



Université de Bourgogne

# *Nanotechnologies* Rêve, Réalité et Enjeux

Gérard LIZARD

Faculté des Sciences Gabriel

EA7270 - 'Biochimie du Peroxysome, Inflammation et Métabolisme Lipidique' (Bio-peroxIL)  
6, Bd Gabriel – 21000 Dijon

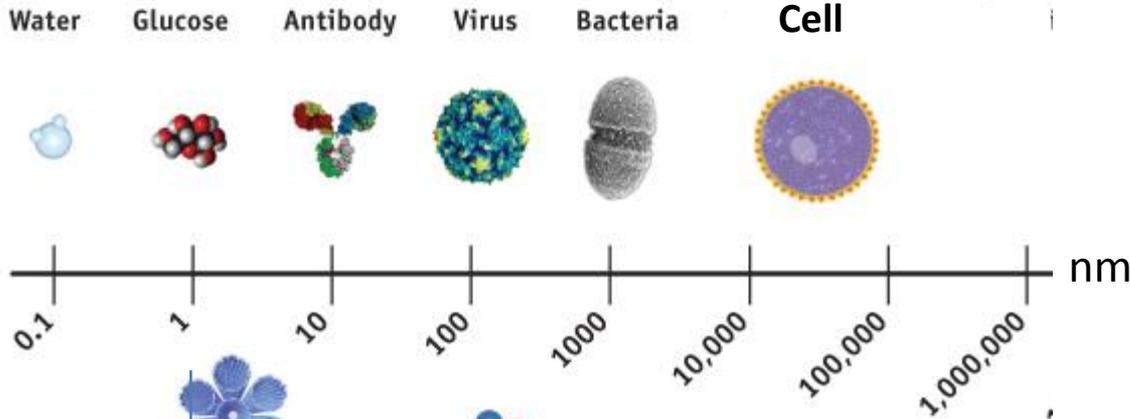
*Conférence-débat; cercle Condorcet de Dijon*

Salle François Chambelland  
8 Rue Olympe de Gouges  
21 000 DIJON  
*Dijon, 30 mars 2018*



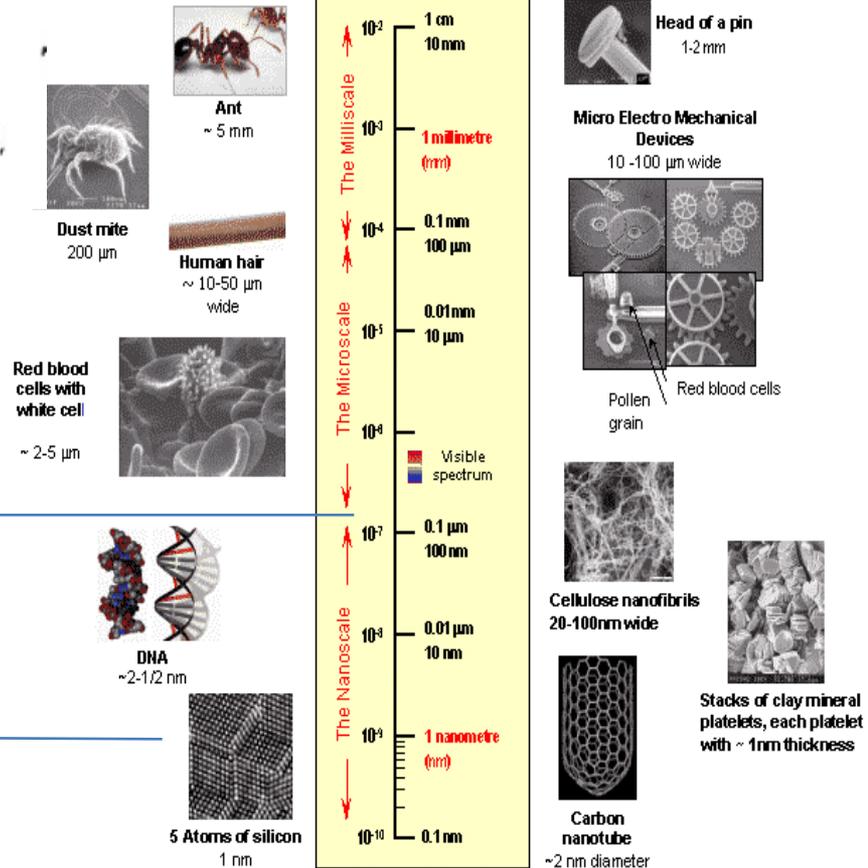
Gérard LIZARD  
EA 7270 , Université de Bourgogne / Inserm

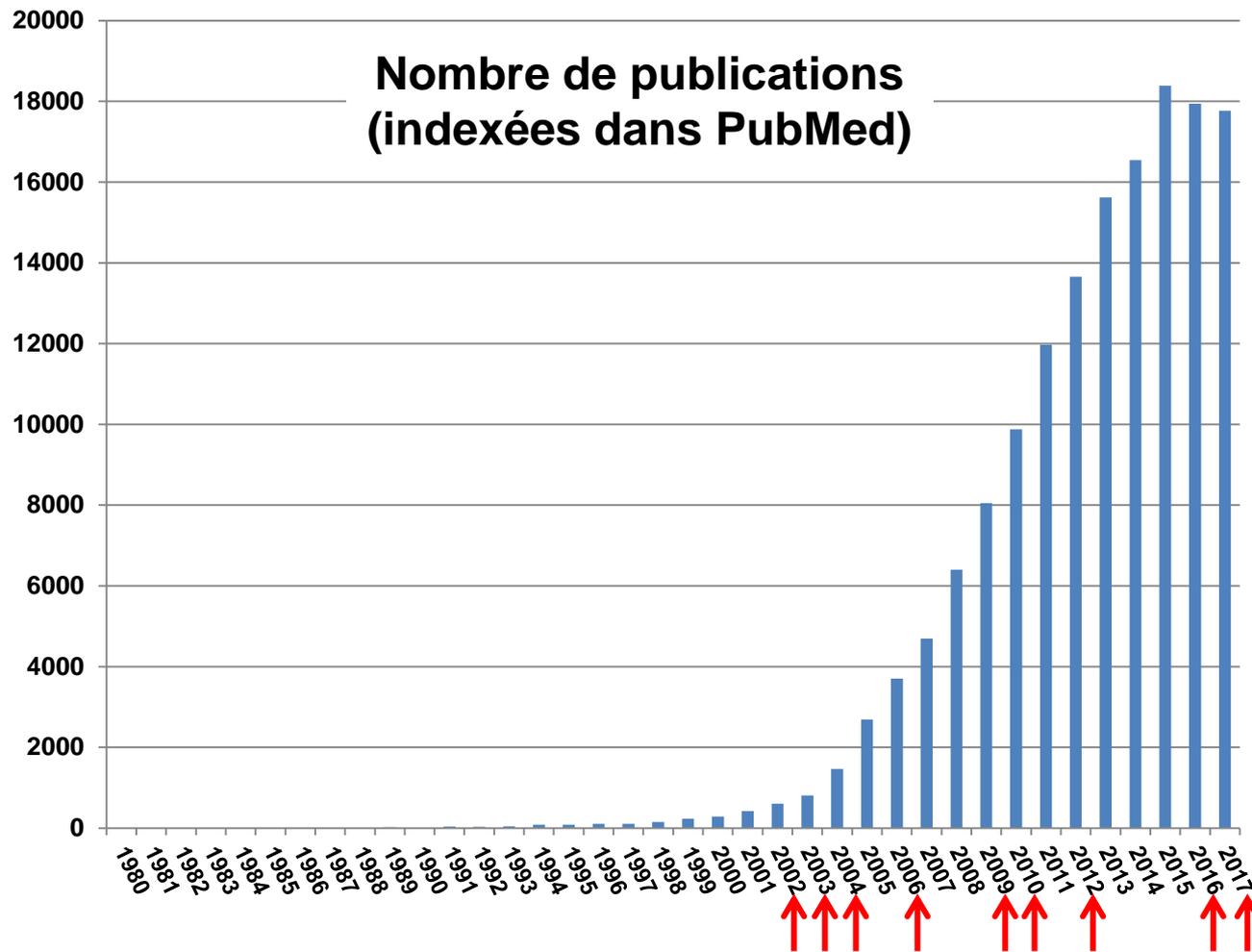
# Echelle du Vivant



**Nanodevices:**  
Nanopores, Dendrimers, Nanotubes,  
Quantum dots, and Nanoshells

**Échelle nanométrique  
(Nanomonde)  
1 à 100 nm**





**Années de Publications: Lizard G et al.; nanoparticules**

## Nanotechnologies: définition, état des lieux et questions suscitées

❑ L'arrivée des nanotechnologies suscite des espoirs immenses mais soulève de nombreuses questions... Les nanotechnologies vont-elles tenir ces importantes promesses.

❑ Vont-elles être et demeurer **accessibles à tous**?

❑ Les applications actuelles des nanotechnologies sont **elles-utiles ou non**?

❑ Comment pouvons-nous savoir si les produits qui nous entourent contiennent des nanoparticules. Comment évaluer leur **éventuelle toxicité**?

...de fait, les nanotechnologies vont-elles réaliser nos **rêves**, ou vont-elles être à l'origine des pires **cauchemars**?

## Nanotechnologies, nanosciences : définitions

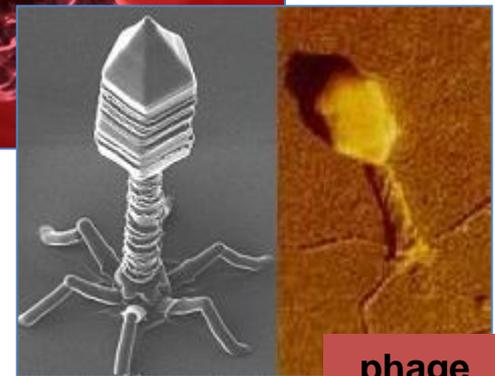
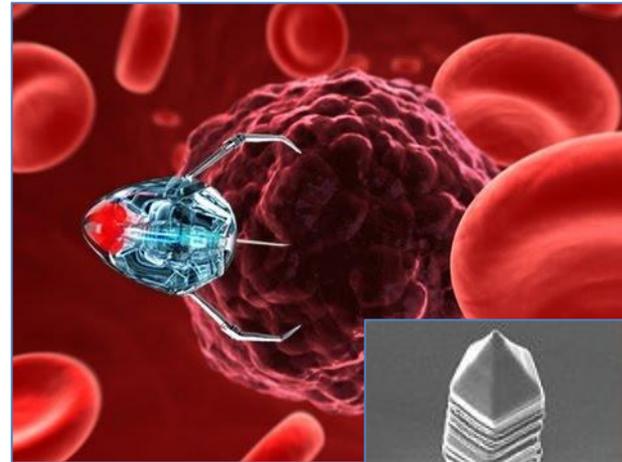
- ✓ La **nanotechnologie** désigne la **manipulation des atomes ou des molécules** pour fabriquer des matériaux, des appareils et des nouvelles technologies. Il s'agit de **construire atome par atome et molécule par molécule** à la nano-échelle des **nanomatériaux**....
- ✓ Les nanotechnologies (le terme «nano» est dérivé du grec «nannos» qui signifie nain) exigent d'énormes **efforts de recherche fondamentale et appliquée dans des domaines multidisciplinaires** impliquant une **diversité des spécialités**: génomique et biotechnologies, développement durable, sécurité alimentaire, aéronautique, santé, etc.
- ✓ Les nanosciences sont souvent qualifiées de **disciplines «horizontales»** parce qu'elles réunissent fréquemment plusieurs disciplines scientifiques et tirent parti de démarches **interdisciplinaires**.
- ✓ Les applications des nanotechnologies (via les nanoparticules) sont déjà nombreuses dans la vie quotidienne et sont encore appelées à se développer.
- ✓ En médecine, les nanotechnologies conduisent à la **médecine personnalisée** (plus grandes efficacités, effets secondaires réduits...) - **théranostic**

