

## Nanoparticules et cellules rénales

Béatrice L'Azou

► **To cite this version:**

Béatrice L'Azou. Nanoparticules et cellules rénales: Étude de la réponse adaptative des cellules rénales aux nanoparticules inorganiques. Les cahiers de la Recherche. Santé, Environnement, Travail, ANSES, 2015, Nanomatériaux et santé, pp.41-43. <https://www.anses.fr/fr/content/les-cahiers-de-la-recherche-anses-01753112>

**HAL Id: anses-01753112**

**<https://hal-anses.archives-ouvertes.fr/anses-01753112>**

Submitted on 29 Mar 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## Nanoparticules et cellules rénales

*Étude de la réponse adaptative des cellules rénales aux nanoparticules inorganiques*

Dr Béatrice L'AZOU

**Mots-clés :** accumulation, biomarqueurs, cadmium, cultures de cellules, mécanismes cellulaires, rein, silice, titane, stress oxydant, viabilité cellulaire

Plusieurs études toxicologiques concernant les effets des nanoparticules sur le poumon après inhalation ont montré que celles-ci pouvaient franchir la paroi des alvéoles pulmonaires et gagner la circulation sanguine. Ainsi véhiculées, les nanoparticules peuvent atteindre différents organes cibles et avoir des effets biologiques. Le rein constitue l'un de ces organes cibles, du fait de ses fonctions de filtration, de transport et de réabsorption. La question qui se pose est de savoir si la présence de nanoparticules au niveau du rein pourrait avoir des répercussions sur son fonctionnement.

### Le projet de recherche : NanoAdapt

Le but de ce projet est d'étudier l'effet de différentes nanoparticules sur des cellules de rein en culture. Deux types de cellules rénales humaines ont été utilisés. Le premier type est représenté par une lignée de cellules « saines » (lignée HK-2) issues du segment de l'épithélium proximal tubulaire impliquées dans la réabsorption et l'accumulation des substances après filtration rénale. Le deuxième type est une lignée de cellules « tumorales » (lignée 786-O) issue d'un adénocarcinome du même segment. La comparaison entre ces deux types de cellules peut être intéressante, les cellules cancéreuses étant décrites comme plus sensibles que les cellules saines.

Les porteurs des projets ont proposé d'étudier trois nanoparticules inorganiques : le dioxyde de titane ( $\text{TiO}_2$ , taille environ 10 nanomètres), la silice, également très utilisée ( $\text{SiO}_2$ , taille environ 20 nanomètres) et le sulfure de cadmium qui offrent des

propriétés optiques et électroniques intéressantes (CdS, taille environ 8 nanomètres). Ces nanoparticules ont été dans un premier temps caractérisées dans les milieux de culture. En effet, leurs comportements et leurs interactions avec les systèmes biologiques dépendent de leurs propriétés physico-chimiques (taille, état d'agrégation, propriétés de surface, solubilité, ...). On constate en particulier que les nanoparticules de silice et de sulfure de cadmium sont partiellement solubles, et que celles de dioxyde de titane insolubles ont une tendance marquée à s'agglomérer.

Les deux types de cellules ont été mis en présence d'un milieu de culture ne contenant aucune nanoparticule (témoins) ou contenant des concentrations allant de 1 à 20 milligrammes par litre pour les nanoparticules de cadmium ou jusqu'à 500 milligrammes par litre pour les nanoparticules de silice et de titane. Nous avons proposé :

- De visualiser les nanoparticules dans les cellules par microscopie électronique et de quantifier la partie métallique de ces nanoparticules à l'intérieur des cellules par des méthodes analytiques de spectrométrie.
- D'évaluer l'impact des nanoparticules sur les cellules par mesure de la viabilité cellulaire ou de leur capacité à proliférer, en fonction de la dose. Une altération de la perméabilité membranaire peut aussi se traduire par des « fuites » et il sera intéressant de réaliser un dosage de protéines, normalement intracellulaires, relarguées dans le milieu de culture.

- De mettre en évidence, les mécanismes cellulaires induits par les nanoparticules et notamment la survenue d'un stress oxydant souvent à l'origine d'une toxicité. La production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), et le déclenchement des mécanismes de défense de la cellule pour neutraliser ces ERO permettent de mettre en évidence ce stress oxydant.

L'objectif principal de cette étude est de mieux comprendre les mécanismes cellulaires induits par les nanoparticules afin d'identifier une signature ou un indicateur témoignant de cette exposition (on parle de biomarqueur). L'induction de protéines de stress, la production de protéines de détoxication, comme les métallothionéines et la libération d'enzymes tubulaires pourraient servir de marqueurs d'effets des nanoparticules métalliques.

