



4^e Congrès National Ozone et Santé

Paris, Institut Pasteur, 3-4 décembre 1993

NDLR. – En attendant la publication dans un prochain numéro de la Revue des communications présentées au 4^e Congrès National Ozone et Santé, la Rédaction a voulu rendre compte immédiatement de cette manifestation en vous proposant les résumés des conférences.

Evolution de la couche d'ozone stratosphérique

Gérard Mégie

Professeur à l'Université Pierre-et-Marie-Curie
Service d'Aéronomie du CNRS

En filtrant le rayonnement solaire ultra-violet (UV-B et UV-C), l'ozone atmosphérique protège la surface terrestre d'un rayonnement nocif. La compréhension de l'équilibre naturel de la couche d'ozone stratosphérique montre que celui-ci résulte des effets conjugués du rayonnement solaire et des émissions à la surface de la Terre de gaz très peu abondants, par des processus chimiques, physiques et biologiques. L'atmosphère de la Terre fait ainsi partie intégrante du système complexe de l'environnement de notre planète. Du fait de ses activités industrielles et agricoles, l'homme perturbe aujourd'hui les équilibres naturels en des temps extrêmement courts en comparaison des temps caractéristiques des grandes évolutions climatiques du passé. Les observations les plus récentes montrent ainsi une diminution de l'épaisseur de la couche d'ozone stratosphérique, due aux émissions anthropiques de constituants organo-halogénés, notamment les chlorofluorocarbures. A l'échelle de la Terre, si l'on n'observe pas de diminution significative de l'épaisseur de cette couche dans les régions équatoriales et tropicales, les analyses de tendances effectuées sur la période 1979-1992, mettent pour la première fois, en évidence des diminutions significatives de la quantité totale d'ozone en toute saison aux latitudes moyennes et dans les régions polaires des deux hémisphères. Particulièrement marquées en hiver, ces diminutions sont d'autant plus importantes que la latitude est élevée. Dans la zone de latitude comprise entre 40 et 50° nord, cette diminution est estimée, au cours de la dernière décennie, à -6% en hiver et -3% en été.

Dans les régions polaires de l'hémisphère sud, on observe depuis le début des années 1980, un phénomène de plus grande ampleur, qui correspond à la destruction, chaque année au cours du printemps austral, de plus de 50% du contenu en ozone aux latitudes supérieures à 65°S. Largement médiatisé sous le nom de "trou d'ozone" antarctique, ce phénomène récurrent est aujourd'hui lié de façon univoque à l'action destructrice des constituants chlorés d'origine anthropique sur la couche d'ozone stratosphérique. Des diminutions d'ozone moins importantes ont également été observées dans les régions arctiques en hiver, associées à des niveaux élevés de chlore actif. Le lien quantitatif entre ces diminutions dans les régions polaires et les tendances observées aux moyennes latitudes reste cependant à établir précisément.

Cette diminution de l'ozone devrait se poursuivre au même rythme, au moins jusqu'en l'an 2000, compte tenu des constantes de temps liées aux phénomènes impliqués. Et ceci même en tenant compte des mesures réglementaires prises dans le cadre du Protocole de Montréal et des amendements apportés à Londres en 1990, et Copenhague en 1992, qui prévoient l'arrêt de la production et de la consommation des chlorofluorocarbures dès 1997. Quant au retour définitif à l'équilibre de la période pré-industrielle, il n'interviendra pas avant le milieu du 21^{ème} siècle. En dehors des régions antarctiques, où les mesures les plus récentes mettent en évidence un lien quantitatif direct entre la diminution de l'ozone et l'augmentation du rayonnement UV, il reste aujourd'hui difficile d'affirmer que l'irradiation solaire a augmenté dans le domaine des longueurs d'onde ultra-violettes à l'échelle planétaire. En effet, la présence d'aérosols, la nébulosité et la variabilité potentielle de l'ozone troposphérique masquent pour partie les augmentations liées à la diminution de l'ozone stratosphérique. De fait, l'analyse des données des mesures du rayonnement UV au sol montre que certaines d'entre elles, effectuées dans le cadre du réseau dit "Robertson-Berger", ne montre pas d'augmentation de l'irradiation UV au sol. Il importe toutefois de constater que ces mesures sont effectuées dans des régions où la transparence de la troposphère a également varié sous d'autres influences anthropiques. La mise en place de réseaux de mesure de l'irradiation UV au niveau du sol, adaptés aux échelles locale, régionale et globale, est aujourd'hui une priorité scientifique.

Physicochimie de la pollution photooxydante.

Gérard TOUPANCE

Laboratoire Interuniversitaire des Systèmes Atmosphériques (LISA)

URA CNRS 1404

Universités Paris 7 et Paris 12

61 av du Général de Gaulle, 94010 Créteil Cédex

Les mécanismes de production des photooxydants dans l'atmosphère sont rapidement présentés. On discute le rôle respectif des oxydes d'azote et des composés organiques dans ces processus, en particulier sur la base des diagrammes d'isopleths. On analyse ensuite les processus qui gouvernent les cycles diurnes de l'ozone dans la basse troposphère, en particulier les processus de transport dans la couche de mélange. Quelques cas type sont présentés en illustration.

M. ROUGIER

U R L B Campus international de Baillarguet, 34980 MONTFERRIER

L'activité germicide du rayonnement ultra violet solaire est un phénomène bien connu dont il faudra tenir compte lors de l'application d'un bio-insecticide, en lutte microbiologique contre les insectes ravageurs des cultures.

Des modèles permettent d'établir la durée de survie d'un germe microbien en fonction de la quantité d'UVB reçue.

Ceci implique de bien connaître la dose d'UVB reçue par le germe introduit dans le milieu.

On a donc analysé les variations diurnes de l'UVB solaire, pour différentes journées de l'été 1993.

Les mesures ont été réalisées au moyen de deux capteurs mis récemment sur le marché.

Par ailleurs, par rapport à l'objectif de la lutte microbiologique, des mesures de l'ultra violet solaire B ont été faites à différents niveaux au sein d'une culture de maïs au cours d'une saison de végétation.

Les cibles, les mécanismes photochimiques primaires et les systèmes de défense antioxydantes dans la cellule soumise aux radiations ultraviolettes.

par: R. Santus

Laboratoire de Physicochimie de l'Adaptation Biologique (INSERM U 312)
Museum National d'Histoire Naturelle, 43, rue Cuvier - 75231 Paris - Cedex 05.

