

Séance de la Société de Médecine et Santé au Travail
de la Région PACA-Corse

Mardi 1^{er} avril 2007

Génotoxicité des nanomatériaux



Thierry Orsière

Laboratoire de Biogénotoxicologie et

Mutagenèse Environnementale (EA 1784 – FR ECCOREV)

Service de Médecine et Santé au Travail, Faculté de Médecine, Marseille

Introduction

- « *There is plenty of room at the bottom* », 1959
(Richard Feynman, prix Nobel de physique en 1965)
- L'infiniment petit n'en finit pas de délivrer les promesses d'un « nano-monde » où les propriétés de la matière semblent se métamorphoser...
- Les scientifiques parlent d'espoirs de recherche.
- Les industriels parlent de révolution : les nanotechnologies.
- Les hommes font face à de nouveaux risques potentiels, émergents, et très difficiles à évaluer

Les nano-...

- **Nanotechnologies** : toutes technologies recourant à l'emploi et utilisant les propriétés physiques ou chimiques de nanoparticules ou nanomatériaux.
- « **Nanomonde** » : l'une des expressions parmi tant d'autres exprimant l'importance de ce qui est parfois considéré comme une vraie révolution industrielle
- **Nanomatériaux** : matériaux manufacturés au moyen de techniques ascendantes (top-down) ou descendantes (bottom-up) constitués de nanoparticules prises ou non dans une matrice
- **Nanoparticules** : objet dont au moins une dimension est inférieure ou égale à 100nm et dont les propriétés découlent de cette taille.

Nanotechnologies : exemples d'applications

► Nanotechnologies : révolution industrielle et médicale

- Vectorisation des principes actifs
- Traitements anticancéreux (ex: nanoparticules magnétiques à base d'oxyde de Fer - hyperthermie)
- Imagerie médicale (nanoparticules magnétiques à base d'oxyde de Fer – Résonance magnétique nucléaire)
- Cosmétologie (crème solaire à base de nanoparticules d'oxyde de titane, de cérium, de zinc)
- Industriels : nanomatériaux plus légers présentant des propriétés de résistance mécanique exceptionnelles (cadre de vélo, raquette de tennis...)
- Textile : matériaux antitaches
- Composants électroniques
- Etc....

Nanomatériaux, sources d'inquiétude

- Les propriétés physico-chimiques de nanomatériaux ne sont en rien comparables à celles des mêmes composés à des échelles de taille supérieure (matériaux solides)
- Quelles sont leurs actions sur l'homme et sur l'environnement ?
- Pour bien se rendre compte de l'impact de matériaux nanométriques, il faut considérer que 2 g de nanoparticules de 100 nm de diamètre peuvent représenter suffisamment de matériel pour procurer 300 000 particules à chaque Homme sur Terre (Hardman, 2006).
- Comment se protéger de l'exposition de ces substances aussi fines (5-100 nm) ?
- Quelles sont les sources d'exposition de l'homme, de contamination de l'environnement ?

Origine des nanoparticules

Anthropogéniques

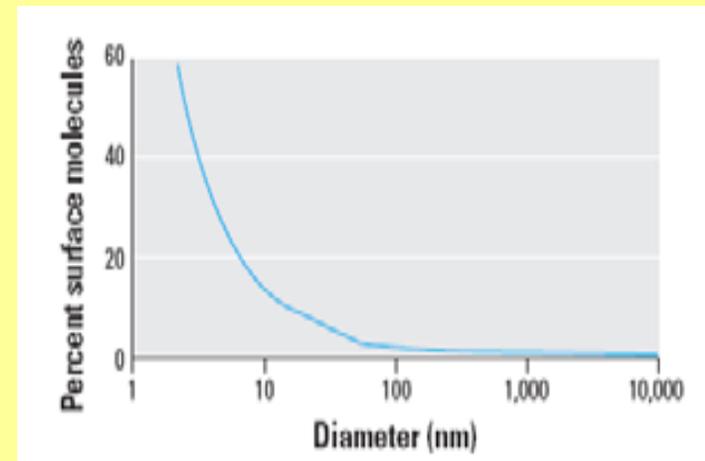
Naturelle	Non intentionnelles	Intentionnelles
Conversion phases gazeuses / particulaires	Engin à combustion	Taille et forme contrôlées, sujettes a fonctionnalisation
Feux de Forets	Centrales énergétiques	Métaux, semi-conducteurs, oxydes métalliques, carbones, polymères
Éruptions volcaniques	Incinérateurs	Nano-sphères, -tubes, -fils, -cage, anneaux
Virus	Fumées métalliques (soudage, fonte...)	Avec ou sans traitement de surface (pour application en cosmétiques, médecine, fabrication, électroniques, optiques, etc ...)
Magnétite biogénique (bactéries, mollusques, arthropodes, poissons, oiseaux, cerveau humain...)	Fumées de polymères	
Ferritine (12,5 nm)	Autres fumées	
...	Surfaces chauffées	
	Moteurs électriques	
	Fritures, grillades...	

Caractéristiques des nanomatériaux

- En quoi leurs tailles nanométriques modifient-elles à ce point leur propriétés ?

