

Alterações dos biomarcadores da inflamação no líquido de Lavagem Broncoalveolar e Mucosa Brônquica de indivíduos saudáveis expostos a 0.2 PPM de Ozono.

Effects of 0.2 PPM Ozone on Biomarkers of inflammation in Bronchoalveolar Lavage Fluid and Bronchial Mucosa of Healthy Subjects.

M.T. KRISHNA, J. MADDEN, L.M. TERAN, G.L. BISCIONE, L.C.K. LAU, N.J. WITHERS, T. SANDSTROM, I. MUDWAY, E.J. KELLY, A. WALLS, A.J. FREW, S.T. HOLGATE.

Eur. Respir. J. 1998;11:1294-1300.

RESUMO

A exposição de curta duração a elevados níveis de ozono no ar ambiente induzem um aumento de neutrófilos e alteração da função pulmonar em indivíduos saudáveis (1,9).

Com o objectivo de investigar os mecanismos que contribuem para o recrutamento de neutrófilos e de analisar o papel das células T na resposta inflamatória aguda, os autores expuseram 12 indivíduos saudáveis não fumadores, a 0.2 partes por milhão (ppm) de ozono e ar filtrado em dois periodos separados por duas horas de intervalo com fases intermitentes de repouso e exercício (ventilação minuto=30 L.min⁻¹). Foi realizada broncofibroscopia 6 horas após terminar a exposição.

No líquido de lavagem broncoalveolar (BAL), foi feita a contagem celular total e diferencial e determi-

nadas as proteínas totais, triptase, mieloperoxidase, interleucina (IL)-8 e factor de crescimento relacionado com o oncogene-alfa (Gro- α). Foi também realizada citometria de fluxo nas células do BAL para estudar o total de células T, os receptores das células T ($\alpha\beta$ e $\gamma\delta$), as subpopulações de células T (CD4+ e CD8+) e as células T activadas (CD25+). Nas biópsias brônquicas, foram quantificados por imunohistoquímica, neutrófilos, mastocitos, número total de células T, células TCD4+, CD8+, CD25+, moléculas de adesão endotelial incluindo selectina-P, selectina-E, molécula de adesão intercelular (ICAM)-1 e molécula de adesão vascular (VCAM)-1.

Foram realizados broncofibroscopia e BAL em 9 indivíduos. Após a exposição ao ozono, verificou-se no líquido de BAL um aumento na proporção de neutrófilos polimorfonucleados (PMNs) ($p=0.07$) e células epiteliais ($p=0.05$). Verificou-se também um aumento das concentrações de IL-8 ($p=0.01$), Gro- α ($p=0.05$) e proteína total ($p=0.058$).

Foi demonstrada uma correlação fortemente positiva entre as duas citocinas e a proporção de PMNs no líquido de BAL. Após a exposição ao ozono, houve um decréscimo significativo na relação CD4/CD8 ($p=0.05$) e na proporção de células T activadas CD4+ ($p=0.01$) e CD8+ ($p=0.04$). Contudo, não se demonstraram alterações significativas nos marcadores de inflamação estudados nas biópsias brônquicas (1,2).

A exposição de curta duração a 0.2 ppm de ozono em indivíduos saudáveis induz um influxo de neutrófilos nas vias aéreas periféricas 6 horas após a exposição, não havendo aparentemente resposta inflamatória nas vias aéreas proximais. Esta resposta parece ser mediada pelo menos em parte pela interleucina-8 e factor de crescimento relacionado com o oncogene α .

Palavras-chave: Líquido de lavagem bronco-alveolar; inflamação; marcadores; ozono

COMENTÁRIO

O ozono (O₃), constituinte natural do ar atmosféri-

co, foi descoberto por Schonbein em 1840. A sua concentração aumenta com a altitude, atingindo valores elevados na estratosfera (5). A este nível as radiações ultravioletas são parcialmente absorvidas pela camada de ozono que funciona como protectora dos efeitos prejudiciais das referidas radiações. Este efeito benéfico já não se passa contudo com a exposição ao ozono a nível da troposfera (3,12).