Les spectres d'action - c-à-d les spectres d'efficacité de la réponse biologique en fonction de la longueur d'onde d'irradiation - pour la réponse photoérythématogène ou pour la photocancérogénèse cutanée montre une efficacité maximum vers 260-280 nm qui décroît très rapidement jusque 300 nm puis beaucoup plus lentement dans la région UVA (320 - 400 nm) du spectre solaire. Dans la partie UVB du spectre solaire (290 -315 nm), on attribue l'efficacité maximale à des effets photochimiques directs sur les acides nucléiques - en tout premier lieu sur les bases pyrimidiques (formation de dimères, notamment) - et sur le tryptophane, le seul acide aminé aromatique des protéines qui absorbe l'UVB solaire. En ce qui concerne les réponses biologiques à l'UVA, on admet qu'elles sont dues à des réactions photochimiques indirectes, encore appelées réactions photosensibilisées, qui concernent la presque totalité des constituants cellulaires: acides aminés, bases puriques, lipides insaturés, par exemple. Ces réactions photosensibilisées impliquent la formation de différentes espèces activées de l'oxygène comme l'oxygène singulet, l'ion superoxyde et les radicaux OH \cdot .

Pour lutter contre la formation excessive de ces espèces activées de l'oxygène, la cellule a développé différents systèmes de défense:

- 1) des enzymes (SOD, catalase, glutathion peroxydase dont l'action doit être couplée à la phospholipase A₂)
- 2) des molécules "antioxydantes" comme les vitamines C et E, le glutathion, le β -carotène ...
- 3) des protéines de piégage ou de "désactivation" des ions métalliques responsables de la propagation des chaînes de la peroxydation lipidique.

Projet INTERSUN

B.K. Armstrong, Centre international de Recherche sur le Cancer,
150 cours Albert Thomas, F 69372 Lyon Cedex 08

Le programme de recherche international sur la santé, le rayonnement ultra-violet solaire et les changements environnementaux (INTERSUN) est un projet collectif du Centre international de Recherche sur le Cancer (CIRC), de la Division de l'Hygiène du Milieu de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), et du Programme des Nations Unies pour l'Environnement (PNUE).

Les objectifs de ce projet sont les suivants:

Décrire de façon précise et quantitative le rapport entre l'irradiance du rayonnement UV solaire au niveau du sol et l'incidence des cancers cutanés et autres conséquences sanitaires (notamment les lésions oculaires et les effets sur le système immunitaire) du rayonnement UV dans les populations humaines.

Estimer de façon précise le changement intervenant dans la manifestation des effets sur la santé du rayonnement UV résultant du changement de l'irradiance du rayonnement UV au niveau du sol dû à un changement environnemental.

Améliorer la compréhension du rapport entre le risque personnel quant aux effets sur la santé du rayonnement UV et la sensibilité constitutionnelle au soleil et les comportements liés au soleil.

Elaborer et valider des procédés appropriés de contrôle de l'exposition humaine au rayonnement UV et la manifestation des effets pour la santé qui y sont associés.

Mettre en place un réseau de centres contrôlant les tendances de l'irradiance du rayonnement UV solaire au niveau du sol, l'exposition des populations au soleil, et les manifestations sanitaires du rayonnement UV.

Interpréter ces tendances, dans la mesure du possible, par rapport aux changements environnementaux, aux changements des comportements humains, et à la mise en oeuvre de politiques publiques visant à orienter pour le mieux le changement environnemental ou l'exposition au rayonnement UV solaire.

Fournir une base de travail pour la conception et l'évaluation d'interventions visant à réduire la manifestation des effets nocifs du rayonnement UV solaire sur la santé.

Une démarche par corrélation géographique forme la stratégie de recherche centrale pour la description quantitative précise du rapport entre l'irradiance UV solaire au niveau du sol et la manifestation d'effets sur la santé, et l'estimation des conséquences sanitaires qui résulteraient d'un changement environnemental.

On décrira les progrès effectués depuis le commencement de ce projet ainsi que les démarches qui restent à faire pour réaliser ses objectifs.

L'INDISPENSABLE PROTECTION DE L'OEIL PAR L'OZONE STRATOSPHERIQUE

P. AMALRIC, ALBI

L'indispensable ozone stratosphérique filtre les ultra-violetes dont la longueur d'onde s'étend de 290 à 320 nm. Si ces longueurs d'onde atteignent la rétine, elles peuvent provoquer des dommages sur les cellules visuelles et sur la couche épithéliale pigmentée. Ceci est vrai non seulement chez l'enfant, mais aussi à tous les âges de la vie.

L'oeil mal protégé de ces radiations va alors subir toute une série de complications dégénératives et parfois tumorales.

La protection oculaire contre les ultra-violetes est indispensable en de multiples circonstances au cours des expositions au soleil.

Les conséquences pathologiques sur le revêtement cutané humain de l'exposition aux ultra-violets

Docteur H. Sancho-Garnier

La couche d'ozone atmosphérique constitue un écran protecteur très efficace contre les rayonnements ultra-violets (U.V.) solaires. Dans des conditions d'irradiation *normales*, c'est-à-dire conformes aux phototypes cutanés des individus (résultante de l'adaptation de la peau à l'environnement solaire), les U.V. ont un effet bénéfique sur la peau humaine. En particulier, ils déclenchent la synthèse de la vitamine D₃, et par ailleurs, la fabrication de pigment mélanique à effet photoprotecteur. Mais si les irradiations deviennent trop intenses ou trop longues, les processus de protection sont débordés. Il en résulte des réactions aiguës, immédiates et transitoires, voire des lésions chroniques à moyen et long terme.

Les U.V.A. (340 à 400 nm) pénètrent jusqu'au niveau du derme. Ils sont absorbés par certains photosensibilisateurs intra-cellulaires. Il s'ensuit des peroxydations lipidiques qui libèrent des médiateurs de l'inflammation donnant naissance aux bien connus "coups de soleil" pouvant aller de l'érythème simple à l'ulcération.

Les U.V.B (290 -340 nm) atteignent essentiellement la basale épidermique, zone de régénération permanente de l'épiderme.

Les U.V.C. (200 à 280 nm) atteignent très peu la basale, ce qui réduit considérablement leur agressivité sur la peau.

