

Du passage gastro-intestinal de nanoparticules et nanotubes de carbone à leur impact biologique sur les organes cibles après translocation.

Laboratoire Pierre Süe CEA-CNRS, CEA Saclay

Contact : marie.carriere@cea.fr, 01 69 08 52 35

Les nanosciences et nanotechnologies conduisent à une production de nanomatériaux en forte croissance. Ces matériaux sont déjà largement utilisés dans des produits de consommation courante, sans que leur impact sur les populations et l'environnement n'ait été complètement caractérisé. L'étude des effets biologiques des nanoparticules et nanotubes de carbone constitue un préalable essentiel à leur utilisation raisonnée.

Ce sujet est connexe à celui de la thèse d'A. Simon, qui sera soutenue fin 2008, portant sur l'influence des caractéristiques physico-chimiques de nanomatériaux (taille, surface spécifique, composition, structure cristalline) sur leur impact biologique sur des cellules pulmonaires. Les études de nanotoxicologie au Laboratoire Pierre Süe sont soutenues par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR SEST 2007, SIGNANOTOX), le centre de compétence C'Nano Ile de France et l'ADEME.

Les nanoparticules sont actuellement utilisées comme adjuvants dans des produits de consommation courante. Dernièrement, des films plastiques et emballages alimentaires ont été enrichis de nanoparticules pour améliorer la conservation des aliments, notamment du fait des capacités antibactériennes de ces nanomatériaux. Le transfert de ces nanomatériaux de l'emballage à l'aliment est possible, ayant pour conséquence une exposition potentielle du consommateur après ingestion. D'autre part la production et l'utilisation massive de nanomatériaux pourrait conduire à l'exposition du personnel des usines de production, et de la population en cas de dissémination dans l'environnement.

Peu d'études sont actuellement menées sur la translocation des nanomatériaux après exposition des organes cibles, *i.e.* les poumons, les voies digestives et la peau. Cependant la communauté scientifique s'accorde sur l'existence d'une translocation, notamment à travers la barrière épithéliale pulmonaire et le long du nerf olfactif. Les nanomatériaux transitent alors par les voies sanguines pour atteindre les organes internes et sont potentiellement dangereux pour les organes traversés (voies sanguines, cœur) et les organes impliqués dans la détoxification et l'élimination (foie, rein).

Ce sujet vise à étudier la translocation de nanomatériaux à travers la barrière digestive, et l'impact biologique des nanomatériaux sur les organes cibles, à savoir les cellules épithéliales digestives, le foie et les reins.

Des cellules digestives de type Caco-2 (ATCC, HTB-37), issues du colon humain, seront cultivées sur des membranes semi-perméables permettant de maintenir leur polarité. Elles seront exposées au niveau de leur pôle apical (correspondant à la lumière intestinale) aux divers nanomatériaux. La toxicité potentielle des nanomatériaux sera évaluée par les tests classiques de cytotoxicité (MTT, LDH). La translocation des nanomatériaux à travers les cellules sera étudiée par observation en microscopie électronique à transmission après différents temps d'exposition. Les voies d'entrée des nanomatériaux dans les cellules pourront être identifiées grâce à l'utilisation d'inhibiteurs spécifiques de l'endocytose.

En parallèle, l'impact biologique des nanomatériaux sera étudié sur des cellules hépatiques (HepG2 et/ou WIF-B9 et/ou Can10, en collaboration avec le Dr. D. Cassio, INSERM-Université d'Orsay, UMR S-757) et rénales (NRK-52^E, ATCC CRL-1571 et/ou LLC-PK1, ATCC CL-101 et/ou MDCK, ATCC CCL-34). La toxicité potentielle des nanomatériaux sera définie, l'internalisation cellulaire sera observée en microscopie électronique à transmission.

Les effets délétères sur l'ADN seront recherchés au moyen de tests complémentaires de génotoxicité (test des comètes, des micronoyaux, immunomarquage des histones γ -H2AX, approches chromatographiques). Le devenir et la transformation des nanomatériaux seront étudiés par spectroscopie d'absorption des rayons X (ESRF, ANKA, SOLEIL) et les modifications du métabolisme des cellules seront identifiées par le développement de méthodes innovantes de RMN.

Les nanomatériaux utilisés incluent des nanoparticules commerciales (TiO_2 , Al_2O_3) et des nanoparticules (TiO_2) synthétisées au CEA/DSM/DRECAM/SPAM/LFP (collaboration C. Reynaud) par pyrolyse laser de précurseurs gazeux ou liquides. Ces nanoparticules diffèrent en termes de taille (dans une gamme de 10 à 150 nm), surface spécifique, structure cristalline (rutile et/ou anatase), composition. Le comportement de nanotubes de carbone multi-feuillets sera également étudié, ces nanotubes proviennent d'une synthèse par CVD (chemical vapor deposition) au CEA/DSM/DRECAM/SPAM/LFP (collaboration C. Reynaud), contenant des résidus de catalyseur métallique ou purifiés, et dont la taille peut être adaptée par sonication (gamme de longueur : 100 nm à 10 μm). Ces nanomatériaux ont été caractérisés et utilisés lors de la thèse d'A. Simon au Laboratoire Pierre Süe.

Cette thèse permettra d'approfondir les connaissances portant sur la toxicité des nanomatériaux et leur translocation aux organes internes en cas de contamination. Des techniques physico-chimiques telles que la spectroscopie d'absorption des rayons X et des développements innovants en spectroscopie RMN permettront de caractériser les transformations intracellulaires des nanomatériaux et d'identifier des biomarqueurs de la contamination.