

TONG REN



I N S T I T U T

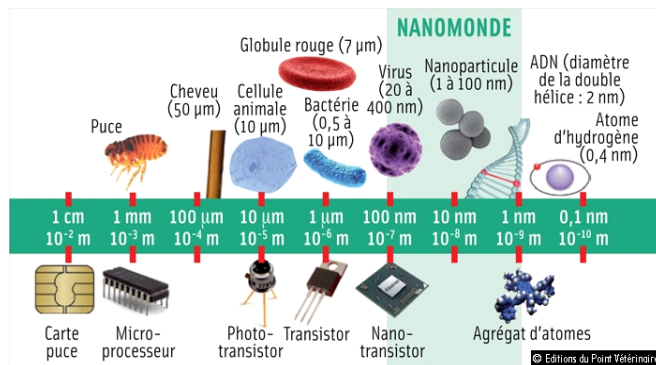
LES NANO PARTICULES

ALAIN DURAND

CONGRÈS TONG REN INSTITUT FEVRIER 2019

Les nanoparticules (congrès, février 2019)

Les nanoparticules (ou particules ultrafines) existent depuis toujours. Elles font des particules de l'ordre du nanomètre, leur diamètre étant inférieur à 100nm ou 0,1µm. Elles sont 1 000 fois plus petites que l'épaisseur d'un cheveu. Les nanoparticules sont des objets dont les trois dimensions externes varient entre 1 et 100 nm. Elles sont, donc, plus petites qu'un globule rouge, légèrement plus petites qu'un virus, mais plus grandes qu'un atome ou que le diamètre de la double hélice de l'ADN.



En raison de la petite taille (100 000 fois plus petit qu'une cellule humaine moyenne, 10 000 fois plus petit qu'une bactérie de taille moyenne, 150 fois plus petit qu'un virus, et pouvant interagir avec l'ADN car au moins deux fois plus petit que le diamètre d'une double hélice d'ADN) et de la grande surface fonctionnelle des nanomatériaux, ceux-ci ont des propriétés uniques par rapport à leurs homologues de plus grande taille. Même s'ils sont réalisés à partir d'éléments réputés inertes comme

l'or ou le platine, ils deviennent très actifs à l'échelle nanométrique. Certains de ces matériaux se comportent comme des gaz et passent très facilement au travers des muqueuses et de la peau et de toutes les barrières (y compris méninges protégeant le cerveau, et placenta).

Une classification

Certaines nanoparticules sont "**non-manufacturées**" ("non-élaborées").

C'est le cas des nanoparticules provenant de sources **anthropiques** (combustion de gazole,



Le Nano-monde : nanoparticules naturelles & anthropiques

érosion des chaussées sous l'effet de la circulation routière, utilisation des combustibles domestiques solides, etc.), de sources **naturelles** (volcans, pollens, aérosols marins, etc.) ou de réactions chimiques ayant lieu dans l'air atmosphérique. Leur

production s'est vue augmentée dans les dernières années, rien que par l'utilisation excessive de la voiture.

Certaines d'autres sont "**manufacturées**" ("élaborées").

Présentes dans les produits de santé et de fitness, dans les produits pour enfants, dans l'alimentation et les boissons, dans les produits de maison et jardin, dans la santé, l'électronique et l'informatique, etc., elles ont littéralement envahi notre vie. De nos jours, leur production intentionnelle connaît un vrai essor, car elles sont considérées comme enjeux technologiques et économiques.

Depuis le 1^{er} janvier 2013, toutes les entreprises produisant ou important des nanomatériaux en France doivent le déclarer auprès du ministère de l'environnement grâce à un site dédié. Bilan : un total de **400 000 tonnes de substances** à l'état nanoparticulaire a été déclaré pour l'année 2013. Ces déclarations alimentent le registre R-Nano, à partir duquel un rapport rendant compte de l'identité des substances et de leur usage est rendu public. Les informations relatives à l'identité industrielle, comme les noms commerciaux des produits et les entreprises déclarantes, restent cependant confidentielles.

Donnons quelques exemples de nanoparticules :

-Le Dioxyde de Titane TiO₂ E 171.

C'est un pigment blanc utilisé pour augmenter la blancheur ou la brillance des aliments. Ce colorant controversé, formé de nanoparticules de dioxyde de titane (TiO₂), est présent dans de nombreux produits alimentaires, en particulier des confiseries, des biscuits, des plats préparés ou des gommes à mâcher – même si plusieurs industriels se sont récemment engagés à l'ôter de leurs recettes.

