

# Effets cytotoxiques *in vitro* des PM<sub>2,5</sub> de la ville d'Abidjan (Côte-d'Ivoire) sur des cellules pulmonaires humaines

## *In vitro* cytotoxic effects of PM<sub>2.5</sub> from the city of Abidjan (Ivory Coast) on human A549 lung cells

Kouakou-Serge KOUASSI<sup>(1, 2, 5)</sup>, Sylvain BILLET<sup>(1, 2)</sup>, Guillaume GARÇON<sup>(1, 2)</sup>, Anthony VERDIN<sup>(1, 2)</sup>, Amadou DIOUF<sup>(3)</sup>, Fabrice CAZIER<sup>(1, 4)</sup>, Joseph DJAMAN<sup>(5)</sup>, Dominique COURCOT<sup>(1, 2)</sup>, Pirouz SHIRALI<sup>(1, 2, \*)</sup>

### Résumé

Les études épidémiologiques associent la pollution atmosphérique, notamment particulaire, à l'augmentation de la morbidité et de la mortalité d'origine respiratoire et cardio-vasculaire. L'Afrique, qui possède un taux d'urbanisation parmi les plus élevés du monde, y est particulièrement exposée. L'« Initiative sur la qualité de l'air en Afrique subsaharienne » a montré l'importance des concentrations atmosphériques de certains polluants tels que les oxydes d'azote, le dioxyde de soufre et les particules en suspension dans l'air de diamètre inférieur ou égal à 10 µm (PM<sub>10</sub>). À l'instar des grandes capitales africaines, Abidjan, capitale économique et ville la plus industrialisée de la Côte-d'Ivoire, est confrontée à une pollution atmosphérique d'origine industrialo-urbaine et à ses conséquences sanitaires pour sa population de près de 6 millions d'habitants.

Afin de mieux connaître les mécanismes d'action pulmonaires consécutifs à l'exposition aux particules atmosphériques, nous nous sommes proposés de : (i) prélever par impaction en cascade dans le District d'Abidjan des particules atmosphériques (PM<sub>2,5</sub>) sous trois influences (rurale, urbaine ou industrielle) ; (ii) déterminer leurs principales caractéristiques physico-chimiques ; (iii) évaluer leur cytotoxicité et leur rôle dans l'induction de lésions oxydatives dans un modèle de cellules pulmonaires humaines (A549) en culture.

L'analyse de la composition chimique des particules a montré leur hétérogénéité. De nombreux éléments inorganiques (Al, Ca, Fe, Mn, Zn, Ni, Cr, Cu, Pb, Mg) et composés organiques (paraffines) ont pu être quantifiés sous les différentes influences. Leurs Concentrations d'Effets (CE) à 10 % et 50 % sur les cellules A549 étaient les suivantes : influence rurale : CE<sub>10</sub> = 5,91 µg/cm<sup>2</sup> et CE<sub>50</sub> = 29,55 µg/cm<sup>2</sup>, influence urbaine : CE<sub>10</sub> = 5,45 µg/cm<sup>2</sup> et CE<sub>50</sub> = 27,23 µg/cm<sup>2</sup>, et influence industrielle : CE<sub>10</sub> = 6,86 µg/cm<sup>2</sup> et CE<sub>50</sub> = 34,29 µg/cm<sup>2</sup>. L'exposition des cellules A549 pendant 24, 48 ou 72 h à ces particules atmosphériques à leurs CE<sub>10</sub> ou CE<sub>50</sub> a induit des dommages oxydatifs, comme l'ont montré la formation de malondialdéhyde, les variations de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase et l'altération du statut en glutathion.

### Mots-clés

Abidjan. PM<sub>2,5</sub>. Caractérisation physico-chimique. Pneumocytes humains (lignée A549). Cytotoxicité. Stress oxydant.

1. Université Lille Nord de France – Lille – France.

2. Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant, EA 4492 MREI – Université du Littoral Côte d'Opale – Dunkerque – France.

3. Laboratoire de Toxicologie – Faculté de Médecine Pharmacologie Odontologie – Université Cheikh Anta Diop – Dakar – Sénégal.

4. Centre Commun de Mesures, MREI 1 – Université du Littoral Côte d'Opale – Dunkerque – France.

5. Université Cocody-Abidjan et Institut Pasteur – Abidjan – Côte-d'Ivoire.

\* [Pirouz.Shirali@univ-littoral.fr](mailto:Pirouz.Shirali@univ-littoral.fr)

### Abstract

Epidemiological studies associate air pollution, especially particulate, increased morbidity and mortality from respiratory and cardiovascular origin. Africa, which has an urbanization rate among the highest in the world, is particularly exposed. The "Initiative on the air quality in Sub-Saharan Africa" showed the importance of atmospheric concentrations of certain pollutants such as nitrogen oxides, sulfur dioxide and particulate matter (PM<sub>10</sub>). Like the great capitals of Africa, Abidjan, economic capital and most industrialized city of Ivory Coast is facing an air pollution from industrial-urban and health consequences for its population of nearly 6 million inhabitants. To better understand the mechanisms of action resulting from pulmonary exposure to particulate atmospheric aerosols, we proposed: (i) to collect atmospheric particles (PM<sub>2.5</sub>) using high volume cascade impaction in the District of Abidjan in three influences (rural, urban or industrial), (ii) to determine their main physico-chemical, (iii) assess their cytotoxicity and their role in the induction of oxidative damage in a model of human lung cells (A549) in culture. The chemical composition of the atmospheric particles revealed their heterogeneity, and many inorganic (*e.g.* Al, Ca, Fe, Mn, Zn, Ni, Cr, Cu, Pb, Mg) and organic compounds (*e.g.* paraffins) were quantified at the three sites. Their effect concentrations (EC) to 10 and 50% on the A549 were as follows: influence rural: EC<sub>10</sub> = 5.91 µg/cm<sup>2</sup> and EC<sub>50</sub> = 29.55 µg/cm<sup>2</sup>, urban influence: EC<sub>10</sub> = 5.45 µg/cm<sup>2</sup> and EC<sub>50</sub> = 27.23 µg/cm<sup>2</sup>, and industrial influence: EC<sub>10</sub> = 6.86 µg/cm<sup>2</sup> and EC<sub>50</sub> = 34.29 µg/cm<sup>2</sup>. Exposure of A549 cells to Abidjan city's PM samples for 24, 48 or 72 hours to their EC<sub>10</sub> or EC<sub>50</sub> induced oxidative damage, as demonstrated by the formation of malondialdehyde, changes in enzyme activity of superoxide dismutase and alteration of glutathione status.

### Keywords

Abidjan. Fine Particulate Matter (PM<sub>2.5</sub>). Physico-chemical characterization. Oxidative stress. Cytotoxicity. Human pneumocytes A549.

### Introduction

Des études épidémiologiques récentes associent la pollution atmosphérique, et tout particulièrement la pollution atmosphérique particulaire, à l'augmentation de la morbidité et de la mortalité d'origine respiratoire et cardiovasculaire [1, 2]. Elles ont montré qu'une augmentation de la teneur en particules fines en suspension dans l'air, en particulier celles de diamètre aérodynamique inférieur à 2,5 µm (PM<sub>2,5</sub>), engendrait un risque plus élevé pour la santé que celui causé par une élévation de la teneur de la fraction de taille supérieure (PM<sub>2,5-10</sub>). Les particules atmosphériques entrant dans la gamme des PM<sub>2,5</sub> sont caractérisées par leur hétérogénéité et leur complexité : diverses substances chimiques, telles que des métaux ou encore des composés organiques (hydrocarbures aromatiques polycycliques, paraffines...) peuvent être adsorbés sur la surface des PM<sub>2,5</sub> [3]. Le poumon, en raison de son interaction avec l'air ambiant, constitue un organe cible pour les particules fines. Après inhalation, les PM<sub>2,5</sub> atteignent en grand nombre les régions les plus distales des poumons [4]. L'exposition aux particules inhalables pourrait induire des lésions oxydatives, capables d'entraîner la sécrétion anormale de médiateurs inflammatoires étroitement impliqués dans le développement de pathologies pulmonaires [5-7].

Les Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO), notamment l'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et le radical hydroxyle (OH<sup>•</sup>), sont produites au cours du métabolisme normal. Toutefois, les études toxicologiques suggèrent que des métaux de transition tels que le vanadium, le fer, le nickel, le chrome, le cuivre, le zinc et le manganèse, qui comptent parmi les composants des particules, présentent un potentiel toxique et peuvent générer

des ERO *via* la réaction de Fenton ou de Haber-Weiss. Ces espèces radicalaires peuvent causer des dommages moléculaires dans les systèmes vivants [8-10]. En effet, dans les systèmes vivants aérobies, et dans les conditions physiologiques, la concentration d'ERO est déterminée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par diverses molécules et enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion réductase, la glutathion peroxydase (GPx), la catalase, et les systèmes antioxydants non enzymatiques tels que le glutathion [11-13]. Cet état d'équilibre conditionne le maintien de la fonction cellulaire et tissulaire normale. En cas d'excès de la production d'ERO, la capacité de détoxification du système de défense antioxydant peut s'avérer saturée voire inefficace, ce qui peut entraîner un changement dans l'état redox de la cellule et provoquer une cascade d'événements étroitement liés aux mécanismes oxydatifs et à l'induction d'une réponse inflammatoire [14-15].

