



NANOPARTICULES ET FRANCHISSEMENT DE LA BARRIÈRE INTESTINALE

interactions avec le microbiote et devenir systémique

Eric Houdeau, INRA UMR 1331 Toxalim, Toulouse

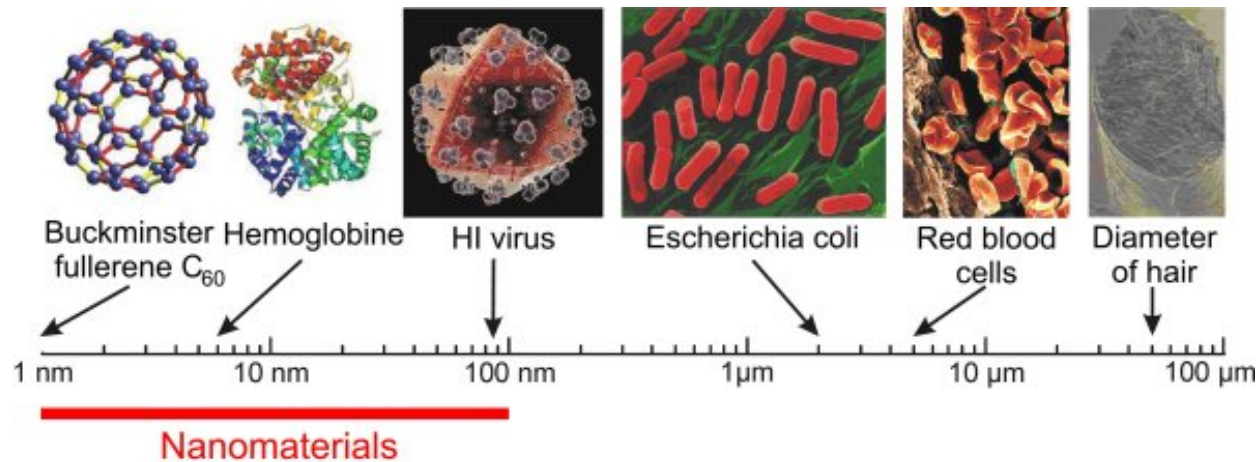
Equipe « Endocrinologie et Toxicologie de la Barrière Intestinale »

Département **Alimentation Humaine**



Qu'est-ce qu'une nanoparticule ?

Une notion d'échelle...



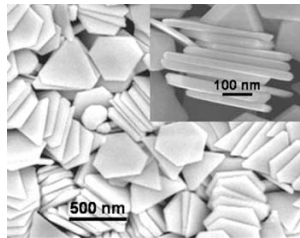
... et une limite métrologique (100 nm)

≠ d'un seuil en toxicologie !

Qu'est-ce qu'une nanoparticule ?

Trois catégories :

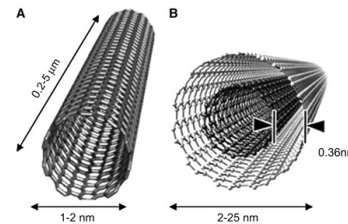
1 D



Feuillets

- argiles lamellaires (montmorillonite)

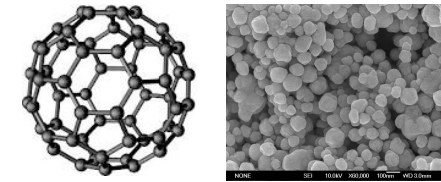
2 D



Tubes/fibres/fils

- nanotubes de carbone
- argiles circulaires
- nanocristaux de cellulose
- etc

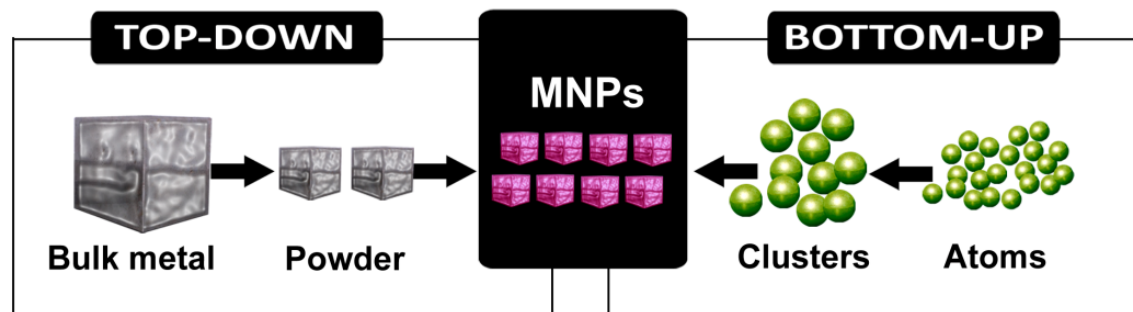
3 D



Sphères

- cages de silice
- micelles phospholipides
- nano-argent
- dioxyde de titane
- etc (SiO_2 , FeO , ZnO , ...)

Fabrication:

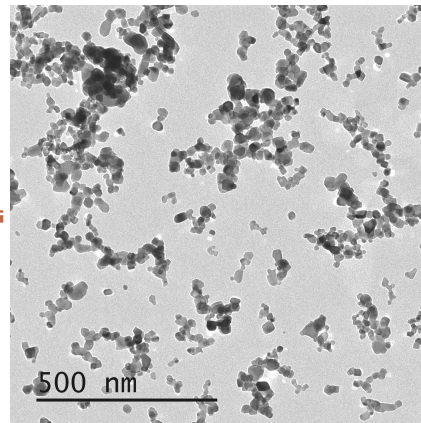


Qu'est-ce qu'un nanomatériau ?

DEFINITION DE LA COMMISSION EU du 18 octobre 2011

On entend par «nanomatériau» un **matériau naturel**, formé accidentellement **ou manufacturé** contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat, dont au moins **50 % des particules**, dans la répartition numérique par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant **entre 1 nm et 100 nm**.

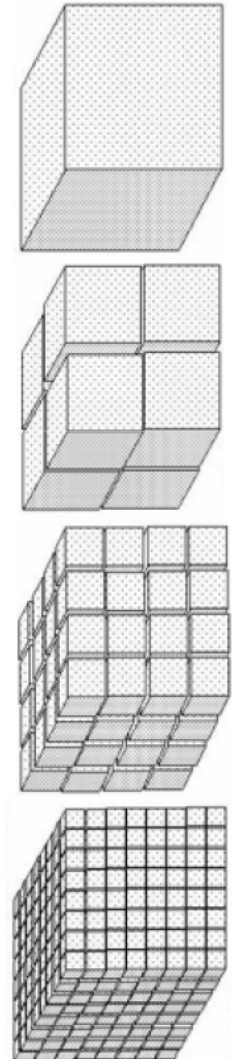
surmultiplie les interactions avec l'environnement, soit potentiellement les « **effets** »



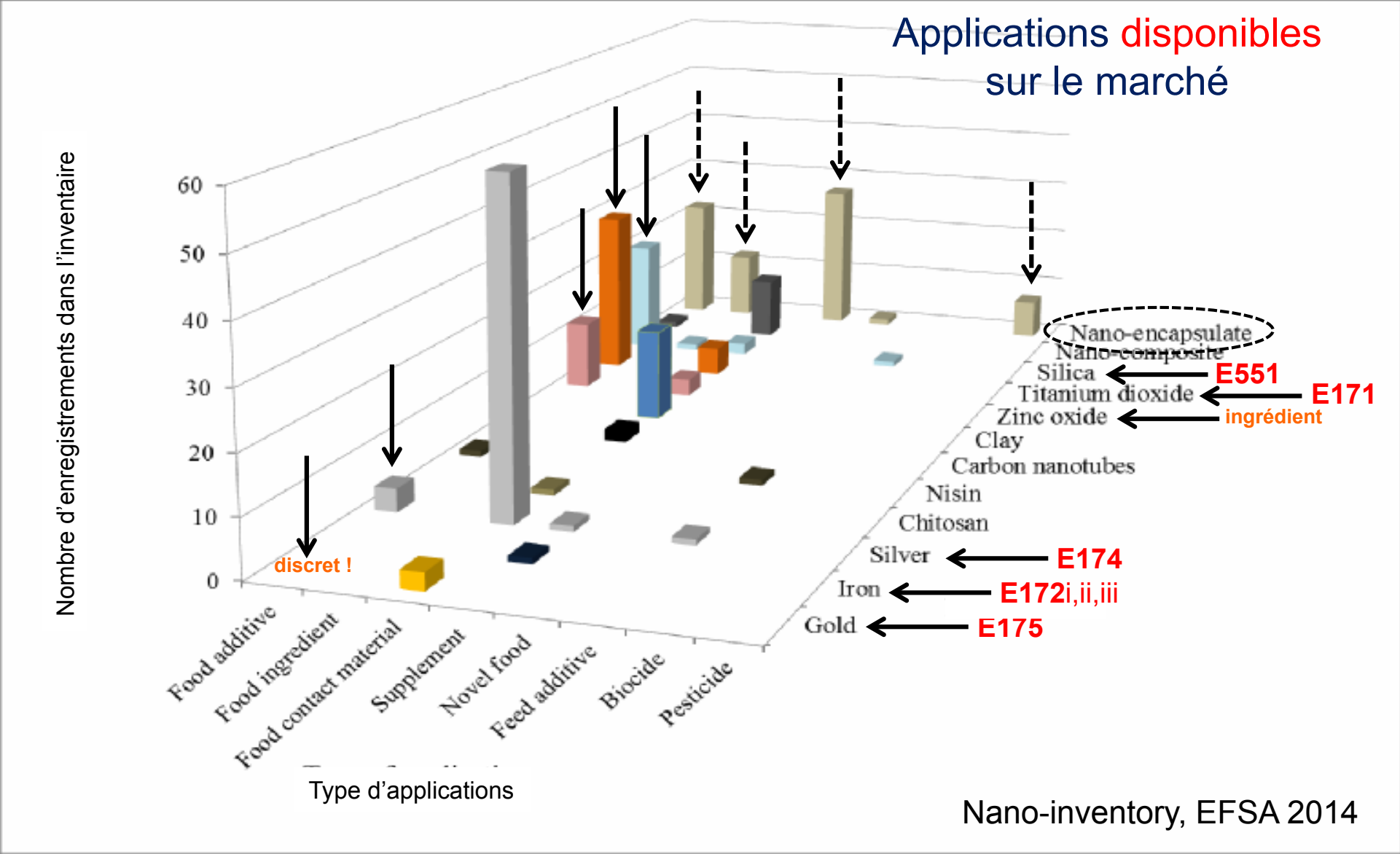
augmentation
de la surface
spécifique

i.e., surface
totale par unité
de masse

Exponential increase in surface area



Food additives



anti-agglomérants
agents de texture

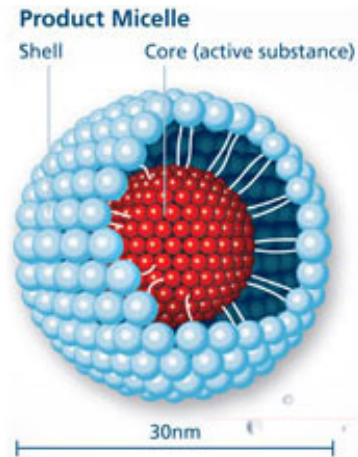
colorants
alimentaires

nouveaux ingrédients

Nano-encapsulation (nano-micelles)

