



HAL
open science

Les nanoparticules en médecine bucco-dentaire : aspects toxicologiques

Claire Olivier

► **To cite this version:**

Claire Olivier. Les nanoparticules en médecine bucco-dentaire : aspects toxicologiques. Sciences du Vivant [q-bio]. 2018. hal-03297634

HAL Id: hal-03297634

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03297634>

Submitted on 18 Oct 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

ACADÉMIE DE NANCY – METZ

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

FACULTÉ D'ODONTOLOGIE

ANNÉE 2018

N° 10503

THÈSE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE – DENTAIRE

par

Claire OLIVIER

née le 31 octobre 1992 à Lille (59)

**NANOPARTICULES EN MÉDECINE BUCCO-DENTAIRE :
ASPECTS TOXICOLOGIQUES**

présentée et soutenue publiquement le 3 décembre 2018

Examineurs de la thèse :

Pr JM MARTRETTE

Dr K YASUKAWA

Dr C JURAS

Dr D JOSEPH

Professeurs des Universités

Maître de Conférences

Assistant Hospitalo-Universitaire

Maître de Conférences

Président

Directeur de thèse

Directeur de thèse

Juge

« Par délibération en date du 11 décembre 1972, la Faculté de Chirurgie Dentaire a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propre à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation »

Président : Professeur Pierre MUTZENHARDT

Doyen : Professeur Jean-Marc MARTRETTE

Vice-Doyens : Dr Céline CLEMENT – Dr Rémy BALTHAZARD – Dr Anne-Sophie VAILLANT

Membres Honoraires : Dr L. BABEL – Pr. S. DURIVAUX – Pr A. FONTAINE – Pr G. JACQUART – Pr D. ROZENCWEIG - Pr ARTIS - Pr M. VIVIER

Doyens Honoraires : Pr J. VADOT, Pr J.P. LOUIS

Professeur émérite : Pr M-P FILLEUL

Département Odontologie pédiatrique Sous-section 56-01	Mme <u>DROZ Dominique</u>	Maître de Conférences *
	Mme JAGER Stéphanie	Maître de Conférences *
	M. PREVOST Jacques	Maître de Conférences
	Mme HERNANDEZ Magali	Maître de Conférences *
	M. LEFAURE Quentin	Assistant
	Mme DARSAT Claire	Assistante*
Département Orthopédie dento-faciale Sous-section 56-01	M. <u>EGLOFF Benoit</u>	Maître de Conférences *
	Mme GREGOIRE Johanne	Assistante
	Mme LAWTON Mathilde	Assistante
Département Prévention, épidémiologie, économie de la santé, odontologie légale Sous-section 56-02	Mme <u>CLEMENT Céline</u>	Maître de Conférences *
	M. BAUDET Alexandre	Assistant *
	Mme NASREDDINE Greyce	Assistante
Département Parodontologie Sous-section 57-01	M. <u>AMBROSINI Pascal</u>	Professeur des Universités *
	Mme BISSON Catherine	Maître de Conférences *
	M. JOSEPH David	Maître de Conférences *
	M. LACH Patrick	Assistant
	Mme MAYER-COUPIN Florence	Assistante
	Mme PAOLI Nathalie	Enseignante univ. – Praticien attachée*
Département Chirurgie orale Sous-section 57-01	Mme <u>GUILLET-THIBAUT Julie</u>	Maître de Conférences *
	M. BRAVETTI Pierre	Maître de Conférences
	Mme PHULPIN Bérengère	Maître de Conférences *
	M. CLERC Sébastien	Assistant*
	M. HASNAOUI Nasr	Assistant
	Mme KICHENBRAND Charlene	Enseignante univ. – Praticien attachée*
Département Biologie orale Sous-section 57-01	M. <u>YASUKAWA Kazutovo</u>	Maître de Conférences *
	M. MARTRETTE Jean-Marc	Professeur des Universités *
	Mme EGLOFF-JURAS Claire	Assistante*
Département Dentisterie restauratrice, endodontie Sous-section 58-01	M. <u>MORTIER Eric</u>	Professeur des Universités *
	M. AMORY Christophe	Maître de Conférences
	M. BALTHAZARD Rémy	Maître de Conférences *
	M. ENGELS-DEUTSCH Marc	Maître de Conférences
	M. VINCENT Marin	Maître de Conférences*
	Mme GEBHARD Cécile	Assistante
	M. GEVREY Alexis	Assistant
	M. GIESS Renaud	Assistant *
Département Prothèses Sous-section 58-01	M. <u>DE MARCH Pascal</u>	Maître de Conférences
	M. SCHOUVER Jacques	Maître de Conférences
	Mme VAILLANT Anne-Sophie	Maître de Conférences *
	Mme CORNE Pascale	Maître de Conférences Associée *
	M. CIESLAK Steve	Assistant
	M. HIRTZ Pierre	Assistant *
	M. MAILLET Maxime	Assistant
	Mme MOEHREL Bethsabée	Assistante
	M. VUILLAUME Florian	Assistant
	Mme STRAZIELLE Catherine	Professeur des Universités *
Département Fonction-dysfonction, imagerie, biomatériaux Sous-section 58-01	Mme MOBY (STUTZMANN) Vanessa	Maître de Conférences *
	M. SALOMON Jean-Pierre	Maître de Conférences

Souligné : responsable de département * temps plein

Mis à jour le 01/09/2018

A notre Président de thèse,

Monsieur le Docteur Jean-Marc MARTRETTE

Docteur en Chirurgie Dentaire

Spécialiste qualifié en Médecine Bucco-Dentaire

Docteur en Sciences Pharmacologiques

Habilité à diriger des Recherches

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Sous-section : Chirurgie Orale ; Parodontologie ; Biologie Orale

Doyen de la Faculté d'Odontologie de Nancy

Nous vous remercions d'avoir accepté de présider ce jury.
Veuillez trouver ici le témoignage de notre profond respect et soyez assuré de notre
profonde reconnaissance.

A notre Directeur de thèse,

Monsieur le Docteur Kazutoyo YASUKAWA

Docteur en chirurgie dentaire

Docteur de l'université de Paris Descartes, mention science de la vie et de la santé

Qualification en médecine bucco-dentaire

Maître de Conférences des universités - Praticien Hospitalier

Sous-section : Chirurgie Orale ; Parodontologie ; Biologie Orale

Responsable du département de biologie orale

Vous nous avez fait le grand honneur de diriger notre thèse.

Nous vous remercions pour le temps que vous avez consacré et les précieux conseils que vous avez pu nous donner lors de la rédaction de cette thèse et pendant toute notre scolarité. Vous avez été un directeur exemplaire.

Veillez trouver ici le témoignage de notre profonde reconnaissance et de notre profond respect.

A notre co-directrice de thèse,

Madame le Docteur Claire JURAS

Docteur en chirurgie dentaire

Ancienne interne des hôpitaux de Nancy

Qualification en médecine bucco-dentaire

Assistant Hospitalo-Universitaire

Sous-section : Chirurgie Orale ; Parodontologie ; Biologie Orale

Nous vous remercions du très grand honneur que vous nous avait fait en acceptant de co-diriger notre thèse.

Nous vous remercions pour votre disponibilité, votre gentillesse et vos conseils qui nous ont permis de réaliser ce travail.

Nous vous exprimons ici notre profonde reconnaissance et notre profond respect.

A notre juge,

Monsieur le Docteur David JOSEPH

Docteur en Chirurgie-Dentaire

Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier

Ancien Assistant Hospitalo-Universitaire

Sous-Section : Chirurgie-Orale, Parodontologie, Biologie Orale

Vous nous faites un grand honneur d'accepter de faire partie de notre jury.
Veuillez recevoir nos remerciements les plus chaleureux. Nous vous prions de
trouver ici le témoignage de notre gratitude et de notre profond respect.

A mes parents, merci de m'avoir soutenu toutes ces années et de m'avoir fait grandir pour devenir l'adulte que je suis aujourd'hui. Merci d'avoir supporté mon stress avant chaque examen. Vous pouvez désormais souffler, c'est fini !

A Rémi, merci d'être à mes côtés, je t'aime tout simplement.

A ma sœur Camille, ma complice de tous les instants, une oreille attentive et un amour de sœur.

A mes grand-mères, qui ont toujours été là pour moi-même avec la distance qui nous sépare. Je vous aime.

A ma famille, loin des yeux mais évidemment pas loin du cœur.

A mes amis de toujours, Marie-Amélie et Flavio, à nos fous-rires mémorables et notre amitié malgré la distance.

A mes amies de la fac, Philippine, Hélène et Manon, on ne se voit plus aussi souvent mais nos discussions sont toujours aussi passionnantes !

SOMMAIRE

1. Introduction	12
2. Les nanoparticules en médecine bucco-dentaire	13
2.1 Définitions	13
2.1.1 Les nanoparticules.....	13
2.1.2 Nanoscience et nanotechnologie	13
2.2 Conception d'un nanomatériau	14
2.2.1 <i>Top down</i> ou approche descendante.....	14
2.2.2 <i>Bottom up</i> ou approche ascendante	14
2.3 Propriétés physico-chimiques des nanoparticules	15
2.4 Nanomatériaux dentaires	16
2.4.1 Implantologie.....	16
2.4.2 Endodontie.....	20
2.4.3 Les composites	23
2.5 Les nanoparticules alimentaires	26
2.5.1 Le colorant alimentaire E171	27
2.5.2 Les dentifrices.....	28
2.6 En résumé	29
3. Toxicité des nanomatériaux dentaires.....	31
3.1 Interaction entre nanomatériaux et systèmes biologiques	31
3.1.1 Propriétés des nanoparticules.....	31
3.1.2 Inhalation des nanoparticules	31
3.1.3 Ingestion des nanoparticules	32
3.2 Cytotoxicité	33
3.2.1 Le stress oxydatif	33
3.2.2 Cytotoxicité des nanoparticules d'argent	35
3.2.3 Cytotoxicité des nanoparticules de dioxyde de titane	40
3.2.4 Cytotoxicité des nanoparticules d'oxyde de zinc.....	41
3.2.5 Cytotoxicité des nanoparticules de silice	41
3.3 Immunotoxicité	42
3.3.1 Les nanoparticules de dioxyde de titane	43

3.3.2	Les nanoparticules d'argent.....	44
3.3.3	Les nanoparticules d'oxyde de zinc	45
3.4	Hématotoxicité	45
3.4.1	Composition du sang	45
3.4.2	Conséquences sur les érythrocytes	46
3.4.3	Conséquences sur les plaquettes	47
3.5	Toxicité systémique	49
3.5.1	Toxicité par inhalation	49
3.6	Génotoxicité	50
3.6.1	Facteurs influençant la génotoxicité des nanoparticules.....	50
3.6.2	Processus d'altération de l'ADN.....	51
3.6.3	L'action génotoxique des différentes nanoparticules	54
3.7	Cancérogénicité	55
3.7.1	Les nanoparticules de dioxyde de titane	55
3.7.2	Les nanoparticules d'argent.....	57
3.7.3	Rôle du facteur de transcription P53.....	58
3.8	Neurotoxicité	59
3.8.1	Rappels.....	59
3.8.2	Mode de passage des nanoparticules au cerveau.....	59
3.8.3	Toxicité des nanoparticules.....	60
3.9	Toxicité sur la reproduction et le développement	63
3.9.1	Toxicité des nanoparticules pendant l'ovogenèse.....	63
3.9.2	Passage des nanoparticules à travers la barrière placentaire	64
3.9.3	Toxicité des nanoparticules sur le système reproducteur masculin	66
3.10	En résumé	68
4.	Prévention des risques au cabinet dentaire	70
4.1	Prévention et protection du praticien et du personnel au cabinet dentaire	70
4.2	Prévention et protection du patient	71
5.	Conclusion	73
6.	Bibliographie	74

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Cascade d'activation induite par le stress oxydatif	34
Figure 2 : Réponse au stress oxydatif via signal MAPK	37
Figure 3 : Cascade d'activation via VEGFR-2	38
Figure 4 : Schéma représentant les cibles de la cascade d'activation MAPK	40
Figure 5 : Interaction entre les nanoparticules et le système immunitaire	43
Figure 6 : activation plaquettaire.....	48
Figure 7 : le cycle cellulaire (Victoria Denys/CEA).....	52
Figure 8 : mode de réparation de l'ADN	53
Figure 9 : mode d'action des glycosylases	54
Figure 10 : Schéma représentant les conséquences de l'exposition chronique aux nanoparticules d'argent sur l'apparition de tumeur	58
Figure 11 : Synapse	62
Figure 12 : coupe cytologique du placenta	65
Figure 13 : structure cytologique du testicule	67

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Récapitulatif sur les nanomatériaux retrouvés en médecine bucco-dentaire.....	29
Tableau 2 : Récapitulatif sur la toxicité des nanoparticules utilisées en médecine-bucco dentaire	68

1. Introduction

L'essor des nanoparticules ne date que d'une trentaine d'années, nous avons donc très peu de recul sur le sujet. On les retrouve dans de nombreux domaines comme l'industrie, l'alimentation, la cosmétique, la santé, etc. Le phénomène est tel qu'il est aujourd'hui impossible de ne pas y être exposé.

Les nanoparticules possèdent des propriétés très intéressantes pour améliorer l'efficacité des matériaux. Depuis quelques années, ces nanoparticules apparaissent dans notre exercice quotidien au cabinet dentaire, nous pouvons aujourd'hui les utiliser en implantologie, endodontie, et même au sein des résines composites.

Cependant, leur petite taille pose problème, elles sont en effet plus petites qu'une cellule et ont la capacité de pénétrer à l'intérieur. Elles engendrent alors une série de modification au sein de la cellule pouvant être potentiellement toxique. Peu d'étude traite du sujet, mais les avancées dans le domaine sont très rapides.

Nous étudierons donc ici la toxicité provoquée par les nanoparticules utilisées dans le domaine de la médecine bucco-dentaire après les avoir recensé. Puis nous verrons s'il est possible de mettre en place des moyens de prévention.

2. Les nanoparticules en médecine bucco-dentaire

2.1 Définitions

2.1.1 Les nanoparticules

Les nanoparticules sont définies comme étant des particules de taille comprise entre 1 et 100 nanomètres (abrégé nm). Un nanomètre correspond à 10^{-9} mètre. On parle de particule ultra fine (PUF). Les nanoparticules sont donc plus grandes qu'un atome (dont le diamètre moyen est de 10^{-10} mètre soit 0,1 nm), et plus petite qu'une cellule (dont la taille varie de 10^{-8} à 10^{-7} mètres soit 100 à 1000 nm chez un eucaryote).

Pour qu'un objet soit considéré comme une nanoparticule il faut que ses trois dimensions externes soit à l'échelle nanométrique. Auquel cas il ne sera considéré que comme un nano-objet si au moins une de ses dimensions ne remplit pas ce critère.

Il est également important de noter qu'une nanoparticule n'est pas forcément une sphère.

Sont par exemple considérés comme des nanoparticules : l'oxyde de zinc, l'oxyde d'alumine ou encore le dioxyde de titane. ^{[69] [74]}

2.1.2 Nanoscience et nanotechnologie

Les nanotechnologies concernent la fabrication et la manipulation des structures à l'échelle nanométrique afin de développer des technologies toujours plus performantes grâce aux propriétés permises par l'échelle nanométrique

Les nanosciences concernent l'étude des nanoparticules pour en comprendre les répercussions à l'échelle macroscopique. Les nanotechnologies reposent sur les concepts développés par les nanosciences.

Les nanomatériaux font l'objet de nombreuses définitions mais pour l'Union Européenne la taille des particules qui composent le matériau est primordiale pour qu'il soit qualifié de nanomatériau. On retiendra donc que les nanomatériaux sont

des matériaux naturels ou synthétiques composés pour au moins la moitié de nanoparticules dont la taille est par définition comprise entre 1 et 100 nm. Ils ne sont cités dans aucun texte législatif de l'Union Européenne mais selon la législation les risques que peuvent présenter les nanoparticules sont pris en compte. ^{[69] [74]}

Parmi ces nanomatériaux, on distingue :

- Des nanomatériaux manufacturés (c'est-à-dire créés par l'homme)
- Des nanomatériaux naturels (que l'on retrouve dans la nature)

2.2 Conception d'un nanomatériau

2.2.1 Top down ou approche descendante

Les nanomatériaux conçus par technique *Top Down* sont élaborés à partir de structures de taille supérieure au nanomètre. En laboratoire, leur taille sera progressivement réduite par fractionnement ou broyage afin de créer des nanomatériaux dont les propriétés restent identiques au matériau de taille supérieure. L'avantage est de produire de grande quantité de matériaux mais la composition interne et l'agencement des particules entre elles ne sont pas aussi bien contrôlés qu'en approche ascendante. ^{[51] [70]}

2.2.2 Bottom up ou approche ascendante

Cette technique est issue de l'ingénierie chimique. Les nanomatériaux conçus par l'approche ascendante sont fabriqués en assemblant des atomes entre eux, des molécules ou bien encore des agrégats de nanoparticules. Cette méthode a pour avantage non négligeable de contrôler précisément la composition du nanomatériau ainsi que l'agencement de chaque atome ou molécule le composant. Cette technique produit moins de nanomatériaux que la technique en *Top Down* mais elle a pour avantage de produire des nanomatériaux à l'architecture plus diversifiée et mieux contrôlée. De plus, on peut obtenir des nanomatériaux aux propriétés inédites par rapport aux matériaux déjà existants. On en déduira donc que les propriétés des nanoparticules sont dépendantes de leur processus de fabrication. ^{[51] [70]}

Les procédés de fabrication s'appuient sur l'assemblage des particules selon un mode ligand-récepteur. Une autre technique de fabrication selon l'approche *bottom up* utilise les séquences d'assemblage de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et de l'acide ribonucléique (ARN), celles-ci serviront alors de modèles d'assemblage pour les particules servant à fabriquer les nanoparticules. On appelle cette technique la nano-catalyse.

2.3 Propriétés physico-chimiques des nanoparticules

L'utilisation des nanoparticules est encore récente et ne date que des années 1990. C'est pourquoi il y a encore un manque de connaissances sur les mécanismes chimiques et physiques de la structure à l'échelle nanométrique et des lacunes sur la compréhension des nano-modifications au sein de l'organisme.

On distingue 3 types de nanoparticules : les particules biodégradables, les particules solubles et les particules non ou lentement solubles.

Leur effet sur l'organisme, leur biodistribution ainsi que leur élimination dépendent à la fois de leur masse par unité de volume, de la solubilité, de la biodégradabilité ainsi que de la voie d'administration de la nanoparticule. ^[73]

- **La surface des nanoparticules**

Plus la taille est petite, plus le rapport surface/volume augmente. C'est-à-dire que plus la taille est petite, plus la surface augmente et plus le volume diminue. Pour une même masse lorsque la surface est multipliée par 10, le volume est réduit par 10. La conséquence directe de la diminution de la taille est donc l'augmentation de la surface d'échange.

Les nanoparticules sont formées en leur centre par un réseau cristallin organisé et d'une surface plus désordonnée caractérisée par un nombre plus élevé d'atome qu'en son centre. De ce fait, la surface réagit plus avec l'environnement. Les réactions chimiques dépendent alors de leur surface. ^[73]

- **Agrégation et agglomération**

Il faut également noter la tendance des nanoparticules à former des agglomérats formant à leur tour des agrégats de nanoparticules. Les agglomérats sont des nanoparticules liées entre elles par des forces faibles type Van Der Valls contrairement aux agrégats qui sont des nanoparticules liées entre elles par des liaisons fortes comme les liaisons de covalence.

La formation d'agglomérat et d'agrégat est facilitée dans les milieux biologiques comme le sang ou encore le plasma. La tendance des nanoparticules à se modifier ainsi résulte de leur petite taille et de leur composition chimique initiale. Le problème de la formation de ces agrégats est la diminution des avantages liés à la petite taille des nanoparticules.^[73]

- **Propriétés mécaniques**

Les nanoparticules sont généralement plus résistantes à l'usure et leur rigidité est augmentée. Cependant la ductilité diminue du fait du phénomène de dislocation des particules, plus les particules sont petites, plus la déformation peut être importante.

Rappel : Selon le *Larousse* la rigidité se définit comme la déformation d'un matériau sous une contrainte et la ductilité se définit comme la capacité d'un corps à se déformer sans se rompre.