Dans ce travail consacré à l'étude de la pollution atmosphérique particulaire et son impact sur la santé dans le District d'Abidjan, nous nous sommes proposés d'appliquer une méthode alternative de toxicologie expérimentale basée sur des modèles de cellules humaines en culture *in vitro*.

Bien que les sources de polluants atmosphériques varient selon les pays, certaines sources sont prédominantes en Afrique subsaharienne : les industries (cimenteries, pétrochimie, industries chimiques), les transports, les feux de brousse, l'incinération incontrôlée des déchets domestiques [16-18]. Les particules fines (PM<sub>2,5</sub>) qui sont directement émises par ces sources sont nocives pour la population, et plus particulièrement pour les personnes âgées et les enfants. Cette pollution atmosphérique particulaire

s'impose désormais comme un problème de santé publique. Le District d'Abidjan est l'un des plus grands centres industriels et commerciaux en Afrique de l'Ouest francophone, avec une population d'environ six millions. L'urbanisation rapide et l'industrialisation qui accompagnent la croissance démographique ont contribué à une augmentation spectaculaire de l'utilisation des automobiles souvent vétustes qui contribuent à la pollution atmosphérique particulaire.

La présente étude consiste, d'une part, en le prélèvement et la détermination des caractéristiques physiques et chimiques de particules atmosphériques PM<sub>2,5</sub> collectées sur trois sites d'influences industrielle (Vridi), urbaine (Cocody) ou rurale (Pasteur) dans le District d'Abidjan et, d'autre part, à évaluer les mécanismes physiopathologiques sous-jacents impliqués dans la toxicité induite par ces particules lors de l'exposition de cellules pulmonaires humaines.

## Matériels et méthodes

### Prélèvement et caractérisation physico-chimique des particules d'Abidjan

Pour réaliser les prélèvements, trois sites sous influences rurale (5°19'59"N, 4°07'01"O), urbaine (5°20'17"N, 3°59'59"O) et industrielle (5°15'21"N, 3°59'32"O) du District d'Abidjan, ont été retenus (figure 1).

L'échantillonnage a été effectué pour chaque site sur une durée continue variant de 5 à 8 jours et s'inscrivant dans une période globale entre novembre 2007 et janvier 2008. Les particules en suspension dans l'air ont été prélevées à l'aide d'un impacteur en cascade, modèle 235, monté sur un dispositif d'aspiration à haut débit (68 m<sup>3</sup>/h) (Staplex®, États-Unis). La tête du dispositif de prélèvement était placée à deux mètres de hauteur au-dessus du sol. Une fois récupérés, les échantillons sont conservés à - 80 °C, avant d'être considérés pour les analyses physico-chimiques et la recherche des effets toxicologiques.



Figure 1.

Site de prélèvement des particules atmosphériques (PM<sub>2,5</sub>) de la ville d'Abidjan (Côte-d'Ivoire).

Map of the District of Abidjan, localization of the sampling sites. Three particulate matter (PM) sampling sites have been chosen: a rural site at the Pasteur Institute of Ivory Coast, an urban site in Abidjan downtown and an industrial site.

La granulométrie des particules a été déterminée suite à une analyse par microscopie électronique à balayage (LEO 438 VP, Le Pecq, France). Le profil granulométrique des échantillons a été établi suite au comptage et à la mesure de taille d'une quantité de particules comprise entre 1 500 et 2 500 [19]. La mesure de la surface spécifique a été réalisée par porosimétrie à azote selon la théorie de Brunauer, Emmett et Teller (BET) sur un appareil Sorptomatic (Thermo Electron Corporation, USA) [20]. La composition en métaux et en ions majeurs a été déterminée respectivement par spectrométrie d'émission atomique couplée à un plasma inductif (*Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry*, ICP-AES) et par chromatographie ionique [19]. L'analyse des composés organiques a été orientée sur les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) et les paraffines, en procédant à leur extraction au dichlorométhane par la technique du Soxhlet puis l'injection de l'extrait en chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse (GC modèle CP-3800 ; MS/MS Saturn 1200, Varian).

### Réactifs

Le Milieu Minimum Essential (MEM), le Sérum Veau Fœtal (SVF), la L-glutamine, et la solution de pénicilline/streptomycine sont fournis par Vitrogen-Life Technologies (Cergy-Pontoise, France). Les kits Cell Prolifération Reagent BrdU et WST-1 et le kit LDH Detection sont fournis par Roche Diagnostics (Neuilly-sur-Seine, France). Les kits RANSOD et RANSEL sont fournis par Randox Laboratoires (Montpellier-Frejorgues, France). L'oxyde de titane (IV) (anatase ; pureté : 99 % ; taille : 0,2 µm) est fourni par Acros Organics (Noisy-le-Grand, France). Les autres réactifs chimiques (ACS reagent grade), ainsi que le kit de protéines BCA sont fournis par Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France).

### Modèle cellulaire et conditions de culture

L'étude de la toxicité des PM<sub>2,5</sub> prélevés dans le District d'Abidjan est effectuée sur la lignée cellulaire humaine d'origine tumorale A549 (réf. *American Type Culture Collection* (ATCC) n° CCL-185). Elle est communément utilisée par les laboratoires de recherche comme modèle *in vitro* pertinent pour l'étude de la toxicité des substances inhalées [21]. En fonction des paramètres d'étude considérés, la lignée de cellules A549 estensemencée dans des microplaques de culture à 96 puits, ou encore des flacons de culture de 75 cm<sup>2</sup> (Corning ; Fisher Scientific Labosi SAS) contenant du Milieu Essentiel Minimum (MEM) (InVitrogen Life Technologies, Cergy-Pontoise, France). Ce dernier est supplémenté à 1 % (v/v) avec une solution de L-glutamine, à 1 % (v/v) avec une solution d'antibiotiques (pénicilline-streptomycine), et à 5 % (v/v) avec du Sérum de Veau Fœtal (Life Technologies). Les cultures de cellules sont incubées à 37 °C sous une atmosphère contrôlée de 5 % CO<sub>2</sub> et 95 % humidité.

### Tests de cytotoxicité globale

La cytotoxicité globale des PM collectés à Abidjan a été déterminée sur les cellules A549, et les durées d'exposition pour l'étude cinétique sont 24, 48, et 72 heures. Les cellules ont été cultivées dans des microplaques de culture à 96 puits (Costar ; Fisher Scientific Labosi SAS). Pour chacune des microplaques, 8 puits sont utilisés pour l'exposition des cellules aux différentes concentrations de particules en suspension dans le milieu de culture (3 ; 6 ; 12 ; 24 et 48  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), 16 puits ne contenant que du MEM supplémenté ont été considérés comme des témoins négatifs, et enfin 8 puits contenant du Triton X100 (2 % v/v) ont servi de témoins positifs. Les tests de cytotoxicité ont été réalisés grâce à trois méthodes complémentaires : l'incorporation à l'ADN BrdU, l'activité de la DHm et de la LDH extracellulaire [19]. Le calcul des pourcentages de viabilité par comparaison avec les puits témoins ont permis la détermination des concentrations d'effet à 10 % (CE<sub>10</sub>) et à 50 % (CE<sub>50</sub>), utilisées lors de l'étude du stress oxydant [19].

### Étude du stress oxydant

Afin d'obtenir un nombre suffisant de cellules A549 ( $\approx 6.10^6$  cellules/flacon de 75 cm<sup>2</sup>) à chacun des temps d'incubation, nous avons réalisé un ensemencement différentiel avec  $3.10^6$  ;  $1,5.10^6$  et  $0,75.10^6$  cellules/flacon. Pour chaque temps d'incubation 24, 48 et 72 heures, des cellules réparties dans quatre flacons ont été exposées aux particules totales à leurs CE<sub>10</sub> et CE<sub>50</sub>. Les flacons de culture ne contenant que du MEM supplémenté ont été considérés comme des témoins négatifs (n = 8), de même que les flacons contenant des cellules exposées à des particules de dioxyde de Titane (TiO<sub>2</sub>, anatase ; D<sub>ae</sub> < 2  $\mu\text{m}$  ; Acros Organics, Noisy-le-Grand, France) (n = 4). Par ailleurs, des cellules ont été exposées au benzène (7  $\mu\text{M}$  ; n = 4) et au B[a]P (1  $\mu\text{M}$  ; n = 4) qui sont des composés susceptibles d'être adsorbés sur la surface des particules atmosphériques.

Après incubation, les cellules ont été prélevées par trypsinisation puis centrifugation (500 g, 10 min, 4 °C). Les aliquots de culots cellulaires ont été utilisés pour le dosage des biomarqueurs du stress oxydant : la peroxydation des lipides cellulaires par la mesure de la concentration en MDA par HPLC (modèle Jasco, détecteur UV-975, chromatopac Shimadzu C-R3A), l'activité de la SOD totale mesurée grâce au kit « Superoxide Dismutase Detection kit » (R&D Systems Europe, France) [22] et le statut en glutathion reposant sur la réaction avec le 5,5'-dithio-bis (acide 2-nitrobenzoïque) (DTNB) [23].

### Analyses Statistiques

Les variables aléatoires quantitatives continues (LDH, BrdU, DHm, SOD, MDA, GSH, GSSG) ont été décrites par leurs moyennes et leurs écarts types. Les valeurs des variables aléatoires de chaque groupe

(contrôles négatifs, contrôles positifs, concentrations croissantes de l'aérosol) ont été comparées à celles du groupe témoin grâce au test non paramétrique U de Mann-Whitney par le traitement des données réalisé avec le logiciel d'analyses statistiques SPSS pour Windows, v.12.0.1 nov. 2003 (SPSS France, Paris, France).

