



Aspects médicaux de l'exposition aux oxydes d'azote

Dominique Oberson-Geneste, Claude Lambre

► To cite this version:

Dominique Oberson-Geneste, Claude Lambre. Aspects médicaux de l'exposition aux oxydes d'azote. Séminaire de l'Organe Permanent sur les substances nocives émanant des moteurs diesels, Sep 1996, Luxembourg, Luxembourg. <ineris-00971989>

HAL Id: ineris-00971989

<https://hal-ineris.ccsd.cnrs.fr/ineris-00971989>

Submitted on 3 Apr 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Aspects médicaux de l'exposition à l'oxyde d'azote

D. Oberson-Geneste, C. Lambré, Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques, Verneuil-en-Halatte, France.

Les oxydes d'azote sont souvent désignés par la formule générale NOx.

On considère que parmi eux, seuls le monoxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂, aussi appelé peroxyde d'azote) représentent un risque potentiel pour la santé.

Propriétés chimiques

En général, ces deux polluants coexistent dans l'atmosphère, bien que du fait de sa grande réactivité, le NO s'oxyde spontanément en NO₂ avec l'oxygène atmosphérique. Cependant, dans le cas où par exemple les émissions automobiles sont impliquées, on peut trouver dans les voies à grande circulation, des concentrations en NO 5 fois supérieures à celles de NO₂.

Le dioxyde d'azote est en condition normale assez stable, et il réagit avec l'eau pour donner de l'acide nitrique (HNO₃) et nitreux (HNO₂). Ces composés vont alors conduire à une acidification du milieu, notamment au niveau des muqueuses, et entraîner des effets irritants au niveau des yeux, du nez et de la gorge.

Enfin, parmi les propriétés chimiques importantes du NO₂, il faut citer son fort pouvoir oxydant qui va entre autres conduire à l'altération des membranes cellulaires et à l'oxydation du matériel génétique.

Valeurs d'expositions

Étant donné les effets déjà connus de ces polluants sur la santé, il a été établi aussi bien en milieu professionnel qu'environnemental, des valeurs limites d'exposition.

En milieu professionnel, la valeur moyenne pour une exposition de 6 heures par jour, 5 jours par semaine se situe pour le NO à une concentration de 25 ppm (30 mg/m³), tandis que la valeur limite d'exposition est de 3 ppm (6 mg/m³) pour le NO₂ (JO, 1990). La différence importante des valeurs d'exposition entre ces deux polluants est le reflet d'une toxicité reconnue beaucoup plus faible pour le NO que le NO₂.

On peut remarquer que les valeurs limites dans l'environnement sont de 10 à 15 fois plus faibles qu'en milieu professionnel, puisque de 0,25 ppm (300 µg/m³) pour le NO et 0,1 ppm (200 µg/m³) pour le NO₂ (Directive CEE, 1985).

Si les teneurs en oxyde d'azote extérieures sont issues des sources de combustion automobiles, industrielles et thermiques, des études épidémiologiques se sont également

intéressées aux concentrations "indoor" de NO₂, qui sont elles essentiellement dues à l'utilisation de chauffage au fuel ou de cuisinière à gaz. On peut, en effet, trouver dans les habitations des concentrations de 0,01 ppm de NO₂ sur plusieurs jours avec des valeurs maximum sur 1 heure de 0,5 à 1 ppm.

En ce qui concerne les mesures de ces polluants, ils ont été pendant de nombreuses années, dosés indistinctement par des méthodes colorimétriques comme celle de Gries-Saltzman après oxydation de NO en NO₂.

Depuis 1975, des appareils automatiques basés sur le principe de la chimiluminescence permettent le dosage simultané de NO et NO₂. Cependant, le port de badges individuels, permettant d'estimer l'exposition cumulée à NO₂, reste rare.

Impact des NOx sur l'appareil respiratoire

La pénétration des gaz dans l'appareil respiratoire humain va, entre autre, dépendre de leur solubilité.

Par exemple un gaz comme le dioxyde de soufre (SO₂) qui est très hydrosoluble va réagir rapidement avec les sécrétions et rester au niveau des voies aériennes supérieures, représentées par la bouche, les fosses nasales, le rhino-pharynx et la trachée. A l'inverse un gaz beaucoup moins soluble tel que l'ozone, aura une action beaucoup plus distale jusqu'au niveau du poumon profond, qui est constitué par les alvéoles pulmonaires.

Le NO₂ plus soluble que O₃, pénètre moins profondément dans les voies aériennes, sa toxicité ciblant davantage les bronches et bronchioles que les alvéoles (Overton, 1984). Cependant, le mode respiratoire intervient dans la pénétration du NO₂. Ainsi une respiration nasale entraîne une absorption plus importante dans les voies aériennes supérieures, alors que la respiration buccale permet une pénétration plus distale du gaz. Dans le cas particulier d'un exercice musculaire tel que la pratique d'une activité sportive, la ventilation forcée qui en résulte, facilitera une plus grande pénétration alvéolaire du NO₂ (Sandström, 1995).

