



HAL
open science

Nanoparticules et toxicologie pulmonaire : une évaluation en 2009

Sébastien Lafontaine

► **To cite this version:**

Sébastien Lafontaine. Nanoparticules et toxicologie pulmonaire : une évaluation en 2009. Sciences pharmaceutiques. 2009. hal-01738792

HAL Id: hal-01738792

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01738792>

Submitted on 20 Mar 2018

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.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1

2009

FACULTE DE PHARMACIE

**NANOPARTICULES ET TOXICOLOGIE
PULMONAIRE :
UNE EVALUATION EN 2009**

T H E S E

Présentée et soutenue publiquement

Le 11 décembre 2009

Pour obtenir

Le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

Par **Sébastien LAFONTAINE**

Né le 11 juillet 1985 à Metz (57)

Membres du Jury

Président : Pr. Bertrand RIHN, Professeur à la Faculté de Pharmacie de Nancy

Juges : Pr. Philippe MAINCENT, Professeur à la Faculté de Pharmacie de Nancy

Dr. Joël COULON, Maître de conférences à la Faculté de Pharmacie de Nancy

Dr. Marie-Françoise RASPILLER, Médecin Praticien Hospitalier au Centre hospitalier de Lunéville

Dr. Olivier JOUBERT, Maître de conférences à la Faculté de Pharmacie de Nancy

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1

2009

FACULTE DE PHARMACIE

**NANOPARTICULES ET TOXICOLOGIE
PULMONAIRE :
UNE EVALUATION EN 2009**

T H E S E

Présentée et soutenue publiquement

Le 11 décembre 2009

Pour obtenir

Le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

Par **Sébastien LAFONTAINE**

Né le 11 juillet 1985 à Metz (57)

Membres du Jury

Président : Pr. Bertrand RIHN, Professeur à la Faculté de Pharmacie de Nancy

Juges : Pr. Philippe MAINCENT, Professeur à la Faculté de Pharmacie de Nancy

Dr. Joël COULON, Maître de conférences à la Faculté de Pharmacie de Nancy

Dr. Marie-Françoise RASPILLER, Médecin Praticien Hospitalier au Centre hospitalier de Lunéville

Dr. Olivier JOUBERT, Maître de conférences à la Faculté de Pharmacie de Nancy

**UNIVERSITÉ Henri Poincaré, NANCY 1
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2009-2010**

DOYEN

Chantal FINANCE

Vice-Doyen

Francine PAULUS

Président du Conseil de la Pédagogie

Pierre LABRUDE

Commission de la Recherche

Jean-Claude BLOCK

Mobilité ERASMUS et Communication

Francine KEDZIEREWICZ

Hygiène Sécurité

Laurent DIEZ

Responsable de la filière Officine : Francine PAULUS

Responsables de la filière Industrie : Isabelle LARTAUD,
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Responsable du Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier : Jean-Michel SIMON

DOYEN HONORAIRE

Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES

Jeffrey ATKINSON

Marie-Madeleine GALTEAU

Gérard SIEST

Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Roger BONALY

Thérèse GIRARD

Maurice HOFFMANN

Michel JACQUE

Lucien LALLOZ

Pierre LECTARD

Vincent LOPPINET

Marcel MIRJOLET

François MORTIER

Maurice PIERFITTE

Janine SCHWARTZBROD

Louis SCHWARTZBROD

**MAITRES DE CONFERENCES
HONORAIRES**

Gérald CATAU

Bernard DANGIEN

Marie-Claude FUZELLIER

Françoise HINZELIN

Marie-Andrée IMBS

Marie-Hélène LIVERTOUX

Jean-Louis MONAL

Dominique NOTTER

Marie-France POCHON

Anne ROVEL

Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ASSISTANT HONORAIRE

Marie-Catherine BERTHE

ENSEIGNANTS

PROFESSEURS

Gilles AULAGNER.....	Pharmacie clinique
Alain BAGREL.....	Biochimie
Jean-Claude BLOCK.....	Santé publique
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON.....	Pharmacologie cardiovasculaire
Chantal FINANCE.....	Virologie, Immunologie
Pascale FRIANT-MICHEL.....	Mathématiques, Physique, Audioprothèse
Christophe GANTZER	Microbiologie environnementale
Max HENRY	Botanique, Mycologie
Jean-Yves JOUZEAU.....	Bioanalyse du médicament
Pierre LABRUDE.....	Physiologie, Orthopédie, M.A.D
Isabelle LARTAUD.....	Pharmacologie cardiovasculaire
Dominique LAURAIN-MATTAR.....	Pharmacognosie
Brigitte LEININGER-MULLER	Biochimie
Pierre LEROY	Chimie physique générale
Philippe MAINCENT	Pharmacie galénique
Alain MARSURA	Chimie thérapeutique
Patrick MENU	Physiologie
Jean-Louis MERLIN.....	Biologie cellulaire oncologique
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	Chimie thérapeutique
Bertrand RIHN	Biochimie, Biologie moléculaire
Jean-Michel SIMON.....	Economie, législation pharmaceutique

MAITRES DE CONFÉRENCES

Monique ALBERT	Bactériologie, Virologie
Sandrine BANAS	Parasitologie
Mariette BEAUD	Biologie cellulaire
Emmanuelle BENOIT	Communication et santé
Isabelle BERTRAND.....	Microbiologie environnementale
Michel BOISBRUN	Chimie thérapeutique
François BONNEAUX	Chimie thérapeutique
Ariane BOUDIER.....	Chimie Physique
Cédric BOURA.....	Physiologie
Jean-Claude CHEVIN	Chimie générale et minérale
Igor CLAROT	Chimie analytique
Jocelyne COLLOMB	Parasitologie, Mycologie
Joël COULON.....	Biochimie
Sébastien DADE.....	Bio-informatique
Dominique DECOLIN	Chimie analytique
Béatrice DEMORE.....	Pharmacie clinique
Joël DUCOURNEAU	Biophysique, audioprothèse, acoustique
Florence DUMARCAY.....	Chimie thérapeutique
François DUPUIS.....	Pharmacologie
Raphaël DUVAL	Microbiologie clinique
Béatrice FAIVRE	Hématologie
Adel FAIZ.....	Biophysique-acoustique
Luc FERRARI	Toxicologie

Stéphane GIBAUD	Pharmacie clinique
Thierry HUMBERT	Chimie organique
Frédéric JORAND	Santé et environnement
Olivier JOUBERT.....	Toxicologie, sécurité sanitaire
Francine KEDZIEREWICZ	Pharmacie galénique
Alexandrine LAMBERT	Informatique, Biostatistiques
Faten MERHI-SOUSSI.....	Hématologie biologique
Christophe MERLIN	Microbiologie environnementale et moléculaire
Blandine MOREAU	Pharmacognosie
Maxime MOURER.....	Pharmacochimie supramoléculaire
Francine PAULUS	Informatique
Christine PERDICAKIS	Chimie organique
Caroline PERRIN-SARRADO	Pharmacologie
Virginie PICHON	Biophysique
Anne SAPIN.....	Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER	Mycologie, Botanique
Nathalie THILLY	Santé publique
Gabriel TROCKLE	Pharmacologie
Marie-Noëlle VAULTIER.....	Biodiversité végétale et fongique
Mohamed ZAIYOU	Biochimie et Biologie moléculaire
Colette ZINUTTI	Pharmacie galénique

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER

Sémiologie

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD

Anglais

ASSISTANT

Annie PAVIS

Bactériologie

Bibliothèque Universitaire Santé - Lionnois (Pharmacie - Odontologie)

Anne-Pascale PARRET.....

Directeur

SERMENT DES APOTHICAIRES



Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

D'e ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE
APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS
EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT
ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR
AUTEUR ».

In memoriam

Marcel et Denise LAFONTAINE

*Pour toi papy, qui n'a pas eu la chance de me voir grandir et devenir ce que je suis, mais à
qui j'ai fait la promesse solennelle de devenir pharmacien,*

Pour toi mamie, qui n'a pas eu le temps de me voir finir mes études,

Pour vous deux, qui vous êtes battus contre la maladie,

Pour vous deux, dont le souvenir m'a permis de réussir dans les moments difficiles,

Je tiens du fond du cœur à vous dédier ce travail.

*Puisse-t-il vous montrer combien la science avance chaque jour et que l'espoir n'est pas
qu'illusion.*

In memoriam

Cette thèse est également dédiée au professeur Patrick ALNOT (UHP Nancy) décédé en 2009, coordonnateur de la Recherche « Nano » au Ministère de la Recherche et de la Technologie.

A mon jury,

A Monsieur le Professeur Bertrand RIHN, professeur à la faculté de Pharmacie de NANCY ;

Pour m'avoir fait l'honneur d'être mon directeur de thèse, pour avoir suivi mon travail de son début à son achèvement, pour les précieux conseils qu'il m'a apportés tout au long de celui-ci et pour le temps consacré à sa réalisation. Je tiens également à tirer mon chapeau à un professeur dont Pédagogie, Exactitude, Enthousiasme, Patience et Gentillesse sont les « maîtres mots » pour désigner son enseignement. Un très grand merci pour l'intérêt que vous portez à chaque étudiant quel qu'il soit et pour votre participation au tutorat.

A Monsieur le Professeur Philippe MAINCENT, professeur à la faculté de Pharmacie de NANCY ;

Pour avoir consenti à siéger dans ce jury. Merci aussi pour divers enseignements au fil de notre formation et surtout pour avoir montré tant d'enthousiasme et de considération lors des cours de troisième année.

Au Docteur Joël COULON, maître de conférences à la faculté de Pharmacie de NANCY ;

Pour avoir accepté de faire partie de mon jury et pour l'intérêt porté à mon travail. Mes plus profonds respects pour l'enseignant proche des étudiants que vous êtes et merci pour votre temps consacré au tutorat. Merci aussi pour votre gentillesse et vos enseignements durant toutes ces années.

Au Docteur Marie-Françoise RASPILLER, médecin praticien hospitalier au C.H de LUNEVILLE ;

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être membre de ce jury et d'avoir pris le temps de corriger cette thèse. Merci également de vous être intéressée à mon travail durant ses débuts et pour vos encouragements.

Au Docteur Olivier JOUBERT, maître de conférences à la faculté de Pharmacie de NANCY ;

Pour avoir consenti à siéger dans ce jury. Un grand merci pour m'avoir consacré un peu de votre temps à corriger cette thèse.

A ma famille,

A mes parents ; pour m'avoir accompagné tout au long de ma vie et jusqu'à ce jour, dans les plus durs moments comme dans les meilleurs ; pour m'avoir toujours gâté et donné le maximum d'eux-mêmes pour me voir réussir dans la vie ainsi que pour toujours croire en moi...

A mon frère ; pour avoir grandi toutes ces années à mes côtés avec complicité jusque dans nos années à la faculté. Sache que malgré nos différents, tu resteras toujours mon petit frère adoré.

A mes grand-parents : Papy ; comment ne pas repenser à tes hauts faits de Résistance et d'évasion que j'écoutais étant petit et qui me passionnent encore maintenant car ils m'en apprennent autant sur toi que sur la vie. Je te remercie également pour tes encouragements et toujours avoir cru en moi. ***Mamie*** ; pour nous avoir toujours gâtés avec papy, pour tes encouragements et pour avoir toujours été fière de tes petits-fils.

A tous mes oncles et tantes ; pour votre soutien dans les différents moments de ma vie et votre enthousiasme.

A Célia et sa famille,

A Célia ; merci pour tous ces magnifiques moments passés ensemble depuis deux ans ainsi que tous ceux qui suivront, pour ton dévouement, ton soutien et ton amour. Merci d'exister... ***A toute ta famille*** ; pour m'avoir accueilli les bras ouverts sans question aucune, leurs encouragements et pour m'avoir considéré rapidement comme un des leurs. Je tiens à remercier tout particulièrement tes parents, ***Thierry et Sylvie***, et ton frère ***Mathias*** que j'apprécie beaucoup. Merci encore pour leur accueil des plus chaleureux, leur soutien et les bons moments passés avec eux. ***A leur ami Stéphane*** ; pour sa gentillesse et pour avoir imprimé avec le plus grand soin cette thèse.

A mes amis,

A Chiphing ; pour tous les bons moments passés depuis le lycée et ceux à venir, pour ton culte de la patience, de l'écoute et de la gentillesse, je te remercie du plus profond du cœur.

A François ; bien que nos chemins se soient séparés tôt après le lycée, et malgré la distance qui nous sépare, merci pour ton amitié et les bons souvenirs passés ensemble.

A Jonathan Z. ; pour les bons moments chez Lehning et pour ton enthousiasme.

A Sabrina ; à celle que je considère comme ma petite sœur, merci pour ton enthousiasme, ta confiance et ta gentillesse.

*A **Maxime** ; pour nos divergences d'opinions et nos débats mais notre amitié réelle.*

*A **Jonathan** ; depuis cette « petite erreur » de salle survenue en P2, nous sommes devenus inséparables et avons affronté toutes nos études ensemble. A celui que je considère comme mon « frère d'armes », je t'adresse mes plus profonds remerciements pour ton soutien, ton enthousiasme et tous nos bons moments passés durant toutes ces années. A **Aurélie** ; pour ta gentillesse et l'intérêt que tu me portes depuis mon stage en pneumologie à Verdun. Merci aussi pour ton soutien et ton amitié.*

*A **Nico** ; des histoires comiques de dentiste et une insomnie durant un week-end dans les Vosges nous ont rapprochés et bien que te connaissant depuis peu, tu as su rapidement devenir un de mes meilleurs amis puis mon grand frère à ce jour ; merci pour ton soutien, ta gentillesse, ta grandeur d'âme et ton enthousiasme.*

*A **Pilou** ; hier une U.E de Zoopharmacie m'a permis de te connaître, et aujourd'hui je tiens à remercier quelqu'un que je considère comme l'un de mes meilleurs amis. Un très grand merci pour ton soutien, ta générosité, ton omniprésence à mes côtés, et tous nos bons moments passés comme ceux à venir.*

*A **Manu, Guichon et Juju** ; pour nos débats sans fin au Restaurant Universitaire comme sur les bancs de la fac, pour nos bons moments partagés ensemble et pour nos fameux matchs de badminton du jeudi soir.*

*A **Rémy** ; pour ta gentillesse et notre magnifique année passée ensemble à l'hôpital où j'ai appris à mieux te connaître... Merci pour ces bons moments et ces franches rigolades.*

*A **Ben** ; pour un voyage inoubliable en Roumanie entre « confrères » et ton soutien.*

*A **Fanny** ; mon ancienne compère de première année mais amie pour toujours, merci pour ta bonne humeur, ton soutien et ton aide.*

*A **Lucie** ; pour nos disputes et nos façons différentes de voir la vie mais avant tout pour ton soutien, ta gentillesse et ta joie de vivre débordante.*

*A **Rania et Housam** ; pour votre aide et votre sympathie.*

*A tous les autres : **Aurélie G., Damien, Aurélie R., Benoît, Brice, Sophie, Anne-Sophie...** Merci pour tous ces bons souvenirs passés à vos côtés.*

*Au **Professeur Régis HAMANT** ; pour votre pédagogie et votre dévouement.*

*Au **Dr. Dominique LAURENT**; Merci pour sa confiance accordée, pour l'intérêt qu'il me porte et pour m'avoir appris une partie de mon futur métier ainsi que pour ses encouragements. Aux **Dr. Isabelle LUX et Philippe FORTINA** ; pour leur accueil et leur enthousiasme durant mon stage de sixième année. A toutes les équipes de pharmacie, de ville comme de l'hôpital de Verdun, grâce à qui mes stages se sont parfaitement déroulés.*

*A toute l'équipe de la salle de sport de Tomblaine, en particulier à **Manu, Véro et Nordine**, grâce à qui j'ai passé de très bons entraînements et qui m'ont enseigné le dépassement de soi.*

« La valeur d'un homme tient dans sa capacité à donner et non dans sa capacité à recevoir » Albert Einstein.

«Laissez dire les sots, le savoir a son prix.» Jean de La Fontaine (*L'Avantage de la science*, Livre VIII - Fable XIX)

«La fortune sourit aux audacieux.» Virgile, *énéide* (10, 284)

Table des matières

INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1 - PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES CONDITIONNANT LA TOXICITE DES NANOPARTICULES <i>IN VITRO</i> ET <i>IN VIVO</i>	7
1. Données toxicologiques actuelles	7
2. Discussion	25
2.1. La taille	25
2.2. Le nombre.....	26
2.3. La surface.....	27
2.4. Agglomération-agrégation	29
2.5. Activités de surface	30
2.5.1. Hydrophilie	30
2.5.2. Charge.....	30
2.5.3. Stress oxydant	30
2.6. Biopersistence	34
3. Conclusion	35
CHAPITRE 2 - NANOPARTICULES ET VOIES PULMONAIRES	36
1. Généralités sur l'aérosol	37
1.1. Définition de l'aérosol	37
1.2. Sources	39
2. Rappels anatomiques et physiologiques sur le système pulmonaire	39
2.1. Les voies aériennes supérieures : extra-thoraciques	40
2.1.1. Le nez.....	40
2.1.2. La bouche	40
2.1.3. Le pharynx	40
2.1.4. Le larynx	40
2.2. Les voies aériennes inférieures : intra-thoraciques	41
2.2.1. Zone de conduction.....	41
2.2.2. Zone respiratoire (zone d'échange gazeux)	42
3. Dépôt des particules ultra-fines	45
3.1. Rappels des principaux mécanismes de dépôt particulaire	45
3.2. Lieux de dépôt pulmonaire	47

3.3. Etudes de dosimétrie chez l'Homme.....	49
3.3.1. Sujets sains	49
3.3.2. Sujets malades.....	51
3.4. Interactions avec les surfaces biologiques rencontrées : mécanismes de clairance et devenir des NPs dans l'organisme.....	51
3.4.1. Avant-propos.....	51
3.4.2. Types d'interactions rencontrées.....	53
CHAPITRE 3 – EFFETS TOXIQUES SPECIFIQUES DE CERTAINES NANOPARTICULES SUR LE POUMON	60
1. Les particules à base de carbone.....	60
1.1. Les fullerènes.....	60
1.1.1. Définition des fullerènes	60
1.1.2. Propriétés et utilisations	61
1.1.3. Données toxicologiques	62
1.1.4. Conclusion sur la toxicité des fullerènes	65
1.2. Les nanotubes de carbone	65
1.2.1. Définition.....	65
1.2.2. Propriétés	67
1.2.3. Utilisations.....	67
1.2.4. Données toxicologiques	68
1.2.5. Conclusion sur la toxicité des nanotubes de carbone.....	76
1.3. Les nanoparticules de noir de carbone	76
1.3.1. Définition.....	76
1.3.2. Utilisations.....	78
1.3.3. Données toxicologiques	78
1.3.4. Conclusion sur la toxicité des noirs de carbone	86
1.4. Les nanocapsules, nanosphères et des dendrimères.....	87
1.4.1. Définition.....	87
1.4.2. Utilisations.....	90
1.4.3. Données toxicologiques	90
1.5. Polystyrène et polyéthylène.....	90
2. Particules de diesel.....	91
2.1. Définition.....	91
2.2. Données toxicologiques	92
2.2.1. Effets pulmonaires	93

2.2.2. Effets sur l'allergie	97
2.2.3. Conclusion sur la toxicité des émissions diesels et PED.....	101
3. Particules inorganiques	102
3.1. Oxyde de zinc.....	102
3.1.1. Définition	102
3.1.2. Utilisations.....	104
3.1.3. Données toxicologiques	104
3.1.4. Recommandations officielles	109
3.1.5. Conclusion sur la toxicité du ZnO	109
3.2. Dioxyde de titane	109
3.2.1. Définition	109
3.2.2. Utilisations.....	110
3.2.3. Données toxicologiques	110
3.2.4. Recommandations officielles	115
3.2.5. Conclusion sur la toxicité des NPs de TiO ₂	115
3.3. Silices amorphes.....	115
3.3.1. Définition	115
3.3.2. Utilisations.....	117
3.3.3. Données toxicologiques	117
3.3.4. Conclusion sur la toxicité des NPs de silices amorphes	126
3.4. Fumées de soudage.....	126
3.4.1. Définition	126
3.4.2. Données toxicologiques	127
3.4.3. Recommandations officielles	132
3.4.4. Conclusion sur la toxicité de la fraction nanoparticulaire des fumées de soudage	132
3.5. Autres particules	132
4. Les points quantiques ou <i>quantum dots</i>.....	133
4.1. Définition	133
4.2. Utilisations.....	134
4.3. Données toxicologiques	134
CONCLUSION	135
LISTE DES FIGURES	138
LISTE DES TABLEAUX.....	139
BIBLIOGRAPHIE	141

LISTE DES ABREVIATIONS

AFFSET	A gence F rançaise de S écurité S anitaire de l' E nvironnement et du T ravail
A.p	A spiration p haryngée
BET	Méthode de B runauer, E mmett et T eller
BPCO	B roncho- P neumopathie C hronique O bstructive
CBUF	<i>Carbon Black Ultrafine</i> ou Nanoparticule de noir de carbone
DEP	D ébit E xpiratoire de P ointe
DL ₁₅	D ose L étale 15 % ou dose pour laquelle il y a 15 % de mortalité dans la population de sujets exposés à une substance
DPPC	D i P almitoyl P hosphatidyl C holine
EBH	Cellules E pithéliales B ronchiques H umaines
EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i> ou facteur de croissance épidermique
EGFR	<i>Epidermal Growth Factor Receptor</i> ou récepteur de l'EGF
ERO	E spèces R éactives de l' O xygène
<i>Endpoints</i>	Terme anglais désignant les cibles toxicologiques analysées
GM-CSF	<i>Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor</i>
GSH	Glutathion (forme réduite)
HEI	<i>Health Effects Institute</i>
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
IFN	Interféron
Inh.	I nhalation
IL	I nter L eukine
i.N	intraNasal
INERIS	Institut N ational de l' E nvi R onnement industriel et des R ISques
INRS	Institut N ational de R echerche et de S écurité

i.P	intraPéritonéale
IRSST	Institut de R echerche Robert-Sauvé en S anté et en S écurité du T ravail (Canada)
i.T	intraTrachéale
KLH	<i>Keyhole Limpet Hemocyanin</i> ou hémocyanine de patelle
LBA	Lavage B roncho- A lvéolaire
LDH	Lactate D és H ydrogénase
MA	M acrophage A lvéolaire
MCP	<i>Monocyte Chemotactic Protein</i>
MIP-2	<i>Macrophage Inflammatory Protein-2</i>
MWCNT	<i>Multi Wall Carbon NanoTubes</i> ou nanotube de carbone multi-parois
NF-κB	N uclear F actor-kappa (κ) B
NIOSH	<i>National Institute for Occupational Safety and Health</i>
NP(s)	N ano P articule(s)
N.R	N on R enseigné
NTC	N ano T ubes de C arbone
OVA	O valbumine
PED	P articule d' E mission D iesel
PGE ₂	P rosta G landine E ₂
PLA ₂	P hospho L ipase A ₂
PIGF	<i>Placenta Growth Factor</i> ou facteur de croissance du placenta
PNE	P oly N ucléaire E osinophile
PNN	P oly N ucléaire N eutrophile
PUF	P articule U ltra F ine
PVA	Alcool polyvinylique
PVNO	P oly-2- V inylpyridine- N - O xyde (polymère)
SWCNT	<i>Single Wall Carbon NanoTubes</i> ou nanotube de carbone mono-paroi

TGF-β1	<i>Transforming Growth Factor</i> ou facteur de prolifération cellulaire impliqué dans la fibrogénèse.
TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
US EPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> ou facteur de croissance de l'endothélium vasculaire
VEMS	V olume E xpiratoire M aximal en 1 S econde
WHO	<i>World Health Organization</i> connue également sous la dénomination d'OMS (Organisation Mondiale de la Santé)

INTRODUCTION

Le terme de « nanotechnologie » a été introduit pour la première fois par Richard Feynman, prix Nobel de physique 1965, lui promettant déjà un avenir très prometteur. Quoique constituant de nombreuses perspectives d'avenir et de progrès, frôlant les limites de la science fiction dans bien des domaines, l'existence des nanoparticules (NPs) remonte à la nuit des temps... En effet, plusieurs structures naturelles, dont les protéines de même que le diamètre de l'ADN (2 nm) répondent à cette définition de nanomatériaux alors que les virus représentent les plus petits nano-objets naturels fonctionnels [206]. A titre de comparaison, 4 atomes de silicium correspondent à $1/100^{\text{e}}$ de la largeur d'une molécule d'ADN [7], un globule rouge a un diamètre de 5 000 nm et un cheveu humain fait de 10 000 à 50 000 nm de diamètre [206]. Nanoparticules « naturelles » certes mais l'homme les fabriquait déjà t-il ? La curiosité de certains chercheurs a permis de retrouver certaines traces du passé... Les romains de l'ère préchrétienne introduisaient déjà des métaux ayant des dimensions nanométriques dans la fabrication de verrerie et une tasse décrivant la mort du roi Lycurgus de Sparte contient des NPs d'or et d'argent, ce qui permet de la faire passer du vert au rouge foncé lorsqu'une source lumineuse est introduite à l'intérieur. Certaines colorations de peintures mayas, tout comme le lustre de poteries de la Renaissance italienne sont dus à l'introduction de NPs métalliques. Les vitraux des grandes cathédrales de l'époque médiévale contiennent également des NPs métalliques. L'émission industrielle des particules issues des procédés de combustion ou la photographie, développée aux XVIIIe et XIXe siècles en sont des exemples plus récents [206].

A de telles dimensions, la matière obéit aux lois de la physique quantique faisant place à des structures aux propriétés remarquables, voire inattendues. Ces prodigieuses propriétés sont ainsi différentes de celles retrouvées aux échelles microscopiques ou macroscopiques alors qu'il s'agit des mêmes matériaux. Elles se démarquent en terme de résistance mécanique, de réactivité chimique dues notamment au rapport très important surface/volume à l'instar de l'or qui devient un excellent catalyseur à l'échelle du

nanomètre, de conductivité électrique, de fluorescence tels les nanocristaux de séléniure de cadmium devenant respectivement bleu et rouge lors de l'éclairage des grains de 2 et 5 nm par les rayons ultraviolets, de propriétés hydrophobes comme rencontrées par exemple avec la feuille de lotus : les NPs de cire présentes à sa surface permettent de garder à demeure les gouttes d'eau sphériques, les empêchant ainsi de s'étaler et lui évitant par conséquent d'être mouillée [7].

Aussi, il convient dès à présent de définir quelques termes couramment usités et propres à ces technologies : les nanomatériaux sont des matériaux constitués en totalité ou en partie par des nano-objets qui leur confèrent ces propriétés citées ci-dessus. **Ces nano-objets se classent en 3 grandes familles [7] et [305] :**

- les NPs, également appelées particules ultrafines (PUF), dont aucune dimension n'est supérieure à 100 nm. Le terme de PUF est plus usité dans le cas de particules présentes spontanément dans l'air ou dans la nature c'est-à-dire celles qui résultent de l'activité volcanique, humaine (combustion, émission des moteurs diesels...). Le terme de nanoparticules est employé plus volontiers quand il s'agit de particules fabriquées par l'homme,
- les nanofibres, nanotubes, nanofilaments dont une seule dimension est inférieure à 100 nm, l'autre pouvant être micrométrique.
- les nanofilms, nanocouches, nanorevêtement dont deux dimensions excèdent les 100 nm et dont la troisième est nanométrique (épaisseur).

Les nanomatériaux, eux, sont rangés en 3 catégories [7] et [305] :

- Les matériaux nano-renforcés : les nano-objets sont incorporés directement dans une matrice organique ou minérale apportant ainsi des propriétés différentes. Par exemple on incorpore du dioxyde de titane dans des crèmes solaires pour jouer le rôle d'agent filtrant les UV ou encore les NPs de noir de carbone dans les pneumatiques ou l'encre...
- Les matériaux nano-structurés en surface : les matériaux sont recouverts à leur surface d'un ou plusieurs revêtements de NPs leur conférant plus de résistance à l'érosion, modifiant rigidité, aspect, ou hydrophobie...

- les matériaux nano-structurés en volume : ces matériaux possèdent une structure nanométrique dont l'hétérogénéité confère de nouvelles propriétés : porosité, résistance plus accrue aux fractures...

Ces propriétés révolutionnaires intéressent ainsi la plupart des secteurs d'activité au sein même desquels de nombreuses applications sont étudiées ou envisagées dans un avenir futur :

- Automobile, aéronautique : matériaux légers et résistants, peintures anticorrosion/antisalissure et plus résistantes, additifs moteurs, pneumatiques plus résistants, pots catalytiques. Il serait également possible de réduire les coûts énergétiques, d'obtenir un meilleur rendement des moteurs via des senseurs ou encore d'augmenter la durée de vie de ce dernier,
- Electronique, Informatique et communication : miniaturisation, mémoires plus élevées (stockage important dû au rapport surface volume étonnement grand), nano processeurs plus petits et plus rapides, écrans plats, technologies sans fil,
- Chimie et matériaux : catalyseurs, isolation thermique, inhibiteur de corrosion, pigments, techniques de collage sans colle, technologie de soudage,
- Industrie textile : fibres en nanocomposite plus résistantes, hydrophobes ou encore ignifuges,
- Industrie du verre : vitres renforcées, auto-nettoyantes, propriétés optiques particulières (fonction réfléchissante, coloration, antireflet, absorption des UV),
- Métallurgie : résistance à la corrosion, meilleure résistance, diminution des frottements grâce à des revêtements spéciaux,
- Pharmacie, médecine et biologie médicale : médicaments vectorisés par des nanosphères permettant une action ciblée et évitent leur dégradation, thérapie génique, transfert de gène, *microarrays* ou biopuces servant à analyser des échantillons cellulaires mesurant ainsi l'expression de centaines de milliers de gènes exprimés dans les tissus humains normaux ou cancérogènes, voire permettant de détecter une activité virale ou bactérienne dans un prélèvement, en microfluidique avec la réalisation de laboratoire sur puces, imagerie moléculaire via la fluorescence de NPs, détection de biomarqueurs, chirurgie réparatrice, nano-implant et prothèses

en matériaux biocompatibles, ingénierie et régénération tissulaires, interfaces neurones-transistors, membranes pour dialyse...,

- Cosmétique : crèmes solaires transparentes, meilleure captation des UV et tenue à l'eau, pâtes dentifrices plus abrasives, maquillage avec meilleure tenue (rouge à lèvres), nouveaux effets visuels, tatouages,
- Energie : cellules solaires photo-voltaïques, nouveaux types de batterie permettant l'entreposage d'hydrogène, nouveaux isolants...,
- Environnement : diminution de rejet de dioxyde de carbone, production d'eau douce, pesticides/fertilisants plus efficaces et moins dangereux, recyclage, analyseurs chimiques,
- Militaire : systèmes de guidage de missiles, ordinateurs miniaturisés et intelligents, blindages plus performants, armes/engins peu détectables aux radars, carburants, tenue de combat « intelligente » proposant une protection augmentée, incorporant des agents cicatrisants, permettant un meilleur camouflage ou fournissant des dispositifs sans colle et à multi-repose similaires aux pattes du Gecko pour l'escalade, poudres explosives, armes chimiques/bactériologiques, robots espions,
- Sécurité des procédés : réacteurs zéolites compacts, nouvelles technologies de collage, protection contre les copies criminelles des cartes de crédit ou de débit et des billets de banque, ajustement de standards à l'échelle atomique, les procédés auto-organisés permettant le contrôle de la qualité à l'échelle atomique, procédés de fabrication avec nano-senseurs incorporés conduisant à une production avec moins de défauts.

Cette longue énumération nous suggère, par conséquent, qu'aucun secteur de l'industrie n'échappe aux NPs. **Ces technologies du futur constituent un réel enjeu économique et social** (figure 1): en effet, elles généraient déjà un revenu de 40 milliards d'euros en 2001 selon la Commission Européenne qui devraient atteindre plus de 1000 milliards d'euros par an vers 2010-2015 et concerneraient directement l'emploi de 2 millions de personnes. Le domaine de la santé, quant à lui, représentait 126 millions d'euros en 2005. La recherche mondiale a investi 450 millions en 1997, puis 4 milliards en 2005 [2].

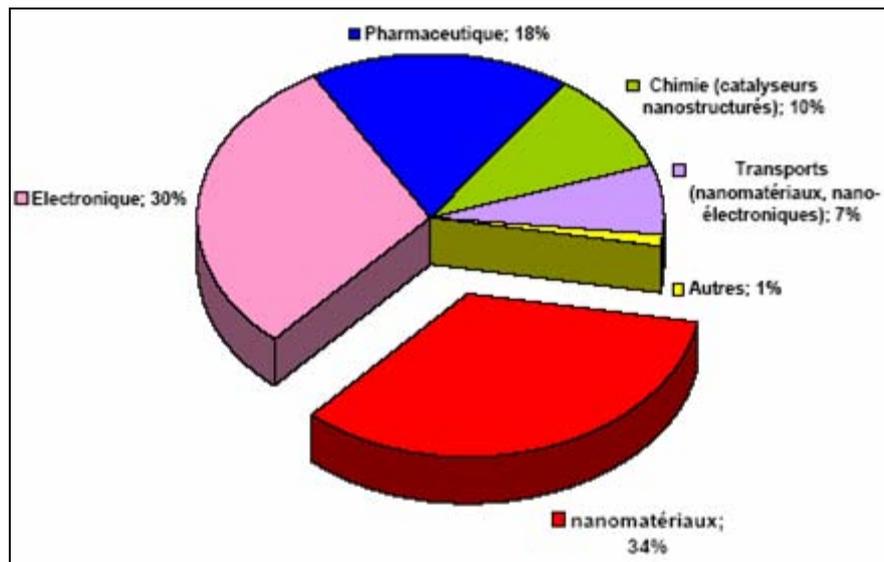


Figure 1 - Impact économique des nanotechnologies en 2010. (*Développement et Conseil 2004 ; Afsset [2]*)

Malgré toutes ces potentialités et les bienfaits pour l'économie mondiale décrits ci-dessus, la polémique du danger des NPs n'a fait que croître au fil du temps. Oberdörster, le premier, dans les années 1990 a mis en évidence une toxicité chez l'animal mais la réelle prise de conscience ne s'est opérée qu'avec les résultats de mortalité ou de morbidité rapportés au cours des études épidémiologiques menées par différents scientifiques notamment lors d'épisodes de pollution atmosphérique. C'est alors que l'on a vu émerger un certain nombre de parutions scientifiques démontrant une toxicité de ces particules, de dossiers de presse à grand tirage, de dossiers scientifiques émanant de l'Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques (INERIS) [203], de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail (AFSSET) [2], l'Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS) [7], ou encore de l'Institut de Recherche Robert-Sauvé en Santé et en Sécurité du Travail (IRSST, Québec) [206]..., de sites internet ou de forum (« sciences et démocratie », « vivantinfo », forum « france2 », « doctissimo »...) soulevant des effets néfastes sur la santé en terme de cancers, toxicité intéressant les systèmes pulmonaire, cardiaque, digestif ou nerveux. Le fameux principe de précaution a été fréquemment évoqué... La quête entreprise par les auteurs de ces études n'est pas d'en découdre avec les nanotechnologies ou les industriels les utilisant mais bien d'en souligner les risques, de chercher à connaître davantage les dangers et les risques potentiels, d'en identifier les types

d'expositions, afin d'en prévenir les effets néfastes par des moyens de protection adéquats comme des masques, combinaisons et règles de sécurité au travail, et d'en maîtriser les dangers via la connaissance des temps d'exposition, la nature ou encore la quantité de particules émises... Certains auteurs dénoncent déjà certains industriels ou entreprises exposant les travailleurs dans leur lieu de production ou la population via les rejets dans l'eau ou l'atmosphère sans même avoir pris la précaution de s'assurer de la parfaite innocuité de ces derniers. En effet, il faut savoir que certains organismes ou journaux tel le *Small Times Magazine* ont répertorié déjà plus de 700 produits commercialisés de par le monde sous la dénomination « nano ». Plus récemment, le site internet suivant : <http://www.nanotechproject.org/inventories/consumer/browse/categories/>, repris d'ailleurs par de nombreux communiqués scientifiques, en dresse un catalogue remis régulièrement à jour, les répertoriant par catégories et fabricants...

Devant une véritable explosion des données de la littérature, le but de notre travail consiste à faire le point sur les connaissances de l'impact des NPs sur l'appareil respiratoire qui constitue la voie majeure de pénétration des agents particulaires. En effet, il faut garder à l'esprit que la voie pulmonaire constitue à la fois une destination mais aussi une porte d'entrée pour d'autres organes tels le cerveau, les reins et le cœur. Cette thèse aura pour objectif de préciser les mécanismes physiopathologiques expliquant la toxicité, les modèles expérimentaux utilisés par les chercheurs et les effets pulmonaires obtenus, décrits ou prédictibles sur la santé de l'Homme.

CHAPITRE 1 - PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES CONDITIONNANT LA TOXICITE DES NANOPARTICULES *IN* *VITRO* ET *IN VIVO*.

Depuis quelques années, les épidémiologistes ont mis en évidence que la pollution atmosphérique, environnementale ou professionnelle, est impliquée dans la genèse ou l'aggravation de certaines pathologies de l'appareil respiratoire comme l'asthme, les BPCO et les cancers pulmonaires, et par ce biais, d'une hausse de la mortalité. L'aérosol atmosphérique en serait le principal instigateur. Il s'agit là d'une suspension de particules, solides ou liquides, de diamètre variable, dispersées dans un gaz [160] et par conséquent, l'aérosol ultrafin, constitué de particules nanométriques individuelles ou regroupées en agrégat, n'en représente qu'une partie [115]. Toutefois, il serait opportun de déterminer le risque de ces NPs. Rappelons que sa quantification est fonction de la toxicité et de l'exposition ; dans ce travail, nous ferons le point sur cette toxicité. Le problème réel est qu'en toxicologie, d'une manière générale, les effets se retrouvent toujours être corrélés à une quantité de produit absorbé, exprimée en unité de masse. Plus celle-ci est élevée, plus l'effet toxique sera important. Dans le cas des NPs, il a été clairement démontré que ce n'est pas le cas. En effet, à masse équivalente, elles sont bien plus toxiques que les microparticules [206]. Selon **Fabriès et Witschger [305]**, ce « paradigme masse » ne peut être l'unique paramètre dosé et par conséquent, il convient de s'orienter sur d'autres paramètres pour tenter de relier la toxicité à l'échelle d'une grandeur mesurable, le but étant d'en évaluer les dangers pour l'Homme et l'environnement.

1. Données toxicologiques actuelles

Pour traiter cette partie, deux tableaux récapitulatifs sont proposés ; l'un regroupe les données expérimentales (*Tableau 1*) et l'autre les données humaines (*Tableau 2*). L'interprétation et les conclusions en découlant, seront établies en seconde partie.

Tableau 1 - Données expérimentales concernant les paramètres physico-chimiques à prendre en compte pour la détermination de la toxicité des nanoparticules. (Champ « N.R » = Non Renseigné ; Instillation intratrachéale (*i.T*), inhalation (*inh*), aspiration pharyngée (*a.P*))

Endpoints (cibles toxicologiques analysées) et modèles utilisés	Mode d'administration	Auteurs	Types de NPs et concentrations	Observations
In vitro				
1. La taille				
✓ Macrophages alvéolaires (MA) de rat	-	Gilmour et coll. [101]	NPs issues de la combustion du charbon [< 200 nm]	Cyotoxicité inversement corrélée à la taille.
2. La surface				
✚ Pour				
✓ MA canin et humain	-	Beck-Speier et coll. [32]	NPs de noir de carbone (CBUF) [Printex®90 et G ; tailles N.R]	Induction acide arachidonique, espèces réactives de l'oxygène (ERO), phospholipase A2 et de prostaglandine E2. Non corrélée à la masse.
✓ Cellules pulmonaires épithéliales de type II (SV40T2) et des MA de rat	-	Koike et Kobayashi [146]	CBUF [14 nm ; surface spécifique 300 m ² /g] et [56 nm, 45 m ² /g] et [95 nm, 20 m ² /g]	-
✓ Cellules alvéolaires humaines de type II (A549)	-	Monteiller et coll. [183]	NPs de TiO ₂ et CBUF [tailles N.R]	IL-8 et déplétion en glutathion, corrélées à la surface.

+ Contre					
✓	Cellules pulmonaires A549	-	Hetland et coll. [118]	CBUF [Printex®60 ; taille N.R]	Production d'interleukines (IL-6 et 8) non corrélée à des surfaces mais plutôt à la composition chimique.
✓	Cellules épithéliales pulmonaires humaines	-	Sayes et coll. [246]	NPs d'anatase [3-10 nm ; 153 m ² /g] et de rutile [5,2 nm ; 123 m ² /g]	-
✓	Macrophage de souris J774A et de chien	-	Möller et coll. [182]	NPs de carbone élémentaire, CBUF, TiO ₂ , diesel et particules de l'air urbain [tailles N.R ; 6 à 600 m ² /g].	Aucune relation entre surface spécifique et effet sur la fonction macrophagique
3. L'agrégation/agglomération					
✓	Milieu acellulaire contenant du DPPC*	-	Kendall et coll. [140]	NPs de carbone [R330 et R400 de 25nm ; surface R400 traitée par oxydation, et M120 de 75nm]	- Formation d'agglomérats après une heure d'incubation. - √ DPPC proportionnelle à la surface et taille des NPs.
4. Vieillessement					
✓	MA canin et humain	-	Beck-Speier et coll. [32]	CBUF [Printex®90 et G ; tailles N.R]	Stress oxydant, leucotriène B4 et 8-isoprostane élevés uniquement avec les NPs fraîchement émises.
5. Hydrophilie - Groupements fonctionnels					
✓	Macrophages (N.R)	-	Sahoo et coll. [241]	NPs d'acide polylactique [taille N.R ; hydrophilie augmentée via adsorption de PVA**]	Les plus hydrophiles sont les moins phagocytées .

✓ MA de rats Sprague-Dawley et de hamsters syriens dorés	-	Warshawsky et coll. [295]	- Silice pyrogénée [$< 0,38 \mu\text{m}$; $200 \text{ m}^2/\text{g}$] et, - Précipitée [$< 0,38 \mu\text{m}$; $120 \text{ m}^2/\text{g}$] à $0,01$ à $0,5 \text{ mg/L}$ pour $1,8 \cdot 10^6 \text{ MA}$. - Gel de silice [$250 \text{ m}^2/\text{g}$] à $0,01$ à $0,5 \text{ mg/L}$ pour $1,8 \cdot 10^6 \text{ MA}$	Cytotoxicité similaire entre silice pyrogénée (surface spécifique plus grande ; moins de silanol par unité de surface) et silice précipitée.
✓ MA de rat	-	Kuhn et Demers [148]	NPs de Silice pyrogénée (Cab-O-Sil®) : - Avec silanols : NPs non traitées ou calcinées à 500°C , - aucun groupement silanol : NPs calcinées à 1100°C	Les NPs avec SiOH entraînent une \nearrow de la production d' eicosanoïdes , responsables de l'inflammation ou de fibromes.
✓ Lignées cellulaires de tumeur du poumon humain (H596, H446, Calu-1)	-	Magrez et coll. [173]	- Nanotubes de carbone [20 nm ; rapport longueur/diamètre $80-90$] et [150 nm ; rapport L/D $30-40$] - CBUF	L'ajout de groupements carbonyle (C=O), carboxyle (COOH) et/ou hydroxyle (OH) renforce la toxicité .

6. Métaux de transition

✚ Pour

- **Corrélés aux marqueurs de l'inflammation**

✓ Cellules épithéliales (A549) de poumon humain	-	Ball et coll. [26]	NPs de charbon [Taille N.R.]	IL-8 (et Fe^{2+} catalyse la formation d'ERO)
---	---	---------------------------	------------------------------	---

- **Corrélés au stress oxydant**

✓	Macrophages murins RAW 264.7	-	Kagan et coll. [138]	Nanotubes de carbone [SWCNT; 1 à 2 nm] purifiés (0,23 % en masse de Fe ²⁺) ou non (26 % en masse de Fe²⁺).	Uniquement sur macrophages <u>stimulés</u> (ici par le zymosan).
✓	Milieu acellulaire	-	Wilson et coll. [300]	CBUF [14 nm, surface spécifique 253,9 m ² /g]	Production d'ERO augmentée avec l'adjonction de sulfate de cuivre (CuSO ₄), de sulfate ferreux (FeSO ₄) ou de chlorure de fer (FeCl ₃).
✓	Macrophage de souris J774	-	Wilson et coll. [300]	CBUF [diamètre 14 nm, surface spécifique 253,9 m ² /g]	↘ taux de glutathion et d'ATP, majorée en présence de sels de fer.
✓	Cellules pulmonaires humaines (A549)	-	Pulskamp et coll. [225]	MWCNT et SWCNT commerciaux, (très riches en métaux)	↗ (dose et temps-dépendante) d'ERO intracellulaires

- **Prolifération cellulaire et tissulaire**

✓	Explant de trachées de rat	-	Dai et coll. [65]	TiO ₂ [120 nm ; chargées en Fe II et III].	- ↘ expression de procollagène et d'hydroxyproline - ↗ NF-κB*** et ↘ d'IκB***.
---	----------------------------	---	--------------------------	---	---

⊕ Contre

✓	MA Mono Mac 6	-	Brown et coll. [47]	NPs de Noir de carbone [14 et 320 nm ; traité ou non au DESFERAL®, chélateur de Fe ³⁺] à 500 µg	Concentration en Ca ²⁺ intracellulaire (médiateur de l'inflammation) identique pour les échantillons contenant ou non du fer.
---	---------------	---	----------------------------	---	--

7. Composés organiques

✓	Macrophages RAW 264.7 et cellules épithéliales bronchiques (BEAS-2B)	-	Li et coll. [165]	NPs de l'air ambiant [bassin de Los Angeles ; < 100 nm]	Relation linéaire entre activité redox (induction Hème Oxygénase-1, production ERO) et quantité d'hydrocarbures polycycliques aromatiques.
✓	<i>Salmonella</i>	-	DeMarini et coll. [71]	Particules de diesel (PED): - automobile [A-PED ; 26 % de composants organiques extraits] - chariot élévateur [SRM 2975 ; 2 %]	Activité mutagène d'autant plus élevée que les particules contiennent des composés organiques.
✓	Macrophage de souris J774A et de chien	-	Möller et coll. [182]	NPs de carbone élémentaire, noir de carbone, TiO ₂ , diesel et particules de l'air urbain [Tailles N.R ; surfaces spécifiques de 6 à 600 m ² /g]	↘ dysfonctions du cytosquelette lors du lavage des NPs au dichlorométhane.
✓	Cellules BEAS-2B et lignée macrophagique (THP-1)	-	Li et coll. [166]	PED avec des composés organiques	Formation d'ERO et cytotoxicité

8. Stress oxydant

✚ Pour :

- **Formation ERO (dont radicaux libres)**

✓	Cellules épithéliales bronchiques (BEAS-2B)	-	Kisin et coll. [144]	SWCNT	↗ produits de peroxydation et ↘ antioxydants
✓	Cellules épithéliales pulmonaires humaines de type II (A549)	-	Stone et coll. [265]	CBUF [14,3 nm]	-
✓	Monocytes humains et cellules du LBA de rat (80 % macrophages)	-	Stone et coll. [263], [264]	CBUF	Ouverture de canaux calciques via les ERO

✓ Milieu acellulaire	-	Wilson et coll. [300]	CBUF [14 nm ; 253,9 m ² /g]	↗ à l'ajout de métaux
✓ Cellules épithéliales pulmonaires humaines A549	-	Ramage et Guy [227]	CBUF	-
✓ Cellules EBH	-	Tamaoki et coll. [272]	CBUF	-
✓ MA canin et humain	-	Beck-Speier et coll. [32]	Printex®90 et G, PED	Formation par les MA.
✓ Tranches de poumon de rat	-	Bion et coll. [34]	Emissions diesels diluées	-
✓ Fibroblaste des tissus pulmonaires humains (IMR-90)	-	Asharani et coll. [19]	NPs d'argent [taille N.R.]	Dose-dépendant
• <u>Associé aux métaux ou à des composés organiques</u>				-
✓ Macrophages murins RAW 264.7	-	Potapovich et coll. [223]	SWCNT (présence de fer)	Potentiel oxydant du fer
✓ Cellules pulmonaires humaines (A549)	-	Pulskamp et coll. [225]	MWCNT et SWCNT commerciaux (riches en métaux)	↗ (dose et temps-dépendante) d'ERO intracellulaires
✓ Neutrophiles humains	-	Lindahl et coll. [168]	Particules de ZnO [taille N.R.]	Zn ⁺⁺ et le ZnO stimulent la production des radicaux oxygénés.
✓ Cellules BEAS-2B et lignée macrophagique (THP-1)	-	Li et coll. [166]	PED avec composés organiques	-
• <u>Diminution de glutathion (antioxydant)</u>				

✓ Macrophages RAW 264.7 activés (par le zymosan)	-	Kagan et coll. [138]	SWCNT non purifiés	+ Conversion de l'O ₂ ⁻ extracellulaire en radicaux hydroxyyles
✓ Cellules Epithéliales Bronchiques Humaines (EBH)	-	Shvedova et coll. [253]	SWCNT à 0 - 0,06 - 0,12 et 0,24 mg/mL	↗ des peroxydes lipidiques
• Induction Hème Oxygénase-1 (HO-1)				
✓ Macrophages RAW 264.7 et cellules épithéliales bronchiques (BEAS-2B)	-	Li et coll. [165]	Fraction ultrafine de particules de l'air ambiant [bassin de Los Angeles ; < 100 nm]	-
✓ Cellules pulmonaires épithéliales de type II (SV40T2) et des MA de rat	-	Koike et Kobayashi [146]	CBUF [14 nm ; 300 m ² /g] et [56 nm, 45 m ² /g] et [95 nm, 20 m ² /g]	-
✓ Cellules BEAS-2B et lignée macrophagique (THP-1)	-	Li et coll. [166]	PED avec des composés organiques	NB : Production ERO supérieure et formation d'antioxydant inférieure pour les cellules épithéliales.

