



HAL
open science

La présence de nanotubes de carbone dans l'environnement présente-t-elle un risque pour notre santé ?

Dan Elgrabli, Ghislaine Lacroix

► **To cite this version:**

Dan Elgrabli, Ghislaine Lacroix. La présence de nanotubes de carbone dans l'environnement présente-t-elle un risque pour notre santé?. Rapport Scientifique INERIS, 2008, 2007-2008, pp.50-52. ineris-01869197

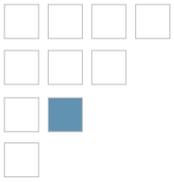
HAL Id: ineris-01869197

<https://ineris.hal.science/ineris-01869197>

Submitted on 6 Sep 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.



La présence de nanotubes de carbone dans l'environnement présente-t-elle un risque pour notre santé ?

> DAN ELGRABLI, GHISLAINE LACROIX

Par leur petite taille, un milliardième de mètre, les nanoparticules confèrent des propriétés nouvelles aux matériaux existants. Par exemple, des matériaux réputés isolants se transforment en conducteurs d'électricité, de très fines particules possèdent une forte résistance mécanique... Ainsi, plusieurs secteurs industriels tels que la cosmétologie, la micro-électronique, le bâtiment, l'automobile ont déjà des produits issus des nanotechnologies. La population risque donc d'être exposée. Lors du Grenelle de l'Environnement, il a été décidé de demander aux pouvoirs publics de réaliser un bilan coûts/avantages systématique de la mise sur le marché de produits contenant des nanoparticules ou nanomatériaux. À partir des résultats des études en cours, des dispositions seront prises pour renforcer l'information et la protection des salariés et de la population. Ces particules étant susceptibles de se trouver en suspension dans l'air, une des principales voies d'exposition à considérer dans notre environnement est la voie respiratoire. C'est dans ce contexte que nous réalisons l'étude de la toxicité de nanoparticules manufacturées et en particulier l'étude de nanotubes de carbone (NTC) introduits

dans l'appareil respiratoire. Cette particule, de quelques nanomètres de diamètre et de quelques micromètres de long, possède la forme d'un cheveu (voir photo 1) et est pressentie pour de nombreuses applications en électronique (transistor optique, microprocesseur...), aéronautique (revêtements des fusées ou combinaison des astronautes), médecine (vecteur de médicament, molécules d'aide au diagnostic de pathologies)... Ainsi, de nombreuses questions se posent. Les nanoparticules induisent-elles une réponse inflammatoire ou un stress oxydant ? Altèrent-elles ou détruisent-elles les cellules pulmonaires ? Quel est le devenir de ces particules dans le corps ? Franchissent-elles la barrière épithéliale pulmonaire ? En quelle quantité ? Migrent-elles vers d'autres compartiments biologiques ? Ont-elles la capacité d'affecter le système nerveux, immunitaire, cardiovasculaire, reproducteur ? Ce sont quelques-unes des questions auxquelles les travaux en cours au sein de l'INERIS tentent d'apporter des réponses.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

• Préparation de la suspension de NTC

En présence d'albumine de veau foetal, différentes solutions contenant des NTC (0, 0,007, 0,07, 0,7 mg/ml) ont été produites par faible sonication selon la méthode précédemment décrite [1, 2].

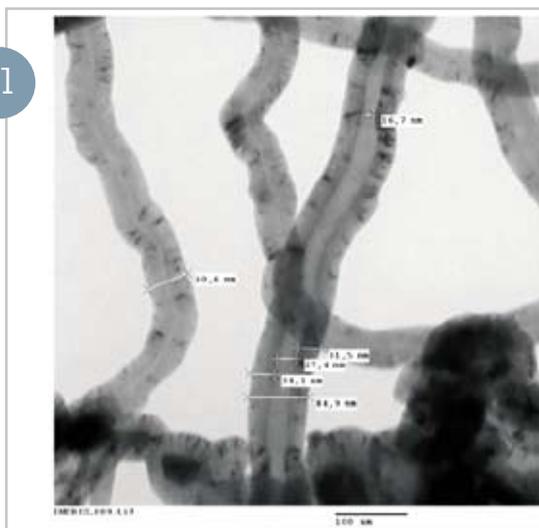
• Exposition des animaux

Des rats ont été instillés par voie intratrachéale avec une unique dose de 0, 1, 10 ou 100 µg de NTC à partir des solutions produites. Les animaux ont été suivis jusque six mois après l'exposition et différents paramètres biologiques ont été évalués (voir paragraphes suivants).

