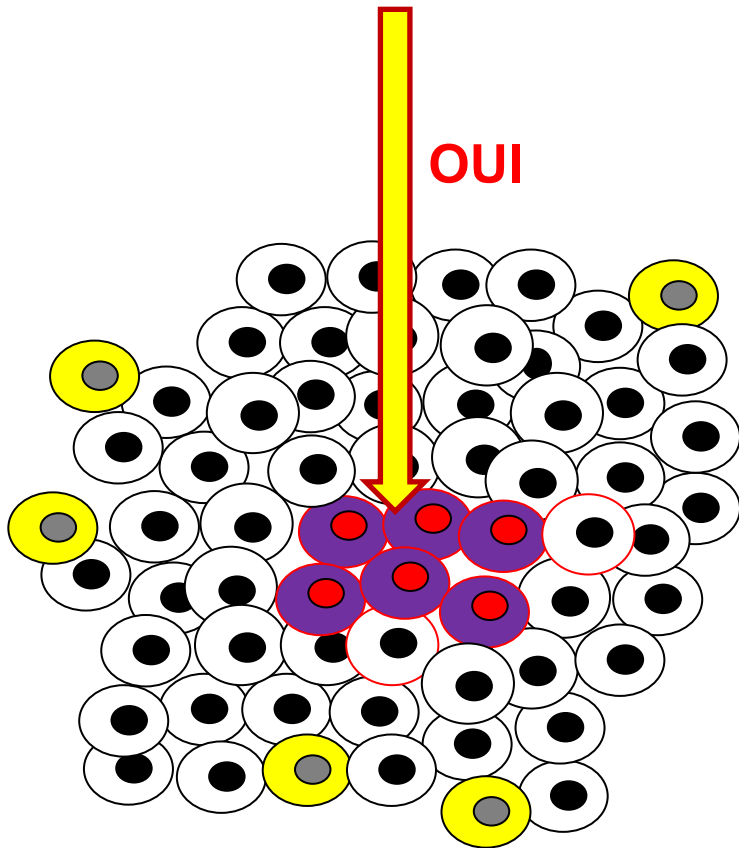
Nitrative DNA damage induced by multi-walled carbon nanotube via endocytosis in human lung epithelial cells





