

Recherche des effets toxiques cutanés des nanoparticules

Période : août 2010 à octobre 2010

Isabelle PASSAGNE et Béatrice L'AZOU

Université Bordeaux 2 – EA 3672 Santé – Travail – Environnement – Bordeaux

Mots clés : Cutanée, Nanomatériaux, Nanoparticules, Peau, Toxicité

Les nanomatériaux sont retrouvés dans divers secteurs d'activité et notamment dans l'industrie des cosmétiques. Ils permettent d'améliorer la texture et l'aspect des cosmétiques tout en offrant une plus grande pénétration cutanée. Bien que certains organismes comme la Food and Drug Administration (FDA) aient autorisé leur utilisation dans les cosmétiques, des questions subsistent quant à la sécurité des consommateurs. De par leur petite taille, les nanoparticules pourraient pénétrer et atteindre les couches profondes de la peau. Des effets néfastes pourraient ainsi apparaître au niveau des différentes structures dermiques.

Aspects toxicologiques d'un traitement à long terme de kératinocytes humains avec des nanoparticules de TiO₂ (dioxyde de titane) et de ZnO (oxyde de zinc)

Kocbek P, Teskac K, Kreft ME, Kristl J. Toxicological aspects of long-term treatment of keratinocytes with ZnO and TiO₂ nanoparticles. *Small*. 2010 ; 6 : 1908-1917.

Analyse

Certains produits solaires contiennent du dioxyde de titane (TiO₂⁽¹⁾) et de l'oxyde de zinc (ZnO⁽²⁾) utilisés pour leur capacité à absorber les UV⁽³⁾ (UVA et UVB). Dans la majorité des formulations, on les retrouve à l'échelle nanométrique. Les données sur les effets d'une exposition à long terme à ces nanoparticules restent fortement manquantes.

Dans leur article, Kocbek *et al.* (2010) évaluent *in vitro*, la toxicité sur des kératinocytes humains, de nanoparticules de TiO₂⁽¹⁾ (100 nm, anatase) ou ZnO⁽²⁾ (25 nm), à court terme et long terme. Après une exposition à court terme (24 h, 48 h, 72 h), une toxicité apparaît uniquement avec les nanoparticules de ZnO⁽²⁾. Une diminution de la viabilité cellulaire est observée à partir de 15 µg/ml alors qu'aucune modification n'est visible avec TiO₂⁽¹⁾ jusqu'à la dose de 100 µg/ml. Cette toxicité est associée à des modifications morphologiques.

L'étude à long terme évalue les effets induits après 3 mois d'exposition à de faibles concentrations en nanoparticules (0,5 µg/ml ; 5 µg/ml ; 10 µg/ml). L'évaluation des effets toxiques est basée sur la mesure de paramètres d'intégrité biologique et morphologique cellulaires (surface cellulaire, organites intracellulaires, activité mitochondriale...). L'analyse en microscopie montre une localisation cytoplasmique des nanoparticules sous forme d'agrégats au niveau de vésicules d'endocytose et d'amphisomes. Les amphisomes sont des compartiments fonctionnels cellulaires assurant la collecte de composés ou matériels cellulaires destinés à être dégradés par les lysosomes. De nombreuses connections intercellulaires sont observables, de façon plus prononcée avec ZnO⁽²⁾ qu'avec TiO₂⁽¹⁾.

Les auteurs signalent que cette observation pourrait présager d'une transformation cellulaire vers des cellules tumorales mais cela nécessite de réaliser des études complémentaires. De même, les nanoparticules de ZnO⁽²⁾ altèrent fortement la structure des filaments d'actine et des modifications du noyau sont observées. Un effet toxique est mis en évidence avec production d'espèces réactives de l'oxygène et diminution de l'activité mitochondriale. Le nombre de cellules retrouvées en phase subG1 est également important, signant un début de mort cellulaire. Pour les auteurs, la toxicité des nanoparticules ZnO⁽²⁾ est liée à la part soluble du zinc *via* un relargage d'ions Zn²⁺ toxiques dans le milieu de culture. En effet, une perturbation de l'homéostasie cellulaire en ions Zn²⁺ peut entraîner des dommages mitochondriaux et la mort cellulaire.

Commentaire

En raison d'une utilisation répétée des produits solaires, l'évaluation des risques passe forcément par l'obtention de données sur les effets d'une exposition cutanée à long terme. Les modèles *in vitro* de toxicité chronique n'existent pas actuellement. Les auteurs apportent néanmoins des éléments par la mise en évidence de modifications cellulaires et notamment morphologiques *in vitro*. Il s'agit d'une approche intéressante pour une étude de long terme. Dans ce projet, les auteurs montrent que la réponse cellulaire est dépendante de la composition des nanoparticules et de la durée d'exposition. Lors d'exposition à long terme, les nanoparticules de ZnO⁽²⁾ conduisent à des effets néfastes plus prononcée sur les cellules épidermiques (kératinocytes), comparativement aux nanoparticules de TiO₂⁽¹⁾. Il s'agit d'une information intéressante mais qui ne permet toutefois pas de conclure sur la toxicité chronique par voie cutanée.

