



**Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation  
Commerciale - Pas de Modification 2.0 France (CC BY-  
NC-ND 2.0)**

**<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr/>**

**UNIVERSITE CLAUDE BERNARD-LYON I  
U.F.R. D'ODONTOLOGIE**

Année 2011

THESE N° 2011 LYO 1D 074

**T H E S E  
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE**

Présentée et soutenue publiquement le :

**Mercredi 14 Décembre 2011**

par

**MARTIN Aurélie**

**Née le 7 Août 1986, à Saint Etienne (42)**

---

**LES NANOTECHNOLOGIES AU SERVICE DE LA SANTE**

---

**JURY**

**Madame la Professeure Dominique SEUX**

**Président**

**Monsieur le Professeur Henry MAGLOIRE**

**Assesseur**

**Monsieur le Docteur Pierre-Yves HANACHOWICZ**

**Assesseur**

**Madame le Docteur Béatrice THIVICHON-PRINCE**

**Assesseur**

# UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I

Président de l'Université	M. le Docteur A. BONMARTIN
Vice-Président du Conseil Scientifique	M. le Professeur J.F. MORNEX
Vice-Président du Conseil des Etudes et de Vie Universitaire	M. le Professeur D. SIMON
Directeur Général des Services	M. A. HELLEU

## SECTEUR SANTE

Comité de Coordination des Etudes Médicales	Président : M. le Professeur F.N. GILLY
Faculté de Médecine Lyon Est	Directeur : M. le Professeur. J. ETIENNE
Faculté de Médecine et Maïeutique Lyon-Sud Charles Mérieux	Directeur : M. le Professeur F.N. GILLY
Faculté d'Odontologie	Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques	Directeur : M. le Professeur F. LOCHER
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation	Directeur : M. le Professeur Y. MATILLON
Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directeur : M. le Professeur P. FARGE

## SECTEUR SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Faculté des Sciences et Technologies	Directeur : M. le Professeur F. GIERES
UFR des Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives	Directeur : M. le Professeur C. COLLIGNON
Institut Universitaire de Technologie Lyon 1	Directeur : M. C. COULET, Maître de Conférences
Ecole Polytechnique Universitaire de l'Université Lyon 1	Directeur : M. P. FOURNIER
Institut de Science Financière et d'Assurances	Directeur : M. le Professeur JC. AUGROS
Institut Universitaire de Formation des Maîtres De l'Académie de Lyon (IUFM)	Directeur : M. R. BERNARD, Maître de Conférences
Observatoire de Lyon	Directeur : M. B. GUIDERDONI, Directeur de Recherche CNRS
Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique	Directeur : M. G. PIGNAULT

# U.F.R. D'ODONTOLOGIE DE LYON

**Doyen** : M. Denis BOURGEOIS, Professeur des Universités

**Vice-Doyen** : Mme Dominique SEUX, Professeure des Universités

## **SOUS-SECTION 56-01:**

### **PEDODONTIE**

Professeur des Universités :  
Maître de Conférences :

M. Jean-Jacques MORRIER  
M. Jean-Pierre DUPREZ

## **SOUS-SECTION 56-02 :**

### **ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE**

Maîtres de Conférences :

M. Jean-Jacques AKNIN, Mme Sarah GEBEILE-CHAUTY,  
M. Laurent MORGON, Mme Claire PERNIER,  
Mme Monique RABERIN

## **SOUS-SECTION 56-03 :**

### **PREVENTION - EPIDEMIOLOGIE ECONOMIE DE LA SANTE - ODONTOLOGIE LEGALE**

Professeur des Universités  
Maître de Conférences

M. Denis BOURGEOIS  
M. Bruno COMTE

## **SOUS-SECTION 57-01 :**

### **PARODONTOLOGIE**

Professeur des Universités Emérite :  
Maîtres de Conférences :

M. Jacques DOURY  
M. Bernard-Marie DURAND, Mme Kerstin GRITSCH  
M. Pierre-Yves HANACHOWICZ,  
M. Philippe RODIER, Mme Christine ROMAGNA

## **SOUS-SECTION 57-02 :**

### **CHIRURGIE BUCCALE - PATHOLOGIE ET THERAPEUTIQUE ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION**

Professeur des Universités  
Maître de Conférences :

M. Jean-Loup COUDERT  
Mme Anne-Gaëlle CHAUX-BODARD, M. Thomas FORTIN,  
M. Jean-Pierre FUSARI

## **SOUS-SECTION 57-03 :**

### **SCIENCES BIOLOGIQUES**

Professeurs des Universités :  
Maîtres de Conférences :

M. Henry MAGLOIRE, M. J. Christophe FARGES  
Mme Odile BARSOTTI, M. Christian RIBAUX,  
Mme Béatrice RICHARD, Mme Béatrice THIVICHON-PRINCE

## **SOUS-SECTION 58-01 :**

### **ODONTOLOGIE CONSERVATRICE - ENDODONTIE**

Professeur des Universités :  
Maîtres de Conférences :

M. Pierre FARGE, Mme Dominique SEUX  
Mme Marion LUCCHINI, M. Thierry SELLI, M. Cyril VILLAT

## **SOUS-SECTION 58-02 :**

### **PROTHESE**

Professeurs des Universités :  
Maîtres de Conférences :

M. Guillaume MALQUARTI, Mme Catherine MILLET  
M. Christophe JEANNIN, M. Renaud NOHARET, M. Gilbert VIGUIE,  
M. Stéphane VIENNOT, M. Bernard VINCENT

## **SOUS-SECTION 58-03 :**

### **SCIENCES ANATOMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES OCCLUSODONTIQUES, BIOMATERIAUX, BIOPHYSIQUE, RADIOLOGIE**

Professeur des Universités :  
Maîtres de Conférences :

M. Olivier ROBIN  
M. Patrick EXBRAYAT, Mme Brigitte GROSGOGEAT,  
Mme Sophie VEYRE-GOULET

A notre présidente du jury,

**Madame la Professeure Dominique SEUX**

Professeure des Universités à l'UFR d'Odontologie de Lyon

Praticien-Hospitalier

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur de l'Université Lyon I

Habilitée à Diriger des Recherches

*Vous nous faites l'honneur et le plaisir d'accepter la présidence de notre jury, et nous vous en remercions très sincèrement.*

*Nous sommes heureux de pouvoir vous témoigner notre reconnaissance pour votre enseignement, votre disponibilité et votre gentillesse. Votre savoir, la confiance que vous nous avez accordé et vos conseils nous ont accompagné tout au long de nos études, jusqu'à l'aboutissement de ce travail.*

*Veillez trouver dans ce travail, l'expression de notre plus profond respect et de notre sincère gratitude.*

A notre directeur de thèse,

**Monsieur le professeur Henry MAGLOIRE**

Professeur des Universités à l'UFR d'Odontologie de Lyon

Praticien-Hospitalier

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur en Sciences Odontologiques

Habilité à Diriger des Recherches

*Vous nous avez fait l'honneur et le plaisir d'accepter de diriger cette thèse et nous vous remercions du privilège que vous nous avez ainsi accordé.*

*Votre professionnalisme, votre disponibilité et vos conseils ont été autant d'aides précieuses nécessaires à l'aboutissement de ce travail. Votre gentillesse et votre éternelle bonne humeur nous ont accompagnés tout au long de nos études et nous ont été d'un grand soutien pour l'élaboration de cette thèse.*

*Veillez trouver dans ce travail, l'expression de notre gratitude et de notre plus grande sympathie.*

A nos juges,

**Monsieur Pierre-Yves HANACHOWICZ**

Maître de Conférences à l'UFR d'Odontologie de Lyon

Praticien-Hospitalier

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur de l'Université Lyon I

*Nous vous remercions d'avoir accepté si gentiment et si spontanément de siéger dans notre jury de thèse.*

*Nous avons apprécié votre savoir, votre disponibilité et votre grande patience tout au long de nos études. Grâce à votre sens de la pédagogie, vous nous avez transmis votre amour du métier.*

*Veillez trouver dans ce travail le témoignage de nos sincères remerciements et de notre plus profond respect.*

A nos juges,

**Madame le docteur Béatrice THIVICHON-PRINCE**

Maître de Conférences à l'UFR d'Odontologie de Lyon

Praticien-Hospitalier

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur de l'Université Lyon I

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous faites en acceptant de siéger dans notre jury.*

*Vous nous avez permis de progresser dans notre pratique de l'odontologie de par votre savoir, mais aussi grâce à votre écoute et votre bonne humeur communicative. Nous apprécions votre grande gentillesse et votre disponibilité pour la soutenance de ce travail, en cette période très chargée.*

*Veillez trouver dans ce travail l'expression de notre plus profonde sympathie et de notre sincère gratitude.*

**A Jean-Christophe :** Je te remercie pour le soutien que tu m'as apporté lors de l'élaboration de ce travail et pour tout ce que tu fais pour moi au quotidien. Nos projets me donnent envie d'avancer toujours plus loin à tes côtés. A notre bel avenir ensemble... Je t'aime.

**A ma mère :** Depuis toujours, tu m'écoutes et me soutiens, dans les bons comme dans les mauvais moments. C'est grâce à toi, si je me trouve ici aujourd'hui. Avec ton aide précieuse dans la réalisation de ce travail, tu m'as prouvé, encore une fois, que tu serais toujours là pour moi. Et moi, je serai toujours là pour toi. **A JM :** Ta patience, ta bonne humeur et nos longues conversations m'ont beaucoup apporté. Tes précieux conseils m'ont guidé jusqu'à aujourd'hui (et me guiderons encore!) alors je t'en remercie.

**A mon père :** Même si tout n'a pas été toujours facile dans le passé, je suis heureuse de la relation qui nous lie aujourd'hui. Nos moments rien qu'à nous sont rares mais restent précieux à mes yeux. Merci pour tes conseils et ton soutien. **A Fabienne :** Merci de rendre mon père heureux et pour les moments agréables passés ensemble. Je vous souhaite le meilleur.

**A mes grands parents :** Depuis toujours, vous veillez sur moi. Papy, j'apprécie nos petits moments ensemble où je peux te faire part de mes projets ; ta patience, ta sagesse et tes valeurs me font le plus grand bien. Mamy, j'aime tellement nos grandes discussions sur la vie, nos confidences échangées autour d'un café; ces moments privilégiés, avec toi, dont je ne pourrai plus me passer. Je vous remercie, tous les deux, pour tout ce que vous avez fait pour moi. Merci de me rendre la vie meilleure et... heureusement qu'on s'a et qu'on s'aime !

**A Flo :** Avec toi, je retombe dans l'enfance avec nos fameuses bagarres, nos fous rires débiles mais aussi cette grande complicité qui nous uni. Que ce lien unique entre nous dure pour toujours. Sache que tu pourras toujours compter sur moi.

**A Manu et Vince :** Vous avez toujours répondu présents lorsque j'en avais besoin et je vous en remercie sincèrement. Vince, merci encore pour le power point et le sommaire ! Manu, je te remercie pour ces discussions sérieuses mais aussi pour ces craquages complets avec fous rires garantis ! Merci à vous deux, j'espère que nous cultiverons toute notre vie, ces liens que nous avons tissé.

**A Lydiane :** J'ai trouvé en toi une grande sœur, une amie, une confidente. Tu m'écoutes et me soutiens dans les moments difficiles mais ton sourire et ta bonne humeur sont toujours au rendez-vous dans les bons moments. Notre lien est très précieux pour moi.

**A Marraine, Auguste et Margot :** Vous avez toujours été tellement gentils avec moi... Je vous remercie pour tout ce que vous avez fait pour moi. Merci aussi pour tous ces bons moments passés ensemble et pour ceux à venir.

**A Thierry, Anne, Marie, Léa et Seb :** Même si ce n'est pas toujours facile de trouver un moment pour se voir, c'est toujours un véritable plaisir de vous retrouver et de discuter ensemble. Un gros bisou à tous.

**A P.E :** Merci de m'avoir accueilli pour ma première expérience dans le monde du travail. Ta disponibilité et tes conseils m'ont beaucoup appris pour ma future pratique. Je te remercie pour tout ce que tu fais pour moi. Je te souhaite plein de bonheur avec **Véro** et avec toute votre petite famille.

**A Mado :** Ta générosité, ton dynamisme et ta bonne humeur font de toi, un exemple à suivre, pour moi. Merci de m'avoir si gentiment ouvert les bras.

**A Françoise et Christian :** Merci pour votre bonne humeur et pour ces bons moments passés ensemble, et merci pour les bugnes Christian!

**A Laure :** Depuis la P1, tu es ma meilleure amie, celle à qui je peux tout dire. Des soirées bien arrosées à l'Ameuso (et ailleurs aussi !) aux révisions à l'ENS, nous avons traversé les bons moments comme les moins bons, ensemble. Merci pour cette véritable amitié, qui je l'espère, ne se perdra jamais.

**A Mumu :** Depuis les bancs de l'amphi au baby foot de l'Ameuso, en passant par le Chambon, j'ai beaucoup de bons souvenirs avec toi, tu es devenue une véritable amie. La vie nous a éloignées mais notre amitié reste intacte. Aux bons moments à venir.

**A Marion :** Il a fallu attendre la 6<sup>ème</sup> année pour qu'on se découvre autant de points communs ! Je peux dire aujourd'hui que tu es une vraie amie et j'ai envie que cette amitié dure encore longtemps. **A Alex :** ton humour et ta bonne humeur nous feront toujours passer de bons moments, ne change rien ! Plein de bonheur à vous deux.

**A Clémence :** De la P1 à la fac de dentaire, on s'est toujours suivi et appréciés. Nous nous sommes bien amusés au Mexique donc j'espère que nous passerons d'autres moments sympas ensemble. Que tous tes projets se réalisent, je te souhaite plein de bonnes choses pour l'avenir.

**A Laetitia :** Ma copine! Merci de ton aide pour ce travail et merci pour ta gentillesse et ta générosité. Une amitié est née et j'espère qu'elle durera longtemps. Je te souhaite plein de bonheur avec Benoît et Valentine.

**A Floriane, Olivier, Guillaume, Julien, Maud, Ségolène...** Pour tous les bons moments passés ensemble durant ces 5 dernières années.

# SOMMAIRE

<b><u>Introduction</u></b> .....	1
<b><u>1. Présentation des nanotechnologies</u></b> .....	3
<u>1.1 Quelques éléments de définition</u> .....	3
<u>1.2 Historique</u> .....	4
1.2.1 R. Feynman .....	4
1.2.2 Microscope en champ proche .....	4
1.2.2.1 Microscope à effet tunnel.....	4
1.2.2.2 Microscope à force atomique .....	5
<u>1.3 Deux approches de fabrication</u> .....	5
1.3.1 Bottom up.....	6
1.3.2 Top down .....	6
<u>1.4 Propriétés des nano-objets</u> .....	6
<b><u>2. Application des nanotechnologies en odontologie</u></b> .....	7
<u>2.1 Développement de la nanodontisterie</u> .....	7
<u>2.2 De nombreux champs d’application</u> .....	7
2.2.1 Amélioration de la prise en charge des pathologies buccales.....	7
2.2.1.1 Hypersensibilité dentaire.....	8
2.2.1.1.1 Caractéristiques générales de l’hypersensibilité dentinaire.....	8
2.2.1.1.2 Etiologies .....	9
2.2.1.1.3 Apport des nanotechnologies.....	9
2.2.1.2 Agents antimicrobiens ciblés .....	11

2.2.1.2.1	Le biofilm bactérien .....	11
2.2.1.2.2	Les nanotechnologies et le biofilm bactérien .....	12
2.2.1.2.2.1	Utilisation de l'AFM.....	12
2.2.1.2.2.2	Utilisation de nanocapteurs de pH.....	13
2.2.1.2.2.3	Utilisation de nanoparticules d'Argent .....	13
2.2.1.3	De nouveaux bio-marqueurs pour la détection du cancer buccal.....	14
2.2.1.3.1	Propriétés de la salive comme fluide diagnostique .....	15
2.2.1.3.2	Les avantages du fluide salivaire.....	16
2.2.1.3.3	Obtention d'un échantillon salivaire.....	16
2.2.1.3.4	Etude de l'échantillon salivaire .....	18
2.2.1.3.4.1	Découverte de biomarqueurs par la technologie protéomique .....	18
2.2.1.3.4.2	Découverte de biomarqueurs par la technologie transcriptomique .....	21
2.2.2	Nanotechnologies et matériaux dentaires .....	21
2.2.2.1	Les implants dentaires en titane .....	21
2.2.2.1.1	Caractéristiques généraux du titane.....	21
2.2.2.1.2	Généralités sur les implants dentaires .....	22
2.2.2.1.3	Modification de la surface de l'implant à l'échelle nanométrique.....	24
2.2.2.1.3.1	L'anodisation .....	24
2.2.2.1.3.2	Le phosphate de calcium.....	25
2.2.2.1.4	Interactions entre la surface de l'implant et le sang .....	26
2.2.2.1.5	Interactions avec les cellules souches mésenchymateuses .....	27
2.2.2.2	Les nanocomposites .....	29
2.2.2.2.1	Composition des composites dentaires.....	29
2.2.2.2.2	Caractéristiques des composites dentaires.....	30
2.2.2.2.3	Les composites nano-chargés sans libération d'ions.....	31
2.2.2.2.4	Les nanocomposites avec libération de fluorure .....	32
2.2.2.2.5	Les composites nano-chargés en Ca <sup>2+</sup> PO <sub>4</sub> .....	35
2.2.2.2.6	Les effets de la taille des nano-particules de Ca <sup>2+</sup> PO <sub>4</sub> et de la silanisation.....	36



3.3 Les progrès thérapeutiques .....	59
3.3.1 Vectorisation des médicaments et transport ciblé.....	60
3.3.2 La thérapie du cancer par les nanoparticules d'or .....	61
3.3.3 Nanomédecine et maladie d'Alzheimer .....	62
<b><u>4. Risques potentiels des nanotechnologies sur la santé</u></b> .....	64
4.1 Nanotechnologies et vie quotidienne.....	64
4.2 Les voies d'exposition du corps humain aux nanoparticules .....	66
4.2.1 L'ingestion de nanoparticules .....	66
4.2.2 L'entrée des nanoparticules par voie cutanée .....	67
4.2.3 L'entrée des nanoparticules par l'appareil respiratoire.....	67
4.3 Les déterminants des effets toxiques des nanoparticules sur la santé .....	68
4.3.1 La taille des nanoparticules.....	68
4.3.2 La surface des nanoparticules .....	68
4.3.3 Le traitement de surface .....	69
4.3.4 La composition chimique des nanoparticules .....	69
4.3.5 Le degré d'agrégation des nanoparticules.....	69
4.4 Les impacts des nanotechnologies sur la santé de l'Homme.....	70
4.5 Les limites des données toxicologiques actuelles.....	71
<b><u>Conclusion</u></b> .....	73
<b><u>Bibliographie</u></b> .....	74

## Introduction

Le préfixe « nano » sert, avant tout, à indiquer une échelle de dimension : celle des atomes. Sachant qu'un nanomètre équivaut à un milliardième de mètre, les nanotechnologies permettent un véritable saut dans l'infiniment petit. Elles donnent accès à l'observation et à la manipulation à l'échelle atomique. L'univers des nanosciences recouvre les objets de taille nanométrique dont certains phénomènes et effets sont inattendus. L'étude de ce nanomonde a, en effet, permis la découverte de propriétés nouvelles qui apparaissent seulement lorsque les substances atteignent la taille du nanomètre. Ces spécificités leur ouvrent un large éventail d'applications et même si certaines sont déjà autour de nous, leur potentiel de développement est considérable. Nous présenterons donc cette discipline émergente dans une première partie.

De ces nanosciences et de leurs applications physiques, chimiques, électroniques, et plus récemment biologiques, sont issus de nombreux progrès dans le domaine de la santé. Nous nous intéressons, dans la seconde partie, aux applications des nanotechnologies en odontologie. Ainsi, nous verrons comment les nanosciences favorisent une meilleure prise en charge des pathologies buccales grâce à un diagnostic plus précis et un traitement personnalisé. Les recherches s'orientent également vers le développement de nouveaux matériaux dentaires qui bénéficieront de propriétés inédites acquises par la nanotechnologie. Nous évoquerons aussi les progrès de l'ingénierie tissulaire dans le secteur de la dentisterie. Dans un futur relativement proche, la pratique dentaire pourrait donc subir une véritable révolution.

Les nanotechnologies ont rapidement trouvé des applications en médecine. En effet, les découvertes en matière d'imagerie médicale participent à l'élaboration d'un diagnostic plus précoce. Les traitements ciblés aux cellules atteintes, tout en préservant les cellules saines, sont maintenant permis grâce à cette nouvelle technologie de l'infiniment petit. Ainsi, la troisième partie sera consacrée aux diverses applications des nanosciences à la médecine.

Les nanotechnologies représentent un enjeu économique majeur et tous les pays développés y investissent des sommes de plus en plus importantes. Alors que certaines applications sont déjà sur le marché, les risques associés à ces technologies émergentes et aux nouveaux produits qu'elles génèrent sont encore mal connus. Nous verrons donc, dans la dernière partie, les risques potentiels des nanotechnologies sur la santé.

# **1. Présentation des nanotechnologies**

## 1.1 Quelques éléments de définitions

Les nanosciences et nanotechnologies ont pour objectif l'étude et l'élaboration de matériaux, dispositifs ou systèmes à l'échelle nanométrique.

Un nanomètre correspond à un milliardième de mètre ( $10^{-9}$ ). Un objet peut être qualifié de nanométrique lorsque sa taille est comprise entre un nanomètre et une centaine de nanomètres. Entre autres repères, une protéine mesure 10 nm, une molécule moins d'1 nm, et un atome environ 0,1 nm. Pour information, la largeur d'un globule rouge est de 7000 nm et celle d'un cheveu humain est de 80 000 nm. La réalisation de nano-objets impliquera donc l'utilisation d'un nombre très réduit d'atomes ou de molécules.

Dans ce contexte, les nanosciences sont l'étude des phénomènes et la manipulation de la matière aux échelles atomiques, moléculaires et macromoléculaires, où les propriétés diffèrent sensiblement de celles qui prévalent à une plus grande échelle.

Les nanotechnologies, quant à elles, concernent la conception, la caractérisation, la production et l'application de structures, dispositifs et systèmes par le contrôle de la forme et de la taille à une échelle nanométrique.

Pour résumer, les nanosciences cherchent à élaborer des lois et étudient des nano-objets en laboratoire, tandis que les nanotechnologies ont pour objectif la conception de produits commercialisables.

Malgré la relative simplicité de ces définitions, il n'existe pas encore de consensus scientifique concernant la définition des nanosciences et des nanotechnologies. Elles présentent, en effet, plusieurs acceptions, liées à la nature transversale de cette jeune discipline qui utilise de nombreuses autres disciplines telles que l'optique, la mécanique, la biologie ou encore la chimie.

