

Les particules atmosphériques fines et ultrafines : l'apport de la toxicologie dans l'évaluation des risques pour la santé

Francelyne MARANO*

1. Introduction

La question de l'impact sanitaire des particules fines (PM_{2,5-1}) et ultrafines ou PUF (PM_{0,1}) s'est posée avec acuité au cours des dix dernières années en raison de nombreuses données épidémiologiques qui les associaient à l'augmentation de la morbidité et de la mortalité respiratoire et cardiovasculaire [1, 2]. L'augmentation significative du risque d'accidents vasculaires ou d'infarctus du myocarde mise en évidence dans les études épidémiologiques à la suite d'épisodes de pollution particulaire a tout particulièrement interpellé les toxicologues [3-5]. Les particules fines et ultrafines constituent la fraction dite respirable, c'est-à-dire celle qui se dépose dans les poumons jusqu'aux voies respiratoires inférieures et aux alvéoles. Cependant, les études de déposition les plus récentes montrent que, pour la fraction la plus fine à l'échelle nanométrique, ce dépôt peut se faire également au niveau du nasopharynx et des voies respiratoires supérieures [6]. Les effets systémiques de ces particules signifient-ils qu'elles sont capables de franchir la barrière alvéolaire et de se retrouver dans le flux sanguin ? La réponse inflammatoire qu'elles provoquent au niveau des poumons peut-elle se propager en cascade dans l'organisme et provoquer des effets adverses à distance au niveau du système cardiovasculaire ? Ces questions ont été à l'origine de la plupart des recherches sur les mécanismes de toxicité des particules au cours des dernières années en parallèle d'une identification plus fine de la relation entre sources et augmentation du risque pathologique.

Les années 1990 avaient permis de démontrer que les particules atmosphériques étaient responsables d'une réponse inflammatoire au niveau des poumons, qu'elles jouaient un rôle d'adjuvant dans la survenue de crises d'asthme en interaction avec les allergènes, enfin qu'elles pouvaient aggraver la bron-

chite chronique en maintenant une inflammation des voies aériennes [7]. Depuis dix ans, des progrès importants ont été réalisés dans la compréhension des effets cardiovasculaires bien que des zones d'ombre subsistent encore [8].

2. Quelles sont les propriétés physico-chimiques des particules fines et ultrafines importantes pour la toxicologie ?

La réglementation appliquée actuellement pour le suivi de la pollution particulaire ne considère que les PM₁₀ ou les PM_{2,5} dont on mesure la masse par m³ d'air. Les constructeurs automobiles, contraints de se conformer à la réglementation européenne, ont développé des technologies qui visent essentiellement à diminuer les masses produites, sans trop s'inquiéter jusqu'à récemment de l'émission d'un grand nombre de particules ultrafines. Or, si elles sont négligeables en masse (1 à 8 %), les particules ultrafines représentent en nombre 80 % de l'aérosol urbain et elles vont représenter une surface réactive plus importante que celle des grosses particules. Oberdorster [6] est un des premiers toxicologues à avoir remis en question la métrologie particulaire : la masse n'est pas un bon critère d'évaluation pour les particules ultrafines. Il est nécessaire de prendre en considération leur nombre, leur réactivité de surface, leur composition chimique qui leur confère des propriétés spécifiques à masse et composition chimique identiques si on les compare à des particules plus grosses. L'augmentation de surface des particules ultrafines à masse égale est associée à une réactivité de surface donc une activité biologique plus grande que celle des grosses particules de même composition chimique. Ces dernières années, plusieurs études épidémiologiques posent la question de la pertinence de l'utilisation de la masse plutôt que du nombre dans

* Université Paris Diderot Paris 7.

l'évaluation des liens existant entre la taille des PM et la mortalité ou morbidité cardio-respiratoire. Elles recommandent une mesure du nombre de particules pour mettre plus clairement en évidence des relations entre les effets sanitaires et les particules ultrafines. La question de leurs effets adverses se pose d'ailleurs même si les niveaux de pollution sont peu élevés, en particulier pour les crises cardiaques.