# Nanotechnologie : nanorobots et nanomédecine

## Perspectives (rêve!)

### Nanorobots : thérapies ciblées

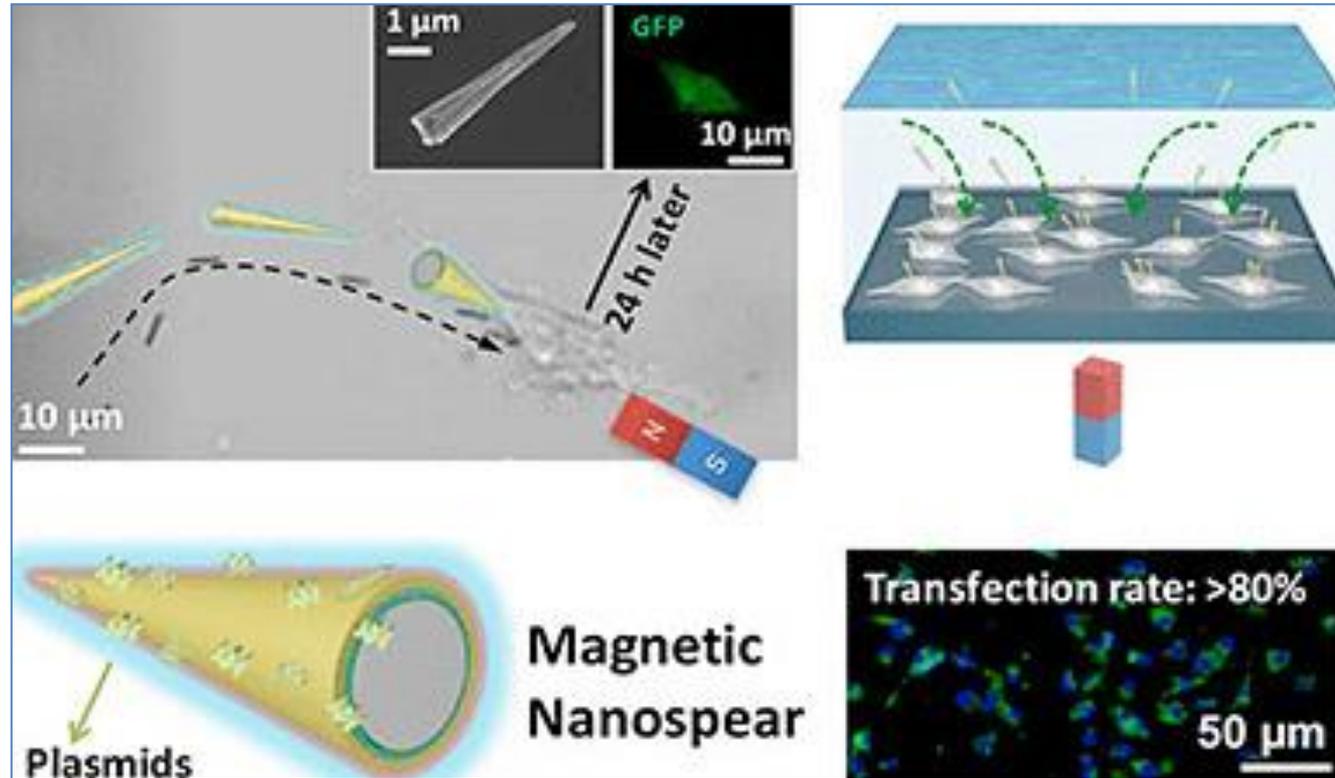
**Problèmes** : guidage et mobilité (champ magnétique, lumière...  
/ immunité (destruction) / aggrégation



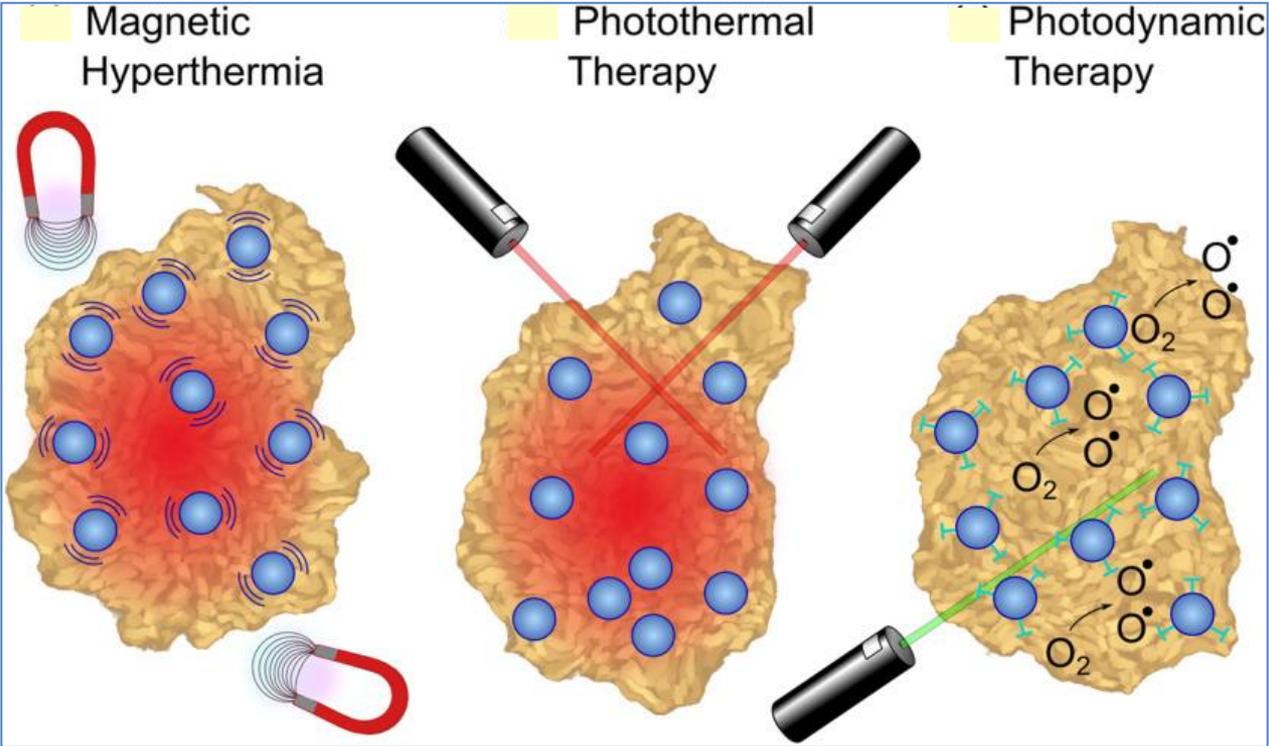
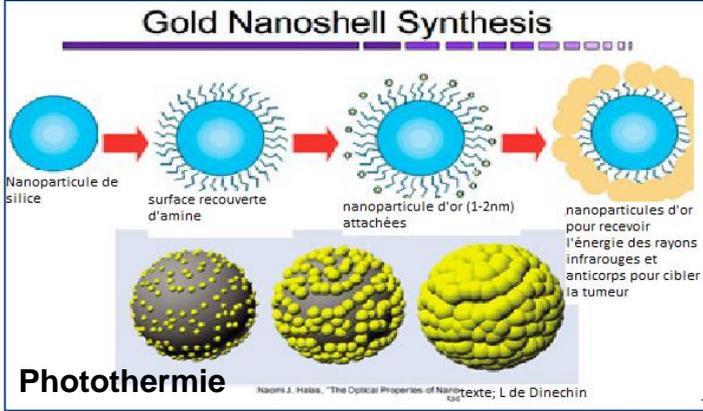
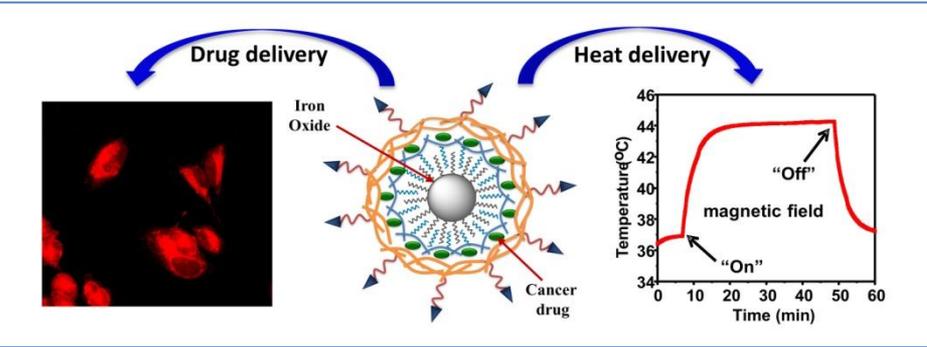
phage

- Microrobotique
- Nanorobots connectés

# Nanotechnology : nanorobots actuels (expérimentation in vitro)

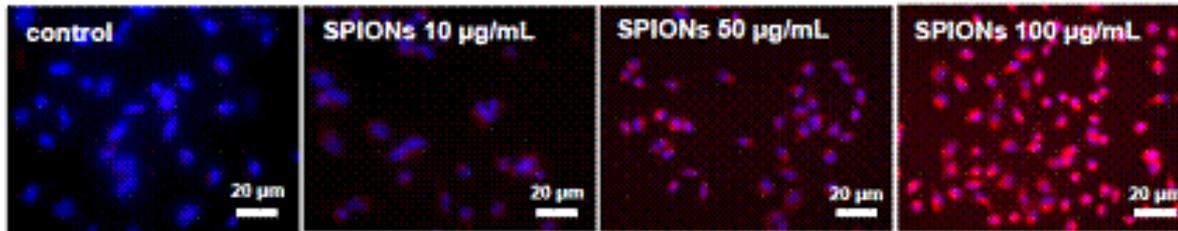


# Nanotechnologie : nanorobots actuels (expérimentation in vitro et in vivo)

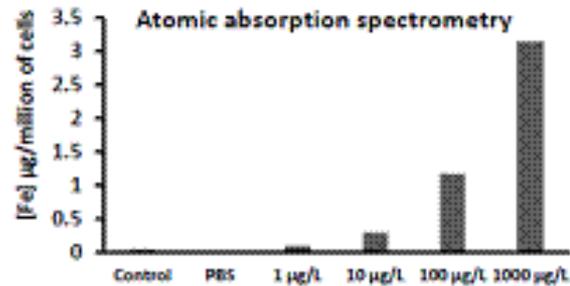
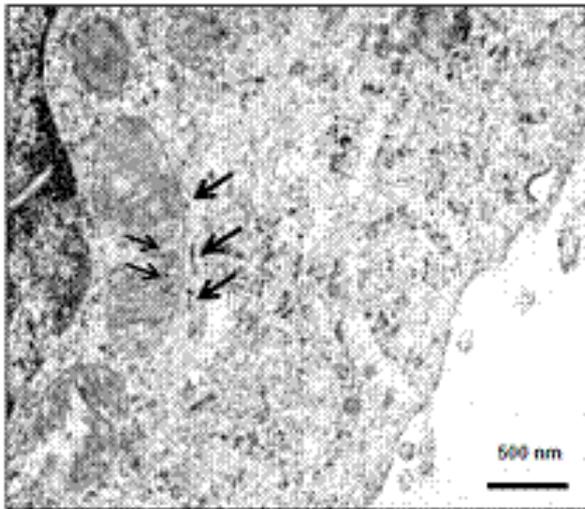