Les U.V. provoquent des dommages directs et indirects sur l'ADN. Les processus de réparation peuvent laisser s'introduire des erreurs aboutissant à des mutations ponctuelles. Des irradiations prolongées entraînent alors des modifications permanentes telles que : atrophie du derme, kératoses, télangiectasies et à plus long terme, cancers cutanés.

Les cancers cutanés sont de plusieurs types selon qu'ils prennent origine dans des cellules basales indifférenciées, dans des kératinocytes ou dans des mélanocytes.

Les carcinomes sont les tumeurs les plus fréquentes chez l'homme comme chez la femme, mais leur taux réel d'incidence est difficile à établir car, dans de nombreux cas, les sujets souvent âgés, ne se font pas traiter, ou sont soignés au cabinet médical sans vérification histologique. Les données d'incidence qui existent dans la littérature mondiale sont donc fortement sous-estimées. Les données les plus fiables se rapportent aux mélanomes malins qui ne représentent qu'environ 5 p.100 des tumeurs cutanées mais qui ont une létalité beaucoup plus grande que celle des carcinomes. Quoi qu'il en soit, la fréquence des mélanomes comme celle des carcinomes est en augmentation constante au cours des dernières décennies. L'exposition aux U.V. joue un rôle dans l'apparition des cancers cutanés mais celui-ci est complexe et lié à divers autres facteurs, en particulier à la pigmentation cutanée, à l'âge des premières expositions, à la présence d'un certain "terrain" qui se traduit entre autre par l'abondance de naevi, et une inaptitude au bronzage.

Place de l'ozone dans la pollution oxydante : effets sur la santé respiratoire

J. BIGNON

La morbidité respiratoire liée à la pollution photo-oxydante résulte de la production exagérée d'ozone dans les basses couches atmosphériques par transformation photochimique des polluants primaires oxydants sous l'action des rayons solaires UV : essentiellement oxydes d'azote et composés organiques volatiles (COV) produits par les moteurs à essence. C'est donc principalement la circulation automobile des grandes villes, et surtout dans les régions à fort ensoleillement, qui est responsable de cet excès d'ozone.

Les polluants photo-oxydants, et particulièrement l'ozone peu soluble dans l'eau, ont la propriété de pénétrer jusqu'à la périphérie du poumon. Ceci explique que l'ozone, même pour des concentrations relativement faibles (80 à 100 ppb) soit capable d'endommager les cellules des voies aériennes et des alvéoles et d'interagir avec certains récepteurs et certaines molécules protéiques, comme l'ont montré de nombreuses études, aussi bien chez l'animal que chez l'homme.

Les études épidémiologiques qui ont essayé de corréler les pics de pollution photo-oxydante avec les évènements morbides chez des adultes et surtout chez des enfants et adolescents ont constaté que les asthmatiques

représentaient une population très sensible à des concentrations d'ozone supérieures à 100-120 ppb. A l'occasion de pics de pollution de cet ordre, on a en effet constaté une demande accrue d'assistance médicale d'urgence (admission à l'hôpital ou visite à domicile) ou une augmentation de la consommation de médicaments chez les asthmatiques. Par ailleurs, des études réalisées aux USA dans des camps de vacances d'enfants et d'adolescents dans des régions à fort ensoleillement ont montré une aggravation indiscutable de la fonction respiratoire chez les sujets asthmatiques et ceci pour des concentrations relativement faibles d'ozone, de l'ordre de 100 ppb, surtout en cas de synergie avec d'autres polluants, notamment particulaires. En effet, la pollution oxydante est le plus souvent associée à d'autres polluants, notamment à la pollution acido-particulaire en rapport avec les émissions de dioxyde de soufre et d'ions H⁺ et à l'émission de particules solides (sulfates et autres poussières industrielles).

Les limites des études épidémiologiques justifient le recours à l'exposition contrôlée de volontaires qui permettent de tester les effets physiologiques et/ou biologiques de différentes concentrations de gaz polluants isolément ou en association et pour différents niveaux d'exercice. Il s'agit là d'une méthode éthiquement acceptable, excellente pour tester les concentrations réalistes auxquelles sont exposés les citoyens. Elle autorise de comparer sujets sains et certains groupes de sujets malades, ce qui permet d'étudier les modalités réactionnelles de sujets aux poumons fragilisés (asthme, allergie ou bronchite chronique obstructive). De telles études, réalisées aux USA et dans certains pays d'Europe à la fois chez des adultes et des enfants et adolescents, ont objectivé l'extrême sensibilité des asthmatiques à l'ozone pour des concentrations correspondant à des pics de pollution observés dans certaines villes européennes (180 ppb), avec chez des asthmatiques allergiques un abaissement du seuil de réactivité bronchique aux allergènes spécifiques pour des concentrations de 120 ppb d'ozone.

Les effets et mécanismes biologiques et moléculaires impliqués dans l'agression oxydante, notamment par l'ozone, commencent à être mieux connus, y compris par des études chez l'homme au moyen du lavage broncho-alvéolaire. Ceci devrait permettre de mieux connaître les cibles à protéger et de comprendre les mécanismes d'adaptation et les raisons de la variabilité interindividuelle de la réponse à l'agression oxydante chez l'homme.

L'ensemble de ces études, malgré la persistance de zones d'ombre, conforte l'impression générale que des concentrations d'ozone supérieures à 100 ppb représentent une menace pour la santé respiratoire et conduisent à se poser des questions sur le rôle possible de la pollution oxydante à l'origine de l'augmentation de fréquence et de gravité de l'asthme. Sur la base des connaissances actuelles, les effets néfastes sur la santé ne concernent pas uniquement les expositions de courte durée (entre 1 à 2 heures) à des concentrations élevées. Une attention particulière doit porter également, à la fois sur les effets possibles des fluctuations journalières, très caractéristiques de la pollution par l'ozone et sur des concentrations moyennement élevées pendant une longue durée à la faveur de conditions climatiques prolongées. De plus, les synergies avec d'autres polluants gazeux ou particulaires, bien que difficilement analysables, viennent encore augmenter les risques pour l'appareil respiratoire.

Les recherches doivent être poursuivies, car il s'agit d'enjeux économiques et de santé publique considérables. Seules des études prospectives bien conduites permettront l'établissement de Valeurs Guides adaptées à la réalité du problème.

