

Vers un matériau modèle en nanotoxicologie ?

Toxicologie des nanotubes d'imogolite, vers un matériau modèle en nanotoxicologie ?

Dr Jérôme ROSE

Mots-clés : agrégation, imogolite, nanotubes modèle, synthèse, toxicologie

Popularisés dans le monde de la recherche dans les années 1990 par les travaux de Sumio Iijima, les nanotubes de carbone (NTC) ont suscité un enthousiasme énorme, en raison de leurs propriétés exceptionnelles. Légers comme le plastique, plus résistants que l'acier, conducteurs électriques, ils permettent d'envisager de multiples applications, parmi lesquelles des matériaux, divers appareils électroniques, de nouveaux médicaments. Néanmoins leur forme très similaire à celle de l'amiante a soulevé des inquiétudes et le débat ; inquiétudes que l'on peut généraliser à l'ensemble des nanofibres.

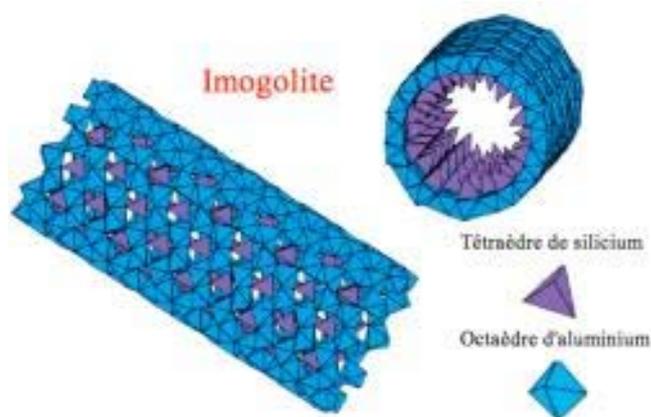
Les nanotubes de carbone représentent une vaste famille d'objets. Ils varient en fonction de leur longueur mais surtout de la structure de leurs parois. Ces variations sont rendues possibles grâce aux différents catalyseurs métalliques utilisés et bien sur les modes de fabrication. On distingue ainsi :

- Les nanotubes de carbone simples avec une seule paroi (SWNT)
- Les nanotubes de carbone multi - parois (MWCNT)

Une des difficultés majeures associées à l'usage des nanotubes de carbone réside dans la synthèse de produits homogènes en taille et structure. Les synthèses aboutissent généralement à des mélanges de tubes, ayant des impuretés métalliques (catalyseurs). Cette très forte variabilité de composition et de forme ne permet pas de déterminer sans ambiguïté les paramètres à l'origine d'effets toxiques (longueur, diamètres, structure de la paroi, impuretés...).

Les nanotubes d'imogolite

Il existe de nombreuses autres sortes de nanotubes et de nanofibres qu'on appelle de manière générale « HARN »¹². Un exemple est celui de l'imogolite, minéral naturel qui se présente sous forme de nanotubes de 2 nm de diamètre et plusieurs microns de long. Du point de vue chimique, il s'agit d'un aluminosilicate, comme les argiles. La surface externe du tube est composée d'octaèdres¹³ d'aluminium alors que la couche interne est constituée de tétraèdres de silicium. Découverte par Yoshima et Aomine en 1962 grâce à la microscopie électronique, l'imogolite résulte de l'altération d'un sol volcanique¹⁴ ; Elle peut également être synthétisée. Il s'agit d'ailleurs de la première structure nanotubulaire à avoir été synthétisée puisqu'elle a été obtenue pour la première fois en 1977¹⁵.



(Source : J. Rose CEREGE-CNRS)

L'industrie les utilise depuis plus de 15 ans (production de plusieurs dizaines de tonnes par an comme produit anti-électrostatique, matériel de filtration, stabilisateurs d'encre dans les papiers, etc...).

CEREGE UMR 7330 CNRS, Aix Marseille Université, Aix en Provence

¹² HARN pour « High Aspect Ratio Nanomaterials », c'est-à-dire nanomatériaux à fort rapport d'aspect (longueur/diamètre).

¹³ Un atome d'aluminium entouré de 6 atomes d'oxygène qui forment les sommets d'un octaèdre.

¹⁴ Dans une fraction argileuse d'un « glassy volcanic ash soil » au Japon.

¹⁵ La synthèse des premiers nanotubes de carbone (NTC) date de 1991 et celle du premier nanotube inorganique de 1992.

Le projet de recherche : Nanotox-IMO

Le projet Nanotox-IMO s'inscrit dans ce contexte global de la compréhension des mécanismes de toxicité des HARN. Les nanotubes présentent l'inconvénient d'être difficiles à produire sous une forme bien définie, ce qui peut limiter la portée de conclusions de travaux sur leur toxicité. L'idée sous-jacente est que les partenaires du projet ont développé la capacité de fabriquer de l'imogolite de manière très reproductible, sans impureté, simple et double paroi, ce qui en fait potentiellement un matériau de choix pour ces études de toxicité.

“ Les nanotubes présentent l'inconvénient d'être difficiles à produire sous une forme bien définie, ce qui peut limiter la portée de conclusions de travaux sur leur toxicité. ”

Le projet vise deux objectifs :

- Contribuer à la caractérisation de la toxicité des nanotubes d'imogolite ;
- Étudier les paramètres de ces nanotubes qui gouvernent leur toxicité (inflammation, biopersistance, fibrose, génotoxicité).

Pour cela, des nanotubes d'imogolite devaient être synthétisés avec des caractéristiques bien contrôlées. En utilisant ces nanotubes parfaitement calibrés, il s'agissait d'explorer la pertinence de l'emploi d'imogolite en nanotoxicologie et surtout, la possibilité d'extrapoler ou pas les résultats obtenus avec l'imogolite à d'autres nanotubes.

Résultats

Le premier volet du projet consistait à synthétiser des nanotubes d'imogolite de longueur micronique à forte concentration¹⁶. Il a fallu comprendre le mécanisme de croissance des tubes puis repenser en profondeur des protocoles de synthèse. Le projet a permis de démontrer que la croissance des nanotubes se fait par « agrégation », c'est-à-dire qu'un tube croît lorsqu'un autre se « colle » à l'une des deux extrémités. La vitesse de croissance dépend donc du nombre de collisions « favorables » entre tubes. Au début, il y a de nombreux petits tubes et la probabilité de contacts favorables est élevée. Mais, lorsque les tubes se collent entre eux, le nombre de « bouts disponibles » diminue et la probabilité de collage s'effondre. La stratégie qui a été adoptée a consisté à maximiser la probabilité de rencontre et surtout à augmenter l'efficacité du collage des tubes.

Ce résultat est sans doute inédit. Qui plus est, cette synthèse est reproductible – ce qui permet d'utiliser les nanotubes d'imogolite comme matériau modèle en nanotoxicologie. Ces premiers lots d'imogolite ont permis de tester quelques hypothèses sur les mécanismes de toxicité des HARN, et ont fait l'objet de publications scientifiques :

- *In vitro* : tous les essais de cytotoxicité sur cellules J774 (lignée de macrophages murins) et sur différentes lignées cellulaires montrent une toxicité cellulaire de l'imogolite seulement à hautes concentrations¹⁷ ;
- *In vivo* : l'étude de la biopersistance¹⁸ chez le rat montre que 20% de la dose administrée persiste dans les poumons à la fin de l'expérience, soit 60 jours après exposition. Cela apparaît à la fois pour les tubes simples et à double paroi. À noter que la réponse

¹⁶ Les protocoles permettant d'atteindre des nanotubes de longueur quasi micronique existaient, mais ces protocoles ne fonctionnaient qu'à très faible concentration, ne permettant pas de produire des quantités suffisantes pour des études de toxicologie.

¹⁷ 10⁻¹ g/L ou 100 µg/mL et au-delà.

¹⁸ Durée pendant laquelle le tube reste dans l'organisme.

inflammatoire est dose-dépendante 3 jours après l'administration des nanotubes d'imogolite. Et l'inflammation pulmonaire persiste au moins pendant 2 mois.

Ce projet a ainsi permis d'ouvrir une nouvelle voie de recherche, que les partenaires poursuivent dans le cadre de collaborations internationales.

Les partenaires :

Jérôme Rose

CEREGE UMR 7330 CNRS, Aix Marseille Université, Aix en Provence

Dominique Lison

Louvain Centre for Toxicology and applied Pharmacology (LTAP), Université catholique de Louvain, Belgique

Emmanuel Doelsch

UR recyclage et risque Cirad, CEREGE, Aix en Provence

Antoine Thill

Lions UMR 3299 CEA/CNRS SIS2M, Saclay

Alain Botta

LBME (Biogénotoxicologie et Mutagenèse environnementale, EA 1784), Université de la Méditerranée, Marseille

Durée : 24 mois

Financement : 152 K€

Contact : rose@cerege.fr