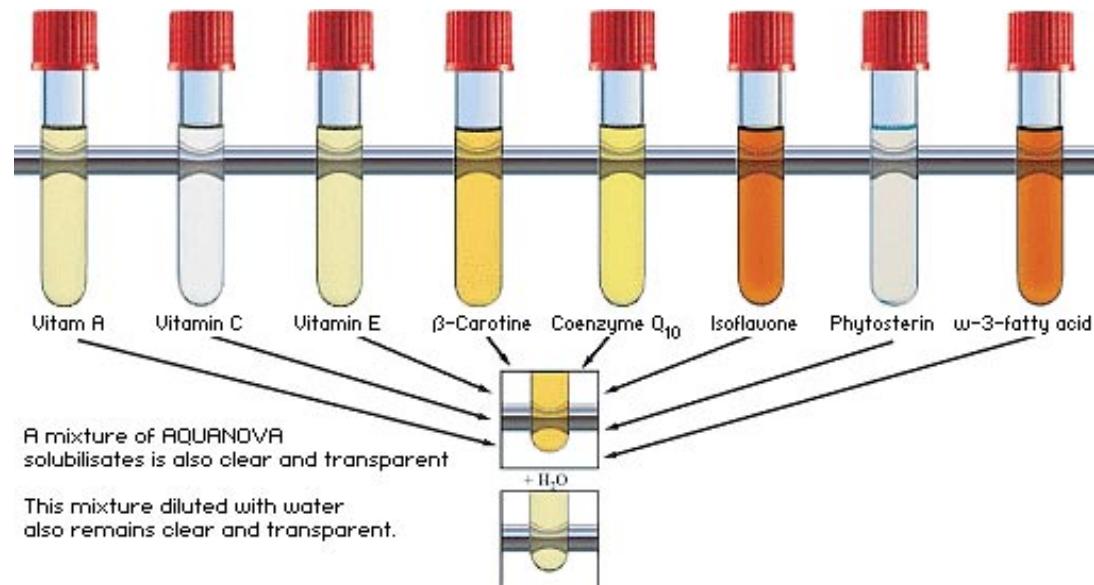
exemple d'application sur le marché

Novasol© (Aquanova)



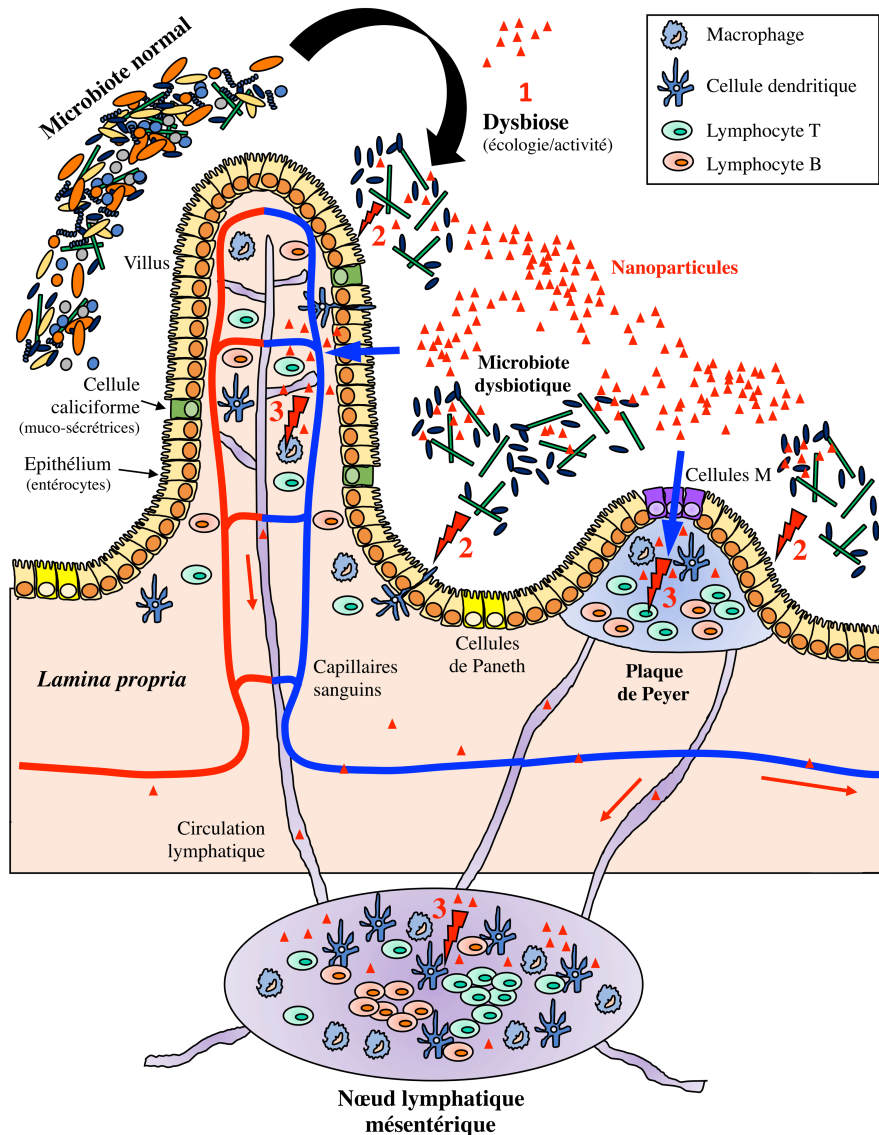
Des nanotechnologies « vraies »

- compléments alimentaires
- aliments « fonctionnels »
- boissons « innovantes »
- produits phytosanitaires



Food additives: Interactions possibles dans l'intestin

Microbiote (plus de 10^{11} micro-organismes) et GALT (Gut-Associated Lymphoid Tissue)



Axe microbiote-intestin :

- un environnement complexe,
- en interaction permanente,
- des altérations (dysbiose) sources de maladies chroniques (obésité, CRC, IBD)

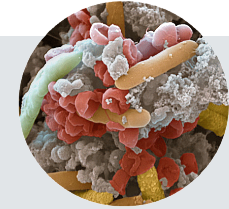
Une demande de l'EFSA :

- « There are limited data on the interactions of nanoparticles with the gut microbiome »

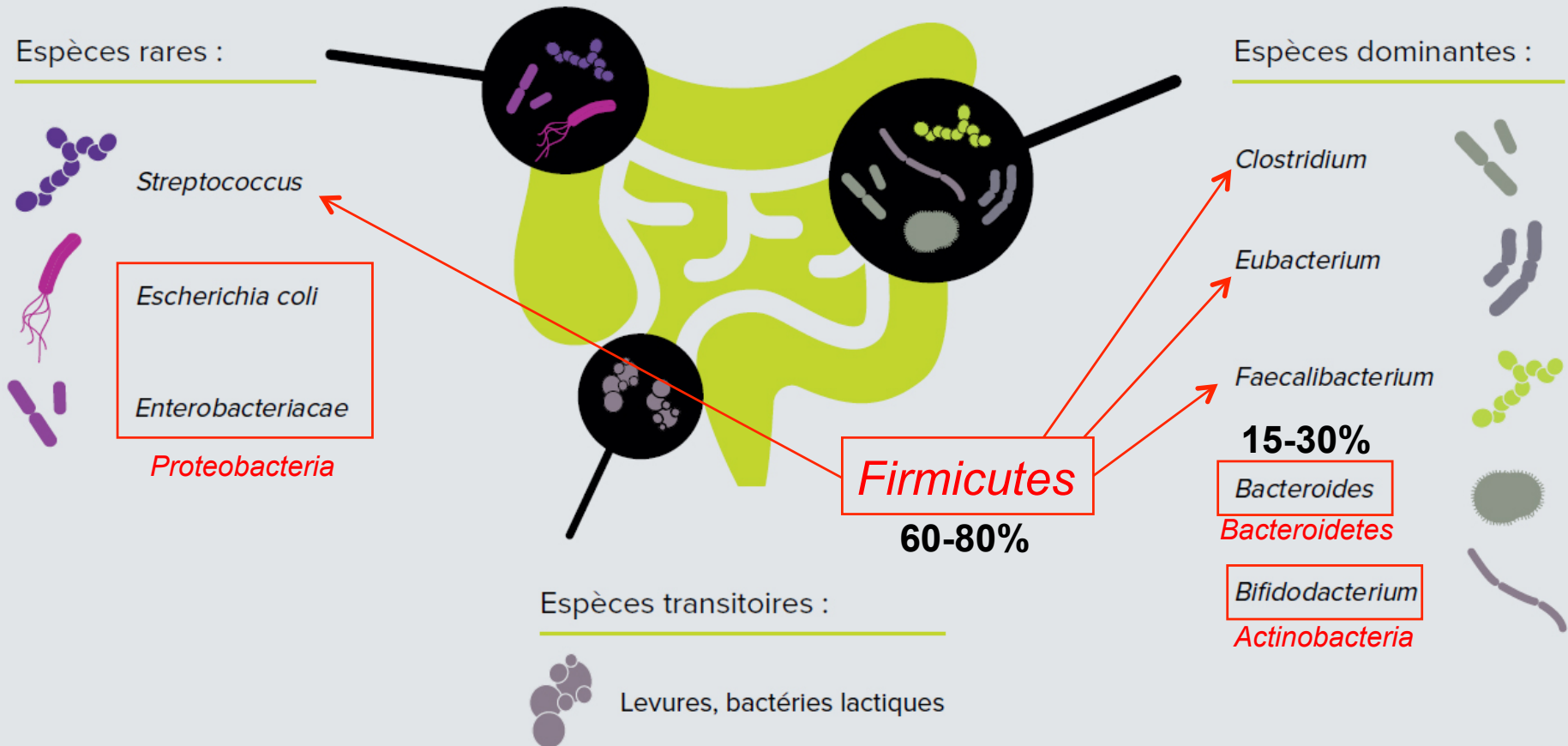
Guidance on risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain: Part 1, human and animal health
EFSA Journal 2018;16(7):5327

revue ds. Houdeau, Lamas, Lison, Pierre
Cahiers de Nutrition et de Diététique
2018, 53: 312-321

COMPOSITION DU MICROBIOTE INTÉSTINAL

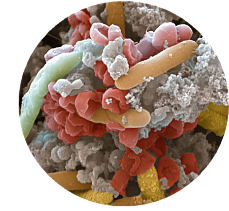


Plus de 100 000 milliards de micro-organismes habitent notre intestin !