Une autre caractéristique intéressante des nanoparticules est que malgré leur masse beaucoup plus faible comparativement aux matériaux macroscopiques, elles peuvent tout de même présenter les mêmes propriétés physiques et mécaniques que ces derniers.^[73]

2.4 Nanomatériaux dentaires

2.4.1 Implantologie

Dès le début des années 50, des solutions prothétiques pour corriger les édentations ont été proposées. C'est ainsi que sont apparus les grilles en nickel chrome ou en or. Ces grilles étaient juxta osseuses sous la gencive. Puis les implants aiguilles ont été

développés, il s'agissait d'aiguilles intra-osseuses venant supporter une reconstitution prothétique.

Il faudra attendre les années 60 pour que Brånemark conçoive les implants dentaires tels que nous les connaissons actuellement. Il révolutionne l'implantologie en développant le concept d'ostéo-intégration de l'implant dentaire. Les implants sont alors composés de titane, élément métallique biocompatible avec l'os, c'est-à-dire permettant l'obtention d'une connexion anatomique directe en l'os et la surface de l'implant en titane.

Jusqu'à nos jours, l'implantologie s'est développée de telle sorte que l'on essaye désormais d'améliorer l'ostéo-intégration en jouant sur l'état de surface de l'implant. C'est pourquoi les chercheurs ont essayé de développer des implants recouverts d'hydroxyapatite ou encore de sels d'orthophosphate de calcium (Haihong Liao, 2006). Ces implants ont cependant été abandonnés. Mais de récentes études montrent que l'ajout de nanoparticules d'argent au titane des implants pourrait augmenter l'ostéo-intégration ainsi qu'avoir un effet bactéricide (Guillaume B, 2006).

Nous verrons donc dans une première partie les particularités du titane utilisé en implantologie. Puis dans une seconde partie nous aborderons les implants recouverts de nanoparticules d'argent. ^[23]

2.4.1.1 *Le titane en implantologie*

Le titane est l'élément principal utilisé en implantologie grâce à son excellente biocompatibilité, c'est-à-dire sa capacité à s'intégrer dans le corps sans pour autant entraîner des modifications du milieu biologique. De plus, on peut noter une très bonne résistance mécanique ainsi qu'une bonne résistance à la corrosion.

Cette résistance à la corrosion est d'ailleurs permise par la formation d'une couche d'oxyde de titane, TiO_2 , se formant au contact de l'air ambiant ou des fluides biologiques comme le sang ou la salive. Cette couche oxydée mesure environ 5 nm d'épaisseur et elle est par conséquent considérée comme une couche de nanoparticules. Le titane peut s'oxyder facilement en raison d'une stabilité thermodynamique moins importante que celle de l'eau. La couche externe de l'implant en titane s'oxyde ainsi en TiO , TiO_2 ou encore en Ti_2O_3 , la couche la plus

stable étant celle de TiO_2 . L'avantage non négligeable des nanoparticules recouvrant le titane est de diminuer la libération d'ion métallique et donc par conséquent d'augmenter la biocompatibilité de l'implant dentaire. On appelle la couche de dioxyde de titane la couche de passivation.

De plus le dioxyde de titane a la particularité d'entraîner une réaction immunitaire permettant de créer une liaison entre l'os et la surface de l'implant en titane, c'est l'ostéo-intégration.

L'ostéo-intégration grâce au TiO_2 se déroule ainsi : tout d'abord la couche oxydée du titane s'hydrolyse au contact des divers fluides biologiques (sang ou salive). Puis dans un second temps l'implant absorbe les ions positifs et négatifs venant des fluides. Les protéines, glycoprotéines et polysaccharides sont ensuite absorbés et un réseau de fibrine se forme au contact du sang. Ensuite la couche de TiO_2 augmente d'épaisseur et le phosphate de calcium vient se précipiter. Pour finir, une matrice se forme autour de l'implant.

Outre l'obtention de la couche de nanoparticules de dioxyde de titane par oxydation au contact des fluides physiologiques, il existe d'autres méthodes pour modifier la surface de l'implant en titane pur. On distingue la méthode chimique telle que l'anodisation du titane ou encore le traitement de surface par l'acide ou l'oxydation par H_2O_2 . La méthode biochimique quant à elle utilise des molécules afin de potentialiser la réponse des cellules sur le titane. Et enfin la dernière méthode employée modifie l'état de surface du titane en utilisant des faisceaux électriques permettant le dépôt d'oxyde. ^{[68] [71]}

2.4.1.2 *Les implants recouverts de nanoparticules d'argent*

Les nanoparticules d'argent sont principalement utilisées pour leurs propriétés antibactériennes. L'argent est d'ailleurs utilisé depuis très longtemps comme composant principal des premiers amalgames dentaires. L'évolution des technologies a permis de potentialiser l'effet des particules d'argent grâce à une taille et une forme parfaitement maîtrisées. On l'intègre par exemple à la couche de surface des implants pour limiter les péri-implantites.

L'argent est classé dans la 11^{ème} colonne du tableau de la classification périodique qui comprend entre autre l'or et le cuivre. La forme stable de l'argent est Ag^+ , qui se lie facilement avec le sulfure, l'azote et l'oxygène que l'on retrouve dans les acides nucléiques pour l'azote et dans certaines enzymes pour le sulfure. Son potentiel d'ionisation étant le plus bas de son groupe, l'argent est parfaitement stable dans une solution aqueuse.

La liaison des nanoparticules d'argent aux sulfures leur permet de se fixer sur la membrane plasmique des bactéries à Gram négatif qui en sont composées, les bactéries à Gram positif y sont beaucoup moins sensibles. Les nanoparticules sont alors absorbées par les bactéries et via un stress oxydatif elles entraînent des modifications au sein même de leur ADN perturbant le signal cellulaire et les cascades d'activation qui en découlent. Ce qui conduit à une diminution de la croissance et de la viabilité des bactéries.

Par ailleurs, les bactéries buccales sont le plus souvent organisées en biofilm leur donnant une plus grande résistance aux agressions extérieures. Pour qu'une nanoparticule puisse passer la barrière du biofilm, sa taille doit être inférieure à 50 nm, d'où la grande importance de la taille et la forme de la nanoparticule. De plus la charge de la nanoparticule doit également être prise en compte, les bactéries étant chargées négativement en raison de leur groupement carboxyle et phosphoryle présents en surface, une nanoparticule chargée négativement ne passera pas la membrane plasmique, c'est pourquoi l'argent Ag^+ est tout indiqué dans ce cas.

Des implants recouverts de nanoparticules d'argent ont été développés (Matsubara V et al, 2015). Les implants sont constamment exposés au biofilm bactérien du fait de la contamination salivaire systématique lors de leur pose. Le relargage des nanoparticules d'argent subit un pic 6 heures après la pose de l'implant puis décroît régulièrement durant les 24 heures suivantes. Il a été démontré que l'adhésion des bactéries en surface est diminuée, l'ostéointégration est augmentée ainsi que l'adhésion des fibroblastes grâce aux nanoparticules d'argent qui miment une matrice extracellulaire à la surface des implants (Qiao S et al, 2015). Toujours dans ces études, il a été démontré une inhibition complète du biofilm bactérien *in vitro* et 30 % de bactéries en moins à la surface de l'implant *in vivo*. Les nanoparticules

d'argent sont les plus efficaces sur *Staphylococcus aureus* et *Fusobacterium nucleatum* qui sont notamment retrouvés dans les péri-implantites (Zhu et al, 2015).

Bien évidemment les concentrations de nanoparticules utilisées à la surface des implants ont des conséquences sur les cellules humaines et notamment les fibroblastes au-delà d'une certaine concentration. [45]

2.4.2 Endodontie

L'endodontie est définie comme « *une discipline de l'odontologie qui concerne la prévention, le diagnostic et le traitement des maladies de la pulpe et des manifestations périradiculaires associées* ». [9]

Les bactéries colonisant les canaux radiculaires diffèrent en fonction de l'origine de l'infection : [38]

- Lors d'une infection primaire, c'est-à-dire pour les infections concernant soit une lésion chronique périradiculaire soit un abcès périapical aigu, on retrouve le plus souvent des bactéries de types coques et bacilles telles que des *Streptocoques*, des *Peptostreptocoques*, des *Veillonella*, des *Bactéroides*, des *Prevotella*, des *Porphyromonas*, des *Fusobacterium* et des *Actinomyces*.
- Lors d'une infection secondaire, c'est-à-dire lorsqu'une infection persiste après traitement radiculaire initial ou lors d'une infection d'origine extra-radiculaire, les bactéries les plus fréquemment rencontrées sont les *Enterococcus*, les *Actinomyces*, les *Streptococcus*, les *Candida*, les *Propionibacterium*, les *Staphylococcus* et les *Pseudomonas*.

Ces dernières années, les nanoparticules sont ajoutées aux irrigants canalaires ou aux ciments de scellement endodontiques afin de potentialiser la désinfection canalair.

On distingue en particulier quatre types de nanoparticules utilisées : les nanoparticules d'argent, les nanoparticules de chitosan, les nanoparticules de verre bioactif ainsi que les nanoparticules d'oxyde de zinc.

2.4.2.1 Les nanoparticules d'argent en endodontie

Comme vu précédemment les nanoparticules d'argent ont un effet antibactérien et permettent de lutter contre le biofilm bactérien recouvrant les parois canalaire. Elles fonctionnent en créant des brèches dans la membrane plasmique des bactéries, la dissolution d'ion métallique entraîne par la suite un stress oxydatif conduisant à la mort de la bactérie. On peut à la fois les retrouver dans les irrigants canalaire mais aussi dans les ciments de scellement endodontiques. ^[45]

Hirashi et *al.* (2015) ont testé le fluorure de diamine d'argent contre la bactérie *Enterococcus faecalis*. Ils ont alors utilisé ce produit contenant des nanoparticules en désinfectant canalaire de la même manière que l'hydroxyde de calcium. Ils ont pu remarquer l'élimination totale du biofilm bactérien en 48 heures pour 60 minutes de contact. Bien que le temps d'élimination des bactéries soit long, ces nanoparticules ont montré une efficacité supérieure à celle de l'hydroxyde de calcium. ^[40]

2.4.2.2 Les nanoparticules de Chitosan en endodontie

Le chitosan est un diacétyle dérivé de la chitine dont la formule chimique est poly[1,4-β-D-glucopylanosamine]. C'est notamment un composant principal de l'exosquelette des crustacés. Les nanoparticules de chitosan sont formées par l'interaction de la charge positive de chitosan et de la charge négative du tri-polyphosphate. La charge et la structure initiale du chitosan sont alors modifiées pour créer les nanoparticules. Les nanoparticules de chitosan sont plus actives que le chitosan seul car elles sont chargées positivement et elles ont également une plus grande aire de surface permettant d'augmenter la surface d'interaction avec les bactéries

Les nanoparticules de chitosan ont pour avantage d'avoir un effet antibactérien, antifongique et antiviral. Elles sont principalement actives sur les bactéries Gram-positive. Leur activité antibactérienne est dépendante directement des conditions du milieu et notamment du pH, des modifications chimiques environnantes, des protéines et lipides présents ainsi que du degré d'acétylation.

Ces nanoparticules sont actives dans les milieux acides dont le pH est inférieur à 6,5 du fait de leur non solubilité au-delà de ce pH.

Le chitosan fonctionne ainsi : ces nanoparticules sont chargées positivement, elles attirent donc les membranes plasmiques des bactéries chargées négativement, ce lien se fait en 30 minutes seulement. Puis les nanoparticules enveloppent la bactérie et pénètrent à l'intérieur, elles se lient ensuite à l'ADN bactérienne par l'intermédiaire des plasmides. Les cascades d'activation cellulaires sont alors inhibées conduisant à la mort bactérienne. [12]

Les études de Del Carpio-Perochena et *al* (2015) ont permis de démontrer l'efficacité de ces nanoparticules. Ils ont pris deux ciments de scellement, le MTA Fillapex® et le ThermaSeal® de Dentsply. Ils ont comparé l'efficacité de ces deux ciments avec et sans nanoparticules de chitosan. Il s'est avéré qu'au bout d'une semaine aucune différence significative n'a été détectée entre les deux échantillons étudiés. La différence survient 4 semaines après le début de l'expérience : les échantillons contenant les nanoparticules de chitosan ont encore un effet antibactérien contrairement aux échantillons n'en contenant pas. De plus, il a été démontré une inhibition de la dégradation de la matrice collagénique, en lien avec la structure du chitosan similaire à celle d'une matrice extracellulaire. [49]

Les nanoparticules de chitosan ont donc prouvé tout leur intérêt.

2.4.2.3 Les nanoparticules de verre bioactif en endodontie

Elles font entre 20 et 60 nm. On compte parmi elles les SiO_2 , Na_2O_2 , CaO_2 et P_2O_5 . Les nanoparticules de verre bioactif sont à la fois ostéoconductrices et antibactériennes.

Waltimo et *al*. sont arrivés à la conclusion que les nanoparticules de verres bioactifs seraient efficaces en raison de leur aire de surface importante permise grâce au relargage d'espèces alcalines en milieu aqueux avec l'augmentation du pH. Le relargage ionique permet également une augmentation de la pression osmotique et une augmentation de seulement 1% de la pression osmotique permet d'inhiber de nombreuses bactéries.

Il faut noter que contrairement aux nanoparticules d'argent le verre bioactif est plus actif sur les bactéries isolées que sur le biofilm bactérien. ^[50]

Un autre avantage du verre bioactif est sa capacité de reminéralisation des tissus dentinaires environnants. En effet, il produit du carbonate apatite au contact des fluides biologiques. Leur taille nanométrique leur permet aisément de pénétrer dans les tubuli dentinaires et d'entraîner ainsi leur scellement, les bactéries ne pouvant alors plus s'y loger. Leur effet sur la reminéralisation dentinaire est la raison pour laquelle ils sont également utilisés pour lutter contre les sensibilités dentinaires en étant par exemple ajoutés aux dentifrices. ^[40]

2.4.2.4 Les nanoparticules d'oxyde de zinc en endodontie

Les nanoparticules d'oxyde de zinc ont également un effet antibactérien et potentialisent les effets des ciments de scellements endodontiques. Les particules de zinc relarguées permettent de créer des brèches dans la membrane plasmique de la bactérie. Les nanoparticules métalliques ont également pour effet de bloquer le passage des électrons à travers la membrane, ce qui entraîne soit la mort cellulaire soit l'inhibition de la croissance de la cellule. ^[40]

2.4.3 Les composites

2.4.3.1 Les membranes de régénération osseuse guidée

Les membranes de régénération osseuse guidée (RGO) sont utilisées dans le domaine de l'implantologie. Elles permettent à la matrice extracellulaire des ostéoblastes de se fixer sur une surface stable reproduisant les propriétés des structures environnantes. Les nanoparticules sont également à l'étude dans ce domaine afin de potentialiser ses effets.

Des nanoparticules de TiO_2 ont été incorporées à une membrane PLGA (*Poly lactide-co-glycolide*) modifiée avec du plasma oxygéné afin de créer une rétention pour celles-ci (Castillo-Dali G et al, 2016).

Il s'est avéré que la membrane seule avait pour avantage de ne pas induire de réponse immunitaire et de permettre l'ostéo-intégration. Cependant la membrane

étant hydrophobe, on pouvait remarquer une diminution de la résistance mécanique ainsi qu'une diminution du pH environnant entraînant par la suite un relargage de résidus acides. Les bactéries pouvant proliférer davantage dans ce milieu, une réponse inflammatoire est visible. C'est pourquoi des nanocomposites ont été ajoutés à la membrane PLGA afin de réduire l'inflammation et potentialiser la migration des ostéoblastes.

Cependant l'impact de ces nanoparticules sur la morphologie du noyau des ostéoblastes ainsi que sur la transcription génétique et par la suite sur l'expression des gènes restent à évaluer. L'étude de l'équipe de Castillo-Dali et *al.* a été menée sur des lapins et elle est tout à fait prometteuse mais elle est bien évidemment à étudier chez l'homme. ^[5]

2.4.3.2 Le ciment verre ionomère

Les ciments verre ionomère (CVI) sont principalement utilisés pour restaurer les lésions cervicales ainsi que pour le scellement de certains éléments prothétiques. Ils sont composés d'une poudre de fluoro alumino silicate et d'un liquide l'acide polyalkénoïque majoritairement. Il se produit alors une réaction acide-base entre la poudre et le liquide. L'avantage du CVI est le relargage de fluor permettant une action antibactérienne en particulier sur *Streptococcus mutans*.

Plusieurs études ont été menées afin de permettre au CVI d'agir sur un plus vaste panel de bactéries.

C'est pourquoi El-Wassefy N et *al.* (2017) ont ajouté au CVI GIC Fuji IX GP de la poudre de nanoparticules d'argent. On remarque alors que le CVI renforcé aux nanoparticules est plus dur et plus résistant à l'abrasion. De plus, l'effet antibactérien est augmenté et le biofilm diminue progressivement jusqu'à disparaître au-delà de 5% de nanoparticules en plus par rapport au poids total du CVI.

Cependant, l'incorporation de nanoparticules d'argent a bouleversé la structure du CVI entraînant des changements dans ses propriétés physiques.

Par ailleurs, lors de la réaction de prise permettant de former le CVI la résistance mécanique est augmentée pendant les 24 premières heures. Si on ajoute des nanoparticules d'argent, la résistance mécanique n'est pas modifiée. Cependant si

on ajoute des nanoparticules d'hydroxy-apatite et de la poudre de silice, la résistance mécanique est alors plus importante. Par contre si on ajoute des nanoparticules d'hydroxyapatite et de la poudre de zinc, c'est la force et la dureté qui sont augmentées.

Quelque soit l'ajout de nanoparticules, la force compressive diminue. ^[17]

2.4.3.3 Les nanoparticules d'argent incorporées au composite

Les nanoparticules peuvent affecter la liaison composite-dentine. Deux méthodes permettent d'utiliser les nanoparticules au sein des matériaux dentaires : soit en les liant directement aux matériaux soit en recouvrant ces matériaux.

L'ajout de nanoparticules d'argent avant le mordantage et le rinçage, et donc en recouvrant juste le composite, permet une meilleure liaison du composite sur la dentine.

Ces nanoparticules semblent pénétrer dans les tubuli dentinaires permettant ainsi une augmentation de la liaison entre le composite et la dentine. Aucune étude n'a montré de perturbation de la liaison entre l'adhésif et la dentine (Fatemeh et al, 2017).

Un inconvénient des nanoparticules d'argent est les colorations induites dues aux ions argent. Il est ainsi recommandé de les utiliser préférentiellement pour les restaurations postérieures. ^[19]

Différents mélanges entre nanoparticules d'argent et de composites ont été étudiés comme par exemple :

- Le mélange résine PMMA (résine poly méthyl méthacrylate) et nanoparticules d'argent est un puissant antifongique sur *Candida albicans*.
- Le mélange de nanocomposite de résine acrylique et de nanoparticules d'argent est un antimicrobien très actif contre *Escherichia coli*. ^[45]

Il faut également prendre en compte que certaines études sont en cours afin de vérifier que les nanoparticules d'argent ne perturbent pas la photopolymérisation du composite dans lequel elles sont introduites. Il semblerait que les nanoparticules réfléchissent la lumière en réagissant avec les électrons du photo-initiateur.

2.4.3.4 Les nanoparticules d'oxyde de zinc eugéno

L'oxyde de zinc eugéno (ZnO) est utilisé comme ciment de scellement canalaire dans les traitements endodontiques mais aussi en obturation provisoire en raison de son excellente biocompatibilité et de sa capacité anti-microbienne.

On le retrouve aussi sous forme de nanoparticules qui peuvent être ajoutées au composite pour augmenter l'action anti-microbienne.

L'inconvénient majeur de ces nanoparticules d'oxyde de zinc eugéno est qu'elles n'agissent qu'à haute concentration. Il a été proposé de les associer à des nanoparticules d'argent mais la toxicité du mélange augmente alors. Cependant, le mélange nanoparticules d'argent - nanoparticules d'oxyde de zinc eugéno est toujours moins toxique que les nanoparticules d'argent seules (Wang S et al, 2017).

Le mélange de ces deux types de nanoparticules permet une action contre les bactéries Gram positif et Gram négatif.

