

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

Carcinogenic and cocarcinogenic effects of ozone in rats : preliminary results

Georges MONCHAUX (*), Jean-Paul MORLIER (*), Michèle MORIN (*), Paul FRITSCH (*), Jean TREDANIEL (**) et Roland MASSE (*)

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 alpha). 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 1 000 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 1 000 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.

ABSTRACT

Ozone is an ubiquitous atmospheric pollutant which concentrations are related to those of nitrogen oxides and thus to human activities. On the other hand, high concentrations of radon are observed in more than 5 % of french homes. The aim of this work was to estimate in rats the potential carcinogenic risk of ozone, acting either alone as a complete carcinogen, or as a promoter after pulmonary irradiation by inhalation of radon 222 and its short lived decay products. Three experimental groups were used : Group 1 was exposed to radon and daughters at a cumulative exposure of 1 000 WLM (Working-Level-Months) which have been shown previously to induce about 20 % of lung cancers ; Groupe 2 was exposed first to radon 1 000 WLM and one month after the end of radon exposure to ozone by inhalation at a concentration of 0.2 ppm, 6 hours a day, 5 days a week for 6 months ; Groupe 3 was exposed to ozone alone at the same concentration 6 hours a day, 5 days a week for 6 months. The concentration of 0.2 ppm of ozone is in the range of the concentrations observed in urban photochemical smog. The results of this study were compared as concerns lung cancer incidence to that observed in an historical group of 1 287 untreated control rats and those observed in different historical groups of rats exposed to radon and daughters. A full autopsy was performed on all the rats of this study. The histopathological study is still in progress, but the incidence of lung cancer has been estimated on the basis of macroscopic lesions. The incidence of lung cancer was 20 % in Groupe 1, 40 % in Group 2 and 6 % in Group 3, compared with 0.9 % in controls. It confirmed by histopathological study, these results suggest a carcinogenic and a potential cocarcinogenic effect of ozone in rats at levels of exposure in the range of that observed in sharp episodes of urban airborne pollution.

Introduction

L'ozone est un polluant atmosphérique dont les concentrations sont liées à celles des oxydes d'azote et donc aux activités humaines. C'est un polluant ubiquitaire de la troposphère, en particu-

(*) CEA, DSV-DPTE-LCE, Centre d'Etudes de Fontenay-aux-Roses, BP 6, 92265 Fontenay-aux-Roses Cedex.

(**) Service de Pneumologie, Hôpital Saint-Louis, 1, rue Claude-Vellefaux, 75010 Paris.

lier dans les régions industrialisées, qui peut présenter des risques pour la santé de l'homme. Par ailleurs, des concentrations de radon importantes sont observées dans plus de 5 % de l'habitat français [1]. Les données de la littérature sur le risque cancérigène ou cocancérigène potentiel de l'ozone sont actuellement parcellaires et contradictoires [2-4]. Une incidence accrue de cancers pulmonaires a en effet été observée chez des souris exposées de manière intermittente à des concentrations de 0,3 et 0,5 ppm d'ozone pendant 6 mois [5]. Une étude plus récente [6], a mis en évidence une augmentation significative du nombre de tumeurs dans chaque poumon chez des souris exposées 8 heures par jour à des concentrations de 0,8 ppm d'ozone pendant 18 semaines. Récemment, Witschi et coll. [7] ont examiné chez le hamster les effets d'une exposition continue à 0,8 ppm d'ozone, 23 heures par jour, 7 jours par semaine pendant 6 mois, seule ou combinée à des injections sous-cutanées de N-diethylnitrosamine à la dose de 20 mg/kg, 2 fois par semaine pendant 8 semaines. Dans ces conditions expérimentales, l'ozone n'augmente pas l'incidence des tumeurs du poumon ou du nez induites par la N-diethylnitrosamine chez le hamster. Par ailleurs, certaines études récentes utilisant des modèles expérimentaux in vitro ont montré que l'exposition de cellules en culture, cellules embryonnaires de hamster ou fibroblastes de souris, à une concentration de 5 ppm d'ozone induisait des transformations néoplasiques de ces cellules. De plus, ces mêmes auteurs ont montré une augmentation du pouvoir transformant de ces mêmes cellules et donc un effet cocancérigène potentiel de l'ozone après une irradiation préalable par des rayons gamma [8]. Des lésions de l'ADN ont également été rapportées par ces auteurs après exposition à l'ozone de cellules épithéliales humaines en culture avec ou sans irradiation préalable [9]. Ces résultats 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 alpha). 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 [10].