# Nanotechnologie : nanorobots actuels – étape 1 ciblage in vitro

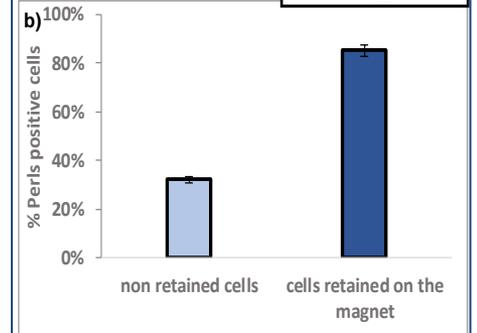
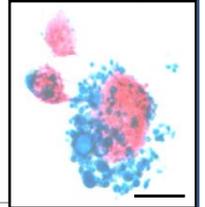
## Confocal microscopy



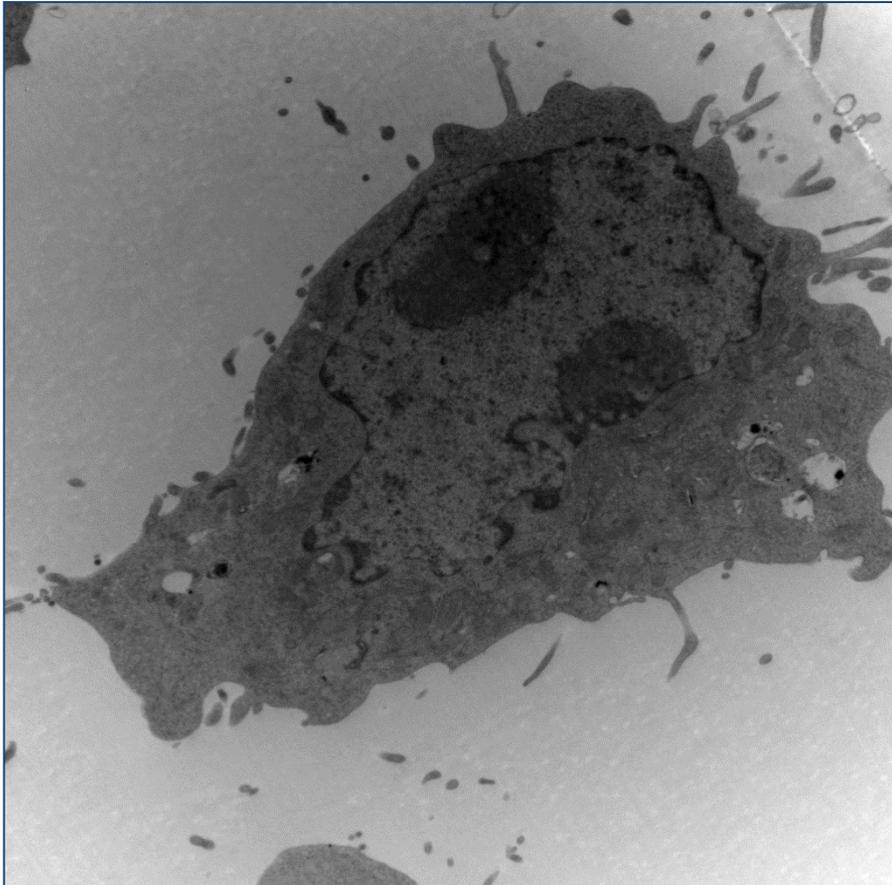
## Transmission electron microscopy



a) Aspect of cells retained by the magnet (fSPIONs: 50 µg<sub>Fe</sub>/mL)

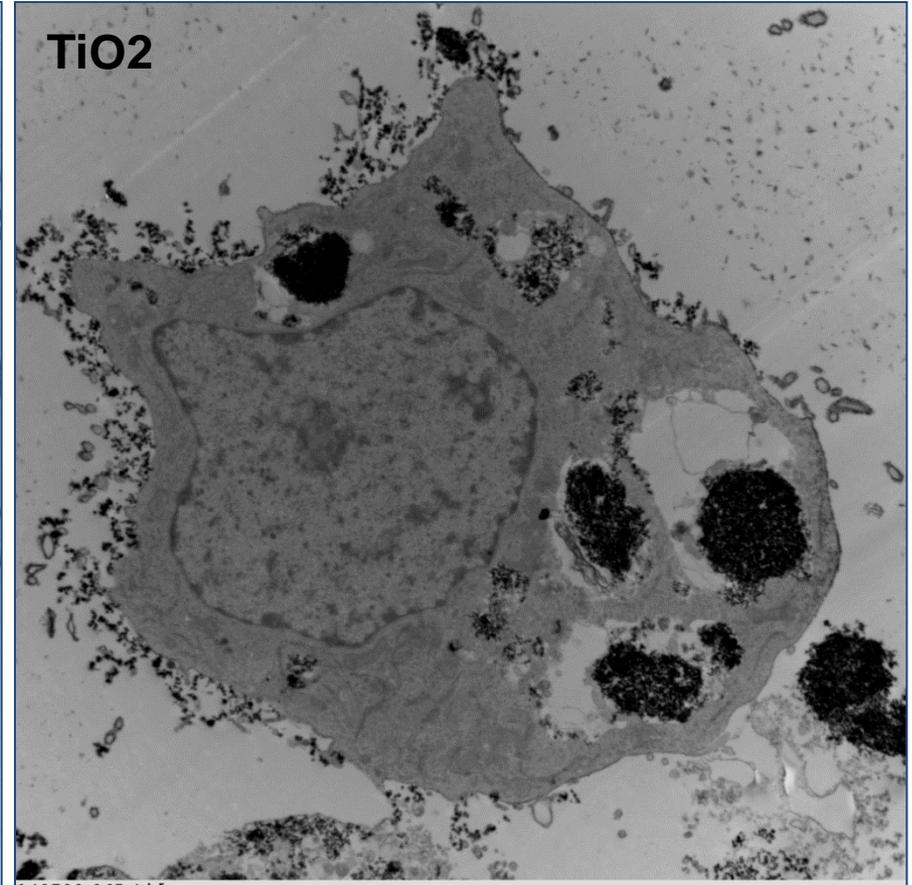


## Nanotechnologie : nanorobots actuels – étape 2 ciblage in vitro – cible(s) cellulaire(s); activité...



140722.081.tif  
BV2 Controle  
Print Mag: 8530x @ 130 mm  
15:23 07/22/14  
TEM Mode: Imaging  
Microscopist: Gasquet / CellImaP

2  $\mu$ m  
HV=80.0kV  
Direct Mag: 10000x  
INRA-CNRS Dijon



140722.065.tif  
BV2 Tio2  
Print Mag: 8530x @ 130 mm  
15:02 07/22/14  
TEM Mode: Imaging  
Microscopist: Gasquet / CellImaP

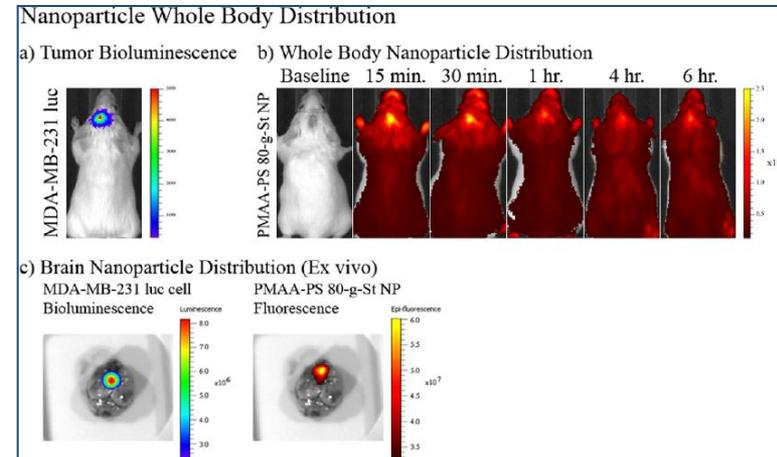
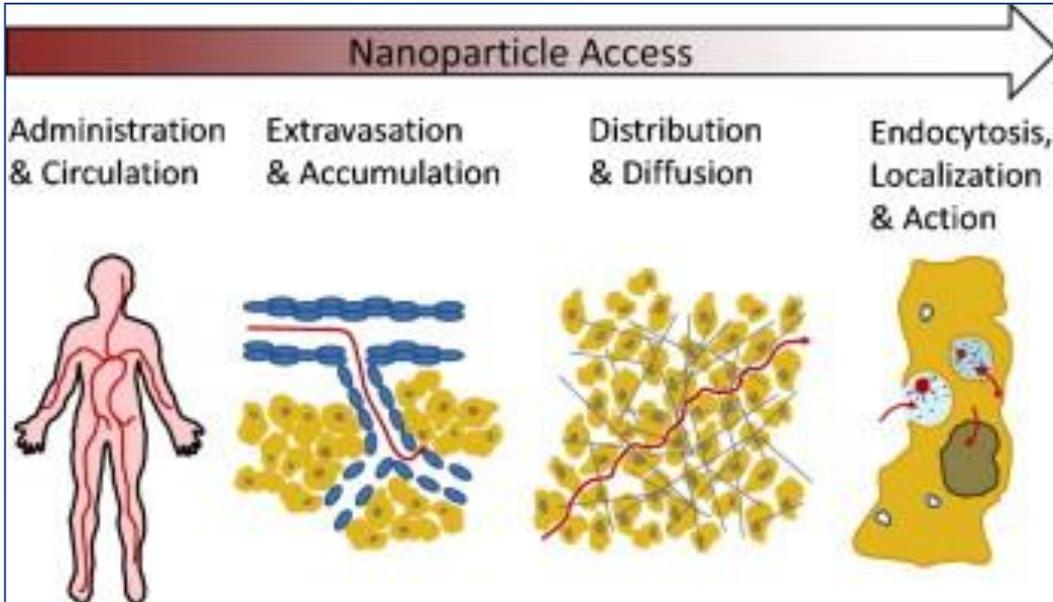
2  $\mu$ m  
HV=80.0kV  
Direct Mag: 10000x  
INRA-CNRS Dijon

Dépend des propriétés physico-chimiques des nanoparticules; **influence le comportement cellulaire (toxicité)**

Gérard LIZARD

EA 7270 , Université de Bourgogne / Inserm

# Nanotechnologie : nanorobots actuels – étape 3 ciblage tissulaire



Evaluation de la biodistribution avec des méthodes exploitant les propriétés physicochimiques des nanoparticules:

- \* Fluorescence (caméras)
- Magnétisme : IRM
- Radioactivité : TEP
- \* Etc

***Accumulation systématique et transitoire (rein, foie, vaisseaux...)***

## Ere primaire des nanorobots

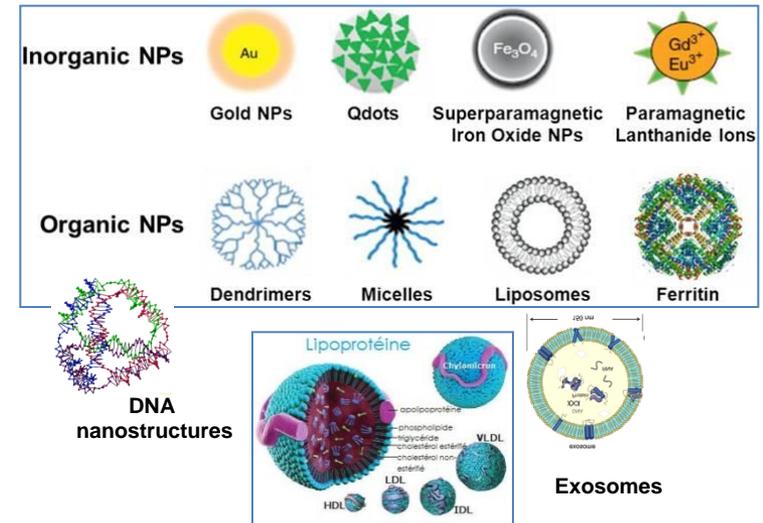
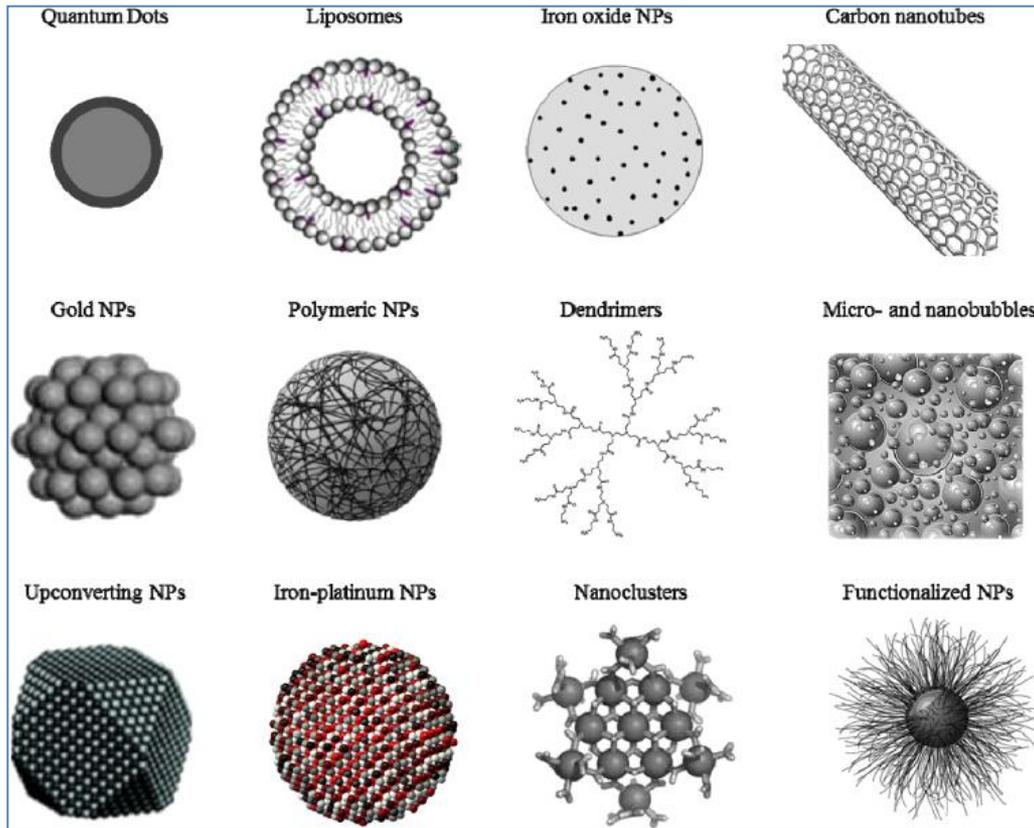
....Soyons clair, l'utilisation des nanorobots (*qui sont actuellement des nanoparticules fonctionnalisées*) n'en est qu'à ses prémices.

Si les essais sur les bactéries ou les animaux se multiplient, les essais cliniques sur l'homme se comptent sur les doigts d'une main....

...il faudra certainement plusieurs années avant qu'un traitement reposant sur ces nanorobots ne soit autorisé en Europe ou aux Etats-Unis....

Levées de fonds importantes dans le domaine

# Types de nanoparticules : organiques et inorganiques



Liposomes  
1976

Polymer nanoparticles  
1989

Iron oxide nanoparticles  
1993

Diamond nanoparticles  
1995

1980

Computed Medical Imaging

1992

Lanthanide nanoparticles

1994

Dendrimer nanoparticles

Hareesh B. Nair et al., *Biochem Pharmacol.* 2010; 80(12): 1833–1843

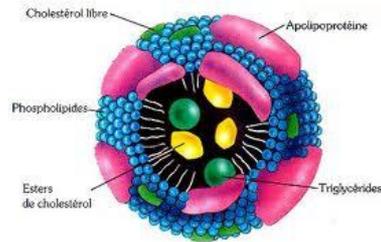
<http://www.thno.org/v04p0290.htm>

[https://en.wikipedia.org/wiki/DNA\\_nanotechnology](https://en.wikipedia.org/wiki/DNA_nanotechnology)

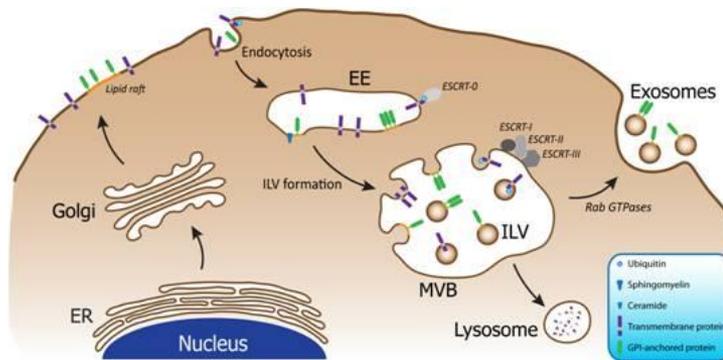
Gérard LIZARD

EA 7270 , Université de Bourgogne / Inserm

# Nanoparticules naturelles



- Lipoprotéines



- Nanovesicules (exosomes);  
pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques

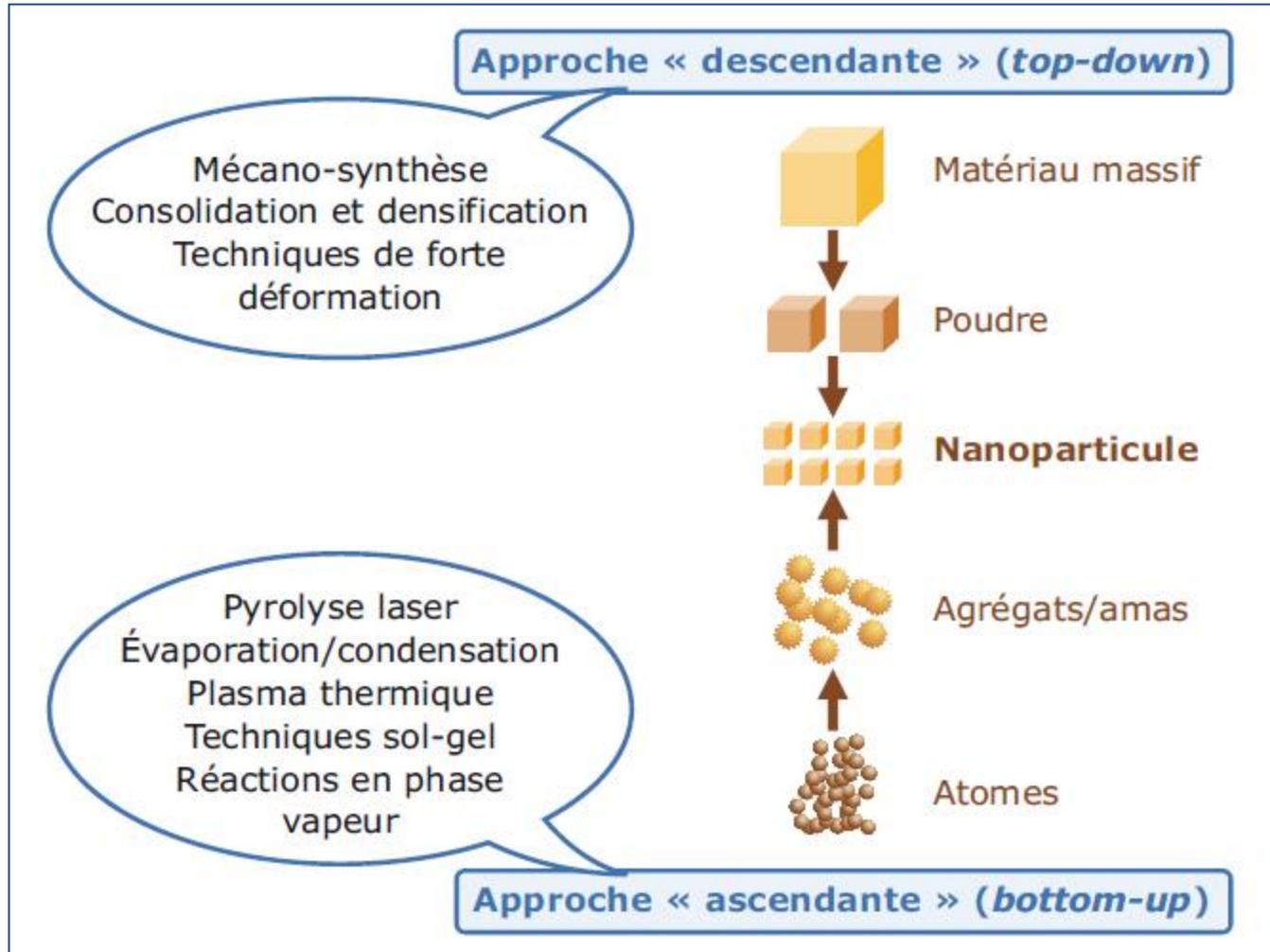
## *Possibilité de faire synthétiser des nanoparticules par des bactéries ou des levures*

On peut penser que les voies d'accès utilisées par les nanoparticules naturelles pour pénétrer dans la cellule peuvent aussi l'être pour les nanoparticules artificielles:

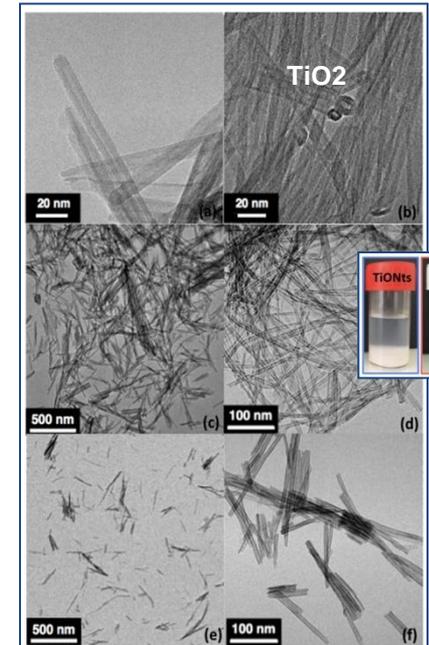
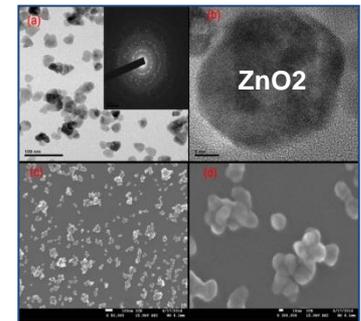
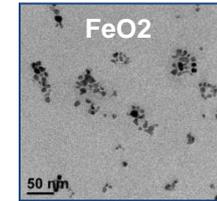
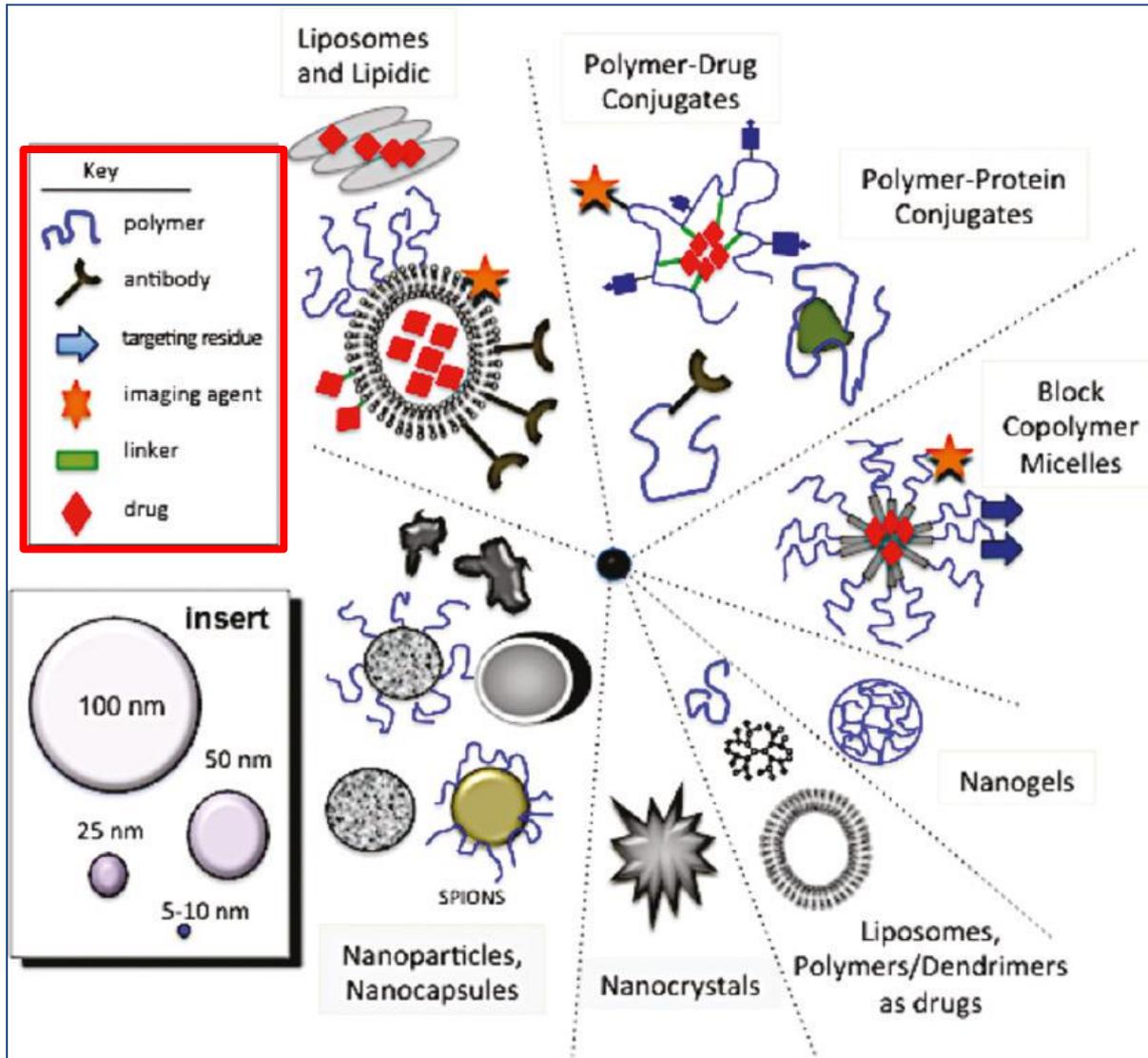
- **Avantages:** utiliser ces voies en pharmacologie (fins thérapeutiques), imagerie (Théranostic)...

- **Inconvénients (DANGER):** accumulation de nanoparticules indésirables dans les cellules

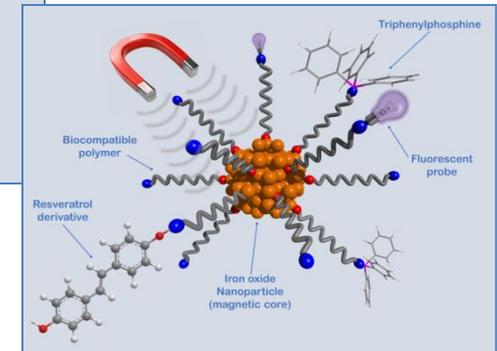
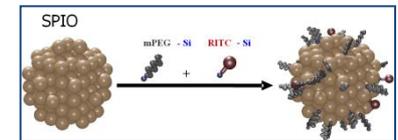
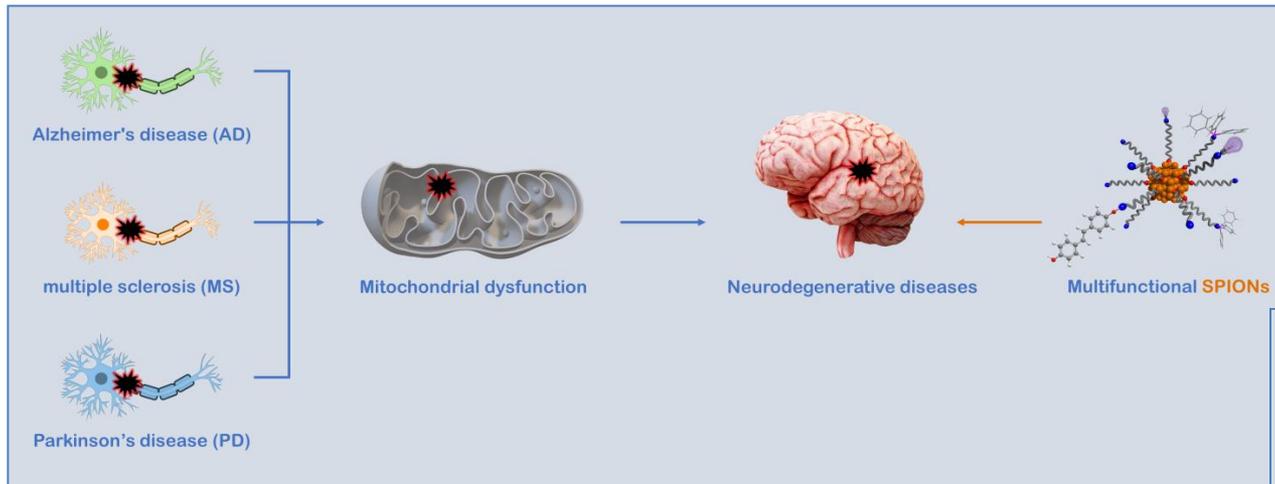
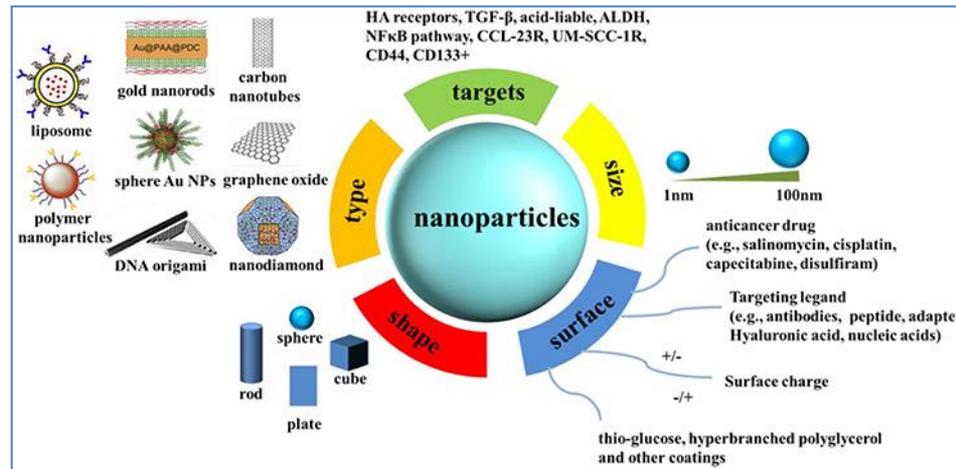
# Nanoparticules naturelles