✚ Contre :

• **Formation d'ERO inexistante**

✓ Macrophages de souris RAW 264.7	-	Shvedova et coll. [252]	SWCNT à 0,1 mg/mL	-
✓ Milieu acellulaire	-	Fenoglio et coll. [90]	MWCNT purifiés [9,7 nm; 5,9 µm de longueur ; 378 m ² /g]	-
✓ Macrophages RAW 264.7	-	Kagan et coll. [138]	SWCNT purifiés ou non à 0,12 et 0,5 mg/mL	-

9. Concentration massique					
✓	Cellules épithéliales pulmonaires A549	-	Hetland et coll. [118]	Particules de l'air ambiant : PM ₁₀ , PM _{2,5} et NPs à concentration massique équivalente.	Potentiel apoptotique identique pour toutes les particules.
✓	MA de rat	-	Brown et coll. [46]	CBUF [taille N.R]	Corrélation entre quantité de TNF - α et concentration massique.
In vivo					
1. La taille					
✚ Pour					
• <u>Cytotoxicité ; inversement corrélée à la taille</u>					
✓	Souris CD1	i.T	Gilmour et coll. [101]	NPs issues de la combustion du charbon à 25 et 100 µg.	-
✓	Rats	i.T	Renwick et coll. [230]	TiO ₂ [29 et 250 nm ; 6,6 et 49,78 m ² /g] et CBUF [14,3 et 260,2 nm; 7,9 et 253,9 m ² /g]	-
• <u>Inflammation ; inversement corrélée à la taille</u>					
✓	Rats	i.T	Zhang et coll. [313]	NPs [20 nm] et des particules fines (5 µm) de nickel	-
✓	Rats mâles Fisher 344	Inh. et i.T	Ferin et coll. [91] et Oberdörster et coll. [198], [199]	TiO ₂ UF : - inh. : [250 nm] à 23,0 mg/m ³ et [21 nm] à 23,5 mg/m ³ , - i.T : [12, 21, 230 ou 250 nm] 500 µg	NB : demi-vie pulmonaire de 501 j pour celles de 21 nm, contre 174 j pour celles de 250 nm.
✚ Contre					
✓	Rats	i.T	Warheit [285]	Microfibres (30 x 250 nm), NPs de 10 à 300 nm de TiO ₂ à 1 ou 5 mg/kg	Aucune différence significative (inflammation ou cytotoxicité), même après 3 mois.

2. Le nombre					
✚ Pour					
✓ Rats mâles Fisher 344	Inh. et i.T	Ferin et coll. [91]	TiO ₂ UF : - inh. : [250 nm] à 23,0 mg/m ³ et [21 nm] à 23,5 mg/m ³ , - i.T : [12, 21, 230 ou 250 nm] 500 µg	Corrélée à une ↗ de la translocation vers l'interstitium.	
✚ Contre					
✓ Rats	i.T	Oberdörster et coll. [197]	TiO ₂ (20 nm) à 65- 107- 200-500-1000 µg et CBUF (20 nm) à 500 µg	Atteinte plus étroitement corrélée avec la surface spécifique.	
	Inh.	Oberdörster et coll. [195]	TiO ₂ anatase [20 et 250 nm], TiO ₂ rutile [12 et 220 nm], CBUF	Idem.	
3. La surface					
✚ Pour					
• <u>Relation linéaire avec un paramètre du LBA (PNN...)</u> :					
✓ Rats	i.T	Oberdörster et coll. [197]	TiO ₂ [20 nm] à 65- 107- 200-500-1000 µg et CBUF [20 nm], 500 µg	-	
		Donaldson et coll. [80]	NPs de TiO ₂ (NR) et CBUF (NR)		
		Höhr et coll. [123]	NPs de TiO ₂ [20 et 180 nm ; 50 et 10 m ² /g] à 1 ou 6 mg	Corrélation avec réponses enzymatiques	
		Brown et coll. [48]	NPs de polystyrène (gamme de 64 à 535 nm)		
	Inh.	Oberdörster et coll. [198]	TiO ₂ [20 et 250 nm] à 23 mg/m ³	-	
		Oberdörster et coll. [195]	TiO ₂ anatase [20 et 250 nm], TiO ₂ rutile [12 et 220 nm], CBUF	-	
✓ Rats et des souris	i.T	Oberdörster et coll. [200]	TiO ₂ [20 et 250 nm]	-	

✓ Souris	i.T	Stoeger et coll. [261]	NPs de carbone élémentaire, de diesel, de suie, de Printex® 90 et G [entre 10 et 50 nm ; entre 30 et 800 m ² /g] à 5, 20 et 50µg	-
• <u>Corrélée à un marqueur du stress oxydant :</u>				
✓ Rats femelles Fischer 344	Inh.	Gallagher et coll. [100]	NPs de noir de carbone : Printex®90 (16 nm; 300 m ² /g) et Sterling® V (70 nm; 37 m ² /g)	↗ 8-oxo-dG****
• <u>Autres :</u>				
✓ Rats	Inh.	Elder et coll. [88]	CBUF de faible surface spécifique [LSCBUF: 70 nm; 37 m ² /g] et élevée [HS-CBUF: 14 nm; 300 m ² /g] à 50 mg/m ³	Clairance plus rapide avec le LS-CBUF.
<hr/>				
✚ Contre				
✓ Rats et souris	Inh.	Heinrich et coll. [110]	NPs de TiO ₂ [Degussa P ₂₅ TM , 0,8 µm diamètre médian moyen, 48 m ² /g] à 10 mg/m ³ , 18 h/j, 5 j/sem	Aucune corrélation entre surface totale et incidence de tumeurs
✓ Rats Wistar	i.T	Dick et coll. [77]	TiO ₂ UF [20 nm; 49,8 m ² /g] CBUF [14 nm; 253,9 m ² /g], CoO [20 nm, 36,9 m ² /g], NiO [20 nm, 36,2 m ² /g]	-
✓ Rats	i.T	Warheit et coll. [294]	Tiges d'anatase [200 nm x 35 nm ; 26 m ² /g] et TiO ₂ [10 nm ; 169 m ² /g et 300 nm ; 6 m ² /g]	-
		Brown et coll. [48]	NPs de polystyrène [gamme de 64 à 535 nm]	Aucune relation linéaire entre surface NPs et protéine totale ou taux LDH.
		Li et coll. [167]	CBUF [Huber® 990; 260 nm; 7,9 m ² /g et Printex® 90; 14,3 nm; 253 m ² /g]	-

4. La structure : cristallinité

✓ Rats Sprague-Dawley

i.T

Murphy et coll. [192]

- Cab-O-Sil® [7 nm],
- Quartz DQ12 [lavé à l'acide chlorhydrique; 61 % de taille > 300 nm]
- CBUF (M120 ; taille des particules primaires 50 nm)
- PED [taille primaire 20 nm ; fer et aluminium].

-

✓ Rats

i.T

Warheit et coll. [292]

Rutile fin et ultrafin, mélange (80 % anatase et 20 % rutile) et quartz

- Quartz > Particules TiO₂
- Egalement attribuable au pH, réactivité chimique de surface et production de radicaux libres.

5. L'agrégation/agglomération

✓ Rats

Inh.

Oberdörster et coll. [200]

PUF obtenues par chauffage d'un tube de polytétrafluoroéthylène (TEFLON®) à 486°C, fumées aux alentours de 50 µg/m³.

Diamètre passant de 18 à 100 nm => toxicité des PUF fraîchement formées et relative « innocuité » des PUF vieilles (210 secondes)

6. Vieillessement

✓ Rats

Inh.

Oberdörster et coll. [200]

PUF obtenues par chauffage d'un tube de TEFLON® à 486°C, fumées aux alentours de 50 µg/m³.

Toxicité des PUF fraîchement formées et « innocuité » des PUF vieilles (210 secondes)

7. Hydrophilie - Groupements fonctionnels

✚ Pour

✓ Rats	i.T	Warheit et coll. [291]	NPs de TiO ₂ [Taille NR ; hydrophiles] et NPs de TiO ₂ traitées par du triéthoxyoctylsilane [taille NR ; hydrophobes]	Seules les particules non traitées entraînent des effets délétères.
	i.T et Inh.	Warheit et coll. [287]	NPs de TiO ₂ [290 à 440 nm ; traitées ou non par de l'aluminium ou un mélange aluminium/ silice amorphe]. - Inh. : 1130 à 1300 mg/m ³ - i.T : 2 à 10 mg/kg	Les particules non traitées sont les plus toxiques.
✓ Rats Wistar	Inh.	Reuzel et coll. [232]	Aérosil® R974 [Aérosil 200 traité chimiquement ; hydrophobe ; 170 m ² /g] et Aérosil® 200 [12 nm ; hydrophile ; 200 m ² /g] à 30 mg/m ³	Toxicité Aérosil® 200 > R974.

✚ Contre

✓ Rats	i.T	Höhr et coll. [123]	NPs de TiO ₂ [20 et 180 nm ; surface modifiée par méthylation (hydrophobe) ou non (hydrophile)], à 1 ou 6 mg	- Pas de différence significative - Problème : méthylation incomplète ; seul la moitié des groupements hydroxyles est atteinte.
		Rehn et coll. [229]	TiO ₂ [20 nm], hydrophile (non traité) ou hydrophobe (traitement au triméthoxyoctylsilane)	-Aucune différence significative et Problème : proportion de sites hydrophiles modifiés inconnue.

8. Charge

✓ Hamster	i.T	Nemmar et coll. [194]	NPs de polystyrène [60 et 400 nm] à 500 µg.	Thrombose et inflammation => NPs de 60 nm chargées <u>positivement</u> .
-----------	-----	------------------------------	---	---

9. Métaux de transition/ NPs métalliques

✚ Pour

✓	Rats	i.T	Wilson et coll. [300]	CBUF [14 nm ; 253,9 m ² /g] à 62,5 ou 125 µg	↗ taux de neutrophiles (PNN) majoré par l'ajout de 100 µM de chlorure de fer FeCl₃.
✓	Rats Wistar	i.T	Zhang et coll. [312]	NPs de Nickel, cobalt et de TiO ₂ [tailles N.R]	Inflammation la plus faible pour TiO ₂
✓	Rats Sprague-Dawley	Inh.	Zhou et coll. [315]	NPs de fer [72 nm] à 90 µg/m ³ .	Activité inflammatoire faible (IL-1β et ferritine augmentées)

✚ Contre

✓	Rats Sprague Dawley	i.T	Brown et coll. [47]	CBUF [14 et 320 nm] : traitées ou non au DESFERAL® (chélateur de Fe ³⁺) à 500 µg	Inflammation identique pour tous.
---	---------------------	-----	----------------------------	--	-----------------------------------

10. Composés organiques

✚ Pour

✓	Rats et souris	Inh.	Heinrich et coll. [110]	NPs de TiO ₂ [Degussa P ₂₅ TM , 0,8 µm diamètre médian moyen, 48 m ² /g] à 10 mg/m ³ , 18 h/j, 5 j/sem	Rôle marginal toutefois.
✓	Souris	Inh.	Rouse et coll. [239]	NPs de suie issues de la combustion du butadiène, riche en Hydrocarbure Aromatique Polycyclique.	-

✚ Contre

✓	Rats femelles Fischer 344	Inh.	Gallagher et coll. [100]	- Printex® 90 [16 nm ; 300 m ² /g] - Sterling® V [70 nm ; 37 m ² /g, teneur en composé organique la plus élevée]	Aucun rôle génotoxique , puisque la particule responsable de formation de 8-oxodG est le Printex® 90.
---	---------------------------	------	---------------------------------	---	--

11. Stress oxydant

✚ Pour

➤ Production ERO

✓ Rats Wistar	i.T	Dick et coll. [77]	CBUF [14 nm; 253,9 m ² /g]	-
✓ Souris	i.T	Chang et coll. [55]	CBUF [14 nm; 253,9 m ² /g]	-

➤ Diminution du glutathion

✓ Rats	i.T	Li et coll. [167]	Printex®90 [14 nm; 253,9 m ² /g] à 125µg	-
✓ Souris C57BL/6	a.P	Shvedova et coll. [252]	SWCNT purifiés (0,23 % fer) à 0, 10, 20 et 40 µg	+ ↗ 4-hydroxynonenal (produit de peroxydation, cytotoxique)

➤ Induction gène marqueur de stress

✓ Souris	Inh.	Rouse et coll. [239]	NPs de suie issues de la combustion du butadiène, riche en Hydrocarbure Aromatique Polycyclique.	glutathion peroxydase 2 (GPX2), HO-1, NADPH quinone dehydrogenase 1 (NQO1), erythroid nuclear factor-derived 2-like 2 (Nfe2l2)
----------	------	----------------------	---	--

➤ Aberration chromosomique

✓ Souris	i.T	Kaewamatawong et coll. [137]	Silice colloïdale [14 nm] à 30 et 100 µg	Adduit d'ADN : le 8-OHdG****
----------	-----	------------------------------	--	------------------------------

✚ Contre

✓ Rats Wistar	i.T	Dick et coll. [77]	TiO ₂ UF [20 nm; 49,8 m ² /g]	Absence d'ERO
---------------	-----	--------------------	---	----------------------

12. Dose cumulée (mg.m³/h)

✓ Rats et souris	Inh.	Heinrich et coll. [110]	NPs de TiO ₂ [Degussa P ₂₅ TM , 0,8 µm diamètre médian moyen, 48 m ² /g] à 10 mg/m ³ , 18 h/j, 5 j/sem	Corrélée avec la formation de tumeurs.
------------------	------	-------------------------	---	---

13. Biopersistance

✓	Rats Sprague-Dawley femelles	i.T	Müller et coll. [191]	MWCNT et des MWCNT broyés à 0,5 - 2 ou 5 mg	80 % des MWCNT et 40 % des MWCNT dans les poumons 60 jours post-instillation, Cinétique clairance serait influencée par la longueur
✓	Rats Wistar WU	i.T	Ernst et coll. [89]	Aérosil®150 [14 nm ; 150 m ² /g]	Faible : demi-vie de 11 jours
✓	Cobayes albinos	Inh.	Schepers et coll. [249]	Silice pyrogénée [20 nm ; 169 m ² /g] à environ 53 mg/m ³	Elimination 30 % des particules en 2 semaines après un an d'exposition.
✓	Rats Wistar	Inh.	Oyabu et coll. [209]	NPs de NiO [taille N.R]	T _{1/2} = 62 jours
✓	Rats mâles Fisher 344	Inh. Et i.T	Ferin et coll. [91] et Oberdörster et coll. [198], [199]	TiO ₂ UF : - inh. : [250 nm] à 23,0 mg/m ³ et [21 nm] à 23,5 mg/m ³ , - i.T : [12, 21, 230 ou 250 nm] 500 µg	Demi-vie pulmonaire de 501 jours [21 nm] et de 174 jours [250 nm].
✓	Rats	Inh.	Baker et coll. [25]	C ₆₀ [55 et 930 nm] à 2,22 et 2,35mg/m ³	T _{1/2} similaires (26 et 29 jours) mais charge pulmonaire et inflammation post exposition plus forte pour celles de 55 nm.

* Dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) phospholipide intervenant dans le maintien de la tension superficielle alvéolaire et par conséquent, des propriétés mécaniques du poumon [2].

* * Alcool polyvinylique (PVA), agent émulsifiant.

*** *Nuclear Factor-kappa B*, activateur de la transcription, agissant sur de multiples gènes notamment responsables de prolifération et différenciation cellulaire. NF kappa B est activé et migre dans le noyau après dégradation d'IKB (*inhibitor of NFkB*) via phosphorylation par des IKK (IKB kinases), elles-mêmes activées par des cascades enzymatiques [6].

**** 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine, il s'agit d'une lésion de l'ADN pulmonaire provoquée par le stress oxydant.

Tableau 2 – Données épidémiologiques concernant les paramètres physico-chimiques à prendre en compte pour la détermination de la toxicité des nanoparticules.

Endpoints et échantillon de populations considérées	Auteurs	Particules	Observations
1. Le nombre			
➤ <u>Fraction de dépôt en nombre inversement corrélée à la taille :</u>			
✓ 12 sujets sains au repos et 7 autres sujets effectuant un effort modéré.	Daigle et coll. [66]	NPs de carbone [diamètre médian de 26 nm]	Plus élevée pendant l'exercice. (4,5 fois)
✓ 16 volontaires affectés d'asthme léger à modéré : au repos puis à l'exercice.	Chalupa et coll. [53]	NPs de carbone [23 nm]	Idem.

➤ <u>Diminution des valeurs spirométriques (DEP*, VEMS**...) inversement corrélée au nombre de NPs :</u>			
✓ 27 asthmatiques non fumeurs	Peters et coll. [220]	NPs [< 100nm ; 73 % en nombre] et NPs [entre 100 et 500 nm ; 82 % en masse]	+ ↗ toux
✓ 54 asthmatiques adultes	Penttinen et coll. [216]	NPs [< 100 nm ; concentration moyenne en nombre 14,500/cm ³], NPs [0,1 à 1 µm ; 800/cm ³], PM _{2.5} [< 2,5 µm ; concentration moyenne en masse 8,4 µg/m ³ et PM ₁₀ [< 10 µm ; 13,5 µg/m ³]	
✓ Groupe de 57 asthmatiques	Penttinen et coll. [217]	Pollution particulaire atmosphérique (NR)	

➤ **Accroissement du risque de décès suite à une augmentation des niveaux en NPs dans l'atmosphère :**

- ✓ Toutes personnes décédées à Erfur (Allemagne) entre 1995 et 2001 de manière immédiate, de mort cardio-respiratoires et respiratoires (sélection au cas par cas)

Stölzel et coll. [262]

NPs de l'atmosphère [0,01 à 0,03 μm : 2/3 de la concentration en nombre de la fraction totale des particules 0,01 à 0,1 μm].
La concentration en masse des NPs de 0,1 à 0,5 μm représentait 75 % de la concentration en masse de la fraction totale des particules de 0,01 à 2,5 μm .

NB : aucune association n'a été observée entre la mortalité (totale ou spécifique) et niveaux en masse de particules comprises entre 0,1 et 2,5 μm

* Débit expiratoire de pointe.

** Capacité vitale forcée, volume expiratoire maximal en 1 seconde.

2. Discussion

Au vue des 2 tableaux précédents, force est de constater que bien des paramètres ont été étudiés. Bien que tous paraissent pertinents, certains n'ont été que trop peu étudiés pour les NPs. Le but de cette partie est d'apporter quelques informations supplémentaires ne pouvant figurer dans les tableaux ci-dessus et ce pour les principaux paramètres cohérents retenus.

2.1. La taille

Ce facteur est par définition important du fait qu'il conditionne l'appartenance au monde nano ou pas. Il s'est révélé être inversement corrélé aux effets inflammatoires ou cytotoxiques observés précédemment dans le *tableau 1*. Aussi, la taille régit la surface ; plus la particule est petite et plus celle-ci croît (*Tableau 3*) et le nombre de particules par unité de masse, multiplié par 10^6 lorsque le diamètre passe de 100 nm à 1 nm. La *figure 2* rappelle clairement que le rapport surface/volume et le nombre de molécule en surface est fonction de ce diamètre.

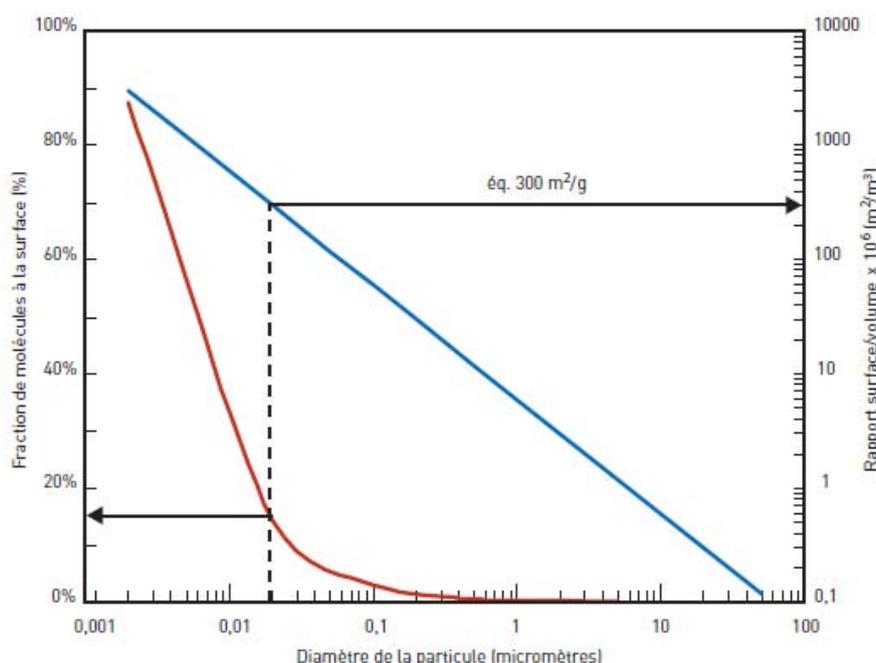


Figure 2 - Evolution du rapport surface/volume (en bleu) et de fraction des molécules présentes à la surface de la particule (en rouge) en fonction du diamètre. (*Witschger et Fabriès [304]*)

De plus, contrairement aux particules plus grosses dont le déplacement dans l'air est régi majoritairement par les lois de l'inertie, les NPs se rapprochent du comportement d'un gaz, obéissant aux forces de diffusion dont le coefficient est inversement proportionnel à la taille : retenons donc qu'elles diffuseront rapidement et pourront se retrouver à grande distance d'une source [206]. Cette mobilité, ajoutée à la concentration en nombre, définira la vitesse d'agglomération des particules d'un aérosol donné ; les particules de 1 nm à 100 nm ont tendance à s'agglomérer rapidement par nucléation alors que pour une taille de l'ordre de 100 nm, elles se mettent à croître moins rapidement jusqu'à une taille de 2000 nm [206]. Par ailleurs, ce paramètre « taille » déterminera une fois encore le site de déposition pulmonaire, cette notion sera abordée plus en détail au chapitre 2. Du point de vue biologique, elle régit également l'efficacité de la phagocytose: impossible pour les particules trop grosses (supérieures à 20 µm), elle sera moins efficace pour des particules très petites (inférieures à 20 nm) [115]. Les interactions avec les protéines du milieu ne sont pas non plus à négliger ; et selon **Hervé-Bazin [115]** « Plus les particules sont grosses, plus les protéines sont susceptibles d'avoir de points de fixation à leur surface, ce qui engendre des modifications de leur conformation, et parfois leur dénaturation. » Enfin, elle détermine également leur internalisation, plus aisée, dans le parenchyme pulmonaire ou leur pénétration dans les cellules [2].

2.2. Le nombre

L'ensemble des données épidémiologiques retrouvées, figurant dans le *tableau 2*, lui confère un intérêt particulier puisqu'il serait corrélé à la morbi-mortalité respiratoire dans certains épisodes de pollutions urbaines ou professionnelles. Aussi, les travaux *in vivo* attirent l'attention sur le fait qu'il serait susceptible de régir la translocation vers l'interstitium (*Tableau 1*). Ces observations permettent de conclure sur l'importance de tenir compte de ce facteur comme le préconise **Brouwer et coll. [45]** ou encore **Tsuji et coll. [276]**. Néanmoins, il faudra rester vigilant concernant l'interprétation des données épidémiologiques car celle-ci est rendue difficile de par la variabilité physico-chimique de l'aérosol ou encore comme le signale **Hervé-Bazin [114]** par la présence de co-polluants tels le monoxyde de carbone, l'oxyde d'azote ou l'ozone, dont les concentrations varient parallèlement avec celles de NPs.

2.3. La surface

Un des premiers à s'être intéressé au paramètre « surfacique » n'est autre qu'Oberdörster. Dès 1990, il en vient à conclure que seul le paramètre « surface » permet de percevoir une relation dose-réponse dans l'incidence de tumeur pulmonaire chez l'animal [202]. Une des explications de cet intérêt réside dans le fait qu'à quantité de matière équivalente (soit un gramme de matière présentant une densité de 10 g/cm^3), la surface d'interaction particules/environnement croît de façon remarquable lorsque le diamètre de la particule diminue (Tableau 3). En effet, celle-ci conduit à une augmentation de la proportion d'atomes présents en surface [2] (Tableau 4). Attention, il faut toutefois distinguer aire (cm^2) et surface spécifique ; mesurée selon la méthode de Brunauer, Emmett et Teller (BET) via la quantité de gaz adsorbé, généralement du diazote, et exprimée en m^2/g . Toutefois, ces 2 grandeurs ne sont pas toujours équivalentes et évoluent de façon différente en fonction de la densité [133].

Tableau 3 - Surface spécifique (exprimée en m^2 par g de matière) et nombre de particules par g de matière en fonction du diamètre des particules et pour deux densités (2 et 10 g/cm^3). (Afsset [2])

Diamètre (nm)	Surface m^2/g densité = 10 g/cm^3	Surface m^2/g densité = 2 g/cm^3	Particules /g densité = 10 g/cm^3	Particules /g densité = 2 g/cm^3
1	600	3000	$1,9 \cdot 10^{20}$	$9,6 \cdot 10^{20}$
2	300	1500	$2,4 \cdot 10^{19}$	$1,2 \cdot 10^{20}$
4	150	750	$3,0 \cdot 10^{18}$	$1,5 \cdot 10^{19}$
6	100	500	$8,8 \cdot 10^{17}$	$4,4 \cdot 10^{18}$
8	75	375	$3,7 \cdot 10^{17}$	$1,9 \cdot 10^{18}$
10	60	300	$1,9 \cdot 10^{17}$	$9,6 \cdot 10^{17}$
12	50	250	$1,1 \cdot 10^{17}$	$5,5 \cdot 10^{17}$
14	43	214	$7 \cdot 10^{16}$	$3,5 \cdot 10^{17}$
16	38	188	$4,7 \cdot 10^{16}$	$2,3 \cdot 10^{17}$
18	33	167	$3,3 \cdot 10^{16}$	$1,6 \cdot 10^{17}$
20	30	150	$2,4 \cdot 10^{16}$	$1,2 \cdot 10^{17}$
30	20	100	$7,2 \cdot 10^{15}$	$3,5 \cdot 10^{16}$
40	15	75	$3 \cdot 10^{15}$	$1,5 \cdot 10^{16}$
60	10	50	$8,9 \cdot 10^{14}$	$4,4 \cdot 10^{15}$
80	8	38	$3,8 \cdot 10^{14}$	$1,9 \cdot 10^{15}$
100	6	30	$1,9 \cdot 10^{14}$	$9,6 \cdot 10^{14}$

Tableau 4 - Evolution du pourcentage d'atomes situés en surface en fonction du nombre d'atomes (par motif) constituant une nanoparticule. (Afsset [2], d'après Schmidt, 2001)

		Nombre total d'atomes	Atomes en surface (%)
Un motif		13	92
Deux motifs		55	76
Trois motifs		147	63
Quatre motifs		309	52
Cinq motifs		561	45
Sept motifs		1415	35

Les études expérimentales analysées précédemment dans le *tableau 1* paraissent contradictoires sur le sujet : ainsi, sur 6 modèles *in vitro* et 15 études *in vivo* chez l'animal, 3 et 5 publications sont en défaveur de ce paramètre. Toutefois, la plupart des auteurs et des communiqués scientifiques la considère comme le facteur important. Certaines équipes arrivent à une conclusion très intéressante pouvant expliquer les différences observées ; ainsi, **Maynard et Maynard [176]** confirment sur la base d'un modèle mathématique les hypothèses selon lesquelles, à faible concentration, la coagulation des particules est négligeable, conduisant à une relation linéaire entre la surface et la masse mais en revanche, à forte concentration, la coagulation devient prédominante et la relation entre ces deux paramètres devient curvilinéaire. **Lison et coll. [170]** via un modèle *in vitro* (macrophages péritonéaux de souris) et *in vivo* (instillation intratrachéale chez la souris) témoignent qu'un

échantillon fraîchement broyé est d'une activité comparable à celle d'un échantillon non broyé de surface spécifique très supérieure, suggérant que la surface spécifique ne peut être l'unique paramètre à considérer et que l'agrégation/désagrégation des particules pourrait la conditionner.

2.4. Agglomération-agrégation

Witschger et Fabriès [305] désignent par « agglomérat » un groupe de particules dont la cohésion relève des forces de Van der Waal, des forces électrostatiques ou des forces développées par les tensions de surface, par opposition à un agrégat où les particules sont plus fortement liées et ne peuvent donc plus se séparer. Ces agglomérats/agrégats (*figure 3*), peuvent avoir des formes complexes, d'ailleurs comme vu précédemment ce facteur pourrait être important car il conditionne la surface mais également le comportement de la NPs dans l'air ainsi que son dépôt dans les voies respiratoires.

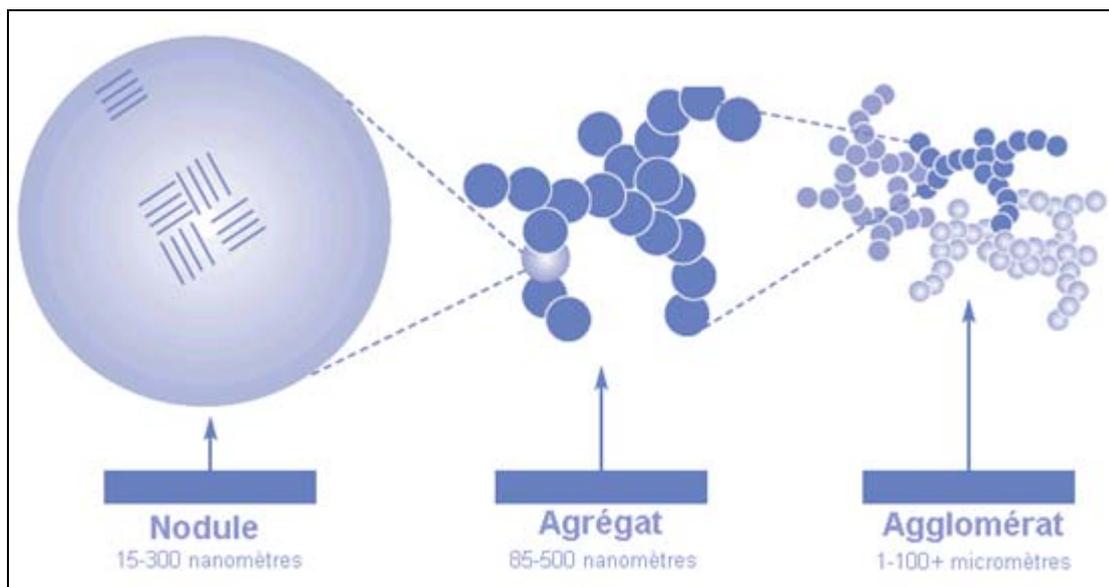


Figure 3 - De la particule à l'agglomérat. (*Service du répertoire toxicologique du Commission de la Santé et de la Sécurité du travail [9] ; adapté de l'International Carbon Black Association*).

La formation d'agrégat ou d'agglomérat dépend avant tout du temps de séjour dans l'air de la particule et implique donc la notion de vieillissement qui reste un paramètre peu étudié à ce jour. Par ailleurs, la perte de toxicité des particules agrégées observée chez **Oberdörster [196]** indique l'existence de groupements réactifs à la surface des particules,

perdus avec ce phénomène d'agrégation/agglomération. Enfin, au niveau cellulaire, il pourrait en théorie, modifier la pénétration de NPs dans ou à travers la cellule [2].

2.5. Activités de surface

2.5.1. Hydrophilie

Le degré d'hydrophilie d'un solide reflète l'aptitude de sa surface à fixer l'eau et par conséquent il renseigne sur sa faculté d'interactions avec l'organisme. Les principaux groupements fonctionnels étudiés, donnant un caractère hydrophile aux NPs, sont les hydroxyles (-OH) dont font partie les silanols (-SiOH), les carboxyles (-COOH) ou encore les amines (-NH₂). Le traitement thermique, souvent décrit, favorise la condensation des SiOH en pont siloxane (Si-O-Si), réduisant ainsi l'hydrophilie [97]. La plupart des études expérimentales statue que ce facteur est responsable d'un renforcement de la toxicité des NPs et pourrait également jouer un rôle dans l'induction de médiateurs pro-inflammatoires ou encore réduire l'efficacité de la phagocytose (*Tableau 1*). En effet, **Fubini [97]** rapporte que l'opsonisation dépend du degré d'hydrophilie des NPs : seules les plus hydrophobes sont les plus rapidement recouvertes d'opsonines (anticorps, système du complément...) et par conséquent les plus rapidement éliminées.

2.5.2. Charge

L'existence de charges électriques superficielles pourrait contribuer à l'adsorption de protéines de charge opposée ou encore des interactions avec les membranes cellulaires ou nucléaires [97]. Bien que ce paramètre présente un intérêt, surtout depuis l'observation de thromboses survenues chez le rat, peu de travaux se sont penchés dessus.

2.5.3. Stress oxydant

C'est un mécanisme d'agression cellulaire faisant suite à un déséquilibre entre antioxydants, regroupant l'acide ascorbique (Vitamine C), l'acide urique, et le glutathion (GSH) ; et oxydants, comprenant espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN). Classiquement, ces espèces oxydantes regroupent l'oxygène singulet (¹O₂), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le nitroperoxyde (ONOOH), le peroxyde d'azote (ONOO⁻), l'ion hypochlorite

(ClO⁻) et les radicaux libres ; l'anion superoxyde (O₂^{•-}), le radical hydroxyle (OH[•]), le monoxyde d'azote (NO[•]), le radical peroxyde (ROO[•]) et le radical alkoxyde (RO[•]) [11]. Rappelons qu'un radical n'est autre qu'une espèce chimique possédant un électron non apparié sur son orbitale externe lui conférant ainsi une très grande réactivité, expliquant une durée de vie de l'ordre de 10⁻³ à 10⁻⁶ seconde. Ce phénomène de stress est donc la conséquence d'une déplétion en antioxydants via inactivation des enzymes les produisant et/ou d'un afflux d'ERO important neutralisant les défenses. La formation de ces ERO par les NPs s'effectuerait notamment via les métaux de transition, les composés organiques et les groupements radicalaires présents à leur surface. Néanmoins, du fait de la lyse cellulaire décrite dans certaines publications, une partie des ERO mesurés pourrait directement provenir de la cellule, par exemple lors des mécanismes enzymatiques mitochondriaux de « respiration cellulaire » (cytochromes et superoxyde dismutase) ou de l'explosion oxydative (« *burst oxydatif* ») dans les vacuoles des PNN et macrophages durant la phagocytose des NPs (NADPH oxydase). Rappelons que ces ERO, une fois dans le milieu biologique, engendrent des phénomènes de peroxydation lipidique, de glycoxydation, d'oxydation des protéines ; ou induisent coupures, oxydations et formation d'adduits sur l'ADN et de mutations, conduisant à des anomalies de la multiplication cellulaire, de la synthèse protéique et de la transmission du message génétique [11].

La majorité des études expérimentales *in vitro* et *in vivo* proposées au *tableau 1* et exposées dans ce travail, démontrent clairement que c'est un paramètre important dans la toxicité des NPs. D'ailleurs sa présence est souvent associée à une réaction inflammatoire. L'hypothèse de ce mécanisme a été décrite par **Donaldson et coll. [83]** ; en induisant un déséquilibre redox au sein des cellules, les NPs provoqueraient une acétylation des histones entraînant la décompaction de l'ADN et par conséquent l'accès des complexes de transcription aux régions promotrices des gènes, permettant ainsi le déroulement de la transcription. Les ERO induisent également, de façon directe ou via la concentration cytosolique en Ca²⁺, l'expression du système nucléaire de NF-κB contrôlant la transcription des gènes codant des médiateurs inflammatoires tels les TNFα, IL-8, IL-2, IL-6 ou GM-CSF (*Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor* ou facteur de croissance granulocytaire) (*figure 4*).

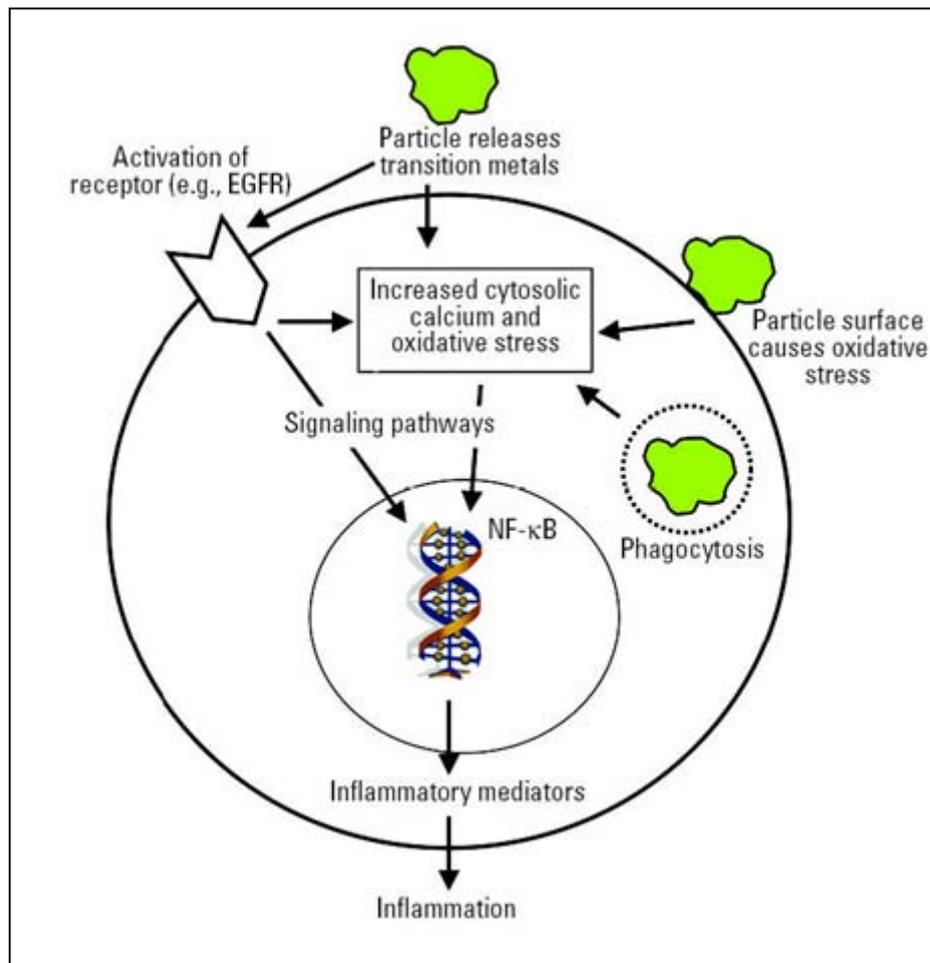
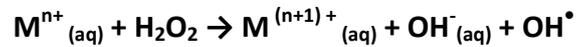


Figure 4 - Mécanisme hypothétique d'interactions cellule-NPs. (Oberdörster et coll. [201]; adapté d'après Donaldson et coll. [82])

Comme en témoigne la *figure 4*, l'EGFR, récepteur du facteur de croissance épidermique (EGF ; régulant croissance et différenciation des cellules épithéliales et conjonctivales), serait susceptible d'induire stress oxydant et inflammation via son activation par les NPs. Ceci est d'autant plus plausible qu'il est fortement exprimé chez les patients asthmatiques, conduisant à la surproduction de mucus et à l'épaississement de la membrane basale [21]. Outre son implication dans le stress oxydant, **Sydlik et coll. [269]** ont fait la parallèle entre stimulation de l'EGFR par les NPs et mécanismes d'apoptose ou de prolifération (à l'origine de fibrose et cancer). Toutefois, il n'a pas été démontré de quelle mesure elle conduit à l'un ou à l'autre. Néanmoins l'interaction ou non de l'EGFR avec les récepteurs membranaires aux intégrines semblerait décider de la destinée de la cellule.

Les facteurs responsables de la production particulière d'ERO, les études expérimentales en soulèvent 3 distincts associés à leur formation. Tout d'abord, les métaux (M) ; décrits dans une dizaine de travaux *in vivo* ou *in vitro* (Tableau 1). Ils sont pourvoyeurs de radicaux libres notamment de radical hydroxyle via la réaction de Fenton :



Une autre réaction permet également de produire un anion superoxyde :



L'anion superoxyde est, quant à lui, capable de donner un radical hydroxyle en présence d'une seconde molécule de H_2O_2 via la réaction d'Haber-Weiss :



Ainsi, **Pritchard et coll. [224]** mettent la concentration de fer en corrélation directe avec la peroxydation des lipides. Toutefois, les métaux ne posséderaient pas tous le même potentiel oxydatif. Usuellement, les plus réactifs, *in vitro*, sont Fe et Cu [97]. **Shi et coll. [251]** ont d'ailleurs démontré que les particules recouvertes de Cu^{2+} produisent 4 fois plus de radicaux hydroxyles que celles avec du vanadium et 8 fois plus que celles avec du fer alors que celles avec du nickel sont moins réactives. **Borm et coll [39]** ont mis en évidence que la réactivité est également fonction du degré d'oxydation, cette théorie est également décrite par **Shi et coll. [251]** où le Fe^{2+} est 3 fois plus actif que le Fe^{3+} . Enfin, il est également concevable que des NPs puissent agir de manière synergique avec des métaux présents dans leur environnement, comme cela a été observé chez **Wilson et coll. [300]**. La présence de métaux à la surface ne suffit pourtant pas toujours à expliquer la capacité des NPs à produire des espèces radicalaires. Ainsi, **Donaldson [78]** et d'autres précédemment cités (Tableau 1), la mettent en relation avec l'existence de composés organiques présents à la surface tels les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Néanmoins, certains auteurs ne considèrent pas qu'ils y jouent un rôle prépondérant [115]. Enfin, des espèces radicalaires peuvent voir le jour suite à l'action de radicaux de surface. **Fubini [94]** présente la rupture homolytique sur des surfaces siliciques ou par broyage comme génératrice de Si^\bullet Et SiO^\bullet , pouvant à leur tour réagir avec des composants atmosphériques, donnant ainsi un radical silylperoxy et un anion superoxyde.

2.6. Biopersistance

Traduit de l'anglais « *biopersistence* », ce néologisme signifie « durée de résidence » des particules au sein d'un organe. Le dépôt, la clairance, la rétention, la translocation et la dissolution des particules inhalées sont autant de facteurs importants pour déterminer la biopersistance et peuvent être corrélés aux dommages pulmonaires [270]. Son évaluation est donc cruciale pour prédire la toxicité d'une NP donnée. (figure 5) La biopersistance, résultante des caractéristiques physico-chimiques des particules, aura un rôle très important dans l'induction et la persistance des réactions inflammatoires.

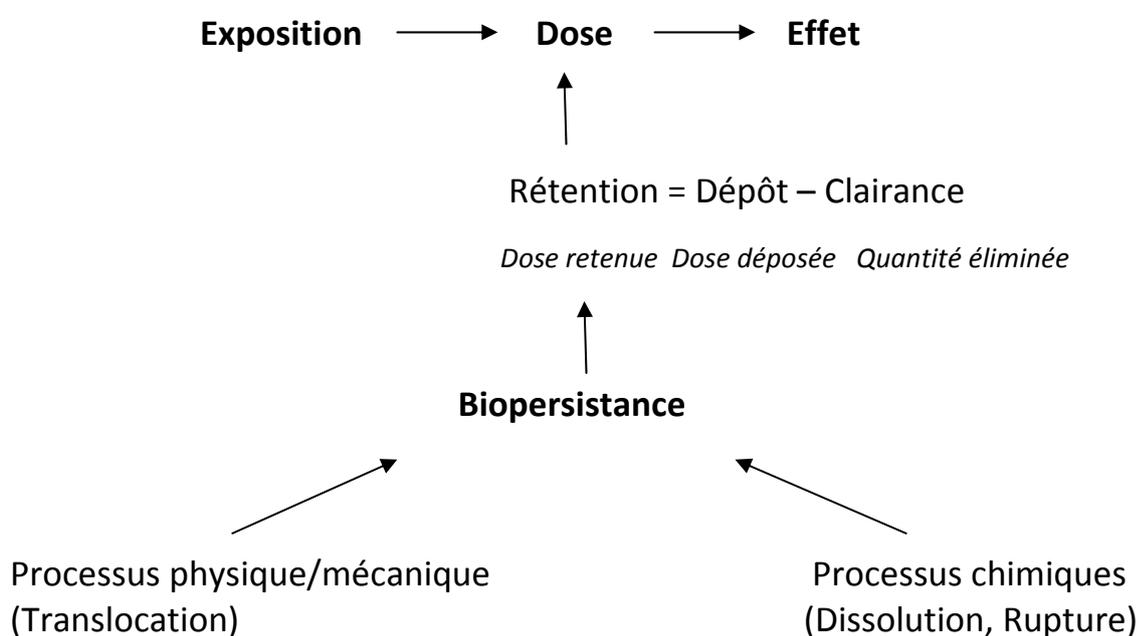


Figure 5 - Relation entre exposition-dose-effet des particules inhalées. (Toussaint [270] ; adapté d'après Oberdörster et coll. [201])

La dose initialement déposée n'est pas un paramètre décisif puisque les particules peuvent être éliminées à des vitesses variables. En revanche, la dose retenue en est un. Celle-ci doit être exprimée en volume de particules ou en surface. Elle est le résultat de la biopersistance, elle-même fondée sur le mécanisme de clairance et diffère entre les compartiments pulmonaires [270]. L'efficacité de la phagocytose conditionne donc la biopersistance. Les effets pulmonaires plus importants des NPs, comparés aux particules micrométriques, peuvent être expliqués par leur grande surface, leur accès plus important à

l'interstitium et leur biopersistance, tout ceci ayant pour résultat une augmentation de leur rétention [270]. Enfin, la modélisation mathématique d'Hofmann et coll. [122] suggère l'existence d'un mécanisme de transcytose (les NPs traverseraient la cellule sans s'y arrêter) d'autant plus important que les NPs sont plus petites.

3. Conclusion

Au vue de ce chapitre, nous pouvons déduire que dans le cas des NPs, plusieurs paramètres semblent régir la toxicité. En effet, taille, nombre, surface, agrégation, activités de surface, biopersistance et type de particule (cf. chapitre 3) sont autant de facteurs cohérents et à retenir. Néanmoins, difficile est de convenir dans quelle mesure chacun est impliqué du fait du manque d'étude et de connaissances ou tout simplement du fait du parasitage des échantillons par des particules fines. Aussi la forme (une NP fibreuse serait plus toxique qu'une NP sphérique [2]), la cristallinité, les forces électrostatiques ou encore la présence d'endotoxines à la surface seraient autant de paramètres à relever [207] (figure 6).

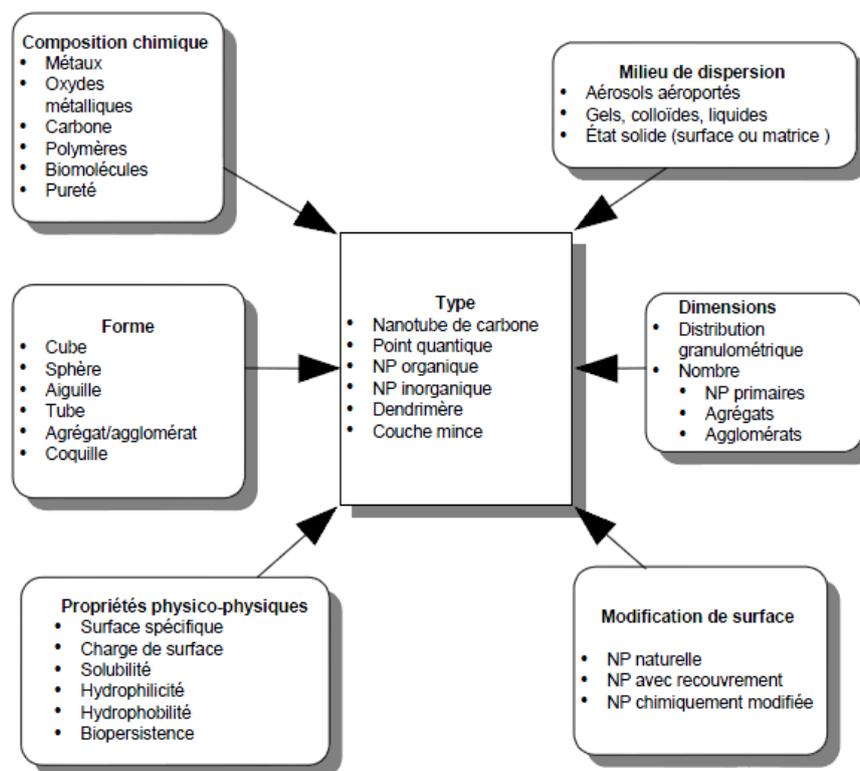


Figure 6 - Paramètres physico-chimiques des NPs. (Ostiguy et coll. [207])

CHAPITRE 2 - NANOPARTICULES ET VOIES PULMONAIRES

L'apparition de technologies plus modernes, ainsi que certaines parutions scientifiques ont permis de mettre en évidence une autre fraction de l'aérosol atmosphérique jusqu'alors inconnue comprenant les particules ultrafines (PUF) ou plus communément appelées nanoparticules. Bien que négligeables dans celui-ci en termes de « volume » ou de « masse » face aux particules fines ou grossières, elles représentent la fraction la plus importante en termes de « nombre » ou encore de « surface » comme en témoigne la *figure 7*.

