



## Vers une mesure du potentiel oxydant des particules fines

*Identification d'un indicateur du potentiel oxydant des particules atmosphériques*

Armelle BAEZA

**Mots-clés** : indicateur, oxydation, particule atmosphérique, pollution atmosphérique, trafic, combustion, stress oxydant, espérance vie, cardiopathie, bronchopneumopathie obstructive

Les incidences négatives des particules fines sur la santé humaine font de la pollution atmosphérique, un problème majeur de santé publique comme l'illustrent de nombreuses études. Ainsi, le projet européen APHEKOM<sup>48</sup> souligne que, si l'exposition à long terme aux particules fines<sup>49</sup> était réduite à 10 µg/m<sup>3</sup>, l'espérance de vie pour les personnes de 30 ans et plus pourrait augmenter de 22 mois, selon les villes et leurs niveaux de pollution. Mais on ignore le seuil au-dessous duquel, ces particules seraient inoffensives et s'il n'existe pas des paramètres plus pertinents que la masse des particules pour évaluer l'impact de la pollution atmosphérique sur la santé. De telles connaissances seraient très utiles dans le contexte de la révision de la directive cadre européenne concernant la qualité de l'air ambiant et un air pur pour l'Europe<sup>50</sup>.

La pollution atmosphérique est complexe et difficilement mesurable dans sa totalité. Une première composante en est celle engendrée notamment par le trafic qui demeure une préoccupation constante. Parmi les approches envisagées, la mesure des concentrations de suie est souvent citée car elle donne une bonne indication sur les émissions liées au trafic automobile (diesel). Outre les automobiles, il existe d'autres sources de polluants dans l'atmosphère de natures et d'origines diverses (industrielle, agricole, chauffage domestique...). Il est proposé dans ce projet une approche, qui pourrait donc compléter la mesure des

suies : la mesure du potentiel oxydant (PO) de certaines sources d'aérosols.

### Le stress oxydant

L'exposition des cellules aux particules fines induit ce qu'on appelle le stress oxydant (ou oxydatif). Les particules fines qui pénètrent l'intérieur des cellules génèrent un excès d'espèces réactives oxygénées (ERO)<sup>51</sup> qui peut déborder les défenses anti-oxydantes que la cellule utilise pour rétablir l'équilibre. Il en résulte des conséquences néfastes, voire irréversibles, pour l'organisme : destruction cellulaire impliquée dans certaines pathologies (cancers, maladies cardio-vasculaires...), réaction inflammatoire ou affaiblissement des défenses immunitaires.

Il a été observé à Paris que des particules fines, prélevées en différents lieux, contenaient des composés métalliques (contenant du cuivre par exemple), mais aussi des composés organiques (tels les quinones, les hydrocarbures aromatiques polycycliques ou HAP) susceptibles d'entraîner la génération des EAO.

Selon le niveau de stress oxydant, les réponses cellulaires varient :

- Lorsque celui-ci est faible, la cellule réagit par l'activation de ses systèmes de défense anti-oxydante ;

RMCX-UMR CNRS 8251 Université Paris Diderot-P7

<sup>48</sup> [www.aphekom.org](http://www.aphekom.org)

<sup>49</sup> Moins de 2,5 microns de diamètre (PM<sub>2,5</sub>).

<sup>50</sup> Directive No 2008/50/CE.

<sup>51</sup> Appellées aussi « dérivés réactifs de l'oxygène ». Ce sont des composés très réactifs, comme des radicaux libres, qui peuvent endommager les protéines, lipides et acides nucléiques présents dans la cellule.

- À un niveau intermédiaire, d'autres voies de signalisation sont activées conduisant à la libération de médiateurs pro-inflammatoires.

Enfin, si le niveau de stress est excessif, les lésions oxydatives deviennent trop importantes pour permettre leur réparation – ce qui déclenche une mort cellulaire par apoptose ou nécrose.

### Les effets des particules ultrafines

Il est connu que les particules fines pénètrent profondément dans les voies respiratoires et peuvent atteindre les alvéoles pulmonaires où elles s'accumulent. D'autre part, on sait que les particules ultrafines peuvent franchir les barrières épithéliales, et passer dans le sang pour atteindre d'autres organes.

Les particules fines auraient des effets adverses pour la santé, du fait du stress oxydant qu'elles provoquent, associé le plus souvent à une réponse pro-inflammatoire pulmonaire locale avec, pour conséquence indirecte, un relargage de médiateurs de l'inflammation dans la circulation générale où ils exerceraient leurs effets délétères sur les cellules endothéliales<sup>52</sup>. Il en résulte un dysfonctionnement potentiel du système cardio-vasculaire (modifications de la viscosité sanguine et des processus de coagulation, déstabilisation des plaques d'athérome associée à des phénomènes de thrombose, dysfonctionnement endothélial...).

### Le projet de recherche : POTOX

Compte tenu du rôle majeur joué par le stress oxydant dans les mécanismes de toxicité des particules fines, l'idée a émergé d'exploiter une mesure de potentiel oxydant (PO) comme indicateur prédictif de leur toxicité.

Un tel indicateur serait précieux pour évaluer l'efficacité de mesures de gestion, par exemple évaluer les bénéfices sanitaires liés à la mise en œuvre d'actions locales de réduction des émissions de particules. Différents indicateurs ont été expérimentés, notamment à Londres et Los Angeles et en Europe. Mais aucune évaluation critique de

l'ensemble de ces méthodes expérimentales n'a été vraiment réalisée. Le projet POTOX vise avant tout à évaluer la pertinence de ces différents tests disponibles afin d'en retenir un qui puisse être considéré comme un indicateur fiable pour des conditions atmosphériques réelles contrastées (ex. combustion de biomasse, proximité de trafic...).



*Station parisienne de mesure*

Le cahier des charges est complexe. Cet indicateur doit idéalement intégrer les différents aspects impliqués dans la réactivité des particules fines. Comment « mimer » ce qui se passe à l'interface air-poumon ? Comment caractériser les particules fines issues du trafic et celles prélevées en stations urbaines de fond ? Comment caractériser le PO de ces particules ?

### Méthodologie

Pour prendre en compte une large gamme d'indicateurs biologiques éprouvés, le projet POTOX se fonde sur des stratégies innovantes :

- Prélèvement de particules PM<sub>2.5</sub> d'une part sur une station parisienne de proximité au trafic (station AIRPARIF, porte d'Auteuil) et d'autre part à la station SIRTA représentative de la pollution particulaire en Ile-de-France

<sup>52</sup> Situées dans les parois internes des vaisseaux sanguins et du cœur.

afin d'échantillonner des aérosols liés à la « combustion bois » en période hivernale, notamment lors de vagues de froid, caractérisées par des pics de pollution liés au chauffage. Deux stratégies de prélèvements ont été mises en œuvre : des prélèvements en continu sur 3 semaines pour de très grandes quantités de particules pour la mise au point des tests et 22 prélèvements journaliers (24h) afin d'évaluer l'évolution temporelle du test PO retenu.

- Mise à la disposition des équipes du projet, des échantillons communs de particules (différentes tailles et différentes sources) pour favoriser la mise au point des développements analytiques de chimie et biologie et pouvoir ensuite les transposer à une très large communauté.

L'originalité de ce projet n'est pas uniquement méthodologique ou opératoire mais il permettra d'améliorer les connaissances sur les propriétés physico-chimiques liées à la combustion de biomasse (chauffage bois) et d'établir le lien avec son potentiel oxydant – l'objectif final de ce projet étant de doter la communauté française d'un indicateur qu'elle ne possède pas à l'heure actuelle.

### Résultats

Les prélèvements sur le site trafic à Porte d'Auteuil réalisés de septembre à novembre 2013 présentent une faible contamination par des PM non issues du trafic local. La campagne d'échantillonnage en fond atmosphérique a été reportée en 2015, l'hiver précédent ayant été trop doux et donc peu propice à la production de PM issues de la combustion de la biomasse. Les caractérisations physico-chimiques sont en cours de finalisation.

Cinq tests d'évaluation du potentiel oxydant intrinsèque ont été mis au point : i) détection de l'anion superoxyde et du radical hydroxyl par résonance paramagnétique électronique, ii) test d'oxydation de la sonde CM-H<sub>2</sub>DCFDA, iii) test de déplétion d'un agent réducteur : le DTT, iv) test de déplétion de 3 anti-oxydants du fluide respiratoire et v) test de détection de cassures dans un ADN plasmidique. Les PM<sub>2.5</sub> répondent positivement dans tous les tests effectués à des degrés divers selon les

lots suggérant que chacun de ces tests est susceptible de révéler des particularités spécifiques à chacun de ces lots. Le test de déplétion de 3 anti-oxydants a été retenu pour l'analyse des filtres journaliers car il peut être réalisé directement sur les filtres sans passer par une étape d'extraction des particules à partir du filtre. On observe des différences de réactivité selon les jours qui restent à mettre en relation avec la composition chimique des PM<sub>2.5</sub>.

Les effets biologiques des PM<sub>2.5</sub> ont été étudiés à la fois sur les cellules épithéliales respiratoires humaines (NCIH-292) et sur les cellules endothéliales d'artères pulmonaires humaines (HPAEC). Nous avons caractérisé les réponses de ces cellules : i) au stress oxydant par la mesure du statut rédox intracellulaire par suivi de l'oxydation de la sonde H<sub>2</sub>DCFDA, ii) la mesure de l'expression d'enzymes anti-oxydantes (HO-1 et SOD-2), la prise en charge des composés organiques par l'étude de l'expression d'enzymes du métabolisme des xénobiotiques (CYP1A1 et NQO-1) et iii) l'induction d'une réponse pro-inflammatoire par l'étude de l'expression et de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (IL-6 et IL-8). A ce stade d'avancement du projet, il n'a pas été observé de corrélations évidentes entre les tests PO et les réponses cellulaires en particulier avec la réponse pro-inflammatoire qui est une réponse intégrative de la cellule aux différents constituants des particules et représentative des effets potentiels in vivo. Ceci tient probablement au fait que les tests PO mis en œuvre ne peuvent rendre compte de la production d'ERO cellulaires liés à la métabolisation des composés organiques. La mise en perspective des analyses chimiques avec les données PO et les réponses cellulaires permettront de dégager des conclusions argumentées.

### Les partenaires :

**Pr A. BAEZA**

RMCX-UMR CNRS 8251 Université Paris Diderot-P7

**Dr J. SCIARE**

CR-CNRS au LSCE unité mixte CNRS-CEA-UVSQ

**Dr I. BAUDRIMONT**

CRCTB, INSERM 1045, Université de Bordeaux

**Durée :** 42 mois

**Financement ADEME :** 263 K€

**Contact :** [baeza@univ-paris-diderot.fr](mailto:baeza@univ-paris-diderot.fr)