

# Recherche de biomarqueurs d'effet pour les nanomatériaux

Période : juillet 2009 à décembre 2009

Isabelle PASSAGNE et Béatrice L'AZOU

Université Victor Segalen Bordeaux 2 – Laboratoire Santé, Travail, Environnement EA3672 ISPED – Bordeaux

Mots clés : Biomarqueurs, Expression génique, Nanomatériaux, Monoparticules, Protéomique, Toxicité

Les nanomatériaux, de par leur taille et leurs propriétés physico-chimiques particulières, vont prendre une place importante dans de nombreuses applications industrielles, laissant envisager une exposition des travailleurs et de la population générale. D'après les premiers résultats obtenus *in vivo*, ces nanomatériaux se distribuent dans l'organisme et s'accumulent dans certains organes cibles. Devant l'urgence d'obtenir des données sur leur toxicologie, de nombreuses études, notamment *in vitro*, ont été entreprises. Ces travaux suggèrent que les nanomatériaux induisent une toxicité différente de celle des particules plus volumineuses de composition chimique identique. Leur potentiel toxique découle de facteurs spécifiques dépendants du nanomatériau lui-même. En effet, la structure du cœur du nanomatériau mais également leur fonctionnalisation, leur enrobage ou leur charge de surface modifient cette toxicité en jouant notamment sur leur solubilité. Les études *in vitro* permettent également d'obtenir des informations sur les mécanismes de toxicité impliqués. Une grande partie de leurs effets résulte du stress oxydant induit *via* une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène et de la réponse inflammatoire. Actuellement se pose la question d'identifier des biomarqueurs pertinents, notamment sanguins, afin de prédire la toxicité faisant suite à une exposition à ces nanomatériaux. L'utilisation de biomarqueurs, tels que des protéines ou des gènes impliqués dans la réponse au stress ou l'inflammation, peut donc représenter une piste intéressante en servant d'indicateurs précoces d'une réponse systémique.

## Biomarqueurs potentiels d'effets systémiques après exposition à des nanomatériaux

### Analyse

Suite à un phénomène de translocation à travers la barrière épithéliale pulmonaire, les nanomatériaux peuvent transiter dans le sang et exercent une réactivité biologique au niveau de certains organes, comme le cœur, organe clé de la circulation sanguine. Les effets systémiques induisent ou modifient des troubles préexistants comme les désordres cardiovasculaires. D'autres organes impliqués dans la détoxification et l'élimination (foie, rein) de ces nanomatériaux sont également les cibles des nanomatériaux. Dans leur review, Simeonova et Erdely (2009) cherchent à identifier les biomarqueurs pouvant traduire les principaux effets systémiques induits suite à une exposition pulmonaire aux nanomatériaux. Des effets sur le système cardiovasculaire sont majoritairement observés, même pour une exposition à court terme et avec un impact taille-dépendant des nanomatériaux. De plus, la présence d'impuretés modifie cette réponse biologique aux nanotubes de carbone avec modifications oxydatives des lipoprotéines de type LDL (low-density lipoprotein). Ces modifications biologiques peuvent prédire un risque d'athérosclérose.

Le NTP ou National Toxicology Program ayant pour approche d'évaluer la toxicité de produits chimiques *via* l'utilisation de modèles prédictifs basés sur l'observation du mécanisme biologique, les auteurs portent une attention particulière aux biomarqueurs. Dans cette optique, deux études menées par