Les connaissances acquises sur la toxicologie des particules fines et ultrafines sont en grande partie liées aux études sur les particules Diesel qui ont constitué un modèle de référence pour l'évaluation des effets biologiques des PUF sur cultures cellulaires, chez l'animal exposé par instillation intratrachéale ou inhalation et chez l'homme exposé à des échappements Diesel dilués [9, 10]. Leur composition est complexe car elles sont constituées de particules élémentaires carbonées de taille nanométrique (10 à 80 nm) sur lesquelles s'adsorbent des composés organiques, plus de 400, parmi lesquels des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), des quinones, des aldéhydes, etc. On y trouve également des composés hydrosolubles tels que des sulfates et, en faible quantité, des métaux. Ces particules ultrafines s'agglomèrent entre elles pour former des grappes plus ou moins grosses mais dont le diamètre ne dépasse pas en général 1 µm et qui sont de taille respirable, c'est-à-dire qu'elles peuvent atteindre le poumon profond. L'aérosol parisien, largement étudié au cours des dernières années, contient jusqu'à 80 % de particules carbonées fines et ultrafines produites par les processus de combustion d'énergie fossile, en particulier associés au trafic automobile [11]. Après leur émission dans l'atmosphère, les particules se modifient en s'agglutinant, en réagissant avec des gaz, par exemple les composés organiques volatils, en fixant des molécules biologiques comme des endotoxines (provenant de la paroi des bactéries) ou des allergènes provenant de grains de pollen ou de spores de champignon. Elles peuvent également s'adsorber à la surface de ces derniers en modifiant leurs propriétés [12]. Ces observations ont conduit les toxicologues à développer le concept du « cheval de Troie ». Les particules font entrer dans le poumon profond des molécules organiques et/ou d'origine biologique qui n'auraient pas pu y accéder seules. Elles participent également à leur passage des barrières biologiques, en particulier la barrière alvéolo-capillaire.

Enfin, les recherches récentes en nanotoxicologie ont également fourni des données expérimentales comparant les effets biologiques et la toxicologie de diverses nanoparticules manufacturées ainsi que de particules modèles bien définies en termes de taille, de composition chimique et de réactivité de surface [6]. Par ailleurs, des études de toxicologie sur des particules atmosphériques provenant de diverses sources, fractionnées à l'aide d'impacteurs en cascade, précisément analysées pour leur composition chimique, ont permis de comparer le rôle de la taille et de la composition dans la survenue de la toxicité [12, 13].

3. Que sait-on du dépôt et de la persistance des particules fines et ultrafines dans l'appareil respiratoire ? [14]

La déposition des particules dans l'appareil respiratoire dépend essentiellement de trois mécanismes : la sédimentation qui s'exerce sur les particules les plus grosses, l'impaction qui se fait au niveau des branches dans l'arbre respiratoire et la diffusion pour les particules les plus fines. La taille des particules détermine donc leur site de déposition dans l'appareil respiratoire et on peut ainsi mettre en évidence trois régions de dépôt : les régions naso-pharyngée, trachéobronchiale et alvéolaire. Il est certain que ce schéma classique va ensuite varier selon les individus, leur capacité respiratoire, d'éventuelles pathologies telles que l'asthme et la bronchite chronique. Les études expérimentales ont essentiellement été réalisées chez l'animal et certaines chez l'homme. Elles ont conduit au développement de modèles mathématiques tels que le modèle ICRP (*Human Respiratory Tract Model of the International Commission of the Radiological Protection*). Les particules les plus fines ont la capacité de séjourner dans les poumons où elles sont soumises à des mouvements browniens et où elles peuvent diffuser (Figure 1). Leur dépôt final et leur accumulation vont dépendre de nombreux paramètres dont le niveau d'activité physique de l'individu, son âge, d'éventuelles pathologies. La déposition particulaire dans les poumons est sensiblement plus marquée chez des malades atteints de pathologies obstructives telles que l'asthme et la bronchopathie pulmonaire obstructive (BPCO), elle est hétérogène selon les zones du poumon et la variabilité interindividuelle est très forte [15]. Tous ces facteurs ainsi que les propriétés propres des particules et leur capacité à interférer avec les fluides broncho-pulmonaires vont jouer un rôle essentiel dans leur toxicité.

La clairance particulaire, c'est-à-dire les capacités des poumons à éliminer les particules inhalées, va également dépendre de ces différents facteurs. Rappelons que, pour les particules déposées au niveau des voies aériennes, le mécanisme de clairance est mucociliaire et l'élimination des particules rapide (en 24 h environ). Pour les particules déposées au niveau alvéolaire, la clairance macrophagique est plus lente, la demi-vie des particules pouvant atteindre des mois et, dans des conditions de surcharge chronique, conduire à l'accumulation. Ceci est clairement montré par les études réalisées par le laboratoire de Churg [16, 17] à partir de l'analyse au microscope électronique de biopsies provenant de poumons humains à Mexico (forte pollution particulaire, PM₁₀ : 66 µg/m³) et Vancouver (faible pollution particulaire, PM₁₀ : 14 µg/m³). Les premiers contiennent environ dix fois plus de particules carbonées fines, sans doute associées aux processus de combustion, que les seconds. Ces données d'exposition chronique environnementale montrent que l'exposition à des particules fines conduit à une rétention pulmonaire qui dépend de la concentration ambiante (Figure 2).