Cet aspect pluridisciplinaire offre de nombreuses perspectives aux nanosciences et nanotechnologies.

## 1.2 Historique

### 1.2.1 Richard Feynman

Richard Feynman, prix Nobel de physique en 1965, est considéré comme le fondateur des nanotechnologies. Son intervention en 1959 devant la société américaine de physique est restée célèbre. Lors de son discours « There is plenty of room at the bottom ! » traduit « Il y a beaucoup d'espace en bas ! », il annonce qu'à l'avenir, il sera possible d'écrire l'encyclopédie sur une tête d'épingle. Il évoque alors la découverte d'un monde encore inexploré : l'infiniment petit.

Feynman veut aller au-delà des systèmes macroscopiques connus. Ce physicien visionnaire envisage d'assembler des atomes un à un afin de fabriquer des structures de très petite taille. Cependant, Feynman ne sait pas comment concevoir des nano-objets en utilisant des outils macroscopiques, il est limité par les moyens techniques de l'époque (Fahy, 1993).

### 1.2.2 Microscopie en champ proche

Contrairement aux techniques habituelles, les techniques de microscopie en champ proche procurent une image directe des atomes. Elles permettent de visualiser et autorisent même la manipulation à l'échelle nanométrique.

#### 1.2.2.1 Microscope à effet tunnel

Les nanotechnologies sont réellement nées en 1981 avec l'invention du microscope à effet tunnel (STM pour Scanning Tunneling Microscope). Ce microscope permet l'observation et la manipulation des atomes. Plus précisément, le STM permet de cartographier atome par atome la surface d'un matériau conducteur en mesurant le courant électrique établi entre la pointe ultra fine du microscope (généralement réduite à un atome) et la surface du matériau à explorer, placé à moins de 2 nm afin de créer un courant. Ce courant est d'autant plus fort que la distance entre la pointe et le matériau est faible. La distance de la pointe par rapport au matériau va continuellement varier afin de maintenir un courant d'une intensité constante d'environ 1 nano-ampère (**Fig 1**). Ces réajustements permanents

de la pointe du microscope seront analysés par un logiciel qui retranscrira le relief de la surface explorée atome par atome (Site internet du Commissariat à l’Energie Atomique et aux énergies alternatives).

L’application de différences de potentiel sur les céramiques piézo-électriques, permettant le déplacement de la pointe du microscope, provoquent une dilatation ou une contraction contrôlée de ces céramiques. Dans ces conditions, la pointe du microscope peut servir de pince afin de manipuler des atomes ou molécules.



**Figure 1** : Schéma simplifié du microscope à effet tunnel (www.cea.fr)

### 1.2.2.2 Microscopie à force atomique

Le microscope à force atomique (AFM), dérivé du microscope à effet tunnel permet de visualiser les matériaux non-conducteurs par évaluation de la force de contact entre l’échantillon et la pointe du microscope, de l’ordre du nano-newton.

### 1.3 Deux approches de fabrication:

Différentes stratégies sont employées par les chercheurs afin d’élaborer des nano-objets et des nanomatériaux. Il est important de bien distinguer la signification de ces deux termes : les nano-objets correspondent à des briques élémentaires assemblées dans le but d’obtenir des nanomatériaux. Ces derniers peuvent servir à modifier les propriétés physiques et

chimiques des matériaux macroscopiques ou à induire de nouvelles fonctionnalités (Site internet du CNRS).

Deux grandes approches de fabrication coexistent dans le domaine des nanotechnologies. L'une qualifiée de Top-Down, c'est-à-dire de haut en bas, consiste à miniaturiser par les moyens de réduction de taille des dispositifs existants. Une approche inverse, qualifiée elle de Bottom-up, du bas vers le haut, consiste à assembler des motifs atomiques ou molécules afin de constituer des objets nanométriques (Lorrain et Raoul 2004).

### 1.3.1 Bottom-up (voie ascendante)

Le concept bottom-up est issu de l'ingénierie chimique. Il implique la fabrication de structures atome par atome ou molécule par molécule. Il en découlera des nano-objets complètement artificiels, aux structures et propriétés inédites (The royal society and the royal academy of engineering, 2004).

### 1.3.2 Top-down (voie descendante)

Il s'agit de miniaturiser des objets existants, en conservant leurs propriétés, pour obtenir des objets nanoscopiques. Ce type de fabrication implique l'utilisation d'un important morceau de matériau comme point de départ. Ce matériau devra subir une nanolithographie (optiques, RX, électroniques), une nano-impression par faisceaux d'ions ou encore un FIB (focused ion beam), afin d'obtenir le nanosystème recherché (CNRS, 2005).

## 1.4 Propriétés des nano-objets

A l'échelle nanométrique, les propriétés physiques sont bouleversées : certaines apparaissent, d'autres disparaissent, s'améliorent ou se détériorent. De nombreuses propriétés peuvent être altérées telles que la conductivité, l'adhérence, le magnétisme... Il est alors impossible de se baser sur les théories de physique classique pour explorer le nanomonde. Le domaine nanométrique est en fait régi par les lois de la mécanique quantique.

## **2. Application des nanotechnologies en odontologie**

### **2.1 Développement de la nanodontisterie**

Il n'est pas difficile d'imaginer que les nanotechnologies puissent également s'appliquer à l'odontologie. La nanodontisterie pourrait avoir un impact très important sur la pratique dentaire traditionnelle. La nanodontisterie est une discipline émergente qui possède un potentiel non négligeable, pour contribuer à la santé bucco-dentaire via l'utilisation d'une nouvelle génération d'outils miniaturisés (Freitas, 2000). L'analyse des surfaces dentaires, à l'aide d'un microscope à force atomique, présente un grand intérêt, particulièrement pour des pathologies telles que la carie dentaire, l'hypersensibilité dentinaire et le cancer buccal. Cette technologie permet l'accès aux propriétés morphologiques, biophysiques et biochimiques, à l'échelle nanométrique, des surfaces dentaires mais aussi des matériaux dentaires et des fluides comme la salive (Kumar et coll, 2011).

La nanodontisterie ouvre donc de nouveaux horizons grâce à l'étude de l'infiniment petit. Au-delà de la science fiction, des applications concrètes, et largement envisageables dans le futur, pourront jouer un rôle important en matière de santé publique bucco-dentaire.

### **2.2 De nombreux champs d'application**

#### **2.2.1 Amélioration de la prise en charge des pathologies buccales**

La prise en charge des pathologies buccales est basée sur la qualité du diagnostic et du traitement. La nanodontisterie permet un diagnostic plus précis via une étude plus poussée de chaque cas. Ainsi, un diagnostic établi à l'aide d'une analyse salivaire offre la perspective d'un traitement personnalisé donc plus efficace.

Nous traiterons brièvement de l'hypersensibilité dentinaire, des agents antimicrobiens ciblés, du dépistage des cancers buccaux et des nouvelles découvertes à venir.

## 2.2.1.1 Hypersensibilité dentinaire

### 2.2.1.1.1 Caractéristiques généraux de l'hypersensibilité dentinaire

L'hypersensibilité se caractérise par une douleur vive et passagère provoquée par l'exposition de la dentine lors d'un stimulus thermique, osmotique, chimique ou tactile. Selon un questionnaire réalisé auprès des chirurgiens dentistes, 5 à 25% des patients seraient atteints d'hypersensibilité dentinaire (Orchardson et Gillam, 2006).

Cette pathologie touche surtout les patients entre 30 et 40 ans mais elle peut se déclarer chez des personnes de tout âge. La prévalence chez l'adolescent et l'adulte jeune reste relativement faible mais s'accroît d'année en année, en raison des modifications du comportement alimentaire (augmentation de la consommation de soda et de boissons acides).

Les canines et les premières prémolaires sont les dents les plus fréquemment concernées, puis viennent les incisives, les secondes prémolaires et enfin les molaires (Degrange et Lehmann, 2006). La plupart du temps, ces lésions se situent au niveau de la zone cervicale des dents concernées (**Fig 2**). Le côté gauche est souvent plus atteint que le droit, ce qui s'expliquerait par un brossage plus appuyé à gauche chez les droitiers, qui sont majoritaires dans la population.



**Figure 2 :** 35 présentant une récession vestibulaire et une perte de substance à l'origine d'une hypersensibilité dentinaire (Badran et coll. 2010).

#### 2.2.1.1.2 Etiologies

La dentine est naturellement sensible de par ses relations avec la pulpe. Habituellement, cette proximité reste sans conséquence car la dentine est protégée du milieu extérieur par une couche d'émail.

De nombreuses théories expliquent le phénomène d'hypersensibilité dentinaire mais la théorie hydrodynamique de Brännström reste la plus largement acceptée (Ozel et coll. 2010).

Dans cette théorie, le stimulus appliqué sur le tissu dentinaire serait à l'origine de mouvements des liquides interstitiels intracaniculaires et intra-pulpaire, susceptibles d'engendrer la douleur. Cette explication est basée sur la présence de prolongements odontoblastiques à l'intérieur des tubuli dentinaires remplis de fluide. Toute agression des prolongements odontoblastiques, au niveau dentinaire, retentit au niveau des corps cellulaires des odontoblastes (Triller, 1987). Ces derniers sont en relation étroite avec les terminaisons nerveuses pulpaire. Les mouvements de fluide dentinaire provoqueraient une déformation de ces fibres nerveuses qui serait à l'origine de la douleur.

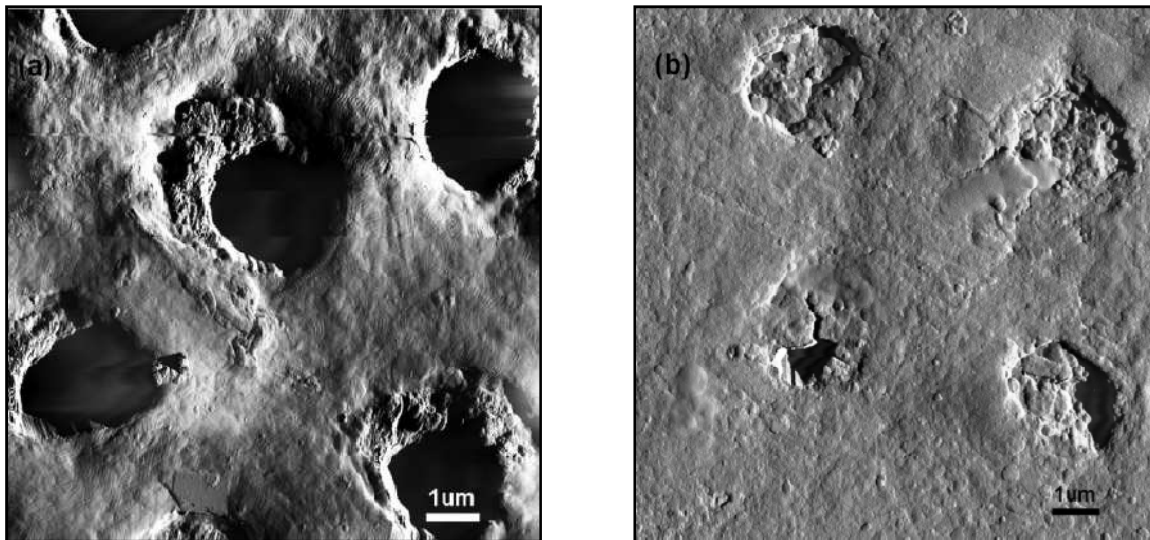
#### 2.2.1.1.3 Apport des nanotechnologies

Les dents atteintes d'hypersensibilité possèdent des canalicules dentinaires ouverts et exposés au milieu extérieur (**Fig 3a**). Le traitement consiste à obturer ces tubuli dentinaires ce qui isole la dent des stimuli externes empêchant ainsi les mouvements du fluide dentinaire.

Le microscope à force atomique a été utilisé pour observer les effets d'une nouvelle substance développée pour soulager l'hyperesthésie dentinaire. Il s'agit d'un produit désensibilisant à base d'Arginine (8%) et de carbonates de Calcium, commercialisé sous le nom de ProClude™ par Colgate®. Le microscope à force atomique permet de valider l'occlusion des tubuli dentinaires suite à l'application du produit (Sharma et coll. 2010).

Le mécanisme d'action est le suivant : la dentine, chargée négativement, attire l'Arginine qui est chargée positivement. Le carbonate de calcium qui est associé à l'Arginine pourra

ainsi s'apposer sur la surface dentinaire et à l'intérieur des tubuli dentinaires. L'arginine est un acide aminé possédant un pH physiologique (6,5-7,5). Lorsqu'il est fixé sur la surface dentinaire, il crée un environnement alcalin, propice à l'arrivée de calcium et d'ions phosphates endogènes de la salive qui se déposent alors sur la surface dentinaire exposée. Il se forme ainsi un bouchon qui obture les tubuli dentinaires (**Fig 3b**). Les mouvements hydrodynamiques du fluide sont donc neutralisés par isolation des tubuli dentinaires de l'environnement buccal.



**Figure 3** : (a) Image de la surface dentinaire obtenue à l'aide d'un AFM. La dentine n'est pas traitée et présente des tubuli dentinaires ouverts et exposés au milieu buccal.

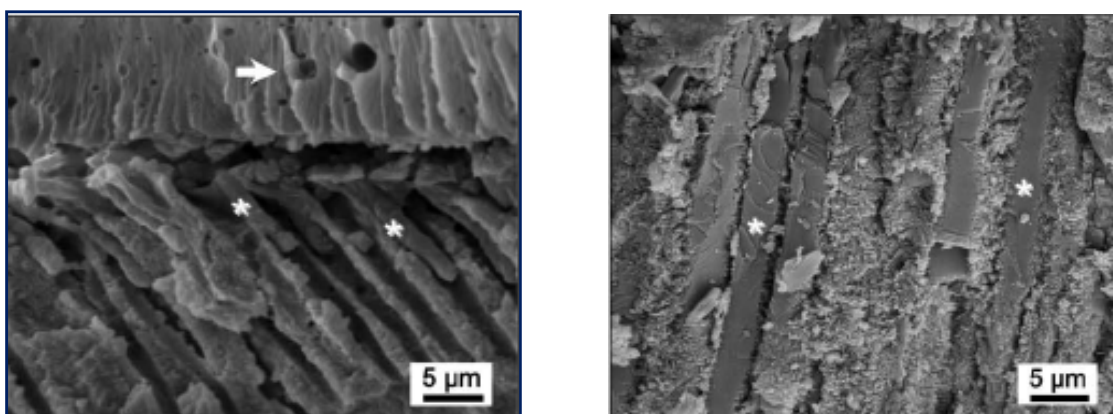
(b) Surface dentinaire après application du ProClude™. Les tubuli sont obturés, une couche protectrice isole la dentine du milieu extérieur et scelle les tubules ouverts (Sharma et coll. 2010).

Une autre étude présente également un nouveau biomatériau afin de traiter l'hypersensibilité dentaire. Il s'agit d'une substance à base de silice mésoporeuse qui contient des nanoparticules d'oxyde de calcium mélangées à 30% d'acide phosphorique, appelée NCMS (nano CaO mesoporous silica).

Ce biomatériau est sursaturé en ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{HPO}_4^{2-}$  qui diffusent en profondeur dans les tubuli dentinaires où ils forment un précipité de  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  sur une longueur de 100  $\mu\text{m}$  (**fig 4 droite**). Cette précipitation permet d'obturer les tubuli dentinaire efficacement grâce à la taille nanométrique des particules qui possèdent une énergie de surface, une

superficie totale et une solubilité supérieure aux désensibilisants classiques, tel que le Seals and Protect® qui n'atteint que 15  $\mu\text{m}$  d'obturation des tubuli (fig 4 gauche).

Cette nouvelle substance permet donc de réduire significativement la perméabilité dentinaire même lors d'une stimulation pulpaire. Le NCMS présente ainsi un fort potentiel mais de nouvelles recherches sont conduites afin de valider son utilisation selon des paramètres cliniques, comme la résistance à l'usure, la longévité dans la salive et la biocompatibilité (Chiang et coll. 2010).



**Figure 4** : Coupe longitudinale au microscope SEM de dentine traitée par deux désensibilisants différents. (gauche) Après application d'une couche de Seal & Protect : la résine n'est présente que jusqu'à 5-15  $\mu\text{m}$  de profondeur dans les tubuli dentinaire ; leur obturation n'est pas totale. (droite) Après application du NCMS : l'obturation des tubuli dentinaire est de 100% et le précipité est présent sur 100  $\mu\text{m}$  de profondeur (Chiang et coll. 2010).

### 2.2.1.2 Agents anti-microbiens ciblés

#### 2.2.1.2.1 Le biofilm bactérien

Il est maintenant admis que la plaque dentaire provient de la présence d'un biofilm bactérien complexe. Depuis la naissance, les bactéries colonisent les surfaces dentaires, la gencive et la cavité buccale dans son ensemble.

Les *Streptococcus mutans* sont considérés comme les principaux agents pathogènes responsables, entre autres, des caries dentaires qui représentent l'une des maladies

infectieuses les plus répandues. Ils forment un biofilm organisé, incorporé dans une matrice extracellulaire polysaccharidique qui les rend plus résistants aux agents anti-microbiens. Le biofilm comprend également de nombreuses autres espèces bactériennes qui interagissent les unes avec les autres (Sharma et coll. 2010).

#### 2.2.1.2.2 Les nanotechnologies et le biofilm bactérien

Les nanotechnologies permettent d'éclaircir le rôle des interactions inter-espèces dans le développement du biofilm. L'apport des technologies modernes dans le domaine de la microbiologie buccale permet de connaître la distribution spatiale de différentes bactéries au sein de la plaque dentaire par hybridation fluorescente in situ (Bhardwaj et coll. 2009). La concrétisation de recherches plus poussées dans ce domaine, permettrait, dans le futur, de révéler les gènes métaboliques et les facteurs de virulence des microbes buccaux.

##### 2.2.1.2.2.1 Utilisation de l'AFM

Le microscope à force atomique fournit des données uniques, sur les propriétés d'adhésion et les propriétés biochimiques de *S. Mutans*, non observables par la microscopie optique classique. Ce microscope permet également de détecter, au sein du biofilm, les bactéries à l'origine d'une déminéralisation. L'accès au monde nanométrique permet d'engendrer des *S. Mutans* génétiquement modifiés afin d'étudier le rôle des protéines de surface et des enzymes de la bactérie ainsi que la réponse immunitaire des cellules de l'hôte. Il est prouvé que les enzymes et protéines de surface des *S. Mutans* contribuent en grande partie à la cariogénicité de ces bactéries (Bhardwaj et coll. 2009).

Les techniques traditionnelles de culture, pour la détection et la quantification des bactéries cariogènes dans la plaque dentaire ou dans un échantillon de salive, restent lentes et ne permettent que la détection des bactéries cultivables. Les nanotechnologies offrent la possibilité de détecter à la fois les cellules cultivables mais également les cellules non cultivables grâce à l'utilisation de nanopuces.

#### 2.2.1.2.2.2 Utilisation de nanocapteurs de pH

L'acidité de la plaque est un bon indice pour contrôler la déminéralisation de la dent, ainsi, des microcapteurs peuvent permettre de connaître les variations du pH. La taille de ces capteurs de pH prototypes peut être encore réduite, de l'ordre du nanomètre afin de rendre ce dispositif plus agréable d'utilisation pour le patient et le clinicien.

Les nanotechnologies peuvent être utilisées pour détruire sélectivement les bactéries cariogènes tout en préservant la flore buccale saine. Cette approche permettrait une action préventive et plus ciblée de la carie dentaire que la dentisterie classique. Plusieurs projets de recherche en cours, offrent de nouvelles directions dans le traitement de la carie dentaire (thérapie anti-microbienne ciblée, vaccination...).

#### 2.2.1.2.2.3 Utilisation de nanoparticules d'Argent

Il a été démontré qu'une nouvelle nanotechnologie, basée sur l'utilisation de nanoparticules d'argent, serait efficace pour lutter contre le biofilm. De nombreux travaux sur l'argent prouvent sa capacité à perturber des fonctions critiques chez les micro-organismes. Par exemple, il a une haute affinité pour les molécules biologiques chargées négativement comme le sulphydryl, le carboxyl, le phosphate et d'autres groupes que l'on retrouve en quantité dans les cellules microbiennes. L'argent attaque des sites multiples à l'intérieur de la cellule pour inactiver des fonctions physiologiques comme la synthèse de paroi cellulaire, de membrane de transport, la synthèse et la traduction d'acides nucléiques (A.R.N. et ADN), le pliage de protéines et la fonction et le transport d'électrons.

De récentes études ont montré que cette nanotechnologie basée sur l'emploi de l'argent est efficace contre les pathogènes d'un biofilm incluant E.coli, S.pneumoniae, S.pneumoniae, S.aureus et A.niger (Ryan, 2005).

La caractérisation, à l'échelle nanométrique, de la structure des cellules et de leurs propriétés fonctionnelles est donc un point important pour explorer la nature cariogène des microbes buccaux.

Dans l'avenir, les chercheurs visionnaires parlent d'un bain de bouche comportant des nano-robots capables d'identifier et de détruire les bactéries pathogènes en permettant à la flore buccale saine de perdurer dans un écosystème sain. Ces dispositifs pourront détecter les particules de nourriture, la plaque ou le tartre, les décoller et les propulser loin des dents. Ces nano-robots seront en suspension dans le liquide du bain de bouche et pourront ainsi atteindre des zones inaccessibles à la brosse à dent ou au fil dentaire. Ils seront conçus avec une durée de vie de seulement quelques minutes dans l'organisme, ensuite, ils se réduiront en morceaux et seront éliminés par le corps de façon similaire aux fibres contenues dans la nourriture (Bhardwaj et coll. 2009).

### 2.2.1.3 De nouveaux bio-marqueurs pour la détection du cancer buccal

La détection précoce des pathologies joue un rôle crucial pour le succès d'un traitement. Dans la plupart des cas, les chances de guérison augmentent avec la rapidité du diagnostic. Une bonne prise en charge de la maladie, particulièrement au début, peut radicalement modifier la sévérité de son impact sur la vie du patient et peut retarder l'apparition de complications ultérieures. Chacun a conscience de l'importance de bilans de santé réguliers, cependant, certaines maladies ne sont pas diagnostiquées avant que des symptômes morbides ne deviennent apparents, seulement tardivement. Il s'agit notamment du cas des cancers de la sphère ORL qui sont presque tous indolores au départ. De plus, les symptômes ont beaucoup de similitude avec ceux d'une affection grippale et sont donc souvent considérés comme des signes ordinaires.