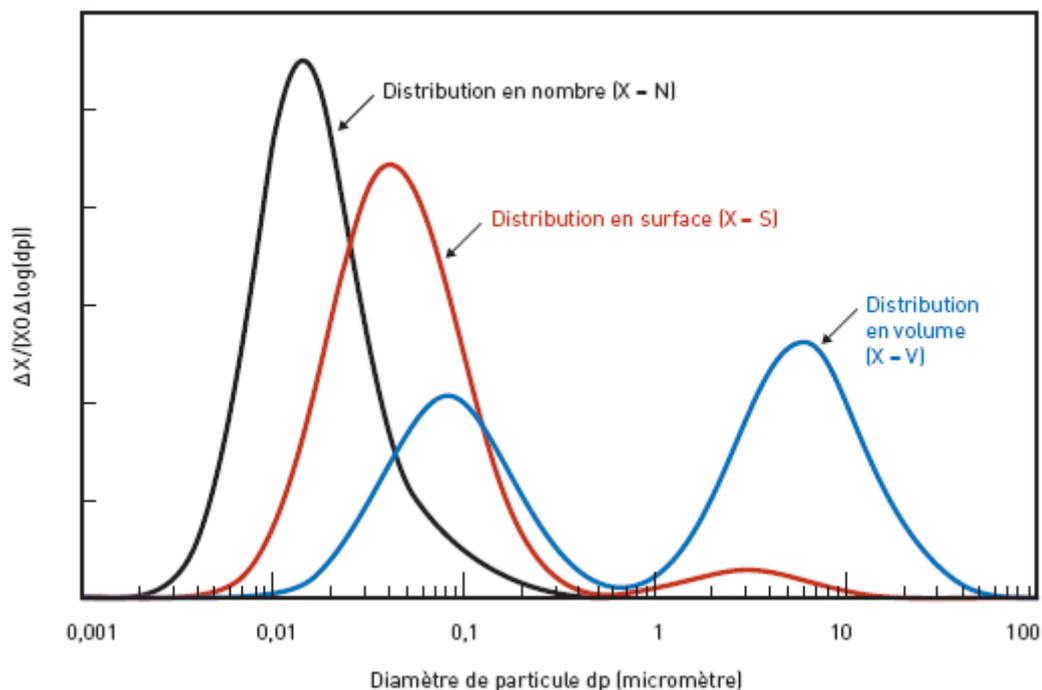


Figure 7 - Distributions granulométriques moyennes caractéristiques d'aérosol atmosphérique en environnement urbain suivant les trois modes de représentation en nombre, surface et volume. (Witschger et Fabriès [304])

La voie pulmonaire est donc, sans conteste, la principale voie d'entrée de particules et plus précisément de NPs. Ainsi, elle représente un intérêt majeur non seulement dans la compréhension ou la mise en évidence de la toxicité, mais aussi, dans la protection des

populations exposées. Seulement, l'analyse de la toxicité des NPs des aérosols issus de la pollution atmosphérique ou des activités humaines en milieu professionnel, comme la compréhension des mécanismes physiopathologiques impliqués, requièrent quelques connaissances de base concernant leur comportement dans l'air, leurs sources ou leurs propriétés susceptibles d'interagir avec l'organisme.

1. Généralités sur l'aérosol

1.1. Définition de l'aérosol

Un aérosol est une suspension de particules solides comme les NPs ou liquides dispersées dans un gaz. Comme indiqué précédemment dans le chapitre introduction, l'ensemble de la communauté scientifique considère que ces particules correspondent à des diamètres inférieurs à 100 nm. Toutefois, des agrégats ou des agglomérats de NPs, dépassant largement les 100 nm comme c'est le cas dans les fumées de soudage, pourront être nommés à raison « particules nanostructurées » [302] Le diamètre serait toutefois un des principaux indicateurs requis mais loin d'être une mesure absolue : s'il s'avère exact dans le cas des particules sphériques, il reste plus approximatif pour des éléments de géométrie plus irrégulière (*Tableau 5*). La notion de « diamètre aérodynamique équivalent » s'avère alors intéressante. En effet, celle-ci correspond au diamètre qu'aurait une particule de masse volumique équivalente à celle de l'eau, ayant la même vitesse de chute dans l'air calme que la particule considérée [160]. Dès lors, une classification (*Tableau 6*), peut servir lors des phénomènes d'agglomération particulaire ayant lieu au sein de l'arbre bronchique, en raison d'un diamètre subitement différent, leur secteur de déposition pourrait en être changé [2]. Il faut considérer l'aérosol ultrafin dans l'ensemble du domaine submicronique, c'est-à-dire de 1 nm à 1 µm, en raison de l'existence d'agglomérats [305]...

Tableau 5 - Principales formes de particules. (Lamy [160])

Forme	Apparence	Nature	Formation
Sphérique		Fumées Pollens Cendres	Condensation Dispersion Combustion
Irrégulière cubique		Minéraux	Désintégration Mécanique
En plaques		Minéraux Epiderme	Désintégration Mécanique
Fibreuse		Fibres végétales et minérales	Dispersion Désintégration Mécanique
En agrégats		Noir de charbon Fumées	Evaporation et condensation

Tableau 6 - Classification par type d'aérosol solide. (Lamy [160])

Solide	Diamètre aérodynamique équivalent (μm)
<u>Poussière</u> : particulesolide formée par un processus mécanique de désintégration de la matière première (meulage, sciage, polissage, sablage...)	> 1
<u>Fumée de combustion</u> : particule solide formée par un processus de combustion incomplète de matières organiques (incendie, fours à coke, moteurs à combustion, brûleurs à gaz...)	0,01 à 1
<u>Fumée de condensation</u> : particule solide formée par un processus de condensation d'une vapeur de métal (soudure, coulée de fonderies)	0,001 à 1
<u>Fibre</u> : particule solide formée par un processus mécanique dont le rapport longueur/diamètre est supérieur à 3 (amiante, laine minérale, fibre textile...)	> 0,003

1.2. Sources

« Leur présence dans l'environnement est due au phénomène de nucléation et de condensation de gaz et de vapeur, aux émissions industrielles et aux émissions des moteurs. » [305]. Le tableau 7 résume les principales sources d'émission réalisée par l'activité humaine.

Tableau 7 - Sources potentielles d'émission secondaire des PUF. (INRS [7])

Sources potentielles d'émissions secondaires de PUF	
Type de procédé	Exemples de sources d'émission
Procédés thermiques	Fonderie et affinage des métaux (acier, aluminium, fer, etc.), Métallisation (galvanisation, etc.) Soudage et gougeage Coupage de métaux (laser, torche thermique, etc.) Traitement thermique de surface (laser, projection thermique, etc.) Application de résines, de cires, etc.
Procédés mécaniques	Usinage Ponçage Perçage Polissage
Combustion	Emissions de moteur diesel, essence ou gaz Centrale d'incinération, thermique, crémation Fumage de produits alimentaires Chauffage au gaz

2. Rappels anatomiques et physiologiques sur le système pulmonaire^[4] et [237]

L'appareil respiratoire permet un échange gazeux entre le sang des veines et l'air atmosphérique en fournissant au sang l'O₂ (dioxygène, élément essentiel dans les réactions fournissant de l'énergie au corps humain) et en expulsant les déchets gazeux de l'activité tel que le CO₂ (dioxyde de carbone). Il comprend les poumons qui participent à l'acheminement de l'air et à l'échange gazeux.

2.1. Les voies aériennes supérieures : extra-thoraciques

2.1.1. Le nez

- Situation : la cavité nasale est la première des voies respiratoires, c'est une grande cavité divisée en 2 cavités égales par un septum. Elle communique avec les sinus paranasaux et le pharynx,
- Muqueuse : elle est bordée par un épithélium cylindrique cilié, très vascularisé et possédant des cellules caliciformes sécrétant du mucus dont le rôle est d'éviter le dessèchement des muqueuses, de protéger des agressions chimiques ou permettant de piéger les particules contenues dans l'air afin qu'elles ne puissent atteindre les alvéoles...Ce mucus est alors évacué via le mouvement synchronisé des cils le remontant vers la gorge pour y être dégluti,
- Rôle : réchauffement, humidification, filtration grossière et olfaction.

2.1.2. La bouche

2.1.3. Le pharynx

- Situation : c'est un conduit de 12 à 14 cm de long, structuré en 3 parties :
 - ✓ Nasopharynx (partie supérieure, se situe derrière le nez au dessus du palais mou),
 - ✓ Oropharynx (partie orale, derrière bouche, du palais mou jusqu'à la partie supérieure de la 3^e cervicale),
 - ✓ Laryngopharynx (va de la C3 à C6 c'est-à-dire jusqu'au début de l'œsophage).
- Muqueuse : le nasopharynx est un épithélium cylindrique cilié alors que l'ensemble restant des autres structures est constitué d'un épithélium pavimenteux stratifié,
- Rôle : humidification, conduction, phonation, protection immunitaire (amygdales), goût, audition.

2.1.4. Le larynx

- Situation : de la base de la langue et de l'os hyoïde jusqu'à la trachée, il siège devant le laryngopharynx.

- Il est constitué de :
 - ✓ Cartilage hyalin : 1 cartilage thyroïde, 1 cartilage cricoïde, 2 cartilages aryténoïdes,
 - ✓ Fibrocartilage élastique : 1 épiglotte (évite la pénétration d'aliments vers les poumons),
- Rôle : humidification, filtration, réchauffement, protection des voies respiratoires, conduction, production de sons (cordes vocales).

2.2. Les voies aériennes inférieures : intra-thoraciques

2.2.1. Zone de conduction

- voies extra-pulmonaires :
 - ✓ **La trachée (10 cm)**
 - ❖ Elle fait suite au larynx, se situe devant l'œsophage et descend jusqu'à la 6^e vertèbre thoracique, puis se divise en 2 bronches souches principales au niveau de la carène.
 - ❖ Elle est maintenue ouverte par 16 à 20 anneaux de cartilage hyalin en forme de C et 3 couches tissulaires différentes la constituent, dont une couche interne est un épithélium cylindrique cilié.
 - ❖ Rôles : Tapis mucociliaire, réflexe de toux, conduction et réchauffement de l'air.
- voies intra-pulmonaires (figure 8):
 - ✓ **Bronches souches:**
 - ❖ **Bronche principale droite :** plus grosse, plus courte (2,5cm) et plus verticale que la gauche. Après être entrée dans le poumon droit au niveau du hile, elle se divise en 3 branches, une pour chaque lobe pulmonaire,
 - ❖ **Bronche principale gauche :** longue de 5 cm, elle se divise en 2 branches après avoir franchi le hile du poumon gauche.

- bronches lobaires
- bronches segmentaires
- bronchioles

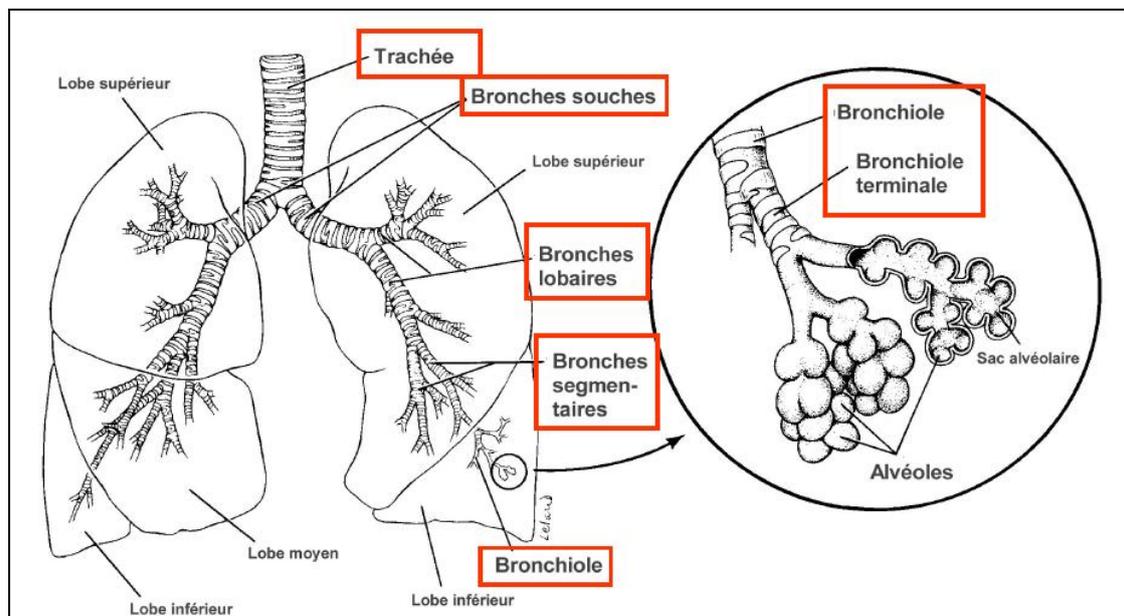


Figure 8 - L'arbre pulmonaire. (Bourbonnais [42])

Les bronches sont tapissées par un épithélium cylindrique cilié mais lors de leur ramification en bronchioles, l'épithélium se transforme en épithélium cuboïde non cilié. Le calibre des bronches est régulé via les systèmes parasympathiques (bronchoconstriction) et sympathique (bronchodilatation) agissant sur la musculature lisse de l'arbre bronchique. Ces bronches jouent alors les mêmes rôles que pour les voies aériennes supérieures avec néanmoins la possibilité de réguler un débit en variant la dimension des conduits.

2.2.2. Zone respiratoire (zone d'échange gazeux)

- Bronchioles respiratoires

- *Alvéoles pulmonaires (Figure 9)*
 - ✓ Elles sont au nombre d'environ 150 à 200 millions pour un poumon adulte et représenteraient une surface de 140 m². C'est ici même que se situent les échanges gazeux entre la paroi alvéolaire et les capillaires, toutes deux fusionnées, constituant la membrane respiratoire. En effet, suite à ses nombreuses subdivisions par dichotomie, le conduit s'amincit pour ne laisser place qu'à une couche de cellules épithéliales pavimenteuses. L'échange gazeux s'effectue avec des pneumocytes de type I, constituant à plus de 90 % la surface épithéliale alvéolaire **[13]**. A noter, la présence d'un réseau de tissu conjonctif élastique où sont retrouvés des macrophages, des fibroblastes, des nerfs, des vaisseaux sanguins et lymphatiques.
 - ✓ Les cellules septales ou pneumocytes de type II, s'insinuent dans l'épithélium alvéolaire, afin de sécréter un surfactant dont le rôle principal est de réduire la tension superficielle air/liquide créée par la fine couche de liquide se trouvant à la surface des alvéoles pulmonaires **[13]**. La réduction de la tension superficielle facilite l'expansion des alvéoles à l'inspiration et les maintient ouvertes pendant l'expiration évitant ainsi un collapsus. Le surfactant joue en outre un rôle dans la perméabilité alvéolaire (effet anti-œdémateux) et dans les mécanismes de défenses contre les micro-organismes. Celui-ci est constitué à majorité de phospholipides, dont le dipalmitoylphosphatidylcholine, et de protéines en faible quantité qui jouent des rôles essentiels dans les fonctions précitées **[15]**.

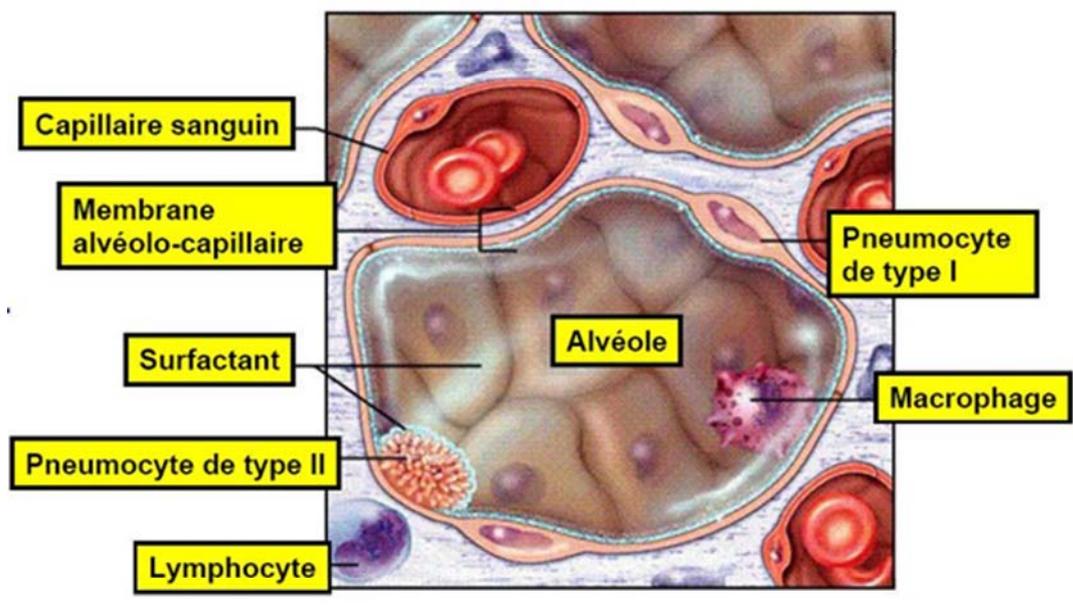


Figure 9 - Cellules présentes dans le voisinage alvéolaire. (Bourbonnais [42])

Les régions extra-thoracique, trachéo-bronchique et alvéolaire développent une surface respective de 0,047 ; 0,27 et 140 m². Ainsi, dans le cas d'une répartition homogène de l'aérosol, le nombre de particules déposées par unité de surface serait plus important dans la région extra-thoracique que dans la région alvéolaire. L'asymétrie des poumons peut également expliquer une différence significative de dépôt pour chacun d'entre eux. Aussi, la morphologie des voies respiratoires et les paramètres physiologiques peuvent varier suivant les individus, voire leur(s) pathologie(s) et selon leur activité physique (Tableau 8), modifiant ainsi le dépôt des particules [303].

Tableau 8 - Débit ventilatoire total en fonction de l'activité d'un adulte de référence. (*Commission internationale de Protection Radiobiologique, 1994 ; source Witschger [303]*)

Activité	Débit ventilatoire
Repos (assis)	9 L/min (0,54 m ³ /h)
Légère	25 L/min (1,5 m ³ /h)
Lourde	50 L/min (3 m ³ /h)

3. Dépôt des particules ultra-fines

3.1. Rappels des principaux mécanismes de dépôt particulaire

Le comportement d'un aérosol dans l'air dépend essentiellement de ses dimensions, de sa géométrie, de sa densité et des paramètres du gaz ; à savoir, température, pression, humidité et vitesse d'écoulement [160]. Selon **Witschger [303]**, se distinguent alors 5 processus de dépôts différents (*figure 10*) :

- ✓ **La sédimentation** : elle est fonction du rapport entre force de pesanteur et force de traînée (s'opposant au mouvement). Ce processus est négligeable pour une NPs mais important pour les particules fines. Il dépend donc du diamètre aérodynamique. Toutefois, il augmente avec le temps de résidence et quand la respiration ralentit, il s'accroît,
- ✓ **La diffusion brownienne** : il s'agit de la trajectoire aléatoire qu'aura une particule sous l'effet des collisions aux molécules de gaz. Il est d'autant plus grand que le coefficient de diffusion est élevé et le diamètre petit. Ce processus sera donc privilégié pour les NPs,
- ✓ **L'impaction inertielle** : caractérisée par la vitesse et la masse, les particules ont tendance à continuer leur chemin lors des changements de direction brusques ;

heurtant ainsi les parois des intersections. Elle cause ainsi la déposition de la majorité de la masse de l'aérosol et préférentiellement au sein des voies aériennes supérieures (dimensions plus grandes des conduits et changements brusques de direction) et augmente lorsque la vitesse de l'air s'accroît comme après un exercice,

- ✓ **L'interception** : intervient lorsque la particule entre en contact avec la paroi alors qu'elle suivait son parcours dans l'écoulement gazeux sans dévier. Ce phénomène est fonction des diamètres respectifs de la particule et de la conduite mais il se trouve être plus important avec des particules de formes allongées ou avec les agglomérats,
- ✓ **Précipitation électrostatique** : explique la dérive de particules chargées résultant de l'attraction de celle-ci avec la paroi ou encore des forces de répulsion exercées par les particules entre elles. Seulement une fraction minime des NPs est chargée. Notons toutefois que cette fraction peut augmenter en présence d'ion unipolaire, d'ultraviolet ou la présence d'un champ électrique.

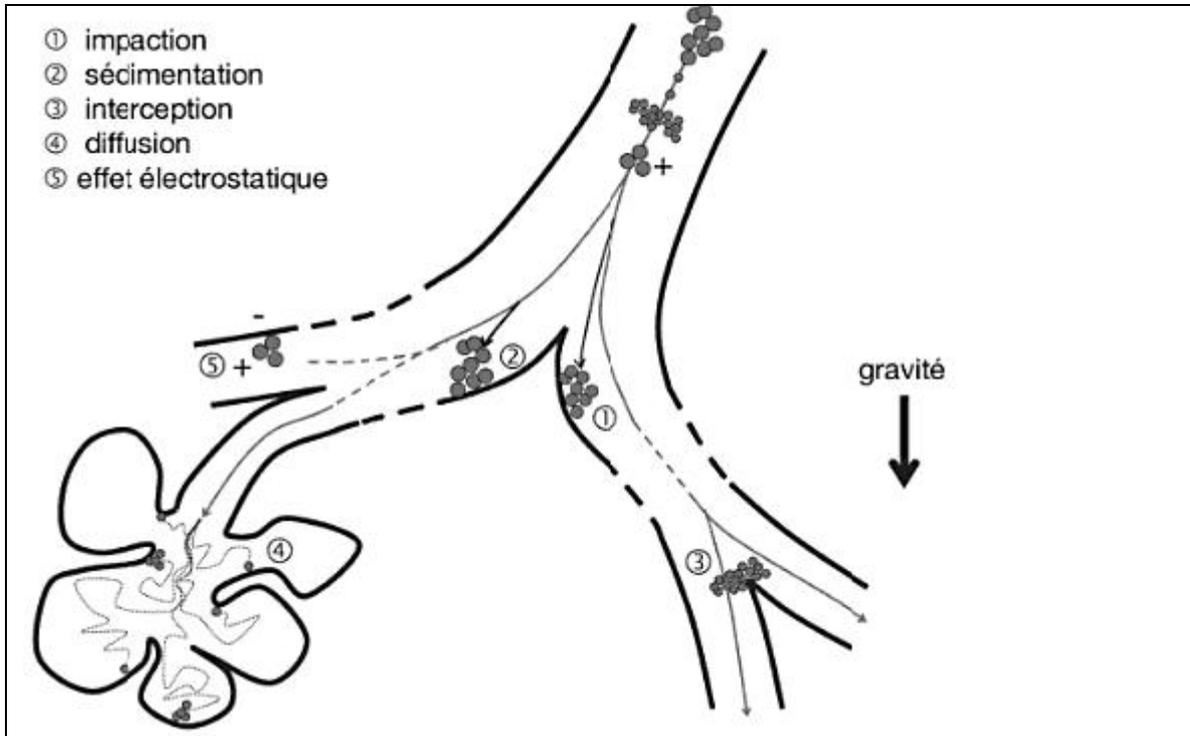


Figure 10 - Illustration des différents mécanismes de dépôt des particules inhalées dans les voies respiratoires. (Witschger [303])

Par conséquent, dans le cas des NPs, c'est le mécanisme brownien qui prime mais la précipitation électrostatique n'est pas un élément à négliger toutefois lors de la présence d'un aérosol chargé. Certains auteurs préconisent même de l'inclure dans les modèles dosimétriques destinés à évaluer les phénomènes sur la santé.

3.2. Lieux de dépôt pulmonaire

Au vue de par leur taille, il est naturel de penser qu'elles pourraient atteindre les ramifications les plus profondes de l'arbre respiratoire ; la proportion de la fraction déposée sur l'épithélium alvéolaire augmentant lorsque le diamètre diminue. Ce n'est pourtant pas le cas comme le démontre clairement la *figure 11*. Nous nous intéresserons dans un premier temps au commentaire des courbes pleines, soit celles correspondant à la respiration nasale.

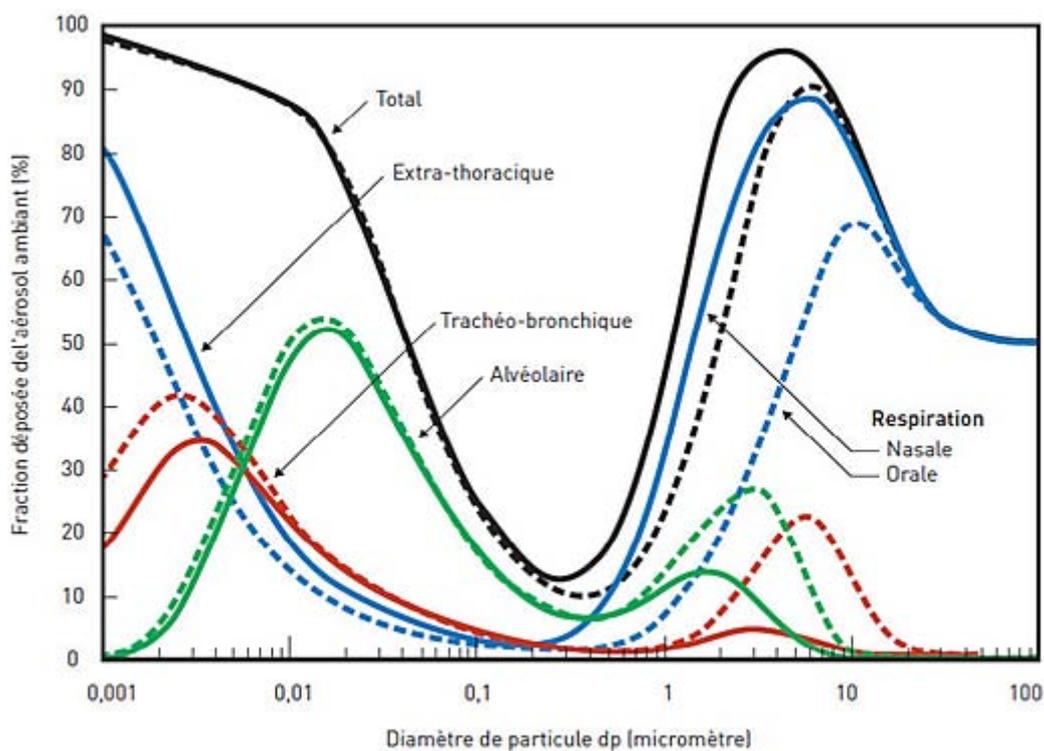


Figure 11 - Prédiction du dépôt des particules dans les voies respiratoires en fonction du diamètre des particules et du type de respiration nasale (trait plein) ou orale (trait pointillé). (*Witschger et Fabriès [304]*).

« Aucune » particule de 1 nm de diamètre (axe des abscisses) n'atteint la région alvéolaire mais la majorité (80 %) d'entre elles atteignent d'abord les régions extra-thoraciques et une partie minoritaire (20 %) se dépose dans la région trachéo-bronchique. Notons toutefois que la rétention particulaire, elle, est totale (soit 100 % sur l'axe des ordonnées). Lorsque l'on s'intéresse à des particules de diamètre approchant les 20 nm, on s'aperçoit que la rétention diminue pour atteindre 80 % (soit un rejet de 20 % à l'expiration) mais que la fraction alvéolaire y est maximale (> 50 %). En effet, ces particules ne se déposent qu'en faible proportion dans les autres régions (entre 11 et 15 %). Les particules de 200 nm se comportent encore différemment : une très faible fraction est retenue (15 %) et globalement il existe un très faible dépôt dans l'arbre bronchique (2 %), toutefois légèrement supérieur dans la région alvéolaire (8,5 %). Enfin, des particules de tailles micrométriques, ici prenons l'exemple de particules de 8 µm de diamètre, présentent une rétention (90 %) inférieure à celle des particules de 1 nm mais plus élevée que celle des particules de 20 nm... Toutefois, contrairement à ces dernières, il n'existe qu'un très faible dépôt alvéolaire (4 %). Notons que leur zone majoritaire de dépôt se situe dans le même lieu que celui des particules de 1 nm soit dans la région extra-thoracique. Concernant le modèle obtenu suite à une respiration orale, ce sont surtout les particules de taille micrométrique qui sont affectées : elles se déposent dès lors plus profondément dans les poumons, désaffectent la région la plus haute de l'appareil respiratoire qu'est la région extra-thoracique. En effet, pour les particules de 8 µm les dépôts dans la région alvéolaire, trachéo-bronchique et extra-thoracique sont respectivement de 10, 23 et 55 % contre 4, 5 et 85 % avec une respiration nasale.

Ces modèles de dépôt obtenus par **Witschger et Fabriès [304]**, correspondent à ceux retrouvés par **Oberdörster et coll. [201]** (*figure 12*). Ce dernier ajoute que « compte tenu des différences importantes de surface de chacune des trois régions pulmonaires, même si la masse de particules ultrafines de 20 nm qui se déposent dans la région alvéolaire représente plus de 50 % du total, la concentration de poussières déposées, par unité de surface dans le poumon, sera plus de 100 fois supérieure dans la région nasale et plus de 10 fois supérieure dans la région de la trachée et des bronches » **[270]**. Nous pouvons donc conclure que la granulométrie sera un facteur déterminant du lieu de dépôt pulmonaire, d'ailleurs majoré à l'exercice, et sur les mécanismes d'élimination impliqués. Ces différences au niveau de la

distribution des NPs pourraient également avoir des conséquences importantes sur les effets liés à la santé.

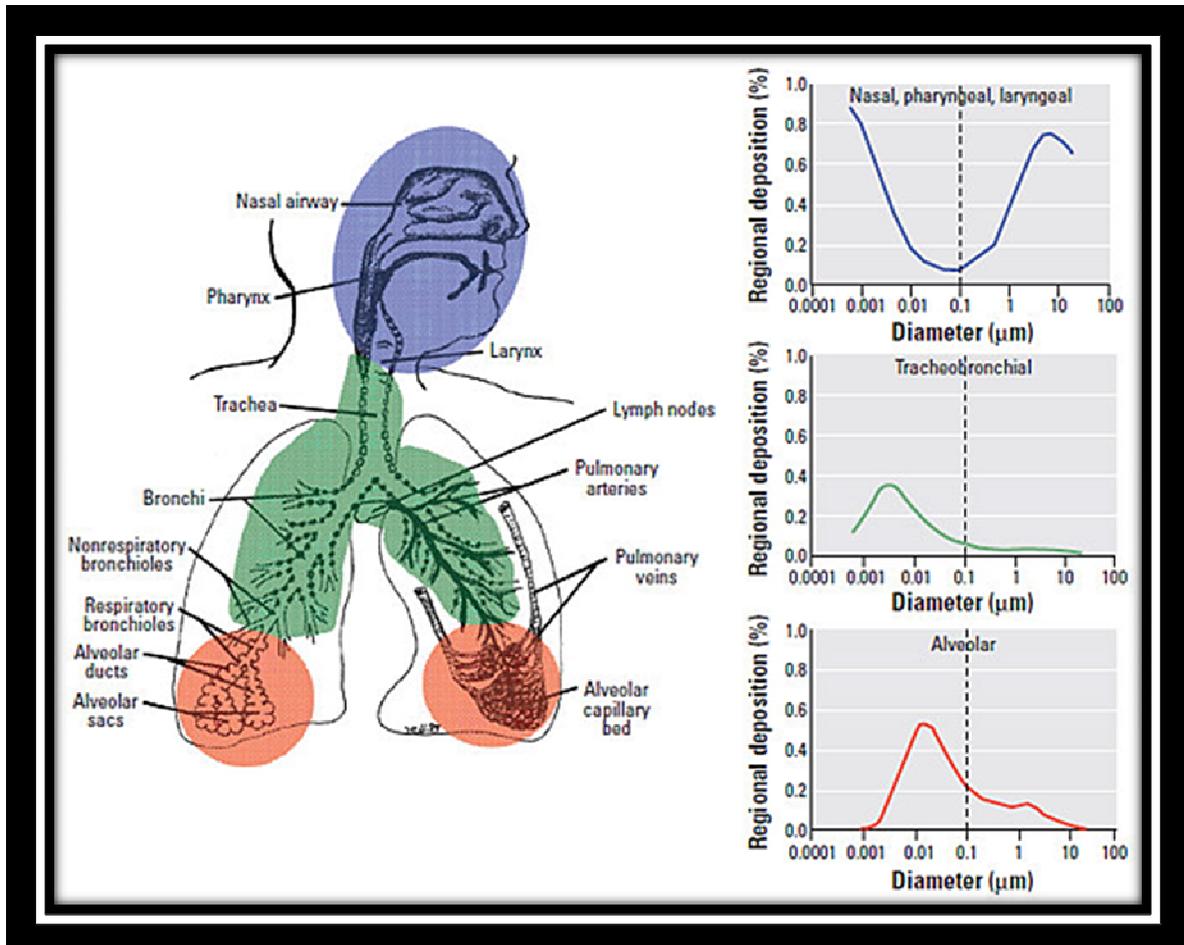


Figure 12 - Lieux de dépôt des nanoparticules dans le système respiratoire. (Oberdörster et coll. [201])

3.3. Etudes de dosimétrie chez l'Homme

3.3.1. Sujets sains

Jaques et Kim [132] ont considéré 4 granulométries différentes dans leur étude : 40, 60, 80, 100 nm de diamètre. Ils ont alors calculé la fraction déposée par la différence entre fraction inhalée et fraction exhalée. Lors de cette étude, ils ont fait varier le débit respiratoire ainsi que le volume courant. Chez des sujets au repos, la fraction totale déposée

augmente en fonction inverse de la taille des particules et du débit respiratoire (*Tableau 9*). De plus, cette étude révèle des différences entre hommes et femmes (*Tableau 10*).

Tableau 9- Fraction totale déposée (TDF) en fonction du diamètre médian en nombre (DMN) pour un volume courant de 500 mL. (*Jaques et Kim [132]*)

DMN (nm)	TDF (Vc= 500 mL)	
	Q = 150 mL/s	Q = 250 mL/s
40	0,53	0,44
60	0,44	0,35
80	0,4	0,3
100	0,34	0,26

Tableau 10 - Fraction totale déposée (TDF) en fonction du volume courant (Vc) et du débit (Q) pour un diamètre médian en nombre de 40 nm pour les hommes (H) et les femmes (F). (*Jaques et Kim [132]*)

Vc (mL)	Q (mL/s)	TDF (Hommes + Femmes)	TDF (H)	TDF (F)
500	150	0,53	0,50 ± 0,07	0,56 ± 0,06
	250	0,44	0,41 ± 0,07	0,47 ± 0,06
750	250	0,59	0,56 ± 0,06	0,64 ± 0,06
	375	0,52	0,49 ± 0,06	0,56 ± 0,07
1000	250	0,66	0,64 ± 0,04	0,68 ± 0,07
	500	0,54	0,53 ± 0,04	0,56 ± 0,08

Les travaux de **Daigle et coll. [66]** ou de **Frampton et coll. [96]** montrent un accroissement du nombre total de particules déposées au cours de l'exercice comparativement au repos. **Daigle et coll. [66]** a par ailleurs prouvé que cette fraction de dépôt en nombre augmente en fonction inverse de la taille de la particule et qu'elle peut être 4,5 fois plus élevée que celle au repos. Remarquons qu'au vu de ces données, la pratique de jogging en milieu urbain serait, par conséquent, à proscrire. C'est à nous, professionnels de santé, à renseigner les patients de ces dangers potentiels et à orienter vers la pratique en dehors des agglomérations.

3.3.2. Sujets malades

Les études épidémiologiques ont, là encore, apporté des informations. En effet, elles ont conclu à des risques de morbidité accrue pour des populations d'asthmatiques ou de sujets atteints de Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive (BPCO). **Brown et coll. [49]** ont étudié le dépôt et la clairance d'un aérosol ultrafin de carbone de diamètre médian de 33 nm marqué au $^{99\text{M}}\text{Tc}$ chez des sujets sains et atteints de BPCO, au repos. Bien que la rétention pulmonaire au bout de 24 h soit identique chez les 2 groupes, les auteurs ont pu constater une plus forte dose absorbée chez les sujets atteints de BPCO lors d'exposition à des aérosols de $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ à cause de l'hyperpnée. Ces conclusions sont en accord avec celles de l'*United States Environmental Protection Agency (US EPA, 2005)* **[208]**. Les travaux de **Chalupa et coll. [53]**, démontrent, outre une augmentation de la fraction déposée de manière inversement proportionnelle à la taille chez des patients souffrant d'asthme léger ou modéré, que cette fraction était plus importante dans le cadre d'un effort physique chez cette population. Elle précise également qu'il n'y a aucune différence visible pour les 2 sexes. Des conclusions similaires à celles-ci ont été rapportées par **Frampton et coll. [96]**.

3.4. Interactions avec les surfaces biologiques rencontrées : mécanismes de clairance et devenir des NPs dans l'organisme.

3.4.1. Avant-propos

Chaque type de particule inhalée représente une activité différente via ses caractéristiques propres débattues au chapitre précédent. Toutefois, sa toxicité réside également dans la capacité du corps humain à l'éliminer totalement ou partiellement ou encore dans sa translocation vers un autre organe. De plus, cette toxicité varie suivant les compartiments cibles puisqu'il existe des différences entre les surfaces pulmonaires concernées. En effet, les voies aériennes dont l'épithélium est protégé par une couche visqueuse de mucus, constituent une barrière plus importante que la région alvéolaire séparant parois alvéolaires et capillaires **[2]**. En présence de corps étrangers, le corps humain dispose de 2 mécanismes d'élimination : la **dissolution chimique** pour les particules solubles ou liposolubles dans les fluides intracellulaires ou extracellulaires (mucus, fluide de surface épithéliale...) et l'**élimination physique** (translocation, c'est-à-dire le transport d'un endroit à un autre) pour les particules insolubles ou peu solubles **[206]**. Les processus

d'élimination physique peuvent être différents dans les trois régions du système respiratoire alors que les processus d'élimination chimique se produisent dans toutes les régions (Tableau 11). Les particules se déposant dans les parties supérieures, trachée et bronches, seront directement éliminées via l'ascenseur muco-ciliaire. Il s'agit d'un type de translocation. En effet, ces dernières piégées dans le mucus iront vers le système digestif via le nasopharynx ou l'oropharynx suivant la zone originelle de leur dépôt. C'est normalement un mécanisme efficace qui élimine les particules en moins de 24 heures, même les particules ultrafines [206]. Toutefois, les particules piégées dans le mucus au niveau du nez peuvent également subir un rejet vers l'extérieur suite à des éternuements ou lors du mouchage. Gardons à l'esprit que des pathologies telles que la mucoviscidose, l'asthme, la BPCO ou encore le tabagisme sont susceptibles de réduire l'efficacité de ces processus [169]. En ce qui concerne plus spécifiquement la région alvéolaire, le mécanisme principal d'élimination est la phagocytose des particules par les macrophages alvéolaires. La plupart des particules est phagocytée dans les 6 à 12 heures [2].

Tableau 11 - Les processus d'élimination physique et chimique selon les différentes régions de l'arbre bronchique. (Afsset [2])

	Région nasale	Région trachéo-bronchique	Région alvéolaire
Élimination physique			
Mouvement mucociliaire	X	X	
Phagocytose par les macrophages		X	X
Endocytose épithéliale	X	X	X
Translocation interstitielle		X	X
Drainage lymphatique		X	
Circulation sanguine		X	X
Neurones sensitifs	X	X	
Élimination chimique			
Dissolution	X	X	X
Lixiviation	X	X	X
Fixation par les protéines	X	X	X

3.4.2. Types d'interactions rencontrées

La figure 13 illustre parfaitement les différentes possibilités d'interaction rencontrées au sein de l'alvéole. Néanmoins, il convient de considérer:

- que chacune de ces interactions se produit à la surface même de la particule,
- qu'il faudra exprimer les doses toxiques en termes de surface exposée dans le cas des étapes 1 et 5 (action directe),
- que lors de l'internalisation, on préférera parler en termes de nombre ou de surface.

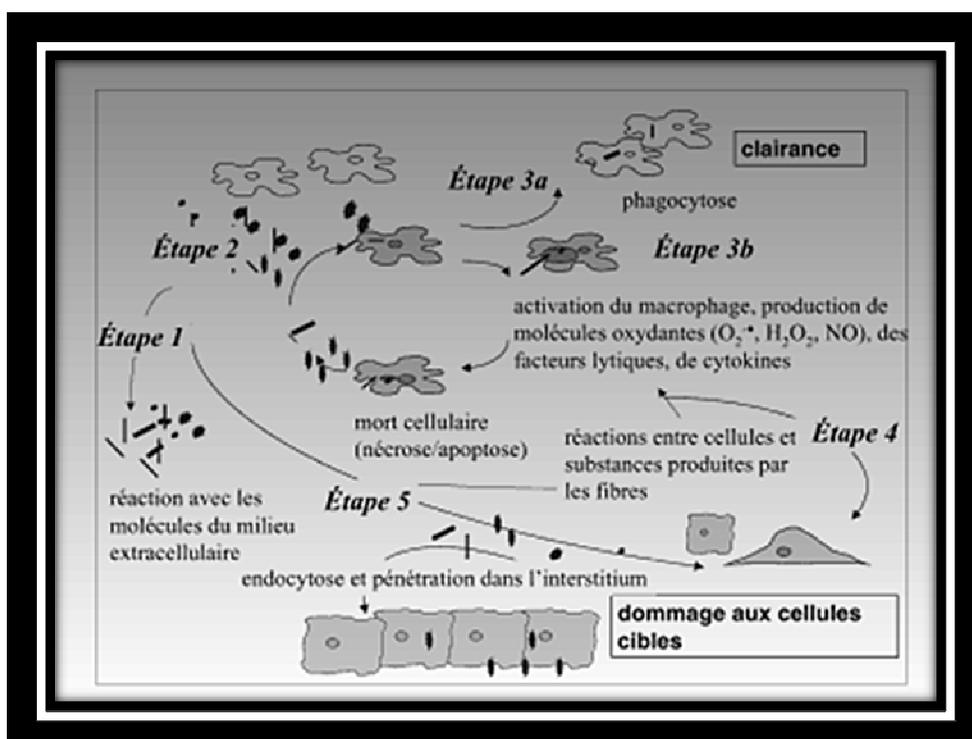


Figure 13 - Schéma des interactions possibles entre la particule inhalée et le milieu biologique. (Fubini [97])

- **Étape 1 : réaction avec les molécules extracellulaires ; adsorption de surfactant ou de protéines.**

Comme décrit précédemment les particules solubles se dissolvent dans les fluides extracellulaires. L'existence de protéines dans les milieux biologiques aboutit à des formations de complexes entre certaines NPs et celles-ci et ce, quelle que soit la zone concernée de l'appareil respiratoire. Cette adsorption permettra une phagocytose rapide en moins d'une heure. Toutefois, ceci ne concerne pas toutes les particules et les complexes

protéines-NPs peuvent également interagir avec les récepteurs d'autres cellules, les rendant plus ou moins accessibles aux macrophages ou encore pouvant leur faire passer la barrière épithéliale et leur permettre d'accéder à l'espace interstitiel. Il est possible que certains complexes atteignent la circulation ouvrant l'accès à d'autres organes [270].

- **Étapes 2, 3, 4 et 5 : interaction avec les cellules.**

En présence de corps étrangers, le corps humain dispose de différents mécanismes de défense: la **dissolution chimique** pour les particules solubles, la **translocation physique**, c'est-à-dire le transport d'un endroit à un autre, ou encore la **phagocytose** pour les particules insolubles ou peu solubles [206]. Ici, nous ne détaillerons que les mécanismes physiques.

- **Étapes 2 et 3 : la phagocytose**

Il s'agit là d'un des mécanismes de clairance pulmonaire se déroulant essentiellement dans l'alvéole. Les macrophages capturent par phagocytose des particules insolubles et tentent de les hydrolyser dans les phagolysosomes, puis se dirigent lentement vers l'ascenseur muco-ciliaire jusqu'au niveau du pharynx afin d'être éliminé dans les voies digestives [206]. Ils peuvent également subir une migration dans l'interstitium puis vers les systèmes lymphatique et sanguin [169]. Leur recrutement augmente avec le nombre de particules déposées ; à masse égale, il est donc plus important pour les NPs [115]. C'est un mécanisme fortement dépendant de la forme, de la composition et de la grosseur de la particule. En effet, plusieurs études dont celle de **Donaldson et coll. [79]**, semblent démontrer que les NPs non agglomérées ne sont pas phagocytées de façon efficace par les macrophages tout comme les nanotubes dépassant les 20 μm de long. A l'inverse, la phagocytose se révèle très efficace dans le domaine de 1 à 3 μm . Par ailleurs, ce processus est relativement lent et démontre une demi-vie de plus de 100 jours chez l'homme [206]. Les NPs possèdent donc des demi-vies beaucoup plus importantes que certaines fibres minérales artificielles retrouvées par **Bottin et coll. [40]**. Les travaux de **Renwick et coll. [231]** sur la lignée de macrophages murins J774.2 et **Renwick et coll. [230]** sur le rat, ont mis en évidence que la concentration en particule jouerait un rôle. Ainsi, les NPs présentes à forte concentration, diminuent clairement l'efficacité de la phagocytose. De plus, ils

s'aperçoivent que les particules de taille micrométrique sont recouvertes de plus de molécules d'opsines et par conséquent ces dernières sont phagocytées plus efficacement. Bien que les NPs puissent également être concernées par ces interactions, la *figure 14* illustre parfaitement que contrairement aux particules fines (ici, représentées par la bille de latex), les NPs sont tout de même plus proches de l'échelle moléculaire que cellulaire et sont donc moins accessibles aux macrophages. Un autre argument en faveur d'une diminution de la phagocytose est celui de **Wolfgang [306]** car ce dernier évoque la brièveté du passage des NPs dans la lumière de l'épithélium alvéolaire [270].

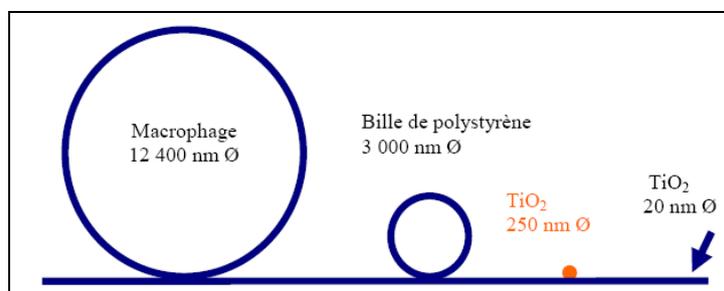


Figure 14 - Taille relative des NPs par rapport aux structures cellulaires. (Moss [187])

Par ailleurs, il a été montré *in vitro* que diverses NPs (TiO_2 , noir de carbone, particules diesel, particules urbaines) causent un dysfonctionnement du cytosquelette des macrophages, entraînant une réduction de la phagocytose, ce qui peut contribuer à altérer les capacités de défense du poumon. Les résumés de ces études seront abordés en troisième partie [115]. Aussi, ce mécanisme défensif est apparemment saturable. En effet, plusieurs auteurs ont observé chez le rat un phénomène de « surcharge pulmonaire », caractérisé par un ralentissement de la clairance et s'accompagnant de réactions inflammatoires durables ainsi que d'une incidence accrue de tumeurs pulmonaires [115]. Par exemple, des travaux de **Ferin et coll. [91]** ont montré que les rats exposés par inhalation à une quantité équivalente de particules fines ou ultrafines de TiO_2 (23 mg/m^3) présentent une inflammation broncho-alvéolaire accrue quand il s'agit de PUF. Aussi, le transfert de particules au niveau de l'interstitium et des ganglions lymphatiques s'est avéré être beaucoup plus important avec les NPs, indiquant que cette quantité provoque la surcharge des macrophages alvéolaires. Au départ le volume élevé de particules à l'intérieur des macrophages était vu comme le

mécanisme responsable de la surcharge, mais aujourd’hui, les experts considèrent qu’il s’agirait plutôt de la surface des particules, certainement via la réactivité de surface accrue des NPs [270]. Cependant, Moss [188] soutient que ces effets ne seraient pas liés uniquement à la surface des NPs mais également au nombre de particules puisque les NPs déposées sur les macrophages masquent leur surface. Toutefois, la réponse pulmonaire des chiens, primates ou hommes est très différente de celle observée chez les rongeurs et plus particulièrement chez les rats (Tableau 12). Ainsi, Bermudez et coll. [33], Elder et coll. [88] et Hext et coll. [119], [120] ont mis en évidence que ce phénomène de surcharge pulmonaire est peu marqué, voire absent chez d’autres espèces de rongeur comme la souris ou le hamster. Ils montrent d’ailleurs qu’à charge pulmonaire similaire, les souris et hamsters présentent des réactions inflammatoires moindres, et qui régressent dans le temps et que la clairance pulmonaire est la plus rapide chez les hamsters. Par conséquent, la question de l’extrapolation des résultats expérimentaux à l’homme pose donc problème.

Tableau 12 - Comparaison des principales conséquences de la surcharge pulmonaire entre le rat, le chien, le singe et l’homme. (Toussaint [270])

Principales conséquences de la surcharge pulmonaire	Rats	Chiens, Singes, Hommes
Inflammation pulmonaire chronique	Oui	Pas certain
Hyperplasie des macrophages et cellules épithéliales	X	Pas certain
Modification de la clairance pulmonaire	X	Probablement pas
Grande charge pulmonaire en particules	X	Probablement pas
Augmentation de l’interstitialisation des particules déposées	X	Oui
Augmentation de la translocation (poumons vers ganglions lymphatiques)	X	Probable
Maladies pulmonaires interstitielles	X	Oui (moins sévère)
Production de tumeurs pulmonaires	X	Non

2 possibilités sont à envisager dans le cadre de la phagocytose:

❖ **Etape 3a : phagocytose réussie**

Une clairance réussie permet donc de minimiser les interactions des particules avec l'épithélium. Dans de telles circonstances les macrophages libèrent une quantité minimale de médiateurs inflammatoires et d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) [270].

