



HAL
open science

Ozone et système immunitaire

Ghislaine Lacroix, Claude Lambre

► **To cite this version:**

Ghislaine Lacroix, Claude Lambre. Ozone et système immunitaire. *Revue des Maladies Respiratoires*, 1998, 15, pp.699-711. ineris-00961848

HAL Id: ineris-00961848

<https://hal-ineris.archives-ouvertes.fr/ineris-00961848>

Submitted on 20 Mar 2014

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

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

OZONE ET SYSTEME IMMUNITAIRE

G. Lacroix et C. Lambré

INERIS, Département de Toxicologie-Ecotoxicologie

BP 2

60550 Verneuil-en-Halatte

Téléphone : 03-44-55-66-04

Télécopie : 03-44-55-66-05

Résumé

Cette revue fait le point sur les altérations de la santé attribuables à des perturbations du Système Immunitaire consécutives à une exposition à l'ozone ainsi que sur les diverses hypothèses mécanistiques étudiées. Au delà des problèmes posés par des critères de variabilité (âge, sexe, concentration et durée d'exposition différentes, caractère peu rémanent de l'ozone, complexité du système immunitaire...) l'ozone peut induire, une immunostimulation se manifestant par une intensification des phénomènes allergiques ou une immunosuppression caractérisée par une augmentation de la sensibilité aux infections bactériennes. Des fonctions de différents acteurs de la réponse immunitaire sont atteintes: capacité de phagocytose et de bactéricidie par les macrophages et polynucléaires, activité NK, production de cytokines, d'anticorps... En terme de risque, les conséquences de ces altérations dépendront de leur intensité, de leur pérennité et de leur association avec des caractères génétiques particuliers ou avec d'autres agressions, par exemple infectieuses. De même il faut considérer que nous sommes souvent exposés à un mélange de polluants dont les interactions nous restent, à ce jour, inconnues. Il faut enfin évoquer le problème de la réponse, normale mais éventuellement exacerbée, du système immunitaire à un composé dont l'allergénicité peut avoir été modifiée par l'ozone.

Mots clés : Ozone, système immunitaire, immunotoxicité, allergies, infections respiratoires.

Introduction

La pollution atmosphérique est caractérisée par la présence dans l'air de substances nocives pour les êtres-vivants, en particulier l'homme. Ces substances peuvent être d'origine naturelle ou anthropique. En effet, la nature est responsable de rejets de polluants dans l'air : poussières et particules issues de phénomènes d'érosion ou d'éruptions volcaniques, émissions de CO, d'oxydes d'azotes (NO_x), et de composés organiques volatiles (COV) provenant des océans et des végétaux, qui constituent le niveau de base de pollution ou pollution naturelle. Toutefois, la plupart des polluants atmosphériques les plus nocifs provient des activités humaines. Les sources anthropiques principales sont les transports (NO_x, CO, COV, particules, ozone), l'industrie (SO₂, aérosols complexes formés de nitrates, sulfates, acides, métaux et particules) et le chauffage urbain (SO₂). Alors que les émissions des sources fixes n'ont cessé de diminuer depuis 20 ans, l'augmentation constante du trafic automobile a projeté les émanations liées à la combustion des carburants au premier rang des préoccupations et des réglementations concernant la pollution de l'air [1]. En conséquence, certains polluants tels que le SO₂ sont à l'heure actuelle globalement en régression tandis que des composés comme les particules diesel, les NO_x ou encore l'ozone sont stables ou en légère augmentation [1]. Ce dernier polluant présente la particularité de ne pas être émis directement par les véhicules. C'est un polluant secondaire qui résulte de réactions photochimiques complexes entre les oxydes d'azotes et les composés organiques volatiles. Compte tenu de cette chimie particulière, les effets sur la santé de la pollution par l'ozone sont surtout localisés dans les zones urbaines très ensoleillées.

Les effets sur la santé de la pollution d'origine automobile sont perceptibles sur les divers tissus composant le système respiratoire. Les manifestations les plus habituelles sont : une irritation des bronches, une augmentation de la susceptibilité aux infections bactériennes et virales, éventuellement une augmentation de l'hyperréactivité bronchique lorsque les sujets sont prédisposés, enfin, des effets mutagènes et cancérigènes ont été évoqués. Ces observations sont les résultantes d'interactions entre plusieurs composants initiaux parmi lesquels on peut relever : la chronicité de l'exposition à de faibles doses parfois entrecoupée de pics, la complexité et le type des mélanges de polluants, des caractères de susceptibilité

individuelle des personnes exposées ...