## Résultats

### Caractérisation physico-chimique des particules

La campagne d'échantillonnage de la fraction particulaire des aérosols atmosphériques a permis la récupération de quantités suffisantes de particules pour effectuer leur caractérisation physico-chimique et leur étude toxicologique : site rural (Pasteur, m = 150 mg), site urbain (Cocody, m = 380 mg), site industriel (Vridi, m = 320 mg).

Les données de granulométrie obtenues par mesure de la taille des particules par la technique de microscopie électronique à balayage ont permis d'accéder aux fréquences cumulées, qui atteignent 88,3 %, 88,4 %, et 86,7 % pour les particules des sites urbain, rural et industriel. Les valeurs d'aires spécifiques déterminées pour les trois échantillons sont : 9 m<sup>2</sup>/g pour le milieu urbain, 4 m<sup>2</sup>/g pour le milieu industriel et 2 m<sup>2</sup>/g pour le milieu rural.

Les analyses par ICP-AES ont permis de déterminer les teneurs globales en métaux présents dans les particules. En parallèle, les teneurs en ions hydrosolubles ont été déterminées par chromatographie ionique. L'ensemble de ces résultats est rassemblé dans le tableau 1.

Quel que soit le site considéré, les particules présentent en général des teneurs élevées en Al, Ca, Mg et K et dans une moindre proportion en Ti, éléments ayant plutôt une origine naturelle, et en particulier terrigène. Par ailleurs, ces particules contiennent une variété de métaux parmi lesquels Fe, Mn, Zn, Ni, Cr, Cu, Pb, V. La part des métaux est la plus grande dans l'échantillon du milieu urbain.

Les échantillons renferment également des ions ammonium NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, nitrates NO<sub>3</sub><sup>-</sup> et sulfates SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. Ces ions résultent en partie de phénomènes de conversion gaz-particules, selon la transformation de NO<sub>x</sub> gazeux en NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, de SO<sub>2</sub> gazeux en SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> et enfin de NH<sub>3</sub> gazeux en NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Le site industriel s'avère être le plus influencé par des contributions marines, tel l'attestent les teneurs élevées de Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> (tableau 1).

La recherche des composés organiques majoritaires associés aux particules a été réalisée par GC-MS dans les PM<sub>2,5</sub> des sites urbain et industriel. Il apparaît que ces deux échantillons renferment des composés aromatiques : benzène, dérivés du benzène, naphthalène, xylène et styrène en faible teneur (< 5  $\mu\text{g}/\text{g}$ ). La faible teneur en ces composés mais aussi l'absence d'autres composés aromatiques peuvent

Tableau 1.

Composition ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) en éléments inorganiques (données d'ICP-AES) et ions hydrosolubles (données de Chromatographie ionique) des particules  $\text{PM}_{2,5}$  collectées à Abidjan.  
( $\pm$  écart-type sur la valeur des teneurs en métaux et ions ; < LQ : inférieur aux limites de quantification).

Inorganic and ionic composition ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) of collected PM.

Inorganic compounds were detected in collected particle matter (PM) by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. Ionic compounds were quantified using ionic chromatography.

( $\pm$  Standard deviation on the value of trace metals and ions ; <LQ: lower than limits of quantification).

Métaux	Site rural (Pasteur)		Site urbain (Cocody)		Site industriel (Vridi)	
Al	78,79	$\pm 1,35$	60,59	$\pm 0,30$	56,01	$\pm 0,72$
Ca	31,57	$\pm 0,62$	35,54	$\pm 0,07$	36,31	$\pm 0,35$
Cr	0,11	$\pm 0,04$	1,44	$\pm 0,01$	0,86	$\pm 0,09$
Cu	0,14	$\pm 0,02$	0,24	$\pm 0,01$	0,11	$\pm 0,02$
Fe	46,32	$\pm 0,51$	54,25	$\pm 0,25$	34,30	$\pm 0,39$
K	16,20	$\pm 0,20$	9,69	$\pm 0,12$	17,45	$\pm 0,44$
Mg	11,55	$\pm 0,21$	7,19	$\pm 0,08$	10,75	$\pm 0,25$
Mn	2,79	$\pm 0,03$	0,68	$\pm 0,02$	0,57	$\pm 0,04$
Na	9,59	$\pm 0,21$	10,06	$\pm 0,01$	24,64	$\pm 0,35$
Ni	0,07	$\pm 0,02$	0,05	$\pm 0,02$	0,07	$\pm 0,02$
Pb	0,06	$\pm 0,04$	0,49	$\pm 0,01$	0,40	$\pm 0,01$
Sb	< LQ		0,04	$\pm 0,01$	0,01	$\pm 0,01$
Sn	0,02	$\pm 0,02$	0,05	$\pm 0,04$	0,01	$\pm 0,01$
Ti	5,18	$\pm 0,11$	3,93	$\pm 0,03$	3,29	$\pm 0,03$
V	0,10	$\pm 0,01$	0,10	$\pm 0,01$	0,10	$\pm 0,01$
Zn	0,18	$\pm 0,01$	0,39	$\pm 0,02$	0,50	$\pm 0,05$
Ions majeurs	Site rural Pasteur		Site urbain (Cocody)		Site industriel (Vridi)	
$\text{Cl}^-$	6,17	$\pm 0,15$	3,35	$\pm 0,07$	31,37	$\pm 0,21$
$\text{NO}_3^-$	12,23	$\pm 0,13$	19,62	$\pm 0,18$	20,04	$\pm 0,22$
$\text{SO}_4^{2-}$	19,62	$\pm 0,17$	13,36	$\pm 0,23$	17,24	$\pm 0,14$
$\text{Ca}^{2+}$	19,36	$\pm 0,26$	17,10	$\pm 0,25$	20,02	$\pm 0,23$
$\text{K}^+$	0,51	$\pm 0,11$	0,23	$\pm 0,16$	0,47	$\pm 0,12$
$\text{Mg}^{2+}$	1,39	$\pm 0,17$	1,01	$\pm 0,15$	2,37	$\pm 0,09$
$\text{Na}^+$	6,05	$\pm 0,09$	4,58	$\pm 0,10$	15,29	$\pm 0,06$
$\text{NH}_4^+$	6,16	$\pm 0,14$	2,65	$\pm 0,07$	4,30	$\pm 0,10$

s'expliquer par leur volatilisation favorisée par les températures diurnes élevées ( $30^\circ\text{C}$ ) au cours de la période considérée. Des tendances comparables ont été précédemment reportées [24]. En revanche, des proportions plus conséquentes de paraffines, *n*-alcanes allant de  $\text{C}_{11}\text{H}_{24}$  à  $\text{C}_{30}\text{H}_{62}$  ont été détectées. L'hexadécane, en teneur élevée, proviendrait de la combustion incomplète du carburant. Dans le profil de

l'échantillon urbain, il ressort nettement une contribution de  $\text{C}_{20}\text{H}_{42}$  à  $\text{C}_{30}\text{H}_{62}$ , avec un maximum centré sur  $\text{C}_{25}\text{H}_{52}$  ; et dans l'échantillon industriel, une forte proportion de paraffines, sous forme de longues chaînes  $\text{C}_{24}\text{H}_{50}$  à  $\text{C}_{30}\text{H}_{62}$  (figure 2). Toutefois, du fait de la quantité faible de particules collectées sous influence rurale, l'échantillon correspondant n'a pas pu être analysé.



## Étude toxicologique des particules

### Cytotoxicité des particules d'Abidjan

Afin d'évaluer la cytotoxicité des PM<sub>2,5</sub> prélevés à Abidjan, nous avons exposé des cellules A549 à des concentrations croissantes de PM<sub>2,5</sub> et réalisé trois tests complémentaires : la détermination de la LDH extracellulaire, l'incorporation de BrdU et la détermination de l'activité métabolique de la DHm.

Les résultats des dosages réalisés sur les surnageants de culture cellulaire montrent une augmentation significative de l'activité extracellulaire de la LDH dans les cellules exposées aux trois types de PM<sub>2,5</sub> (figure 3). Cette activité enzymatique augmente à mesure que la concentration en PM<sub>2,5</sub>

augmente et ce après 24, 48 ou 72 h d'exposition. Elle est plus significative pour les concentrations de PM<sub>2,5</sub> supérieures à 24 µg/cm<sup>2</sup> et notamment après un temps d'incubation de 48 h et 72 h (p < 0,01).

La figure 4 montre une variation significative de l'incorporation de la BrdU après 72 h d'exposition des cellules A549 aux PM<sub>2,5</sub>. Les variations significatives s'observent pour des concentrations supérieures ou égales à 12 µg/cm<sup>2</sup>, (p < 0,05) pour le site rural après 72 h d'exposition. De même, les PM<sub>2,5</sub> prélevées sous influence urbaine et industrielle induisent une baisse de la quantité de BrdU incorporée à l'ADN des cellules A549 pour des concentrations de PM<sub>2,5</sub> supérieures ou égales à 3 µg/cm<sup>2</sup>, (p < 0,05) lors de l'exposition à 24, 48 ou 72 h.