Table 2. Particle number and particle surface area per 10 µg/m³ airborne particles.

Particle diameter (nm)	Particle no. (cm ⁻³)	Particle surface area (µm ² /cm ³)
5	153,000,000	12,000
20	2,400,000	3,016
250	1,200	240
5,000	0.15	12

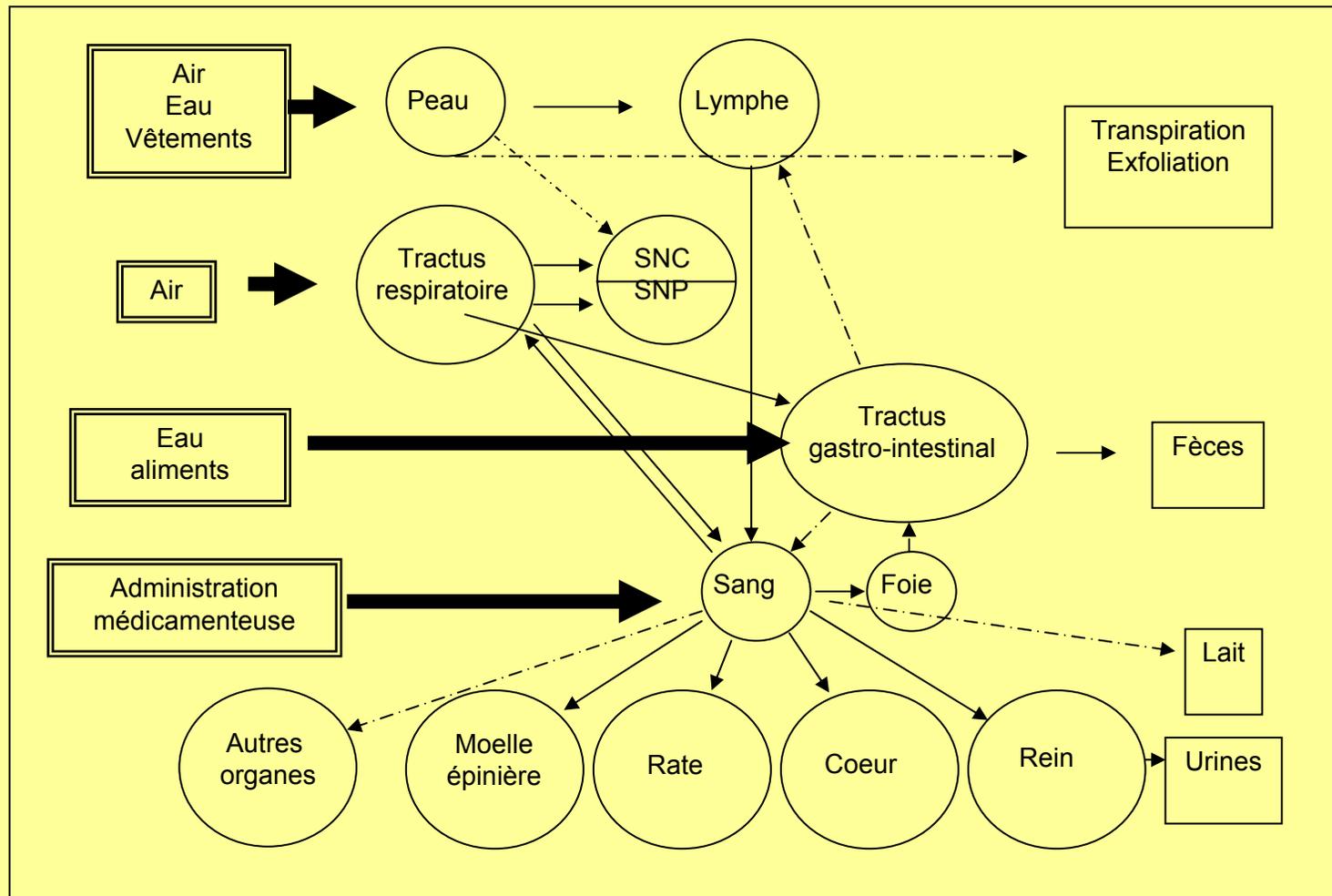


La proportion de molécules en surface des particules augmente exponentiellement lorsque la taille des particules passe en dessous de 100 nm. Importante aire de surface des nanoparticules induisant des réactivités chimiques et biologiques accrues.

Toxicologie des nanoparticules : problèmes liés à leur taille

- Toxicologie
 - Effet de dose
 - Effet de temps d'exposition
 - Réversibilité des effets
- Dose :
 - g/l ou mol/l, seule une partie des atomes sont en surface donc susceptibles d'interagir avec leur environnement
 - nombre de particules
 - **surface totale des particules**
 - **relation non linéaire entre ces paramètres**

Bio distribution effective et potentielle



Bio distribution des nanoparticules dans l'organisme. Certaines voies de passage ont été établies pour tels ou tels type de nanoparticules, mais bon nombre restent tantôt hypothétiques, tantôt sujettes à résultats contradictoires. Les cinétiques de passage d'un compartiment à un autre, les accumulations dans divers tissus et les mécanismes sous-jacents demeurent à ce jour inconnus.

