



**HAL**  
open science

## Biodistribution et élimination de nanotubes de carbone instillés dans les poumons de rats

Dan Elgrabli

► **To cite this version:**

Dan Elgrabli. Biodistribution et élimination de nanotubes de carbone instillés dans les poumons de rats. Rapport Scientifique INERIS, 2010, 2009-2010, pp.51-53. ineris-01869276

**HAL Id: ineris-01869276**

**<https://hal-ineris.archives-ouvertes.fr/ineris-01869276>**

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.

# Biodistribution et élimination de nanotubes de carbone instillés dans les poumons de rats



D. Elgrabli

La structure physique des nanoparticules (NP) leur confère des propriétés physico-chimiques et biologiques différentes de celles du même composé de taille micrométrique. Par exemple, les défauts de structure semblent jouer un rôle au niveau de la toxicité et l'élimination des nanotubes de carbone [3]. Ainsi, une utilisation de NP est envisagée dans de nombreuses industries. En effet, les produits suivants sont déjà commercialisés : des textiles insalissables recouverts d'une pellicule de nanoparticules d'argent, des verres autonettoyants sur lesquels ont été déposées des couches minces d'oxyde de titane, des cabines de douche, des éviers ou des carrosseries recouvertes de nanofilms, des dentifrices au nanophosphate de calcium qui comblent les minuscules fissures des dents, des produits solaires au dioxyde de titane, de rouges à lèvres à l'oxyde de zinc pour améliorer la tenue, des vernis à ongles enrichis en oxyde de zirconium. Parmi les NP les plus utilisées, on distingue notamment les nanotubes de carbone (NTC). Malheureusement, à l'heure actuelle, la toxicité potentielle de cette NP reste encore mal connue. De par leur faible taille, les NTC peuvent être remis aisément en suspension dans l'air et la voie pulmonaire est une voie privilégiée d'exposition à ce type de composé. L'étude de la toxicité pulmonaire d'une particule implique l'analyse de sa biopersistance c'est-à-dire du

temps au cours duquel le NTC reste au niveau de chaque organe, de son élimination mais aussi de sa capacité à passer la barrière alvéolo-capillaire entre le poumon et le sang. Les NTC étant constitués d'atomes de carbone, leur dosage est particulièrement difficile dans les milieux biologiques qui sont eux-mêmes très riches en carbone. Dans ces conditions, il est fait appel à des méthodes de dosage indirect reposant sur l'analyse des catalyseurs métalliques qu'ils renferment. En effet, leur synthèse nécessite la présence de ces catalyseurs métalliques qui ne peuvent pas être totalement éliminés lors de la purification de ces NTC.

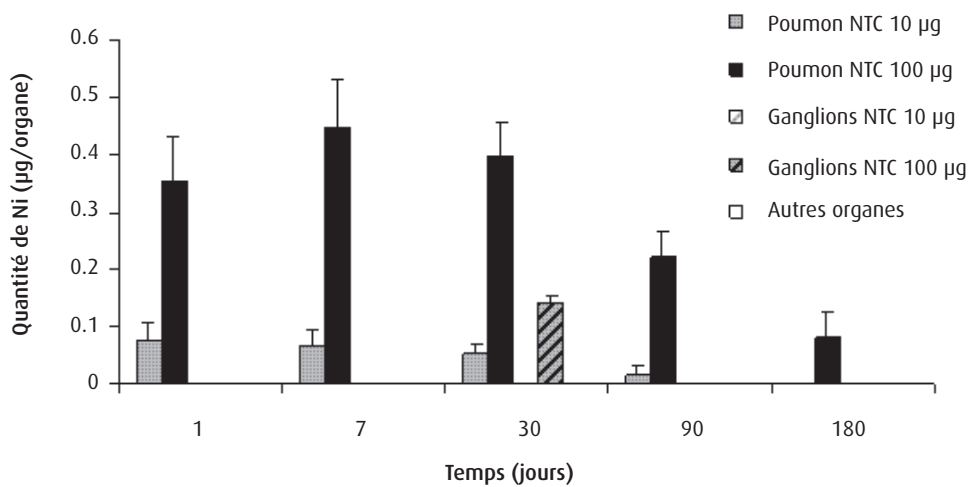
Afin d'étudier leur biopersistance et leur élimination, des NTC contenant 0,5 % de nickel ont été instillés dans des poumons de rats. Sept jours après traitement, l'analyse en microscopie électronique (MET), couplée à une sonde EDX (Émission de photons X), de coupes de poumon et de ganglions lymphatiques de rats traités a révélé une parfaite colocalisation entre les NTC et le nickel. Ainsi, les résultats obtenus montrent que le nickel reste fixé aux NTC dans l'organisme et peut donc être utilisé comme traceur du NTC lors d'études *in vivo*. La présence éventuelle de NTC dans de nombreux organes (foie, reins, rate, cœur, cerveau, poumon, testicules, ganglions lymphatiques et thymus) à divers temps suivant l'instillation a été

