

## **Nanoparticules et santé :** **bases physiopathogéniques et questions en suspens**

**Pr Patrick BROCHARD**

**Laboratoire Santé, Travail, Environnement, Université Victor Segalen - Bordeaux 2**

### ***De quelles particules parle-t-on ?***

Les nanoparticules et les particules ultrafines recouvrent la même définition : ce sont des particules solides de diamètre inférieur à 100 nanomètres. Cette définition est liée aux changements des propriétés de la matière qui, pour une espèce chimique donnée, évolue de façon exponentielle à partir d'une division inférieure à 100 nanomètres.

Le terme de « particules ultrafines » est habituellement utilisé pour les particules nanométriques émises par des sources non intentionnelles, en particulier d'origine naturelle ou anthropique. Le terme de « nanoparticules » est traditionnellement réservé aux particules manufacturées. La liste en est presque infinie car tous les jours, des laboratoires fabriquent de nouvelles nanoparticules ou fonctionnalisent des particules existantes. Le catalogue des nanoparticules produites en laboratoire est extrêmement important. Le catalogue de celles qui sont produites industriellement commence lui aussi à être conséquent - dépassant largement les connaissances toxicologiques que nous avons de ces matériaux.

### ***Particules et santé***

Des études expérimentales *in vitro* ont été menées à la fin des années 90 et au début des années 2000. Depuis le milieu des années 2000 sont conduites des études *in vivo* qui permettent, soit en injection intra-cavitaire ou intra-trachéale, soit en inhalation, d'obtenir des informations plus fiables sur les effets à l'échelon cellulaire et tissulaire. Un certain nombre d'effets sont acquis quelle que soit la composition chimique des nanoparticules. Par exemple, le dioxyde de titane était autrefois bien connu des toxicologues comme étant un matériau de référence ne causant pas de problème toxicologique. On utilisait alors du titane micronique. Dès lors que l'on a produit du titane nanométrique, il est apparu que non seulement les propriétés physicochimiques mais encore les propriétés biologiques de ce matériau avaient changé. Sur le plan toxicologique, cela donnait lieu à des conclusions très différentes.

#### **1. Réponse cellulaire et tissulaire**

Il est acquis que sur le plan de l'appareil respiratoire, les particules induisent au niveau cellulaire des stress oxydants et des réponses proinflammatoires. Au niveau tissulaire sont induites des réponses inflammatoires et une fibrose. Ceci a été démontré sur suffisamment de modèles pour être affirmé avec certitude.

D'autres effets font encore l'objet d'interrogations, comme la génotoxicité et le cancer. De plus en plus d'arguments conduisent à penser que les nanoparticules peuvent aussi avoir des effets extra-thoraciques : cardiovasculaires, neurologiques ou modifiant la réponse du système immunitaire. Ceci rejoint les informations qui commencent à nous parvenir *via* l'analyse des particules ultrafines de la pollution atmosphérique. Quand on se cantonne à la fraction

nanométrique de la pollution atmosphérique, on observe en effet, outre les effets respiratoires, des effets cardiovasculaires et des modifications de l'immunité. Le problème neurologique est plus particulier.

On connaît les interactions entre les nanoparticules et la surface de la cellule, de même que les mécanismes d'internalisation de ces nanoparticules à l'intérieur de la cellule - qui pour la plupart ne passent pas par des phénomènes de phagocytose. Une fois que la nanoparticule réagit par rapport au système cellulaire, on a identifié la cascade d'événements intracellulaires et intracytoplasmiques, qui conduisent à la synthèse des cytokines proinflammatoires et par conséquent de la réponse inflammatoire. Ceci a été bien établi sur toute une famille de nanoparticules, à partir d'une certaine dose. Pour sa part, la réponse tissulaire est modulée par la balance oxydants-antioxydants.

## 2. Déterminants de la réponse cellulaire et tissulaire

Nous savons donc que la cellule et les tissus réagissent aux nanoparticules quand les doses sont suffisamment importantes. Or une quantité extrêmement importante de nouvelles nanoparticules est manufacturée chaque jour, et nous n'avons pas de recul toxicologique. Les toxicologues, privés ou académiques, ne peuvent pas suivre la progression de la production. C'est pourquoi nous nous concentrons actuellement sur les facteurs prédictifs qui permettent de déterminer qu'une nanoparticule est vraisemblablement suspecte, parce qu'elle répond à des déterminants que l'on connaît maintenant de mieux en mieux. Ces déterminants sont la taille, la surface et la réactivité de surface, la biopersistance, la forme et la concentration.

### a. Taille

On connaissait déjà l'importance du critère de la taille pour les particules microniques : la déposition dans l'appareil respiratoire dépend du diamètre aérodynamique. On sait aussi que la taille est un élément clé pour les mécanismes d'internalisation des cellules et pour le transfert à travers les membranes biologiques (en particulier la membrane alvéolo-capillaire, la membrane hémato-encéphalique ou la membrane placentaire).

A partir du moment où des nanoparticules sont présentes dans l'atmosphère, elles se déposent partout : voies aériennes supérieures, bronches... La fraction alvéolaire est beaucoup plus importante qu'avec les particules microniques.

Le dioxyde de titane est très bien phagocyté par les macrophages alvéolaires quand il est sous forme micronique. Or si l'on met la même quantité massique de dioxyde de titane sous forme nanométrique, on observe un phénomène de saturation de la réponse des macrophages. Cet effet de surcharge rend absolument impossible la poursuite de l'activité macrophagique. Non seulement les macrophages ne peuvent plus épurer les particules, mais encore les macrophages libèrent dans le milieu extracellulaire et cellulaire tous les composants cytotoxiques qu'ils contiennent. Cela favorise la réponse inflammatoire au niveau alvéolaire.

Les particules nanométriques peuvent franchir la barrière alvéolo-capillaire sans passer par les macrophages. Elles peuvent donc passer directement à travers les trois membranes (cytoplasme du pneumocyte de type 1, membrane basale et cytoplasme de la cellule endothéliale).

Un autre phénomène lié à la taille était inconnu jusqu'à présent et devrait faire l'objet d'une réflexion importante. Nous avons dans les fosses nasales des nerfs olfactifs. Les

nanoparticules peuvent pénétrer ces cellules olfactives, comme les autres cellules de l'épithélium, et se retrouver *via* l'axone au niveau du système nerveux central. Il a été montré chez la souris qu'à la suite d'une instillation intranasale de nanoparticules, il se produisait une réponse inflammatoire au niveau cérébral.

Les nanoparticules peuvent aussi passer la peau (en particulier lorsqu'elle est lésée) et la barrière intestinale (y compris dans les conditions normales d'un tube digestif).

#### *b. Surface et réactivité de surface*

Plus la quantité d'atomes en périphérie de la nanoparticule est importante par rapport à la masse totale d'atomes, plus la particule est réactive. Cette réactivité de surface, qui modifie les propriétés électriques ou optiques de la particule, modifie aussi sa réponse biologique - qui est beaucoup plus explosive. Ces particules vont adsorber à leur surface d'autres molécules qui proviennent de l'air ambiant. Elles seront des vecteurs de xénobiotiques, avec un effet chimique.

#### *c. Biopersistance*

La biopersistance est connue depuis les études faites sur les fibres minérales artificielles. C'est un élément clé de la réponse pathogène. De même, à partir du moment où une nanoparticule est insoluble dans les produits biologiques, elle est plus biopersistante que les autres. Plus elle est biopersistante, plus elle risque d'entraîner un effet pathogène.

#### *d. L'effet fibre*

Après l'amiante, les fibres céramiques réfractaires et les fibres artificielles, on retrouve la notion d'effet fibre avec les nanoparticules. Cette notion est étudiée depuis les années 70 et a été bien démontrée dans les années 80. Elle est liée à un phénomène connu de longue date : l'incapacité des macrophages à gérer des particules très allongées. Certaines nanoparticules, comme les nanotubes de carbone, sont très fines et très allongées. Ces nanotubes ont toutes les caractéristiques morphologiques d'une fibre. En 2008 et 2009 ont paru des publications montrant que, dans des modèles *in vitro* comme dans des modèles *in vivo*, ces nanotubes de carbone produisent des effets qui se rapprochent de ceux que l'on connaissait avec des matériaux comme le chrysotile et l'amiante - y compris des mésothéliomes induits en injection intrapleurale chez l'animal. A tous les stades de la réponse cellulaire et tissulaire, chaque fois que l'on a comparé de l'amiante et des nanotubes de carbone, on a constaté des phénomènes équivalents (internalisation, cytotoxicité, cancers induits dans les injections intraséreuse etc.). Nous ne manquons aujourd'hui de données que sur l'inhalation, car il est difficile de générer des nanotubes de carbone en inhalation.

Pour ce qui est des effets des nanoparticules chez l'homme, nous disposons de très peu de données, hormis quelques études expérimentales dans lesquelles un sujet inhale des aérosols de granulométrie contrôlée (particules ultrafines de carbone). Il a été montré que les fractions de déposition étaient très importantes, au repos et surtout à l'exercice, chez le sujet sain et surtout chez le sujet malade. Il ressort également que ces particules passent la barrière alvéolo-capillaire. La bronche répond également à cette sollicitation, puisque quand on mesure le débit expiratoire médian maximal (DEMM) chez un sujet qui est son propre témoin, on observe à la 21<sup>ème</sup> heure une baisse significative du DEM 25-75, avec un intervalle de

temps qui correspond à un mécanisme inflammatoire. Des réponses ont également été constatées sur le sang périphérique.

### 3. Conclusion

On peut affirmer qu'il existe un danger lié à la réactivité des nanoparticules. En revanche, nous ne pouvons pas affirmer qu'il existe un risque chez l'homme, car les niveaux d'exposition qui ont été utilisés dans les études expérimentales *in vitro* ou *in vivo* sont extrêmement élevés, davantage que ceux que l'on attend dans les expositions humaines actuellement. Ceci nous conduit à recommander de mettre en place un certain nombre de mesures dites de précaution.