Génotoxicité des nanomatériaux : quel intérêt ?

Facteurs environnementaux
et susceptibilité génétique



Effets biologiques précoces,
contemporains de l'exposition



Initiation

Effets biologiques tardifs



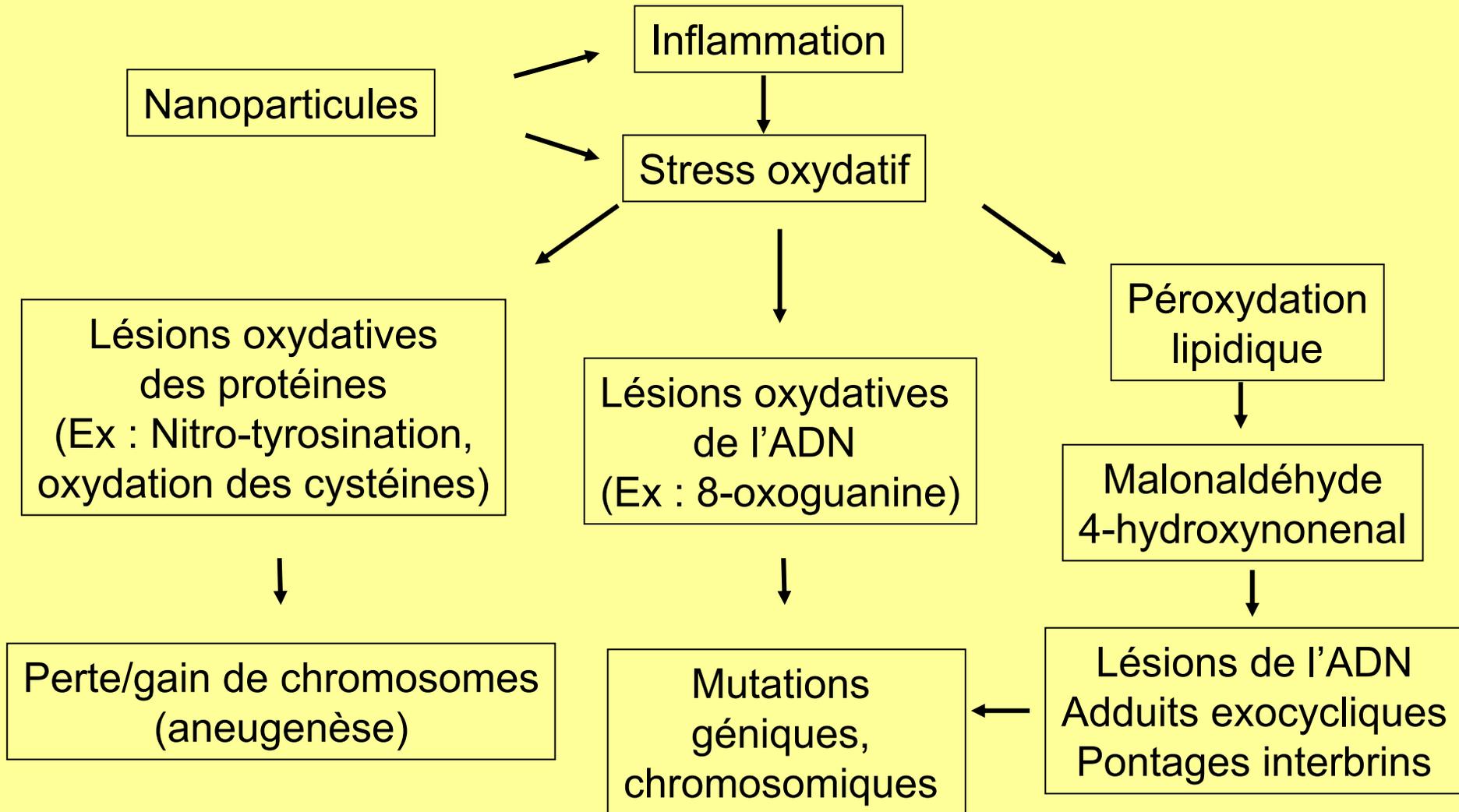
Promotion

Survenue de l'état pathologique

