

Toxicité des silices amorphes nanostructurées : état des connaissances et intérêt des biomarqueurs d'effets précoces dans la recherche

EN RÉSUMÉ

Les silices amorphes synthétiques (SAS) revêtent un caractère nanostructuré et occupent la deuxième place parmi les nanomatériaux produits et utilisés en France et dans le monde, de par leurs multiples applications industrielles et biomédicales. Alors que les silices amorphes sont réputées sans effet spécifique sur la santé, la question de la toxicité des SAS liée à leur état nanoparticulaire a été largement étudiée dans des études expérimentales *in vitro* et *in vivo*. Les données expérimentales sont nombreuses en faveur d'une toxicité mais insuffisantes pour statuer sur la toxicité chronique et permettre une extrapolation chez l'homme en situation d'exposition professionnelle. De plus, les données humaines sont rares et des mesures quantitatives d'exposition n'ont pas été rapportées dans les études publiées.

AUTEURS :

Radauceanu A¹, Guichard Y², Grzebyk M¹

1. Département Épidémiologie en entreprise, INRS

2. Département Toxicologie et biométrie, INRS

MOTS CLÉS

Silice /
Nanoparticule /
Risque
toxicologique /
Surveillance
biologique /
Produit chimique /
Biométrie

1. Substance fabriquée intentionnellement à l'échelle nanométrique contenant des particules non liées ou sous forme d'agrégats ou d'agglomérats, dont une portion minimale des particules, dans la distribution des tailles en nombre, présente une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm.

Composant majeur de la croûte terrestre, la silice existe à l'état libre (dioxyde de silicium, SiO₂) [1, 2] sous forme cristalline (cancérogène avéré pour l'homme, groupe 1 du Centre international de recherche sur le cancer – CIRC) et sous forme amorphe, soit naturelle (faiblement toxique, groupe 3 du CIRC), soit synthétique. Les silices amorphes synthétiques (SAS) sont des substances à l'état nanoparticulaire¹ [3] dont les caractéristiques permettent une multitude d'applications industrielles et biomédicales, principalement dans l'industrie des caoutchoucs et résines PVC (renforcement pneumatiques, caoutchoucs silicones, mastics, semelles de chaussures, fils et câbles...), des peintures et vernis (agent matant et anti-sédimentation), cosmétiques (abrasifs et épaississants dans les pâtes dentifrices), encres, adhésifs, produits réfractaires, ciments/béton (additifs), revêtements de sols et textiles (anti-salissants et antistatiques), agroalimentaire (acidifiants, agents

anti-mottant, épaississement des liquides) et pharmaceutique (supports de principe actif, excipients) [4, 5].

La production de SAS en France était d'environ 230 000 tonnes en 2015. L'obligation de déclaration des substances à l'état nanoparticulaire, effective depuis 2013, situe les SAS en deuxième place des substances produites et/ou importées en France en 2017, après le noir de carbone [6]. Il en est de même au niveau mondial, où 1,5 million de tonnes de SAS sont produites et utilisées, après les 9,6 millions de tonnes de noir de carbone [7].

Si le nombre de salariés liés à la production était, selon une étude de filière réalisée par l'INRS en 2007, d'environ 1 300 personnes, le développement des applications industrielles pourrait concerner un grand nombre de personnes en rapport avec l'utilisation, la transformation, la distribution ou le reconditionnement des SAS [4, 5].

La silice amorphe synthétique est élaborée à partir de deux procédés

Toxicité des silices amorphes nanostructurées : état des connaissances et intérêt des biomarqueurs d'effets précoces dans la recherche

2. Le terme cristallin désigne le fait que l'élément de base, ici le tétraèdre SiO_4 , se répète de façon périodique dans les trois dimensions de l'espace, alors que dans une structure amorphe, les tétraèdres SiO_4 n'ont pas de structure spatiale fixe.

3. Le stress oxydant est un type d'agression des constituants de la cellule dû aux espèces réactives oxygénées (ROS) et aux espèces réactives oxygénées et azotées oxydantes (RONS, qui provoquent le stress nitrosant).

4. L'apoptose ou mort cellulaire programmée est un mécanisme normal, intrinsèquement programmé, par lequel des cellules s'autodétruisent en réponse à un signal interne pour se débarrasser de cellules inutilisables, indésirables ou potentiellement nocives. L'apoptose est souvent trouvée dérégulée dans le processus de développement tumoral.

industriels, par voie humide ou par voie thermique. La voie humide permet la fabrication des silices précipitées (diamètre particulaire de 5-100 nm), des silices colloïdales ou sols de silice (diamètre particulaire de 7-50 nm) et des gels de silice (diamètre particulaire de 3-20 nm) alors que la voie thermique produit des silices pyrogénées (diamètre particulaire de 5-50 nm). À l'issue de l'élaboration par une de ces méthodes, la silice synthétique peut faire l'objet d'un post-traitement physique ou chimique visant à modifier sa surface. À ces types de SAS se rajoutent les fumées de silice qui sont un sous-produit de la fabrication du silicium ou des alliages ferro-silicium dans le secteur de la métallurgie.

DONNÉES TOXICOLOGIQUES EXPÉRIMENTALES

Classiquement, le potentiel toxique de la silice (diamètre particulaire de 0,5-10 μm) est lié à sa cristallinité², pouvant induire, chez les travailleurs exposés, silicose, emphyseme ou cancer pulmonaire [8]. *A contrario*, les silices amorphes naturelles, dont le diamètre particulaire est supérieur à 1 μm , sont réputées sans effet spécifique pour la santé. Cependant, de par leur état nanoparticulaire lié à leur procédé de fabrication, les silices amorphes synthétiques possèdent des caractéristiques physico-chimiques pouvant potentiellement induire une toxicité associée à leur taille inférieure à 100 nm, à leur distribution granulométrique, leur forme, leurs propriétés de surface (réactivité, porosité, charge, traitement de surface, potentiel d'oxydo-réduction), leur solubilité, leur biopersistance et leur potentiel d'agrégation/agglomération [9, 10]. De plus, les

SAS possédant une très grande surface spécifique, on peut s'attendre à ce que le nombre de sites potentiellement réactifs avec l'environnement biologique, comme les groupements silanols [11], soient présents en une proportion largement plus importante que dans le cas des silices amorphes naturelles. Comme pour d'autres nanomatériaux, cette hypothèse pourrait remettre en question l'évaluation du risque toxique reposant sur une dose exprimée en masse ou en concentration d'une part et le comportement biologique ainsi que les interactions entre les systèmes biologiques et les nanoparticules d'autre part [12].

Des revues récentes de la littérature des études toxicologiques *in vitro* et *in vivo* ont conclu à des effets toxiques des SAS qui peuvent être influencés par le type cellulaire, le système de culture cellulaire, les conditions d'expérimentation et la voie d'administration [13]. De même, les différences physico-chimiques entre les différents types de SAS peuvent expliquer les variations dans la toxicité et les effets biologiques observés [14, 15].

DONNÉES IN VITRO

In vitro, les SAS exercent un effet cytotoxique *via* le stress oxydant³ et l'apoptose⁴ selon une relation inverse avec leur taille et une relation directe dose – effet, à l'exception de la silice pyrogénée dont le mécanisme est indépendant du stress oxydant. Deux études récentes montrent qu'à taille et composition identiques, la silice pyrogénée est biologiquement plus réactive que la silice colloïdale ou précipitée [16, 17]. L'exposition cellulaire aux SAS induit l'autophagie associée à la cytotoxicité et, moins documentées, une phagocytose et une réponse inflammatoire associées à l'immunotoxicité. Une génotoxicité directe

par action sur le matériel génétique ou secondaire à l'oxydation de l'ADN par des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (stress oxydant et nitrosant) a été montrée pour les nanoparticules métalliques [18]. Concernant les SAS, plusieurs études ont montré la capacité des SAS précipitées ou pyrogénées à produire des effets génotoxiques (cassures de l'ADN) dans différents modèles *in vitro*. Les mécanismes de la génotoxicité de SAS ne sont pas élucidés [13]. La génotoxicité des SAS est parfois associée à un stress oxydant cellulaire. Dans ce cas, elle se produirait de manière indirecte, *via* la génération d'espèces réactives de l'oxygène qui réagiraient chimiquement avec l'ADN. Une étude a suggéré que des dommages à l'ADN induits par différentes SAS pourraient être dus aussi à un effet d'obstacle des particules présentes dans le cytoplasme qui altéreraient la mitose [19]. Une étude *in vitro* récente sur des cellules endothéliales de cordon ombilical (lignée cellulaire HUVEC) a montré que certaines SAS induisaient un dysfonctionnement important des mitochondries qui seraient, selon les auteurs, les organites cellulaires cibles des SAS. La perturbation de l'activité mitochondriale serait le facteur déclencheur des effets cytotoxiques des SAS sur les cellules [20]. À noter que la cytotoxicité liée aux nanoparticules est complexe et met en jeu des mécanismes impliquant d'autres organites cellulaires, la rupture des lysosomes et le stress du réticulum endoplasmique [21]. En revanche, peu d'études se sont intéressées aux effets cancérogènes des SAS. Une étude récente menée à l'INRS sur un modèle de transformation cellulaire *in vitro*, utilisant la lignée cellulaire Bhas 42, a révélé que des SAS pyrogénées ou précipitées utilisées dans l'industrie induisaient la transfor-

mation des cellules Bhas 42 [22]. La transformation cellulaire étant une étape clé précoce du processus de cancérogenèse, ces résultats suggèrent un éventuel potentiel cancérogène des SAS étudiées. De plus, la SAS pyrogénée testée produisant le plus d'effet transformant induisait des effets épigénétiques ⁵ à des stades précoces de la transformation des cellules Bhas 42 [24]. Des effets épigénétiques ont également été rapportés sur des kératinocytes humains exposés *in vitro* à une SAS [25].