EFFETS DE L'OZONE SUR LA SANTE

BILAN DES EXPOSITIONS HUMAINES CONTROLÉES, RÉALISÉES ENTRE 1980 et 1993.

I. MOMAS, S. CIMPELLI, B. FESTY, Université Paris V.

Cet article dresse le bilan, en termes de méthodologie et de résultats, de 54 expérimentations humaines contrôlées relatives à l'ozone (O₃), dont les résultats ont fait l'objet de publications en langue anglaise ou française entre 1980 et 1993.

Toutes ces études ont été effectuées avec un ou plusieurs groupes de volontaires exposés à O₃ et un groupe témoin soumis à une atmosphère d'air "filtré", les sujets étant, le plus souvent, leur propre témoin. L'exposition est caractérisée par son niveau i.e. la concentration d'O₃, sa durée, son caractère répétitif et le mode d'exercice des individus.

Une exposition unique à O₃ entraîne une augmentation significative des symptômes (toux, inconfort thoracique et douleur à l'inspiration profonde) et de leur score de sévérité. Tous les auteurs mettent en évidence des altérations significatives de la fonction pulmonaire: diminution de la CVF, du VEMS, et du DEM 25-75, augmentation de la résistance des voies aériennes et de la réactivité bronchique à la métaboline et à l'histamine. Ces perturbations se produisent aussi bien pendant une exposition de courte durée (2 heures) à des concentrations d'O₃ élevées (plus de 0,20 ppm, soit plus

de 400µg) ou intermédiaires, si l'exercice est suffisant ($V_e > 75$ l/minute) que pendant une exposition de longue durée (plus de 6 heures) moins intense (0,10 ppm). Ces modifications sont transitoires et disparaissent en moins de 24 heures. Les effets cellulaires et biochimiques sont dominés par la réaction inflammatoire qui se développe au niveau des voies respiratoires inférieures et supérieures. Certains groupes d'individus semblent constituer une population à risque vis à vis de la pollution photooxydante: les asthmatiques et les sportifs.

Les investigations comportant des expositions répétées à O₃, indiquent un phénomène d'hypersensibilité lors du deuxième jour d'exposition, puis un état d'adaptation apparaissant en 3 à 5 jours.

LES ETUDES EPIDEMIOLOGIQUES DES EFFETS DE L'OZONE TROPOSPHERIQUE : IMPLICATIONS POUR LES NORMES D'EXPOSITION

Dr William DAB, Professeur à l'Ecole Nationale de Santé Publique

L'approche épidémiologique des effets de la pollution atmosphérique sur la santé est ancienne, mais les études concernant spécifiquement l'ozone n'ont été publiées que depuis les années 80.

Cependant, on dispose aujourd'hui de résultats concernant tous les types de critères sanitaires : mortalité, morbidité respiratoire, symptômes déclarés, complications de la maladie asthmatique, admissions hospitalières, explorations fonctionnelles respiratoires. Les effets aigus survenant dans les heures qui suivent une exposition brève ont été mieux explorés que les effets à long terme en relation avec des expositions chroniques. Le niveau d'activité physique influence l'effet observé.

La qualité méthodologique de ces travaux a fait des progrès notables, notamment en ce qui concerne les méthodes statistiques. Cependant, la métrologie environnementale fait souvent l'objet d'une étude trop sommaire. De plus, il convient de rester prudent quant à une interprétation étiologique trop stricte puisque les expositions ne sont jamais estimées au niveau individuel. En particulier, il semble difficile de faire la part de ce qui revient exclusivement à l'ozone et de ce qui relève de l'action conjuguée d'un ensemble de polluants, notamment les particules. Il faut aussi noter que la plupart des études publiées ont été réalisées en Amérique du Nord.

Parce qu'elles mettent en cause la pollution d'origine automobile et que les effets à faibles concentrations sont estimés dans un contexte d'incertitude relative, les normes d'exposition à l'ozone font actuellement l'objet d'un vif débat. Il paraît raisonnable d'admettre qu'on a à faire à une relation exposition/risque sans seuil. Il apparaît aussi que des impacts sanitaires de l'exposition à l'ozone ont été observés pour des concentrations plus basses que celles qui sont couramment autorisées. L'ensemble des résultats, incluant les études animales et expérimentales plaide en faveur d'un contrôle accru de la pollution photo-oxydante.

Ozone et réactivité bronchique : effet sur le muscle lisse des voies aériennes

Roger Marthan, Laboratoire de Physiologie, Faculté de Médecine Victor Pachon, Université de Bordeaux II, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux Cedex

L'ozone (O_3) induit une hyperréactivité bronchique dans diverses espèces animales (chien, cobaye) ainsi que chez l'homme. Les études épidémiologiques ont précisé les caractéristiques de cette hyperréactivité. Les mécanismes mis en jeu sont, cependant, encore mal connus. Beaucoup des mécanismes qui contrôlent le calibre bronchique semblent constituer une cible d'action de l' O_3 . Ainsi, le tonus cholinergique bronchoconstricteur pourrait être accru. L' O_3 provoque également un afflux de cellules inflammatoires (macrophages et neutrophiles) qui peuvent libérer des médiateurs inflammatoires bronchoconstricteurs (dérivés du métabolisme de l'acide arachidonique). Des arguments indirects suggèrent que l' O_3 pourrait, par les lésions épithéliales qu'il entraîne, diminuer le catabolisme enzymatique de certains peptides constricteurs. Enfin, récemment, des travaux ont montré que le muscle lisse des voies aériennes pouvait être une cible d'action de l'ozone. Une série d'études du groupe de Ed Daniel (1-3) a montré que l'exposition à O_3 modifiait les mécanismes du couplage excitation-contraction du muscle lisse des voies aériennes de chien et notamment la libération du Ca^{2+} intracellulaire. Chez l'homme, il a été montré que l'absorption de l'ozone intervenait pour 40 % au niveau des voies aériennes supérieures et pour 60 % dans les voies aériennes plus distales (4) dans une partie de l'arbre aérien très riche en muscle lisse. De plus, d'autres polluants oxydants (NO_2 , acroléine) provoquent dans les voies aériennes humaines in vitro, des modifications de contractilité dont les mécanismes se rapprochent de ceux de l'ozone chez le chien (5, 6, 7). Ainsi, il apparaît important de vérifier, au niveau, du muscle lisse des voies aériennes humaines, les effets de l'exposition à l'ozone.