“

*La présence de nanoparticules au niveau du rein peut-elle avoir des répercussions au niveau de son fonctionnement ?*

”

### Résultats

Les trois nanoparticules étudiées présentent des propriétés physico-chimiques différentes, en termes de composition chimique, réactivité de surface et solubilité. Les trois sont bien internalisées par les cellules et facilement identifiables dans des vésicules. Les réponses cellulaires peuvent aller d'une simple modification du métabolisme des cellules à leur mort. La toxicité des nanoparticules dépend (1) de leur composition chimique (les nanoparticules les plus toxiques sont celles de sulfure de cadmium); (2) de leur solubilité (le cadmium partiellement soluble, libère l'ion cadmium lui-même très toxique); (3) leur taille (en comparant deux tailles de nanoparticules de composition identique, les particules de silice de 20 nm se sont montrées plus toxiques que celles de 100 nm).

Nous avons montré que le dioxyde de titane, insoluble et aggloméré dans le milieu de culture, n'entraîne que peu d'effets (la forte agglomération des nanoparticules d'oxyde de titane atténue peut être leur caractère « nano »). Ces résultats mettent aussi en évidence une différence de sensibilité entre les cellules saines et les cellules cancéreuses, montrant l'importance de tenir compte de l'état physiologique cellulaire dans la survenue de la toxicité.

Le projet confirme que les effets induits par les nanoparticules résultent, en grande partie, d'un stress oxydant avec production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). En réponse à ce stress, la cellule produit des enzymes anti-oxydantes qui représentent des systèmes de défense très efficaces, puisque ces enzymes ont pour rôle d'éliminer des radicaux libres primaires. Dans notre étude, une induction de l'expression de certaines enzymes anti-oxydantes est notée pour les nanoparticules les moins cytotoxiques alors que ces systèmes sont dépassés pour les nanoparticules induisant un effet cytotoxique. Pour les nanoparticules de cadmium, d'autres protéines ligands de détoxication (les métallothionéines, MT) entrent en jeu. Ces protéines ligands ont une forte affinité pour les ions métalliques (ions cadmium) et des complexes MT-cadmium détectés sont les témoins indirects d'une exposition au cadmium.

Des études complémentaires en spectroscopie infrarouge ont été mises en œuvre. L'analyse des spectres a permis de révéler des changements dans la composition moléculaire des cellules après exposition aux nanoparticules par rapport aux cellules témoins. La sensibilité de la méthode nous a permis de mettre en évidence des modifications induites par les ERO avec notamment, une oxydation des lipides membranaires des cellules et des modifications dans la conformation de certaines protéines dans la cellule.

In vivo, les atteintes rénales peuvent être mises en évidence par des dosages d'enzymes anormalement relarguées dans la lumière tubulaire et dans l'urine. Par analogie, nous avons recherché des enzymes

« marqueurs » issus de cellules endommagées et relarguées dans les milieux de culture.

Parmi les enzymes urinaires répertoriées nous avons choisi,  $\gamma$ GT, IL8, NAG, et KIM-1. Les études préliminaires ne montrent aucun relargage de NAG et  $\gamma$ GT aux concentrations de nanoparticules étudiées. Seule une quantité augmentée de KIM-1 est obtenue dans certaines conditions. Ces résultats sont donc à confirmer.

#### L'équipe :

##### **Béatrice L'Azou**

Laboratoire de biologie cellulaire, FRE 3396  
Pharmacochimie, Université Bordeaux Segalen

##### **Dr Sandra Mounicou**

Laboratoire de chimie analytique, Bio inorganique et  
environnement, CNRS UMR 5254, Pau

##### **Dr Mona Tréguer**

Institut chimie matière condensée de Bordeaux,  
Université de Bordeaux

##### **Pr Céline Ohayon-Courtès**

Laboratoire hydrologie environnement, Université  
Bordeaux 2

**Durée :** 18 mois

**Financement :** 48.841 €

**Contact :** [beatrice.lazou@u-bordeaux.fr](mailto:beatrice.lazou@u-bordeaux.fr)

### Accumulation intracellulaire

Les nanoparticules peuvent pénétrer dans les cellules et s'y accumuler. La littérature indique que, souvent, les nanoparticules sont internalisées par endocytose. C'est un mécanisme au cours duquel la membrane d'une cellule se déforme, enveloppe les particules puis forme une vésicule qui les transporte vers l'intérieur (du gr. *endon* dedans). Bien que de très petites tailles, les nanoparticules pénètrent rarement seules en diffusant à travers la membrane. Une fois à l'intérieur, les nanoparticules peuvent induire des dysfonctionnements cellulaires.

Il est donc indispensable, avant tout, de vérifier si les nanoparticules pénètrent bien dans les cellules. On peut par exemple, les rechercher en observant la cellule par microscopie électronique.