« Des particules ultra-fines aux nanoparticules »
Des nanoparticules aux particules

Dr M-C Kopferschmitt – Kubler

Strasbourg 19/6/2010

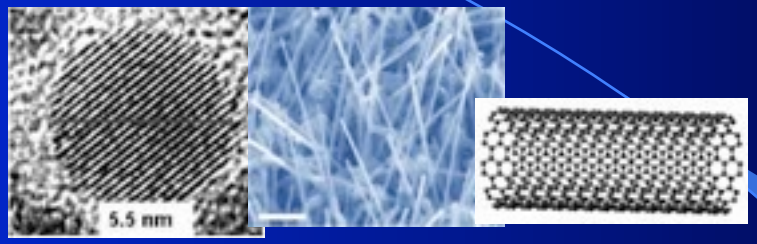
« Nanomonde »

1 nanomètre (nm) =1 milliardième de mètre (10^{-9}m)

- **Nanotechnologie**: fabrication, emploi des nanomatériaux
- **Nanomatériaux:** structures élémentaires dont au moins une des dimensions varie **entre 1 et 100 nm.**
- Propriétés nouvelles+++; facilitation de passage à travers les interfaces biologiques.
- **Nanosciences**: applications physiques, chimiques, électronique, biologiques et médicales (diagnostic, imagerie, traitement ciblé…
- **Nanotoxicologie** : activité récente, **peu de données**
- L'Afsset recommande l'application du principe de précaution.7/2008)

Nanoparticules

Diversité de forme et Composition
(Propriétés propres)



Nanocrystal Nanowire Nanotube

2 000 nanoparticules manufacturées, présence dans > **600** produits de consommation. (Afsset rapport 2008)

Nombreuses utilisations

(F Marano 2008)

Nanomatériaux

Personnes professionnellement exposées aux nanoparticules et nanomatériaux

Afsset Rapport 2008

-**7 000** employés des laboratoires et

> **3 200** travailleurs de l'industrie

-**voie respiratoire**, voie digestive ou cutanée

-mesures de protection à géométrie variable, faute de méthodes et d'outils de mesure adaptés, et faute de consignes de protection adaptées et harmonisées.

Nécessité d'étude +++ (exposition, effets…)

Exposition de la population générale aux nanomatériaux

Afsset Rapport 17/3/2010

-étudier des scénarios d'exposition

-évaluer risque de 4 produits finis:

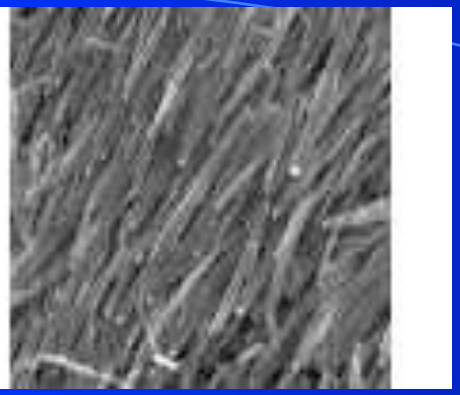
***chaussettes antibactériennes NP argent;**

***ciment NP dioxyde de titane;**

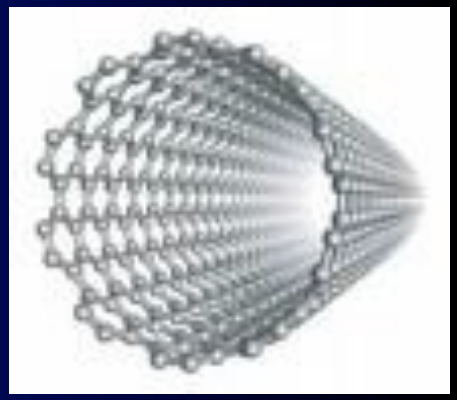
***lait solaire NP dioxyde de titane;**

***ingrédient alimentaire NP de silice**

-Pour le produit ciment avec NP de dioxyde de titane (TiO_2) voie d'exposition respiratoire. Pour l'homme les risques ne peuvent pas être évalués, ils ne peuvent donc pas être exclus.



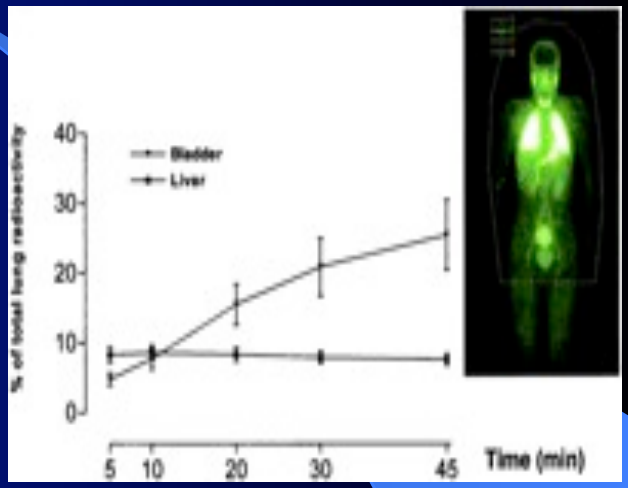
Nanotubes de carbone



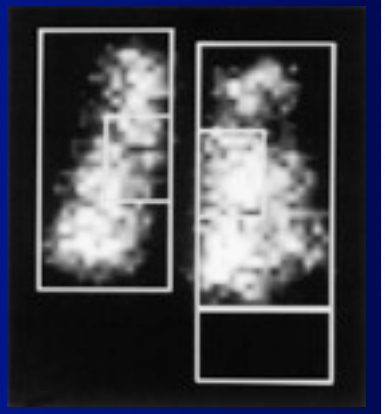
- Intérêt industriel+++ (propriétés) résistance 100 fois supérieure à l'acier, pour un poids divisé par six.
- Effet fibre; accumulation au niveau du poumon et d'autres organes
- Injection de nanotubes de carbone chez la souris: lésions similaires à celle de l'amiante *(Poland ,Nature nanotechn,2008)*
- Priorité de « monographie » 2010/14 CIRC
- Risque fibrose? Mésothéliome?

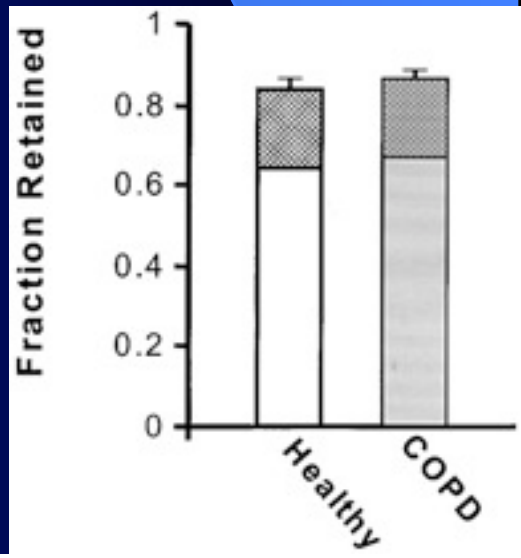
Études chez l'homme 2002

- ***Nemmar 2002*** : inhalation 99mTc- particules ultrafines de carbone (<100 nm) passage rapide dans la circulation (5 sujets)



- ***Brown 2002*** :au bout de 24-h rétention pulmonaire de 85 ± 8% (19 sujets)