OZONE ET METALLOPROTEINASES DE LA MATRICE EXTRACELLULAIRE PULMONAIRE.

M.P. d'Ortho*, A. Harf*, P. Fritsch[§], G. Monchaux[§] et C. Lafuma*.

L'ozone (O_3) induit classiquement une hyper-réactivité bronchique aux doses de la pollution atmosphérique (i.e. entre 0.2 et 0.4 ppm). A doses plus élevées (≥ 2 ppm), il a été démontré que l' O_3 est susceptible d'induire des lésions proches de l'œdème pulmonaire lésionnel (OPL) (Trédaniel J. *et al.* Inhaled Particules, 1992). L'OPL se caractérise par une perméabilité alvéolocapillaire accrue avec passage anormal des protéines sériques vers les espaces aériens alvéolaires. L'augmentation de la perméabilité alvéolocapillaire est due à des lésions de la membrane basale alvéolocapillaire, qui se compose principalement de collagène de type IV. Nous avons donc voulu évaluer le rôle au cours de l'OPL, des enzymes impliquées spécifiquement dans la dégradation de ce type de collagène : les collagénases de type IV ou gélatinases (GL). Ces enzymes sont sécrétées en particulier par les macrophages alvéolaires, ces derniers étant responsables de la réponse inflammatoire pulmonaire lors d'agression. Parallèlement nous avons évalué la présence d'inhibiteur spécifique des GL : le "tissue inhibitor of matrix metalloproteinases" ou TIMP.

Méthodes : Des rats Sprague-Dawley ont été exposés à l' O_3 , 2 ppm, pendant 5 heures. Les rats ont été étudiés 24 h après le début de l'exposition, un groupe non exposé a servi de témoin (n=6, dans chaque groupe). Les macrophages alvéolaires (MAC) sont recueillis par lavage broncho-alvéolaire (LBA) et mis en culture pendant 24 h. L'étude a été menée sur les liquides de LBA et sur les milieux de culture des MAC.

1- L'évaluation biochimique de l'activité des GL a été réalisée par : (i) l'étude de la dégradation de gélatine incorporée dans un gel de polyacrylamide en présence d'agent

dissociant (SDS-PAGE) pour tester l'activité GL totale; (ii) l'étude de la dégradation de gélatine tritiée pour évaluer l'activité GL libre.

2- Le dosage de TIMP a été réalisé par l'étude du pouvoir inhibiteur testé sur collagène-³H. Les résultats sont exprimés en moyenne ± sem; *: significatif vs le groupe témoin, p < 0.05.

3- L'identification des différentes protéines, GL et TIMP, a été confirmée par Western-blots.

Résultats:	Témoins	O ₃
Nb total (10 ⁶) de cellules dans le LBA	5.0 ± 2.1	14.0 ± 1.1 *
Nb de macrophages	4.9 ± 2.1	7.4 ± 1.2
Nb de polynucléaires neutrophiles	0.2 ± 0.2	6.2 ± 0.9 *
Protéines dans le liquide de LBA (g/l)	0.05 ± 0.02	1.38 ± 0.30 *
Albumine dans le liquide de LBA (g/l)	0.0 ± 0.0	0.8 ± 0.2 *
<u>Liquides de LBA</u>		
SDS-PAGE: présence de GL	±	+++
Dégradation de gélatine- ³ H (nU/ml)	254 ± 32	277 ± 34
Activité TIMP (mU/ml)	44 ± 9	79 ± 15 ^{NS}
<u>Milieus de culture des macrophages</u>		
SDS-PAGE: présence de GL	±	+++
Dégradation de gélatine- ³ H (nU/ml)	148 ± 22	375 ± 71*
Activité TIMP (mU/ml)	25 ± 12	44 ± 13 ^{NS}

Conclusions:

L'exposition à l'O₃ induit un OPL, confirmé (i) par l'augmentation des cellules dans le LBA; et par l'augmentation des protéines, constituées majoritairement par de l'albumine; (ii) par les données histologiques (présence de membranes hyalines dans les alvéoles). Cet OPL s'accompagne d'une expression accrue de GL dans les liquides de LBA et dans les milieux de culture des MAC. L'expression du TIMP est peu modifiée par l'exposition à l'O₃. Les résultats montrent un déséquilibre de la balance GL/TIMP en faveur des GL, qui plaide pour l'implication des GL dans les lésions des membranes basales.

*INSERM U 296, Physiologie Respiratoire, Faculté de Médecine de Créteil.

§ DSV/DPTE, Laboratoire de Cancérologie Expérimentale, CEA, Fontenay-aux-Roses

EFFETS DE L'OZONE A CONCENTRATIONS REALISTES SUR LES ACTIVITES SECRETOIRES DES MACROPHAGES ALVEOLAIRES HUMAINS.

B. WALLAERT, K. ARSALANE, Ph. GOSSET, D. VANHEE, C. VOISIN, A.B. TONNEL

Laboratoire de Pathologie Respiratoire et de Pollution Atmosphérique CJF INSERM 90-06

Institut Pasteur de Lille.

L'ozone est un gaz oxydant majeur de la pollution atmosphérique dont les effets toxiques pour l'appareil respiratoire s'exercent à des concentrations faibles (0,1 à 0,4 ppm). De par leur situation endoalvéolaire, les macrophages alvéolaires (MA) représentent une cible privilégiée des gaz oxydants. Le but de ce travail est de préciser les effets de l'ozone à concentrations réalistes (0,1 ; 0,2 ; 0,4 et 1 ppm) sur les activités sécrétoires, pro-inflammatoires, des MA humains. Les MA étaient récoltés par lavage broncho-alvéolaire (LBA) chez des patients bénéficiant d'une endoscopie bronchique pour bilan d'une opacité anormale périphérique ; le LBA était réalisé en territoire radiologiquement sain. La technique de culture *in vitro* des MA en phase gazeuse, mise au point au laboratoire, assurant un contact direct sans interposition liquidienne entre les MA et l'atmosphère ambiante, a été appliquée à l'étude des effets cellulaires de l'ozone. Les MA étaient exposés pendant 30 minutes, 60 minutes et 120 minutes à l'ozone. La cytotoxicité cellulaire était appréciée d'une part sur le relargage de LDH dans le milieu de culture, d'autre part sur les variations

du contenu cellulaire en ATP. La sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires, leucotriène B₄, interleukine-6, IL-8 et TNF α était mesurée par dosage radioimmunologique dans le liquide surnageant. Les résultats préliminaires démontrent qu'à concentrations faibles, l'ozone n'entraîne pas de toxicité cellulaire significative sur les MA. Par contre, l'exposition des MA à 0,4 ppm d'ozone est associée à la libération de quantités accrues de médiateurs pro-inflammatoires impliqués dans le recrutement tissulaire de polynucléaires neutrophiles. Nos résultats suggèrent qu'à des concentrations observées en pollution atmosphérique, l'ozone peut être responsable du développement de réactions inflammatoires chroniques du tractus respiratoire.