Enfin, il a été montré une action d'une silice colloïdale sur la fonction endothéliale, une agrégation plaquettaire et un effet pro-inflammatoire *via* la sécrétion de cytokines et molécules d'adhésion, suggérant un effet potentiel des SAS prothrombotique et proathérogène [20, 26, 27]

DONNÉES IN VIVO

In vivo, les études animales conduites ont été pour la plupart des études à court terme utilisant différentes voies d'administration (inhalatoire, digestive, intraveineuse), le plus souvent à des doses très élevées comparées aux expositions humaines. Des effets toxiques (inflammation locale et systémique, stress oxydant) et un dépôt dans le foie, les poumons, la rate et les reins ont été rapportés, ainsi qu'au niveau du cerveau pour la voie intranasale.

La question du mécanisme de la toxicité n'est pas encore élucidée. La génotoxicité et la cytotoxicité semblent les mécanismes toxiques principaux de la silice cristalline, mais aussi des silices amorphes colloïdales et précipitées, qui possèdent, comme la silice cristalline, des silanols sur leurs surfaces. Cette caractéristique surfacique commune pourrait contribuer à une toxicité similaire, médiée par le

5. L'épigénétique est une discipline de la biologie s'intéressant au mécanisme réversible et transmissible permettant de réguler l'expression des gènes. Les effets épigénétiques, définis comme les changements dans l'activité des gènes non expliqués par des altérations dans la séquence des acides nucléiques, peuvent avoir un effet à long terme sur l'expression des gènes, voire transgénérationnel, et persistent même après l'arrêt du stimulus initial, pouvant ainsi conduire à des effets au niveau biologique, notamment le développement et la progression des cancers, des maladies neurodégénératives (Parkinson, Alzheimer, sclérose latérale amyotrophique...), métaboliques (diabète, obésité) et cardiovasculaires [23]. Contrairement aux mutations qui affectent la séquence d'ADN, les modifications épigénétiques sont réversibles.

6. Diamètre aérodynamique compris entre 1 µm et 100 µm environ.

stress oxydant, la présence des silanols étant corrélée davantage avec la toxicité de la silice cristalline que sa cristallinité [13, 17, 28]. Quant à la silice pyrogénée, elle possède des siloxanes en surface [15] et induit une réaction inflammatoire plus importante [14]. Sa toxicité semble médiée par d'autres mécanismes que le stress oxydant [29] mais cette hypothèse est à confirmer par d'autres études.

Cependant, la silice amorphe nanostructurée n'est pas biopersistante du fait d'une dissolution, translocation et élimination rapide pulmonaire et systémique, ce qui explique également son effet pro-inflammatoire moins important que celui des formes micrométriques ⁶ après instillation intratrachéale. De plus, l'âge des animaux influe sur les réponses à l'exposition, puisque les rats âgés sont plus sensibles aux atteintes pulmonaires que les rats jeunes ou adultes, et le risque d'atteinte cardiovasculaire a été observé seulement chez les rats âgés. Ces résultats suggèrent que, dans les études expérimentales par inhalation, la toxicité devrait être évaluée par des biomarqueurs différents selon l'âge [30]. Une étude plus récente d'instillation endotrachéale de nanoparticules de silice de différentes tailles (30, 60 et 90 nm) à différentes doses a montré des niveaux plus élevés d'espèces réactives d'oxygène et des marqueurs d'inflammation (cytokines, protéine C réactive) et des niveaux plus bas d'antioxydants (superoxyde dismutase – SOD, glutathion peroxydase – GPX) comparés à la silice micrométrique (600 nm) selon une relation dose-réponse, ainsi qu'une translocation systémique des nanoparticules dépendant de la taille et de la dose [31]. Les niveaux des biomarqueurs cardiovasculaires, comme les molécules d'ad-

hérence intercellulaire (ICAM-1) et vasculaire (VCAM-1), étaient également plus élevés pour la dose la plus importante des nanoparticules, par comparaison avec la silice micrométrique.

Une des rares études toxicologiques par inhalation chronique chez le rat a analysé l'exposition à des fumées de silice avec une bonne caractérisation des nano-aérosols, à des doses pouvant correspondre aux expositions des travailleurs dans le secteur métallurgique [32]. Malgré une cytotoxicité comparable à la silice cristalline, les effets toxiques après 6 mois d'exposition sont relativement faibles, aussi bien au niveau pulmonaire que systémique. La solubilité élevée et la dissolution au niveau pulmonaire diminuent la biopersistance pulmonaire et favorisent probablement le passage des nanoparticules dans le sang et le système lymphatique, avec une accumulation tissulaire également faible. Le passage des particules déposées au niveau nasal vers le cerveau *via* le nerf olfactif a été montré. Par contre, l'étude a mis en évidence que l'effet le plus sensible en relation avec l'exposition chronique à la nano-silice consiste en une génotoxicité systémique (lésions primaires ou dommages à l'ADN) avec une relation dose-effet claire.

Enfin, dans les études *in vivo* seulement, les silices pyrogénées ont montré des effets cytotoxiques et proinflammatoires [33]. Une étude de cancérogenèse sur différentes micro- ou nanoparticules chez le rat a montré que l'instillation intratrachéale répétée d'une silice pyrogénée (3 mg par instillation, 5 fois) augmentait l'incidence de tumeurs pulmonaires [34]. Cependant, ce résultat a été remis en cause car les fortes doses de particules utilisées à chaque instillation induisaient forcément une surcharge pulmonaire non-spécifique de la particule

Toxicité des silices amorphes nanostructurées : état des connaissances et intérêt des biomarqueurs d'effets précoces dans la recherche

étudiée [35]. Une étude similaire a été réalisée par la suite avec une silice pyrogénée en diminuant la dose par instillation (0,5 mg par instillation, 30 fois). L'exposition conduisait également à une élévation de tumeurs dans les poumons des rats [36].

DONNÉES HUMAINES

EXPOSITION AUX PARTICULES ULTRAFINES DE LA POLLUTION ATMOSPHÉRIQUE

L'exposition à la pollution atmosphérique a fourni les premières données des effets des nanoparticules chez l'homme. Ainsi, l'évidence des effets toxiques des nanoparticules a été rapportée dans des études épidémiologiques concernant les particules ultrafines (particules dont le diamètre aérodynamique est égal ou inférieur à 100 nm) émises non intentionnellement (émission des moteurs diesel, sous-produits de combustion, usure mécanique de pièces mobiles...).