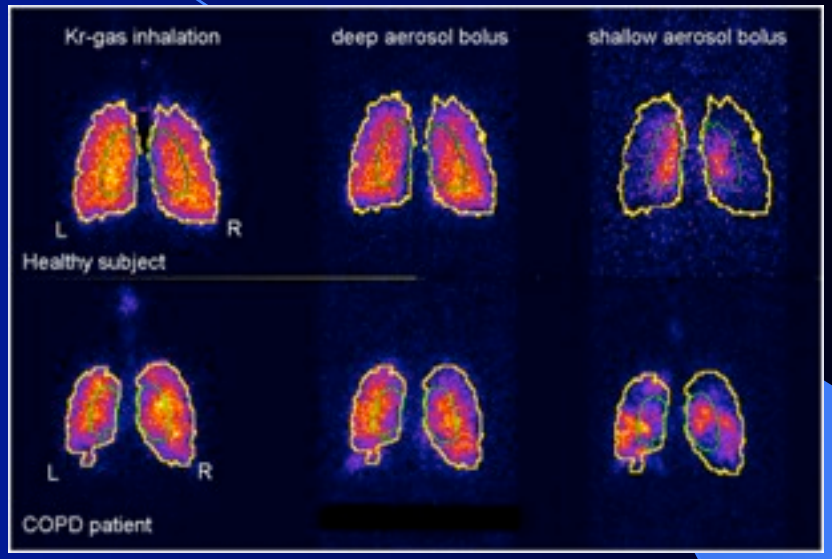
Déposition Rétention des PUF

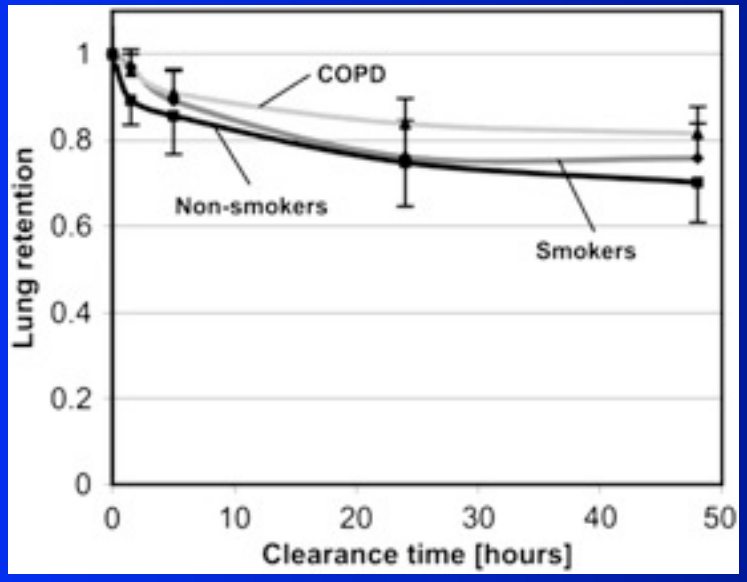
W Möller et coll

AJ RCCM Vol 2008

NP de carbone marquée

Rétention respiratoire



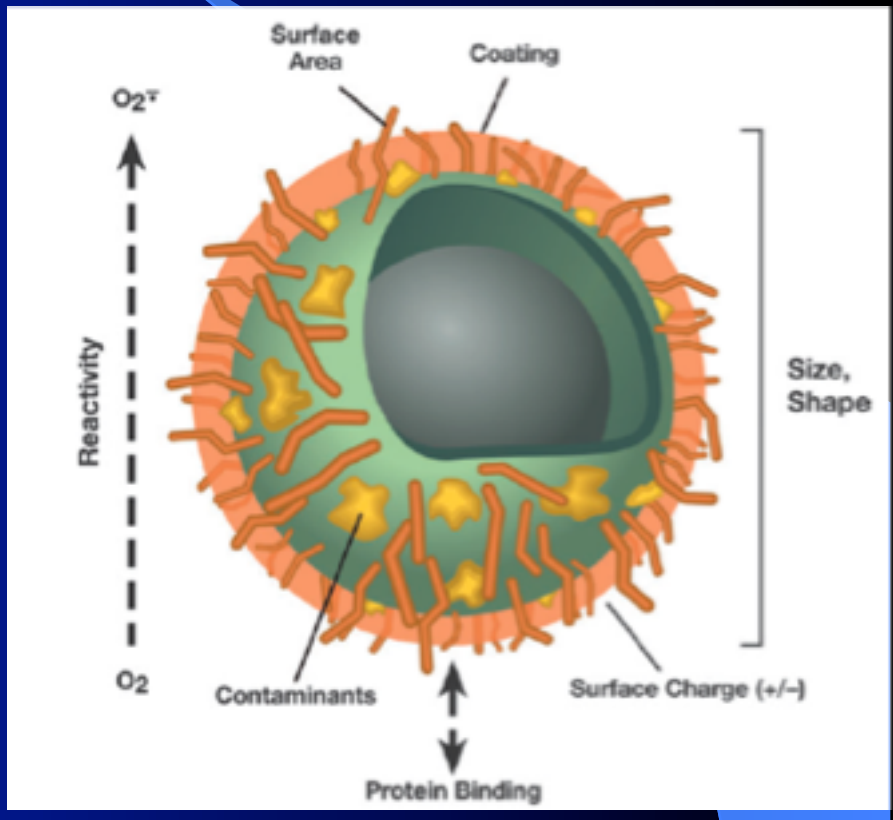


Accumulation des NP au niveau respiratoire?

Mécanismes responsables de la toxicité des NP

- Stress oxydatif
- Génération de composés réactifs ROS (reactive oxygène species)
- Réponse inflammatoire
- Altération oxydatif du DNA
- Propriété cytotoxique
- Mutagène
- Taille et surface détermine le potentiel inflammatoire , le stress oxydatif

(*Stone 2007, Valavanidis 2008)*



Stern and McNeil, Tox Sci, 2008

Contaminants de la surface: propre propriété

Nanotoxicologie: Risques pour l'homme

Quelques études expérimentales

- haut potentiel de déposition
- Rétention pulmonaire
- Induction d'un stress oxydatif et
- Induction d'une réaction inflammatoire à des niveaux supérieurs aux particules fines

Aucune étude épidémiologique: à débuter… population exposée professionnellement *(Schulte 2009)*

Conscience collective du problème et de la nécessité d'études et de surveillance.

Réelle inquiétude

Particules Ultrafines et Pollution Atmosphérique

Taille: Nano particules entre 1 et 100 nm

Pollution atmosphérique

Particules mesurées dans l'air

- PM 10: particules <10 µm (<10 000nm)
- PM 2.5: particules fines : < 2.5 µm (< 2 500 nm)
- **Particules ultrafines : <0.1 µm (< 100 nm)**

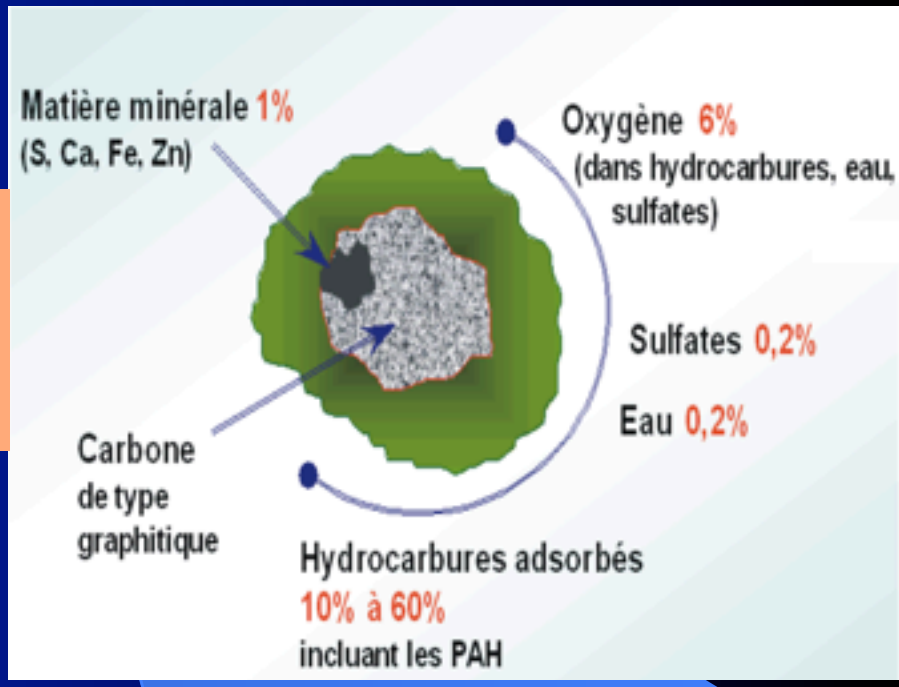
"equivalents des nanoparticules"

Particules de Diesel : 0.01 à 1 µm (10 à 1000 nm)