Suspecté de présenter un risque cancérigène, sa suspension est prévue par la loi Egalim (issue des états généraux de l'alimentation) adoptée en novembre 2018. Mais cette mesure conservatoire ne peut entrer en vigueur qu'après la prise d'un arrêté ministériel que M. **Le Maire** a exclu de signer dans l'immédiat, renvoyant cette décision au résultat de nouvelles expertises, qui ne seront pas réalisées avant plusieurs mois (*Le Monde du 10 janvier 2019*).

Cet additif alimentaire controversé est très utilisé dans la production de desserts et crèmes glacées, de plats préparés mais aussi de cosmétiques et de médicaments. La base de données collaborative Open Food Facts signale quelques 700 produits contenant l' E171. Cela va des œufs de mouette (chocolats de l'île de Ré), des tartelettes fabuleuses de chez Fauchon, les millefeuilles de Monoprix aux chocolats de la Comtesse Du Barry.

Le colorant est aussi présent dans plus de 4 000 médicaments. Citons les plus consommés: Doliprane, Dafalgan, Efferalgan. Sans compter les compléments alimentaires : une recherche dans un site de parapharmacie remonte 650 résultats dans des domaines comme la minceur, le stress, la fatigue, le confort articulaire...

Le dioxyde de Titane est aussi présent en cosmétique dans les crèmes, les dentifrices ou certains produits de maquillage et aussi dans les produits solaires.

En 2017, une équipe de recherche française (Toxalim (Centre de recherche en toxicologie alimentaire), Université de Toulouse, INRA, ENVT, INP-Purpan), a mené des études in

vivo chez le rat, afin d'évaluer l'absorption gastro-intestinale et l'impact possible de l'additif E171 contenant une fraction nanométrique de dioxyde de titane par rapport à du TiO₂nanoparticulaire pur (Bettini et al., 2017). Utilisé à une dose pertinente en ce qui concerne l'exposition alimentaire humaine estimée pour le E171 à 10 mg/kg/jour, les chercheurs ont réalisé deux séries d'expérience, après 7 jours d'administration intra gastrique ou après 100 jours d'exposition chronique par l'intermédiaire de l'eau de boisson. Après une semaine d'exposition le titane a pu être décelé dans plusieurs compartiments du tractus intestinal comme les plaques de Peyers, ainsi que dans le foie, montrant la translocation du TiO₂ depuis l'intestin à la circulation sanguine. Toutefois, aucun dommage à l'ADN n'a été observé chez ces animaux. Les anomalies liées à l'exposition au E171 ont été trouvées chez les animaux exposés pendant 100 jours (4 rats sur 11) et consistaient en des **lésions préneoplasiques** colorectales qui étaient plus fréquentes chez les rats pré-traités avec un agent cancérigène expérimental. Après 100 jours de traitement au E171 les fonctions immunitaires n'étaient pas totalement intègres. Cependant, ces effets - n'avaient pas été identifiés auparavant - ne peuvent pas être spécifiquement attribués à la fraction des particules nanométriques de TiO₂ contenues dans E171. Ce travail met en évidence la nécessité d'effectuer des études supplémentaires tels que des études de cancérogenèse suivant des principes directeurs (deux ans, des groupes de 100 animaux) qui devraient aider à clarifier le statut de cet additif alimentaire.

E171 a été classé comme « cancérigène possible pour l'homme » dès 2006.

-Le Dioxyde de Silicium TiO₂ E 551.

C'est un antiagglomérant et un fluidifiant. Il veille à ce que les aliments secs tels que les soupes prêtes à l'emploi, le café instantané ou encore les assaisonnements en poudre s'écoulent facilement.

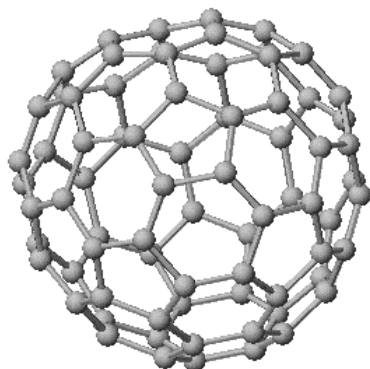
Le «dioxyde de silicium amorphe synthétique», une poudre ultra-fine tirée du sable de quartz, est utilisé depuis un demi-siècle comme additif alimentaire sous le numéro d'autorisation E551. Il passe pour être sans danger pour la santé humaine.