**EXPOSITION
CANCEROGENE**

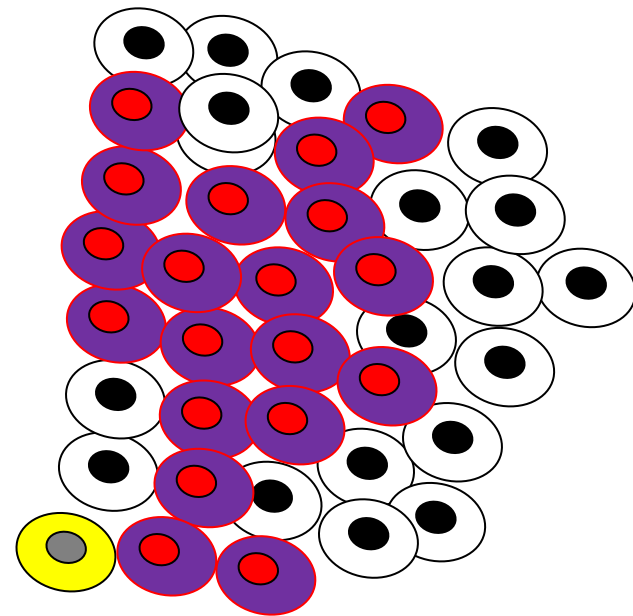
OUI



Clone tumoral

**EXPOSITION
CANCEROGENE**

X NON



Phénotype mutateur

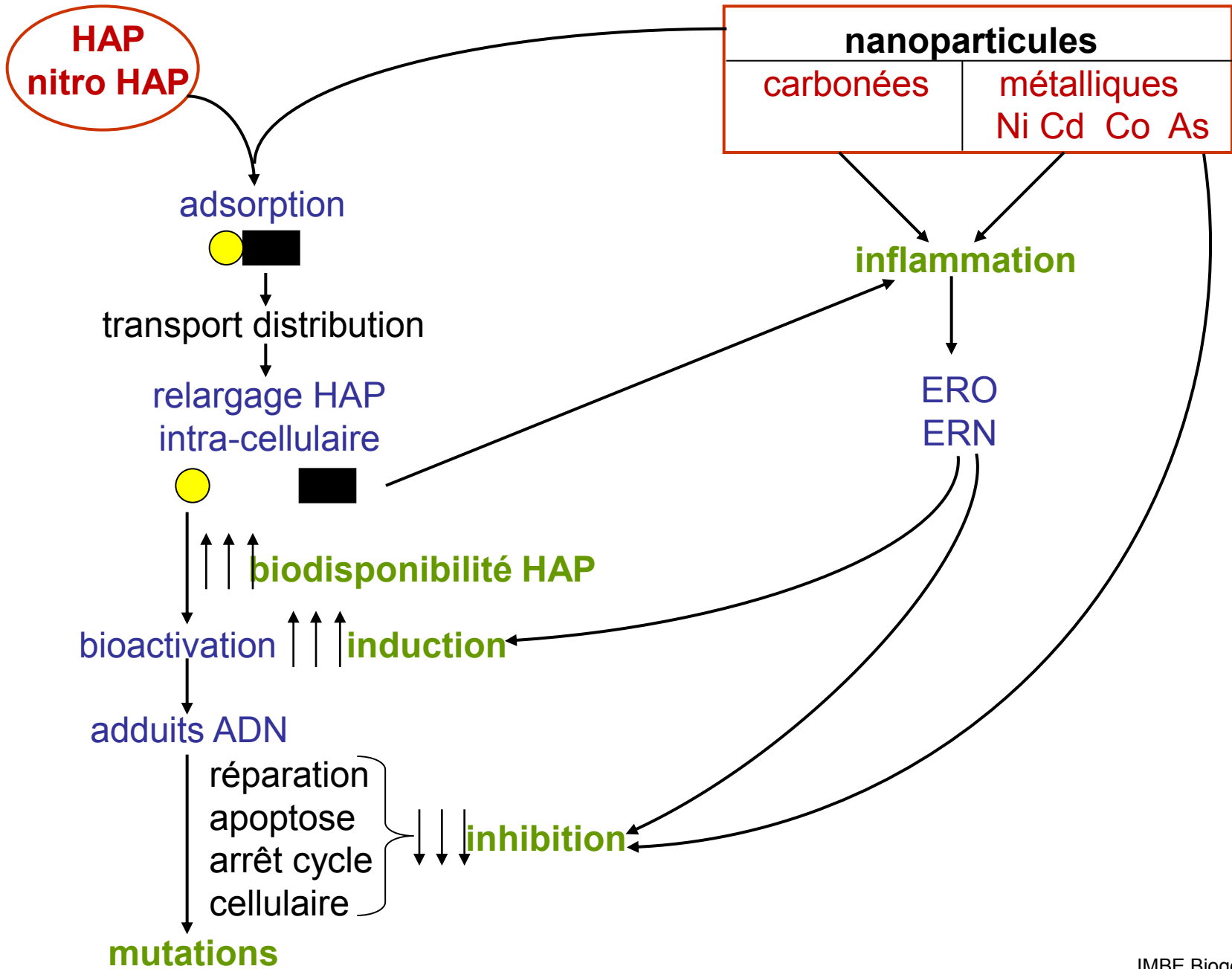
Nanoparticules et cancer (2)

Importance de
la prédisposition
(mutations
génomiques)
la susceptibilité
(polymorphismes)

Synergie avec
le tabagisme
et
autres polluants

Rôle possible
O
et nitro HAP
adsorbés sur
les nanoparticules
et **vectorisés**
dans les cellules
pulmonaires

Interactions nanoparticules / polluants organiques génotoxiques



Nanoparticules et reproduction (1)

- ❖ expérimentation animale : souris, rats wistar
- ❖ nanoparticules étudiées :

SiO₂ ± enrobées

Ag

Al

MoO₃

Nanoparticules et reproduction (2)

Résultats

- translocation dépôts bioaccumulation dans les testicules
- cytotoxicité sur les cellules germinales

Hypothèse

les nanoparticules pourraient franchir la barrière hémato-testiculaire et biopersister dans le testicule

Inconnues

Quid chez l'Homme ?
Quels effets génotoxiques et/ou mutagènes ?