# Fonctionnalisation des nanoparticules



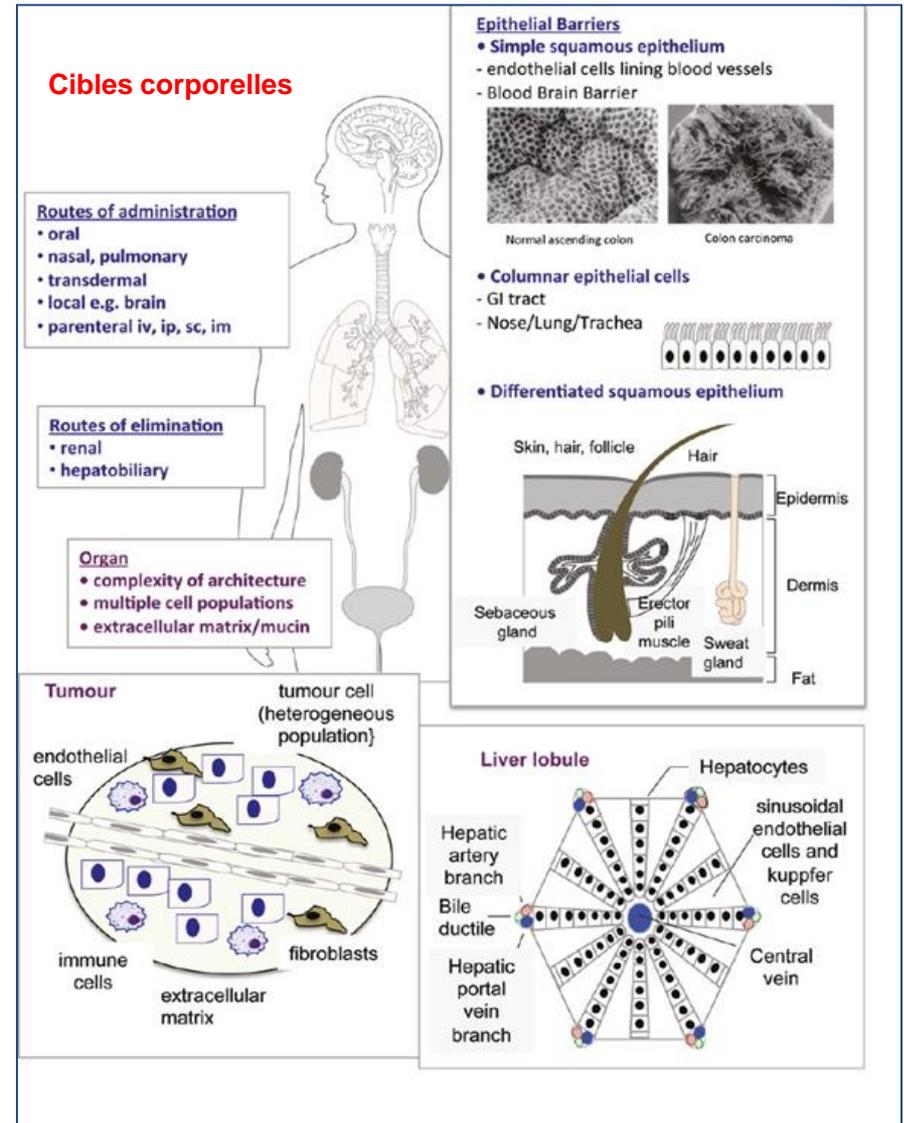
# Fonctionnalisation des nanoparticules



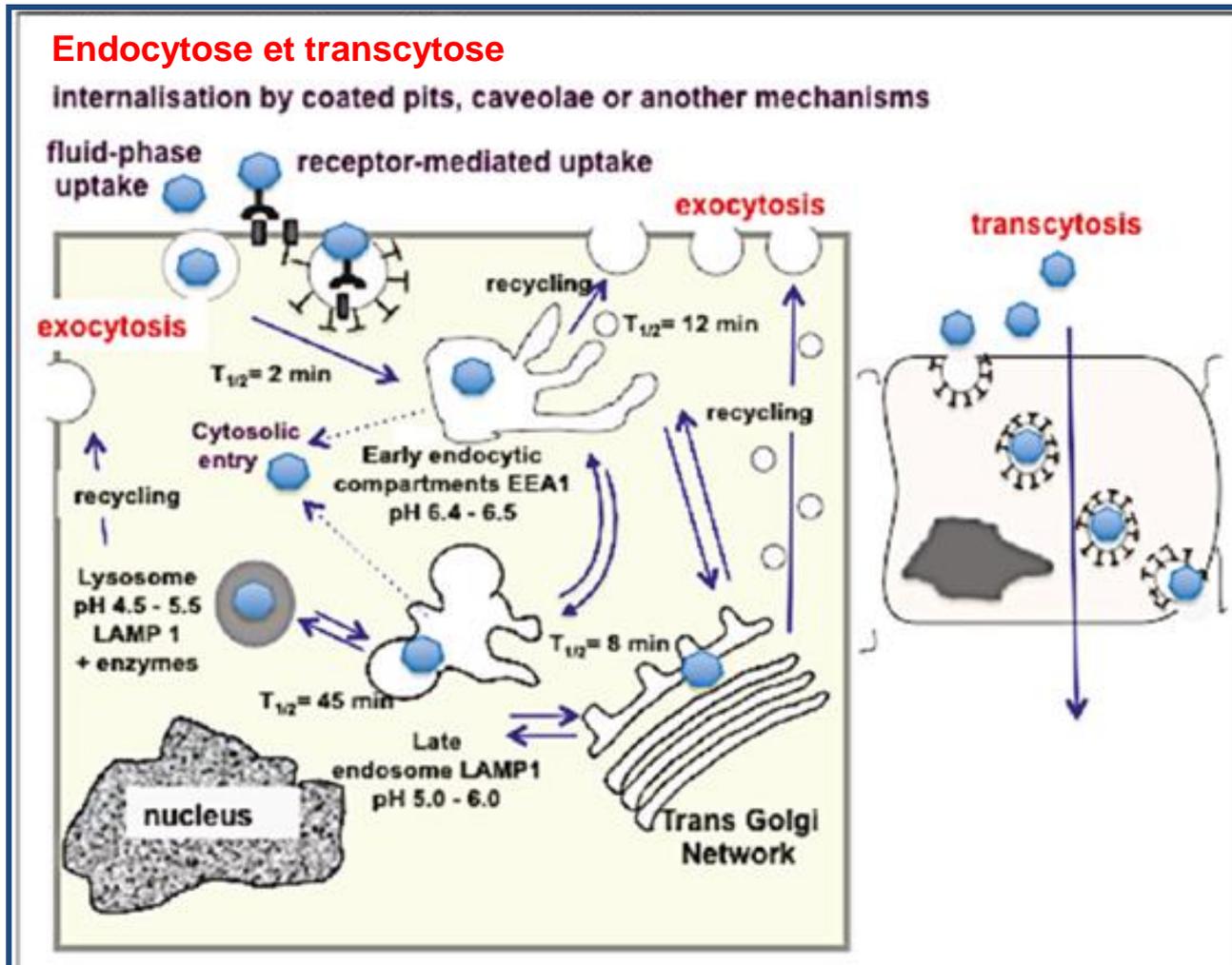
**Concept of the project Targeted ORganelle Nano-Therapy (TORN-therapy):** peroxisomal and mitochondrial targeting with multifunctional SPIONs for the treatments of neurodegenerative diseases (Alzheimer's disease (AD), Multiple Sclerosis (MS) and Parkinson's disease (PD)) (*Gérard Lizard / Nadine Millot; UBFC, Inserm, CNRS*).

# Cibles corporelles des nanoparticules

- Cibles **externes** ou **internes** (nanodiffusion)
- Cibles **aspécifiques** ou **spécifiques**
- Clearance (élimination) *hépatique, rénale*



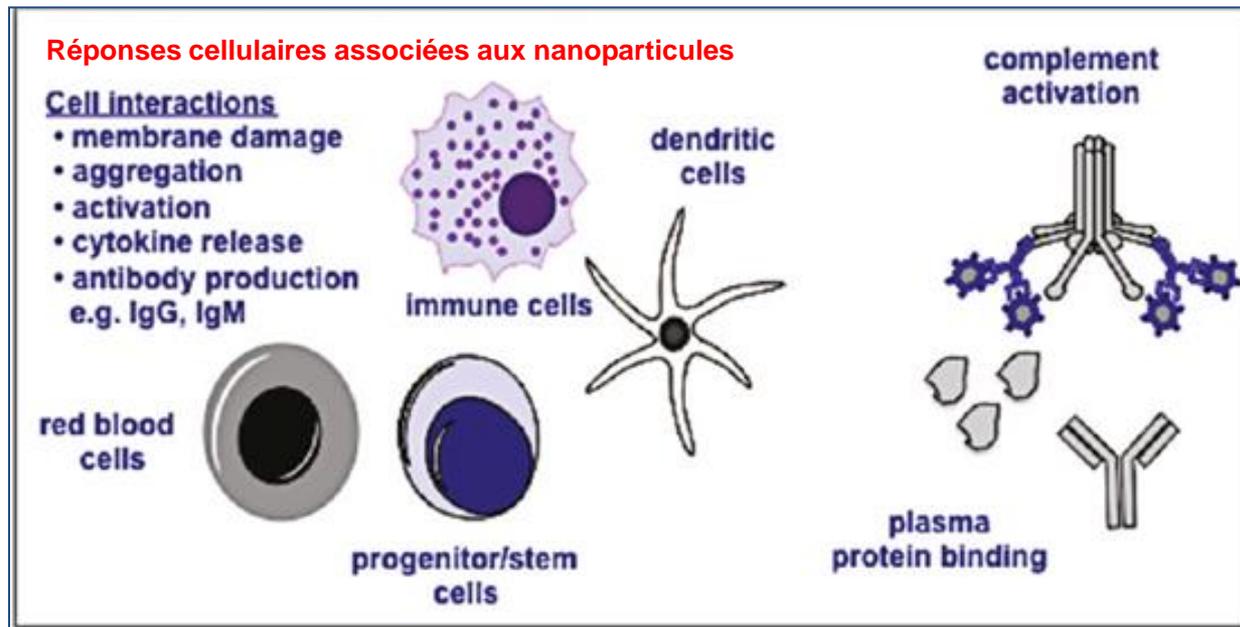
# Voies d'entrées des nanoparticules dans l'organisme



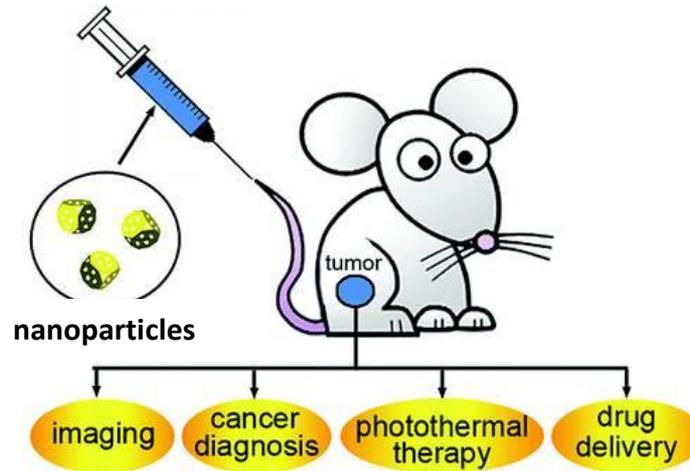
Un tissu étant un ensemble de cellules, ce qui se passe au niveau cellulaire, va permettre de comprendre et d'anticiper ce qui se peut arriver au niveau d'un tissu et d'un organe .

# Activités biologiques des nanoparticules

- Effets recherchés et attendus
- Effets indésirables

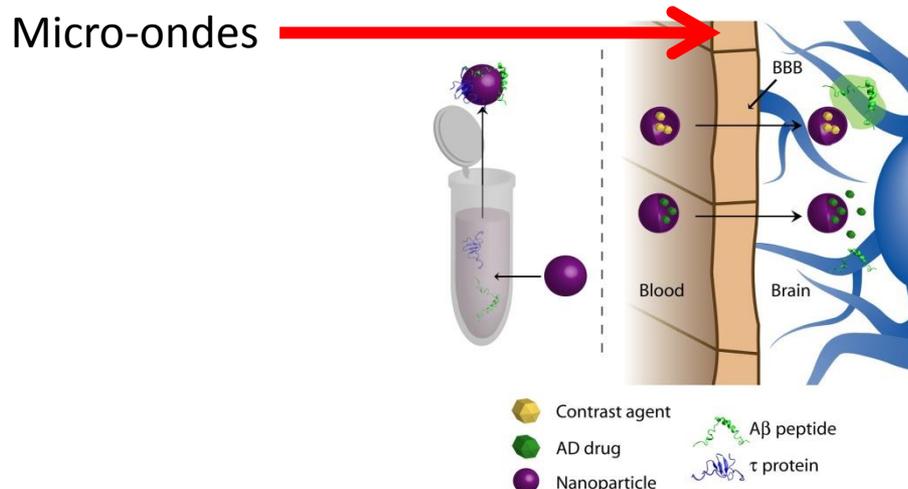


# Bénéfices attendus des nanoparticules en santé humaine

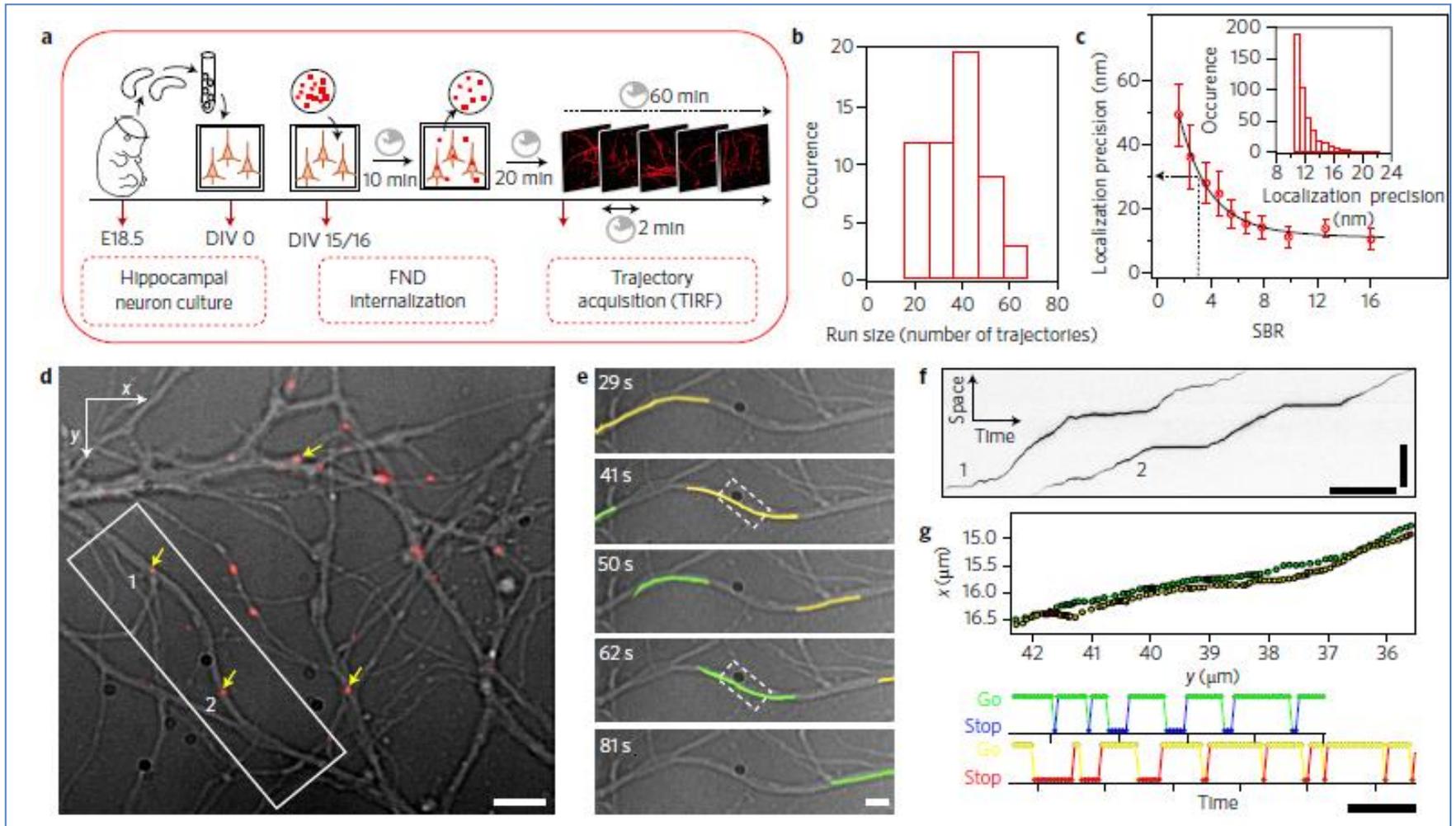


## - Thérapies ciblées

- **Imagerie** : Alzheimer; visualisation des plaques amyloïdes et de la protéines Tau-P



# Fonctionnalité neuronale et communication inter-neurones (nanodiamants)



### - Risques équivoques et multifactoriels

❑ **les risques pour la santé seraient non négligeables**, quelle que soit la voie de pénétration : voies respiratoire, cutanée, digestive ou par inhalation, les particules ultra-fines pourraient se retrouver directement au contact du cerveau, par cette dernière voie.