cette équipe, ont été décrites. La première étude (Erdely *et al.*, 2007), met en évidence une réponse inflammatoire tissulaire au niveau pulmonaire et cardiaque, après injection intra-péritonéal de LPS<sup>(1)</sup>, un contaminant possible des particules ultrafines. Nous nous attarderons surtout sur les résultats de la deuxième étude. Certains médiateurs de l'inflammation ayant été également retrouvés au niveau sanguin, la deuxième étude vise à déterminer plus précisément les biomarqueurs tissulaires et sanguins, d'exposition aux nanomatériaux carbonés (Erdely *et al.*, 2009). Pour ce faire, le niveau d'expression de certains gènes cellulaires ou de protéines solubles relarguées dans la circulation sanguine, est évalué après exposition. Toutes sur- ou sous-expressions géniques ou protéiques signent l'identification d'un biomarqueur potentiel. Cette étude est réalisée *in vivo* chez la souris exposée, par aspiration pharyngée, à de faibles doses de nanomatériaux : UFCB<sup>(2)</sup> (14 nm de diamètre), SWCNT<sup>(3)</sup> (0,8-1,2 nm de diamètre, 0,1-1 µm de long), MWCNT<sup>(4)</sup> (80 nm de diamètre, 10-20 µm de long). Le sang et divers organes sont ensuite collectés (poumon, cœur, aorte foie, rein) pour analyse des profils géniques et protéiques. Le niveau d'expression des ARNm<sup>(5)</sup> cellulaires est évalué par TaqMan array. Cette technologie d'analyse haut débit des profils d'expression, permet la réalisation de 384 réactions PCR<sup>(6)</sup> simultanées en temps réel sur des gènes sélectionnés par le fabricant (gènes de l'inflammation, du stress oxydant, de la croissance cellulaire...).

L'exposition à chacun de ces nanomatériaux conduit à une augmentation importante de l'expression pulmonaire de certains gènes et notamment de ceux jouant un rôle dans l'inflammation. Les MWCNT possédant une forte activité LDH<sup>(7)</sup> (marqueur de

cytotoxicité) dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire, sont les nanotubes de carbone qui induisent le plus grand nombre de gènes (IL1 $\beta$ <sup>(8)</sup>, IL-5, IL-6, IL8r $\beta$ , IL10, CXCL1<sup>(9)</sup>, CXCL2, CCL11<sup>(10)</sup>, CCL22, MMP9<sup>(11)</sup>, Arg II<sup>(12)</sup>). Pour exemple, 38 gènes ont vu leur expression modifiée après exposition aux MWCNT contre 25 pour les SWCNT dont 24 sont communs aux MWCNT. Majoritairement, l'induction de l'expression est plus importante avec les MWCNT, possédant un effet toxique élevé, qu'avec les SWCNT.

Cette augmentation significative de l'expression génique est associée à une forte élévation des protéines circulantes correspondantes. Pour exception, les taux sanguins de CXCL2 et de IL1 $\beta$  restent inchangés. Pour les auteurs, la détection de ces biomarqueurs sanguins est le reflet de dommages épithéliaux, au niveau des alvéoles pulmonaires du fait de leur relarguage dans la circulation. La protéine pro-coagulante PAI-1<sup>(13)</sup> étant fortement augmentée avec Les MWCNT, un tel biomarqueur sert d'indicateur d'un risque potentiel cardiovasculaire.

Par contre, la majorité des gènes induits au niveau pulmonaire ne sont pas surexprimés dans les cellules sanguines. Seulement 15 gènes sont augmentés après exposition aux MWCNT et 9 correspondent à des gènes induits pour le poumon (MMP9, CXCL2, IL1 $\beta$ , IL8r $\beta$ , S100a8<sup>(14)</sup>, MT1<sup>(15)</sup>, Hif3 $\alpha$ <sup>(16)</sup>, Arg II). De façon intéressante, le gène MMP9 est à la fois un biomarqueur des cellules sanguines et pulmonaires mais également un biomarqueur protéique au niveau de la circulation sanguine après exposition aux nanomatériaux. Certains gènes sont uniquement exprimés au niveau des cellules sanguines : CSF-1<sup>(17)</sup>, IGF-1R<sup>(18)</sup>, c-Fos<sup>(19)</sup>, TIMP-2<sup>(20)</sup>, HO-1<sup>(21)</sup> ainsi que l'ostéopontine, un marqueur de l'activation des macrophages.