EFFETS DE L'AGRESSION OXYDANTE SUR LA REPONSE PROLIFERATIVE DES CELLULES EPITHELIALES DE L'ALVEOLE PULMONAIRE

Dr. A. CLEMENT

Département de physiologie

Hôpital Trousseau, Paris

De par sa situation, l'épithélium de l'alvéole pulmonaire représente une cible importante de l'agression oxydante. Les processus de réparation post-lésionnels qui doivent se mettre en place pour permettre une reconstitution harmonieuse de l'unité fonctionnelle pulmonaire font intervenir les cellules souches de cet épithélium: les cellules de type 2. La compréhension des mécanismes impliqués dans les processus d'inhibition de la réplication des cellules de type 2 lors de l'exposition aux oxydants et ultérieurement dans leur réversibilité revêt, de ce fait, un grand intérêt en physiopathologie respiratoire.

Pour aborder l'étude de ces mécanismes, nous avons récemment développé un modèle cellulaire utilisant une lignée de cellules épithéliales de type 2 de rat que nous avons exposée pendant des durées variables à l'hyperoxie (95 % O₂). Les premiers résultats obtenus nous ont permis de dégager les conclusions suivantes:

- Un point contrôle important de la progression des cellules de type 2 dans le cycle cellulaire lors de l'exposition aux oxydants se situe au niveau de la transition G1/S.
- Le contrôle de l'expression d'un certain nombre de gènes associés à la prolifération fait intervenir des mécanismes particuliers, essentiellement localisés au niveau de la traduction de leur ARN messager.
- L'arrêt de la prolifération des cellules de type 2 lors de l'exposition à l'hyperoxie s'accompagne de l'induction de trois éléments importants du système des "Insulin-like growth factors" (IGFs): IGF-2, le récepteur de type 2 des IGFs et une protéine de liaison des IGFs appelée IGFBP-2. L'induction de l'expression des gènes codant pour ces molécules apparaît rapidement dans le processus de blocage de la prolifération cellulaire par l'oxygène et fait intervenir pour une part le "transforming growth factor- β ". Le rôle précis joué par l'activation du récepteur de type 2 des IGFs et par IGFBP-2 dans l'inhibition réversible de la réplication des cellules épithéliales alvéolaires lors de l'agression oxydante reste à déterminer.

Etude des effets cancérigènes et cocancérigènes de l'ozone chez le rat: résultats préliminaires.

G. Monchaux, J.P. Morlier, M. Morin, P. Fritsch, J. Trédaniel§ et R. Masse

CEA, DSV-DPTE-LCE. Centre d'Etudes Nucléaires de Fontenay aux Roses, 92265 Fontenay aux Roses Cedex
§ Service de Pneumologie, Hôpital Saint-Louis, 1 rue Claude Vellefaux, 75010 Paris

Résumé

L'ozone est un polluant atmosphérique dont les concentrations sont liées à celles des oxydes d'azote et donc aux activités humaines. Par ailleurs, des concentrations de radon importantes sont observées dans plus de 5% de l'habitat français. Les données de la littérature sur le risque cancérigène ou cocancérigène potentiel de l'ozone sont actuellement parcellaires et contradictoires. Cependant les travaux de l'équipe de C. Borek suggèrent la possibilité d'effets synergiques entre l'irradiation et l'exposition à l'ozone. Nous nous sommes proposés d'évaluer le pouvoir cancérigène ou cocancérigène potentiel de l'ozone chez le rat dans un modèle expérimental associant à l'inhalation d'ozone une irradiation locale pulmonaire par inhalation de radon 222 et de ses descendants (émetteurs α). En effet, il a été démontré expérimentalement qu'un effet cocancérigène se traduisait par une augmentation de l'incidence des tumeurs induites après administration combinée des agents potentiellement cancérigènes. Le but de ces expérimentations est d'évaluer chez le rat le pouvoir cancérigène potentiel de l'ozone, agissant: - soit seul, comme un cancérigène complet, - soit comme un promoteur, après une initiation par irradiation locale pulmonaire par le radon. Ces expérimentations ont porté sur 3 groupes d'animaux: - *groupe 1*: 50 rats exposés au radon à la dose de 1000 WLM* dont il a été démontré qu'elle induisait une incidence de 20 à 22% de cancers du poumon; - *groupe 2*: 50 rats exposés au radon à la dose de 1000 WLM, puis 1 mois après la fin de l'inhalation de radon à de l'ozone à la concentration de 0,2 ppm, 6 heures par jour, 5 jours par semaine, pendant 6 mois; - *groupe 3*: 50 rats exposés à l'ozone seul, à la concentration de 0,2 ppm, 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 6 mois. La concentration de 0,2 ppm d'ozone correspond aux concentrations moyennes observées dans les périodes de pollution liées aux épisodes de brouillard photochimique. Les résultats de cette étude sont comparés en ce qui concerne l'incidence tumorale et les temps de survie à ceux observés dans un groupe historique de 1287 rats témoins non exposés. Une autopsie complète a été pratiquée sur tous les animaux. L'étude histopathologique est actuellement en cours, mais l'incidence des tumeurs pulmonaires a pu être évaluée sur la base des lésions macroscopiques. Elle est de 20% dans le groupe 1, 40% dans le groupe 2 et 6% dans le groupe 3, comparée à 0,9% chez les témoins. Sous réserve de confirmation du diagnostic histopathologique, ces résultats préliminaires suggèrent un effet cancérigène ou cocancérigène potentiel de l'ozone chez le rat pour des niveaux d'exposition correspondant à ceux rencontrés durant les épisodes aigus de pollution urbaine.

* L'unité de concentration des descendants du radon est le Working Level (WL), utilisée en radioprotection.