Particules de diesel PDD

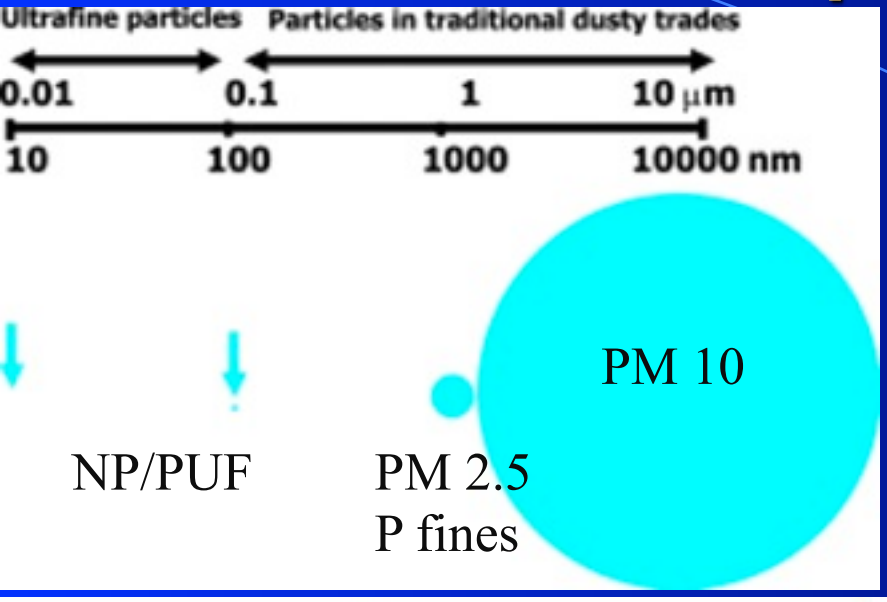
Taille : 0.01 à 1 µm (10 à 1000 nm)

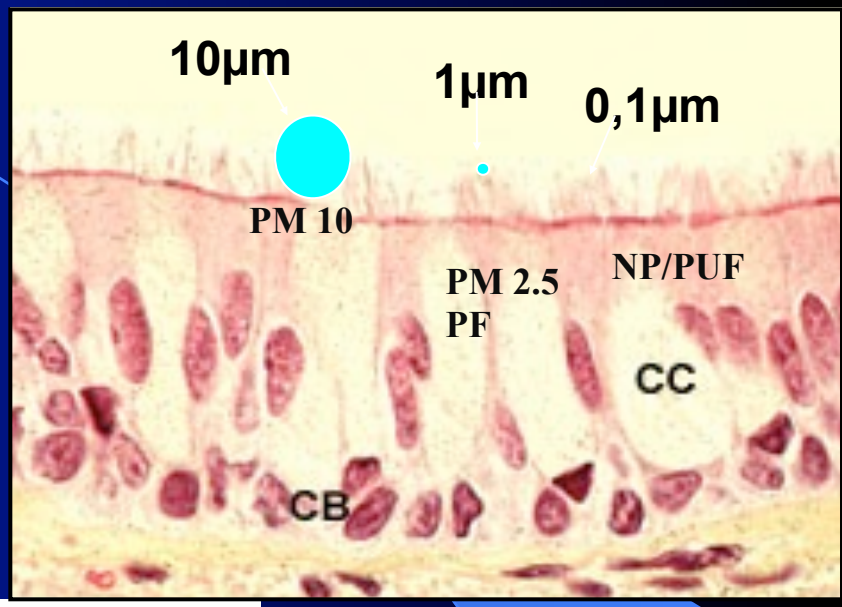
PDD
Noyau Carbone
HAP Hydrocarbures aromatiques Polycycliques

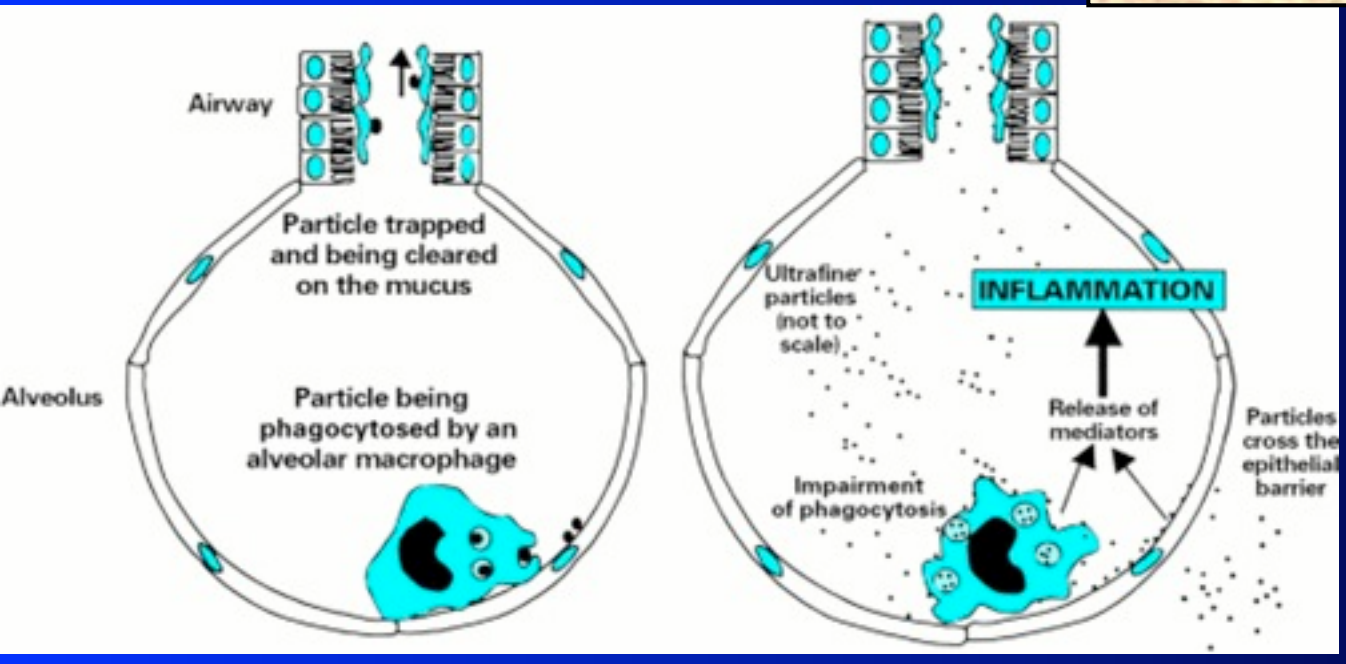


Les PDD ne sont pas mesurées directement dans l'air (aucun marqueur spécifique) / mesures indirectes par les PM 2.5

Inhalation de particules et de NP







Donaldson, K et al. Occup Environ Med 2001

Effets sur la santé

Nanoparticules
Nanotoxicologie
Peu d'études
Études in vitro/ animal

Dans l'air:
Particules PM 10,
Particules Fines PM2.5
PUF de l'air
Nbs études

connaissances

Effets sur la santé des particules Pollution de l'Air

- Mortalité respiratoire
- Mortalité cardio-vasculaire

- Maladies respiratoires (Asthme, BPCO)
- Maladie cardiovasculaire (Infarctus, Arythmie)

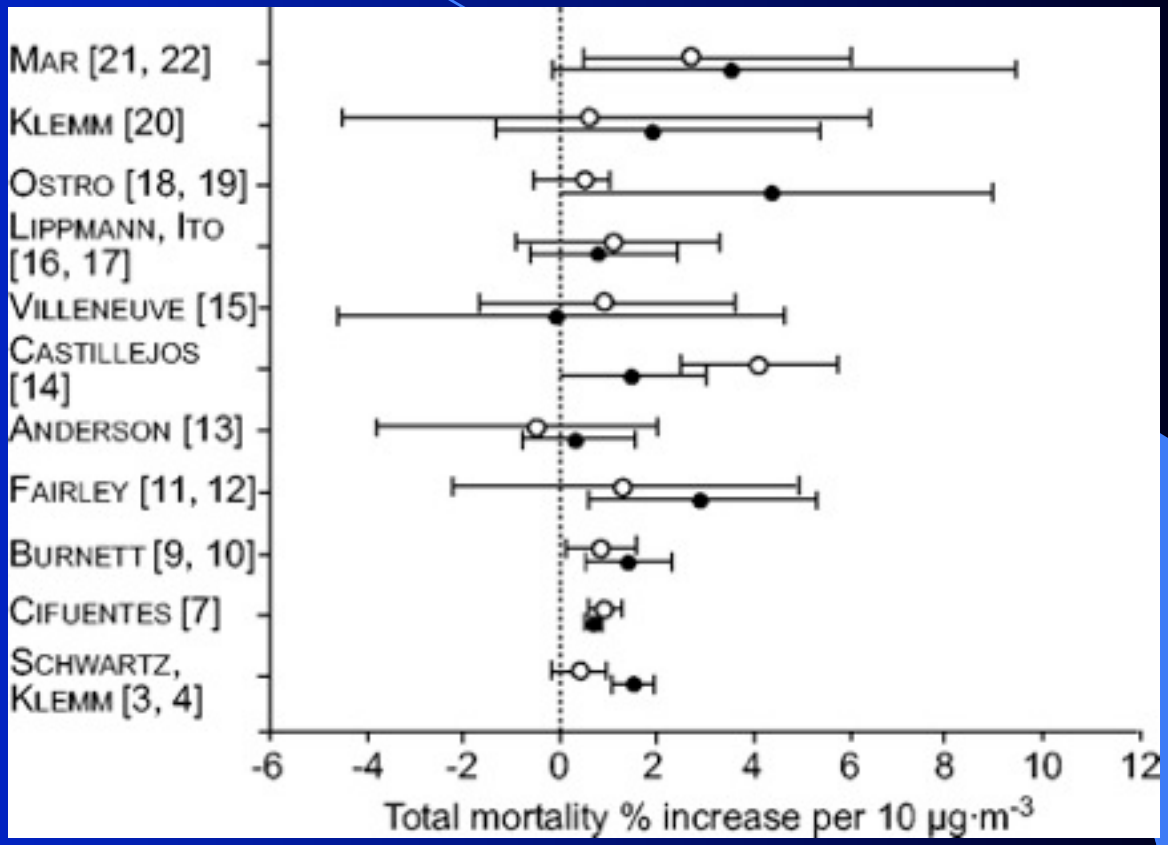
- Cancer (Diesel 2A)