• Capacité respiratoire

À différents temps (1, 7, 30, 90 et 180 jours) après l'instillation de NTC, l'analyse de nombreux paramètres respiratoires (temps inspiratoire,

#1



temps expiratoire, temps de relaxation, volume courant, Penh comme indicateur de la bronchoconstriction...) a été réalisée à l'aide d'un pléthysmographe.

• Anatomopathologie

À chaque temps et chaque dose, les poumons des rats ont été extraits, coupés, colorés et observés à l'aide d'un microscope pour déceler d'éventuelles modifications pathologiques du poumon telles qu'un granulome ou une fibrose. Afin de confirmer les observations, une partie de poumon a été utilisée pour mesurer les variations du taux de collagène, un biomarqueur de la fibrose.

• Inflammation et stress oxydant

L'étude de l'inflammation et du stress oxydant a été effectuée par la quantification de biomarqueurs spécifiques. Plus précisément, la variation des taux d'ARNm des interleukines IL1 α , IL1 β , IL2, IL4, IL6 et de l'IFN γ et du TNF α a été quantifiée en biologie moléculaire par PCR quantitative et au niveau protéique par ELISA selon la technologie Luminex.

• Étude de la biodistribution et clairance

Afin de suivre le NTC étudié au sein de l'organisme, l'analyse de la liaison entre le nickel (Ni) (catalyseur de la production du NTC et présent à hauteur de 0,5 %) et le NTC a été réalisée par microscopie électronique à transmission couplée par une sonde EDX.

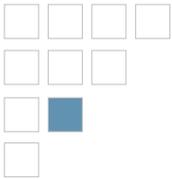
La présence de NTC dans de nombreux organes (foie, reins, rate, cœur, cerveau, poumon, testicules, ganglions, thymus) a été quantifiée par ICP-OES afin de déterminer la localisation des NTC et un éventuel passage de la barrière pulmonaire.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Des rats ont été instillés par une dose unique de 0, 1, 10 ou 100 μg de NTC. Après 1, 7, 30, 90 et 180 jours, aucune modification des capacités respiratoires n'a été observée. De même, aucune

variation des taux d'expression des biomarqueurs de l'inflammation, du stress oxydant ou de formations anatomopathologiques n'a été notée^[9]. Les premières études portant sur la toxicité des NTC par instillation intratrachéale ont montré la formation de fibrose et granulomes ainsi que l'induction de marqueurs biologiques de l'inflammation et du stress oxydant^[3, 4, 5]. Cependant, deux récents travaux réalisés par inhalation, n'ont pas permis d'observer d'inflammation ou de formation de granulomes^[6, 7]. Une hypothèse pouvant expliquer ces différences a été avancée et repose sur le fait que les NTC sont hydrophobes et donc difficiles à remettre en suspension. Ainsi, il est possible de supposer que, lors des précédentes études réalisées par instillation, de gros agglomérats, normalement non respirables, sont parvenus de façon forcée au poumon profond, engendrant inflammation et formation de granulomes. À l'INERIS, une méthode permettant la production d'une suspension de NTC ayant une relative bonne dispersion a été mise au point. Plus de 80 % des agglomérats de NTC produits ont une taille respirable (inférieure à 10 μm). Par conséquent, les résultats semblent être en accord avec cette hypothèse et ceux obtenus lors des études par inhalation.

Par ailleurs, il a été montré que le Ni restait lié au NTC dans l'organisme et donc qu'il était un bon traceur des NTC dans l'organisme^[9]. Ainsi, on a pu observer que les NTC restent présents pendant au moins 1 mois dans le poumon puis sont éliminés par un long mécanisme (37 % et 16 % des NTC sont encore présents à 3 et 6 mois). Afin de comprendre le devenir de ces particules dans l'organisme, on a recherché leur présence dans de nombreux organes. Les résultats obtenus ont montré que les NTC ne semblent pas passer la barrière pulmonaire et sont éliminés directement au sein du poumon. L'analyse de la modification chimique et physique des NTC présents pendant 15 jours dans des poumons de rats ainsi que