❖ **Etape 3b : phagocytose « frustrée »**

Comme le précise **Fubini [97]**, une clairance frustrée aboutit à une réaction inflammatoire persistante, qui peut donner lieu à une génotoxicité secondaire, suivie d'un développement néoplasique (cancer bronchique) après quelques années d'exposition. Cette génotoxicité est liée à la production de facteur de croissance qui entraîne prolifération cellulaire de cellules initiées par le stress oxydant, comme cela a été montré pour l'amiante par **Mohr et coll. [180]**. Elle peut également entraîner un transfert vers l'interstitium comme décrit plus en détail dans l'étape 5. En effet, ce processus est peu efficace concernant les NPs du fait de leur très faible diamètre mais également d'une très forte réactivité de surface (*figure 15*). Ainsi, certaines particularités superficielles peuvent expliquer l'échec de leur capture par le macrophage dont notamment la présence :

- ✓ de sites actifs (ions métalliques, radicaux de surface, molécules organiques fortement liées),
- ✓ du caractère hydrophile/hydrophobe régissant l'adsorption des macromolécules,
- ✓ de sites capables de former de fortes liaisons hydrogènes (impliquées dans la rupture de membrane cellulaire),
- ✓ de sites détruisant les antioxydants (acide ascorbique ou le glutathion),
- ✓ de charges (jouent un rôle dans l'interaction face aux membranes cellulaires et dans l'adsorption des protéines).

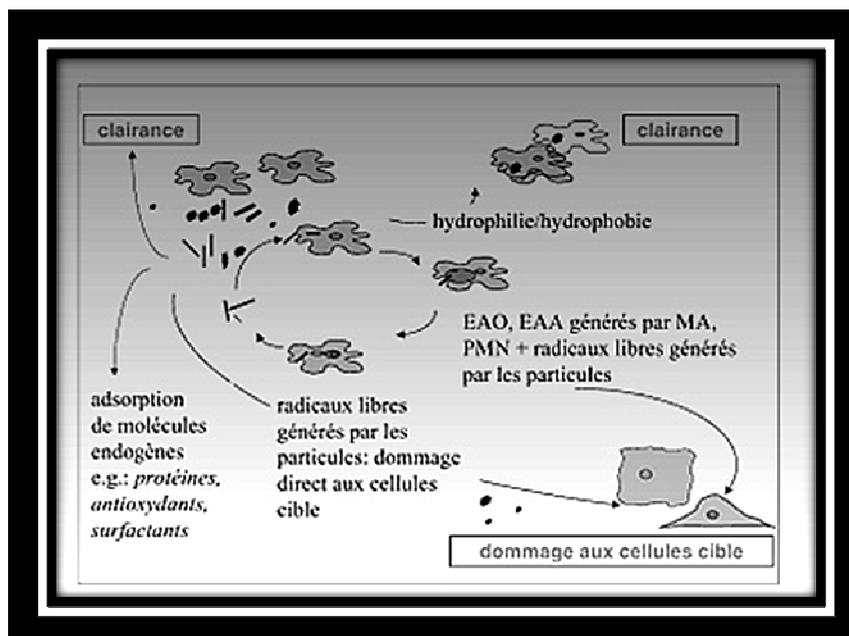


Figure 15 - Propriétés de surface impliquées dans la réponse biologique et leur rôle au niveau cellulaire. (Fubini [97])

Elle peut également avoir d'autres origines : troubles de la mobilité des macrophages, suractivation des macrophages via les NPs, ou encore surcharge des macrophages.

➤ **Etape 4 (consécutif à 3b) :**

Le contenu du macrophage endommage les cellules cibles en déversant son contenu (enzymes, ERO).

➤ **Etape 5 : action directe de la particule**

En s'accumulant au niveau de l'interstitium, les particules peuvent alors stimuler d'une façon chronique les cellules épithéliales engendrant leur **translocation** vers l'interstitium par des macrophages surchargés. Ceci leur ouvrant la voie vers les ganglions lymphatiques [270] ou encore vers le système sanguin assurant leur diffusion dans tout l'organisme [2]. C'est également le cas pour les complexes NPs-protéine décrit précédemment, qui peuvent rester dans l'épithélium pulmonaire ou même passer la barrière épithéliale et accéder à l'espace interstitiel atteignant la circulation et l'accès à d'autres organes.[270] (figure 16) D'après Bazin [116], cette translocation est sans doute

régie par sa réactivité de surface, la taille de la particule et peut-être sa charge. Puis, elle assure le devenir des particules à travers l'organisme comme illustré en *figure 17*.

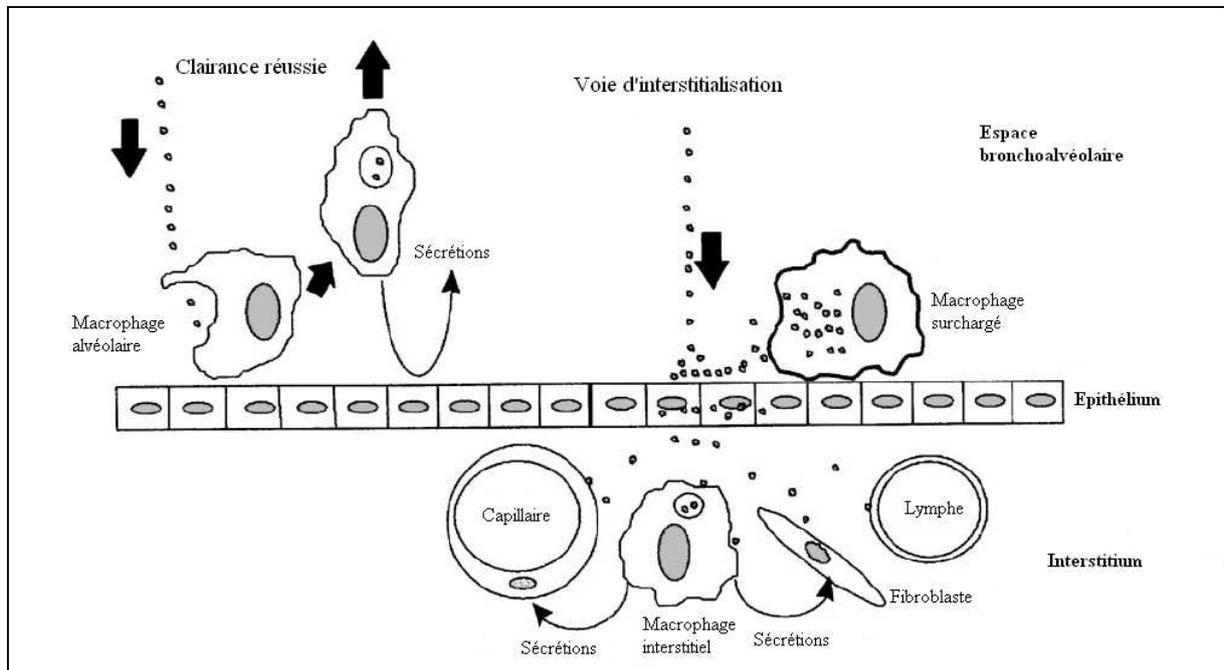


Figure 16 - Comparaison du devenir des particules éliminées par la voie normale (gauche) et des particules qui pénètrent l'interstitium (droite). (Donaldson et coll. [81])

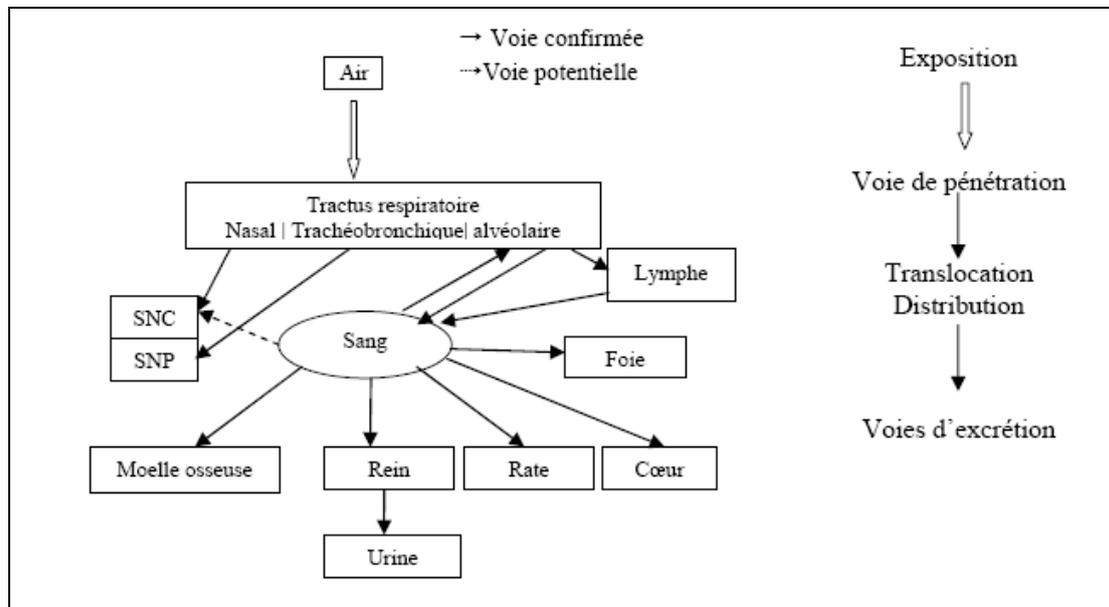


Figure 17 - Les différentes voies de translocation possibles des NPs. (Toussaint [270] ; adapté d'après Oberdörster et coll. [201])

CHAPITRE 3 – EFFETS TOXIQUES SPECIFIQUES DE CERTAINES NANOPARTICULES SUR LE POUMON

Les précédents chapitres abordés dans ce travail, ainsi que nos lectures sur le sujet englobant différents rapports et ouvrages scientifiques, nous ont confortés quant à la manière de rapporter les phénomènes observés par type de particule. Des tableaux synoptiques présents tout au long de ce chapitre en permettront par ailleurs une lecture plus aisée. Les publications sélectionnées ne constituent pas un ensemble exhaustif et ce travail ne devrait être considéré que comme le point de départ d'une réflexion plus approfondie. En effet, les recherches sur les NPs affluent, preuve est que l'avènement des nanotechnologies intéresse la communauté scientifique mais l'inquiète également.

1. Les particules à base de carbone

1.1. Les fullerènes

1.1.1. Définition des fullerènes

Les fullerènes sont une forme de carbone pur découverte en 1985 par Kroto, Robert Curl et Richard Smalley. Il s'agit de la troisième forme allotropique du carbone après le graphite et le diamant. Sa taille reste toutefois inférieure au nanomètre [152]. Ce sont des cages sphériques contenant de 28 à plus de 100 atomes de carbone. Le C₆₀ est le plus étudié, ses 60 atomes de carbone disposés en 12 pentagones et 20 hexagones lui confèrent la forme d'un ballon de football [152] ou plus précisément, d'un dôme géodésique (polyèdre régulier et convexe inscrit dans une sphère). Cette structure, similaire à celle de certains virus, lui a d'ailleurs valu son nom de « fullerène », en hommage à **Richard Buckminster Fuller**, architecte et designer américain à l'origine du concept de dôme géodésique [14]. Cependant, il existe de nombreux dérivés du C₆₀ et leurs propriétés dépendent des groupements rattachés. Ils peuvent prendre les formes d'une sphère, d'un ellipsoïde, d'un

tube ou d'un anneau [152] (figure 18). Ils sont produits naturellement en petites quantités dans les feux ou artificiellement par l'homme dans les émissions des moteurs diesels, ou au moyen d'arc électrique entre électrodes graphites [152].

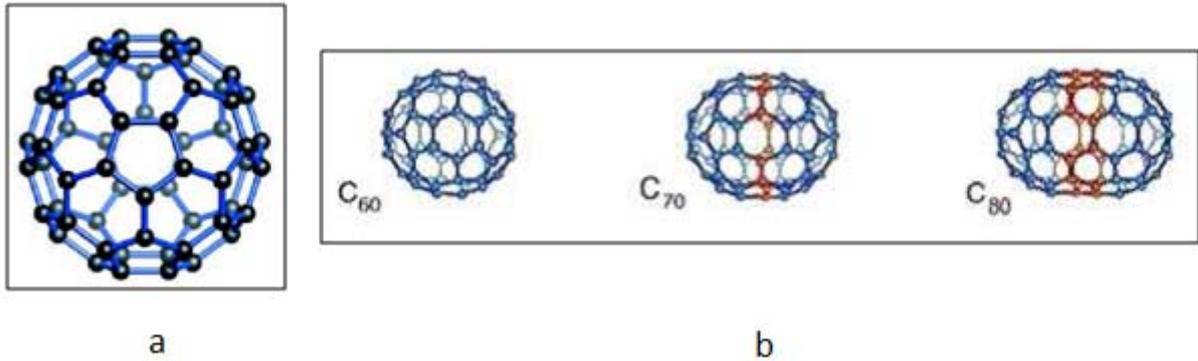


Figure 18 - Molécules de fullerènes. (a : Ostiguy et coll. [206]; b : CNRS, source Afsset [2])

1.1.2. Propriétés et utilisations

Les fullerènes constituent une nouvelle classe de matériaux démontrant des propriétés uniques : solidité, résistance à des pressions extrêmes et obtention dès 150 000 atmosphères d'un matériau plus résistant que le diamant. Les fullerènes non modifiés sont des lubrifiants alors qu'ils présentent une capacité d'élasticité via la substitution d'atomes de carbone par d'autres atomes, comme par exemple de l'azote [206] (figure 19).

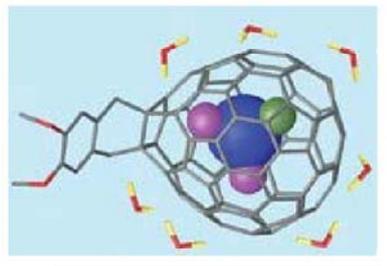


Figure 19 - Représentation schématique d'un fullerène modifié. (Ostiguy et coll. [206])

Ils peuvent également servir de catalyseur [152] ou être utilisés dans le domaine électronique, allant de l'entreposage de données à la production de cellules solaires ; des applications potentielles en nanoélectronique sont possibles lorsque l'on modifie le

comportement électrique via l'incorporation à des nanotubes de carbone [206]. Leurs propriétés optiques varient avec les longueurs d'onde trouvant ainsi des applications en télécommunications [206]. Etant par définition des cages sphériques de taille nanométrique, différents chercheurs ont eu l'idée d'y abriter d'autres substances notamment des principes actifs (anticancéreux la plupart du temps) en vue de trouver de nouveaux vecteurs médicamenteux (figure 19). Ils sont également d'excellents capteurs de radicaux libres [206].

1.1.3. Données toxicologiques

➤ **Données in vitro**

La plupart des résultats obtenus avec des cellules alvéolaires ou polynucléaires neutrophiles ne montre aucun phénomène inquiétant de type inflammatoire ou mutagène pour des fullerènes C₆₀ testés. Seule la cytotoxicité est sujette à contradiction. (Tableau 13)

➤ **Données in vivo**

Les études concernant leur impact sur le système respiratoire, demeurent encore peu nombreuses et toutes montrent une inflammation faible à modérée mais transitoire. Ainsi, en instillant des trachées de souris CAF1/J, **Quan et coll. [226]** obtiennent une réponse inflammatoire identique à différentes doses de fullerènes, produites soit par arc électrique (7 % de fullerènes) soit par combustion (98 % de fullerènes). Utilisant le même mode d'administration, **Sayes et coll. [245]** constate que chez des rats soumis à des concentrations de 0,2 à 3,0 mg/Kg de nano-C₆₀ et de C₆₀(OH)₂₄, l'analyse des biomarqueurs du liquide broncho-alvéolaire (LBA) révèle une inflammation transitoire. Néanmoins, une augmentation de la peroxydation lipidique du LBA a été observée pour le nano C₆₀ après un et trois jours post-instillation dès 1,5 mg/kg, toutefois, sans aucun retentissement sur les tissus. Chez des rats, **Baker et coll. [25]** n'ont observé qu'une légère augmentation des protéines totales suite à l'inhalation de C₆₀ (2,22 mg/m³, 55 nm de diamètre). Enfin, **Fujita et coll. [99]** ont pu montrer une faible activité des gènes responsables de l'inflammation et du stress oxydant chez des rats ayant inhalés du C₆₀ de 96 nm de diamètre pour des concentrations allant jusqu'à 4,1 x 10⁴ particules/cm³.

Tableau 13 - Fullerènes et données toxicologiques *in vitro*.

Endpoints et types cellulaires	Auteurs	Concentrations et types de nanoparticules	Observations
1. Propriétés antioxydantes			
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Cellules N.R ✓ Poumons de rats Wistar isolés soumis à l'ischémie reperfusion. ✓ Macrophages de souris RAW 264.7 	<p>Wang et coll. [283]</p> <p>Chen et coll. [58]</p>	<p>N.R</p> <p>Fullerènes polyhydroxylés [C₆₀(OH)_{7±2}] de 5 à 1,500 µM</p>	<p>Correction dose-dépendante des lésions induites par du nitroprussiate de sodium ou au peroxyde d'hydrogène (équivalent à une absence de production d'ERO)</p>
2. Production d'ERO absente			
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Cellules alvéolaires de bovins 	Baierl et coll. [24]	C ₆₀ et <i>Raw Soot</i> (fullerène produite à l'arc)	-
3. Cytotoxicité			
• Absente :			
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Polynucléaires neutrophiles humains ✓ Cellules alvéolaires de bovins ✓ MA de cobaye 	<p>Moussa [189]</p> <p>Baierl et coll. [24]</p> <p>Jia et coll. [135]</p>	<p>C₆₀</p> <p>C₆₀ et <i>Raw Soot</i></p> <p>226.00 µg/cm² avec du C₆₀</p>	<p>-</p> <p>-</p> <p>-</p>
• Présente :			
<ul style="list-style-type: none"> ✓ MA humains ✓ Macrophages de souris RAW 264.7 	<p>Adelmann et coll.[1]</p> <p>Chen et coll. [58]</p>	<p>C₆₀ et C₆₀₋₇₀</p> <p>Fullerènes polyhydroxylés [C₆₀(OH)_{7±2}] à 1 et 1,5 mM.</p>	<p>Exposition 4 et 20 heures</p> <p>Mort cellulaire par apoptose ou nécrose après 24 h.</p>

- **Probable** : les NPs s'accumulent le long de la membrane nucléaire et du noyau suggérant que des lésions peuvent survenir sur l'ADN.

✓ Macrophages humains

Porter et coll. [222]

C₆₀ utilisé à des concentrations « subtoxiques »

-

4. Marqueurs de l'inflammation

✓ MA humains

Adelmann et coll. [1]

C₆₀ et C₆₀₋₇₀

TNF- α et cytokines (interleukines IL- 6 et 8)

5. Tests de mutagénicité **négatifs**

✓ Souches mutantes de *Salmonella typhimurium*

**Sera et coll. [250]
Babynin et coll. [22]
Mori et coll. [186]**

C₆₀

-

✓ *Escherichia coli* PQ37

Zakharenko et coll. [308]

C₆₀

-

✓ 22 souches de bactéries

Chiron et coll. [59]

C₆₀

Pas de croissance microbienne

✓ Cellules pulmonaires de hamster chinois

Mori et coll. [186]

C₆₀

Test d'aberration chromosomique

1.1.4. Conclusion sur la toxicité des fullerènes

La toxicité des fullerènes sur les éléments de l'appareil respiratoire est donc encore mal connue et globalement toutes les études sont contradictoires. Bien que certains témoignent en faveur de propriétés antioxydantes ou non génératrices d'ERO, d'autres comme **Porter et coll. [222]** soutiennent la thèse en faveur d'une toxicité due à la peroxydation des lipides au niveau de la membrane, du cytoplasme, et au niveau des lysosomes. Les résultats sur la cytotoxicité sont également disputés et certains comme **Fiorito et coll. [94]** expliquent que les effets cytotoxiques observés dans différents travaux pourraient être attribuables à la présence d'impuretés, notamment des métaux ou des graphites résiduels. Toutefois, les données actuelles ne semblent pas aller en faveur d'une toxicité très élevée faisant des fullerènes, des candidats à la vectorisation moléculaire.

1.2. Les nanotubes de carbone

1.2.1. Définition

Le nanotube de carbone a été mis en évidence en 1991 par le physicien japonais Sumio Iijima, sur la cathode d'un appareil à arc à électrodes de carbone jusqu'alors utilisé pour produire des fullerènes. Enroulés dans un réseau hexagonal d'atomes de carbone, chaque extrémité peut être ouverte ou fermée par une demi-molécule de fullerène. Ils peuvent avoir une seule paroi (*Single Wall Carbon NanoTubes, SWCNT*), ou plusieurs parois (*Multi Wall Carbon NanoTubes, MWCNT*), représentés en figures 20 et 21. Les SWCNT possèdent des diamètres variant de 0,7 à 3 nm, alors que les MWCNT peuvent atteindre les 20 nm [206]. Ces cylindres creux peuvent atteindre plusieurs millimètres de longueur et leur surface spécifique peut dépasser les 1000 m²/g, cette dernière est cependant réduite à quelques centaines de m²/g du fait d'une fréquente agglomération [151].

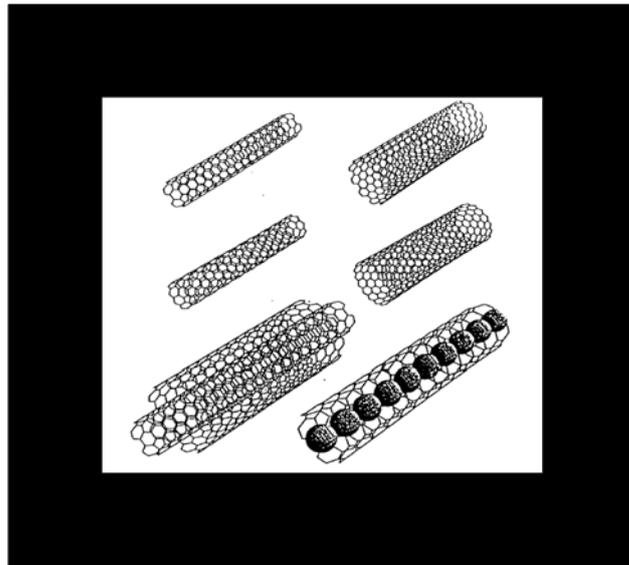


Figure 20 - Représentation schématique de nanotubes de carbone monocouches, multicouches ou contenant d'autres éléments. (Ostiguy et coll. [206])

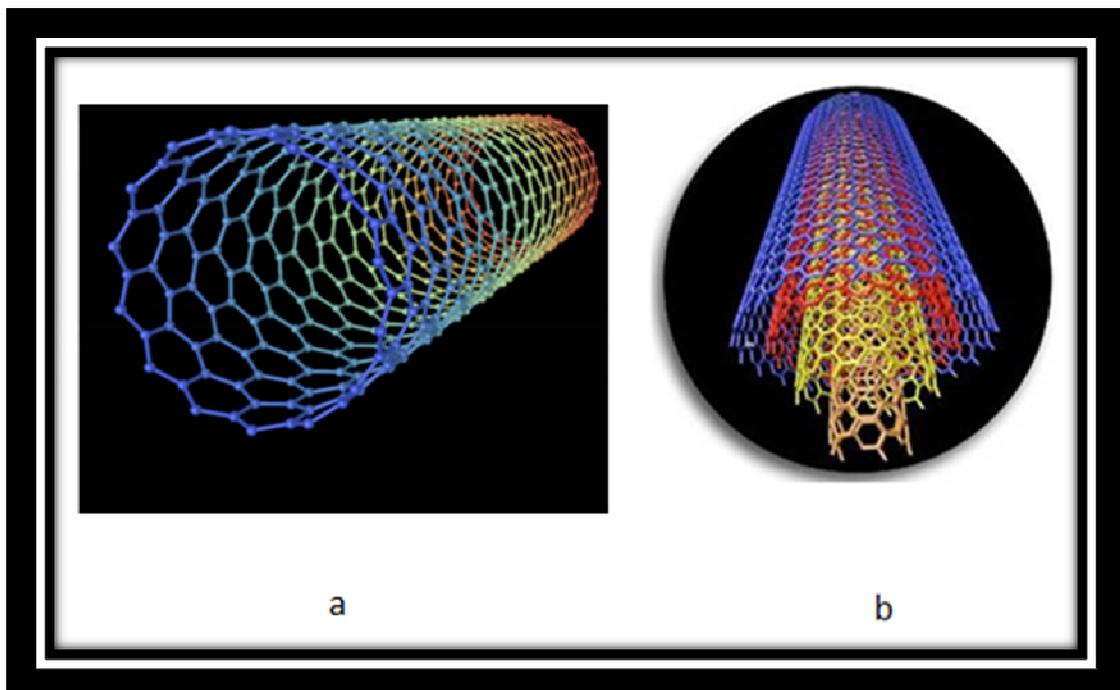


Figure 21 - **a.** Structure moléculaire d'un nanotube de carbone à simple paroi (SWCNT). (Anonyme, site nanotechstocks [8]) **b.** Structure moléculaire d'un nanotube de carbone à parois multiples ou MWCNT. (Service du répertoire toxicologique du Commission de la Santé et de la Sécurité du travail [10], image d'A. Rochefort, École Polytechnique de Montréal)

1.2.2. Propriétés

Elles sont nombreuses et intéressantes :

- **Propriétés métalliques** ou **semi-conductrices**, définies par l'enroulement sur lui-même du feuillet (la densité de courant peut atteindre le milliard d'ampères par mètre carré). Il est défini comme un supraconducteur [206],
- **Légers et flexibles**, la **résistance mécanique** des nanotubes de carbone est plus de soixante fois supérieure aux meilleurs aciers, bien que leur poids soit plus de 6 fois inférieure [206]. Ils rentrent ainsi dans la fabrication des matériaux composites de haute performance, d'ailleurs ils sont déjà utilisés pour renforcer certains clubs de golf et raquettes de tennis en remplacement des fibres de carbone [2],
- Ils possèdent une **très grande surface spécifique** ; ainsi un nanotube de 20 x 2000 nm peut avoir 100 fois plus de surface qu'une nanoparticule sphérique de 20 nm de diamètre [206], mais également, une grande surface de contact avec l'air (250 m²/g), intervenant dans les processus de catalyse chimique, de stockage de gaz et de filtrage de polluants [2],
- Ce sont d'**excellents conducteurs thermiques** [206], bénéficiant d'une conductivité proche de celle du diamant [2],
- De leur configuration tridimensionnelle, découle des **propriétés électroniques** uniques [206],
- Ils présentent également une **grande capacité d'absorption moléculaire** [206],
- Ils sont **chimiquement** et **thermiquement très stables** [206],
- Selon le procédé de fabrication et le **degré de purification** considéré, le taux de métaux résiduels (Co, Fe, Ni, Mo...) peut représenter de 1 à 50 % de la masse, ce qui est en mesure d'influencer de façon déterminante leur toxicité [153], [208],
- Ils ont tendance à **s'agglomérer**, diminuant de façon significative la surface totale pouvant interagir avec les cellules de l'organisme [208].

1.2.3. Utilisations

Leurs possibles usages sont : la préparation de prothèses orthopédiques, les biosenseurs pour la détection de protéines et d'enzymes, des supports de croissance osseuse facilitant la guérison de fractures [208] ou la vectorisation de médicaments [2]. Ils

pourraient être également utilisés dans la micro-électronique, le stockage d'énergie, les composites, la nanofiltration [153] ou encore dans l'industrie textile [2].

1.2.4. Données toxicologiques

➤ **Données in vitro**

Les résultats des études sur les cellules pulmonaires (*Tableau 14*) font état d'une cytotoxicité et rares sont les publications ne l'observant pas. Le stress oxydant, quant à lui, n'est pas systématiquement retrouvé bien que recherché par de nombreuses équipes. D'ailleurs, il y a autant d'auteurs statuant en sa faveur qu'en sa défaveur. A noter qu'une grande majorité des expériences a décrit l'effet des SWCNT.

➤ **Données in vivo**

Il existe peu de résultats contradictoires et toutes les publications retrouvées vont dans le même sens : l'exposition de rongeurs aux nanotubes de carbone aboutit à l'observation de granulomes, de fibrose ou de signes inflammatoires voire de signes généraux (*Tableau 15*).

➤ **Données humaines :**

Aucune donnée n'est, à notre connaissance, disponible à ce jour.

Tableau 14 - Données toxicologiques des tests *in vitro* pour les nanotubes de carbone.

Endpoints et types cellulaires	Auteurs	Concentrations et types de particules	Observations
1. Stress oxydant			
• Présent (ERO augmenté et diminution GSH)			
✓ Cellules EBH*	Shvedova et coll. [253]	SWCNT à 0 - 0,06 - 0,12 et 0,24 mg/mL	-
✓ Cellules épithéliales bronchiques (BEAS-2B)	Kisin et coll. [144]	SWCNT	-
✓ Macrophages murins RAW 264.7	Potapovich et coll. [223]	SWCNT (présence de fer)	Potentiel oxydant du fer
✓ Macrophages RAW 264.7 activés (par le zymosan)	Kagan et coll. [138]	SWCNT non purifiés	-
✓ Cellules pulmonaires humaines (A549)	Pulskamp et coll. [225]	MWCNT et SWCNT commerciaux, (très riches en métaux)	↗ dose et temps-dépendante d'ERO intracellulaires, due potentiellement aux métaux
• Absent et /ou production d'antioxydants			
✓ Macrophages de souris RAW 264.7	Shvedova et coll. [252]	SWCNT à 0,1 mg/mL	-
✓ Milieu acellulaire	Fenoglio et coll. [90]	MWCNT purifiés [9,7 nm; 5,9 µm de longueur ; 378 m ² /g]	ERO absents, neutralisation des radicaux libres en présence d'une source externe de radicaux hydroxyles (HO) ou O ₂ ⁻
✓ Macrophages RAW 264.7	Kagan et coll. [138]	SWCNT purifiés ou non à 0,12 et 0,5 mg/mL	Aucune production intracellulaire d'O ₂ ⁻ ou de NO
✓ Macrophages de souris RAW 264.7	Shvedova et coll. [252]	SWCNT à 0,1 mg/mL	Pas de NO produit

2. Phagocytose diminuée						
✓	Macrophages alvéolaires de cochon d'Inde	Jia et coll. [135]	SWCNT, MWCNT [10 à 20 nm]			Rq : la dose de particules nécessaire pour l'induire est inférieure pour les SWCNT.
3. Cytotoxicité						
✚ Avérée						
• <u>Diminution de la viabilité cellulaire</u>						
✓	Cellules EBH	Shvedova et coll. [253]	SWCNT à 0 - 0,06 - 0,12 et 0,24 mg/mL			-
✓	Macrophages alvéolaires murins	Murr et coll. [193]	SWCNT [agrégats 10 µm] et MWCNT [agrégats de 0,1 à 3 µm, longueur de 30 nm à 3 µm]			Réponse similaire aux fibres d'amiante, mort des cellules dès 2,5 µg/mL
✓	Cellules épithéliales bronchiques (BEAS-2B)	Kisin et coll. [144]	SWCNT			-
✓	Macrophages pulmonaires murins	Soto et coll. [256]	Nanotubes de carbone [3 à 150 nm (longueur < 15 µm) et agrégats de 25 nm à 20 µm] à 5 µg/mL			-
• <u>Augmentation de l'apoptose</u>						
✓	Cellules épithéliales bronchiques humaines	Shvedova et coll. [253]	0,24 mg/mL de SWCNT			-
✓	Lymphocytes T humains	Bottini et coll. [41]	MWCNT sous une forme oxydée , 400 µg/mL			-
✓	Macrophages humains et de souris J 774	Fiorito et coll. [95]	SWCNT non purifiés et SWCNT purs			Apoptose plus élevée dans le cas des SWCNT non purifiés
✓	Cellules épithéliales bronchiques (BEAS-2B)	Kisin et coll. [144]	SWCNT			-

<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation de l'activité de la LDH <ul style="list-style-type: none"> ✓ Macrophages de rats 	Müller et coll. [191]	MWCNT broyés	-
<ul style="list-style-type: none"> • Dommmage cellulaire <ul style="list-style-type: none"> ✓ 3 lignées cellulaires de tumeur du poumon humain (H596, H446, Calu-1) 	Magrez et coll. [173]	MWCNT [20 nm ; rapport longueur/diamètre 80-90] à 0,002 à 0,2 µg/mL et [150 nm ; rapport longueur/diamètre 30-40]	Dommages observés pour toutes les concentrations, Groupements carbonyl, carboxyl et hydroxyl à la surface renforce la toxicité
<ul style="list-style-type: none"> • Effets cytotoxiques non détaillés <ul style="list-style-type: none"> ✓ Cellules humaines de mésothéliome (MSTO-211H) 	Wick et coll. [299]	Nanotubes de carbone agglomérés et sous forme dispersés à l'aide d'un surfactant	Cytotoxicité > avec la forme agglomérée et > à l'amiante !
✚ Non retrouvée			
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Macrophages de souris RAW 264.7 	Shvedova et coll. [252]	SWCNT à 0,1 mg/mL	Pas d'apoptose augmentée
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Lymphocytes B et T et par les macrophages 	Dumortier et coll. [87]	nanotubes de carbone (NTC)	Pas de diminution de la viabilité
4. Inflammation			
✚ Retrouvée (marqueurs présents)			
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Macrophages murins RAW 264.7 	Potapovich et coll. [223]	SWCNT à 0,1 mg/mL	cytokines IL-6 (pro-inflammatoire)
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Macrophages de rats 	Müller et coll. [191]	MWCNT broyés	TNF-α
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Macrophages N.R 	Dumortier et coll. [87]	NTC contenant des chaînes polyéthylène glycol	cytokines pro-inflammatoires

✚ Non retrouvée (marqueurs absents)				
✓	Cellules pulmonaires humaines (A549)	Pulskamp et coll. [225]	MWCNT ou à des SWCNT	-
5. Fibrose				
✓	Macrophages de souris RAW 264.7	Shvedova et coll. [252]; Potapovich et coll. [223]	SWCNT à 0,1 mg/mL	Induction du facteur fibrogène TGF- β 1
6. Modifications dans l'expression de gènes				
✓	Cellules épithéliales bronchiques	Keshava et coll. [141]	SWCNT à 0,06, 0,12 ou 0,24 mg/mL	Gènes impliqués dans le métabolisme ou le contrôle du cycle cellulaire
7. Internalisation				
✓	Fibroblastes humains et de souris	Pantarotto et coll. [212]	SWCNT fonctionnalisés (conjugués à de la lysine) à 1, 5 et 10 mM.	Jusque dans le noyau.
8. Activation du complément				
✓	Sérum humain	Salvador-Morales et coll. [242]	SWCNT et MWCNT	Via fixation à la protéine C1q

*Cellules épithéliales bronchiques humaines

Tableau 15 - Données toxicologiques des tests *in vivo* pour les nanotubes de carbone.

<i>Endpoints</i> et animaux utilisés	Mode d'exposition	Auteurs	Concentrations et types de particules	Observations
1. Mortalité				
✓ Rats mâles	i.T	Warheit et coll. [289]	SWCNT à 5 mg/kg	15 % au bout de 24h
2. Granulomes*				
• Présents				
✓ Souris mâles B6C3F1	i.T	Lam et coll. [155]	3 nanotubes ; un contenant du fer (27 %), un avec du nickel (26 %), et un purifié (2 % Fe) aux doses de 0,1 ou 0,5 mg	Dose et temps-dépendant.
✓ Rats mâles	i.T	Warheit et coll. [289]	SWCNT à 1 et 5 mg/kg	Non dose-dépendant.
✓ Rats Sprague-Dawley femelles	i.T	Müller et coll. [191]	MWCNT et des MWCNT broyés à 0,5 - 2 ou 5 mg	-
✓ Souris C57BL/6	a.P	Shvedova et coll. [252]	SWCNT purifiés (0,23 % fer) à 0, 10, 20 et 40 µg	-
		Kisin et coll. [143]	NTC à 10, 20, ou 40 µg	Dose-dépendante.
✓ Souris	-	James et Lam [130]	NTC	-
✓ Rats	i.T	Müller et coll. [190]	MWCNT non broyés et MWCNT broyés à 0,5 - 2 et 5 mg	-
• Absents				
✓ Cochons d'Inde	i.T	Grubek-Jaworska coll. [107] et	MWCNT et de SWCNT commerciaux (très faibles teneurs en fer) à 12,5 mg	Pneumonie (inflammation pulmonaire).

3. Signes cliniques divers

✓ Souris mâles B6C3F1	i.T	Lam et coll. [153]	3 nanotubes ; avec fer (27 %), avec nickel (26 %), et purifié (2 % Fe) aux doses de 0,1 ou 0,5 mg	Hypothermie, pilo-érection ou léthargie.
✓ Souris C57BL/6	a.P	Shvedova et coll. [252]	SWCNT purifiés (0,23 % fer) à 0, 10, 20 et 40 µg	- Troubles de la fonction respiratoire, - ↘ élimination des bactéries (<i>Listeria monocytogenes</i>).
✓ Cochons d'Inde	i.T	Huczko et coll. [125]	MWCNT, à 15 mg	↗ résistance à la dilatation pulmonaire, atélectasie, emphysème*** et exsudation alvéolaire.

4. Inflammation

✓ Rats Sprague-Dawley femelles	i.T	Müller et coll. [191]	MWCNT et des MWCNT broyés à 0,5 - 2 ou 5 mg	↗ LDH, protéines totales, PNN et PNE.
✓ Souris C57BL/6	a.P	Shvedova et coll. [252]	SWCNT purifiés (0,23 % fer) à 0, 10, 20 et 40 µg	- ↗ GGT**, LDH et protéines, TNF-α, IL-1β, - ↗ PNN et lymphocytes et macrophages.
		Kisin et coll. [143]	Nanotubes à 10, 20, ou 40 µg	↗ recrutement cellulaire, protéines totales, activité de la LDH et GGT
✓ Rats	i.T	Müller et coll. [190]	MWCNT non broyés et MWCNT broyés à 0,5 - 2 et 5 mg	TNF-α, inflammation > obtenue avec les NPs broyés.
	i.T	Warheit et coll. [289]	SWCNT à 1 et 5 mg/kg	Transitoire.
✓ Cochons d'Inde	i.T	Huczko et coll. [125]	MWCNT à 15 mg	Bronchiolite oblitérante.

5. Fibrose					
✓	Rats Sprague-Dawley femelles	i.T	Müller et coll. [191]	MWCNT et des MWCNT broyés à 0,5 - 2 ou 5 mg	↗ collagène et de TNF-α dans le LBA.
✓	Souris C57BL/6	a.P	Shvedova et coll. [252]	SWCNT purifiés (0,23 % fer) à 0, 10, 20 et 40 µg	Dose-dépendante et sécrétion de TGF-β1.
			Kisin et coll. [143]	Nanotubes à 10, 20, ou 40 µg	Dose-dépendante.
✓	Rats	i.T	Müller et coll. [190]	MWCNT non broyés et MWCNT broyés à 0,5 - 2 et 5 mg	Fibrose > avec les non broyés.
✓	Cochons d'Inde	i.T	Grubek-Jaworska et coll. [107]	MWCNT et de SWCNT commerciaux, très faibles teneurs en fer, 12,5 mg	-
6. Stress oxydant					
✓	Souris C57BL/6	a.P	Shvedova et coll. [252]	SWCNT purifiés (0,23 % fer) à 0, 10, 20 et 40 µg	↗ 4-hydroxynonanal ↘ glutathion (antioxydant)

* Amas de macrophage entouré de lymphocyte.

** Gamma-Glutamyl Transférase, enzyme liée à la surface des membranes des cellules épithéliales pulmonaires de type II et des cellules de Clara dont l'augmentation de son taux dans le LBA signe une atteinte cytotoxique.

*** Augmentation de volume (dilatation) des alvéoles pulmonaires avec destruction de leur paroi élastique, entraînant l'impossibilité de se vider complètement lors de l'expiration.

1.2.5. Conclusion sur la toxicité des nanotubes de carbone

Hormis les deux travaux chez le cobaye de **Huczko et coll. [124]** ne montrant aucun effet toxique des nanotubes de carbone sur le poumon, tous les travaux réalisés *in vivo* dégagent un fort potentiel toxique : survenue d'une inflammation, formation de granulomes ou encore risque fibrotique important. **Müller et coll. [190]** obtiennent même des effets toxiques similaires à ceux de l'amiante. Toutefois, tous ont été réalisés par instillation intratrachéale et **Warheit et coll. [289]** évoquent la nécessité de réaliser ces mêmes expériences par inhalation. Certains rapports, tel celui d'**Ostiguy et coll. [208]**, évoquent une durée d'observation trop courte chez certaines d'entre elles, insuffisante, pour mesurer l'évolution des lésions pulmonaires dans le temps. Aussi, chose intéressante, certains auteurs tels **Grubek-Jaworska et coll. [107]** ou **Müller et coll. [190]**, témoignent de l'apparition d'obstruction mécanique chez les animaux via l'agrégation des NPs dans les voies respiratoires. Ceci pourrait donc être à l'origine de la mortalité ou des troubles de la fonction respiratoire observés. Les études *in vitro* ont quant à elles, permis de mettre en évidence la cytotoxicité et l'implication du stress oxydant, toutefois « contestée » par certains chercheurs. Dès lors, certains comme **Tsuji et coll. [276]** préconisent une valeur limite provisoire devant être inférieure à 50 µg/m³ alors que **Lam et coll. [154]** l'évaluent à 100 µg/m³. Rappelons que **Warheit et coll. [289]** ont retrouvé une DL₁₅ de 5 mg/kg en instillant des rats.

1.3. Les nanoparticules de noir de carbone

1.3.1. Définition

Ce sont des poudres formées de carbone élémentaire (98 à 99,5 %) sous forme de particule primaire, quasi sphériques, de 10 à 500 nm et agrégées (d'environ 100 à 800 nm) puis regroupées en agglomérats (1 à plus de 100 µm). Les différents types de noir de carbone présentent une large répartition granulométrique, une surface spécifique élevée (10 à 300 m²/g), une faible proportion de cendre contrairement à la suie, et des substances pouvant être extraites par du toluène. Le potentiel d'agrégation varie lui aussi selon la nature du noir de carbone. Ce dernier sera dit de structure élevée si la capacité d'agrégation est forte **[236]**. Lors de sa combustion, il se forme du monoxyde et du dioxyde de carbone et en

quantité moindre des oxydes de soufre et d'azote [37]. L'unité de base du noir de carbone est l'agrégat et sera fonction de 2 dimensions : le diamètre moyen des composants sphériques de la chaîne, généralement inversement proportionnel à la surface des particules de noir de carbone, et l'importance de la ramification des agrégats [236]. L'existence de différentes qualités s'explique de par la variabilité des matières premières, des conditions de combustion et de décomposition thermique. Cette grande diversité aboutira très certainement à des comportements différents en termes de dépôt et/ou de toxicité. Les principaux représentants et leurs principales caractéristiques sont résumés dans le *tableau 16*, ci-dessous. La nature des noirs de carbone n'étant pas souvent accessible ou non renseignée par les auteurs, nous les généraliserons toutefois dans la description de leur toxicité.

Tableau 16 - Propriétés physico-chimiques de 4 types de pigments de noir de carbone. (*Adapté d'après F.Roos [236]*)

	Noir d'acétylène	Noir de fourneau	Noir de lampe ou Noir de fumée	Noir thermique
Diamètre moyen des agrégats (nm)	NR*	80 - 500	NR*	300 - 810
Diamètre moyen des particules (nm)	35 - 50	17 - 70	50 - 100	150 - 500
Surface spécifique (m²/g)	60 - 70	20 - 200	17 - 25	6 - 15
Exemple d'utilisations	Batteries sèches (piles électriques salines), isolant thermique, ossature de câbles, semelles et tuyaux flexibles	Industrie du caoutchouc (pneus...), encres, plastiques, peintures	Charge pour caoutchoucs, pigments pour cosmétiques, vernis, encre, laques, peintures et plastiques, peinture pour aquarelles, ciments, crayons, cuirs	Caoutchoucs industriels: charge dans polymères, élastomères (néoprènes, nitriles et éthylène-propylène)

*N.R : non renseigné

Le « noir de fumée », ou *lamp black*, est obtenu par combustion incomplète d'hydrocarbures de goudrons et possède des qualités exceptionnelles de renforcement des pneumatiques. Le « noir tunnel », non représenté dans le *tableau 16*, est obtenu par combustion incomplète de gaz naturel. Il possède une granulométrie très fine, un faible degré d'agrégation, un pH acide, un taux élevé de complexes oxygénés en surface et de substances volatiles. Le « noir d'acétylène », un des plus purs, possède un caractère conducteur marqué et est obtenu par craquage de l'acétylène à plus de 2000°C. Le « noir de fourneau », quant à lui, est obtenu par combustion de résidus pétroliers lourds. Enfin, le « noir thermique » est obtenu par décomposition thermique de gaz naturel et possède les particules les moins fines et la surface spécifique la plus faible [37].

1.3.2. Utilisations

Le noir de carbone est utilisé comme additif et agent de coloration pour les caoutchoucs et les plastiques. D'ailleurs, il représente 25 % de la masse des pneumatiques et permet ainsi de réduire leur poids, d'augmenter leur durée de vie, de les recycler, d'économiser le carburant et de réduire les émissions sonores. Il sert également comme pigment (pour les peintures, plastiques, papiers, encres), additif de vernis à ongles, agent de filtration, conducteurs d'électricité et dans le raffinage du pétrole. Enfin, il entre dans la composition des encres d'impression, des baguettes de soudage, des papiers carbonés ou dans la finition du cuir [236].

1.3.3. Données toxicologiques

➤ **Données expérimentales**

L'ensemble des études *in vitro* et *in vivo*, (respectivement dans les *tableaux 17 et 18*), a recherché la présence de stress oxydant, de signes inflammatoires ou de cytotoxicité sur des lignées cellulaires d'origine pulmonaire (MA, cellules épithéliales, monocytes) et chez le rongeur. Point intéressant, certaines données *in vivo* sur des rats font état de tumeurs. Le *tableau 19*, quant à lui, regroupe les auteurs ayant cherché l'existence d'une possible potentialisation d'une inflammation préexistante à l'exposition aux NPs.

Tableau 17 - Données toxicologiques des tests *in vitro* pour les NPs de noir de carbone.