Pour surmonter ce défi, les chercheurs se sont consacrés à la recherche de biomarqueurs moléculaires qui révèlent une menace mortelle avant l'apparition des complications d'une maladie. Ces marqueurs pourraient être de l'ARN, de l'ADN ou des protéines qui agissent comme des indicateurs d'un état physiologique particulier.

Les scientifiques ont déjà démontré que des modifications génétiques peuvent être détectées aussi bien intra-cellulairement qu'extra-cellulairement par diagnostic moléculaire. Les protéines et les acides nucléiques anormaux sont identifiables dans les liquides physiologiques des patients comme le sang, l'urine et le liquide cérébro-spinal.

Actuellement, le développement du dépistage des maladies par diagnostic moléculaire est freiné par trois limitations majeures, à savoir : le manque de biomarqueurs moléculaires pour des maladies particulières, l'absence d'une prise d'échantillon non-invasive et peu coûteuse, l'absence de dispositifs portables et facile d'utilisation pour permettre l'accès au dépistage pour le plus grand nombre.

Depuis 2002, l'Institut national de Recherche Dentaire et Cranio-faciale (NIDCR) a surmonté ces difficultés en explorant les liquides buccaux comme outil de diagnostic. La salive présente l'avantage de contenir de nombreuses protéines et molécules génétiques et d'être accessible via des méthodes totalement non-invasives. La présence de biomarqueurs salivaires en abondance apporte des perspectives prometteuses en matière de diagnostic précoce.

Les applications du diagnostic salivaire permettraient donc de détecter les pathologies buccales mais les chercheurs évoquent également une utilisation pour le dépistage des maladies systémiques car la salive est composée de diverses molécules qui sont filtrées, traitées et sécrétées par la vascularisation, qui nourrit les glandes salivaires. Les biomarqueurs salivaires s'avèreraient donc être des outils hautement informatifs de l'état de santé général. Ce concept établit ainsi un lien entre la recherche de la santé buccale et le diagnostic de maladie systémique (Lee et Wong, 2009).

#### 2.2.1.3.1 Propriétés de la salive comme fluide diagnostic

Comme le sang, la salive est un liquide complexe contenant des enzymes, des hormones, des anticorps, des constituants antimicrobiens et des facteurs de croissance. Nombre d'entre eux arrivent dans la salive par le sang en passant par des espaces inter-cellulaires. Donc, la plupart des composés trouvés dans le sang sont aussi présents dans la salive, ainsi la salive est fonctionnellement équivalente au sérum dans le reflet de l'état physiologique de l'organisme, y compris des variations émotionnelles, hormonales, nutritionnelles et métaboliques.

La faible concentration des divers composants salivaires ayant des propriétés diagnostiques, comparée aux concentrations sanguines, peut être un obstacle pour l'obtention d'un diagnostic salivaire. Cependant, grâce au développement de nouvelles techniques, telle que les nanotechnologies, la faible concentration de biomarqueurs n'est plus une difficulté. Aujourd'hui, un nombre croissant d'essais sont réalisés, sur des échantillons salivaires, afin de visualiser les réactions immunitaires face aux infections virales (telles que les hépatites A, B et C) ou pour la détection de drogue (Kidwell et coll. 1998).

#### 2.2.1.3.2 Les avantages du fluide salivaire

Les principaux avantages de la salive comme outil de diagnostic sont la facilité d'obtention d'un échantillon et son caractère totalement non-invasif donc non-traumatique pour le patient. La salive est également un outil très économique car elle est beaucoup plus facile à manipuler, à stocker et à expédier que des échantillons de sang ou d'urine. Notons, par exemple, que contrairement au sang, la salive ne fait pas de caillot donc le nombre de manipulations exigées sur un échantillon salivaire sera moins important que sur un échantillon sanguin, réduisant ainsi le coût de la mise en œuvre d'une telle méthode.

De plus, concernant les professionnels de santé, la manipulation d'échantillons de salive est moins dangereuse car le sérum expose davantage les opérateurs aux maladies portées par le sang.

Enfin, le caractère non anxiogène du prélèvement de salive peut inciter les gens à se faire dépister plus rapidement.

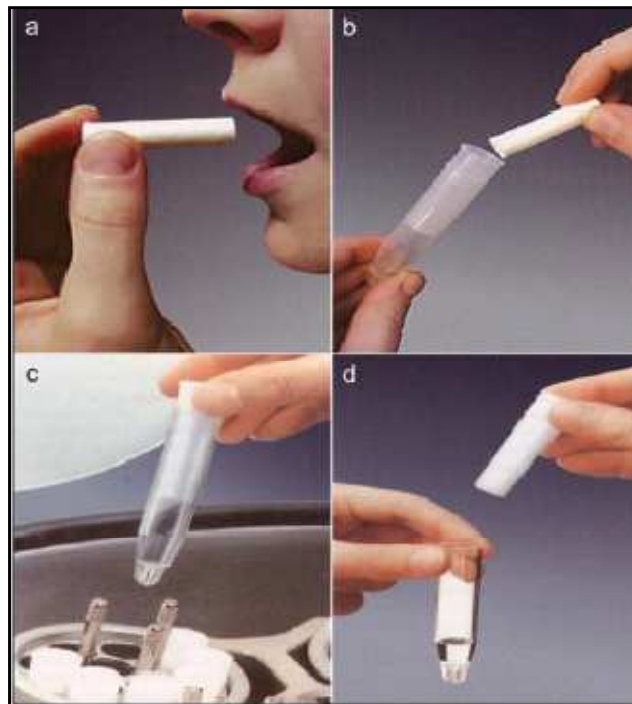
#### 2.2.1.3.3 Obtention d'un échantillon salivaire

Les constituants salivaires varient selon la méthode de récolte de l'échantillon et selon le flux salivaire. La distinction des différentes méthodes est basée sur l'utilisation ou non de stimuli (**fig 5**).

La salive stimulée est généralement obtenue par la mastication d'une cire de paraffine ou d'un chewing-gum afin d'augmenter le débit salivaire, il s'agit de la méthode par absorption. Cette méthode affecte évidemment la quantité et le pH de la salive et n'est généralement utilisée que chez les patients ne produisant pas assez de salive.

La salive non stimulée est récoltée sans stimulation exogène et son débit dépend surtout du degré d'hydratation. Les trois méthodes les plus utilisées pour obtenir un échantillon de salive non stimulée sont : l'écoulement, le crachement et la succion.

Quelque soit la méthode employée, les patients doivent au préalable se rincer soigneusement la bouche avec de l'eau afin d'éviter tout polluant.



**Figure 5** : Obtention d'un échantillon salivaire (Lee et Wong, 2009)

- (a) La salive est collectée par mastication d'un coton salivaire.
- (b) Le coton salivaire est déposé dans un tube.
- (c) L'ensemble est placé dans une centrifugeuse.
- (d) La salive est séparée du coton et est prête pour l'analyse.



**Figure 6:** Oral Fluid NanoSenser Test (OFNASET): il permet la détection instantanée de biomarqueurs salivaires comme les protéines salivaires multiples et les acides nucléiques (Lee et Wong, 2009).

#### 2.2.1.3.4 Etude de l'échantillon salivaire

De récentes études ont montré qu'en plus des familles de protéines salivaires majeures, la salive contient également des centaines de protéines mineures, présentes en basse concentration, mais qui peuvent jouer un rôle important pour le dépistage des pathologies (**fig 6**).

En plus de l'étude du protéome, la technologie transcriptomique a fait avancer plus loin les applications médicales du diagnostic salivaire.

##### 2.2.1.3.4.1 Découverte des biomarqueurs salivaires par la technologie protéomique

Le protéome correspond à l'ensemble des protéines synthétisées par une cellule, une partie d'une cellule ou un groupe de cellules. Ce terme provient de la contraction de protéine et de génome : le protéome est aux protéines ce que le génome est aux gènes. Mais, la complexité du protéome est supérieure à celle du génome car un gène peut coder plusieurs protéines.

Le protéome dans les fluides corporels est d'une grande valeur car il est la source des marqueurs de la maladie. En principe, une analyse globale du protéome salivaire d'un patient peut fournir un spectre complet de son état général et buccal. L'analyse du

protéome permet également de détecter tout signe de morbidité dès les premiers stades de la maladie et, ensuite, de contrôler sa progression.

Généralement, l'expression des protéines est analysée par électrophorèse sur gel polyacrylamide en une ou deux dimensions (PAGE). Le développement de nouvelles techniques, comme la spectrométrie de masse et certaines méthodes d'ionisation, permet d'identifier la composition complexe de la salive.

Depuis 2009, les scientifiques ont identifié plus de mille protéines dans les glandes salivaires majeures. Pour la plupart, leur expression dans la salive est très distincte de celle dans le sérum ou dans les larmes. Leur potentiel diagnostique a été démontré pour des pathologies présentant des manifestations buccales.

Prenons l'exemple du syndrome de Gougerot-Sjögren : il s'agit d'une maladie auto-immune qui est cliniquement visible par la présence d'une sécheresse buccale (xérostomie) et d'une sécheresse oculaire. Cette pathologie s'accompagne de modifications des constituants salivaires spécifiques, telles qu'une augmentation des protéines inflammatoires et une diminution des protéines acinaires (Hu et coll. 2007).

D'autres recherches ont montré que la salive est un outil important pour la détection du carcinome oral de squamous-cellule (OSCC). Trois marqueurs de tumeur (Cyfra 21-1, un antigène de polypeptide tissulaire (TPA) et l'antigène de cancer CA125) sont significativement plus élevés dans la salive des patients atteints.

Récemment, des laboratoires ont découvert un panel de biomarqueurs salivaires hautement discriminatoire afin de détecter le cancer buccal. Cinq protéines salivaires (M2BP, MRP14, la profiline, CD59 et la catalase) ont été validées comme ayant la capacité de détecter un cancer buccal avec une fiabilité supérieure à l'exactitude clinique de 90%.

L'impact des constituants protéomiques salivaires n'est pas limité au syndrome de Gougerot-Sjögren, au carcinome oral squamous-cellule et à la sphère orale. En effet, il a été démontré que la mesure d'anticorps anti-VIH dans la salive s'avère aussi précise que la

mesure dans le sérum. Un test salivaire a été commercialisé sous le nom d'OraQuick® (Fig 7). En pratique, ce test salivaire s'avère moins fiable que le test sanguin et est donc systématiquement suivi d'un prélèvement sanguin de confirmation, notamment s'il est positif.



**Figure 7** : Oraquick® (Malone, 2011)

(gauche) Application du dispositif au contact de la salive.

(droite) La ligne C correspond à la ligne « contrôle », elle permet de valider le résultat du test. La ligne T correspond à la présence anticorps anti-HIV. Donc, lorsque le test ne présente qu'une barre, le test est négatif et lorsque deux lignes apparaissent, le test au HIV est positif.

De nouvelles études suggèrent que la mesure de l'antigène de cancer CA125 salivaire et d'un facteur de croissance épidermique puisse permettre le diagnostic du cancer des ovaires et du cancer du sein.

Les recherches afin de décrypter l'intégralité du protéome salivaire ont progressé rapidement avec le développement de la spectrométrie de masse et des techniques de séparation des protéines. Une base de données centrale de protéines salivaires connues a été établie.

Cette classification des protéomes salivaires sera une ressource importante pour les chercheurs qui étudient la chimie des protéines, particulièrement dans le domaine de la biologie orale et du diagnostic salivaire. Elle sera utile pour analyser toute modification de

l'expression des protéines salivaires en lien avec différentes maladies et permettra d'identifier la correspondance entre biomarqueurs salivaires et telle ou telle maladie.

#### 2.2.1.3.4.2 Découverte de biomarqueurs salivaires par la technologie transcriptomique

La découverte du protéome salivaire a été suivie par celle du transcriptome salivaire qui inclus les molécules d'ARNm que les cellules utilisent pour transmettre l'information portée par l'ADN pour la production de protéines ultérieures. Cette découverte peut être présentée comme un deuxième alphabet diagnostique dans la salive.

L'Institut National du Cancer (NCI), vient d'achever une étude de validation indépendante de biomarqueurs d'ARN salivaires, permettant la détection du cancer buccal. Cette enquête a confirmé la valeur clinique de l'ARN salivaire pour la détection du cancer buccal.

### 2.2.2 Nanotechnologies et matériaux dentaires

#### 2.2.2.1 Les implants dentaires en titane

##### 2.2.2.1.1 Caractéristiques générales du titane

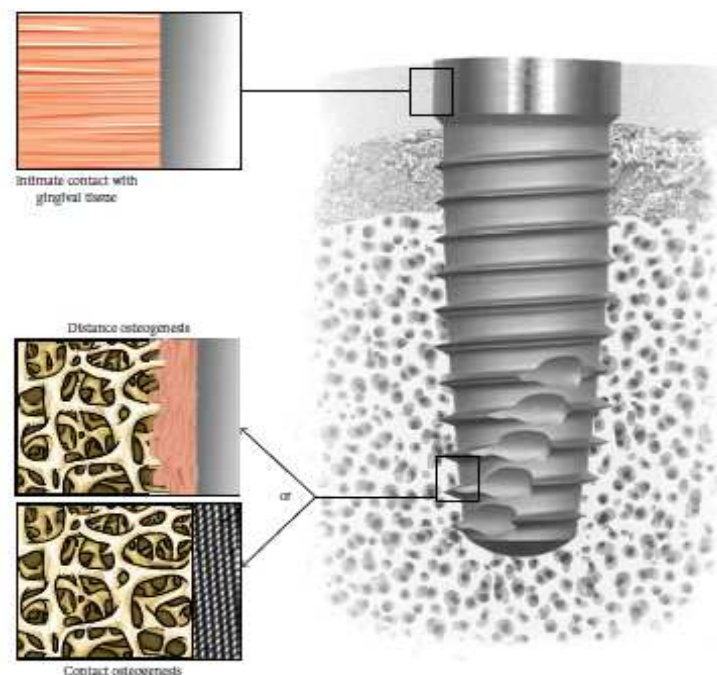
Le titane présente une excellente biocompatibilité, des propriétés mécaniques et des propriétés de surface qui font de lui, un biomatériau de choix pour l'implantologie. La principale propriété de surface du titane est sa capacité à former spontanément une couche stable d'oxyde de passivation, d'une épaisseur de 4 à 6 nm qui le protège de la corrosion. Cette couche d'oxydation se compose d'un mélange des oxydes  $TiO_2$ ,  $TiO$ ,  $Ti_2O_3$ . Cependant, la faible épaisseur de ce film le rend mécaniquement fragile, même si une fois dégradé, il se reforme de lui-même en quelques millisecondes. La dissolution d'ions métalliques dans le corps humain pendant sa régénération peut induire la libération de cytokines ostéolytiques impliquées dans le rejet de l'implant (Jacota Popescu, 2008).

La modification de la surface de l'implant, peut changer la topographie et la chimie de surface et affecter ainsi directement les réactions biologiques. Le but de ce changement est d'améliorer l'interaction de l'implant avec l'environnement biologique, et de protéger au

mieux le titane contre toute attaque corrosive, sur une période la plus longue possible. Le traitement va consister à recouvrir la surface d'une couche d'un matériau bioactif : l'un des matériaux minéraux les plus utilisés est le phosphate de calcium de type apatite, qui est la composante minérale principale des os.

#### 2.2.2.1.2 Généralités sur les implants dentaires

Les implants sont généralement utilisés en chirurgie dentaire pour remplacer une ou plusieurs dents manquantes. L'un des défis de l'implantologie est de réaliser et de maintenir l'ostéointégration, aussi bien que la jonction épithéliale du tissu gingival avec l'implant. Une jonction intime du tissu gingival avec le col de l'implant peut empêcher la colonisation bactérienne à l'origine des péri-implantites tandis qu'une apposition osseuse directe au niveau radiculaire permet d'assurer un ancrage de la racine artificielle (**fig 8**) (Lavenus et coll. 2010).



**Figure 8** : Intégration tissulaire de l'implant dentaire. Le col de l'implant présente un contact intime avec le tissu gingival afin de prévenir la colonisation bactérienne, tandis que la partie inférieure présente une apposition osseuse directe, pour favoriser l'ancrage biomécanique de la racine artificielle (Lavenus et coll. 2010).

La première étape de l'ostéointégration d'un implant est appelée stabilité primaire et est liée à l'ancrage mécanique, la conception de l'implant et à la structure osseuse. Ce premier processus diminue avec le temps au profit de l'ancrage secondaire qui est caractérisé par une apposition biologique située entre le tissu osseux et la surface de l'implant. Après l'ancrage primaire mécanique et l'ancrage secondaire biologique, une diminution de la stabilité de l'implant peut être observée.

Beaucoup d'études ont essayé d'améliorer l'ostéointégration des implants par des modifications de leur surface. L'objectif est de pouvoir fournir un implant dont la surface comporte des propriétés biologiques telles que l'adsorption de protéines, l'adhésion et la différenciation des cellules et l'intégration tissulaire. Ces propriétés biologiques sont liées à la composition chimique, la mouillabilité et la rugosité de la surface de l'implant métallique. Cependant, le contrôle de ces propriétés de surface au niveau des protéines et au niveau cellulaire, donc dans le domaine du nanomètre, reste un défi pour les chercheurs et les fabricants d'implants dentaires.

Les nanotechnologies permettent de produire des surfaces avec une topographie et une chimie contrôlées, ce qui aboutirait à la compréhension des interactions biologiques et au développement de nouvelles surfaces d'implant avec des propriétés d'intégration tissulaire prévisibles. Des méthodes de traitement diverses tirées de l'industrie électronique comme la lithographie, l'implantation ionique, l'anodisation et les traitements du plasma à des fréquences radio peuvent être appliquées à la surface des implants dentaires pour produire des caractéristiques contrôlées à l'échelle de nanomètre. Ces surfaces peuvent alors être examinées lors d'essais *in vitro*. Par exemple, l'adsorption de protéines spécifiques, l'adhésion cellulaire et la différenciation de cellules souches devraient être étudiées par rapport aux propriétés de surface. Cette approche peut définir la surface idéale pour une réponse biologique spécifique. Après la sélection *in vitro*, les nanostructures de surface pourront ensuite être testées sur des modèles animaux pour valider les hypothèses établies dans un environnement *in vitro* complexe.

### 2.2.2.1.3 Modification de la surface de l'implant à l'échelle nanométrique

Les propriétés de surface de l'implant jouent un rôle essentiel dans les interactions biologiques. La rugosité et la morphologie, à l'échelle du nanomètre, sont des paramètres primordiaux lors des interactions entre les cellules, les protéines et la surface implantaire. En effet, ce sont les toutes premières interactions qui conditionneront la réussite ou l'échec de l'intégration tissulaire finale. Dans cette perspective, les scientifiques cherchent des méthodes afin d'améliorer la guérison osseuse autour de l'implant métallique (Le Guéhennec et coll. 2007).

#### 2.2.2.1.3.1 L'anodisation

L'anodisation est un traitement de surface qui permet de protéger les alliages d'aluminium (cas des implants en  $TiAl_6V_4$ ) par oxydation anodique. Elle octroie aux matériaux une meilleure résistance à l'usure, à la corrosion et à la chaleur.

La destruction du sable d'anodisation, l'acide-etching, la greffe de produits chimiques et l'implantation ionique étaient les méthodes les plus couramment utilisées pour modifier la rugosité superficielle de l'implant. Une combinaison de ces méthodes pourrait être employée. L'acide pourrait créer de petites anfractuosités et agir après la destruction du sable d'anodisation afin d'éliminer les résidus, sur la surface de l'implant. Ces résidus de sable peuvent contaminer la surface implantaire et ainsi perturber l'ostéointégration de l'implant (Müller et coll. 2003).

Il a été démontré que l'utilisation de particules de céramique de phosphate de calcium biphasique (BCP), pour détruire le sable d'anodisation, produit une rugosité moyenne très intéressante, de plus, aucune particule ne subsisterait sur la surface de l'implant après le passage de l'acide-etching.

D'après des études menées in vitro et in vivo, l'utilisation des particules de BCP provoquerait une différenciation des ostéoblastes et une apposition osseuse plus précoce que lorsque la surface est polie-miroir ou traitée avec des particules d'alumine pour la destruction du sable d'anodisation (CITEAU et coll. 2005).

L'anodisation est la méthode généralement utilisée et permet d'obtenir des oxydes nanométriques, à la surface du titane. Les scientifiques peuvent contrôler les propriétés nanométriques, notamment le diamètre des nanotubes d'oxydes, en ajustant les différents paramètres de l'anodisation (la tension, le temps...). Les oxydes nanométriques de  $\text{TiO}_2$  provoquent une augmentation de la production de la phosphatase alcaline par les cellules ostéoblastiques. Des études ont révélé que cette augmentation est d'autant plus significative lorsqu'on obtient des nanotubes d'un diamètre de 100nm.

Il faut savoir que la membrane des ostéoblastes est riche en phosphatase alcaline. Cette enzyme passe dans le sang circulant et peut être dosée, elle est admise comme un index de la formation osseuse. Les modifications de surface générant des oxydes nanométriques prouvent donc que l'intégration tissulaire et osseuse est améliorée (BRAMMER et coll. 2009).

#### 2.2.2.1.3.2 Le phosphate de Calcium

Une autre technique permet d'améliorer l'ostéointégration des implants dentaires. Elle consiste à appliquer une couche de phosphate de calcium (CaP), qui possède des propriétés ostéoinductrice, sur la surface implantaire.

Différentes méthodes, telle que la pulvérisation de plasma ou le dépôt par électrophorèse, ont été développées pour recouvrir le métal de l'implant d'une couche ostéoinductrice.

Cependant, des études révèlent que la pulvérisation de plasma, à l'origine d'un recouvrement par de l'Hydroxyapatite (HA), peut être source d'échecs cliniques en raison de la dissolution hétérogène de l'HA qui provoque une perte d'attache de l'implant. De plus, l'HA est rugueux, ce qui déclenche une réponse inflammatoire initiatrice d'une résorption osseuse (Sun et coll. 2001).

Un procédé électrochimique qui consiste à déposer des cristaux de phosphate de calcium issus de solutions sur-saturées, permet de recouvrir le titane de couches de phosphate de calcium (Lopez-Heredia et coll. 2007). Ces couches se dissolvent et libèrent du  $\text{Ca}^{2+}$  et du  $\text{HPO}_4^{2-}$  qui augmentent la saturation sanguine dans la région péri-implantaire. Cette

dissolution mène à la précipitation de nanocristaux d'apatite biologique et de diverses protéines. Cette couche d'apatite biologique va promouvoir l'adhésion cellulaire, la différenciation des ostéoblastes et la synthèse de collagène minéralisé qui constitue la matrice extra-cellulaire du tissu osseux. Elle peut donc être assimilée à un substrat servant à la production de tissu osseux par les ostéoblastes. Ce phénomène est amplifié par les ostéoclastes qui participent à la résorption des couches de CaP et par leur capacité à activer la synthèse de tissu osseux des ostéoblastes.