«Jusqu'ici, on supposait que ces particules nanostructurées étaient totalement inertes», explique Hanspeter Nägeli de l'Institut de pharmacologie et de toxicologie de l'**Université de Zurich** dans une publication du 27/06/2017.

Or une étude menée dans le cadre du Programme national de recherche «Chances et risques des nanomatériaux» (PNR 64) indique que ces particules peuvent activer certaines cellules immunitaires. «Nous avons montré que des cellules dendritiques au repos sont stimulées au contact de ces nanosilices et peuvent déclencher une réaction semblable à une inflammation», ajoute Hanspeter Nägeli.

Une autre étude de Hanspeter Nägeli publiée l'an dernier critiquait l'évaluation actuelle de la sécurité des nanosilices: «Les analyses toxicologiques ne recensent aucun critère immunologique», notait le chercheur. En outre, des essais portant sur des rats ont relevé des lésions au foie avec les doses les plus élevées, mais qui n'ont pas été prises en compte dans l'évaluation des risques. Un rapport avec les nanosilices n'a pu être prouvé, mais ne peut pas être exclu dans l'état actuel des connaissances, selon le scientifique. **«C'est pourquoi nous plaidons pour l'application du principe de précaution et pour un réexamen des valeurs-limites en vigueur dans l'alimentation»**, dit-il.

-Les fullerènes (une fontaine de Jouvence ?)



Le premier fullerène découvert est le C₆₀, il se compose de 12 pentagones et de 20 hexagones. Chaque sommet correspondant à un atome de carbone et chaque côté à une liaison covalente. Il a une structure identique au dôme géodésique ou à un ballon de football. Pour cette raison, il est appelé « buckminsterfullerène » (en hommage à l'architecte Buckminster Fuller qui a conçu le dôme géodésique) ou « footballène ». Les fullerènes ont été découverts en 1985 par Harold Kroto, Robert

Curl et Richard Smalley, ce qui leur valut le prix Nobel de chimie en 1996.

Grâce à leurs propriétés lubrifiantes et conductrices, on retrouve ces nanoparticules dans les domaines pharmaceutiques, électroniques, cosmétiques...

Pour étudier les effets toxiques du C₆₀, des chercheurs de l'Université de Paris-Sud ont pris 3 groupes de rats. Le premier groupe recevait une alimentation normale, le deuxième, une alimentation normale et de l'huile d'olive et le troisième, une alimentation normale, et de l'huile d'olive améliorée au C₆₀ fullerène (0,8mg/ml).

Le premier groupe de rats, celui qui a reçu une alimentation normale a vécu 22 mois en moyenne. Le deuxième groupe qui a reçu de l'huile d'olive en plus a vécu 26 mois (*quand même!*). **Et le troisième groupe qui a reçu le C₆₀ fullerène a vécu 46 mois ! Ce qui correspond à un doublement de leur durée de vie.** Selon les scientifiques, ces résultats peuvent s'expliquer par les effets antioxydants de la molécule. Beaucoup d'autres expériences seront nécessaires pour confirmer son intérêt pour l'homme.

On trouve des fullerènes à l'état naturel dans un minerai extrait dans le nord de la Russie et connu sous le nom de la **Shungite**. Cette pierre a l'apparence du charbon et elle est principalement composée de carbone. Son aspect va du noir mat au gris métallisé selon sa qualité. Elle possède de nombreuses vertus thérapeutiques en lithothérapie et elle est reconnue pour être un excellent bouclier contre les ondes électromagnétiques nocives pour le vivant. Les effets bénéfiques de la Shungite sont connus depuis Pierre le Grand (1672-1725) qui était d'une santé fragile. Son état général s'améliora grâce à l'action conjuguée de bains dans la source et la consommation d'eau de Shungite. Il retrouva vigueur et santé, ce qui lui permit de reprendre la gouvernance du pays. Il fit bâtir un établissement thermal près des sources, non loin de Petrozavodsk, actuelle capitale de la région de Carélie. La famille impériale recommanda à ses soldats de consommer l'eau de Shungite aussi appelée « eau de Mars » en l'honneur du dieu romain de la guerre. Ses propriétés furent bénéfiques pour apaiser le psychisme des soldats revenus du front et soigner certaines maladies comme la dysenterie.

-Nano-argent E 174

Textiles, cosmétiques, vernis, peintures, pansements, colorant alimentaire

Pas de risque connu à faible dose.