L'hypothèse la plus couramment admise suggère que ces différents paramètres induisent une succession de réponses inflammatoires locales qui, pérennisées et additionnées, concourent aux dérèglements métaboliques qui sont à l'origine des diverses pathologies pré-citées. Des résultats de travaux expérimentaux ont montré que l'exposition à différents types de polluants (ozone, NO₂, SO₂, particules diesel...) induit des perturbations du système immunitaire. Ces dernières peuvent être, en retour, responsables de l'exacerbation des réactions allergiques chez les individus prédisposés, et de l'augmentation de la sensibilité aux infections ou au cancer. Cependant les mécanismes selon lequel ces polluants affectent le système immunitaire ne sont pas encore clairement explicités à ce jour.

Le système immunitaire joue en effet un rôle fondamental dans la surveillance et le maintien de l'intégrité de l'organisme, en détectant et en éliminant les composés étrangers à ce dernier tels que les micro-organismes pathogènes, les particules et fibres, les cellules modifiées (tumoraux), etc. Les constituants du système immunitaire sont disséminés dans tout l'organisme et interagissent avec beaucoup, si ce n'est tous, des autres systèmes physiologiques (endocrinien, nerveux...). Il est donc particulièrement justifié d'étudier les effets de substances toxiques sur le système immunitaire puisque cela pourra avoir des répercussions importantes et variées au niveau de la santé de l'individu.

L'ozone, comme de nombreux polluants atmosphériques, entre dans la catégorie des agents irritants du tractus respiratoire. L'exposition aiguë à l'ozone provoque des irritations au niveau des yeux, du nez, de la gorge, des altérations (réversibles) de la fonction pulmonaire, une hyperréactivité bronchique et une inflammation pulmonaire se traduisant par une augmentation du nombre et de la variété des cellules et des médiateurs de l'inflammation retrouvés dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire [2]. Cette inflammation pulmonaire peut entraîner des lésions structurales irréversibles (altérations au niveau des cellules ciliées, des pneumocytes I...) ainsi qu'une augmentation de la sensibilité aux infections respiratoires [3]. Hyperréactivité et inflammation bronchiques sont également rencontrées dans l'asthme. Il n'est pas déraisonnable de penser que l'ozone pourrait donc exacerber les crises chez les asthmatiques, bien que ce point de vue soit, à l'heure actuelle, toujours controversé. La plupart de ces manifestations, observées expérimentalement ou simplement suspectées, peut

s'expliquer par un dysfonctionnement du système immunitaire, soit dans le sens d'une immunosuppression (diminution de la résistance aux infections), soit au contraire dans le sens d'une immunostimulation (augmentation des crises d'asthme, allergies).

Cette revue fait le point sur les travaux publiés à ce jour sur les effets de l'ozone sur le fonctionnement du système immunitaire et leurs conséquences.

I. Mise en évidence des effets de l'ozone sur le système immunitaire

1. Ozone et hypersensibilité pulmonaire

L'hypersensibilité pulmonaire est un phénomène complexe, dépendant d'un certain nombre de facteurs individuels et d'interactions entre allergènes et constituants du système immunitaire (figure 1).

1.1. Hypersensibilité immédiate

Hormis l'étude de Ozawa *et al.* qui a mis en évidence une suppression de la production d'IgE chez des souris sensibilisées après exposition à l'ozone [4]. les travaux réalisés chez l'animal s'accordent à montrer une exacerbation des réactions allergiques liée à l'ozone [5-7].

Chez l'homme, l'étude de l'effet d'une exposition à l'ozone sur la réponse de sujets allergiques a abouti à des résultats contradictoires. L'exposition d'asthmatiques à 0,12 ppm d'ozone pendant une heure semble augmenter de façon significative l'hyperréactivité bronchique à divers pneumallergènes (pollens) [8]. Toutefois, pour une exposition similaire, ce phénomène de synergie n'a pas été confirmé [9]. De même, aucun changement n'a été noté chez des sujets atteints de rhinite allergique après exposition à 0,5 ppm d'ozone pendant quatre heures [10]. Par contre, l'étude de Jörres *et al.* a montré que l'exposition à l'ozone augmentait l'hyperréactivité bronchique allergique. Des sujets asthmatiques, exposés à 0,25 ppm d'ozone

pendant trois heures, ont développé des réponses exacerbées suite à l'inhalation d'un allergène de type pollinique. Des modifications dans la fonction pulmonaire et dans l'hyperréactivité bronchique non spécifique (explorée par la métacholine) ont été aussi observées [11].

Par ailleurs, il semble que l'exposition de grains de pollen à l'ozone modifie le profil des allergènes exprimés [12, 13].

1.2. Hypersensibilité retardée

L'étude des effets de l'ozone sur l'hypersensibilité pulmonaire de type IV (retardée) est encore peu explorée. Récemment, il a été rapporté que cette dernière était très atténuée, après exposition à l'ozone, chez la souris [14].