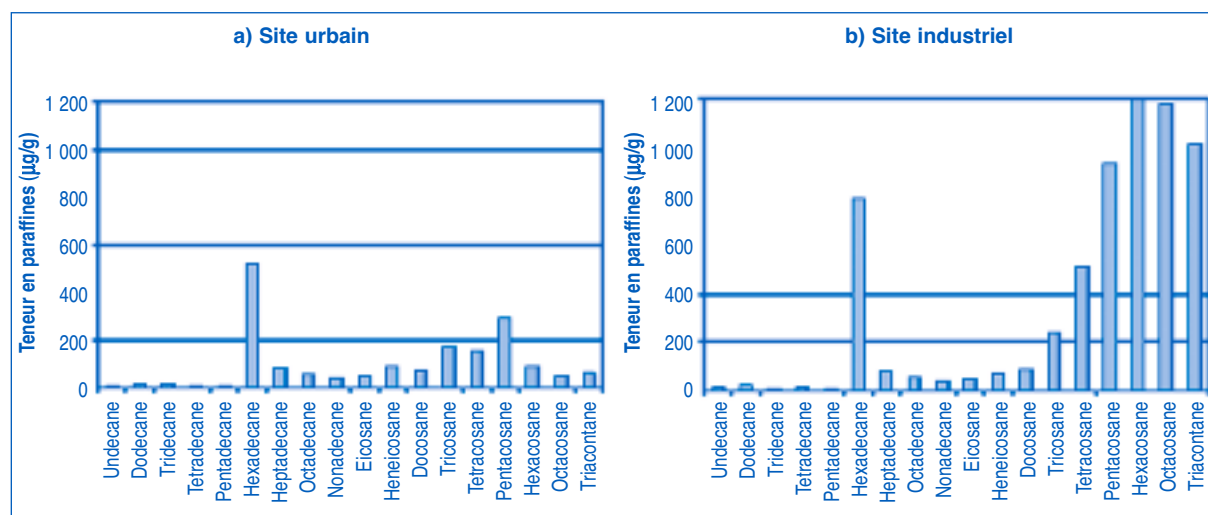


Figure 2.

Représentation des teneurs en paraffines dans les échantillons de PM<sub>2,5</sub> sous forme de profils : a) Site urbain ; b) Site industriel.  
Paraffin content of the samples of PM<sub>2,5</sub>: a) Urban site; b) Industrial site.

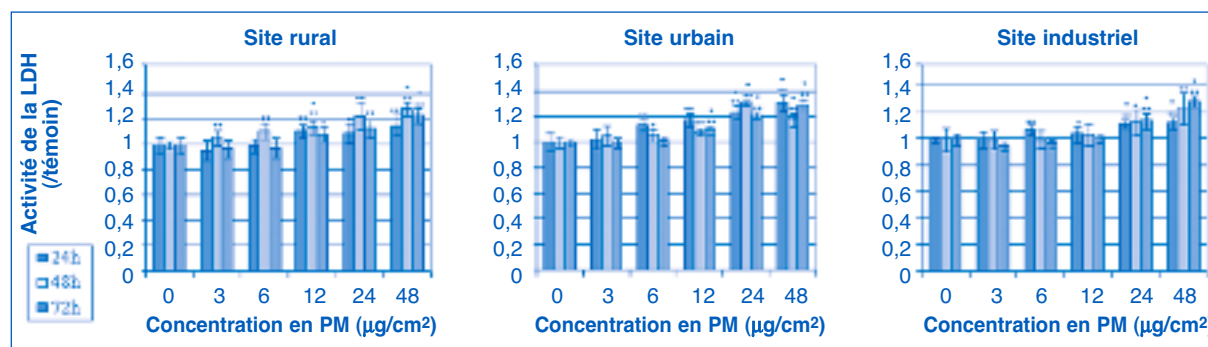


Figure 3.

Activité de la Lactate Déshydrogénase (LDH) extracellulaire, normalisée par rapport au témoin, dans les cellules A549 exposées pendant 24, 48 ou 72 h à des concentrations croissantes de particules collectées sur les trois sites (3, 6, 12, 24 ou 48 µg/cm<sup>2</sup>). Les résultats sont décrits par les moyennes et écarts types de 8 valeurs (Mann-Whitney U-test ; vs témoins ; \* : p < 0,05 ; \*\* : p < 0,01 ; \*\*\* : p < 0,001).

Extracellular lactate dehydrogenase (LDH) activity in cell-free culture supernatants of PM-exposed cells. Extracellular LDH activity was measured in supernatants of A549 cells exposed for 24, 48 or 72 h in the continuous presence of increasing concentrations of particle matter (PM; 3, 6, 12, 24 or 48 µg/cm<sup>2</sup>) without renewing the culture media.

Non-exposed cells were used as negative controls. PM samples were collected in the rural site, in the urban site or the industrial site. These values are depicted as mean values and standard deviation of 16 replicates for negative controls and eight replicates for every PM concentrations (percentage vs controls) (Mann-Whitney U-test; vs controls; \* : p < 0.05; \*\* : p < 0.01; \*\*\* : p < 0.001).

Les résultats présentés sur la figure 5 indiquent une modification significative de l'activité de la DHm au niveau des tests entrepris avec les trois échantillons de PM<sub>2,5</sub>. En effet, les cellules A549 exposées aux PM<sub>2,5</sub> collectées sous influences rurale, urbaine ou industrielle présentent des variations statistiquement significatives se traduisant par une diminution de l'activité DHm par rapport aux cellules témoins en présence de concentration de PM<sub>2,5</sub> supérieure ou égale à 6 µg/cm<sup>2</sup> ( $p < 0,05$ ).

L'activité de la DHm dans les cellules A549 exposées en comparaison avec les témoins a permis de déterminer les concentrations d'effet à 10 % (CE<sub>10</sub>) et 50 % (CE<sub>50</sub>) de chacun des échantillons PM<sub>2,5</sub> prélevés sur les trois sites, comme suit : site rural : (CE<sub>10</sub> = 5,91 µg/cm<sup>2</sup> ; CE<sub>50</sub> = 29,55 µg/cm<sup>2</sup>), site urbain :

(CE<sub>10</sub> = 5,45 µg/cm<sup>2</sup> ; CE<sub>50</sub> = 27,23 µg/cm<sup>2</sup>), site industriel : (CE<sub>10</sub> = 6,86 µg/cm<sup>2</sup> ; CE<sub>50</sub> = 34,29 µg/cm<sup>2</sup>) (figure 6). Ces concentrations ont été utilisées pour l'étude du stress oxydatif induit par l'exposition *in vitro* des cellules A549 aux fractions solides des aérosols atmosphériques collectés à Abidjan.

#### *Induction de lésions oxydatives par les particules d'Abidjan*

Pour mettre en évidence le stress oxydatif qu'induisent les PM<sub>2,5</sub> sur les cellules A549, nous avons procédé à la détermination de quatre biomarqueurs du stress oxydatif : le malondialdéhyde, l'activité de la SOD et une des molécules clés sollicitées dans la phase II du métabolisme de détoxication, le GSH et sa forme oxydée, GSSG.

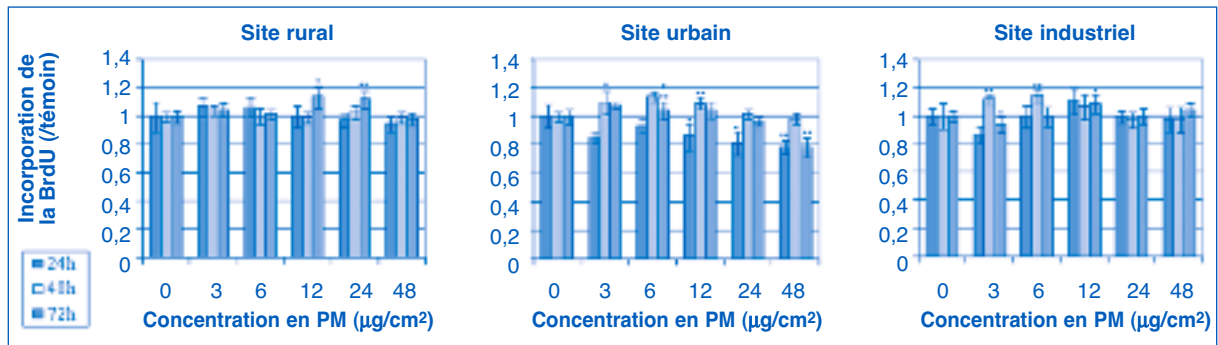


Figure 4.

Incorporation de la 5-bromo-2-désoxyuridine (BrdU), normalisée par rapport au témoin, dans les cellules A549 exposées pendant 24, 48 ou 72 h à des concentrations croissantes de particules collectées sur les trois sites (3, 6, 12, 24 ou 48 µg/cm<sup>2</sup>).

Les résultats sont décrits par les moyennes et écarts types de 8 valeurs.  
(Mann-Whitney U-test; vs témoins ; \* :  $p < 0,05$  ; \*\* :  $p < 0,01$  ; \*\*\* :  $p < 0,001$ ).

Incorporation of 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) in PM-exposed A549 cells. A549 cells were exposed for 24, 48 or 72 h in the continuous presence of increasing concentrations of particle matter (PM ; 3, 6, 12, 24 or 48 µg/cm<sup>2</sup>) without renewing the culture media. PM samples were collected in the rural site, in the urban site or the industrial site. Non-exposed cells were used as negative controls. These values are depicted as mean values and standard deviation of 16 replicates for negative controls and eight replicates for every PM concentration (percentage vs controls)  
(Mann-Whitney U-test; vs controls; \* :  $p < 0,05$ ; \*\* :  $p < 0,01$ ; \*\*\* :  $p < 0,001$ ).