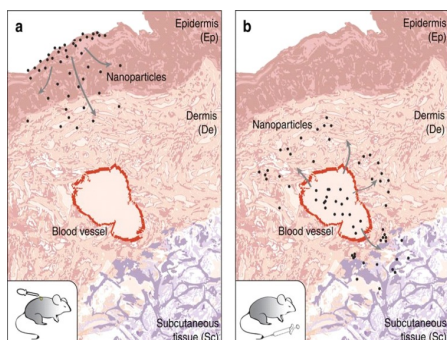
Exposition et voies de pénétration des nanoparticules

-**Inhalation.** C'est la plus grande voie, les nanoparticules peuvent parcourir des kms avant de se déposer dans les alvéoles pulmonaires.

-**Peau.** L'exposition par la peau est importante avec les cosmétiques et les vêtements.

-**Ingestion.** C'est une voie préoccupante avec l'alimentation.

-**Translocation.** Les nanoparticules se déplacent vers les organes via la circulation sanguine.

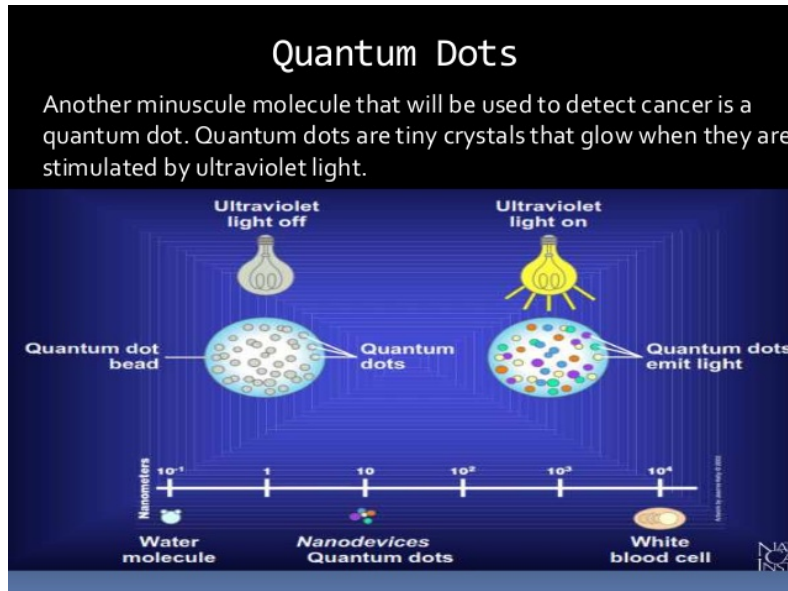


(a) Des expériences sur la souris ont montré que les nanoparticules appliquées localement sur la surface externe de la souris se diffusaient à travers l'épiderme pour atteindre les couches dermiques (De) et sous-cutanées (Sc) de la peau.

(b) Dans cette étude, l'administration systémique de nanoparticules par injection dans la veine de la queue pénètre dans la peau par les vaisseaux sanguins et se diffuse dans les couches De et Sc de la peau. Notre étude est axée sur l'administration systémique et non sur l'application topique, car l'administration systémique est la méthode la plus courante pour l'introduction de médicaments à base de nanoparticules et d'agents de contraste dans le corps.

Les nanoparticules traversent la barrière hémato-encéphalique et favorisent le développement de maladies neurodégénératives (Parkinson, Alzheimer). Dans un article paru en septembre 2016, dans les PNAS, des chercheurs de l'Université de Lancaster (Royaume-Uni) avaient retrouvé des nanoparticules d'oxyde de fer dans l'encéphale de 37 personnes décédées âgées entre 62 et 92 ans qui avaient vécu à Mexico et Lancaster. Ces nanoparticules qui détruisent les cellules nerveuses entrent dans le cerveau par le bulbe olfactif. On sait aujourd'hui qu'elles peuvent déclencher une dégénérescence mentale.