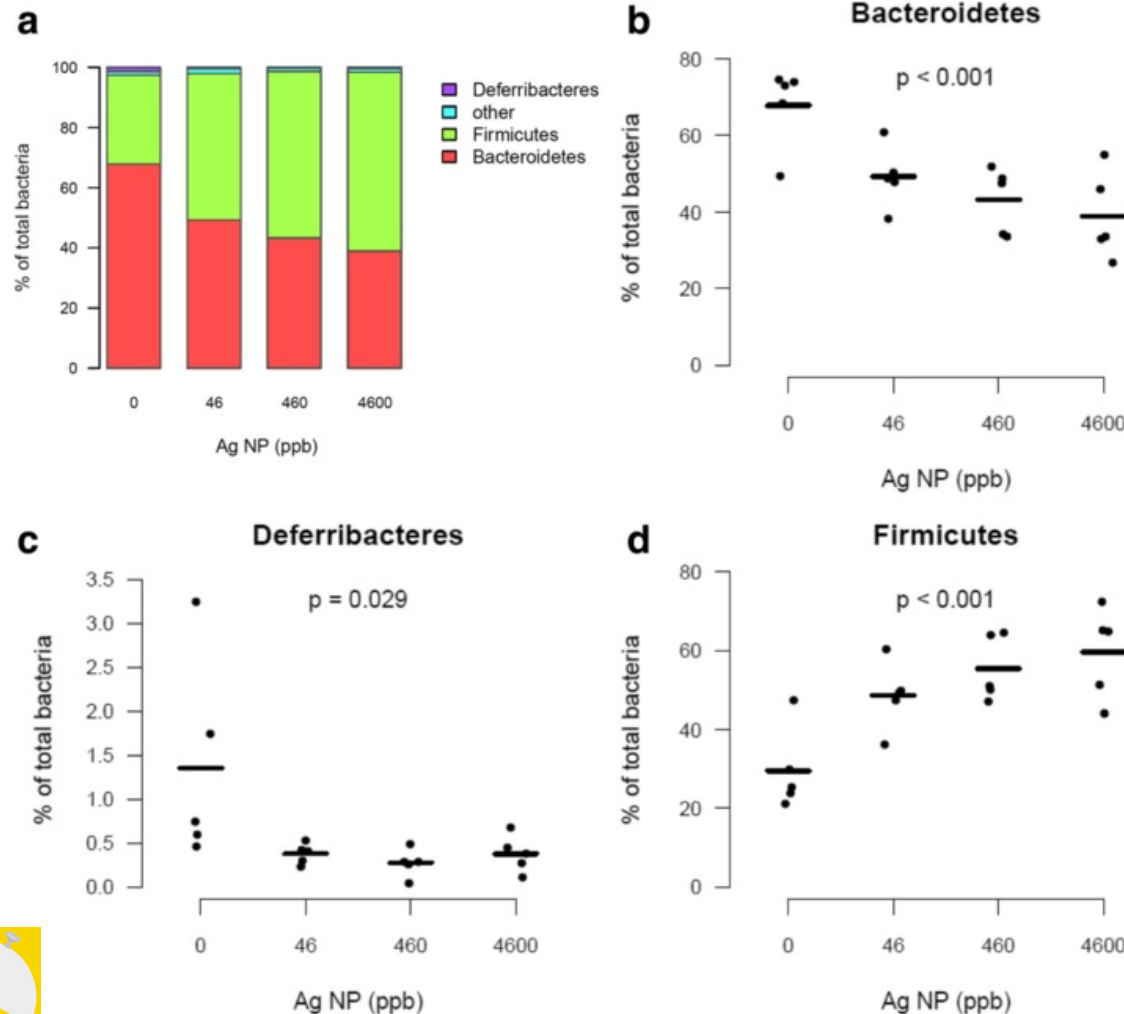


Interactions avec le microbiote intestinal

Effets biocides du nano-Ag sur la flore intestinale chez la souris



28 jours dans la nourriture,

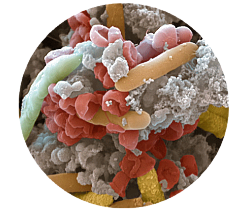


Altération dose-dépendante du ratio Firmicutes/Bactéroïdètes
van den Brule *et al* - Part Fibre Toxicol (2018) 13:38



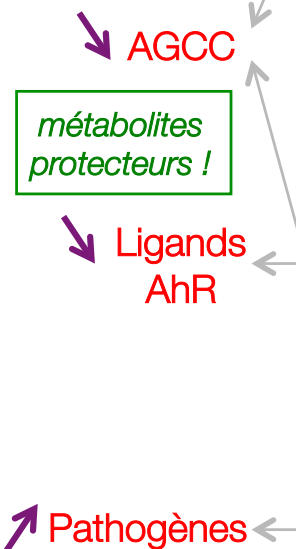
Interactions avec le microbiote intestinal

Des corrélations avec les pathologies humaines ?



revue ds. Lamas, Martins-Breyner, Houdeau en rédaction

	IBD	CRC	Obesity	ENMs effects on microbiota
Bacteroidetes	↙	↙	↙	↙ Ag-NP, TiO2, SiO2, ZnO-NP
<i>Bifidobacterium (g)</i>	↙	↙	↙	↙ Ag-NP
Firmicutes				
<i>Erysipelotrichaceae (f)</i>	↙	↗	↗	↙ TiO2
<i>Turicibacter (g)</i>	↙			↙ TiO2
<i>Lachnospiraceae (f)</i>	↙	↙	↙	↙ Ag-NP ↗ Ag-NP, SiO2
<i>Blautia (g)</i>	↙	↙	↙	
<i>Blautia faecis</i>	↙			
<i>Coprococcus (g)</i>	↙		↙	
<i>Roseburia (g)</i>	↙	↙	↙	
<i>Roseburia intestinalis</i>	↘		↗	↘ Ag-NP
<i>Roseburia inulinivorans</i>	↙			
<i>Clostridium XIVa and IV groups</i>	↙		↗	
<i>Clostridium lavalense</i>	↙			
<i>Dialister invisus</i>	↙			
<i>Enterococcus (g)</i>		↗		
<i>Eubacterium (g)</i>		↙	↙	
<i>Eubacterium rectale</i>	↙		↗	↙ Ag-NP ↗ TiO2
<i>Eubacterium ventriosum</i>	↙		↗	↗ TiO2
<i>Faecalibacterium (g)</i>	↙	↙	↙	
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	↘	↘	↘	↘ Ag-NP
<i>Lactobacillus (sp)</i>	↘		↘	↘ Ag-NP, TiO2, SiO2, ZnO-NP
<i>Oscillospira (g)</i>			↙	↙ Ag-NP, ZnO-NP
<i>Ruminococcus gnavus</i>	↗			
<i>Ruminococcus torques</i>	↙			↙ Ag-NP
<i>Streptococcus (g)</i>		↗		↗ ZnO-NP
Proteobacteria				
<i>Enterobacteriaceae (f)</i>	↗	↗	↗	↗ TiO2, SiO2, ZnO-NP
<i>Escherichia coli</i>	↗	↗		↗ Ag-NP
<i>Shigella (sp)</i>	↗	↗		↗ TiO2
<i>Sutterella (g)</i>			↗	↗ TiO2
<i>Listeria (sp)</i>	↗			