Par conséquent, ces couches de CaP favorisent un contact direct entre l'implant et l'os, sans qu'aucune couche tissulaire ne puisse interférer, ce qui mène à un ancrage biomécanique approprié à l'implant dentaire.

De plus, il est possible d'incorporer des antibiotiques ou des facteurs de croissance lors de la dissolution des couches de CaP, sur la surface en titane de l'implant. Les molécules peuvent être libérées localement et progressivement, dans la région péri-implantaire, afin de prévenir une infection bactérienne ou de stimuler la croissance osseuse.

#### 2.2.2.1.4 Interactions entre la surface de l'implant et le sang

Lors de la chirurgie, des vaisseaux sanguins sont lésés et, ainsi, la surface des implants dentaires interagit avec les composants du sang. Diverses protéines plasmatiques sont adsorbées sur la surface implantaire en très peu de temps. Les plaquettes sanguines interagissent elles aussi avec la surface de l'implant. Les protéines plasmatiques vont modifier la surface et les plaquettes activées seront responsables de la formation d'un thrombus participant ainsi à la coagulation sanguine. Par la suite, de nombreux types cellulaires vont migrer et interagir avec la surface implantaire. Ces événements précèdent la guérison tissulaire péri-implantaire.

Après l'absorption de protéines, l'adhésion des plaquettes et la formation de caillots de fibrine sur les lésions des vaisseaux sanguins vont initier l'ostéointégration. Des études ont démontré que le contact entre l'implant et un plasma riche en plaquettes (environ 1 000 000 protéines par microlitre) présente un effet bénéfique sur l'ostéointégration.

Le plasma contient des substances dissoutes comme le glucose, des acides aminés, du cholestérol, des hormones, l'urée et divers ions. La plupart de ces composants sont nécessaires pour la viabilité de cellules et des tissus. Tous ces éléments du sang peuvent interagir avec la surface de l'implant et ainsi, subir des modifications de leurs propriétés chimiques telles que leur charge ou leur caractère hydrophobe. Les interactions entre le sang et la surface de l'implant dépendent des propriétés de surface de l'implant. Il va en découler une série complexe d'adsorption et de déplacement connus sous le nom de Vroman effect (Miller et coll. 2006).

Une surface hydrophile permet une meilleure coagulation du sang qu'une surface hydrophobe. Par conséquent, les fabricants d'implants dentaires ont développé des implants en privilégiant le caractère hydrophile et la rugosité, ce qui permet une meilleure ostéointégration que les implants conventionnels (Sawase et coll. 2008).

#### 2.2.2.1.5 Interactions entre l'implant et les cellules souches mésenchymateuses

Suite à la coagulation sanguine autour de l'implant, de nombreuses cellules viennent interagir avec la surface implantaire pour la guérison tissulaire. Les cellules souches mésenchymateuses (MSCs) recrutées au niveau du site chirurgical, par des facteurs chimiotactiques, ont un rôle déterminant pour la guérison tissulaire péri-implantaire. Les cellules souches mésenchymateuses sont des cellules souches tissulaires pluripotentes donnant naissance aux tissus conjonctifs du squelette : os, cartilage, stroma médullaire à différenciation vasculaire musculaire lisse et adipocytes. Ces cellules adhèrent aussi bien à la matrice extra-cellulaire qu'à la surface de l'implant. Ainsi, leur prolifération au niveau du site lésé va initier la synthèse de nouveaux tissus. De nouveau, les modifications de surface de l'implant, à l'échelle nanométrique, vont conditionner les futures réponses biologiques.

Dans ce micro-environnement, les MSCs sont stimulés par des facteurs spécifiques afin qu'elles se différencient en une lignée cellulaire adéquate. Sous l'influence de ces facteurs, les MSCs se changent en ostéoblastes au contact de tissu osseux tandis qu'ils se

différencient en fibroblastes au contact du tissu gingival. Ces deux types de différenciation sont en concurrence au niveau du site implantaire.

Dans certains cas, l'implant est encapsulé par du tissu fibreux en raison de la prolifération et de la différenciation des cellules souches mésenchymateuses en fibroblastes. En réponse à la cytokine, les fibroblastes migrent et produisent une capsule de collagène autour de l'implant. Il s'agit de la première étape de la régénération du tissu gingival. Cependant, la capsule fibreuse empêche tout comblement entre l'os environnant et la surface implantaire, par absence de contact avec l'os, ce qui conduira à un rejet de l'implant (Hobkirk, 1983). Cette différenciation en fibroblaste n'est recherchée que sur la partie supérieure de l'implant, afin d'obtenir une bonne intégration gingivale.

La surface de l'implant peut être modifiée à l'échelle du micromètre et du nanomètre par de nombreux procédés, ce qui aura pour conséquence des modifications des propriétés telles que la rugosité, la morphologie ou la mouillabilité, qui affecteront la formation osseuse autour de l'implant.

Une étude a spécifiquement démontré que la création de nano-rugosités et de nanotubes de titane stimule la différenciation et l'adhésion des ostéoblastes, en comparaison avec une surface implantaire lisse, au profit des fibroblastes (Yao et coll. 2008).

De nombreuses études affirment que les surfaces qui présentent des micro- et des nanoporosités améliorent l'ostéointégration (Oh et coll. 2005).

Selon une étude, la création de nanopores de 30 nm permettrait une meilleure adhésion cellulaire et une différenciation plus précoce des ostéoblastes et, par conséquent, une ostéointégration des implants plus rapide (Lavenus et coll. 2011).

Les propriétés de surface peuvent donc contrôler l'adhésion, la prolifération et la différenciation des cellules souches mésenchymateuses et ainsi, agir directement sur l'intégration de l'implant.

De nombreuses études ont montré que le contrôle, à l'échelle nanométrique, de la surface implantaire avait d'importantes répercussions sur les premières étapes de l'ostéointégration telles que l'adsorption des protéines, la formation de caillots sanguins et le comportement

cellulaire sur le site implantaire. Ces évènements ont un impact important sur la migration, l'adhésion et la différenciation des cellules souches mésenchymateuses. Les paramètres nanométriques peuvent donc définir la lignée issue de la différenciation et, par conséquent, la nature du tissu péri-implantaire.

Malgré d'actives recherches dans ce domaine, la surface implantaire idéale pour une intégration tissulaire totalement prévisible reste un défi.

#### 2.2.2.2 Les nanocomposites

##### 2.2.2.2.1 Composition des composites dentaires

Un matériau composite se caractérise par sa structure qui comprend :

- Une matrice organique (résine) qui représente 30 à 50 % du volume total du matériau ; elle est formée de monomères essentiellement des diméthacrylates, de haute viscosité, (BisGMA et UDMA) et des diluants de basse viscosité (TEGDMA),
- Une phase dispersée de haute résistance minérale ou organo-minérale, variable en pourcentage et en granulométrie : la charge ; il s'agit de particules de différentes tailles, pouvant aujourd'hui atteindre le nanomètre, et de différentes compositions (hybride),
- Un agent de liaison : C'est un silane qui permet la liaison entre les charges et la matrice. Il conditionne le bon comportement mécanique et physique du matériau. Le vieillissement des composites (usure, ternissement, fracture) est dû en partie à l'hydrolyse des liaisons charges / matrice.

Des adjuvants sont ajoutés, ce sont des substances qui influencent la réaction de polymérisation (initiateurs, accélérateurs, inhibiteurs) ou qui interviennent sur l'esthétique du matériau (stabilisants : absorbeurs anti-UV, pigments...) (Roth, 1991).

#### 2.2.2.2.2 Caractéristiques des composites dentaires

Des recherches ont permis d'améliorer la composition des résines, le mode opératoire, la résistance à l'usure, la résistance aux fractures et la rétraction de prise lors de la polymérisation (Kramer et coll. 2006).

Cependant, de récentes études montrent que la fracture des restaurations et la présence de caries secondaires restent les deux objectifs principaux (Sarett, 2005). Bien que les composites soient généralement satisfaisants pour des restaurations de faibles étendues, ils ne sont pas recommandés pour des restaurations de grandes étendues soumises à d'importantes forces masticatoires (Sakaguchi, 2005).

La carie secondaire, qui correspond à la reformation d'une carie sous une restauration initiale, est citée comme la cause la plus fréquente du remplacement de restaurations existantes. Plus de la moitié des restaurations effectuées chaque année sont remplacées générant ainsi un coût très élevé : 5 milliards de dollars par an aux Etats Unis (Jokstad et coll. 2001).

La libération d'ions Fluorure se révèle être un atout substantiel pour les restaurations dentaires. Le fluorure peut enrichir l'émail et la dentine situés à proximité et, ainsi, combattre l'apparition de caries secondaires. Divers matériaux peuvent permettre ce relargage de fluorure tels que les verres ionomères, les verres ionomères modifiés par de la résine, les compomères et les résines composites (Anusavice, 2005).

Ces matériaux ont reçu beaucoup d'attention en raison de leur libération significative de fluorure, de leur capacité à assimiler le fluorure de la cavité buccale et à augmenter la précipitation de calcium et de phosphate issue de la libération du fluorure.

Cependant, les propriétés mécaniques inférieures des verres ionomères et des verres ionomères modifiés ont limité leur utilisation. Il avait déjà été prévu en 1988, par Wilson et Mc Lean, que le problème le plus difficile à résoudre serait le manque de solidité et de dureté. L'adjonction de résine dans la matrice n'a pas amélioré la micro-dureté des verres ionomères. De vastes études ont donc été entreprises afin de comprendre et d'améliorer les performances des matériaux de restauration qui libèrent du fluorure.

Un autre procédé visant à combattre les caries se base sur le développement de composites qui libèrent des ions calcium (Ca) et des ions phosphate (PO<sub>4</sub>). Par la suite, ces ions vont permettre la formation d'hydroxyapatite, naturellement présente au sein des dents.

D'après des études *in vitro*, ces composites induisent une reminéralisation de l'émail et de la dentine délabrée en augmentant le contenu minéral de la lésion (Dickens et coll. 2003). Cependant, tout comme la famille des verres ionomères, ces composites présentent des propriétés mécaniques relativement faibles. Par conséquent, ils ne sont pas recommandés comme matériaux de restauration (Skrtic et coll. 2000). Néanmoins, ces composites peuvent être utilisés comme sealant pour les puits et fissures dentaires dans la prévention carieuse.

Actuellement, des composites postérieurs et des composites hybrides sont disponibles pour des restaurations soumises à d'importantes forces masticatoires. Généralement, ces composites ne libèrent pas d'ions calcium, phosphate ou fluorure. Au contraire, les restaurations qui permettent ces libérations d'ions ne sont pas très résistantes aux forces masticatoires et ne sont appropriées que pour les zones antérieures.

La recherche actuelle se tourne donc sur le besoin de développer de nouveaux composites, aussi résistants que les composites postérieurs, mais avec la capacité simultanée de libérer des ions calcium, phosphate ou fluorure.

#### 2.2.2.2.3 Les composites nano-chargés sans libération d'ions

Les amas de petits atomes ou molécules dans les matériaux composés de nano-structures présentent, la plupart du temps, des propriétés (telles que la force, la conductivité ou les propriétés optiques) très éloignées de celles des matériaux conçus à une plus grande échelle.

Les propriétés les plus intéressantes et les plus exploitables dans les composites chargés de nanoparticules, sont la petite taille des particules, la grande superficie et les propriétés optiques du nouveau composite obtenu.

Les divers types de nano-charges, présentes dans les composites, incluent la silice, l'éthoxyde de tantale, l'alumine, le système silice-zircone, les nano-fibres de silicate, les particules colloïdales ordonnées et l'oxyde de titane (Xia et coll. 2008).

Ces nano-particules ont été utilisées soit comme constituant unique du nano-composite soit en association avec d'autres types de nano-particules.

Ces nanocomposites ne libèrent pas d'ions calcium, phosphate ou fluorure pour combattre la carie dentaire.

Les propriétés mécaniques de plusieurs nanocomposites se révèlent aussi bonnes que celles des composites hybrides universels (Beun et coll. 2007). Leur force de compression, de flexion et la résistance à l'usure des nanocomposites sont identiques à celles des composites hybrides (Mitra et coll. 2003). La surface des nanocomposites est plus lisse et la conservation de la brillance après le passage de la brosse à dents est meilleure, en comparaison avec les composites hybrides. Par ailleurs, la translucidité de ces nanocomposites est plus élevée que celle des composites hybrides. Par conséquent, ces nanocomposites ont été recommandés pour les restaurations aussi bien antérieures que postérieures, de part leur propriété hautement esthétique.

Cependant, des objectifs persistent en matière de développement des nanocomposites : la dispersion des nanoparticules dans la résine afin d'éviter une agglomération, la réduction du retrait de polymérisation, tout en conservant une bonne faisabilité et un faible coût de fabrication. De plus, de nouvelles études sont nécessaires afin d'améliorer la compréhension des effets des nano-particules, selon leur taille, leur morphologie, leur composition, leur hybridation et leur durabilité dans des conditions *in vivo*.

#### 2.2.2.2.4 Les nanocomposites avec libération de fluorure

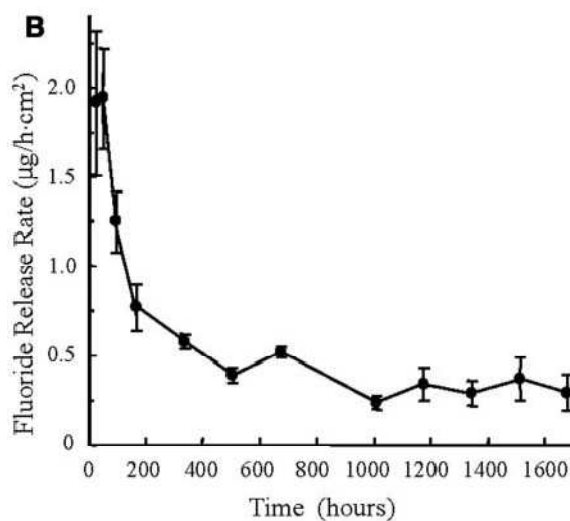
Pour prévenir l'apparition de la carie secondaire et de fracture au sein des restaurations, deux types de charges ont été utilisées dans la résine : des nano-particules de  $\text{CaF}_2$  pour la libération d'ions fluorure et des nano-particules de silice qui renforcent la capacité de résistance aux forces masticatoires (Xu et coll. 2008).

Ces composites sont dotés d'une force de flexion et d'une dureté quasiment deux fois supérieure à celles des composites traditionnels ; ils sont donc plus résistants aux phénomènes de fractures. Ils présentent également de meilleures performances concernant le vieillissement en milieu aqueux (Xu et coll. 2003), la résistance aux variations thermiques et à l'usure. Une étude in vitro a montré que ces composites étaient non cytotoxiques et qu'ils pouvaient servir de support pour l'attachement et la prolifération de cellules ostéoblastiques (Xu et coll. 2004).

Lors d'une étude récente, la libération de fluorure d'un type de ces nanocomposites, composé d'une résine chargée à 20% d'une nano-poudre de CaF, a été mesurée et révèle une libération initiale de  $1.94 \mu\text{g} / (\text{h}\cdot\text{cm}^{-2})$ . Ce taux diminue au fil des heures avec une libération de  $0.5 \mu\text{g} / (\text{h}\cdot\text{cm}^{-2})$  après 500 heures et de  $0.29 \mu\text{g} / (\text{h}\cdot\text{cm}^{-2})$  après 1680 heures soit 10 semaines (**fig 9**) (Xu et coll. 2008). Une autre étude présente un taux de libération de fluorure, pour un nanocomposite constitué d'une résine chargée de 23% de nano-poudre de CaF, mesuré à  $0.05 \mu\text{g} / (\text{h}\cdot\text{cm}^{-2})$  au 70<sup>ème</sup> jour, et, qui reste similaire au bout de 80 jours (Anusavice et coll. 2005).

Une autre étude a mesuré la libération de fluorure des verres ionomères traditionnels et des verres ionomères modifiés par adjonction de résine. Le taux de libération initiale s'élevait à  $2.9 \mu\text{g} / (\text{h}\cdot\text{cm}^{-2})$  pour un type de verre ionomère (Ketac-Fil), à  $0.4 \mu\text{g} / (\text{h}\cdot\text{cm}^{-2})$  pour un autre type de verre ionomère (Fuji II) et à  $0.4 \mu\text{g} / (\text{h}\cdot\text{cm}^{-2})$  pour un verre ionomère modifié (Vitremer) (Glasspoole et coll. 2001). Cependant, ce taux diminue et a été mesuré au 50<sup>ème</sup> jour :  $0.1 \mu\text{g} / (\text{h}\cdot\text{cm}^{-2})$  pour le Ketac Fil,  $0.03 \mu\text{g} / (\text{h}\cdot\text{cm}^{-2})$  pour le Fuji II et  $0.04 \mu\text{g} / (\text{h}\cdot\text{cm}^{-2})$  pour le Vitremer.

La comparaison des deux seuls matériaux dentaires, qui permettent actuellement une libération de fluorure, permet de conclure que la libération d'ions fluorure est en moyenne plus élevée, après 70 jours, pour les nanocomposites, par rapport aux verres ionomères (Xu et coll. 2008).



**Figure 9:** Libération de fluorure en fonction du temps par les nanocomposites à libération d'ions fluorure (Xu et coll.2008).

Les propriétés mécaniques de ces nanocomposites au CaF sont assez similaires à celles des composites hybrides.

	Nanocomposites avec CaF	Composites hybrides	CVI modifié (Vitremer)
Force de flexion	100 ± 7 MPa	108 ± 19 MPa	60 ± 6 MPa
Module d'élasticité	14.6 ± 1.2 GPa	11.6 ± 2.6 GPa	11.8 ± 1.4 GPa

Par conséquent, les nanocomposites avec CaF libèrent autant voire plus d'ions fluorure que les verres ionomères modifiés, mais ils sont mécaniquement aussi performants qu'un composite hybride sans libération d'ions.

Ceci est possible grâce à la petite taille et à la grande superficie des nanoparticules, capables de libérer des taux importants d'ions même si elles sont en faible quantité. Cette particularité permet d'incorporer d'autres types de charges, qui renforcent le composite, dans la même matrice de résine.

Néanmoins, dans ces nanocomposites, l'indice de réfraction de la résine ne correspond pas à celui des charges. Les propriétés optiques des nanocomposites à libération de fluorure restent donc à améliorer.

#### 2.2.2.2.5 Les composites nano-chargés en Ca-PO<sub>4</sub>

Des nano-particules de phosphate de calcium ont récemment été synthétisées et utilisées comme charge dans les composites (Chow et coll. 2004). Il s'agit en fait de l'utilisation d'un composant particulier du phosphate de calcium, le phosphate de dicalcium anhydre (DCPA, CaHPO<sub>4</sub>). Ce composé a été choisi car il libère du Ca<sup>2+</sup> et du PO<sub>4</sub><sup>2-</sup> et parce qu'il est également utilisé comme substitut osseux (Chow, 2000).

Selon des mesures effectuées (Xu et coll. 2006), la libération d'ions Ca et d'ions PO<sub>4</sub> augmente rapidement les premiers jours puis, atteint un plateau. Cette libération est d'autant plus importante que la quantité des nano-particules de DCPA, par rapport aux autres particules de renfort de la matrice, est grande.

Cependant, lorsque le volume DCPA augmente, la matrice de résine pourrait avoir un taux de conversion, lors de la polymérisation, légèrement plus faible, car un composite qui contient une charge élevée possède une forte concentration d'air nuisible à la conversion.

Selon plusieurs études, lorsque le Ca et le PO<sub>4</sub> sont libérés du composite, ils précipitent à nouveau en dehors du composite, dans la lésion dentaire, et forment de l'hydroxyapatite qui accroît significativement le contenu minéral de la lésion. Les composites peuvent donc participer activement à la reminéralisation dentaire.

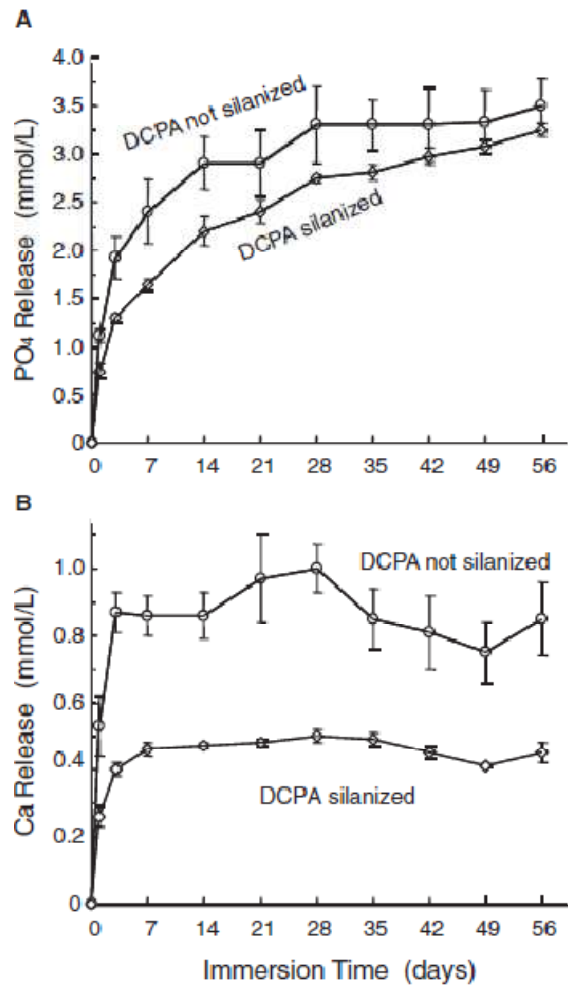
L'association de nano-particules, qui libèrent des ions Ca et PO<sub>4</sub> afin d'inhiber une carie, et de nano-particules de renfort, qui améliorent la capacité de résistance aux forces masticatoires n'a pas encore été développée, dans les matériaux dentaires actuels.

De plus, les nanocomposites qui libèrent du Ca-PO<sub>4</sub> sont relativement opaques. Donc, les recherches devront porter sur des nano-charges qui présentent : des propriétés esthétiques intéressantes, une libération d'ions, des propriétés photo-activatrices (afin d'améliorer la conversion de polymérisation) et une résistance aux forces masticatoires.

#### 2.2.2.2.6 Les effets de la taille des nano-particules de Ca-PO<sub>4</sub> et de la silanisation

Une étude récente a examiné l'effet de la taille des particules de Ca-PO<sub>4</sub> sur la libération d'ions Ca et PO<sub>4</sub> (Xu et coll. 2007). Trois différents types de charges de DCPA ont été utilisés. Le premier est une poudre constituée de nano-particules de DCPA d'une taille de 112 nm. Le deuxième est une poudre commerciale avec des particules qui présentent un diamètre de 12 µm. Le troisième possède des particules de 0.88 µm. Le composite contenant des nano-particules de DCPA est celui qui libère la plus grande quantité d'ions. La diminution de la taille des particules provoque donc une augmentation de la libération d'ions (Xu et coll.2007).