2. Ozone et résistance aux infections

2.1. Infections bactériennes

L'ozone est suspecté depuis longtemps d'altérer la résistance des animaux de laboratoire, aux infections bactériennes. Dès 1957, il était noté que l'exposition à des teneurs en ozone de l'ordre du ppm augmentait la fréquence d'affections respiratoires spontanées chez les rongeurs [15]. Depuis, de nombreux modèles de pneumopathies expérimentales ont été développés afin de confirmer ces observations.

L'exposition aiguë (quelques heures) ou subaiguë (quelques jours) de hamsters ou de souris à des teneurs en ozone comprises entre 0,1 et 0,8 ppm augmente significativement la mortalité des animaux soumis à un aérosol bactérien [16-19]. Chez la souris, des réponses variables ont été notées selon la souche et l'âge, les souris les plus jeunes s'étant révélées les plus sensibles [17-19]. Par contre, l'exposition à l'ozone ne semble pas modifier la sensibilité des rats [17]. Après infection avec *Staphylococcus aureus*, un effet de résistance a été mis en évidence chez la souris : l'activité bactéricide intrapulmonaire, initialement altérée après un à trois jours d'exposition continue à 0,5 ppm d'ozone, n'est plus significativement différente des témoins après une à deux semaines d'exposition [20].

L'ozone semble n'avoir aucun effet sur l'activité bactéricide intrapulmonaire envers des bactéries Gram⁻ telles que *Proteus mirabilis* [20] ou *Klebsiella pneumoniae* [21]. L'infection par ces bactéries provoque un afflux de neutrophiles dans les poumons à la différence d'une contamination par une bactérie Gram⁺ comme *Staphylococcus aureus* [20]. Ceci pourrait être interprété comme montrant que l'ozone agit plus spécialement sur les défenses antibactériennes pulmonaires dépendantes des macrophages alvéolaires et non pas des neutrophiles.

Enfin, l'ozone augmente également la sensibilité de rats et souris aux infections respiratoires de type chronique telles que la tuberculose [22] ou la listériose [23].

2.2. Infections virales

Les effets de l'ozone sur le développement de maladies respiratoires virales ont été évalués chez l'homme et chez la souris. A la différence des infections bactériennes, ces études n'ont pas permis de mettre en évidence une relation entre l'exposition à l'ozone et l'augmentation de la gravité des infections pulmonaires [24, 25]. L'exposition *in vitro* de macrophages alvéolaires humains à 1 ppm d'ozone pendant deux heures avant contamination par le virus respiratoire syncytial ne modifie ni le pourcentage de cellules infectées, ni la quantité de virus produits [26].

Un effet protecteur de l'ozone vis à vis de l'infection grippale a même été rapporté. Des souris contaminées par un virus grippal pendant ou après exposition à 0,5 ppm d'ozone durant 15 jours, présentent une diminution de la mortalité et de la gravité des lésions pulmonaires [27]. La réponse immunitaire antivirale est en partie responsable des lésions pulmonaires observées après une infection grippale. L'exposition à l'ozone pourrait réduire la sévérité des infections grippales via une suppression de la réponse immune antivirale [28].

3. Ozone et cancer

Les études de cancérogénèse réalisées chez la souris (souche B6C3F1) ont mis en évidence une augmentation du nombre des tumeurs pulmonaires spontanées chez les animaux traités

par 0,5 à 1 ppm d'ozone [29-30]. Chez le rat, les résultats sont plus contradictoires. Boorman *et al.* ont montré que chez la souche Fischer 344/N, l'ozone n'avait aucun effet cancérigène ou co-cancérigène [29] tandis que les travaux de Monchaux *et al.* chez la souche Sprague-Dawley ont révélé un effet cancérogène ou cocancérogène potentiel de l'ozone pour une concentration de 0,2 ppm [31].

4. Ozone et maladies auto-immunes

A notre connaissance, une seule étude a établi un lien possible entre une exposition à l'ozone (0,75 ppm pendant 48 h) et le développement d'une maladie auto-immune, se traduisant par des lésions et une inflammation au niveau des parathyroïdes chez le lapin [32]. Toutefois, cette observation n'a pas été confirmée depuis.

L'ensemble de ces travaux, en particulier ceux menés sur les réactions allergiques et sur la résistance aux infections bactériennes ou virales après exposition à l'ozone, montre que ce dernier a divers effets sur le développement de processus dont le système immunitaire est un élément de contrôle.

De nombreuses études ont été réalisées afin de mieux comprendre les mécanismes d'action de l'ozone sur la réponse immune.