- âge
- état du sujet (malades : maladies respiratoires, allergies, .....; femme enceintes: certaines nanoparticules passent la barrière placentaire)
- facteurs intrinsèques (taux de cholestérol, stress oxydant...)
- facteurs extrinsèques (environnement : ondes électromagnétiques)
- Incidence des nanoparticules dans la chaîne alimentaire

# Incidence de facteurs intrinsèques sur la toxicité de nanoparticules

## Iron nanoparticles increase 7-ketocholesterol-induced cell death, inflammation, and oxidation on murine cardiac HLI-NB cells

**Table I** Evaluation of the cytotoxic, pro-inflammatory, and pro-oxidative effects of iron nanobeads associated or not with 7-ketocholesterol on murine cardiomyocytes HLI-NB

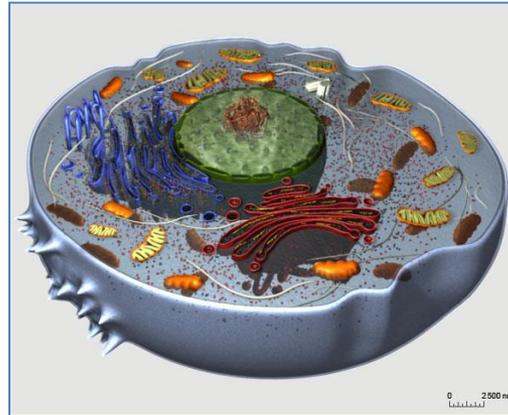
Assays	Control	Iron nanoparticles	7KC	7KC + iron nanoparticles
% SYTOX Green positive cells	11 ± 2	9 ± 1	51 ± 6*	61 ± 6**
LDH (U/L)	328 ± 1	346 ± 9*	348 ± 8*	353 ± 7
IL-8 (pg/mL)	16.0 ± 5.4	25.0 ± 10.0	16.0 ± 5.0	32.0 ± 10.0**
MCP-1 (pg/mL)	16.0 ± 5.0	15.0 ± 14.0	17.0 ± 5.0	16.0 ± 10.0
MFI of HE positive cells	15 ± 1	12 ± 1	20 ± 1*	25 ± 1**

**Notes:** Murine cardiac HL-1NB cells were cultured in the absence (control) or in the presence of iron nanoparticles associated or not with 7-ketocholesterol (7KC) for 30 h. At the end of the incubation time, the cytotoxic, pro-inflammatory and oxidative effects were evaluated by various methods: determination of the percentages of SYTOX Green positive cells (dead cells) by flow cytometry; quantification of LDH release in the culture medium; quantification by ELISA of the secretion of IL-8 and MCP-1 in the culture medium; measurement of the mean fluorescence intensity (MFI) of hydroethidine (HE) positive cells by flow cytometry. Data are mean ± standard deviation of three independent experiments. Significance of the differences between control and iron nanoparticles or 7KC-treated cells (\* $P < 0.05$ ); 7KC and (7KC + iron nanoparticles)-treated cells (\*\* $P < 0.05$ ).

## Nanoparticules: génotoxicité ... et autres

### Génotoxicité (noyau/ADN)

- ✓ Risques sur le développement embryonnaire
- ✓ Risques de cancers



### Stress oxydant; Inflammation (membrane plasmique)

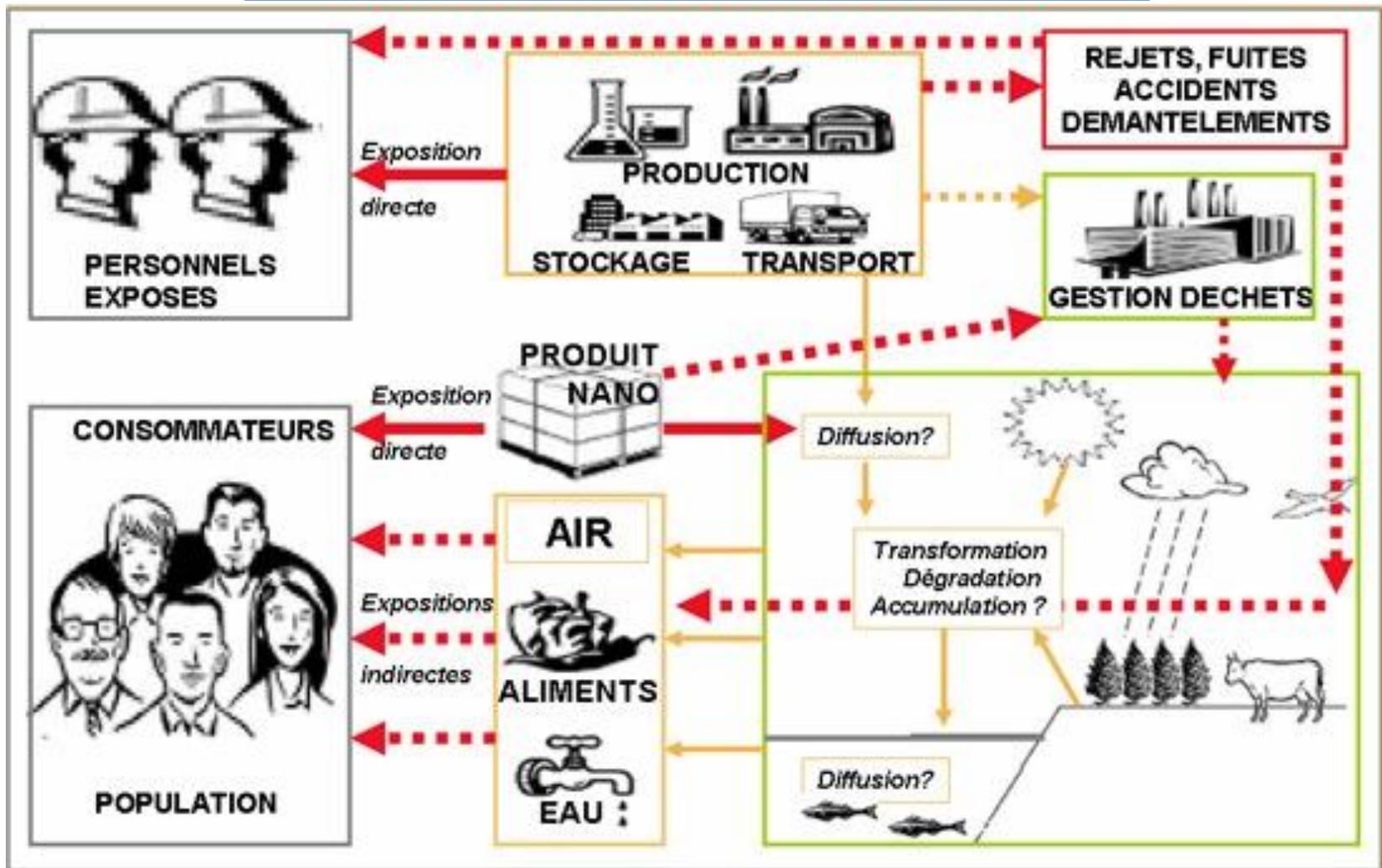
- ✓ Allergies, maladies auto-immunes

### Dysfonctionnement des organites

(mitochondrie, peroxyosome, lysosome, Appareil de Golgi, réticulum endoplasmique)

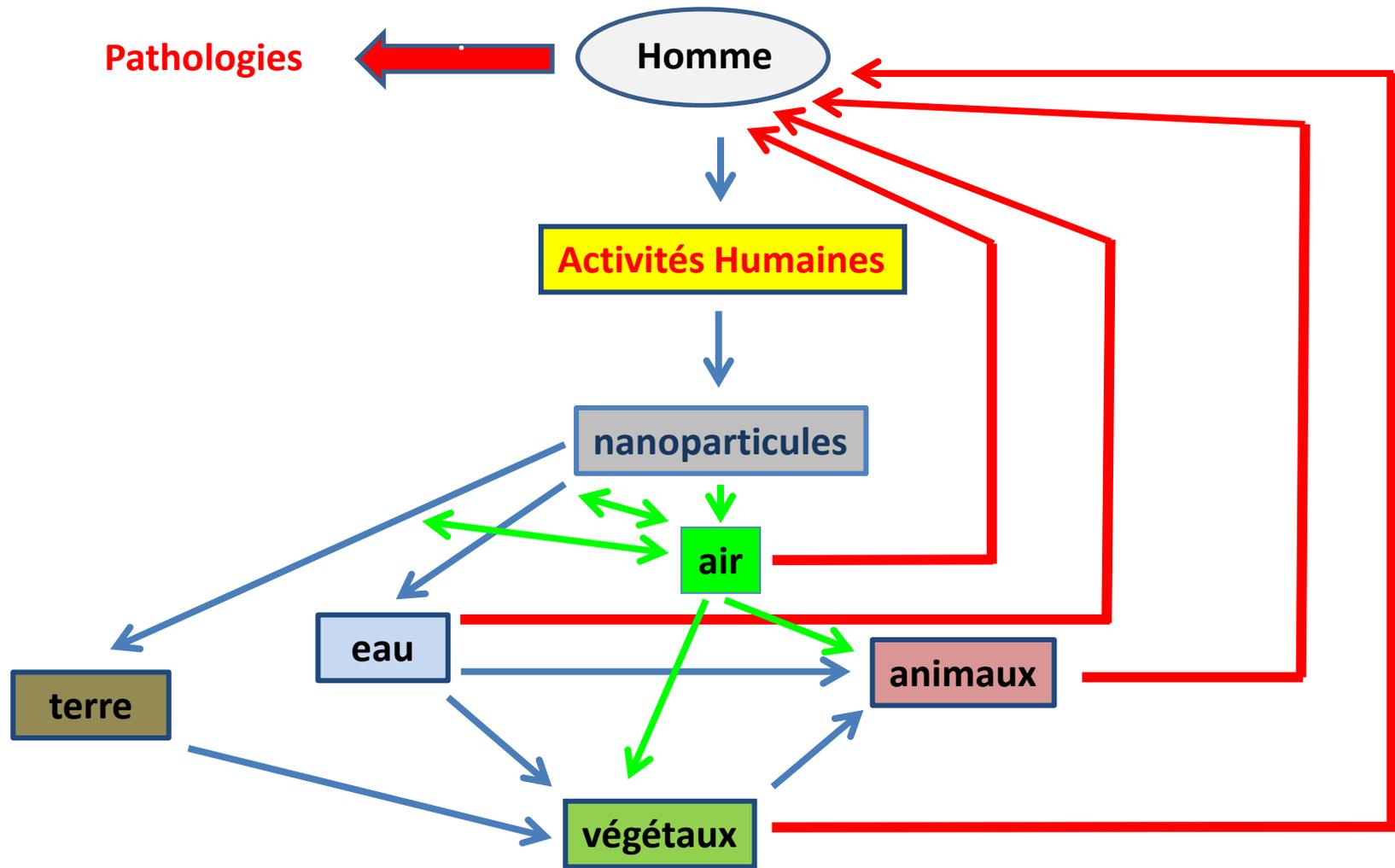
- ✓ Maladies métaboliques (+ autres)