Une autre étude s'est intéressée aux effets de silanisation, sur la libération d'ions. Le silane comme agent de couplage est une couche bi-fonctionnelle qui permet d'améliorer la liaison entre la matrice et la résine et de faciliter également le mélange et la manipulation de la pâte. La poudre de nano-particules de DCPA est silanisée avec 4% de 3-méthacryloxypropyltriméthoxysilane et 2% de n-propylamine (Xu et coll. 2002). D'après cette étude, le composite qui contient du DCPA non silanisé libère plus d'ions que le composite silanisé (**fig 10**). Ce phénomène s'explique probablement par le fait que l'agent de couplage gêne la diffusion de l'eau dans les particules de la matrice résineuse et celle des ions, en dehors des particules. Donc, le procédé de silanisation est très intéressant dans le but de renforcer le composite mais, il n'est pas parfaitement approprié car il réduit la libération d'ions visant à combattre les caries dentaires.



**Figure 10** : Effets de la silanisation sur la libération d'ions.

Libération d'ions PO<sub>4</sub> (A) et d'ions Ca (B) par des nanocomposites constitués de nanoparticules de DCPA.

Les nanocomposites non-silanisés libèrent plus d'ions que les nanocomposites constitués de DCPA silanisés (Xu et coll. 2007b).

#### 2.2.2.2.7 Les recherches futures

Cette partie sur les nanocomposites pourrait se résumer au schéma suivant : Nanocomposite = nano-particules avec libération d'ions (Ca, PO<sub>4</sub>, F) + particules de renfort (agent de liaison) + matrice de résine. Cette approche pourrait s'appliquer à d'autres matériaux, en utilisant des particules différentes, qui libèrent un autre type d'ions, associées à de nouvelles particules de renfort (particule de verre, fibres de verre...).

Les recherches en cours permettront d'obtenir des nanocomposites esthétiques qui associent une libération d'ions et une dureté suffisante pour résister aux forces masticatoires et aux fractures. Ce matériau, à l'avenir, pourrait ainsi remplacer l'amalgame et le composite, aussi bien pour les restaurations antérieures que postérieures.

Ces nanocomposites à libération d'ions pourraient être recommandés, en cas de soins trop invasifs contre-indiqués, en cas de lésion carieuse débutante et pour les personnes à haut risque carieux (patients sous radiothérapie, prise de certains médicaments, hyposialie ou asialie).

### 2.2.3 L'ingénierie tissulaire

La médecine régénérative est perçue comme la médecine du futur car elle devrait permettre le remplacement ou la régénération de tissus et d'organes. Des chercheurs utilisent déjà les nanotechnologies en ingénierie tissulaire, dans le but de créer in vitro des tissus et organes entièrement biologiques que l'on pourrait transplanter, en toute sécurité dans le corps humain.

Les nanotechnologies joueront un rôle primordial en ingénierie tissulaire parce qu'elles opèrent à l'échelle moléculaire, et peuvent intégrer matériaux biologiques et matériaux inertes. Ainsi, les scientifiques utilisent des nanostructures capables d'autoassemblage pour créer du collagène artificiel, qui appartient à une famille de protéines du tissu conjonctif et, qui est également le principal composant protéique des os, des dents et des tendons.

Puisque les protéines de collagène sont un composant majeur de la structure des tissus et des organes du corps, les chercheurs espèrent utiliser le collagène artificiel nanostructuré, en tant que charpente tridimensionnelle, en vue de la régénération cellulaire, pour cultiver des cellules, des tissus et même des organes.

En dentisterie, la réponse à une lésion dentaire est parfois limitée. Les chercheurs ont donc envisagé l'usage de cellules souches pulpaires saines afin de remplacer celles qui sont endommagées et permettre ainsi la guérison de la dent. Les cellules souches dentaires peuvent être obtenues avec facilité, ce qui fait d'elles une source attractive de cellules souches autologues. Elles pourront servir à la reconstitution du tissu pulpaire endommagé

par une infection, à la régénération du ligament parodontal atteint lors d'une parodontite et à la formation de structures dentaires complètes ou partielles, afin de créer un implant biologique.

Le potentiel des cellules souches n'est pas restreint au domaine dentaire, leurs propriétés permettront peut être, un jour, de traiter des pathologies telle que la maladie de Parkinson. (Volponi et coll. 2010).

L'ingénierie tissulaire repose sur trois composants fondamentaux :

- Des biomatériaux : ils ont fonction d'échafaudage, de support et fournissent un modèle en trois dimensions. Ils peuvent être naturels ou synthétiques et sont conçus pour guider la croissance, l'organisation et la différenciation de cellules afin de former un tissu fonctionnel qui soit une réplique tant physique que chimique du tissu originel.
- Des cellules : L'origine des cellules et leur manipulation sont primordiales. Les cellules peuvent être des cellules souches, des cellules autologues, des cellules allogéniques ou des cellules xénogéniques. Les méthodologies permettant la prolifération et la différenciation de cellules sont des critères clés dans l'ingénierie tissulaire.
- Des biomolécules : ce groupe comprend des facteurs angiogéniques, des facteurs de croissance, des facteurs de différenciation et des molécules de signalisation.

Traditionnellement, les biomatériaux sont conçus pour être inertes et ne pas interagir avec la biologie du tissu environnant. Les biomatériaux peuvent être classés selon leur mode d'application dans l'ingénierie tissulaire : certains sont utilisés pour transporter et introduire des cellules, au sein du tissu endommagé, d'autres permettent d'augmenter la fonction des cellules souches endogènes (George et Ravindran, 2010).

Les supports servent principalement d'éléments ostéoconducteurs car l'os néoformé se dépose par substitution de l'os vivant adjacent. Ils permettent également le transport des cytokines qui peuvent activer ou recruter des cellules précurseur de l'hôte, dans la lignée des cellules ostéogéniques.

Un échafaudage adapté aux tissus durs doit satisfaire plusieurs critères : il doit être poreux et en trois dimensions, il doit servir de modèle pour l'attachement cellulaire initial et la formation tissulaire ultérieure, il doit être biodégradable et biocompatible, il doit présenter une grande superficie par rapport à son volume avec des propriétés mécaniques suffisantes, et, enfin il doit être capable de fournir un environnement approprié à la formation du nouveau tissu (O'Brian et coll. 2005).

Pendant la dernière décennie, il y a eu de grands progrès concernant la conception des nanomatériaux qui incorporent des composants biologiquement actifs et des domaines fonctionnels pour des molécules de la matrice extracellulaire afin de former des tissus durs.

Les échafaudages de protéines remplacent peu à peu les polymères notamment pour les biomatériaux utilisés pour la création d'os, de cartilage et de dentine. Les protéines possèdent un avantage, il s'agit d'une matière biologique, de taille nanométrique, qui peut être intégrée avec d'autres composants organiques ou inorganiques pour former des nanocomposites. Les propriétés physico-chimiques d'un tel nanomatériau jouent un rôle clé dans l'activation de l'interaction cellulaire et de la régénération tissulaire.

#### 2.2.3.1 Les implants dentaires biologiques

Les implants dentaires traditionnels connaissent actuellement un essor considérable car ils représentent une alternative de choix aux prothèses dentaires classiques mais, ils possèdent tout de même leur limite. En effet, les implants dentaires métalliques révèlent l'absence de ligament parodontal, qui absorbe les forces masticatrices, et de sulcus gingival, riche en anticorps et en substances antibactériennes.

Afin de repousser ces limites, les scientifiques ont donc entrepris des recherches, sur les implants biologiques. L'objectif sera de créer une structure radiculaire, un ligament parodontal, un paquet vasculo-nerveux et une couronne. Cependant, la réalisation d'une couronne n'est pas primordiale car les techniques actuelles de coiffes prothétiques sont maîtrisées et permettent de fixer une couronne prothétique sur un implant radiculaire biologique.

Actuellement, les chercheurs connaissent deux procédés d'ingénierie tissulaire pour recréer une dent :

- La culture de cellules souches isolées à partir de germes dentaires sur un support reproduisant la morphologie d'une dent
- La culture de cellules souches épithéliales et mésenchymateuses isolées à partir de germes dentaires ou d'autre origine.

Ces deux techniques visent à reproduire, au plus près, les différentes étapes de l'odontogénèse (Magloire et Couble, 2011).

#### 2.2.3.2.1 Le développement dentaire

Une dent est un organe complexe constitué d'une multitude de tissus. Les tissus durs sont représentés par l'émail, la dentine et le cément. Le seul élément vascularisé de la dent est la pulpe dentaire qui est enclavée dans la dentine minéralisée. La dent est attachée à l'os par le ligament parodontal. Embryologiquement, les dents se forment par des interactions séquentielles et réciproques entre les cellules épithéliales et les cellules mésenchymateuses dérivées de la crête neurale.

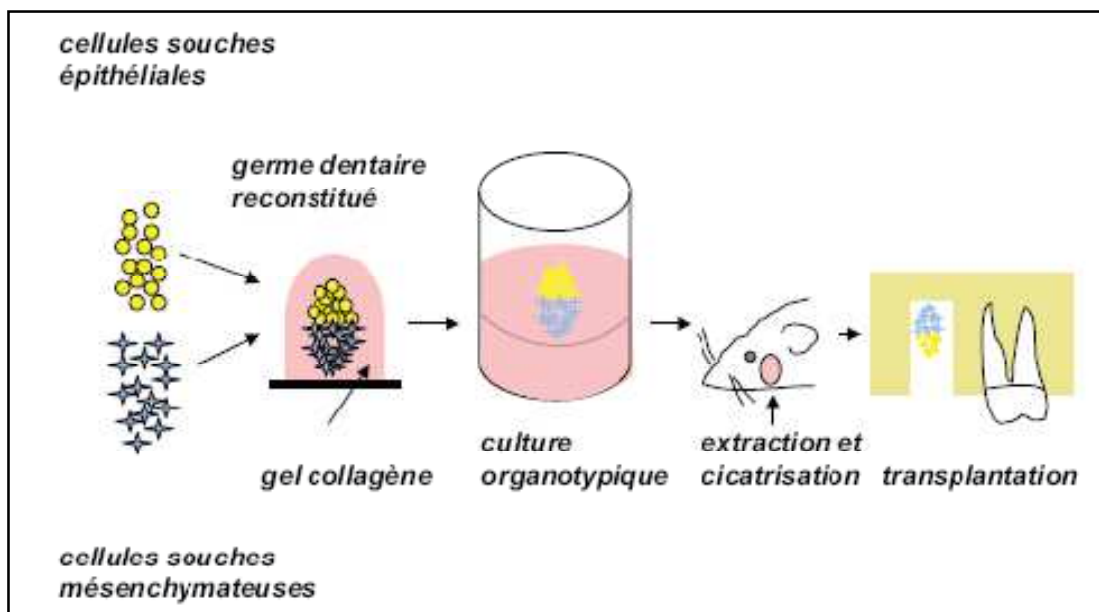
Les cellules épithéliales vont induire la formation des améloblastes, à l'origine de l'émail, et les cellules mésenchymateuses formeront toutes les autres cellules différenciées (telle que les odontoblastes, les cémentoblastes, les ostéoblastes et les fibroblastes ligamentaires) (Huang et coll. 2009).

Les dents continueront à se développer post-natalement, la couche externe d'émail durcira et la racine se formera progressivement lors de l'éruption dentaire (Volponi et coll. 2010).

#### 2.2.3.2.2 Construction d'une bio-dent fonctionnelle à partir d'une matrice

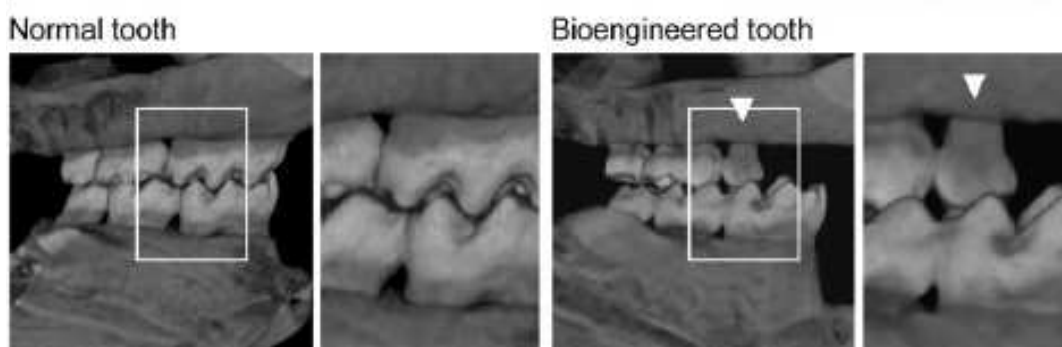
Des cellules dentaires sont obtenues par dissociation enzymatique de germes dentaires au stade embryonnaire ou post-natal. Elles sont ensuite déposées sur un support dont la forme représente une dent. Il existe différents types de supports, le plus prometteur est un gel de collagène de type I. Des cellules souches épithéliales et mésenchymateuses, obtenues à partir de germes dentaires embryonnaires, sont injectées séparément dans le support selon une densité de  $5 \cdot 10^8$  cellules par ml (**fig 11**). Après sept jours de mise en culture in vitro,

les scientifiques obtiennent un germe dentaire d'une longueur de  $534.4 \pm 45.6 \mu\text{m}$  (Ikeda et coll. 2009). Ils réalisent ensuite une transplantation de ce germe, selon une orientation précise, dans un site osseux en phase de cicatrisation depuis 3 semaines. Une cinquantaine de jours plus tard, une dent entièrement fonctionnelle apparaît sur l'arcade (**fig 12**). Elle présente une structure correcte (comprenant l'émail, la dentine, la pulpe, le cément et une vascularisation) et en occlusion avec la dent antagoniste. Cependant, la taille de la dent générée est inférieure à celle d'une dent naturelle.



**Figure 11:** Méthode pour obtenir une dent biologique fonctionnelle.

Les cellules souches épithéliales et mésenchymateuses sont injectées dans le gel de collagène. Un germe de molaire est obtenu en 7 jours de culture. Puis, il est implanté dans un site osseux en phase de cicatrisation depuis 3 semaines (Ikeda et coll. 2009 modifié par Magloire et Couble, 2011).



**Figure 12** : Une dent pluri-cuspidée de structure normale mais de petite taille est obtenue sur l'arcade traduisant un parodonte fonctionnel (Ikada et coll. 2009 modifié par Magloire et Couble, 2011)

### 2.2.3.2 L'ingénierie du tissu osseux : exemple du Nanobone ®

Traditionnellement, les chirurgiens préfèrent utiliser l'autogreffe, lors de la réalisation de greffe osseuse car, pour se développer, les biomatériaux doivent être hautement bioactifs, posséder un potentiel ostéogénique, être facilement dégradables dans les fluides biologiques et ne pas provoquer d'inflammation immunologique.

Cependant, le marché des biomatériaux est en pleine expansion de par une demande grandissante de substitut osseux. Par conséquent, de nombreux types de biomatériaux, à base de phosphate de calcium, ont été créés comme substituts osseux. Bien qu'ils soient tous de la même famille, il persiste des différences, entre les propriétés de chaque produit, telle que la cristallinité, la porosité, la pureté de phase ou la stabilité mécanique et thermique. Les caractéristiques d'un biomatériau sont établies en fonction de son utilisation future.

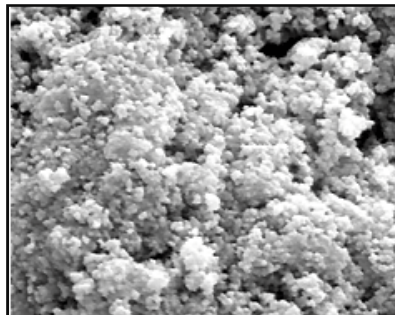
#### 2.2.3.2.1 Caractéristiques du Nanobone ®

Nanobone ® est une matière ostéoinductrice, purement synthétique, biocompatible et biodégradable permettant de combler les défauts osseux (**fig 13**). Ce substitut osseux est constitué de nanocristaux d'hydroxyapatite (76 % du poids) incorporés dans une matrice de gel de silice (24 % du poids) (**fig 14** et **15**). Les nanocristallites d'hydroxyapatite sont fermement liées entre elles mais permettent la création de nanopores interconnectés entre

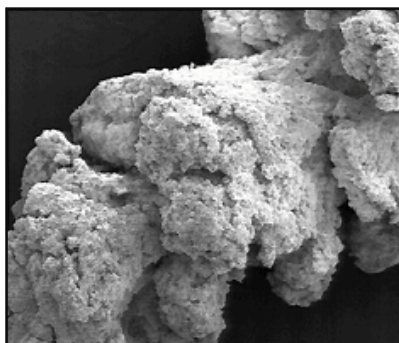
elles. Ces nanopores, dans le gel de silice, ont une taille d'environ 10 nm à 20 nm. Par conséquent, lorsque le gel de silice est en contact avec le sang du patient, le plasma sanguin et les protéines autologues peuvent pénétrer dans cette structure qui présente une porosité de 61 % (Gerber et coll.2006).



**Figure 13** : Flacon de Nanobone en granule ([www.nanobone.fr](http://www.nanobone.fr))



**Figure 14** : Structure au microscope électronique à balayage (MEB) des granulats de nanobone ([www.nanobone .fr](http://www.nanobone.fr)).



**Figure 15** : Image au MEB de la structure en pomme de pin d'un grain de nanobone qui permet d'obtenir une agglomération très stable des granulats ([www.nanobone .fr](http://www.nanobone.fr)).

La surface du gel de silice est chargée négativement c'est-à-dire qu'elle possède des groupes  $\text{SiO}^-$  à sa surface. Lorsque les protéines et le plasma pénètrent, le gel de silice retient à sa surface les protéines chargées positivement.

Malgré la structure fragile du gel de silice, il peut résister à une pression relativement élevée de 40 MPa.

Pendant le processus de séchage, se forme un granulat à forte porosité avec une surface extrêmement étendue ( $84 \text{ m}^2/\text{g}$ ). La granulométrie du nanobone® est de 0.6 mm et les granules ont une structure en forme de pomme de pin.

La teneur en matière solide n'étant que d'environ 20% en volume, les 80% seront réabsorbés par la matière propre (sang, etc.) du corps. Ceci explique des résultats cliniques probants.

Afin d'optimiser les effets du nanobone®, un contact direct avec l'os vital saignant est indispensable, d'où la nécessité de rafraîchir l'os avant la pose du substitut osseux. Le défaut osseux devra être comblé par un mélange de granulats de nanobone® et de sang (**fig 16**). L'opération s'achève par la réalisation d'un pansement complet et sans tension.



**Figure 16** : Mélange de granulat de nanobone® avec du sang ([www.dentaurum.de](http://www.dentaurum.de)).

Les applications cliniques du nanobone® sont variées, son utilisation est recommandée pour le comblement de défauts osseux, le comblement de poches osseuses en parodontologie, l'augmentation osseuse suite à une résection apicale et les soulèvements de sinus.

#### 2.2.3.2.2 Mode d'action du Nanobone ®

Le mode d'action du Nanobone ® est basé sur l'intégration du substitut osseux dans la régénération osseuse naturelle.

La microscopie électronique a permis de détecter une dégradation de la matrice de gel de silice *in vivo*. Ce processus de dégradation rapide est inhabituel car la solubilité de SiO<sub>2</sub> dans l'eau est très faible. Donc, cette dégradation ne peut pas être un simple mécanisme de solubilité. Les études prouveront qu'il s'agit du même processus de dégradation que celui de l'os naturel.

Il a été démontré que l'hydroxyapatite est liée, dans les granules, par une matrice organique qui s'est formée en parallèle de la dégradation de SiO<sub>2</sub>. Cette matrice se révèle être peu structurée et comporte quelques fibres de collagène isolées, il s'agit, en effet, de tissu ostéoïde nouvellement formé.

Les scientifiques ont étudié les interactions du nanobone avec les tissus environnants. Des examens immuno-chimiques, suite à la mise en place du nanobone, ont alors révélé une immuno-réactivité pour l'ostéocalcine et l'ostéopontine. La détection de leur présence prouve qu'ils sont bien inclus dans le nanobone. L'ostéopontine semblerait s'être liée aux nanocristallites d'hydroxyapatite. La source de ces deux composants est le sérum sanguin qui pénètre le matériau de substitution osseux et transporte avec lui de nombreux composants du métabolisme osseux (Flohr et coll. 2003).

L'ostéopontine paraît plus fortement localisée dans le centre des particules tandis que l'ostéocalcine est majoritairement détectée à la périphérie. Ces deux composants sont des promoteurs de l'ostéogénèse.

L'ostéopontine possède de nombreuses fonctions dans les premières étapes de l'ostéogénèse et dans la différenciation des ostéoblastes. Elle agit également comme une protéine d'adhésion, un « attracteur » pour les ostéoclastes et contrôle leur activité de résorption. Ainsi, l'ostéopontine permet d'initier le processus de remodelage osseux dû à la présence du nanobone.

L'ostéocalcine est un marqueur spécifique des ostéoblastes. Elle peut aussi être visualisée à l'interface entre le nanobone et le tissu osseux néo-formé. Cette localisation démontre qu'elle joue un rôle dans l'adhésion, l'attraction et la différenciation des ostéoblastes.

Des réactions immunitaires à l'alkaline phosphatase et à la BMP-2 (bone morphogenic) ont été mises en évidence. L'alkaline phosphatase est synthétisée par les ostéoblastes matures et est aussi leur marqueur. Les scientifiques supposent qu'elles entrent en jeu pour la calcification de la matrice ostéoïde (Bonucci et Nanci, 2001). Sa présence montre que les ostéoblastes sont actifs sur le nanobone ainsi que sur l'os trabéculaire formé sur le nanobone.

Les BMP-2 ont des propriétés ostéoinductives in vivo. Elles viennent principalement à l'intérieur et autour des ostéoblastes et indiquent une sécrétion potentielle par ces cellules. Les BMPs agiraient en stimulant l'expression des gènes ostéoblastiques (phosphatase alcaline, collagène de type I, ostéocalcine) dans les ostéoblastes. L'expression endogène et la sécrétion de ce puissant facteur d'ostéogénèse peuvent être induites par le nanobone sachant que la BMP-2 contrôle de nombreuses protéines osseuses essentielles (Sykaras et Opperman, 2003).

La diminution des réactions immunitaires à l'ostéopontine et à l'ostéocalcine, 10 semaines après l'implantation du nanobone, indique que ces composants jouent un rôle plus important au début du remodelage osseux.