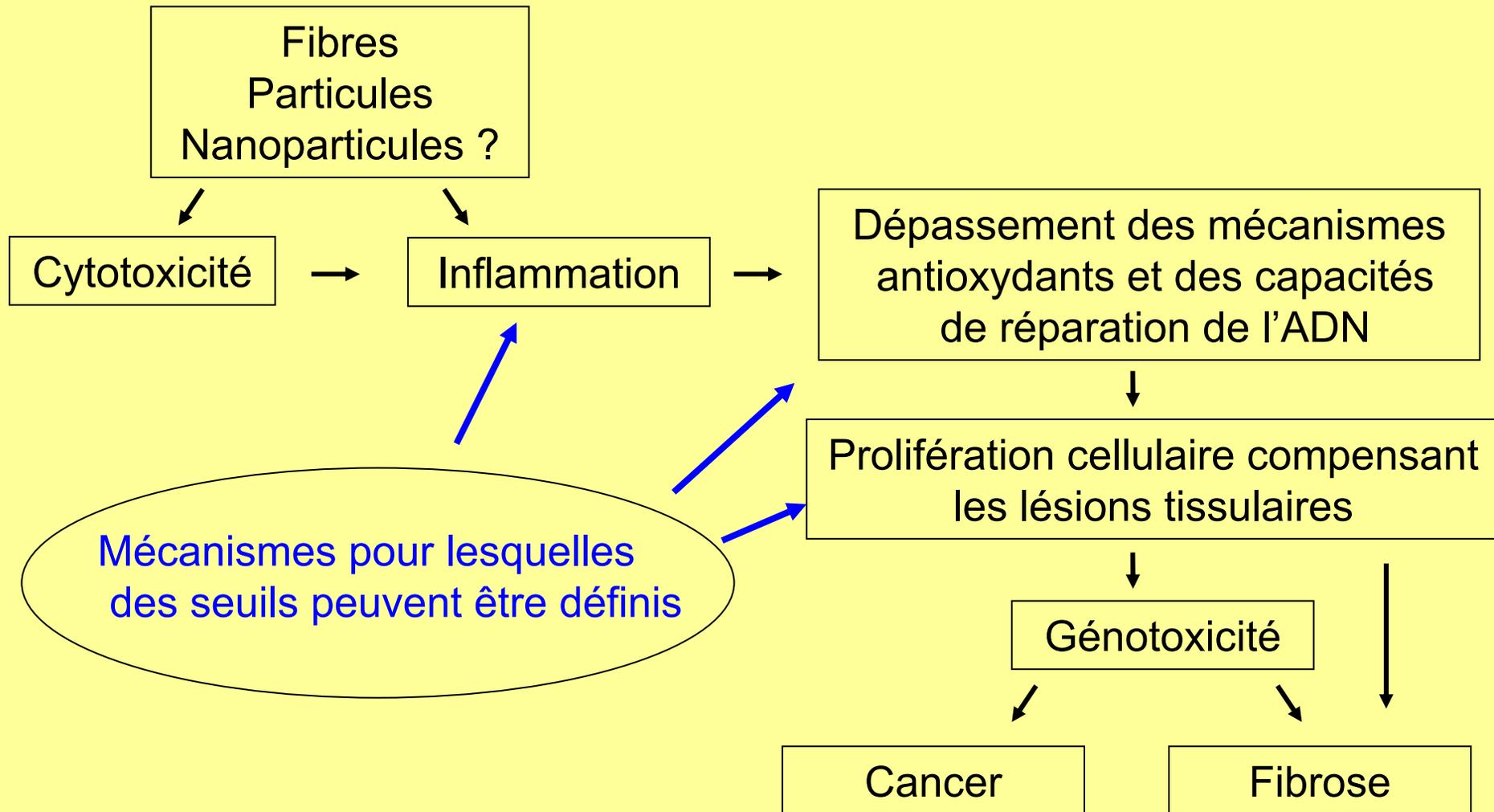


Progression

Données toxicologiques en relation avec la génotoxicité

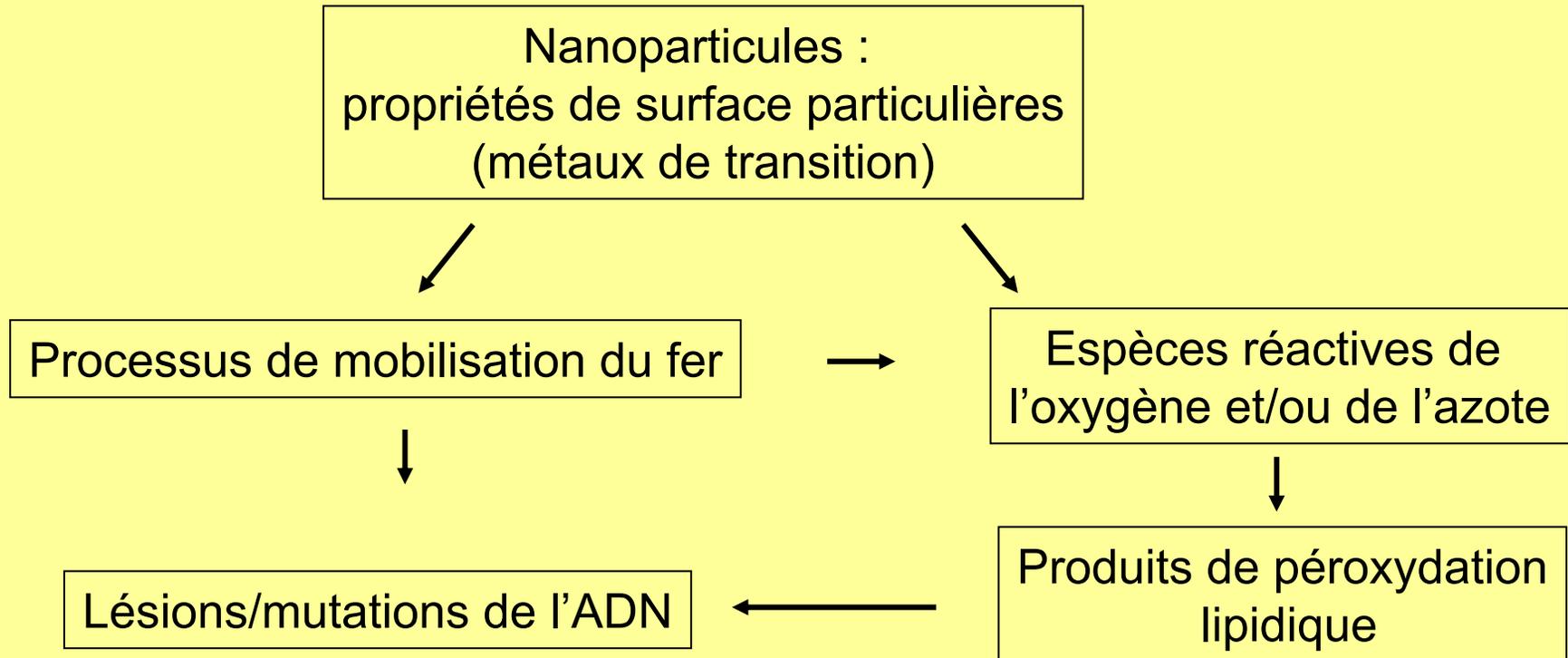


Génotoxicité primaire ou secondaire



La dégradation tissulaire due à l'inflammation et/ou à la nécrose d'une grande proportion de cellules conduit à la