Protocole expérimental

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 1 000 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 1 000 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 atmosphérique 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, d'une part dans un groupe historique de 1 287 rats témoins non exposés, et d'autre part à ceux observés dans un groupe de 50 rats exposés au radon à la même dose cumulée de 1 000 WLM.

Matériel et méthodes

Animaux

Toutes ces expériences ont été conduites sur des rats mâles Sprague-Dawley (OFA, IFFA-CREDO), âgés de 10 semaines et indemnes de germes pathogènes spécifiques à leur arrivée au laboratoire. Cette souche présente une incidence spontanée de carcinomes pulmonaires inférieure à 0,9 %. Les animaux ont été hébergés pendant toute la durée de l'expérimentation dans des conditions conventionnelles.

Exposition au radon

Les animaux ont été exposés au radon à un équilibre d'environ 40 % avec ses descendants dans les chambres d'inhalation du Laboratoire de Pathologie Pulmonaire Expérimentale de Razès [11] au cours de 15 séances d'inhalation de 8 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 3 semaines. La dose cumulée par séance était de $66,5 \pm 10,3$ WLM, soit une dose cumulée totale de 998 WLM, arrondie par commodité à 1 000 WLM. L'énergie potentielle alpha volumique était de $294,9 \text{ mJ/m}^3$ soit $1\,397 \pm 178$ WL par séance.

(*) 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 170 heures par mois.

Exposition à l'ozone

Les rats ont été exposés à l'ozone dans une chambre Hazleton de 2 m³ alimentée en air filtré avec un renouvellement d'environ 25 volumes par heure. Les animaux ont été exposés à l'ozone un mois après la fin de l'exposition au radon pour les animaux du groupe 2. Le groupe 3 a été exposé simultanément au groupe 2. Les animaux étaient exposés à une concentration d'ozone de 0,2 ppm, 6 heures par jour, 5 jours par semaine, pendant 6 mois. L'ozone était produit par un ozoniseur de type Wallace et Tiernan BA 023012, utilisant un flux d'oxygène pur dans lequel les atomes d'oxygène sont excités par un courant haute fréquence. La dilution de l'ozone dans l'air de la chambre était ajustée par un jeu de débitmètres de façon à obtenir une concentration de 0,2 ± 0,02 ppm. Cette concentration était contrôlée en permanence par un analyseur d'ozone type O3 41M (Environnement, S.A.) au moyen d'une sonde placée dans la zone de respiration des animaux.

Prélèvements

A la fin de l'exposition, les animaux sont gardés en observation pendant toute leur durée de vie, dans des conditions d'hébergement classiques. Tous les animaux sont conservés jusqu'à leur mort naturelle ou jusqu'à ce qu'ils soient moribonds et sacrifiés. Une autopsie complète est pratiquée sur chaque animal. Des prélèvements sont effectués systématiquement : foie, rate, reins, poumons, voies aériennes supérieures, cerveau ainsi que toute lésion macroscopiquement suspecte. Les prélèvements sont fixés, soit par une solution de liquide de Bouin-Hollande pour l'histologie classique, soit par du formol de Baker en vue d'études complémentaires immunohistochimiques ou immunoenzymatiques. Les poumons entiers sont fixés par instillation endobronchique de fixateur. Pour l'examen histopathologique standard, les échantillons sont inclus en paraffine selon les techniques histologiques classi-

ques et des coupes de 5 mm sont colorées par l'hémalum-éosine-safran.

Résultats

Tous les animaux de cette étude sont morts ou ont été sacrifiés et une autopsie complète a été pratiquée. L'étude histopathologique est actuellement en cours, mais l'incidence des tumeurs pulmonaires a pu être évaluée sur la base des lésions macroscopiques. La proportion des animaux chez lesquels l'étude histopathologique a été réalisée ainsi que l'incidence des tumeurs pulmonaires identifiées macroscopiquement est indiquée dans le tableau I.

