

# Caractérisation des effets du dioxyde de titane de qualité alimentaire et à fraction nanoparticulaire sur un modèle d'organoïde intestinal

Yann Malaisé, Lauris Evariste, Aurélie Pettes-Duler, Eva Casale, Christel Cartier, Eric Gaultier, Natália Martins Breyner, Bruno Lamas, Eric Houdeau

▶ **To cite this version:**

Yann Malaisé, Lauris Evariste, Aurélie Pettes-Duler, Eva Casale, Christel Cartier, et al.. Caractérisation des effets du dioxyde de titane de qualité alimentaire et à fraction nanoparticulaire sur un modèle d'organoïde intestinal. Séminaire "Organoïdes et recherche agronomique", Jun 2022, Maisons-Alfort, France. hal-03774877

**HAL Id: hal-03774877**
**https://hal.inrae.fr/hal-03774877**

Submitted on 12 Sep 2022

**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.

## Abstract Séminaire "Organoïdes et recherche agronomique"

# Caractérisation des effets du dioxyde de titane de qualité alimentaire et à fraction nanoparticulaire sur un modèle d'organoïde intestinal

Yann Malaisé, Lauris Evariste, Aurélie Pettes-Duler, Eva Casale, Christel Cartier, Eric Gaultier, Natalia Martins Breyner, Bruno Lamas, Eric Houdeau

Toxalim UMR1331 (Centre de recherche en toxicologie alimentaire), Université de Toulouse, INRAE, ENVT, INP-Purpan, UPS, Toulouse, France.

**Contexte :** L'exposition orale aux nanoparticules (NPs) inorganiques *via* des additifs alimentaires utilisés *ad quantum satis* dans la transformation des aliments soulève des inquiétudes de santé publique compte tenu d'une exposition chronique chez l'homme. Le dioxyde de titane ($TiO_2$, E171 en UE) est un additif nanoparticulaire utilisé comme colorant blanc et opacifiant (confiserie, pâtisseries, sauces) et agent d'enrobage (compléments alimentaires, médicaments), responsable de réponses pro-inflammatoires et de promotion de lésions précancéreuses dans l'intestin de rongeur. Lors d'évaluations du risque toxique, l'identification de « dangers » liés à une exposition orale chronique aux NPs nécessite souvent des expériences longues chez l'animal et des compétences spécifiques. Les récentes avancées technologiques dans l'utilisation de cellules souches et la culture en 3D autorisent désormais l'utilisation d'organoïdes comme alternative à l'expérimentation animale. Ainsi, nous avons utilisé des organoïdes intestinaux murins pour caractériser les impacts du $TiO_2$ alimentaire en comparaison des données *in vivo* afin de valider leur utilisation comme modèle d'étude des effets des NPs inorganiques dans l'intestin.

**Méthodes :** Trois souris C57bl/6 ont été utilisées pour les prélèvements de l'intestin grêle. Les cryptes intestinales ont été purifiées, dissociées et les cellules récoltées ont été cultivées pour la formation d'organoïdes. Après 4 passages, les organoïdes ont été dissociés et cultivés en 2,5D puis exposés à des doses croissantes de E171 (0,1, 1 ou 10µg $TiO_2$/mL) pendant 24h. Les surnageants ont ensuite été collectés et la cytotoxicité testée par la quantification de la Lactate Déshydrogénase (LDH) libérée. L'expression de gènes impliqués dans la différentiation cellulaire, la génotoxicité, la production de peptides antimicrobiens, la perméabilité épithéliale, le stress oxydatif, les *Toll Like Receptors* (TLR), et la réponse inflammatoire (NFκB, chimiokines) a été étudiée par qPCR. L'apoptose a été évaluée par quantification de la Caspase-3 clivée en immunofluorescence.

**Résultats :** Une augmentation dose-dépendante de l'expression du gène de prolifération *Mki67* associée à celle du marquage de la Caspase-3 clivée a été observée après 24h d'exposition au E171, suggérant un renouvellement ou une restructuration de l'épithélium. Ces modifications sont concomitantes à une augmentation dose-dépendante de l'expression du gène *Muc2* responsable de la production de mucine, ainsi que des marqueurs de différenciation entérocytaire et de cellules neuroendocrines *Vil1* et *Chga*, respectivement. De plus, l'exposition au $TiO_2$ a augmenté l'expression d'un gène marqueur de dommage à l'ADN (*Gadd45A)* et induit une sous-expression de gènes codant pour des peptides antimicrobiens (*Reg3g*, *S100a8*) et des protéines impliquées dans le contrôle de jonctions serrées (*Cldn1*, *Cldn7*, *Cldn15*), suggérant une génotoxicité accrue et une altération de la sécrétion des défenses antimicrobiennes et de la perméabilité épithéliale. La voie NFκB impliquée dans la réponse inflammatoire a été diminuée de manière dose-dépendante, sans modification de la voie TLR4 ou du stress oxydatif.

**Conclusions :** En accord avec les études *in vivo*, l'intégrité de la barrière épithéliale en termes de prolifération/différenciation cellulaire, de génotoxicité, de défenses innées et de perméabilité aux intrants, a été affectée dans des organoïdes intestinaux murins exposés 24h aux $TiO_2$. Ces observations valident l'utilisation d'organoïdes pour étudier les effets de NPs inorganiques dans l'intestin.

**Mots clés :** Nanoparticules, $TiO_2$, organoïdes intestinaux, toxicologie alimentaire, barrière intestinale

494/500 mots