Pour l'aorte, les sélectines E, molécules d'adhésion cellulaire, se dégagent comme un biomarqueur du recrutement des leucocytes à travers la paroi vasculaire. Ce phénomène est le signe précoce de dysfonctionnements endothéliaux susceptibles de conduire à des athéroscléroses. L'élévation du gène S100a8 traduit également une réponse pro-inflammatoire des cellules aortiques, réponse présente également au niveau du cœur, du foie et du rein après exposition aux MWCNT. D'autres gènes sont modifiés au niveau de ces différents organes, comme le facteur de transcription Hif3 $\alpha$  et les métallothionéines, MT1 et MT2, indicateurs respectivement d'une hypoxie et d'une réponse adaptative au stress oxydant. L'exposition aux SWCNT entraîne uniquement des modifications traduisant l'hypoxie via l'élévation de Hif3 $\alpha$  en ce qui concerne le cœur, le foie et le rein. En complément, l'expression de l'Arg II est modifiée au niveau pulmonaire, des cellules circulantes, de l'aorte, du cœur mais pas au niveau du foie et du rein. Cette enzyme dégrade l'arginine qui normalement joue un rôle dans la prévention de l'artériosclérose.

#### Commentaire

Cette étude réalisée chez l'animal, consiste à déterminer quels biomarqueurs peuvent être représentatifs d'une exposition pulmonaire à des nanomatériaux carbonés (Ederly *et al.*, 2009). Elle fait apparaître que la détermination de certains gènes permet

d'apprécier précocement les effets systémiques engendrés comme l'apparition d'un dysfonctionnement épithélial ou d'un effet cardiovasculaire. Cette étude montre cependant toute la difficulté d'identifier un biomarqueur tissulaire pertinent, commun à différents organes et à plusieurs nanomatériaux. Il en ressort que le suivi de gènes inflammatoires, comme les interleukines, peut être un indicateur intéressant d'une réponse pulmonaire. Pour les autres organes cibles comme le cœur, le foie ou le rein, il s'agirait plutôt d'autres types de biomarqueurs comme ceux impliqués dans les systèmes de défense cellulaire (MT1 et MT2) ou témoins d'une hypoxie (Hif3 $\alpha$ ). De façon complémentaire, la recherche de biomarqueurs protéiques dans les prélèvements sanguins semble refléter correctement la réponse biologique systémique induite par l'exposition aux nanomatériaux. Notamment, les nanomatériaux conduisent à des modifications importantes au niveau protéique d'un marqueur la MMP9. Il s'agit du seul biomarqueur pour lequel, des modifications géniques sont observées dans les cellules de types pulmonaires et sanguines, en parallèle des variations protéiques. Ces métalloprotéases, générées en partie par les neutrophiles, signent une réponse inflammatoire. Ce type de biomarqueurs sanguins peut donc présenter un grand intérêt, notamment en milieu professionnel, pour permettre le suivi des travailleurs.

## La protéomique, une aide pour l'identification de biomarqueurs

### Analyse

L'évaluation de la sécurité basée sur des méthodes classiques *in vitro* rend compte uniquement de la toxicité aiguë. Néanmoins, les composés chimiques à très faibles doses induisent une réponse biologique, visible avant l'apparition de troubles cliniques, notamment par des modifications de l'expression de certaines protéines. Dans cette optique, **Haniu *et al.* (2010)** proposent d'identifier *in vitro* des biomarqueurs protéiques afin d'évaluer un effet toxique retardé ou chronique en prenant en considération le risque de développement de maladies.

Ces travaux sur cellules U937 (human monoblastic leucemic cell lines) consistent à repérer les modifications de profils protéiques obtenues après exposition aux nanotubes de carbone *via* une méthode protéomique. Cette technologie associe une technique de séparation des protéines par électrophorèse bidimensionnelle (2-DE) et une technique d'analyse des spots protéiques par MALDI-TOF<sup>(22)</sup>. Les nanomatériaux testés sont des nanotubes de carbones MWCNT ayant subi préalablement, un process thermique pendant 30 min à 1800 °C ou 2800 °C en vue de dégrader les impuretés. Les nanomatériaux obtenus sont nommés respectivement HTT1800<sup>(23)</sup> et HTT2800<sup>(24)</sup>. Le chauffage thermique réduit fortement la quantité d'impureté avec un contenu en fer de 80ppm pour HTT1800 et inférieur à 20 ppm pour HTT2800 contre 12 000 ppm pour les MWCNT non purifiés. L'analyse du profil protéique est effectuée sur cellules exposées à une faible dose (0,1 mg/ml) de HTT1800 et de HTT2800.

