

Influence sur les effets toxiques de l'exposition simultanée aux nanoparticules et aux métaux

Radhouane CHAKROUN | r_chakroun@yahoo.fr

Institut de santé et de sécurité au travail - Laboratoire de toxicologie professionnelle - Tunis - Tunisie

Mots clés : effets, métaux, nanoparticules, toxicité

Etant donné leurs propriétés physico-chimiques, notamment leur propriétés mécaniques et électriques, les nanotubes de carbone (CNT)* ont été largement utilisés dans divers secteurs technologiques tels que les industries de fabrication de polymères ou de composants électroniques. La fonctionnalisation* des CNT a également ouvert la voie au développement des applications biomédicales, aussi bien en diagnostic qu'en thérapeutique. La toxicité intrinsèque des CNT s'exprime essentiellement par des effets inflammatoires plus ou moins importants en fonction de leur taille, leur distribution granulométrique et leur degré d'agglomération et d'agrégation. Cependant, la présence d'éléments minéraux en impuretés tels que le nickel, le molybdène ou le cobalt pourrait notablement contribuer à la toxicité des CNT. L'étude des effets combinés résultant de l'exposition simultanée aux CNT et à certains métaux lourds pourrait contribuer à une meilleure estimation des risques potentiels de l'exposition professionnelle et de la population générale aux matériaux contenant des nanoparticules.

La première publication sélectionnée étudie l'effet de la co-exposition des daphnies à quatre différents types de CNT et au cadmium. La seconde publication décrite dans cette note se rapporte à l'étude de l'effet de la présence d'impuretés minérales sur les effets toxiques des nanotubes de carbone multi-feuillets (MWCNT)*.

Effet de différents nanotubes de carbone sur la toxicité du cadmium pour *Daphnia magna*

Wang X, Qu R, Liu J, Wei Z, Wang L, Yang S, Huang Q, Wang Z. Effect of different carbon nanotubes on cadmium toxicity to *Daphnia magna*: The role of catalyst impurities and adsorption capacity. *Environ Pollut* 2016;208 (B):732-8.

Résumé

Cette étude recherche l'impact de divers types de nanotubes de carbone sur la toxicité du cadmium. Des cultures de daphnie ont été exposées à des nanotubes de carbone mono-feuillets (SWCNT)*, multi-feuillets (MWCNT), multi-feuillets hydroxylés (OH-MWCNT)* et multi-feuillets carboxylés (COOH-MWCNT)*, à des concentrations ne produisant pas ou peu d'effet toxique (0, 1 et 10 mg/l), en présence de cadmium à des concentrations variant de 0,029 à 0,583 mg/l. Pour les quatre formes de nanotubes étudiés, les auteurs rapportent une augmentation de la mortalité des daphnies en rapport avec la concentration en cadmium. Les auteurs montrent une augmentation de la toxicité du cadmium lorsque les concentrations de CNT ajoutées sont supérieures ou égales à 1 mg/l indépendamment de la nature des CNT ajoutés. Une baisse significative de la concentration létale 50 (CL50)* du cadmium a été observée en présence de 10 mg/l de nanotubes. Cette potentialisation de l'effet toxique du cadmium était

beaucoup plus importante pour les SWCNT que pour les MWCNT.

L'étude des filtrats des solutions de CNT (le filtre ne laisse passer que les impuretés issues des nanotubes) en comparaison avec ceux des CNT purifiés (donc avec moins d'impuretés) a mis en évidence une baisse significative de la CL₅₀ pour les cultures traitées avec les filtrats des solutions de SWCNT* et MWCNT à 10 mg/l. On observe aussi une telle baisse avec les OH-MWCNT et les COOH-MWCNT purifiés. Les essais d'adsorption du cadmium sur les différents types de CNT ont montré que, du fait de la présence de groupements oxygénés, l'adsorption du cadmium était nettement supérieure sur les OH-MWCNT et les COOH-MWCNT. Ces résultats suggèrent que la toxicité observée serait due essentiellement aux impuretés provenant des catalyseurs utilisés dans la fabrication des CNT utilisés dans l'étude. La capacité d'adsorption des OH-MWCNT et COOH-MWCNT expliquerait l'augmentation de la toxicité en présence de ces CNT.