Le NO, peu soluble, aura pour cible l'alvéole pulmonaire, zone d'échange entre l'oxygène de l'air inhalé avec le CO₂ véhiculé par les globules rouges. C'est dans ces alvéoles que se trouvent les macrophages alvéolaires. Ces cellules sont, entre autre, capables de capter tout élément étranger (comme les particules et les bactéries) de les phagocyter et les détruire. Les débris sont ensuite remontés grâce à un film tensioactif présent dans les alvéoles et synthétisé par les cellules qui les constituent. Cette sécrétion très riche en phospholipides s'appelle le surfactant. Il permet la remontée des résidus depuis les alvéoles jusqu'au tapis muco-ciliaire présent dans la trachée et les bronches. Ce tapis est constitué de cellules ciliées qui provoquent par leur battement un mouvement ascensionnel des sécrétions

broncho-pulmonaires et permettent aux résidus englués dans un "tapis roulant" de remonter vers la trachée et l'oesophage où elles sont habituellement dégluties.

D'autre part, l'acide nitrique, issu de l'hydrolyse du NO_2 , se transforme en ions nitrites dans l'appareil respiratoire avant de pénétrer dans la circulation sanguine. Les nitrites réagissent avec l'hémoglobine pour former la nitrosylhémoglobine. Le NO quant à lui pénètre sous forme non transformé dans la circulation pour également former de la nitrosylhémoglobine. Dans les deux cas, la majeure partie des nitrates formés à partir de la nitrosylhémoglobine sont excrétés dans l'urine par les reins, tandis qu'une partie peut atteindre l'estomac où ils sont transformés en azote gazeux, puis éliminés.

De plus, par leurs propriétés oxydantes, les oxydes d'azote vont avoir un effet délétère sur l'intégrité des membranes cellulaires et le surfactant pulmonaire.

Effets sur la morphologie du poumon

Chez l'animal, les *expositions aiguës* (quelques heures), inférieures à 10 ppm de NO_2 sont sans effet chez le rat. Par contre, des expositions de 10 à 25 ppm, pendant 30 minutes à 36 heures, se traduisent par une perte ciliaire, une hypertrophie de l'épithélium bronchique, ainsi qu'un épaissement des cellules alvéolaires de type I, qui constituent la paroi des alvéoles, et un oedème pulmonaire qui peut être responsable de mortalité.

Les mêmes symptômes sont observés chez le cobaye à partir de 2 ppm, de tel sorte qu'il constitue un modèle plus sensible que le rat.

Chez l'homme, dans le cas d'exposition accidentelle, l'intoxication suraiguë est généralement mortelle en quelques instants par arrêt cardio-respiratoire.

L'intoxication aiguë évolue le plus souvent en trois phases :

1. irritation plus ou moins marquée des voies aériennes supérieures avec des broncho-spasmes, toux, souvent associée à une irritation oculaire.
2. il s'en suit une phase de récupération qui dure de quelques heures à quelques jours.
3. enfin une détresse respiratoire avec toux et oedème aiguë du poumon qui peut être ou non fatale. Dans le cas favorable, on observe souvent une guérison totale ou une broncho-pneumonie de pronostic le plus souvent favorable.

Dans le cas d'*expositions subchroniques et chroniques*, allant de quelques semaines à plusieurs mois, des effets sur la morphologie du poumon sont observés chez la souris et le rat pour des concentrations faibles de l'ordre de 0,5 ppm de NO_2 .

Les symptômes observés incluent la perte des cils au niveau de l'arbre trachéo-bronchique, une hypertrophie de l'épithélium entraînant une obstruction des bronches et une atteinte alvéolaire (remplacement des pneumocytes I par les pneumocytes II traduisant la sensibilité des pneumocytes I au NO_2) qui perturbent les échanges gazeux. A plus long terme, entre

trois et douze mois, le tissu pulmonaire se détruit progressivement ce qui mène à un emphysème chez la souris.

Pour obtenir des modifications pulmonaires identiques, il faut multiplier par 5 les concentrations en NO.

Chez l'homme, il semble que l'exposition prolongée à des concentrations insuffisantes pour induire un oedème puisse favoriser un emphysème. Ces résultats sont cependant discutés du fait que les NOx sont rarement émis seuls, mais en général avec d'autres polluants et il est souvent impossible d'évaluer les effets synergiques dus aux associations de polluants : NOx + O₃ + particules...

Effets sur la fonction respiratoire

La plupart des résultats disponibles sont issus d'études en exposition contrôlée chez des volontaires sains ou asthmatiques ou atteint de bronchite chronique obstructive.