Les auteurs identifient 45 protéines dont le niveau d'expression varie suite à l'exposition. Les protéines identifiées sont impliquées dans la transduction du signal, la réponse au stress, la différenciation cellulaire ainsi que le cycle cellulaire. Les nanotubes carbonés les plus purs ou HTT2800, sont les moins toxiques et modifient l'expression d'un plus petit nombre de protéines par rapport au HTT1800. En effet, ces modifications d'expression protéique sont significatives et d'au moins un facteur 2, pour 35 et 16 des protéines, respectivement avec HTT1800 et HTT2800. Des modifications communes aux deux nanomatériaux sont observées pour 14 de ces protéines. Ces protéines jouent un rôle notamment dans les phénomènes de stress ou dommages cellulaires (protéasome  $1\beta$ <sup>(25)</sup>, HSP1 $\beta$ <sup>(26)</sup>, Msh2<sup>(27)</sup>), dans les processus de synthèse cellulaire (ribonucléoprotéines nucléaire hétérogène A2/B1<sup>(28)</sup>, 1 $\delta$ -pyrroline 5 carboxylate synthétase<sup>(29)</sup>), dans la signalisation cellulaire (phosphatidylethanolamine-binding protein 1<sup>(30)</sup>, 14-3-3 protéine  $\gamma$ <sup>(31)</sup>, serine/threonine protein phosphatase PP1<sup>(32)</sup>) et dans le métabolisme des hydrates de carbone (trioséphosphate isomérase<sup>(33)</sup>, phosphoglycérate mutase<sup>(34)</sup>, malate déshydrogénase<sup>(35)</sup>,  $\alpha$ -cétoglutarate déshydrogénase<sup>(36)</sup>,  $\alpha$  glucosidase AB<sup>(37)</sup>). L'ensemble de ces protéines étant modifié après exposition aux nanomatériaux, elles peuvent servir de biomarqueur d'effet.

La comparaison des résultats à ceux obtenus par Witzmann et Monteiro-Rivière en 2006 sur des cellules de kératinocytes exposées à des MWCNT tend à confirmer les résultats. 7 des protéines identifiées par cette étude antérieure ont été retrouvées avec HTT1800. Leur fonction est associée notamment au déclenchement d'une réponse au stress ou de la mort cellulaire. Une des protéines également modifiée est la protéine DJ-1, molécule protectrice contre le stress oxydant et la mort cellulaire. Cette protéine est utilisée comme biomarqueur des désordres parkinsoniens, mais la fonction exacte de Dj-1 dans la cellule U987 (human monoblastic leucemic cell lines) n'est pas connue à l'heure actuelle. Son éventuelle utilisation en tant que biomarqueur reste donc à étudier.

#### Commentaire

Le taux d'une protéine peut être abondant sans pour autant que son taux d'ARN soit simultanément modifié de façon proportionnelle; il paraît donc important de s'intéresser au profil protéique obtenu après exposition à des nanomatériaux. Un des grands intérêts de cette étude est que les modifications de profils protéiques sont étudiées à l'aide d'un modèle cellulaire *in vitro* contrairement à la grande majorité des études qui utilise l'expérimentation animale pour ce faire. Les modèles cellulaires d'origine humaine sont largement utilisés dans les études mécanistiques et peuvent en complément mettre sur la piste d'un biomarqueur humain pouvant éventuellement être spécifique d'un organe. L'utilisation de la protéomique dans cette étude de toxicologie permet de dégager certains biomarqueurs traduisant surtout des désordres fonctionnels, notamment en termes de métabolisme et de synthèse cellulaire. Contrairement à l'étude précédente, des marqueurs inflammatoires n'ont pas été détectés. On peut envisager le fait que la perturbation du

métabolisme cellulaire est un phénomène plus précoce que la réponse inflammatoire. De plus, les modifications protéiques semblent fonction des nanomatériaux mais également d'autres facteurs comme le temps d'exposition et la dose. Les deux études n'étant pas réalisées dans des conditions de dose d'exposition comparables, l'identification de biomarqueurs de types différents pourrait donc s'expliquer.