II. Mécanismes d'action. Effets sur les différents composants du système immunitaire

1. Effets de l'ozone sur les organes lymphoïdes

Les travaux, réalisés essentiellement chez la souris révèlent que l'exposition à l'ozone (0,3 à 0,8 ppm) induit une diminution du poids de la rate et du thymus durant les trois ou quatre premiers jours, suivie d'un retour progressif aux valeurs témoins au bout de sept à 14 jours d'exposition [33-38]. Toutefois, Fujimaki *et al.* ont montré qu'une exposition à 0,4 ou 0,8 ppm

d'ozone pendant 14 jours, entraînait une diminution régulière du poids du thymus [33,39], alors que Li et Richters n'ont observé aucun changement pour une exposition de 0,3 ppm pendant une, deux ou trois semaines [37].

Une exposition à 0,7 ppm d'ozone pendant 28 jours entraîne une diminution transitoire du poids du ganglion lymphatique médiastinal (GLM) durant les deux premiers jours. Ensuite, une réponse hyperplasique se développe et se maintient jusqu'au 28ème jour [34, 35, 38]. Ces observations sont corrélées avec le nombre de cellules ganglionnaires : une exposition à 0,8 ppm d'ozone provoque une diminution significative du nombre de cellules à J1, un retour aux valeurs témoins à J3 et une augmentation significative à J7 et J14 [36]. Une étude plus poussée montre que ce sont les lymphocytes T qui sont en cause et non les lymphocytes B. C'est en effet la zone paracorticale, riche en cellules T, qui est active, tandis que la zone corticale, riche en cellules B reste quiescente. De plus, lorsque les animaux sont traités avec un anticorps anti-cellules T, l'hypertrophie du ganglion est fortement diminuée [40]. De façon similaire, lorsque des rats sont exposés à 0,5 mg/m³ d'ozone (0,25 ppm) pendant sept jours, le rapport T/B augmente au niveau des ganglions lymphatiques bronchiques. Cette modification est toujours visible cinq jours après la fin de l'exposition [23]. Le thymus semble jouer un rôle important dans les changements observés au niveau du GLM : les modifications sont très atténuées chez des souris athymiques (nude) exposées à 0,7 ppm d'ozone pendant sept ou 14 jours [41].

Afin d'étudier les effets subaigus et chroniques de l'ozone à des concentrations plus représentatives de celles rencontrées dans la troposphère, des rats ont été exposés durant une, trois, 13, 52 ou 78 semaines à des teneurs en ozone simulant un profil urbain, avec des concentrations consécutives allant de 0 à 0,25 ppm sur 24h. Les coupes histologiques réalisées au niveau de la rate, du thymus, de la moelle du fémur et de certains ganglions lymphatiques (médiastinal, mandibulaire et péribronchique) prélevés chez ces animaux, n'ont révélé aucune différence par rapport aux animaux témoins [42].

2. Effets sur les macrophages alvéolaires

Les macrophages alvéolaires jouent un rôle prépondérant dans l'immunité locale de l'appareil respiratoire. Responsables du maintien de la stérilité de l'alvéole pulmonaire, ils ont pour tâche principale d'éliminer (par phagocytose) les particules étrangères (poussières, bactéries...) qui atteignent le poumon profond. Présents dans la lumière de l'alvéole, ils sont en contact direct avec l'air inspiré et constituent, de ce fait, une cible de choix pour les polluants inhalés, gazeux ou particuliers.

2.1. Effets sur le nombre de macrophages alvéolaires

De nombreux travaux, effectués chez l'animal (rat, souris, cobaye), ont mis en évidence une augmentation du nombre de macrophages recueillis par LBA environ 48 heures après le début d'une exposition de quelques heures à quelques jours, à des teneurs en ozone variant de 0,12 à 2 ppm [43-46]. Chez l'homme cependant, aucun afflux n'a été observé une heure après une exposition à 0,4 ppm d'ozone durant deux heures [47,48]. Cette augmentation du nombre des macrophages alvéolaires s'accompagne d'une activation du métabolisme cellulaire [44] et d'un index mitotique élevé [43].

2.2. Effets sur la structure des macrophages alvéolaires

Les variations suivantes ont été observées : augmentation significative du volume et du diamètre cellulaire [49], diminution transitoire du rapport nucléoplasmique liée à une augmentation significative de la taille du cytoplasme des macrophages [43], diminution du nombre des lysosomes primaires et des phagosomes, au profit des lysosomes secondaires [49]. Les modifications les plus importantes semblent cependant porter sur la membrane plasmique [50,51].

Il est vraisemblable que les changements dans la morphologie de surface des macrophages alvéolaires sont associés à une modification de leurs fonctions, en particulier dans le cas de la réponse immunitaire où ces cellules jouent de nombreux rôles.