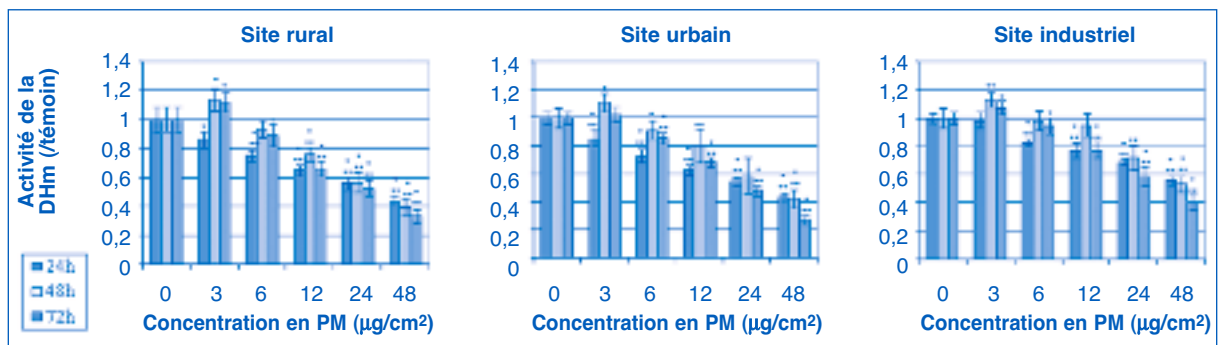


Figure 5.

Activité de la Déshydrogénase mitochondriale (DHm), normalisée par rapport au témoin, dans les cellules A549 exposées pendant 24, 48 ou 72 h à des concentrations croissantes de particules collectées sur les trois sites (3, 6, 12, 24 ou 48 µg/cm<sup>2</sup>).

Les résultats sont décrits par les moyennes et écarts types de 8 valeurs.  
(Mann-Whitney U-test ; vs témoins ; \* :  $p < 0,05$  ; \*\* :  $p < 0,01$  ; \*\*\* :  $p < 0,001$ ).

Mitochondrial dehydrogenase (MDH) activity in PM-exposed A549 cells. A549 cells were exposed for 24, 48 or 72 h in the continuous presence of increasing concentrations of particle matter (PM; 3, 6, 12, 24 or 48 µg/cm<sup>2</sup>) without renewing the culture media. PM samples were collected in the rural site, in the urban site or the industrial site. Non-exposed cells were used as negative controls. These values are depicted as mean values and standard deviation of 16 replicates for negative controls and eight replicates for every PM concentration (percentage vs controls)  
(Mann-Whitney U-test; vs controls; \* :  $p < 0,05$ ; \*\* :  $p < 0,01$ ; \*\*\* :  $p < 0,001$ ).

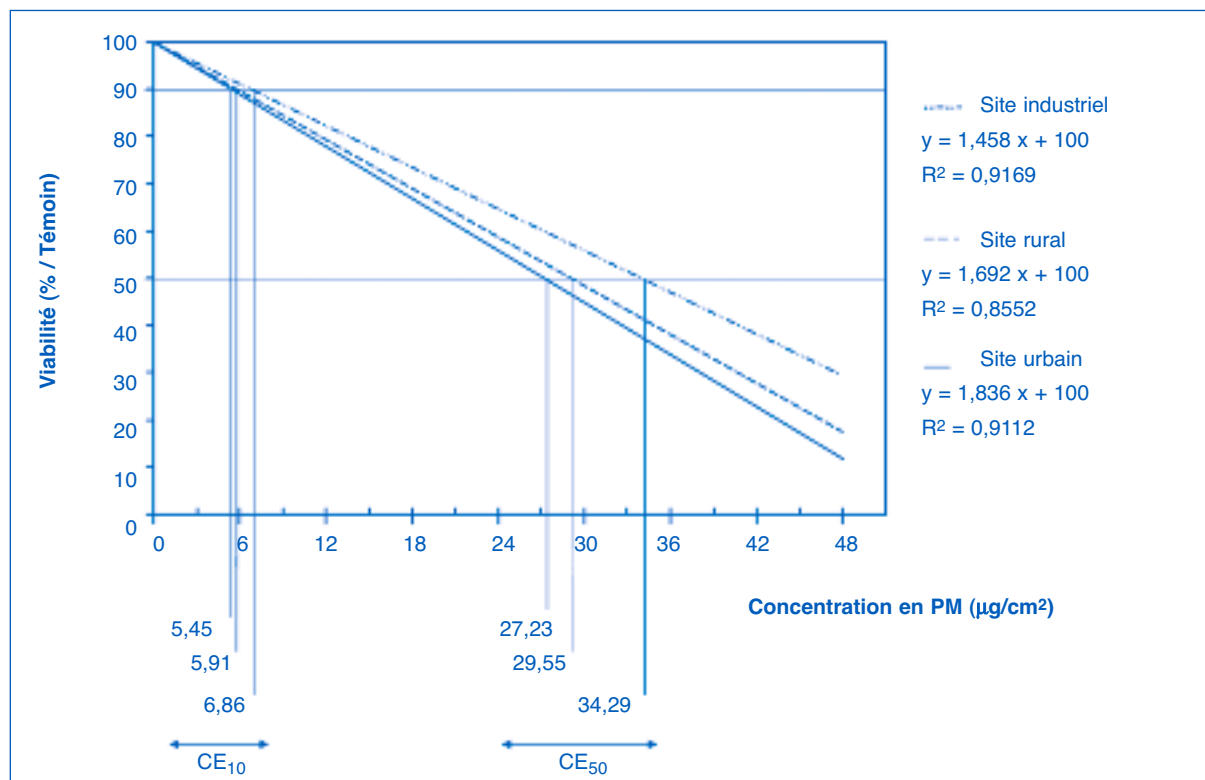


Figure 6.

Concentrations d'effet à 10 % et 50 % (CE<sub>10</sub> et CE<sub>50</sub>) déterminées en relation avec la mesure d'activité de la déshydrogénase mitochondriale.

Determination of the effect concentrations (EC) of the three PM samples in A549 cells.

For the PM samples collected either in the rural site, in the urban site or the industrial site, the more sensitive cytotoxicity test was the quantification of mitochondrial dehydrogenase (MDH) activity in PM-exposed cells.

Results arising from MDH activity determination allowed determination of the EC at 10% (EC<sub>10</sub>) and at 50% (EC<sub>50</sub>) for each PM samples.

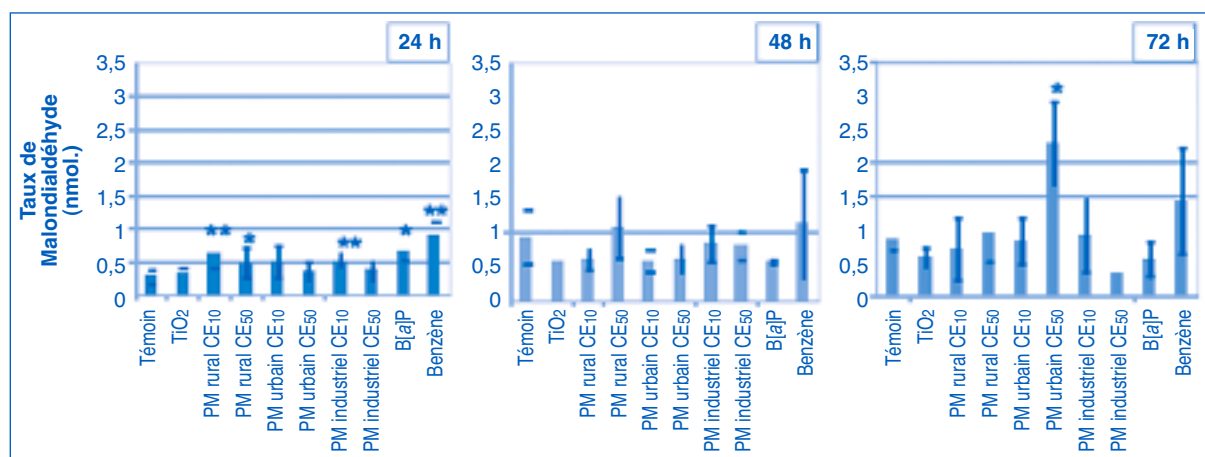


Figure 7.

Taux de malondialdéhyde (MDA) dans les cellules A549 exposées pendant 24, 48 ou 72 h aux concentrations d'effet à 10 % et 50 % (CE<sub>10</sub> et CE<sub>50</sub>) de chaque aérosol (site rural, urbain et industriel).

Les résultats sont décrits par les moyennes et écarts types de 8 valeurs. (Mann-Whitney U-test; \* : p < 0,05 ; \*\* : p < 0,01).

Concentrations of malondialdehyde (MDA) in PM-exposed A549 cells.

A549 cells were exposed to each PM sample at their effect concentrations (EC) at 10% (EC<sub>10</sub>) and at 50% (EC<sub>50</sub>) for 24, 48 or 72h.

PM samples were collected either in the rural site, in the urban site or the industrial site.

Results are depicted as mean values and standard deviations of eight replicates for negative controls and four replicates for every PM concentration (nmol/g protein) (Mann-Whitney U-test; vs controls; \* : p < 0,05; \*\* : p < 0,01).