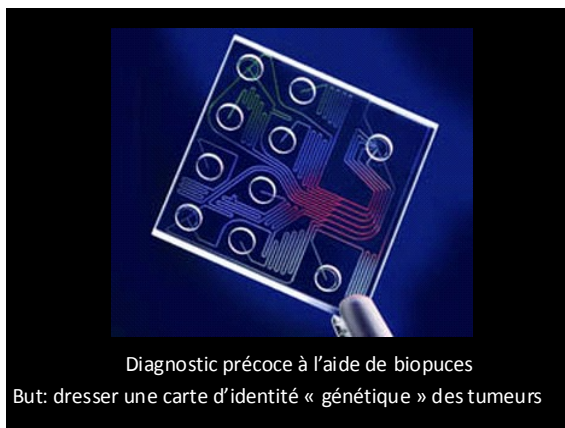
La nanomédecine



1/Points quantiques (QD) pour le diagnostic et le traitement du cancer

Les points quantiques (QD ou Quantum Dots) sont des nanocristaux semi-conducteurs qui émettent une fluorescence lors de l'excitation avec une source de lumière. Ils possèdent d'excellentes propriétés optiques, notamment une luminosité élevée, une résistance au photoblanchiment et une longueur d'onde accordable. Les développements récents en matière de modification de surface des QD permettent leur application potentielle en

imagerie du cancer. Les QD avec émission dans le proche infrarouge pourraient être appliqués à la cartographie sentinelle des ganglions lymphatiques pour faciliter la biopsie et la chirurgie. La conjugaison de QD avec des biomolécules, notamment des peptides et des anticorps, pourrait être utilisée pour cibler les tumeurs in vivo.



Diagnostic précoce à l'aide de biopuces

But: dresser une carte d'identité « génétique » des tumeurs

2/Les biopuces pour dresser une carte d'identité génétique des tumeurs et prévoir l'efficacité d'un médicament.

3/ Les nanoparticules d'or sont utilisés pour détruire les tumeurs par photothermie. Elles sont injectées dans le sang du patient et s'accumulent à l'intérieur de la tumeur qui est très vascularisée. En éclairant la tumeur avec un rayonnement LASER dans l'infrarouge, on chauffe les nanobilles d'or et la tumeur qui est détruite. (recherche développée à l'institut Langevin ,ESPCI,Paris, mai 2017).

4/La nanovectorisation des médicaments par les liposomes.

Nous savons que la chimiothérapie, peut détruire des cellules saines et le contrôle des quantités injectées n'est pas très bien contrôlé. La nanotechnologie nous propose donc un nouveau procédé : **Les liposomes ou la nanovectorisation des médicaments**. La vectorisation est un procédé qui consiste à administrer des médicaments directement à la cellule malade (à l'aide de capteurs), afin d'éviter aux cellules saines d'être affectées par ce médicament. Le gros avantage est donc que l'on peut cibler les cellules cancéreuses, et surtout doser la quantité de médicament à administrer. La petite taille et la biocompatibilité de ces nanovecteurs les font aisément pénétrer dans l'organisme. La nanoparticule va donc servir de vecteur, son rôle est de protéger la molécule thérapeutique des attaques causées par les anticorps humains mais aussi de cibler l'endroit où cette molécule ira se fixer.

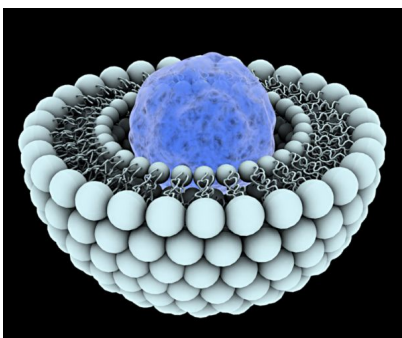
Le liposome est une vésicule biodégradable constituée d'une double couche de phospholipides (= graisse) et d'un compartiment aqueux.

Le principe actif du médicament (principalement, la doxorubicine) est placé dans la phase aqueuse quand il est hydrophile c'est-à-dire qu'il aime l'eau, et dans la bicouche quand il est lipophile (il aime le gras).

La structure phospholipidique du liposome est proche de celle de la membrane de la cellule : on dit que le liposome est biomimétique.

Un liposome est environ 70 fois plus petit qu'un globule rouge. Sa taille varie entre 100 et 300 nm. Le CNRS (Centre National de la Recherche et de la Santé) a répertorié trois générations de liposomes.