promotion de cellules initiées, et induit ainsi l'émergence de clones prénéoplasiques ou néoplasiques

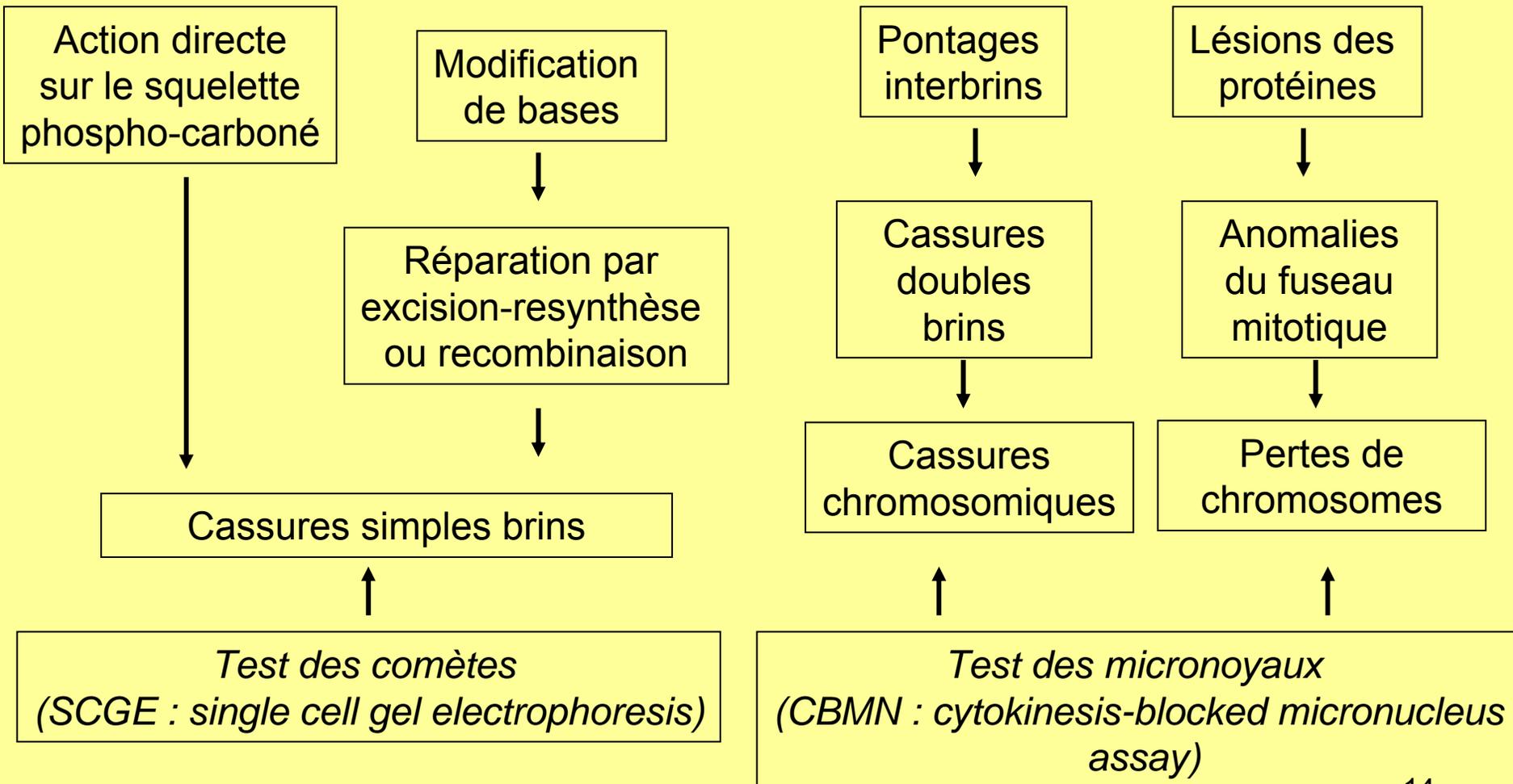
Génotoxicité primaire ou secondaire



*Génotoxicité Primaire directement liée aux propriétés intrinsèques
de la particules.*

Effets considérés sans seuil.

