

LES TESTS IN VITRO À L'INTERFACE AIR-LIQUIDE permettent-ils de mieux prédire la toxicité pulmonaire des nanoparticules ?



TRANSLATION

L'utilisation croissante de nanoparticules (NPs) dans les produits manufacturés entraîne une augmentation potentielle de l'exposition. L'homme peut être exposé par voie respiratoire, d'autant plus que les NPs se remettent facilement en suspension dans l'air du fait de leur petite taille. Cela suscite des interrogations quant à un potentiel impact sanitaire, pour les travailleurs comme pour le grand public. Les potentiels dangers des NPs pour l'homme après inhalation peuvent être évalués par des études de toxicologie chez l'animal. C'est le modèle actuellement le plus fiable pour prédire de potentiels effets indésirables chez l'homme, du fait d'un niveau de complexité similaire par rapport à l'humain. Néanmoins, considérant le nombre important de NPs existantes et du fait d'une grande diversité physico-chimique entre celles-ci, il paraît nécessaire de trouver des modèles fiables qui pourraient être utilisés comme alternative au modèle animal.

Développer des modèles alternatifs

Les études *in vitro* sur cellules pulmonaires représentent une alternative pertinente pour

Nanoparticles (NPs) are potentially toxic for humans, especially after inhalation. The animal model is a relevant tool to predict potential adverse effects in human, because of a similar level of complexity existing between the two models. Nevertheless, considering the high number of NPs used and their physicochemical diversity, it seems difficult to rely only on animal experimentation. In this context, it is necessary to find reliable models which can be used as alternative to the *in vivo*. The aim of this study was to assess the ability of several *in vitro* methods, including more realistic methods allowing exposure of lung cells at the air-liquid interface to aerosols of NPs, to predict the pulmonary adverse effects observed *in vivo*. For this purpose, *in vitro* and *in vivo* experiments were performed. It was observed that using more realistic *in vitro* methods can predict more closely the biological responses observed *in vivo* after acute exposure to NPs. This shows the relevance of developing and using more realistic *in vitro* methods and suggests perspectives regarding the implementation of standardized methodologies which could be used for *in vitro* based regulation.

évaluer la toxicité pulmonaire des NPs après exposition aiguë. En revanche, la capacité de ces modèles à prédire les effets biologiques observés *in vivo* chez l'animal a été très peu étudiée. Cela représente un frein dans la mise en place de réglementations basées sur l'utilisation de modèles alternatifs ; c'est l'un des objectifs du projet européen NANoREG dont l'INERIS est partenaire.

Par ailleurs, *in vitro*, les effets toxiques sont le plus souvent évalués en utilisant des modèles constitués d'un seul type cellulaire, qui sont exposés quelques heures à des NPs mises en suspension dans le milieu de culture. Ces conditions d'exposition ne sont pas représentatives des interactions qui ont lieu dans les poumons entre les NPs et les cellules et peuvent ainsi donner des réponses biologiques différentes



