



HAL
open science

Les polluants de l'air intérieur : des mélanges complexes. Toxicité pulmonaire in vitro de mélanges complexes de polluants de l'air intérieur : effets d'une exposition répétée à l'interface air-liquide (IAL)

Véronique André, Ivannah Pottier

► To cite this version:

Véronique André, Ivannah Pottier. Les polluants de l'air intérieur : des mélanges complexes. Toxicité pulmonaire in vitro de mélanges complexes de polluants de l'air intérieur : effets d'une exposition répétée à l'interface air-liquide (IAL). , ANSES "Air et santé Comprendre où en est la recherche" (21), pp.32-34, 2023, Les Cahiers de la Recherche Santé, Environnement, Travail, Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail. hal-04125222

HAL Id: hal-04125222

<https://normandie-univ.hal.science/hal-04125222v1>

Submitted on 13 Jul 2023

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0
International License

Les polluants de l'air intérieur : des mélanges complexes

Toxicité pulmonaire *in vitro* de mélanges complexes de polluants de l'air intérieur : effets d'une exposition répétée à l'interface air-liquide (IAL)

Dr Véronique ANDRÉ et Dr Ivannah POTTIER, ABTE EA4651, équipe "Toxicologie de l'Environnement Milieux Aériens et Cancers" (ToxEMAC), Université de Caen

Équipe partenaire : **Dr Valérie Lecureur**, IRSET UMR-INSERM 1085

Projet de recherche (en cours depuis avril 2020 - Durée : 5 ans) – Financement ADEME : 195.572 € - Contact : veronique.andre@unicaen.fr

Mots-clés : toxicité *in vitro*, poumon, mélange de polluants, air intérieur, expositions répétées, cellules bronchiques, macrophages

Les polluants de l'air intérieur sont émis par de nombreuses sources : air extérieur, matériaux de construction, appareils de combustion, ameublement, produits d'entretien ou biocontaminants. Ils dépendent également du mode de vie des occupants (tabagisme, présence d'animaux domestiques, système d'aération non opérationnel...). Ils peuvent être d'origine :

- Chimique (composés organiques volatils, oxydes d'azote, monoxyde de carbone, hydrocarbures aromatiques polycycliques, phtalates, retardateurs de flamme bromés...);
- Biologique (moisissures, allergènes d'acariens ou issus d'animaux domestiques, pollens...);
- Physique (particules, amiante, fibres minérales artificielles...).

Cette multiplicité de sources d'émission et de composition des atmosphères intérieures expliquent les difficultés actuelles pour évaluer l'effet de ces mélanges complexes sur la santé.

Comment mesurer et appréhender la toxicité pulmonaire de ces mélanges ?

Le matériau standard de référence : SRM 2585

En ce qui concerne les pollarmosphériques d'origine urbaine ou issus de moteurs diesel, il existe des méthodes de référence dites « standardisées », basées sur des échantillons homogènes⁶⁸.

Le standard SRM 2585 « *Organic contaminants in house dust* » a pour sa part été obtenu à partir de poussières récoltées dans différents lieux d'habitation (maisons et hôtels) dans plusieurs états des Etats-Unis entre 1993 et 1994 ; il contient au moins 167 substances appartenant à 7 familles chimiques de toxiques aux mécanismes d'action différents⁶⁹. De ce fait, il constitue un échantillon représentatif des polluants en milieu intérieur, de composition chimique déterminée et actualisée.

La toxicité pulmonaire de ce matériau de référence n'a été que très peu étudiée à ce jour. Or, l'inhalation de polluants de l'air intérieur contribue à l'apparition de pathologies respiratoires aiguës ou chroniques, en association avec la pollution atmosphérique.

Les modèles cellulaires

Pour évaluer le rôle de la pollution de l'air intérieur dans le développement des maladies chroniques respiratoires (asthme ou BPCO), il est nécessaire expérimentalement de se rapprocher au mieux des conditions réelles d'exposition, c'est-à-dire en exposant de manière répétée des modèles cellulaires pertinents à de faibles concentrations de

⁶⁸ Ex. SRM 2786, 1649b, 1648a et 2975.

⁶⁹ Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), Polychlorobiphényles (PCB), Pesticides organochlorés, Retardateurs de flamme polybromés (PBDE), Retardateurs de flamme phosphorés, Acides perfluoroalkyles (PFAA) et Muscs polycycliques.

mélanges complexes prélevés dans des habitations.

Les modèles cellulaires utilisés classiquement en toxicologie de l'inhalation sont des lignées cellulaires pulmonaires humaines tumorales, telles que les cellules alvéolaires A549, ou rendues immortelles telles que les cellules bronchiques BEAS-2B. Cependant, les cultures primaires de cellules pulmonaires constituent maintenant des modèles attractifs pour l'analyse des effets biologiques des substances toxiques inhalées, car plus représentatifs de l'organisation cellulaire *in vivo*. Les cellules NHBE⁷⁰ sont de plus en plus utilisées car, maintenues à l'interface air-liquide (ALI), elles se différencient en cellules épithéliales, en cellules ciliées dotées de battements et en cellules produisant du mucus, reconstituant un pseudo-épithélium trachéo-bronchique fonctionnel. Elles conservent également des activités métaboliques similaires à celles présentes dans le tissu pulmonaire. Enfin, la culture en ALI permet d'exposer ces cellules aux polluants par nébulisation, évitant d'immerger le pseudo-épithélium sous une colonne de liquide qui ne correspond pas à la spécificité du tractus respiratoire, ouvert à l'air. C'est ce modèle différencié que nous utilisons déjà au laboratoire.