Détermination de la génotoxicité des nanoparticules



Génotoxicité des nanoparticules : données de la littérature

- Fullerènes (nC_{60})
 - Grande insolubilité dans l'eau
 - Scavenger ou producteur d'espèces réactives de l'oxygène
 - Activité promotrice
 - + après trait^t de DMBA (diméthylbenzanthracene)
 - - après trait^t de TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate)
- Nanotube de carbone
 - Clastogénicité et aneugénicité sur cellules épithéliales (in vitro) et sur pneumocytes II (in vivo)

Génotoxicité des nanoparticules : données de la littérature

- Oxydes métalliques
 - TiO_2 génotoxique avec et sans irradiation UV préalable
 - Oxydes de Fer : résultats contradictoires
 - CeO_2 :
 - Diminution de la viabilité
 - Induction d'espèces réactives de l'oxygène

Etude *in vitro* de la cyto- et génotoxicité de nanoparticules de maghémites (Fe_2O_3) sur fibroblastes humains (2)

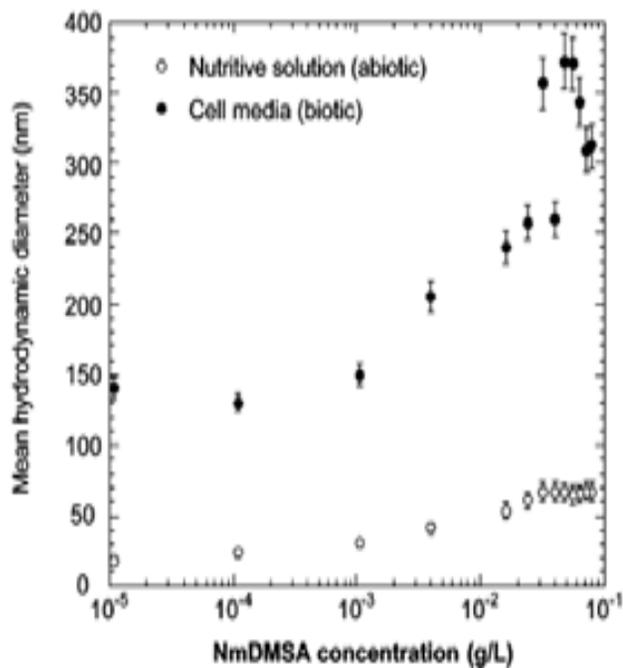


FIGURE 3. Stability of the NmDMSA suspension in the abiotic supplemented DMEM (○) and a supernatant of a 24 h cell culture (●). Contact time: 48 h.

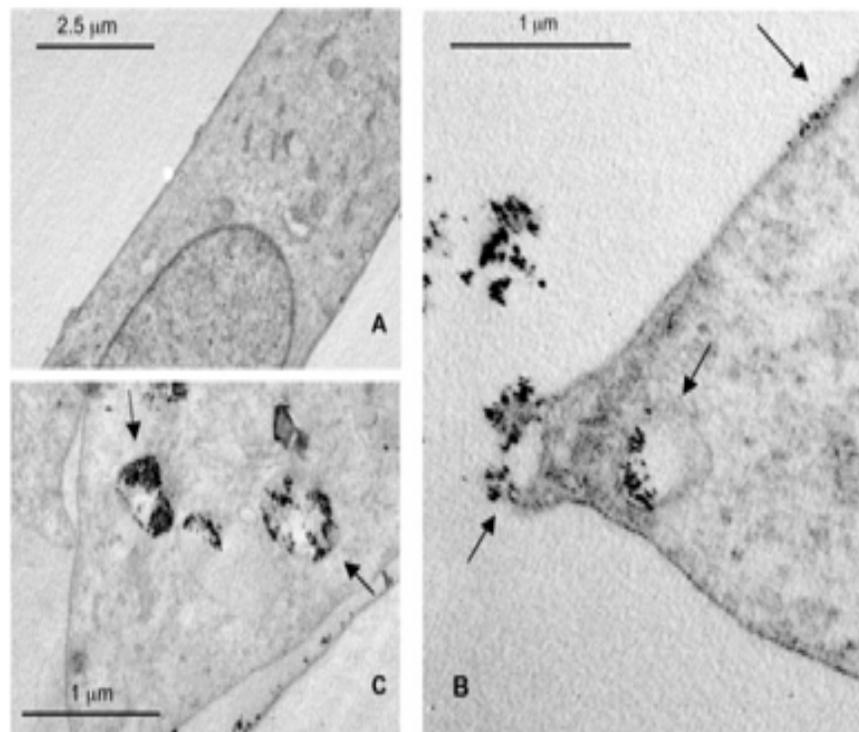


FIGURE 4. TEM pictures of human fibroblasts incubated with 0.1 g/L of NmDMSA during 2 h (b) and 24 h (c). (a) Control fibroblasts. Thin surface layer of NmDMSA and endocytosis vacuoles containing aggregates of different size are visible.