Les nanoparticules de TiO₂ modifiées affectent différemment des fibroblastes de peau humains exposés aux rayonnements ultraviolets A

Tiano L, Armeni T, Venditti E, Barucca G, Mincarelli L, Damiani E. Modified TiO₂ particles differentially affect human skin fibroblasts exposed to UVA light. *Free Radic Biol Med.* 2010 ; 49 : 408-415.

Analyse

Le dioxyde de titane (TiO₂⁽¹⁾) est utilisé dans les crèmes solaires sous ses formes anatase et rutile. Ces formes présentent toutes deux des propriétés photocatalytiques⁽⁴⁾ et peuvent donc réagir avec les molécules du milieu environnant pour former des espèces radicalaires. Des effets toxiques pourraient ainsi être induits au niveau des cellules de la peau lors d'exposition aux UV⁽³⁾. La présence d'un revêtement de surface (alumine, silice ou zircone) peut néanmoins réduire la réactivité des nanoparticules. Dans leur étude, Tiano *et al.* (2010) évaluent *in vitro* d'une part les propriétés physico-chimiques des nanoparticules de TiO₂⁽¹⁾ (photoactivité) et d'autre part les effets biologiques induits sur primoculture de fibroblastes de peau, après exposition aux UVA⁽³⁾. Les nanoparticules sont, pour quatre d'entre elles, sous la forme rutile (Optisol, MDT-25, M263, T2000) et une contient un mélange anatase et rutile (TAQ40). Une nanoparticule contient de l'anatase pure (Aldrich). Leur revêtement est de nature différente.

Les nanoparticules contenant de l'anatase pure (Aldrich) ou un mélange anatase-rutile (TAQ40) sont très photoréactives, comparativement à celles en rutile pure. Ces deux nanoparticules conduisent à la production de ERO⁽⁵⁾. Ce phénomène est évalué sur modèle acellulaire, par mesure de la quantité de malondialdéhyde (MDA) formé. En effet, le désoxyribose (un composant de l'ADN) est photodégradé en malondialdéhyde (MDA) *via* l'action des ERO⁽⁵⁾. Certaines nanoparticules en rutile possèdent une légère activité photocatalytique⁽⁴⁾ : MDT-25 et T2000.

Concernant les effets biologiques induits, les nanoparticules avec un revêtement en alumine et en manganèse (M263 et Optisol) ne sont pas cytotoxiques. Les nanoparticules revêtues avec du diméthicone ne sont ni cyto- ni géno-toxiques (T2000). En l'absence de photocatalyse (sans UV⁽³⁾), des dommages à l'ADN sont observés avec les nanoparticules Optisol, MDT-25 et Aldrich ; dommages très probablement liés à l'induction d'un stress oxydant pour une concentration d'exposition de 5 µg/cm². Par contre, après exposition aux UVA⁽³⁾, ces dommages à l'ADN ne sont visibles qu'avec les nanoparticules très photoréactives : Aldrich et TAQ40. L'apparition de ces dommages à l'ADN est associée à une production importante de ERO⁽⁵⁾ au niveau intracellulaire, renforçant l'idée d'un dommage d'origine oxydant.

Commentaire

Il est important d'évaluer l'impact des rayonnements solaires sur la toxicité potentielle du TiO₂⁽¹⁾ contenu dans les écrans solaires. Dans ce genre d'étude, il faut prendre en compte le type de nanoparticules de TiO₂⁽¹⁾ utilisées car elles peuvent

être revêtues de composés pouvant modifier certaines de leurs propriétés physico-chimiques. Les revêtements en alumine et en manganèse (nanoparticules M263 et Optisol) semblent offrir une certaine sécurité d'utilisation, comme il l'a été montré dans une autre étude (Rampaul *et al.*, 2007). Même si l'étude apporte une piste intéressante, il est néanmoins difficile de conclure sur ce point. Cette étude montre toute la difficulté à démontrer l'influence de certains paramètres sur la toxicité.