Les nanoparticules ZnO seules incorporées dans les composites peuvent inhiber jusqu'à 50% des bactéries *Streptococcus mutans* en 24 heures. Si on ajoute au mélange des nanoparticules d'argent, ce chiffre monte à 91%. En effet, les nanoparticules de ZnO seules entraînent un relargage du contenu bactérien, alors que les nanoparticules Ag/ZnO au sein du composite permettent de rompre la membrane bactérienne entraînant la mort cellulaire. Le stress oxydatif engendré est également plus important quand les deux types de nanoparticules sont mélangés au sein du même composite. ^[61]

2.5 Les nanoparticules alimentaires

En dentisterie les aliments et en particulier les sucreries sont notre quotidien en contribuant à la formation des caries. Les nanoparticules sont également présentes au sein même des aliments ou dans l'emballage entourant le produit pour piéger l'oxygène ou comme anti microbien par exemple. Elles sont utilisées afin d'améliorer le goût, l'aspect, la texture et l'aspect, de permettre une meilleure conservation du produit, mais aussi de permettre une meilleure biodisponibilité des nutriments.

La nourriture contient naturellement des nanoparticules telles que les protéines et les polysaccharides qui sont digérés. On peut alors se demander ce que deviennent les nanoparticules artificielles ajoutées aux aliments une fois dans l'organisme.

Il faut noter que la principale nanoparticule présente dans les sucreries est le dioxyde de titane. Par dissolution, puis centrifugation et enfin purification de l'aliment, on peut en extraire le dioxyde de titane. Les chewing-gums, les bonbons, les chocolats et tous les produits recouverts de poudre de sucre sont les aliments présentant le plus de TiO_2

Une expérience a été menée afin de mesurer le pourcentage de nanoparticules ingérées en mastiquant un chewing-gum (Chen X-X et *al*, 2013) :

- Trois personnes ont mastiqué un chewing-gum pendant 10 minutes, 5 à 7.2 % des nanoparticules de TiO_2 sont encore présentes dans l'aliment
- Trois autres personnes ont quant à elles mastiqué pendant 30 minutes, 4.1 à 5.8 % des nanoparticules restent présentes dans le chewing-gum à la fin de l'expérience.

L'expérience conclue donc que près de 95 % des nanoparticules sont ingérées par l'organisme.

La majorité des études se penche sur la toxicité du TiO_2 par inhalation, on en sait encore peu sur les risques lors de l'ingestion. ^[7]

2.5.1 Le colorant alimentaire E171

Le colorant E171 est utilisé comme colorant blanc résistant à la décoloration ou opacifiant dans les aliments. Il s'agit d'une poudre de particules poly-dispersées de dioxyde de titane dont la taille varie entre 30 et 400 nanomètres. Le TiO_2 est considéré comme étant de taille micrométrique mais il s'avère que 10% (Peters et *al*, 2014) à 36 % (Weir et *al*, 2012) de celui-ci sont des nanoparticules en réalité.

Ce colorant est autorisé sur le marché depuis 1966 mais très peu d'études sur sa toxicité ont été mises en œuvre. En 1969, les autorités n'ont pas interdit E171 car les propriétés insolubles et inertes du dioxyde de titane on fait penser que le colorant ne présentait aucun danger pour la santé. L'Agence Européenne de Sécurité des

Aliments ne s'est penchée sur la question qu'en 2016. De plus, l'industrie agro-alimentaire n'est toujours pas tenue de signaler la présence de nanoparticules dans les produits car il faut que leur fraction dépasse 50 % pour être catégorisés comme nanomatériaux. ^[72]

Cependant, comme on le sait, les nanoparticules de dioxyde de titane peuvent induire un stress oxydatif au sein des cellules du à un relargage d'espèces réactives de l'oxygène. Des signes inflammatoires sont également remarqués.

Par exemple, un Malabar contient 2.5 % de nanoparticules de TiO_2 par rapport à la totalité des particules présentes. Un Napolitain de la marque LU en contient 12 %. L'enrobage des M&M's contient 1.25 microgrammes de Titane par milligramme, les autres chocolats ont environ 0.0050 μ g de Titane par milligramme par comparaison. On estime que la majorité des sucreries ont entre 0.01 à 1 milligramme de titane (Weir et al, 2012).

Le P25 est également une poudre de dioxyde de titane de taille variant entre 30 et 40 nanomètres sans pour autant être un colorant comme l'E171. C'est un photocatalyseur et stabilisateur. On a beaucoup étudié ce composé contrairement à l'E171 dont on en connaît peu sur la forme de TiO_2 et de son action dans l'organisme.

L'ingestion de TiO_2 dépend des habitudes de vie. Par exemple, un enfant va être exposé 2 à 4 fois plus au TiO_2 qu'un adulte en raison de leur consommation en sucrerie plus élevé. ^[62]

2.5.2 Les dentifrices

Sur 8 dentifrices testés, 0.1 à 0.5 % de TiO_2 est contenu dedans par rapport au poids total de la pâte de dentifrice (Weir et al, 2012). ^[62]

2.6 En résumé

Tableau 1 : Récapitulatif sur les nanomatériaux retrouvés en médecine bucco-dentaire

Discipline	Matériaux dentaires	Type de nanoparticules (NP)	Propriétés des nanoparticules
Implantologie	Implants en titane	Dioxyde de titane	Augmentation de l'ostéointégration [68][71]
	Implants recouverts de nanoparticules	Argent	<ul style="list-style-type: none"> • Antibactérien • Diminution des péri-implantites [45]
Endodontie	Irrigant canalaire	Argent	<ul style="list-style-type: none"> • Antibactérien • Propriétés supérieures à l'hydroxyde de calcium [40]
	Ciment de scellement canalaire	Argent	Antibactérien [45]
		Chitosan	<ul style="list-style-type: none"> • Antibactérien (actif en particulier sur les Gram positif) • Antiviral • Antifongique [12] [40]
		Oxyde de Zinc	Antibactérien [40]
		Nanoparticules de verre bioactif (SiO ₂ , Na ₂ O ₂ , CaO ₂ et P ₂ O ₅)	<ul style="list-style-type: none"> • Antibactérien (Effet plus important sur les bactéries isolées que sur le biofilm) [50] • Reminéralisation des tissus dentinaires [40]
Restauration Directe	Membrane de régénération osseuse guidée (RGO)	Dioxyde de titane + nanocomposites	Augmentation ostéointégration [5]
	Ciment verre ionomère (CVI)	Argent	<ul style="list-style-type: none"> • CVI plus dur et plus résistant • Antibactérien • Diminution de la force compressive [17]
		NP hydroxyapatite + poudre de silice	<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation de la résistance mécanique • Diminution de la force compressive [17]

Restauration directe	Ciment verre ionomère (CVI)	NP hydroxyapatite + poudre de zinc	<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation force et dureté • Diminution force compressive [17]
	Composite	Argent	<ul style="list-style-type: none"> • Meilleure liaison composite-dentine • Colorations argentées de la dent apparaissant au niveau des joints • Antibactérien • Antifongique contre C.Albicans [45] [19]
		Argent	
		Oxyde de zinc	<ul style="list-style-type: none"> • Antibactérien • Biocompatible [61]
		NP oxyde de zinc + NP argent	<ul style="list-style-type: none"> • Grande efficacité antibactérienne (actif contre Gram + et Gram -) • Toxicité grandement augmentée [61]
Alimentation	Colorant E171	Dioxyde de titane	<ul style="list-style-type: none"> • Colorant blanc • Opacifiant alimentaire • Présent dans les dentifrices [62]

3. Toxicité des nanomatériaux dentaires

3.1 Interaction entre nanomatériaux et systèmes biologiques

3.1.1 Propriétés des nanoparticules

L'interaction des nanoparticules avec les systèmes biologiques dépend de plusieurs facteurs.

Tout d'abord elle dépend de leur taille : plus elles sont petites plus elles peuvent pénétrer dans les cellules.

La composition chimique est également importante puisqu'elle influe directement sur leur toxicité. Certaines nanoparticules peuvent produire de nombreuses espèces réactives de l'oxygène entraînant un stress oxydatif.

La surface entre également en jeu : la surface est inversement proportionnelle à la taille des nanoparticules, plus la surface augmente plus la réactivité augmente.

Leur forme influe aussi, les espèces filamenteuses sont les plus toxiques.

Les nanoparticules ne seront pas éliminées de la même façon en fonction de leur capacité à s'agglomérer et à former des agrégats. ^[75]

3.1.2 Inhalation des nanoparticules

Comme on l'a vu dans la partie précédente les nanoparticules sont présentes partout dans le domaine de la dentisterie.

Les nanoparticules peuvent être inhalées. En dentisterie cela arrive le plus souvent lors de la dépose de restauration et la production de fine poussière d'abrasion. Les nanoparticules vont alors en direction des voies aériennes supérieures puis vers les poumons et en particulier l'arbre bronchique suivi des alvéoles.

Plus les nanoparticules sont fines et présentant une forme adéquate plus elles pénètrent profondément dans les poumons. Les alvéoles sont le lieu où elles se déposent le plus.

Une fois dans le poumon et en fonction de leur localisation, trois modes d'élimination sont alors possibles. Le premier mode est chimique et entraîne la dissolution des nanoparticules dans les fluides biologiques. Le second mode est physique et permet le transport muco-ciliaire des particules non ou peu solubles vers le nez ou la bouche. Elles sont alors soit dégluties et envoyées vers le système digestif soit rejetées vers l'extérieur. Une troisième solution d'élimination implique les macrophages au niveau des alvéoles.

Revenons sur l'élimination chimique, les nanoparticules peuvent donc être dissoutes dans les fluides biologiques. Elles sont suffisamment fines pour traverser la plèvre. Elles peuvent circuler soit dans le sang, le système lymphatique et même migrer vers les structures ganglionnaires. Elles atteignent alors d'autres organes par ces intermédiaires. ^[75]

3.1.3 Ingestion des nanoparticules

Les nanoparticules ingérées peuvent être absorbées par le tractus digestif soit par les entérocytes par un mode de transcytose, soit par les cellules M (*microfold*) des plaques de Peyer (agrégat de follicules lymphoïdes situé à intervalle régulier dans la partie terminale de l'iléon). La taille des nanoparticules va influencer sur leur vitesse d'absorption, plus elles sont petites plus le processus est rapide.

Une fois absorbées dans l'intestin, certaines nanoparticules sont excrétées dans les selles et dans les urines, d'autres circulent dans le sang puis se dirigent notamment vers le foie ou elles circulent encore vers les systèmes lymphatiques.

Les nanoparticules vont en majorité vers le foie (Ebabe Elle et *al*, 2013) mais elles peuvent aussi atteindre les reins, les poumons, la moelle osseuse, le cerveau, la peau, la prostate, la langue, la thyroïde, les parathyroïdes, le cœur, le pancréas et le duodénum (Wang et *al*, 2017). ^[75]

3.1.3.1 Cas des nanoparticules d'argent

Ces nanoparticules sont principalement retrouvées dans l'estomac et l'intestin. Puis, une fois absorbées par la muqueuse intestinale, elles vont principalement vers le foie où elles seront excrétées sous forme de bile et vers le rein où on les retrouve dans la membrane basale des glomérules rénaux. Enfin via le rein, elles finissent dans les urines.

Une expérience sur des souris a montré que les nanoparticules produisaient une inflammation du foie (pour une dose de 1 ou 2 mg/kg/j pendant 30 jours de nanoparticules de 70 nm) (Sardari et al, 2012). De plus, on remarque une augmentation de la cholestérolémie et du LDL cholestérol (Ebabe Elle et al, 2013). Le canal biliaire est hyperplasié (Kim et al, 2010). Un stress oxydatif est visible pour une dose supérieure à 100 mg/kg/j et même toxique pour une dose de plus de 1000 mg/kg/j. Toutes les souris ont perdu du poids pendant l'expérience (Ebabe Elle et al, 2013).

Il se pourrait également que ces nanoparticules traversent la barrière placentaire pour une dose supérieure à 250 mg/kg/j quand leur taille est de 8 nm environ. Mais aucune conséquence sur le fœtus n'a été notée (Lee et al, 2014).

Il y a peu de données sur le temps de présence des nanoparticules au sein de l'organisme. ^[20]

3.2 Cytotoxicité

3.2.1 Le stress oxydatif

Le stress oxydatif est caractérisé par la production de radicaux libres de l'oxygène tels que O^{2-} et H_2O_2 . Les nanoparticules entrent dans les cellules et les mitochondries réagissent en produisant des espèces réactives à l'oxygène. C'est donc la mitochondrie qui est la cause indirecte du stress oxydatif.

La fonction respiratoire de la mitochondrie étant déjà altérée par les nanoparticules, les radicaux libres produits l'endommagent davantage. La synthèse d'ATP (*Adénosine triphosphate*) par la mitochondrie est donc perturbée ce qui peut léser à son tour l'ADN.

Plus le stress oxydatif augmente, plus la mitochondrie est fragilisée. Celle-ci peut alors devenir perméable. Le cytochrome C passe donc de la mitochondrie au cytosol. La mort cellulaire est ainsi engagée.

Pour combattre le stress oxydatif, la cellule va répondre par une inflammation en produisant des cytokines IL-1, IL-6 (*Interleukines*) et TNF- α (*Tumor Necrosis Factor*). On remarque ensuite une activation de la caspase-1 et ainsi une augmentation de la perméabilité membranaire (Figure 1). Puis les voies de signalisation MAPK (*Mitogen Activated Kinase*) et JNK (*c-Jun N-terminal kinase*) viennent lutter davantage contre les nanoparticules. ^[65]

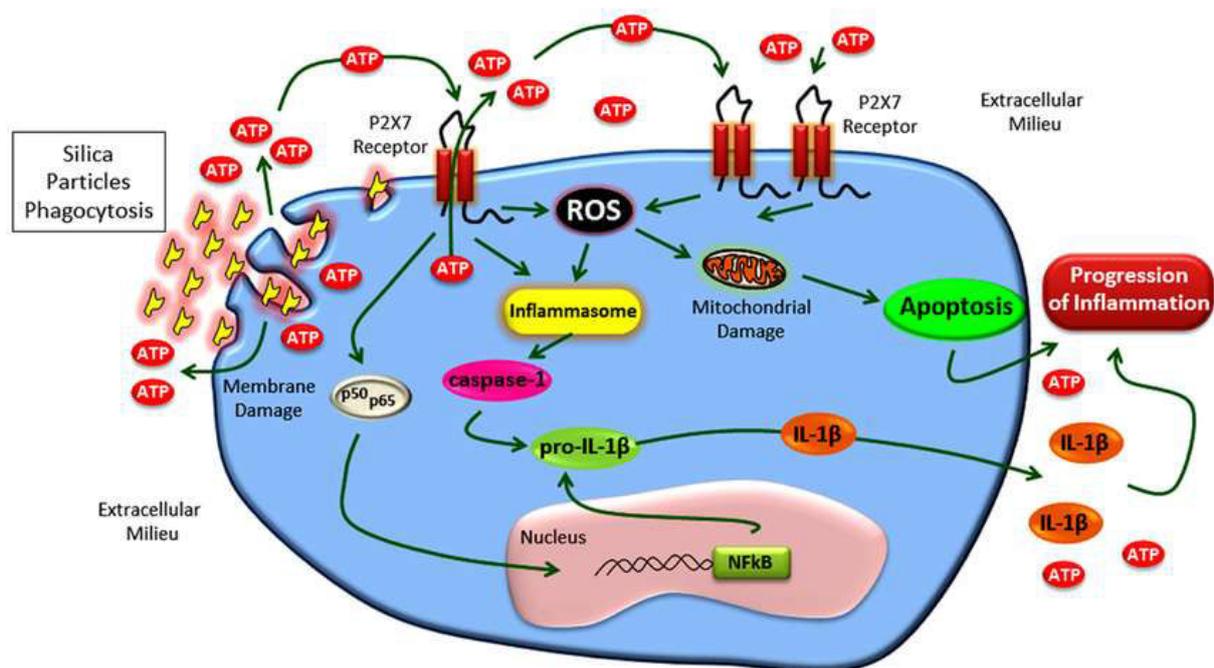


Figure 1 : Cascade d'activation induite par le stress oxydatif

(Source : Monção-Ribeiro L et al, 2014

Disponible sur :

https://figshare.com/articles/_Description_of_mechanism_involved_in_P2X7_modulation_of_acute_silicosis_/1202364)

3.2.2 Cytotoxicité des nanoparticules d'argent

Les nanoparticules d'argent sont retrouvées dans de nombreux produits utilisés en chirurgie-dentaire. Une fois introduit dans l'organisme humain, elles entrent directement au contact des cellules. Leur action dépend non seulement de leur taille mais aussi de leur concentration. La cytotoxicité des nanoparticules est plus importante que celle des microparticules. Plus la nanoparticule est petite, plus elle est toxique pour la cellule.

Les nanoparticules d'argent ont un mode d'action différent en fonction du type cellulaire atteint. Dans tous les cas, ces nanoparticules modifient la morphologie des cellules, provoquent un stress oxydatif et entraînent l'apoptose.

Les facteurs à prendre en compte afin de déterminer la cytotoxicité sont la taille de la nanoparticule, sa concentration intracellulaire, sa capacité à former des agrégats, sa solubilité, le temps d'exposition et la réponse de la cellule elle-même.

De plus, le revêtement de surface de la cellule est à prendre en compte, plus il y a de protéines coronaires qui pourront interagir avec les nanoparticules pour faciliter leur entrée dans la cellule, plus la toxicité augmente. ^[65]

3.2.2.1 Effet des nanoparticules d'argent sur les cellules épithéliales

Les nanoparticules modifient la morphologie de la cellule. Une augmentation de la lactate déshydrogénase (LDH) est observée montrant ainsi une modification de la membrane plasmique. Les nanoparticules s'agrègent également dans les vésicules endocytaires provoquant d'une part des répercussions sur l'ADN et d'autre part la production d'espèces réactives de l'oxygène. Cette agrégation est directement liée à la taille de la nanoparticule mais aussi dépendant de la cellule qui est touchée. Le stress oxydatif engendré par l'entrée de la nanoparticule dans la cellule provoque des dommages irréversibles au niveau de la mitochondrie entraînant l'apoptose cellulaire à terme.

En provoquant un stress oxydatif, les nanoparticules inhibent le facteur de croissance EGF (*Epidermal Growth Factor*).

Il a été montré qu'une concentration faible de nanoparticules d'argent sur les cellules épithéliales du foie HepG2 entraînent l'activation des MAPK ainsi qu'une augmentation du nombre de cellule (Jiao ZH et *al*, 2014).

Autre exemple, les nanoparticules sur les cellules épithéliales du poumon provoquent une cytotoxicité importante en raison de la production d'espèces réactives de l'oxygène. La cellule répond alors par une réaction inflammatoire (Suliman Y et *al*, 2014).^[65]

3.2.2.2 Effet des nanoparticules d'argent sur les macrophages

Il semblerait que les cellules les moins touchées par les nanoparticules d'argent soient les macrophages. Ces cellules du système immunitaire ont une grande importance dans la lutte contre le stress oxydatif.

Comme les autres types cellulaires, le nombre de macrophage diminue au contact des nanoparticules d'argent. Les plus petites nanoparticules pénètrent à l'intérieur de la cellule. Les macrophages se défendent par une réponse inflammatoire et induisent la production de chemokines et de cytokines telles que IL-6 et IL-8.