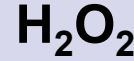
Un nouveau paradigme en toxicologie mécanistique

L'exemple des nanoparticules d'oxyde de cérium

Nano-CeO₂



Réaction Fenton



Peroxydation lipidique

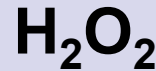
Membrane cellulaire

MDA

Oxydation des protéines (GPx)

NADPH-oxydase

SOD

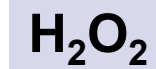


Relarguage de Fe²⁺ par des métalloenzymes spécifiques (ex. aconitase)

Ascorbate

Glutathion

Adduits exocycliques



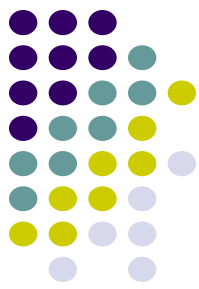
Effet clastogène
Adduits ADN
CSB, CDB

Réaction Fenton

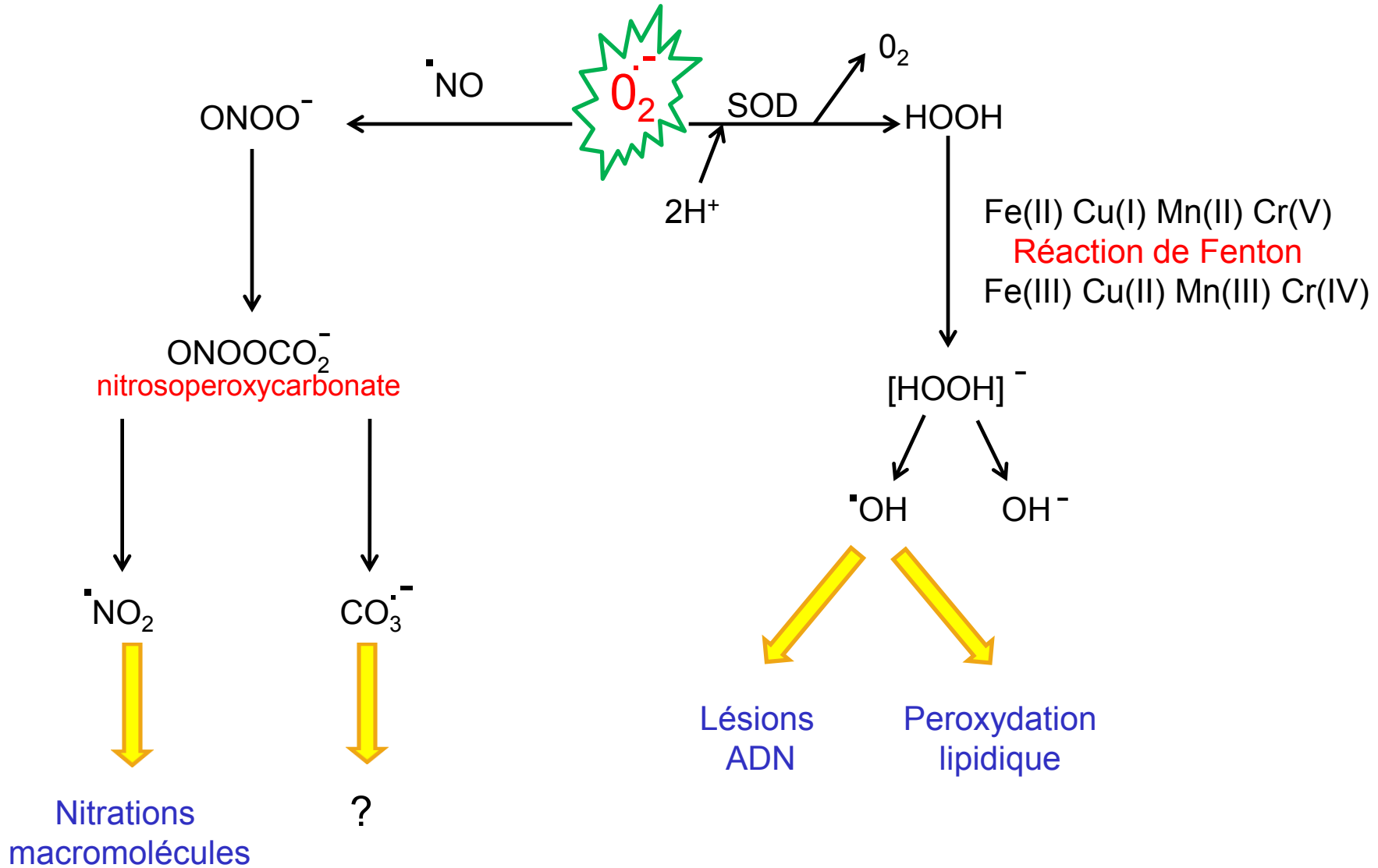
Présence de Fe et Cu dans le noyau

Cytoplasme

Noyau

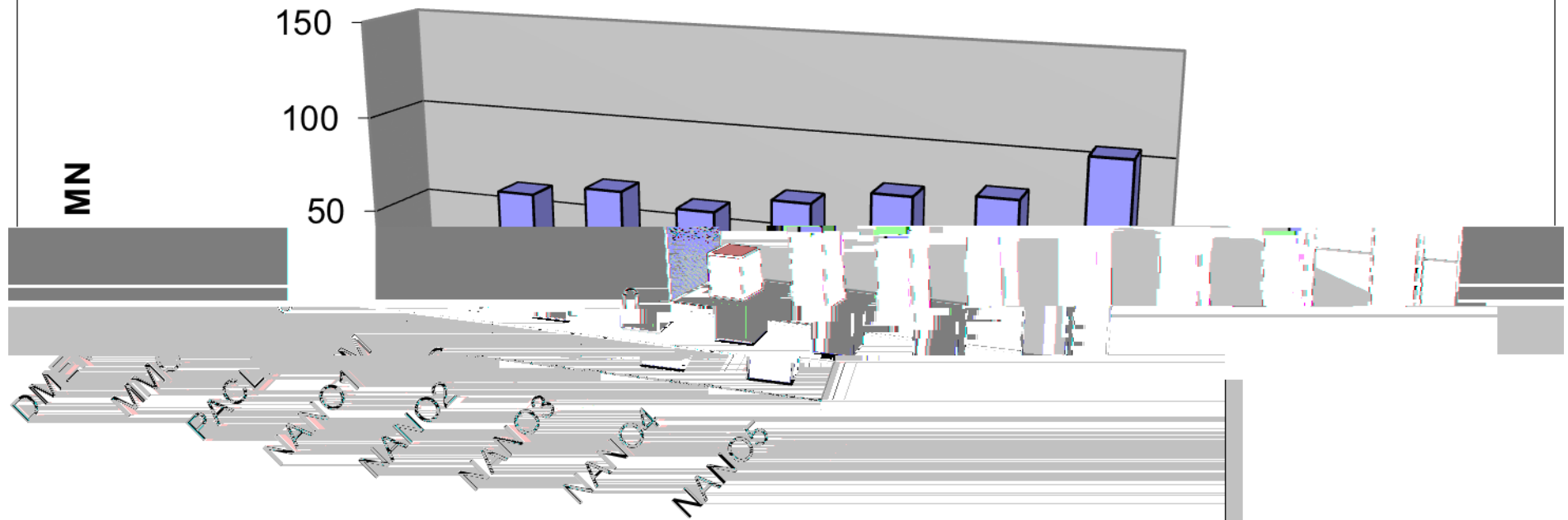


VOIES DE TOXIFICATION DU RADICAL SUPEROXYDE



NanoCe

Test des MN sur fibroblastes humains binucléés en culture



CONCLUSION

Beaucoup d'hypothèses
Peu de données probantes

- Redéfinir modèles cellules-cibles doses, temps de contact

- Interprétation des résultats
- Différences inter-espèces
- Extrapolation à l'homme
- Interactions avec polluants

Comprendre les processus cumulatifs dans les tissus-cibles

- Evaluer pertinence des tests
- Développer tests adaptés
- Etudier les nanoparticule altérées et non pas les produits purs

- Elucider mécanismes de franchissement des barrières biologiques

- Approfondir études de génotoxicité somatique et germinale

Approcher mécanismes épigénétiques
(méthylation ADN, micro ARN)

Beaucoup de travail en
perspective
pour les chercheurs seniors



Beaucoup de postes
souhaités
pour les jeunes chercheurs