Cette incidence 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 et 20 % dans le groupe témoin historique exposé au radon à la même dose cumulée de 1 000 WLM.

Dans le groupe 3 exposé à l'ozone 0,2 ppm seul, les tumeurs pulmonaires ont toutes fait l'objet d'une analyse histopathologique. L'incidence des différents types histologiques chez les rats exposés à l'ozone 0,2 ppm, chez les témoins vrais et les témoins historiques exposés au radon à la dose cumulée de 1 000 WLM sont indiqués dans le tableau II.

La comparaison, en utilisant le test exact de Fisher, de l'incidence des cancers dans le groupe 3 exposé à l'ozone 0,2 ppm à celle du groupe témoin historique, montre qu'il existe entre ces 2 groupes une différence significative ($p = 0,0185$) si l'on tient compte uniquement du nombre d'animaux porteurs de cancers et une différence très significative ($p = 0,029$) si l'on tient compte du nombre total de cancers. Par contre, même si l'incidence des tumeurs macroscopiques dans le groupe exposé au radon et à l'ozone est double de celle observée dans le groupe exposé au radon seul, cette augmentation de l'incidence des can-

Tableau 1.
Incidence des tumeurs pulmonaires dans les différents groupes expérimentaux.
Incidence of lung carcinomas in the different experimental groups.

Groupes expérimentaux	Nombre de rats analysés histologiquement	Nombre de rats porteurs de tumeurs pulmonaires macroscopiques	Proportion de rats porteurs de tumeurs pulmonaires macroscopiques
Groupe 1 Radon 1 000 WLM	8/50	10/50	20 %
Groupe 2 Radon 1 000 WLM + Ozone 0,2 ppm	12/50	20/50	40 %
Groupe 3 Ozone 0,2 ppm	20/50	3/50	6 %
Témoins historiques	1287/1287	12/1287	0,9 %
Témoins Radon 1 000 WLM	50/50	10/50	20 %

Tableau II.

Incidence des différents types histologiques de cancers pulmonaires chez les rats exposés à l'ozone 0,2 ppm et chez les témoins.

Incidence of the different histological types of lung carcinomas in rats exposed to ozone 0.2 ppm and in controls.

Groupes expérimentaux	Carcinomes épidermoïdes	Carcinomes bronchiolo-alvéolaires	Adéno-carcinomes	Nombre de rats porteurs de cancers
Groupe 3 Ozone 0,2 ppm	4	1	0	3
Témoins historiques	2	6	2	12
Témoins Radon 1 000 WLM	3	2	8	10

cancers n'est pas significative ($p = 0,144$). Les cancers primitifs pulmonaires ont été classés selon une classification dérivée de la classification TNM (Tumor-Node-Metastasis) internationale appliquée aux cancers bronchiques humains opérés [11] : T1, présence d'une tumeur de diamètre inférieur à 2 mm ; T2, présence d'une tumeur de diamètre compris entre 2 et 5 mm ; T3, présence d'une tumeur de diamètre compris entre 5 et 10 mm ; T4, présence d'une tumeur d'un diamètre supérieur à 10 mm. Les tumeurs étaient classées P1 en cas d'envahissement de la plèvre, M1, s'il existait des métastases extrathoraciques, M2, s'il existait des tumeurs pulmonaires multiples ou des métastases intrapulmonaires et M3 s'il y avait association de M1 et M2. Chez les rats exposés à l'ozone 0,2 ppm, les tumeurs pulmonaires étaient classées, T2 N0 P0 M2, chez 2 animaux et T4 N0 P1 M0 chez le troisième. Deux des animaux étaient porteurs de tumeurs multiples : l'un de 2 carcinomes épidermoïdes classés T2 et l'autre d'un carcinome mixte, classé également T2 et présentant à la fois des aspects d'adénocarcinome bronchioloalvéolaire et de carcinome épidermoïde. La troisième tumeur était également un gros carcinome épidermoïde adénosquameux, classé T4 et envahissant la plèvre. Les tumeurs induites par l'ozone étaient donc des tumeurs relativement volumineuses, invasives et marquant une tendance nette vers une différenciation de type épidermoïde. En ce qui con-

cerne les temps de survie, il n'y a pas de différence significative entre les temps de survie des animaux exposés à l'ozone 0,2 ppm seul ou ceux des différents groupes expérimentaux (tableau III).

