

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

## *Ozone and bronchial responsiveness : effect on airway smooth muscle*

Professeur Roger MARTHAN (\*)

### RÉSUMÉ

L'inhalation d'ozone ( $O_3$ ) détériore transitoirement la fonction ventilatoire et augmente la réactivité bronchique. Parmi les mécanismes qui pourraient intervenir dans l'induction de cette hyperréactivité bronchique, le rôle d'une modification de la contractilité du muscle lisse des voies aériennes a été étudié expérimentalement. Les réponses contractiles des voies aériennes de chien exposé à l'ozone augmentent lorsque la trachée est stimulée par des agonistes qui entraînent une libération du calcium stocké dans les compartiments calciques intracellulaires du muscle. Ceci suggère qu'une cible de l'ozone est le couplage pharmacomécanique du muscle lisse des voies aériennes, i.e. les mécanismes de couplage excitation-contraction indépendants d'une variation du potentiel de membrane. Dans la bronche humaine isolée, une modification de couplage pharmacomécanique pourrait expliquer les effets d'autres polluants gazeux comme le  $NO_2$  ou l'acroléine. Il reste à vérifier si l' $O_3$  a un effet similaire chez l'homme.

### ABSTRACT

*Inhalation of ozone ( $O_3$ ) temporarily impairs the ventilatory function in various species including humans. A major effect of ozone inhalation on lung mechanics is an increase in bronchial responsiveness. Several mechanisms could account for ozone-induced bronchial hyperresponsiveness including increase in neural control, release of inflammatory mediators, destruction of the epithelium and alteration in cellular mechanisms of airway smooth muscle contraction. Recently, this latter issue has been addressed experimentally. It has been shown in dogs that inhaled  $O_3$  in vivo (3 ppm for 30 min), that contractile responses of isolated airways increased when compared to those of control animals. Because the increase in contractile responses occurred when airway preparations were challenged only with agonists that turn on pharmacomechanical coupling (i.e. smooth muscle excitation - contraction coupling which is independent of membrane potential changes) it has been postulated that  $O_3$  increases the release of intracellular calcium in airway smooth muscle. This assumption has been recently directly verified in dogs. In human isolated airway, this mechanism could account, for the effect of other pollutants such as  $NO_2$  or acrolein. Whether or not  $O_3$  acts via the same mechanism in human isolated airways requires further investigations.*

L'ozone ( $O_3$ ) est un contaminant formé à la suite de réactions photochimiques complexes, notamment à partir des composés de combustion des carburants automobiles. Dès les très faibles concentrations, de l'ordre de quelques centaines de ppb (partie par billion), l'inhalation d'ozone détériore transitoirement la fonction ventilatoire. Des études épidémiologiques et expérimentales ont précisé les caractéristiques de cette détérioration. L'inhalation d'ozone diminue la valeur des volumes

pulmonaires notamment la capacité vitale (CV) et la capacité pulmonaire totale (CPT). L'ozone induit également une obstruction bronchique avec diminution de la valeur de l'ensemble des débits expiratoires. Enfin, l'inhalation d'ozone s'accompagne d'une augmentation de la réactivité bronchique [1]. Les mécanismes responsables de cette augmentation de réactivité font l'objet d'une recherche expérimentale importante dans quatre directions principales : (a) le système nerveux autonome ; (b) l'inflammation bronchique ; (c) l'épithélium bronchique et (d) le muscle lisse des voies aériennes.

Ces dernières années, plusieurs travaux ont montré, chez l'homme comme chez l'animal, que l'exposition aux polluants gazeux entraînait une

(\*) Laboratoire de Physiologie, Faculté de Médecine Victor Pachon, Université de Bordeaux 2, 146, rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux Cedex.

modification de la contractilité du muscle lisse des voies aériennes qui pourrait contribuer, au moins, en partie, à augmenter la réactivité bronchique. Dans cet article, les résultats récents sur les effets de l'ozone et d'autres polluants gazeux sur le muscle lisse des voies aériennes, sont présentés. Un premier chapitre fait état de données sur l'absorption de l'ozone dans les voies respiratoires chez l'homme sain, dans la mesure où ces données sont nécessaires pour établir la relation dose-effet sur le muscle lisse des voies aériennes.

## 1. Absorption de l'ozone dans les voies respiratoires chez l'homme sain

Le développement d'un analyseur d'ozone [2] a permis d'estimer l'absorption d'un bolus de 10 ml dont la concentration en  $O_3$  est de 4 ppm [3]. L'absorption est estimée en faisant la différence entre l' $O_3$  inhalé et l' $O_3$  expiré selon que le bolus est administré plus ou moins tard au cours de l'inhalation pendant 1 s d'un volume courant de 250 ml (soit un débit ventilatoire fixe de 250 ml/s).

