

## A-t-on raison de considérer que les particules atmosphériques fines et ultrafines sont dangereuses pour la santé ?

Professeur Francelyne Marano

Université Paris-Diderot, Paris 7

L'aérosol urbain est une "soupe" dans laquelle les particules atmosphériques réglementairement mesurées ( $PM_{10}$ ) forment un mélange complexe qui varie en fonction du lieu et de la période de l'année. La question de l'impact sanitaire des particules fines (de 1 à  $2,5 \mu m$  de diamètre aérodynamique,  $PM_{1-2,5}$ ) et ultrafines ou PUF ( $PM_{0,1}$  ou de diamètre aérodynamique  $< 100 nm$ ) s'est posée avec acuité au cours des dix dernières années. Elle est en partie liée aux données acquises sur les particules Diesel, mais aussi aux études expérimentales comparant les effets biologiques et la toxicologie de diverses particules manufacturées fines et ultrafines. Les résultats des études épidémiologiques présentés dans ce numéro montrent que cette préoccupation est justifiée, même si les données sont souvent difficiles à interpréter, les mesures de PM fines et ultrafines n'étant pas réglementaires et donc encore mal documentées.

Les études toxicologiques ont joué un rôle important dans la compréhension des effets biologiques des PM (pour une revue voir [1] et [2]). Elles ont, en particulier, visé à trouver des explications causales aux données épidémiologiques qui associent la pollution particulaire à la mortalité et la morbidité respiratoire et cardiovasculaire. Un des problèmes soulevés ces dernières années est que les PM fines et ultrafines peuvent avoir des effets systémiques sur des organes, tels que le cœur, qui ne sont pas des cibles directes. Il est donc important de comprendre les mécanismes mis en jeu et si ces particules sont capables ou non de franchir la barrière respiratoire pour être ensuite distribuées dans l'organisme.

### Quelles sont les sources des particules atmosphériques fines et ultrafines ?

L'aérosol d'une ville comme Paris contient essentiellement des particules carbonées fines et ultrafines issues des processus de combustion d'énergie fossile (trafic automobile, chauffage, activités industrielles [3]). On y trouve également des particules secondaires ultrafines provenant de la condensation de précurseurs gazeux. C'est le cas des sulfates et des nitrates d'ammonium qui peuvent constituer une fraction importante des aérosols urbains [4]. Par ailleurs, après leur émission dans l'atmosphère, les particules interagissent entre elles ainsi qu'avec des gaz, en particulier les composés organiques volatils ou COV. Elles peuvent fixer des molécules biologiques comme des endotoxines, provenant de la paroi des bactéries, ou des allergènes. Elles peuvent également s'adsorber sur les pollens ou les spores de champignon en modifiant leurs propriétés de surface. Ce bref résumé donne une idée de la complexité de cette fraction particulaire et de la difficulté à établir des relations de causalité solides entre telle fraction particulaire ou tel composant et un effet sur la santé.

Les particules Diesel (PDi) ont été tout particulièrement étudiées dans la mesure où elles sont de très petite taille ( $d < 1 \mu m$ ) et où elles peuvent représenter en France jusqu'à 87 % des émissions particulaires liées au trafic. Leur composition est complexe car elles sont constituées de particules carbonées élémentaires (10 à 80 nm) sur lesquelles s'adsorbe un grand nombre de composés organiques, plus de 400, parmi lesquels des hydrocarbures

aromatiques polycycliques (HAP), des quinones, des composés hétérocycliques, des aldéhydes, etc. On y trouve également des sulfates et, en faible quantité, des métaux. Ces particules élémentaires s'agglomèrent entre elles pour former des grappes plus ou moins grosses mais dont le diamètre ne dépasse pas en général 1  $\mu\text{m}$ .

Les particules ultrafines posent un problème particulier qui est tout d'abord d'ordre métrologique. En effet, elles constituent une faible masse des PM (1 à 8 %) mais elles sont les plus nombreuses et, dans un volume donné, elles vont représenter une surface réactive plus importante que celle des grosses particules. Oberdorster [5] est l'un des premiers toxicologues à avoir mis en avant cet aspect très important de la métrologie particulaire : la masse n'est pas un bon critère d'évaluation pour les particules ultrafines. Leur nombre et leur réactivité de surface peuvent leur conférer des propriétés spécifiques à masse et composition chimique identique si on les compare à des particules plus grosses. L'augmentation de la réactivité de surface laisse prévoir que les particules ultrafines montreront une activité biologique plus grande que celle des grosses particules à masse égale.