Endpoints et types cellulaires	Auteurs	Concentrations et types de nanoparticules	Observations
1. Stress oxydant avéré (ERO présents)			
✓ Cellules épithéliales pulmonaires humaines de type II (A549)	Stone et coll. [265]	CBUF [14,3 nm]	-
✓ Monocytes humains et cellules du LBA de rat (80 % macrophages)	Stone et coll. [263], [264]	CBUF	Ouverture de canaux calciques via les ERO
✓ Milieu acellulaire	Wilson et coll. [300]	CBUF [14 nm ; 253,9 m ² /g]	Formation ERO ++ : - ↗ à l'ajout de sulfate de cuivre, de sulfate ferreux ou de chlorure de fer, - Absence d'augmentation si en présence de MA humains Mono Mac 6 (chélation ?)
✓ Cellules épithéliales pulmonaires humaines A549	Ramage et Guy [227]	CBUF	-
✓ Cellules EBH	Tamaoki et coll. [272]	CBUF	-
✓ MA canin et humain	Beck-Speier et coll. [32]	Printex® 90 et G	-
✓ Cellules pulmonaires épithéliales de type II (SV40T2) et des macrophages alvéolaires de rat	Koike et Kobayashi [146]	CBUF [14 nm ; 300 m ² /g] et [56 nm, 45 m ² /g] et [95 nm, 20 m ² /g]	-

2. Cytotoxicité				
+ Présente				
✓	Cellules épithéliales pulmonaires humaines de type II (A549)	Stone et coll. [265]	CBUF [14,3 nm]	-
✓	Macrophage alvéolaires de chiens et de souris	Möller et coll. [182]	CBUF [12 nm ; 300 m ² /g]	Transport des phagosomes perturbé , rigidité cellulaire accrue dès 100 µg de NPs/ml/10 ⁶ , ↘ viabilité
✓	Macrophages J774A.1 issus de souris BALB/c/NIH	Möller et coll. [181]	CBUF [12- 250 nm ; 300 m ² /g]	Rôle du calcium intracellulaire dans le dysfonctionnement du cytosquelette
<hr/>				
+ Absente				
✓	Macrophages alvéolaires J774.2 MΦ	Renwick et coll. [231]	CBUF [14,3 nm]	-
3. Inflammation				
✓	Monocytes humains et cellules du LBA de rat (80 % macrophages)	Stone et coll. [263], [264]	CBUF	↗ expression de gènes pro-inflammatoires
✓	Cellules épithéliales pulmonaires humaines A549	Ramage et Guy [227]	CBUF	↗ protéine réactive C (CRP)
✓	Cellules EBH	Tamaoki et coll. [272]	CBUF	Epaissement de l'épithélium bronchique, implication de l' EGF-R (<i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>)
✓	MA canin et humain	Beck-Speier et coll. [32]	Printex® 90 et G	↗ acide arachidonique, PLA ₂ et PGE ₂
✓	Cellules épithéliales alvéolaires de type II de rat	Barlow et coll. [27]	CBUF	Libération de médiateurs pro-inflammatoires induisant la migration des macrophages

4. Fibrose				
✓	Fibroblastes et gels de collagène	Kim et coll. [142]	CBUF [14,3 nm ; 254 m ² /g]	↗ fibronectine et TGF-β Observé aux faibles concentrations uniquement !
5. Phagocytose				
✓	Macrophages alvéolaires J774.2 MΦ	Renwick et coll. [231]	CBUF [14,3 nm]	↘ lorsque la dose augmente à une concentration de 0,39 µg/mm ² mais stimulée aux faibles doses
✓	Macrophages alvéolaires de chiens et de souris	Möller et coll. [182]	CBUF [12 nm ; 300 m ² /g]	↘
6. Modification de l'expression génique				
✓	Monocytes humains et cellules du LBA de rat (80 % macrophages)	Stone et coll. [265]	CBUF	↗ expression de gènes pro-inflammatoires
✓	Cellules épithéliales alvéolaires C10	Timblin et coll. [275]	CBUF	↗ d'ARN _m codant des proto-oncogènes (<i>jun</i> et <i>fos</i>) ↗ gènes codant la prolifération et l'apoptose cellulaire
✓	Cellules épithéliales pulmonaires humaines A549	Ramage et Guy [227]	CBUF	↗ <i>CRP</i> et protéine de résistance à la chaleur (<i>Heat-Shock Protein 70</i>)

Tableau 18 - Données toxicologiques des tests *in vivo* pour les NPs de noir de carbone

Endpoints et animaux utilisés	Mode d'exposition	Auteurs	Concentrations et types de nanoparticules	Observations
1. Stress oxydant (Production ERO)				
✓ Rats Wistar	i.T	Dick et coll. [77]	CBUF [14 nm; 253,9 m ² /g]	-
✓ Souris	i.T	Chang et coll. [55]	CBUF [14 nm; 253,9 m ² /g]	-
✓ Rats	i.T	Li et coll. [167]	Printex®90 [14 nm; 253,9 m ² /g] à 125µg	+ ↘ glutathion
2. Inflammation				
✓ Rats	i.T	Oberdörster et coll. [197]	CBUF [20 nm] à 500 µg	Objectivée par le taux de PMN dans le LBA
		Brown et coll. [47]	CBUF de 14 nm et 320 nm	PMN et taux de LDH
		Wilson et coll. [300]	CBUF [14 nm ; 253,9 m ² /g] à 62,5 ou 125 µg	PMN, inflammation majorée par l'ajout de 100 µM de chlorure de fer
		Renwick et coll. [230]	CBUF [14,3 nm; 253,9 m ² /g]	PMN, chimiotactisme des MA
		Li et coll. [167]	Printex®90 [14 nm; 253,9 m ² /g] à 125µg	PMN, TNF-α
	Inh	Gilmour et coll. [102]	CBUF [14 nm] à 1,66 mg/m ³ et [260 nm] à 1,40 mg/m ³ Les particules inhalées sont agglomérées => 114 nm et 268 nm.	PMN, leucocytes, expression de MIP-2.
✓ Rats Wistar	i.T	Dick et coll. [77]	CBUF [14 nm; 253,9 m ² /g]	PMN, expression de MIP-2

✓ Souris	i.T répétée	Shwe et coll. [254]	CBUF [14 nm ou 95 nm]	- dose-dépendante - IL-6 et TNF- α ++ pour le CBUF de 14 nm.
	i.T	Chang et coll. [55]	CBUF [14 nm; 253,9 m ² /g]	Couplée à une \nearrow de VEGF *
		Stoeger et coll. [261]	Printex® 90 et G [entre 10 et 50 nm ; entre 30 et 800 m ² /g] à 5, 20 et 50 μ g :	Corrélée à la surface spécifique
✓ Rats	Inh. subchronique	Driscoll et coll. [86]	CBUF [16 nm ; 220 m ² /g] à 1,1, 7,1 ou 52,8 mg/m ³	MIP-2, MCP-1, relation dose-dépendante
3. Cytotoxicité				
✓ Rats Wistar	i.T	Dick et coll. [77]	CBUF [14 nm ; 253,9 m ² /g]	GGT
✓ Rats	i.T	Renwick et coll. [230]	CBUF [14,3 nm ; 253,9 m ² /g]	LDH, GGT
	Inh. subchronique	Driscoll et coll. [86]	1,1, 7,1 ou 52,8 mg/m ³ de CBUF diamètre 16 nm, surface spécifique 220 m ² /g	Atteintes parenchymateuses
4. Fibrose				
✓ Rats	Inh. subchronique	Driscoll et coll. [86]	CBUF [16 nm ; 220 m ² /g] dès 7,1 mg/m ³	Dose-dépendante
5. Ralentissement de la clairance				
✓ Rats	Inh. subchronique	Driscoll et coll. [86]	CBUF [16 nm ; 220 m ² /g] dès 7,1 mg/m ³	-
✓ Rats femelles Fischer 344	Inh. subchronique	Gallagher et coll. [100]	- Printex®90 [16 nm ; 300 m ² /g] - Sterling® V [70 nm ; 37 m ² /g]	Surcharge pulmonaire dès 7 mg/m ³ de Printex®90 et dès 50 mg/m ³ de Sterling® V.

6. Tumeur				
✓ Rats		i.T répétée	Dasenbrock et coll. [69]	CBUF: Printex®90 [14 nm; 300 m ² /g] et Lamp Black 101™ [95 nm; 20 m ² /g] Printex®90 (21 %), Lamp Black 101™ (8 %)
7. Expression génique				
✓ Rats		Inh. subchronique	Driscoll et coll. [86]	CBUF [16 nm ; 220 m ² /g] dès 7,1 mg/m ³ Mutation du gène <i>hprt</i> ** (Persiste 3 à 8 mois plus tard à 52,8 mg/m ³)
✓ Rats femelles Fischer 344		Inh. subchronique	Gallagher et coll. [100]	Printex®90 [16 nm; 300 m ² /g] à 7 et 50 mg/m ³ . Mutation de l'ADN pulmonaire et formation de 8-oxo-dG

* *Vascular Endothelial Growth Factor*, il permet d'augmenter la perméabilité de la membrane alvéolo-capillaire.

* Gène *hprt*: Hypoxantine phosphoribosyl transférase, il est souvent utilisé pour détecter des mutations sur l'ADN.

Légende :

- Le mode d'exposition en couleur correspond à une exposition à moyen terme ou répétée

Tableau 19 - Données toxicologiques de tests *in vivo* démontrant des effets adjuvants pour les NPs de noir de carbone.

Animaux utilisés	Allergènes ou agents infectieux	Auteurs	Concentrations et types de nanoparticules	Conclusions des auteurs
Instillation des NPs <u>avant</u> celle du VRS				
✓ Souris BALB/c	VRS*	Lambert et coll. [159]	CBUF [taille N.D. ; 150 m ² /g] à 40 µg	Développement d'une réponse allergique au profit de la production IFN-γ ^{**} .
Instillation des NPs <u>après</u> celle du VRS				
✓ Souris BALB/c	VRS*	Lambert et coll. [158]	CBUF à 40 µg	Majoration inflammation et hyperréactivité bronchique.
Instillation <u>simultanée</u> avec l'ovalbumine				
✓ Souris ICR	OVA ^{***}	Inoue et coll. [128]	CBUF [14 et 56 nm] à 50 µg/sem. pendant 6 sem.	Effet synergique : majoration réponse inflammatoire, stress oxydant > et production éosinophile >
✓ Souris BALB/c	OVA ^{***}	De Haar et coll. [70]	CBUF à 200 µg	Réaction inflammatoire immédiate + allergique au niveau des voies respiratoires après phase de déclenchement par OVA.

* VRS ou virus respiratoire syncytial, principale cause de bronchiolite ou de pneumonie virale chez l'enfant.

** Interféron-γ, nécessaire à la défense antimicrobienne.

*** Ovalbumine.

➤ **Etudes chez l'Homme**

Les résultats d'une étude cas-témoins effectuée aux États-Unis par **Robertson et Ingalls [235]** auprès de travailleurs d'usine de production de noir de carbone indiquent que l'exposition au noir de carbone en milieu de travail n'augmente pas le risque des travailleurs d'être atteints de troubles circulatoires, malins ou respiratoires. **Watson et Valberg [296]** sont également parvenus à la même conclusion. A l'opposé, les différents rapports de l'*International Agency for Research on Cancer (IARC)* évoquent le développement de bronchites chroniques et une diminution de la fonction pulmonaire et une réaction au niveau du tissu fibreux dans le parenchyme pulmonaire suite à l'inhalation de noir de carbone [208]. En outre, une étude menée au Royaume-Uni souligne un excès de mortalité due au cancer pulmonaire dans une cohorte de travailleurs affectés à la production de noir de carbone. Une autre étude cas-témoins menée à Montréal sur un échantillon de population révèle un excès de risques de cancer du poumon lié au noir de carbone [208]. Cependant, au nom du principe de précaution, l'IARC classe le noir de carbone comme « cancérogène probable » (groupe 2B) bien que les preuves soient insuffisantes actuellement.

1.3.4. Conclusion sur la toxicité des noirs de carbone

Contrairement aux nanotubes de carbone, la formation de granulome n'est décrite par aucun auteur et la fibrose est rare. Globalement, toutes les études corroborent l'inflammation, la cytotoxicité et le stress oxydant. A l'inverse de **Magrez et coll. [173]**, certains auteurs tels **Murr et coll. [193]** ou **Bottini et coll. [41]** les considèrent moins toxiques que les nanotubes de carbone. Ce constat reste toutefois mitigé car des études *in vitro*, comme *in vivo*, et même des données épidémiologiques humaines soulignent la présence de mutation ou d'expression génique modifiée, voire de cancers pulmonaires. Toutefois, selon **Borm et coll. [38]**, c'est la surcharge des mécanismes de défense de l'organisme qui explique l'effet cancérogène du noir de carbone chez le rat. Enfin, il s'est révélé être un agent aggravant d'une inflammation préexistante ; ce dernier facteur n'est pas des moindres car les asthmatiques, les patients atteints de BPCO ou encore les sujets atopiques d'une manière générale représentent une partie non négligeable de la population et certains d'entre eux, en plus des nourrissons atteints de bronchiolites, constituent un groupe particulièrement sensible.

1.4. Les nanocapsules, nanosphères et des dendrimères

1.4.1. Définition

Les nanocapsules, les nanosphères (figure 22) et les nanocoquilles peuvent être constituées d'une grande variété de polymères organiques insolubles [208].

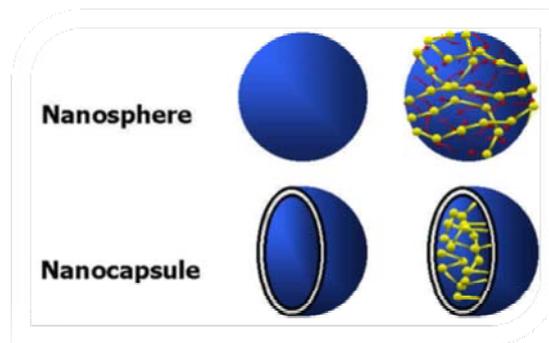


Figure 22 - Représentation d'une nanosphère et d'une nanocapsule. (Anonyme, site nanoparticles.org [17])

La nanosphère (entre 100 et 200 nm) est une nanoparticule constituée d'un polymère enchevêtré formant un réseau. Le médicament est dispersé ou dissous dans la matrice polymère. Son principe actif sera libéré par simple diffusion vers l'extérieur ou à la suite de sa biodégradation dans l'organisme. La nanocapsule (entre 100 et 200 nm) est une nanoparticule de type réservoir. Elle est constituée d'une mince paroi de polymère, dont l'épaisseur ne dépasse pas quelques nanomètres, entourant un compartiment huileux ou aqueux pouvant contenir par exemple un médicament [5], (Figure 23).

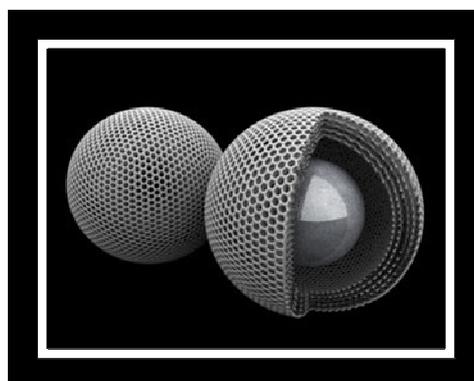


Figure 23 - Une nanocapsule. (Anonyme, mémoire pour le CNAM [16])

Les dendrimères sont des molécules sphériques de polymères formées par auto-assemblage (figure 24). Hautement ramifiés (figure 25) et plurifonctionnels [2] (figure 26), ils sont considérés comme des éléments de base pour la synthèse à grande échelle de nanostructures organiques et inorganiques [206].

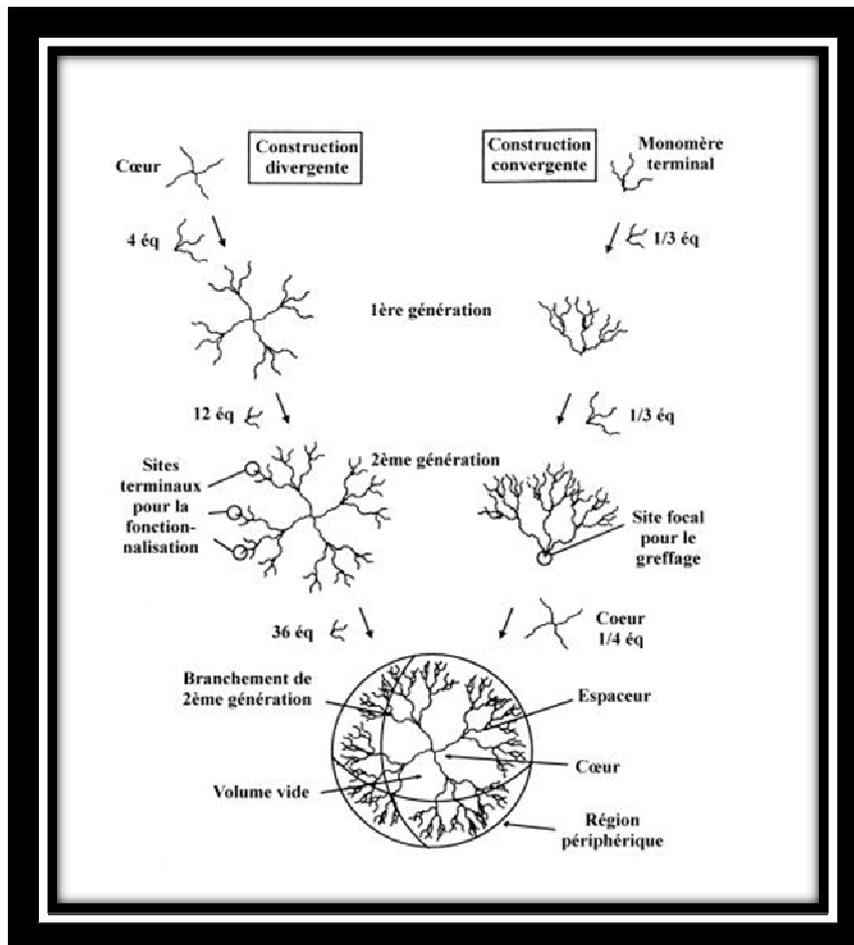


Figure 24 - Représentation schématique de la structure d'un dendrimère et de sa synthèse de manière divergente et convergente. (Dardel, [68])

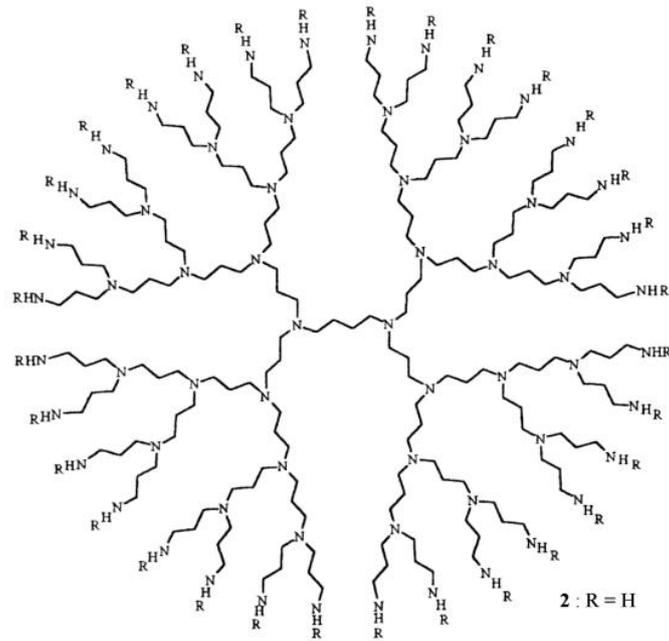


Figure 25 - Dendrimère PPI de quatrième génération. (Dardel, [68])

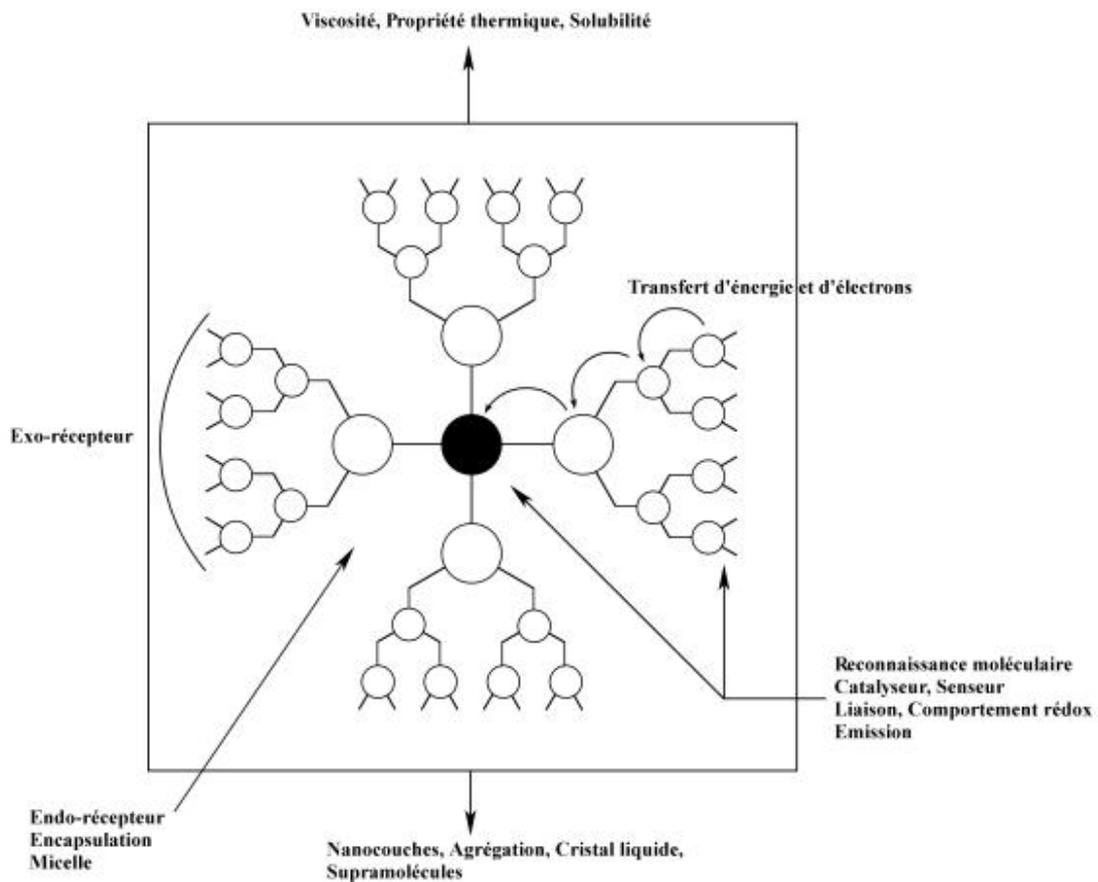


Figure 26 - Représentation schématique des propriétés des dendrimères et de leur potentiel en tant que macromolécules fonctionnelles. (Dardel [68])

1.4.2. Utilisation

Nanosphères et nanocapsules sont principalement utilisées à des fins de vectorisation, en particulier en recherche pharmaceutique par leur capacité à transporter un principe actif jusqu'à son site d'action [208]. Les dendrimères permettent la synthèse de nanostructures de dimensions, de forme et de chimie de surface désirée. Via différents groupements réactifs de surface, ils pourraient servir dans le domaine médical. Ils sont compatibles avec les structures organiques telles l'ADN. De plus, ils pourraient interagir avec les nanocristaux métalliques et les nanotubes ou encore posséder une capacité d'encapsulation [206].

1.4.3. Données toxicologiques

Les études retrouvées sont peu nombreuses, du moins celles abordant le système respiratoire. Une étude *in vitro* de **Roberts et coll.** [234] révèle une diminution de la viabilité des fibroblastes de poumons de hamster chinois V79 suite à l'exposition à des dendrimères PAMAM (polyamidoamine) cationiques de générations G3, G5 et G7 possédant respectivement 24, 96 et 384 fonctions amines terminales. Un nM de G3 a provoqué la mort de 90 % des cellules alors qu'il a fallu 10 nM pour G5 et 100 nM pour G7 pour obtenir le même résultat. Les auteurs concluent que la cytotoxicité des dendrimères est concentration-dépendante et génération-dépendante. **Dailey et coll.** [67] ont, quant à eux, rapporté que les instillations de souris Balb-c avec des NPs de poly acide lactique-co-glycolique (PLGA) et l'un de ses dérivés (le DEAPA-PVAL-g-PLGA) ont abouti à une plus faible réponse inflammatoire que l'instillation d'une quantité équivalente de nanosphères de polystyrène de 75 et 220 nm.

1.5. Polystyrène et polyéthylène

Ils peuvent se rencontrer notamment sous forme de nanotubes de polystyrène (*figure 27*) ou sous forme de nanotubes de polytétrafluoroéthylène.

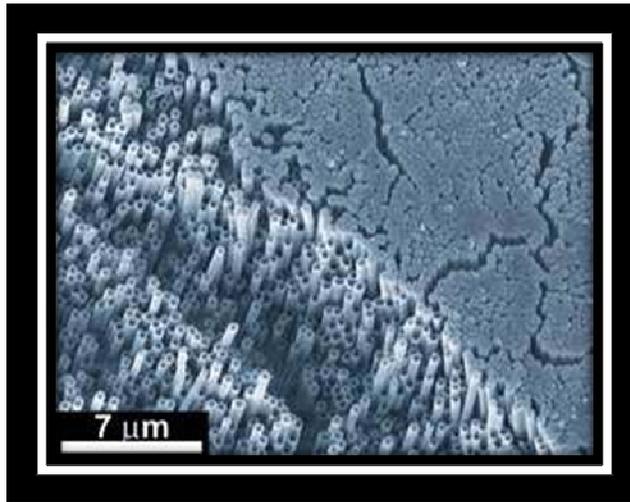


Figure 27 - Observation de nanotubes de polystyrène. (Afsset [2])

Les données toxicologiques sont également peu nombreuses. **Nemmar et coll. [194]** ont instillé à des hamsters des NPs de polystyrène de 60 nm, chargées positivement, provoquant une thrombose et une inflammation, également retrouvées par **Brown et coll. [48]** avec des NPs de polystyrène de 64 à 535 nm chez le rat. Par ailleurs, ces derniers ont également observé un afflux de calcium intracellulaire sur des macrophages Mono Mac-6.

2. Particules de diesel

2.1. Définition

C'est un mélange complexe de plusieurs centaines de composés, organiques ou non, gazeux ou particulaires. Sa composition varie suivant le type d'huile, le carburant, le moteur et son régime, l'utilisation de système post-traitement... Néanmoins, il comporte une fraction gazeuse d'espèces chimiquement définies tels l'oxyde d'azote, le monoxyde de carbone (CO), le dioxyde de carbone (CO₂), ou les hydrocarbures volatils... et une fraction particulaire beaucoup plus complexe contenant à la fois des PM₁₀, des particules fines et des NPs (*figure 28*). Les particules se scindent en 2 classes : les suies (particules solides de carbone où se condensent des composés organiques ou non) et les NPs, résultant essentiellement de la condensation de composés organiques et soufrés volatils, au moment

où l'échappement diesel est dilué et refroidi. La *figure 28* est d'ailleurs représentative et caractéristique de cet aérosol dont les tailles de particules oscillent entre 0,02 à 1 µm. Les NPs représentent 90 % en nombre de celui-ci mais 0,1 à 10 % de la masse totale [151].

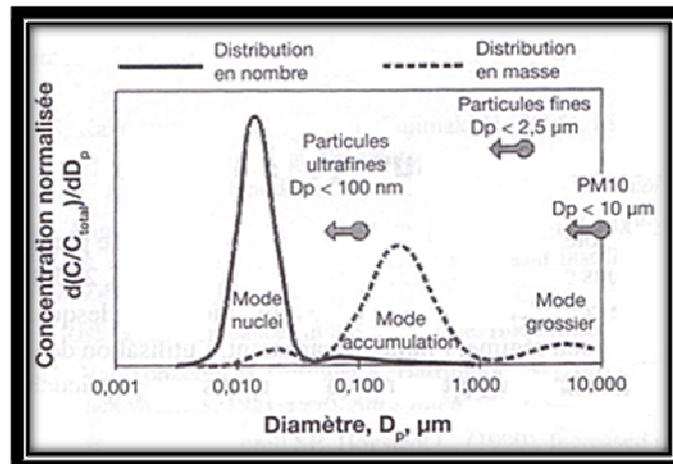


Figure 28 - Distribution en taille des particules de diesel. (Lacroix [151] ; modifié d'après Kittelson 2002)

Cette schématique évolue cependant au fil des années. En effet, la faible teneur en soufre des nouveaux carburants, les filtres à particules et autres progrès ont changé le « spectre » présenté ci-dessus et certains auteurs pensent que la masse a diminué au profit du nombre de NPs qui seraient augmentées. Ceci s'expliquant par des précurseurs plus nombreux (hydrocarbures, tétraoxyde de soufre SO₄...) ou encore par une moins forte agglomération formant classiquement le « mode accumulation » [151].

2.2. Données toxicologiques

L'ouvrage du **Dr B.Hervé-Bazin et de ses collaborateurs**, où figure la plupart des publications suivantes, stipule que les études réalisées par inhalation mettent en jeu des sujets (humains ou animaux) soumis directement à tout l'échappement diesel et que même la présence de filtre ne permet pas d'isoler une fraction en particulier. Ils ajoutent que dans les études réalisées via instillation, il est possible que la granulométrie se soit modifiée suite

au procédé usité et insistent sur le fait que, dans la plupart des publications, aucune taille n'est spécifiée.

2.2.1. Effets pulmonaires

➤ **Données toxicologiques expérimentales :**

Les études *in vitro* sur les macrophages, EBH ou sur tranches de poumon de rat (*Tableau 20*), et celles réalisées *in vivo* sur les rongeurs (*Tableau 21*), se sont toutes penchées sur la recherche de stress oxydant, de signes inflammatoires ou cytotoxiques. Par ailleurs, les travaux chez l'animal (*Tableau 21*) se sont également intéressés à la recherche de tumeurs et de fibrose.

➤ **Données toxicologiques chez l'Homme :**

Selon **Zelikoff [309]**, les populations seraient exposées à des teneurs environnementales en particules d'émission diesel (PED) de l'ordre de 1-10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ alors que des mesures effectuées dans les pays scandinaves ont rapporté des concentrations de l'ordre de 30 à 150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. **Sydbom et coll. [268]** font état de concentrations jusqu'à 1 500 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ dans certaines zones industrielles. Chez des volontaires exposés à des concentrations de 300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, une irritation oculaire et nasale ainsi qu'une sensation d'inconfort liée à l'odeur du diesel sont retrouvées. Selon **Rudell et coll. [240]**, l'utilisation conjointe de filtre à particules et à charbon actif réduit fortement ces symptômes. **Salvi et coll. [243], [244]** apportent la preuve d'une inflammation pulmonaire et concluent qu'il ne faut pas s'attarder sur la mesure de la fonction pulmonaire qui sous-estime cette dernière. **Stenfors et coll. [260]** ont relevé une augmentation de la résistance des voies aériennes de même intensité dans les deux groupes ainsi qu'une inflammation chez des volontaires sains, 6 heures après l'exposition, caractérisée par : un afflux de neutrophiles dans les bronches, une augmentation du nombre de lymphocytes et des teneurs en cytokines pro-inflammatoires (IL-6 et IL-8) dans le LBA. Chez des asthmatiques, seule l'augmentation des taux d'IL-10, cytokine impliquée dans l'inflammation allergique, a été retrouvé dans l'épithélium bronchique.

Tableau 20 - Données toxicologiques des tests *in vitro* pour les particules diesels.

Endpoints et types cellulaires	Auteurs	Concentrations et NPs	Observations
1. Stress oxydant (présence ERO)			
✓ Tranches de poumon de rat	Bion et coll. [34]	Emissions diesels diluées	Révéle par l'ajout d'isoflavones
✓ MA canin et humain	Beck-Speier et coll. [32]	PED	
2. Cytotoxicité			
✓ Cellules EBH	Doornaert et coll. [84], [85]	PED à 20 et 100 µg/mL	↘ interactions cellules-matrice + ↘ intégrines* et CD44 + rigidité du cytosquelette d'actine
✓ Tranches de poumon de rat	Bion et coll. [34]	Emissions diesels diluées	Cassure dans l'ADN
✓ MA de chiens et de souris	Möller et coll. [182]	PED [12 à 220 nm] à 10 à 320 µg de NPs/ml/10 ⁶ cellules	Dysfonction du cytosquelette + ↘ viabilité MA.
3. Inflammation			
✓ Cellules EBH	Bayram et coll. [30]	PED à 50 µg/mL	IL-8, IL-1 et GM-CSF **
	Doornaert et coll. [81], [85]	PED	-
✓ Tranches de poumon de rat	Bion et coll. [34]	Emissions diesels diluées	-
✓ MA canin et humain	Beck-Speier et coll. [32]	PED	Acide arachidonique, PALA ₂ et PGE ₂
4. Divers			
✓ Cellules EBH	Bayram et coll. [30]	PED à 50 µg/mL	↗ résistance électrique des cellules et ↘ fréquence de battement ciliaire

* Molécules d'adhésion cellulaire

** *Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor*

Tableau 21 - Données toxicologiques des tests *in vivo* pour les particules diesels.

Endpoints et animaux utilisés	Mode d'exposition	Auteurs	Concentrations et types de nanoparticules	Observations
1. Inflammation				
✓ Hamster, rats, souris	Inh.	Heinrich et coll. [110]	PED : concentrations très élevées par rapport aux teneurs environnementales	Macrophages, PNN et PNE*++
✓ Animaux N.D	?	Henderson et coll. [113]	Idem.	-
✓ Rats	Inh.	White et Garg [295]	PED : 6000 µg/m ³	Cellules inflammatoires.
✓ Souris	Inh.	Etude conjointe : DeMarini et coll. [71] et Singh et coll. [255]	2 types de PED : - échappement d'un chariot élévateur (SRM 2975) - émissions d'un moteur automobile (A-PED)	- SRM 2975 => PNN et IL-6 - A-PED => macrophages, IL-6, TNF-α et MIP-2
2. Cytotoxicité				
✓ Cobayes	Inh chronique	Barnhart et coll. [28]	PED: 750 et 1500 µg/m ³	Altérations structurales du tissu pulmonaire
✓ Rats	Inh.	White et Garg [298]	PED : 6000 µg/m ³	Idem.
3. Fibrose augmentée				
✓ Cobayes	Inh	Barnhart et coll. [29]	PED	-
✓ Chats	Inh.	Hyde et coll. [126]	PED	-
✓ Animaux N.R	N.R	Henderson et coll. [113]		
4. Mortalité des animaux : très limitée				
✓ Rats	Inh.	White et Garg [298]	jusqu'à 6 000 µg/m ³ durant 9 semaines	-

5. Tumeur					
✓	Hamster et souris	N.R	Mauderly [174]	PED	-
✓	Rats	Inh.	Valberg et Crouch [278]	PED > 600 µg/m ³	-
			Heinrich et coll. [110]	PED à des concentrations très élevées par rapport aux teneurs environnementales	Adénocarcinome pulmonaire, incidence rapportée : 16 %
			Kagawa [139]	PED : expositions à long terme à 2 mg/m ³	
6. Fonction pulmonaire					
✓	Chats	Inh. chroniques	Moorman et coll. [184]	6 000-12 000 µg/m ³ pendant 62 semaines	↘
✓	Rats	Inh. subaiguës	Pepelko et coll. [218], [219]	Emissions diesels diluées	Absence d'effets
		Inh. chroniques	Gross [106]	1 500 µg/m ³ durant 612 jours	↗
7. Divers					
✓	Rats, souris et hamsters	Inh. chroniques	Heinrich et coll. [112]	PED à 4 000 µg/m ³	↗ poids des poumons + ↘ clairance
✓	Souris BALB/c	Inh.	Hiramatsu et coll. [121]	Echappement diesel : 3 000 ou 6 000-7 000 µg de particules/m ³	Résistance aux infections bactériennes ↘
✓	Souris	N.R	Campbell et coll. [54]	N.R	Idem.
✓	Souris CD-1	Inh.	Hahon et coll. [108]	PED à 2 000 µg/m ³ durant 3 à 6 mois	Croissance virale
✓	Souris	Inh.	Etude conjointe : DeMarini et coll. [71] et Singh et coll. [255]	PED : SRM 2975 et A-PED	Activité mutagène sur <i>Salmonella</i> , fonction du nombre de composés organiques

2.2.2. Effets sur l'allergie

➤ **Données toxicologiques expérimentales :**

Ici, les différentes équipes ont surtout recherché à savoir si les PED sont susceptibles de potentialiser une inflammation préexistante (*Tableau 22*). Les mesures réalisées concernent essentiellement les taux en polynucléaire éosinophile (PNE) ou en immunoglobulines E (IgE), tous deux témoins du mécanisme allergique.

➤ **Données toxicologiques chez l'Homme :**

Tout comme pour les protocoles réalisés chez l'animal, les différents auteurs ont recherché des indices propres aux mécanismes atopiques via la mesure des taux en IgE, cytokines ou en PNE (*Tableau 23*). Notons que ces résultats toxicologiques reposent à la fois sur des données épidémiologiques mais également sur des données « expérimentales » où des équipes ont directement testé les impacts d'une exposition chez l'Homme.

Tableau 22 - Données toxicologiques de tests *in vitro* ou *in vivo* démontrant des effets potentialisateurs ou immunologiques directs des PED.

Expériences réalisées	Mode d'administration	Allergènes	Auteurs	NPs	Conclusions des auteurs
<i>In vitro</i> :					
✓ Eosinophiles			Terada et coll. [274]	PED à 5 et 50 ng/mL	↗ adhérence aux cellules épithéliales nasales humaines et plus grande capacité à la dégranulation.
<i>In vivo</i> : Instillation <u>simultanée</u>					
✓ Souris	<i>i.N et i.P</i>	OVA	Takafugi et coll. (1987)	PED	Synergie
✓ Souris BALB/c	<i>i.N</i>	OVA	Fujimaki et coll. [98]	PED	Cellules lymphatiques médiastinales et IL-4 ↗ > à OVA seul.
✓ Cobaye	<i>i.N</i>	OVA	Kobayashi [145]	PED à 0.3 et 1.0 mg/m ³	Renforcement des effets de la réaction allergique.
✓ Rat <i>Brown Norwa</i>	<i>i.N et i.T</i>	Pollens de fléole des prés*	Steerenberg et coll. [259]	PED à 3 mg/mL	IgE et IgG sériques +++.
✓ Souris A/J et C57Bl/6	<i>i.N</i>		Ohta et coll. [204]	PED	Hyperréactivité des voies aériennes via la synthèse de GM-CSF.
✓ Souris ICR	<i>i.N</i>	OVA	Takano et coll. [271]	PED à 0,3- 1,0 et 3,0 mg/m ³	Eosinophilie ++ et hyperréactivité bronchique.
	<i>i.P</i>	OVA	Ichinose et coll. [127]	PED à 0,3- 1,0 et 3,0 mg/m ³	Eosinophilie ++ et hyperréactivité bronchique.

Intrapéritonéal : i.P

* *Phleum pratense, Poaceae*

Tableau 23 - Données toxicologiques des études épidémiologiques ou « expérimentales » chez l'Homme démontrant des effets potentialisateurs ou immunologiques directs des PED.

Echantillons considérés	Allergènes	Auteurs	Particules	Conclusions des auteurs
1. Etudes épidémiologiques				
✓ Personnes vivant dans des zones de forte circulation routière	Pollen de cèdre du Japon*	Ishizaki et coll. [129]	N.R	Réactions allergiques exacerbées par rapport à des individus vivant dans des zones rurales.
✓ Enfants vivant près de grands axes routiers ou les régions polluées		Van Niekerk et coll. [279], Brunekreef et coll. [50], Oosterlee et coll. [205], Heinrich et coll. [111]	N.R	Incidence ↗ pour des pathologies respiratoires chroniques.
✓ Trois cheminots (pas d'affection respiratoire préexistante)		Wade et Newman [282]	émissions diesels de locomotive, concentrations +++	Développement d'un asthme
2. Données « expérimentales »				
✓ Volontaires sains (i.N)		Diaz-Sanchez et coll. [73] ; [75]	PED à 0,3 mg et 200 µg	- ↗ nombre de cellules sécrétant des IgE via la sécrétion accrue de cytokines de type Th2** - Altération de l'expression des ARNm codant les IgE.

	Pollen d'ambrosie ***	Diaz-Sanchez [72] et Sanchez et coll. [76]	Diaz-	PED	- ↗ cytokines Th2 (IL-4, -5, IL-6, IL-10, IL-13) et ↘ cytokines Th1**** : IFN-γ et IL-2), - Plus forte production d'IgE spécifiques de l'ambrosie et d'IgG4, une isoforme d'IgG liée à l'expression des IgE.
✓ Sujets atopiques non fumeurs		Diaz-Sanchez et coll. [74]		PED et hémocyanine de patelle (KLH)	- IgE spécifiques au KLH alors que l'Homme n'y est normalement pas sensibilisé en temps normal - Niveaux élevés en IL-4.

* *Cryptomeria japonica*, conifère de la famille des *Cupressaceae*

** Impliquées dans les réactions allergiques

*** *Ambrosia artemisiifolia* L., famille des *asteraceae*, considérée comme nuisible en France car très allergisante.

**** Impliquées dans la résistance aux infections.

2.2.3. Conclusion sur la toxicité des émissions diesels et PED.

Hormis les travaux de **Reed et coll. [228]** sur des rats et des souris soumis à des niveaux environnementaux d'émissions de diesel de 30, 100, 300 ou 1 000 µg /m³ et n'ayant que peu d'effets néfastes sur la santé ; toutes les études vont dans le sens d'une toxicité avérée, notamment caractérisée par de l'inflammation, une cytotoxicité ou encore des altérations de la fonction pulmonaire et des mécanismes de défense. Aussi, il a été décrit des cas de cancer pulmonaire chez le rat. Sur ce point, les conclusions sont contradictoires ; tandis que **Bunn et coll. [51]** et **[52]** n'ont retrouvé aucun potentiel mutagène, **Cohen et Nikula [61]** ou **Kagawa [139]** soupçonnent les composés organiques adsorbés à la surface d'en être à l'origine. **Mauderly [175]** ou **McClellan [177]**, quant à eux, émettent l'hypothèse que les tumeurs chez le rat pourraient être non spécifiques, et dues à une surcharge des poumons lors d'expositions prolongées à de fortes concentrations en particules. Néanmoins, les organisations tels le *Health Effects Institute (HEI)*, l'*IARC*, le *National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH)*, l'*United States Environmental Protection Agency (US EPA)* ou encore la *World Health Organization (WHO)*, ont classé les émissions diesels comme cancérigènes « potentiels » voire « définis » chez l'Homme. Cependant, un rapport de 2002 de l'HEI recommande de ne pas initier de nouvelles études épidémiologiques sur le risque cancérigène lié au diesel tant que les moyens de recherche ne sont pas améliorés **[151]**. Enfin, « bien que l'exposition aux PED seules puisse promouvoir des effets sur certains paramètres de l'allergie, de nombreux travaux ont montré que leur action est potentialisée en présence d'allergène » **[151]**. **Riedl et Diaz-Sanchez [233]**, indiquent que les PED pourraient également agir comme transporteurs d'allergènes, augmentant les doses de ces derniers dans le poumon. Ces observations rejoignent celles de **Sydbom et coll. [268]** ou de **Pandya et coll. [211]**, statuant sur l'implication de facteurs environnementaux dont la pollution dans l'augmentation rapide des cas d'allergies respiratoires telles que l'asthme, la rhinite, les bronchites chroniques ou encore l'exacerbation de ces mêmes pathologies.

3. Particules inorganiques

Les oxydes métalliques, tels le dioxyde de titane, l'oxyde de zinc, le dioxyde de silicium, l'oxyde d'aluminium, le zirconium et l'oxyde de fer, sont les nanoparticules les plus commercialisées, elles se retrouvent sous forme de poudres ou de suspensions liquides. Les marchés liés aux produits cosmétiques en utilisent actuellement 1000 à 2000 tonnes par an dans le monde [2]...

3.1. Oxyde de zinc

3.1.1. Définition

L'oxyde de zinc (ZnO), également appelé calamine, se présente sous forme de poudre cristalline blanche (*figure 29*), quasi insoluble dans l'eau ou l'alcool ; mais, toutefois soluble dans les acides (acide acétique dilué, acides minéraux...) ou les solutions alcalines [36].

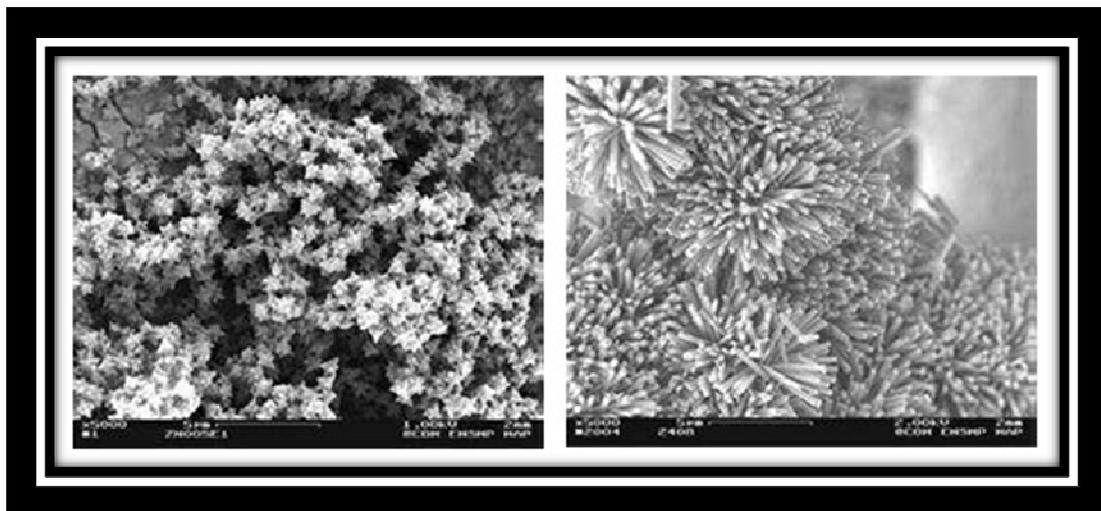


Figure 29 - Particules d'oxyde de zinc en forme d'étoiles et de pompons pour l'industrie cosmétique. (Afsset [2])

Actuellement, les industriels arrivent également à l'obtenir sous forme de tétrapodes. (*Figure 30*) Ces derniers sont susceptibles d'avoir des propriétés physiques particulières, notamment optiques, semi-conductrices, pyroélectriques et piézoélectriques ; ou propriété de certains corps à se polariser électriquement sous l'action d'une contrainte mécanique et réciproquement à se déformer lorsqu'on leur applique un champ électrique

[12]. Les jambes des nanotétrapodes ont une longueur généralement inférieure à $20\ \mu\text{m}$ [2]. De ce fait, elles appartiennent également aux microparticules.

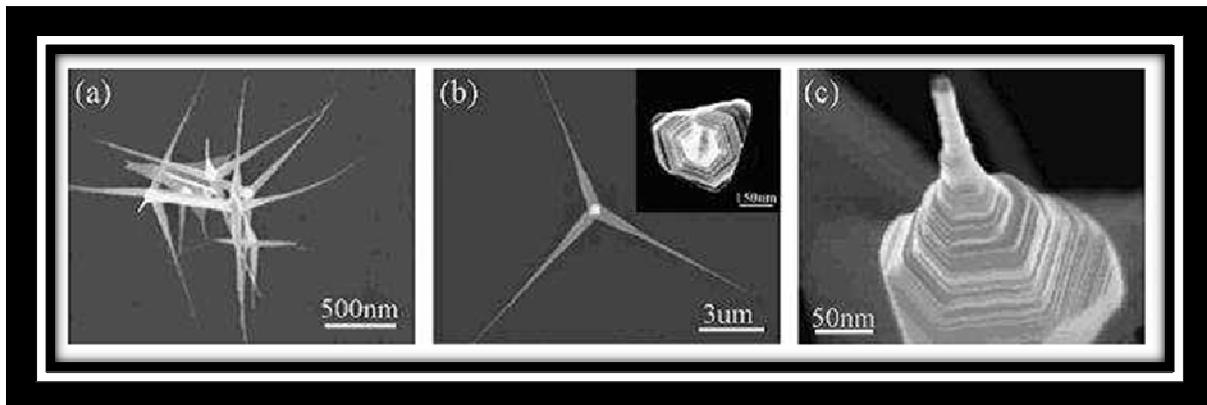


Figure 30 - Observation de tétrapodes de ZnO. (Wang et coll. [284])

Des nanotétrapodes à longues jambes (*figure 31*), environ 30 à $50\ \mu\text{m}$, peuvent être fabriqués par de nouvelles méthodes de combustion-oxydation à haute température. Ils pourraient avoir des propriétés issues à la fois des nanofils et des nanotétrapodes [2].

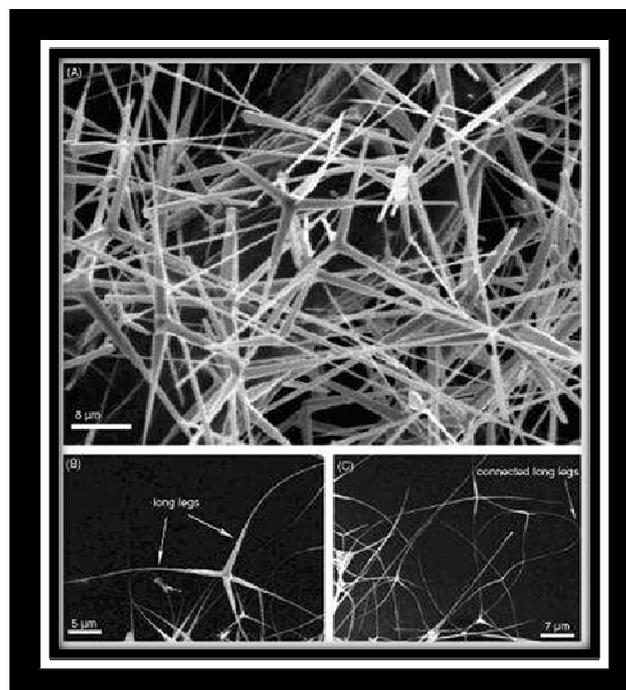


Figure 31 - Observation de nanotétrapodes à longues jambes de ZnO. (Afsset [2], d'après Zhao et coll., 2005).

3.1.2. Utilisations

Ces NPs peuvent être introduites dans des crèmes solaires car elles absorbent et réfléchissent les rayons ultraviolets mais sont transparentes à la lumière visible, offrant ainsi une galénique intéressante. De plus, elles permettent également d'augmenter la surface disponible [171]. Elles entrent également dans la fabrication de pigments pour émaux, peintures, matières plastiques, caoutchouc ou servent encore comme activateur et accélérateur de vulcanisation du caoutchouc [36]. Plus récemment, combiné à de l'aluminium, du cuivre ou de l'argent, le ZnO est usité dans le domaine opto-électronique (substrats isolants, diodes, laser, photo-détecteurs...) [171]. Les tétrapodes, quant à eux, pourraient avoir des applications telles que l'augmentation de la résistance de composites polymérisés ou l'absorption de micro-ondes [2].

3.1.3. Données toxicologiques

➤ **Fièvre des soudeurs :**

Depuis le début du siècle dernier, on a observé des manifestations similaires à un épisode grippal survenant chez des salariés exposés de manière aiguë à des fumées d'oxydes métalliques (50 à 500 nm) contenant principalement du ZnO. Ce syndrome est connu sous le nom de « **fièvre des fondeurs** ». En effet, ses symptômes surviennent suite à des opérations de soudage, de galvanisation, de fonderie au cours desquelles les opérateurs ont inhalé les fumées émises dans ces conditions de températures élevées (au moins 500°C, généralement 939°C) [36]. Tout d'abord, un malaise survient 4 à 8 heures après l'exposition et le patient présente alors irritation au niveau de la gorge, goût métallique dans la bouche et parfois même des démangeaisons. Puis, surviennent soif, toux sèche, sialorrhée, nausées, céphalées, transpiration, fatigue, douleurs lombaires ou dans les membres, douleurs thoraciques et dyspnée sans sibilances [171]. Dix à douze heures post-exposition, une fièvre dépassant rarement 39 °C apparaît, et s'accompagne des signes classiques d'une atteinte grippale : frissons, myalgies, irritation pharyngo-laryngée avec sensation de gêne respiratoire, constriction thoracique, toux non productive et céphalées. Cet accès ne dure généralement que 6 à 12 heures [36]. Tous ces symptômes s'estompent au bout de 24 à 48 heures. Le traitement est donc purement symptomatique : repos et analgésiques.

Au cours de cet épisode, **D.Lison [171]** a retrouvé dans la littérature les observations suivantes :

- ✓ une augmentation du nombre de globules blancs de type neutrophile accompagnée parfois d'hyperéosinophilie ou d'hyperlymphocytose,
- ✓ une augmentation des polynucléaires dans le LBA,
- ✓ des altérations cellulaires dans le LBA,
- ✓ des opacités discrètes et bilatérales en phase aiguë, repérées à la radiographie,
- ✓ une excrétion urinaire accrue de Zn confirmant le diagnostic,
- ✓ des perturbations marquées des paramètres fonctionnels respiratoires, tels le volume expiratoire maximal en une seconde (VEMS) ou la capacité vitale forcée (CVF), peuvent être enregistrées,
- ✓ deux cas d'asthme professionnel aux fumées de ZnO ont été rapportés,
- ✓ un cas d'urticaire et d'œdème de type Quincke après exposition à des fumées de ZnO a également été rapporté chez un soudeur.