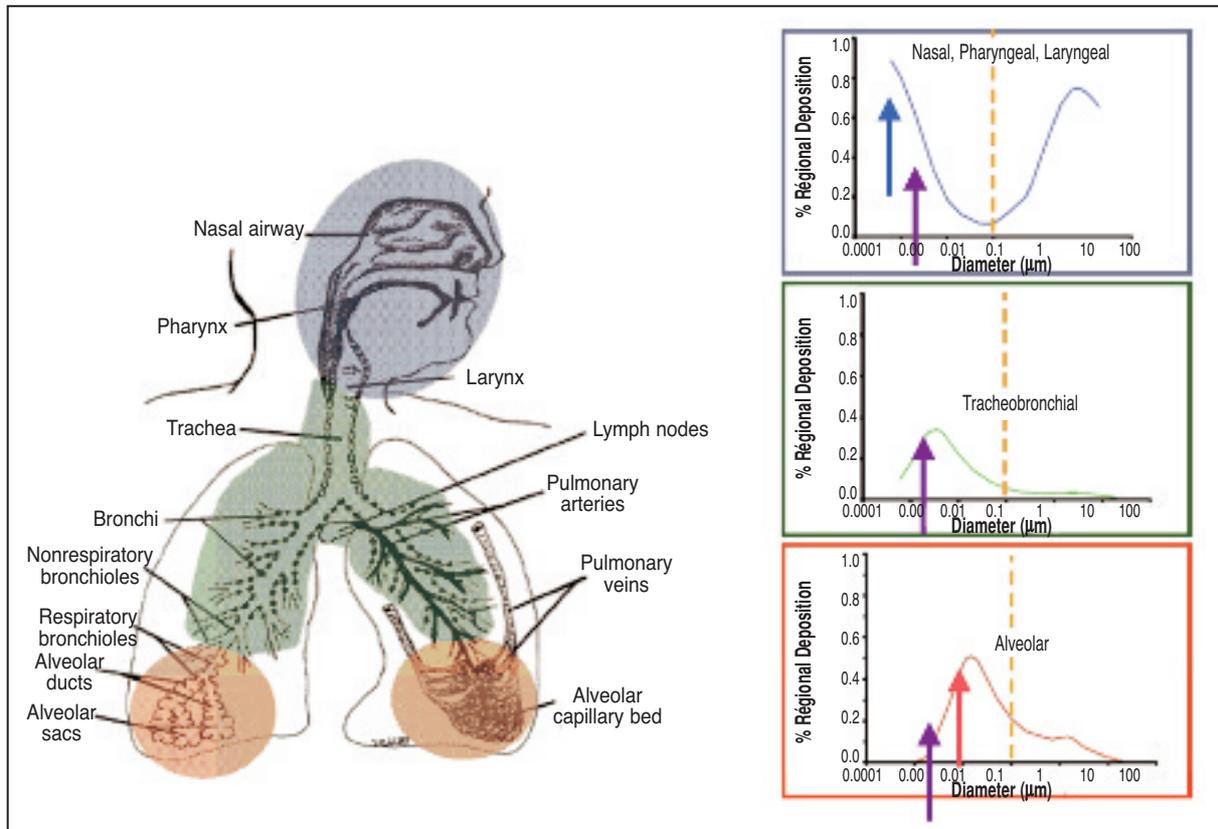


Figure 1.
Modélisation de la déposition pulmonaire des particules fines et ultrafines selon Oberdörster [6].