2.3. Effets sur les fonctions des macrophages alvéolaires

Les macrophages alvéolaires jouent un rôle essentiel dans les phénomènes de phagocytose et de bactéricidie. Ils sont également doués d'une capacité de sécrétion très importante. Plus d'une centaine de substances sont susceptibles d'être produites (cytokines, facteurs de croissance, dérivés lipidiques, hydrolases, dérivés réactifs de l'oxygène, etc.).

2.3.1. Effets sur la phagocytose et la bactéricidie

Les effets de l'ozone sur l'activité phagocytaire des macrophages alvéolaires ont été étudiés, *in vivo*, *ex vivo* et *in vitro*. La variabilité des protocoles expérimentaux rend difficile toute conclusion globale, cependant, une diminution de la phagocytose est généralement constatée après exposition à l'ozone (tableau I).

Une fois ingéré par les macrophages, l'agent pathogène peut être détruit grâce à deux grands types de mécanismes qui sont, soit indépendants de l'oxygène (pH intravacuolaire, hydrolases acides...) soit dépendants de l'oxygène (formation de dérivés actifs de l'oxygène).

L'exposition à l'ozone conduit à une diminution des quantités et/ou des activités de certaines hydrolases. Par contre, il ne semble pas modifier le contenu des cellules en anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) (Tableau II).

2.3.2. Effets sur l'activité sécrétrice des macrophages alvéolaires

Un certain nombre de substances sécrétées par les macrophages, par exemple des cytokines ou des dérivés de l'acide arachidonique, interviennent, seules ou en synergie, pour moduler la réponse immunitaire.

Il a été montré que l'ozone pouvait modifier *in vivo* comme *in vitro*, la capacité de sécrétion des macrophages alvéolaires (tableau III).

3. Effets de l'ozone sur les lymphocytes

3.1. Effets sur le nombre de lymphocytes pulmonaires

L'exposition de souris à 0,7 ou 0,8 ppm d'ozone pendant 4 à 24 jours provoque un afflux de lymphocytes T sur le site des lésions pulmonaires induites par l'ozone [35]. Par contre, aucune infiltration de lymphocytes B sécrétant des IgM [35, 74] ou des IgG [74] n'a été mise en évidence. Seule une légère augmentation du nombre de cellules contenant des IgA a été observée [74].

3.2. Réponse fonctionnelle non spécifique

3.2.1. Prolifération en réponse à des mitogènes

Divers stimulants sont utilisés. La phytohémataglutinine (PHA) et la concanavaline A (ConA) induisent la prolifération des cellules T tandis que le lipopolysaccharide (LPS) induit la prolifération des cellules B murines. Le mitogène de pokeweed (PWM) est actif sur les cellules B humaines en présence de lymphocytes T dont il stimule également la prolifération. Divers travaux ayant porté sur l'étude des effets d'une exposition à l'ozone sur la capacité proliférative des lymphocytes en réponse à des mitogènes non spécifiques, ont abouti à des conclusions divergentes (tableau IV).

3.2.2. Activité sécrétrice

L'exposition *in vitro* de leucocytes sanguins humains à 1 ppm d'ozone pendant deux heures altère la capacité des lymphocytes B à produire des IgG en réponse au PWM (stimulus dépendant des cellules T) mais pas à *Staphylococcus aureus* (stimulus indépendant des cellules T). Il semblerait donc que les cellules T soient les plus sensibles à l'ozone. Toutefois, les cellules B doivent aussi être touchées car, lorsqu'elles sont exposées à l'ozone puis mises en contact avec des cellules T témoins, la production d'IgG en réponse au PWM est toujours diminuée. Par ailleurs, la sécrétion d'un certain nombre de lymphokines régulant la synthèse d'anticorps est également altérée. Une diminution des quantités d'IL-2 et une augmentation des quantités d'IL-6 sécrétées ont été observées. La production d'INF- γ n'a pas été modifiée et

les concentrations d'IL-4 étaient en dessous des limites de détection [79].

3.2.3. Activité NK

Présente dans de nombreux tissus, l'activité cytotoxique liée aux cellules dites "Natural Killer" (NK) est une activité non restreinte par le CMH (complexe majeur d'histocompatibilité), qui est développée par des cellules lymphoïdes non sensibilisées vis-à-vis de cellules tumorales ou infectées par des virus. Les cellules responsables de cette activité forment une population hétérogène, distincte des lymphocytes T matures, des lymphocytes B et des monocytes [80]. Les effets de l'ozone sur l'activité NK au niveau local (pulmonaire) ou systémique, résumés dans le tableau V, montrent le plus souvent un effet inhibiteur.

3.3. Réponse fonctionnelle spécifique

Diverses expériences ont été réalisées afin d'étudier l'effet de l'ozone sur la réponse immune cellulaire et humorale spécifique.