- a) chez les sujets sains, les résultats diffèrent d'une étude à l'autre (Sandström, 1995). Si cette variabilité peut être liée à la susceptibilité individuelle, elle est aussi le reflet d'un manque d'harmonie des études entre elles : concentrations testées, conditions d'analyses et types d'analyses. On retiendra cependant qu'une exposition de 15 minutes à 2 ppm de NO₂ est sans effet sur la fonction respiratoire. Pour des expositions plus longues à des concentrations allant de 1,5 à 5 ppm, on enregistre une augmentation de la résistance bronchique qui est réversible après arrêt de l'exposition. Récemment, on a pu mettre en évidence une augmentation de la réactivité de sujets sains à la méthacholine suite à une exposition de 2 ppm de NO₂. Chez les enfants, la fonction ventilatoire ne semble pas être altérée par de faibles concentrations de NO₂, bien que les résultats soient contradictoires chez les très jeunes enfants (Bates, 1995).
- b) chez les sujets volontaires asthmatiques, une hyper-réactivité bronchique est établie à partir de concentration supérieure à 0,2 ppm (380 µg/m³), avec une diminution de la capacité vitale forcée, quel que soit l'agent stimulant (agents pharmacologiques, exercice ou air froid) (Strand, 1996).
- c) les sujets atteints de bronchites chroniques obstructives présentent une diminution des paramètres fonctionnels respiratoires à partir d'une exposition à des concentrations de l'ordre de 0,3 ppm de NO₂.

Mécanismes biochimiques d'altération du poumon

Certaines études réalisées sur l'homme (par l'intermédiaire notamment de lavages broncho-alvéolaires), sur l'animal, ou *in vitro*, au niveau cellulaire ou moléculaire, ont permis d'appréhender certains des mécanismes biochimiques conduisant à l'altération du poumon.

On a pu observer chez l'homme un recrutement de polynucléaire neutrophiles dans la fraction bronchiolaire pour des expositions de 1,6 à 3,2 ppm de NO₂ (Helleday, 1994). De même une réponse inflammatoire alvéolaire précoce se traduit par le recrutement de mastocytes et lymphocytes, qui sont ces cellules impliquées dans le développement de la réponse allergique (Sandström, 1991).

D'autre part, des études réalisées aussi bien *in vitro* (plasma humain) qu'*in vivo*, montrent des effets protecteurs de la vitamine C et E, qui sont des agents antioxydants, vis-à-vis des altérations provoquées par une exposition à NO₂ (Haliwell, 1992) (Hatch, 1986).

Enfin, des études *in vivo* ont permis de montrer des effets directs sur certaines protéines connues :

- une modification du collagène et de l'élastine qui constituent le tissu pulmonaire, et dont l'augmentation peut affecter l'élasticité du poumon, comme dans le cas des fibroses (Last, 1987),
- une augmentation des protéines d'adhésion des granulocytes favorisant leur migration via l'endothélium vasculaire et donc le développement d'une réaction inflammatoire locale (Strand, 1996),
- la diminution de l'activité de l'histamine N-méthyltransférase, qui n'est autre que l'enzyme qui dégrade l'histamine (Hoshi, 1996). L'histamine est une molécule très impliquée dans l'asthme, qui intervient directement dans la broncho-constriction (stimulation des fibres musculaires). Il est clair qu'une augmentation de la concentration en histamine ne peut que favoriser l'hyper réactivité bronchique et l'asthme.

Effets sur les mécanismes de défense de l'appareil respiratoire

Il a été décrit chez l'homme pour des concentrations de 1,5 à 3,5 ppm de NO₂ pendant 20 minutes, ou chez l'animal, une baisse ou même une perte des battements ciliaires au niveau de l'arbre trachéo-bronchique (Helleday R., 1995). Ceci limite les capacités d'épuration décrites ci-dessus.

D'autre part, des études *in vitro* ont montré une action sur l'intégrité de la membrane et la viabilité du macrophage. Cette cellule ne pourra donc plus assurer son rôle d'éboueur, via la phagocytose, de même que son activité bactéricide. Enfin, ces cellules seront moins à même de réguler leur sécrétion de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 β , l'IL-6, le TNF α , TGF β , très impliquées dans la surveillance immunitaire du poumon profond (Kienast, 1996).

Les atteintes à différents niveaux de ces mécanismes de défenses naturelles du poumon, pourraient du moins en partie expliquer la prédisposition observée aux infections par des micro-organismes.

En effet, des études réalisées sur la souris ont montré une augmentation de la sensibilité aux infections bactériennes consécutive à une exposition au NO₂. *In vitro*, des macrophages humains exposés au NO₂ ont une capacité moindre à inactiver le virus de la grippe. Chez l'homme, on a pu faire le lien entre exposition au NO₂ et infections pulmonaires, dans le cas de travailleurs exposés professionnellement.