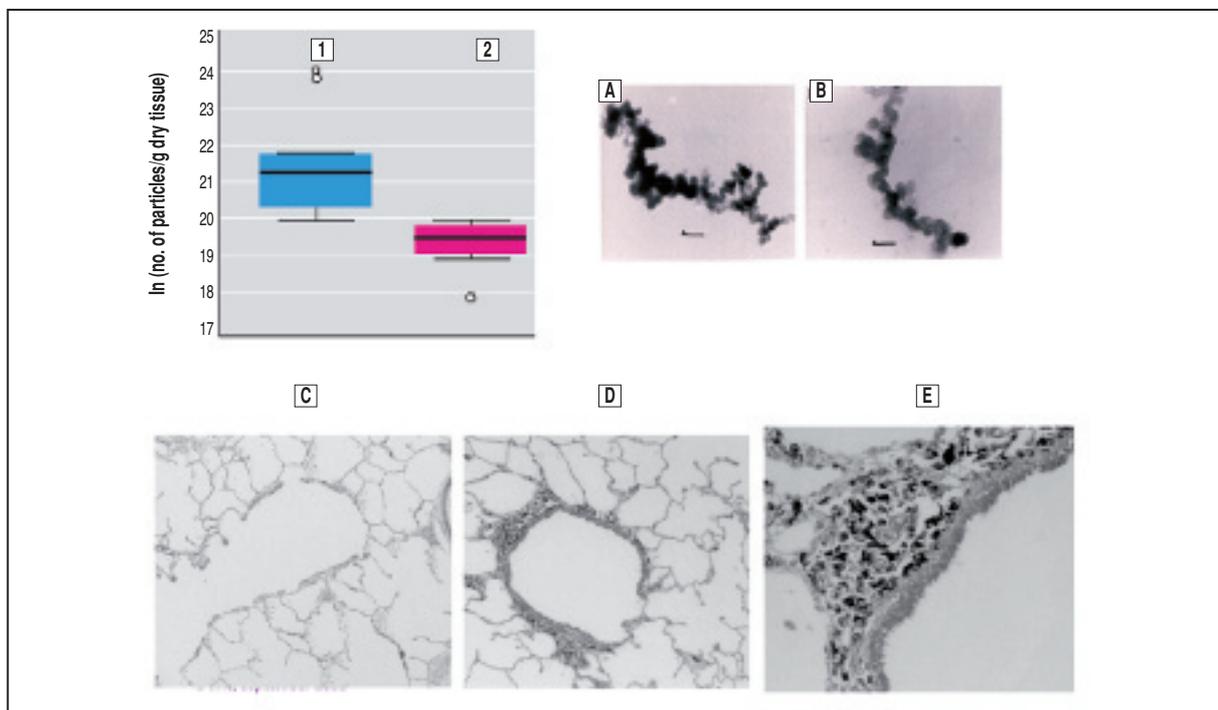


Figure 2.
Accumulation et effets des particules carbonées sur la paroi broncho-alvéolaire d'après Brauer [16] et Churg [17].
1 et 2 : les poumons de femmes exposées durant toute leur vie à une forte pollution particulaire à Mexico contiennent dix fois plus de suies (A, B photos de MEB à droite) que les poumons de femmes vivant à Vancouver, ville peu polluée.
C, D, E : photos de microscopie électronique à transmission mettant en évidence l'accumulation des particules carbonées dans les poumons après une exposition chronique à la pollution atmosphérique particulaire. C : poumon normal, D et E : poumon montrant l'accumulation de suies dans l'interstitium pulmonaire et l'épaississement de la paroi broncho-alvéolaire (E).

Enfin, la persistance des particules va également être étroitement liée à leurs propriétés physico-chimiques et, en particulier, leur solubilité. Les particules et les différentes molécules qu'elles transportent à leur surface vont interagir avec le liquide broncho-alvéolaire. Les composés hydrosolubles tels que les métaux et certaines molécules liposolubles de faibles poids moléculaires vont rapidement être extraits et se disperser en interagissant avec les divers composés du liquide broncho-alvéolaire, en particulier les protéines et les lipides, et modifier leurs propriétés. Ceci est particulièrement vrai pour les molécules hautement réactives et pour les métaux de transition capables de produire des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et d'induire un stress oxydant. Par contre, le cœur de la particule ainsi que les molécules fortement adsorbées restent au niveau du lieu de déposition. Selon les propriétés de surface de la particule, sa composition chimique, les molécules organiques qui sont restées adsorbées, les protéines des fluides biologiques qu'elle aura captés à sa surface (corona), elle pourra interférer avec la membrane plasmique des cellules épithéliales susceptibles alors de la phagocytiser.

4. Les particules fines et ultrafines peuvent-elles franchir les barrières biologiques ?

Alors qu'on considère que les particules de taille micrométrique et au-dessus ne doivent pas franchir les barrières biologiques, la question de la translocation des PUF et des NP a été l'objet de débats très vifs au cours des dernières années. Cependant, un consensus se fait actuellement jour autour du fait que certaines NP, sans doute en fonction de leurs propriétés, peuvent franchir ces barrières. En effet, dans les années 90, deux études réalisées avec des nanoparticules de carbone marquées au Technicium 99 chez le rat et chez l'homme donnaient des résultats contradictoires. L'une d'entre elles montrait une translocation rapide vers le sang et une accumulation significative dans le foie [18] alors qu'une autre ne constatait pas de transport dans des conditions très comparables [19]. Cependant, les études récentes réalisées essentiellement chez le rat à l'aide de NP marquées à l'iridium 192 ont permis d'obtenir une toxico-cinétique de ces particules. Elles montrent clairement qu'une translocation peut se produire du poumon vers le sang [14]. Cependant, celle-ci reste faible, pas plus de 1 % de la quantité inhalée. Ces particules ultrafines doivent donc passer la barrière broncho-alvéolaire vers l'interstitium pulmonaire. Elles doivent également pouvoir franchir la paroi des capillaires et se retrouver dans le sang qui les transporte vers des organes secondaires. Le foie est le site majeur d'accumulation avec environ 0,1 à 0,5 % de la dose inhalée mais une accumulation mineure se retrouve également dans la rate, le cœur, les reins et le cerveau. La translocation des NP de 15