3.3.1. Blastogénèse

La prolifération des lymphocytes spléniques en réponse à l'ovalbumine est significativement plus faible à J7 et J14, chez des souris sensibilisées et exposées à 0,8 ppm pendant un, trois, sept et 14 jours. A l'inverse, la prolifération des cellules du ganglion lymphatique médiastinal est significativement augmentée à J14 [36].

3.3.2. Production d'anticorps

Lorsque des souris sensibilisées à l'ovalbumine (OA) ont été exposées à 0,8 ppm d'ozone pendant un, trois, sept ou 14 jours en continu, une baisse des IgA et IgG anti OA est notée au niveau du LBA pour J7 et J14, mais pas au niveau du sérum [36]. Pour une exposition similaire, la réponse anticorps des lymphocytes spléniques murins contre les globules rouges

de mouton (GRM) qui est un antigène dépendant des cellules T, est significativement inférieure à celle des témoins. Par contre, la réponse anticorps contre le DNP-Ficoll (antigène indépendant des cellules T) n'est pas altérée [33]. Au bout de 56 jours d'exposition à 0,8 ppm, ces modifications sont toujours visibles [83].

3.3.3. Hypersensibilité retardée

Chez différents modèles animaux, l'ozone induit une diminution significative de la réaction d'hypersensibilité retardée au niveau de la peau, mais uniquement lorsque l'exposition est postérieure à l'immunisation. Dans le cas contraire, aucune modification n'est observée [23, 39].

Une analyse de Van Loveren *et al.* suggère que l'ozone influencerait l'équilibre des réactions immunes médiées par les cellules Th₁ et Th₂ [84]. Ces deux sous populations lymphocytaires dérivent des cellules TCD4⁺ (Th₀) et ne diffèrent que par leur production de cytokines (figure 1).

Au vu des différents résultats expérimentaux obtenus, l'ozone semble donc capable de réduire les réactions de type Th₁, ce qui se traduit, par exemple, par une diminution de la résistance à *Listeria*. A l'inverse, l'augmentation des phénomènes allergiques après exposition à l'ozone indique que ce dernier favoriserait les réactions de type Th₂ [84].

4. Effets de l'ozone sur les polynucléaires neutrophiles

Les polynucléaires neutrophiles (PN) ne sont pas habituellement présents au niveau du poumon, mais peuvent y être rapidement recrutés en cas d'agression. La stimulation des neutrophiles peut entraîner un déversement de diverses substances (enzymes hydrolytiques, protéines cationiques...) dans le phagosome et le milieu extracellulaire. Ces phénomènes, beaucoup plus intenses que chez les phagocytes mononucléés, aboutissent à la destruction de l'agent pathogène mais aussi éventuellement à la lyse du PN lui-même et à une lésion des tissus avoisinants.

4.1. Effet sur l'afflux des neutrophiles au niveau pulmonaire

De nombreux travaux ont mis en évidence un afflux transitoire de PN, au niveau de l'appareil respiratoire de diverses espèces, après une exposition (continue ou intermittente) de quelques heures [43,45,46].

Chez l'homme, une à trois heures après une exposition comprise entre 0,4 et 0,6 ppm d'ozone pendant deux heures, une augmentation significative du nombre de PN recueillis par LBA est notée [48], alors qu'une exposition à 0,25 ppm pendant une heure est sans effet [85].

4.2. Effets sur les fonctions des neutrophiles

Les travaux portant sur l'étude des effets de l'ozone sur les fonctions des neutrophiles ont essentiellement porté sur les PN sanguins.

4.2.1. Effets sur la phagocytose et la bactéricidie

Une diminution significative mais transitoire du taux de phagocytose et de la bactéricidie de *Staphylococcus epidermidis* est observée chez les PN sanguins prélevés 72 heures après exposition de volontaires à 0,4 ppm d'ozone pendant quatre heures [86].

A l'inverse, l'exposition *in vitro* à 0,4 ou 1 ppm d'ozone de PN sanguins isolés chez le lapin, provoque une augmentation de la phagocytose de billes de latex opsonisées. Aucun changement n'a été noté chez les PN sanguins humains [87].

4.2.2. Effets sur la sécrétion

Dans des neutrophiles sanguins prélevés chez l'homme et chez le lapin, une diminution des quantités de thromboxane B₂ a été observée dans le milieu de culture des cellules exposées à 1 ppm d'ozone pendant deux heures ; les concentrations de 0,1 et 0,4 ppm étant sans effet. A l'inverse, une augmentation des quantités de prostaglandine E₂ a été mise en évidence pour 0,4

et 1 ppm chez l'homme et pour 1 ppm chez le lapin. Par contre, les sécrétions de $\text{PGF}_{2\alpha}$, $\text{PGF}_{1\alpha}$ et de LTB_4 n'ont pas été modifiées [87].