#### CONCLUSION GÉNÉRALE

Un biomarqueur d'effet doit permettre de mesurer le niveau de réponse de l'organisme faisant suite à une exposition à un toxique. Ces biomarqueurs permettent de détecter de façon précoce les effets biologiques, avant la survenue de pathologies. Contrairement aux biomarqueurs d'exposition qui consistent en la recherche de la substance ou de ces métabolites, ils ne sont pas spécifiques d'un toxique mais plutôt de son mécanisme d'action. Ces deux travaux réalisés sur des modèles *in vivo* et *in vitro* montrent que les nanomatériaux testés, induisent même à très faibles doses, des réponses biologiques visibles par des modifications en termes de profil d'expression de certains gènes ou de protéines. De nouvelles techniques comme la métabolomique peuvent également être utiles en nanotoxicologie car elles ciblent d'autres types de biomarqueurs issus des voies de synthèse ou des voies métaboliques cellulaires. Aujourd'hui, l'identification de biomarqueurs d'effet reste néanmoins difficile. En effet, pour valider un biomarqueur, il faut établir le lien de causalité entre l'apparition d'une réponse biologique et le nanomatériau. Le choix d'un biomarqueur d'effet est donc souvent dépendant du mécanisme de toxicité du nanomatériau. Les marqueurs les plus intéressants sont ceux de la réponse inflammatoire ou du stress oxydant. L'étude de Huang *et al.* (2009) a d'ailleurs montré qu'une exposition à des nanoparticules d'oxyde de zinc augmente l'expression de gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant (thiorédoxine peroxydase<sup>(38)</sup>, thiorédoxine réductase<sup>(39)</sup>). Une avancée des travaux sur les biomarqueurs par le développement de tests prédictifs à haut débit, comme le suggèrent Simeonova et Erdely (2009), permettra de trouver une application en clinique. Au long terme, ces biomarqueurs sanguins pourraient devenir des précieux outils pour évaluer les risques professionnels, tout en abordant la question de déceler quels types d'individus sont les plus sensibles. Une meilleure connaissance des mécanismes d'action devrait permettre d'identifier plus rapidement ces biomarqueurs.