Les espèces réactives de l'oxygène augmentant avec les nanoparticules, une cascade d'activation se met en place dans la cellule. Les interleukines augmentent, puis NFkB (*Nuclear factor kappa B*) est transloqué dans le noyau. Le facteur COX-2 (*Cyclo-oxygénase 2*) est alors activé provoquant lui-même l'augmentation du facteur TNF- α (Figure 2). C'est ainsi que l'apoptose se produit.^[65]

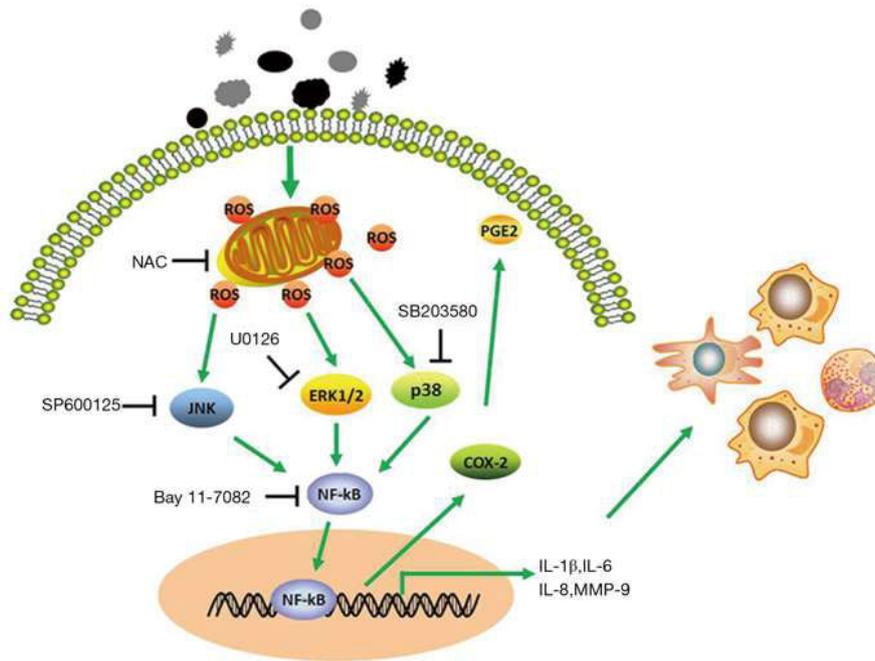


Figure 2 : Réponse au stress oxydatif via signal MAPK
 (Source : <http://jtd.amegroups.com/article/view/17129/html>)

3.2.2.3 Effet des nanoparticules d'argent sur les cellules endothéliales

Les cellules endothéliales sont les cellules tapissant les vaisseaux sanguins. Si ces cellules viennent à être altérées, cela peut non seulement avoir des répercussions sur le système vasculaire mais aussi entraîner des cancers, des arthrites rhumatoïdes ainsi que des rétinopathies diabétiques notamment. Au contact des nanoparticules, la prolifération cellulaire est impactée ainsi que l'apoptose. A forte concentration, les chercheurs ont remarqué que les nanoparticules pouvaient augmenter la prolifération cellulaire et au contraire l'inhiber à faible concentration (Rosas-Hernandez H et al, 2009).^[65]

Tout comme pour les cellules épithéliales, les nanoparticules inhibent un facteur de croissance et dans ce cas il s'agit de VEGF (*Vascular endothelial growth factor*). Cette inhibition bloque le récepteur VEGF-2 empêchant ainsi la phosphorylation de ERK 1 et 2 (*Extracellular signal-regulated kinase*), FAK (*Focal Adhesion Kinase*), PI3k/Akt et P38 impliqués dans la migration, la survie et la prolifération cellulaire (Figure 3).

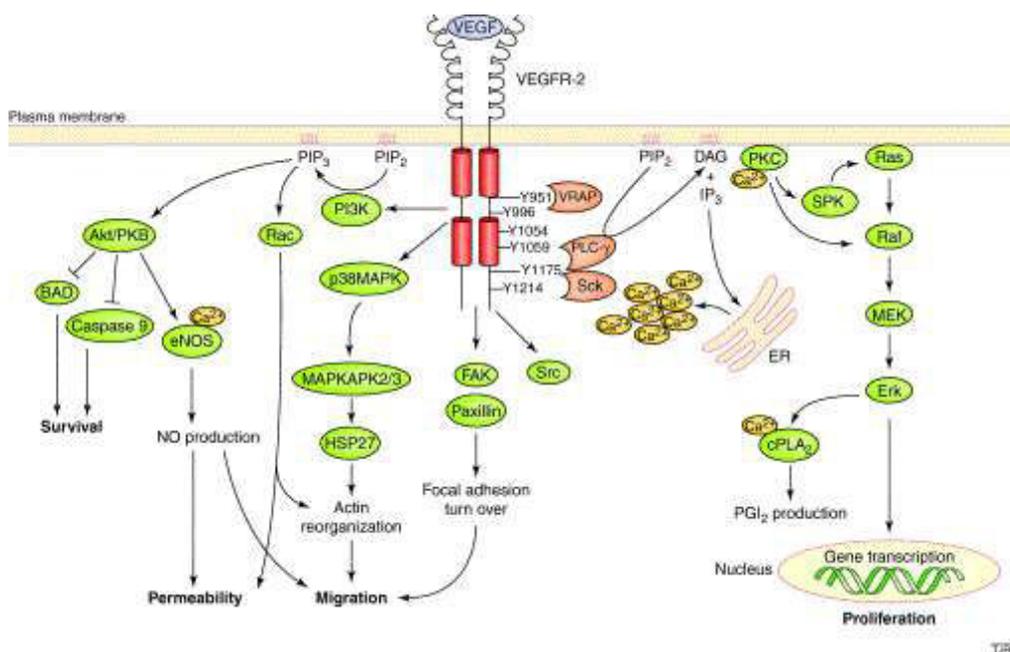


Figure 3 : Cascade d'activation via VEGFR-2

(Source : Trends in Biochemical Sciences, Volume 28, Issue 9, September 2003, Pages 488-494)

3.2.2.4 Effet sur les fibroblastes et les kératinocytes

Les plus petites nanoparticules provoquent la plus grande toxicité. Les fibroblastes et les kératinocytes étant particulièrement sensibles aux nanoparticules d'argent, il suffit d'une faible durée d'exposition et d'une faible concentration de nanoparticule pour inhiber la prolifération des cellules sur le long terme. Plus la concentration des nanoparticules est élevée, plus l'activité métabolique, la migration cellulaire et la prolifération est impactée. L'apoptose augmente également (Szmyd R et al, 2013).

De plus, les fibroblastes deviennent des myofibroblastes au contact des nanoparticules d'argent. [65]

3.2.2.5 Effet sur les cellules neuronales

Un stress oxydatif est également observé sur les cellules neuronales comme pour les autres types cellulaires. Les fonctions enzymatiques sont perturbées entraînant la diminution de la dopamine (Wang J et al, 2009).

L'action des nanoparticules d'argent est dépendante de leur concentration dans les neurones. Elles sont particulièrement cytotoxiques pour les cellules granuleuses du cervelet.

La caspase-3 est activée à leur contact. De plus, les molécules anti-oxydantes luttant contre le stress oxydatif sont diminuées. Le calcium intracellulaire est également en plus petite concentration (Yin N et *al*, 2013).

Les protéines du cytosquelette sont détériorées, c'est le cas de la β -tubuline et de l'actine filamenteuse. Par ailleurs, on remarque une forte diminution des protéines synaptophysine présentes dans les vésicules pré-synaptiques. Les protéines PSD-95 des récepteurs post-synaptiques diminuent aussi (Xu F et *al*, 2013).

Les neurones se différencient en neuroblastomes et donc en cellules cancéreuses lorsque les nanoparticules ont un diamètre inférieur à 30 nm (Dayem A et *al*, 2014).

L'apoptose est la finalité du contact avec les nanoparticules d'argent. ^[65]

3.2.2.6 Effet sur les cellules souches

Les nanoparticules d'argent sont retrouvées en particulier dans les régions situées à proximité du noyau cellulaire et dans les endolysosomes.

P38, Erk 1 et 2 et P53 sont induits. P53 en particulier est sur activé déclenchant la cascade des caspases et l'apoptose en découlant (Liu F et *al*, 2015 ; Figure 3).

La taille et la morphologie des cellules précurseurs du tube neural sont grandement modifiées par les nanoparticules (Söderstjerna E et *al*, 2013). De même, des altérations des cellules somatiques de Leydig et de Sertoli sont observées. ^[65]

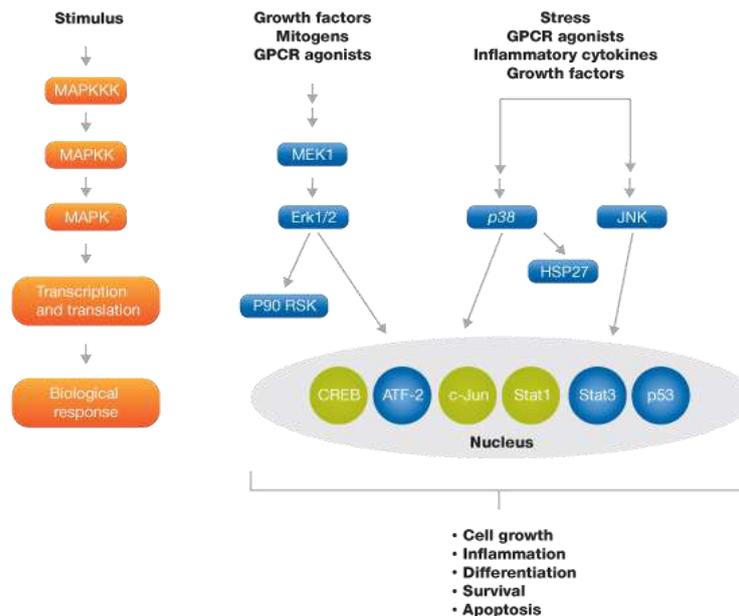


Figure 4 : Schéma représentant les cibles de la cascade d'activation MAPK

(Source : <http://www.bioradiations.com/applications-of-bio-plex-pro-cell-signaling-akt-and-mapk-assay-panels-in-signal-transduction-pathways/>)

3.2.3 Cytotoxicité des nanoparticules de dioxyde de titane

Tout comme les nanoparticules d'argent, celles de TiO_2 entraînent un stress oxydatif et une réponse inflammatoire de la cellule. Et tout comme elles, l'apoptose en est la finalité. ^{[25][28]}

Plus la nanoparticule est petite, plus sa surface active est grande et de ce fait plus la réponse inflammatoire de la cellule sera élevée. IL-1, IL-6, IL-8 et $\text{TNF-}\alpha$ sont ainsi produits. Les voies de signalisation cellulaire MAPK et ERK/P38 sont également activées en réponse. ^[3]

Les nanoparticules de TiO_2 sont exclusivement concentrées autour du noyau bloquant tous les accès à celui-ci.

La forme de la nanoparticule doit également être prise en compte pour le TiO_2 , les macrophages sont dépassés par les nanoparticules fibreuses qui sont trop longues. On parle alors de phagocytose frustrée. ^[47]

On peut cependant remarquer que les résines composites pures sont plus cytotoxiques les 24 premières heures que celles contenant du TiO₂. Ceci étant du à la présence de BisPhénol-A contenu notamment dans les résines composites pures. La cytotoxicité est équivalente après ces 24 heures (Pithon M et *al*, 2010). ^[25]

3.2.4 Cytotoxicité des nanoparticules d'oxyde de zinc

Les nanoparticules d'oxyde de zinc selon leur taille ont une cytotoxicité équivalente sur toutes les cellules du corps humain. Leur toxicité est dose dépendante et non pas taille dépendante. Pour ce qui est de l'influence de la forme sur la toxicité, des chercheurs étudient encore la question (Oberdorster G et *al*, 2005).

Tout comme les autres nanoparticules étudiées, leur toxicité dépend directement du stress oxydatif engendré et du relargage d'ion zinc (Zn²⁺).

Les nanoparticules détruisent la mitochondrie qui répond par la production de cytochrome P450 à son tour source de stress oxydatif.

Ces nanoparticules sont les plus toxiques pour l'organisme. La survie cellulaire diminue de 40 % en leur présence. Ce chiffre monte à plus de 50 % lorsque la concentration d'ion zinc relargué est supérieure à 10 µg/mL. Elles entraînent également une perméabilité de la membrane plasmique au vu du taux de LDH augmentant en leur présence. ^[35]

3.2.5 Cytotoxicité des nanoparticules de silice

Plus ces nanoparticules sont de petites tailles, plus elles s'agrègent. Leur cytotoxicité est taille dépendante. Elles pénètrent de façon préférentielle dans le noyau cellulaire.

Tout comme les autres types de nanoparticules, elles entraînent une apoptose cellulaire et une production de radicaux libres de l'oxygène. La production élevée de LDH témoigne d'une membrane plasmique endommagée. ^[56]

3.3 Immunotoxicité

On distingue deux types d'immunité chez l'être humain : l'immunité acquise et l'immunité innée.

L'immunité innée intervient en premier en cas d'agression de l'organisme, les macrophages et les neutrophiles sont alors impliqués. Les neutrophiles sont à l'origine de la production de cytokines pro-inflammatoires et de l'inflammation locale qui s'en suit.

L'immunité acquise fait suite à l'inflammation. Elle fait intervenir les lymphocytes, les cellules B et les cellules T. Ces cellules luttent contre les pathogènes.

L'action des nanoparticules sur l'organisme et la manière dont elles mobilisent le système immunitaire est fonction de la taille, de leur forme et de leurs propriétés physiques et chimiques. Par exemple, les plus petites nanoparticules seront prises en charge par les cellules B, les cellules T et les lymphocytes. Les plus grandes seront phagocytées par les macrophages (Figure 5). Leur petite taille favorise également leur liaison aux cellules et protéines et par conséquent aux cellules du système immunitaire. ^[44]

Après avoir pénétrer dans l'organisme, les nanoparticules peuvent activer le complément. En règle générale, elles provoquent une immunosuppression caractérisée par la diminution de l'efficacité ou la diminution de l'activation des défenses immunitaires. ^[67]

Les nanoparticules portant des charges positives ou négatives sont naturellement plus attirées par les cellules phagocytaires. ^[15]

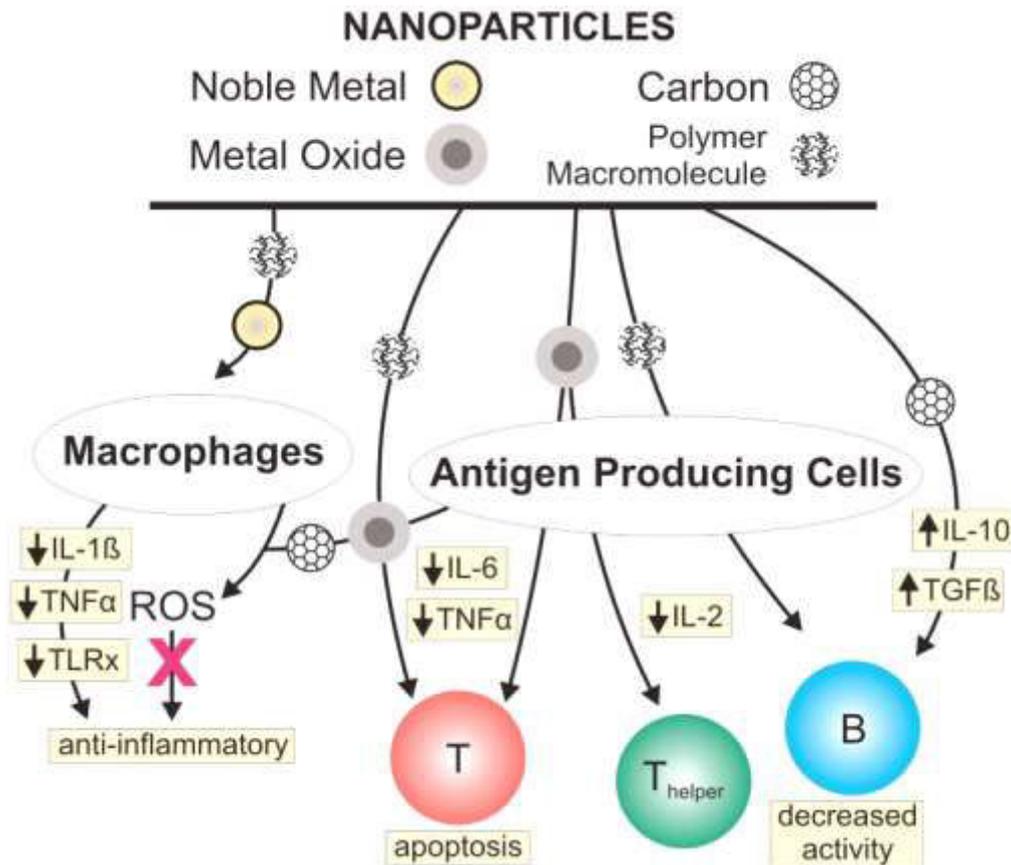


Figure 5 : Interaction entre les nanoparticules et le système immunitaire

(Source : Ngobili TA et al, 2016

Disponible sur :

<http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1535370216650053?journalCode=ebmb>)

3.3.1 Les nanoparticules de dioxyde de titane

Comme vu dans les parties précédentes, les nanoparticules de TiO_2 sont à l'origine d'un stress oxydatif entraînant des dommages au sein même des cellules en commençant par la perforation de la membrane plasmique mais aussi par la destruction mitochondriale et enfin l'apoptose.

Les cellules des organes du système immunitaire sont particulièrement touchées par ces nanoparticules.

On peut remarquer l'augmentation des cellules B et T à leur contact. Les cellules B sont par ailleurs multipliées par 9 dans le sang et la rate. Le système immunitaire

inné semble quant à lui peu impacté au début. Les cellules B et T sont touchées de la même façon que les autres types cellulaires et subissent la cytotoxicité de ces nanoparticules.

Bien que le système immunitaire inné ne soit pas impacté par les dommages causés par les nanoparticules de TiO₂ il intervient néanmoins en produisant davantage de cytokines pro-inflammatoires : IL-1 α , IL-1 β , IL-6 et IL-8 ainsi que la cytokine immunosuppressive IL-10. De même, IFN γ et TNF α augmentent également. La cascade d'activation faisant intervenir IL-4 est sur activée.

Il a été démontré lors d'étude sur le poisson Dario Rerio (Jovanovic B, 2011) que les nanoparticules de TiO₂ pouvaient entraîner des changements au sein d'un gène pouvant modifier les fonctions des neutrophiles et ainsi de produire une augmentation des cytokines IL-11.

Une fois pris en charge par les cellules B, T, par les macrophages et par les cellules NK (Natural Killer), les nanoparticules entraînent une diminution de l'immunocompétence de ces cellules. ^[46]

3.3.2 Les nanoparticules d'argent

Les nanoparticules d'argent provoquent un stress oxydatif provoquant à son tour une inflammation locale par le relargage de médiateur de l'inflammation. De plus, ces nanoparticules ont une action directe sur le système immunitaire en provoquant soit une immunosuppression soit une hyper stimulation (réaction d'hypersensibilité par exemple). Cependant, elles ne sont cytotoxiques qu'à forte dose pour le système immunitaire (dose supérieure à 25 μ g/mL de nanoparticules). On remarque une augmentation du poids de la rate notamment démontrant la mise en place des défenses par l'organisme. ^[44]

Des études (De Jong W, 2013) ont démontré une augmentation des neutrophiles, des IgM et des IgE en réponse à la production de cytokines qui est dans un premier temps augmentée. Mais une diminution des IL-6, IL-8, IL-10 et TNF α est observée par la suite. Les cellules B ont une activité diminuée comme le prouve la production en baisse d'IL-10 et IFN γ (*interferon* γ). Les cellules NK sont quant à elles totalement inactivées par les nanoparticules. ^{[21] [46]}

Au sein des lymphocytes et au contact des nanoparticules, on observe une diminution du mitogène LPS (Lipopolysaccharide) stimulant la prolifération des lymphocytes. [37]

3.3.3 Les nanoparticules d'oxyde de zinc

Les nanoparticules d'oxyde de zinc provoquent elles aussi une réaction inflammatoire provoquée par le stress oxydatif dont elles sont responsables.

On a observé que plus la taille de ces nanoparticules est grande, plus le nombre de cytokines augmente dans un premier temps.

A leur contact, les cellules NK sont inactivées tout comme IL-1 β , TNF α , IL-10 et IFN γ qui sont grandement diminués. Les lymphocytes, quant à eux, leurs résistent plutôt bien. [44]

Les nanoparticules d'oxyde de zinc portent des charges positives à leur surface, ce qui leur permet d'être attirées par les charges négatives des macrophages pour lesquels elles sont très cytotoxiques. [46]

3.4 Hématotoxicité

3.4.1 Composition du sang

Le sang est composé pour moitié de plasma et pour autre moitié de cellules comme les globules rouges (appelés érythrocytes), les globules blancs et les plaquettes.

Les érythrocytes sont des cellules riches en hémoglobines dont le rôle est le transport d'oxygène et de fer. Elles ont pour particularité de ne posséder ni noyau ni système mitochondrial.

Les globules blancs sont les cellules du système immunitaires.

Les plaquettes, quant à elles, jouent un rôle essentiel dans la coagulation.

Même si les nanoparticules peuvent être ingérées ou inhalées, elles se retrouvent rapidement dans la circulation sanguine. Pour cela elles passent soit à travers les

villosités des parois de l'intestin grêle lorsqu'elles sont ingérées ou bien elles passent à travers les capillaires des poumons qui sont très fins lorsqu'elles sont inhalées. [78]

3.4.2 Conséquences sur les érythrocytes

Les érythrocytes ont pour capacité de fixer le métal, ce qui leurs donnent une affinité particulière avec les nanoparticules de ZnO, de TiO₂ et Ag. La taille, la forme et l'état d'agglomération des nanoparticules est également à prendre en compte pour évaluer avec plus de précision leur degré d'affinité avec les hématies.