Les résultats montrent que 50 % de l' $O_3$  inhalé est absorbé au niveau des voies aériennes supérieures et que l'absorption est complète dans les voies aériennes de conduction (jusqu'à la 16<sup>ème</sup> génération bronchique) avant les sacs alvéolaires.

## 2. Effets de $O_3$ sur le muscle lisse des voies aériennes

L'activité contractile du muscle lisse des voies aériennes est sous le contrôle de nombreux neurotransmetteurs du système nerveux autonome, de médiateurs libérés par les cellules inflammatoires et de médiateurs paracrines libérés par les cellules épithéliales. Ces messages extracellulaires sont traduits par la membrane cellulaire musculaire bronchique (transduction membranaire) pour augmenter la concentration intracellulaire de seconds messagers et, en particulier, la concentration cytosolique en ions calcium qui active les protéines contractiles [4]. L'exposition à l'ozone et à d'autres polluants gazeux agit sur plusieurs de ces différentes étapes.

### 2.1. Contrôle du muscle lisse des voies aériennes

L'inhalation d' $O_3$  renforce le contrôle cholinergique du muscle des voies aériennes [5]. Ce renforcement du contrôle est vraisemblablement en rapport, d'une part avec une libération accrue du neurotransmetteur acétylcholine au niveau des terminaisons nerveuses intrabronchiques et, d'autre part, avec une potentialisation de l'effet de l'acétylcholine sur le muscle bronchique [6]. Certains médiateurs inflammatoires (e.g. prostaglandines) pourraient jouer un rôle dans ce phénomène.

L'ozone entraîne également une augmentation du contrôle autonome non adrénérgique, non cholinérgique excitateur (NANC) [7]. Une partie de cet effet pourrait être liée à une diminution du catabolisme des neuropeptides transmetteurs du système NANC par diminution d'activité de l'enzyme endopeptidase neutre, présente en grande quantité au niveau de l'épithélium bronchique, une cible de l'effet toxique de  $O_3$  (7). D'autres polluants gazeux comme le dioxyde d'azote ( $NO_2$ ) ou l'acroléine (un aldéhyde) ont un mécanisme d'action de ce type dans la bronche humaine isolée [8, 9].

L'inhalation d'ozone entraîne également un renforcement du contrôle par les médiateurs inflammatoires. Après  $O_3$ , l'infiltration des bronches par les cellules inflammatoires augmente sensiblement et des cellules libèrent une grande quantité de médiateurs notamment dérivés du métabolisme de l'acide arachidonique [6, 7]. Ce problème est traité en détail dans un autre article de cette revue.

### 2.2. Transduction membranaire

Dans la mesure où l'inhalation d'ozone entraîne une augmentation de la contractilité bronchique en réponse à de nombreux messagers extracellulaires différents, une cible de l'action de l' $O_3$  pourrait être le(s) mécanisme(s) de transduction membranaire. En effet, l'information apportée par les nombreux messagers extracellulaires qui contrôlent le muscle bronchique est « traduite » en augmentation de concentration calcique intracellulaire par deux mécanismes essentiels : un mécanisme et qui dépend de la variation de potentiel de membrane qui fait intervenir les canaux ioniques potentiels-dépendants (couplage électromécanique) et un mécanisme indépendant de variations de potentiel de membrane qui fait intervenir la libération de calcium à partir de compartiments de stockage intracellulaire (le réticulum sarcoplasmique) (couplage chimio- ou pharmacomécanique) [4]. Un effet de l' $O_3$  sur le couplage électromécanique est peu probable. En effet, plusieurs travaux ont montré qu'après inhalation d'ozone, les contractions bronchiques induites par le chlorure de potassium (un agent dépolarisant qui active le couplage électromécanique et les canaux calciques potentiels dépendants [10]), ne sont pas modifiés [6, 11]. Il semble également que d'autres polluants gazeux, comme l'acroléine, n'ont pas d'effet sur le couplage électromécanique dans la bronche humaine isolée [9]. L' $O_3$  modifie par contre le couplage pharmacomécanique du muscle lisse des voies aériennes. Une étude récente [12] a montré que le remplissage et la vidange du compartiment calcique intracellulaire étaient augmentés dans du muscle trachéal de chien pré-exposé à l'ozone. Ces modifications des propriétés de compartiments calciques intracellulaires pourraient rendre compte des augmentations de réponse contractile des préparations exposées à l' $O_3$  quand elles sont stimulées par des messagers extracellulaires qui activent le

couplage pharmacomécanique (i.e. la libération du calcium intracellulaire) comme par exemple les dérivés cholinergiques [6, 12]. En effet, l'amplitude de la contraction induite par un dérivé cholinergique en milieu sans calcium extracellulaire (un index de la libération de calcium stocké dans les compartiments intracellulaires) est supérieure dans les trachées de chien exposées à l'ozone par rapport aux trachées contrôles. Ce mécanisme demande à être vérifié pour l'O<sub>3</sub> dans les voies aériennes humaines. Il pourrait bien rendre compte des observations faites dans la bronche humaine pour d'autres polluants gazeux comme le NO<sub>2</sub> ou l'acroléine [8, 9].