### **Les particules fines et ultrafines peuvent se déposer et persister dans l'appareil respiratoire**

La taille des particules détermine leur site de déposition dans l'appareil respiratoire et l'on peut ainsi déterminer trois régions de dépôt : les régions nasopharyngée et trachéobronchiale où le mécanisme de clairance est mucociliaire et l'élimination des particules rapide (en 24 h environ), la région alvéolaire où la clairance macrophagique est plus lente, la demi-vie des particules pouvant atteindre des mois. Il est admis que les grosses particules ( $d > 5 \mu\text{m}$ ) s'arrêtent dans la région nasopharyngée, les particules de 1 à 5  $\mu\text{m}$  dans la région trachéobronchiale, alors que les particules fines, inférieures à 1  $\mu\text{m}$ , peuvent atteindre les régions bronchiolaire et alvéolaire et y persister (Revue générale : [6]). Ceci est conforté par des études récentes [7,8] fondées sur l'analyse au microscope électronique de biopsies provenant de poumons humains, à Mexico (forte pollution particulaire,  $\text{PM}_{10}$  : 66  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) et Vancouver (faible pollution particulaire,  $\text{PM}_{10}$  : 14  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ). Ces études montrent que les premières contiennent environ 10 fois plus de particules que les secondes, et qu'il s'agit à 96 % de particules carbonées fines sans doute associées aux processus de combustion, dont le trafic automobile. Cette étude prouve, pour la première fois chez l'homme, que l'exposition à des particules fines conduit à une rétention pulmonaire qui dépend de la concentration ambiante et que cette persistance peut conduire à un remodelage bronchique.

Cependant, les particules ultrafines se comportent de façon particulière dans la mesure où leur dépôt se fait à la fois essentiellement dans les régions nasopharyngée et alvéolaire. De plus, dans le poumon profond, leur élimination par le processus de clairance alvéolaire est perturbée. En effet, il semble qu'elles soient plus difficilement phagocytées que les particules fines par les macrophages alvéolaires, ce qui conduit à une persistance accrue et une interaction avec les cellules épithéliales [5].

Par ailleurs, la déposition particulaire dans les poumons est sensiblement plus marquée chez des malades atteints de pathologies obstructives telles que l'asthme et la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO), elle est hétérogène selon les zones du poumon et la variabilité interindividuelle est très forte [9].

### **Les particules fines et ultrafines peuvent franchir les barrières biologiques**

La question de la translocation de particules ultrafines à travers les barrières biologiques chez l'homme a été posée par des études réalisées avec des nanoparticules de carbone de 20 nm marquées au Technicium 99. L'une d'entre elles montre une translocation rapide vers le sang et une accumulation significative dans le foie [10], alors qu'une autre conteste ces résultats [11]. Cependant, si l'on considère aussi les études réalisées chez l'animal [12], il paraît hautement probable que les particules ultrafines puissent passer la barrière épithéliale vers l'interstitium pulmonaire. Elles seraient aussi capables de franchir la paroi des vaisseaux et de se retrouver dans le flux sanguin, distribuées ensuite au niveau de l'organisme. Leur accumulation dans des organes cibles a été étudiée à l'aide de nanoparticules modèles (ex : billes de polystyrène marquées). Le foie est le site majeur d'accumulation, mais une accumulation mineure dans le cœur et dans le rein a également été retrouvée [13]. Par ailleurs, le passage des barrières hémato-encéphalique et placentaire est suspecté mais encore insuffisamment démontré.

Une autre voie d'entrée potentielle est la voie olfactive. Il est connu depuis de nombreuses années que certains virus peuvent emprunter le nerf olfactif, et des expériences anciennes chez le singe ont montré que des nanoparticules d'or colloïdal instillées dans les fosses nasales pouvaient être transportées vers le bulbe olfactif [14]. La question d'un tel transfert se pose donc pour les particules atmosphériques ultrafines. Des observations troublantes d'inflammation chronique du cerveau et de processus accélérés de maladies neurodégénératives chez des chiens, à Mexico, ont été associés à la forte pollution particulaire de la ville [15].