Un WL est une combinaison quelconque des descendants à vie courte du radon (RaA, RaB, RaC, RaC') dans un litre d'air, telle que l'énergie potentielle alpha totale émise par eux est de $1.5 \cdot 10^5$ MeV.

Le Working Level Month (WLM) est une unité de dose cumulée, correspondant à une exposition de 173 heures par mois.

MESURE ET COMMUNICATION: L'EXPERIENCE ALSACIENNE

A. TARGET

Dans le cadre des missions de l'ASP (réseau régional de mesure et d'études en Alsace) - mesurer - surveiller - étudier - informer et alerter, l'ozone est particulièrement suivi notamment depuis la mise en place de la directive C.E.E. sur l'ozone.

Dans un premier temps en 1985, c'est au travers des recherches sur les dépérissements forestiers (Programme DEFORPA) que des mesures d'ozone furent effectuées par l'ASP (effet de l'ozone sur les végétaux). Ce type de mesure s'est, par la suite, étendu aux villes (effets sur la santé).

Le bilan des mesures d'ozone en 1992, en regard des directives C.E.E., montre de nombreux dépassements en ville et surtout en milieu rural.

Une diffusion d'information lors de formation de "smog" photochimique avec élévation rapide des niveaux d'ozone, se doit d'être pertinente (cible, risque, évolution

probable, etc...), cohérente (caractère transfrontalier de l'étendue régionale du phénomène) et intégrée (plan de communication global, information quotidienne tout polluant - indice).

Au travers du programme franco-germano-suisse REKLIP, des modèles prévisionnels météorologiques couplés à des modèles chimiques devraient permettre avant la fin de ce siècle de pouvoir prévoir les pointes d'ozone dans le fossé rhénan à une échelle très fine (le km² est visé).

- o o o -

A.S.P.A. : Association pour la Surveillance et l'Etude de la Pollution Atmosphérique en Alsace.

DEFORPA : Programme de Recherche sur les Dépôts Forestiers attribués à la Pollution Atmosphérique.

REKLIP : Programme de Recherche franco-germano-suisse sur la caractérisation du climat et de la pollution dans le fossé rhénan.

IMPACTS DES NIVEAUX ACTUELS ET FUTURS D'OZONE SUR LES ARBRES FORESTIERS EXPERIENCES DU COL DU DONON (VOSGES) AU MOYEN DE CHAMBRES A CIEL OUVERT

Jean-Pierre GARREC et Christophe ROSE
INRA - Centre de Recherches Forestières de Nancy
Laboratoire Pollution Atmosphérique
54280 CHAMPENOUX

Les recherches effectuées en France pour comprendre les causes du phénomène de dépérissement des forêts qui est d'abord apparu dans les massifs de l'est de la France autour des années 1980, ont montré que si les pluies et les brouillards acides intervenaient, il fallait surtout prendre en compte l'effet de l'ozone troposphérique.

L'ozone est en effet un polluant atmosphérique fortement phytotoxique, en constante augmentation actuellement avec le développement du trafic automobile et des transports. Dans l'hémisphère Nord, ce gaz augmente de l'ordre de 1,6 % par an et on estime que sa concentration aura doublé au cours du siècle prochain.

Il faut signaler aussi que ce gaz est un gaz à effet de serre dont le pouvoir thermique est 2000 fois plus important que celui du CO₂.

Au Col du Donon (Massif Vosgien) dans la région de dépérissement forestier où nous effectuons nos expériences, la concentration moyenne annuelle d'ozone est de l'ordre de 70 à 80 µg/m³, soit environ le double du niveau de fond actuel d'ozone dans l'hémisphère Nord. Rappelons que ce niveau de fond actuel d'ozone est également le double de celui qui existait avant l'ère industrielle.

Dans une première série d'expériences, grâce à la technique des "chambres à ciel ouvert" nous avons éliminé "in situ" l'ozone de l'environnement atmosphérique de jeunes épicéas. Les expériences ont montré que dans les chambres à air filtré, les épicéas étaient par exemple de 16 à 45 % plus grands selon leur provenance, comparativement à ceux de chambres à air non filtré. Il apparaît donc que les niveaux actuels d'ozone au Col du Donon sont capables de perturber la croissance des épicéas, sans toutefois être assez élevés pour entraîner des nécroses foliaires.

Mais suite à l'augmentation rapide de l'ozone dans l'atmosphère, il est apparu que les arbres plantés aujourd'hui connaîtront d'ici leur exploitation des conditions bien différentes. Pour connaître et comprendre dès maintenant les conséquences physiologiques à long terme de ces modifications environnementales, il a été décidé dans une deuxième série d'expériences de soumettre "in situ" des épicéas aux concentrations futures d'ozone, toujours grâce à la technique des "chambres à ciel ouvert". Dans les chambres, le taux d'ozone a été doublé par rapport au niveau moyen local actuel du Col du Donon, de façon à mimer le taux prévu pour le milieu de prochain siècle. Ces nouvelles expériences ont débuté en 1992 et les premiers résultats commencent à être dépouillés.

Ozone troposphérique en Suisse

Prof. Hans-Urs Wanner
Ecole polytechnique fédérale de Zurich

Résumé

Comme dans d'autres pays d'Europe, on mesure aujourd'hui en Suisse des concentrations d'ozone notablement plus élevées que les simples concentrations naturelles.

Ces dernières années, il n'y a pas été possible de constater une tendance générale de l'évolution des taux d'ozone.

Des résultats des mesures on peut tirer les conclusions suivantes:

- Les concentrations d'ozone varient fortement d'une année à l'autre, raison pour laquelle il n'est possible de dégager aucune tendance à ce jour. Ces fluctuations s'expliquent en premier lieu par les conditions climatiques caractérisant un été.
- Une tendance semble toutefois se dessiner: les emplacements précédemment considérés comme très pollués paraissent enregistrer une diminution, alors qu'aux endroits peu touchés dans le passé la tendance est inverse.
- Les taux records mesurés en 1985 et 1986 par les stations de Payerne et de Bâle n'ont plus été atteints durant les étés de 1991 et 1992, pourtant eux aussi très ensoleillés et chauds, donc favorables à la synthèse d'ozone. Il est possible que ce soit là un premier signe d'amélioration, mais ce n'est pas suffisant pour parler de tendance.
- Seule une réduction considérable des substances "précurseurs" parviendra à diminuer notablement la charge d'ozone.