5. Effets de l'ozone sur les mastocytes

Au niveau de l'appareil respiratoire, les mastocytes sont situés sous l'épithélium des voies aériennes et sont capables de relarguer un grand nombre de médiateurs pro-inflammatoires. Ils jouent un rôle clé dans les phénomènes d'allergies, et plus spécifiquement au niveau de l'hypersensibilité de type I.

Une diminution du contenu en histamine de mastocytes de chiens sensibles à *Ascaris* a été mise en évidence après exposition de segments de bronches *in situ* (via un catheter) à 1 ppm d'ozone pendant 5 min. Le relargage d'histamine et de prostaglandine D_2 est également plus faible chez les mastocytes exposés par rapport aux mastocytes témoins, qu'ils aient été stimulés de façon spécifique (*Ascaris*) ou non spécifique (ionophore calcique A23187) [88]. De façon similaire, l'exposition d'une lignée de mastocytes de rat (RBL-2H3) à 0,1 ou 0,3 ppm d'ozone pendant 60 min inhibe significativement la libération de sérotonine due aux IgE (stimulus spécifique) et, dans une moindre mesure, au ionophore calcique A23187. De plus, l'ozone seul ne provoque pas de libération spontanée de sérotonine [89].

De nombreux travaux ont montré que l'ozone pouvait exacerber les réactions allergiques (voir chapitre I § 1.1). Les résultats précédents suggèrent que l'ozone exercerait plutôt un effet inhibiteur sur la libération par les mastocytes des médiateurs impliqués dans la réaction d'hypersensibilité immédiate. Cette ambiguïté peut-être expliquée, soit par les modèles expérimentaux utilisés, soit par des mécanismes d'action qui impliquent des interactions complexes entre divers acteurs cellulaires et humoraux.

Discussion

Pour un même paramètre immunologique, une grande variation dans les résultats est observée dans certains cas. De nombreux facteurs, liés aux systèmes expérimentaux, peuvent expliquer ces conclusions divergentes.

Il a été montré que la toxicité générale de l'ozone diffère selon l'espèce étudiée [90-91]. Certaines souches de rats ou de souris sont même plus ou moins sensibles à l'action de l'ozone, ce qui laisse à penser que les caractères génétiques jouent un grand rôle dans ces variations de sensibilité [92,93]. Le sexe et l'âge des animaux sont également des facteurs à prendre en compte, les femelles étant plus sensibles que les mâles [94]. Les animaux les plus jeunes et les plus âgés présentent une réponse pulmonaire plus marquée à l'ozone que les animaux adultes [95,96]. Enfin, l'impact de l'ozone peut varier selon l'état physiologique des animaux. Ainsi, l'hyperventilation [97] et la lactation [98] sensibilisent les animaux à l'ozone. Les réponses peuvent également varier selon le protocole d'exposition. Chez l'homme, à doses équivalentes, des différences dans l'altération de la fonction pulmonaire ont été notées selon que l'exposition était continue ou intermittente [99]. Chez l'animal, la réponse est modulée par la température d'exposition, la sévérité des effets variant en sens inverse de la température [100]. La période d'exposition semble également avoir une influence. Des rats exposés la nuit (c'est-à-dire durant leur période d'activité) développent des réponses inflammatoires plus importantes que si l'exposition a lieu le jour [101]. Ces deux facteurs (température et période d'exposition) sont à relier à l'état physiologique des animaux. Par ailleurs, le moment où l'exposition a lieu par rapport au moment où la réponse est évaluée apparaît fondamental. Une exposition à l'ozone, postérieure à la phase d'immunisation, diminue l'intensité de la réaction d'hypersensibilité retardée en réponse à une stimulation antigénique. Par contre, une exposition à l'ozone réalisée avant l'étape d'immunisation n'a aucun effet sur la réaction d'hypersensibilité retardée [23,39]. Enfin, la notion de dose est particulièrement importante. Pour une même expérimentation, l'activité NK est stimulée pour des doses relativement faibles (0,2 et 0,4 ppm) et au contraire inhibée à 0,8 ppm [80].

En ce qui concerne les expositions à moyen et long terme, un point mérite d'être souligné. Les animaux soumis à l'ozone s'alimentent moins que les animaux témoins, ce qui se traduit par une perte ou un gain moins important de poids [102]. Par ailleurs, lorsque les animaux sont nourris pendant l'exposition, la qualité de la nourriture entre témoins et exposés peut varier suite à son oxydation par l'ozone [103]. Sachant l'importance du régime alimentaire sur la réponse immune, il est tout à fait possible que les variations observées au cours de telles études ne soient qu'un effet indirect de l'ozone.