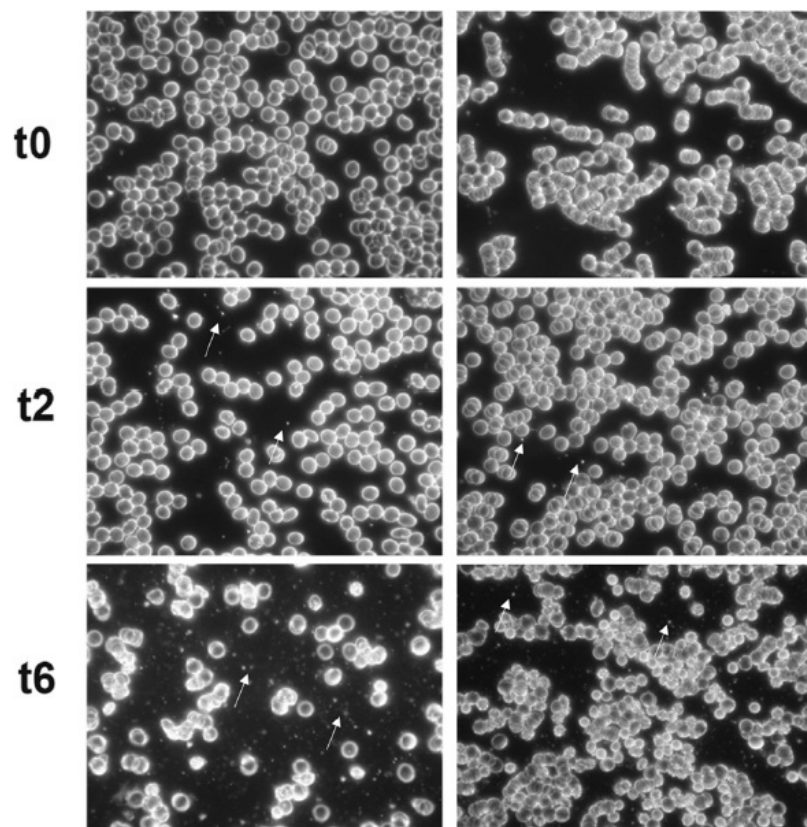




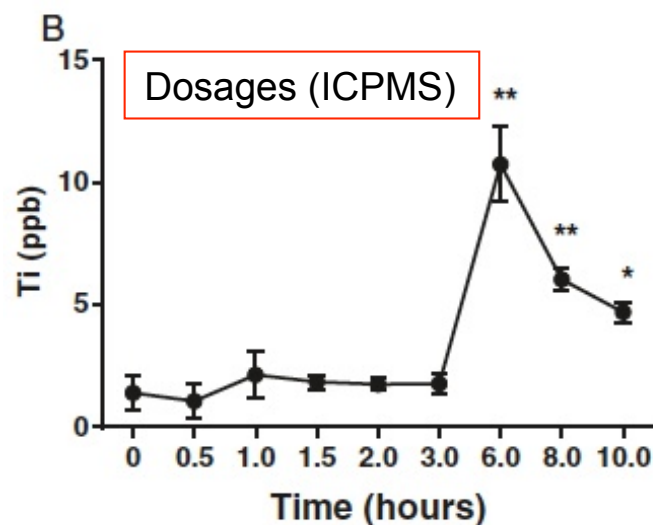
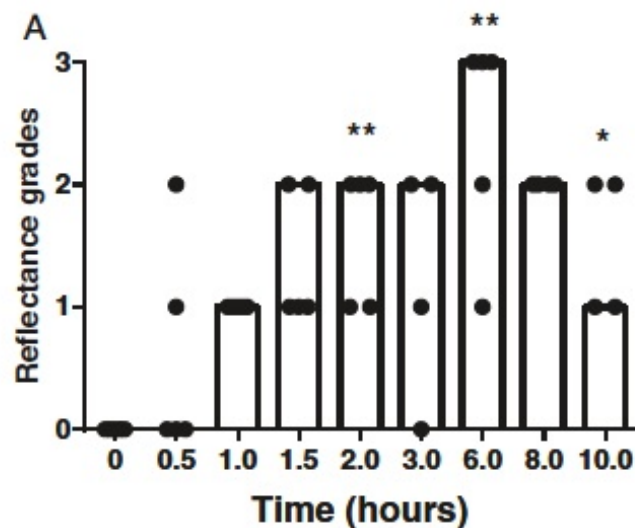
TiO₂ alimentaire : passage systémique chez l'homme

9 volontaires sains / 100 mg E171 *per os* (5 mg/kg BW/jour)

Réflectance TiO₂ sur frottis sanguins



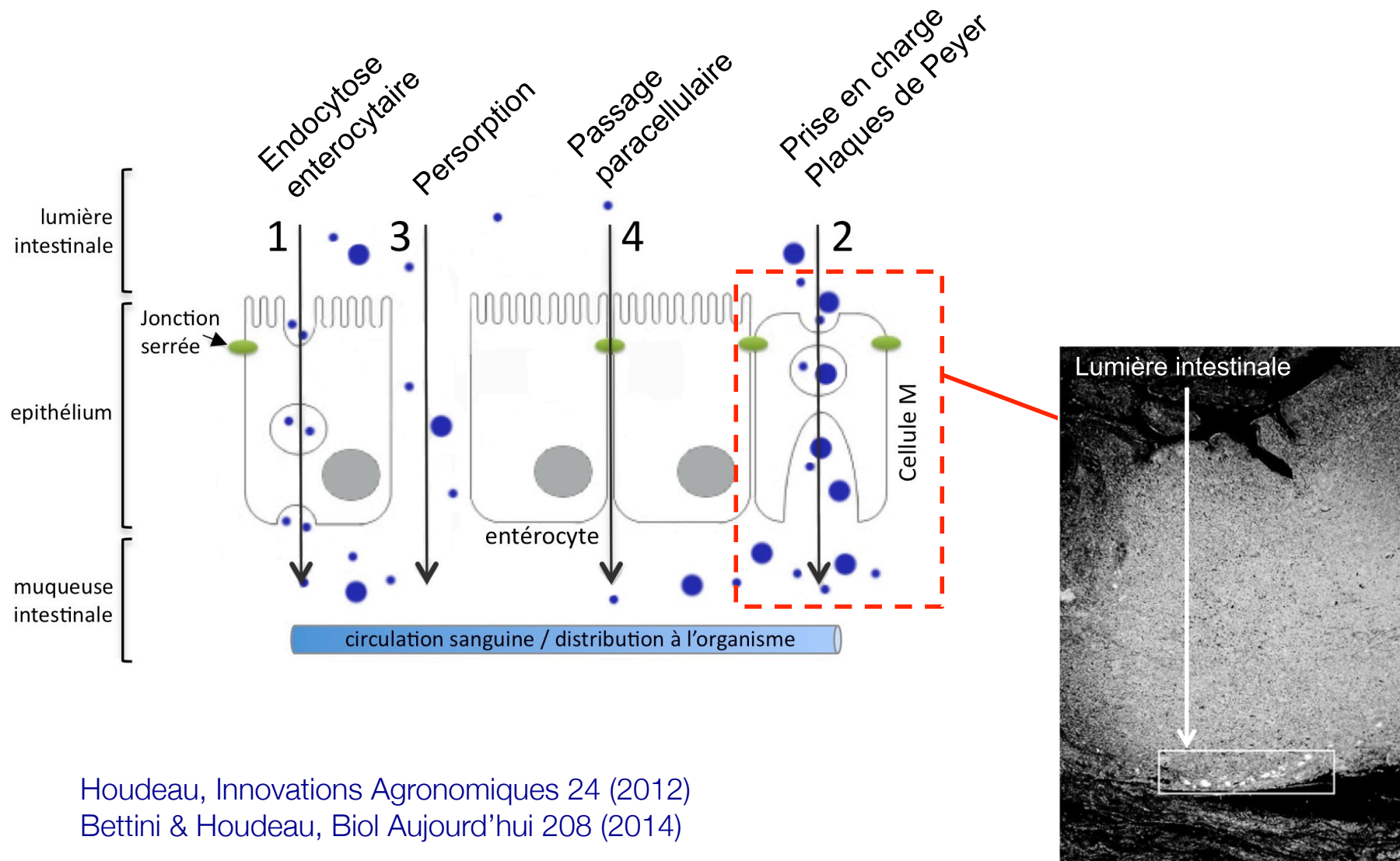
Absorption estimée à 0,1-0,6% de la dose



Pele *et al.* Particle & Fibre Toxicology, 2015
Kreyling *et al.* - Nanotoxicology 2017, 11(4):443-453
Jones *et al.* - Toxicology Letters 2015

Franchissement de la barrière intestinale:

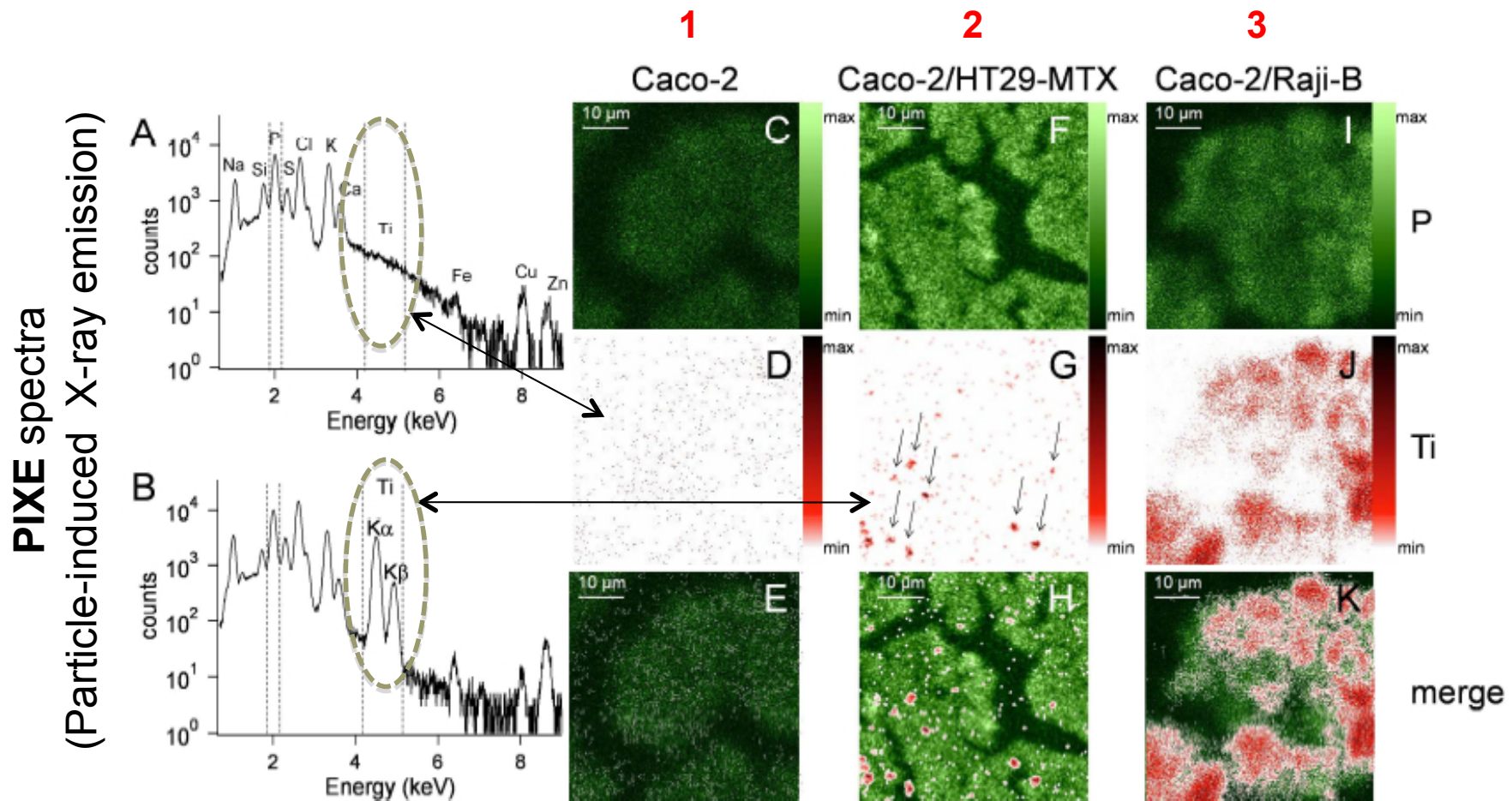
Plusieurs voies de translocation possibles



Houdeau, Innovations Agronomiques 24 (2012)
Bettini & Houdeau, Biol Aujourd'hui 208 (2014)

Une voie d'absorption « nanospécifique » ?