FIGURES

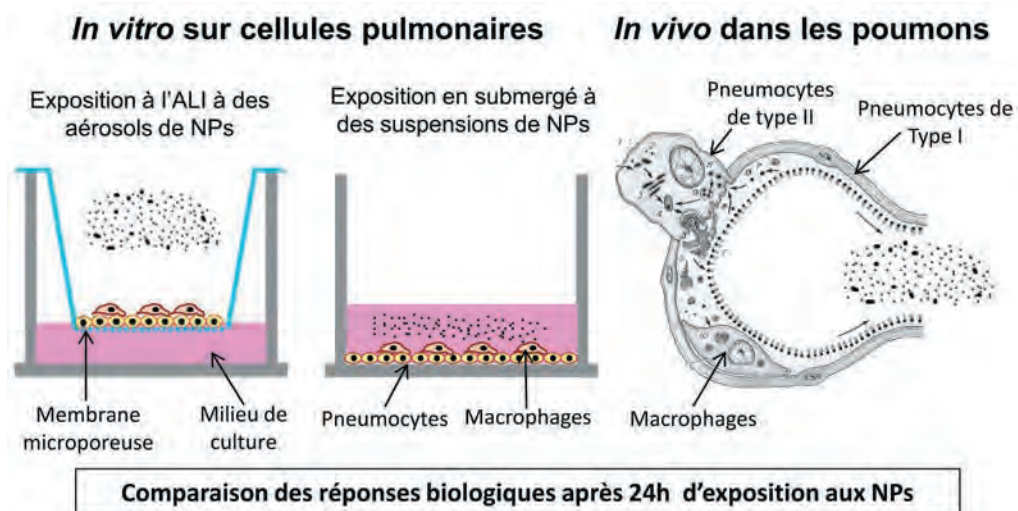


Fig1 Conditions expérimentales utilisées pour effectuer les comparaisons vivo-vitro



RÉFÉRENCES

[1] Dekali, S. (2013). *Développement de modèles in vitro de la barrière alvéolo-capillaire pour l'étude de la toxicité et du passage des nanoparticules* (Thèse de doctorat, Paris 5).

[2] Loret, T et al. (2016). *Air-liquid interface exposure to aerosols of poorly soluble nanomaterials induces different biological activation levels compared to exposure to suspensions*. Particle and Fibre Toxicology, in press.

de celles observées *in vivo*. En revanche, d'important progrès ont été faits récemment pour simuler à l'échelle *in vitro* les interactions qui ont lieu *in vivo* dans les poumons. Des modèles cellulaires plus complexes [1] et des méthodes d'exposition plus physiologiques ont été développés. Notamment, les systèmes d'exposition à l'interface-air liquide (ALI) permettent de déposer sur des cellules pulmonaires des NPs présentes dans un aérosol, similairement à ce qui se passe *in vivo* au niveau des alvéoles. Ces nouvelles méthodologies pourraient permettre de prédire de manière plus fiable les réponses biologiques observées *in vivo*.

Pour évaluer cela, des expérimentations *in vitro* et *in vivo* (Fig1) ont été menées. *In vitro*, plusieurs modèles cellulaires, plus ou moins complexes, ont été exposés à l'ALI à des aérosols et en submergé à des suspensions de NPs peu solubles (TiO_2 et CeO_2) [2]. Des expérimentations *in vivo* sur rongeurs ont été réalisées en parallèle, en utilisant des NPs identiques et des conditions d'exposition et des marqueurs d'effets biologiques similaires. Après 24 h d'exposition, la toxicité a été évaluée à l'aide de plusieurs tests et les résultats de toxicité obtenus *in vitro* ont été comparés à ceux obtenus *in vivo*. Pour cela, les doses de NPs entrant en contact avec les matrices biologiques ont été évaluées et des référentiels

de doses similaires *in vivo* et *in vitro* ont été sélectionnés.

Résultats

Il a été observé que l'utilisation de modèles cellulaires *in vitro* plus représentatifs de l'organisation cellulaire au niveau des poumons et des méthodes d'exposition *in vitro* plus réalistes permet de générer des réponses biologiques à 24 h à des doses plus réalistes et plus proches de celles induisant des effets *in vivo* au niveau pulmonaire. La méthodologie d'exposition à l'ALI s'est donc révélée plus pertinente pour approcher la toxicité absolue des NPs testées dans l'étude. Néanmoins, il a été constaté que la méthode *in vitro* en submergé, qui est la plus simple à mettre en œuvre, pouvait être utilisée pour établir un classement relatif des NPs en fonction de leur toxicité. En effet, les NPs utilisées dans l'étude ont pu être classées de manière similaire *in vivo* et *in vitro*, quelle que soit la méthode d'exposition utilisée. En conclusion, les résultats montrent la pertinence de développer et d'utiliser des méthodes *in vitro* permettant de mimer au mieux ce qui se passe *in vivo*. Cela suggère des perspectives quant à la mise en place de réglementations basées sur l'utilisation de modèles *in vitro*, et plus particulièrement dans le but d'évaluer la potentielle toxicité des NPs.

FIGURES

Fig2 Schéma du système d'exposition de cellules à l'interface air-liquide à des aérosols de nanoparticules