## Le stress oxydant et la réponse inflammatoire qui en résulte sont des processus centraux dans les pathologies associées aux particules fines et ultrafines

La production d'ERO (espèces réactives de l'oxygène) est, en général, considérée comme un facteur clé des réponses adaptatives ou des événements toxiques induits par les PM fines et ultrafines. De nombreuses études *in vitro* ont clairement mis en évidence que des particules ultrafines d'oxyde de titane ou de carbone produisaient davantage de radicaux libres que les mêmes particules plus grosses et provoquaient un stress oxydant plus important. Ces réactions seraient associées à une plus grande réactivité de surface en interaction avec les fluides biologiques et les cellules [16]. Il a également été montré que les composés organiques portés par les particules issues du trafic ou de processus de combustion, en particulier les HAP et les quinones, ainsi que les métaux de transition tels que le fer, le vanadium, étaient responsables de la génération d'ERO. Cette production, extra et intracellulaire après phagocytose, serait à l'origine de l'activation de voies de signalisation dans la cellule et de facteurs de transcription nucléaires qui régulent l'expression de gènes impliqués dans une variété de processus biologiques comme la croissance, l'apoptose, l'inflammation et les réponses au stress. Elle pourrait être également à l'origine de mécanismes génotoxiques. Les niveaux relatifs de pro-oxydants produits et d'antioxydants présents dans les tissus détermineraient le type de réponse, adaptative pour une production faible d'ERO, induisant la mort cellulaire par apoptose ou nécrose pour une production plus forte [17,18]. Les particules peuvent également agir sur les cellules et tissus cibles par leur interaction avec des récepteurs de la membrane plasmique, en particulier avec l'EGF (Epidermal Growth Factor).

La réponse inflammatoire qui résulte de ces interactions et du stress oxydant est une des manifestations les plus claires et particulièrement bien documentées. Par exemple, l'exposition de volontaires sains à des PDI par instillation nasale induit une augmentation du nombre de cellules inflammatoires, des cytokines, des chimiokines (signaux responsables du chimiotactisme) et des immunoglobulines E (IgE) spécifiques de la réponse allergique [19]. Le résultat d'un processus inflammatoire est également observé dans des lavages broncho-alvéolaires (LBA) réalisés sur des volontaires sains après exposition à des échappements Diesel dilués [20]. L'infiltrat inflammatoire contient des neutrophiles (PNN), cellules jouant un grand rôle dans les bronchites chroniques mais également dans l'asthme et les rhinites allergiques. Les réponses obtenues dans les expositions

humaines sont également observées dans les études chez l'animal et ont été bien analysées *in vitro*, sur cultures cellulaires (pour des revues voir [1,2,5]).

## Les dernières publications d'épidémiologie confortent les données toxicologiques

La réglementation appliquée actuellement pour le suivi de la pollution particulaire ne considère que les PM<sub>10</sub> dont on mesure la masse par m<sup>3</sup> d'air. Elle a conduit les constructeurs automobiles à privilégier, dans un premier temps, les technologies diminuant les masses produites, pour se conformer à la réglementation, sans trop se préoccuper de l'émission d'un grand nombre de particules ultrafines. Or, il faut avoir en tête que si elles sont négligeables en masse, les particules ultrafines représentent en nombre 80 % de l'aérosol urbain. Il est donc important de faire évoluer la dosimétrie et la réglementation vers la mesure du nombre de particules et de prendre en compte leur granulométrie. Le filtre à particules, qui équipe encore très peu de véhicules, devrait également être encouragé.

Deux études épidémiologiques présentées dans ce numéro posent justement la question de la pertinence de l'utilisation de la masse plutôt que du nombre dans l'évaluation des liens existant entre taille des PM et mortalité ou morbidité cardio-respiratoire (Stolzel *et al* 2006 et Penttinen *et al* 2001). Elles recommandent toutes les deux une mesure du nombre de particules qui est la seule permettant de mettre en évidence des relations entre les effets sanitaires et les particules ultrafines. La question des effets adverses des particules ultrafines se pose même si les niveaux de pollution sont peu élevés, en particulier pour les crises cardiaques fatales étudiées à Helsinki (Kettunen *et al* 2007).

Il devient donc de plus en plus évident, à travers les données épidémiologiques et toxicologiques, que les particules fines et ultrafines posent des problèmes sanitaires particuliers et que la réglementation doit évoluer. Par ailleurs, il reste encore beaucoup d'inconnues sur le comportement de ces particules dans l'organisme. Par quels mécanismes franchissent-elles les barrières biologiques ? À côté de la taille, quels sont les autres facteurs jouant un rôle important dans la toxicité ? Quelles sont leurs durées de vie dans l'organisme et comment sont-elles éliminées ?