à 20 nm est 2 à 3 fois plus forte que celle de NP de 80 nm [20-22]. Par ailleurs, le passage des barrières hémato-encéphalique et placentaire est suspecté mais encore insuffisamment démontré. De façon intéressante, une étude du suivi des nanoparticules d'iridium pendant six mois après une inhalation d'une heure montre une persistance faible mais détectable des particules dans les organes secondaires d'accumulation [21]. Cependant, si la masse de NP est faible, les auteurs les retrouvent en nombre élevé encore six mois après l'inhalation !

L'accumulation, même faible, dans le cerveau pose la question du franchissement de la barrière hémato-encéphalique. Cependant, une autre voie d'entrée potentielle est la voie olfactive qui a été prouvée chez le rat en utilisant diverses NP instillées dans le nez [23, 24]. La question d'un tel transfert se pose donc pour les particules atmosphériques ultrafines.

5. Quels sont les mécanismes de toxicité à l'origine des pathologies associées aux particules fines et ultrafines ?

La production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), le stress oxydant qui en résulte au niveau pulmonaire et la réponse inflammatoire associée sont considérés comme étant à l'origine des réponses adaptatives ou des mécanismes de toxicité induits par les PM fines et ultrafines. Le concept de stress oxydant est une notion récente en biologie, introduite par Sies [25] en 1991 qui la définissait comme une perturbation de la balance entre pro-oxydants et anti-oxydants au profit des pro-oxydants. De nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont clairement mis en évidence que des particules Diesel et les particules atmosphériques fines et ultrafines augmentaient la production de radicaux libres au contact des épithéliums ou après phagocytose par les cellules épithéliales [26-29]. La capacité des PM à générer des radicaux libres peut s'expliquer par la présence en surface de métaux et de molécules organiques ayant des propriétés rédox. Cette production d'ERO peut également se produire après phagocytose des particules, la biodisponibilité des composés organiques adsorbés et leur capacité à être métabolisés par les enzymes du métabolisme des xénobiotiques telles que les mono-oxygénases à cytochrome P450 conduisent secondairement à une production cytosolique d'ERO [27-30]. Par ailleurs, il a été démontré que, pour une même composition chimique, plus les particules sont petites, plus elles sont aptes à générer un stress oxydant, ceci étant sans doute associé à l'augmentation de leur surface réactive par rapport aux fluides biologiques et aux cellules [31]. Cette rupture de l'équilibre redox à l'extérieur et à l'intérieur des cellules, s'il ne conduit pas à des réponses cytotoxiques de nécrose, peut être à l'origine de l'activation de voies de signalisation cellulaires et de facteurs de transcription nucléaires qui régulent l'expression de

gènes impliqués dans une variété de processus biologiques comme la prolifération cellulaire, l'apoptose ou mort cellulaire programmée, l'inflammation et les diverses réponses au stress particulaire (Figure 3). Elle peut aussi être à l'origine de lésions oxydatives de l'ADN conduisant à des mécanismes de génotoxicité. Les niveaux relatifs de pro-oxydants produits et d'anti-oxydants présents dans les tissus déterminent le type de réponse, adaptative pour une production faible d'ERO, induisant la mort cellulaire par apoptose ou nécrose pour une production plus forte [26, 28].

Les récepteurs de la membrane plasmique, en particulier avec l'EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*), peuvent également être des cibles des particules et leur activation non contrôlée provoque celle des voies de signalisation et des facteurs de transcription qu'ils contrôlent. Ceci conduit à la dérégulation de très nombreux gènes, ce qui a été mis en évidence dans les études de « transcriptomique », c'est-à-dire d'analyse de l'ensemble des ARNm transcrits après traitement par des particules atmosphériques *in vitro* et *in vivo*.

La réponse inflammatoire qui résulte de ces interactions et du stress oxydant fait actuellement consensus. Elle est très bien documentée à travers de nombreuses publications, sur des cultures de cellules, chez l'animal après instillation intra-trachéale de particules ou inhalation, enfin chez l'homme [6, 7].