En 5 semaines, le biomatériau, complètement synthétique, a été changé en une matière semblable à une matrice extra-cellulaire osseuse. Contrairement à l'os, cette matrice organique ne contient presque pas de fibre de collagène. C'est pourquoi, ce matériau de substitution ne présente pas la même force de tension que l'os naturel.

Les ostéoclastes effectuent la dégradation du nanobone qui est associée à une néo-formation osseuse par les ostéoblastes. En effet, l'activité de ces deux cellules osseuses est liée : les ostéoblastes et ses précurseurs vont agir au niveau des cellules précurseurs des ostéoclastes, contrôlant ainsi la résorption osseuse.

La transformation de la matrice de gel de silice en une matrice organique est complète après 5 semaines.

Ainsi, le nanobone® ne se désagrège pas, mais participe au remodelage osseux selon les principes biologiques naturels.

#### 2.2.3.2.3 Application in vivo

Des scientifiques ont implanté 0.1 ml de nanobone ® en granule, dans le muscle trapèze et dans le tissu adipeux sous-cutané au niveau du processus épineux de la 6<sup>ème</sup> vertèbre cervicale de 18 mini-cochons femelles, afin d'analyser les effets de ce substitut osseux in vivo (Werner et coll. 2010). Des animaux ont été euthanasiés à 5 semaines, 10 semaines, 4 mois et 8 mois.

A l'échelle macroscopique, du tissu osseux est palpable dans la région sous-cutanée de tous les animaux de 10 semaines à 8 mois, mais aucun tissu osseux ne paraît présent dans le muscle trapèze à la palpation.

Une analyse histologique est donc réalisée afin de comprendre les réactions chronologiques du nanobone® à une échelle plus réduite.

Après 5 semaines : Les granules d'hydroxyapatite nanocristalline s'accumulent dans le site d'implantation et ne sont pas dégradées. Tous les granules sont recouverts de cellules géantes multinuclées, les ostéoclastes. Des ostéoblastes sont détectés sur la surface externe des granules. Sous ces ostéoblastes, les scientifiques aperçoivent une fine couche de tissu ostéoïde révélant ainsi le commencement de l'ostéogénèse. Aucune structure osseuse minéralisée n'est repérée. Chaque surface non recouverte d'ostéoblaste est peuplée d'ostéoclastes. Les mesures indiquent une quantité de biomatériau de 25.6 % et une quantité de tissus mous environnant de 74.4%, sur le site sous-cutané.

Après 10 semaines : Aucune granule ni tissu osseux n'est détecté dans les sites d'implantation musculaire tandis que les sites sous-cutanés révèlent une ostéogénèse accrue.

Le tissu situé entre les granules apparaît fortement vascularisé et les granules se recouvrent progressivement d'os nouvellement formé. La forte population d'ostéoblastes indique une

sécrétion matricielle active. Les résidus d'hydroxyapatite nanocristalline ont été incorporés à l'os. Les mesures indiquent 17.8 % de biomatériau, 2.2 % d'os nouvellement formé et 80.1 % de tissus mous.

Après 4 mois :

Le tissu osseux formé reste fragile et contient des secteurs de lamelles osseuses et de lignes cémentantes. Des ostéocytes, des canaux haversiens, des liserés d'ostéoblastes ainsi que des ostéoclastes et du tissu ostéoïde sous-jacents sont généralement visibles. Localement, des faisceaux serrés de collagène présentent une ondulation et apparaissent mélangés à l'os. Chez quelques animaux, une structure similaire à du cartilage est visible, elle contient des chondrones isolés baignant dans une zone inter-territoriale. Les chondrocytes, situés au sein des chondrones, semblent hypertrophiés. Les mesures indiquent 6 % ( $\pm 1.6$ ) de biomatériau, 53.3 % ( $\pm 23.7$ ) d'os formé et 40.7 % ( $\pm 22.6$ ) de tissus mous.

Après 8 mois :

Sur les quatre animaux étudiés à ce stade, trois ont développé de l'os compact et un de l'os spongieux. La formation de l'os spongieux formé est, en parti, bordé par une corticale. Une structure semblable à un ostéone est détectée à l'aide des techniques de microscopie. Des tissus vascularisés, ressemblant à de la moelle osseuse ont été détectés au centre de la pièce osseuse.

Les mesures indiquent 10.8 % ( $\pm 4.0$ ) de biomatériau, 47.5 % ( $\pm 13.6$ ) d'os formé et 41.7 % ( $\pm 11.6$ ) de tissus mous (Werner et coll. 2010).

Les expériences sur les mini-cochons de Göttingen démontrent le comblement des défauts osseux importants après 10 semaines, et la transformation presque intégrale en os lamellaire après 8 mois. Cette étude apporte également la preuve scientifique de l'ostéo-inductivité de NanoBone®, montrant la formation d'os ectopique après 4 mois. Des études histologiques humaines d'augmentation du sinus (sans addition d'os autologue) confirment, de façon évidente, la formation d'os après 4 à 5 mois.

## 2.3 De nouvelles perspectives

Lorsque les premiers nanorobots ont été construits, il y a environ une vingtaine d'années, les scientifiques se demandaient quelles seraient les applications dentaires d'une telle invention. Ils ont donc voulu utiliser les mécanismes de motilité spécifiques des nanorobots médicaux. Ces nanorobots ont une capacité de navigation d'une grande précision, ils peuvent nager, ramper dans les tissus humains avec une grande dextérité. Ils ont également la possibilité de sentir et de manipuler leur environnement. Ainsi, ils ont acquis diverses fonctions telles que : la cytopénétration (par exemple, ils peuvent passer à travers la membrane plasmique au même titre que les odontoblastes, sans perturber le fonctionnement de la cellule et en étant parfaitement biocompatible) ; la capacité d'interrompre ou de modifier le trafic d'une impulsion d'un nerf dans une cellule nerveuse individuelle.

Ces fonctions des nanorobots sont contrôlées par des nano-ordinateurs qui exécutent des instructions pré-programmées en réponse aux données envoyées par le nanorobot, via des signaux acoustiques (comme le principe de l'échographie).

### 2.3.1 Nanorobots et anesthésies locales

L'injection d'anesthésique local est l'une des procédures les plus courantes en dentisterie, elle peut impliquer des degrés d'efficacité variable, une attente assez longue, un inconfort du patient et des parfois des complications.

Pour réaliser une anesthésie locale, dans l'ère de la nanodontisterie, les praticiens instilleront, sur la gencive du patient, une suspension colloïdale contenant des millions de particules micrométriques actives d'analgésique.

Suite au contact avec la surface de la couronne ou avec la muqueuse, les nanorobots atteindront la dentine par migration dans le sulcus gingival en passant sans douleur à travers la lamina propria ou par un espace (entre 1 et 3  $\mu\text{m}$ ) dû à une perte de tissu au niveau de la jonction dentino-cémentaire.

En atteignant la dentine, les nanorobots entrent dans les tubuli dentinaires, qui présentent un diamètre d'environ 1 à 4  $\mu\text{m}$ , et passent ensuite dans la pulpe, guidés par une

combinaison de gradients chimiques, par des différences de températures et sous le contrôle de l'ordinateur de bord dirigé par le dentiste.

La densité des tubuli dentinaires est approximativement de 22 000  $\text{mm}^{-2}$  près de la jonction amélo-dentinaire, de 37 000  $\text{mm}^{-2}$  à mi-chemin entre cette jonction et la pulpe, et de 48 000  $\text{mm}^{-2}$  près de la pulpe, dans la dentine coronaire. Cette densité baisse légèrement dans la racine. Le diamètre des tubuli augmente avec la proximité pulpaire, ce qui facilite les mouvements des nanorobots.

Le réseau complexe des tubulis dentinaires, qui s'entrecroisent ou s'anastomosent avec la dentine inter-tubulaire, représente un défi pour la navigation des nanorobots.

Les tubulis dentinaires sont en continuité dans la dentine primaire et la dentine secondaire régulière, mais pas entre la dentine primaire et la dentine secondaire irrégulière, qui est fortement sclérosée dans les dents les plus anciennes. Dans cette dentine secondaire irrégulière, l'ouverture des tubulis dentinaires, sur la surface dentinaire, peut être complètement obturée. Dans de telles circonstances, il faudrait probablement prévoir de détourner la trajectoire des nanorobots.

Sachant que la longueur totale du chemin à parcourir est d'environ 10 mm de la surface de la dent jusqu'à la pulpe, et que la vitesse de déplacement des nanorobots est de  $100 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ , il faudrait approximativement 100 secondes aux nanorobots pour effectuer ce voyage.

La présence des cellules naturelles qui sont constamment en mouvement autour et à l'intérieur des dents, telles que les fibroblastes, les odontoblastes et les lymphocytes, suggère que la taille et la mobilité des nanorobots soient semblables à celles des cellules environnantes.

Une fois installé dans la pulpe et ayant pris le contrôle des impulsions nerveuses, le dentiste peut commander le nanorobot, afin d'arrêter toute sensibilité dans la dent qui nécessite le traitement.

Lorsque le praticien appuiera sur l'icône de la dent désirée, sur l'écran de la commande portable, la dent sélectionnée s'engourdira immédiatement. Une fois le traitement de la

dent achevé, le dentiste commandera le nanorobot (via les mêmes liaisons de transmission acoustiques) afin qu'il rétablisse toute la sensibilité initiale et qu'il abandonne le contrôle du trafic nerveux. Ils seront évacués par aspiration et passeront par le même chemin, en sens inverse, que celui emprunté pour arriver jusqu'à la pulpe.

Les anesthésiques nanorobotiques offrent un plus grand confort au patient, une sélectivité supérieure, une action rapide et complètement réversible, ils évitent la plupart des effets secondaires, permettent un meilleur contrôle de l'effet analgésique et diminuent l'anxiété par l'absence de toute aiguille (Freitas, 2000).

### 2.3.2 Nanorobots et orthodontie

Les nanorobots orthodontiques pourraient directement manipuler le tissu parodontal, dont le tissu gingival, le ligament parodontal, le cément et l'os alvéolaire, de façon rapide et indolore. Le redressement des dents, leur rotation et leur repositionnement vertical seraient possible en quelques heures alors que les techniques actuelles nécessitent parfois plusieurs années. (Shellhart et Oesterle, 1999).

## **3. Les nanotechnologies appliquées à la médecine : nanomédecine**

### 3.1 Convergence des nanosciences et des sciences du vivant

#### 3.1.1 Naissance des nanobiotechnologies

Les composants des organismes vivants atteignent des dimensions de l'ordre du micromètre voire du nanomètre. Pour information, le passage des médicaments dans les cellules se fait par l'intermédiaire de pores de quelques nanomètres. Rappelons aussi que la dimension des agresseurs des cellules (virus, bactéries) varie entre le nanomètre et le micromètre. Pour exemple, le virus de la grippe mesure environ 100 nm.

Nous savons aujourd'hui manipuler les atomes individuellement et les disposer précisément selon l'objectif recherché. Il est donc tout naturel, qu'à ces échelles

identiques, les nanotechnologies investissent les sciences biologiques afin de former les nanobiotechnologies.

### 3.1.2 Objectifs des nanobiotechnologies

Les nanobiotechnologies offrent de nouveaux horizons à la médecine traditionnelle. Leur but étant un diagnostic médical plus précis ainsi que des traitements mieux ciblés et plus efficaces.

## 3.2 Aide au diagnostic

### 3.2.1 Imagerie biologique

Une particule dont la taille est comprise entre 5 et 10 nm peut permettre d'explorer le fonctionnement des cellules. L'observation des protéines en temps réel, dans une cellule vivante, est rendue possible grâce au marquage par un composé fluorescent. L'enjeu actuel est de trouver le composé idéal, qui présente à la fois une excellente biocompatibilité et une fluorescence suffisante pour une étude des cellules dans les meilleures conditions.

#### 3.2.1.1 Utilisation des nanoparticules pour l'étude des cellules

Les recherches actuelles en médecine se focalisent essentiellement sur les particules d'or et sur les nanocristaux semiconducteurs également appelés quantum dots.

Les nanoparticules d'or possèdent des propriétés intéressantes : elles présentent une excellente stabilité optique, elles sont biocompatibles même à l'échelle nanométrique et sont très résistantes à la corrosion. Cependant, elles absorbent peu la lumière et nécessitent à priori d'être couplées à des agents contrastants afin de mieux les détecter. D'autre part, la taille importante des nanoparticules d'or (40nm à 500nm) peut perturber le fonctionnement de la protéine observée. Les nanoparticules d'or permettent, tout de même, de marquer puis de visualiser des cellules vivantes en microscopie électronique. L'étude dynamique des composants cellulaires est enfin possible. Une séquence d'ADN spécifique de cellules

cancéreuses ou de virus peut être détectée grâce aux nanoparticules d'or et ainsi, améliorer la qualité du diagnostic et du traitement.

Les quantum dots sont des cristaux semi-conducteurs de taille nanométrique qui possèdent des propriétés de fluorescence très intéressantes pour l'imagerie cellulaire. En effet, après excitation, ils émettent des photons d'une longueur d'onde qui varie entre le rouge et le bleu quand leur taille diminue. L'ajustement du diamètre des quantum dots permet donc le contrôle de la fluorescence. Les quantum dots sont capables d'émettre un signal très lumineux et très stable, également dans l'infrarouge, ce qui laisse envisager l'observation de tissus très profonds.

#### 3.2.1.2 Etude des dynamiques cellulaires

Les nanoparticules permettent d'étudier principalement le déplacement des moteurs moléculaires tel que la kinésine qui intervient dans le transport intracellulaire ainsi que l'activité des cellules nerveuses ou neurones, lors de la transmission de l'influx nerveux.

#### 3.2.2 Imagerie médicale : diagnostic in vivo

La distinction entre l'imagerie biologique et l'imagerie médicale se fait au niveau de l'échelle du phénomène observé et de la modalité d'imagerie. L'imagerie biologique part de la résolution atomique (RMN, cristallographie au rayon X), passe par l'échelle moléculaire et va jusqu'au niveau cellulaire. L'imagerie médicale se donne pour objet d'étude le tissu, l'organe ou l'organisme entier.

L'imagerie médicale est employée à de nombreuses fins : la prévention, le diagnostic et le suivi de diverses pathologies ; elle permet également de vérifier le bon déroulement d'une intervention chirurgicale ou l'efficacité pharmaceutique d'un traitement.

##### 3.2.2.1 Imagerie moléculaire optique

Cette technologie permet actuellement de visualiser le fonctionnement de l'organisme en 3D et en haute résolution sur de petits animaux, sans mettre en jeu leur pronostic vital.

Il s'agit de réaliser un petit trou dans la boîte crânienne de l'animal, puis d'observer, en imagerie optique, le fonctionnement de son cerveau grâce à des agents de contraste photoluminescents adaptés. L'imagerie moléculaire optique est permise par l'utilisation d'un microscope de fluorescence biphotonique qui est un outil primordial pour l'observation en profondeur des tissus épais et pour l'application, in vivo, des techniques optiques jusque là limitées aux échantillons in vitro. Pour l'instant, de tels procédés ne sont pas réalisables directement sur l'homme mais de nouvelles applications sont à attendre, notamment dans l'imagerie cérébrale, suite à une validation de ces travaux chez l'animal.

### 3.2.2.2 Agents de contraste

Dans la majorité des techniques d'imagerie, il est nécessaire d'injecter un agent afin d'améliorer le contraste de l'image. Les agents utilisés habituellement permettent une observation correcte de l'anatomie mais ne sont que peu performants pour détecter les modifications du fonctionnement des cellules. Traditionnellement, il faut associer des colorants organiques comme la fluoescéine ou la rhodamine, qui possèdent des propriétés de photoluminescence, à des éléments de taille plus importante (polysaccharides) qui permettent de maintenir cette association dans le système intravasculaire. Cette conjugaison est injectée dans le sang mais elle révèle un inconvénient majeur : une faible luminosité. Afin de palier à ce défaut, les chercheurs explorent, depuis quelques années, la piste d'agents contrastant de taille nanométrique. L'emploi de nanocristaux organiques en solution ou de nanobilles de polymères conjugués offre une meilleure efficacité lumineuse.

#### 3.2.2.2.1 Nanoparticules magnétiques et IRM

Les nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques peuvent être utilisées comme agents de contraste dans l'imagerie par résonance magnétique (IRM) qui reste un outil majeur de diagnostic. Ces nanoparticules, qui interagissent avec les molécules d'eau de l'organisme, influencent le signal IRM en augmentant la vitesse de relaxation magnétique des protons de l'eau, et diminuent donc le temps de mesure. Ce phénomène améliore les contrastes de noirs entre les tissus sains et les tissus pathologiques. Afin d'arriver à un tel résultat, il est nécessaire que les nanoparticules soient fonctionnalisées, c'est-à-dire qu'elles

doivent être greffées à des molécules organiques. L'objectif de cette conjugaison est d'apporter aux nanoparticules des propriétés supplémentaires nécessaires pour une application biomédicale. En effet, les nanoparticules fonctionnalisées doivent répondre à un cahier des charges très précis : elles doivent notamment être biocompatibles, stables dans les milieux physiologiques, avoir une biodistribution favorable par leur petite taille (inférieure à 100nm), pouvoir porter un vecteur permettant le ciblage d'un organe... De nombreux polymères synthétiques ont déjà été testés pour enrober les nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques, tels que le Dextran, les lipides ou encore l'oxyde de polyéthylène. Cependant, ils forment généralement une épaisse coque autour de la nanoparticule, ce qui provoque une réduction des effets superparamagnétiques, sur la relaxivité des protons de l'eau ayant pour résultat une atténuation des contrastes. De plus, la biodistribution peut être diminuée par cette large couche organique qui accroît la taille des nanoparticules fonctionnalisées en suspension (Basly, 2010).

Le caractère intravasculaire de ces agents de contraste permet de cartographier les territoires vascularisés. Ce procédé devrait permettre un meilleur diagnostic de la maladie de Parkinson et de l'épilepsie, un meilleur suivi de l'évolution des tumeurs cancéreuses ainsi que la détection des signes précurseurs des accidents vasculaires cérébraux. Il devrait également permettre de mieux cibler les tumeurs lors de leur traitement par des rayons.

### 3.2.3 Diagnostic génétique : les biopuces

Bien que chaque cellule comporte l'ensemble du génome, chacune active sélectivement les gènes qui lui sont nécessaires, laissant les gènes inutiles, inactifs. Les biopuces permettent d'étudier le fonctionnement des gènes actifs d'une cellule. Les biopuces sont nées de la rencontre de la microélectronique, des microsystèmes et de la biologie. Une biopuce se définit comme un composant planaire, ou usiné en surface, sur lequel est déposé une matrice de molécules de reconnaissance dont on veut mesurer les interactions avec les espèces biologiques d'un échantillon. Les biopuces offrent la possibilité d'analyser des milliers de séquences d'ADN ou de protéines, dans une cellule unique.

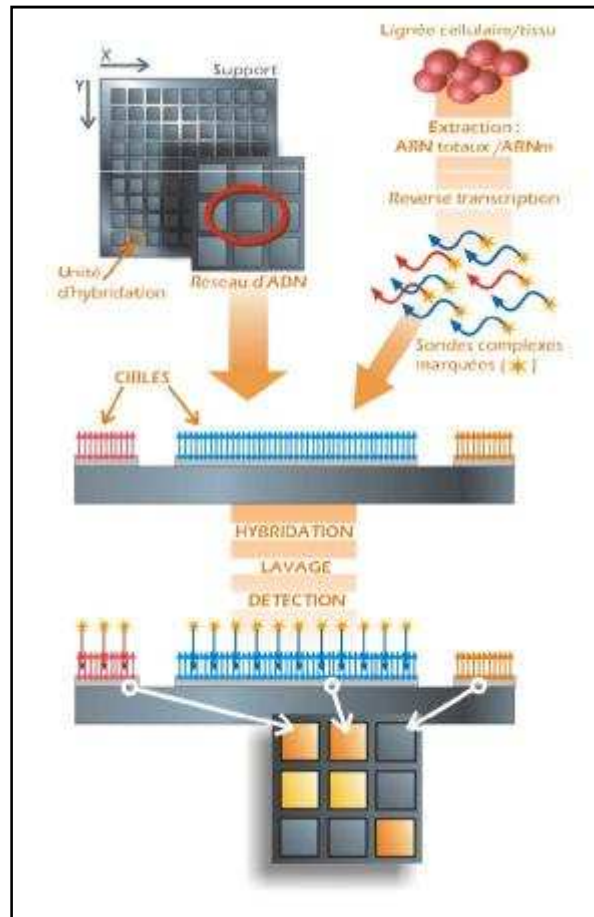
### 3.2.3.1 Les puces à ADN : exemple de la polyarthrite rhumatoïde

Une puce à ADN, encore appelée DNA microarray, se présente comme support solide sur lequel sont disposés de façon ordonnée des brins d'ADN. Prenons l'exemple de la polyarthrite rhumatoïde, le plus fréquent des rhumatismes inflammatoires chronique. Cette maladie auto-immune entraîne une inflammation de la membrane synoviale des articulations, ce qui provoque la destruction progressive du cartilage et de l'os, pouvant conduire à un handicap irréversible. Il semblerait que 63 gènes soient caractéristiques de cette pathologie.

La démarche est la suivante (**fig 17**) : il faut procéder à l'extraction de l'ensemble des ARNm de l'échantillon de cellules issues du liquide synovial. L'action d'une enzyme, la transcriptase inverse, permet d'obtenir de l'ADNc. Chacun de ces ADNc cible est d'abord dupliqué à l'aide d'une polymérase puis couplé à un marqueur fluorescent. Les ADNc marqués sont déposés sur la puce contenant les sondes caractéristiques de la polyarthrite rhumatoïde. Des hybridations ont lieu entre les séquences complémentaires d'ADNc et de sonde. Lors du lavage de la puce, les ADNc non appariés sont éliminés. Les ADNc hybridés aux sondes sont visibles grâce aux molécules fluorescentes. L'étude de la puce permettra de déterminer si les gènes de susceptibilité à cette maladie sont présents chez le patient et dans quelle proportion. Ces microarrays correspondent donc à une représentation des gènes actifs ou inactifs dans un type cellulaire particulier.

L'intérêt d'un diagnostic précoce pour cette maladie dégénérative est évident mais l'aspect financier ne permet pas encore de concrétiser systématiquement un tel projet.

Contrairement aux autres technologies, les puces à ADN permettent d'analyser l'ensemble du génome humain, en une seule expérience, grâce à une miniaturisation extrême des composants.



