

A70

Étude comparative entre les nanoparticules d'argent de 20 et de 70 nm sur la physiologie des neutrophiles humains

Michelle Poirier, Jean-Christophe Simard, Francis Antoine et Denis Girard

Laboratoire de recherche en inflammation et physiologie des granulocytes, IAF

La résolution de l'inflammation est régulée par les phagocytes professionnels qui éliminent les polymorphonucléaires neutrophiles (PMNs) apoptotiques via la phagocytose. Sous certaines conditions, des nanoparticules (NPs), peuvent retarder l'apoptose spontanée des PMNs. L'apoptose pourrait être affectée par la nature de la NP et par son diamètre. Dans cette étude, nous voulons déterminer si la NP d'argent (AgNP) affecte le taux d'apoptose des PMNs humains et vérifier le rôle du diamètre. Les PMNs ont été isolés de volontaires sains et incubés *in vitro* avec diverses concentrations d'AgNP de diamètre de 20nm (AgNP₂₀) et de 70nm (AgNP₇₀). La toxicité a été déterminée par la technique d'exclusion au bleu trypan et par la présence de lactate dehydrogenase (LDH). L'apoptose a été évaluée par cytologie et par cytométrie en flux (FACS) en dénombrant le nombre de cellules annexine V-FITC positive. L'internalisation des NPs a été observée par microscopie électronique à transmission, la production d'interleukine-8 (IL-8) par ELISA et l'activité gélatinolytique par zymographie. La synthèse *de novo* des protéines a été étudiée par électrophorèse après marquage métabolique (³⁵S) et la génération de réactifs oxygénés (ROS) par FACS. Finalement, les événements de phosphorylation ont été observés par Western Blot. Aucune nécrose des PMNs n'a été observée avec l'AgNP₇₀. Les mêmes résultats ont été observés pour AgNP₂₀ à l'exception de $\approx 10\%$ de nécrose à 100 μ g/ml. Aucune augmentation de LDH n'a été observée et le taux d'apoptose est similaire au témoin pour toutes les concentrations d'AgNP_{20/70} sauf pour 100 μ g/ml d'AgNP₂₀ où le taux d'apoptose augmente alors que celui d'AgNP₇₀ est retardé. La production de base d'IL-8 est augmentée à 100 μ g/ml (d'un facteur de 100 pour AgNP₂₀ et d'un facteur de 5 pour AgNP₇₀). La MET nous a permis d'observer l'internalisation des AgNP₂₀ mais pas des AgNP₇₀. Aucune augmentation significative des ROS n'a été observée. AgNP_{20/70} inhibent la synthèse des protéines après 24h. L'analyse des résultats de la zymographie et des événements de phosphorylation est en cours. Les AgNPs peuvent affecter les taux d'apoptose des PMNs humains et les effets opposés sont associés à leur diamètre.