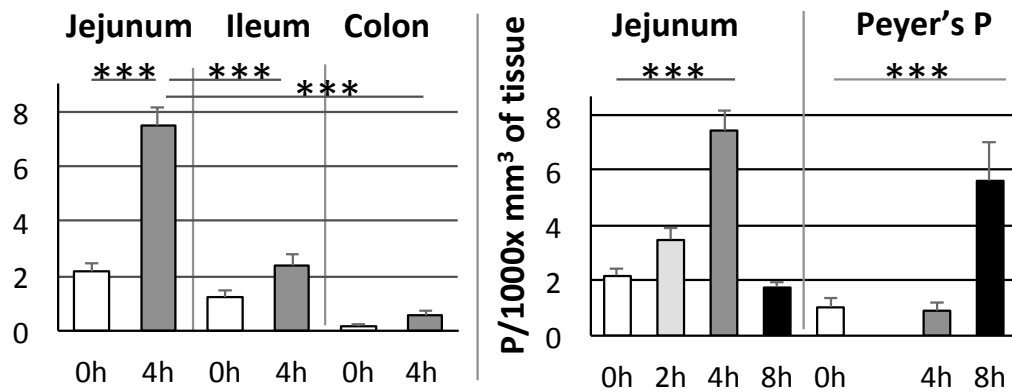
ex. du nano TiO_2 via les entérocytes (1), cellules à mucus (2), plaques de Peyer (3)



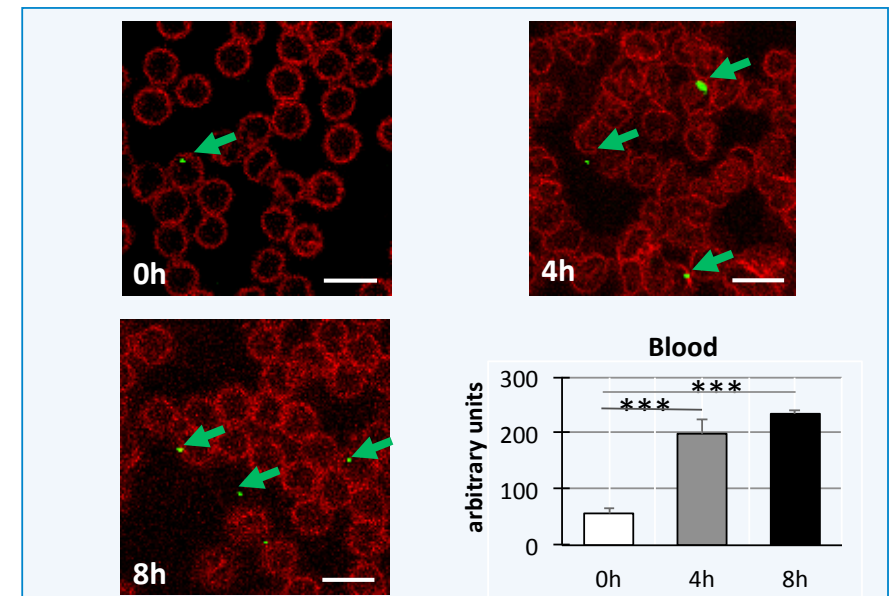
Quid *in vivo* ?

ex. du TiO_2 alimentaire (E171) chez la souris (single dose)

translocation sites along the gut



lumen-to-blood passage

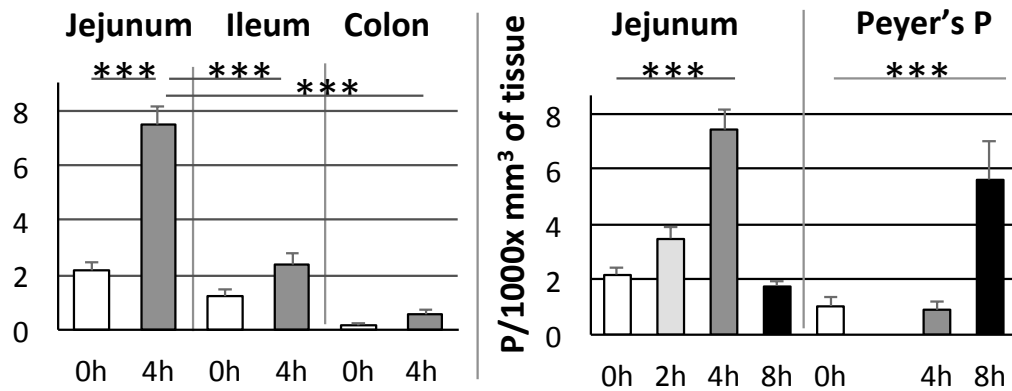


Coméra, Houdeau *et al* – en rédaction

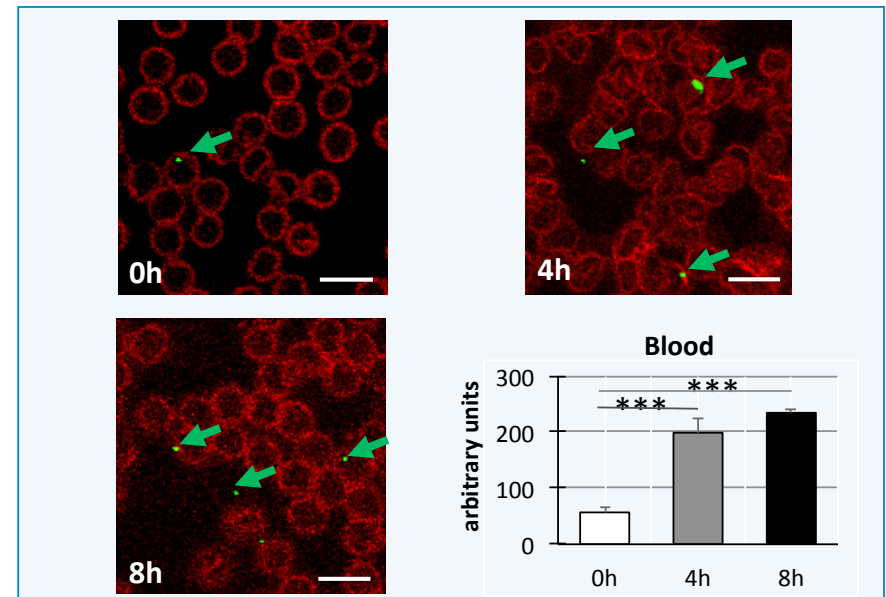
Quid *in vivo* ?

ex. du **TiO₂ alimentaire (E171)** chez la souris (single dose)

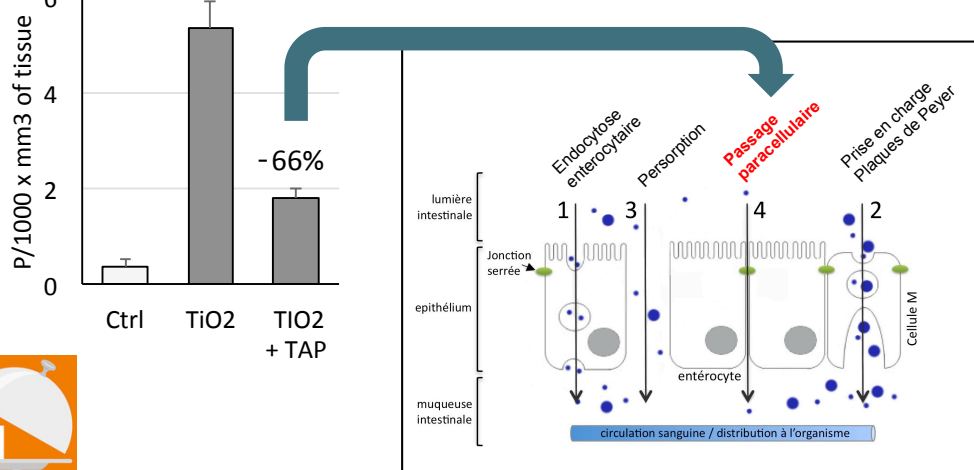
translocation sites along the gut



lumen-to-blood passage



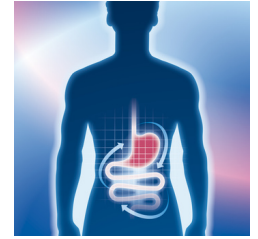
main translocation route



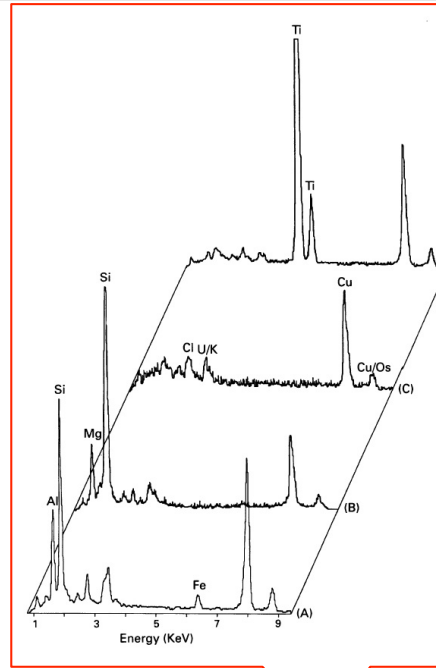
Coméra, Houdeau *et al* – en rédaction

GALT et particules minérales/additifs

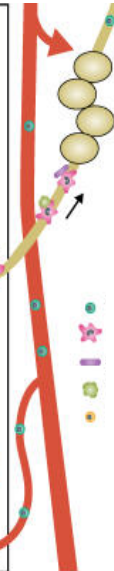
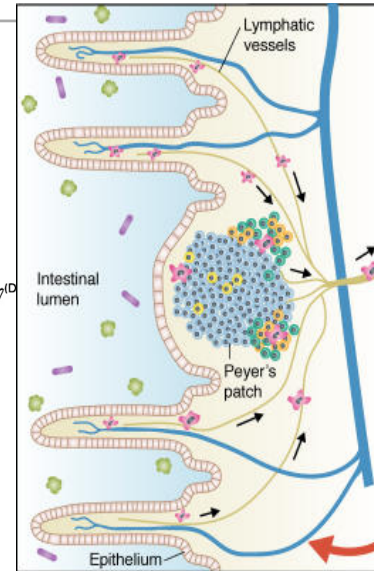
une accumulation locale (paroi de l'intestin), **des effets méconnus**



Accumulation de particules d'oxydes métalliques dans les plaques de Peyer de l'intestin grêle chez l'homme