Pouvoir génotoxique et cancérigène

In vitro, il a été montré expérimentalement que le NO et NO₂ sont mutagènes sur des souches bactériennes (*Salmonella typhimurium* TA 100). *In vivo*, NO₂ induit des mutations et des aberrations chromatidiennes sur les cellules pulmonaires de rats exposés à des concentrations de 8 à 27 ppm (15 à 51 mg/m³).

En ce qui concerne le pouvoir cancérigène des NOx, il n'existe pas de preuve épidémiologique. De plus, expérimentalement la production de tumeurs pulmonaires chez la souris reste critiquable dans la mesure où elle a été observée que dans le cas de l'utilisation de souris A/J présentant spontanément un taux de tumeurs pulmonaires élevé.

Conclusions

Les effets actuellement connus des NOx sur la santé humaine peuvent être synthétisés comme suit :

- une relative résistance de l'appareil respiratoire pour l'exposition à des concentrations faibles de NOx,
- des lésions inflammatoires et prolifératives des voies aériennes qui sont le plus souvent réversibles sauf en cas d'exposition prolongée et importante,
- un pouvoir irritant marqué (bronches et yeux), favorisant l'hyper réactivité bronchique chez les asthmatiques,
- une augmentation de la susceptibilité aux surinfections, particulièrement sensible chez les jeunes enfants où elles peuvent laisser des séquelles respiratoires à distance,
- pas de preuve définitive d'une activité cancérigène, malgré une activité oxydante avérée qui peut altérer le matériel génétique.

Bates D.V. Adverse health impacts of air pollution - continuing problems. *Scand. J. Work Envir. Health.* 1995, 21, 405-411.

Directive du Conseil du 7 mars 1985 concernant les normes de qualité de l'air pour le dioxyde d'azote (85/203/CEE).

Haliwell B., HU M.L., Louie S., Duvall T.R., Tarkington B.K., Motchnik P. Interaction of nitrogen dioxide with human plasma. Antioxydant depletion and oxidative damage. *FEBS Lett.* 1992, 313, 62

Hatch G.E., Slade R., Selgrade M.K., Stead A.G. Nitrogen dioxide exposure and lung antioxidants in ascorbic acid deficient guinea pigs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1986, 82, 351-359.

Helleday R., Sandström T., Stjernberg N. Differences in bronchoalveolar cell responses to nitrogen dioxide exposure in non-smokers and smokers. *Eur. Resp. J.* 1994, 7, 1213-1220.

Helleday R., Huberman D., Blomberg A., Stjernberg N., Sandström T. Nitrogen dioxide exposure impairs the frequency of the mucociliary activity in healthy subjects. *Eur. Respir. J.* 1995, 8, 1664-1668.

Hoshi H., Yamauchi K., Sekizawa K., Ohkawara Y., Iijima H. et al. Nitrogen dioxide exposure increases airway contractile response to histamine by decreasing histamine N-methyltransferase activity in guinea pigs. *Am. J. Resp. Cell Mol. Biol.* 1996, 14, 76-83.

Journal Officiel (L9008-208), Arrêté du 8 juin 1990 relatif à la teneur minimale en oxygène ainsi qu'aux teneurs limites en substances dangereuses admissibles dans l'atmosphère des travaux souterrains (AE-1-A, article 4, paragraphe 1). Ministère de l'Industrie et de l'Aménagement de Territoire.

Kienast K., Knorst M., Müller-Quernheim J., and Ferlinz R. Modulation of IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , and TGF- β secretions by alveolar macrophages under NO₂ exposure. *Lung.* 1996, 174, 57-67.

Last J.A., Warren D.L. Synergistic interaction between nitrogen dioxide and respirable aerosols of sulfuric acid or sodium chloride on rat lungs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1987, 90, 34-42.

Overton JH. Physiological processes and the formulation of dosimetry models: fundamental extrapolation modelling of inhaled toxicants, ozone and nitrogen dioxide. In Miller FJ, Menzel DB, eds. Washington DC, Hemisphere. 1984.

Sandström T. Respiratory effects of air pollutants: experimental studies in human. *Eur. Respir. J.*; 1995, 8, 976-995.

Sandström T., Sterjnberg N., Andersson MC. Inflammatory cell responses in bronchoalveolar lavage fluid after nitrogen dioxide exposure of healthy subjects: a dose-response study. *Eur. Respir. J.* 1991, 3, 332-339.

Strand V., Salomonsson P., Lundahl J., Bylin G. Immediate and delayed effects of nitrogen dioxide exposure at an ambient level on bronchial responsiveness to histamine in subjects with asthma. *Eur. Respir. J.* 1996, 9, 733-740.