Etude *in vitro* de la cyto- et génotoxicité de nanoparticules de maghémites (Fe_2O_3) sur fibroblastes humains (2)

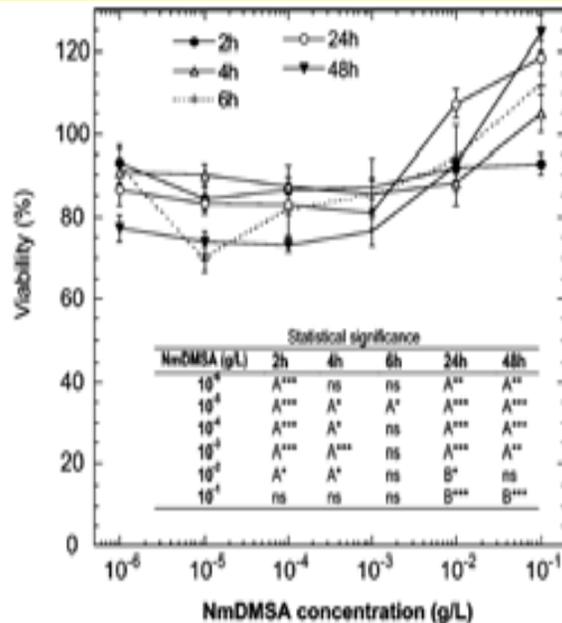


FIGURE 5. Fibroblasts viability over a 48 h period determined by the WST-1 assay and statistical significance (*t*-test) of the assay. A: decreased mitochondrial activity; B: increased mitochondrial activity. Statistical significance: ns, no significance; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

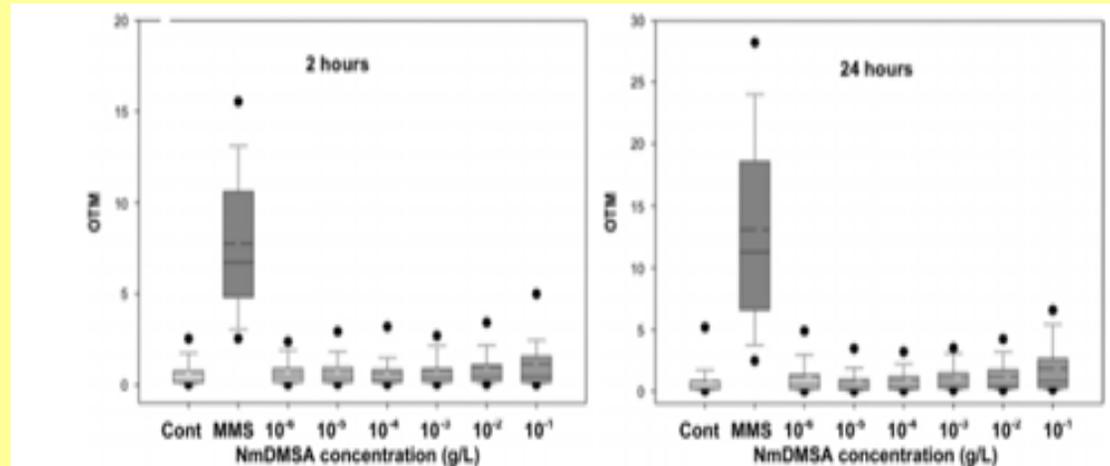
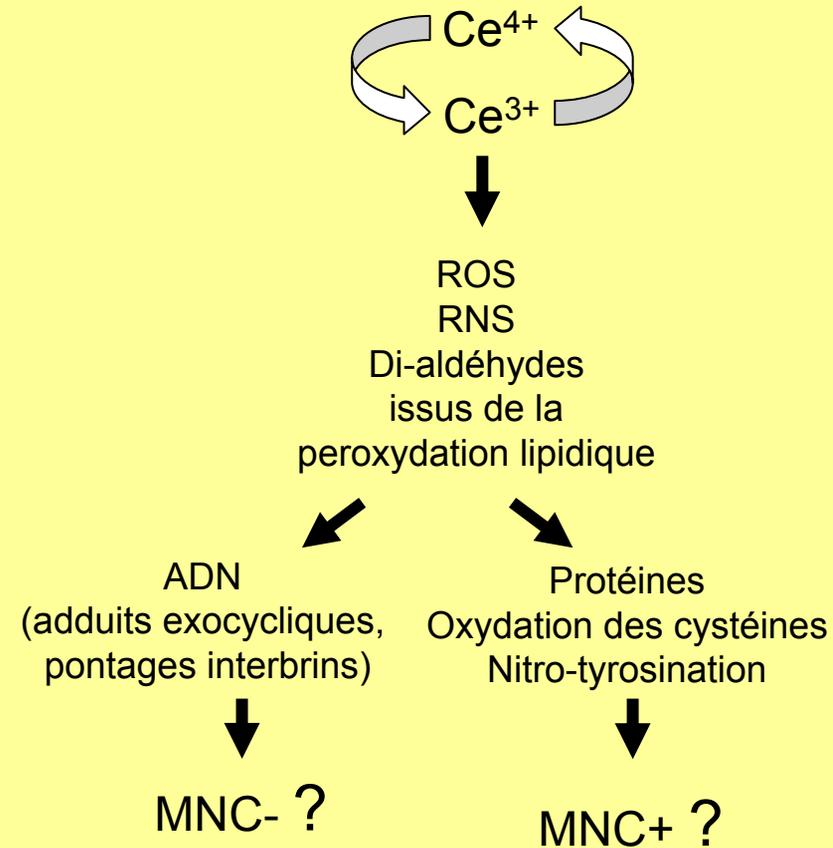
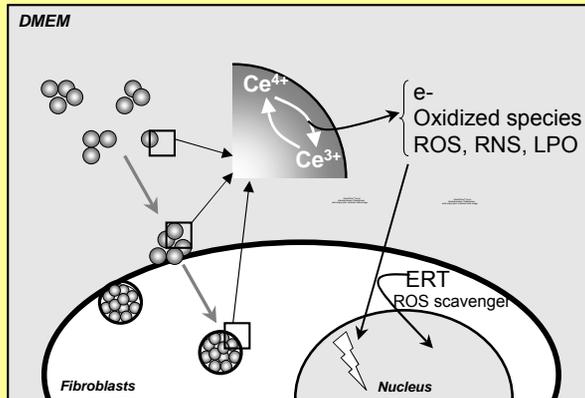
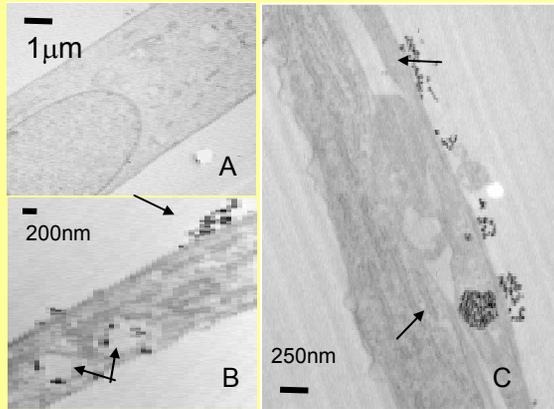