Dans le groupe 3 exposé à l'ozone 0,2 ppm seul, il n'existe pas non plus de différence significative entre les rats porteurs de cancers et les rats non porteurs de tumeurs pulmonaires.

Discussion

Bien que préliminaires, les résultats de cette étude montrent que l'exposition à l'ozone à des concentrations du niveau de celles observées dans des épisodes aigus de pollution photooxydante peuvent induire une augmentation significative de l'incidence des tumeurs pulmonaires chez le rat. Sous réserve de confirmation du diagnostic histopathologique, ces résultats suggèrent également un effet cocancérogène potentiel de l'ozone chez le rat après exposition préalable au radon. Ces résultats demandent à être confirmés et complétés au vu des résultats détaillés de l'étude histopathologique actuellement en cours. La différenciation préférentielle des cancers pulmonaires induits par l'ozone vers le type épidermoïde est à noter. Une telle tendance a déjà été rapportée dans le cas d'effets cocancérogènes observés après exposition combinée au radon et à la fumée de ciga-

Tableau III.

Temps de survie des animaux dans les différents groupes expérimentaux.
Survival times of rats in the different experimental groups.

Groupes expérimentaux	Moyenne des temps de survie (jours)	Médiane des temps de survie (jours)
Groupe 1 Radon 1 000 WLM	769 ± 157	773
Groupe 2 Radon 1 000 WLM	793 ± 158	833
Groupe 3 Ozone 0,2 ppm	742 ± 238	815
Témoins historiques	830 ± 137	724
Témoins Radon 1 000 WLM	755 ± 97	731

rettes ou de certains de ses composants comme la 5-6 benzoflavone (bNF) chez le rat [12, 13]. Le fait que des raccourcissements significatifs des temps de survie n'aient été observés, ni chez les animaux exposés à l'ozone seul, ni chez les animaux exposés à l'ozone après inhalation préalable de radon, peut laisser supposer que l'effet cocancérogène observé n'est pas un véritable effet synergique. Toutefois, au vu des résultats antérieurs obtenus en utilisant ce modèle de cocancérogène, l'ozone est le seul aérocontaminant identifié avec la fumée de tabac [12, 14] capable d'induire un doublement de l'incidence des tumeurs pulmonaires après exposition préalable au radon.

Des effets de synergie ont été rapportés antérieurement en utilisant une exposition similaire au radon suivie d'injections répétées de bNF qui est un inducteur du cytochrome P-450 1A1. Dans ce modèle expérimental, les cellules cibles sont confinées aux jonctions bronchioloalvéolaires [15]. Les lésions de type hyperplasique observées dans les mêmes zones après une exposition à l'ozone [16, 17] pourraient indiquer que ce sont les mêmes cellules cibles qui sont impliquées dans le processus de cocancérogène. L'effet cocancérogène observé après exposition au radon dans notre modèle expérimental qui utilise des expositions à dose cumulée élevée ne peut être extrapolé à l'homme qui dans des circonstances environnementales n'est jamais exposé à des doses cumulées aussi importantes [18]. Par contre, les effets cancérigènes et cocancérogènes de l'ozone ont été observés pour des concentrations du niveau de ceux observés dans les épisodes aigus de pollution photochimique urbaine. Ainsi l'ozone, et peut-être d'autres polluants photochimiques comme les oxydes d'azote pourraient-ils être considérés comme des cancérigènes environnementaux potentiels. Compte tenu du faible nombre de données épidémiologiques ou expérimentales actuellement disponibles dans ce domaine, des études complémentaires sont nécessaires.

