

## Biomonitoring de nanoparticules dans des échantillons biologiques humains pour étudier le rôle des nanoparticules inhalées biopersistantes dans l'étiologie des maladies respiratoires

Valérie Forest<sup>1</sup>, Jérémie Pourchez<sup>1</sup>, Kévin Bernal<sup>1</sup>, Ozge Kose<sup>1</sup>, Lara Leclerc<sup>1</sup>, Jean-Michel Vergnon<sup>2,3</sup>.

<sup>1</sup> Mines Saint-Etienne, Univ Jean Monnet, INSERM, U 1059 Sainbiose, Centre CIS, F-42023 Saint-Etienne, France; <sup>2</sup> Univ Lyon, Univ Jean Monnet, INSERM, U 1059 Sainbiose, F-42023 Saint-Etienne, France ; <sup>3</sup> CHU Saint-Etienne, Service de Pneumologie, F-42055 Saint-Etienne, France.

E-mail de l'oratrice ou orateur : [vforest@emse.fr](mailto:vforest@emse.fr)

Dans un contexte d'évaluation des risques pour la santé, la surveillance biologique (ou biomonitoring) des nanoparticules dans les lavages broncho-alvéolaires (LBA) humains, associée à l'étude de leur toxicité *in vitro*, pourrait être une approche particulièrement utile pour obtenir de nouvelles informations sur le rôle des nanoparticules inhalées biopersistantes dans l'étiologie et/ou le développement de certaines maladies respiratoires. Le biomonitoring a été largement utilisé en pneumologie car il peut apporter des informations essentielles sur la relation entre l'exposition à une substance nocive et des effets biologiques/pathologiques.

Notre objectif était d'effectuer des analyses minéralogiques pour évaluer la présence de nanoparticules dans le LBA de patients souffrant de pneumopathies interstitielles diffuses (PID) et d'étudier la corrélation potentielle avec les données cliniques (en particulier la relation avec les maladies idiopathiques).

Nous avons mené un essai clinique sur une cohorte de 100 patients souffrant de PID (essai clinique NanoPI, ClinicalTrials.gov Identifier : NCT02549248). Grâce à des protocoles innovants que nous avons développés à cet effet, nous avons séparé les particules de taille micronique (>1 µm) des particules submicroniques (100 nm-1 µm) et nanométriques (<100 nm) contenues dans le LBA. Nous avons ensuite déterminé la charge métallique de chacune de ces fractions. Nous avons mis en évidence une concentration de particules submicroniques de silice plus élevée chez les patients souffrant de sarcoïdose que chez les patients souffrant d'autres PID, ce qui suggère un rôle potentiel de ces particules dans l'étiologie et/ou le développement de la sarcoïdose.

Pour mieux comprendre les mécanismes de toxicité sous-jacents, nous avons alors proposé de coupler ce biomonitoring de particules à l'évaluation *in vitro* de leur toxicité. Cependant, les LBA obtenus en pratique clinique régulière sont conditionnés avec une solution d'hypochlorite de sodium (dans un rapport volumique de 50%), qui est toxique pour les cellules. Nous avons donc développé un protocole pour neutraliser l'hypochlorite de sodium, permettant d'étudier correctement la toxicité des nanoparticules contenues dans le LBA. Nous avons d'abord essayé de neutraliser chimiquement l'hypochlorite de sodium à l'aide de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, d'acide ascorbique ou d'ascorbate de sodium, mais cette approche s'est révélée infructueuse. En outre, les tests toxicologiques standards (MTT, LDH) n'ont pas pu être utilisés en raison d'interférences avec les solutions neutralisantes. Nous avons donc changé de stratégie et utilisé l'ultracentrifugation pour isoler les nanoparticules de la solution d'hypochlorite de sodium, avec des rendements d'extraction satisfaisants (88 à 100%). Nous avons ensuite incubé les nanoparticules extraites avec des macrophages de la lignée cellulaire RAW264.7 et évalué la viabilité cellulaire et la réponse pro-inflammatoire. Cette étude peut être utilisée comme preuve de concept pour une étude plus approfondie de l'impact biologique des nanoparticules inhalées biopersistantes. Cette approche ouvre la voie à des études visant à mieux comprendre l'étiologie de certaines maladies idiopathiques et les mécanismes sous-jacents.