La figure 7 indique une augmentation de la peroxydation lipidique ( $p < 0,05$ ), 24 h après l'exposition des cellules A549 aux  $PM_{2,5}$  sous influence rurale ou industrielle à leur  $CE_{10}$  ou  $CE_{50}$ . Les  $PM_{2,5}$  sous influence urbaine, n'entraînent une augmentation de la peroxydation lipidique qu'après 72 h d'exposition à la  $CE_{50}$ . Cependant, aucune production significative de MDA n'est observée après exposition des cellules au dioxyde de titane, au benzène et au B[a]P.

Les résultats de la figure 8 montrent une diminution significative de l'activité de la SOD après 24, 48 ou 72 h d'exposition quel que soit le site de prélèvement. Cependant, nous observons une augmentation

de l'activité SOD après 24 h d'exposition à la  $CE_{10}$  des  $PM_{2,5}$  issus du site rural. Toutefois, une baisse de l'activité SOD a été remarquée dans les cellules exposées au dioxyde de titane et au benzène.

La figure 9 présente le statut oxydoréducteur du glutathion défini par le ratio GSSG/GSH. Nous observons une tendance à l'augmentation du ratio dans les cellules A549, après 24 ou 72 h d'incubation. Elle est statistiquement significative dans les cellules exposées à la  $CE_{50}$  des  $PM_{2,5}$  collectées sous influences urbaine et industrielle. Toutefois, malgré l'altération du ratio dans les cellules exposées à la  $CE_{10}$  des  $PM_{2,5}$  sous influence rurale, aucun changement significatif n'a été observé à la  $CE_{50}$  du même site.

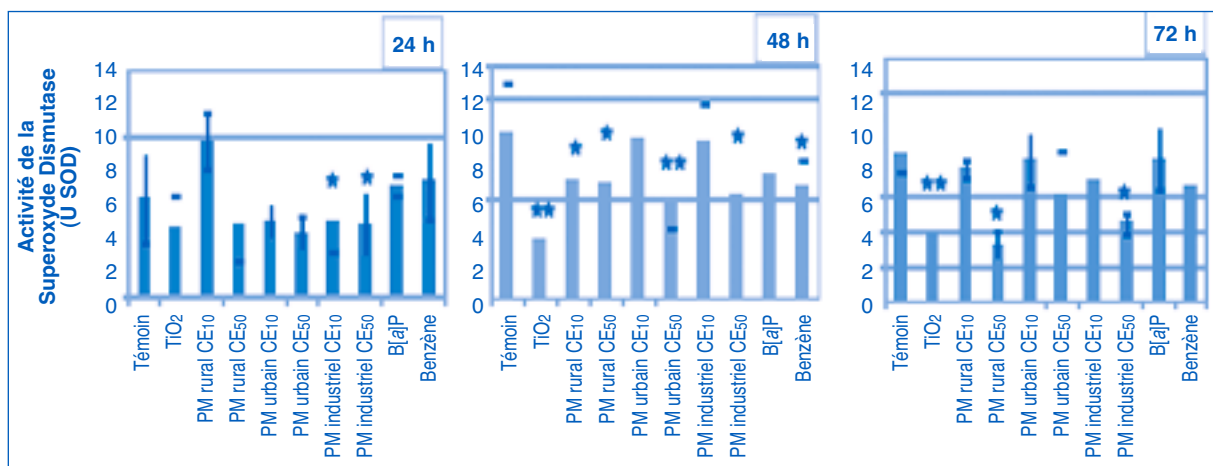


Figure 8.

Activité de la Superoxyde dismutase (SOD) dans les cellules A549 exposées pendant 24, 48 ou 72 h aux concentrations d'effet à 10 % et 50 % ( $CE_{10}$  et  $CE_{50}$ ) de chaque aérosol (sites rural, urbain et industriel). Les résultats sont décrits par les moyennes et écarts types de 8 valeurs. (Mann-Whitney U-test; \* :  $p < 0,05$ ; \*\* :  $p < 0,01$ ).

Superoxide dismutase (SOD) activity in PM-exposed A549 cells. A549 cells were exposed to each PM sample at their effect concentrations (EC) at 10% ( $EC_{10}$ ) and at 50% ( $EC_{50}$ ) for 24, 48 or 72 h. PM samples were collected either in the rural site, in the urban site or the industrial site. Results are depicted as mean values and standard deviations of eight replicates for negative controls and four replicates for every PM concentrations (U g-1 protein) (Mann-Whitney U-test; vs controls; \* :  $p < 0.05$ ; \*\* :  $p < 0.01$ ).

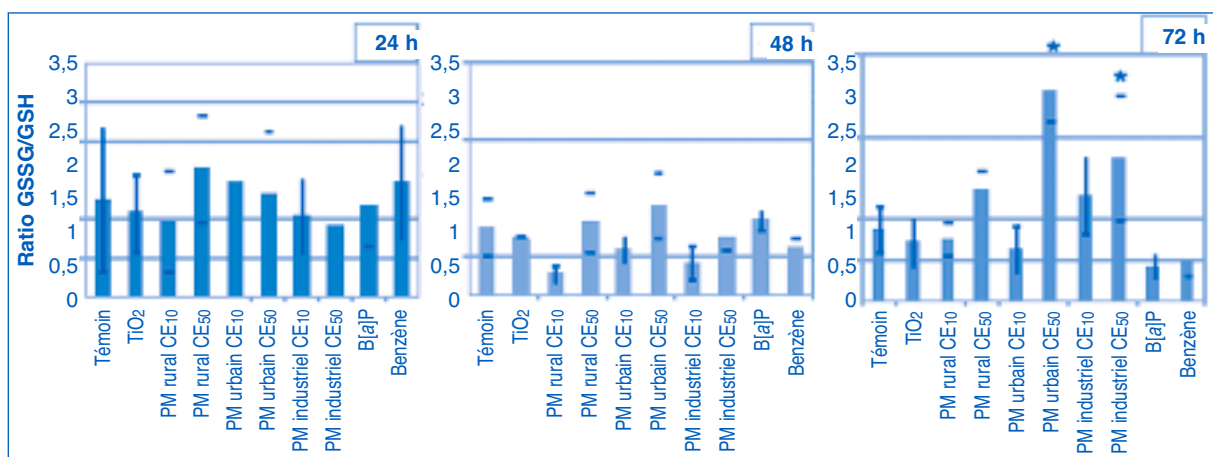


Figure 9.

Ratio (GSSG/GSH) dans les cellules A549 exposées pendant 24, 48 ou 72 h aux concentrations d'effet à 10 % et 50 % ( $CE_{10}$  et  $CE_{50}$ ) de chaque aérosol (sites rural, urbain et industriel). Les résultats sont décrits par les moyennes et écarts types de 8 valeurs. (Mann-Whitney U-test; \* :  $p < 0,05$ ).

Glutathione status in PM-exposed A549 cells. Glutathione status was defined as the ratio between the concentrations of the reduced form and the oxidized form ([GSSG]/[GSH]). A549 cells were exposed to each PM sample at their effect concentrations (EC) at 10% ( $EC_{10}$ ) and at 50% ( $EC_{50}$ ) for 24, 48 or 72 h. PM samples were collected in the rural site, urban site or industrial site. Results are depicted as mean values and standard deviations of [GSSG]/[GSH] ratio of eight replicates for negative controls and four replicates for every PM concentration (Mann-Whitney U-test; vs controls; \* :  $p < 0.05$ ).

## Discussion

L'examen des caractéristiques physico-chimiques des particules fines issues des trois sites considérés peut permettre non seulement d'en évaluer l'origine mais aussi d'expliquer les effets toxicologiques observés.

En premier lieu, les données de granulométrie indiquent que la proportion des  $PM_{2,5}$  varie de 86 à 89 %, d'un échantillon à l'autre. Cette similitude de profils granulométriques s'explique exclusivement par le mode de collecte utilisé et spécifiquement préconisé à la rétention de particules de diamètre aérodynamique équivalent variant de 0,3 à 2,5  $\mu m$ , avec une efficacité de 50 % sur chaque étage d'impaction. L'obtention de ces proportions de  $PM_{2,5}$  répond à l'objectif visé dans ce travail, à savoir l'étude des fractions fines des aérosols. En effet, c'est cette fraction qui, une fois inhalée, peut atteindre les voies respiratoires inférieures et interagir avec les cellules épithéliales pulmonaires [25, 26]. La surface spécifique des particules, qui atteint 2, 4 et 9  $m^2/g$  respectivement pour les  $PM_{2,5}$  sous influence rurale, industrielle ou urbaine, permet à des composés organiques et inorganiques de s'adsorber sur leur surface.

L'analyse élémentaire des  $PM_{2,5}$  a révélé la présence de divers éléments majoritaires Al, Ca, Mg et K et dans une moindre proportion Ti, éléments ayant plutôt une origine terrigène. Par ailleurs, ces particules contiennent une variété de métaux parmi lesquels Fe, Mn, Zn, Ni, Cr, Cu, Pb, V. La part des métaux est la plus grande dans l'échantillon du site urbain et il ressort que le fer est le métal le plus abondant. Cela est dû à l'impact des émissions urbaines dans cet échantillon.