Commentaire

L'effet de quatre types de nanotubes de carbone les plus utilisés, sur la toxicité du cadmium a été étudié ici. Les résultats mettent en évidence une augmentation significative de la mortalité des daphnies étudiées en présence des différents types de CNT. Néanmoins, cette toxicité ne peut être attribuée à la seule exposition au cadmium et aux CNT, dans la mesure

où ces CNT contenaient un taux appréciable d'impuretés minérales. En effet, le dépôt en phase vapeur par procédé chimique est la méthode de synthèse la plus couramment utilisée dans la fabrication des CNT. Cette méthode, peu coûteuse, consiste à décomposer un gaz carboné à la surface de particules d'un catalyseur métallique. Le fer, le cobalt et le nickel sont les métaux les plus utilisés dans la synthèse des CNT pour leur haute capacité de solubilisation du carbone à hautes températures (1). Les CNT utilisés dans cette étude contenaient du cobalt, du molybdène et du nickel à des concentrations allant respectivement jusqu'à 265, 60 et 11 µg/g. Ces éléments pourraient avoir contribué à l'abaissement des CL50 enregistrés dans l'étude. Le test avec les filtrats va dans le même sens et prouve que l'augmentation de la mortalité des daphnies était essentiellement due à la présence des impuretés minérales. En effet, l'impureté majeure des CNT utilisés dans cette étude est le cobalt. Or, il a été démontré que la CL₅₀ de cet élément pour les daphnies ne dépassait pas 2,61 mg/l d'eau pour une même durée d'exposition (24h) (2). Egalement, les CNT non purifiés utilisés dans cette étude contenaient du nickel à une concentration dépassant 11 µg/g. Etant donnée sa grande biodisponibilité (3), cet élément cancérigène pourrait avoir largement contribué aux effets toxiques observés. D'autre part, l'ajout de CNT fonctionnalisés (OH-MWCNT et les COOH-MWCNT) purifiés a induit une augmentation significative de la toxicité. Cet effet serait dû à la forte capacité d'adsorption du cadmium sur ce type de CNT. La présence d'impuretés minérales liée au processus de synthèse des CNT, conjuguée avec la forte capacité d'adsorption de ces CNT exerceraient alors un effet de synergie conduisant à une toxicité accrue du cadmium.

Par ailleurs, cette étude s'est intéressée à la toxicité aiguë induite par l'exposition simultanée des daphnies aux CNT et au cadmium. On ne peut donc pas faire une extrapolation à l'Homme, d'autant plus que l'exposition dans les conditions réelles est le plus souvent de longue durée, en particulier en milieu professionnel.

L'effet des nanotubes de carbone multi-feuillets à différentes concentrations d'impuretés métalliques sur les paramètres immuno-métaboliques chez des volontaires en bonne santé

Vitkina TI, Yankova VI, Gvozdenko TA, Kuznetsov VL, Krasnikov DV, Nazarenko AV, Chaika VV, Smagin SV, Tsatsakis AM, Engin AB, Karakitsios SP, Sarigiannis DA, Golokhvast KS. The impact of multi-walled carbon nanotubes with different amount of metallic impurities on immunometabolic parameters in healthy volunteers. *Food Chem Toxicol* 2016;**87**:138-47.

Résumé

Ce travail avait pour objectif d'étudier l'impact de la présence d'impuretés minérales sur les effets immunitaires et oxydatifs induits par des nanotubes de carbone multi-feuillets (MWCNT). Les paramètres biochimiques indicateurs de peroxydation

lipidique, ainsi que les marqueurs immunologiques d'apoptose, de néoplasie et de réponse immunitaire ont été étudiés sur 12 échantillons de sang humain incubés avec deux types de MWCNT : purifiés (type 1, contenant du Fer à 0,16%, du Cobalt à 0,07% et du Magnésium à 0,05%) et non purifiés (type 2), dont les concentrations en impuretés minérales étaient respectivement 2,4 ; 1,3 et 2,5%. Les résultats mettent en évidence une induction de stress oxydatif par les deux types de MWCNT. Par contre, l'effet de peroxydation lipidique, l'augmentation du pourcentage de lymphocytes T activés exprimant l'interleukine 6, ainsi que la baisse du potentiel membranaire mitochondrial étaient significativement plus importants au niveau des échantillons exposés aux MWCNT non purifiés en comparaison avec les échantillons traités avec les MWCNT de type 1 (p≤0,05).

L'étude génétique *in vitro* a été réalisée sur des kératinocytes et sur des cellules d'adénocarcinome pulmonaire humaines. Elle montre une augmentation beaucoup plus importante de l'expression des gènes impliqués dans les effets inflammatoires au niveau des cellules d'adénocarcinome pulmonaire traitées avec les MWCNT de type 2 après 48 heures d'exposition.