Les données épidémiologiques concernant les effets pulmonaires et cardiovasculaires des particules ultrafines comme polluant atmosphérique ont clairement montré une augmentation de la morbidité et de la mortalité chez les adultes et chez les enfants, particulièrement pour les populations susceptibles comme les personnes âgées, les sujets atteints de pathologies cardiovasculaire et pulmonaire et probablement les femmes [37]. L'inflammation pulmonaire et systémique, le stress oxydant, la génotoxicité, l'altération de la coagulation, une athérosclérose accélérée, une dysfonction endothéliale ainsi que du système nerveux autonome sont les principaux mécanismes conduisant au développement des

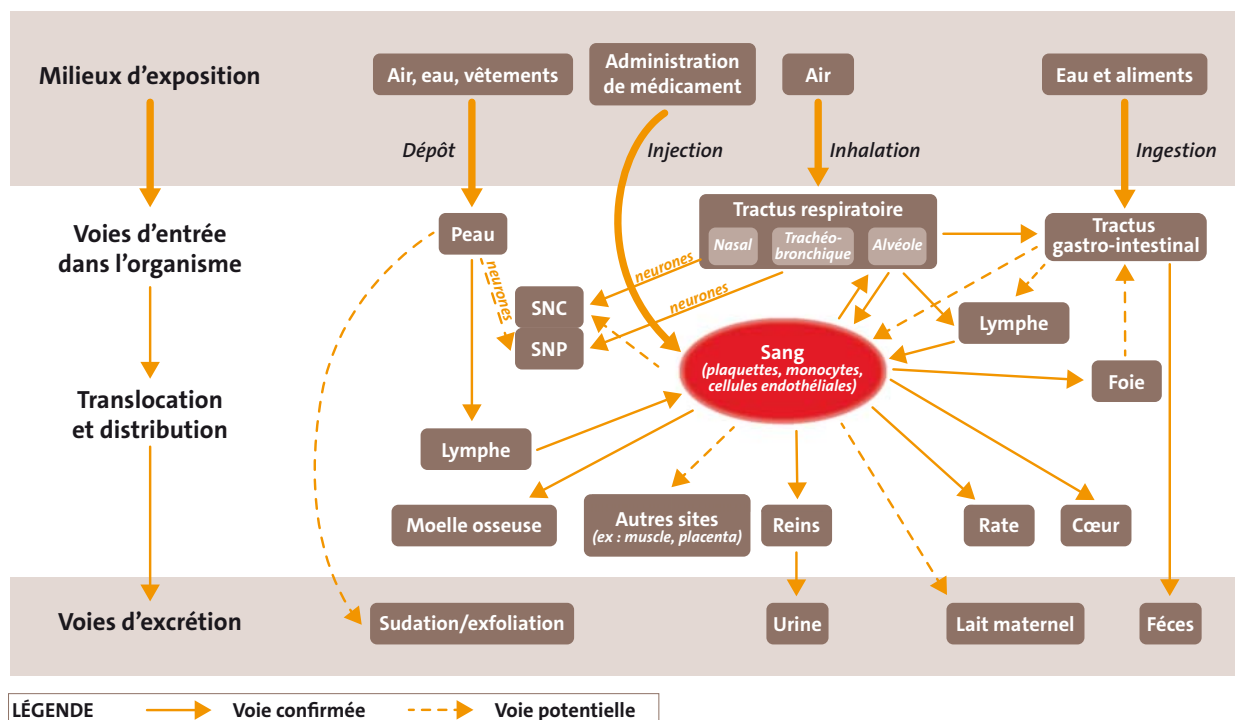
maladies pulmonaires (asthme, fibrose, bronchopneumopathie chronique obstructive, cancer bronchique) et à l'augmentation de la morbidité et mortalité cardiovasculaires (l'aggravation des maladies cardiovasculaires, cardiopathies ischémiques, arythmies, accidents vasculaires cérébraux) [38, 39].

Par analogie avec les particules ultrafines de la pollution atmosphérique, les nanoparticules intentionnellement produites ont les mêmes portes d'entrée (principalement respiratoire et également digestive) et organes cibles. Contrairement aux particules micrométriques (particules dont le diamètre est inférieur à $2,5 \mu\text{m} - \text{PM}_{2,5}$), les particules d'une taille inférieure à 100 nm ($\text{PM}_{0,1}$) ont une déposition pulmonaire prédominante au niveau alvéolaire [40], une clairance pulmonaire plus lente, migrent dans la circulation systémique (sang, lymph) en franchissant la barrière alvéolo-capillaire puis se distribuent vers les organes systémiques (reins, rate, cœur, moelle osseuse), alors qu'une partie peut se distribuer directement au cerveau *via* les nerfs olfactifs (figure 1). Le devenir des nanoparticules dans l'appareil respiratoire dépend principalement de leur taille et des mécanismes d'élimination : clairance mucociliaire en direction du carrefour aérodigestif aux étages nasopharyngé et trachéo-bronchique, phagocytose aux étages trachéo-bronchique et alvéolaire, élimination chimique par la dissolution des particules solubles à tous les étages [18, 42]. D'autres caractéristiques physico-chimiques des nanoparticules, comme la charge polaire de surface, fixent les protéines (« *protein corona* ») et modifient la biocinétique en réduisant la clairance et la translocation [9]. Les nanoparticules solubles sont concernées par un mécanisme d'épuration chimique conduisant à leur dis-

solution, pouvant être absorbées et diffusées ou fixées par des protéines ou d'autres structures subcellulaires et ensuite susceptibles d'être éliminées dans la circulation sanguine ou lymphatique. Dans la région alvéolaire, les nanoparticules insolubles sont phagocytées par les macrophages alvéolaires, moins bien pour les nanoparticules non agglomérées que pour les particules micrométriques, avec une importante accumulation alvéolaire des nanoparticules. Les macrophages sont ensuite éliminés par l'ascenseur mucociliaire dans le tractus digestif avec une demi-vie particulièrement longue d'environ 700 jours chez l'homme. Une translocation épithéliale et interstitielle permettrait aux nanoparticules de passer dans la circulation lymphatique et sanguine suivie par une distribution systémique, confirmée pour le foie, rate, cœur, rein, moelle osseuse, et potentielle pour la barrière hématoencéphalique, le passage transplacentaire et dans le lait maternel (figure 1) [41].

En 2010, l'avis scientifique de l'*American Heart Association* établit que l'ensemble des preuves est compatible avec une relation de causalité entre l'exposition à la pollution particulaire (pollution urbaine, fumées de moteur diesel, autres sous-produits de combustion) et la morbidité et mortalité cardiovasculaires [43]. Plus récemment, une revue de la littérature a rapporté une augmentation du risque des maladies ischémiques cardiovasculaires chez les sujets exposés professionnellement à la pollution atmosphérique [44]. En effet, le système cardiovasculaire semble particulièrement sensible au stress oxydant étant donné, d'une part, la production élevée d'espèces réactives (superoxyde O_2^- , monoxyde d'azote NO , peroxyde H_2O_2 , peroxydinitrite NO_3^- ,

↓ **Figure 1** Biocinétique des particules nanométriques d'après [41] et d'après [3] pour la traduction.

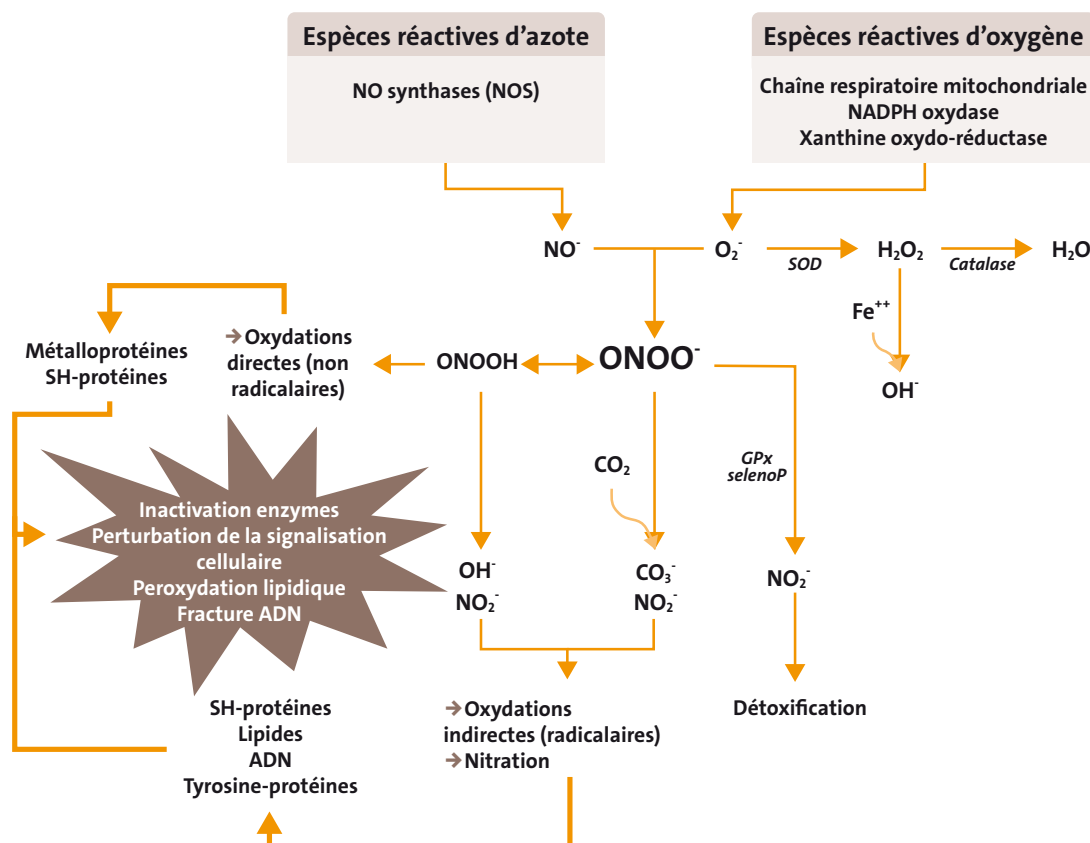


radical hydroxyle OH^{\cdot} ...) due à l'activité métabolique importante et, d'autre part, l'activité moins importante des enzymes antioxydantes comme la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPX) et la catalase (CAT),

comparée aux autres tissus [45]. Concernant un autre antioxydant de bas poids moléculaire, le glutathion, la diminution de son niveau intracellulaire est un mécanisme progressif, qui dépend de la taille des particules ainsi que de la

concentration à laquelle sont exposées les cellules (études *in vitro*) [46]. La *figure 2* résume la génération des espèces réactives oxygénées et azotées et l'intervention des mécanismes antioxydants de défense [47].