## Lexique

- (1) LPS: lipopolysaccharide, composant essentiel de la paroi de bactéries, correspond à une endotoxine.
- (2) UFCB: ultrafine carbon black ou particules ultrafines de noir de carbone.
- (3) SWCNT: nanotubes de carbone mono-feuillets.
- (4) MWCNT: nanotubes de carbone multi-feuillets.
- (5) ARNm: acide ribonucléique messenger correspond à une copie de l'ADN utilisé pour la traduction en protéine par les ribosomes.
- (6) PCR: polymérase Chain Reaction, une technique d'analyse de l'expression génique.
- (7) LDH: lactate deshydrogénase, enzyme permettant la conversion réversible du pyruvate en lactate.
- (8) IL: interleukines, groupe de cytokines impliquées dans la régulation du système immunitaire, dans la formation des cellules sanguines ou au début de la réaction inflammatoire comme les IL1, IL6 et IL8.
- (9) CXCL: petites cytokines de la famille des chimiokines qui jouent un rôle dans différents processus et notamment celui inflammatoire.
- (10) CCL: chimiokines avec un rôle de recrutement des éosinophiles, cellules à réponse inflammatoire. CCL22 est dépendant de la libération du facteur activateur des plaquettes (PAF) et de CCL11.
- (11) MMP9: matrix metalloproteinases, groupe de peptidases impliquées dans la dégradation de la matrice extracellulaire.
- (12) Arg II: angiotensine II, protéine ayant un rôle important dans le maintien de la pression artérielle et accélérant le processus de l'athérosclérose *via* la synthèse de PAI-1<sup>(13)</sup>.
- (13) PAI-1: plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1 joue un rôle important, lors du processus inflammatoire, dans la progression vers une fibrose et dans l'athérosclérose.
- (14) S100a8: protéines régulatrices de différents processus cellulaires comme la différenciation et la progression du cycle
- (15) MT: métallothionéines (MT1, MT2), protéines de détoxification riche en résidus cystéines capables de capturer certaines espèces réactives de l'oxygène comme l'anion superoxyde et les radicaux hydroxyles.
- (16) Hif-3 $\alpha$ : Human Hypoxia-inducible factor, facteurs de transcription qui répond aux modifications en oxygène disponible au niveau tissulaire.
- (17) CSF-1: colony stimulating factor 1, facteur de prolifération et de différenciation des précurseurs monocytaires.
- (18) IGF-1R: insulin-like growth factor type 1 receptor, récepteur activé par les facteurs de croissance IGF-1 et avec un rôle d'inhibition de l'apoptose.
- (19) c-Fos: facteur de transcription nucléaire qui augmente fortement en présence de nombreux stimuli comme le stress ou les facteurs de croissance.
- (20) TIMP-2: tissue inhibitor of metalloproteinases, membre de la famille des gènes TIMP qui sont des inhibiteurs naturels des métalloprotéases et qui possèdent une capacité à supprimer la prolifération des cellules endothéliales.
- (21) HO-1: Hème-oxygénase, enzyme dégradant l'hème, produite en réponse à un stress de différentes natures comme un stress oxydant, une hypoxie ou la sécrétion de cytokines.
- (22) MALDI-TOF: technique d'analyse protéique utilisant un spectromètre de masse couplant une source d'ionisation laser (MALDI, Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation) et un analyseur (TOF, time-of-flight mass spectrometry) avec détermination de la masse d'un ion en fonction du temps que met cet ion pour arriver jusqu'au détecteur.
- (23) HTT1800: nanotubes de carbones multi-feuillets ayant subi un chauffage pendant 30 min à 1800 °C.
- (24) HTT2800: nanotubes de carbones multi-feuillets ayant subi un chauffage pendant 30 min à 2800 °C.
- (25) Protéasome: complexe protéique dégradant les protéines mal repliées ou dénaturées.
- (26) HSP1 $\beta$ : Heat Shock Proteins ou protéines de choc thermique possédant un rôle crucial dans la protection et la régulation des fonctions de certaines protéines.
- (27) Msh2: Protéine impliquée dans le mécanisme de réparation des mésappariements de l'ADN.
- (28) Ribonucléoprotéines nucléaire hétérogène (hnRNPs): protéine de liaison des acides nucléiques impliqués dans la plupart des étapes du métabolisme des ARNm.
- (29) 1 $\delta$  pyrroline 5 carboxylate synthétase: enzyme catalysant les deux premières étapes de la biosynthèse de la proline, un acide aminé.
- (30) Phosphatidylethanolamine-binding protein 1 (PEPB1): protéine jouant dans la signalisation cellulaire des Mapkinases.
- (31) 14-3-3 protéines  $\gamma$ : protéine impliquée dans signalisation, pouvant se lier à de nombreuses protéines comme des kinases, des phosphatases et des récepteurs transmembranaires.
- (32) Serine/threonine protein phosphatase PP1: phosphatase qui contrôle la survie des cellules.
- (33) Trioséphosphate isomérase: enzyme jouant un rôle dans la glycolyse et donc permettant l'assimilation du glucose et la production d'énergie.
- (34) Phosphoglycérate mutase: enzyme intervenant dans la récupération d'énergie pendant la glycolyse.
- (35) Malate déshydrogénase: enzyme participant à la gluconéogenèse en oxydant le malate issu de la mitochondrie.
- (36)  $\alpha$ -cétoglutarate déshydrogénase: complexe multi-enzymatique responsable de la conversion d' $\alpha$ -cétoglutarate pour succinyl-CoA servant dans le cycle de Krebs et dans la production d'énergie.
- (37)  $\alpha$  glucosidase AB: enzyme jouant un rôle dans le métabolisme des hydrates de carbone.
- (38) Thiorédoxine peroxydase: enzyme permettant la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène en conduisant à l'oxydation de la thiorédoxine.
- (39) Thiorédoxine peroxydase: enzyme permettant la réduction de la thiorédoxine oxydée.

## Publications analysées

**Haniu H, Matsuda Y, Takeuchi K et al.** Proteomics-based safety evaluation of multi-walled carbon nanotubes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2010; 242(3):256-62. Sous presse en 2009.