## RÉFÉRENCES

[1] Elgrabli D., Abella-Gallart S., Robidel F., Rogerieux F., Boczkowski J., Lacroix G. (2008a). Induction of apoptosis and absence of inflammation in rat lung after intratracheal instillation of multiwalled carbon nanotubes. *Toxicology* 253(1-3): 131-136.

[2] Elgrabli D., Floriani M., Abella-Gallart S., Meunier L., Gamez C., Delalain P., Rogerieux F., Boczkowski J., Lacroix G. (2008b). Biodistribution and clearance of instilled carbon nanotubes in rat lung. *Part Fibre Toxicol.* 5: 20.

[3] Muller J., Huaux F., Fonseca A., Nagy J. B., Moreau N., Delos M., Raymundo-Pinero E., Beguin F., Kirsch-Volders M., Fenoglio I., Fubini B., Lison D. (2008). Structural defects play a major role in the acute lung toxicity of multiwall carbon nanotubes: toxicological aspects. *Chem Res Toxicol.* 21(9): 1698-705. Epub 2008 Jul 18.



**FIGURE 1**

**PASSAGE DES NANOTUBES DE CARBONE À TRAVERS LA BARRIÈRE PULMONAIRE ET ÉLIMINATION PULMONAIRE.**

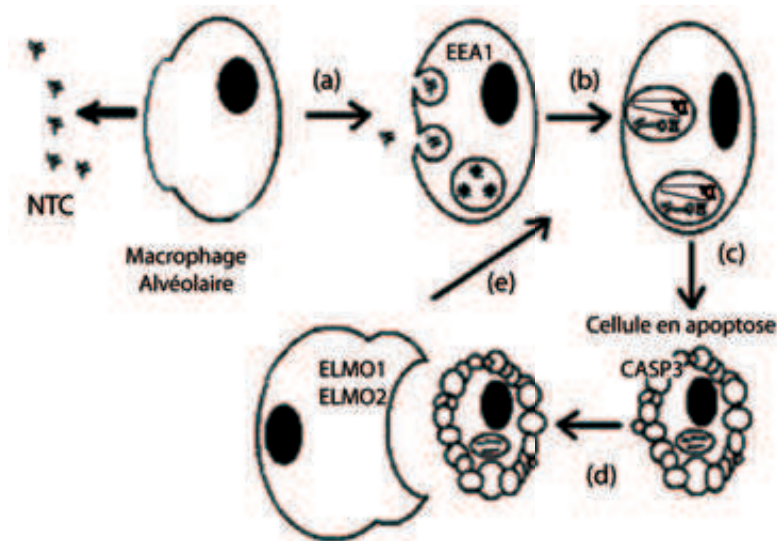
Les nanotubes de carbone ont été détectés uniquement au niveau des poumons et au niveau des ganglions lymphatiques 30 jours après le traitement montrant ainsi l'absence de passage de ces nanoparticules à travers la barrière pulmonaire. Une diminution de la quantité de ces nanotubes de carbone au niveau pulmonaire, associée à l'absence de passage dans d'autres organes, suggère l'existence d'un mécanisme d'élimination.

recherchée par dosage du nickel dans ces organes par spectroscopie optique (ICP-OES). À l'exception des poumons et des ganglions lymphatiques, la présence de NTC n'a pas été détectée dans d'autres organes après 1, 7, 30, 90 et 180 jours (figure 1), suggérant ainsi l'incapacité des NTC à traverser de façon significative la barrière alvéolo-capillaire (limite de détection évaluée à 10 ng/organe) [2]. De plus, il a été observé que la totalité du NTC instillé reste présente dans le poumon pendant au moins 1 mois après le traitement. Une diminution de 62 % et de 84 % de la quantité de NTC injectée est cependant observée à respectivement 3 mois et 6 mois. Les NTC n'ayant été retrouvés dans aucun autre organe que le poumon et les ganglions, il est fortement suggéré l'existence d'un mécanisme d'élimination pulmonaire pour le NTC étudié (figure 1).