Le facteur prédominant semble plutôt être la structure cristalline utilisée : anatase ou rutile. Les formes « anatase pur » ou « anatase-rutile » se sont avérées être très photoréactives et ont donc conduit à des effets toxiques au niveau des cellules dermiques cutanées (fibroblastes) après exposition aux UV⁽³⁾. Ce résultat renforce certains travaux qui recommandent plutôt l'utilisation de la forme rutile dans les produits cosmétiques.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les premiers travaux de l'évaluation de la toxicité par contact cutanée se sont axés sur l'étude de composés utilisés en cosmétologie : TiO₂⁽¹⁾ et ZnO⁽²⁾. Actuellement, on ne peut avec certitude conclure sur la sécurité de ces nanoparticules du fait d'un manque de méthodologie adaptée, notamment pour les expositions au long terme. Les deux études présentées montrent néanmoins l'influence sur la toxicité de certains facteurs : structure (anatase ou rutile), durée d'exposition et UV⁽³⁾. Elles apportent des connaissances mais à l'échelle cellulaire (kératinocytes ou fibroblastes) et non sur la peau dans son ensemble. Ces effets toxiques ne peuvent se produire que si les nanoparticules pénètrent les premières couches cutanées, notamment pour les atteintes au niveau des fibroblastes. Il faut souligner que les études antérieures semblent plutôt indiquer que les nanoparticules notamment de TiO₂⁽¹⁾ restent en surface ou dans la couche cornée. Au cours de l'évaluation, l'état général de la peau est également un paramètre à prendre en compte car il joue sur l'efficacité de la barrière cutanée et donc sur la pénétration des nanoparticules.

Lexique

- (1) TiO₂ : Dioxyde de Titane
- (2) ZnO : Oxyde de Zinc
- (3) UV : Ultra-Violet
- (4) Photocatalytique : propriété conduisant à un phénomène de photocatalyse qui correspond à l'excitation d'un semi-conducteur en l'occurrence le titane par des rayonnements lumineux
- (5) ERO : Espèces réactives de l'oxygène

Publications de référence

Rampaul A, Parkin IP and Cramer LP. Damaging and protective properties of inorganic components of sunscreens applied to cultured human skin cells. *J Photoch Photobio.* 2007; 191: 138-148.

Revue de la littérature

Crosera M, Bovenzi M, Maina G et al. Nanoparticle dermal absorption and toxicity: a review of the literature. *Int Arch Occup Environ Health.* 2009; 82: 1043-1055.

Newman MD, Stotland M, Ellis JI. The safety of nanosized particles in titanium dioxide- and zinc oxide-based sunscreens. *J Am Acad Dermatol.* 2009; 61: 685-692.

Nohynek GJ, Dufour EK, Roberts MS. Nanotechnology, cosmetics and the skin: is there a health risk? *Skin Pharmacol Physiol.* 2008; 21: 136-149.

Osmond MJ, McCall MJ. Zinc oxide nanoparticles in modern sunscreens: an analysis of potential exposure and hazard. *Nanotoxicology.* 2010; 4: 15-41.

Autres publications identifiées

Jeong SH, Kim JH, Yi SM et al. Assessment of penetration of quantum dots through *in vitro* and *in vivo* human skin using the human skin equivalent model and the tape stripping method. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010; 394: 612-615.

Article sur la pénétration de nanoparticules réalisée sur modèles in vivo et in vitro

Lu S, Xia D, Huang G, Jing H et al. Concentration effect of gold nanoparticles on proliferation of keratinocytes. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2010; 81: 406-411.

Article montrant une toxicité cutanée qu'à forte dose avec les nanoparticules d'or.

Mironava T, Hadjiargyrou M, Simon M et al. Gold nanoparticles cellular toxicity and recovery: effect of size, concentration and exposure time. *Nanotoxicology.* 2010; 4: 120-137.

Étude complète prenant en compte différents paramètres au cours de l'évaluation de la toxicité.

Naha PC, Bhattacharya K, Tenuta T et al. Intracellular localisation, geno- and cytotoxic response of polyN-isopropylacrylamide (PNIPAM) nanoparticles to human keratinocyte (HaCaT) and colon cells (SW 480). *Toxicol Lett.* 2010; 198: 134-143.

Article intéressant étudiant les effets sur des cellules de peau et des cellules de colon

Sadrieh N, Wokovich AM, Gopee NV et al. Lack of significant dermal penetration of titanium dioxide from sunscreen formulations containing nano- and submicron-size TiO₂ particles. *Toxicol Sci.* 2010; 115: 156-166.

Comparaison de la pénétration pour des formes micro- et nano-métrique de titane.

Samberg ME, Oldenburg SJ, Monteiro-Riviere NA. Evaluation of silver nanoparticle toxicity in skin *in vivo* and keratinocytes *in vitro*. *Environ Health Perspect.* 2010; 118: 407-413.

Article utilisant un modèle de peau in vitro et un modèle in vivo.

Senzui M, Tamura T, Miura K et al. Study on penetration of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles into intact and damaged skin *in vitro*. *J Toxicol Sci.* 2010; 35: 107-113.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Cutaneous, Dermal, Nanomaterial, Nanoparticle, Skin, Toxicity