**Simeonova PP, Erdely A.** Engineered nanoparticle respiratory exposure and potential risks for cardiovascular toxicity: predictive tests and biomarkers. *Inhal. Toxicol.* 2009; 21(S1):68-73.

## Publications de référence

**Erdely A, Hulderman T, Salmen R et al.** Cross-talk between lung and systemic circulation during carbon nanotube respiratory exposure. Potential biomarkers. *Nano Lett.* 2009; 9(1):36-43.

**Erdely A, Salmen R, Chapman R et al.** Lung inflammation and cardiovascular outcomes—whole blood gene expression studies in a lipopolysaccharide (LPS) pharyngeal aspiration mouse model. *Toxicologists.* 2007; 96(1):68.

**Huang CC, Aronstam RS, Chen DR et al.** Oxidative stress, calcium homeostasis, and altered gene expression in human lung epithelial cells exposed to ZnO nanoparticles. *Toxicol. In Vitro.* 2010; 24(1):45-55. Sous presse en 2009.

**Witzmann FA, Monteiro-Riviere NA.** Multi-walled carbon nanotube exposure alters protein expression in human keratinocytes. *Nanomedicine.* 2006; 2(3):158-68.

## Revue de la littérature

**Fowler BA.** Monitoring of human populations for early markers of cadmium toxicity: a review. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2009; 238(3):294-300.

*Revue abordant brièvement l'intérêt des biomarqueurs pour les nanoparticules de cadmium.*

**Poma A, Di Giorgio ML.** Toxicogenomics to improve comprehension of the mechanisms underlying responses of *in vitro* and *in vivo* systems to nanomaterials: a review. *Curr. Genomics.* 2008; 9(8):571-85.

## Publications non sélectionnées

**Ahamed M, Posgai R, Gorey TJ et al.** Silver nanoparticles induced heat shock protein 70, oxidative stress and apoptosis in *Drosophila melanogaster*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2010; 242(3):263-9.

*Article intéressant sur la recherche de biomarqueurs mais chez la drosophile.*

**Chae YJ, Pham CH, Lee J et al.** Evaluation of the toxic impact of silver nanoparticles on Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Aquat. Toxicol.* 2009; 94(4):320-7.

*Article intéressant mais réalisé sur des organismes aquatiques.*

**Cho WS, Kim S, Han BS et al.** Comparison of gene expression profiles in mice liver following intravenous injection of 4 and 100 nm-sized PEG-coated gold nanoparticles. *Toxicol. Lett.* 2009; 191(1):96-102.

*Article mettant en évidence l'intérêt des gènes de l'inflammation déjà discuté dans la note d'actualité scientifique.*

**Fowler BA, Conner EA, Yamauchi H.** Proteomic and metabolomic biomarkers for III-V semiconductors: and prospects for application to nano-materials. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2008; 233(1):110-5.

*Article non inclus dans la période veille bibliographique.*

**Haniu H, Matsuda Y, Takeuchi K.** Potential of a novel safety evaluation of nanomaterials using a proteomic approach. *J. Health Sci.* 2009; 55(3):428-34.

*Article décrivant surtout la méthodologie de protéomique pour déterminer des biomarqueurs.*

**Klaper R, Crago J, Barr J et al.** Toxicity biomarker expression in daphnids exposed to manufactured nanoparticles: changes in toxicity with functionalization. *Environ. Pollut.* 2009; 157(4):1152-6.

*Article intéressant sur la recherche de biomarqueurs pour évaluer la toxicité au niveau d'organismes aquatiques.*

**Papis E, Gornati R, Prati M et al.** Gene expression in nanotoxicology research: analysis by differential display in BALB3T3 fibroblasts exposed to cobalt particles and ions. *Toxicol. Lett.* 2007; 170(3):185-92.

*Article non inclus dans la période veille bibliographique.*

**Zollanvari A, Cunningham MJ, Braga-Neto U et al.** Analysis and modeling of time-course gene-expression profiles from nanomaterial-exposed primary human epidermal keratinocytes. *BMC Bioinformatics.* 2009; 10(S11):S10.

*Article ciblé sur l'utilisation de modèle bioinformatique dans la détermination de biomarqueurs.*

## Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Biomarker, Marker, Nanomaterial, Nanoparticle, Proteomic.