O ozono forma-se fundamentalmente a partir do oxigénio do ar por meio de descargas eléctricas ou a partir de reacções fotoquímicas causadas por radiações ultravioletas. É um gás irritante, muito tóxico e potente agente oxidante utilizado no tratamento de esgotos, purificação das águas e esterilização de equipamentos. Contudo, a sua produção é por vezes indesejada, constituindo a exposição ao ozono um risco, quer como poluente atmosférico fotooxidante quer como poluente ocupacional, nomeadamente em soldadores, utilizadores de lâmpadas ultravioletas, precipitadores electrostáticos, máquinas fotocopiadoras ou ainda em tripulações de aviões que atingem altitudes elevadas, da ordem de 12000 metros (5,13).

Os efeitos tóxicos a nível pulmonar da exposição ao ozono são conhecidos há longos anos, surgindo nos anos 80 estudos epidemiológicos sobre a sua exposição aguda ou crónica e repercussão clínica e funcional respiratória (4,6,7,8,11). Vários estudos foram realizados em crianças (6-8,15,16,18) consideradas um bom modelo, pela inexistência de hábitos tabágicos ou exposição profissional.

Nos múltiplos trabalhos realizados foram encontradas alterações espirométricas após exposição ao ozono (7,8,11,16). Em 1995 William Dab e col (4) referiam que a inflamação parecia ser um bom candidato para explicar os efeitos observados. Nos anos 90, vários trabalhos têm demonstrado, tal como o presente estudo, a importância da inflamação das vias aéreas induzida pela exposição de curta duração ao ozono (1,6,9,10,14,17). Relativamente aos níveis de exposição, tem-se admitido que a exposição de curta duração em adultos saudáveis a valores de 0.08-0.40 ppm de ozono condicionam alteração da função pulmonar e induzem

uma resposta inflamatória aguda, embora nalguns casos de exposição profissional, não se tenham encontrado alterações funcionais abaixo de 0.2 ppm (12), valor de exposição utilizado pelos autores do presente trabalho. Com este valor de exposição ao ozono durante um período de 6 horas, os autores encontraram alterações apenas nas vias aéreas periféricas (a nível do BAL verificou-se um recrutamento de neutrófilos, aumento de citocinas Gro- α e IL-8, decréscimo do número de células T, aumento da relação CD4/CD8). Contudo, não encontraram alterações das células inflamatórias ou das moléculas de adesão na submucosa das biópsias realizadas após a exposição ao ozono, ao contrário do verificado por outros autores (Aris e col) (1,2), que descrevem alterações inflamatórias significativas nas vias aéreas proximais, 18 horas após exposição de curta duração. No presente trabalho, a ausência de alterações nas vias aéreas proximais é referida pelos autores como provavelmente resultante de um baixo nível de exposição e precocidade da avaliação dos resultados.

A demonstração neste e noutros trabalhos recentes da importância da inflamação das vias aéreas e alterações funcionais respiratórias verificadas com a exposição aguda ao ozono de indivíduos saudáveis, permite dar ênfase aos riscos da sua exposição, mesmo em baixas concentrações, embora não estejam ainda bem definidos os valores limites de exposição a partir dos quais se verificam estas alterações. Menos estudadas, as alterações resultantes da exposição crónica (15) também deverão ser alvo de estudo, num período em que o ozono é tido como um dos mais importantes poluentes fotooxidantes atmosféricos da actualidade, particularmente nas zonas urbanas (4,6,7,18).

MENSAGEM

- A exposição de curta duração a 0.2 ppm de ozono em indivíduos saudáveis induz uma resposta inflamatória aguda nas vias aéreas periféricas.