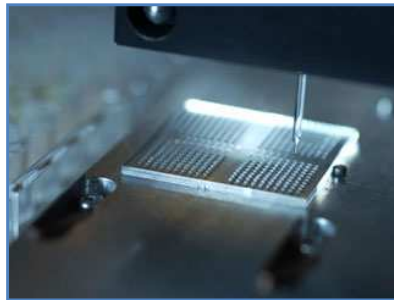
**Figure 17:** Principe des puces à ADN (<http://www-bio3d-igbmc.u-strasbg.fr>)

### 3.2.3.2 Les puces à cellules

Le séquençage complet du génome humain permet d'estimer à environ 30 000 le nombre de gènes présents chez l'homme. Seulement 15% ont une fonction connue, le défi auquel les chercheurs sont confrontés est donc vaste et complexe, afin de trouver les fonctions encore inconnues des 85% de gènes restants. Cette discipline porte le nom de génomique fonctionnelle. Pour se renseigner sur la fonction d'un gène, il faut le mettre en excès ou en déficit dans une cellule et observer les conséquences qui en découlent. Les puces à cellules correspondent à des milliers de spots disposés sur une lame en verre de quelques centimètres carré (**fig 18**). Ces spots contiennent soit une copie ADN du gène étudié soit un fragment d'ARN dit « interférent » car permettant d'empêcher l'expression du gène associé. Un tapis de cellules vient recouvrir l'ensemble. Les acides nucléiques contenus dans les spots vont alors pénétrer dans la cellule et engendrer soit la synthèse de la protéine de

fonction inconnue, via la copie ADN du gène, soit l'inhibition de cette protéine, via l'ARN interférent. L'observation des effets peut être descellée à l'aide d'un anticorps fluorescent. Cet anticorps doit être spécifique d'un mécanisme cellulaire comme l'apoptose ou la prolifération cellulaire. Il s'agit alors de mesurer le taux de fluorescence pour savoir si le gène participe à l'un de ces mécanismes.

L'étude parallèle d'un très grand nombre de gènes est possible sur une même puce à cellules.



**Figure 18** : Puce à cellules (<http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/dosnano/accueil.htm#>)

### 3.3 Les progrès thérapeutiques

Les nanotechnologies offrent la possibilité de cibler les cellules défectueuses, d'éviter la destruction des cellules saines et ainsi, de minimiser les effets secondaires.

De nombreuses applications découlent de cette capacité de ciblage telles que le diagnostic de nombreuses pathologies, comme le cancer, et leur traitement par la vectorisation de nanomédicaments, la miniaturisation des instruments chirurgicaux ou encore l'ingénierie tissulaire.

De nouvelles voies d'administration des médicaments peuvent être envisagées afin de délivrer spécifiquement le traitement dans les tissus ou les cellules atteintes, par exemple par des aérosols pour la voie pulmonaire ou par des patchs transdermiques, chez les patients inconscients.

### 3.3.1 Vectorisation des médicaments et transport ciblé

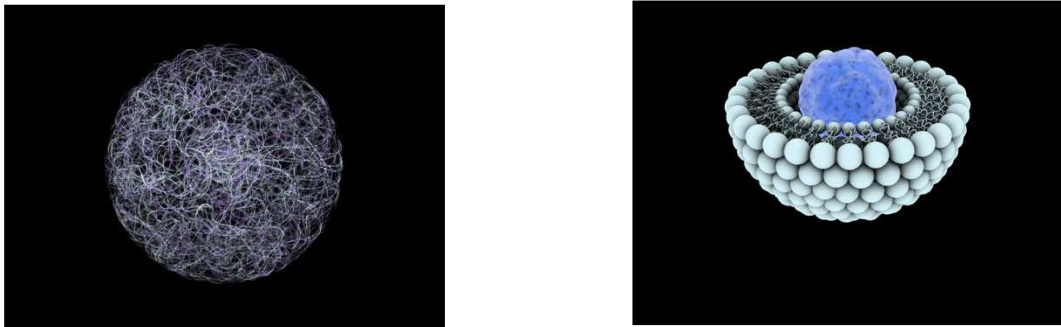
Une substance médicament peut être transportée dans une cellule ou un tissu via des nanoparticules, composées généralement de polymères biodégradables. En effet, tout risque éventuel d'accumulation de nanoparticules, au cœur des tissus, doit être écarté.

Les nanoparticules se présentent sous différentes formes comme celle d'une nanocapsule, d'une nanosphère ou d'un liposome (**fig 19**).

Les nanocapsules ont une forme arrondie et possède un « cœur » lipidique ou aqueux, selon le type de médicament qui doit y être dissous.

Les nanosphères ressemblent schématiquement à une pelote de laine. Le médicament est disséminé dans un enchevêtrement de chaînes de polymères et sera libéré lors de la biodégradation de la nanosphère.

Les liposomes se présentent comme des cellules : ce sont des vésicules de phospholipides organisés en bicouche qui entourent un compartiment aqueux, tout comme les membranes cellulaires. Le médicament y est incorporé directement. Plus précisément, il est dissous dans le compartiment aqueux s'il est hydrophile ; dans la bicouche, s'il est lipophile.



**Figure 19** : (gauche) Représentation d'une nanosphère – (droite) Coupe d'un liposome  
(<http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/dosnano/accueil.htm#> )

Les scientifiques cherchent également de nouvelles structures nanométriques afin d'encapsuler des substances médicament.

Les nanotubes de carbone répondent à de nombreux critères : ils sont capables de franchir facilement les membranes cellulaires, ils peuvent contenir des composés bioactifs et les délivrer dans le cytoplasme ou le noyau d'une cellule. Cependant, ils sont insolubles dans

tous les solvants ; il est donc nécessaire de leur greffer un élément chimique afin qu'ils soient intégrés par les cellules.

Afin de délivrer leur contenu sur un site précis, les nanoparticules doivent être dirigées spécifiquement vers le tissu ou la cellule cible.

### 3.3.2 La thérapie du cancer par les nanoparticules d'or

L'association d'une nanoparticule donnée avec une molécule capable de cibler les cellules tumorales laisse imaginer une destruction très précise des cellules atteintes. La molécule chargée du ciblage peut être commandée à distance, selon le type de nanoparticules, par un laser, des rayons X, un champ magnétique ou la lumière. Il peut donc être intéressant, dans ces cas là, de combiner le diagnostic à la thérapie.

Les nanoparticules d'or font parties des rares nanomatériaux facile à fabriquer et dont la toxicité rénale et hépatique reste minimale (Hainfeld et coll. 2004).

Lorsque les nanoparticules d'or sont soumises à la lumière, elles ont la spécificité de chauffer. Ainsi, lorsque la tumeur est détectée, grâce à l'ajout d'une sonde spécifique doublée d'un agent de contraste, il faut l'irradier avec un faisceau de lumière afin que les particules d'or chauffées la détruisent (Kennedy et coll. 2011).

L'équipe du Pr. West, de la Rice University à Houston, a réalisé des structures en or, nommées nanoballes, capables de détruire certains types de cancers inopérables.

Ces nanoballes se présentent comme de petites particules de silice, d'environ 110 nm de diamètre, recouvertes d'une couche d'or de 10 nm d'épaisseur (**fig 20**). L'application d'une lumière, située dans l'infrarouge, sur cette couche externe provoque une élévation thermique de la nanoballe.



**Figure 20** : Nanoballe d'or (<http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/dosnano/accueil.htm#>)

Des anticorps spécifiques des antigènes de la tumeur sont fixés sur les nanoballes afin qu'elles ciblent exclusivement les cellules cancéreuses.

Les résultats de cette expérience, réalisée en 2004 sur des patients atteints de cancer du poumon, n'ont toujours pas été publiés.

De nombreuses techniques de thérapies anticancéreuses qui utilisent les nanoparticules sont en développement.

Parmi elles, la neutronthérapie, basée sur l'incorporation de nanoparticules d'oxyde de gadolinium, dans les cellules cancéreuses. L'application d'un faisceau de neutrons thermiques est sans danger pour les cellules, sauf pour celles qui contiennent des nanoparticules d'oxyde de gadolinium, qui seront détruites immédiatement. Les cellules cancéreuses seront donc ciblées spécifiquement et les cellules saines, épargnées.

Une autre technique est fondée sur l'activation magnétique des cellules tumorales. Il s'agit d'injecter des nanoparticules magnétiques, à base de fer, dans le corps ; celles-ci ont une affinité particulière pour les cellules tumorales, qui les absorbent plus facilement. Les cellules tumorales sont ensuite détruites à l'aide d'un champ magnétique extérieur, qui provoque une élévation thermique localisée.

### 3.3.3 Nanomédecine et maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer correspond à un trouble irréversible, progressif et fatal caractérisé par la perte des fonctions cognitives telles que la mémoire, la capacité de communiquer, d'établir un raisonnement ou un jugement.

Deux processus dégénératifs caractérisent cette pathologie : l'amyloïdogénèse, qui correspond à la formation de filaments de peptide  $\beta$ -amyloïde sous forme de dépôts extracellulaires appelés plaques séniles ; et la dégénérescence neurofibrillaire, qui résulte de l'agrégation intraneuronale de filaments de protéines tau pathologiques (Wilson, 2011). Cette pathologie se définit également par un déficit cholinergique, par conséquent, les thérapeutiques classiques visent à augmenter le niveau d'acétylcholine dans le cerveau, en inhibant la cholinestérase.

L'utilisation de nanoparticules en médecine se révèle utile pour transporter les médicaments à travers la barrière hémato-encéphalique du cerveau. Cependant, la littérature ne présente que peu d'études concernant leur utilisation pour la maladie d'Alzheimer.

Les recherches actuelles se focalisent sur la neutralisation du peptide  $\beta$ -amyloïde neurotoxique qui permettrait d'enrayer la pathologie. Jusqu'à présent, la plus grande difficulté était le passage de la barrière hémato-encéphalique, mais grâce aux nanoparticules l'obstacle est dorénavant surmonté.

Une équipe de scientifiques a développé un nano-véhicule intelligent, afin de cibler les anticorps anti-amyloïde qui se forment lors de la maladie d'Alzheimer et lors des angiopathies cérébro-vasculaire. Ce nano-véhicule est composé d'un cœur en polymère chitosan et est recouvert d'anticorps anti-amyloïde. Les scientifiques ont également fabriqué des nano-véhicules contrôles, recouverts de sérum d'albumine bovin, et ils ont comparé le taux des deux types de nano-véhicules, dans différentes parties du cerveau. Les résultats ont montré une assimilation des nanoparticules recouvert d'anticorps, par différentes parties du cerveau, jusqu'à 11 fois supérieure (Joshi et coll. 2010).

D'autres études ont analysé la capacité des nanoparticules à délivrer un métal chélateur, comme la desferrioxamine, dans le cerveau. Cette substance empêcherait l'agrégation des peptides  $\beta$ -amyloïde, à l'origine des plaques séniles. Cependant, l'apparition d'effets secondaires liés au métal a limité leur usage.

Une autre étude a étudié la fixation de D-pénicillamine sur les nanoparticules : les résultats obtenus in vitro prouvent une solubilisation des peptides  $\beta$ -amyloïde, évitant ainsi leur accumulation (Cui et coll. 2005).

Les recherches du traitement de la maladie d'Alzheimer n'en sont qu'à leur balbutiement et l'apparition de la nanomédecine ouvre de nouvelles perspectives ; il reste néanmoins de nombreux défis à relever afin de trouver la thérapeutique idéale.

## **4. Risques potentiels des nanotechnologies sur la santé**

### 4.1 Nanotechnologies et vie quotidienne

Les nanosciences et nanotechnologies s'imposent aujourd'hui comme l'un des axes prioritaire de la recherche. Les nanotechnologies font actuellement partie intégrante de la vie quotidienne et touchent une multitude de systèmes. D'après Michel Lourtioz, directeur de l'institut d'électronique fondamentale, cette course à la miniaturisation a d'abord été réservée au domaine de l'électronique et elle atteint aujourd'hui la biologie et la médecine ouvrant ainsi de grandes perspectives, dans ces deux disciplines.

En 2010, le Bureau européen des unions de consommateurs (Beuc) et the European consumer voice in standardisation (Anec) ont recensé, sur le marché européen, 475 produits censés contenir des nanotechnologies, contre 151, lors du précédent inventaire en 2009.

Parmi les nombreuses utilisations des nanotechnologies, on distingue une grande variété de champs d'application :

- La nanoélectronique, dans le domaine de l'informatique, avec une course à la finesse des transistors. Ces composants, à base de nanotubes de carbone ou de nanofils de silicium, atteignaient 90 nm en 2004 et les scientifiques visent 10 nm dans les prochaines années. L'objectif de cette miniaturisation est de pouvoir mettre

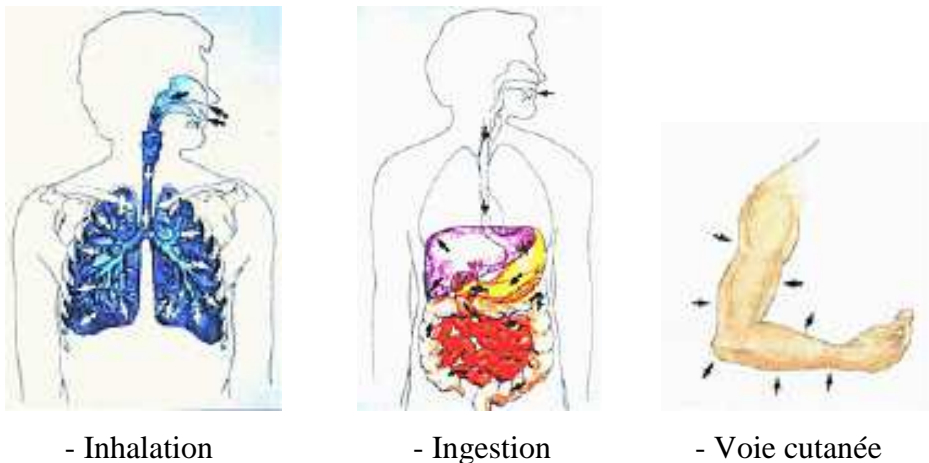
un maximum de ces éléments de base, sur une puce afin d'accroître la puissance de calcul.

- La médecine, avec l'encapsulation de substances dans des nanodispositifs, afin d'améliorer le diagnostic et le traitement médical, ou encore l'utilisation de nanocristaux d'argent dans les pansements pour constituer une barrière anti-microbienne.
- L'environnement, avec la nanofiltration des eaux usées à l'aide de nanofilm d'oxydes métalliques qui, lorsqu'ils sont exposés au soleil, inactivent certains agents pathogènes (bactérie, virus) et pesticides, contenus dans l'eau. Cette méthode n'est pas encore exploitable à grande échelle, car elle ne fonctionne que sur un nombre limité d'espèces polluantes.
- Les loisirs avec la présence de nanotubes de carbone dans les cadres de vélo, les raquettes de tennis, les clubs et balles de golf ou encore dans les carrosseries de Formule 1 (Testard-Vailland, 2009).
- Les textiles avec la création de nanotextiles aux propriétés anti-tâche, imperméable ou anti-microbienne.
- Les nanocosmétiques avec des crèmes résistantes à l'eau ou qui ne laissent aucune trace blanche sur la peau après application, grâce aux nanoparticules de dioxyde de titane ou d'oxyde de zinc. Il existe également des fonds de teint, qui possèdent des vertus « lissantes », car ils contiennent des nanoparticules de dioxyde de silicium et de dioxyde de zinc, qui retiennent les enzymes à l'origine de la sécheresse et de la rugosité de la peau.
- La peinture avec l'incorporation de nanoparticules inorganiques comme additifs afin d'accroître sa résistance à l'abrasion.

Les nanotechnologies touchent donc une multitude de domaines de la vie quotidienne mais les recherches n'en sont encore qu'aux prémices, il reste encore de nombreuses voies à explorer et à valider pour permettre une application, en toute sécurité sur l'homme.

#### 4.2 Les voies d'exposition du corps humain aux nanoparticules

Compte tenu de l'importance grandissante des nanotechnologies dans la société actuelle, la population générale est exposée par diverses voies. On en distingue trois qui sont en contact permanent avec l'environnement extérieur : la bouche, le nez, la peau (**fig 21**).



**Figure 21** : Voies d'exposition du corps humain aux nanoparticules (Tchangna, 2008)

##### 4.2.1 L'ingestion de nanoparticules

La fonction du tractus intestinal est l'absorption de substances exogènes, par conséquent, les nanoparticules vont donc franchir la barrière du mucus et ainsi, pouvoir se répandre dans les vaisseaux lymphatiques et les capillaires. Ce phénomène est d'autant plus important que les scientifiques conçoivent des nanostructures afin de faciliter l'absorption de substances médicament.

Des éléments nanométriques peuvent également se retrouver dans l'organisme via l'alimentation, comme certaines huiles actives anti-cholestérol, ou via certains dentifrices avalés par le patient.

#### 4.2.2 L'entrée des nanoparticules par voie cutanée

La peau est constituée de deux couches superficielles :

- L'épiderme ; il s'agit d'une couche de cellules mortes qui n'est pas vascularisée directement mais par diffusion à travers le derme. Il joue le rôle de barrière contre la pénétration de particules.
- Le derme ; il s'agit de la couche sous-jacente, composée de cellules vivantes, innervées et vascularisées, où se trouvent des glandes productrices de sébum.

La pénétration des particules à travers l'épiderme sera d'autant plus importante que la taille des particules sera petite. De plus, la pénétration est favorisée par l'altération de l'épiderme (coupures, piqûres...). L'utilisation de produits cosmétiques, tels que certaines crèmes solaires ou crèmes antirides, contenant des nanomatériaux provoque donc une pénétration des nanoparticules dans l'organisme entier.

#### 4.2.3 L'entrée des nanoparticules par l'appareil respiratoire

Les nanoparticules peuvent se répandre dans l'organisme, et ces différents organes, en passant par l'appareil respiratoire. Celui-ci est constitué des voies aériennes supérieures, qui assurent le flux d'air dans les poumons, et des alvéoles pulmonaires qui assurent les échanges gazeux, entre l'air et le sang.

Il existe deux systèmes de protection pulmonaire, en cas d'entrée de nanoparticules dans le système respiratoire. Le premier est situé dans les voies aériennes supérieures : les nanoparticules sont piégées dans le mucus puis, évacuées vers la bouche par des cils présents à la surface de l'épithélium des voies aériennes. Le second concerne les nanoparticules qui ont atteint le poumon plus profondément : elles sont incorporées dans des macrophages alvéolaires, qui seront ensuite éliminés de l'organisme, dans les sécrétions respiratoires. Si ces mécanismes d'épuration mucociliaire et alvéolaire sont saturés, l'inhalation de nanomatériaux pourrait provoquer une inflammation excessive et une destruction des tissus pulmonaires, comme cela a été observé pour l'amiante.

### 4.3 Les déterminants des effets toxiques des nanoparticules sur la santé

Au même titre que les particules ultrafines de la pollution atmosphérique, les chercheurs pensent que les effets toxiques des nanoparticules dépendent de plusieurs paramètres, tels que leur dimension, leur forme, leur composition, leur état d'agglomération... Cependant, il n'existe, actuellement, que très peu de données toxicologiques chez l'homme, et encore moins concernant les nanostructures utilisées dans le domaine médical (Nel et coll. 2006).

#### 4.3.1 La taille des nanoparticules

Suite à leur absorption, les nanoparticules atteignent la circulation sanguine et passent à travers les tissus. Une étude a mis en évidence une corrélation entre la taille des particules et le trajet parcouru dans l'organisme :

- Les nanoparticules inférieures à 100 nm peuvent être absorbées par les cellules de l'intestin mais leur absorption est supérieure dans les tissus lymphatiques.
- Les cellules intestinales ne peuvent pas absorber des particules dont la taille dépasse 400 nm.
- Seules les nanoparticules inférieures à 500 nm sont susceptibles de pénétrer dans le système circulatoire.

De plus, de par leur capacité à traverser les membranes cellulaires et à passer dans le sang, ainsi que dans différents organes, grâce à leur petite taille, les nanoparticules peuvent être plus toxiques que des particules plus grosses de même composition (Hyuk et coll. 2009).

#### 4.3.2 La surface des nanoparticules

Le paramètre « taille » est souvent associé au paramètre « surface », c'est-à-dire que pour une même « quantité » de particules administrées, plus la taille est petite, plus la surface totale est grande. Selon des études réalisées in vitro chez l'animal, il existe une corrélation entre la surface totale des nanoparticules administrées et l'afflux de polynucléaires neutrophiles dans les poumons, l'accumulation dans les ganglions lymphatiques ou encore

la modification de la perméabilité de l'épithélium pulmonaire. Donc, plus la taille des particules est petite, plus leur réactivité surfacique est grande.

#### 4.3.3 Le traitement de surface

Le revêtement de surface joue un rôle dans la pénétration des nanoparticules dans la cellule. Par exemple, des nanoparticules de polystyrène (240 nm) recouvertes par de la lécithine, un phospholipide membranaire, sont capables de franchir la barrière alvéolo-capillaire tandis que les mêmes particules non recouvertes n'y parviennent pas (Kato et coll. 2003).

Le degré d'hydrophobicité et d'hydrophilie des polymères greffés sur la surface des particules intervient également dans l'estimation du niveau de toxicité. L'absorption intestinale des particules hydrophobes seraient supérieure à celles des particules hydrophiles (Oberdo et coll.2010).

#### 4.3.4 La composition chimique des nanoparticules

La composition des particules est un paramètre conditionnant leurs effets biologiques. La production de radicaux libres d'oxyde (molécules très réactives pouvant moduler différents processus biologiques), est un mécanisme important. Le contenu en métaux de transition, tels que l'aluminium, est important de ce point de vue, parce qu'ils catalysent la production d'espèces radicalaires. Il faut ainsi noter qu'en cas de décomposition des différents constituants des nanomatériaux, c'est la toxicologie classique de ces différents constituants qui prédomine, et donc détermine les effets biologiques.

#### 4.3.5 Le degré d'agrégation des nanoparticules

Les nanoparticules tendent à s'agglomérer entre elles car elles sont soumises aux forces de Van der Waals et aux forces électrostatiques (Patnaik et coll. 2007). De plus, l'application de forces importantes provoque également ce phénomène d'agrégation, ce qui rend leur séparation encore plus difficile. Ces agrégats peuvent ainsi former des structures qui atteignent parfois une taille micrométrique, ce qui influence la tolérance de l'organisme à

ces particules. En effet, leur morphologie complexe, parfois difficile à caractériser, et leur déposition atypique dans l'organisme bouleversent les propriétés toxiques classiques. Une étude montre que l'administration orale de nanoparticules de Zinc provoque le décès d'animaux tandis que l'administration de particules de Zinc de taille micrométrique n'induit pas de tels effets (Andujar et coll. 2009).

#### 4.4 Les impacts des nanotechnologies sur la santé de l'Homme

Depuis toujours, l'Homme est exposé aux nanoparticules comme celles contenues dans l'air respiré. Cependant, les nanoparticules manufacturées par l'industrie présentent des propriétés physico-chimiques très diverses, voire nouvelles, par conséquent les risques qui en découlent ne sont pas toujours prévisibles.