De plus, la fonction principale des hématies étant le transport d'oxygène, la pression en oxygène en leur sein est déjà importante, ce qui les rend d'autant plus sensible au stress oxydatif engendré par les nanoparticules. [22] [32]

Comme vu précédemment, les nanoparticules entraînent des dommages dus au stress oxydatif. Le noyau et la mitochondrie réagissent alors en déclenchant l'apoptose de la cellule. Les érythrocytes ne possédant ni l'un ni l'autre, le processus menant à l'apoptose médiée par le stress oxydatif va différer.

Les nanoparticules provoqueraient l'activation de canaux cationiques non sélectifs qui permettraient alors l'entrée de calcium dans la cellule et entraînant ainsi la rupture de l'homéostasie calcique. De plus, il a été démontré que les nanoparticules de dioxyde de titane notamment inhibent les Ca²⁺ ATPase empêchant un retour de l'équilibre ionique et déclenchant l'apoptose et la diminution de la prolifération cellulaire. [32]

Il a été démontré également que les nanoparticules d'oxyde de zinc entraînent la diminution de l'activité de la pompe sodium-potassium ATPase ayant pour conséquence directe l'augmentation de la déformation de la cellule et la perméabilité de la membrane. [2]

La rupture de la membrane plasmique des hématies est une autre cause d'hémolyse. Elle se produit en raison du stress oxydatif qui entraîne la peroxydation des lipides membranaires ayant pour conséquence le clivage des acides gras polyinsaturés au niveau de leur double liaison. Plus le taux de lactate déshydrogénase augmente, plus cela signifie que la perméabilité et la déformation

membranaire augmentent. Ce signe est retrouvé lors de l'accumulation des nanoparticules dans la cellule.

La bilirubine est un marqueur de l'hémolyse, plus elle augmente dans les urines, plus l'hémolyse est importante. Le contact des nanoparticules avec les érythrocytes fait augmenter ce taux. ^[30]

Les nanoparticules inhibent également l'activité des enzymes anti-oxydantes contenues dans les érythrocytes telles que la superoxyde dismutase (permet la conversion des radicaux libres en peroxyde d'hydrogène), la catalase (catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau) et le glutathion (permet de lutter contre les radicaux libres). ^{[21][42]}

3.4.3 Conséquences sur les plaquettes

Les plaquettes sanguines appelées également thrombocytes sont des cellules ne possédant pas de noyau. Elles jouent un rôle dans l'hémostase primaire lors de la création d'une brèche dans l'endothélium vasculaire. Leur membrane plasmique porte des récepteurs glycoprotéines qui viennent fixer le facteur de Willenbrand et les facteurs de coagulation. Au centre de la cellule sont présent des éléments de granulation telles que les granules alpha (contenant des facteurs de coagulation et de la fibronectine), gamma (contenant du calcium, de la sérotonine et de l'ADP) et delta (qui sont en réalité des lysosomes). (Figure 6)

Les plaquettes viennent s'agréger au niveau de la brèche vasculaire par l'intermédiaire des facteurs de Willebrand et de la fibronectine pour aboutir à la création d'un thrombus.

Les nanoparticules d'argent induisent non seulement l'hémolyse mais elles ont aussi des conséquences sur les plaquettes permettant leur activation. De ce fait on remarque une augmentation des risques de formation d'un thrombus. ^[33]

Les nanoparticules peuvent se fixer sur les récepteurs membranaires glycoprotéiques des thrombocytes entraînant donc une augmentation du calcium intracellulaire et de la sérotonine.

En présence de forte concentration de nanoparticules d'argent, il y a une inhibition de la production de granules α mais aussi un déclenchement des cascades d'activation menant à la coagulation.

De plus, les nanoparticules en règle générale portent des charges négatives à leur surface contrairement aux plaquettes qui portent des charges positives. De ce fait les nanoparticules attirent naturellement les plaquettes qui viennent s'agréger autour des nanoparticules formant ainsi un caillot sanguin.

Les nanoparticules de dioxyde de titane ont le même effet que celles d'argent. Leur mécanisme d'action est dose dépendant également. ^[39]

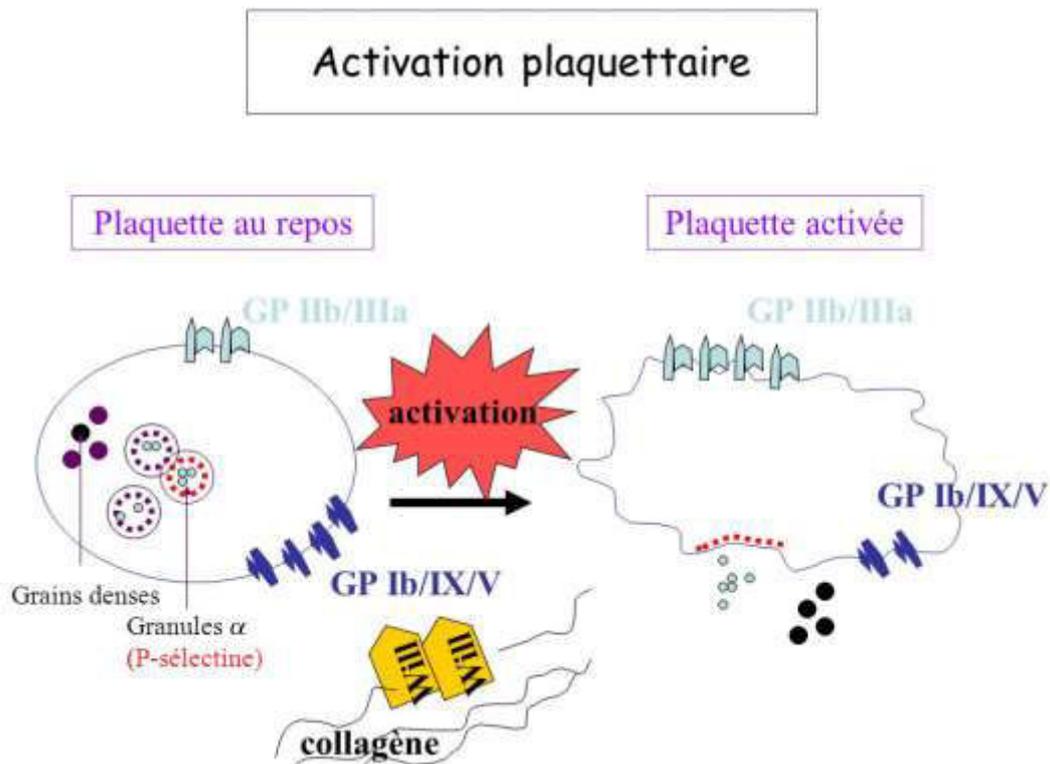


Figure 6 : activation plaquettaire

(Source : PDF Exploration Hémostase primaire. Auteur : Thomas LECOMPTE, service d'hématologie biologique, CHU Nancy)

3.5 Toxicité systémique

Les nanoparticules pénètrent dans l'organisme de 4 façons : l'injection intraveineuse, le contact dermique, l'inhalation et l'ingestion. C'est deux derniers modes de transmission sont les plus courants dans le domaine de la chirurgie-dentaire.

Les principaux organes cibles quelles que soient les nanoparticules sont le foie, le rein et la rate. Les nanoparticules produisent, comme vu précédemment, une cytotoxicité, une génotoxicité et un stress oxydatif dont résulte l'inflammation générale. ^[39]

Via le système sanguin les nanoparticules atteignent la quasi-totalité des organes rapidement. Des signes d'inflammation du corps sont remarqués, les granulocytes augmentent en présence de nanoparticules. De plus, on remarque une prise de poids générale mais plus particulièrement une augmentation du poids de la rate et du foie. Cependant l'augmentation pondérale de ces organes n'est pas remarquée lorsque les nanoparticules sont inhalées ou ingérées, il faut alors une quantité de nanoparticules bien plus élevée que ce que l'exposition normale d'un individu dans sa vie de tous les jours apporte.

3.5.1 Toxicité par inhalation

Tout comme pour l'injection intraveineuse de nanoparticules, tous les organes du corps humains sont atteints lorsque celles-ci sont inhalées. Cependant il faut une exposition prolongée et répétée pour observer les premiers signes d'altérations histologiques.

- Le poumon est le premier organe atteint par inhalation. Des signes d'inflammation locale sont observables. Les nanoparticules entraînent des modifications génétiques qui sont à l'origine notamment de la contraction des muscles lisses du poumon.
- Dans le foie, les nanoparticules entraînent une augmentation des taux d'aspartate transaminase, d'alanine transférase et de phosphatase alcaline. Ces enzymes sont produites en plus grand nombre lors de dommages au foie.
- Au niveau du rein, les taux d'acide urique et d'urée azotée augmentent dans les urines indiquant des altérations. L'apoptose cellulaire augmente.

- Au niveau de la rate, le poids de celle-ci augmente lors d'une exposition répétée et prolongée avec de forte concentration de nanoparticules. De plus, la rate étant un organe du système immunitaire, les sécrétions d'IgE et IgM augmentent. L'activité des cellules B et T est plus intense. A l'inverse l'activité des cellules NK est quasiment réduite à néant avec les nanoparticules d'argent et renforcée avec les nanoparticules de dioxyde de titane. Les nanoparticules en règle générale provoquent une réponse du système immunitaire.
- Les nanoparticules sont également capables de passer la barrière hémato-encéphalique. De nombreuses études s'intéressent à l'impact des nanoparticules sur le développement de maladies neuro-dégénératives telles qu'Alzheimer. De plus le foie étant également touché par les nanoparticules, il peut ne plus être capable de traiter toutes les toxines qui atteignent par la suite le cerveau et l'endommagent au passage.
- Le système reproducteur est également touché et fera l'objet d'une prochaine partie. ^[11] ^[39]

3.6 Génotoxicité

3.6.1 Facteurs influençant la génotoxicité des nanoparticules

La génotoxicité est caractérisée par une altération du matériel génétique par un agent extérieur à la cellule.

Les nanoparticules sont par leur petite taille facilement internalisées dans les cellules et peuvent plus particulièrement interagir avec l'ADN.

La cytotoxicité et la génotoxicité des nanoparticules diffèrent en fonction de leur taille, de leur charge de surface et de leur forme. Il a également été démontré que les protéines contenues dans le sérum viennent participer à la stabilisation des nanoparticules sous forme individuelle (non agglomérée) en se liant à celles-ci. Les nanoparticules non agglomérées gardent alors une taille adéquate pour se lier à l'ADN. La quantité de protéines sériques influence alors grandement le caractère génotoxique des nanoparticules. ^[34]

De plus, la génotoxicité diffère en fonction du type cellulaire. Plus les cellules prolifèrent rapidement comme les cellules souches, plus celles-ci sont impactées par les conséquences des nanoparticules sur leur matériel génétique. [29]

3.6.2 Processus d'altération de l'ADN

Les nanoparticules provoquent une altération du matériel génétique de deux manières.

Tout d'abord la manière directe : les nanoparticules pénètrent dans la cellule puis se lient à l'ADN provoquant des altérations. Deuxièmement, de manière indirecte, par la production de radicaux libres de l'oxygène produits par le stress oxydatif causé par les nanoparticules. Les nanoparticules peuvent notamment inhiber les gènes codant les protéines anti-oxydantes luttant contre le stress oxydatif. [48]

3.6.2.1 Mode direct

Les nanoparticules ne se lient pas à l'ADN à tout moment de la vie de la cellule. Tout dépend de la phase du cycle cellulaire dans laquelle se trouve la cellule. Pendant la mitose, la membrane nucléaire disparaît laissant le champ libre aux nanoparticules. Les scientifiques ont remarqué une plus grande interaction des nanoparticules avec l'ADN pendant les phases G2 et la mitose puis de façon moindre pendant la phase S et encore moins pendant la phase G1.

Pendant la phase G2, les nanoparticules causent des dommages. Et en phase S, elles sont accumulées dans le noyau cellulaire.

L'interaction des nanoparticules pendant la mitose conduit à une instabilité chromosomique. C'est à ce moment là que des altérations spontanées des chromatides peuvent arriver. Si jamais ces altérations ne sont pas réparées pendant l'interphase au moment de la réplication, il peut se produire des altérations sur les chromosomes eux-mêmes. Les altérations chromosomiques se produisent pendant la phase S. En phase G1 il existe un point de contrôle de l'intégrité de l'ADN, le point P53 (protéine facteur tumoral) menant à l'apoptose cellulaire en cas de trop grande altération. [48]

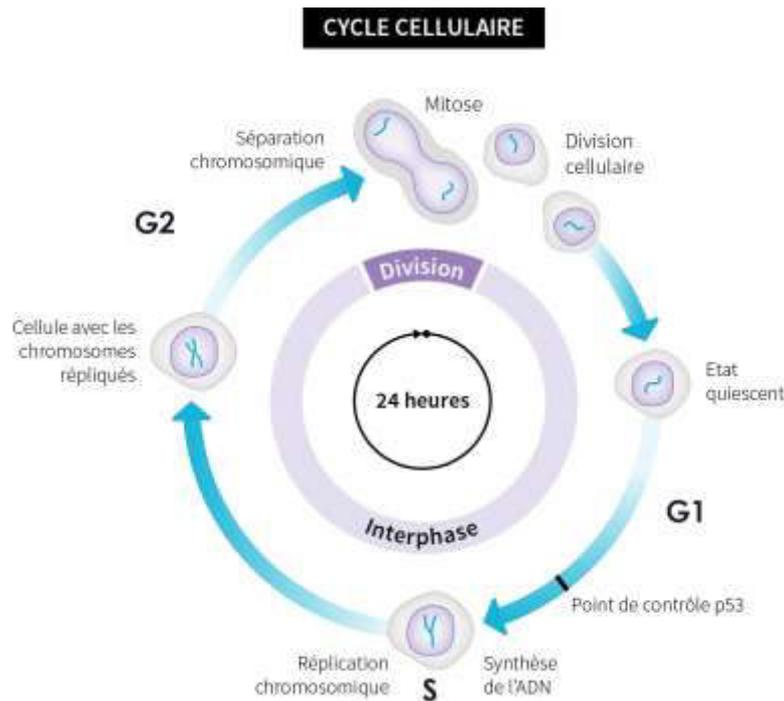


Figure 7 : le cycle cellulaire (Victoria Denys/CEA)

(Source : <http://www.cea.fr/comprendre/Pages/sante-sciences-du-vivant/l-ADN-dechiffrer-pour-mieux-comprendre-le-vivant.aspx?Type=Chapitre&numero=1>)

3.6.2.2 Mode indirect

Il existe également une toxicité des nanoparticules médiée par le stress oxydatif et la production de radicaux libres.

Le stress oxydatif entraîne une oxydation des bases de l'ADN menant à des cassures des brins de la double hélice de l'ADN. ^[48]

En réponse au stress oxydatif, la cellule se protège en activant l'expression du facteur de transcription NRF2 (*Nuclear erythroid Related Factor 2*) qui provoque notamment la transcription de gène codant des enzymes anti-oxydantes et détoxifiantes et de gènes cytoprotecteurs.

Le gène BCL2L1 est sur régulé. Celui-ci est un gène anti-apoptotique exprimé en réponse à l'apoptose provoquée par les nanoparticules. ^[34]

De plus, les nanoparticules peuvent par l'intermédiaire des radicaux libres produits entrainer une oxydation des protéines des cascades d'activation NER et BER permettant la réparation d'un simple brin de l'ADN. (Figure 8) [6]

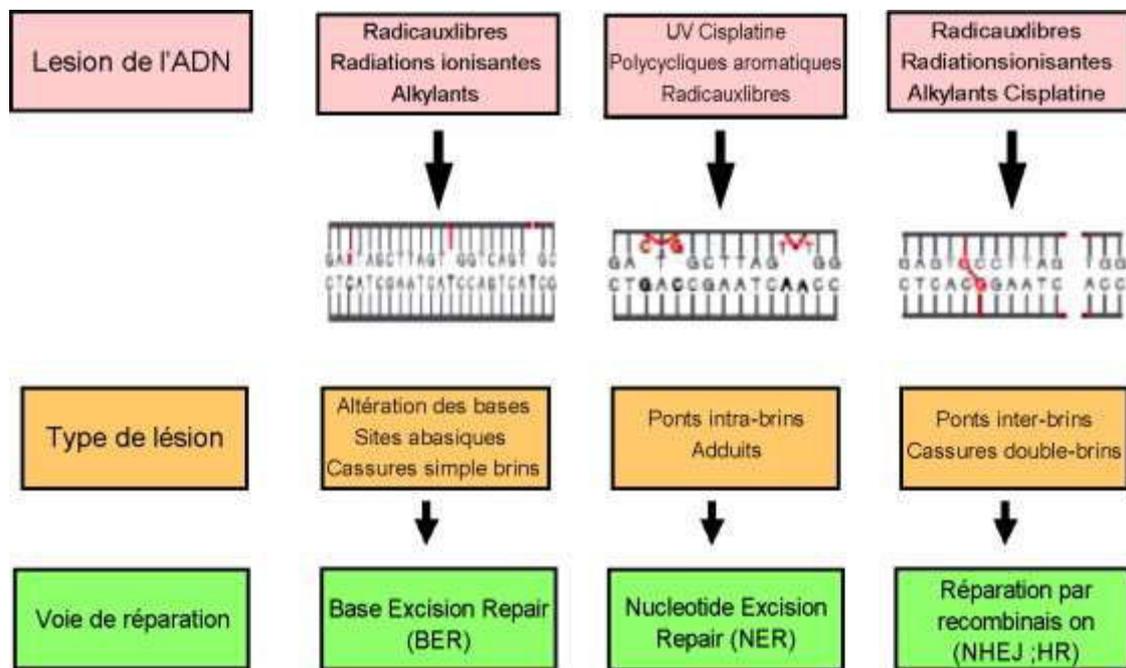


Figure 8 : mode de réparation de l'ADN

(Source : Cancer/Radiothérapie Volume 12, Issue 1, Janvier 2008, Pages 3-13, Déterminants et facteurs prédictifs pour la radiosensibilité tumorale.

Auteurs : Hennequin C, Quero L, Favaudon V)

Les nanoparticules entraînent également la diminution de l'expression des glycosylases, éléments importants de réparation de l'ADN. Ces enzymes permettant d'exciser les bases endommagées.

8-oxoguanine ADN glycosylase 1 se transforme en 8-oxoG dont les taux sont augmentés chez les sujets traités aux nanoparticules. Ce gène est précurseur de l'inversion des bases CG en AT. On peut retrouver cette inversion dans les cas de cancer en particulier. Cette lésion génétique est induite par le stress oxydatif. [6] [41]

La non-réparation des brins de l'ADN peut amener à la formation de chromosomes possédant 2 centromères mais aussi à la formation d'anneaux chromosomiques concaténés. [60]

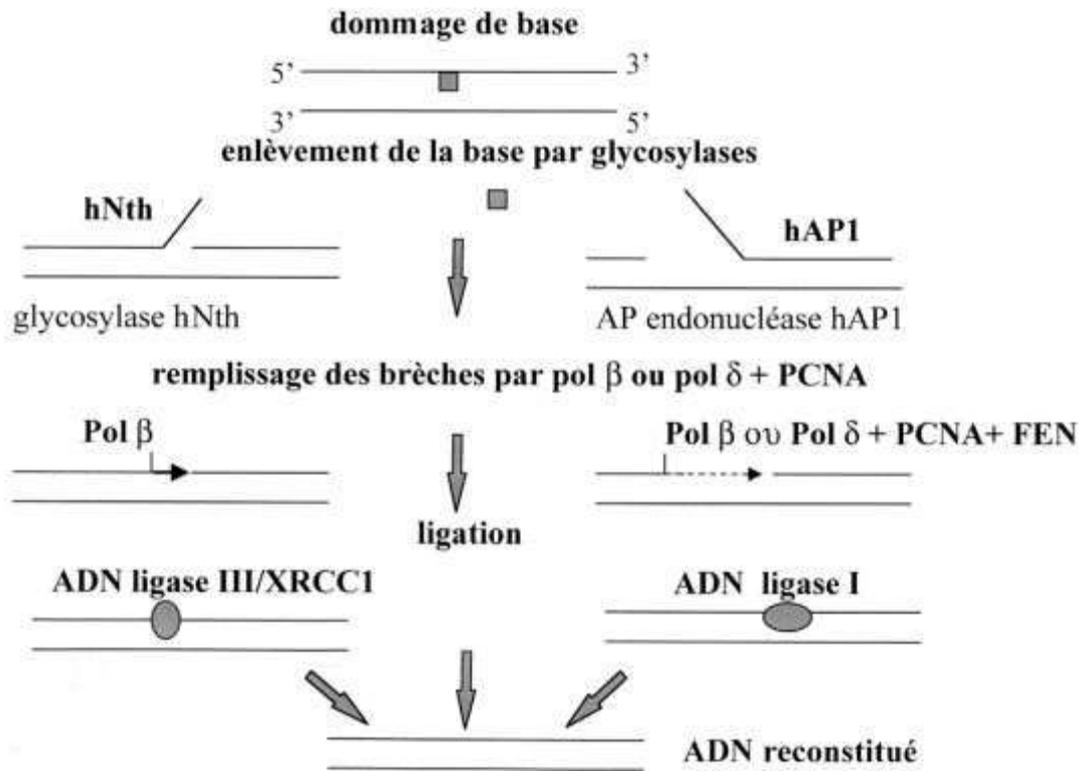


Figure 9 : mode d'action des glycosylases

(Source : Cancer/Radiothérapie, Volume 4, Issue 5, 10 Septembre 2000, Pages 335-354, Mechanisms of DNA repair and radio-induced mutagenesis in higher eukaryotes. Auteur : D.Averbeck)

3.6.3 L'action génotoxique des différentes nanoparticules

En règle générale, les nanoparticules provoquent des altérations chromosomiques, l'oxydation des bases de l'ADN mais aussi l'apparition de micronoyaux. ^[6]

Les micronoyaux sont le signe précurseur des altérations chromosomiques sous-jacentes.