Afin d'identifier le mécanisme d'élimination pulmonaire des NTC des doses de 1, 10 ou 100 µg de NTC ont été instillées dans les poumons de rats et différents paramètres, marqueurs de l'inflammation, du stress oxydant, de l'apoptose ou de la phagocytose, ont été analysés 1, 7, 30, 90 et 180 jours après traitement. Des coupes de poumon ont ainsi été réalisées puis observées en microscopie électronique à transmission. Suite à la quantification par PCR de l'ARNm d'actine  $\beta$  et de EEA-1 (Early endosome antigen 1), il est conclu que les macrophages alvéolaires

sont capables de reconnaître et de phagocytter les NTC [1]. La question suivante est donc de savoir quel est le devenir des NTC une fois phagocytés ? Pour répondre à cette question, des NTC ont été instillés dans des poumons de rats. Après 15 jours, les NTC ont été récupérés par lavage broncho-alvéolaire et lyse des cellules pulmonaires. L'analyse de la structure de NTC instillés dans les poumons des rats a alors été réalisée au MET et en spectroscopie infrarouge. Suite à ces expériences, une diminution de la taille des NTC instillés ainsi que des modifications physiques et chimiques de la structure de ces NTC par fixation de groupements alcools et nitrés ont été notées. Par ailleurs, l'augmentation de l'ARNm d'enzymes impliquées dans la dégradation de molécules étrangères à l'organisme (cytochrome P450 1A1 et 2E1) a été mesurée. Ces enzymes, et plus particulièrement le cytochrome P450 1A1, sont connus pour jouer un rôle dans la fixation de groupements hydroxylés tels que les alcools afin de favoriser la solubilisation et l'élimination d'éléments étrangers. Elles pourraient donc intervenir dans l'élimination des NTC.

Par ailleurs, et bien que la présence de cellules en apoptose [1], c'est-à-dire de cellules entrant en mort cellulaire ait également été notée, une induction de marqueurs de la phagocytose de cellules apoptotiques (Elmo 1, Elmo 2 et Dock 180) ainsi qu'une diminution de l'expression de cytokines responsables



**FIGURE 2**  
SCHÉMA REPRÉSENTANT LE MÉCANISME D'ÉLIMINATION DES NANOTUBES DE CARBONE AU NIVEAU PULMONAIRE. Les nanotubes de carbone sont reconnus (a), phagocytés (b) et modifiés physiquement et chimiquement (c) par les macrophages alvéolaires. Ces cellules entrent ensuite en apoptose (d) et libèrent des débris cellulaires qui seront pris en charge par un nouveau pool de macrophages alvéolaires afin de poursuivre l'élimination (e).

des phénomènes inflammatoires (IL-10 et GM-CSF), caractéristiques de ce phénomène, ont été notées. L'hypothèse d'un mécanisme d'élimination selon laquelle après phagocytose les nanotubes sont modifiés physiquement et chimiquement, peut donc être posée. Les macrophages alvéolaires ayant joué leur rôle entrent alors en apoptose formant des débris cellulaires. Ces débris sont alors pris en charge par un nouveau pool de cellules afin de poursuivre l'élimination des NTC présents dans le poumon (figure 2).

L'ensemble de ces résultats a permis de mettre en évidence que les catalyseurs métalliques utilisés pour réaliser la synthèse des NTC pouvaient servir de

traceur pour la détection en milieux biologiques. Il a également été mis en évidence que les NTC étaient capables de persister dans l'organisme pendant plus de 6 mois. Les résultats obtenus ont également permis de poser une hypothèse quant au mécanisme d'élimination des NTC mis en jeu au niveau pulmonaire. Ce mécanisme permet, d'une part, d'expliquer la lente élimination ou clairance pulmonaire des NTC et, d'autre part, de tenir compte de l'ensemble des observations effectuées et plus précisément de l'absence de processus inflammatoire. Ces résultats ayant été obtenus suite à une exposition unique, la question de la réaction de l'organisme face à une exposition répétée est posée.

## ABSTRACT

Background: Constituted only by carbon atoms, CNT are hydrophobic and hardly detectable in biological tissues. These properties make biokinetics and toxicology studies more complex. Methods: We propose here a method to investigate the biopersistence of CNT in organism, based on detection of nickel, a metal present as trace in the NTC we investigated. Results and conclusion: Our results in rats that received NTC by intratracheal instillation, reveal that NTC can be eliminated and do not significantly cross the pulmonary barrier but are still present in lungs 6 months after a unique instillation. NTC structure was also showed to be chemically modified and cleaved in the lung. Long-time presence of NTC in the lung is associated with lung induction of cytochrome P450 1A1 and 2E1 mRNA suggesting a possible role of these enzymes in NTC clearance. These results provide the first data of CNT biopersistence and clearance at 6 month after respiratory administration.