Il ressort de la statistique pour 1992 que les valeurs limites fixées pour l'ozone dans l'ordonnance sur la protection de l'air (moyenne horaire maximale: $120 \mu\text{g}/\text{m}^3$, fréquence cumulée de 98% des moyennes semi-horaires d'un mois: $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$) sont fréquemment dépassées et parfois de façon considérable. Les dépassements des valeurs limites d'immission se produisent généralement entre avril et septembre, le maximum étant atteint en juillet et en août. En 1992, il y a également eu de nombreux excès au mois de mai, très doux et ensoleillé. Les plus fortes concentrations (valeur 98%) ont été mesurées à Lugano et à Magadino, avec respectivement 215 et $188 \mu\text{g}/\text{m}^3$. A Davos et sur le Jungfraujoch en revanche, la valeur 98% maximale a été de respectivement 115 et $121 \mu\text{g}/\text{m}^3$, ce qui montre clairement que les taux de pointe estivaux se produisent dans les couches les plus basses de l'atmosphère.

SURFACE OZONE MONITORING IN NORTH-CENTRAL ITALY

P. Bonasoni, G. Giovanelli and F. Ravegnani

FISBAT-CNR Institute, via de' Castagnoli 1, 40126 Bologna, Italy

Studies over the last few years of the space-time pattern of atmospheric ozone distribution have become increasingly important, and not just to the scientific community. The depletion of the ozone layer in the stratosphere and its increase in the middle and lower troposphere are unequivocal signs of changes in climate. Measurements in Europe show a significant increase both of surface ozone, ranging from 1.1 to 3.1% yearly, and the ozone concentration in the free troposphere, from 1 to 1.5% yearly, over the last two decades. These increments are associated with increases in the emission of ozone precursors and hydrocarbons registered in the same span of time. Forecasts based on the latest climatic models support the rise in the tropospheric ozone concentration in the northern hemisphere - projections that are closely linked to increases in NO_x , CO , CH_4 and NMHC emissions and that vary markedly depending on latitude, altitude and season. The importance of ozone monitoring thus extends beyond the immediate one as a scientific tool to the protection of the environment and of the entire ecosystem.

Seasonal patterns of surface ozone since March 1991 at the Mt. Cimone Observatory ($44^\circ 12' \text{N}$, $10^\circ 42' \text{E}$, 2137 m asl) and at Ravenna ($44^\circ 27' \text{N}$, $12^\circ 18' \text{E}$, 6 m asl) since 1979 are reported. Mt. Cimone is the highest peak in Italy's north-central Apennines, along the divide separating the Po valley from the Gulf of La Spezia and far from sources of anthropic pollution. Ravenna is a city situated along the northwestern coast of the Adriatic Sea, in that part of Po valley between Venice and Rimini.

The ozone values recorded at Mt. Cimone show an annual variation marked by an initial rise in spring, a peak in summer and a minimum in winter. The maximum readings can be attributed both to the frequent intrusions of stratospheric ozone in spring and to horizontal transport phenomena accompanying high pressures in summer. Occurring in conjunction with high values of solar radiation intensity, the latter generate high ozone concentrations over the Po valley, an area particularly conducive to the production and accumulation of secondary pollutants. The reported horizontal transport event, which involved just such a the movement of an ozone-rich air mass from the Po valley, is correlated to a vertical ozone profile plotted at the same time at San Pietro Capofiume Weather Station in the central Po valley. The monthly behaviour of ozone concentrations recorded at Ravenna shows a summer maximum and minimum in winter. This behaviour is related to regional photochemical production as evidenced by the strong ozone diurnal variation

POLITIQUE DU MINISTERE CHARGE DE LA SANTE
DANS LE DOMAINE "OZONE ET SANTE"
ACTIONS ET RECHERCHES POUR L'AVENIR

Docteur Yves COQUIN
Sous-direction de la Veille Sanitaire

* * *

Les problèmes que soulève la pollution par l'ozone ont été identifiés comme une des priorités par la Direction Générale de la Santé à la suite de conclusions du comité d'experts pluridisciplinaire créé en janvier 1991 par le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France ; ce comité avait notamment pour objectifs :

- d'identifier les problèmes de santé rencontrés à ce jour et susceptibles d'être liés à la pollution atmosphérique, d'analyser leurs causes, de préciser la part des différents polluants atmosphériques ;
- de définir les actions de prévention adéquates ;
- d'évaluer l'impact des pics de pollution atmosphérique sur la santé ;

Ce travail pluridisciplinaire a permis de progresser tant dans l'identification des populations sensibles aux polluants atmosphériques que dans celle des causes environnementales.

Ainsi, plusieurs actions ont été engagées en particulier un appel d'offres relatif à ce problème de pollution photo-chimique et la mise en évidence des causes environnementales de l'allergie respiratoire et de l'asthme. Par ailleurs, en ce qui concerne les effets du soleil sur la santé, la Direction générale de la santé poursuit les actions entreprises depuis de nombreuses années. Enfin, l'étude des synergies dues aux différents aérocontaminants et à certains facteurs météorologiques tel le soleil s'avère un axe prioritaire de recherche pour l'avenir.

1 - Un appel-d'offres relatif à la pollution photo-chimique

Un appel d'offres a été lancé en 1992 par mon département ministériel conjointement avec le ministère de l'environnement et l'Ademe. Six études expérimentales et une étude épidémiologique ont été retenues et sont en cours de réalisation :

Cinq équipes mènent des études biologiques concernant les principales pathologies pulmonaires pouvant être induites par l'ozone (L'INERIS, le CEA, le CNRS, l'Institut Pasteur de Lille et le laboratoire de physiologie de Bordeaux). Ces études sont complémentaires et les méthodes sont harmonisées.

Une étude vise à analyser l'influence de la pollution photo-oxydante sur l'activité catécholaminergique périphérique et centrale chez l'homme ; elle est entreprise par le laboratoire de physiologie à la faculté de Grange-Blanche à Lyon.

Enfin la 7ème étude est une étude épidémiologique centrée sur l'étang de Berre intitulé "PANOXY-BERRE" ; elle est réalisée par les équipes locales de métrologues, épidémiologistes et médecins avec le concours du Laboratoire d'Hygiène de la Ville de Paris et le CAREPS à Grenoble.