En ce qui concerne le dioxyde de titane, il a été prouvé que les particules peuvent se lier au groupement phosphate de l'ADN et même se lier aux nucléotides entraînant un clivage de l'ADN en raison de la modification de son architecture interne. Les nanoparticules de dioxyde de titane les plus génotoxiques sont celles qui ont une forme anatase, c'est-à-dire une forme octohédrique. ^[34]

Pour les nanoparticules d'argent, elles ont un puissant effet dose dépendant sur l'ADN. Elles peuvent également se lier très facilement à celle-ci. ^[41]

L'altération de l'ADN avec des nanoparticules d'oxyde de zinc a été démontrée à faible concentration de particules à la différence des nanoparticules de silice qui agissent à forte concentration. ^[13]

Les altérations chromosomiques constituent la première phase du développement des cancers si la cellule ne parvient pas à réparer les dommages.

3.7 Cancérogénicité

Selon la définition de l'*Organisation Mondiale de la Santé* (OMS) « *le cancer est un terme général appliqué à un grand groupe de maladies qui peuvent toucher n'importe quelle partie de l'organisme. L'une de ses caractéristiques est la prolifération rapide de cellules anormales qui peuvent essaimer dans d'autres organes, formant ce qu'on appelle des métastases.* » ^[80]

Comme vu dans la partie traitant de la génotoxicité des nanoparticules, celles-ci provoquent des altérations de l'ADN, qui si elles ne sont pas réparées correctement, entraînent la prolifération de cellules anormales.

Le processus cancéreux se fait progressivement selon plusieurs étapes :

- L'initiation : c'est la première étape qui est induite dans une seule cellule au départ et elle est provoquée par des mutations génétiques dues à l'altération de l'ADN.
- La promotion et la progression : l'altération du cycle cellulaire provoque l'induction de tumeurs cancéreuses. ^[8]

3.7.1 Les nanoparticules de dioxyde de titane

Les nanoparticules de TiO₂ sont classées par *The international Agency for Research on Cancer* comme potentiellement cancérigène pour l'homme (groupe 2B).

La plupart des études sont réalisées sur des souris et non sur l'homme, et portent sur l'inhalation des nanoparticules et donc de ce fait sur les potentiels effets sur le poumon et les voies aériennes supérieures.

Il a été démontré que l'inhalation de nanoparticules de TiO_2 entraîne non seulement une inflammation locale du poumon mais elles entraînent bel et bien d'autres effets toxiques tels que l'altération de la membrane plasmique par peroxydation des lipides, l'altération de l'ADN, l'augmentation du stress oxydatif, l'augmentation de l'apoptose ou un dérèglement du cycle cellulaire. ^[65]

Il faut savoir que le dérèglement du cycle cellulaire entraîne l'augmentation de la prolifération des cellules, l'accumulation de mutations génétiques et la diminution de l'apoptose. Or il s'agit des trois principaux processus carcinogènes.

De ce fait les nanoparticules de TiO_2 sont parfaitement capables d'induire des néoplasies puisqu'il a été vu précédemment qu'elles entraînent à la fois des effets génotoxiques pouvant altérer irréversiblement le matériel génétique ainsi que des altérations des cascades de signaux cellulaires. Ces nanoparticules agissent selon un mode de cancérotoxicité secondaire via les effets toxiques du stress oxydatif qu'elles engendrent. ^{[4] [58]}

Des études ont montré l'augmentation de certains marqueurs tumoraux en présence de nanoparticules de TiO_2 :

- CYRFRA21-1 : cytokératine retrouvée dans l'épithélium simple bronchique. C'est le marqueur le plus sensible des cancers à grandes cellules.
- NSE : enzyme glycolytique que l'on retrouve dans les tumeurs neuro-endocriniennes. C'est le marqueur des cancers à petites cellules.
- CEA : glycoprotéines que l'on ne retrouve jamais dans le sang en règle générale sauf en cas de tumeurs.
- SCC-ag : marqueur des tumeurs squameuses pulmonaires. ^[26]

Cependant il semblerait qu'aucune étude ne montre la présence de métastases suite aux cancers engendrés par ces nanoparticules. De plus l'induction de tumeurs au contact des nanoparticules de TiO_2 n'est pas systématique et n'est pas encore clairement définie. Davantage d'études sur l'homme seront nécessaires afin de mieux comprendre l'induction de cancer par les nanoparticules.

3.7.2 Les nanoparticules d'argent

Les nanoparticules d'argent sont classées comme non cancérigène pour l'homme (groupe D) selon *The international Agency for Research on Cancer*.

Les nanoparticules d'argent entraînent des altérations du matériel génétique. Elles ont donc la possibilité d'induire des tumeurs cancéreuses. Elles ont un potentiel cancéreux uniquement à long terme. Elles provoquent également une activation de certaines cascades cellulaires menant à la migration et à l'invasion cellulaire ainsi qu'à l'activation de gènes anti-apoptiques et donc à la formation de cellules malignes. ^[16]

L'exposition chronique aux nanoparticules d'argent provoque une diminution des signaux de P38 et JNK entraînant à son tour une sous-régulation de P53, Bax/Bcl2 et de la caspases-3 provoquant à la fois l'activation de gènes anti-apoptiques et une résistance à l'anoikis (processus d'apoptose activé lors d'une migration cellulaire).

De plus, ERK est sur-régulé provoquant à son tour une activation de MMP (*Metalloproteinase*) et une diminution de TIMP (*Tissu Inhibitor Metalloproteinase*) menant à la diminution de E-cadhérine et l'augmentation de N-cadhérine, signe de la transition de l'épithélium simple en épithélium mésenchymateux. (Figure 10)

En détail, ERK, P38 et JNK font parti de la famille des MAP kinase. Ils jouent tous un rôle dans le cycle cellulaire, la prolifération et la différenciation ainsi que la résistance à l'apoptose. ^[8]

Ces cascades d'activation entraînent à la fois la prolifération cellulaire mais aussi la migration des cellules démontrant ainsi le potentiel malin des nanoparticules d'argent.

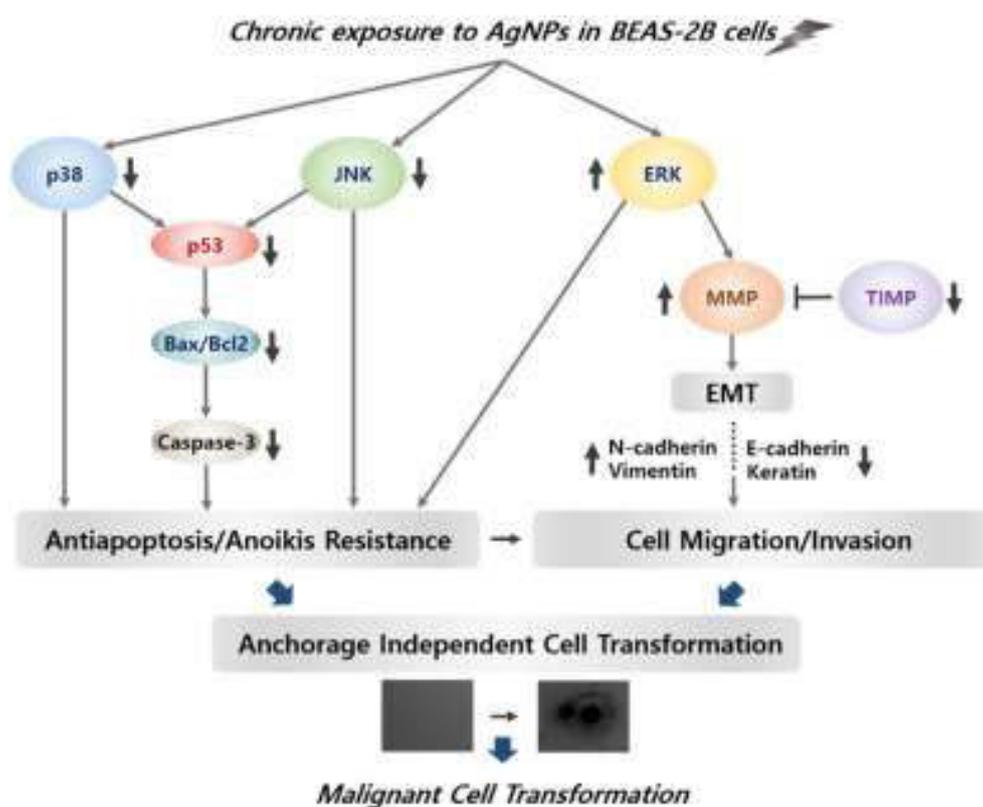


Figure 10 : Schéma représentant les conséquences de l'exposition chronique aux nanoparticules d'argent sur l'apparition de tumeur

(Source : Wun Hak Choo et coll, 2016)

Disponible sur : <https://www.semanticscholar.org/paper/Long-term-exposures-to-low-doses-of-silver-enhanced-Choo-Park/8d4f72d8d4230ad33249d031b0ab0c2892fa3073>

Le potentiel cancérigène des nanoparticules d'argent est à nuancer car les altérations cellulaires carcinogènes ne sont constatées qu'à très long terme. ^[16]

3.7.3 Rôle du facteur de transcription P53

C'est un facteur suppresseur de tumeur. Lors d'altération de l'ADN, comme c'est le cas lors d'une exposition aux nanoparticules, P53 est activé lorsque les processus de réparation sont dépassés. Il est alors phosphorylé, une série de gène entraînant l'apoptose est ainsi transcrite.

P53 intervient régulièrement dans les processus cancéreux. Lorsque le facteur est altéré lui aussi, les cellules altérées prolifèrent et les tumeurs se développent. ^[43]

3.8 Neurotoxicité

3.8.1 Rappels

Le cerveau est composé de quatre types cellulaires principaux : les astrocytes, les oligodendrocytes, les cellules microgliales et les cellules neuronales.

Tout d'abord les astrocytes sont le stock énergétique du cerveau par la présence d'un grand nombre de grains de glycogène. Ils ont pour particularité de posséder un grand nombre de canaux cationiques et voltage dépendant à leur surface.

D'autre part, on distingue les oligodendrocytes, ceux-ci produisent la myéline du système nerveux central.

Puis les cellules microgliales, dérivées des monocytes, ont un rôle de protection contre les agressions extérieures. Elles peuvent se différencier en macrophages si besoin et sécréter des cytokines pro-inflammatoires, des anions superoxydes et de l'oxyde nitrique.

Les neurones sont isolés de la circulation sanguine. Les éléments extérieurs ne peuvent les atteindre que par l'intermédiaire des astrocytes ou par la diffusion extracellulaire.

Par ailleurs le cerveau est protégé par une barrière hémato-encéphalique. Celle-ci est composée de cellules endothéliales. Ces cellules ont pour particularité au niveau du cerveau de posséder des jonctions serrées type zonula occludens, elles présentent également un grand nombre de mitochondries en leur sein. Ces spécificités permettent de former une barrière sélective autour du cerveau.^[77]

3.8.2 Mode de passage des nanoparticules au cerveau

Les nanoparticules peuvent atteindre le cerveau de deux manières. La première se fait après inhalation et passage direct au cerveau par l'intermédiaire du bulbe olfactif.

La deuxième se fait après passage des nanoparticules dans la circulation sanguine systémique puis par traversée de la barrière hémato-encéphalique protégeant le cerveau.

Comme vu dans les parties précédentes, les nanoparticules engendrent un stress oxydatif, une cascade de réaction se met alors en place afin de lutter contre ces radicaux libres de l'oxygène. Des médiateurs pro-inflammatoires sont sécrétés. L'expression de TNF- α et IL1- β est augmentée, or ceux-ci provoquent eux-mêmes l'expression de PGE2 qui est un vasodilatateur. De plus les nanoparticules provoquent l'altération des membranes cellulaires par peroxydation des lipides. De ce fait les cellules endothéliales composant la barrière hémato-encéphalique n'assurent plus aussi bien la perméabilité sélective au cerveau.

Il a été aussi démontré que les attaques immunologiques, physiques et chimiques sont susceptibles d'altérer la barrière hémato-encéphalique. Or il a été prouvé que les nanoparticules provoquent des déséquilibres chimiques et immunologiques. ^[59]

Il est également à noter que toutes les aires du cerveau ne sont pas touchées de la même manière. Par exemple, l'hippocampe subit plus de dommages que le cortex cérébral. En effet, les nanoparticules d'argent modifient l'expression génétique de 18 gènes dans le noyau caudal, 29 dans l'hippocampe et seulement 14 dans le cortex frontal. ^[54]

3.8.3 Toxicité des nanoparticules

- Mode d'action

La toxicité majeure des nanoparticules est médiée par le stress oxydatif qu'elles engendrent. Mais il ne faut pas non plus oublier les conséquences qui en découlent telles que la réponse inflammatoire de la cellule à ce stress ou encore le processus d'apoptose enclenché lorsque les altérations cellulaires (destruction membranaire ou encore altération de l'ADN) causées par les nanoparticules sont trop grandes.

Les nanoparticules métalliques telles que les nanoparticules de dioxyde de titane, celles de silice, d'oxyde de zinc ou encore d'argent, peuvent passer la barrière hémato-encéphalique et s'accumuler dans le cerveau. Leur action n'est pas immédiate, il faut plusieurs jours pour apercevoir leurs premiers effets, et ceci pour deux raisons : soit leur action au niveau du cerveau n'est visible qu'à partir d'une certaine concentration, soit elles mettent du temps à passer cette barrière hémato-

encéphalique. Il a été démontré qu'avec le temps la concentration des nanoparticules diminue dans les organes du corps à l'exception du cerveau. [1]

Les radicaux libres engendrés par le stress oxydatif provoquent une diminution de l'activité de la superoxydase dismutase et de la catalase et une augmentation de l'activité de la glutathion peroxydase. Ces trois enzymes ont des propriétés anti-oxydantes. Le cerveau étant le plus gros consommateur d'oxygène de l'organisme, il est particulièrement sensible aux troubles hypoxiques.

L'accumulation de nanoparticules provoque également une réponse inflammatoire. Ici ce sont les cellules gliales qui vont proliférer afin de relarguer des cytokines pro-inflammatoires. Les cascades de réaction se mettent en place et l'expression de P38 et JNK est augmentée et elles activent NFκB et P53 entraînant à terme l'apoptose de la cellule. De plus, on remarque l'activation du cytochrome C mitochondrial, de Bax, de la caspase-3 et de la diminution de l'activité de Bcl-2, signes que les processus apoptotiques sont activés dans le cerveau. [31] [53] [55]

L'apoptose et les altérations cellulaires dans le cerveau des rats ont montré des modifications comportementales et des troubles d'apprentissage et de la mémoire. [55]

De plus, les maladies neuro-dégénératives telles qu'Alzheimer et Parkinson fonctionnent sur un mode proche de celui engendré par le stress oxydatif. [54]

- Modifications synaptiques

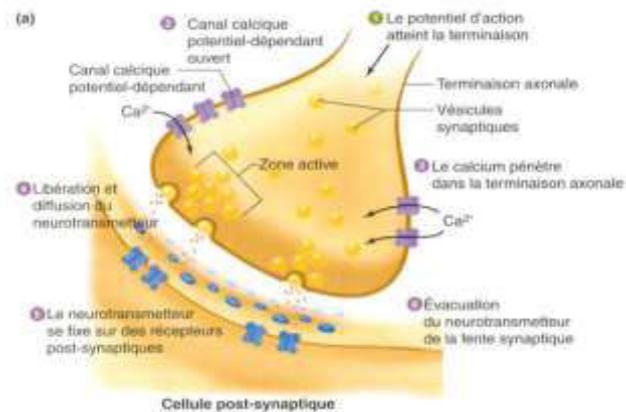


Figure 11 : Synapse

Source : <https://soutien.profexpress.com/systeme-nerveux/synapse/>

Les nanoparticules entraînent des modifications synaptiques. La fente synaptique semble avoir comme disparu du fait de l'augmentation d'épaisseur des membranes pré et post synaptiques.

On remarque également une diminution de la protéine synaptophysine qui permet la fusion des vésicules pré-synaptiques avec la membrane synaptique pour permettre le relargage des neurotransmetteurs dans la fente. De plus, la protéine post synaptique PSD-95 est aussi diminuée. Elle est associée au récepteur au glutamate NMDA (*N-méthyl-D-aspartate*). [52]

L'altération des structures cellulaires par les nanoparticules provoque la diminution de l'activité des pompes Na^+/K^+ ATPase, Ca^{2+} ATPase et $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ ATPase. [55]

De ce fait, la transmission de l'influx nerveux est diminuée voire bloquée.

- Atteinte de la myéline

La myéline ou substance blanche entoure la majorité des axones pour les protéger d'une part et afin de potentialiser la vitesse de transmission des informations.

Or les nanoparticules sont capables d'altérer l'expression génétique des protéines composant la myéline.

Les effets des nanoparticules sur la myéline sont à nuancer, lors des études menées sur les rats les effets comportementaux n'ont été retrouvés qu'à très forte concentration de nanoparticules.

Dans le cerveau, il faut noter que la toxicité des nanoparticules d'oxyde de zinc est comparable à celle du mercure. ^[10]

3.9 Toxicité sur la reproduction et le développement

3.9.1 Toxicité des nanoparticules pendant l'ovogenèse

- Rappels anatomiques

Les ovaires sont le lieu de la production des cellules germinales féminines. Ils sont composés en périphérie du stroma ovarien (composé lui-même de cellules, de fibres de collagène ainsi que de la substance fondamentale). En leur centre on retrouve les follicules à l'origine de la production des gamètes. Ceux-ci contiennent les ovocytes à différents stades de leur développement. On distingue :

Le follicule primaire qui contient un ovocyte immature entouré d'une couche de cellules aplaties.

Le follicule secondaire contenant un ovocyte entouré de plusieurs couches cellulaires et d'une couche de glycoprotéines appelée zone pellucidée, le tout entouré d'une membrane basale ou membrane de Slavjanski.

Ensuite le follicule se développe encore et prend le nom de follicule pré-antral. De l'intérieur vers l'extérieur, on distingue l'ovocyte entouré de la zone pellucidée puis les cellules de la granulosa, elles-mêmes entourées ou de la membrane de Slavjanski et enfin sont présentes les cellules thécales à l'origine de la production d'œstrogènes.

Puis le follicule mature appelé follicule antral contient l'ovocyte prêt à être ovulé. ^[81]

- Toxicité des nanoparticules

Après passage des nanoparticules dans l'organisme, elles sont transférées à la circulation systémique qui les envoie vers d'autres organes dont les ovaires. Les nanoparticules peuvent alors s'y accumuler avec différentes conséquences.

Tout d'abord, les nanoparticules peuvent atteindre aisément les cellules thécales des follicules. Ces cellules, constituant la première couche folliculaire, sont en première ligne. La sécrétion hormonale est alors impactée.

Les nanoparticules pénètrent également dans les cellules de la granulosa. Leur présence et les modifications au sein des cellules qu'elles entraînent mènent à la formation d'un ovule anormal.