↓ **Figure 2** Génération des espèces réactives et intervention des antioxydants (d'après [32]).



Toxicité des silices amorphes nanostructurées : état des connaissances et intérêt des biomarqueurs d'effets précoces dans la recherche

La génération excessive d'espèces réactives, la baisse des mécanismes antioxydants ou la combinaison des deux [48] conduit à l'attaque oxydative des autres composants cellulaires (protéines, lipides, ADN) et, pour le peroxy-nitrite (NO_3^-), à la nitration des résidus tyrosine des protéines, avec des dommages tissulaires et réactions inflammatoires pouvant être à l'origine du développement des pathologies.

EXPOSITION PROFESSIONNELLE À LA SILICE AMORPHE NANOSTRUCTURÉE

Les premières données de santé chez des travailleurs exposés professionnellement aux SAS ont été rapportées en Chine il y a une dizaine d'années et concernaient un groupe de jeunes femmes exposées pendant 5 à 13 mois aux nanoparticules de SAS lors de la projection de polyacrylate, sans aucune mesure de protection (les SAS renforcent le polyacrylate comme matériau de recouvrement) [49]. Chez celles qui ont été hospitalisées pour dyspnée, épanchements pleuraux et péricardiques itératifs, les examens histologiques ont montré une inflammation et fibrose pulmonaires, des granulomes ainsi que la présence de nanoparticules de 30 nm de diamètre dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire, l'épanchement pleural, le tissu pulmonaire, les macrophages, les cellules épithéliales et les microvaisseaux. Les auteurs ont reproduit dans des conditions expérimentales les effets observés chez les travailleurs : des lésions similaires ont été observées après instillation trachéale chez le rat du même composite recouvert de nanosilice alors que dans le groupe ayant reçu le composite seul, aucune lésion n'a été mise en évidence [50]. Plus récemment, une étude transversale a été conduite en Allemagne pour analyser l'effet de

l'exposition aux différentes formes de SAS (basée sur des données historiques d'exposition) et la santé respiratoire (hors cancer) [51]. Ainsi, chez les salariés de cinq usines de production des SAS pyrogénées et précipitées, le seul effet montré sur la fonction pulmonaire a été une modeste diminution de la capacité vitale forcée suivant une relation dose-réponse mais aucun signe radiologique de silicose.

La première cohorte professionnelle des travailleurs exposés aux différents nanomatériaux intentionnellement produits a été mise en place à Taiwan dans les années 2010 dans 14 entreprises de production et/ou utilisation de dioxyde de titane, silice nanostructurée, nanotubes de carbone, nanoargent, nanorésines, nanomatériaux multiples [52]. Plus de 200 travailleurs ont été inclus, dont 40 % étaient exposés à plusieurs nanomatériaux et une trentaine de travailleurs à la silice nanostructurée amorphe seule. L'évaluation de l'exposition a été réalisée par une méthode semi-quantitative d'évaluation du risque (*control banding* ou bandes de danger) à partir du score lié à la toxicité du nanomatériau et du score de la probabilité d'exposition, sans que des mesures d'exposition soient réalisées. Une publication « clinique » a montré une relation entre l'exposition et l'éternuement et l'aggravation de la dermatite allergique [53]. Cinq autres publications, dont une sur le suivi longitudinal, ont rapporté un effet de l'exposition sur des biomarqueurs de l'inflammation pulmonaire, du stress oxydant/activités antioxydantes, des marqueurs cardiovasculaires, la génotoxicité, les effets épigénétiques, les épreuves fonctionnelles respiratoires et les tests neurocomportementaux. La diminution de l'activité antioxydante (diminution des enzymes glutathion peroxydase

– GPX – et superoxyde dismutase – SOD) a été montrée à l'inclusion et à 6 mois de suivi, ainsi que l'effet de l'exposition sur les marqueurs cardiovasculaires (ICAM, interleukine-6 – IL-6 –, fibrinogène élevés à l'inclusion ; VCAM élevé et paraoxonase diminuée à 6 mois de suivi) [52, 54]. Également, à 6 mois de suivi, la diminution des *Clara cell proteins 16* (CC16), marqueurs de l'inflammation pulmonaire et de l'atteinte des petites voies aériennes, a été montrée ainsi que la diminution des débits expiratoires de pointe (DEP) et maximaux à différents volumes pulmonaires (DEM 25-75, DEM 75) sans d'autres effets sur les marqueurs de l'inflammation pulmonaire et systémique mesurés (8-IP [8-isoprostane] et NF-kB [*nuclear factor kappa B*] dans le condensat d'air exhalé [CAE] ; monoxyde d'azote exhalé ; 8-hydroxydeoxyguanosine dans les urines et plasma ; NF-kB dans le sérum). L'analyse stratifiée par type de nanomatériau a montré, à 6 mois de suivi, une diminution de l'activité antioxydante (GPX), l'augmentation des biomarqueurs cardiovasculaires (VCAM, ICAM), la génotoxicité (test des comètes) et la diminution du débit pulmonaire expiratoire (DEM 25) en relation avec l'exposition à la silice nanostructurée.

Une étude transversale menée au sein de la même cohorte a montré que le niveau de la fraction exhalée du monoxyde d'azote (FENO) est plus élevé dans le groupe exposé aux nanomatériaux comparé au groupe non exposé, mais les analyses stratifiées par type de nanomatériau ont montré une différence significative seulement pour le sous-groupe exposé au dioxyde de titane [55]. Dans la même cohorte, une étude transversale pour l'analyse spécifique de l'oxydation de l'ADN sous l'effet

du stress oxydant en relation avec l'exposition aux nanomatériaux a été menée [1]. L'augmentation des niveaux du biomarqueur 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) dans différents milieux biologiques (urine, plasma, globules blancs) ainsi que la diminution des niveaux plasmatiques des enzymes antioxydantes (SOD, GPX) ont été montrées dans toute la population exposée aux nanomatériaux comparée à celle non exposée, ainsi que dans le sous-groupe exposé à la silice nanostructurée. De plus, une corrélation négative a été montrée entre les enzymes antioxydantes et le marqueur de l'oxydation de l'ADN, le 8-OHdG, dans les urines et les globules blancs, mais pas dans le plasma. Ainsi, le 8-OHdG urinaire semble être un biomarqueur sensible de stress oxydant en rapport avec l'exposition aux nanomatériaux dont le recueil facile et non invasif est adapté aux populations de salariés exposés aux SAS. Les effets épigénétiques ont été évalués par la mesure de l'hypométhylation de l'ADN, impliquée dans les stades précoces de la cancérogénèse par l'activation des oncogènes et l'instabilité du génome, et associée à la maladie d'Alzheimer [2]. L'hypométhylation globale des globules blancs, mesurée par la diminution du biomarqueur 5-méthyl-2'-deoxycytidine (5-mdC), a été montrée pour toute la population exposée vs non exposée et dans les sous-groupes exposés à la silice nanostructurée et à l'oxyde d'étain et d'indium, mais pas pour le dioxyde de titane. Bien que tous les nanomatériaux induisent du stress oxydant, certaines expositions peuvent ne pas être assez élevées pour conduire à des effets épigénétiques [23]. Dans l'étude de Liou [2], le niveau de 5-mdC est inversement corrélé aux marqueurs d'oxydation de l'ADN, le 8-OHdG dans