Dans le tractus respiratoire, les cellules macrophagiques jouent également un rôle clé dans la réponse aux polluants particulaires, notamment en ce qui concerne leur clairance par phagocytose dans le poumon profond. Ces cellules produisent d'autre part des médiateurs de l'inflammation qui agissent non seulement localement mais aussi plus à distance en établissant un « dialogue » avec les autres types cellulaires au niveau trachéo-bronchique.

⁷⁰ De l'anglais « normal human bronchial epithelial cells » : cellules normales isolées à partir de prélèvements humains réalisés au niveau de l'épithélium trachéo-bronchique.

Le projet de recherche : ToxIALMix

Le projet ToxIALMix se propose d'évaluer la réponse toxique globale tant au niveau moléculaire que tissulaire de poussières représentatives de la pollution de l'air intérieur, dans des conditions d'exposition *in vitro* les plus réalistes possibles en termes de modèles cellulaires humains (cellules trachéo-bronchiques NHBE différenciées et macrophages humains dérivés de monocytes (MDMs)), de mode d'expositions répétées et, pour les NHBE, à l'interface air-liquide.

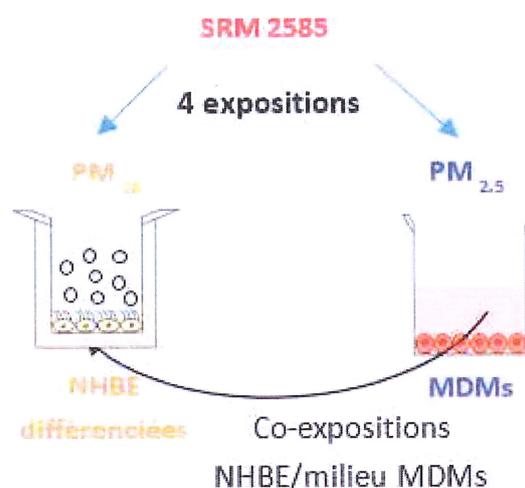


Illustration 23 : Conditions d'exposition des cellules bronchiques et des macrophages alvéolaires aux particules du SRM 2585 (Projet ToxIALMix)

L'originalité de ToxIALMix réside dans :

- Le choix d'un mélange complexe certifié représentatif de contaminants présents en air intérieur (SRM 2585) afin de valider l'approche méthodologique proposée, puis l'appliquer sur des poussières prélevées par nos soins en milieu intérieur ;
- La répétition des expositions des cultures différenciées à des doses déposées pertinentes grâce à un système d'exposition contrôlée, se rapprochant des conditions physiologiques ;
- L'étude cinétique de la réponse cellulaire globale par la mesure de biomarqueurs d'effets toxiques (altérations morphologiques et fonctionnelles, effets

cytotoxiques, pro-oxydants, pro-inflammatoires et génotoxiques) à différents temps, indiquant des effets précoces, retardés et/ou transitoires ;

- L'étude des interactions entre les deux modèles cellulaires (NHBE et MDMs) au niveau de la réponse inflammatoire.

Methodologie

La profondeur de pénétration des particules dans l'arbre respiratoire étant étroitement liée à la taille de celles-ci, nous avons tout d'abord séparé l'échantillon de poussières (SRM 2585) selon la granulométrie des particules. Pour répondre à une réalité physiologique, les cellules NHBE différenciées ont été exposées à la fraction la plus grosse (de 10 μm à 2,5 μm de diamètre) tandis que les macrophages ont été exposés à une fraction plus fine (< 2,5 μm). Le dialogue entre ces deux types cellulaires sera de plus étudié par la mise en œuvre de co-cultures.

Ce design de co-exposition des cellules NHBE permettra :

1. D'évaluer les effets toxiques propres à chaque association type cellulaire-fraction particulaire ;
2. D'aborder l'interaction entre macrophages et cellules épithéliales en exposant simultanément les pseudo-épithélium aux particules PM_{10} par le pôle apical et en introduisant au pôle basal les milieux « conditionnés » récupérés après exposition des macrophages aux particules les plus fines ($\text{PM}_{2,5}$).

Résultats préliminaires

Nos premiers travaux ont consisté à décrire les caractéristiques intrinsèques des deux fractions isolées, afin de compléter les données analytiques déjà disponibles pour le SRM 2585. Des endotoxines, molécules pouvant contribuer aux processus inflammatoires, ont ainsi été détectées et quantifiées. Nous avons également mis en évidence un caractère pro-

oxydant ainsi qu'un potentiel mutagène, principalement liés à la présence connue de HAPs mais aussi de leurs dérivés nitrés⁷¹.

La suite du projet nous permettra de voir si ces propriétés intrinsèques sont susceptibles d'induire des réponses biologiques ou toxiques significatives immédiates, transitoires ou différées après expositions répétées sur chacun des modèles cellulaires différenciés, ainsi que sur la co-exposition du modèle NHBE.

⁷¹ El Hajjar et col., 2022.