[RÉFÉRENCES

- [1]** Elgrabli D., Abella-Gallart S., Aguerre-Chariol O., Robidel F., Rogerieux F., Boczkowski J., Lacroix G. 2007. *A novel and simple dispersing technique for carbon nanotubes that can be used for in vivo and in vitro studies*. EuroNanoSH. Helsinki, Finland.
- [2]** Elgrabli D., Abella-Gallart S., Aguerre-Chariol O., Robidel F., Rogerieux F., Boczkowski J., Lacroix G. 2007. *Effect of BSA on carbon nanotube dispersion for in vivo and in vitro studies*. *Nanotoxicology* 1(4):266 - 278.
- [3]** Lam C.W., James J.T., McCluskey R., Hunter R.L. 2004. *Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation*. *Toxicol Sci* 77(1):126-134. Epub 2003 Sep 2026.
- [4]** Muller J., Huaux F., Moreau N., Misson P., Heilier J.-F., Delos M., Arras M., Fonseca A., Nagy J.B., Lison D. 2005. *Respiratory toxicity of multi-wall carbon nanotubes*. *Toxicology and Applied Pharmacology* 207(3):221-231.
- [5]** Shvedova A.A., Kisin E.R., Mercer R., Murray A.R., Johnson V.J., Potapovich A.I., Tyurina Y.Y., Gorelik O., Arepalli S., Schwegler-Berry D., et al. 2005. *Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice*. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 289(5):L698-708. Epub 2005 Jun 2010.
- [6]** Li J.G., Li W.-X., Xu J.-Y., Cai X.-Q., Liu R.-L., Li Y.-J., Zhao Q.-F., Li Q.-N. 2007. *Comparative study of pathological lesions induced by multiwalled carbon nanotubes in lungs of mice by intratracheal instillation and inhalation*. *Environmental Toxicology* 22(4):415-421.
- [7]** Mitchell L.A., Gao J., Vander Wal R., Gigliotti A., Burchiel S.W., McDonald J.D. 2007. *Pulmonary and Systemic Immune Response to Inhaled Multiwalled Carbon Nanotubes*. *Toxicol Sci* 28:28.
- [8]** Elgrabli D., Floriani M., Abella-Gallart S., Gamez C., Delalain P., Rogerieux F., Boczkowski J., Lacroix G. 2008. *The metal catalyst of carbon nanotube can be used as a tracer for biokinetics studies*. *Particle and Fiber Toxicology* (submitted).
- [9]** Elgrabli D., Abella-Gallart S., Robidel F., Rogerieux F., Boczkowski J., Lacroix G. 2008. *Induction of apoptosis and absence of inflammation in rat lung after intratracheal instillation of multi walled carbon nanotubes*. *Toxicology* (in press).
- [10]** Elgrabli D., Floriani M., Rogerieux F., Boczkowski J., Lacroix G. 2008. *Multi walled carbon nanotubes can be eliminated by the lung: Proposition of hypothetical clearance mechanism*. International Conference on safe production and use of nanomaterials Minatec. Grenoble 3-7 novembre 2008, France (Communication orale).

l'étude de différents phénomènes biologiques et notamment de la phagocytose et de l'apoptose, a permis de proposer un mécanisme hypothétique conduisant à la clairance pulmonaire des NTC⁽¹⁰⁾. Il semblerait qu'après avoir été instillés ou inhalés, les NTC soient phagocytés par les macrophages alvéolaires puis modifiés chimiquement et clivés. Le macrophage entrerait alors en

apoptose et un second pool de cellules poursuivrait ensuite l'élimination des NTC en phagocytant les résidus des cellules apoptotiques et les NTC partiellement dégradés. La présence de nanotubes dans le poumon a été associée avec l'induction des cytochromes P450 1A1 et 2E1 suggérant un rôle possible de ces enzymes dans la clairance.

□ □ ■ SUMMARY

Carbon nanotubes (CNT) are single or multi-cylindrical graphene structures that possess diameters of a few nanometers, while the length can be up to a few nanometers. These could have unusual toxicological properties, in that they share intermediate morphological characteristics of both fibers and nanoparticles. Due to their interesting mechanical and electrical properties, they are more and more used in various industries and it is thus urgent to assess their potential toxicity. Several studies performed by intratracheal instillation showed that carbon nanotubes (CNT) induced pulmonary fibrosis, granulomas or inflammation. But, recently, two inhalation studies did not observed such pathological phenomena and suggest that granulomas could be due to the instillation of unbreathable agglomerates. In a previous study, we have described a simple method (using albumin as dispersing agent) which produced solutions containing more than 80% of agglomerate of breathable size. We report here results from intratracheal instillation of rats by 0, 1, 10 or 100 µg of multi-walled CNT (MWCNT) dispersed with albumin. After 1, 7, 30, 90, and 180 days, no inflammation, fibrosis and granuloma formation were detected. The respiratory function of animals was also unmodified. Only a dose-dependant apoptosis of alveolar macrophages was noted. These result underline the importance of controlling MWCNT agglomerate size when exposing animals, through appropriate dispersion methods. This study also showed that MWCNT can be eliminated and do not significantly cross the pulmonary barrier but are still present in lungs 6 months after a unique instillation. MWCNT appeared to be cleaved in the lung. Long-time presence of MWCNT in the lung was associated with lung induction of cytochrome P450 1A1 and 2E1 mRNA suggesting a possible role of these enzymes in MWCNT clearance. These results provide the first data of CNT biopersistence and clearance at 6 months after respiratory administration.