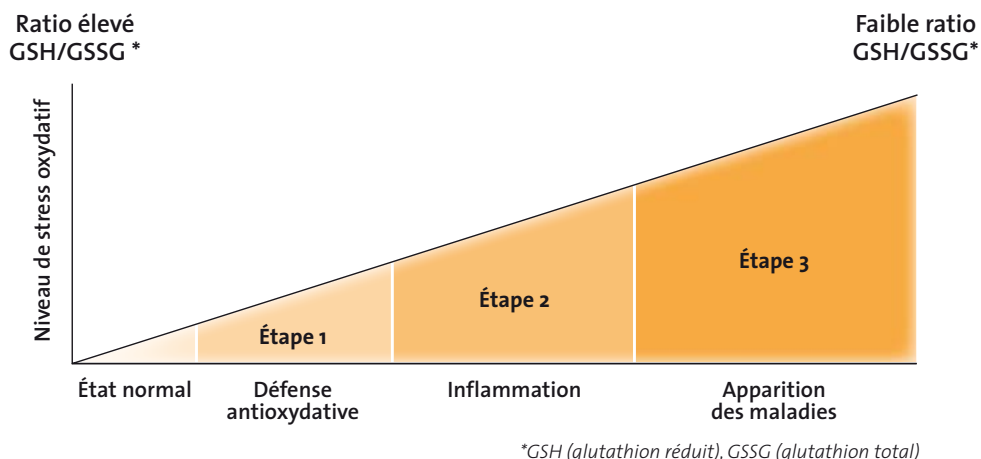
l'urine et dans les globules blancs. À noter également que, chez les travailleurs exposés à la silice nanostructurée, les marqueurs de l'oxydation de l'ADN (8-OHdG urinaire) et des lipides (8-isoprostane dans le CAE) sont plus élevés comparés aux témoins. Enfin, il a été rapporté que la méthylation de l'ADN peut être modifiée par les espèces réactives de l'oxygène sous l'effet, à long terme, de l'exposition aux particules, comme chez les travailleurs d'un haut fourneau de production d'acier (PM₁₀) [56].

MÉCANISMES PHYSIOPATHOLOGIQUES PRÉSUMÉS

Globalement, les données épidémiologiques sont en faveur de la génération des espèces réactives d'oxygène et de l'attaque oxydative comme un des principaux mécanismes de la toxicité des nanosilices et des atteintes biologiques induites, potentiellement évaluées par des biomarqueurs d'effet précoce [57].

↓ **Figure 3**

Réponse hiérarchisée au stress oxydatif (d'après [59]).



Bien que plus difficiles à définir que les biomarqueurs de susceptibilité, d'exposition et d'effet, les biomarqueurs d'effets précoces doivent permettre de révéler des modifications biochimiques à un stade préclinique, lorsque la modification de l'organisme est encore complètement réversible [58]. En effet, la réponse au stress oxydant est hiérarchisée, le passage d'un état normal à un état pathologique représente un *continuum* avec une succession des réactions d'abord physiologiques (défense antioxydative) pouvant induire une réponse inflammatoire puis conduire progressivement à la cytotoxicité contribuant au développement des pathologies (respiratoires, cardiovasculaires, cancers...) (figure 3) [59].

Il est indispensable de relier les biomarqueurs des études expérimentales à ceux des études humaines [Schulte 2018]. La littérature abondante des effets de la pollution atmosphérique ainsi que les données existantes concernant les réponses précliniques à l'exposition aux nanomatériaux permettent d'identifier plusieurs biomarqueurs pour évaluer aussi bien des effets à la

Toxicité des silices amorphes nanostructurées : état des connaissances et intérêt des biomarqueurs d'effets précoces dans la recherche

porte d'entrée (pour l'inhalation, les réponses inflammatoires et respiratoires à court terme) que les effets systémiques (comme les réponses biologiques prothrombotiques ou des protéines de phase aiguë dont la protéine C réactive, le fibrinogène ou les interleukines) [42]. Alors qu'aucune pathologie n'a encore été reliée aux nanomatériaux manufacturés, les études des effets cliniques chroniques ayant une longue latence sont peu faisables [42]. En revanche, les études épidémiologiques de type transversal permettent de détecter les changements précliniques en rapport avec des mécanismes physiopathologiques assignés aux particules ultrafines et aux nanomatériaux, liés au stress oxydant et à l'inflammation, et pouvant conduire à des dommages tissulaires des organes cibles, particulièrement l'appareil respiratoire et le système cardiovasculaire. Ainsi, l'augmentation dans le CAE des marqueurs de l'oxydation des lipides, des protéines et de l'ADN suivant une relation dose-réponse a été montrée dans la cohorte taïwanaise des travailleurs exposés principalement aux nanoparticules métalliques et carbonées à l'inclusion et après 6 mois de suivi [52, 54]. L'augmentation de ces marqueurs a également été retrouvée chez des travailleurs exposés aux nanoparticules d'oxydes de fer [61], de dioxyde de titane [62, 63] et aux nanotubes de carbone [64]. L'évaluation du stress oxydant sous l'angle de la protection antioxydative a montré une diminution des niveaux plasmatiques des enzymes antioxydantes dans la cohorte taïwanaise [52, 54] ou chez les travailleurs exposés au dioxyde de titane nanométrique [65]. Une réponse inflammatoire à l'exposition aux nanoparticules a été mise en évidence dans diffé-

rentes matrices biologiques par l'augmentation des marqueurs d'inflammation systémique (fibrinogène, cytokines proinflammatoires et facteurs de croissance – interleukines IL-6, IL-8, IL-1, FGF, TNF – chez les travailleurs exposés au noir de carbone [66], aux nanotubes de carbone [67] ou au dioxyde de titane [65]), des marqueurs cardiovasculaires précoces comme ceux de l'atteinte endothéliale (concentration de ICAM-1 et VCAM-1 augmentée chez les travailleurs exposés au dioxyde de titane [65] ou aux nanotubes de carbone [68]) et des marqueurs de l'inflammation pulmonaire (augmentation de la fraction exhalée du monoxyde d'azote chez les travailleurs de la cohorte taïwanaise exposés aux nanoparticules métalliques [55]).

Tous ces biomarqueurs, bien que non spécifiques, ont été validés dans des études humaines comme étant suffisamment sensibles pour évaluer les réponses biologiques aux expositions à différentes particules nanostructurées [42].

La toxicité des silices amorphes nanostructurées est clairement associée à l'induction du stress oxydant, bien que d'autres mécanismes indépendants de la génération des espèces réactives aient été aussi rapportés [13]. Ainsi, la toxicité des SAS semble complexe et incomplètement connue puisque des réponses proinflammatoires et cytotoxiques ont été rapportées en l'absence d'espèces réactives [69]. Des effets pléiotropes indépendants (stress oxydant, inflammation, cytotoxicité) pourraient également être liés aux propriétés des silices nanoparticulaires et à la nature des cellules cible. De plus, la nanotoxicologie a rapporté que les mécanismes épigénétiques pourraient altérer l'expression des gènes [24, 25].

Par conséquent, sur la base des données publiées, les biomarqueurs pouvant être retenus en réponse à l'exposition aux SAS sont ceux du mécanisme oxydatif (oxydation des protéines, des lipides, de l'ADN et les activités antioxydantes), de l'inflammation (systémique, cardiovasculaire, pulmonaire) et de la réponse génétique (génotoxicité, épigénétique). Ces biomarqueurs ont été analysés dans des populations de travailleurs manipulant différents nanomatériaux manufacturés, dont des SAS [1, 2, 54], comme cela a été présenté ci-dessus.