- Allergie (PPDiese l)

- Maladies neuro-dégénératives ??

Mortalité et Particules

- Augmentation de la mortalité
- Par augmentation de 10 ug/m^3 de particules
- PM 10
- PM 2.5



Effet des fines (•) et grosses (o) particules

P <2.5 P<10 >2.5

Brunekreef ERJ 2005

Effet à long terme des PM10 Mortalité chez BPCO

- 34 villes USA: 1,039,287 hospitalisation pour BPCO

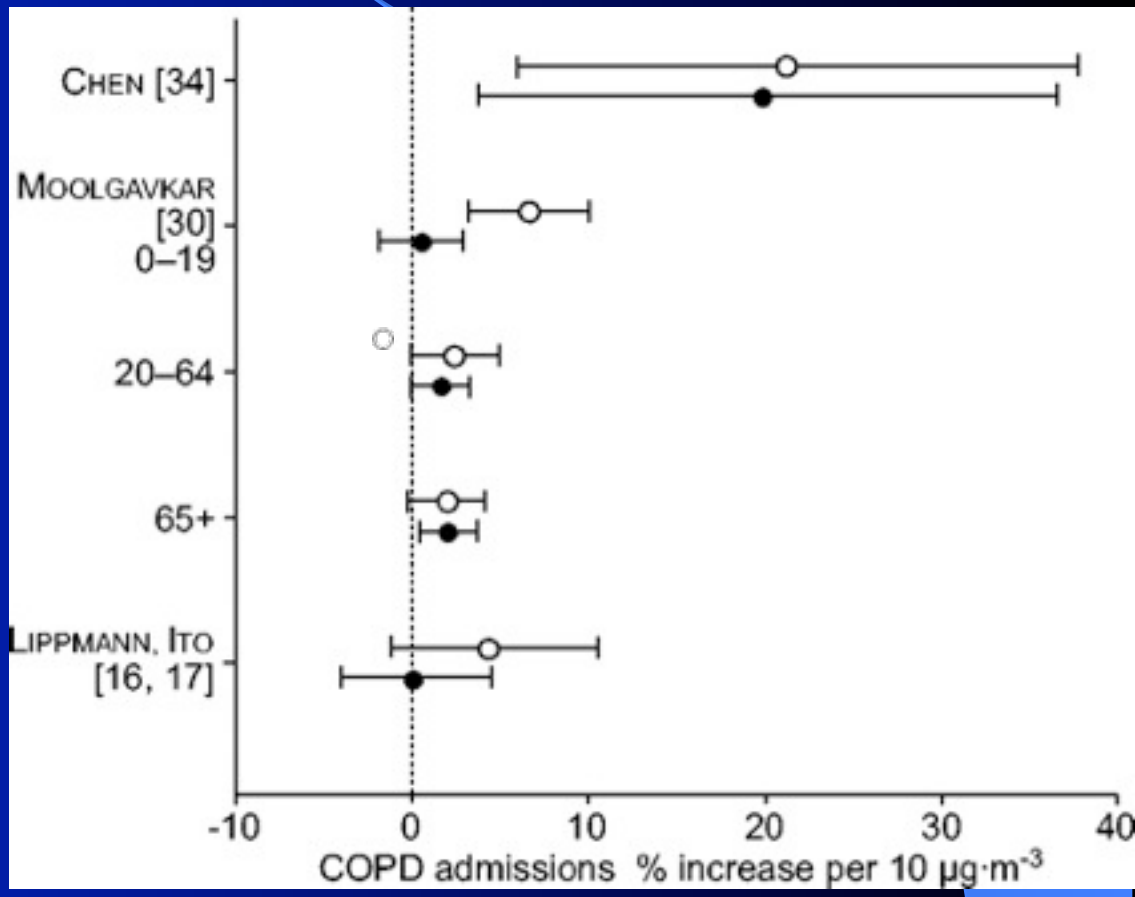
- Augmentation de 10 $\mu g/m^3$ des PM10
- Effet significatif sur la mortalité: 1.22 (1.17–1.27)

- Augmentation de 10 $\mu g/m^3$ des $PM_{2.5}$
- Effet significatif sur la mortalité: 1.68 (1.04–2.33)

Zanobetti EHP 2009

Admission pour BPCO et Particules

- Canada: 4400,% augmentation par 10 µg/m$^{3:}$ 19.8 (4.0–36.5) *(Chen 2004)*
- USA: 11000, patients >65 ans *(Moolgavkar 2000)*
- USA, BPCO agés Grosses P *(Lippmann 2003)*



Effet des fines (•) et grosses (o) particules

P <2.5 P<10 >2.5

Brunekreef ERJ 2005

Étude APHEIS 3

Air Pollution and Health: a European Information System
12 états E , 26 villes rapport 6/9/2004 InVS

Europe:

11375 décès: 8053 Cardio-Resp et 1296 cancer du poumon pourraient être évité chaque année si exposition aux PM 2,5 réduite à 20 $\mu g/m^3$

Ville de STRASBOURG:

si réduction PM 2,5 à 15 $\mu g/m^3$

-54 décès par an seraient évitables.

si PM 10 inférieures à 20 $\mu g/m^3$

-11 décès et 33 hospitalisations auraient pu être évités en 2002.

Particule Diesel et Allergie

Taille des particules Diesel:

0.01 à 1 µm (10 à 1000 nm)

Rentre dans la catégorie des PUF et des PF

Mesuré indirectement par PM 2.5

Allergie et Pollution

1987

Ishizaki Ann Allergy: Étude de prévalence de la pollinose au Cèdre du japon

- sujets vivant le long de routes à grand traffic: 13,2 %
- sujets vivant dans zone à traffic réduit: 5,1 %

Comptes polliniques similaires pour les 2 zones

« L'apparition des symptômes est influencé par la pollution automobile » ***Ishizaki***