Les effets sanitaires présentés dans ce numéro sont des effets à court terme, il sera également très important d'évaluer dans le futur les effets potentiels à long terme, cancers, pathologies respiratoires chroniques, mais également maladies neurodégénératives, en particulier la maladie d'Alzheimer.

**Références bibliographiques**

- [1] Marano F, Aubier M, Brochart P, De Blay F, Marthan R, Nemery B, Nemmar A, Wallaert B. Impacts des particules atmosphériques sur la santé : Aspects toxicologiques. *Environnement. Risques et Santé*. 3, 87-96, 2004.
- [2] Donaldson K and Borm P ed. *Particle Toxicology*, CRC Press. 434 p, 2007.
- [3] Baulig A, Poirault JJ, Ausset P, Schins R, Shi T, Baralle D, Dorlhene P, Meyer M, Lefevre R, Baeza-Squiban A, Marano F. Physicochemical characteristics and biological activities of seasonal atmospheric particulate matter sampling in two locations of Paris. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5985-5992, 2004.
- [4] Putaud JP, Raes F, Van Dingenen R, Brüggemann E, Facchini MC, Decerassi S, Fuzzi S, Gehrig R et al, A European aerosol phenomenology 2: chemical characteristics of particulate matter at kerbside, urban, rural and background sites in Europe. *Atmos. Environ.* 38, 2579-2595, 2004.
- [5] Oberdorster G, Oberdorster E, Oberdorster J, *Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles*, *Environ Health Perspect.* 113, 823-839, 2005.
- [6] Holgate ST, Samet JM, Koren JM and Maynard RL. *Academic Press In Air pollution and health*. 1999.
- [7] Brauer M, Avila-Casado C, Fortoul TI, Vedal S, Stevens B and Churg A. Air pollution and retained particles in the lung. *Environ Health Perspect.* 109, 1039-1043, 2001.
- [8] Churg A, Brauer M, del Carmen Avilla-Casado M, Fortoul TI, Wright JL. Chronic exposure to high levels of particulate air pollution and small airway remodelling. *Environ Health Perspect.* 111, 714-718, 2003.
- [9] Kim CS and Kang TC. Comparative measurement of lung deposition of inhaled fine particles in normal subjects and patients with obstructive airway disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 155, 899-905, 1997.
- [10] Nemmar A, Hoet PH, Vanquickenborne B, Dinsdale D, Thomeer M, Hoylaerts MF, Vanbilloen H, Mortelmans L and Nemery B. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans. *Circulation.* 105, 411-414, 2002.
- [11] Brown JS, Zeman KL, Benneth WD. Ultrafine particle deposition and clearance in the healthy and obstructed lung. *Am J Resp Crit Care Med.* 166, 1240-1247, 2002.
- [12] Elder A, Oberdorster G. Translocation and effect of ultrafine particles outside the lung. *Clin Occup Environ Med.* 5, 785-796, 2006.
- [13] Akerman MA, Chan WCW, Laakkonen P, Bhatia SN, Ruoslahti E. Nanocrystal targeting in vivo. *PNAS* 99. 12 617-12 621, 2002.
- [14] de Lorenzo A. The olfactory neuron and the blood-brain barrier. In: *Taste and smell in vertebrates*. Wolstenholme G, Knight J, eds: J and A. Churchill. 151-176, 1970.
- [15] Calderon-Garciduenas L, Azzarelli B, Acune H, Garcia R, Gambling TM *et al* Air pollution and brain damage, *Toxicol Path.* 30, 373-389, 2003.
- [16] Donaldson K, Beswick PH, Gilmour PS, Free radical activity associated with the surface of particles: a unifying factor in determining activity? *Toxicol Lett.* 88, 293-298, 1996.
- [17] Li N, Sioutas C, Cho A, Schmitz D, Misra C, Sempf J, Wang M, Oberlay T, Froines J, Nel A, Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. *Environ Health Perspect.* 111, 455-460, 2003.
- [18] Baeza A, Marano F. Pollution atmosphérique et maladies respiratoires : un rôle central pour le stress oxydant. *Médecine Sciences.* 23, 497-507, 2007.
- [19] Diaz-Sanchez D, Tsiens A, Fleming J and Saxon A. 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, 2406-2413, 1997.
- [20] Salvi S, Blomberg A, Rudell B, Kelly F, Sandstrom T, Holgate ST and Frew A. 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, 702-709, 1999.