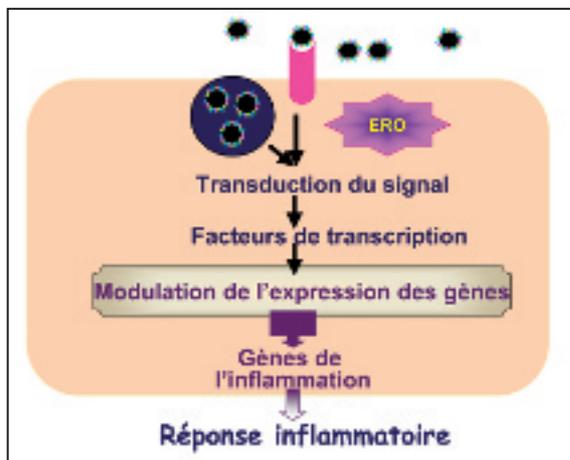


Figure 3.

Schéma montrant la réponse cellulaire au stress particulaire : les particules atmosphériques peuvent être phagocytées par les macrophages pulmonaires et les cellules épithéliales bronchiques et alvéolaires. Les composées organiques et les métaux adsorbés à leur surface deviennent alors biodisponibles. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques sont métabolisés produisant des métabolites actifs capables de réagir avec les macromolécules (protéines et ADN). Ils participent avec les métaux à la production d'espèces réactives de l'oxygène qui entraîne une rupture de l'homéostasie rédox cellulaire. Celle-ci peut conduire à la mort cellulaire par nécrose ou apoptose (mort cellulaire programmée) ou à une réaction adaptative : la réaction inflammatoire. Celle-ci implique l'activation de voies de signalisation cellulaire, de facteurs de transcription et l'activation de la transcription des gènes des protéines de l'inflammation. Ces réponses cellulaires peuvent également passer par des récepteurs membranaires.

Par exemple, l'exposition de volontaires sains à des PDi par instillation nasale induit une augmentation du nombre de cellules inflammatoires, des cytokines, des chimiokines (signaux responsables du chimiotactisme) et des immunoglobulines E (IgE) spécifiques de la réponse allergique [9]. Elles augmentent la réponse spécifique à un allergène, ce qui leur confère un rôle d'adjuvant dans les pathologies allergiques telles que les rhinites allergiques et l'asthme. Le résultat d'un processus inflammatoire est également observé dans des lavages broncho-alvéolaires (LBA) réalisés sur des volontaires sains après exposition à des échappements Diesel dilués [10]. L'infiltrat inflammatoire contient des neutrophiles (PNN), cellules jouant un grand rôle dans les bronchites chroniques mais également dans l'asthme et les rhinites allergiques.

6. Par quels mécanismes les PM peuvent-elles être associées aux effets cardiovasculaires ? [31]

Le bon fonctionnement des vaisseaux sanguins et du système cardio-vasculaire est associé à des mécanismes d'une très grande complexité. Ils concernent le contrôle de la vasomotricité, de la prolifération cellulaire, de l'inflammation et de la thrombose. L'athérosclérose est généralement reconnue comme un processus inflammatoire qui est étroitement lié à un dérèglement du fonctionnement de l'endothélium vasculaire [33]. La perte de l'intégrité de l'endothélium conduit à une perturbation des mécanismes de coagulation sanguine et à une libération de médiateurs de l'inflammation ainsi que de facteurs de croissance. Une inflammation chronique va être à l'origine de l'induction de plaques d'athérome et de dommages artériels et peut conduire à l'infarctus du myocarde.

Quels sont les éléments qui peuvent actuellement expliquer qu'une exposition à des particules atmosphériques peut induire de tels dysfonctionnements ?

Tout d'abord, les effets à court terme d'une augmentation de la concentration atmosphérique en PM₁₀ induit la modification de divers paramètres sanguins tels que la viscosité du plasma, et les facteurs de coagulation du sang. Ces perturbations ont été attribuées à une inflammation systémique résultant de l'inflammation pulmonaire induite par les particules. Cependant, des études réalisées sur des volontaires soumis à des échappements Diesel dilués [34] qui montraient une perturbation de la réponse vasomotrice pouvait s'expliquer ou par le stress oxydant associé à l'inflammation pulmonaire ou par la présence de particules dans le flux sanguin. Ce passage dans le sang des particules par translocation est très vraisemblable comme nous l'avons vu plus haut, cependant, il n'a pas été prouvé chez l'homme et il faut être prudent avec les extrapolations de l'animal à l'homme. Dans l'hypothèse d'un passage des particules dans le sang, elles pourraient avoir des effets

directs sur les cellules endothéliales, les plaquettes sanguines et les plaques d'athérome et être ainsi directement à l'origine des accidents cardiovasculaires dont l'incidence est augmentée lors des pics de pollution particulaire. Dans ces conditions, pourquoi les particules les plus fines seraient-elles plus dangereuses pour le système cardiovasculaire que les particules plus grosses ? Ceci pourrait être lié à leur plus grand nombre pour une masse plus faible, à la présence d'une quantité plus grande de composés à activité redox à leur surface, à une plus grande biodisponibilité et à une rétention pulmonaire plus longue [35].