Études expérimentales animal

PDD et Allergènes

↗↗ IgE spécifiques

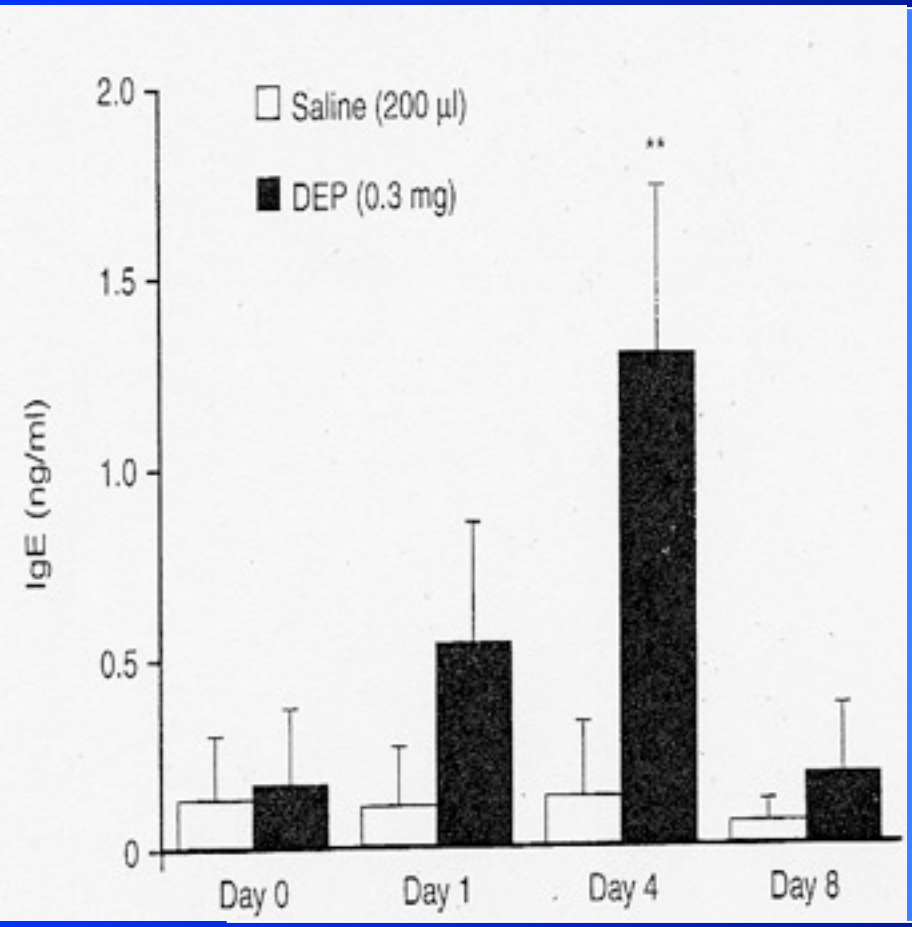
↗ cytokines Th2 (IL4…)

(Murakana JACI 1986, Takafugi JACI 1987, Suzuki J Clin Lab Immunol 1996, Fujimaki et coll., Toxicol.1997 , Takano AJRCCM 1997, Miyabara AJRCCM 1998, Steerenberg Inhal Toxicol 1999, Kobayashi AJRCCM 2000 (Fujimaki Toxicol 1994,1997, Suzuki J Clin Lab Immunol 1996 Takano AJRCCM 1997, Maejima 2001)

(Takano AJRCCM 1997,Toxical Appl Pharmacol 1998, Fujimaki Toxicol 1994, Miyabara JACI 1998, AJRCCM 1998, ERJ 1998, Yoshino Cell I 1999)

PDD → stimulent la production des IgE

Études expérimentales(sujets sains) PDD au niveau Nasal 1994-95



- instillation nasale de particules diesel 300 µg
- ↗ des IgE dans le liquide de lavage nasal.
- ↗ du nombre de cellules secrétant les IgE.

(Diaz-Sanchez J Clin Invest, 1994

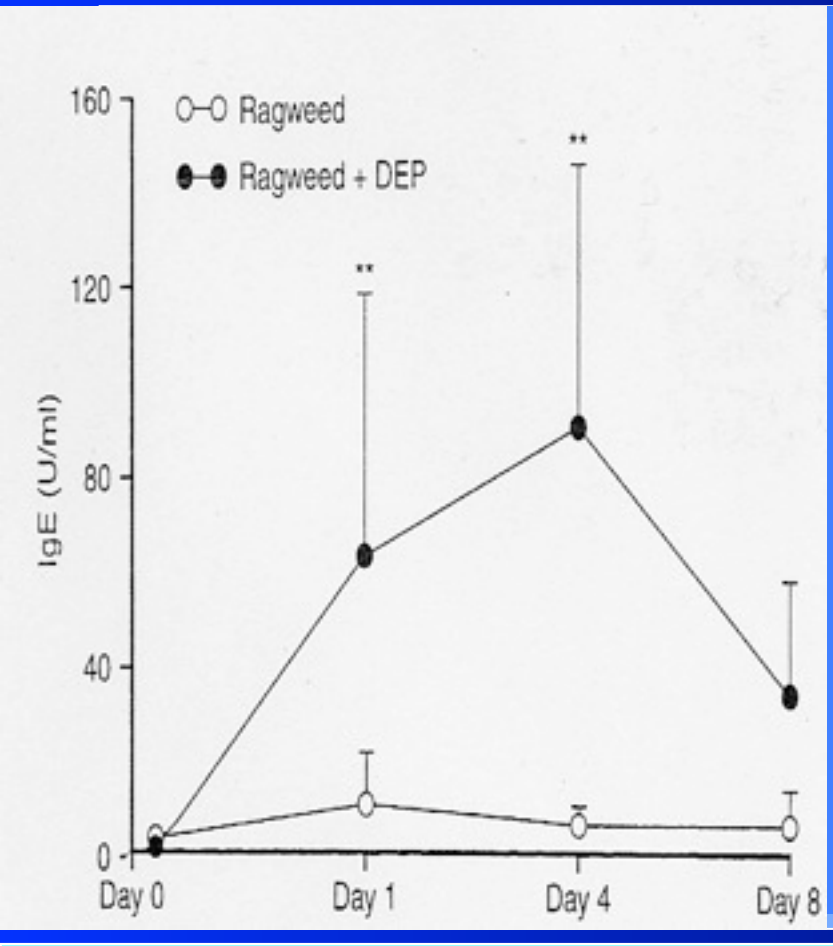
Takenaka JACI, 1995)

PDD → augmentent les IgE chez le sujet sain

Études expérimentales humaines (sujets allergiques)

PDD au niveau Nasal

1996-98



- **Patients sensibilisés (Ambroisie)**

  Instillation nasale de PDD (300 µg) suivie d 'un test de provocation nasal au pollen d'ambroisie

  - **↗ IgE anti-Ambroisie**
  - **↗ cytokines de type TH2**

  (Diaz-Sanchez JACI 1996, J Immunol, 1997)

  - 1ère démonstration in vivo du « switching » au niveau de l 'isotype IgE chez l 'homme.

  (Fujieda , Diaz-Sanchez A.J.Resp. Cel. Mol. Biol., 1998)

PDD ⟶ augmentent la réponse IgE / Th2 chez le sujet sensibilisé

Études expérimentales humaines (sujets allergiques)

PDD au niveau Nasal 1999

- Néo-antigène : glycoprotéine de l'hémocyanine d 'un mollusque marin « Megathura Crenulata » (Keyhole Limpet Hemocyanin KLH)
- 10 patients non fumeurs allergiques:
  - Immunisation par instillation nasale de KLH.
  - Lavage nasal : IgG spécifiques :10/10
    IgA : 8/1
    IgE spécifiques : 0/1

- 15 patients non fumeurs allergiques :
  - Immunisation identique à KLH précédée 24 h avant d 'instillation de PDD.
  - Lavage nasal : IgG spécifiques : 15/15
    IgA : 14/15
    IgE spécifiques : 9/15
  - ↗ des cytokines IL4 et ↘ INF-gamma

(*Wang, Diaz-Sanchez JACI 1999*)

PDD ➡ permettent une Sensibilisation à un nouvel allergène

Études expérimentales humaines
Exposition réaliste Trafic 2004

Exposition réaliste 30 mn au trafic routier dans un tunnel

(Kimata Int J Hyg Environ Health 2004,)

- 26 patients allergiques / 26 sujets sains
- Tests cutanés Acarien et Histamine
- ↗ tests cutanés allergène chez le sujet allergique