Commentaire

Bien qu'elle soit réalisée *in vitro*, cette étude présente l'avantage d'avoir utilisé du matériel biologique humain. Elle met en évidence une accentuation du stress oxydatif lié à l'exposition aux MWCNT par les éléments minéraux susceptibles de se trouver sous forme d'impuretés. Cette accentuation serait due à l'augmentation des réactions oxydantes générées par la présence d'éléments minéraux. Bien qu'elle n'influe pas directement sur certains marqueurs directs d'apoptose, la présence de ces éléments induit une diminution significative du potentiel transmembranaire mitochondrial qui joue un rôle important dans le mécanisme d'apoptose cellulaire (4).

L'aspect mécanistique est également abordé dans l'étude. Les résultats suggèrent un mécanisme impliquant l'activation de la voie NF-κB, facteur de transcription impliqué dans la réponse immunitaire et la réponse au stress oxydant. Cette activation engendrerait une perturbation de la voie de l'interleukine 6 dont le marqueur était significativement augmenté en présence des minéraux.

Néanmoins, on note que la concentration de MWCNT ajoutée aux échantillons sanguins était de 1 mg/l. Elle correspondrait, d'après les auteurs, à la valeur limite d'exposition professionnelle préconisée par le NIOSH (1 µg/m³). Alors qu'à notre connaissance, aucune valeur limite biologique n'a été proposée à l'heure actuelle, aucune explication n'a été fournie sur la manière avec laquelle la dose utilisée dans l'étude a été calculée.

CONCLUSION GÉNÉRALE

La nanotechnologie a connu un grand développement durant la dernière décennie. Les nanotubes de carbone (CNT) ont ainsi connu de nombreuses applications, allant des composants électroniques jusqu'aux médicaments. Néanmoins ces produits suscitent des inquiétudes justifiées aussi bien sur le plan environnemental et écologique qu'au niveau de la santé au travail, voire de la santé publique. En effet, de par leurs caractéristiques physico-chimiques, les nanotubes de carbone peuvent être à l'origine de réactions inflammatoires, voire de fibrose pulmonaire dans les cas d'expositions par inhalation. La présence de contaminants métalliques adsorbés par certains types de CNT tels que les CNT fonctionnalisés qui peuvent présenter une forte capacité d'adsorption et/ou provenant du processus de synthèse, augmente significativement la toxicité des différentes formes de nanotubes de carbone, notamment à travers l'accentuation du stress oxydant.

L'ensemble de ces résultats met en exergue l'intérêt de l'étude des effets des co-expositions aux métaux et aux nanotubes de carbone de différentes natures. Ces études permettraient de mieux évaluer les risques dans les conditions réelles d'exposition.

Egalement, il paraît nécessaire de développer des recherches industrielles visant à diminuer autant que possible la présence d'impuretés minérales dans les procédés de production des CNT.

GENERAL CONCLUSION

Nowadays, carbon nanotube (CNT) technology can be used for wide applications ranging from electronic components to biosensors and target drug delivery systems. However, concerns have arisen about its environmental and ecological impact, as well as occupational health and more generally, public health. Indeed, given their physicochemical properties, CNT may cause inflammatory responses, or even pulmonary fibrosis in cases of inhalation exposure.

The injection chemical vapor deposition method used in the CNT manufacturing process requires a metallic catalyst that can't be removed at the end of the process. These metal impurities may enhance toxicity of different types of CNT, especially through oxidative stress. Due to their high adsorption potential, functionalized CNT may also enhance heavy metal's toxicity.

All these results highlight the great attention that should be devoted to CNT and heavy metals combined exposure studies to get close to current exposure conditions, allowing more effective risk assessment. It seems also necessary for industrial researchers to improve CNT manufacturing process in order to lower as much as possible catalyst impurities in final products.

Lexique

Carbon nanotubes (CNT): Un nanotube de carbone est une forme de structure cristalline du carbone proche des fullerènes, en forme de tubes creux fermés à leurs extrémités, de diamètre nanométrique et de longueur micrométrique.

Concentration létale 50 (CL₅₀): Concentration qui provoque 50% de mortalité dans la population d'organismes étudiée, pendant un temps donné, par administration unique.