L'exposition répétée ou continue induit une tolérance de l'organisme. Les salariés sont alors plus sensibles en début de semaine de travail et l'on parle de « fièvre du lundi matin ». Le syndrome est généralement bien connu et toléré des professionnels exposés aux fumées métalliques (par exemple soudeurs) [36]. Une des théories les plus récentes implique la libération de cytokines pyrogènes (TNF, IL-1, IL-6, IL-8) par les macrophages alvéolaires activés [36]. Des données précises relatives aux concentrations de ZnO susceptibles d'induire une fièvre sont relativement fragmentaires. La **valeur d'exposition moyenne pondérée (TLV-TWA**, soit la concentration moyenne établie pour une période d'exposition de 8h/j à raison de 40 heures/sem.) pour les fumées de ZnO est de 5 mg/m³ (10 mg/m³ pour les poussières « totales » de ZnO). La **concentration maximale (TLV-STEL**, soit la concentration admissible pendant une période d'exposition maximale de 15 min et moins de quatre fois par jour avec intervalle d'au moins une heure entre chaque exposition) est de 10 mg/m³.

- **Autres phénomènes toxicologiques** : Ils ont été regroupés dans les *Tableaux 24, 25 et 26* respectivement pour les travaux *in vitro*, *in vivo* et chez l'Homme.

Tableau 24 - Données toxicologiques des tests *in vitro* pour le ZnO.

Endpoints et types cellulaires	Auteurs	Concentrations et types de nanoparticules	Observations
1. Stress oxydant			
✓ Neutrophiles humains	Lindahl et coll. [168]	Particules de ZnO [taille NR]	Zn ⁺⁺ et le ZnO stimulent la production des radicaux oxygénés.
2. Phagocytose			
✓ MA recueillis de cobayes exposés <i>in vivo</i> à 2,5 ou 5 mg/m ³ de ZnO	Gordon et coll. [103]	ZnO [<1 µm]	Réduite
3. Inflammation			
✓ Cellules macrophagiques U937	Kuschner et coll. [149]	ZnO solubilisé à 10 ⁻³ M	TNF-α et IL-8 ++

Tableau 25 - Données toxicologiques des tests *in vivo* pour le ZnO.

Endpoints et animaux utilisés	Mode d'exposition	Auteurs	Concentrations et types de nanoparticules	Observations
1. Inflammation				
✓ Cobayes	Inh.	Lam et coll. [156], [157]	Fumées de ZnO [50 nm] à 5 mg/m ³	-
		Conner et coll. [62]	ZnO [50 nm] à 5,9 et 12,1 mg/m ³	-
✓ Rat et cobayes	Inh.	Gordon et coll. [103]	Fumées de ZnO [60 nm] dès 2,5 mg/m ³ ,	-
2. Fonction pulmonaire				
✓ Cobayes	Inh.	Lam et coll. [156], [157]	Fumées de ZnO [50 nm] à 5 mg/m ³	↘ (capacité vitale, volumes alvéolaire et résiduel fonctionnel...)
		Amdur et coll.[3]	Fumées de ZnO [taille N.R] 1 mg/m ³	Altérations de la compliance pulmonaire*
3. Phénomène dit de « Tolérance »				
✓ Souris	Inh.	Wesselkamper et coll. [297]	ZnO [taille N.R] à 1 mg/m ³	Idem décrit chez soudeurs Associé à une surexpression pulmonaire de métallothionéine**

* Faculté des poumons à augmenter sa capacité en réponse à une augmentation de pression.

** Protéine fixant avec une grande affinité le Zn, qui disparaît après une période sans exposition.

Tableau 26 - Données toxicologiques du ZnO chez l'Homme, autres que la « fièvre des soudeurs ».

Endpoints et populations étudiées	Mode d'exposition	Auteurs	Concentrations et types de nanoparticules	Observations
1. Inflammation				
✓ 14 soudeurs volontaires	Inh.	Kuschner et coll. [150]	50 mg/m ³ , soit 10 fois la VME	TNF-α (dose-dépendante), d'IL-1 et 8 ++
		Blanc et coll. [35]	Soudage sur de l'acier galvanisé (77-153 mg Zn/m ³)	- élévation du nombre de PNN dose-dépendante - Pas d'élévation des cytokines !
✓ 13 volontaires sains non préalablement exposés	Inh.	Fine et coll. [92]	Fumées de ZnO à 5 mg/m ³	IL-6 ++
2. Fonction pulmonaire				
✓ 4 volontaires humains	Inh.	Gordon et coll. [103]	Fumées de ZnO à 5 mg/m ³	Inchangée
✓ 14 soudeurs volontaires	Inh.	Blanc et coll. [35]	ZnO, soudage sur de l'acier galvanisé (77-153 mg Zn/m ³)	Effets minimes
✓ 57 ouvriers	Inh.	Pasker et coll. [215]	ZnO [taille N.R] fourneau électrothermique, 5 mg/m ³	↘ minimes du VEMS
✓ 2 sujets sains	Inh.	Beckett et coll. [31]	ZnO [<0,1 μm] et ZnO [0,1-1 μm] à 0,5 mg/m ³	Inchangée
3. Phénomène dit de « Tolérance »				
✓ Sujets chroniquement exposés	Inh.	Fine et coll. [93]	ZnO à 5 mg/m ³	PNN et IL-6 diminués

3.1.4. Recommandations officielles

En France, le ZnO présente une valeur limite de moyenne d'exposition (VME obtenue sur 8 h de travail) de 10 mg/m³ pour les poussières et de 5 mg/m³ pour les fumées [7].

3.1.5. Conclusion sur la toxicité du ZnO

Les études *in vitro* et *in vivo* chez l'animal rapportent des preuves de l'existence du stress oxydant et d'une inflammation. Par ailleurs, les données animales et humaines ont également décrit avec le ZnO une diminution de la fonction pulmonaire et un phénomène dit de « tolérance », jusque là non décrit pour les autres NPs. Aussi, tous les auteurs s'accordent sur le fait que, le seuil actuel recommandé est encore insuffisant. Enfin, **Gordon et coll. [103]** ont mis en évidence des différences de toxicité inter-espèces : rat et cobaye présentent des signes inflammatoires ; les volontaires humains, des symptômes classiques de fièvre des fondeurs sans modification de la fonction pulmonaire ; et le lapin se montre résistant probablement en raison d'une moindre rétention des particules dans les poumons.

3.2. Dioxyde de titane

3.2.1. Définition

Il existe dans la nature sous plusieurs formes allotropiques, les formes cristallines étant les plus fréquentes sont anatase et rutile ; toutes deux sont tétraogonales (*figure 32*).

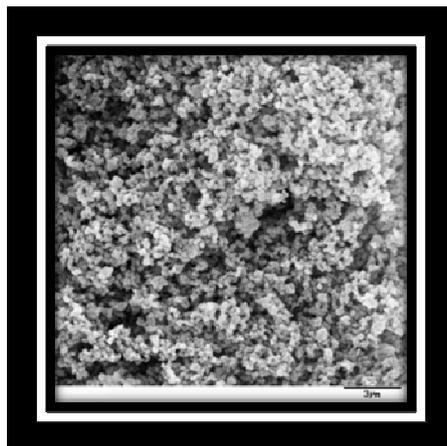


Figure 32 - Dioxyde de titane. (*Jesionowski [134]*)

3.2.2. Utilisations

Des NPs de dioxyde de titane (TiO₂) peuvent être introduites dans des crèmes solaires car elles absorbent et réfléchissent les rayons ultraviolets mais sont transparentes à la lumière visible [2]. On l'utilise également pour ses propriétés autonettoyantes ou antiadhésives aux surfaces traitées. Les fenêtres autonettoyantes, par exemple, sont revêtues d'une couche d'épaisseur nanométrique de TiO₂ auquel on a donné un caractère hydrophobe. Une peinture de façade et des tuiles, dont la surface prévient le développement des champignons et des algues, sont déjà sur le marché [2]. Il rentre également dans l'élaboration de matériaux opto-électroniques.

3.2.3. Données toxicologiques

➤ **Données in vitro**

L'essentiel des publications traitées (*Tableau 27*) ont recherché du stress oxydant, des signes inflammatoires (marqueurs, phagocytose...) et surtout de la cytotoxicité via les cellules pulmonaires de type MA ou cellules épithéliales bronchiques.

➤ **Données in vivo**

L'ensemble des données sélectionnées sont comme à l'accoutumée, d'origine murine, et ont recherché des *endpoints* identiques aux travaux *in vitro* ainsi que des signes de tumeur ou de fibrose (*Tableau 28*). Notons toutefois, que la plupart d'entre elles donnent surtout des renseignements à caractère inflammatoire. Cependant certaines études en point 7 (« divers ») abordent des points atypiques comme la clairance, les taux de super oxyde dismutase ou encore de certaines chimiokines.

➤ **Données chez l'Homme**

Selon le rapport du NIOSH en 2005 [117] et Hext et coll. [119], les études épidémiologiques sur le TiO₂ n'ont pas permis de démontrer une augmentation du risque de morbidité ou de mortalité liées au cancer pulmonaire chez les travailleurs affectés à sa production et aucune étude n'a été faite concernant des travailleurs manipulant ou utilisant le TiO₂ [117].

Tableau 27 - Données toxicologiques des tests *in vitro* pour le TiO₂.

Endpoints et types cellulaires	Auteurs	Concentrations et types de nanoparticules	Observations
1. Cytotoxicité			
• Présente			
✓ Cellules épithéliales pulmonaires humaines	Sayes et coll. [246]	NPs d'anatase [3-10 nm ; 153 m ² /g] et de rutile [5,2 nm ; 123 m ² /g]	100 fois supérieure pour l'anatase
✓ MA de chiens et de souris	Möller et coll. [182]	TiO ₂ [12 à 220 nm ; 300m ² /g] 10 à 320 µg de NPs/ml/10 ⁶ cellules	Dysfonction du cytosquelette + ↘ viabilité MA.
✓ Cellules épithéliales bronchiques BEAS-2B	Park et coll. [213]	NPs de TiO ₂ [taille N.R] à 5, 10, 20 et 40 µg/mL	Apoptose (caspase-3 activée + condensation chromatine)
• Absente			
✓ MA. J774.2	Renwick et coll. [231]	TiO ₂ [250 et 29 nm]	-
2. Phagocytose			
✓ MA. J774.2	Renwick et coll. (2001)	TiO ₂ [250 et 29 nm] à 0,78 µg/mm ²	- ↘ lorsque la dose ↗ - stimulée aux faibles doses
✓ MA de chiens et de souris	Möller et coll. [182]	TiO ₂ [12 à 220 nm ; 300 m ² /g] 10 à 320 µg de NPs/ml/10 ⁶ cellules	↘
3. Stress oxydant			
✓ Cellules épithéliales bronchiques BEAS-2B	Park et coll. [213]	NPs de TiO ₂ [taille N.R] à 5, 10, 20 et 40 µg/mL	↗ ERO et ↘ GSH
4. Inflammation			
✓ Cellules épithéliales bronchiques BEAS-2B	Park et coll. [213]	NPs de TiO ₂ [taille N.R] à 5, 10, 20 et 40 µg/mL	Expressions IL-1,6 et 8, TNF-α, et CXC motif ligand 2 (CXCL2)
5. Clairance			
✓ MA. J774.2	Renwick et coll. [231]	TiO ₂ [250 et 29 nm] à 0,78 µg/mm ²	Ralentie

Tableau 28 - Données toxicologiques des tests *in vivo* pour le TiO₂.

Endpoints et animaux utilisés	Mode d'exposition	Auteurs	Concentrations et types de nanoparticules	Observations
1. Stress oxydant				
✓ Rats Wistar	i.T	Dick et coll. [77]	TiO ₂ UF [20 nm; 49,8 m ² /g]	Absent.
2. Inflammation patente				
✓ Rats Wistar	i.T	Dick et coll. [77]	TiO ₂ UF [20 nm; 49,8 m ² /g]	Pas d'augmentation des PNN. dans LBA
✓ Rats mâles Fisher 344	Inh. et i.T	Ferin et coll. [91] et Oberdörster et coll. [198], [199]	TiO ₂ UF : - inh. : [250 nm] à 23,0 mg/m ³ et [21 nm] à 23,5 mg/m ³ , - i.T : [12, 21, 230 ou 250 nm] à 500 µg	PNN
✓ Rats et souris	Inh.	Heinrich et coll. [110]	TiO ₂ UF : Degussa P ₂₅ TM [0,8 µm, 48 m ² /g] à 10 mg/m ³	-
		Bermudez et coll. [33]	TiO ₂ UF Degussa P ₂₅ TM [21 nm] à 0,5 - 2,0 ou 10 mg/m ³	-
✓ Rats	i.T	Höhr et coll. [123]	TiO ₂ UF [20 et 180 nm ; 100 ou 600 cm ²] natives ou rendues hydrophobes; à 1 ou 6 mg	-
		Renwick et coll. [230]	TiO ₂ UF [250 nm ; 6,6 m ² /g] ou [29 nm ; 49,78 m ² /g]	-
✓ Souris	Inh.	Grassian et coll. [104]	TiO ₂ [2 à 5 nm] à 0,77 et 7,22 mg/m ³	Réponse minimale à modérée
	i.T	Park et coll. [214]	NPs de TiO ₂ [taille N.R.] de 5 à 50 mg/kg	Réponse TH-2 médiée (IL4, IL-5 et IL-10) + granulomes.

3. Fonction pulmonaire						
✓	Rats et chats	Inh.	Creutzenberg et coll. [64]	TiO ₂ [0,8 µm] à 10 mg/m ³		Modifications architecture bronchique et/ou paramètres respiratoires
4. Cytotoxicité						
✓	Rats et souris	Inh.	Bermudez et coll. [33]	TiO ₂ UF Degussa P ₂₅ TM ** [21 nm] à 10 mg/m ³		LDH et protéines
✓	Rats	i.T	Renwick et coll. [230]	TiO ₂ UF [250 nm ; 6,6 m ² /g] ou [29 nm ; 49,78 m ² /g]		LDH, GGT
5. Fibrose présente						
✓	Rats mâles Fisher 344	Inh. Et i.T	Ferin et coll. [91] et Oberdörster et coll. [198], [199]	TiO ₂ UF : - inh. : [250 nm] à 23,0 mg/m ³ et [21 nm] à 23,5 mg/m ³ , - i.T : [12, 21, 230 ou 250 nm] à 500 µg		Légère
		Inh.	Baggs et coll. [23]	TiO ₂ UF [250 nm] à 22,3 mg/m ³ et [20 nm] à 23,5 mg/m ³		-
✓	Rats et souris	Inh.	Heinrich et coll. [110]	TiO ₂ UF : Degussa P ₂₅ TM [0,8 µm, 48 m ² /g] à 10 mg/m ³		Réversible après 1 an sans exposition.
✓	Rats	Inh.	Bermudez et coll. [33]	TiO ₂ UF : Degussa P ₂₅ TM [21 nm] à 10 mg/m ³		Aggravée quand l'exposition ↗.
6. Tumeur						
✓	Rats femelles	Inh.	Heinrich et coll. [110]	TiO ₂ UF : Degussa P ₂₅ TM [0,8 µm ; 48 m ² /g] à 10 mg/m ³		-

7. Divers

✓ Rats	Inh.	Janssen et coll. [131]	TiO ₂ UF (taille NR)	↗ expression d'ARN_m codant la MnSOD* , corrélée à la réponse inflammatoire
		Bermudez et coll. [33]	TiO ₂ UF Degussa P ₂₅ TM [21 nm] à 2,0 ou 10 mg/m ³	Rétention ++, ↗ biopersistence
✓ Souris adultes mâles ICR	i.T	Chen et coll. [56]	TiO ₂ [19-21 nm] à 0,1 ou 0,5 mg	↗ PIGF*** et certaines chimiokines (CXCL1, CXCL5, et CCL3) => emphysème, apoptose, accumulation de macrophages et hyperplasie de pneumocytes de type II.
✓ Rats mâles Fisher 344	Inh. Et i.T	Ferin et coll. [91] et Oberdörster et coll. [198], [199]	TiO ₂ UF : - inh. : [250 nm] à 23,0 mg/m ³ et [21 nm] à 23,5 mg/m ³ , - i.T : [12, 21, 230 ou 250 nm] à 500 µg	Demi-vie pulmonaire de 501 jours [21 nm] et de 174 jours [250 nm].

* Superoxyde dismutase manganèse-dépendante, enzyme impliquée dans la défense pulmonaire contre l'excès d'ERO

** Fabriqué par la société allemande Degussa, mélange d'anatase et rutilite (80/20) et de particules amorphes [117].

*** Facteur de croissance du placenta (*placenta growth factor*)

3.2.4. Recommandations officielles

Le *NIOSH* a proposé, en novembre 2005, une limite d'exposition de $0,1 \text{ mg/m}^3$ pour les NPs de TiO_2 alors que la limite recommandée pour les particules fines de TiO_2 est de $1,5 \text{ mg/m}^3$ (pour une exposition jusqu'à 10 h/j pendant une semaine de travail de 40 h). La plus faible valeur recommandée pour le TiO_2 ultra-fin est justifiée par le *NIOSH* par sa plus grande surface spécifique [117]. En France, les poussières de TiO_2 dites « sans effet spécifique » présentent une valeur limite moyenne d'exposition (VME pondérée sur 8 heures de travail) de 10 mg/m^3 pour les poussières inhalées et de 5 mg/m^3 pour les poussières alvéolaires [7].

3.2.5. Conclusion sur la toxicité des NPs de TiO_2

Les données actuelles sont clairement en faveur de risques inflammatoire, fibrotique et cytotoxique alors que le stress oxydant n'y est encore que peu décrit. La diminution de la phagocytose et les temps de demi-vie pulmonaire élevés paraissent y jouer un rôle. D'autres phénomènes tels l'augmentation de la MnSOD, du PIGF et de certaines chimiokines intriguent et seront à développer. Par ailleurs, certaines formes cristallines de TiO_2 comme le rutile présenteraient une toxicité moindre à en croire les études de **Sayes et coll. [246]** ou de **Warheit et coll. [293]**. Enfin, concernant son potentiel cancérigène, les institutions ne sont pas unanimes : pour le *NIOSH* les preuves actuelles sont encore insuffisantes, alors que pour l'*IARC* elles le sont chez l'animal. En 2006, ce dernier le classe « cancérigène possible pour l'homme » ou catégorie 2 B [7], [208].

3.3. Silices amorphes

3.3.1. Définition

Le dioxyde de silicium (SiO_2) existe sous plusieurs formes : cristallines (quartz, cristobalite...), microcristallines (terres de diatomées), vitreuses ou amorphes... Il constitue 60 % de la croûte terrestre. **Seules les silices amorphes d'origine synthétique ou issues de la métallurgie** seront étudiées car **leur taille correspond au domaine des NPs**. A l'inverse les silices naturelles ou cristallines ont des diamètres supérieurs à 750 nm [63]. Ainsi, il existe 5 principaux types de silices amorphes synthétiques [63] :

- **Les silices pyrogénées** : obtenues par hydrolyse de SiCl_4 à 1000°C

N.B : elles sont souvent présentées sous leur dénomination commerciale : Aérosil® (DEGUSSA) ou Cab-O-Sil® (CABOT),

- **Les silices précipitées** : ajout d'un acide à une solution de silicate de sodium (pH > 7) obtenue elle-même par fusion alcaline à 1200°C de sable naturel ou encore par action de la soude sur sable à 140°C,
- **Les gels de silice** : ajout d'un acide à une solution de silicate de sodium (pH < 7) formant un hydrogel (suspension de très fines particules),
- **Silices à l'arc** : fusion de sable très pur à l'arc électrique (2000°C, 15h) et broyage des lingots : ce procédé ne donne qu'une faible proportion de NPs,
- **Les silices colloïdales** : à partir de suspensions aqueuses diluées et stables de microparticules.

Tableau 29 - Principales propriétés des silices synthétiques. (*Adapté d'après Courtois [63]*)

	Pyrogénées	Précipitées	Gels de silice	Silice colloïdale
SiO ₂ (%)	98,3 - 99,8	85 - 95	96,5 - 99,6	15 - 50
Surfaces spécifiques (BET, m ² /g)	35 - 400	25 - 800	200 - 1000	50 - 750
pH	3,5 - 5	5 - 9	2,3 - 7,4	3 - 5 et 8 - 11
Densité des groupes silanols (SiOH/nm ²)	2,5 - 3,5	5 - 6	5 - 6	N.R*
Taille des particules primaires (nm)	5 - 50	5 - 100	1 - 100	4 - 60
Taille des agrégats (µm)	<1	0,1 - 40	1 - 20	N.R*
Taille des agglomérats (µm)	1 - 100	1 - 100	N.R*	N.R*

*Non Renseigné

L'autre catégorie de silices amorphes est issue de la métallurgie et appelée « **fumées de silice** ». Elles sont produites secondairement lors de la fabrication de silicium ou de ses alliages dans les fours. Une partie du silicium formé lors de la réaction « SiO₂ + 2C = Si + 2 CO » est vaporisé sous forme de monoxyde (SiO) et se condense en sortie du four avant de s'oxyder sous forme de micro-sphères. La composition chimique, cristallinité et granulométrie varient suivant le procédé de fabrication, la température ou encore la période. Toutefois, l'aérosol obtenu appartient au domaine ultra-fin [63].

3.3.2. Utilisations

L'homme l'incorpore dans la composition des pneumatiques, semelles de chaussures et autres pièces en élastomère [63]. En effet, l'amélioration des propriétés mécaniques des élastomères passe par l'utilisation de noir de carbone et de particules de silice. Ainsi, 80 000 tonnes de nanoparticules, plus précisément de nano-agrégats de silice, se retrouvent incorporées dans les pneumatiques chaque année. La production mondiale totale avoisine 300 000 t/an [2]. Il compose également les matériaux de construction, ainsi, les fumées de silice sont introduites dans le béton pour améliorer sa fluidité et ses propriétés mécaniques. Il sert également dans la fabrication des composants et circuits en microélectronique [2] ou encore dans le domaine pharmaceutique en entrant dans la formulation galénique des dentifrices en augmentant la viscosité et son pouvoir abrasif. Dans l'industrie agro-alimentaire, ces NPs servent de support d'acidifiant, de vitamines, de matières grasses et d'agent d'écoulement. Les gels de silice sont utilisés comme agent absorbant l'humidité ou encore comme agent de matité dans les peintures et vernis. Enfin, les silices colloïdales sont utilisées comme liants des matériaux réfractaires, agents de clarification des vins et boissons ou des papiers et textiles [63].

3.3.3. Données toxicologiques

➤ **Données in vitro**

L'ensemble des tests retrouvés pour les NPs de silice, sur culture de cellules pulmonaires, se sont surtout penchés sur les études de cytotoxicité ou de recherche de signes inflammatoires. (Tableau 30)

➤ **Données in vivo chez l'animal**

A l'opposé des travaux *in vitro*, les tests sur des animaux (Tableau 31) sont très nombreux et ce dans la plupart des catégories de NPs de silice. Notons que la plupart s'est intéressée à la recherche de cytotoxicité, d'inflammation, de granulomes ou de fibrose mais quasi aucune ne renseigne sur la présence de stress oxydant.

➤ **Données chez l'Homme**

Les *endpoints* abordés sont similaires à ceux des animaux avec toutefois des résultats sur la fonction pulmonaire plus renseignés (Tableau 32).

Tableau 30 - Données toxicologiques des tests *in vitro* pour les silices.

Endpoints et types cellulaires	Auteurs	Concentrations et types de nanoparticules	Observations
1. Inflammation			
✓ MA de rat	Kuhn et Demers [148]	Silice amorphe non traitées ou calcinées à 500°C [taille NR ; groupement SiOH]	Prostaglandine E2 (PGE2), le thromboxane A2 (TXA2) et le leucotriène B4 (LTB4)
✓ Cellules épithéliales humaines (A549)	Wottrich et coll. [307]	Silices colloïdales de [60 nm]	IL-6 et IL-8 (dose-dépendantes), +++ pour les co-cultures.
2. Cytotoxicité			
• Diminution viabilité			
✓ MA de rats Sprague-Dawley et de hamsters syriens dorés	Warshawsky et coll. [295]	- Silice pyrogénée [$< 0,38 \mu\text{m}$; $200 \text{ m}^2/\text{g}$] - Précipitée [$< 0,38 \mu\text{m}$; $120 \text{ m}^2/\text{g}$] à 0,01 à 0,5 mg/L pour $1,8 \cdot 10^6$ MA - Gel de silice [$250 \text{ m}^2/\text{g}$] à 0,01 à 0,5 mg/L pour $1,8 \cdot 10^6$ MA	58 % et 100 % de mortalité respectivement à 0,01 et 0,5 mg/L pour $1,8 \cdot 10^6$ MA 49 % et 100 % 73 % et 100 % à <u>0,05 et 0,1 mg/L</u> pour $1,8 \cdot 10^6$ MA
• Divers (« internalisation », LDH)			
✓ Mono et co-cultures de cellules épithéliales humaines (A549) et de macrophages (THP- 1, MonoMac 6)	Wottrich et coll. [307]	Silices colloïdales de [60 nm] à 10 et $200 \mu\text{g}/\text{mL}$	LDH, mais <u>absence de pénétration</u> dans la cellule.
✓ Cellules N.R	Chen et von Mikecz [57]	NPs de silice [50 à 200 nm]	<u>Pénétration</u> dans noyau + formation d'agglomérats protéiques aberrants*

* Dans cette étude, ces derniers inhibent réplication, transcription et prolifération cellulaire mais n'attendent pas à la viabilité cellulaire.

Tableau 31 - Données toxicologiques des tests *in vivo* pour les silices.

Endpoints et animaux utilisés	Mode d'exposition	Auteurs	Concentrations et types de nanoparticules	Observations
Silice pyrogénée				
1. Inflammation				
✓ Rats Wistar albinos	Inh.	Schepers et coll. [248]	Silice pyrogénée [20 nm ; 169 m ² /g] à environ 53 mg/m ³	Nombreux foyers et hyperplasie du tissu lymphoïde Précoce.
✓ Cobayes albinos	Inh.	Schepers et coll. [249]	Silice pyrogénée [20 nm ; 169 m ² /g] à environ 53 mg/m ³	Moins étendue, d'apparition moins rapide que chez le rat, + <u>quasi-absence</u> d'hyperplasie du tissu lymphoïde
✓ Rats Sprague-Dawley	i.T	Murphy et coll. [192]	Cab-O-Sil® [7 nm]	Précoce mais non durable.
✓ Rats Fisher 344 mâles	Inh. Subchronique	Johnston et coll. [136]	Aérosil® 200 [12 nm ; diamètre aérodynamique médian en masse 0,81 µm ; 200 m ² /g] à 50 mg/m ³	PNN et MIP-2 Non persistante.
✓ Rats Wistar	i.T	Ernst et coll. [89]	Aérosil® 150 [14 nm ; 150 m ² /g]	Absence de lipoprotéines alvéolaires et afflux limité de MA.
	Inh.	Reuzel et coll. [232]	Aérosil® R974 [Aérosil 200 traité chimiquement ; hydrophobe ; 170 m ² /g] à 30 mg/m ³	Accumulation MA
			Aérosil® 200 [12 nm ; hydrophile ; 200 m ² /g] à 30 mg/m ³	Idem.

2. Emphysème						
✓	Rats Wistar albinos	Inh.	Schepers et coll. [248]	Silice pyrogénée [20 nm ; 169 m ² /g] à environ 53 mg/m ³	Gravité ↗ avec l'exposition puis ↘ avec le temps au repos.	
✓	Cobayes albinos	Inh.	Schepers et coll. [249]	Silice pyrogénée [20 nm ; 169 m ² /g] à environ 53 mg/m ³	Moins marqué que chez le rat.	
3. Cytotoxicité						
✓	Rats	i.T	Murphy et coll. [192]	Cab-O-Sil® [7 nm]	GGT et PAL	
✓	Rats Fisher 344 mâles	Inh. Subchronique	Johnston et coll. [136]	Aérosil® 200 [12 nm ; diamètre aérodynamique médian en masse 0,81 µm ; 200 m ² /g] à 50 mg/m ³	LDH	
✓	Rats Wistar	i.T	Ernst et coll. [89]	Aérosil® 150 [14 nm ; 150 m ² /g]	LDH, GGT, PAL, protéines totales ⇒ ↘ avec PVNO*	
4. Granulomes						
✓	Rats Wistar albinos	Inh.	Schepers et coll. [248]	Silice pyrogénée [20 nm ; 169 m ² /g] à environ 53 mg/m ³	-	
✓	Rats Wistar	i.T	Ernst et coll. [89]	Aérosil® 150 [14 nm ; 150 m ² /g]	-	
		Inh.	Reuzel et coll. [232]	Aérosil® R974 [Aérosil 200 traité chimiquement ; hydrophobe ; 170 m ² /g] à 30 mg/m ³	Granulomes régressent	
5. Fibrose						
✓	Rats Wistar	i.T	Ernst et coll. [89]	Aérosil® 150 [14 nm ; 150 m ² /g]	Interstitielle, prononcée, très localisée.	

6. Tumeurs					
✓	Rats Wistar	i.T	Morfeld et coll. [185]	Silice pyrogénée solubles de grande surface spécifique dès 10 mg	-
7. Données de biopersistance					
✓	Rats Wistar	i.T	Ernst et coll. [89]	Aérosil® 150 [14 nm ; 150 m ² /g]	Faible : demi-vie de 11 jours
✓	Cobayes albinos	Inh.	Schepers et coll. [249]	Silice pyrogénée [20 nm ; 169 m ² /g] à environ 53 mg/m ³	Elimination 30 % des particules en 2 semaines après un an d'exposition.
Silice précipitée					
1. Inflammation					
✓	Rats CD	Inh.	Warheit et coll. [290]	Zeofree®80 [Taille NR] à 50 mg/m ³	Transitoire (retour à la normale au bout de 3 mois)
2. Masse pulmonaire					
✓	Rats Wistar albinos et des cobayes	Inh. chronique	Schepers [247]	Hi-Sil™ 233, particules primaires 22 à 35 nm, agglomérats 2 µm	Doublee
✓	Rats Wistar	Inh.	Reuzel et coll. [232]	Sipernat® 22S [18 nm ; 200 m ² /g] à 30 mg/m ³	↗
Silices colloïdales					
1. Stress oxydant					
✓	Souris	i.T	Kaewamatawong et coll. [137]	Silice colloïdale [14 nm] à 30 et 100 µg	↗ 8-OHdG

2. Inflammation					
✓	Rats	Inh.	Lee et Kelly [163], [164]	Ludox® [22 mn] à 50 ou 150 mg/m ³	PNN, hypertrophie ganglionnaire, non persistante
✓	Rats mâles Cr1:CD BR	Inh.	Warheit et coll. [286], [288]	Ludox® [Taille NR] à 50 ou 150 mg/m ³	PNN, non persistante.
✓	Souris	i.T	Kaewamatawong et coll. [137]	Silice colloïdale [14 nm] à 30 et 100 µg	Modérée à sévère + épaississement des parois
✓	Rats Cr1:CD BR	Inh.	Warheit et coll. [290]	Ludox® [Taille NR] à 50 mg/m ³	Transitoire (retour à la normale au bout de 3 mois)
3. Granulomes					
✓	Rats	Inh.	Lee et Kelly [163], [164]	Ludox® [22 mn] à 50 ou 150 mg/m ³	-
4. Fibrose					
✓	Souris	i.T	Kaewamatawong et coll. [137]	Silice colloïdale [14 nm] à 30 et 100 µg	Interstitielles, après 30j
5. Cytotoxicité					
✓	Rats mâles Cr1:CD BR	Inh.	Warheit et coll. [286], [288]	Ludox® [Taille NR] à 50 ou 150 mg/m ³	LDH, PAL, protéines totales et apoptose élevée.
6. Phagocytose					
✓	Rats mâles Cr1:CD BR	Inh.	Warheit et coll. [286], [288]	Ludox® [Taille NR] à 50 ou 150 mg/m ³	Réduite
7. Données de biopersistance					
✓	Rats	Inh.	Lee et Kelly [163], [164]	Ludox® [22 mn] à 0, 10, 50 ou 150 mg/m ³	Demi-vie de 50 jours

* Poly-2-vinylpyridine-N-oxyde (polymère)

Tableau 32 - Données toxicologiques des silices chez l'Homme.

<i>Endpoints</i> et populations étudiées	Mode d'exposition	Auteurs	Concentrations et types de nanoparticules	Observations
Silice pyrogénée				
1. Inflammation				
✓ 215 ouvriers employés à la fabrication de silices pyrogénées	Inh. chronique	Volk [281]	Silice pyrogénée [5 à 40 nm] 3 et 7 mg/m ³ soit une inhalation quotidienne de 120mg.	Fissurites interlobaires sur certaines radiographies => suspicion de pleurites (transitoires)
✓ Une pharmacienne de 23 ans sans antécédent pulmonaire	Inh. (7 mois)	Vaillant et coll. [277]	Lavements dont l'homogénéisant est l'Aérosil®.	Syndrôme interstitiel avec hyperplasie lymphoïde et de très nombreux macrophages chargés de poussières.
2. Fibrose				
✓ Une pharmacienne de 23 ans sans antécédent pulmonaire	Inh. (7 mois)	Vaillant et coll. [277]	Lavements dont l'homogénéisant est l'Aérosil®.	Interstitielle, débutante
Silice précipitée				
1. Aucun phénomène pathologique retrouvé :				
✓ Radiographies de 78 travailleurs (âge moyen 34,5 ans)	Inh. chronique	Plunkett et deWitt [221]	Hi-Sil™, Silene-EF à 7,4 mg/m ³ (usine) ou à 204 mg/m ³ (ensachage).	Radiographie annuelle.
✓ 165 travailleurs	Inh. chronique	Wilson et coll. [301]	Silice précipitée	Mesures spirométriques N.B : Etude sans groupe témoin

2. Phénomènes rapportés				
✓ 45 travailleurs	Inh. chronique	Choudat et coll. [60]	Silice précipitée entre 0 à 10,5 mg/m ³ (fraction inhalable) et de 0 à 3,4 mg/m ³ (fraction alvéolaire)	Diminution significative des valeurs spirométriques.
✓ Femme de 38 ans ayant travaillé 2 ans dans une usine de fabrication d'aliments pour animaux	Inh. chronique	Spain et coll. [257]	Silice précipitée type Sipernat®22	BPCO , silicates retrouvés à la biopsie.
+ Fumées de silice				
1. Silicose*				
✓ 21 travailleurs réalisant la préparation de ferrosilicium ou de ferrochrome	Inh. chronique	Broch [44]	Silice amorphe à plus de 48 % (...et silice cristalline)	<u>Chez la moitié d'entre eux</u> (alors que pas de problème chez ceux travaillant avec le ferrochrome).
✓ 10 travailleurs		Swensson et coll. [267]	Poussières de ferrosilicium	<u>1 cas</u> avéré mais disparition au bout de quelques années.
2. Fibrose				
✓ 40 travailleurs examinés	Inh chronique	Vitums et coll. [280]	Silice amorphe [0,05 µm à 0,75 µm]	<u>11 cas</u> ; fibrose péribronchique et périvasculaire
✓ Travailleur de 27 ans employé 3,5 ans à la production de ferro-alliages	Inh. chronique	Taylor et Davies [273]	Silice amorphe retrouvée à l'examen.	Formation de collagène confirmé par la biopsie pulmonaire
✓ 10 salariés d'une usine de fabrication de silicium	Inh.	Brambilla et coll. [43]	Silice amorphe [entre 0,02 et 0,5 µm]	

3. Macrophages chargés avec des NPs					
✓	40 travailleurs examinés	Inh chronique	Vitums et coll. [280]	Silice amorphe [0,05 µm à 0,75 µm]	<u>11 cas</u>
✓	Travailleur de 27 ans ; 3,5 ans en production de ferroalliages	Inh. chronique	Taylor et Davies [273]	Silice amorphe retrouvée à l'examen.	
✓	10 salariés d'une usine de fabrication de silicium	Inh.	Brambilla et coll. [43]	Silice amorphe [entre 0,02 et 0,5 µm]	
4. Foyers de réticulation et/ou nodules					
✓	Travailleur de 27 ans ; 3,5 ans en production de ferroalliages	Inh. chronique	Taylor et Davies [273]	Silice amorphe retrouvée à l'examen.	
✓	10 travailleurs	Inh. chronique	Swensson et coll. [267]	Poussières de ferro-silicium	<u>1 cas</u> à la radiographie
✓	40 travailleurs examinés	Inh. chronique	Vitums et coll. [280]	Silice amorphe [0,05 µm à 0,75 µm]	Opacités à la radiographie pour <u>11 des travailleurs</u> .
✓	10 salariés d'une usine de fabrication de silicium	Inh.	Brambilla et coll. [43]	Silice amorphe [entre 0,02 et 0,5 µm]	Granulomes mais pas de nodules scléro-hyalins caractéristiques de la silicose
5. Emphysème					
✓	40 travailleurs examinés	Inh. chronique	Vitums et coll. [280]	Silice amorphe [0,05 µm à 0,75 µm]	Modéré, <u>11 des travailleurs</u> .
6. Syndrome obstructif					
✓	10 salariés d'une usine de fabrication de silicium	Inh.	Brambilla et coll. [43]	Silice amorphe [entre 0,02 et 0,5 µm]	
✓	≈90 pers. exposés (production de ferrochrome et de ferrosilicium)	Inh.	Langård [161]	Silice amorphe, 3 à 28 mg/m ³	

* Entraîne une inflammation chronique, une fibrose pulmonaire progressive et par conséquent une insuffisance respiratoire. Elle peut se compliquer par le développement d'une tuberculose.

3.3.4. Conclusion sur la toxicité des NPs de silices amorphes

Contrairement au quartz, les silices amorphes entraînent une inflammation plus importante mais non durable, attribuable en partie à une faible biopersistance. Les silices précipitées sembleraient toutefois moins toxiques. La cytotoxicité est également à souligner et serait souvent associée à l'existence de groupement silanol en surface comme en témoignent les travaux de **Warshawsky et coll. [295]** et **Attik et coll. [20]** via le recouvrement de ces sites par des ions aluminium ou fer qui bloquent l'apparition des effets pro-inflammatoires des silices microscopiques. Par conséquent, des études sur les silices nanométriques gagneraient à être réalisées. L'apparition de nodules ou de granulomes et d'emphysème a été décrite aussi bien chez l'animal que chez l'Homme. Les données humaines attestent également de la survenue de fibrose et modifications spirométriques voire parfois d'une silicose. Toutefois, selon **Courtois [63]**, il ne semble pas possible d'en tirer quelques conclusions car la plupart des données concerne des expositions aux fumées de silice et par conséquent implique la présence de quartz ou d'autres silices cristallines et dans la plupart des cas, les particules ne sont pas correctement caractérisées. Enfin, l'*IARC* conclut que les données ne fournissent aucune indication sur le risque de cancer chez l'Homme ou l'animal **[63]**.

3.4. Fumées de soudage

3.4.1. Définition

Le soudage est une technique relativement ancienne d'assemblage par l'intermédiaire d'une phase liquide provenant de la fusion d'une partie des matériaux (des températures de l'ordre de 12 000 °C peuvent être atteintes dans l'arc électrique), avec éventuellement un matériau d'apport. Le soudage à l'arc des matériaux métalliques est générateur de fumées contenant certes une forte proportion de NPs mais dont la composition dépend avant tout des alliages de base et également de l'éventuel enrobage de l'électrode et du revêtement présent sur les pièces, ainsi que de la technique de soudage utilisée. Les différentes mesures réalisées donnent des concentrations en nombre bien supérieures à 10^5 particules/cm³. Finalement, les particules s'agglomèrent sous forme de chaînes de l'ordre du micromètre **[162]**.

3.4.2. Données toxicologiques

La toxicologie des fumées de soudage est affaire ancienne : beaucoup d'études ont vu le jour dès les années 1930 mais peu de rapports résumant ces expériences si succinctes soient-elles. Seuls **Laudet et Courtois [162]** proposent un bref aperçu des données épidémiologiques et expérimentales concernant leurs effets ou les pathologies corrélées à leur exposition. Leur synthèse ne comportant pas les références bibliographiques des données, il ne m'a pas été possible de les communiquer. Toutefois, pour de plus amples informations, les auteurs renvoient au travail plus documenté d'**Antonini [18]** duquel est directement tiré leur résumé. Les données expérimentales regroupées dans le *Tableau 33* laissent apparaître cytotoxicité, inflammation et fibrose. Celles disponibles pour l'Homme figurant au *Tableau 34* confirment ses signes inflammatoires et montrent également des retentissements sur la fonction respiratoire.

Tableau 33 - Données toxicologiques expérimentales des fumées de soudage.

Expériences réalisées	Mode d'administration	Auteurs	Types de particules et concentrations	Observations
In vitro				
1. Cytotoxicité				
✓ Macrophage de rat	-	Antonini et coll. (1997; 1999)	Fumées de soudage (NR)	- Fumées du soudage manuel plus toxiques que celles sous gaz inerte. - Fonction teneur en Cr^{VI} des électrodes (++) pour acier inox).
2. Activité mutagène avérée				
✓ <i>Salmonella typhimurium</i>	-	Hedenstedt et coll. (1977) et Maxild et coll. (1978)	Fumées de soudage sur acier inox	-
✓ Cellules rénales de hamster nouveau-né (BHK)	-	Hansen et coll. (1985)		Corrélation au Cr^{VI}
✓ N.R	-	Biggart et coll. (1987)	fumées de soudage [acier doux ; absence de Cr^{VI}]	-
In vivo				
1. Inflammation				
✓ Rats	i.T	Hicks et coll. (1984)	particules [fumées de métal doux et d'acier inox] à 10 et 50 mg	Accumulation de MA
	Inh.	Antonini et coll. (1996, 1997)	Fumées [acier inox]	- \nearrow TNF- α et IL- 1 β - Fumées fraîchement formées plus toxiques.

✓ Rongeur NR	Inh unique (6h)	Hewitt et coll. (1973); Uemitsu et coll. (1984)	Fumées [acier inox] à 0,6 mg/m ³ et 1 g/m ³	- Irritation pulmonaire - Hyperplasie des cellules à mucus
2. Fibrose				
✚ Décrite				
✓ Rats	i.T	Hicks et coll. (1984)	Particules [fumées de métal doux et d'acier inox] à 10 et 50 mg	Après 200 à 300 jours.
✓ Rongeurs N.R	lhn.chro	Yu et coll. (2001)	100 mg/m ³	Signes précurseurs à J15 puis installation à J60

✚ Non décrite				
✓ Rongeurs N.R	lhn.chro	Yu et coll. (2001)	57 et 67 mg/m ³	-
3. Elimination bactérienne				
✓ Animaux N.R	i.T	Antonini et coll. (2001)	Fumée de soudage [NR]	↘ (<i>Listeria monocytogenes</i>)

Tableau 34 - Données toxicologiques des fumées de soudage chez l'Homme.

Endpoints et populations étudiées	Mode d'exposition	Auteurs	Concentrations et types de NPs	Observations
1. Fonction pulmonaire				
⚠ Altérée				
✓ Sujets sensibles ou massivement exposés (mauvaises conditions de ventilation)	-	Oxhoj et coll. (1979) ; Chinn et coll. (1990) ; Mur et coll. (1985) ; Sobaszek et coll. (2000)	-	↘ capacité pulmonaire.
✓ N.R	-	Funahashi et coll. (1988)	-	Dyspnée et symptômes respiratoires.
<hr/>				
⚠ Inchangée				
✓ N.R	-	Sferlazza et Beckett (1991)	-	« Aucune étude préalable n'a pu montrer que la seule exposition quotidienne au soudage entraîne des altérations pulmonaires cliniquement détectables ».
✓ N.R	-	Morgan et coll. (1963 et 1989)	-	Pas de signes respiratoires.
<hr/>				
2. Asthme				
⚠ Corrélé aux expositions.				
	-	Boulet (1992) ; Simonsson (1995) ; Beach et coll. (1996) ; Toren (1996)	Forts taux chrome ou nickel	Phénomènes d'hypersensibilité.
<hr/>				
⚠ Aucune corrélation retrouvée				
✓ NR	-	Sferlazza et coll., 1991	-	-

3. Fièvre des métaux					
✓	Volontaires humains	Inh (2h)	Gordon et coll. [103]	NPs de ZnO à 5 mg/m ³	-
4. Bronchite chronique					
✚ Corréée aux expositions					
✓	Soudeurs	-	Hunnicut et coll. (1964) ; Cabal et coll. (1988) ; Sulotto et coll. (1989) ; Mur et coll. (1985)	-	Souvent à l'origine d'une synergie tabac-soudage (prévalence plus importante des fumeurs).
✚ Aucune corrélation retrouvée					
✓	NR	-	Fogh et coll. (1969) ; Antii-Poika et coll. (1977) ; McMillan et coll. (1984)	-	-
5. Pneumoconiose*					
✓	Soudeurs exposés plus de 15 ans	-	Doig et coll., 1936; Enzer et coll., 1938	-	Opacités à la radiographie. Asymptomatiques et réversibles.
6. Fibrose					
✓	NR	-	Funahashi et coll., 1988	-	En espaces confinés ou expositions mixtes (silice, charbon).
7. Infections respiratoires					
✓	Soudeurs	-	Howden et coll., 1988	-	↗ fréquence et sévérité.

* Terme regroupant un ensemble de maladies pulmonaires définies par des altérations suite à l'inhalation de particules solides dans le poumon.

3.4.3. Recommandations officielles

Pour les fumées de soudage, la valeur limite est de 5 mg/m³ [2].

3.4.4. Conclusion sur la toxicité de la fraction nanoparticulaire des fumées de soudage

Tout comme les émissions diesels, les experts n'ont pu déterminer la toxicité réelle de la fraction nanoparticulaire, les études étant le plus souvent postérieures à la possibilité de caractérisation des aérosols nanométriques. De plus, le fait même que la composition des NPs évolue en fonction des techniques de soudage, des pièces à usiner et des conditions présentes dans les postes de travail, rend la tâche encore plus difficile. Il reste par conséquent encore beaucoup à découvrir sur le sujet. Toutefois, les données expérimentales et épidémiologiques déjà recueillies, attestent de la survenue récurrente d'une inflammation, souvent associée à une altération de la fonction pulmonaire ou à une pathologie de l'arbre respiratoire tel l'asthme ou la BPCO. Celle-ci pourrait en partie être augmentée par la présence des métaux dans ces fumées de soudage comme le démontrent les travaux de **McNeilly et coll. [178]** sur cellules épithéliales pulmonaires A549 ou ceux de **McNeilly et coll. [179]** avec l'instillation de rat. Du reste, la fibrose est également évoquée ainsi qu'un effet « immunodépresseur ». Certains auteurs ont mis en évidence que la plupart des manifestations sont observées uniquement pendant la période d'exposition et disparaissent lors des repos alors que d'autres insistent sur la synergie tabac-fumée pouvant fausser les résultats obtenus. Enfin, bien qu'en 1990 l'*IARC* conclue à une preuve limitée d'un effet cancérigène, plusieurs études réalisées après cette expertise, ont montré que les soudeurs présentaient un risque plus élevé de développer un cancer du poumon que la normale. Il semblerait cependant que le soudage sous acier doux (90 % des soudages) serait moins en cause que celui effectué avec de l'acier inoxydable où chrome et nickel sont présents à des taux non négligeables [162].

3.5. Autres particules

Tout d'abord, l'exposition de 3 hommes sains à des NPs d'iridium de 18 nm marquées à l'indium pendant 2 ou 3 cycles respiratoires permet à **Roth et coll. [238]** de constater un ralentissement de la clairance pulmonaire jusqu'à 8 jours après l'exposition. Par ailleurs,

différentes études évoquent une diminution de la toxicité générale ou de la cytotoxicité de l'or colloïdal (**Paciotti et coll. [210]**), du sélénium (**Zhang et coll. [310]**) ou de trioxyde d'arsenic (**Zhou et coll. [314]**) en formulations nanoparticulaires, en comparaison avec les formes non nanoparticulaires. Par ailleurs, l'exposition de hamsters à des NPs de 11 nm de CuO, Cu₂O et Cu(OH)₂ par **Stearns et coll. [258]**, entraîne une augmentation de la résistance pulmonaire et une inflammation. Enfin, **Zhang et coll. [311]** relèvent une inflammation pulmonaire et une production de cytokines plus importantes chez des rats instillés avec des NPs de cobalt (20 nm) qu'avec des rats instillés avec des particules fines de 5 µm. **Zhang et coll. [310]** ont aussi montré que chez le rat, l'instillation intratrachéale de NPs de nickel de 20 nm provoque plus d'effets toxiques que celle de particules fines de nickel de 5 µm. Plus récemment, **AshaRani et coll. [19]** ont mis en évidence que des NPs d'argent provoque des dysfonctions de la chaîne respiratoire mitochondriale, suite à l'arrêt de la synthèse d'ATP et à la production d'ERO. Ainsi, ils ont pu observer des lésions sur l'ADN des fibroblastes pulmonaires IMR-90. **Sung et coll. [266]**, eux, font état de changement de la fonction respiratoire ainsi que d'une inflammation dès 7×10^5 particules/cm³ chez des rats exposés aux NPs d'argent de 18 nm.