Face à l'avenir prometteur des nanotechnologies, les interrogations concernant leurs effets sur la santé et l'environnement restent encore en suspens. De nombreux travaux étudient les propriétés toxicologiques des nanomatériaux, mais la plupart des expériences sont réalisées in vitro ou in vivo chez l'animal, notamment chez le rongeur, qui possède des poumons beaucoup plus réactifs que ceux de l'homme, avec des doses beaucoup plus importantes que celles auxquelles l'homme est exposé.

Des études sur volontaires ont mis en évidence une corrélation entre le taux de nanoparticules inhalées et une altération du rythme cardiaque (dépressions du fragment ST) ainsi que du diamètre artériel (PEKKANEN and coll.2002).

Une autre étude, réalisée sur volontaires asthmatiques ayant inhalé des nanotubes de carbone, indiquent un accroissement de l'inflammation de l'épithélium pulmonaire, l'apparition d'une hyperréactivité bronchique et d'une vasoconstriction pulmonaire, ainsi qu'une chute du taux de leucocytes (Frampton et coll. 2006).

Divers travaux ont révélé des effets cancérigènes dus aux nanoparticules. En effet, il existerait un lien entre la présence de microparticules ou de nanoparticules dans l'organisme et le cancer du côlon ou la maladie de Crohn (Gatti, 2004).

Une étude in vitro a démontré que la viabilité des hépatocytes diminuait lorsqu'ils étaient incubés dans une solution contenant des quantum dots de sélénure de cadmium (CdSe). La cytotoxicité de ces quantum dots serait secondaire à une oxydation de leur surface et à la libération d'ions cadmium, reconnus cancérigènes pour l'homme (Witschger et coll. 2005).

Cependant, les études sur l'homme restent peu nombreuses et les moyens déployés en matière de nanotoxicité encore insuffisants, par conséquent, la connaissance des impacts des nanotechnologies sur la santé demeure très restreinte.

#### 4.5 Les limites des données toxicologiques actuelles

Le domaine des nanotechnologies est en pleine effervescence et de nouvelles nanoparticules sont régulièrement synthétisées. Elles présentent, très souvent, des propriétés physiques et chimiques exceptionnelles qui rendent la prédiction des risques toxicologiques très complexe.

Les risques liés à la toxicité ou à la dissémination des nanoparticules restent actuellement impossible à évaluer et incitent donc à un comportement responsable et au principe de précaution. Le manque d'expérience, de publications et le peu de recul que l'homme possède envers cette nouvelle technologie incite donc à la prudence.

En effet, comment étudier les effets secondaires d'éventuels changements de comportement d'une matière au contact de l'organisme, alors que les scientifiques ne la maîtrisent pas initialement ?

Compte tenu de la quantité des produits commercialisés contenant des nanoparticules, de leur utilisation croissante dans le domaine de la santé, de l'exposition de la population générale et de l'impact sur l'environnement, les réglementations impliquant les nanotechnologies sont en pleine évolution.

Devant toutes ces incertitudes, une grande partie du budget devrait être investie dans la recherche sur les risques, mais, la majeure partie du budget est consacrée aux nouvelles applications possibles. Pour illustration, au niveau mondial, en 2005, si 10 milliards de

dollars ont été consacrés à la Recherche et Développement dans le domaine des nanosciences et des nanotechnologies, seulement 40 millions de dollars l'ont été à des fins de recherche sur les effets secondaires.

Par conséquent, de nombreux progrès restent à réaliser dans cette nouvelle discipline émergente afin de bénéficier de ses propriétés novatrices, en toute sécurité.

## **Conclusion**

Les nanotechnologies, dont les produits sont déjà largement présents dans notre environnement quotidien, sont à l'origine de nombreuses avancées, notamment dans le domaine de la santé. Dans les années à venir, elles sont prometteuses d'améliorations, encore plus considérables qu'insoupçonnées. Cependant, l'avenir de cette science émergente doit passer par son contrôle et sa maîtrise.

Comme tout progrès novateur, les nanotechnologies comportent des risques encore mal identifiés. La multiplicité des propriétés nouvelles des nano-objets, la difficulté de les appréhender de manière simple, rapide et fiable, sont en partie responsables de cette incertitude.

L'éventualité de risques encore inconnus pour la santé de l'homme ne peut être exclue, elle ne peut être maîtrisée que par une recherche fondamentale adaptée à ces incertitudes et par une réglementation rigoureuse reflétant l'état des connaissances. Actuellement, l'AFNOR (Association française de normalisation), le CEN (Comité européen de normalisation) et l'ISO (International organization for standardization) travaillent à l'élaboration de normes concernant les nanotechnologies et les nanoparticules.

## **BIBLIOGRAPHIE**

1. ANUSAVICE KJ., Zhang NZ., Shen C. - Effect of CaF<sub>2</sub> content on rate of fluoride release from filled resins. *J Dent Res.* 2005; 84:440-444.
2. ANDUJAR P., LANONE S., BROCHARD P., BOCZKOWSKI J. – Effets respiratoires des nanoparticules manufacturées. *Rev Mal Respir* 2009; 26 : 625-37.
3. BASLY B. - Conception et caractérisation de nano-objets magnétiques pour l'imagerie par résonance magnétique (IRM) – Thèse pour le diplôme de doct. : Strasbourg 2010.
4. BEUN S., GLORIEUX T., DEVAUX J., VREVEN J., LELOUP G. - Characterization of nanofilled compared to universal and microfilled composites. *Dent Mater.* 2007;. 23:51-59.
5. BHARDWAJ S., MEHTA M., GAUBA K. - Nanotechnology: Role in dental biofilms. *Ind.J.Dent.Res.* 2009, 20: 511-3.
6. BRAMMER KS., OH S., COBB CJ., BJURSTEN LM., HEYDE HVD., JIN S. - Improved bone-forming functionality on diameter-controlled TiO<sub>2</sub> nanotube surface. *Acta Biomaterialia.* 2009; vol. 5, no. 8, pp. 3215–3223.
7. CHIANG YC., CHEN HJ., LIU HC., KANG SH., LEE BS., LIN FH., LIN HP., LIN CP. - A Novel Mesoporous biomaterial for treating Dentin Hypersensitivity. *J Dent Res* 2010; 89(3):236-240.
8. CHOW LC. - Calcium phosphate cements: chemistry, properties, and applications. *Mat Res Soc Symp.* 2000; 599:27-37.
9. CHOW LC., SUN L., HOCKEY B. - Properties of nanostructured hydroxyapatite prepared by a spray drying technique. *J Res Natl Inst Stand Technol.* 2004; 109:543-551.

10. CITEAU A., GUICHEUX J., VINATIER C. - In vitro biological effects of titanium rough surface obtained by calcium phosphate grid blasting. *Biomaterials*. 2005; vol. 26, no. 2, 157–165.
11. CNRS. *Focus Nanosciences*. 2005. P 12-14
12. CUI Z., LOCKMAN PR., ATWOOD CS. - Novel d-penicillamine carrying nanoparticles for metal chelation therapy in Alzheimer's and other CNS diseases. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2005; 59, 263–272.
13. DICKENS SH., FLAIM GM., TAKAGI S. - Mechanical properties and biochemical activity of remineralizing resin-based Ca-PO<sub>4</sub> cements. *Dent Mater.* 2003; 19:558-566.
14. FRAMPTON MW., STEWART JC., OBERDORSTER G., MORROW PE., CHALUPA D., PIETROPAOLI AP. - Inhalation of ultrafine particles alters blood leukocyte expression of adhesion molecules in humans. *Environ Health Perspect.* 2006; 114(1): 51-8.
15. FREITAS R.A. - Current Status of Nanomedicine and Medical Nanorobotics. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*. 2005; Vol.2, 1–25.
16. FREITAS RA. - Nanodentistry. *J Am Dent Assoc.* 2000; 131;1559-1565.
17. GANN T., CHIH-HSIEN C., HSIN E., TE-WEI L. - Nanotargeted Radionuclides for Cancer Nuclear Imaging and Internal Radiotherapy. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2010; Article ID 953537.
18. GARCIA I., TABAK LA. - A View of the Future: Dentistry and Oral Health in America. *J Am Dent Assoc.* 2009; 140:44-48.

19. GATTI AM. Biocompatibility of micro- and nano-particles in the colon. Part II Biomaterials. 2004; 25(3):385-92.
20. GLASSPOOLE EA., ERICKSON RL., DAVIDSON CL. - A fluoride-releasing composite for dental applications. Dent Mater. 2001; 17:127-133.
21. GOTZ W., LENZ S., REICHERT C., BIENENGRABER KO., PEMICKA L., GUNDLACH KKH., GERBER T., GEDRANGE T., HEINEMANN F. - A preliminary study in osteoinduction by a nano-crystalline hydroxyapatite in the mini pig. Folia Histochemica et cytobiologica. 2010; 48:589-596.
22. HAINFELD JF., SLATKIN DN., SMILOWITZ HM. - The use of gold nanoparticles to enhance to radiotherapy in mice. Phys Med Biol. 2004; 49: N309-15.
23. HOBKIRK JA. - Progress in implant research. International Dental Journal. 1983; vol. 33, no. 4, 341–349.
24. HU S., WANG J., MEIJER J., LEONG S., XIE YM., YU T., ZHOU H., HENRY S., VISSINK A., PIJPE J., KALLENBERG C., ELASHOFF D., LOO JA., WONG DT. - Salivary proteomic and genomic biomarkers for primary Sjögren's syndrome. Arthritis & Rheumatism. 2007; 56:3588–3600.
25. HYUK S., SUSLICK SK., STUCKY G., SUH YH. - Nanotechnology, nanotoxicology, and neuroscience. Pro Neurobiol. 2009; 87(3):133-170.
26. IKEDAA E., MORITA R., NAKAOA K., ISHIDAA K., NAKAMURAA T., TAKANO-YAMAMOTOD T., OGAWAB M., MIZUNOA M., KASUGAIE S., TSUJIA T. - Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy. PNAS. 2009; 106:13475–13480.
27. JACOTA POPESCU SA. - Films minces de dioxyde de titane déposés sur titane par MOCVD : microstructure et biocompatibilité. Thèse pour le diplôme de doct., Toulouse, 2008.

28. JAIN KK. - Advances in the field of nanooncology. *BMC Medicine*. 2010; 8:83.
29. JANDT KD., SIGUSCH BW. - Future perspectives of resin-based dental materials. *dental materials*. 2009; 1001–1006.
30. JOKSTAD A., BAYNE S., BLUNCK U., TYAS M., WILSON N. - Quality of dental restorations. *FDI Commission Projects. Int Dent J*. 2001; 2-95, 51:117-158.
31. JOSHI SA., CHAVHAN SS., SAWANT KK. - Rivastigmine-loaded PLGA and PBCA nanoparticles: preparation, optimization, characterization, in vitro and pharmacodynamic studies. *Eur. J. Pharm. Biopharm*. 2010; 76:189–199.
32. JULIANO R., SUNNARBORG S., DESIMONE J., HAROON Z. - The Carolina Center of Cancer Nanotechnology Excellence: past accomplishments and future perspectives. *Nanomedicine*. 2011; 6(1), 19–24.
33. KATO T., YASHIRO T., MURATA Y., HERBERT DC., OSHIKAWA K., BANDO M., OHNO S., SUGIYAMA Y. – Evidence that exogenous substances can be phagocytized by alveolar epithelial cells and transported into blood capillaries. *Cell tissue Res*. 2003; 311:47-51.
34. KENNEDY LC., BICKFORD LR., LEWINSKI NA., COUGHLIN AJ., HU Y., DAY ES., WEST JL., DREZEK RA. - A new era for cancer treatment: gold-nanoparticle-mediated thermal therapies. *Small*. 2011 Jan 17;7(2):169-83.
35. KIDWELL DA., HOLLAND JC., ATHANASELIS S. - Testing for drugs of abuse in saliva and sweat. *J. Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 1998; 713:111–135.
36. KRÄMER N., GARCIA-GODOY F., REINELT C., FRANKENBERGER R - Clinical performance of posterior compomer restorations over 4 years. *Am J Dent*. 2006; 19:61-66.

37. KUMAR S., SAVADI R., JOHN J. - Nanodentistry: A Paradigm Shift-from Fiction to Reality. *J Indian Prosthodont Soc.* 2011; 11(1):1–6.
38. LAVENUS S., LOUARN G., LAYROLLE P. - Nanotechnology and Dental Implants. *International Journal of Biomaterials.* 2010; Article ID 915327.
39. LAVENUS S., BERREUR M., TRICHET V., PILET P., LOUARN G., LAYROLLE P. – Adhesion and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells on titanium nanopores. *Cells and Materials.* 2011 22:84-96.
40. LEE J., SIEWEKE JH., RODRIGUEZ NA., SCHUPBACH P., LINDSTROM H., SUSIN C., WIKESJO UM. - Evaluation of nano-technologymodified zirconia oral implants: a study in rabbits. *J Clin Periodontol.* 2009; 36:610–617.
41. LEE YH., WONG DT. - Saliva: An emerging biofluid for early detection of diseases. *Am J Dent.* 2009; 22(4): 241–248.
42. LE GUEHENNEC L., SOUEIDAN A., LAYROLLE P., AMOURIG Y. - Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dental Materials.* 2007; 23:844–854, 2007.
43. LOPEZ-HEREDIA MA., WEISS P., LAYROLLE P. - An electrodeposition method of calcium phosphate coatings on titanium alloy. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine.* 2007; 18:381–390.
44. MAGLOIRE H., COUBLE ML. - L'implant dentaire biologique: mythe ou réalité ? *Rev Stomatol Chir Maxillofac.* 2011; 112:240-248.
45. MALLIPEDDI R., CENCIA ROHAN L. - Progress in antiretroviral drug delivery using nanotechnology. *International Journal of Nanomedicine.* 2010; 5:533–547.
46. MALONE B. – 30 years of HIV/AIDS, When will routine testing become a reality ? *Clinical laboratory news.* 2011; 37, n°8.

47. MAMP T., MOSEMAN A., KOLISHETTI N., SALVADOR-MORALES C., SHI J., KURITZKES DR., LANGER R, VON ANDRIAN U., FAROKHZAD O. - Emerging nanotechnology approaches for HIV/AIDS treatment and prevention.. *Nanomedicine*. 2010; 2:269–285.
48. MENDONCA G., MENDONCA DBS., ARAGA FJL., COOPER LF. - Advancing dental implant surface technology – From micron to nanotopography. *Biomaterials*. 2008; 29:3822–383.
49. MILLER R., GUO Z., VOGLER EA., SIEDLECKI CA. – Plasma coagulation response to surfaces with nanoscale chemical heterogeneity. *Biomaterials*. 2006; 27:208–215.
50. MITRA S., HOLMES BN., WU D. - An application of nanotechnology in advanced dental materials. *J Am Dent Assoc*. 2003; 134:1382-1390.
51. MUELLER WD., GROSS U., FRITZ T. - Evaluation of the interface between bone and titanium surfaces being blasted by aluminium oxide or bioceramic particles. *Clinical Oral Implants Research*. 2003; 14:349–356.
52. NEL A., XIA T., MADLER L., LI N. - Toxic potential of material at the naolevel. *Science*. 2006; 311:622-7.
53. OH SH., FINONES RR., DARAIIO C., CHEN LH., JIN S. - Growth of nano-scale hydroxyapatite using chemically treated titanium oxide nanotubes. *Biomaterials*. 2005; 26 :4938–4943.
54. ORCHARDSON R., GILLAM D. - Managing dentin hypersensitivity. *J Am Dent Assoc*. 2006; 137:990-998.

55. OZEL Y., ERDEMIR U., YILDIZ E., KILIC I. - Used to Treat Dentin hypersensitivity: The Efficacy of Three Desensitizing Agents. *J Am Dent Assoc.* 2010; 141:285-296.
56. PATNAIK A. - Structure and dynamics in self-organized C60 fullerenes. *J Nanosci Nanotechnol.* 2007; 7:1111-50.
57. PAUTLER M., BRENNER S. - Nanomedicine: promises and challenges for the future of public health. *International Journal of Nanomedicine.* 2010; 5:803–809.
58. PEKKANEN J., PETERS A., HOEK G., TIITTANEN P., BRUNEKREFF B. - Particulate air pollution and risk of ST-segment depression during repeated submaximal exercise tests among subjects with coronary heart diseases. The exposure and risk assessment for fine and ultrafine particles in ambient air study. *Circulation.* 2002; 106:933-8.
59. POPE CA., BURNETT RT., THUN MJ., CALE EE., KREWSKI D., ITO K., THURSTON GD. – Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and longterm exposure to fine particulate air pollution. *JAMA.* 2002; 287:1132-41.
60. RYAN JM. - Silver antimicrobial nanotech: An alternative to antibiotic use. Longmont, CO: Ionic fusion corp. 2005; cited April 15.
61. SAKAGUCHI RL. - Review of the current status and challenges for dental posterior restorative composites: clinical, chemistry, and physical behavior considerations. *Dent Mater.* 2005; 21:3-6.
62. SARETT DC. - Clinical challenges and the relevance of materials testing for posterior composite restorations. *Dent Mater.* 2005; 21:9-20.

63. SAWASE T., JIMBO R., BABA K., SHIBATA Y., IKEDA T., ATSUTA M. - Photo-induced hydrophilicity enhances initial cell behavior and early bone apposition. *Clinical Oral Implants Research*. 2008; 19:491–496.
64. SHARMA S., CROSS SE., HSUEH C., WALI RP., STIEG A., GIMZEWSKI J. - Nanocharacterization in Dentistry. *Int. J. Mol. Sci.* 2010; 11:2523-2545.
65. SHELHART WC., OESTERLE LJ. - Uprighting molars without extrusion. *JADA*. 1999; 130:381-5.
66. SIDHU SK., SHERRIFF M., WATSON TF. - The effects of maturity and dehydration shrinkage on resin-modified glass-ionomer restorations. *J Dent Res*. 1997; 76:1495-1501.
67. SKRTIC D., ANTONUCCI JM., EANES ED., EICHMILLER FC., SCHUMACHER GE. - Physicochemical evaluation of bioactive polymeric composites based on hybrid amorphous calcium phosphates. *J Biomed Mater Res*. 2000; 53:381-391.
68. SUN L., BEMDT CC., GROSS KA., KUCUK A. - Material Fundamentals and Clinical Performance of Plasma-Sprayed Hydroxyapatite Coatings: A Review. *J Biomed Mater Res*. 2001; 58(5): 570–92.
69. SVANBORG LM., ANDERSSON M., WENNERBERG A. - Characterization of Commercial Oral Implants on the Nanometer Level. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2010; 92(2):462-9.
70. TAY FR., PASHLEY DH. - Biomimetic Remineralization of Resin-bonded Acid-etched dentin. *J Dent Res*. 2009; 88(8): 719–724.
71. TCHANGNA MC. – Les nanotechnologies et les risques de santé. Mémoire Master II en Droit de la Santé, Toulouse. Année universitaire 2007-2008.

72. TESTARD-VAILLAND P. - Les promesses tenues des nanos. Le journal du CNRS. 2009; 23:18-27.
73. THE ROYAL SOCIETY AND THE ROYAL ACADEMY OF ENGINEERING. Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. Nanoscience and nanotechnologies. 2004; 1-49.
74. TRILLER M. - Histologie dentaire. PARIS, MASSON 1987. P 110-111.
75. WILSON AD., MCLEAN JW. - Glass-ionomer cement. Quintessence Publishing Co. 1988.
76. WILSON B. - Therapeutic compliance of nanomedicine in Alzheimer's disease. Nanomedicine. 2011; 6(7):1137-9.
77. WITSCHGER O., FABRIES JF. - Particules ultrafines et santé au travail, Sources et caractérisation de l'exposition. Hygiène et sécurité au travail. 2005; 5:37-54.
78. XIA Y., ZHANG F., XIE H., GU N. - Nanoparticle-reinforced resin-based dental composites. J Dent. 2008; 36:450-455.
79. XU HH. - Long-term water aging of whisker-reinforced polymer-matrix composites. J Dent Res. 2003; 82:48-52.
80. XU HH., SMITH DT., SIMON CG. - Strong and bioactive composites containing nano-silica-fused whiskers for bone repair. Biomaterials. 2004; 25:4615-4626.
81. XU HH., SUN L., WEIR MD., ANTONUCCI JM., TAKAGI S., CHOW LC. - Nano DCPA-whisker composites with high strength and Ca and PO<sub>4</sub> release. J Dent Res. 2006; 85:722-727.

82. XU HH., WEIR MD., SUN L. - Nanocomposites with Ca-PO<sub>4</sub> release: effects of reinforcement, dicalcium phosphate particle size and silanization. Dent Mater. 2007; 23:1482-1491.
83. XU HH., MOREAU JL., SUN L., CHOW LC. - Strength and fluoride release characteristics of a calcium fluoride-based dental nanocomposite. Biomaterials. 2008; 29:4261-4267.
84. YAO C., SLAMOVICH EB., WEBSTER TJ. – Enhanced osteoblast functions on anodized titanium with nanotube-like structures. J Biomed Mater Res A. 2008; 85:157–166.
85. YILDIRIM S., FUL SY., KIM K., ZHOU H., LEE CH., WANG S., MAO JJ.- Tooth regeneration: a revolution in stomatology and evolution in regenerative medicine. Int J Oral Sci. 2011; 3:107-116.
86. ZHENG Y., KIRALY B., HUANG T. - Molecular machines drive smart drug delivery. Nanomedicine. 2010; 5(9):1309–1312.

Sites internet :

87. CNRS (2007). Nanotechnologie et santé. Sur le site du CNRS [en ligne]. Site disponible sur : <http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/dosnano/accueil.htm#>
88. Commissariat à l’Energie Atomique et aux énergies alternatives (2008). Animation microscope à effet tunnel [en ligne]. Site disponible sur : [www.cea.fr](http://www.cea.fr)
89. Site internet dentaurum disponible sur : [www.dentaurum.de](http://www.dentaurum.de)
90. Site internet de medical bone. Nanobone [en ligne]. Site disponible sur : [www.medicalbone.com](http://www.medicalbone.com)

91. KNIBBE C. (2001). Transcriptome Analysis Tool [en ligne]. Site internet disponible sur : [http://www-bio3d-igbmc.u-strasbg.fr/~ripp/oeuvres/transat/Transat\\_11092001](http://www-bio3d-igbmc.u-strasbg.fr/~ripp/oeuvres/transat/Transat_11092001).
92. Site internet Nanobone. NanoBone® Nano, la nouvelle dimension, les vues au microscope [en ligne]. Site disponible sur : <http://www.nanobone.fr/nanobone.html>