CONCLUSION

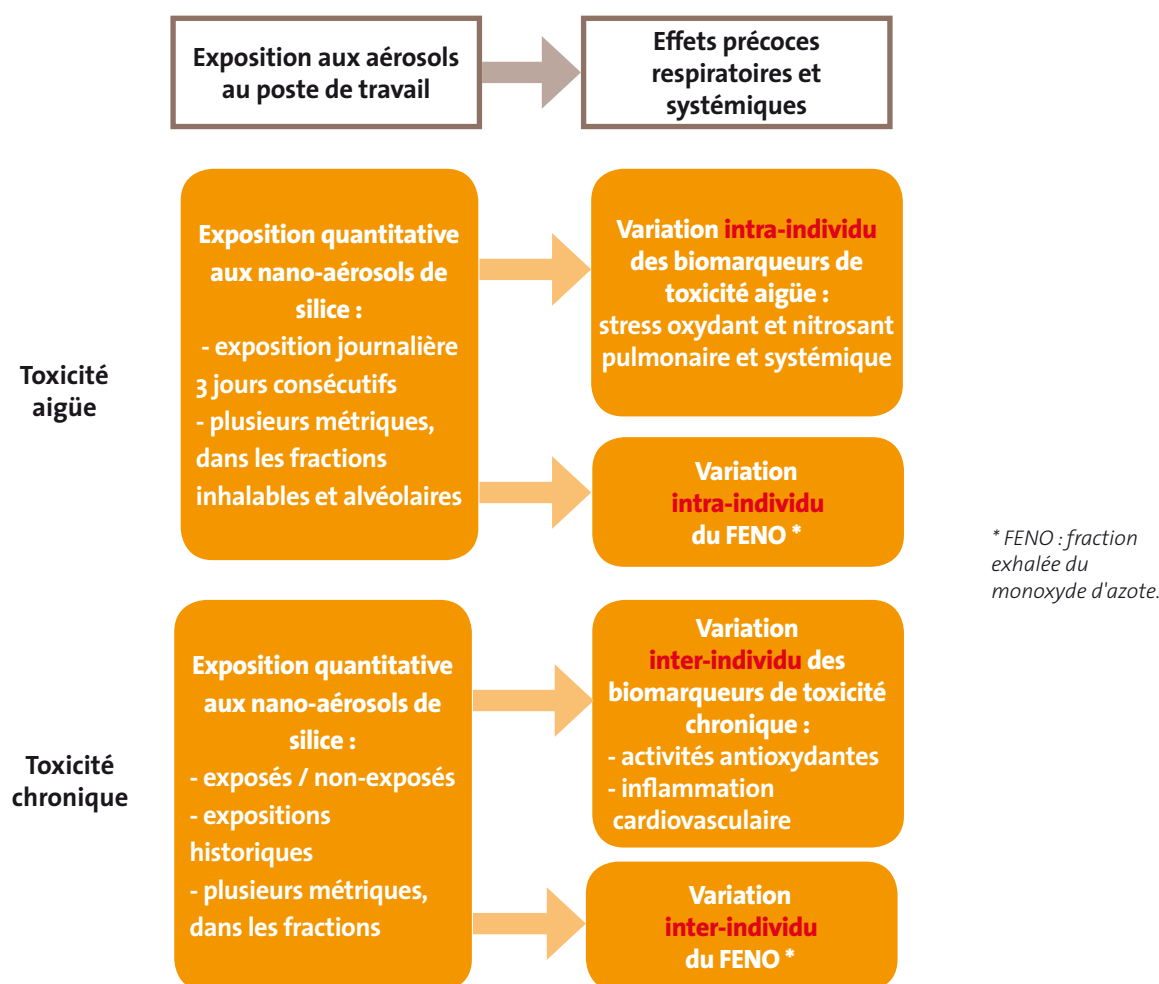
À l'issue de cet état des connaissances, la conclusion générale retenue est que, malgré la richesse des données concernant la toxicité aiguë *in vitro* et *in vivo*, les études expérimentales de toxicité chronique sont insuffisantes pour permettre une extrapolation à l'homme. L'hypothèse d'une toxicité liée aux groupements fonctionnels de surface (silanols, silanolates, siloxanes) est évoquée [28].

Les données toxicologiques disponibles ne peuvent statuer ni sur un effet chronique de l'exposition aux SAS ni sur une extrapolation chez l'homme. Le manque de données d'exposition en situation de travail et de données épidémiologiques correspondantes ne permet pas de conclure sur les effets en rapport avec l'exposition professionnelle aux SAS.

Dans ce contexte, l'INRS conduit, de 2019 à 2023, une étude de biomarqueurs d'effets précoces de l'exposition aux SAS inscrite dans un *continuum* alliant des études expérimentales génératrices d'hypothèses de recherche [22, 24, 70 à 72], une étude de filière antérieure

↓ **Figure 4**

Modèle conceptuel de l'effet de l'exposition aux silices amorphes synthétiques sur les biomarqueurs d'effets précoces.



concernant la production et l'utilisation des particules nanostructurées [4] et la recherche d'effets précoces dans de nouvelles matrices biologiques comme le condensat dans l'air expiré (CAE) [73].

L'objectif principal de l'étude est d'analyser l'effet de l'exposition professionnelle quantifiée aux silices amorphes nanostructurées sur des biomarqueurs d'effets précoces mesurés dans des matrices biologiques recueillies en entreprise (CAE, sang, urines) pour explorer différents mécanismes physiopathologiques de toxicité (figure 4). L'étude permettra également :

- d'analyser la relation entre l'exposition aux SAS et la fraction exhalée du monoxyde d'azote

(FENO) comme marqueur de l'inflammation broncho-pulmonaire ; ● de tester la faisabilité du dosage de la silice nanométrique dans le CAE.

La quantification de l'exposition aux silices nanostructurées repose sur une stratégie [74] incluant la caractérisation physico-chimique des matières premières à la source de l'exposition et des mesures d'exposition des travailleurs au poste de travail par des prélèvements atmosphériques individuels et d'ambiance, permettant d'obtenir plusieurs métriques (masse, taille, surface, granulométrie, nombre de particules).

Cette étude de biomarqueurs pourra apporter de nouvelles connais-

sances concernant les mécanismes physiopathologiques pouvant évoluer vers la toxicité d'organe (poumon, système cardiovasculaire) et les événements biologiques (génétiques, épigénétiques, production des espèces réactives d'oxygène et d'azote) contemporains de l'exposition. Les mesures concomitantes de l'exposition au poste de travail représentent une force de l'étude permettant la recherche des métriques toxicologiquement pertinentes.

Les résultats de cette étude seront les premières données épidémiologiques chez des travailleurs actifs en rapport avec une exposition professionnelle actuelle et quantifiée aux SAS. Les données actuelles

Toxicité des silices amorphes nanostructurées : état des connaissances et intérêt des biomarqueurs d'effets précoces dans la recherche

étant insuffisantes pour l'évaluation des risques en rapport avec l'exposition professionnelle aux SAS, l'analyse des biomarqueurs d'effet précoce chez les travailleurs exposés aux SAS contribuera à une meilleure connaissance de ce danger et des risques en situation de travail ainsi qu'à la recherche des métriques toxicologiquement pertinentes. Que l'étude montre ou pas des effets précoces chez les travailleurs exposés aux silices nanostructurées, ses résultats contribueront à combler le manque de données chez l'homme pour évaluer le risque d'une toxicité spécifique liée à la taille nanométrique et la grande réactivité de surface des silices amorphes synthétiques. Les résultats de l'étude serviront, le cas échéant, à adapter les mesures de prévention chez les salariés exposés aux SAS par un meilleur contrôle des expositions pour une diminution/suppression du risque.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 | LIU SH, CHEN YC, LIAO HY, WANG CJ ET AL. - Increased levels of oxidative stress biomarkers in metal oxides nanomaterial-handling workers. *Biomarkers*. 2016 ; 21 (7) : 600-06.
- 2 | LIU SH, WU WT, LIAO HY, CHEN CY ET AL. - Global DNA methylation and oxidative stress biomarkers in workers exposed to metal oxide nanoparticles. *J Hazard Mater*. 2017 ; 331 : 329-35.
- 3 | Évaluation des risques liés aux nanomatériaux. Enjeux et mises à jour des connaissances. Avis de l'ANSES. Rapport d'expertise collective. Maisons-Alfort : ANSES ; 2014 ; 180 p.
- 4 | HONNERT B, VINCENT R - Production et utilisation industrielle des particules nanostructurées. Note documentaire ND 2277. *Hyg Secur Trav. Cah Notes Doc*. 2007 ; 209 : 5-21.
- 5 | RICAUD M - Les silices amorphes. Le point des connaissances sur... ED 5033. Paris : INRS ; 2007 : 6 p.
- 6 | Éléments issus des déclarations des substances à l'état nanoparticulaire. Rapport d'étude R-nano 2017. Ministère de la transition écologique et solidaire, 2017 (www.ecologique-solidaire.gouv.fr/nanomateriaux).
- 7 | WHO Guidelines on protecting workers from potential risks of manufactured nanomaterials. Genève : World Health Organization ; 2017 : 85 p.
- 8 | LEUNG CC, YU IT, CHEN W - Silicosis. *Lancet*. 2012 ; 379 (9830) : 2008-18.
- 9 | BRAAKHUIS HM, PARK MV, GOSENS I, DE JONG WH ET AL. - Physicochemical characteristics of nanomaterials that affect pulmonary inflammation. *Part Fibre Toxicol*. 2014 ; 11 : 18.
- 10 | OBERDÖRSTER G - Safety assessment for nanotechnology and nanomedicine: concepts of nanotoxicology. *J Intern Med*. 2010 ; 267 (1) : 89-105.
- 11 | PAVAN C, FUBINI B - Unveiling the Variability of "Quartz Hazard" in Light of Recent Toxicological Findings. *Chem Res Toxicol*. 2017 ; 30 (1) : 469-85.
- 12 | OSTIGUY C, SOUCY B, LAPOINTE G, WOODS C ET AL. - Les effets sur la santé reliés aux nanoparticules. 2^e édition. Études et recherches. Rapport R-558. Montréal : Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail (IRSST) ; 2008 : 112 p.
- 13 | MURUGADOSS S, LISON D, GODDERIS L, VAN DEN BRULE S ET AL. - Toxicology of silica nanoparticles: an update. *Arch Toxicol*. 2017 ; 91 (9) : 2967-3010.
- 14 | FRUITIER-PÖLLOTH C - The toxicological mode of action and the safety of synthetic amorphous silica-nanostructured material. *Toxicology*. 2012 ; 294 (2-3) : 61-79.