4. Les points quantiques ou *quantum dots*

4.1. Définition

Il s'agit de nanocristaux de 2 à 100 nm, constitués d'un noyau colloïdal pouvant être composé de semi-conducteurs, de métaux nobles ou de métaux de transition magnétiques, ils sont entourés d'un ou plusieurs enrobages de surface **[109]**. Le nombre d'atomes, variant de 1 000 à 100 000, n'en fait ni une structure solide étendue, ni une entité moléculaire **[208]**. À des dimensions d'environ 1 à 10 nm de diamètre, ils démontrent des propriétés optiques en absorbant la lumière blanche ou ultraviolette et la réémettant à une longueur d'onde spécifique, variant du bleu à l'infrarouge. Aussi, **Hardman [109]** ne les considère pas comme un groupe uniforme de nanomatériaux du fait de leur grande diversité (*figure 33*), ceci implique que leur toxicité devra être caractérisée de façon individuelle **[208]**.

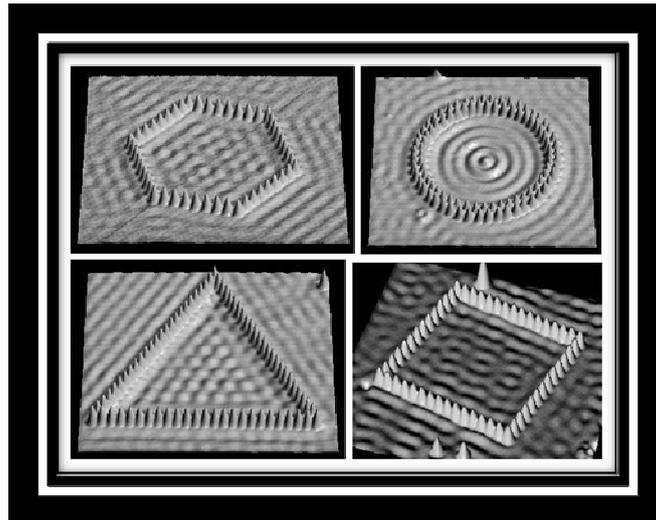


Figure 33 - Différentes formes de points quantiques montrant l'organisation des atomes individuels. (Ostiguy et coll. [206])

4.2. Utilisations

Ils sont à la pointe de la recherche, dans le domaine des semi-conducteurs, notamment concernant les transistors, LEDs, cellules photovoltaïques et diodes laser [208]. Grâce à leur propriété optique remarquable, ils pourront être utilisés en codage optique multi-couleurs dans l'étude d'expression génétique, dans des écrans à haute résolution et en imagerie médicale. Aussi, certains sont chimiquement modifiés afin d'en produire des vecteurs de médicaments ou des outils diagnostiques [207].

4.3. Données toxicologiques

En incubant de l'ADN double brin dans une solution de sélénure de cadmium encapsulé dans du sulfite de zinc (CdSe/ZnS) **Green et Howman [105]** ont pu démontrer que les points quantiques altèrent l'ADN via la production de radicaux libres résultant de l'oxydation du ZnS et que cet effet est immédiat. Aussi, le taux de lésions varie en fonction de la présence (56 %) ou de l'absence (29 %) d'UV. Cette interaction avec le milieu cellulaire est également retrouvée chez **Lovrić et coll. [172]** où les points quantiques de CdTe peuvent possiblement former des complexes avec des protéines cellulaires. Enfin, selon **Hardman [109]**, l'inhalation peut poser des risques potentiels car des études ont montré que des points quantiques ont été incorporés par endocytose dans différents types de cellules et qu'ils peuvent y résider pendant des semaines voire des mois.

CONCLUSION

La nanotechnologie représente un domaine d'activité en pleine expansion et gagnant progressivement tous les domaines. Cependant, bien qu'elle permette de créer de nouveaux matériaux aux propriétés inédites ou d'apporter miniaturisation et progrès à l'Homme, elle serait également susceptible d'être à l'origine du développement ou de l'aggravation de certaines pathologies. **Donaldson et coll. [82]** évoquent les visages de Janus en désignant les nanoparticules ; il faut comprendre par cette métaphore que l'un ne va pas sans l'autre et qu'il faudra composer avec cette toxicité. En effet, les possibilités pour la médecine comme pour la technologie de pointe sont immenses, de plus les lois du marché feront qu'indubitablement les potentialités des nanotechnologies prendront avantage sur la mesure du danger et l'évaluation du risque qui sera par nature toujours plus tardive. Par conséquent, ils en appellent aux chercheurs pour comprendre les mécanismes et les lois régissant la toxicité afin d'être efficace dans la caractérisation, la prévention et la quantification de ce risque. Les données actuelles, sur la voie d'entrée pulmonaire, permettent de montrer que cette toxicité semblerait imputable à la taille, au nombre de NPs, à la surface, à leur biopersistance supérieure à celles des particules micrométriques et à leur capacité à induire le stress oxydant. Néanmoins, d'autres facteurs seraient corrélés à cette toxicité ainsi qu'à la définition des paramètres précédents, démontrant toute la complexité à fournir une métrologie valable pour évaluer le risque réel. Les mécanismes et les lieux de dépôt ainsi que la rétention dans l'arbre respiratoire sont, eux, mieux connus. Ainsi, ils dépendent avant tout de la granulométrie de la NP, et le dépôt sera majoré avec l'exercice et sur des parois bronchiques pathologiques. Indirectement, ce modèle de dépôt conditionnera la toxicité de la particule car, selon la région de l'arbre respiratoire concernée, les mécanismes de défense sont différents, ce qui peut avoir des conséquences quant à la rétention et à la biopersistance d'une NP donnée. Aussi, leur devenir au sein de l'organisme reste encore flou. En effet, ces mécanismes de défense (phagocytose, élimination chimique, piégeage dans le mucus) se révèlent être plus ou moins efficaces selon le type et la taille de particule concernée et la translocation vers d'autres compartiments de l'organisme (cœur,

foie, cerveau) s'avère de mauvais augure. De plus, les scientifiques sont confrontés à des résultats expérimentaux divergents entre les espèces animales rendant l'extrapolation à l'Homme difficile. Enfin, quant à leurs effets observés sur l'appareil respiratoire, les données épidémiologiques et expérimentales ont mis en évidence des effets délétères pour la santé humaine comme animale, confortant ainsi nos spécialistes sur le danger potentiel de ces NPs ; toutefois, trop peu d'études ont évalué correctement la métrologie des NPs. Aussi ne faut-il pas oublier que les poumons constituent une porte d'entrée sur l'organisme et que les mécanismes de translocation décrits ainsi que les phénomènes locaux peuvent avoir un impact au-delà, notamment sur le système cardiovasculaire ou nerveux (figure 34).

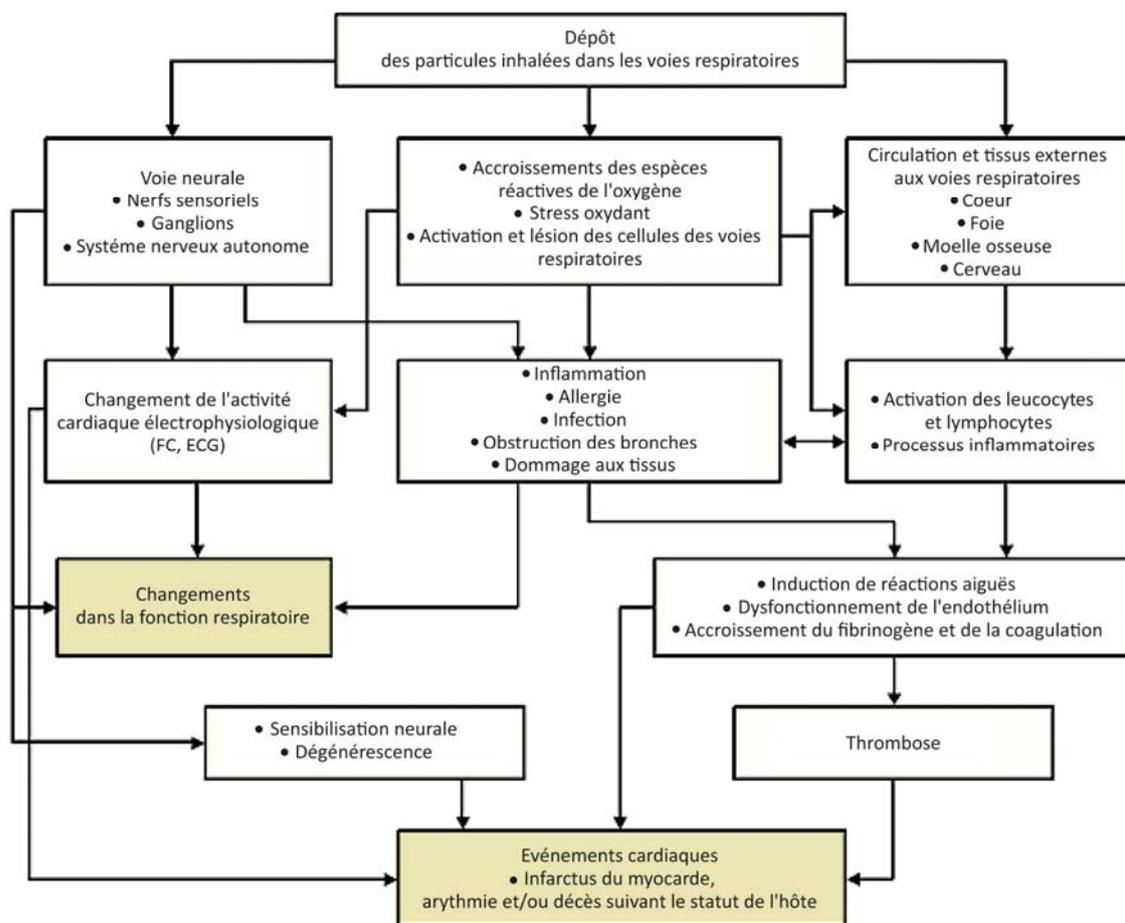


Figure 34 - Hypothèses concernant les effets sur la santé des particules ultrafines de l'aérosol ambiant. (Kreyling et coll. [147])

Toutefois, des différences de toxicité entre les types de particules ainsi que des divergences entre résultats *in vitro* et *in vivo* ont été rapportées. Concernant les test *in vivo*, plusieurs auteurs affirment que l'instillation intratrachéale n'est pas suffisante pour tirer des conclusions et parlent de les compléter par des expériences en utilisant l'inhalation, plus difficile à mettre en œuvre techniquement. De plus, l'ensemble des données acquises correspondent à une toxicité aiguë ou subchronique et peu d'études ont rassemblé des informations sur des expositions plus longues. En conclusion, prévoir la toxicité d'une NP est encore actuellement impossible, tout comme la quantification du risque qui n'en est encore qu'à ses balbutiements. Le principe de précaution est dès lors de rigueur en limitant au maximum l'exposition des travailleurs pour les expositions professionnelles et des populations pour les expositions environnementales. Toutefois, certains proposent de déterminer quelques mesures de préventions minimales via des méthodes alternatives comme le *control banding* ; il s'agit là d'une approximation quantitative du risque basée sur un nombre limité de facteurs tout en pondérant au maximum tout risque inconnu [207].

Nous concluons sur le fait que ce travail ne doit en aucun cas être interprété comme un réquisitoire à l'encontre des NPs et des avancées technologiques réalisées comme celles à venir. En effet, les domaines d'application des NPs n'en demeurent pas moins prometteurs en médecine, pharmacie, électronique et aéronautique notamment. Il met avant tout, l'accent sur le manque actuel de connaissances sur le devenir de ces NPs dans l'organisme et sur les dangers potentiels ou réels qu'elles représentent. Comment maîtriser le Progrès si nous ne nous intéressons pas même à ses risques et à ses dangers ? Ainsi, les avancées technologiques permises par les NPs ne doivent pas empêcher un effort tout particulier d'une toxicologie la plus mécaniste possible, la seule à permettre une mesure scientifique du danger, prélude à une évaluation pondérée du risque. Cette cohabitation entre nanotechnologie et toxicologie moléculaire se fera pour leur plus grand bénéfice.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 - Impact économique des nanotechnologies en 2010.....	5
Figure 2 - Evolution du rapport surface/volume (en bleu) et de fraction des molécules présentes à la surface de la particule (en rouge) en fonction du diamètre.	25
Figure 3 - De la particule à l'agglomérat.....	29
Figure 4 - Mécanisme hypothétique d'interactions cellule-NPs.....	32
Figure 5 - Relation entre exposition-dose-effet des particules inhalées.	34
Figure 6 - Paramètres physico-chimiques des NPs.	35
Figure 7 - Distributions granulométriques moyennes caractéristiques d'aérosol atmosphérique en environnement urbain suivant les trois modes de représentation en nombre, surface et volume.....	36
Figure 8 - L'arbre pulmonaire.....	42
Figure 9 - Cellules présentes dans le voisinage alvéolaire.	44
Figure 10 - Illustration des différents mécanismes de dépôt des particules inhalées dans les voies respiratoires.	46
Figure 11 - Prédiction du dépôt des particules dans les voies respiratoires en fonction du diamètre des particules..	47
Figure 12 - Lieux de déposition des nanoparticules dans le système respiratoire.	49
Figure 13 - Schéma des interactions possibles entre la particule inhalée et le milieu biologique.	53
Figure 14 - Taille relative des NPs par rapport aux structures cellulaires.....	55
Figure 15 - Propriétés de surface impliquées dans la réponse biologique et leur rôle au niveau cellulaire.....	58
Figure 16 - Comparaison du devenir des particules éliminées par la voie normale (gauche) et des particules qui pénètrent l'interstitium (droite).....	59
Figure 17 - Les différentes voies de translocation possibles des NPs.....	59
Figure 18 - Molécules de fullerènes.....	61
Figure 19 - Représentation schématique d'un fullerène modifié.....	61
Figure 20 - Représentation schématique de nanotubes de carbone monocouches, multicouche ou contenant d'autres éléments.....	66
Figure 21 - a. Structure moléculaire d'un nanotube de carbone à simple paroi (SWCNT). b. Structure moléculaire d'un nanotube de carbone à parois multiples ou MWCNT.....	66
Figure 22 - Représentation d'une nanosphère et d'une nanocapsule.....	87
Figure 23 - Une nanocapsule.....	87
Figure 24 - Représentation schématique de la structure d'un dendrimère et de sa synthèse de manière divergente et convergente.....	88
Figure 25 - Dendrimère PPI de quatrième génération.....	89
Figure 26 - Représentation schématique des propriétés des dendrimères et de leur potentiel en tant que macromolécules fonctionnelles.....	89
Figure 27 - Observation de nanotubes de polystyrène.....	91
Figure 28 - Distribution en taille des particules de diesel.....	92
Figure 29 - Particules d'oxyde de zinc en forme d'étoiles et de pompons pour l'industrie cosmétique.....	102

Figure 30 - Observation de tétrapodes de ZnO.....	103
Figure 31 - Observation de nanotétrapodes à longues jambes de ZnO.....	103
Figure 32 - Dioxyde de titane.	109
Figure 33 - Différentes formes de points quantiques montrant l'organisation des atomes individuels.	134
Figure 34 - Hypothèses concernant les effets sur la santé des particules ultrafines de l'aérosol ambiant.	136

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 - Données expérimentales concernant les paramètres physico-chimiques à prendre en compte pour la détermination de la toxicité des nanoparticules.	8
Tableau 2 – Données épidémiologiques concernant les paramètres physico-chimiques à prendre en compte pour la détermination de la toxicité des nanoparticules.....	23
Tableau 3 - Surface spécifique (exprimée en m ² par g de matière) et nombre de particules par g de matière en fonction du diamètre des particules et pour deux densités (2 et 10 g/cm ³).....	27
Tableau 4 - Evolution du pourcentage d'atomes situés en surface en fonction du nombre d'atomes constituant une nanoparticule.	28
Tableau 5 - Principales formes de particules.	38
Tableau 6 - Classification par type d'aérosol solide.....	38
Tableau 7 - Sources potentielles d'émission secondaire des PUF.	39
Tableau 8 - Débit ventilatoire total en fonction de l'activité d'un adulte de référence.....	45
Tableau 9 - Fraction totale déposée (TDF) en fonction du diamètre médian en nombre (DMN) pour un volume courant de 500 mL.....	50
Tableau 10 - Fraction totale déposée (TDF) en fonction du volume courant (Vc) et du débit (Q) pour un diamètre médian en nombre de 40 nm.	50
Tableau 11 - Les processus d'élimination physique et chimique selon les différentes régions de l'arbre bronchique.	52
Tableau 12 - Comparaison des principales conséquences de la surcharge pulmonaire entre le rat, le chien, le singe et l'homme.	56
Tableau 13 - Fullerènes et données toxicologiques <i>in vitro</i>	63
Tableau 14 - Données toxicologiques des tests <i>in vitro</i> pour les nanotubes de carbone.	69
Tableau 15 - Données toxicologiques des tests <i>in vivo</i> pour les nanotubes de carbone.	73
Tableau 16 - Propriétés physico-chimiques de 4 types de pigments de noir de carbone.....	77
Tableau 17 - Données toxicologiques des tests <i>in vitro</i> pour les NPs de noir de carbone.	79
Tableau 18 - Données toxicologiques des tests <i>in vivo</i> pour les NPs de noir de carbone.....	82
Tableau 19 - Données toxicologiques de tests <i>in vivo</i> démontrant des effets adjuvants pour les NPs de noir de carbone.	85
Tableau 20 - Données toxicologiques des tests <i>in vitro</i> pour les particules diesels.....	94
Tableau 21 - Données toxicologiques des tests <i>in vivo</i> pour les particules diesels.....	95

Tableau 22 - Données toxicologiques de tests <i>in vitro</i> ou <i>in vivo</i> démontrant des effets adjuvants ou immunologiques directs des PED.....	98
Tableau 23 - Données toxicologiques des études épidémiologiques ou « expérimentales » chez l'Homme démontrant des effets adjuvants ou immunologiques directs des PED.	99
Tableau 24 - Données toxicologiques des tests <i>in vitro</i> pour le ZnO.....	106
Tableau 25 - Données toxicologiques des tests <i>in vivo</i> pour le ZnO.....	107
Tableau 26 - Données toxicologiques du ZnO chez l'Homme, autres que la « fièvre des soudeurs ».	108
Tableau 27 - Données toxicologiques des tests <i>in vitro</i> pour le TiO ₂	111
Tableau 28 - Données toxicologiques des tests <i>in vivo</i> pour le TiO ₂	112
Tableau 29 - Principales propriétés des silices synthétiques.....	116
Tableau 30 - Données toxicologiques des tests <i>in vitro</i> pour les silices.	118
Tableau 31 - Données toxicologiques des tests <i>in vivo</i> pour les silices.	119
Tableau 32 - Données toxicologiques des silices chez l'Homme.	123
Tableau 33 - Données toxicologiques expérimentales des fumées de soudage.	128
Tableau 34 - Données toxicologiques des fumées de soudage chez l'Homme.	130

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Adelman P, Baierl T, Drosselmeyer E, Politis C, Polzer G, Seidel A, Schwegler-Berry D, Steinleitner C (1994). "Effects of fullerenes on alveolar macrophages in vitro". In Toxic and Carcinogenic Effects of Solid Particles in the Respiratory Tract (U. Mohr, D. L. Dungworth, J. Mauderly, and G. Oberdoerster, Eds.), pp. 405–407, ILSI Press, Washington, DC.
- [2] Afsset, Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (2006). "Les nanomatériaux : Effets sur la santé de l'homme et sur l'environnement", juillet 2006, 248 pages.http://www.afsset.fr/upload/bibliotheque/587621558014304413168640606286/synt_hese_nanomatériaux_2_006.pdf.
- [3] Amdur MO, McCarthy JF, Gill MW (1982). "Respiratory response of guinea pigs to zinc oxide fumes." *Am Ind Hyg Assoc J* 43(12): 887-9.
- [4] Anonyme, CHU de Rouen (mise à jour 2006). "Anatomie et physiologie du système respiratoire"[consulté le 8 février 2009], disponible sur <http://www3.chu-rouen.fr/Internet/test/ventiweb/patients/guide/anatomie/>.
- [5] Anonyme, CNRS, "Dossier sagasciences – Nanotechnologies et santé"[consulté le 17 septembre 2009], disponible sur <http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/dosnano/decouv/vecto/vecto.htm>.
- [6] Anonyme, healthvalues, "Système NF-κB" [consulté le 28 septembre 2009], disponible sur <http://www.healthvalue.net/systemenfkkappab.html>.
- [7] Anonyme, INRS (mise à jour 2009). "Dossier: les nanomatériaux"[consulté le 27 juin 2009], disponible sur [http://www.inrs.fr/inrs-pub/inrs01.nsf/IntranetObject-accesParReference/Dossier%20Nano/\\$File/Visu.html](http://www.inrs.fr/inrs-pub/inrs01.nsf/IntranetObject-accesParReference/Dossier%20Nano/$File/Visu.html).
- [8] Anonyme, nanotechstocks, article du 14 janvier 2009: "2-faced' bioacids cause nanotube self-asse", disponible sur http://nanotechstocks.blogspot.com/2009_01_01_archive.html.
- [9] Anonyme, Service du répertoire toxicologique du CSST ou Commission de la Santé et de la Sécurité du travail, article "Noir de carbone" [consulté le 30 septembre 2009] et disponible sur http://www.reptox.csst.qc.ca/Produit.asp?no_produit=14043.
- [10] Anonyme, Service du répertoire toxicologique du CSST ou Commission de la Santé et de la Sécurité du travail, article "Nanotechnologie, où en sommes-nous? " consulté le 15 septembre 2009 et disponible sur <http://www.reptox.csst.qc.ca/Documents/PlusEncore/Nanotech/Htm/CapsuleNANO.htm>.
- [11] Anonyme, Staps Université d'Avignon "Le stress oxydant" cours de L3, consulté le 15 septembre 2009 et disponible sur http://www.staps.univ-avignon.fr/S6/UE3/Entrainement/Le_stress_oxydant.pdf.
- [12] Anonyme, Wikipédia (mis à jour 2009) "Piézoélectricité"[consulté le 9 septembre 2009], disponible sur <http://fr.wikipedia.org/wiki/Pi%C3%A9zo%C3%A9lectricit%C3%A9>.

- [13] Anonyme, Wikipédia (mis à jour 2009) "Pneumocyte" [consulté le 8 septembre 2009], disponible sur <http://fr.wikipedia.org/wiki/Pneumocyte>.
- [14] Anonyme, Wikipédia (mis à jour 2009) "Richard Buckminster Fuller" [consulté le 19 novembre 2009], disponible sur http://fr.wikipedia.org/wiki/Richard_Buckminster_Fuller.
- [15] Anonyme, Wikipédia (mis à jour 2009) "Surfactant pulmonaire" [consulté le 8 septembre 2009], disponible sur http://fr.wikipedia.org/wiki/Surfactant_pulmonaire.
- [16] Anonyme, Mémoire pour le CNAM, Conseil National des Arts et métier (2007) "Les nanotechnologies ", disponible sur <http://boinceds.free.fr/dl/nano/rapport%20nanotechnologie.doc>.
- [17] Anonyme, "Nanosphère technology" disponible sur <http://www.nanoparticles.org/links/> ou image directement disponible sur <http://www.nanoparticles.org/links/Nanosphere.jpg>.
- [18] Antonini JM (2003). "Health effects of welding". Crit Rev Toxicol **33**(1): 61-103.
- [19] AshaRani PV, Low Kah Mun G, Hande MP, Valiyaveettil S (2009). "Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells." ACS Nano **3**(2): 279-290.
- [20] Attik G, Brown R, Jackson P, Creutzenberg O, Aboukhamis I, Rihn BH (2008). "Internalization, cytotoxicity, apoptosis, and tumor necrosis factor-alpha expression in rat alveolar macrophages exposed to various dusts occurring in the ceramics industry." Inhal Toxicol **20**(12): 1101-1112.
- [21] Baeza A, Marano F (2007) "Pollution atmosphérique et maladies respiratoires- Un rôle central pour le stress oxydant", Médecine/Science (2007) ; **23** : 497-501 et disponible sur <http://disc.vjf.inserm.fr/BASIS/medsci/fqmb/medsci/DDD/9118.pdf>.
- [22] Babynin EV, Nuretdinov IA, Gubskaja VP, Barabanschikov BI, (2002). "Study of mutagenic activity of fullerene and some of its derivatives using His+ reversions of *Salmonella typhimurium* as an example". Genetika **38** (4): 453-457.
- [23] Baggs, R. B., Ferin J, Oberdörster G (1997). "Regression of pulmonary lesions produced by inhaled titanium dioxide in rats." Vet Pathol **34**(6): 592-597.
- [24] Baierl T, Drosselmeyer E, Seidel A, Hippeli S (1996). "Comparison of immunological effects of Fullerene C60 and raw soot from Fullerene production on alveolar macrophages and macrophage like cells in vitro." Exp Toxicol Pathol **48**(6): 508-511.
- [25] Baker GL, Gupta A, Clark ML, Valenzuela BR, Staska LM, Harbo SJ, Pierce JT, Dill JA (2008). "Inhalation toxicity and lung toxicokinetics of C60 fullerene nanoparticles and microparticles." Toxicol Sci **101**(1): 122-131.
- [26] Ball B. R., Smith K. R., Veranth J. M. and Aust A. E (2000). "Bioavailability of iron from coal fly ash: mechanisms of mobilization and of biological effects." Inhal Toxicol **12 Suppl 4**: 209-225.
- [27] Barlow PG, Clouter-Baker A, Donaldson K, Maccallum J, Stone V (2005). "Carbon black nanoparticles induce type II epithelial cells to release chemotaxins for alveolar macrophages." Part Fibre Toxicol **2**: 11.

- [28] Barnhart MI, Chen ST, Salley SO, Puro H (1981). "Ultrastructure and morphometry of the alveolar lung of guinea pigs chronically exposed to diesel engine exhaust: six month's experience." J Appl Toxicol **1**(2): 88-103.
- [29] Barnhart MI, Salley SO, Chen ST, Puro H (1982). "Morphometric ultrastructural analysis of alveolar lungs of guinea pigs chronically exposed by inhalation to diesel exhaust (DE)." Dev Toxicol Environ Sci **10**: 183-200.
- [30] Bayram H, Devalia JL, Sapsford RJ, Ohtoshi T, Miyabara Y, Sagai M, Davies RJ (1998). "The effects of diesel exhaust particles on cell function and release of inflammatory mediators from human bronchial epithelial cells in vitro." Am J Respir Cell Mol Biol **18**(3): 441-448.
- [31] Beckett WS, Chalupa DF, Pauly-Brown A, Speers DM, Stewart JC, Frampton MW, Utell MJ, Huang LS, Cox C, Zareba W, Oberdörster G (2005). "Comparing inhaled ultrafine versus fine zinc oxide particles in healthy adults: a human inhalation study." Am J Respir Crit Care Med **171**(10): 1129-1135.
- [32] Beck-Speier I, Dayal N, Karg E, Maier KL, Schumann G, Schulz H, Semmler M, Takenaka S, Stettmaier K, Bors W, Ghio A, Samet JM, Heyder J (2005). "Oxidative stress and lipid mediators induced in alveolar macrophages by ultrafine particles." Free Radic Biol Med **38**(8): 1080-1092.
- [33] Bermudez E, Mangum JB, Wong BA, Asgharian B, Hext PM, Warheit DB, Everitt JI (2004). "Pulmonary responses of mice, rats, and hamsters to subchronic inhalation of ultrafine titanium dioxide particles." Toxicol Sci **77**(2): 347-357.
- [34] Bion A, Fal M, Gouriou F, Le Prieur E, Dionnet F, Morin JP (2002). "Biphasic culture of rat lung slices for pharmacotoxicological evaluation of complex atmospheres." Cell Biol Toxicol **18**(5): 301-314.
- [35] Blanc P, Wong H, Bernstein MS, Boushey HA (1991). "An experimental human model of metal fumes fever." Ann Intern Med **114**(11): 930-936.
- [36] Bonnard N, Brondeau MT, Jargot D, Lafon D, Protois JC, Schneider O, Serre P pour l'INRS (2002) "Fiche toxicologique N°75 : Zinc et composés minéraux" cahier de note documentaire - Hygiène et sécurité du travail N°187, disponible sur http://www.inrs.fr/htm/zinc_et_composes_mineraux.html
- [37] Bonnard N, Jargot D, Miraval S, Roos F, Schneider O : pour l'INRS (2007) "Fiche toxicologique N°264 : le noir de carbone", disponible sur <http://www.inrs.fr/fichetox/ft264.html>
- [38] Borm PJ, Cakmak G, Jermann E, Weishaupt C, Kempers P, van Schooten FJ, Oberdörster G, Schins RP (2005). "Formation of PAH-DNA adducts after in vivo and vitro exposure of rats and lung cells to different commercial carbon blacks." Toxicol Appl Pharmacol **205**(2): 157-167.
- [39] Borm PJ, Kreyling W (2004). "Toxicological hazards of inhaled nanoparticles-potential implications for drug delivery." J Nanosci Nanotechnol **4**(5): 521-531.
- [40] Bottin MC, Vigneron JC, Rousseau R, Micillino JC, Eypert-Blaison C, Kaufert E, Martin P, Binet S, Rihn BH (2003). "Man-made mineral fiber hazardous properties assessment using transgenic rodents: example of glass fiber testing." Inhal Toxicol **15**(10): 1017-1027.

- [41] Bottini M, Bruckner S, Nika K, Bottini N, Bellucci S, Magrini A, Bergamaschi A, Mustelin T (2006). "Multi-walled carbon nanotubes induce T lymphocyte apoptosis." Toxicol Lett **160**(2): 121-126.
- [42] Bourbonnais G. pour le Cegep Ste Foy, Québec (date non renseignée) "Le système respiratoire" 66 diapositives, disponible sur http://www.cegep-ste-foy.qc.ca/profs/gbourbonnais/sf_181/powerpoint/respir180.pdf.
- [43] Brambilla C, Brambilla E, Rigaud D, Perdrix A, Paramelle B, Fourcy A (1980). "[Pneumoconiosis due to amorphous silica smoke. Mineralogical and ultrastructural study of 6 cases (author's transl)]." Rev Fr Mal Respir **8**(5): 383-391.
- [44] Broch C (1949). "An investigation of the occurrence of silicosis in a plant for fusing ferrosilicon and ferro-chromium." Nord Hyg Tidskr (1), 1-7 ; J Ind Hyg Toxicol **31** : 97.
- [45] Brouwer DH, Gijsbers JH, Lurvink MW (2004). "Personal exposure to ultrafine particles in the workplace: exploring sampling techniques and strategies." Ann Occup Hyg **48**(5): 439-453.
- [46] Brown DM, Donaldson K, Borm PJ, Schins RP, Dehnhardt M, Gilmour P, Jimenez LA, Stone V (2004). "Calcium and ROS-mediated activation of transcription factors and TNF-alpha cytokine gene expression in macrophages exposed to ultrafine particles." Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol **286**(2): L344-353.
- [47] Brown DM, Stone V, Findlay P, MacNee W, Donaldson K (2000). "Increased inflammation and intracellular calcium caused by ultrafine carbon black is independent of transition metals or other soluble components." Occup Environ Med **57**(10): 685-691.
- [48] Brown DM, Wilson MR, MacNee W, Stone V, Donaldson (2001). "Size-dependent proinflammatory effects of ultrafine polystyrene particles: a role for surface area and oxidative stress in the enhanced activity of ultrafines." Toxicol Appl Pharmacol **175**(3): 191-199.
- [49] Brown JS, Zeman KL, Bennett WD (2002). "Ultrafine particle deposition and clearance in the healthy and obstructed lung." Am J Respir Crit Care Med **166**(9): 1240-1247.
- [50] Brunekreef B, Janssen NA, de Hartog J, Harssema H, Knape M, van Vliet P (1997). "Air pollution from truck traffic and lung function in children living near motorways." Epidemiology **8**(3): 298-303.
- [51] Bunn WB 3rd, Hesterberg TW, Valberg PA, Slavin TJ, Hart G, Lapin CA (2004). "A reevaluation of the literature regarding the health assessment of diesel engine exhaust." Inhal Toxicol **16**(14): 889-900.
- [52] Bunn WB 3rd, Valberg PA, Slavin TJ, Lapin CA (2002). "What is new in diesel?" Int Arch Occup Environ Health **75 Suppl**: S122-132.
- [53] Chalupa DC, Morrow PE, Oberdörster G, Utell MJ, Frampton MW (2004). "Ultrafine particle deposition in subjects with asthma." Environ Health Perspect **112**(8): 879-882.
- [54] Campbell KI, George EL, Washington IS (1981). "Enhanced susceptibility to infection in mice after exposure to dilute exhaust from light duty diesel engines." Environ Int **5**, 377-382.

- [55] Chang CC, Chiu HF, Wu YS, Li YC, Tsai ML, Shen CK, Yang CY (2005). "The induction of vascular endothelial growth factor by ultrafine carbon black contributes to the increase of alveolar-capillary permeability." Environ Health Perspect **113**(4): 454-460.
- [56] Chen HW, Su SF, Chien CT, Lin WH, Yu SL, Chou CC, Chen JJ, Yang PC (2006). "Titanium dioxide nanoparticles induce emphysema-like lung injury in mice." FASEB J **20**(13): 2393-2395.
- [57] Chen M, von Mikecz A (2005). "Formation of nucleoplasmic protein aggregates impairs nuclear function in response to SiO₂ nanoparticles." Exp Cell Res **305**(1): 51-62.
- [58] Chen YW, Hwang KC, Yen CC, Lai YL (2004). "Fullerene derivatives protect against oxidative stress in RAW 264.7 cells and ischemia-reperused lungs." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **287**(1): R21-26.
- [59] Chiron JP, Lamandé J, Moussa F, Trivin F, Céolin R (2000). "[Effect of "micronized" C60 fullerene on the microbial growth in vitro]." Ann Pharm Fr **58**(3): 170-175.
- [60] Choudat D, Frisch C, Barrat G, el Kholti A, Conso F (1990). "Occupational exposure to amorphous silica dust and pulmonary function." Br J Ind Med **47**(11): 763-766.
- [61] Cohen AJ, Nikula K (1999). "The health effects of diesel exhaust: laboratory and epidemiologic studies." In: Air pollution and health (S. T. Holgate, Samet, J.M Koren, H.S, Maynard, R.L, eds), pp. 707-745. Academic Press, London.
- [62] Conner MW, Flood WH, Rogers AE, Amdur MO (1988). "Lung injury in guinea pigs caused by multiple exposures to ultrafine zinc oxide: changes in pulmonary lavage fluid." J Toxicol Environ Health **25**(1): 57-69.
- [63] Courtois B. "Silices amorphes" chap5(3): 379-406 in Les Nanoparticules, un enjeu majeur pour la santé au travail ? B. Hervé-Bazin (2007), aux éditions EDP Sciences, ISBN : 978-2-86883-995-4.
- [64] Creutzenberg O, Bellmann B, Heinrich U, Fuhst R, Koch W, Muhle H (1990). "Clearance and retention of inhaled diesel exhaust particles, carbon black, and titanium dioxide in rats at lung overload conditions." J Aerosol Sci **21 (suppl.1)** S455-S458.
- [65] Dai J, Xie C, Churg A (2002). "Iron loading makes a nonfibrogenic model air pollutant particle fibrogenic in rat tracheal explants." Am J Respir Cell Mol Biol **26**(6): 685-693.
- [66] Daigle CC, Chalupa DC, Gibb FR, Morrow PE, Oberdörster G, Utell MJ, Frampton MW (2003). "Ultrafine particle deposition in humans during rest and exercise." Inhal Toxicol **15**(6): 539-552.
- [67] Dailey LA, Jekel N, Fink L, Gessler T, Schmehl T, Wittmar M, Kissel T, Seeger W (2006). "Investigation of the proinflammatory potential of biodegradable nanoparticle drug delivery systems in the lung." Toxicol Appl Pharmacol **215**(1): 100-108.
- [68] Dardel B (2002) Thèse présentée à la faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel pour l'obtention du grade de docteur ès Sciences : "Dendrimères liquide-cristallin du fullerène : Synthèse, propriétés et organisation supramoléculaire", disponible sur http://www.unige.ch/cyberdocuments/unine/theses2002/DardelB/these_front.html.

- [69] Dasenbrock C, Peters L, Creutzenberg O, Heinrich U (1996). "The carcinogenic potency of carbon particles with and without PAH after repeated intratracheal administration in the rat." Toxicol Lett **88**(1-3): 15-21.
- [70] de Haar C, Hassing I, Bol M, Bleumink R, Pieters R (2005). "Ultrafine carbon black particles cause early airway inflammation and have adjuvant activity in a mouse allergic airway disease model." Toxicol Sci **87**(2): 409-418.
- [71] DeMarini DM, Brooks LR, Warren SH, Kobayashi T, Gilmour MI, Singh P (2004). "Bioassay-directed fractionation and salmonella mutagenicity of automobile and forklift diesel exhaust particles." Environ Health Perspect **112**(8): 814-819.
- [72] Diaz-Sanchez, D (1997). "The role of diesel exhausts particles and their associated polyaromatic hydrocarbons in the induction of allergic airway disease." Allergy **52**(38 Suppl): 52-56; discussion 57-58.
- [73] Diaz-Sanchez D, Dotson AR, Takenaka H, Saxon A (1994). "Diesel exhaust particles induce local IgE production in vivo and alter the pattern of IgE messenger RNA isoforms." J Clin Invest **94**(4): 1417-1425.
- [74] Diaz-Sanchez D, Garcia MP, Wang M, Jyrala M, Saxon A (1999). "Nasal challenge with diesel exhaust particles can induce sensitization to a neoallergen in the human mucosa." J Allergy Clin Immunol **104**(6): 1183-1188.
- [75] Diaz-Sanchez D, Tsien A, Casillas A, Dotson AR, Saxon A (1996). "Enhanced nasal cytokine production in human beings after in vivo challenge with diesel exhaust particles." J Allergy Clin Immunol **98**(1): 114-123.
- [76] Diaz-Sanchez D, Tsien A, Fleming J, Saxon A (1997). "Combined diesel exhaust particulate and ragweed allergen challenge markedly enhances human in vivo nasal ragweed-specific IgE and skews cytokine production to a T helper cell 2-type pattern." J Immunol **158**(5): 2406-2413.
- [77] Dick CA, Brown DM, Donaldson K, Stone V (2003). "The role of free radicals in the toxic and inflammatory effects of four different ultrafine particle types." Inhal Toxicol **15**(1): 39-52.
- [78] Donaldson K (2005). "The toxicology of airborne nanoparticles". *Compte-rendu du First International Symposium on Occupational Health Implications of Nanomaterials, 12 au 14 octobre 2004, Buxton, Grande-Bretagne, p30-34, édité par le Health and Safety Executive Grande-Bretagne et le National Institute for Occupational Safety and Health, États-Unis, juillet 2005*
- [79] Donaldson K, Aitken R, Tran L, Stone V, Duffin R, Forrest G, Alexander A (2006). "Carbon nanotubes: a review of their properties in relation to pulmonary toxicology and workplace safety." Toxicol Sci **92**(1): 5-22.
- [80] Donaldson K, Brown D, Clouter A, Duffin R, MacNee W, Renwick L, Tran L, Stone V (2002). "The pulmonary toxicology of ultrafine particles." J Aerosol Med **15**(2): 213-220.
- [81] Donaldson K, Li XL, MacNee W (1998) "Ultrafine(nanometer) particle mediated lung injury", J. Aerosol Sci. **29** (5/6): 553-560
- [82] Donaldson K, Seaton A (2007). "The Janus faces of nanoparticles." J Nanosci Nanotechnol **7**(12): 4607-4611.

- [83] Donaldson, K. Stone, V. (2003) "Current hypotheses on the mechanisms of toxicity of ultrafine particles", Ann. Ist. Super Sanità **39**(3):405-410.
- [84] Doornaert B, Leblond V, Galiacy S, Gras G, Planus E, Laurent V, Isabey D, Lafuma C (2003). "Negative impact of DEP exposure on human airway epithelial cell adhesion, stiffness, and repair." Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol **284**(1): L119-132.
- [85] Doornaert B, Leblond V, Planus E, Galiacy S, Laurent VM, Gras G, Isabey D, Lafuma C (2003). "Time course of actin cytoskeleton stiffness and matrix adhesion molecules in human bronchial epithelial cell cultures." Exp Cell Res **287**(2): 199-208.
- [86] Driscoll KE, Carter JM, Howard BW, Hassenbein DG, Pepelko W, Baggs RB, Oberdörster G (1996). "Pulmonary inflammatory, chemokine, and mutagenic responses in rats after subchronic inhalation of carbon black." Toxicol Appl Pharmacol **136**(2): 372-380.
- [87] Dumortier H, Lacotte S, Pastorin G, Marega R, Wi W, Bonifazi D, Briand JP, Prato M, Muller S, Bianco A (2006). "Functionalized carbon nanotubes are non-cytotoxic and preserve the functionality of primary immune cells." Nano Lett **6**(7): 1522-1528.
- [88] Elder A, Gelein R, Finkelstein JN, Driscoll KE, Harkema J, Oberdörster G (2005). "Effects of subchronically inhaled carbon black in three species. I. Retention kinetics, lung inflammation, and histopathology." Toxicol Sci **88**(2): 614-629.
- [89] Ernst H, Rittinghausen S, Bartsch W, Creutzenberg O, Dasenbrock C, Görlitz BD, Hecht M, Kairies U, Muhle H, Müller M, Heinrich U, Pott F (2002). "Pulmonary inflammation in rats after intratracheal instillation of quartz, amorphous SiO₂, carbon black, and coal dust and the influence of poly-2-vinylpyridine-N-oxide (PVNO)." Exp Toxicol Pathol **54**(2): 109-126.
- [90] Fenoglio I, Tomatis M, Lison D, Muller J, Fonseca A, Nagy JB, Fubini B (2006). "Reactivity of carbon nanotubes: free radical generation or scavenging activity?" Free Radic Biol Med **40**(7): 1227-1233.
- [91] Ferin J, Oberdörster G, Penney DP (1992). "Pulmonary retention of ultrafine and fine particles in rats." Am J Respir Cell Mol Biol **6**(5): 535-542.
- [92] Fine JM, Gordon T, Chen LC, Kinney P, Falcone G, Beckett WS (1997). "Metal fume fever: characterization of clinical and plasma IL-6 responses in controlled human exposures to zinc oxide fume at and below the threshold limit value." J Occup Environ Med **39**(8): 722-726.
- [93] Fine JM, Gordon T, Chen LC, Kinney P, Falcone G, Sparer J, Beckett WS (2000). "Characterization of clinical tolerance to inhaled zinc oxide in naive subjects and sheet metal workers." J Occup Environ Med **42**(11): 1085-1091.
- [94] Fiorito S, Serafino A, Andreola F, Bernier P (2006). "Effects of fullerenes and single-wall carbon nanotubes on murine and human macrophages". Carbon **44** : 1100-1105.
- [95] Fiorito S, Serafino A, Andreola F, Togna A, Togna G (2006). "Toxicity and biocompatibility of carbon nanoparticles." J Nanosci Nanotechnol **6**(3): 591-599.
- [96] Frampton MW, Utell MJ, Zareba W, Oberdörster G, Cox C, Huang LS, Morrow PE, Lee FE, Chalupa D, Frasier LM, Speers DM, Stewart J (2004). "Effects of exposure to ultrafine carbon

- particles in healthy subjects and subjects with asthma." Res Rep Health Eff Inst(126): 1-47; discussion 49-63.
- [97] Fubini B, "Généralités sur les propriétés de surface" chap3(2): 89-95 in Les Nanoparticules, un enjeu majeur pour la santé au travail ? B. Hervé-Bazin (2007), aux éditions EDP Sciences, ISBN : 978-2-86883-995-4.
- [98] Fujimaki H, Nohara O, Ichinose T, Watanabe N, Saito S (1994). "IL-4 production in mediastinal lymph node cells in mice intratracheally instilled with diesel exhaust particulates and antigen." Toxicology **92**(1-3): 261-268.
- [99] Fujita K, Morimoto Y, Ogami A, Myojyo T, Tanaka I, Shimada M, Wang WN, Endoh S, Uchida K, Nakazato T, Yamamoto K, Fukui H, Horie M, Yoshida Y, Iwahashi H, Nakanishi J (2009). "Gene expression profiles in rat lung after inhalation exposure to C60 fullerene particles." Toxicology **258**(1): 47-55.
- [100] Gallagher J, Sams R 2nd, Inmon J, Gelein R, Elder A, Oberdörster G, Prahalad AK (2003). "Formation of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine in rat lung DNA following subchronic inhalation of carbon black." Toxicol Appl Pharmacol **190**(3): 224-231.
- [101] Gilmour MI, O'Connor S, Dick CA, Miller CA, Linak WP (2004). "Differential pulmonary inflammation and in vitro cytotoxicity of size-fractionated fly ash particles from pulverized coal combustion." J Air Waste Manag Assoc **54**(3): 286-295.
- [102] Gilmour PS, Ziesenis A, Morrison ER, Vickers MA, Drost EM, Ford I, Karg E, Mossa C, Schroepel A, Ferron GA, Heyder J, Greaves M, MacNee W, Donaldson K (2004). "Pulmonary and systemic effects of short-term inhalation exposure to ultrafine carbon black particles." Toxicol Appl Pharmacol **195**(1): 35-44.
- [103] Gordon T, Chen LC, Fine JM, Schlesinger RB, Su WY, Kimmel TA, Amdur MO (1992). "Pulmonary effects of inhaled zinc oxide in human subjects, guinea pigs, rats, and rabbits." Am Ind Hyg Assoc J **53**(8): 503-509.
- [104] Grassian VH, O'Shaughnessy PT, Adamcakova-Dodd A, Pettibone JM, Thorne PS (2007). "Inhalation exposure study of titanium dioxide nanoparticles with a primary particle size of 2 to 5 nm." Environ Health Perspect **115**(3): 397-402.
- [105] Green M, Howman E (2005). "Semiconductor quantum dots and free radical induced DNA nicking." Chem Commun (Camb)(1): 121-123.
- [106] Gross KB (1981). "Pulmonary function testing of animals chronically exposed to diluted diesel exhaust." J Appl Toxicol **1**(2), 116-123.
- [107] Grubek-Jaworska H, Nejman P, Czuminska K, Przybylowski T, Huczko A, Lange H, Bystrzejewski M, Baranowski P, Chazan R (2006). "Preliminary results on the pathogenic effects of intratracheal exposure to one dimensional nanocarbons". Carbon **44**: 1057-1063.
- [108] Hahon N, Booth JA, Green F, Lewis TR (1985). "Influenza virus infection in mice after exposure to coal dust and diesel engine emissions." Environ Res **37**(1): 44-60.

- [109] Hardman R (2006). "A toxicologic review of quantum dots: toxicity depends on physicochemical and environmental factors." Environ Health Perspect **114**(2): 165-172.
- [110] Heinrich, U.; Fuhst, R.; Rittinghausen, S.; Creutzenberg, O.; Bellmann, B.; Koch, W.; Levsen, K (1995) "Chronic inhalation exposure of Wistar rats and two different strains of mice to diesel engine exhaust, carbon black, and titanium dioxide." Inhal Toxicol **7**(4): 533-536.
- [111] Heinrich J, Hoelscher B, Wjst M, Ritz B, Cyrys J, Wichmann H (1999). "Respiratory diseases and allergies in two polluted areas in East Germany." Environ Health Perspect **107**(1): 53-62.
- [112] Heinrich U, Muhle H, Takenaka S, Ernst H, Fuhst R, Mohr U, Pott F, Stöber W (1986). "Chronic effects on the respiratory tract of hamsters, mice and rats after long-term inhalation of high concentrations of filtered and unfiltered diesel engine emissions." J Appl Toxicol **6**(6): 383-395.
- [113] Henderson RF, Pickrell JA, Jones RK, Sun ID, Benson JM, Mauderly JL, McClellan RO (1988). "Response of rodents to inhaled diluted diesel exhaust: biochemical and cytological changes in bronchoalveolar lavage fluid and in lung tissue." Fundam Appl Toxicol **11** (3): 546-567.
- [114] Hervé-Bazin B (2006) "Nanoparticules: nanorisques?" Journée de sensibilisation CNRS, Meudon, 13 janvier 2006, 9 pages, disponible sur http://www.dr5.cnrs.fr/IMG/pdf/Expose_B.HERVE_BAZIN.pdf.
- [115] Hervé-Bazin B (2006) "Nanoparticules : principales données toxicologiques actuelles"; ADHYS, Association pour le Développement de l'Hygiène et de la Sécurité dans les établissements de recherche ou d'enseignement supérieur, Paris, 18/10/2006. 14 pages, disponible sur <http://www.adhys.org/documentation/2006/nano/bazin.pdf>.
- [116] Hervé-Bazin B, "Aperçus pour quelques autres propriétés" chap1(5): 95-104 in Les Nanoparticules, un enjeu majeur pour la santé au travail ? B. Hervé-Bazin (2007), aux éditions EDP Sciences, ISBN : 978-2-86883-995-4.
- [117] Hervé-Bazin B, "Dioxyde de titane" chap5(2): 355-379 in Les Nanoparticules, un enjeu majeur pour la santé au travail ? B. Hervé-Bazin (2007), aux éditions EDP Sciences, ISBN : 978-2-86883-995-4.
- [118] Hetland RB, Refsnes M, Myran T, Johansen BV, Uthus N, Schwarze PE (2000). "Mineral and/or metal content as critical determinants of particle-induced release of IL-6 and IL-8 from A549 cells." J Toxicol Environ Health A **60**(1): 47-65.
- [119] Hext PM, Tomenson JA, Thompson P (2005). "Titanium dioxide: inhalation toxicology and epidemiology." Ann Occup Hyg **49**(6): 461-472.
- [120] Hext PM, Warheit DB, Mangum J, Asgharian B, Wong B, Bermudez E, Everitt J (2002) "Comparison of the pulmonary response to inhaled pigmentary and ultrafine titanium dioxide particles in the rat, mouse and hamster. Ann Occup Hyg **46** (Suppl.1): 191-196.
- [121] Hiramatsu K, Saito Y, Sakakibara K, Azuma A, Takizawa H, Sugawara I (2005). "The effects of inhalation of diesel exhaust on murine mycobacterial infection." Exp Lung Res **31**(4): 405-415.