Fonctionnalisation: Action qui consiste à greffer des fonctions chimiques afin d'améliorer leur solubilité dans un solvant donné ou de leur conférer une affinité vis-à-vis des molécules cibles.

MWCNT pour « multi-walled carbon nanotubes » : Les nanotubes de carbone multi-feuillets sont constitués de plusieurs feuillets de graphènes enroulés les uns autour des autres.

NIOSH pour « national institute for occupational safety and health » : Institut américain œuvrant pour la prévention des risques professionnels.

SWCNT pour « single-walled carbon nanotubes » : nanotubes de carbone mono-feuillets nommés également mono-parois ou mono-couche sont constitués d'un feuillet de graphène enroulé sur lui-même et qui peut être fermé à ses deux extrémités.

OH-MWCNT pour « hydroxylated multi-walled carbon nanotubes » : nanotubes de carbone multi feuillets hydroxylés sont des nanotubes dont la surface est greffée avec des groupements hydroxyle.

COOH-MWCNT pour « carboxylated multi-walled carbon nanotubes » : nanotubes de carbone multi-feuillets carboxylés sont des nanotubes dont la surface est greffée avec des groupements carboxyle.

Publications de référence

1 Kumar M, Ando Y. Chemical vapor deposition of carbon nanotubes: a review on growth mechanism and mass production. *J Nanosci Nanotechnol* 2010;**10** (6):3739-58.

2 Khangarot BS, Ray PK. Investigation of correlation between physiochemical properties of metals and their toxicity to the water flea *Daphnia magna* Straus. *Ecotoxicol Environ Saf* 1989;**18** (2):109-20.

3 Liu BX, Gurel V, et al. Bioavailability of Nickel in Single-Wall Carbon Nanotubes. *Adv Mater* 2007;**19**:2790-6.

4 Ly JD, Grubb DR, et al. The mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi_m$) in apoptosis; an update. *Apoptosis* 2003;**8** (2):115-28.

Autres publications identifiées

Katsnelson BA, Minigaliyeva IA, Panov VG, et al. Some patterns of metallic nanoparticles' combined subchronic toxicity as exemplified by a combination of nickel and manganese oxide nanoparticles. *Food Chem Toxicol* 2015;**86** :351-64.

Des suspensions de nanoparticules de nickel et/ou de manganèse ont été injectées à des rats par voie péritonéale, 3 fois par semaine et pendant 6 semaines. L'analyse basée sur la méthode de la surface de réponse a mis en évidence divers effets conjugués dépendants aussi bien de leurs effets spécifiques que de la dose administrée.

Lu CF, Yuan XY, et al. Combined exposure to nano-silica and lead induced potentiation of oxidative stress and DNA damage in human lung epithelial cells. *Ecotoxicol Environ Saf* 2015;**122** :537-44.

Des cellules d'adénocarcinome pulmonaire ont été exposées à la nanosilice et/ou au plomb. L'exposition combinée a potentialisé l'effet de stress oxydant et l'altération de l'ADN observés au niveau des cellules exposées au seul plomb.

Hamad SH, Schauer JJ, et al. ROS production and gene expression in alveolar macrophages exposed to PM_{2.5} from Baghdad, Iraq: Seasonal trends and impact of chemical composition. *Sci Total Environ* 2016;**543** (A):739-45.

53 échantillons PM_{2.5} ont été recueillis durant une année à Bagdad. Chaque mois les échantillons sont analysés pour déterminer la composition chimique, l'activité biologique par la

mesure des dérivés réactifs de l'oxygène et l'expression génétique sur une lignée cellulaire de macrophages alvéolaires de rats. Le stress oxydatif observé est essentiellement dû aux composés métalliques à action rédox. L'expression des gènes impliqués dans la réponse anti-oxydante sont corrélés aux concentrations des métaux générés par la pollution automobile tels que le cuivre, le zinc ou l'antimoine.

Wen Y, Zhang L, et al. Co-exposure of silver nanoparticles and chiral herbicide imazethapyr to *Arabidopsis thaliana*: Enantioselective effects. *Chemosphere* 2016;**145** :207-14.

*L'étude de l'exposition simultanée de *Arabidopsis thaliana* aux nanoparticules d'argent avec l'imazethapyr, un herbicide chiral, a mis en évidence une amplification de l'éco-toxicité énantio-sélective. La concentration d'argent dans les racines était 1,4 fois supérieure dans le cas de la co-exposition des nanoparticules d'argent et de l'énantiomère R-imazethapyr.*

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt