

Le cycle de vie de nanoparticules chez l'humain

Florence Gazeau

► **To cite this version:**

Florence Gazeau. Le cycle de vie de nanoparticules chez l'humain : Cycle de vie de nanoparticules chez l'humain : rôle de la séquestration lysosomale. Les cahiers de la Recherche. Santé, Environnement, Travail, ANSES, 2021, Microplastiques et nanomatériaux, pp.27-30. anses-03349981

HAL Id: anses-03349981

<https://hal-anses.archives-ouvertes.fr/anses-03349981>

Submitted on 21 Sep 2021

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.

Le cycle de vie de nanoparticules chez l'humain

Cycle de vie de nanoparticules chez l'humain : rôle de la séquestration lysosomale

Florence GAZEAU, Université de Paris, Laboratoire Matière et Systèmes complexes, Paris

Équipe(s) partenaire(s) : **Damien Alloyeau**, Université de Paris, Laboratoire Matériaux et Phénomènes quantiques, UMR/CNRS – **Bruno Gasnier**, Université de Paris, CNRS, UMR 8250 – **Alberto Bianco**, Institut de Biologie moléculaire et cellulaire, CNRS, UPR 9201, ICT, Strasbourg – **Elias Fattal**, Université Paris Saclay, CNRS UMR 8612, Châtenay Malabry

Projet de recherche (en cours depuis 2018) – Financement : 199.680 € – Contact : florence.gazeau@univ-paris-diderot.fr

Mots-clés : nanotube carbone, nanoparticule, nanoparticule d'or, graphite, cycle de vie, cellule, macrophage, appareil respiratoire, lysosome, bioaccumulation, dégradation biologique, biominéralisation, persistance, recyclage, mécanisme action, endocytose, phagocytose, stress oxydant, inflammation, modèle animal, souris, biomarqueur

Récemment, des chercheurs de l'Université de Paris Saclay ont trouvé des nanotubes de carbone (CNT) dans les poumons d'enfants asthmatiques vivant en région parisienne⁸⁰ : plus précisément dans les cellules des voies respiratoires. Ces nanotubes pourraient provenir de la pollution de l'air et entraîner des effets négatifs sur la santé. Sachant qu'ils sont similaires à ceux présents dans les gaz d'échappement des véhicules, dans les poussières prélevées à différents endroits de la ville mais aussi dans l'air ambiant, ces CNT focalisent d'autant plus l'attention des chercheurs qu'ils ouvrent des perspectives prometteuses, dans le domaine médical

⁸⁰ À partir d'échantillons de liquides de lavage broncho-alvéolaires d'enfants asthmatiques congelés à l'hôpital Trousseau (Paris) cf. *Kolosnjaj et al, EBioMedicine, 2, 1697–1704, 2015*).

notamment. Mais que deviennent-ils une fois qu'ils sont dans l'organisme humain ? Comment se dégradent-ils ? Y a-t-il des mécanismes spécifiques de prise en charge de ces nanoparticules, en fonction de leur forme ou de leur composition ?

Composés d'un ou de plusieurs feuillets de graphène, les CNT sont parfois décrits comme des fibres de carbone. Ce qui suggère qu'ils pourraient agir comme des fibres d'amiante et font, à ce titre, l'objet de nombreuses interrogations. D'autres types de nanoparticules, particulièrement les nanoparticules métalliques, sont très présentes dans l'environnement ou encore l'alimentation, et peuvent se retrouver dans nos tissus. En dépit de la diversité des nanoparticules auxquelles nous sommes exposées, existe-t-il des mécanismes communs mis en œuvre par nos cellules pour prendre en charge ces nanoparticules, les dégrader ou les assimiler ?

Le lysosome

Considéré comme la « déchetterie » de la cellule, le lysosome est une petite structure cellulaire (organite) qui contient des enzymes, responsables de la digestion ou de la dégradation des composants cellulaires (ex. protéines, sucres, lipides, acides nucléiques). De ce fait, il participe aussi au recyclage de ces composants, qu'ils soient intra- ou extracellulaires.

Certaines substances étrangères (ou extérieures à l'organisme) ne sont a priori pas digérables par le lysosome. Après avoir été inhalées, elles peuvent alors s'accumuler dans les cellules, entraînant un mauvais fonctionnement du lysosome, qui pourrait ne plus pouvoir digérer certains déchets cellulaires.

Le cycle de vie des nanoparticules

La plupart des nanoparticules, telles que les nanotubes de carbone ou les nanoparticules métalliques, sont captées par les cellules macrophagiques et convergent vers le

lysosome sans que nous connaissions vraiment leur cycle de vie. Quel est leur devenir à long terme dans les cellules ? Sont-elles séquestrées en restant intactes, ou détruites et recyclées ? Ont-elles un impact sur la fonction lysosomale ?

Selon les structures (uni-, bi- ou tri-dimensionnelle⁸¹), la composition (inorganique ou organique, métallique ou non), les caractéristiques physico-chimiques de la surface des nanoparticules, les mécanismes d'internalisation cellulaire et surtout de prise en charge par les lysosomes sont encore mal compris. Quels nano-objets faut-il privilégier : réactifs et rapidement biodégradables ou inertes et persistants⁸² ? D'une part, les processus de dégradation des nanoparticules et leurs sous-produits peuvent provoquer des réactions biologiques inattendues. D'autre part, l'accumulation de nanoparticules persistantes (ou lentement dégradables) peut saturer le lysosome et perturber ses fonctions essentielles au bon fonctionnement cellulaire.

Le projet de recherche : CycCar

L'objectif principal du projet CycCar est de comprendre la prise en charge au niveau du lysosome de nanotubes de carbone et de graphène en milieu biologique. Il vise à étudier le lien entre l'accumulation et les transformations de ces nanoobjets observés à l'échelle nanométrique dans le lysosome et les mécanismes biochimiques complexes qui peuvent en résulter, suivant trois axes :

1. L'adaptation potentielle des voies lysosomales aux nanostructures et à leur accumulation
2. Les mécanismes de dégradation à long terme des nanoparticules dans les compartiments du lysosome (selon leurs caractéristiques : taille, morphologie, structure...);

3. Les interactions potentielles entre les nanoparticules et la genèse et/ou le développement des maladies lysosomales.

Methodologie

Grâce à des observations multiéchelles par des technologies de pointe, en particulier par la microscopie électronique, nous proposons, à l'interface des sciences des matériaux et du vivant, d'identifier et d'étudier la réponse adaptative des cellules aux nanoparticules⁸³ et de déterminer les transformations cellulaires de ces nanoparticules à long terme *in vitro* et *in vivo* chez la souris.

Résultats préliminaires

Nos études antérieures avaient montré que des CNT multiparois pouvaient être dégradés dans les lysosomes par un mécanisme impliquant un stress oxydatif⁸⁴. Par microscopie électronique, on pouvait observer dans les nanotubes séquestrés au sein des lysosomes, des trous s'élargissant au cours du temps dans les cellules exposées. De manière remarquable, ces dégradations dans les parois des tubes et l'amincissement des parois étaient également observées par microscopie électronique en milieu liquide sous l'effet de la radiolyse de l'eau par le faisceau d'électrons. Ce sont donc les espèces réactives de l'oxygène qui sont responsables de la dégradation des nanotubes, dans la cellule ou sous le faisceau d'électrons. En bloquant chimiquement ces espèces réactives de l'oxygène dans la cellule, on

⁸¹ 1D, 2D ou 3D.

⁸² C'est-à-dire qui resteront « inactifs » dans l'organisme.

⁸³ Fibroblastes exposés aux CNT (1D/2D) *in vitro* ou cellules isolées suite à un lavage broncho-alvéolaire après l'exposition pulmonaire de souris.

⁸⁴ Carbon Nanotube Degradation in Macrophages: Live Nanoscale Monitoring and Understanding of Biological Pathway Elgrabli D, Dachraoui W, Ménard-Moyon C, Liu XJ, Bégin D, Bégin-Colin S, Bianco A, Gazeau F, Alloeyau D. *ACS Nano*. 9(10):10113-24 (2015)

Intracellular degradation of functionalized carbon nanotube/iron oxide hybrids is modulated by iron via Nrf2 pathway. Elgrabli D, Dachraoui W, Marmier H, Ménard-Moyon C, Bégin D, Bégin-Colin S, Bianco A, Alloeyau D, Gazeau F. *Sci Rep*. 2017 Jan 25;7:40997.

DOI: [10.1038/srep40997](https://doi.org/10.1038/srep40997)

inhibe également le processus de dégradation des nanotubes de carbone.

Pour comprendre si ce mécanisme de prise en charge pouvaient être généralisé à d'autres types de nanoparticules, nous avons exploré le cas de nanoparticules d'or réputées inaltérables par la cellule, l'or étant un des métaux les plus inertes. Ces nanoparticules quelles que soient leur taille entre 4 et 40 nm, sont séquestrés dans les lysosomes. Nous avons mis au point un modèle cellulaire de fibroblastes de peau dans lequel on peut suivre les transformations de nanoparticules pendant plusieurs mois. De manière inattendue, nous avons observé que les nanoparticules d'or subissaient en quelques semaines des transformations importantes au sein des lysosomes des fibroblastes. Nous avons ainsi constaté à la fois la présence de nanoparticules non dégradées et de produits de dégradation prenant la forme de nano-feuillets (Illust. 11).

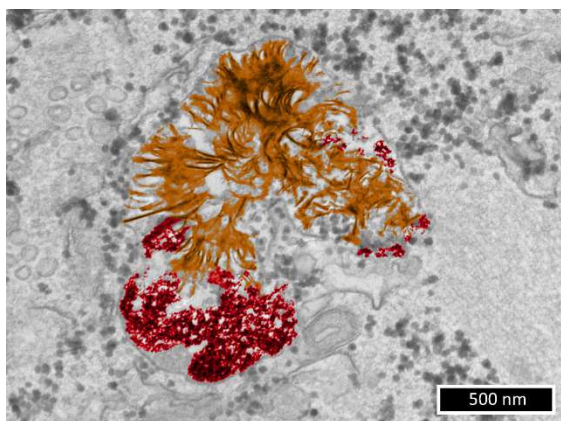


Illustration 11 : Image d'un lysosome observé en microscopie électronique en transmission, une méthode capable de révéler la forme de nanoparticules au sein même des cellules⁸⁵ (Crédits : Alice Balfourier et Christine Péchoux-Longin)

De plus, en mesurant l'expression de plus de 18.000 gènes au cours du temps, nous avons mis en évidence un processus biologique mettant en jeu des mécanismes de détoxification et de protection cellulaire,

⁸⁵ Les produits de dégradation sont composés de cristaux d'or de 2 nm de diamètre auto-organisés en nano-feuillets. Les nanoparticules non dégradées sont en rouge et les produits de dégradation en orange.

également impliqués dans la dégradation d'autres nanomatériaux, en particulier les nanotubes de carbone évoqués ci-dessus. Plus particulièrement le stress oxydatif serait également à l'œuvre dans l'oxydation des nanoparticules d'or et leur dégradation intracellulaire.

À notre surprise, en fouillant la littérature de plusieurs décennies sur les traitements médicamenteux à base de sel d'or, nous nous sommes rendu compte que les nano-feuillets que nous observons lors de la dégradation des nanoparticules d'or, avaient déjà été observés⁸⁶ chez des patients souffrant de polyarthrite rhumatoïde, et qui avaient été traités avec une autre forme d'or (de l'or ionique ou « sels d'or ») pour soulager leurs douleurs articulaires.

En comparant les expressions géniques des cellules exposées aux sels d'or et aux nanoparticules d'or, nous avons mis en évidence des similarités à long terme, suggérant un métabolisme commun de prise en charge de sels d'or, des nanoparticules d'or et de leurs produits de dégradation. Cette étude met également en évidence un mécanisme de recristallisation intracellulaire de l'or impliquant des protéines endogènes liées aux métaux, telles que les métallothionéines.

Ce résultat inattendu, qui généralise le devenir des nanoparticules d'or dans l'organisme, pourrait permettre, à l'avenir, de mieux évaluer la toxicité de ces nanoparticules et leur capacité à être éliminées de l'organisme ou recyclées par les protéines endogènes. Ce travail interdisciplinaire met également en lumière que l'or⁸⁷ peut être métabolisé par les mammifères, même s'il n'est pas essentiel à leur survie.

Beaucoup de questions subsistent quant aux mécanismes de dégradation de nanoparticules et sur la manière dont leur composition⁸⁸ ou

⁸⁶ Il y a bientôt cinquante ans.

⁸⁷ Quel que soit sa forme initiale.

⁸⁸ Carbone, or et autres métaux.

leur architecture⁸⁹ conduisent à des processus communs ou différents de prise en charge au niveau du lysosome. Nos études actuelles explorent des jeux de données en libre accès sur la réponse transcriptomique de cellules à différents types de nanoparticules par une approche de méta-analyse. Nous cherchons à mettre en évidence, en analysant par des méthodes statistiques les nombreuses données de la littérature, les similarités éventuelles dans la réponse cellulaire à différents types de nanoparticules, dont les nanotubes de carbones ou les graphènes en comparaison à diverses nanoparticules métalliques.

Publications :

Unexpected intracellular biodegradation and recrystallization of gold nanoparticles. A Balfourier, N Luciani, G Wang, G Lelong, O Ersen, A Khelfa, D Alloyeau, F Gazeau*, F Carn*

Proceedings of the National Academy of Sciences 2020, 117 (1) 103-113;

DOI: [10.1073/pnas.1911734116](https://doi.org/10.1073/pnas.1911734116) 

Gold-based therapy : from past to present. Balfourier, A, Kolosnjaj-Tabi J, N Luciani, F Carn, F Gazeau, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2020 117 (37), 22639-22648

<https://doi.org/10.1073/pnas.2007285117> 

⁸⁹ 2D ou 3D.