

# Génotoxicité des nanoparticules de dioxyde de cérium sur les spermatozoïdes humains.

Virginie Tassistro (1), Blandine Courbière (1,2), Mélanie Auffan (3), Wei Liu (3), Alain Botta (1,5), Jean-Yves Bottero (3), Thierry Orsière (1), Jérôme Rose (3), Jeanne Perrin (1,3,4).

1: Aix-Marseille Université, IMBE UMR CNRS 7263, Biogénotoxicologie, Santé Humaine & Environnement, Fédération de Recherche CNRS 3098 ECCOREV, Labex SERENADE, Faculté de Médecine 27, bd Jean Moulin 13385 Marseille Cedex 5 France.

2: AP-HM, La Conception, Centre de Procréation Médicalement Assistée, Gynépole.

3: Aix-Marseille Université, Centre Européen de Recherche et d'Enseignement des Géosciences de l'Environnement (CEREGE), UMR CNRS 7330, Labex SERENADE: Europole de l'Arbois, avenue Louis Philibert, BP 80, 13545 Aix-en-Provence cedex 5

4: AP-HM La Conception, CECOS Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Gynépole, 147 bd Baille, CS 40002.

5: AP-HM La Timone, Service de Médecine et Santé au Travail.

Ce travail réalisé dans le cadre du LABEX SERENADE portant la référence ANR-11-LABX-0064 a bénéficié d'une aide de l'Etat gérée par l'Agence Nationale de la Recherche au titre du projet Investissements d'Avenir A\*MIDEX portant la référence n° ANR-11-IDEX-0001-02.

## Etat des lieux

**Augmentation très rapide des sources d'exposition humaine aux nanoparticules(NP)** (de taille comprise entre 1 et 100 nm), mais manque d'information sur leur impact sur la santé. NP de CeO<sub>2</sub> très utilisées dans les carburants et l'industrie automobiles, le traitement du bois ; applications médicales en cours de développement → **NP de CeO<sub>2</sub> classées prioritaires par l'OCDE pour l'étude de leur toxicité.**  
NP métalliques : passage possible de la barrière hémato-testiculaire. **Aucune donnée sur l'impact des NP de dioxyde de cérium (CeO<sub>2</sub>) sur les spermatozoïdes (spz).**

## But de l'étude

L'intégrité cellulaire et génomique des spz étant un pré-requis indispensable à la fécondation et à un développement embryonnaire précoce normal, le but de notre travail est **d'étudier in vitro la génotoxicité des NP de CeO<sub>2</sub> sur les spz humains.**

## Matériel et Méthodes

**Spermatozoïdes** : paillettes de donneurs fertiles, fournies par le CRB GERMETHÈQUE.

**Exposition in vitro aux NP de CeO<sub>2</sub>** : Fertilcult© contenant concentrations croissantes de NP de CeO<sub>2</sub> : 0 (contrôle négatif), 0.01, 0.1, 1, 10 et 100 mg/l. Contrôle positif : 110 µMol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Solutions déposées sur le culot de spz après décongélation et rinçage. Les mêmes conditions sont testées en présence de L-ergothionéine (L-erg, substance anti-oxydante).

**Exposition in vitro au Ce dissout** : pour tester la génotoxicité du Ce sous forme dissoute, le surnageant (sans NP) de chaque solution est aussi testé

**Migration ascendante des spz dans les solutions d'exposition** : 1 heure à 37 C sous 5% de CO<sub>2</sub>.

**Test de vitalité** : (éosine, WHO 2010) réalisé sur les spz sélectionnés.

**Test des comètes** : (adapté de Baumgartner 2012) réalisé sur les spz sélectionnés. Quantification des dommages à l'ADN par le % d'ADN dans la queue (% tail DNA). **Analyse statistique** : ANOVA et test de Fisher.

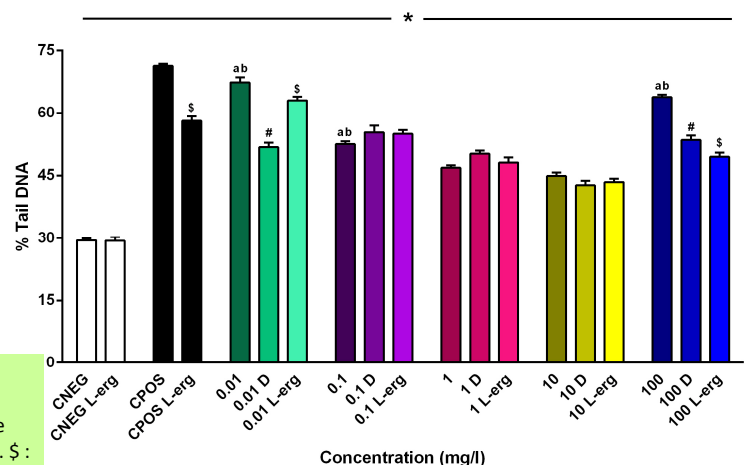
## Résultats

**Vitalité** : après exposition à toute les conditions testées, la vitalité dans les spz sélectionnées est > 58% (norme OMS 2010).

**Test des comètes** : Figure 1

- **Toute les concentrations de NP de CeO<sub>2</sub> (\*) et de cérium dissout testées sont génotoxiques** par rapport au contrôle négatif.
- Dommages **statistiquement supérieurs à 0.01, 0.1 et 100 mg/l** par rapport à 1 et 10 mg/l (a,b).
- **L'adjonction de L-erg (anti-ox) diminue statistiquement les dommages à l'ADN aux concentrations extrêmes (0.01 et 100 mg/l)(s).**
- Le cérium dissout est statistiquement moins génotoxique que les NP à 0,01 et 100 mg/l (#).

**Figure 1: Quantification des dommages à l'ADN des spz par le test des comètes (% Tail DNA) en fonction des conditions testées.** CPOS : 110 µMol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. CNEG : Fertilcult©. L-erg : en présence de L-ergothionéine (anti-oxydant). D : exposition au Ce dissout seulement (sans NP). \* : vs vontrôle negatif. a : vs NP 1mg/l. b : vs NP 10mg/l. \$ : L-erg vs NP. # : D vs NP.



## Conclusion

- Cette étude montre pour la première fois que **l'exposition in vitro de spz humains aux NP de CeO<sub>2</sub> augmente significativement les dommages à l'ADN**, sur une gamme étendue de concentrations.
- Le **mécanisme d'action** génotoxique semble varier en fonction de la concentration en NP :
  - À faible concentration, **stress oxydant** et possible mécanisme **direct** lié aux interactions NP de CeO<sub>2</sub>-spz
  - Aux concentrations intermédiaires, mécanisme **indirect** lié à la dissolution du cérium dans le milieu.
  - À haute concentration, **stress oxydant** prédominant
- **Ces résultats justifient l'étude de la reprotoxicité des NP de CeO<sub>2</sub> par des études in vivo à faible concentration.**