7. Conclusion

Les études toxicologiques actuelles sur les particules atmosphériques utilisent tous les outils de la toxicologie moderne afin de mieux expliquer des effets complexes, en particulier les effets cardiovasculaires. Elles tendent à redéfinir la mesure de l'exposition pour les particules fines et ultrafines en considérant que la masse n'est pas le meilleur critère

et que la détermination du nombre serait préférable. Elles mettent également en avant l'importance d'une bonne connaissance de la composition de ces particules pour en comprendre les effets. Les études mécanistiques qui se sont développées au cours des dix dernières années ont permis d'expliquer les mécanismes de l'inflammation associée au stress oxydant, l'origine des espèces activées de l'oxygène associées au stress particulaire ainsi que les réponses cellulaires qui en résultent. Elles ont permis également une meilleure compréhension des mécanismes de rétention et de translocation à travers les barrières biologiques. L'ensemble de ces connaissances encore imparfaites associées à celles qui ont été acquises parallèlement par les épidémiologistes, par les expologues et par les physico-chimistes de l'atmosphère ont permis une réelle amélioration de l'analyse du risque pour les populations, en particulier pour les populations sensibles. Les études sur les particules atmosphériques représentent donc une approche pluridisciplinaire exemplaire des recherches nécessaires pour une meilleure connaissance des risques environnementaux.

References

1. Samet JM, Dominici F, Curriero FC, Coursac I, Zeger SL. Fine particulate air pollution and mortality in 20 US cities 1987-1994. *N Engl J Med* 2000 ; 343 : 1742-9.
2. Pope CA, Burnett RT, Thurston GD, Thun MJ, Calle EE, Krewski D, Godleski JJ. Cardiovascular mortality and long-term exposure to particulate air pollution: epidemiological evidence of general pathophysiological pathways of disease. *Circulation* 2004 ; 109 : 71-7.
3. Peter A, Perz S, Doring A, Stiener J, Koenig W, Wichmann HE. Increases in heart rate during an air pollution episode. *Am J Epidemiol* 1999 ; 150 : 1094-8.
4. Gold DR, Litonja A, Schwartz J, Lovett E, Larson A, Nearing B, Allen G, Verrier M, Cherry R, Verrier R. Ambient pollution and heart rate variability. *Circulation* 2000 ; 101 : 1267-73.
5. Brook RD. Cardiovascular effects of air pollution. *Clin Sci* 2008 ; 115 : 175-87.
6. Oberdorster G, Oberdorster E, Oberdorster J. Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 : 823-39.
7. Marano F, Aubier M, Brochart P, De Blay F, Marthan R, Nemery B, Nemmar A, Wallaert B. Impacts des particules atmosphériques sur la santé : aspects toxicologiques. *Environnement, Risques et Santé* 2004 ; 3 : 87-96.
8. Brook RD *et al.* Particulate matter air pollution and cardiovascular disease, an update to the scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2010 ; 121 : 2331-78.
9. Diaz-Sanchez D, Tsien A, Fleming J, Saxon A. Combined diesel exhaust particulate and ragweed allergen challenge markedly enhances human in vivo nasal ragweed-specific IgE and skews cytokine production to a T helper cell 2-type pattern. *J Immunol* 1997 ; 158 : 2406-13.
10. Salvi S, Blomberg A, Rudell B, Kelly F, Sandstrom T, Holgate ST, Frew A. Acute inflammatory responses in the airways and peripheral blood after short-term exposure to diesel exhaust in healthy human volunteers. *Am J Respir Crit Care Med* 1999 ; 159 : 702-9.
11. Baulig A, Poirault JJ, Ausset P, Schins R, Shi T, Baralle D, Dorlhene P, Meyer M, Lefevre R, Baeza-Squiban A, Marano F. Physicochemical characteristics and biological activities of seasonal atmospheric particulate matter sampling in two locations of Paris. *Environ. Sci. Technol.* 2004 ; 38 : 5985-92.
12. Putaud JP, Raes F, Van Dingenen R, Brüggemann E, Facchini MC, Decerasi S, Fuzzi S, Ghegrić R *et al.* A European aerosol phenomenology 2: chemical characteristics of particulate matter at kerbside, urban, rural and background sites in Europe. *Atmos. Environ.* 2004 ; 38 : 2579-95.