BIBLIOGRAFIA

1. ARIS RM, CHRISTIAN C, HEARNE PQ, KERR K, FINK-BEINER WE, BARMES JR. Ozone induced airway inflammation in human subjects as determined by airway lavage and biopsy. *Am Rev Resp Dis* 1993; 148: 1363-1372.
2. ARIS R, FERNANDO R, CHEN LC, CHRISTIAN D, BARMES JR. Increased ICAM expression on human bronchial epithelium after acute exposure to ozone. *Am J Resp. Crit. Care Med* 1995; 151: A26.
3. BIGNON J. Effects sur la Santé Respiratoire de l'Homme, du Dioxyde d' Azote, de l' Ozone et Autres Polluants Oxydants de l' Atmosphere. *Pollution Atmosphérique* 1990; (128): 431-439.
4. DAB WILLIAM, FESTY BERNARD, SOMMER MICHEL. Extrapol: Epidémiologie et pollution atmosphérique - Analyse critique des Publications Internationales. *Energies Santé. Services des Études Médicales. EDF/GDF.* 1995; vol. 6, n°1 (78): 53-85.
5. FILIPE J. Efeitos Broncopulmonares da Exposição ao Ozono. Monografia do 22º Curso de Pneumologia para Pós-Graduados. Clínica de Pneumologia da Faculdade de Medicina de Lisboa. Março de 1989 pp97-109.
6. FRISCHER T, KUEHR J, PULLWITT A, MEINERT R, FORSTER J, STUDNICKA M, KOREN H. Ambient Ozone Causes Upper Airways Inflammation In Children. *Am. Rev. Resp. Dis.* 1993; 148: 961-964.
7. HIGGINS ITT, D ARCHY JB, GIBBONS DI, AVOL EL, GROSS KB. Effects of Exposures to Ambient Ozone on Ventilatory Lung Function in Children. *Am. Rev. Resp. Dis* 1990;141: 1136-1146.
8. HOEK G, FISCHER P, BRUNEKREEF B, LEBRET E, HOFSCHEUDER P, MENNEN MG. Acute Effects of Ambient Ozone on Pulmonary Function of Children in the Netherlands. *Am Rev. Resp. Dis* 1993; 147: 111-117.
9. KOREN HS, DEVLIN RB, GRAHAM DE, et al. Ozone induced inflammation in the lower airways of human subjects. *Am Rev Resp Dis* 1989; 139: 407-415.
10. KRISHA MT, SPRINGALL DR, MENG QH, et al. Effects of ozone on epithelium and sensory nerves in the bronchial mucosa of healthy humans. *Am J Resp Crit Care Med* 1997; 156: 943-950.
11. KRZYZANOWSKI M, QUACKENBOSS JJ, LEBOWITZ MD. Relation of Peak Expiratory Flow Rates and Symptoms to Ambient Ozone. *Arch Environ Health* 1992; 47: 107-115.
12. MEHLMAN M.A., BOREK C. Toxicity and Biochemical mechanisms of ozone. *Environ Res.* 1987; 42 (1): 36-53.
13. MELTON, C.E. Effects of long-term exposure to low levels of ozone: a review. *Aviation Space and Environmental Medicine.* 1982; 53 (2): 105-11.
14. SCANNEL C, CHEN L, ARIS RM, et al. Greater ozone-induced inflammatory responses in subjects with asthma. *Am J Resp Crit Care Med* 1996; 154: 24-29.
15. SCHMITZBERGER R, RHOMBERG K, KEMMLER G. Chronic Exposure to Ozone and Respiratory Health of Children. *Lancet* 1992; 339: 881-2.
16. SPEKTOR DM, THURSTON GD, MAO J, HE D, HAYES C, LIPPMAN M. Effect of single and multiday ozone exposures on respiratory functions in active normal children. *Environ Res* 1991; 55: 107-122.
17. STEINBERG JJ, GLEESON JL, DIL D. The Pathobiology of Ozone-Induced Damage. *Archives of Environmental Health.* 45, n°2, 1990; pp. 80/87.
18. WHITE MC, ETZEL RA, WILCOX WD, LLOYD C. Exacerbations of Childhood Asthma and Ozone Pollution in Atlanta. *Environ Res* 1994; 65: 56-68.

Alda Manique, 98.07.23