POINTS À RETENIR

- Les silices amorphes synthétiques (SAS) présentent une multitude d'applications industrielles et biomédicales.
- Les SAS représentent, après le noir de carbone, la 2^e catégorie de substances à l'état nanoparticulaire produite et utilisée en France et dans le monde.
- Bien que sans effets sanitaires spécifiques sous forme naturelle, la question d'une toxicité spécifique des silices amorphes synthétiques liée à leur état nanoparticulaire et à leurs groupements fonctionnels de surface a été étudiée, particulièrement dans des études expérimentales et très peu dans des études humaines.
- Une toxicité à court terme a été mise en évidence dans les études expérimentales, pour des fortes doses administrées et par différentes voies d'exposition, mais rarement par inhalation.
- Les données humaines, très rares et sans quantification des expositions en situation de travail, ne permettent pas, à ce jour, de statuer sur les effets sanitaires à long terme des expositions professionnelles aux SAS.
- Les réponses biologiques à l'exposition aux SAS impliquent principalement le stress oxydatif, l'inflammation et les altérations génétiques, pouvant évoluer vers la toxicité d'organe (appareil respiratoire, système cardiovasculaire).
- L'analyse des biomarqueurs d'effet précoce en rapport avec ces mécanismes physiopathologiques et mesurés dans différentes matrices biologiques permet de détecter des changements infracliniques pouvant être réversibles.
- L'INRS conduit, de 2019 à 2023, une étude de biomarqueurs d'effets précoces pulmonaires et systémiques en rapport avec l'exposition professionnelle aux SAS quantifiée suivant plusieurs métriques.

- 15 | NAPIERSKA D, THOMASSEN LC, LISON D, MARTENS JA ET AL. - The nanosilica hazard: another variable entity. *Part Fibre Toxicol.* 2010 ; 7 (1) : 39.
- 16 | DI CRISTO L, MOVIA D, BIANCHI MG, ALLEGRI M ET AL. - Proinflammatory Effects of Pyrogenic and Precipitated Amorphous Silica Nanoparticles in Innate Immunity Cells. *Toxicol Sci.* 2016 ; 150 (1) : 40-53.
- 17 | ZHANG H, DUNPHY DR, JIANG X, MENG H ET AL. - Processing pathway dependence of amorphous silica nanoparticle toxicity: colloidal vs pyrolytic. *J Am Chem Soc.* 2012 ; 134 (38) : 15790-804.
- 18 | ANDUIAR P, LANONE S, BROCHARD P, BOCZKOWSKI J - Effets respiratoires des nanoparticules manufacturées. *Rev Mal Respir.* 2009 ; 26 (6) : 625-37.
- 19 | PARK MV, VERHAREN HW, ZWART E, HERNANDEZ LG ET AL. - Genotoxicity evaluation of amorphous silica nanoparticles of different sizes using the micronucleus and the plasmid lacZ gene mutation assay. *Nanotoxicology.* 2011 ; 5 (2) : 168-81.
- 20 | GUO C, WANG J, JING L, MA R ET AL. - Mitochondrial dysfunction, perturbations of mitochondrial dynamics and biogenesis involved in endothelial injury induced by silica nanoparticles. *Environ Pollut.* 2018 ; 236 : 926-36.
- 21 | LIU N, TANG M - Toxic effects and involved molecular pathways of nanoparticles on cells and subcellular organelles. *J Appl Toxicol.* 2019 (à paraître).
- 22 | FONTANA C, KIRSCH A, SEIDEL C, MARPEAUX L ET AL. - In vitro cell transformation induced by synthetic amorphous silica nanoparticles. *Mutat Res.* 2017 ; 823 : 22-27.
- 23 | WONG BSE, HU Q, BAEG GH - Epigenetic modulations in nanoparticle-mediated toxicity. *Food Chem Toxicol.* 2017 ; 109 (Pt 1) : 746-52.
- 24 | SEIDEL C, KIRSCH A, FONTANA C, VISVIKIS A ET AL. - Epigenetic changes in the early stage of silica-induced cell transformation. *Nanotoxicology.* 2017 ; 11 (7) : 923-35.
- 25 | GONG C, TAO G, YANG L, LIU J ET AL. - SiO₂ nanoparticles induce global genomic hypomethylation in HaCaT cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010 ; 397 (3) : 397-400.
- 26 | GUO C, XIA Y, NIU P, JIANG L ET AL. - Silica nanoparticles induce oxidative stress, inflammation, and endothelial dysfunction in vitro via activation of the MAPK/Nrf2 pathway and nuclear factor-κB signaling. *Int J Nanomedicine.* 2015 ; 10 : 1463-77.
- 27 | RADOMSKI A, JURASZ P, ALONSO-ESCOLANO D, DREWS M ET AL. - Nanoparticle-induced platelet aggregation and vascular thrombosis. *Br J Pharmacol.* 2005 ; 146 (6) : 882-93.
- 28 | TURCI F, PAVAN C, LEINARDI R, TOMATIS M ET AL. - Revisiting the paradigm of silica pathogenicity with synthetic quartz crystals: the role of crystallinity and surface disorder. *Part Fibre Toxicol.* 2016 ; 13 (1) : 32.
- 29 | GEHRKE H, FRÜHMESSER A, PELKA J, ESSELEN M ET AL. - In vitro toxicity of amorphous silica nanoparticles in human colon carcinoma cells. *Nanotoxicology.* 2013 ; 7 (3) : 274-93.
- 30 | CHEN Z, MENG H, XING G, YUAN H ET AL. - Age-related differences in pulmonary and cardiovascular responses to SiO₂ nanoparticle inhalation: nanotoxicity has susceptible population. *Environ Sci Technol.* 2008 ; 42 (23) : 8985-92.
- 31 | DU Z, ZHAO D, JING L, CUI G ET AL. - Cardiovascular toxicity of different sizes amorphous silica nanoparticles in rats after intratracheal instillation. *Cardiovasc Toxicol.* 2013 ; 13 (3) : 194-207.
- 32 | SUTUNKOVA MP, SOLOVYVEVA SN, KATSNELSON B, GURVICH VB ET AL. - A paradoxical response of the rat organism to long-term inhalation of silica-containing submicron (predominantly nanoscale) particles of a collected industrial aerosol at realistic exposure levels. *Toxicology.* 2017 ; 384 : 59-68.
- 33 | ARTS JH, MUIJSER H, DUISTERMAAT E, JUNKER K ET AL. - Five-day inhalation toxicity study of three types of synthetic amorphous silicas in Wistar rats and post-exposure evaluations for up to 3 months. *Food Chem Toxicol.* 2007 ; 45 (10) : 1856-67.
- 34 | POTT F, ROLLER M - Carcinogenicity study with nineteen granular dusts in rats. *Eur J Oncol.* 2005 ; 10 (4) : 249-81.
- 35 | VALBERG PA, BRUCH J, MCCUNNEY RJ - Are rat results from intratracheal instillation of 19 granular dusts a reliable basis for predicting cancer risk? *Regul Toxicol Pharmacol.* 2009 ; 54 (1) : 72-83.
- 36 | KOLLING A, ERNST H, RITTINGHAUSEN S, HEINRICH U - Relationship of pulmonary toxicity and carcinogenicity of fine and ultrafine granular dusts in a rat bioassay. *Inhal Toxicol.* 2011 ; 23 (9) : 544-54.
- 37 | MILLER KA, SISCOVICK DS, SHEPPARD L, SHEPHERD K ET AL. - Long-term exposure to air pollution and incidence of cardiovascular events in women. *N Engl J Med.* 2007 ; 356 (5) : 447-58.
- 38 | HESTERBERG TW, LONG CM, BUNN WB, SAX SN ET AL. - Non-cancer health effects of diesel exhaust: a critical assessment of recent human and animal toxicological literature. *Crit Rev Toxicol.* 2009 ; 39 (3) : 195-227.
- 39 | HESTERBERG TW, LONG CM, LAPIN CA, HAMADE AK ET AL. - Diesel exhaust particulate (DEP) and nanoparticle exposures: what do DEP human clinical studies tell us about potential human health hazards of nanoparticles? *Inhal Toxicol.* 2010 ; 22 (8) : 679-94.
- 40 | WITSCHGER O, FABRIES JF - Particules ultra-fines et santé au travail. 1 : caractéristiques et effets potentiels sur la santé. Note documentaire ND 2227. *Hyg Sécurité Trav. Cah Notes Doc.* 2005 ; 199 : 21-35.
- 41 | OBERDÖRSTER G, MAYNARD A, DONALDSON K, CASTRANOVA V ET AL. - Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Part Fibre Toxicol.* 2005 ; 2 (8) : 1-35.
- 42 | BERGAMASCHI E - Human Biomonitoring of Engineered Nanoparticles: An Appraisal of Critical Issues and Potential Biomarkers. *J Nanomater.* 2012 ; 2012 : 1-12.
- 43 | BROOK RD, RAJAGOPALAN S, POPE CA 3rd, BROOK JR ET AL. - Particulate matter air pollution and cardiovascular disease: An update to the scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2010 ; 121 (21) : 2331-78.
- 44 | DE MARCHIS P, VERSO MG, TRAMUTO F, AMODIO E ET AL. - Ischemic cardiovascular disease in workers occupationally exposed to urban air pollution. A systematic review. *Ann Agric Environ Med.* 2018 ; 25 (1) : 162-66.
- 45 | KELLY FJ, FUSSELL JC - Role of oxidative stress in cardiovascular disease outcomes following exposure to ambient air pollution. *Free Radic Biol Med.* 2017 ; 110 : 345-67.
- 46 | UNFRIED K, ALBRECHT C, KLOTZ LO, VON MIKECZ A ET AL. - Cellular responses ■ ■ ■