PDD → augmentent la réponse allergique chez le sujet sensibilisé

Autres particules 1997-2009

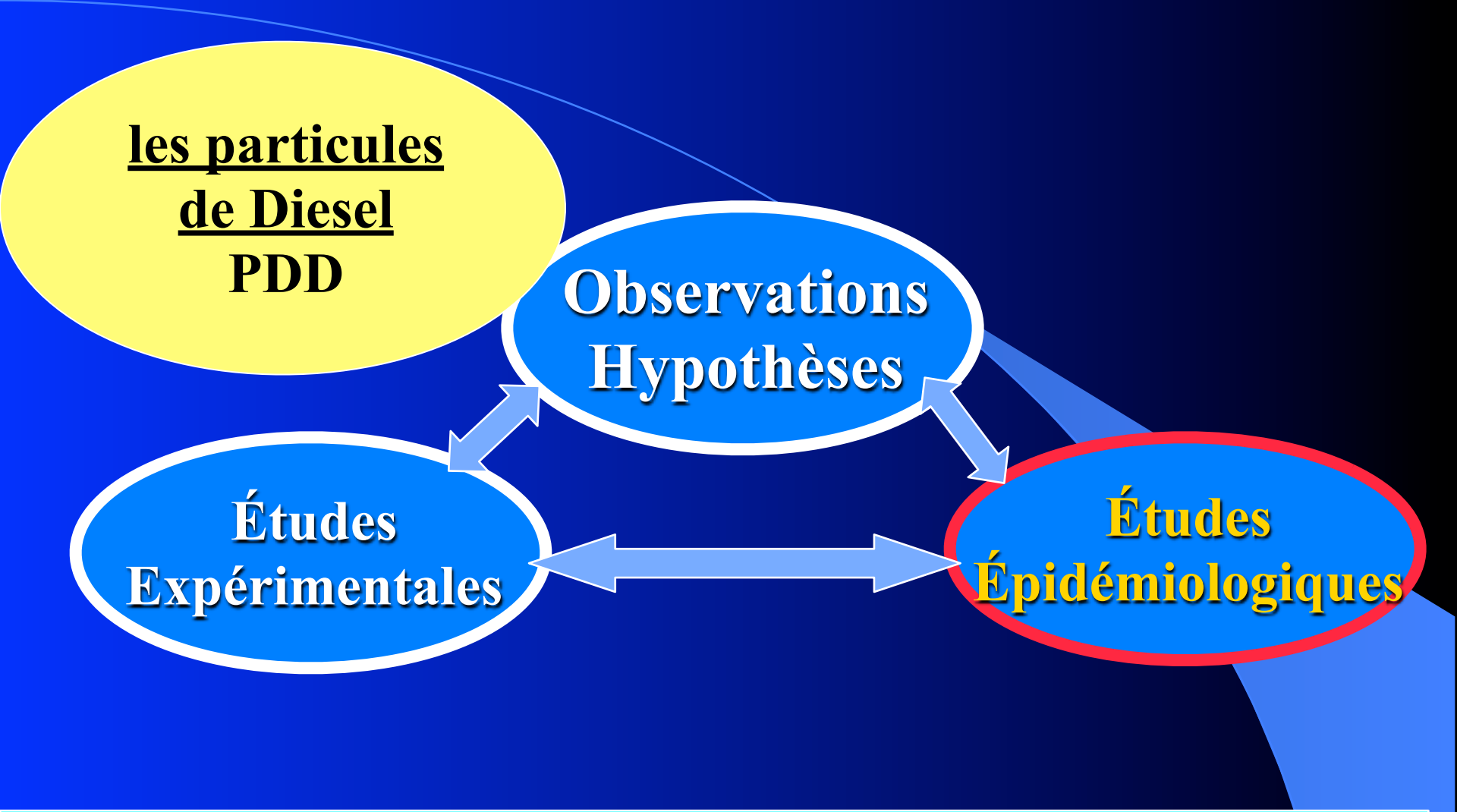
Noyau carbone:

- Stimule IgE spécifiques chez la souris à l'inhalation de pollen de cèdre *Maejima 1997*
- Taille : petites particules sont plus réactives. *(Murphy 1999)*

D 'autres particules possèdent un effet adjuvant IgE :

(Maejima 1997, Gavett 1999, Lambert 1999,2000; Granum 2001, Fernvik 2002; Steerenberg 2003 2004, Barrett 2003, Alberg 2009)

Poussière de combustion riche en métaux
Particules urbaines (Ottawa)
Poussières de tunnel routier.
PM hiver> printemps ou été
Particules de polystyrène
Particules fines inférieures à 2.5 um (Teflon, Dioxide de Titane)
Ultrafine particules de carbone (< 0.1 um) chien sensibilisé aux pollen de ragweed
Particules fines > grosses particules



PDD sont-elles responsables de l'augmentation des allergies?

Discordance des études épidémiologiques

Études épidémiologiques Prévalence de l'allergie et pollution (trafic routier)

positives

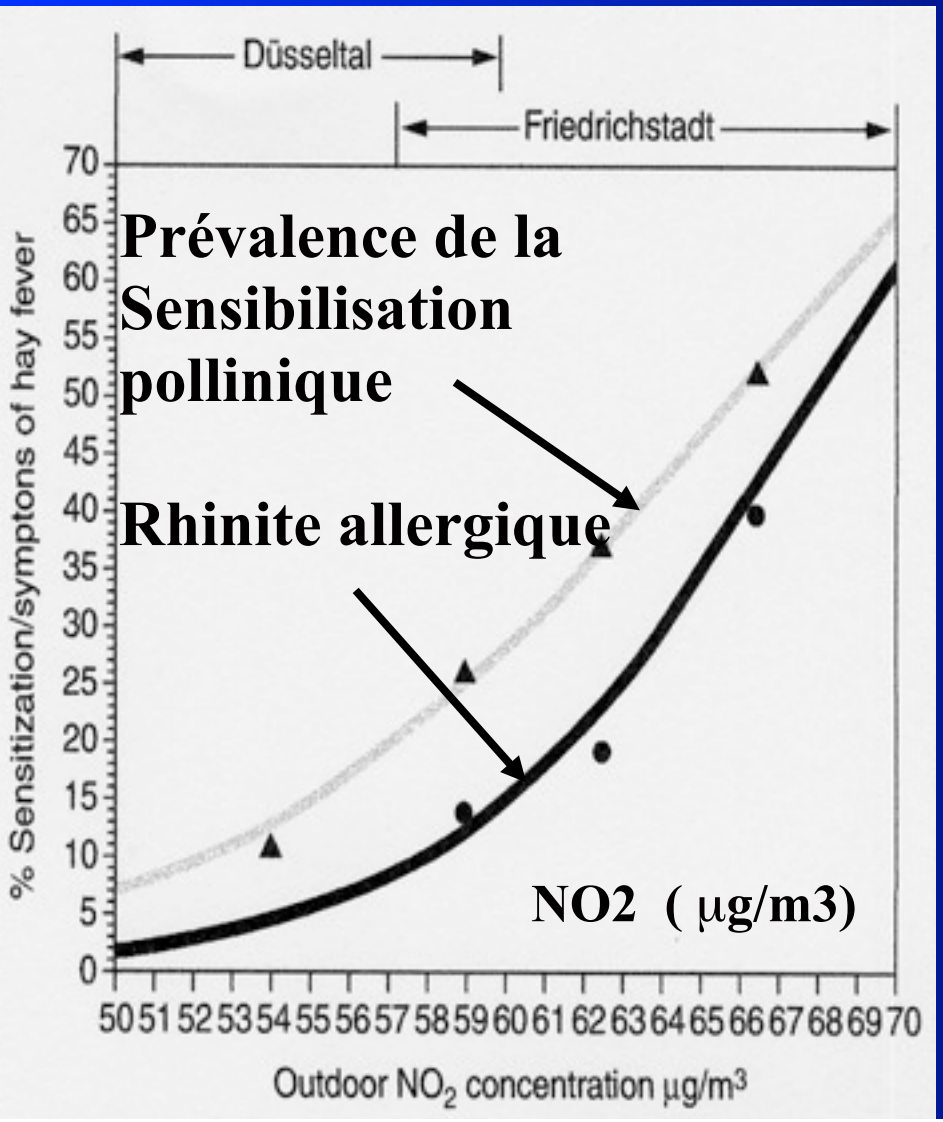
négatives

Divergences

-méthodes d'analyse variées
-caractérisation indirecte de l'exposition au trafic (questionnaire,distance route, Mesure du trafic, mesure NO2/ou PM <2.5)

-symptômes variés de l'allergie
- facteurs de confusion nombreux

Trafic automobile et allergie
Études Épidémiologiques positives



Krämer Epidemiology 2000

317 enfants Allemagne (2 villes, 1 péri urbaine)

Étude questionnaire

NO2 extérieur (marqueur trafic)

Association positive entre NO2 et la prévalence de sensibilisation pollinique (OR 4.9) et de la rhinite allergique (OR 3.9)

Étude ISAAC France(6 villes)

Penard 2005: 6672 enfants 9-11 ans

- Moyenne sur 3 ans des concentrations de PM 10
- OR rhinite allergique pour une augmentation de 10 ug/ m^3 des PM10: 1.32 (CI= 1.04-1.68)