## Conclusion

Une modification de la contractilité du muscle lisse des voies aériennes participe à l'augmentation de réactivité bronchique observée après inhalation de polluant gazeux, et notamment d'ozone. Des travaux récents conduits sur les voies aériennes animales et humaines montrent qu'une cible de l'action des polluants gazeux est le couplage pharmacomécanique du muscle lisse des voies aériennes. Ce couplage concerne les mécanismes indépendants d'une variation du potentiel de membrane qui permettent de traduire l'information apportée par les messagers extracellulaires en augmentation de concentration calcique cytosolique par libération du calcium stocké dans des compartiments intracellulaires. L'augmentation de cette libération de calcium intracellulaire a été démontrée pour l'ozone dans la trachée de chien. Ce phénomène pourrait également expliquer les effets d'autres polluants gazeux sur la bronche humaine isolée. Il reste à vérifier que, chez l'homme, l'ozone agit par un mécanisme similaire.

## Bibliographie

- [1] MARTHAN R., BEN JEBRIA A. Distribution de l'ozone dans les voies aériennes : effets sur la mécanique ventilatoire et la réactivité bronchique. *Pollution Atmosphérique*, 1990, 128, 445-448.
- [2] BEN JEBRIA A., ULTMAN J.S. Fast responding chemiluminescent ozone analyser for respiratory applications. *Rev. Sci. Instrum.*, 1989, 60, 3004-3011.
- [3] HU S.H., BEN JEBRIA A., ULTMAN J.S. Longitudinal distribution of ozone absorption in the lung ; quiet respiration in healthy subjects. *J. Appl. Physiol.*, 1962, 73, 1655-1661.

[4] MARTHAN R. Mécanismes cellulaires de la contraction du muscle bronchique. *Arch. Int. Physiol. Biochem. Biophys.*, 1992, 100, A27-A40.

[5] BECKETT W.S., MC DONNELL W.F., HORSTMAN D.H., HOUSE D.E. Role of the parasympathetic nervous system in acute lung response to ozone. *J. Appl. Physiol.*, 1985, 59, 1879-1885.

[6] JANSSEN L.J., O'BYRNE P.M., DANIEL E.E. Mechanism underlying ozone-induced in vitro hyperresponsiveness in canine bronchi. *Am. J. Physiol.*, 1991, 261, L55-62.

[7] CAMPOS M.G., SEGURA P., VARGAS M.H., VANDA B., PONCE-MONTER H., SELMAN M., MONTANO L.M. O<sub>3</sub>- induced airway hyperresponsiveness to non cholinergic system and other stimuli. *J. Appl. Physiol.*, 1992, 73, 354-361.

[8] BEN JEBRIA A., MARTHAN R., SAVINEAU J.P. Effect of in vitro nitrogen dioxide exposure on human bronchial smooth muscle. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1992, 146, 378-382.

[9] BEN JEBRIA A., MARTHAN R., ROSSETTI M., SAVINEAU J.P., ULTMAN J.S. Human bronchial smooth muscle responsiveness following in vitro exposure to acrolein. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1994, 149 (in press).

[10] MARTHAN R., ARMOUR C.L., JOHNSON P.R.A., BLACK J.L. The calcium channel agonist Bay K8644 enhances the responsiveness of human airway muscle to KCl and histamine but not to carbachol. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1987, 135, 185-189.

[11] JONES G.L., O'BYRNE P.M., PASCHLEY M., SERIO R., JURY J., LANE C.G., DANIEL E.E. Airway smooth muscle responsiveness from dogs with airway hyperresponsiveness after O<sub>3</sub> inhalation. *J. Appl. Physiol.*, 1988, 65, 57-64.

[12] MONTANO L.M., JONES G.L., O'BYRNE P.M., DANIEL E.E. Effect of ozone exposure in vivo on response of bronchial rings of vitro : role of intracellular Ca<sup>2+</sup>. *J. Appl. Physiol.*, 1993, 75, 315-132.

## Mots-clés :

Ozone, réactivité bronchique, muscle lisse, calcium, couplage excitation contraction.

## Key-words :

Ozone, bronchial responsiveness, smooth muscle, calcium, excitation-contraction coupling.