# Risques potentiels des nanoparticules toxicité environnementale, animale, humaine



**Ces risques peuvent-ils être généralisés?**

# Risques des nanoparticules sur l'environnement et la santé humaine



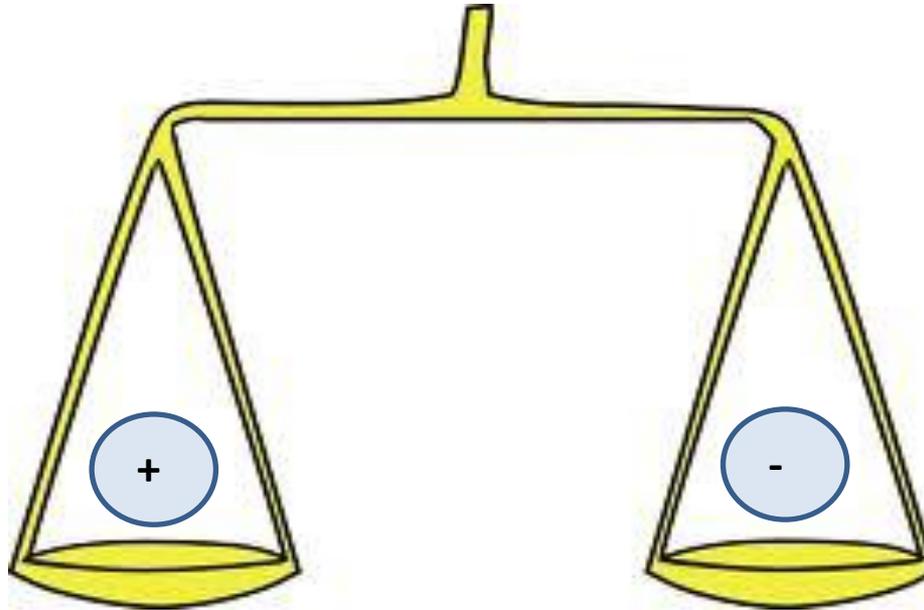
- Les interactions des nanoparticules avec l'environnement (éléments naturels (air, eau, terre), faune et flore) seront fonction de leurs caractéristiques physicochimiques,
- Pas de règles générales,
- Raisonner par types de nanoparticules.

## Aspects 'positifs' des nanoparticules sur l'environnement

- **Nouvelles sources d'énergie: nanocapteurs (téléphones portables)**
- **Traitement des eaux :**
  - ❑ **surfactants**
  - ❑ **biocapteurs**



Devenir de ces nanoparticules ? Recyclables? Biodégradables?



## **Bénéfices**

-Nano-medicine

- Thérapies ciblées
- Imagerie médicale

- Energie

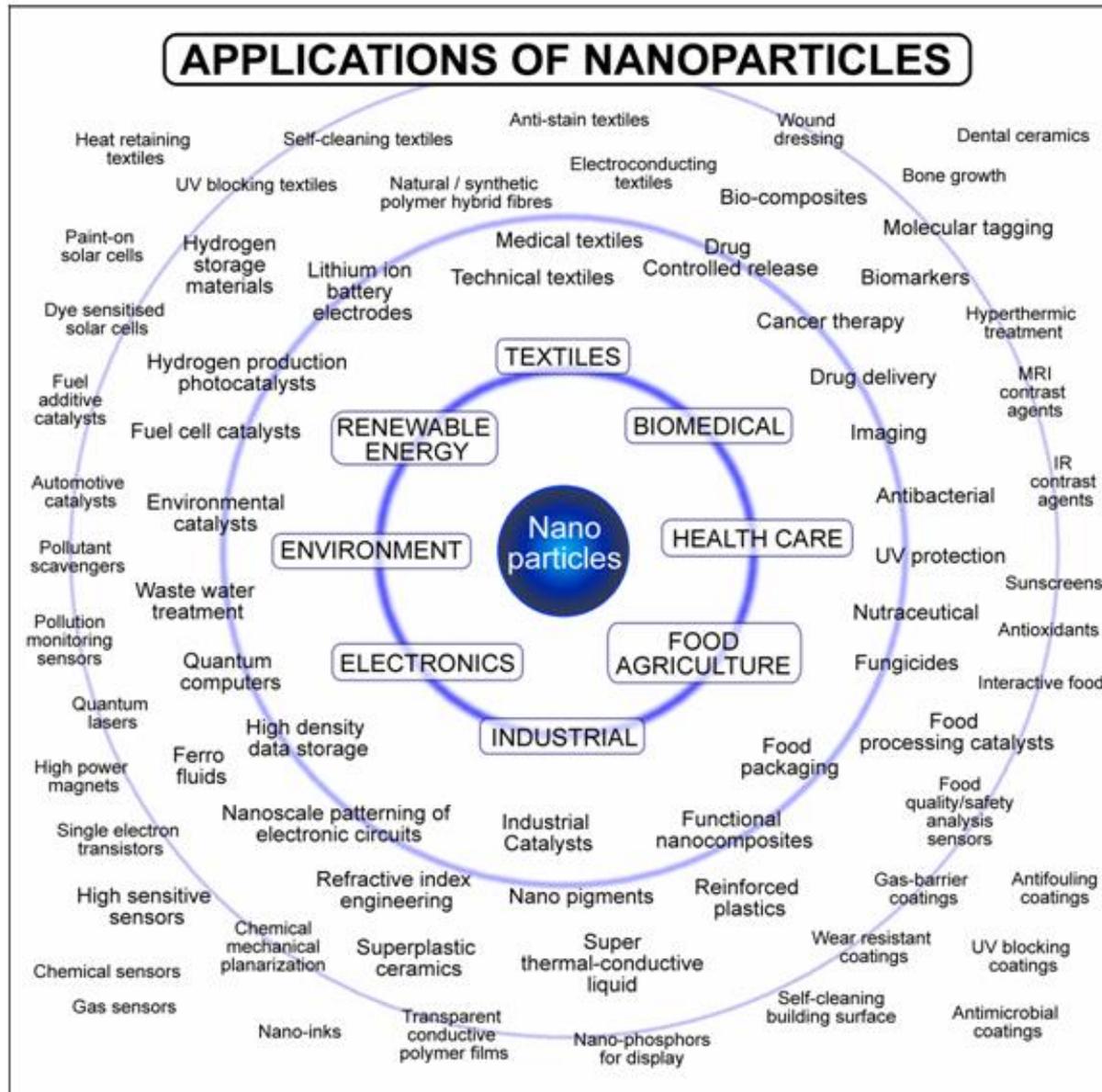
## **Risques**

- Chaine alimentaire

- Activation ou potentialisation de pathologies

**A évaluer en fonction des propriétés physicochimiques des nanoparticules considérées**

# Domaines d'Applications des Nanoparticules – Déjà dans le nanomonde



## Sécurité et nanoparticules



**(Institut National de Recherche et de Sécurité)** Aucune réglementation spécifique ne régit actuellement la manipulation de nanomatériaux en France. Les principes généraux relatifs à la protection de la santé des salariés demeurent applicables, ainsi que les textes consacrés à la mise sur le marché des substances chimiques, des médicaments, des produits cosmétiques ou des aliments.

<http://www.inrs.fr/risques/nanomateriaux/reglementation.html>



### Nanoparticules : vers une définition européenne consolidée...?

- ✓ **L'obligation d'étiquetage n'est pas respectée**
- ✓ **Une absence d'uniformité dans les informations transmises**
- ✓ **Vers des outils métrologiques performants ? (nombreuses difficultés)**

<https://www.actu-environnement.com/ae/news/nanoparticules-definition-alimentation-cosmetique-biocide-29338.php4>



## Sécurité et nanoparticules

- **L'existence de ces interactions suggère donc que les doses auxquelles les nanoparticules peuvent être toxiques varient certainement selon ces différents facteurs et fait que ces niveaux de doses toxiques restent à l'heure actuelle difficile à cerner. En dépit des travaux qui ont d'ores et déjà été menés et publiés, les connaissances actuelles sur la toxicité des nanoparticules restent insuffisantes et font que l'interprétation au plan du risque pour la santé humaine reste difficile à faire (Gwinn et Vallyathan, 2006; INRS, 2009).**
- **De nombreux points restent donc à améliorer concernant le comportement des nanoparticules au sein des matrices constituant les nanomatériaux, la détection et la mesure des nanoparticules dans les milieux ainsi que leur biodisponibilité au niveau des différents organes dont le cerveau. Enfin, peu de choses ont été réalisées jusqu'à présent en ce qui concerne les populations vulnérables (femme enceinte, jeune enfant, personne âgée) dont la physiologie est modifiée les rendant sans aucun doute plus sensibles à la toxicité de ces produits.**
- <https://www.anses.fr/fr>

# Enjeux

Dans le développement des nanotechnologies, cinq axes dynamiques ont été recensés par la Communauté Economique Européenne ([http://europa.eu/legislation\\_summaries/research\\_innovation/research\\_in\\_support\\_of\\_other\\_policies/i23024\\_fr.htm](http://europa.eu/legislation_summaries/research_innovation/research_in_support_of_other_policies/i23024_fr.htm)):

- la recherche et le développement,
- les infrastructures,
- l'éducation et la formation,
- l'innovation,
- la **dimension sociale**.

**Sur ce dernier point, le but est d'anticiper et d'intégrer pleinement les considérations d'ordre sociétal au processus de la recherche, en étudiant les avantages, les risques et les conséquences profondes pour la société.**

## **Nanotechnologies : les chiffres, le rêve et le mythe (Les Echos 14/07/2010)**

...nanotechnologies génèreront un marché planétaire de 1000 milliards de dollars en 2015 ! Dix millions d'emplois pourraient être créés d'ici à 2014 tandis que les produits intégrant des nanotechnologies représenteraient à terme 15 % de l'ensemble des biens commercialisés...

# Remerciements & collaborations

---

❖ Inserm

❖ CNRS

❖ Université de Bourgogne Franche –Comté

- Prof. N. Millot
- Dr F. Bouyer
- Dr L. Maurizi
- T. Nury
- Dr E. Kahn (Inserm, Paris)



❖ Université El Manar (Tunisie)

- Dr N. Ben Younes
- Dr F. Sallem



Stagiaires IUT Dijon, M1 UBFC, INSA Lyon

❖ Sree Chitra Tirunal Institute for Medical Sciences and Technology (Inde)

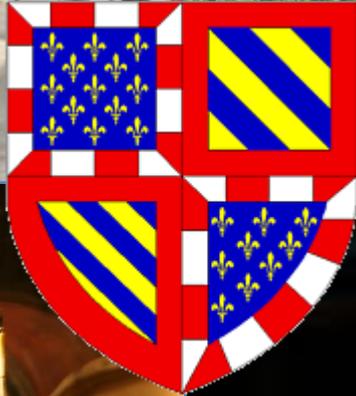
- Dr S. Sudhakaran



❖ Conseil Régional de Bourgogne

REGION  
BOURGOGNE  
FRANCHE  
COMTE

Merci pour votre attention



Soutien à la recherche  
A l'ordre Agent Comptable UB (Lab Bio-PeroxiL)  
Renseignements: [gerard.lizard@u-bourgogne.fr](mailto:gerard.lizard@u-bourgogne.fr)