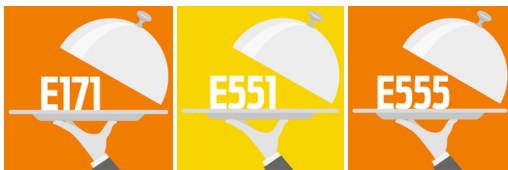
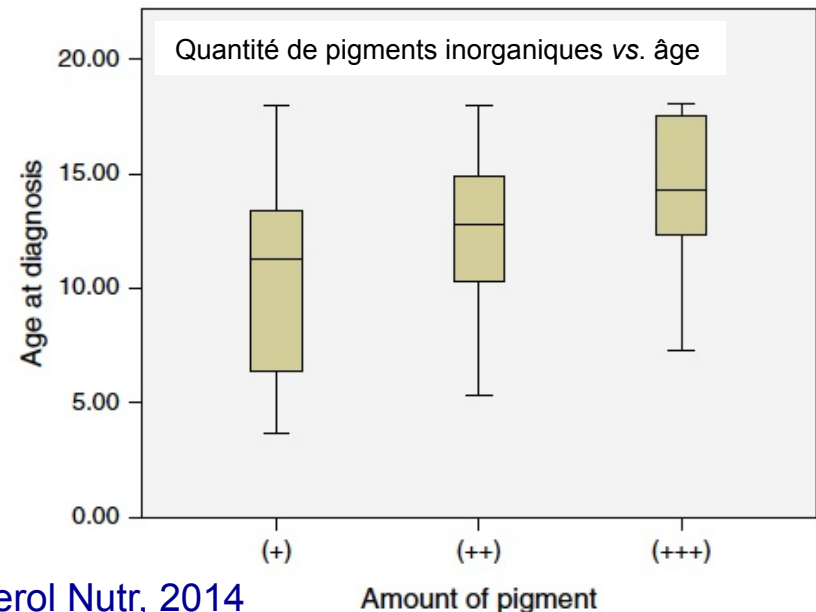
AlSi (E555)
TiO₂ (E171)
SiO₂ (E551)



Nœuds Mésentériques (MLN)

- Lymphocytes T (Tnaïfs Th1, Th2, Th17, Treg)
- Cellules dendritiques (antigen-presenting cells)
- Bactéries commensales (microbiote)
- Antigènes alimentaires
- Plasmocytes (lymphocytes B = anticorps)

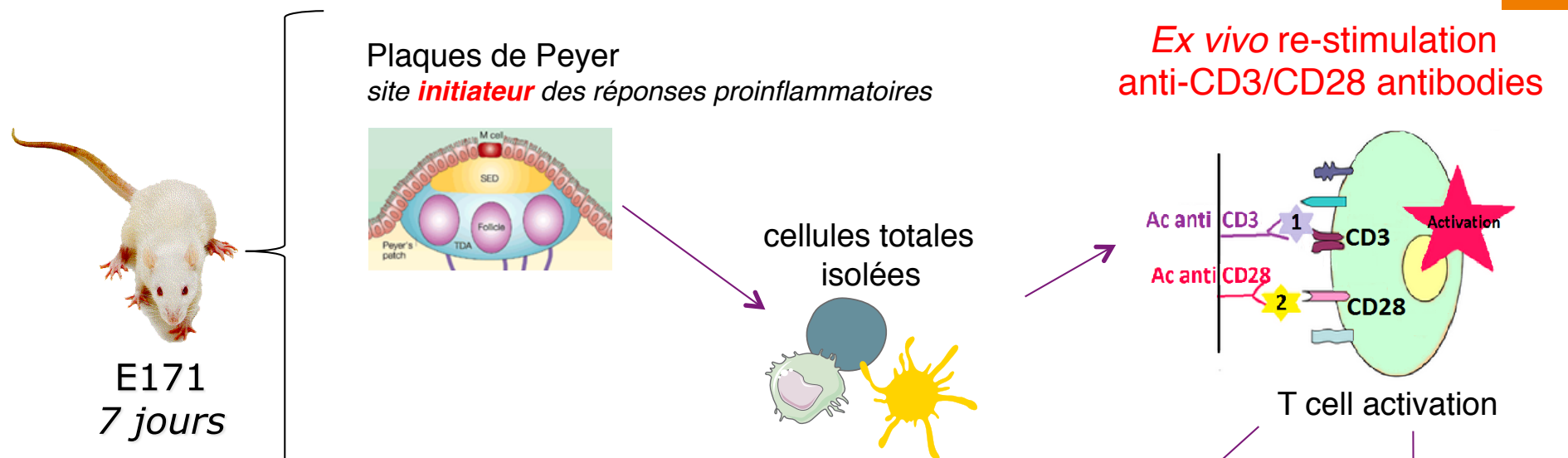
Données cliniques



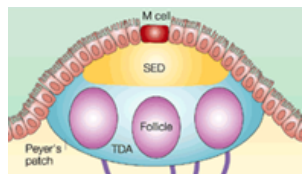
Powell *et al.* Gut, 1996
 Powell *et al.* Brit J Nutr, 2007
 Butler *et al.* Inflamm Res, 2007
 Hummel *et al.* J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2014



Des effets immunotoxiques (intestin) ?

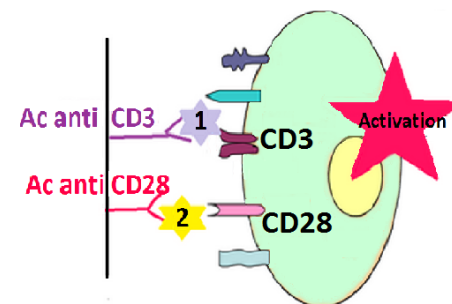


E171
7 jours



cellules totales isolées

Ex vivo re-stimulation anti-CD3/CD28 antibodies



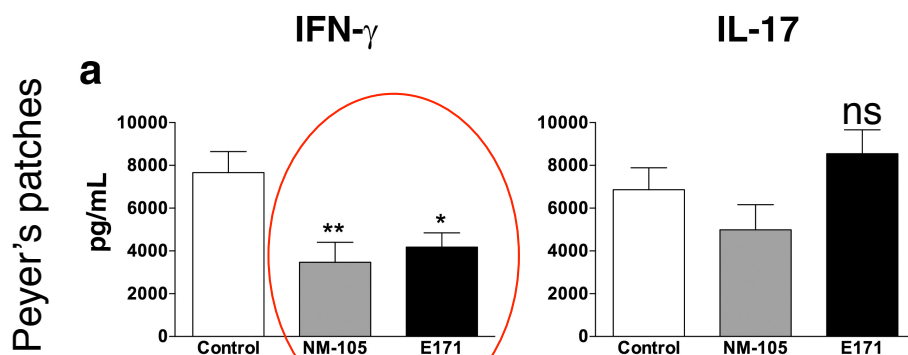
T cell activation

Th1 cell response

Th17 cell response

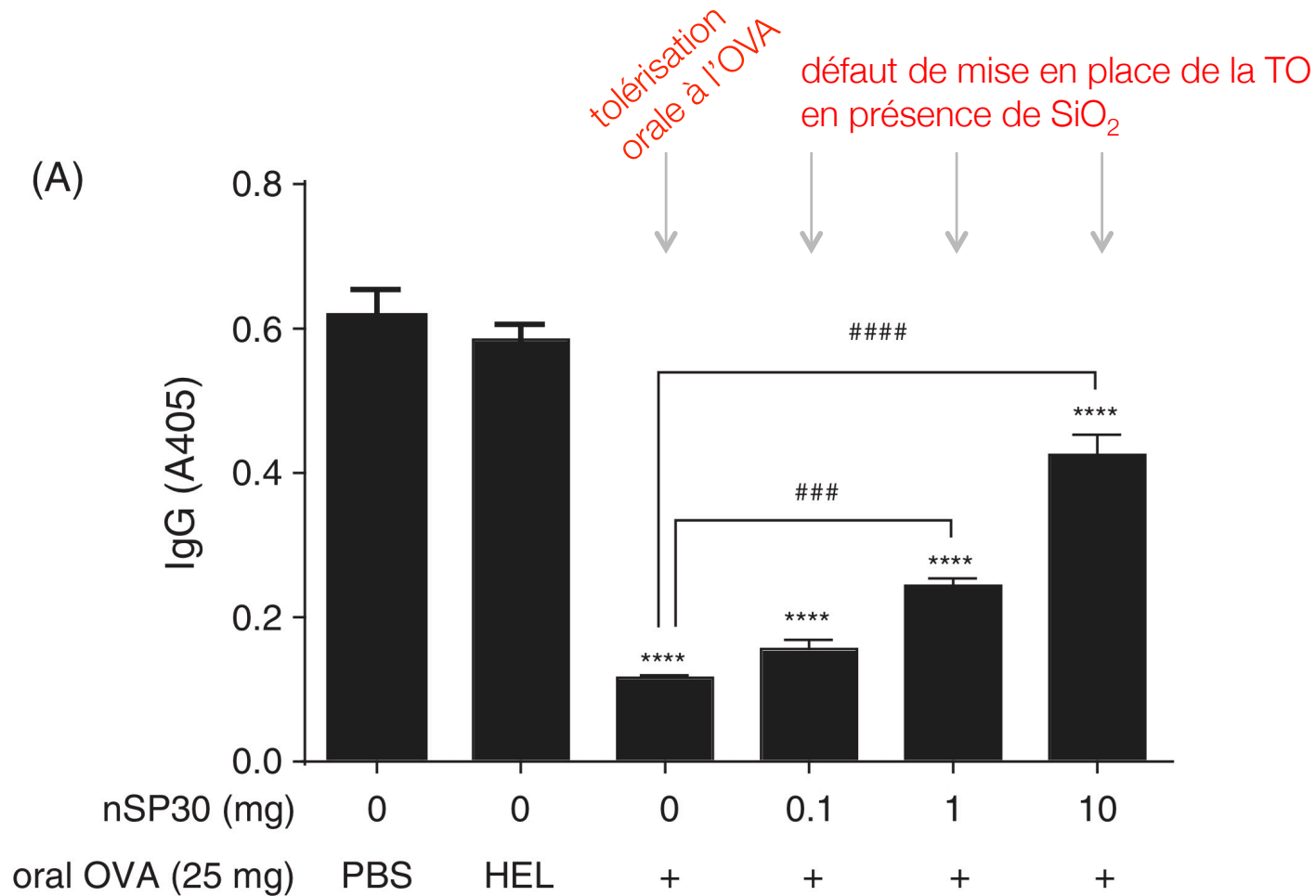
cytokine IFN-gamma

cytokine IL-17



- immunosuppression des réponses Th1 dans le GALT
- Effets E171 = Nano-TiO₂ (réfèrent NM-105)