Il est important d'expliquer les teneurs de Cr, Pb et Zn plus élevées pour les échantillons urbain et industriel que pour l'échantillon rural. Les éléments Cr et Zn pourraient provenir de l'usure de matériaux des équipements automobiles, en particulier les plaquettes de frein et les pneus. L'usure des matériaux de l'automobile peut également être proposée pour expliquer les valeurs plus élevées obtenues pour les éléments Fe et Cu dans l'échantillon urbain. L'enrichissement en Pb s'expliquerait par son introduction en tant qu'additif dans le carburant. Bien que l'utilisation du plomb ne soit plus autorisée depuis plusieurs années, cette pratique resterait malheureusement d'actualité dans plusieurs pays d'Afrique subsaharienne.

La recherche des composés organiques majoritaires associés aux particules a été réalisée par GC-MS pour les échantillons d'origines urbaine et industrielle. Il apparaît que ces échantillons renferment des paraffines, *n*-alcane allant de  $C_{11}H_{24}$  à  $C_{30}H_{62}$ . D'après les profils présentés sur la figure 3, les paraffines  $C_{16}H_{34}$  à  $C_{21}H_{44}$  semblent évoluer suivant des tendances très semblables. Il est possible de parler de la détection du même profil de paraffines dans les deux échantillons, ce qui permet de dire que les deux sites en question ont été exposés aux mêmes sources

pour ces types de paraffines. Ces sources seraient principalement la combustion incomplète de carburants et de lubrifiants par les véhicules [27-29]. Dans le profil de l'échantillon urbain, il ressort nettement une contribution de  $C_{20}H_{42}$  à  $C_{30}H_{62}$ , avec un maximum centré sur  $C_{25}H_{52}$ , qui peut être attribué selon les mêmes auteurs à une combustion incomplète du carburant diesel. Dans l'échantillon industriel, une forte proportion de paraffines, sous forme de longues chaînes  $C_{24}H_{50}$ - $C_{30}H_{62}$ , est clairement détectée. Il peut être proposé que leur source soit constituée par les émissions des activités pétrochimiques de la zone industrielle de Vridi. Toutefois, il ne faut pas exclure le rôle joué par les produits issus de la combustion mal maîtrisée des déchets et de la biomasse [30].

La cytotoxicité des trois échantillons de  $PM_{2,5}$  recueillis a été étudiée *in vitro* dans un modèle de cellules épithéliales humaines de la lignée A549, faisant appel à trois tests complémentaires : l'activité de la lactico-déshydrogénase (LDH) extracellulaire, l'incorporation de 5-bromo-2-désoxyUridine (BrdU) à l'ADN et l'activité métabolique de la déshydrogénase mitochondriale (DHm). Notre modèle cellulaire d'étude (A549) est issu d'une lignée cellulaire continue d'origine tumorale. C'est un modèle de choix au sein du tissu broncho-pulmonaire puisque leur utilisation permet de travailler sur un matériel relativement stable et ainsi d'obtenir des résultats reproductibles et donc comparables [21, 31].

Les résultats du dosage du surnageant de culture cellulaire montrent une augmentation significative de l'activité de l'enzyme LDH dans les cellules A549 exposées aux trois types de  $PM_{2,5}$  (figure 4). La LDH est une enzyme exclusivement cytoplasmique et relativement stable. L'augmentation de son activité dans le surnageant cellulaire est consécutive à une altération de la perméabilité membranaire suite à l'exposition des cellules aux particules atmosphériques.

Concernant l'incorporation de la BrdU, les résultats ont indiqué des variations importantes obtenues à 72 h après exposition des cellules A549 aux  $PM_{2,5}$  sous influence rurale à des concentrations supérieures ou égales à 12  $\mu g/cm^2$ , pour des concentrations supérieures ou égales à 3  $\mu g/cm^2$ , à 24, 48 ou 72 h d'exposition aux  $PM_{2,5}$  sous influences urbaine et industrielle. Ces résultats tendent à indiquer une altération de la division cellulaire suite à l'exposition aux  $PM_{2,5}$  (figure 5).

Même si la taille reste un paramètre fondamental dans la toxicité des particules, cependant, la composition chimique des particules semble jouer un rôle majeur dans la survenue des pathologies associées à la pollution particulaire [26, 32]. En effet, les particules sont susceptibles d'adsorber divers composés organiques et inorganiques. Certains de ces éléments inorganiques (Fe, Cu, V, etc.) sont des précurseurs puissants de la production d'ERO, à l'origine d'altérations oxydatives cellulaires [22, 33, 34]. L'effort de notre étude s'est porté globalement sur cette fraction inorganique des particules. Ainsi, nous avons dosé les biomarqueurs du stress oxydant comme la SOD, MDA, GSH, GSSG.

Nous nous sommes intéressés à l'activité de la déshydrogénase mitochondriale. La figure 6 indique une activité concentration-dépendante de la DHm pour les cellules A549 exposées pendant 24, 48 ou 72 h aux PM<sub>2,5</sub> des trois sites. Ces résultats suggèrent ainsi que le métabolisme mitochondrial et/ou la prolifération cellulaire ont été perturbés. Dans l'ensemble, ces résultats indiquent que les PM<sub>2,5</sub> recueillis à Abidjan ont provoqué une cytotoxicité globale *in vitro* dans les cellules épithéliales A549 exposées.

Nous avons déterminé parallèlement au dosage de la DHm, les concentrations d'effet à 10 % et 50 % (CE<sub>10</sub> et CE<sub>50</sub> respectivement) pour chacun des échantillons. La plus forte cytotoxicité provient des PM<sub>2,5</sub> sous influence urbaine avec une CE (CE<sub>10</sub> = 5,45 µg/cm<sup>2</sup> ; CE<sub>50</sub> = 27,23 µg/cm<sup>2</sup>) nettement plus élevée que celle des PM<sub>2,5</sub> sous influence rurale (CE<sub>10</sub> = 5,91 µg/cm<sup>2</sup> ; CE<sub>50</sub> = 29,55 µg/cm<sup>2</sup>) (figure 7). En revanche, nous avons curieusement observé que ce sont les PM<sub>2,5</sub> sous influence industrielle qui présentent la cytotoxicité la plus faible (CE<sub>10</sub> = 6,86 µg/cm<sup>2</sup> ; CE<sub>50</sub> = 34,29 µg/cm<sup>2</sup>).

Bien que les mécanismes physiopathologiques des PM restent encore mal élucidés, l'hypothèse sur la toxicité des particules atmosphériques associée à l'exposition à certains métaux, a été abordée dans nombre d'études épidémiologiques. En effet, les métaux de transition, Fe, Cu et Va, subissent des cycles d'oxydoréduction au cours desquels ils produisent des ERO. Ces ERO sont responsables du stress oxydatif et peuvent causer des dommages à l'ADN des cellules affectées [35, 36]. L'effort de notre étude s'est alors porté sur cette fraction inorganique des particules. Nous avons alors cherché à déterminer la capacité des PM<sub>2,5</sub> d'Abidjan à induire des lésions oxydatives dans notre modèle d'étude.

Nous avons observé que l'exposition *in vitro* à l'un ou l'autre des échantillons de PM<sub>2,5</sub> recueillis induisait l'apparition des mécanismes de peroxydation lipidique (figure 8). Ces résultats sont cohérents avec les données sur l'activité LDH suggérant la modification de perméabilité membranaire (figure 4). Ceux-ci suggèrent en effet une peroxydation des lipides membranaires indiquant un phénomène oxydatif.

En outre, nous avons observé des variations significatives de l'activité de la SOD (augmentation et/ou diminution) par rapport au témoin, traduisant la capacité des ERO à altérer les enzymes anti-oxydantes (figure 9) [37-39].

L'étude *in vitro* des cellules A549 à chacun des trois échantillons de PM<sub>2,5</sub> a montré une variation du rapport [GSSG]/[GSH] (figure 10). En effet le GSH est un tripeptide omniprésent dans les cellules, qui joue un rôle direct dans la protection contre l'oxydation des groupements thiol des protéines cellulaires ou indirectement à travers son rôle de cofacteur de la glutathion transférase. Sa forme oxydée GSSG est le produit résultant de l'utilisation de GSH comme substrat par la glutathion peroxydase qui permet la réduction de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et des peroxydes lipidiques. Le contenu du GSSG est normalement maintenu à environ 1 % par rapport au GSH. Ce taux peut augmenter au cours d'un stress oxydant [40]. Ainsi, le maintien de l'équilibre du rapport [GSSG]/[GSH] serait essentiel pour le fonctionnement normal du métabolisme cellulaire. Sa variation pourrait être un indicateur pour décrire un stress oxydatif, une défaillance du système de défense anti-oxydante, y compris des phénomènes inflammatoires et cytotoxiques [41,42].

## Conclusion

Les résultats obtenus lors de la présente étude s'accordent sur la capacité des échantillons de PM<sub>2,5</sub> prélevés à Abidjan à induire un stress oxydatif dans les cellules A549 exposées *in vitro*. Ceci est en accord avec les données toxicologiques récentes qui suggèrent que certains des principaux métaux de transition, tels que le Al, Cu, Cr, Fe, Pb, Mn et Zn, détectés dans les trois échantillons de PM<sub>2,5</sub> d'Abidjan, seraient fortement impliqués dans les systèmes d'oxydoréduction, pouvant conduire au déclenchement de réactions présentant un potentiel toxique significatif.

## Remerciements

Ce travail a été réalisé dans l'Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant de l'Université du Littoral Côte d'Opale, en collaboration avec l'Institut Pasteur de Côte-d'Ivoire et l'université de Cocody-Abidjan. Il s'inscrit dans le cadre de l'Institut de Recherche en Environnement Industriel (IRENI) financé par la Région Nord-Pas-de-Calais, le ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche, ainsi que par la Communauté européenne (FEDER).