Toxicité des silices amorphes nanostructurées : état des connaissances et intérêt des biomarqueurs d'effets précoces dans la recherche

BIBLIOGRAPHIE (SUITE)

- to nanoparticles: target structures and mechanisms. *Nanotoxicology*. 2009 ; 1 (1) : 52-71.
- 47 | LIAUDET L - Biologie oxydative et implications cliniques du peroxy-nitrite. *Rev Méd Suisse*. 2007 ; 3 (137) : 2840-43
- 48 | KELLY FJ - Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects. *Occup Environ Med*. 2003 ; 60 (8) : 612-16.
- 49 | SONG Y, LI X, DU X - Exposure to nanoparticles is related to pleural effusion, pulmonary fibrosis and granuloma. *Eur Respir J*. 2009 ; 34 (3) : 559-67.
- 50 | ZHU X, CAO W, CHANG B, ZHANG L ET AL. - Polyacrylate/nanosilica causes pleural and pericardial effusion, and pulmonary fibrosis and granuloma in rats similar to those observed in exposed workers. *Int J Nanomedicine*. 2016 ; 11 : 1593-605.
- 51 | TAEGER D, MCCUNNEY R, BAILER U, BARTHEL K ET AL. - Cross-Sectional Study on Nonmalignant Respiratory Morbidity due to Exposure to Synthetic Amorphous Silica. *J Occup Environ Med*. 2016 ; 58 (4) : 376-84.
- 52 | LIU SH, TSOU TC, WANG SL, LI LA ET AL. - Epidemiological study of health hazards among workers handling engineered nanomaterials. *J Nanopart Res*. 2012 ; 14 (8) : 878.
- 53 | LIAO HY, CHUNG YT, LAI CH, LIN M ET AL. - Sneezing and allergic dermatitis were increased in engineered nanomaterial handling workers. *Ind Health*. 2014 ; 52 (3) : 199-215.
- 54 | LIAO HY, CHUNG YT, LAI CH, WANG SL ET AL. - Six-month follow-up study of health markers of nanomaterials among workers handling engineered nanomaterials. *Nanotoxicology*. 2014 ; 8 (Suppl 1) : 100-10.
- 55 | WU WT, LIAO HY, CHUNG YT, LI WF ET AL. - Effect of nanoparticles exposure on fractional exhaled nitric oxide (FENO) in workers exposed to nanomaterials. *Int J Mol Sci*. 2014 ; 15 (1) : 878-94.
- 56 | TARANTINI L, BONZINI M, APOSTOLI P, PEGORARO V ET AL. - Effects of particulate matter on genomic DNA methylation content and iNOS promoter methylation. *Environ Health Perspect*. 2009 ; 117 (2) : 217-22.
- 57 | SCHULTE PA, LESO V, NIANG M, IAVICOLI I - Current state of knowledge on the health effects of engineered nanomaterials in workers: a systematic review of human studies and epidemiological investigations. *Scand J Work Environ Health*. 2019 ; 45 (3) : 217-38.
- 58 | VICENS F - Indicateurs biologiques d'effets précoces. Leur utilisation dans la prévention du risque chimique en santé au travail. Grand angle TC 149. *Réf Santé Trav*. 2015 ; 141 : 23-33.
- 59 | NEL A, XIA T, MÄDLER L, LI N - Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*. 2006 ; 311 (5761) : 622-27.
- 60 | SCHULTE P, LESO V, NIANG M, IAVICOLI I - Biological monitoring of workers exposed to engineered nanomaterials. *Toxicol Lett*. 2018 ; 298 : 112-24.
- 61 | PELCLOVA D, ZDIMAL V, KACER P, FENCLOVA Z ET AL. - Oxidative stress markers are elevated in exhaled breath condensate of workers exposed to nanoparticles during iron oxide pigment production. *J Breath Res*. 2016 ; 10 (1) : 016004.
- 62 | PELCLOVA D, ZDIMAL V, FENCLOVA Z, VLCKOVA S ET AL. - Markers of oxidative damage of nucleic acids and proteins among workers exposed to TiO₂ (nano) particles. *Occup Environ Med*. 2016 ; 73 (2) : 110-18.
- 63 | PELCLOVA D, ZDIMAL V, KACER P, ZIKOVA N ET AL. - Markers of lipid oxidative damage in the exhaled breath condensate of nano TiO₂ production workers. *Nanotoxicology*. 2017 ; 11 (1) : 52-63.
- 64 | LEE JS, CHOI YC, SHIN JH, LEE JH ET AL. - Health surveillance study of workers who manufacture multi-walled carbon nanotubes. *Nanotoxicology*. 2015 ; 9 (6) : 802-11.
- 65 | ZHAO L, ZHU Y, CHEN Z, XU H ET AL. - Cardiopulmonary effects induced by occupational exposure to titanium dioxide nanoparticles. *Nanotoxicology*. 2018 ; 12 (2) : 169-84.
- 66 | ZHANG R, DAI Y, ZHANG X, NIU Y ET AL. - Reduced pulmonary function and increased pro-inflammatory cytokines in nanoscale carbon black-exposed workers. *Part Fibre Toxicol*. 2014 ; 11 : 73.
- 67 | VLAANDEREN J, PRONK A, ROTHMAN N, HILDESHEIM A ET AL. - A cross-sectional study of changes in markers of immunological effects and lung health due to exposure to multi-walled carbon nanotubes. *Nanotoxicology*. 2017 ; 11 (3) : 395-404.
- 68 | KUIPERS E, PRONK A, KLEEMANN R, VLAANDEREN J ET AL. - Cardiovascular effects among workers exposed to multiwalled carbon nanotubes. *Occup Environ Med*. 2018 ; 75 (5) : 351-58.
- 69 | FRITSCH-DECKER S, MARQUARDT C, STOEGER T, DIABATÉ S ET AL. - Revisiting the stress paradigm for silica nanoparticles: decoupling of the anti-oxidative defense, pro-inflammatory response and cytotoxicity. *Arch Toxicol*. 2018 ; 92 (7) : 2163-74.
- 70 | DARNE C, COULAIS C, TERZETTI F, FONTANA C ET AL. - In vitro comet and micronucleus assays do not predict morphological transforming effects of silica particles in Syrian Hamster Embryo cells. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2016 ; 796 : 23-33.
- 71 | GUICHARD Y, MAIRE MA, SÉBILLAUD S, FONTANA C ET AL. - Genotoxicity of synthetic amorphous silica nanoparticles in rats following short-term exposure. Part 2: intratracheal instillation and intravenous injection. *Environ Mol Mutagen*. 2015 ; 56 (2) : 228-44.
- 72 | GUICHARD Y, FONTANA C, CHAVINIER E, TERZETTI F ET AL. - Cytotoxic and genotoxic evaluation of different synthetic amorphous silica nanomaterials in the V79 cell line. *Toxicol Ind Health*. 2016 ; 32 (9) : 1639-50.
- 73 | RADAUCEANU A, GRZEBYK M, HULO S, EDME JL ET AL. - Analyse des biomarqueurs dans le condensat de l'air exhalé dans une population de salariés exposés professionnellement au béryllium et/ou ses composés. Vu du terrain TF 242. *Réf Santé Trav*. 2016 ; 148 : 57-72.
- 74 | WITSCHGER O, LE BIHAN O, REYNIER M, DURAND C ET AL. - Préconisations en matière de caractérisation des potentiels d'émission et d'exposition professionnelle aux aérosols lors d'opérations mettant en oeuvre des nanomatériaux. Note documentaire ND 2355. *Hyg Secur Trav*. 2012 ; 226 : 41-55.