References

- [1] RANNOU A. and TYMEN G. Les résultats des mesures de radon et facteurs explicatifs. In : Exposition au radon dans les maisons : aspects techniques et sanitaires. Editor : SFRP, Paris, 1989, pp. 41-63.
- [2] STOKINGER H.E. Effects of air pollutants on animals. in : *Air Pollution*. Stern A.C. (ed.), Academic Press, New-York, 1962, pp. 302.
- [3] WERTHAMER S., SCHWARZ L.H., CARR J.J. et al.. Ozone-induced pulmonary lesions. Sever epithelial changes following sublethal doses. *Arch. Environ. Health*, 1970, 20, 16-21.
- [4] NETTESHEIM P., HANNA M.G., DOHERTY D.G. et al. Effects of chronic exposure to artificial smog and chromium oxide dust on the incidence of lung tumors in mice. In : Hanna, M.G., Nettesheim, P., Gilbert, J.R., eds. *Inhalation Carcinogenesis*, Symposium series No. 18. USAEC Division of Tech. Info Extension, 1970, pp. 305-317.
- [5] HASSETT C., MUSTAFA M.G., COULSON W.F. et al. Murine lung carcinogenesis following exposure to ambient ozone concentrations. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1985, 75, 771-777.
- [6] LAST J.A., WARREN D.L., GOAD E.D. et al. Modification by ozone of lung tumor development in mice. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1987, 78, 149-154.
- [7] WITSCHI H., WILSON D.W. AND PLOPPER C.G. Modulation of N-nitrosodiethylamine-induced hamster lung tumors by ozone. *Toxicology*, 1993, 77, 193-202.
- [8] BOREK C., ONG A. AND ZAIDER M. Ozone acts alone and synergistically with ionizing radiation to induce in vitro neoplastic transformation. *Carcinogenesis*, 1986, 7, 1611-1613.
- [9] BOREK C., ONG A. AND CLEAVER J.E. DNA damage from ozone and radiation in human epithelial cells. *Toxicol. Industr. Health*, 1988, 4, 547-553.
- [10] BERENBLUM I. A re-evaluation of the concept of cocarcinogenesis. In : *Progress in Experimental Tumor Research*, Hamburger F., editor, S. Karger, New-York, 1969, Vol. 11, pp. 21-30.
- [11] RENAULT P. and MERLIER M. La codification TNM appliquée aux cancers bronchopulmonaires opérés. *Rev. Fr. Mal. Resp.*, 1976, 3, 59-64.
- [12] MONCHAUX G., MORLIER J.P., MORIN M., CHAMEAUD J., LAFUMA J. AND MASSE R. Carcinogenic and cocarcinogenic effects of radon and radon daughters in rats : an overview following a 20 years study. *Environ. Health Perspect.*, 1994, in press.
- [13] DOURIEZ E., KERMANAC'H P., FRITSCH P., MORLIER J.P., MONCHAUX G. AND LAURENT P. Expression of cytochrome P-450 1A1 in rat lungs during carcinogenesis induced by radon inhalation followed by 5-6 benzoflavone (bNF) administration. In : Abstracts 24th Annual Meeting of the European Society for Radiation Biology, October 4-8, 1992, Erfurt, Germany, 1992, pp. 93.
- [14] CHAMEAUD J., MASSE R. AND LAFUMA J. The Etiology of Lung Cancer. Epidemiology and Animal Experimentation Complementary. International Academy of Chest Physicians and Surgeons. Republic of China chapter. Symposium on Future Tuberculosis Control Program in Taiwan. Special Lecture on Lung Cancer, 13.12.1986, Taipei Taiwan.
- [15] PONCY J.L., LAROQUE P., FRITSCH P., MONCHAUX G., CHAMEAUD J. AND MASSE, R. An experimental two-stage rat model of lung carcinoma initiated by radon exposure. In : Twenty-Ninth Hanford Symposium on Health and the Environment « Indoor Radon and Lung Cancer : Reality or Myth ? », October 15-19, 1990, Richland, Washington, Part 2, Edited by F.T. Cross, Battelle Press, Columbus, Richland, 1993, pp. 803-819.
- [16] BARRY B.E., MILLER F.J. AND CRAPO J.D. Effects of inhalation of 0.12 and 0.25 parts per million ozone on the proximal alveolar region of juvenile and adult rats. *Lab. Invest.*, 1985, 53, 692-704.
- [17] BARRY B.E., MERCER R.R., MILLER F.J. and CRAPO J.D. Effects of inhalation of 0.25 ppm ozone on the terminal bronchioles of juvenile and adult rats. *Exp. Lung. Res.*, 1988, 14, 225-245.
- [18] BRENNER D.J. RADON. Current challenges in cellular radiobiology. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1992, 61, 3-13.