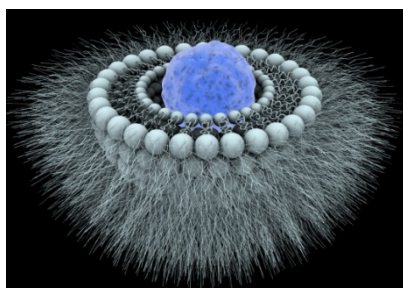
LES LIPOSOMES DE PREMIERE GENERATION



Les liposomes de première génération contenant le principe actif du médicament sont injectés au patient par voies intraveineuses. Ces liposomes vont rentrer en contact avec des protéines plasmatiques d'opsonines qui vont venir s'absorber à leur surface et les marqueront comme « non-soi ». Suivant leur trajet dans les voies sanguines, les liposomes seront intégrés dans les macrophages ou cellule de Kupffer (anticorps du foie) car ces liposomes sont répertoriés comme « corps étranger ».

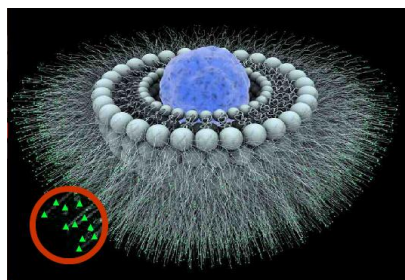
Les cellules de Kupffer ont des récepteurs à opsonine ce qui permet aux liposomes opsonisés de rentrer à l'intérieur de ce macrophage. Les nanovecteurs sont donc détruits et le principe actif est libéré. En fonction de ces caractéristiques physico-chimiques, le principe actif se propage à travers la membrane plasmique du macrophage. Il atteint alors les cellules hépatiques malades. Le liposome de première génération est donc une alternative très efficace au cancer du foie !

LES LIPOSOMES DE DEUXIEME GENERATION



Les liposomes de deuxième génération contiennent également le principe du médicament mais en plus il est entouré d'un polymère hydrophile. Ces liposomes sont appelés « liposomes pégylés » du nom du polymère qui leur a été fixé : le polyéthylène glycol ou PEG. Dans la circulation sanguine, les opsonines ne reconnaissent pas les liposomes pégylés grâce au polymère qui leur empêche l'absorption et donc ces liposomes ne sont pas reconnus comme « corps étranger ». C'est pourquoi les liposomes pégylés sont aussi appelés **liposomes furtifs**, l'organisme ne les reconnaissant pas comme étant des corps étrangers. Au niveau du foie, la reconnaissance par les récepteurs des cellules de Kupffer ne va pas se faire, ils ne sont donc pas captés par ces macrophages hépatiques et ils continuent leur chemin dans la circulation sanguine. En arrivant à proximité d'un tissu malade, porteur d'une infection ou d'une tumeur, les liposomes pégylés rencontrent un épithélium vasculaire discontinu (c'est à dire que la paroi entre tissu sanguin et le reste du corps est cassé en quelques endroits, comme un trou). Ils vont alors pouvoir passer au travers de cet épithélium vasculaire et atteindre le tissu malade. La cellule cancéreuse absorbe les liposomes et les détruit ce qui va provoquer la libération du principe actif et donc la mort de la cellule sous l'effet de ce dernier.

LES LIPOSOMES DE TROISIEME GENERATION



Les liposomes de troisième génération ont bien évidemment le principe actif du médicament et du PEG pour éviter d'être considéré comme « corps étranger ». En plus de cela ils ont également des marqueurs à acide folique qui leur permettront de reconnaître et de localiser précisément les cellules cancéreuses car ces dernières ont une caractéristique qui est l'hyper expression des récepteurs d'acide folique. C'est pour cela que ces nano-vecteurs sont également appelés « **liposomes pégylés et décorés** ». Tout comme les liposomes de deuxième génération les liposomes pégylés et décorés passent à travers la barrière des opsonines et continuent leur route dans le système sanguin. En arrivant à proximité d'un tissu tumoral, les liposomes pégylés et décorés rencontrent un épithélium vasculaire discontinu. Ils vont alors pouvoir passer au travers de l'épithélium vasculaire et atteindre la tumeur.

Grâce à l'acide folique présent à leur surface, les liposomes se fixent sélectivement sur les cellules tumorales, porteuses, excessivement du **récepteur à l'acide folique**. Ils sont ensuite internalisés par la cellule malade et le médicament est alors libéré et la cellule détruite. Basée sur le même principe que la chimiothérapie (adresser une substance chimique qui détruit la cellule cancéreuse), l'utilisation des nano-vecteurs (ici les liposomes) comme transports du médicament est bien plus avantageuse car les liposomes s'attaquent uniquement aux cellules atteintes d'un cancer et ne détruisent pas les cellules saines avoisinantes, contrairement à la chimiothérapie conventionnelle.