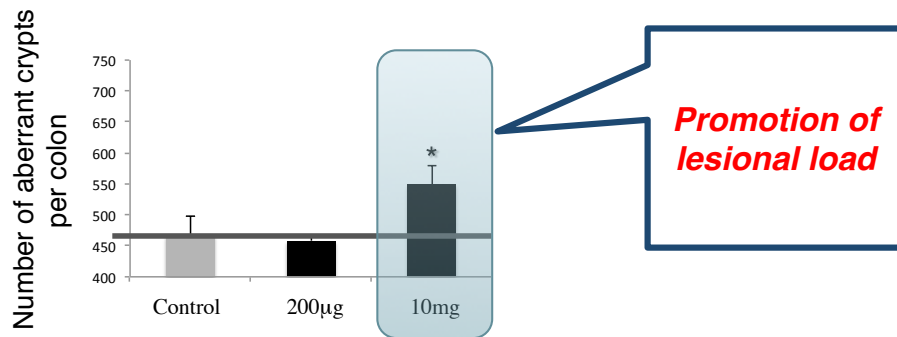
Des particules minérales bloquent l'induction de la tolérance orale aux antigènes alimentaires : exemple de la silice amorphe SiO_2



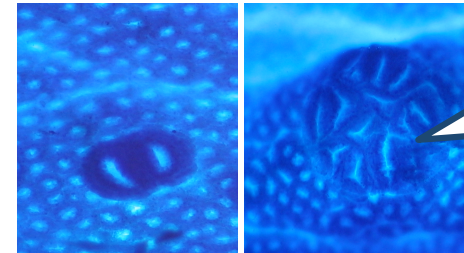
Test effet *promoteur* : modèle animal chimio-induit (DMH)

Bettini *et al* - Sci Rep. 2017;7:40373

- Pas de différence sur le nombre de lésions par côlon
- Effet sur le nombre d'ACF par lésion

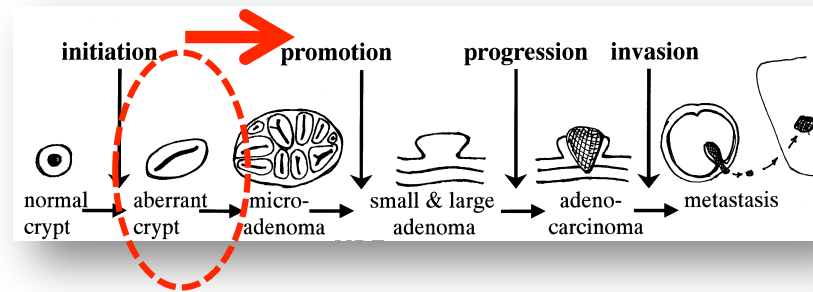


taille des ACF (de 2 à 12 cryptes)

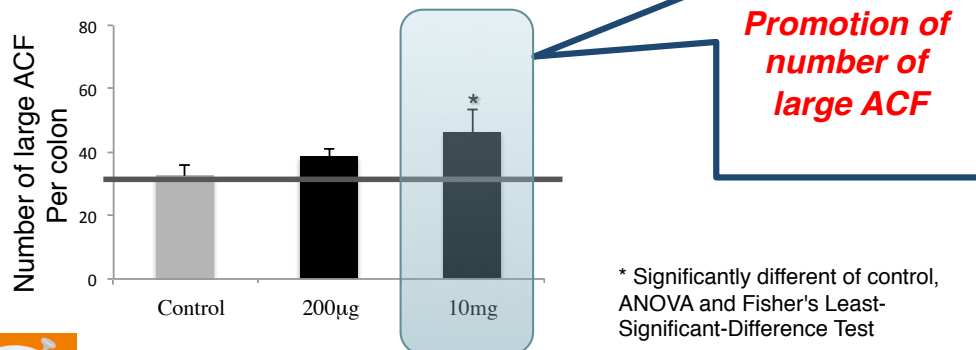


Microadénome
large ACF de 12 cryptes

coloration bleu de méthylène (x 40)



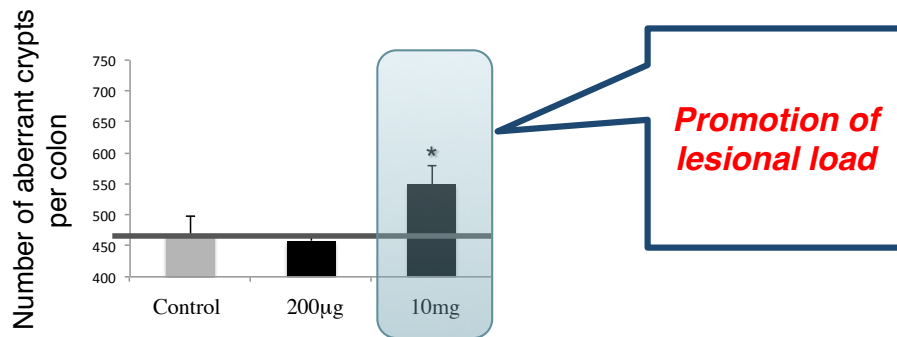
- Effet sur la taille des lésions



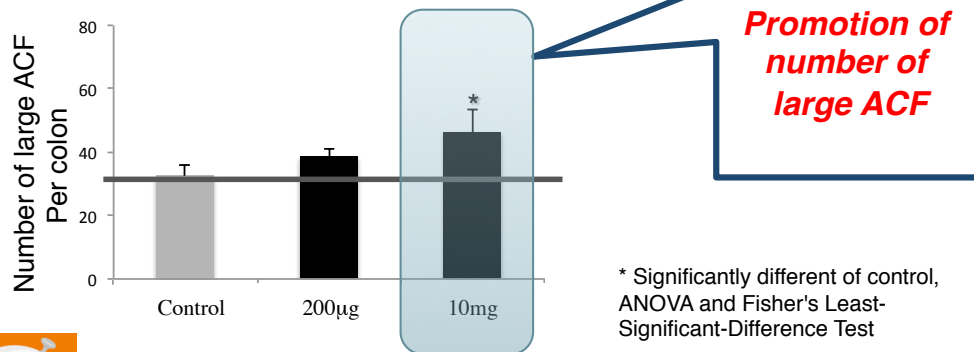
Test effet *promoteur* : modèle animal chimio-induit (DMH)

Bettini *et al* - Sci Rep. 2017;7:40373

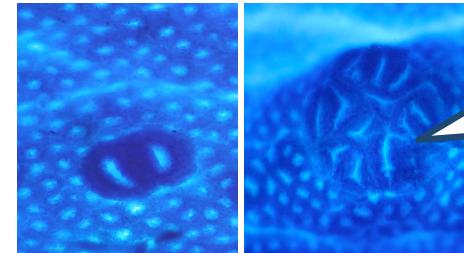
- Pas de différence sur le nombre de lésions par côlon
- Effet sur le nombre d'ACF par lésion



- Effet sur la taille des lésions

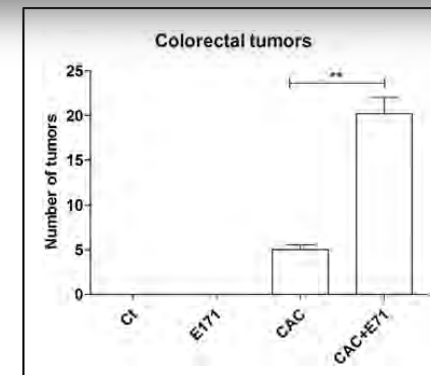
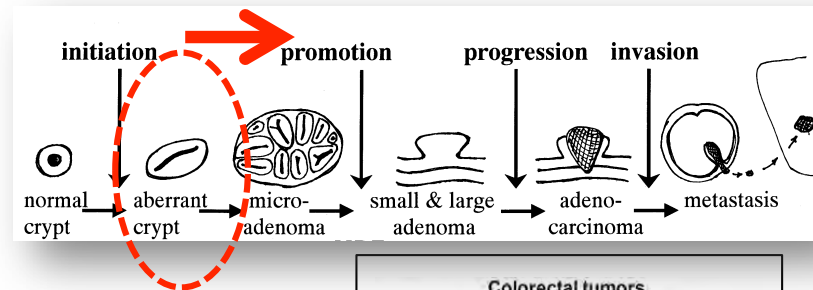


taille des ACF (de 2 à 12 cryptes)



Microadénome
large ACF de 12 cryptes

coloration bleu de méthylène (x 40)



Effet PROMOTEUR
confirmé chez la souris sur
des tumeurs formées

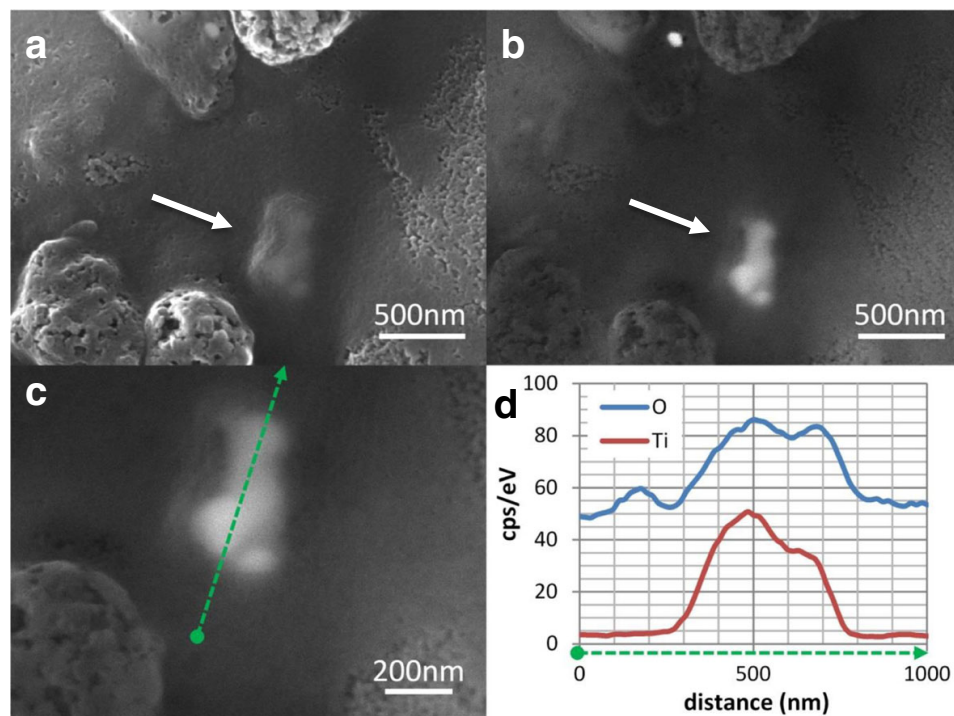
Urrutia-Ortega *et al* -
Food Chem Toxicol. 2016 93:20-31



