

Toxicité pulmonaire des nanoparticules

Période : septembre 2011 à décembre 2011

Jacques-Aurélien SERGENT

CEA – DSV/iRCM/SREIT/LCE – Fontenay-aux-Roses

Mots clés : Inflammation, Maladies, Masse, Métrique, Nanoparticules, Nombre, Poumon, Surface, ZnO

La production de nanoparticules (NPs) est réalisée à une échelle industrielle et connaît une croissance exponentielle depuis quelques années. Une récente prise de conscience a permis de montrer la nécessité d'études approfondies de leurs propriétés, en particulier en raison des effets biologiques qu'elles peuvent induire. En effet, l'accélération de l'utilisation de nanoparticules, pour leurs propriétés uniques, dans des produits de différents domaines industriels (médecine, électronique, cosmétique...) pourrait être associée à des effets indésirables et encore méconnus à ce jour. De nombreuses études au niveau toxicologique et écotoxicologique ont déjà pu être réalisées mais présentent souvent des conclusions variables et contradictoires en fonction des propriétés de dispersion et de stabilité des nanomatériaux utilisés. Pour cela, de nouvelles propositions de métriques commencent à être suggérées comme le montre le premier article présenté dans cette note. Le choix des deux articles sélectionnés s'est donc porté sur des publications portant sur les effets pulmonaires attendus suite à l'exposition aux nanomatériaux, le premier s'intéressant tout particulièrement à une proposition de nouvelle métrique de présentation des résultats alors que le second présente les effets pulmonaires potentiels associés à l'exposition aux nanomatériaux.

Toxicité pulmonaire de particules fines ou nanométriques d'oxyde de zinc : une métrique par la masse et la surface d'exposition

Ho M, Wu K-Y, Chein H-M, Chen L-C, Cheng T-J. Pulmonary toxicity of inhaled nanoscale and fine zinc oxide particles: Mass and surface area as an exposure metric. *Inhal Tox* 2011; 23: 947-956.

Résumé

Parmi les nanoparticules les plus utilisées industriellement, il est possible d'identifier les nanoparticules d'argent, à base carbonées ou de silice, d'oxyde de titane (TiO₂) et de zinc (ZnO). La toxicité de ces dernières est liée, au moins en partie, à la libération de l'ion zinc. Cette toxicité est associée à la surface de nanoparticules d'exposition et l'équipe de Ho (2011) propose une alternative reposant sur la masse d'exposition en nanoparticules, en particulier si la dissolution des NPs de ZnO se fait suffisamment rapidement au niveau du tissu pulmonaire. Les auteurs ont donc utilisé une exposition sur des rats, par inhalation, de trois doses de deux types de particules de ZnO (diamètre de 35 nm et 250 nm) en évaluant l'effet biologique au travers de lavages broncho-alvéolaires (LBA)⁽¹⁾ après 6h d'exposition et un sacrifice intervenant 24h après l'exposition. Les auteurs ont mis au point une méthode de synthèse de nanoparticules de ZnO leur permettant une caractérisation de la pureté de leurs nanoparticules et ont évalué les effets de trois doses sur la quantité de cellules et de protéines totales, le pourcentage de neutrophiles, la libération de LDH⁽²⁾ (altération des membranes) et la quantité de 8OHdG⁽³⁾ (stress oxydant) dans les LBA afin de déterminer les facteurs prédictifs de l'inflammation pulmonaire. Les résultats montrent que l'exposition aux deux nanoparticules provoque une inflammation pulmonaire et une augmentation des globules blancs dans le sang périphérique de rats. Ces résultats sont présentés sous trois métriques d'exposition différentes : la masse, la surface de ZnO et le nombre de nanoparticules. Les

auteurs montrent ici de très bonnes corrélations ($R^2 > 0,8$) entre masse ou surface et pourcentage ou nombre de neutrophiles et une bonne corrélation ($R^2 > 0,7$) entre masse ou surface et nombre total de cellules retrouvées dans les LBA. Cependant, aucune corrélation entre nombre de nanoparticules et ces différents paramètres n'a pu être mise en évidence. Par ailleurs, les protéines totales, la LDH et la 8OHdG ne corrélaient à aucune métrique.