De plus, comme vu précédemment, les nanoparticules peuvent s'accumuler au niveau du cerveau dont l'hypothalamus fait parti. La production hormonale au niveau de l'axe gonadotrope est perturbée. Ce sont donc les hormones LH (*hormone lutéinisante*), FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) et GnRH (*Gonadotropin-releasing Hormone*) qui sont impactées. Elles sont diffusées dans la circulation sanguine jusqu'aux ovaires où elles exercent une régulation sur la production des hormones œstrogènes, testostérones et progestérones ainsi que sur l'ovogenèse en entraînant une atrésie folliculaire.

Par ailleurs, l'ovocyte en lui-même semble protégé de l'accumulation des nanoparticules en son sein grâce à la présence de nombreuses couches cellulaires l'entourant et en particulier grâce à la zone pellucidée.

L'accumulation des nanoparticules dans les ovaires a donc pour conséquence soit d'entraîner une stérilité soit une malformation du futur embryon. ^{[27] [37]}

3.9.2 Passage des nanoparticules à travers la barrière placentaire

Le placenta forme une barrière protectrice autour du fœtus mais il produit aussi des hormones indispensables au développement comme les hormones de croissance.

La partie du placenta en contact avec le système sanguin maternel est formée de trois couches cellulaires : le syncytiotrophoblaste, le cytotrophoblaste et d'un endothélium capillaire fœtal.

La partie fœtale du placenta est composée de la plaque choriale, elle-même composée de cytotrophoblaste, de syncytiotrophoblaste et de mésenchyme. [27]

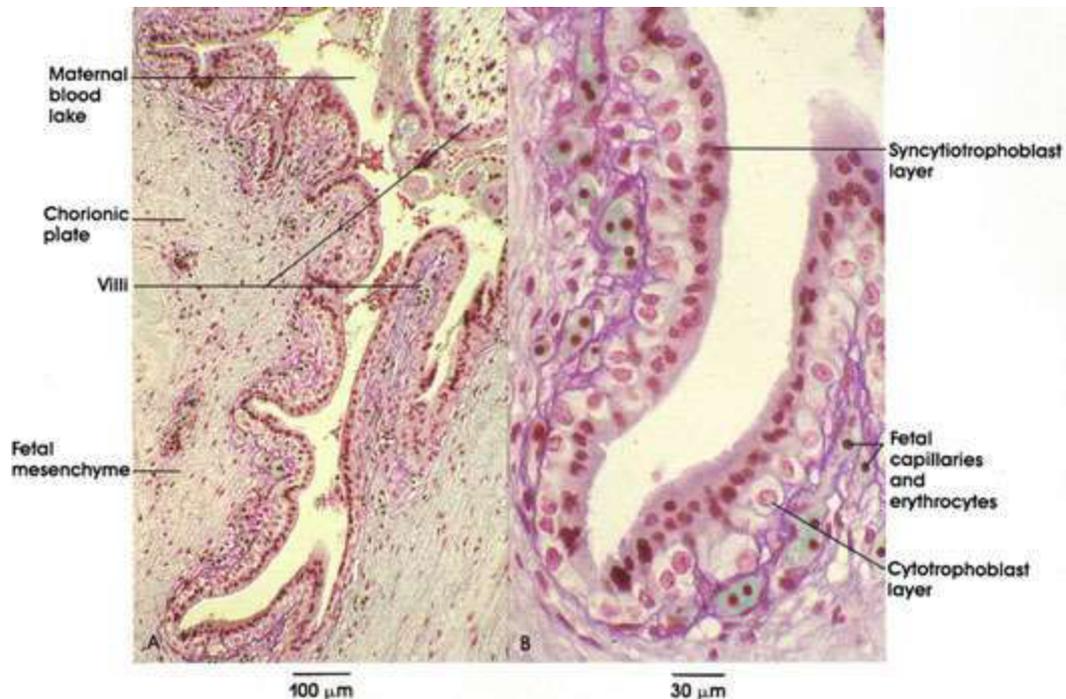


Figure 12 : coupe cytologique du placenta

Source : Anatomy Atlases

Les nanoparticules peuvent passer à travers le placenta de deux manières :

- Par diffusion passive car le placenta possède des pores de 15 nm pouvant laisser passer les plus petites nanoparticules.
- Par endocytose mais ce processus n'est pas encore complètement compris et nécessite des études supplémentaires. [27]

La présence de nanoparticules de dioxyde de titane entraîne une rupture de la vascularisation labyrinthique du placenta, or celle-ci est indispensable au bon développement du fœtus.

Les nanoparticules peuvent également s'accumuler dans les organes fœtaux et notamment le cerveau entraînant des troubles cognitifs par la suite.

De plus, de nombreux gènes placentaires impliqués dans le développement fœtal sont modifiés.

Cependant, à la naissance de l'enfant les effets ne semblent pas si significatifs. On remarque une diminution du poids et de la taille. L'importance des conséquences semblerait liée à la durée de l'exposition. Les nanoparticules s'accumulent davantage dans le placenta que dans l'embryon lui-même, de ce fait les effets observés sont moindres. ^[63]

Toutes les études réalisées sont faites non pas sur l'homme, pour des raisons évidentes, mais sur des souris et des lapins. Les résultats de ces études sont donc à nuancer. ^[57]

3.9.3 Toxicité des nanoparticules sur le système reproducteur masculin

Les testicules peuvent accumuler plus de nanoparticules que le cerveau. L'accumulation des nanoparticules ne diminue pas avec le temps.

Les testicules sont protégés par une barrière protectrice. Celle-ci est composée par des gap-jonctions entre les cellules de Sertoli dans l'épithélium séminifère. Ces cellules contrôlent la spermatogenèse. ^[36]

Les nanoparticules sont capables de traverser ces jonctions grâce à leur petite taille. Elles affectent alors les cellules de Sertoli de la même manière qu'une cellule commune. Les spermatozoïdes alors produits sont anormaux, les méïoses sont perturbées pendant la spermatogenèse.

De plus, la lumière des tubes séminifères est réduite. ^[24]

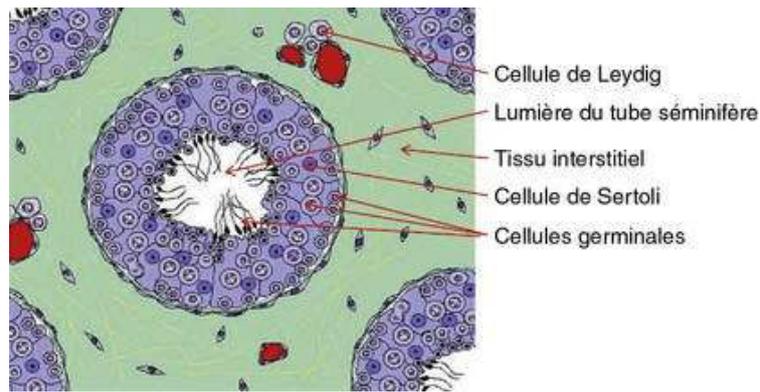


Figure 13 : structure cytologique du testicule

Source : <https://clemedicine.com/27-gametogenese/>

Les testicules et plus précisément les cellules de Leydig sécrètent également de la testostérone. Or, nous avons vu précédemment que l'axe gonadotrope contrôlant le feedback de la production de testostérone est perturbé. Chez l'homme comme chez la femme on assiste à un déséquilibre hormonal du aux nanoparticules. ^[18]

3.10 En résumé

Tableau 2 : Récapitulatif sur la toxicité des nanoparticules utilisées en médecine-bucco dentaire

Toxicité	Type de nanoparticules (NP)	Propriétés des nanoparticules
Cytotoxicité	Argent	<ul style="list-style-type: none"> • Toxicité taille dépendante • Engendre un stress oxydatif et réponse inflammatoire • Altération membrane plasmique • Protéines du cytosquelette détériorées • Altération de la mitochondrie • Perturbation survie, prolifération et migration cellulaire • Fonction enzymatique perturbée • Apoptose • Altération de tout type cellulaire [65]
	Dioxyde de titane	<ul style="list-style-type: none"> • Toxicité taille dépendante • Engendre un stress oxydatif et une réponse inflammatoire élevée • Altération membrane plasmique • Destruction mitochondrie • Apoptose [3] [25] [28] • NP concentrées autour du noyau [47]
	Oxyde de zinc	<ul style="list-style-type: none"> • Toxicité dose dépendante • Cytotoxicité équivalente sur tout type cellulaire • Engendre stress oxydatif et apoptose • Destruction mitochondrie [35]
	Silice	<ul style="list-style-type: none"> • Toxicité taille dépendante • Stress oxydatif • Altération mitochondrie et membrane plasmique [56] • apoptose
Immunotoxicité	Dioxyde de titane	<ul style="list-style-type: none"> • Stress oxydatif et réponse inflammatoire • Les cellules du système immunitaire sont particulièrement touchées • Augmentation cellules B et T puis diminution de leur immunocompétence • Augmentation TNFα et IFNγ • Modification de la fonction des neutrophiles [46]
	Argent	<ul style="list-style-type: none"> • Stress oxydatif et réponse inflammatoire • Engendre soit immunosuppression soit réaction d'hypersensibilité [44] • Cytotoxique uniquement à forte dose • Diminution des macrophages • Augmentation IgM et IgE • Diminution des cytokines pro-inflammatoires • Diminution de l'activité des cellules B et NK [21] [46]
	Oxyde de zinc	<ul style="list-style-type: none"> • Stress oxydatif et réponse inflammatoire • Cellules NK inactivées [44] • Très toxique pour les macrophages [46]

Hématotoxicité	Dioxyde de titane	<ul style="list-style-type: none"> • Stress oxydatif • Augmentation coagulation (effet dose dépendant) [39] • Rupture de la membrane des hématies • Diminution de la pompe Ca^{2+} ATPase des érythrocytes • Apoptose [32]
	Argent	<ul style="list-style-type: none"> • Diminution des enzymes anti-oxydantes [21] [42] • Inhibition des granules α des plaquettes • Augmentation coagulation • Hémolyse [39]
	Oxyde de zinc	<ul style="list-style-type: none"> • Diminution activité de la pompe sodium-potassium ATPase : augmentation perméabilité des hématies • Diminution activité des enzymes anti-oxydantes [2]
Génotoxicité	Dioxyde de titane, argent, oxyde de zinc, silice	<ul style="list-style-type: none"> • Stress oxydatif : <ul style="list-style-type: none"> - Oxydation base ADN [48] - Gène BCL2L1 sur-régulé [34] - Processus de réparation de l'ADN altérés [6] • Pénétration des nanoparticules dans le noyau • Instabilité chromosomique • Apoptose [48] • Formation de micro-noyaux • Liaison aux nucléotides [6] • NP de dioxyde de titane sont les plus toxiques [34] • NP argent agissent selon un mode dose dépendant [41] • NP Oxyde de zinc agissent à faible concentration • NP silice agissent à forte concentration [13]
Cancérogenèse	Dioxyde de titane	<ul style="list-style-type: none"> • Stress oxydatif • Dérèglement cycle cellulaire [65] • Accumulation de mutation génétique • Apoptose • Ne provoque pas de métastase [4] [58]
	Argent	<ul style="list-style-type: none"> • Altération du matériel génétique : induction de tumeur • Potentiel cancéreux uniquement à long terme • Inhibition gènes anti-apoptotique [16] • Augmentation migration cellulaire • Dérèglement prolifération et différenciation cellulaire [8]
Neurotoxicité	Dioxyde de titane, argent, oxyde de zinc	<ul style="list-style-type: none"> • Passage à travers la barrière hémato-encéphalique ou passage via le bulbe olfactif [54] • Stress oxydatif et réponse inflammatoire • Altération de la membrane cellulaire des neurones et cellules gliales • Action après plusieurs jours • Augmentation du nombre de cellules gliales [31] [53] [55] • Apoptose trouble apprentissage et maladies neurodégénératives [55] • Modification synaptique [52] [55] • Atteinte de la myéline [10]
Toxicité sur la reproduction et le développement	Dioxyde de titane, argent, oxyde de zinc	<ul style="list-style-type: none"> • Axe gonadotropique perturbé • Sécrétion hormonale impactée [18] • Atteinte cellules thécales des follicules ovariens • Production ovule anormal : stérilité ou malformation de l'embryon [27] [37] • Passage barrière placentaire : accumulation dans organes fœtaux [27] • Accumulation NP dans cellules de Sertoli : production spermatozoïdes anormaux [24]

4. Prévention des risques au cabinet dentaire

4.1 Prévention et protection du praticien et du personnel au cabinet dentaire

Il n'existe aucune étude et aucune donnée sur les risques de l'exposition aux nanoparticules au cabinet dentaire. Nous savons que ces nanoparticules sont présentes dans certains matériaux que nous utilisons mais il est actuellement impossible de quantifier leur présence, d'une part par manque d'étude et d'autre part parce que les industriels ne sont pas encore tenus d'indiquer leur présence sur les emballages. Nous pouvons seulement extrapoler au cabinet dentaire les moyens de prévention mis en place dans les laboratoires et dans le domaine industriel. De plus, aucune limite d'exposition aux nanoparticules n'existe comme c'est le cas pour les radiations aux rayons X. Exception faite des nanoparticules de dioxyde de titane qui ont fait l'objet de recommandation de la NIOSH (*The National Institute for Occupational Safety and Health*). Ces limites sont donc de 2.4 mg/m³ et 0.3 mg/m³ pour les nanoparticules les plus petites. ^[76]

Tout d'abord, il est recommandé de s'appuyer sur le code du travail relatif à l'évaluation des risques et de l'exposition des salariés aux substances dangereuses (Directives 98/24/CE et 2004/37/CE, articles R231-57 à R231-54-17 et R231-56 à R231-56-12). ^[83]

D'après le code du travail, il faut :

- Identifier les risques : c'est-à-dire qu'il faut localiser toutes les nanoparticules présentes au cabinet.
- Eviter les risques en les supprimant : selon les principes de précaution, il faudrait donc supprimer toutes les nanoparticules.
- Evaluer les risques pour la santé.
- Mettre en place des mesures de prévention des risques.
- Former et informer tout le personnel et surtout mettre à jour régulièrement les connaissances puisque les études sur le sujet évoluent rapidement.

Les moyens de prévention des risques sont édictés par l'INRS (*Institut National de Recherche et de Sécurité*) qui préconise de filtrer l'air, de ranger les nanomatériaux dans des lieux adéquates, de traiter les déchets comme des produits chimiques toxiques, de maintenir la propreté des lieux (pour faciliter cela, il est recommandé d'avoir des sols non poreux qui remontent au niveau des plinthes et facilement nettoyables).

Cependant l'INRS conseille d'utiliser des filtres absolus ou HEPA H13 selon la norme EN1822 et d'utiliser des cabines de dépression. Cela est évidemment impossible à mettre en place au cabinet dentaire. [82]

Au sujet des précautions individuelles, il est recommandé de porter des gants de type nitrile et un masque complet ou semi complet avec un filtre de classe 3. De même, nous ne pouvons pas utiliser de tels masques dans notre exercice quotidien. [76]

Nous pouvons donc utiliser des nanomatériaux au cabinet et de bénéficier de tous les avantages techniques mais il est à noter que nous ne pouvons pas mettre en place de moyens de protection individuelles efficaces. Il faudra alors se tenir informer des études les plus récentes afin de déterminer le bénéfice/risque de l'utilisation des nanoparticules au cabinet dentaire.

4.2 Prévention et protection du patient

Contrairement au praticien et aux assistants dentaires, le patient est en première ligne, il est directement au contact des nanoparticules.

Celui-ci ne peut évidemment pas porter de masque pour éviter l'inhalation ou l'ingestion de nanoparticules présentes dans les matériaux de restauration et diffusant dans l'air lors du polissage à la fraise.

Par ailleurs, les nanoparticules peuvent être présentes dans les matériaux canalaires en endodontie et nous ne pouvons pas être certains que ceux-ci ne diffuseront pas au-delà de l'apex de la dent et ne seront pas envoyés dans la circulation sanguine systémique. De même pour les implants dentaires, il paraît peu probable que les nanoparticules utilisées ou produites ultérieurement après la pose de l'implant resteront uniquement au contact de cet implant.

A l'heure actuelle, aucune étude n'a été faite sur le sujet. Nous savons que les nanoparticules peuvent constituer des risques pour la santé du patient, mais avec le manque de recul et le manque d'études réalisées sur l'homme, ils sont encore difficilement quantifiables. Devons nous alors respecter un principe de précaution tant que des études n'ont pas été faites ? Pouvons nous continuer d'utiliser ces nanomatériaux tant que nous ne sommes pas sûrs qu'ils n'affecteront pas la santé du patient ? ^[79]

5. Conclusion

Les nanoparticules présentes au sein des matériaux que nous utilisons dans notre exercice (en implantologie, en endodontie et dans les résines composites) sont capables de pénétrer dans l'organisme soit par ingestion, ou inhalation ou encore par passage dans la circulation sanguine. Elles peuvent alors s'accumuler dans les différents organes du corps humain et pénétrer dans les cellules grâce à leur petite taille. Elles engendrent alors une toxicité due en grande partie au stress oxydatif. Celui-ci peut provoquer des dommages irréversibles au niveau de la mitochondrie. De plus, les nanoparticules peuvent entraîner des altérations du patrimoine génétique. Les cascades d'activation cellulaires sont modifiées également.

Tout ceci entraîne une cytotoxicité, immunotoxicité, hématotoxicité, cancérogénèse, génotoxicité, neurotoxicité ainsi qu'une toxicité au niveau du système reproducteur et du fœtus.

Cependant, peu voire aucune étude sur la toxicité des nanoparticules au cabinet dentaire n'existe. Nous pouvons uniquement extrapoler les résultats d'études portant sur les nanoparticules dans d'autres domaines comme celui de l'industrie ou encore de la cosmétique. La présence des nanoparticules au cabinet dentaire est très difficilement quantifiable.

Nous pouvons donc être sûrs que les nanoparticules provoquent des altérations cellulaires mais nous ne connaissons pas encore leurs effets sur le long terme.

Ce manque d'information sur le sujet nous amène à nous demander comment nous prévenir au mieux contre les risques de nanoparticules. Les mesures de prévention ne sont pas encore adaptées à notre exercice. Il faudra donc s'informer régulièrement des avancées des études et renforcer le soutien aux organismes de recherches.

6. Bibliographie

Références bibliographiques

1. Attia H, Nounou H, Shalaby M. Zinc Oxide Nanoparticles Induced Oxidative DNA Damage, Inflammation and Apoptosis in Rat's Brain after Oral Exposure. *Toxics*. 2018; 6(2): 29.
2. Babu EP, Subastri A, Suyavaran A, Premkumar K, Sujatha V, Aristatile B, et coll. Size Dependent Uptake and Hemolytic Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Erythrocytes and Biomedical Potential of ZnO-Ferulic acid Conjugates. *Sci Rep*. 2017; 7(1):4203.
3. Boonrungsiman S, Suchaoin W, Chetprayoon P, Viriya-empikul N, Aueviriyavit S, Maniratanachote R. Shape and surface properties of titanate nanomaterials influence differential cellular uptake behavior and biological responses in THP-1 cells. *Biochem Biophys Rep*. 2017;9:203-10.
4. Botelho MC, Costa C, Silva S, Costa S et coll. Effects of titanium dioxide nanoparticles in human gastric epithelial cells in vitro. *Biomed Pharmacother*. 2014; 68(1): 59-64.
5. Castillo-Dalí G, Castillo-Oyagüe R, Terriza A, Saffar JL et coll. Pre-prosthetic use of poly(lactic-glycolic acid) membranes treated with oxygen plasma and TiO₂ nanocomposite particles for guided bone regeneration processes. *J Dent*. 2016; 47: 71-79.
6. Chen T, Yan J, Li Y. Genotoxicity of titanium dioxide nanoparticles. *J Food Drug Anal*. 2014; 22(1): 95-104.
7. Chen X-X, Cheng B, Yang Y-X, Cao A, Liu J-H, Du L-J, et coll. Characterization and Preliminary Toxicity Assay of Nano-Titanium Dioxide Additive in Sugar-Coated Chewing Gum. *Small*. 2013 ;9(9-10):1765-74.