  Exposition PM10: 20 à 30 µm/m^3 ; 63% des enfants

Annesi-Maesano 2007: 5338 enfants

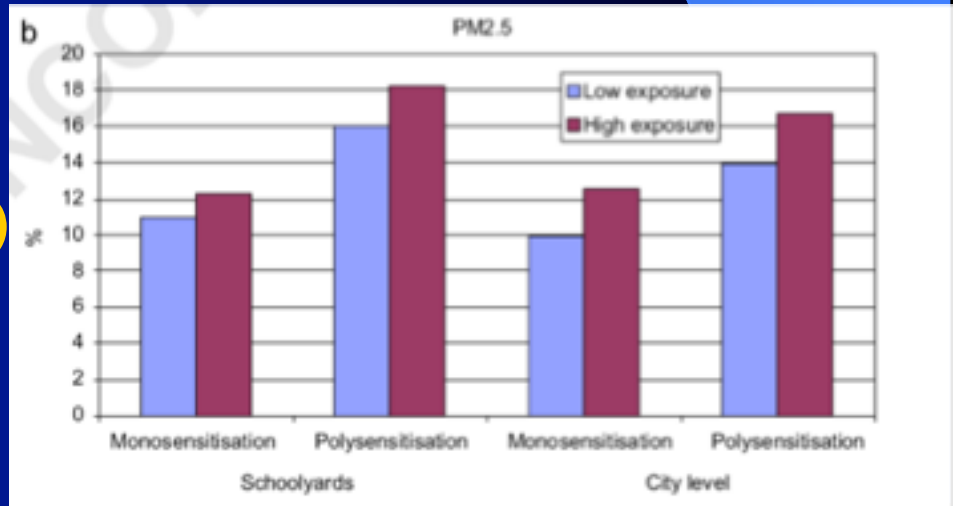
- Pm 2.5 proximité des maisons
- PM 2.5 > 10 µm/m^3 :

  Augmentation:

  asthme allergique (OR 1.58)

  et tests cutanés positifs

  aux allergènes (OR 1.32)



Revues de la littérature
Conclusions concernant les particules de diesel

Nikasinovic
Momas, 2004

Balmes, 2002

Polosa, 2002
D'Amato 2002

Takafuji 2000

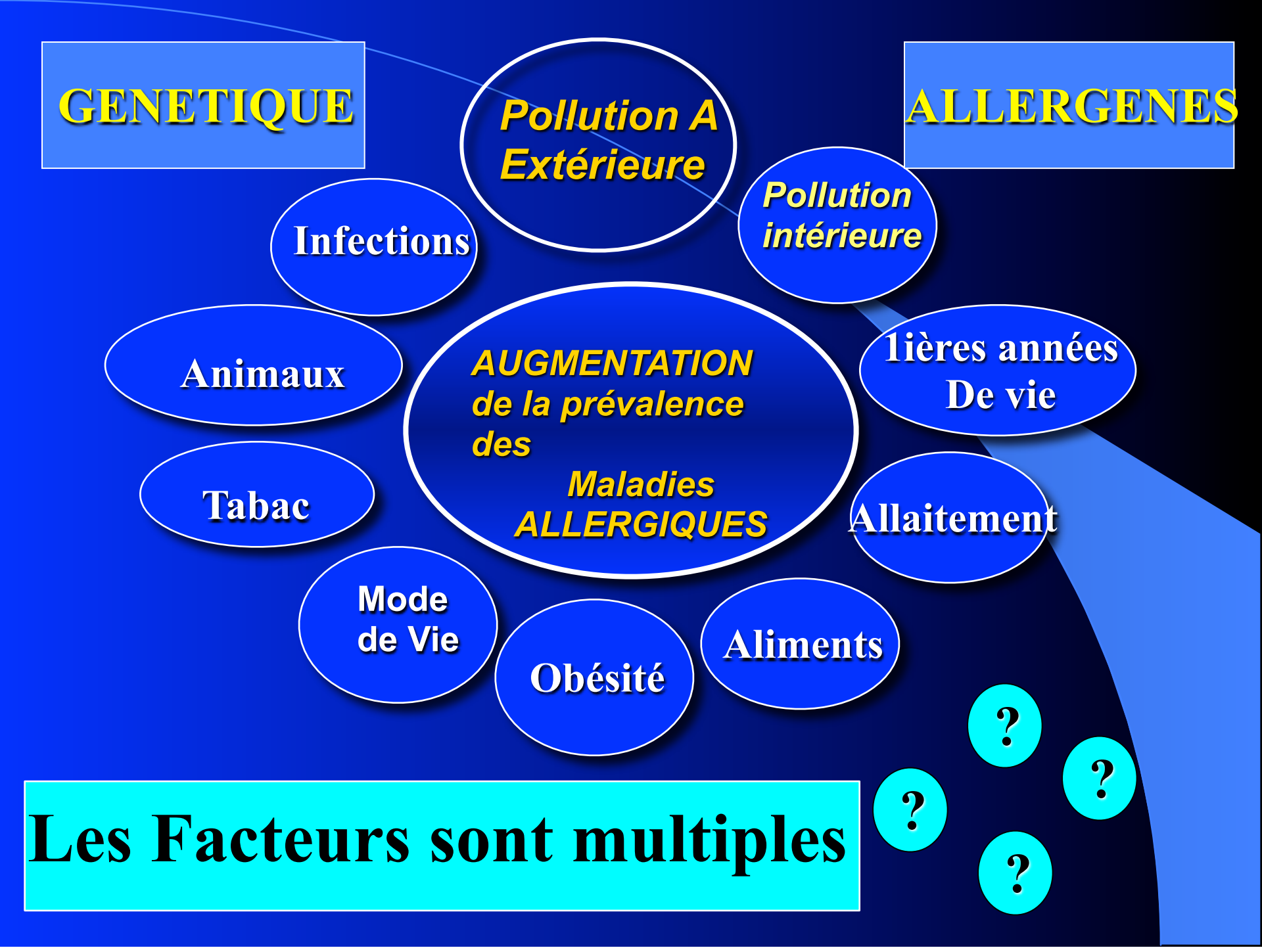
Sandström, 2001
Salvi, 2002

Dahlén, 2001

Granum, 2000

« Ces résultats supportent le concept que l'augmentation des taux de particules puisse être un facteur dans l 'augmentation de la prévalence des maladies allergiques » ***Polosa 2002***

« ..PDD comme un facteur important contribuant à la pandémie des maladies allergiques » ***Sandström 2001***


GENETIQUE
ALLERGENES
Pollution A Extérieure
Pollution intérieure
Infections
Animaux
Tabac
AUGMENTATION de la prévalence des Maladies ALLERGIQUES
1ières années De vie
Allaitement
Mode de Vie
Obésité
Aliments
?
?
?
?
Les Facteurs sont multiples

Cerveau et PUF

- Premières études 2002
- Les PUF peuvent-elle atteindre le cerveau?
- Études expérimentales chez l'animal
- Premières études cliniques chez l'homme

« Translocation and potential neurological effects of fine and ultrafine particles a critical update »