FIGURE 6. Box-and-whisker plots of OTM values for the comet assay experiments. The graphs display the 25th and 75th percentiles (lower and upper edges of boxes), the 5th and 95th percentiles (error bars), the lowest and highest OTM values (black circles), the median (black line), and the mean (dashed line).

Réponses cellulaires aux nano-CeO₂ en terme de lésions de l'ADN et de mutations chromosomiques

Collaboration avec L'UMR 6635 – CEREGE – J-Y. Bottero, J. Rose



• Auffan M et al, submitted

Conclusion (1)

- A l'heure actuelle, les préoccupations en terme de risque pour la santé et de contamination dans l'environnement sont fortes
- Aucune nanoparticule ne peut être considérée comme ayant définitivement fait la preuve de son innocuité, **notamment vis-à-vis des pathologies à évolution lente (vieillissement, cancer, troubles neuro-dégénératifs...)**
- Les travaux sont le plus souvent partiels, parfois contradictoires
- **Les (rares) études in vivo déjà réalisées n'ont pas démontré de toxicité aigue !**

Conclusion (2)

- Les effets toxiques préoccupants :
 - Internalisation
 - Réponse de type inflammatoire
 - Stress oxydatif
 - Anomalies du cytosquelette, de la prolifération cellulaire...
 - Génotoxicité
 - Passage de la barrière hémato-encéphalique et clairance faible
 - ...

Conclusion sur les dangers associés au nanomatériaux

- Seule l'identification des dangers, particulièrement complexe à mettre en œuvre du fait de la nécessité de mettre en œuvre des travaux toxicologiques interdisciplinaires permettra d'identifier les risques et de définir une politique de prévention adaptée...
- C'est la première fois dans l'histoire que l'on étudie les impacts sur la santé et sur l'environnement d'une technologie en même temps qu'on la développe.

Remerciements

Personnes ayant directement participé à cette réflexion et/ou aux résultats :

- BME (EA 1784)
 - Alain Botta
 - Michel De Méo
 - Laila Benameur
 - Aurélie Bonnefoy
- UMR-CNRS 7574
 - Jean Pierre Jolivet
 - Corinne Chaneac
- Cerege UMR CNRS 6635
 - Jean-Yves Bottero
 - Jérôme Rose
 - Mélanie Auffan
- Rice University (Houston Texas)
 - Mark Wiesner