8. Choo WH, Park CH, Jung SE, Moon B et coll. Long-term exposures to low doses of silver nanoparticles enhanced in vitro malignant cell transformation in non-tumorigenic BEAS-2B cells. *Toxicol In Vitro*. 2016; 37: 41-49.
9. Collège National des Enseignants en Odontologie Conservatrice et Endodontie. Dictionnaire Francophone des termes d'Odontologie Conservatrice Endodontie & Odontologie restauratrice. 2^e édition. Paris : Edition Espace ID ; 2010. 112p.
10. Dąbrowska-Bouta B, Zięba M, Orzelska-Górka J, Skalska J, Sulkowski G, Frontczak-Baniewicz M, et coll. Influence of a low dose of silver nanoparticles on cerebral myelin and behavior of adult rats. *Toxicology*. 2016; 363-364: 29-36.
11. De Jong WH, Van Der Ven LTM, Sleijffers A, Park MVDZ, Jansen EHJM, Van Loveren H, et coll. Systemic and immunotoxicity of silver nanoparticles in an intravenous 28 days repeated dose toxicity study in rats. *Biomater*. 2013; 34(33): 8333-43.
12. Del Carpio-Perochena A, Kishen A, Shrestha A, Monteiro Bramante C. Antibacterial Properties Associated with Chitosan Nanoparticle Treatment on Root Dentin and 2 Types of Endodontic Sealers. *J Endod*. 2015;41(8): 1353-1358.
13. Demir E, Castranova V. Genotoxic effects of synthetic amorphous silica nanoparticles in the mouse lymphoma assay. *Toxicol Rep*. 2016;3:807-815.
14. Devanabanda M, Latheef SA, Madduri R. Immunotoxic effects of gold and silver nanoparticles: Inhibition of mitogen-induced proliferative responses and viability of human and murine lymphocytes in vitro. *J Immunotoxicol*. 2016; 13(6): 897-902.
15. Dobrovolskaia MA, Aggarwal P, Hall JB, McNeil SE. Preclinical Studies To Understand Nanoparticle Interaction with the Immune System and Its Potential Effects on Nanoparticle Biodistribution. *Mol Pharm*. 2008; 5(4):487-95.

16. Donaldson K, Poland CA. Inhaled nanoparticles and lung cancer - what we can learn from conventional particle toxicology. *Swiss Med Wkly.* 2012; 142: 13547.
17. El-Wassefy NA, El-Mahdy RH, El-Kholany NR. The impact of silver nanoparticles integration on biofilm formation and mechanical properties of glass ionomer cement. *J Esthet Restor Dent.* 2018; 30(2): 146-52.
18. Ema M, Okuda H, Gamo M, Honda K. A review of reproductive and developmental toxicity of silver nanoparticles in laboratory animals. *Reprod Toxicol.* 2017; 67: 149-64.
19. Fatemeh K, Mohammad Javad M, Samaneh K, Fatemeh K et coll. The effect of silver nanoparticles on composite shear bond strength to dentin with different adhesion protocols. *J Appl Oral Sci.* 2017; 25(4): 367–73.
20. Gaillet S, Rouanet JM. Silver nanoparticles: Their potential toxic effects after oral exposure and underlying mechanisms – A review. *Food Chem Toxicol.* 2015; 77: 58-63.
21. Galbiati V, Cornaghi L, Gianazza E, Potenza MA et coll. In vitro assessment of silver nanoparticles immunotoxicity. *Food Chem Toxicol.* 2018; 112: 363-374.
22. Ghosh M, Chakraborty A, Mukherjee A. Cytotoxic, genotoxic and the hemolytic effect of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles on human erythrocyte and lymphocyte cells in vitro. *J Appl Toxicol.* 2013; 33(10): 1097-110.
23. Guillaume B. Les implants dentaires : revue. *Morphologie.* 2016 ; 100(331) :189–198.
24. Han Z, Yan Q, Ge W, Liu ZG. Cytotoxic effects of ZnO nanoparticles on mouse testicular cells. *Int J Nanomedicine.* 2016; 11: 5187-5203.

25. Heravi F, Ramezani M, Poosti M, Hosseini Met coll. In Vitro Cytotoxicity Assessment of an Orthodontic Composite Containing Titanium Dioxide Nanoparticles. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2013; 7(4): 192-8.
26. Hong F, Ji L, Zhou Y, Wang L. Chronic nasal exposure to nanoparticulate TiO₂ causes pulmonary tumorigenesis in male mice. *Environ Toxicol*. 2017; 32(5): 1651-7.
27. Hou CC, Zhu JQ. Nanoparticles and female reproductive system: how do nanoparticles affect oogenesis and embryonic. *Oncotarget*. 2017;8(65):109799-109817.
28. Hussain S, Boland S, Baeza-Squiban A, Hamel R et coll. Oxidative stress and proinflammatory effects of carbon black and titanium dioxide nanoparticles: Role of particle surface area and internalized amount. *Toxicology*. 2009; 260(1-3): 142-9.
29. Ickrath P, Wagner M, Scherzad A, Gehrke T et coll. Time-Dependent Toxic and Genotoxic Effects of Zinc Oxide Nanoparticles after Long-Term and Repetitive Exposure to Human Mesenchymal Stem Cells. *Int J Environ Res Public Health*. 2017; 14(12): 1590.
30. Jiang L, Yu Y, Li Y, Yu Y, Duan J, Zou Y, etcoll. Oxidative Damage and Energy Metabolism Disorder Contribute to the Hemolytic Effect of Amorphous Silica Nanoparticles. *Nanoscale Res Lett*. 2016; (11):57.
31. Khan FA, Almohazey D, Alomari M, Almofty SA. Impact of nanoparticles on neuron biology: current research trends. *Int J Nanomedicine*. 2018; 13: 2767-76.
32. Koohi MK, Hejazy M, Najafi D, Sajadi SM. Investigation of hematotoxic effect of nanoZnO, nano Fe₃O₄ and nano SiO₂ in vitro. *J Nanomed Res*. 2017; 2(2): 93-9.

33. Krajewski S, Prucek R, Panacek A, Avci-Adali M, Nolte A, Straub A, et coll. Hemocompatibility evaluation of different silver nanoparticle concentrations employing a modified Chandler-loop in vitro assay on human blood. *Acta Biomater.* 2013; 9(7): 7460–8.
34. Li Y, Yan J, Ding W, Chen Y, Pack LM, Chen T. Genotoxicity and gene expression analyses of liver and lung tissues of mice treated with titanium dioxide nanoparticles. *Mutagenesis.* 2017; 32(1): 33-46.
35. Lin W, Huang YW, Zhou XD, Ma Y. In vitro toxicity of silica nanoparticles in human lung cancer cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2006; 217(3): 252-9.
36. Liu Q, Xu C, Ji G, Liu H, Mo Y, Tollerud DJ, et coll. Sublethal effects of zinc oxide nanoparticles on male reproductive cells. *Toxicol in Vitro.* 2016; 35: 131.
37. Ma Y-B, Lu C-J, Junaid M, Jia P-P, Yang L, Zhang J-H, et coll. Potential adverse outcome pathway (AOP) of silver nanoparticles mediated reproductive toxicity in zebrafish. *Chemosphere.* 2018; 207: 320-328.
38. Martin D, Bouillaguet S, Bronnec F, Bulit F, Caron G, Machtou P et coll. Irrigation en Endodontie. Paris : Association Dentaire Française ; 2012. Chapitre 2, L'infection canalaire et le biofilm ; p.17-18.
39. Matus MF, Vilos C, Cisterna BA, Fuentes E, Palomo I. Nanotechnology and primary hemostasis: Differential effects of nanoparticles on platelet responses. *Vascul Pharmacol.* 2018; 101: 1-8.
40. Mitchell JC, Musanje L, Ferracane JL. Biomimetic dentin desensitizer based on nano-structured bioactive glass. *Dent Mater.* 2011;27(4):386-93.
41. Nallanthighal S, Chan C, Murray TM, Mosier AP, Cady NC, Reliene R. Differential effects of silver nanoparticles on DNA damage and DNA repair gene expression in Ogg1-deficient and wild type mice. *Nanotoxicology.* 2017; 11(8): 996-1011.

42. Nemmar A, Beegam S, Yuvaraju P, Yasin J, et coll. Interaction of amorphous silica nanoparticles with erythrocytes in vitro: Role of oxidative stress. *Cell Physiol Biochem*. 2014; 34(2): 255-65.
43. Ng KW, Khoo SPK, Heng BC, Setyawati MI, Tan EC, Zhao X, et coll. The role of the tumor suppressor p53 pathway in the cellular DNA damage response to zinc oxide nanoparticles. *Biomater*. 2011; 32(32): 8218-25.
44. Ngobili TA, Daniele MA. Nanoparticles and direct immunosuppression. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2016; 241(10):1064-73.
45. Noronha VT, Paula AJ, Durán G, Galembeck A, Cogo-Müllere K, Franz-Montan M et coll. Silver nanoparticles in dentistry. *Dent Mater*. 2017; 10(33):1110–26.
46. Pandey RK, Prajapati VK. Molecular and immunological toxic effects of nanoparticles. *Int J Biol Macromol*. 2018; 107(Part A): 1278-1293.
47. Park E-J, Yi J, Chung K-H, Ryu D-Y, Choi J, Park K. Oxidative stress and apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in cultured BEAS-2B cells. *Toxicol Lett*. 2008;180(3):222-9.
48. Patel S, Patel P, Bakshi SR. Titanium dioxide nanoparticles: an in vitro study of DNA binding, chromosome aberration assay, and comet assay. *Cytotechnology*. 2017; 69(2): 245-63.
49. Qi L, Xu Z, Jiang X, Hu C, Zou X. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. *Carbohydr Res*. 2004; 339(16):2693–2700.
50. Samiei M, Farjami A, Maleki Dizaj S, Lotfipour F. Nanoparticles for antimicrobial purposes in endodontics: a systematic review of in vitro studies. *Mater Sci Eng C*. 2016; 58: 1269-1278.
51. Sanchez F, Sobolev K. Nanotechnology in concrete – A review. *Construction and Building Materials*. 2010; 24(11): 2060–2071.

52. Skalska J, Frontczak-Baniewicz M, Strużyńska L. Synaptic degeneration in rat brain after prolonged oral exposure to silver. *Neurotoxicology*. 2015; 46: 145-54.
53. Song B, Zhou T, Liu J, Shao L. Involvement of Programmed Cell Death in Neurotoxicity of Metallic Nanoparticles: Recent Advances and Future Perspectives. *Nanoscale Res Lett*. 2016; 11(1): 484.
54. Song B, Zhang Y, Liu J, Feng X, Zhou T, Shao L. Is Neurotoxicity of Metallic Nanoparticles the Cascades of Oxidative Stress?. *Nanoscale Res Lett*. 2016; 11(1): 291.
55. Song B, Zhang Y, Liu J, Feng X, Zhou T, Shao L. Unraveling the neurotoxicity of titanium dioxide nanoparticles: focusing on molecular mechanisms. *Beilstein J Nanotechnol*. 2016; 7: 645-54.
56. Song W, Zhang J, Guo J, Zhang J et coll. Role of the dissolved zinc ion and reactive oxygen species in cytotoxicity of ZnO nanoparticles. *Toxicol Lett*. 2010; 199(3): 389-97.
57. Sweeney S, Adamcakova-Dodd A, Thorne PS, Assouline JG. Multifunctional nanoparticles for real-time evaluation of toxicity during fetal development. *PLoS One*. 2018; 13(2): 192474.
58. Trouiller B, Reliene R, Westbrook A, Solaimani P, Schiestl RH. Titanium dioxide nanoparticles induce DNA damage and genetic instability in vivo in mice. *Cancer Res*. 2009; 69(22): 8784-9.
59. Trickler WJ, Lantz SM, Murdock RC, Schrand AM, Robinson BL, Newport GD, et coll. Silver Nanoparticle Induced Blood-Brain Barrier Inflammation and Increased Permeability in Primary Rat Brain Microvessel Endothelial Cells. *Toxicol Sci*. 2010; 118(1): 160-70.

60. Wang J, Che B, Zhang LW, Dong G. Comparative genotoxicity of silver nanoparticles in human liver HepG2 and lung epithelial A549 cells. *J Appl Toxicol.* 2017; 37(4): 495-501.
61. Wang S, Wu J, Yang H, Liu X, Huang Q, Lu Z. Antibacterial activity and mechanism of Ag/ZnO nanocomposite against anaerobic oral pathogen *Streptococcus mutans*. *J Mater Sci: Mater Med.* 2017; 28(1): 23.
62. Weir A, Westerhoff P, Fabricius L, Hristovski K, von Goetz N. Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products. *Environ Sci Technol.* 2012;46(4):2242-50.
63. Zhang L, Xie X, Zhou Y, Yu D, Deng Y, Ouyang J, et coll. Gestational exposure to titanium dioxide nanoparticles impairs the placentation through dysregulation of vascularization, proliferation and apoptosis in mice. *Int J Nanomedicine.* 2018; 13: 777-89.
64. Zhang X, Li W, Yang Z. Toxicology of nanosized titanium dioxide: an update. *Arch Toxicol.* 2015; 89(12): 2207-17.
65. Zhang X-F, Shen W, Gurunathan S. Silver Nanoparticle-Mediated Cellular Responses in Various Cell Lines: An in Vitro Model. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(10): 1603.
66. Zijno A, De Angelis I, De Berardis B, Andreoli C, Russo MT, Pietraforte D, et coll. Different mechanisms are involved in oxidative DNA damage and genotoxicity induction by ZnO and TiO₂ nanoparticles in human colon carcinoma cells. *Toxicol in Vitro.* 2015; 29(7): 1503-12.
67. Zolnik BS, González-Fernández Á, Sadrieh N, Dobrovolskaia MA. Nanoparticles and the Immune System. *Endocrinology.* 2010; 151(2): 458-65.

Références bibliographiques électroniques

68. Acota Popescu SA. Films minces de dioxyde de titane déposés sur titane par mocvd : microstructure et biocompatibilité [Thèse de doctorat de Science et de génie des matériaux]. [Toulouse] : Université de Toulouse. 2008 [consulté le 18 novembre 2017]. 181p. Disponible sur:
http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00000805/01/jacota_popescu.pdf
69. AIDA INERIS (Institut national de l'environnement industriel et des risques). Recommandation n° 2011/696/UE du 18/10/11 relative à la définition des nanomatériaux [Internet]. 2011 [consulté le 25 mai 2017]. Disponible sur:
http://www.ineris.fr/aida/consultation_document/1639
70. CNRS (Centre national de la recherche scientifique), Sagascience. Fabrication et observation d'objets à l'échelle nanométrique [Internet]. [consulté le 17 avril 2018]. Disponible sur:
http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/dosnano/decouv/02/02_4_1/01.htm
71. Dainelys GB. L'influence d'une surface nanoporeuse de titane sur l'activité de cellules ostéoblastiques [Mémoire]. [Montréal] : Université de Montréal. Faculté de médecine dentaire ; 2017 [consulté le 4 novembre 2017]. 56p. Disponible sur:
https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/bitstream/handle/1866/19435/Guadarrama_Bello_Dainelys_2017_memoire.pdf?sequence=2&isAllowed=y
72. Dorier M. Impact du colorant alimentaire E171 et de nanoparticules de dioxyde de titane sur des modèles cellulaires, in vitro, d'épithélium intestinal [Thèse de doctorat de Biologie cellulaire]. [Grenoble] : Université de Grenoble Alpes. 2006 [consulté le 13 février 2018]. 322p. Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01690732/document>

73. INERIS (Institut national de l'environnement industriel et des risques). Nanotechnologies, Nanomatériaux, Nanoparticules, Quels impacts pour l'homme ? [Internet]. 2007 [consulté le 3 juin 2017]. Disponible sur : https://www.ineris.fr/sites/ineris.fr/files/contribution/Documents/INERIS_plaquette.pdf
74. INRS (Institut national de recherche et de sécurité). Nanomatériaux, nanoparticules [Internet]. 2018 [consulté le 25 mai 2017]. Disponible sur: <http://www.inrs.fr/risques/nanomateriaux/terminologie-definition.html>
75. INRS (Institut national de recherche et de sécurité). Nanomatériaux, nanoparticules. Effets sur la santé [Internet]. 2014 [consulté le 16 février 2018]. Disponible sur : <http://www.inrs.fr/risques/nanomateriaux/effets-sante.html>
76. INRS (Institut national de recherche et de sécurité). Prévention des risques [Internet]. 2014 [consulté le 20 août 2018]. Disponible sur: <http://www.inrs.fr/risques/nanomateriaux/prevention-risques.html>
77. Médecine Sorbonne Université. Chapitre 8 – Le système nerveux périphérique [Internet]. 2008 [consulté le 13 août 2018]. Disponible sur : <http://www.chups.jussieu.fr/polys/histo/histoP1/systnerveux.html>
78. My Virtual medical center. Composition of blood (blood cells, electrolytes, proteins) [Internet]. 2008 [consulté le 3 septembre 2018]. Disponible sur: <https://www.myvmc.com/anatomy/blood-function-and-composition/#C3>
79. Nanoparticules : un enjeu pour la prévention. Actes du symposium INRS-CRAM Centre. 30e Congrès national de médecine et santé au travail (Tours, juin 2008). Documents pour le médecin du travail. [Internet]. 2008 [consulté le 28 août 2018]; 129 : 399-411. Disponible sur: <http://www.inrs.fr/media.html?refINRS=TD%20162>
80. OMS (Organisation mondiale de la santé). Cancer [Internet]. 2018 [consulté le 2 juillet 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/topics/cancer/fr/>

81. The digital microscope. L'ovaire [Internet]. [consulté le 13 août 2018]. Disponible sur: <http://www.histology.be/atlas/HSH/general/right/HS-Fam-Ovr.htm>
82. Thomas D, Mouret G, Callé-Chazelet S, Bémer D. Filtration des nanoparticules : un problème de taille ?. Hygiène et sécurité du travail. [Internet]. 2008 [consulté le 20 août 2018]. 211 : 13-19. Disponible sur: <http://www.inrs.fr/media.html?refINRS=ND%202288>
83. Tryjefaczka M, Matuszewski S. Nanoparticules : quelle protection pour les salariés ?. Traitements & Matériaux [Internet]. 2012 [consulté le 20 août 2018]; 0417. Disponible sur: <http://traitementsetmatériaux.fr/Archives-article/Fiche/1021/Nanoparticules-%253A-quelle-protection-pour-les-salaries-%253F>

OLIVIER Claire – Nanoparticules en médecine bucco-dentaire : Aspects toxicologiques

Nancy 2018: 84 pages.13 figures ; 2 tableaux.

Th. Chir Dent : Nancy 2018

Mots-clefs :

- **Nanoparticule**
- **Toxicité**
- **Médecine bucco-dentaire**

Résumé :

De nombreux biomatériaux sont utilisés en médecine bucco-dentaire. Afin d'en améliorer leur caractéristique et leur performance, des particules de plus en plus petites dont certaines possèdent une taille inférieure à 100 nm sont incorporées ou utilisées. Ces nanoparticules (NP) sont utilisées dans tous les domaines de l'odontologie : implantologie, prothèse, endodontie, etc.

La taille de ces NP est largement inférieure à celle d'une cellule humaine. Ainsi les NP peuvent y pénétrer voire s'y accumuler perturbant *in fine* son fonctionnement normal.

Au cours de ce travail, nous rappellerons ce que sont les NP puis nous identifierons les nanomatériaux dentaires disponibles sur le marché français. Ensuite, nous analyserons leurs impacts toxicologiques sur l'organisme humain. Enfin nous évoquerons comment prévenir les risques (patients, personnels, praticiens).

Membres du jury :

Pr JM MARTRETTE	Professeurs des Universités	Président
<u>Dr K YASUKAWA</u>	<u>Maître de Conférences</u>	<u>Directeur de thèse</u>
<u>Dr C JURAS</u>	<u>Assistant Hospitalo-Universitaire</u>	<u>Directeur de thèse</u>
Dr D JOSEPH	Maître de Conférences	Juge

Adresse de l'auteur :

Claire OLIVIER
13 rue des Aliziers
90160 PÉROUSE

Jury : Président : J-M. MARTRETTE – Professeur des Universités
Juges : K. YASUKAWA – Maître de Conférences des Universités
C. JURAS – Assistant Hospitalo-Universitaire
D. JOSEPH – Maître de Conférences des Universités

Thèse pour obtenir le diplôme d'État de Docteur en Chirurgie Dentaire

Présentée par : Madame OLIVIER, Claire, Marie, Catherine

né(e) à : Lille (Nord)

le 31 octobre 1992

et ayant pour titre : « Nanoparticules en médecine bucco-dentaire : aspects toxicologiques ».

Le président du jury



J.-M. MARTRETTE

Le doyen,
de la faculté d'odontologie



FACULTÉ
D'ODONTOLOGIE
DE LORRAINE
J.M. MARTRETTE

Autorise à soutenir et imprimer la thèse 10503

NANCY, le

Le président de l'université de Lorraine



P. MUTZENHARDT