Commentaire

Les auteurs ont vérifié ici certains des marqueurs connus de l'inflammation pulmonaire due aux nanoparticules et montrent que deux métriques différentes peuvent être utilisées pour les nanoparticules d'oxyde de zinc. Cette étude montre aussi que la VLEP (5 mg/m³) n'est sans doute pas adaptée puisque des effets sur le poumon sont visibles à partir de 2,4 mg/m³ pour les nanoparticules de 35 nm de diamètre. Ces différentes métriques doivent maintenant être validées sur des échantillons de nanoparticules variant en termes de solubilité, constitution, forme, taille afin de connaître la validité de ces nouvelles méthodes de quantification appliquées aux nanomatériaux.

Nanoexposition, nouvelles maladies et considération pour la sécurité et la santé

Song Y, Tang S. Nanoexposure, Unusual diseases and New Health and Safety Concerns. *ScientificWorldJournal*. 2011; 11: 1821-1828

Résumé

L'équipe de Song (2011) a suivi durant deux ans des travailleurs exposés à un environnement contenant des nanoparticules à base de silice et de silicates. Ces 7 patients, de 18 à 47 ans et travaillant dans le même environnement et ne bénéficiant

d'aucun équipement de protection individuel (EPI)⁽⁴⁾, ont toutes montré dans une même période les symptômes cliniques suivants : épanchement⁽⁵⁾ et lésions pleurales ainsi que fibrose pulmonaire progressive. L'équipe de Song (2011) a recherché parmi les contaminants présents dans l'environnement de travail les différentes sources non-nanométriques possibles provoquant les symptômes décrits sans pouvoir établir un lien avec les substances retrouvées. Des effets indirects ont également pu être mis en évidence parmi lesquels une cardiotoxicité et une hépatotoxicité. L'épanchement pleural présenté par l'ensemble des patientes n'a pu être relié à aucune physiopathologie classique.

Les auteurs ont ensuite étudié les structures nanoparticulaires à base de silice présentes dans les poumons des patientes et ont identifié 13 à 15 formes structurales de nanoparticules de silice ou de silicates avec différents ratio Si/O. La forme amorphe de nanoparticules de SiO₂ a pu être localisée *in vitro* dans le noyau cellulaire. Elle provoque une augmentation du stress oxydant, modifie l'activité mitochondriale et est capable de se bioaccumuler dans les reins, le foie, le poumon, l'intestin, la moelle osseuse ou encore le cerveau. À partir des données disponibles sur les différentes formes de SiO₂, les auteurs font donc l'hypothèse que la fraction nanométrique de SiO₂ peut être reliée aux différents signes cliniques multi-organes décrits, cette fraction étant au moins en partie responsable de dommages multi-organes, de dommages pleuraux et de fibroses pulmonaires en raison d'expositions chroniques et répétées.