## Références

- [1] Kunzli N., Kaiser R., Medina S. *et al.* Public-health impact of outdoor and traffic-related air pollution: a European assessment. *Lancet* 2000 ; 356 : 795-801.
- [2] Kunzli N., Tager I.-B. Air pollution: from lung to heart. *Swiss Med Wkly* 2005 ; 135 : 697-702.
- [3] Billet S., Abbas I., Le Goff J. *et al.* Genotoxic potential of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons-coated onto airborne Particulate Matter (PM<sub>2.5</sub>) in human lung epithelial A549 cells. *Cancer Lett* 2008 ; 270 : 144-55.
- [4] Hetland R.-B., Refsnes M., Myran T. *et al.* Mineral and/or metal content as critical determinants of particle-induced release of IL-6 and IL-8 from A549 cells. *J Toxicol Environ Health A* 2000 ; 60 : 47-65.
- [5] Calcabrini A., Meschini S., Marra M. *et al.* Fine environmental particulate engenders alterations in human lung epithelial A549 cells. *Environ Res* 2004 ; 95 : 82-91.
- [6] Chin B.-Y., Choi M.-E., Burdick M.-D. *et al.* Induction of apoptosis by particulate matter: role of TNF-alpha and MAPK. *Am J Physiol* 1998 ; 275 : L942-9.
- [7] Monn C., Becker S. Cytotoxicity and induction of proinflammatory cytokines from human monocytes exposed to fine (PM<sub>2.5</sub>) and coarse particles (PM<sub>10-2.5</sub>) in outdoor and indoor air. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999 ; 155 : 245-52.
- [8] Donaldson K., Stone V., Borm P.-J. *et al.* Oxidative stress and calcium signaling in the adverse effects of environmental particles (PM<sub>10</sub>). *Free Radic Biol Med* 2003 ; 34 : 1369-82.
- [9] Fubini B., Hubbard A. Reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) generation by silica in inflammation and fibrosis. *Free Radic Biol Med* 2003 ; 34 : 1507-16.
- [10] Barchowsky A., O'Hara K.-A. Metal-induced cell signaling and gene activation in lung diseases. *Free Radic Biol Med* 2003 ; 34 : 1130-5.
- [11] de Kok T.-M., Hogervorst J.-G., Briede J.-J. *et al.* Genotoxicity and physicochemical characteristics of traffic-related ambient particulate matter. *Environ Mol Mutagen* 2005 ; 46 : 71-80.
- [12] Garçon G., Dagher Z., Zerimech F. *et al.* Dunkerque City air pollution particulate matter-induced cytotoxicity, oxidative stress and inflammation in human epithelial lung cells (L132) in culture. *Toxicol In Vitro* 2006 ; 20 : 519-28.
- [13] Sun Y., Yin Y., Zhang J. *et al.* Hydroxyl radical generation and oxidative stress in *Carassius auratus* liver, exposed to pyrene. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2008 ; 71 : 446-53.
- [14] Dagher Z., Garçon G., Gosset P. *et al.* Pro-inflammatory effects of Dunkerque city air pollution particulate matter 2.5 in human epithelial lung cells (L132) in culture. *J Appl Toxicol* 2005 ; 25 : 166-75.
- [15] Garçon G., Dagher Z., Zerimech F. *et al.* Dunkerque City air pollution particulate matter-induced cytotoxicity, oxidative stress and inflammation in human epithelial lung cells (L132) in culture. *Toxicol In Vitro* 2006 ; 20 : 519-28.
- [16] Baumbach G., Vogt U., Hein R.-G. *et al.* Air pollution in large tropical city with a high traffic density: results of measurements in Lagos, Nigeria. *Science of the Total Environment* 1995 ; 169 : 25-31.
- [17] Boonyatumanond R., Murakami M., Wattayakorn G. *et al.* Sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in street dust in a tropical Asian mega-city, Bangkok, Thailand. *Science of the Total Environment* 2007 ; 384 : 420-32.
- [18] Ogunjobi K.-O., He Z., Simmer C. Spectral aerosol optical properties from AERONET Sun-photometric measurements over West Africa. *Atmospheric Research* 2008 ; 88 : 89-107.
- [19] Billet S., Garçon G., Dagher Z., *et al.* Ambient particulate matter (PM<sub>2.5</sub>): physicochemical characterization and metabolic activation of the organic fraction in human lung epithelial cells (A549). *Environ Res* 2007 ; 105 : 212-23.
- [20] Ledoux F., Laversin H., Courcot D. *et al.* Characterization of iron and manganese species in atmospheric aerosols from anthropogenic sources. *Atmospheric Research* 2006 ; 82 : 632.
- [21] Castell J.-V., Donato M.-T., Gomez-Lechon M.-J. Metabolism and bioactivation of toxicants in the lung. The *in vitro* cellular approach. *Exp. Toxicol Pathol* 2005 ; 57 Suppl 1 : 189-204.
- [22] Garçon G., Zerimech F., Hannotiaux M. *et al.* Antioxidant defense disruption by polycyclic aromatic hydrocarbons-coated onto Fe(2)O(3) particles in human lung cells (A549). *Toxicology* 2001 ; 166 : 129-37.
- [23] Foucaud L., Bennisroune A., Klestadt D., *et al.* Oxidative stress induction by short time exposure to ozone on THP-1 cells. *Toxicol In Vitro* 2006 ; 20 : 101-8.
- [24] Schnelle-Kreis J., Sklorz M., Peters A. *et al.* Analysis of particle-associated semi-volatile aromatic and aliphatic hydrocarbons in urban particulate matter on a daily basis. *Atmospheric Environment* 2005 ; 39 : 7702-14.
- [25] de Kok T.-M., Driecce H.-A., Hogervorst J.-G., Briede, J.-J. Toxicological assessment of ambient and traffic-related particulate matter: a review of recent studies. *Mutat Res* 2006 ; 613 : 103-22.

- [26] Harrison R.-M., Yin J. Particulate matter in the atmosphere: which particle properties are important for its effects on health? *Sci Total Environ* 2000 ; 249 : 85-101.
- [27] Rogge W.-F., Hildemann L.-M., Mazurek M.-A. *et al.* Sources of fine organic aerosol. 8. Boilers burning. 2. Distillate fuel oil. *Environmental science and Technology* 1997 ; 31 : 2731-7.
- [28] Sakurai H., Tobiasch H.-J., Parka K. *et al.* On-line measurements of diesel nanoparticle composition and volatility. *Atmospheric Environment* 2003 ; 37 : 1199-210.
- [29] Schnelle-Kreis J., Sklorz M., Peters J.-C., Zimmermann R. Analysis of particle-associated semi-volatile aromatic and aliphatic hydrocarbons in urban particulate matter on a daily basis. *Atmospheric Environment* 2005 ; 39 : 7702-14.
- [30] Simoneit B.-R., Biomass burning – a review of organic tracers for smoke from incomplete combustion. *Applied Geochemistry* 2002 ; 17 : 129-62.
- [31] Donato M.-T., Lahoz A., Castell J.-V., Gomez-Lechon M.-J., Cell lines: a tool for *in vitro* drug metabolism studies. *Curr Drug Metab* 2008 ; 9 : 1-11.
- [32] de Kok T.-M., Driece H.-A., Hogervorst J.-G., Briede J.-J. Toxicological assessment of ambient and traffic-related particulate matter: a review of recent studies. *Mutat Res* 2006 ; 613 : 103-22.
- [33] Shi T., Knaapen A.-M., Begerow J. *et al.* Temporal variation of hydroxyl radical generation and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine formation by coarse and fine particulate matter. *Occup Environ Med* 2003 ; 60 : 315-21.
- [34] Hetland R.-B., Myhre O., Lag M. *et al.* Importance of soluble metals and reactive oxygen species for cytokine release induced by mineral particles. *Toxicology* 2001 ; 165 : 133-44.
- [35] Donaldson K., Brown D.-M., Mitchell C. *et al.* Free radical activity of PM<sub>10</sub>: iron-mediated generation of hydroxyl radicals. *Environ Health Perspect* 1997 ; 105 Suppl 5 : 1285-9.
- [36] Donaldson K., Beswick P.-H., Gilmour P.-S. Free radical activity associated with the surface of particles: a unifying factor in determining biological activity? *Toxicol Lett* 1996 ; 88 : 293-8.
- [37] de Zwart L.-L., Meerman J.-H., Commandeur, J.-N., Vermeulen N.-P. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med* 1999 ; 26 : 202-26.
- [38] Gilks C.-B., Price K., Wright J.-L., Churg A. Antioxidant gene expression in rat lung after exposure to cigarette smoke. *Am J Pathol* 1998 ; 152 : 269-78.
- [39] Mates J.-M., Sanchez-Jimenez F. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front Biosci* 1999 ; 4 : D339-45.
- [40] Dickinson D.-A., Forman H.-J. Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochem Pharmacol* 2002 ; 64 : 1019-26.
- [41] Jos A., Pichardo S., Prieto A.-I. *et al.* Toxic cyanobacterial cells containing microcystins induce oxidative stress in exposed tilapia fish (*Oreochromis sp.*) under laboratory conditions. *Aquat Toxicol* 2005 ; 72 : 261-71.
- [42] Rahman I., Macnee W. Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation. *Eur Respir J* 2000 ; 16 : 534-54.