- [122] Hofmann W, Sturm R, Winkler-Heil R, Pawlak E (2003) "Stochastic model of ultrafine particle deposition and clearance in the human respiratory tract" Radiation Protection Dosimetry **105**:77-79.
- [123] Höhr D, Steinfartz Y, Schins RP, Knaapen AM, Martra G, Fubini B, Borm PJ (2002). "The surface area rather than the surface coating determines the acute inflammatory response after instillation of fine and ultrafine TiO₂ in the rat." Int J Hyg Environ Health **205**(3): 239-244.
- [124] Huczko A, Lange H, Calko E, Grubek-Jaworska H, Droszcz P, et coll. (2001). "Physiological testing of carbon nanotubes: are they asbestos-like?" Fullerene Sci Technol **9** (2): 251-254.
- [125] Huczko A, Lange H, Bystrzejewski M, Baranowski P, Grubek-Jaworska H, Nejman P, Przybylowski T, Czumińska K, Glapiński J, Walton DRM, Kroto HW (2005). "Pulmonary toxicity of 1-D nanocarbon materials" Fullerenes, nanotubes, and carbon nanostructures, 13: 141-145.
- [126] Hyde DM, Plopper CG, Weir AJ, Murnane RD, Warren DL, Last JA, Pepelko WE (1985). "Peribronchiolar fibrosis in lungs of cats chronically exposed to diesel exhaust." Lab Invest **52**(2): 195-206.
- [127] Ichinose T, Takano H, Miyabara Y, Sagai M (1998). "Long-term exposure to diesel exhaust enhances antigen-induced eosinophilic inflammation and epithelial damage in the murine airway." Toxicol Sci **44**(1): 70-79.
- [128] Inoue K, Takano H, Yanagisawa R, Sakurai M, Ichinose T, Sadakane K, Yoshikawa T (2005). "Effects of nano particles on antigen-related airway inflammation in mice." Respir Res **6**: 106.
- [129] Ishizaki T, Koizumi K, Ikemori R, Ishiyama Y, Kushibiki E (1987). "Studies of prevalence of Japanese cedar pollinosis among the residents in a densely cultivated area." Ann Allergy **58**(4): 265-270.
- [130] James JT, Lam C (2005). "Pulmonary toxicity of carbon nanotubes in mice and implications for human risk assessment". Toxicologist, résumé n°650 (p133).
- [131] Janssen YM, Marsh JP, Driscoll KE, Borm PJ, Oberdörster G, Mossman BT (1994). "Increased expression of manganese-containing superoxide dismutase in rat lungs after inhalation of inflammatory and fibrogenic minerals." Free Radic Biol Med **16**(3): 315-322.
- [132] Jaques PA, Kim CS (2000) "Measurement of total lung deposition of inhaled ultrafine particles in healthy men and women." Inhal toxicol **12**: 715-731.
- [133] Jaurand MC "Etudes critiques du rôle des paramètres physiques en activité biologique" chap7(2): 530-560 in Les Nanoparticules, un enjeu majeur pour la santé au travail ? B. Hervé-Bazin (2007), aux éditions EDP Sciences, ISBN : 978-2-86883-995-4.
- [134] Jesionowski T (2001) "Modification and characterization of titanium dioxide surface" Pigment & Resin Technology **30**(5): 287-295.

- [135] Jia G, Wang H, Yan L, Wang X, Pei R, Yan T, Zhao Y, Guo X (2005). "Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, multi-wall nanotube, and fullerene." Environ Sci Technol **39**(5): 1378-1383.
- [136] Johnston CJ, Driscoll KE, Finkelstein JN, Baggs R, O'Reilly MA, Carter J, Gelein R, Oberdörster G (2000). "Pulmonary chemokine and mutagenic responses in rats after subchronic inhalation of amorphous and crystalline silica." Toxicol Sci **56**(2): 405-413.
- [137] Kaewamatawong T, Shimada A, Okajima M, Inoue H, Morita T, Inoue K, Takano H (2006). "Acute and subacute pulmonary toxicity of low dose of ultrafine colloidal silica particles in mice after intratracheal instillation." Toxicol Pathol **34**(7): 958-965.
- [138] Kagan VE, Tyurina YY, Tyurin VA, Konduru NV, Potapovich AI, Osipov AN, Kisin ER, Schwegler-Berry D, Mercer R, Castranova V, Shvedova AA (2006). "Direct and indirect effects of single walled carbon nanotubes on RAW 264.7 macrophages: role of iron." Toxicol Lett **165**(1): 88-100.
- [139] Kagawa J (2002). "Health effects of diesel exhaust emissions-a mixture of air pollutants of worldwide concern." Toxicology **181-182**: 349-353.
- [140] Kendall M., Brown L. and Trought K (2004). "Molecular adsorption at particle surfaces: a PM toxicity mediation mechanism." Inhal Toxicol **16 Suppl 1**: 99-105.
- [141] Keshava N, Murray AR, Gorelik O , Arepalli S, Gandelsman VZ, Hubbs AF, Mercer RR, Baron P, Kagan VE, Castranova V, Shvedova AA (2004) "Transcriptional regulation in response to carbon nanotubes in human bronchial epithelial cells as detected by microarray analysis". The toxicologist **78 (S-1)**, résumé n°703 (p.145).
- [142] Kim H, Liu X, Kobayashi T, Kohyama T, Wen FQ, Romberger DJ, Conner H, Gilmour PS, Donaldson K, MacNee W, Rennard SI (2003). "Ultrafine carbon black particles inhibit human lung fibroblast-mediated collagen gel contraction." Am J Respir Cell Mol Biol **28**(1): 111-121.
- [143] Kisin E, Murray AR, Gorelik O, Arepalli S, Gandelsman VZ, Hubbs AF, Mercer RR, Baron P, Kagan VE, Castranova V, Shvedova AA (2005). "Pulmonary toxicity of carbon nanotubes" Toxicologist, résumé n°1041 (p.212).
- [144] Kisin E, Murray AR, Schwegler-Berry D, Gandelsman VZ, Ganther MR, Castranova V, Shvedova AA (2004). "Carbon nanotube exposure caused formation of free radicals, induction of oxidative stress and cytotoxicity in human keratinocytes and bronchial epithelial cells." The toxicologist **78(S-1)** résumé n°1483 (p.435).
- [145] Kobayashi T (2000). "Exposure to diesel exhaust aggravates nasal allergic reaction in guinea pigs." Am J Respir Crit Care Med **162**(2 Pt 1): 352-356.
- [146] Koike E, Kobayashi T (2006). "Chemical and biological oxidative effects of carbon black nanoparticles." Chemosphere **65**(6): 946-951.
- [147] Kreyling WG, Semmler M, Möller W (2004) "Dosimetry and toxicology of ultrafine particles", J. Aerosol Med. **17**:140-152.

- [148] Kuhn DC, Demers LM (1992). "Influence of mineral dust surface chemistry on eicosanoid production by the alveolar macrophage." J Toxicol Environ Health **35**(1): 39-50.
- [149] Kuschner WG, D'Alessandro A, Hambleton J, Blanc PD (1998). "Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-8 release from U937 human mononuclear cells exposed to zinc oxide in vitro. Mechanistic implications for metal fume fever." J Occup Environ Med **40**(5): 454-459.
- [150] Kuschner WG, D'Alessandro A, Wintermeyer SF, Wong H, Boushey HA, Blanc PD (1995). "Pulmonary responses to purified zinc oxide fume." J Investig Med **43**(4): 371-378.
- [151] Lacroix G, "Pollution particulaire diesel et toxicité" chap6(2): 449-472 in Les Nanoparticules, un enjeu majeur pour la santé au travail ? B. Hervé-Bazin (2007), aux éditions EDP Sciences, ISBN : 978-2-86883-995-4.
- [152] Lafon D, "Fullerènes" chap6(3): 472-485 in Les Nanoparticules, un enjeu majeur pour la santé au travail ? B. Hervé-Bazin (2007), aux éditions EDP Sciences, ISBN : 978-2-86883-995-4.
- [153] Lafon D, "Nanotubes de carbone" chap6(4): 485-497 in Les Nanoparticules, un enjeu majeur pour la santé au travail ? B. Hervé-Bazin (2007), aux éditions EDP Sciences, ISBN : 978-2-86883-995-4.
- [154] Lam CW, James JT, McCluskey R, Arepalli S, Hunter RL (2006). "A review of carbon nanotube toxicity and assessment of potential occupational and environmental health risks." Crit Rev Toxicol **36**(3): 189-217.
- [155] Lam CW, James JT, McCluskey R, Hunter RL (2004). "Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation." Toxicol Sci **77**(1): 126-134.
- [156] Lam HF, Chen LC, Ainsworth D, Peoples S, Amdur MO (1988). "Pulmonary function of guinea pigs exposed to freshly generated ultrafine zinc oxide with and without spike concentrations." Am Ind Hyg Assoc J **49**(7): 333-341.
- [157] Lam HF, Conner MW, Rogers AE, Fitzgerald S, Amdur MO (1985). "Functional and morphologic changes in the lungs of guinea pigs exposed to freshly generated ultrafine zinc oxide." Toxicol Appl Pharmacol **78**(1): 29-38.
- [158] Lambert AL, Mangum JB, DeLorme MP, Everitt JI (2003). "Ultrafine carbon black particles enhance respiratory syncytial virus-induced airway reactivity, pulmonary inflammation, and chemokine expression." Toxicol Sci **72**(2): 339-346.
- [159] Lambert AL, Trasti FS, Mangum JB, Everitt JI (2003). "Effect of preexposure to ultrafine carbon black on respiratory syncytial virus infection in mice." Toxicol Sci **72**(2): 331-338.
- [160] Lamy P (année de parution non renseignée) : rapport d'étude du Centre de la Recherche sur la Matière Divisée "Nanomatériaux: risques pour la santé et l'environnement", disponible sur <http://www.cnri-bourges.org/biblio/pdf/rapportlamy2.pdf>.

- [161] Langård S (1980). "A survey of respiratory symptoms and lung function in ferrochromium and ferrosilicon workers." Int Arch Occup Environ Health **46**(1): 1-9.
- [162] Laudet A, Courtois B. "Fumées de soudage" chap5(4): 379-406 in Les Nanoparticules, un enjeu majeur pour la santé au travail ? B. Hervé-Bazin (2007), aux éditions EDP Sciences, ISBN : 978-2-86883-995-4.
- [163] Lee KP, Kelly DP (1992). "The pulmonary response and clearance of Ludox colloidal silica after a 4-week inhalation exposure in rats." Fundam Appl Toxicol **19**(3): 399-410.
- [164] Lee KP, Kelly DP (1993). "Translocation of particle-laden alveolar macrophages and intra-alveolar granuloma formation in rats exposed to Ludox colloidal amorphous silica by inhalation." Toxicology **77**(3): 205-222.
- [165] Li N, Sioutas C, Cho A, Schmitz D, Misra C, Sempf J, Wang M, Oberley T, Froines J, Nel A (2003). "Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage." Environ Health Perspect **111**(4): 455-460.
- [166] Li N, Wang M, Oberley TD, Sempf JM, Nel AE (2002). "Comparison of the pro-oxidative and proinflammatory effects of organic diesel exhaust particle chemicals in bronchial epithelial cells and macrophages." J Immunol **169**(8): 4531-4541.
- [167] Li XY, Brown D, Smith S, MacNee W, Donaldson K (1999). "Short-term inflammatory responses following intratracheal instillation of fine and ultrafine carbon black in rats." Inhal Toxicol **11**(8): 709-731.
- [168] Lindahl M, Leanderson P, Tagesson C (1998). "Novel aspect on metal fume fever: zinc stimulates oxygen radical formation in human neutrophils." Hum Exp Toxicol **17**(2): 105-110.
- [169] Lison D, "Clairance pulmonaire. Distribution et devenir dans l'organisme" chap3(2): 217-228 in Les Nanoparticules, un enjeu majeur pour la santé au travail ? B. Hervé-Bazin (2007), aux éditions EDP Sciences, ISBN : 978-2-86883-995-4.
- [170] Lison D, Lardot C, Huaux F, Zanetti G, Fubini B (1997). "Influence of particle surface area on the toxicity of insoluble manganese dioxide dusts." Arch Toxicol **71**(12): 725-729.
- [171] Lison D, "Oxyde de zinc" chap5(1): 350-355 in Les Nanoparticules, un enjeu majeur pour la santé au travail ? B. Hervé-Bazin (2007), aux éditions EDP Sciences, ISBN : 978-2-86883-995-4.
- [172] Lovrić J, Bazzi HS, Cuie Y, Fortin GR, Winnik FM, Maysinger D (2005). "Differences in subcellular distribution and toxicity of green and red emitting CdTe quantum dots." J Mol Med **83**(5): 377-385.
- [173] Magrez A, Kasas S, Salicio V, Pasquier N, Seo JW, Celio M, Catsicas S, Schwaller B, Forró L (2006). "Cellular toxicity of carbon-based nanomaterials." Nano Lett **6**(6): 1121-1125.
- [174] Mauderly JL (1992). "Diesel exhaust. In environmental toxicants: human exposures and their health effects." Van Nostrand Reinhold, New-York.

- [175] Mauderly JL (1996). "Lung overload: the dilemma and opportunities for resolution." Inhal Toxicol **8**, 1-28.
- [176] Maynard AD, Maynard RL (2002). "A derived association between ambient aerosol surface area and excess mortality using historic time series data." Atmospheric Environ **36**: 5561-5567.
- [177] McClellan RO (1996). "Lung cancer in rats from prolonged exposure to high concentrations of carbonaceous particles: implication for human risk assessment." Inhal Toxicol **8**, 193-226.
- [178] McNeilly JD, Heal MR, Beverland IJ, Howe A, Gibson MD, Hibbs LR, MacNee W, Donaldson K (2004). "Soluble transition metals cause the pro-inflammatory effects of welding fumes in vitro." Toxicol Appl Pharmacol **196**(1): 95-107.
- [179] McNeilly JD, Jiménez LA, Clay MF, MacNee W, Howe A, Heal MR, Beverland IJ, Donaldson K (2005). "Soluble transition metals in welding fumes cause inflammation via activation of NF-kappaB and AP-1." Toxicol Lett **158**(2): 152-157.
- [180] Mohr S, Keith G, Rihn B (2005). "[Asbestos and malignant pleural mesothelioma: molecular, cellular and physiopathological aspects]." Bull Cancer **92**(11): 959-976.
- [181] Möller W, Brown DM, Kreyling WG, Stone V (2005). "Ultrafine particles cause cytoskeletal dysfunctions in macrophages: role of intracellular calcium." Part Fibre Toxicol **2**: 7.
- [182] Möller W, Hofer T, Ziesenis A, Karg E, Heyder J (2002). "Ultrafine particles cause cytoskeletal dysfunctions in macrophages." Toxicol Appl Pharmacol **182**(3): 197-207.
- [183] Monteiller C, Tran L, MacNee W, Faux S, Jones A, Miller B, Donaldson K (2007). "The pro-inflammatory effects of low-toxicity low-solubility particles, nanoparticles and fine particles, on epithelial cells in vitro: the role of surface area." Occup Environ Med **64**(9): 609-615.
- [184] Moorman WJ, Clark JC, Pepelko WE, Mattox J (1985). "Pulmonary function responses in cats following long-term exposure to diesel exhaust." J Appl Toxicol **5** (5), 301-305.
- [185] Morfeld P, Albrecht C, Drommer W, Borm PJA (2006). "Dose-Response and Threshold Analysis of Tumor Prevalence after Intratracheal Instillation of Six Types of Low- and High-Surface-Area Particles in a Chronic Rat Experiment." Inhalat Toxicol **18**(4) 215 – 225.
- [186] Mori T, Takada H, Ito S, Matsubayashi K, Miwa N, Sawaguchi T (2006). "Preclinical studies on safety of fullerene upon acute oral administration and evaluation for no mutagenesis." Toxicology **225**(1): 48-54.
- [187] Moss OR (2006) "Dosimetry can change mechanistic models: The challenge of scrutinizing the source before gathering and analyzing the data." Presentation ppt.
- [188] Moss OR (2006). "Insights into the health effects of nanoparticles: why numbers matter", CITT Activities **26**(2): 1-7.

- [189] Moussa F, Chretien P, Dubois P, Chuniaud L, Dessante M, Trivin P, Sizaret PY, Agafonov V, Ceolin R, Szwarc H, Greugny V, Fabre C, Rassat A (1995). "The influence of C₆₀ powders on cultured human leukocytes." Full Sci Techn **3(3)**, 333-342.
- [190] Müller J, Huaux F, Lison D (2006). "Respiratory toxicity of carbon nanotubes: How worried should we be?" Carbon **44(6)**: 1048-1056.
- [191] Müller J, Huaux F, Moreau N, Misson P, Heilier JF, Delos M, Arras M, Fonseca A, Nagy JB, Lison D (2005). "Respiratory toxicity of multi-wall carbon nanotubes." Toxicol Appl Pharmacol **207(3)**: 221-231.
- [192] Murphy SA, BéruBé KA, Pooley FD, Richards RJ (1998). "The response of lung epithelium to well characterised fine particles." Life Sci **62(19)**: 1789-1799.
- [193] Murr LE, Garza KM, Soto KF, Carrasco A, Powell TG, Ramirez DA, Guerrero PA, Lopez DA, Venzor III J (2005). "Cytotoxicity assessment of some carbon nanotubes and related carbon nanoparticle aggregates and the implications for anthropogenic carbon nanotube aggregates in the environment." Int J Environ Res Public Health **2(1)**: 31-42.
- [194] Nemmar A, Hoylaerts MF, Hoet PHM, Vermeylen J, Nemery B (2003). "Size effect of intratracheally instilled particles on pulmonary inflammation and vascular thrombosis." Toxicol Appl Pharmacol **186(1)**: 38-45.
- [195] Oberdörster G (1996). "Significance of particle parameters in the evaluation of exposure-dose-response relationships of inhaled particles." Inhal Toxicol **8 Suppl**: 73-89.
- [196] Oberdörster G (2001). "Pulmonary effects of inhaled ultrafine particles." Int Arch Occup Environ Health **74(1)**: 1-8.
- [197] Oberdörster G, Ferin J, Gelein R, Soderholm SC, Finkelstein J (1992). "Role of the alveolar macrophage in lung injury: studies with ultrafine particles." Environ Health Perspect **97**: 193-199.
- [198] Oberdörster G, Ferin J, Lehnert BE (1994). "Correlation between particle size, in vivo particle persistence, and lung injury." Environ Health Perspect **102 Suppl 5**: 173-179.
- [199] Oberdörster G, Serin J, Soderholm F, Gelein R, Cox C, Baggs R, Morrow PE (1994) "Increased pulmonary toxicity of inhaled ultrafine particles: due to lung overload alone?" Ann Occup Hyg **38(suppl.1)**: 295-302.
- [200] Oberdörster G, Finkelstein JN, Johnston C, Gelein R, Cox C, Baggs R, Elder AC. (2000). "Acute pulmonary effects of ultrafine particles in rats and mice." Res Rep Health Eff Inst (96): 5-74; disc 75-86.
- [201] Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J (2005). "Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles." Environ Health Perspect **113(7)**: 823-839
- [202] Oberdörster G, Yu CP (1990). "The carcinogenic potential of inhaled diesel exhaust: a particle effect?" J Aerosol Sci **21** (suppl. 1) S397-S401.

- [203] Oberson-Geneste D pour l'INERIS, Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques (2003) "Les particules ultrafines : qui sont-elles, où sont-elles et que font-elles ? " Poussières minérales et santé N°6, janvier 2003, disponible sur http://www.ineris.fr/index.php?module=doc&action=getDoc&id_doc_object=33.
- [204] Ohta K, Yamashita N, Tajima M, Miyasaka T, Nakano J, Nakajima M, Ishii A, Horiuchi T, Mano K, Miyamoto T (1999). "Diesel exhaust particulate induces airway hyperresponsiveness in a murine model: essential role of GM-CSF." J Allergy Clin Immunol **104**(5): 1024-1030.
- [205] Oosterlee A, Drijver M, Lebrecht E, Brunekreef B (1996). "Chronic respiratory symptoms in children and adults living along streets with high traffic density." Occup Environ Med **53**(4): 241-247.
- [206] Ostiguy C, Lapointe G, Ménard L, Cloutier Y, Trottier M, Boutin M, Antoun M, Normand C (2006) " Les nanoparticules : connaissances actuelles sur les risques et les mesures de prévention en santé et en sécurité du travail" rapport **R-455** de l'IRSST, Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail, disponible sur http://www.irsst.qc.ca/fr/_publicationirsst_100189.html.
- [207] Ostiguy C, Roberge B, Ménard L, Endo CA (2008) "Guide de bonnes pratiques favorisant la gestion des risques reliés aux nanoparticules de synthèse " rapport **R-586** de l'IRSST, Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail, disponible sur <http://www.irsst.qc.ca/files/documents/PubIRSST/R-586.pdf>
- [208] Ostiguy C, Soucy B, Lapointe G, Woods C, Ménard L (2008) "Les effets sur la santé reliés aux nanoparticules " rapport **R-558** de l'IRSST, Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail, disponible sur http://www.irsst.qc.ca/fr/_publicationirsst_100373.html.
- [209] Oyabu T, Ogami A, Morimoto Y, Shimada M, Lenggono W, Okuyama K, Tanaka I (2007). "Biopersistence of inhaled nickel oxide nanoparticles in rat lung." Inhal Toxicol **19 Suppl 1**: 55-58.
- [210] Paciotti GF, Myer L, Weinreich D, Goia D, Pavel N, McLaughlin RE, Tamarkin L (2004). "Colloidal gold: a novel nanoparticle vector for tumor directed drug delivery." Drug Deliv **11**(3): 169-183.
- [211] Pandya RJ, Solomon G, Kinner A, Balmes JR (2002). "Diesel exhaust and asthma: hypotheses and molecular mechanisms of action." Environ Health Perspect **110 Suppl 1**: 103-112.
- [212] Pantarotto D, Briand JP, Prato M, Bianco A (2004). "Translocation of bioactive peptides across cell membranes by carbon nanotubes." Chem Commun (Camb) (1): 16-17.
- [213] Park EJ, Yi J, Chung KH, Ryu DY, Choi J, Park K (2008). "Oxidative stress and apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in cultured BEAS-2B cells." Toxicol Lett **180**(3): 222-229.
- [214] Park EJ, Yoon J, Choi K, Yi J, Park K (2009). "Induction of chronic inflammation in mice treated with titanium dioxide nanoparticles by intratracheal instillation." Toxicology **260**(1-3): 37-46.

- [215] Pasker HG, Peeters M, Genet P, Clément J, Nemery B, Van de Woestijne KP (1997). "Short-term ventilatory effects in workers exposed to fumes containing zinc oxide: comparison of forced oscillation technique with spirometry." Eur Respir J **10**(7): 1523-1529.
- [216] Penttinen P, Timonen KL, Tiittanen P, Mirme A, Ruuskanen J, Pekkanen J (2001). "Number concentration and size of particles in urban air: effects on spirometric lung function in adult asthmatic subjects." Environ Health Perspect **109**(4): 319-323.
- [217] Penttinen P, Timonen KL, Tiittanen P, Mirme A, Ruuskanen J, Pekkanen J (2001). "Ultrafine particles in urban air and respiratory health among adult asthmatics." Eur Respir J **17**(3): 428-435.
- [218] Pepelko WE. (1982). "Effects of 28 days exposure to diesel engine emissions in rats." Environ Res **27**(1): 16-23.
- [219] Pepelko WE, Mattox JK, Yang YY, Moore W Jr (1980). "Pulmonary function and pathology in cats exposed 28 days to diesel exhaust." J Environ Pathol Toxicol **4**(2-3): 449-457.
- [220] Peters A, Wichmann HE, Tuch T, Heinrich J, Heyder J (1997). "Respiratory effects are associated with the number of ultrafine particles." Am J Respir Crit Care Med **155**(4): 1376-1383.
- [221] Plunkett ER, Dewitt BJ (1962). "Occupational exposure to Hi-Sil and Silene. Report of an 18-year study." Arch Environ Health **5**: 469-472.
- [222] Porter AE, Muller K, Skepper J, Midgley P, Welland M (2006). "Uptake of C60 by human monocyte macrophages, its localization and implications for toxicity: studied by high resolution electron microscopy and electron tomography." Acta Biomater **2**(4): 409-419.
- [223] Potapovich AI, Osipov AN, Kisin ER, Schwegler-Berry D, Shvedova AA, Kagan VE (2005). "Single walled carbon nanotubes activate RAW 264.7 macrophages: role in oxidative stress and inflammatory response." The toxicologist, résumé n°2282 (p.468).
- [224] Pritchard RJ, Ghio AJ, Lehmann JR, Winsett DW, Tepper JS, Park P, Gilmour MI, Dreher KL, Costa DL (1996) "Oxidant Generation and Lung Injury after Particulate Air Pollutant Exposure Increase with the Concentrations of Associated Metals." Inhal Toxicol **8**: 457-477.
- [225] Pulskamp K, Diabate S, Krug HF (2007). "Carbon nanotubes show no sign of acute toxicity but induce intracellular reactive oxygen species in dependence on contaminants." Toxicol Lett **168**(1): 58-74.
- [226] Quan C, Wilson S, Chen L (2005). "Toxicities of nanomaterials." Toxicologist, résumé n°1037: p.211
- [227] Ramage L, Guy K (2004). "Expression of C-reactive protein and heat-shock protein-70 in the lung epithelial cell line A549, in response to PM10 exposure." Inhal Toxicol **16**(6-7): 447-452.
- [228] Reed MD, Gigliotti AP, McDonald JD, Seagrave JC, Seilkop SK, Mauderly JL (2004). "Health effects of subchronic exposure to environmental levels of diesel exhaust." Inhal Toxicol **16**(4): 177-193.

- [229] Rehn B, Seiler F, Rehn S, Bruch J, Maier M (2003). "Investigations on the inflammatory and genotoxic lung effects of two types of titanium dioxide: untreated and surface treated." Toxicol Appl Pharmacol **189**(2): 84-95.
- [230] Renwick LC, Brown D, Clouter A, Donaldson K (2004). "Increased inflammation and altered macrophage chemotactic responses caused by two ultrafine particle types." Occup Environ Med **61**(5): 442-447.
- [231] Renwick LC, Donaldson K, Clouter A (2001). "Impairment of alveolar macrophage phagocytosis by ultrafine particles." Toxicol Appl Pharmacol **172**(2): 119-127.
- [232] Reuzel PJ, Bruijntjes JP, Feron VJ, Woutersen RA (1991). "Subchronic inhalation toxicity of amorphous silicas and quartz dust in rats". Fd Chem Toxicol **29**: 341-354.
- [233] Riedl M, Diaz-Sanchez D (2005). "Biology of diesel exhaust effects on respiratory function." J Allergy Clin Immunol **115**(2): 221-228; quiz 229.
- [234] Roberts JC, Bhalgat MK, Zera RT (1996). "Preliminary biological evaluation of polyamidoamine (PAMAM) Starburst dendrimers." J Biomed Mater Res **30**(1): 53-65.
- [235] Robertson JM, Ingalls TH (1989). "A case-control study of circulatory, malignant, and respiratory morbidity in carbon black workers in the United States." Am Ind Hyg Assoc J **50**(10): 510-515.
- [236] Roos F, "Toxicité des particules ultra-fines de noir de carbone" chap6(1): 423-449 in Les nanoparticules, un enjeu majeur pour la santé au travail ? B. Hervé-Bazin (2007), aux éditions EDP Sciences, ISBN : 978-2-86883-995-4.
- [237] Ross et Wilson - Anatomie et physiologie normales et pathologiques, 10e édition (2007), aux éditions Elsevier (ISBN-13: 978-2-84299-824-0) chap 10: 260-278, traduction de la version originale : Ross and Wilson-Anatomy and Physiology in Health and Illness (tenth edition).
- [238] Roth C, Scheuch G, Stahlhofen W (1994). "Clearance measurements with radioactively labelled ultrafine particles." Ann Occup Hyg **38**(Suppl. 1): 101-106.
- [239] Rouse RL, Murphy G, Boudreaux MJ, Paulsen DB, Penn AL (2008). "Soot nanoparticles promote biotransformation, oxidative stress, and inflammation in murine lungs." Am J Respir Cell Mol Biol **39**(2): 198-207.
- [240] Rudell B, Wass U, Hörstedt P, Levin JO, Lindahl R, Rannug U, Sunesson AL, Ostberg Y, Sandström T (1999). "Efficiency of automotive cabin air filters to reduce acute health effects of diesel exhaust in human subjects." Occup Environ Med **56**(4): 222-231.
- [241] Sahoo SK, Panyam J, Prabha S, Labhasetwar V (2002). "Residual polyvinyl alcohol associated with poly (D,L-lactide-co-glycolide) nanoparticles affects their physical properties and cellular uptake." J Control Release **82**(1): 105-114.
- [242] Salvador-Morales C, Flahaut E, Sim E, Sloan J, Green MLH, Sim RB (2006). "Complement activation and protein adsorption by carbon nanotubes." Mol Immunol **43**(3): 193-201.

- [243] Salvi S, Blomberg A, Rudell B, Kelly F, Sandström T, Holgate ST, Frew A (1999). "Acute inflammatory responses in the airways and peripheral blood after short-term exposure to diesel exhaust in healthy human volunteers." Am J Respir Crit Care Med **159**(3): 702-709.
- [244] Salvi S, Holgate ST (1999). "Mechanisms of particulate matter toxicity." Clin Exp Allergy **29**(9): 1187-1194.
- [245] Sayes CM, Marchione AA, Reed KL, Warheit DB (2007). "Comparative pulmonary toxicity assessments of C60 water suspensions in rats: few differences in fullerene toxicity in vivo in contrast to in vitro profiles." Nano Lett **7**(8): 2399-2406.
- [246] Sayes CM, Wahi R, Kurian PA, Liu Y, West JL, Ausman KD, Warheit DB, Colvin VL (2006). "Correlating nanoscale titania structure with toxicity: a cytotoxicity and inflammatory response study with human dermal fibroblasts and human lung epithelial cells." Toxicol Sci **92**(1): 174-185.
- [247] Schepers GW (1981). "Biological action of precipitation-process submicron amorphous silica (HI-SIL 223)." ASTM Spec Tech Publ **732**: 144-173.
- [248] Schepers GW, Durkan TM, Delahant AB, Creedon FT, Redlin AJ (1957). "The biological action of Degussa submicron amorphous silica dust (Dow Corning silica). I. Inhalation studies on rats." AMA Arch Ind Health **16**(2): 125-146.
- [249] Schepers GW, Durkan TM, Delahant AB, Creedon FT, Redlin AJ (1957). "The biological action of inhaled Degussa submicron amorphous silica dust (Dow Corning silica). II. The pulmonary reaction in uninfected guinea pigs." AMA Arch Ind Health **16**(3): 203-224.
- [250] Sera N, Tokiwa H, Miyata N (1996). "Mutagenicity of the fullerene C60-generated singlet oxygen dependent formation of lipid peroxides." Carcinogenesis **17**(10): 2163-2169.
- [251] Shi T, Schins RP, Knaapen AM, Kuhlbusch T, Pitz M, Heinrich J, Borm PJ (2003). "Hydroxyl radical generation by electron paramagnetic resonance as a new method to monitor ambient particulate matter composition." J Environ Monit **5**(4): 550-556.
- [252] Shvedova AA, Kisin ER, Mercer R, Murray AR, Johnson VJ, Potapovich AI, Tyurina YY, Gorelik O, Arepalli S, Schwegler-Berry D, Hubbs AF, Antonini J, Evans DE, Ku BK, Ramsey D, Maynard A, Kagan VE, Castranova V, Baron P (2005). "Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice." Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol **289**(5): L698-708.
- [253] Shvedova AA, Kisin E, Murray AR, Schwegler-Berry D, Gandelsman VZ, Baron P et coll. (2004). "Exposure of human bronchial cells to carbon nanotubes caused oxidative stress and cytotoxicity". In: Proceedings of the Meeting of the SFRR Europe 2003, Ioannina, Grèce, 91-103.
- [254] Shwe TT, Yamamoto S, Kakeyama M, Kobayashi T, Fujimaki H (2005). "Effect of intratracheal instillation of ultrafine carbon black on proinflammatory cytokine and chemokine release and mRNA expression in lung and lymph nodes of mice." Toxicol Appl Pharmacol **209**(1): 51-61.

- [255] Singh P, DeMarini DM, Dick CA, Tabor DG, Ryan JV, Linak WP, Kobayashi T, Gilmour MI (2004). "Sample characterization of automobile and forklift diesel exhaust particles and comparative pulmonary toxicity in mice." Environ Health Perspect **112**(8): 820-825.
- [256] Soto KF, Carrasco A, Powell TG, Garza KM, Murr LE (2005). "Comparative *in vitro* cytotoxicity assessment of some manufactured nanoparticulate materials characterized by transmission electron microscopy". Journal of Nanoparticle Research **7**: 145-169.
- [257] Spain BA, Cummings O, Garcia JG (1995). "Bronchiolitis obliterans in an animal feed worker." Am J Ind Med **28**(3): 437-443.
- [258] Stearns RC, Murthy GKG, Skornik W, Hatch V, Katler M, Godleski JJ (1994). "Detection of ultrafine copper oxide particles in the lungs of hamsters by electron spectroscopic imaging." In: Proceedings of ICEM 13-PARIS, 1994 (Jouffrey B, Colliex C, eds). Paris: Les Editions de Physique, 763–764.
- [259] Steerenberg PA, Dormans JA, van Doorn CC, Middendorp S, Vos JG, van Loveren H (1999). "A pollen model in the rat for testing adjuvant activity of air pollution components." Inhal Toxicol **11**(12): 1109-1122.
- [260] Stenfors N, Nordenhäll C, Salvi SS, Mudway I, Söderberg M, Blomberg A, Helleday R, Levin JO, Holgate ST, Kelly FJ, Frew AJ, Sandström T (2004). "Different airway inflammatory responses in asthmatic and healthy humans exposed to diesel." Eur Respir J **23**(1): 82-86.
- [261] Stoeger T, Reinhard C, Takenaka S, Schroepel A, Karg E, Ritter B, Heyder J, Schulz H (2006). "Instillation of six different ultrafine carbon particles indicates a surface area threshold dose for acute lung inflammation in mice." Environ Health Perspect **114**(3): 328-333.
- [262] Stölzel M, Breitner S, Cyrus J, Pitz M, Wölke G, Kreyling W, Heinrich J, Wichmann HE, Peters A (2007). "Daily mortality and particulate matter in different size classes in Erfurt, Germany." J Expo Sci Environ Epidemiol **17**(5): 458-467.
- [263] Stone V, Tuinman M, Vamvakopoulos JE, Shaw J, Brown D, Petterson S, Faux SP, Borm P, MacNee W, Michaelangeli F, Donaldson K (2000). "Increased calcium influx in a monocytic cell line on exposure to ultrafine carbon black." Eur Respir J **15**(2): 297-303.
- [264] Stone V, Brown D, Watt N, Wilson M, Donaldson K, Ritchie H, MacNee W (2000) : "Ultrafine particle-mediated activation of macrophages : intracellular calcium signalling and oxidative stress".
- [265] Stone V, Shaw J, Brown DM, MacNee W, Faux SP, Donaldson K (1998). "The role of oxidative stress in the prolonged inhibitory effect of ultrafine carbon black on epithelial cell functions." Toxicol in Vitro **12**: 345-351.
- [266] Sung JH, Ji JH, Yoon JU, Kim DS, Song MY, Jeong J, Han BS, Han JH, Chung YH, Kim J, Kim TS, Chang HK, Lee EJ, Lee JH, Yu IJ (2008). "Lung function changes in Sprague-Dawley rats after prolonged inhalation exposure to silver nanoparticles." Inhal Toxicol **20**(6): 567-574.

- [267] Swensson A, Kvarnström K, Bruce T, Edling NP, Glömme J (1971). "Pneumoconiosis in ferrosilicon workers. A follow-up study." J Occup Med **13**(9): 427-432.
- [268] Sydbom A, Blomberg A, Parnia S, Stenfors N, Sandström T, Dahlén SE (2001). "Health effects of diesel exhaust emissions." Eur Respir J **17**(4): 733-746.
- [269] Sydlik U, Bierhals K, Soufi M, Abel J, Schins RP, Unfried K(2006). "Ultrafine carbon particles induce apoptosis and proliferation in rat lung epithelial cells via specific signaling pathways both using EGF-R." Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol **291**(4): L725-733.
- [270] Toussaint C (2007). "Toxicité pulmonaire des nanoparticules : modèles expérimentaux", rapport de Master Pro - Option génie cellulaire, université Henri Poincaré de Nancy.
- [271] Takano H, Ichinose T, Miyabara Y, Shibuya T, Lim HB, Yoshikawa T, Sagai M (1998). "Inhalation of diesel exhaust enhances allergen-related eosinophil recruitment and airway hyperresponsiveness in mice." Toxicol Appl Pharmacol **150**(2): 328-337.
- [272] Tamaoki J, Isono K, Takeyama K, Tagaya E, Nakata J, Nagai A (2004). "Ultrafine carbon black particles stimulate proliferation of human airway epithelium via EGF receptor-mediated signaling pathway." Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol **287**(6): L 1127- 1133.
- [273] Taylor DM, Davies JC (1977). "Ferro-alloy workers' disease a report of a recent case against the background of twelve years' experience." Cent Afr J Med **23**(2): 28-32.
- [274] Terada N, Maesako K, Hiruma K, Hamano N, Houki G, Konno A, Ikeda T, Sai M (1997). "Diesel exhaust particulates enhance eosinophil adhesion to nasal epithelial cells and cause degranulation." Int Arch Allergy Immunol **114**(2): 167-174.
- [275] Timblin CR, Shukla A, Berlinger I, BeruBe KA, Churg A, Mossman BT (2002). "Ultrafine airborne particles cause increases in protooncogene expression and proliferation in alveolar epithelial cells." Toxicol Appl Pharmacol **179**(2): 98-104.
- [276] Tsuji JS, Maynard AD, Howard PC, James JT, Lam CW, Warheit DB, Santamaria AB (2006). "Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part IV: risk assessment of nanoparticles." Toxicol Sci **89**(1): 42-50.
- [277] Vaillant G, Simon G, Fade O, Royer E, Bach D, Gradiski D (1983). "Pneumoconiose aigüe à silice amorphe." Rev Fr Mal Resp **11**: 504-505.
- [278] Valberg PA, Crouch EA (1999). "Meta-analysis of rat lung tumors from lifetime inhalation of diesel exhaust." Environ Health Perspect **107**(9): 693-699.
- [279] Van Niekerk CH, Weinberg EG, Shore SC, Heese HV, Van Schalkwyk J (1979). "Prevalence of asthma: a comparative study of urban and rural Xhosa children." Clin Allergy **9**(4): 319-314.
- [280] Vitums VC, Edwards MJ, Niles NR, Borman JO, Lowry RD (1977). "Pulmonary fibrosis from amorphous silica dust, a product of silica vapor." Arch Environ Health **32**(2): 62-68.
- [281] Volk H (1960). "The health of workers in a plant making highly dispersed silica." Arch Environ Health **1**: 47-50.

- [282] Wade JF 3rd, Newman LS (1993). "Diesel asthma. Reactive airways disease following overexposure to locomotive exhaust." J Occup Med **35**(2): 149-154.
- [283] Wang IC, Tail LA, Lee DD, Kanakamma PP, Shen CK, Luh TY, Cheng CH, Hwang KC (1999) "C60 and water soluble fullerene derivatives as antioxydants against radical-initiated lipid peroxidation" J Med Chem **42**(22): 4614-4620
- [284] Wang FZ, Ye ZZ, Ma DW, Zhu LP, Zhuge F (2005). "Novel morphologies of ZnO nanotetrapods" Materials Letters **59**: 560-563.
- [285] Warheit DB (2005). "Impact of exposures to nanoparticles and respiratory health. Particle size main not be more important than surface characteristics." The Toxicologist, Résumé N°651(page 133).
- [286] Warheit DB, Achinko L, Hartsky MA, Carakostas MC (1990). "Pulmonary autoradiographic and biochemical responses in rats following subchronic inhalation exposures to Ludox colloidal silica." The Toxicologist **10**: 202 (résumé n°808).
- [287] Warheit DB, Brock WJ, Lee KP, Webb TR, Reed KL (2005). "Comparative pulmonary toxicity inhalation and instillation studies with different TiO₂ particle formulations: impact of surface treatments on particle toxicity." Toxicol Sci **88**(2): 514-524.
- [288] Warheit DB, Carakostas MC, Kelly DP, Hartsky MA (1991). "Four-week inhalation toxicity study with Ludox colloidal silica in rats: pulmonary cellular responses." Fundam Appl Toxicol **16**(3): 590-601.
- [289] Warheit DB, Laurence BR, Reed KL, Roach DH, Reynolds GA, Webb TR (2004). "Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats." Toxicol Sci **77**(1): 117-125.
- [290] Warheit DB, McHugh TA, Hartsky MA (1995). "Differential pulmonary responses in rats inhaling crystalline, colloidal or amorphous silica dusts." Scand J Work Environ Health **21 Suppl 2**: 19-21.
- [291] Warheit DB, Reed KL, Webb TR (2003). "Pulmonary toxicity studies in rats with triethoxyoctylsilane (OTES)-coated, pigment-grade titanium dioxide particles: bridging studies to predict inhalation hazard." Exp Lung Res **29**(8): 593-606.
- [292] Warheit DB, Webb TR, Colvin VL, Reed KL, Sayes CM (2007). "Pulmonary bioassay studies with nanoscale and fine-quartz particles in rats: toxicity is not dependent upon particle size but on surface characteristics." Toxicol Sci **95**(1): 270-280.
- [293] Warheit DB, Webb TR, Reed KL, Frerichs S, Sayes CM (2007). "Pulmonary toxicity study in rats with three forms of ultrafine-TiO₂ particles: differential responses related to surface properties." Toxicology **230**(1): 90-104.
- [294] Warheit DB, Webb TR, Sayes CM, Colvin V, Reed K (2006). "Pulmonary instillation studies with nanoscale TiO₂ rods and dots in rats: toxicity is not dependent upon particle size and surface area." Toxicol Sci **91**(1): 227-236.

- [295] Warshawsky D, Reilman R, Cheu J, Radike M, Rice C (1994). "Influence of particle dose on the cytotoxicity of hamster and rat pulmonary alveolar macrophage in vitro." J Toxicol Environ Health **42**(4): 407-421.
- [296] Watson AY, Valberg PA (2001). "Carbon black and soot: two different substances." AIHAJ (American Industrial Hygiene Association) **62**(2): 218-228.
- [297] Wesselkamper SC, Chen LC, Gordon T (2001). "Development of pulmonary tolerance in mice exposed to zinc oxide fumes." Toxicol Sci **60**(1): 144-151.
- [298] White HJ, Garg BD (1981). "Early pulmonary response of the rat lung to inhalation of high concentration of diesel particles." J Appl Toxicol **1**(2): 104-110.
- [299] Wick P, Manser P, Limbach LK, Dettlaff-Weglikowska U, Krumeich F, Roth S, Stark WJ, Bruinink A (2007). "The degree and kind of agglomeration affect carbon nanotube cytotoxicity." Toxicol Lett **168**(2): 121-131.
- [300] Wilson MR, Lightbody JH, Donaldson K, Sales J, Stone V (2002). "Interactions between ultrafine particles and transition metals in vivo and in vitro." Toxicol Appl Pharmacol **184**(3): 172-179.
- [301] Wilson RK, Stevens PM, Lovejoy HB, Bell ZG, Richie RC (1979). "Effects of chronic amorphous silica exposure on sequential pulmonary function." J Occup Med **21**(6): 399-402.
- [302] Witschger O, "Définition d'un aérosol ultra-fin" chap1(1): 45-48 in Les Nanoparticules, un enjeu majeur pour la santé au travail ? B. Hervé-Bazin (2007), aux éditions EDP Sciences, ISBN : 978-2-86883-995-4.
- [303] Witschger O, "Voies de pénétration dans l'organisme" chap3(1): 191-217 in Les Nanoparticules, un enjeu majeur pour la santé au travail ? B. Hervé-Bazin (2007), aux éditions EDP Sciences, ISBN : 978-2-86883-995-4.
- [304] Witschger O, Fabriès JF (2005). "Particules ultra-fines et santé au travail 1- caractéristiques et effets potentiels sur la santé", INRS – Hygiène et sécurité du travail – Cahiers de notes documentaires – 2e trimestre 2005, 199 : 21-35, disponible sur [http://www.dmt-prevention.fr/inrs-pub/inrs01.nsf/intranetobject-accesparreference/nd%202227/\\$file/nd2227.pdf](http://www.dmt-prevention.fr/inrs-pub/inrs01.nsf/intranetobject-accesparreference/nd%202227/$file/nd2227.pdf).
- [305] Witschger O, Fabriès JF (2005). "Particules ultra-fines et santé au travail 2- source et caractérisation de l'exposition", INRS – Hygiène et sécurité du travail – Cahiers de notes documentaires – 2e trimestre 2005, 199 : 37-54, disponible sur [http://www.inrs.fr/inrs-pub/inrs01.nsf/intranetobject-accesparreference/ND%202228/\\$file/nd2228.pdf](http://www.inrs.fr/inrs-pub/inrs01.nsf/intranetobject-accesparreference/ND%202228/$file/nd2228.pdf).
- [306] Wolfgang G, Kreyling WG, Semmler M, Möller W (2006). "Ultrafine particle–lung interactions: Does size matter?" J. Aerosol. Med. **19**(1):74-83.
- [307] Wottrich R, Diabaté S, Krug HF (2004). "Biological effects of ultrafine model particles in human macrophages and epithelial cells in mono- and co-culture." Int J Hyg Environ Health **207**(4): 353-361.

- [308] Zakharenko LP, Zakharov IK, Vasiunina EA, Karamysheva TV, Danilenko AM, Nikiforov AA (1997). "[Determination of the genotoxicity of fullerene C60 and fullerol using the method of somatic mosaics on cells of *Drosophila melanogaster* wing and SOS-chromotest]." Genetika **33**(3): 405-409.
- [309] Zelikoff JT (2000). "Woodsmoke, kerosene, heater emissions, and diesel exhaust." In: Pulmonary Immunotoxicology (Z. J. Cohen MD, Sclesinger RB, eds.), pp. 369-386. Kluwer Academic, Boston/Dordrecht/London.
- [310] Zhang J, Wang H, Yan X, Zhang L (2005). "Comparison of short-term toxicity between Nano-Se and selenite in mice." Life Sci **76**(10): 1099-1109.
- [311] Zhang Q, Kusaka Y, Donaldson K (2000). Comparative pulmonary responses caused by exposure to standard cobalt and ultrafine cobalt. J Occup Health **42**: 179-184.
- [312] Zhang Q, Kusaka Y, Sato K, Nakakuki K, Kohyama N, Donaldson K (1998). "Differences in the extent of inflammation caused by intratracheal exposure to three ultrafine metals: role of free radicals." J Toxicol Environ Health A **53**(6): 423-438.
- [313] Zhang Q, Kusada Y, Zhu X, Sato K, Mo Y, Kluz T, Donaldson K (2003). "Comparative toxicity of standard nickel and ultrafine nickel in lung after intratracheal instillation." J Occup Health **45**(1): 23-30.
- [314] Zhou J, Zeng FQ, Li C, Tong QS, Gao X, Xie SS, Yu LZ (2005). "Preparation of arsenic trioxide-loaded albuminates immuno-nanospheres and its specific killing effect on bladder cancer cell in vitro." Chin Med J (Engl) **118**(1): 50-55.
- [315] Zhou YM, Zhong CY, Kennedy IM, Pinkerton KE (2003). "Pulmonary responses of acute exposure to ultrafine iron particles in healthy adult rats." Environ Toxicol **18**(4): 227-235

N° d'identification :

TITRE :

**NANOPARTICULES ET TOXICOLOGIE PULMONAIRE : UNE
EVALUATION EN 2009**

Thèse soutenue le 11 décembre 2009

Par Sébastien LAFONTAINE

RESUME :

Bien que les nanoparticules (NPs) soient porteuses d'espoir et de progrès, notamment en médecine et pharmacie via la vectorisation de principe actif, la possibilité de radiomarquage et l'élaboration de biopuces, elles n'en restent pas moins potentiellement toxiques. Au sein de l'arbre respiratoire, l'aérosol ultrafin serait responsable de la genèse ou de l'aggravation de certaines pathologies telles l'asthme ou la Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive ainsi que de l'augmentation du taux de mortalité. Les études toxicologiques mécanistiques permettent d'ores et déjà de montrer que le paradigme « masse » utilisé depuis longtemps en toxicologie, n'est pas, seul, corrélé aux effets observés. Plusieurs facteurs physico-chimiques des NPs jouent un rôle prépondérant dans la mesure du danger : taille, surface spécifique, nombre, nature, réactivité de surface et paramètres impliqués dans la phagocytose, le stress oxydant et la réponse inflammatoire notamment la surcharge cellulaire et la biopersistance. Cet ouvrage a donc pour but de présenter le paysage actuel en 2009 des connaissances et hypothèses voire des difficultés rencontrées quant à la mesure du danger et l'évaluation du risque pulmonaire des NPs.

MOTS CLES : *Nanoparticules, toxicité, poumon, particules ultrafines, aérosol, danger, risque.*

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Professeur Bertrand RIHN	Laboratoire de toxicologie moléculaire des nanoparticules EA3452.	Expérimentale <input type="checkbox"/> Bibliographique <input checked="" type="checkbox"/> Thème <input checked="" type="checkbox"/>

Thèmes

1 – Sciences fondamentales
3 – Médicament
5 - Biologie

2 – Hygiène/Environnement
4 – Alimentation – Nutrition
6 – Pratique professionnelle