Commentaire

L'équipe de Song (2011) tente de démontrer le lien entre l'exposition de travailleurs à des nanoparticules à base de silice et des manifestations cliniques qui ne correspondent à aucune physiopathologie connue. Toutefois, l'étude ne porte que sur le suivi de 7 patients ce qui est un groupe relativement faible. La comparaison des résultats présentés ici avec des données cliniques observées sur des travailleurs exposés à d'autres types de nanoparticules pourrait permettre de mieux comprendre les risques auxquels peuvent être exposées les personnes en contact avec les nanoparticules. Les auteurs finissent par soulever l'urgence d'établir des guides d'utilisation et de manipulation de ces nano-composés. Les travailleurs présentés dans cette étude ne se savaient pas exposés à des nanomatériaux et par conséquent un étiquetage des matériaux comportant une fraction nanométrique permettrait aux travailleurs d'adapter leurs EPI. Cet enjeu de santé publique nécessite un travail multidisciplinaire que des médecins, physiciens, chimistes, toxicologues... devront mener au niveau toxicologique et écotoxicologique.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces deux études montrent à quel point la discipline émergente qu'est la toxicologie des nanoparticules soulève des problématiques particulières. Elle nécessite la réflexion transdisciplinaire de chimistes, physiciens et métrologistes pour connaître l'ensemble des caractéristiques physico-chimiques nécessaire à la compréhension des mécanismes biologiques susceptibles d'être développés. Certains des dogmes de la toxicologie conventionnelle ne s'appliquent pas directement tel que « la dose fait le poison » et l'émergence de nouvelles métriques de quantification de l'exposition, comme le propose Ho *et al.* (2011), montre l'avancée des réflexions actuelles dans ce domaine. Dans le cadre de la toxicologie des nanoparticules une SL₅₀, « Surface Létale 50 », plutôt qu'une DL₅₀ (Dose Létale 50) sera-t-elle à instituer? Ces problématiques de tests des nanoparticules et de compréhension des effets biologiques produits sont d'autant plus importantes que des premières études sur des cohortes de travailleurs montrent des tableaux cliniques uniques et non imputables à leur environnement général de travail (Song et Tang, 2009). L'exposition des travailleurs soulève la question de l'exposition chronique à des quantités importantes d'une unique ou de rares types de nanoparticules, en particulier pour les industries, alors que celle de la population à des quantités faibles mais d'une profusion de caractéristiques soulève encore de nouvelles questions auxquelles aucune étude robuste ne peut répondre en l'état actuel des connaissances.

Lexique

- (1) LBA : lavage broncho-alvéolaire : méthode permettant de collecter *via* le lavage de l'arbre pulmonaire son environnement dans une solution physiologique préalablement stérilisée.
- (2) LDH : Lactate Déshydrogénase : enzyme présent dans la membrane et retrouvé dans le milieu extracellulaire en cas de lésion de la membrane plasmique.
- (3) 8OHdG : base oxydée de l'ADN, son dosage permet d'apprécier le stress oxydant cellulaire.
- (4) EPI : Équipement de Protection Individuelle.
- (5) Épanchement pleurale : présence anormale de liquide dans la plèvre.

Publications de référence

Ku BK, Maynard AD. Comparing aerosol surface-area measurements of monodisperse ultrafine silver agglomerates by mobility analysis, transmission electron microscopy and diffusion charging. *J Aerosol Sci.* 2005; 36: 1108–1124.

Donaldson K, Brown D, Clouter A et al. The pulmonary toxicology of ultrafine particles. *J Aerosol Med.* 2002; 15: 213–220.

Heitbrink WA, Evans DE, Ku BK et al. Relationships among particle number, surface area, and respirable mass concentrations in automotive engine manufacturing. *J Occup Environ Hyg.* 2009; 6: 19–31.

Sager TM, Castranova V. Surface area of particle administered versus mass in determining the pulmonary toxicity of ultrafine and fine carbon black: Comparison to ultrafine titanium dioxide. *Part Fibre Toxicol.* 2009; 6: 15.

Song Y, Li X, Du X. Exposure to nanoparticles is related to pleural effusion, pulmonary fibrosis and granuloma *Eur Res Journal.* 2009; 34: 559-567

Song Y., Li X., Wang L et al. Nanomaterials in humans: identification, characteristics, and potential damage. *Toxicol Pathol.* 2011; 39: 841–849.

Revue de la littérature

Nel A, Xia T, Madler L et al. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science.* 2006; 311: 622–627.

Autres publications identifiées

Mullen DG, Banaszak Holl MM. Heterogeneous ligand-nanoparticle distributions: a major obstacle to scientific understanding and commercial translation. *Acc Chem Res.* 2011; 15:1135-1145.

Cette étude utilise comme matériel nanométrique des nanoparticules fonctionnalisées et l'importance du ratio nombre de ligands par nanoparticule.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Nanoparticle, Occupational hygiene, Pulmonary toxicity.