13. Baulig A, Singh S, Marchand A, Schins R, Barouki R, Garlati M, Marano F, Baeza-Squiban A. Role of Paris PM_{2.5} components in the pro-inflammatory response induced in airway epithelial cells. *Toxicology* 2009 ; 261 : 126-35.
14. Kreyling WG, Möller W, Semmler-Behnke M, Oberdörster. Particle dosimetry: Deposition and clearance from respiratory tract and translocation towards extra-pulmonary sites. Particle toxicology. Donaldson K and Borm P (eds), CRC Press 2007 : 47-74.
15. Kim CS, Kang TC. Comparative measurement of lung deposition of inhaled fine particles in normal subjects and patients with obstructive airway disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1997 ; 155 : 899-905.
16. Brauer M, Avila-Casado C, Fortoul TI, Vedal S, Stevens B, Churg A. Air pollution and retained particles in the lung. *Environ Health Perspect* 2001 ; 109 : 1039-43.
17. Churg A, Brauer M, del Carmen Avilla-Casado M, Fortoul TI, Wright JL. Chronic exposure to high levels of particulate air pollution and small airway remodeling. *Environ Health Perspect*, 111, 714-718, 2003.
18. Nemmar A, Hoet PH, Vanquickenborne B, Dinsdale D, Thomeer M, Hoylaerts MF, Vanbilloen H, Mortelmans L, Nemery B. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans. *Circulation* 2002 ; 105 : 411-4.
19. Brown JS, Zeman KL, Benneth WD. Ultrafine particle deposition and clearance in the healthy and obstructed lung. *Am J Resp Crit Care Med* 2002 ; 166 : 1240-7.
20. Kreyling WG, Semmler M, Erbe F, Mayer P, Takenaka S, Oberdorster G, Ziesenis A. Minute translocation of inhaled insoluble iridium particle from lung into extrapulmonary tissues. *Ann Occup Hyg* 2002 ; 46 : S223-S226.
21. Semmler M, Seitz J, Erbe F, Mayer P, Heyder J, Oberdörster G, Kreyling W. Long term clearance kinetics of inhaled ultrafine insoluble iridium particles from the rat lung including transient translocation into secondary organs. *Inhal. Tox.* 2004 ; 16 : 453-9.
22. Elder A, Oberdorster G. Translocation and effect of ultrafine particles outside the lung. *Clin Occup Environ Med.* 2006 ; 5 : 785-96.
23. Oberdörster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R, Lunts A, Kreyling W, Cox C. Extrapulmonary translocation of ultrafine particles following whole body inhalation exposure to rats. *J. Toxicol. Environ. Health* 2002 ; 65 : 1531-43.
24. Oberdörster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R, Kreyling W, Cox C. Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. *Inhal. Tox.* 2004 ; 16 : 437-45.
25. Sies H. Oxidative stress. In "Oxidants and Antioxidants", Academic Press, London 1991.
26. Li N, Sioutas C, Cho A, Schmitz D, Misra C, Sempf J, Wang M, Oberlay T, Froines J, Nel A. Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. *Environ Health Perspect* 2003 ; 111 : 455-60.
27. Boland S, Baeza-Squiban A, Bonvallet V, Aubier M, Marano F. Responses of human airway epithelial cells in culture to diesel exhaust particles. *Am. J. Resp. Crit Care Med.* 1999 ; 159 : 464.
28. Baeza A, Marano F. Pollution atmosphérique et maladies respiratoires : un rôle central pour le stress oxydant. *Médecine Sciences* 2007 ; 23 : 497-507.
29. Kelly FJ, Mudway IS. Particle-mediated extracellular oxidative stress in the lung. In Particle toxicology, ed Donaldson K and Borm P, CRC Press 2007 : 90-117.
30. Bonvallet V, Baeza-Squiban A, Baulig A, Brulant S, Muzeau F, Barouki R, Marano F. Organic compounds from diesel exhaust particles elicit a proinflammatory response in human airway epithelial cells and induce cytochrome p450 1A1 expression. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2001 ; 25 : 515-21.
31. Donaldson K, Beswick PH, Gilmour PS. Free radical activity associated with the surface of particles: a unifying factor in determining activity? *Toxicol Lett* 1996 ; 88 : 293-8.
32. Mills NL, Newby DE, Mac Nee W, Donaldson K. Effects of particles on cardiovascular system in Particle Toxicology, ed Donaldson K and Borm P, CRC Press 2007 : 259-74.
33. Ross R. Atherosclerosis in an inflammatory disease. *Am. Heart J* 1999 ; 138 : S419-S420.
34. Mills NL, Tornqvist H, Robinson SD, Gonzalez M, Darnley K, Mac Nee W, Boon NA *et al.* Diesel exhaust inhalation causes vascular dysfunction and impairment endogenous fibrinolysis. *Circulation* 2005 ; 112 : 3930-6.
35. Araujo JA, Nel A. Particulate matter and atherosclerosis: role of particle size, composition and oxidative stress. *Part Fibre Tox* 2009 ; 6 : 1-19.