Devenir du TiO₂ dans l'organisme bioaccumulation systémique chez l'homme

Des particules de TiO₂ sont détectées dans le foie et la rate chez l'homme (sur prélèvements post-mortem), dont ≥24% sont nanodimensionnées (< 100 nm)

Heringa *et al* – Part Fibre Toxicol 2018, 15(1):15



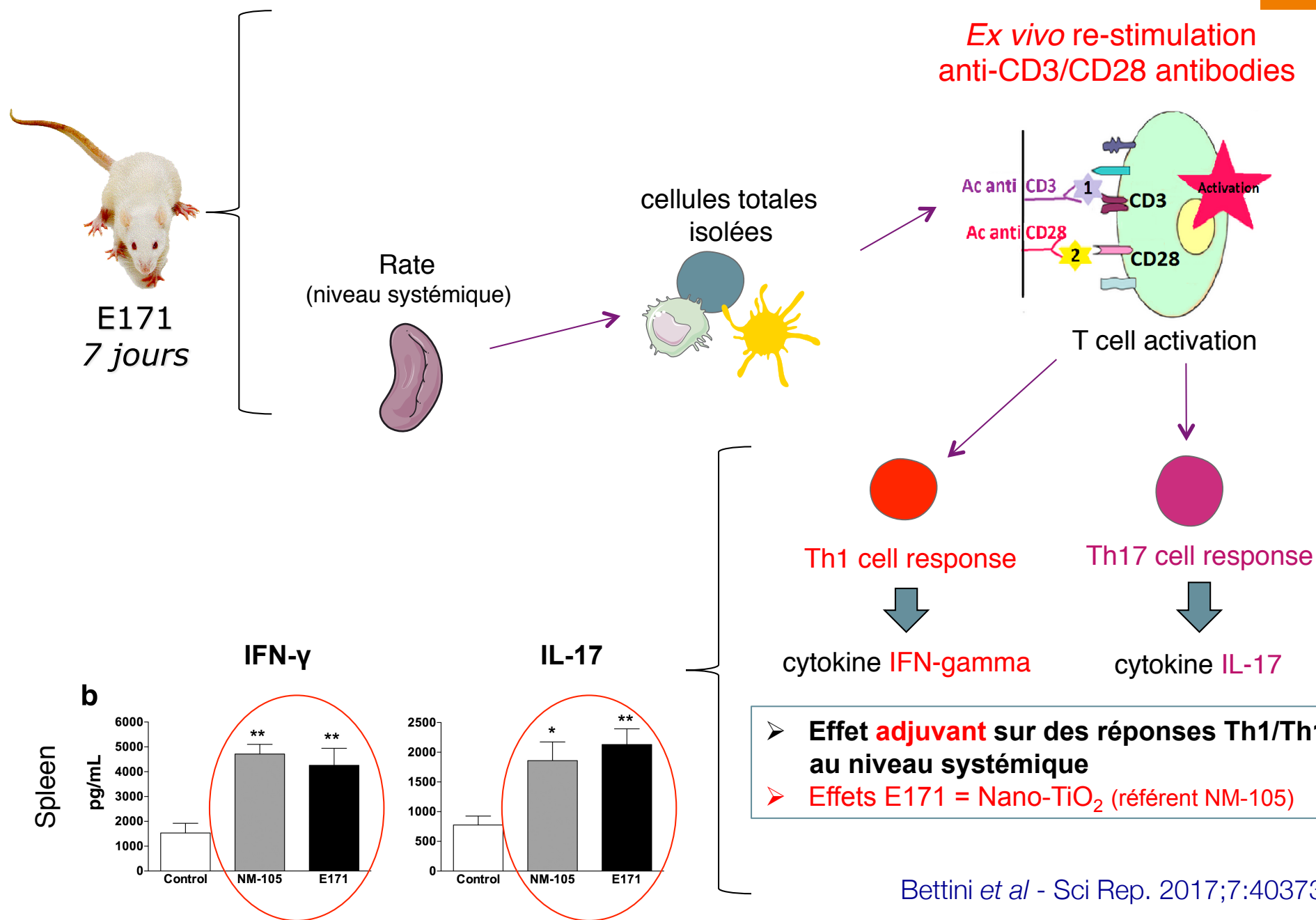
Etudes chez le rat (oral),
Distribution/accumulation jusqu'au
cerveau (dont foetal), reins, gonades,
utérus, poumons, cœur, squelette...

Kreyling *et al* - Nanotoxicology 2017,
11(4):443-453

Rollerova *et al* - Endocr Regul 2015,
49(2):97-112.

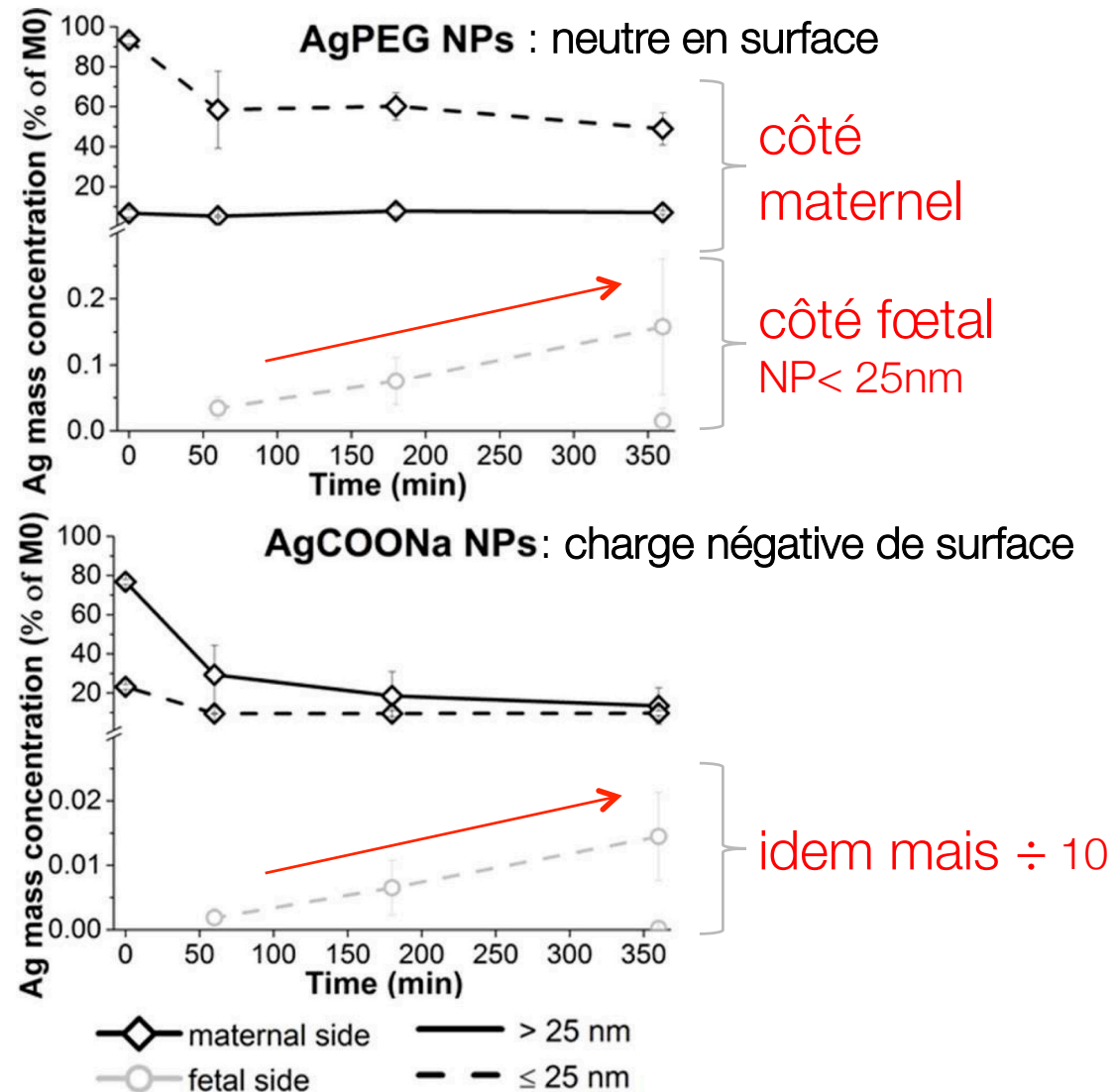


Des effets immunotoxiques (systémique) ?



Passage materno-foetal ?

Etude sur placenta humains isolés et perfusés de nano-Ag (modifications de surface)



Nanoparticules, alimentation et risque ?

une question au cas par cas

- La majorité des études sont menées sur des **nano-modèles** (100% nano) :
 - non extrapolables pour les additifs (composition mixte de particules)
 - besoins d'études dédiées

- Une **voie orale** encore **peu étudiée** :
 - exposition chronique aux faibles doses (consommateur/utilisateurs)
 - incorporation *ou* non à la matrice alimentaire (modélisation)

- Des **tests de sécurité** à mettre en place (**risque chimique ≠ risque physique**)
 - impacts sur le microbiome intestinal (écologie vs. activité métabolique)
 - dose absorbée ≠ nombre de particules absorbées
 - bioaccumulation systémique / effets à long terme ?
 - facteurs de susceptibilité à des maladies chroniques (effets adjuvants / lésions précancéreuses / risque en mélange à d'autres contaminants ?)
 - passage transplacentaire peu abordé / risque(s) pour la descendance ?

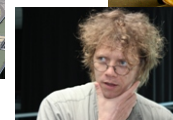


Remerciements

Sarah Bettini, PhD
Adèle Guillard, PhD
Eric Gaultier
Christel Cartier
Bruno Lamas
Natalia Martins-Breyner
Laurence Guzylack



Marie Carrière



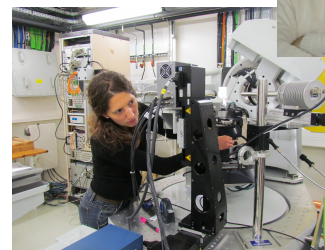
Fabrice Pierre
Jacques Dupuy
Sylviane Taché
Nathalie Naud



Elisa Boutet



Christine Coméra



Matthieu Réfrégiers
Dominique Thiaudière
Solenn Reguer



Jean-Nicolas Audinot
Patrick Griesan