2006

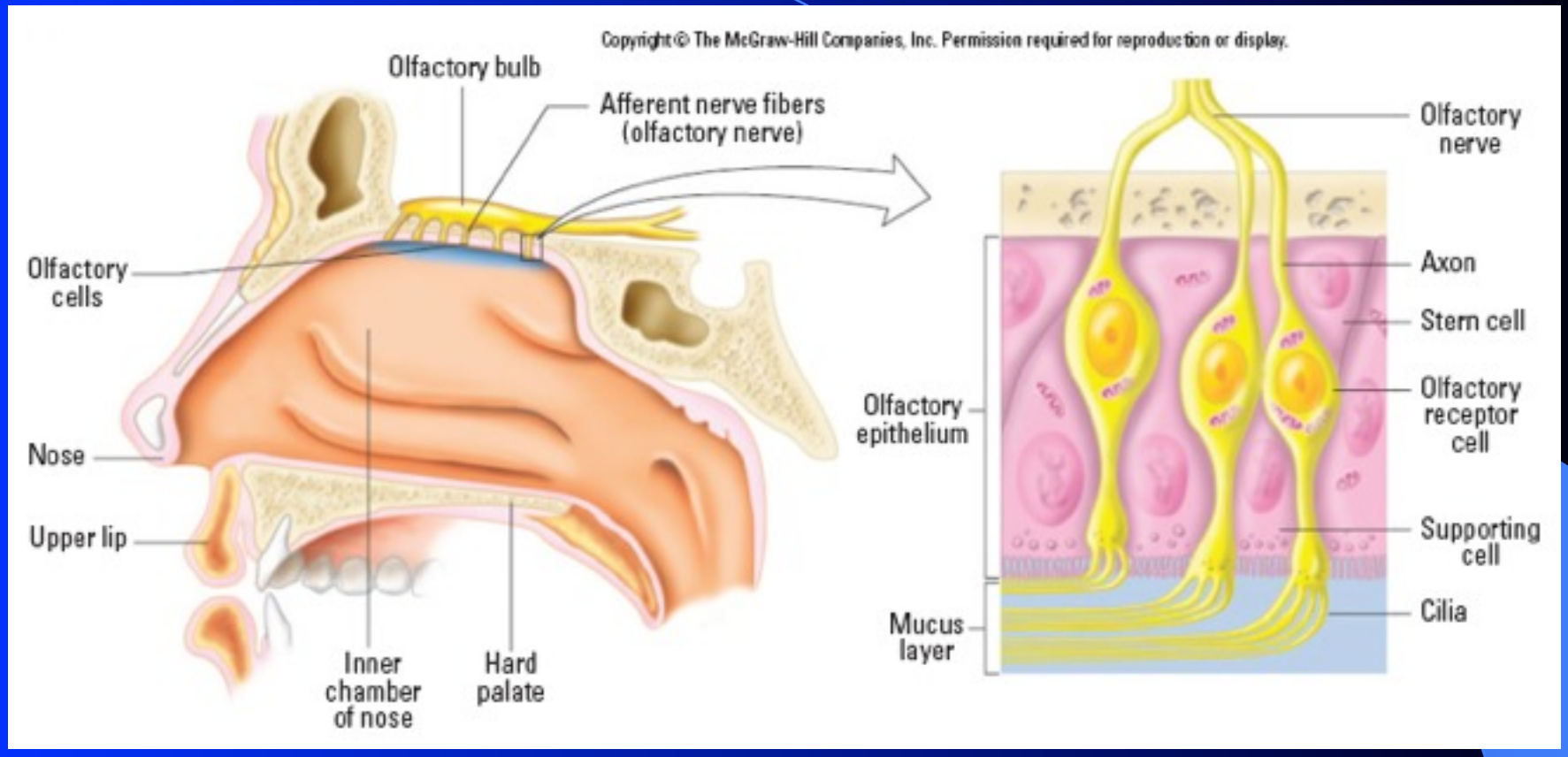
Peters Part Fibre Toxicol. 2006

- **Particules F et UF, déposition alvéolaire**
- **Pénètrent au niveau pulmonaire, atteignent les capillaires puis la circulation**
- **Elles vont ainsi atteindre d'autres organes: foie, rate,rein,coeur et cerveau? Protection par la BHE barrière hémato-encéphalique**

UFP Translocation au cerveau 2004…

- **Rat: inhalation particules de carbone(35 nm) accumulation dans le bulbe olfactif (Oberdörster 2004).**
- **Rat:Translocation de UFP de Manganese inhalées vers le cerveau via le nerf olfactif (Elder 2006) « We suggest that despite differences between human and rodent olfactory systems, this pathway is relevant in humans »**
- **Primates: démonstration ancienne du passage de particules (poliovirus) le long des axones du nerf olfactif jusqu'au bulbe olfactif (Bodian and Howe 1941a, 1941b; DeLorenzo 1970).**

Passage par voie nasale au cerveau



Par le nerf olfactif (différentes espèce d'animaux)

Oberdörster2004, Villa 2004, Freykert 2004, Ji 2007

Exposition PDD induit des modifications de l' EEG chez des sujets volontaires

2008

- *Crüts, Particle and Fibre Toxicology*

-- 10 sujets, exposés aux PDD 300 µg/m3/ 1 h

-- Activité cérébrale est monitorée (électroencephalogramme quantitatif (QEEG)

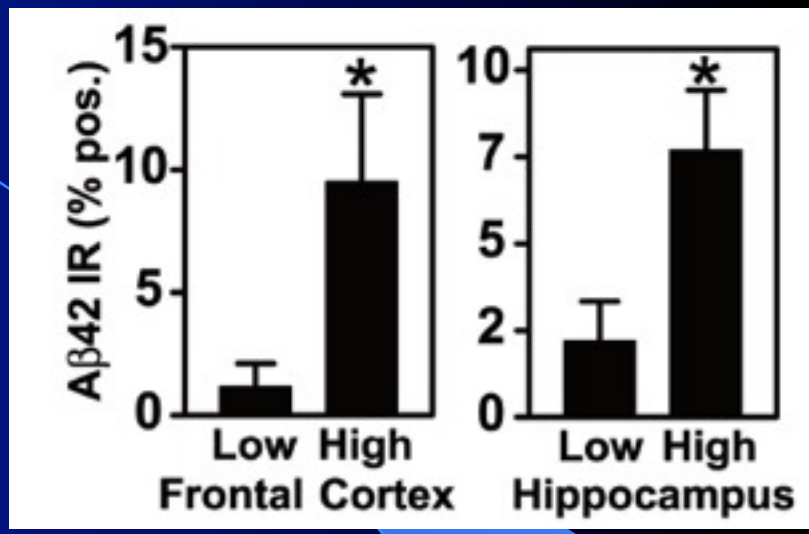
-- calcul de la fréquence (median power frequency (MPF))

--augmentation significative de MPF post PDD dans le lobe frontal durant 30 min

« This study is the first to show a functional effect of DE exposure in the human brain, indicating a general **cortical stress response**. Further studies are required… »

Cerveau et Pollution Études humaines

2004



Calderon-Garciduenas, 2004

Autopsie de tissus cérébral (personnes sans anomalie cognitive ou neurologique)

-comparaison villes forte/faible P

-augmentation significative de COX2 dans cortex frontal, hippocampe,bulbe olfactif

-accumulation de Abeta42

« These study **suggest** that exposure to severe air pollution is associated with **brain inflammation and Abeta42 accumulation, two causes of neuronal dysfunction that precede the appearance of neuritic plaques and neurofibrillary tangles, hallmarks of Alzheimer's disease** »

Cerveau et Pollution Études humaines

2008

Calderon-Garciduenas, 2008

Jeunes adultes sains qui décèdent brutalement

faible (12) /forte pollution (35)

Autopsie tissus cérébral

Chez sujets exposés forte pollution

-dysrégulation de cyclooxygenase-2, interleukin-1beta, et CD14 dans bulbe olfactif, cortex frontal,

-dégradation barrière HE

-activation endothéliale

-stress oxydatif

-cellules inflammatoires

-Particules visibles au niveau du bulbe olfactif

- PM < 100 nm au niveau des capillaires (poumon, cortex frontal, et ganglion trigéminé)

- accumulation de Amyloidbeta42

« Exposure to air pollution should be considered a risk factor for Alzheimer's and Parkinson's diseases… »

Règlementations FRANCAISE

-- Normes actuelles PM 10

Valeur limite moyenne annuelle:40ug/m3

Seuil d'information: 80 ug/m3

Seuil de risque : 125 ug/m3

Objectif EUROPE et FRANCE

-- Pm 2.5 qualité Air: 20 µg/m3 2020

-- France,GrenelleE, PM 2.5: 15 µg/m3 2015

Changement du parc diesel **15 ans**

Toxicologie des PUF avis d'expert 2009

- 12 experts européens / Analyse littérature

Probabilité d'une relation causale entre l'augmentation à court terme des PUF et

1. mortalité (50 à 80%)
2. admissions maladies respiratoires et CV (50 à 80%)
3. aggravation de asthme (50 à 80%)

Probabilité d'une relation causale entre l'augmentation à long terme des PUF et la mortalité, les morbidité respiratoire et cardiovasculaire et le cancer bronchopulmonaire: 50%

Paradoxe NP /PUF

- Nanoparticules ont de grandes potentialités en médecine (diagnostic et thérapeutique) **Nanomédecine**
- NP /PUF Particules dérivées des combustions dans l'air: effets délétères sur la santé; nombreuses études
- Nanotechnologie:création de **nouvelles nanoparticules** sans connaissance sur l'exposition et les risques pour l'homme
- Création de nouvelles nanoparticules à visée médicale: collaboration nécessaire entre **nanotoxicologue et nanopharmacologiste**

Donalson 2007

Conclusions

- Connaissances acquises des études sur l'impact de la pollution atmosphérique
- Variétés de forme et de composition des nanoparticules
- Problème de leur « translocation » dans divers organes et de leur haute réactivité
- Nanomonde, monde nouveau
- Nécessité d'études et de surveillance
- Prise de conscience existe