Le montage de la réponse immune est constitué par une cascade de mécanismes imbriqués et finement régulés. Cette complexité rend délicate l'interprétation des modifications en relation avec le système immunitaire observées après action d'un composé toxique.

Le problème est encore compliqué par le fait que la finalité de toutes ces études est d'évaluer l'impact sur la santé humaine. Pour des considérations d'éthique évidentes, les études d'exposition humaine contrôlée sont strictement limitées. L'interprétation des études épidémiologiques est difficile, dans la mesure où l'on est confronté à des mélanges de polluants plus ou moins définis et où l'exposition de la population est rarement bien connue. Les études expérimentales *in vivo* ou *in vitro* permettent d'étudier les mécanismes d'action d'un toxique mais chacun de ces modèles présentent des limites. En ce qui concerne les expérimentations animales, il existe une variabilité importante de réponse aux polluants, liée à l'espèce voire la souche, à l'âge, au sexe.... Il est par conséquent difficile de placer l'homme dans ce spectre des sensibilités et l'extrapolation des résultats obtenus par ce type d'approche est délicate. Les études *in vitro* permettent d'utiliser du matériel biologique humain (cellules, tissus...) mais l'extrapolation des résultats à l'homme est encore plus compliquée dans la mesure où l'on travaille sur des cellules ou des organes isolés, c'est à dire maintenus en conditions artificielles et souvent largement différenciés donc ne présentant plus les spécificités constitutives des cellules *in situ*.

Le problème se pose alors de la pertinence des essais. Ces différents modèles expérimentaux (*in vivo* et *in vitro*) permettent d'améliorer la connaissance des mécanismes d'action en augmentant la sensibilité et la spécificité des études mais il convient de considérer la relation entre les effets observés expérimentalement et la santé de l'homme. L'établissement de protocoles permettant de mettre en évidence ce lien est particulièrement indiqué dans le cas du système immunitaire qui, par nature, est amené à réagir et qui, de plus, a une capacité de restauration propre. En ce sens, les modèles infectieux, qui constituent une évaluation globale peuvent apporter des réponses.

Un autre point à souligner est que la plupart des travaux ayant mis en évidence un ou des effets au niveau du système immunitaire ont utilisé des concentrations supérieures à celles rencontrées dans l'environnement. Dans l'hémisphère nord, le bruit de fond en ozone troposphérique est d'environ 0,05 ppm. Cette concentration peut être multipliée par 5 ou 6 lors

d'épisodes importants de pollution photochimique (environ 0,3 ppm) mais cette situation reste heureusement exceptionnelle et localisée (cas de l'étang de Fosse-Berre en France). Le plus souvent les teneurs ambiantes en ozone ne dépassent pas 0,1 à 0,15 ppm. Si certains travaux ont montré que l'exposition à des concentrations en ozone de l'ordre de 0,1 à 0,2 ppm pouvaient exacerber certaines réactions allergiques [8] ou augmenter la sensibilité aux infections bactériennes [16, 23], l'essentiel des effets sur le système immunitaire ont été observés pour des teneurs en ozone supérieures à 0,4 ppm. A cet égard, l'étude de Selgrade *et al.* n'a pas permis de mettre en évidence de modifications sur de nombreux paramètres immunologiques chez des rats exposés chroniquement à des teneurs en ozone simulant un profil urbain [25].

Afin de mieux estimer les risques pour la santé des individus, les futures études expérimentales devront donc aller dans le sens d'une diminution des doses testées, de façon à se rapprocher au mieux des concentrations ambiantes. D'autre part, surtout dans le cas de l'ozone qui est un composé très réactif, la toxicocinétique et la biotransformation devront être mieux prises en compte, en particulier dans l'évaluation de la capacité des modèles expérimentaux à prédire les effets sur l'homme. Enfin, toujours dans le but de mieux cerner ce qui se passe dans l'environnement, l'étude d'éventuelles interactions entre plusieurs polluants devra se généraliser, encore une fois uniquement après une phase préalable de réflexion sur la pertinence du modèle expérimental et en privilégiant évidemment des associations logiques en terme de risques (mélanges à priori potentiellement toxiques et fréquemment rencontrés dans l'atmosphère).

Enfin, en complément à l'étude des effets de l'ozone sur le fonctionnement du système immunitaire d'organismes exposés, il ne faut pas oublier d'envisager les éventuelles modifications de l'immunogénicité en général, et de l'allergénicité en particulier, des antigènes de l'environnement soumis à ce polluant.

Références

1. Société Française de Santé Publique : La pollution atmosphérique d'origine automobile et la santé publique. Bilan de 15 ans de recherche internationale. *Collection santé et société* 1996;4:251p.
2. BIGNON J, ZMIROU D, BROCHARD P : Effets respiratoires de l'ozone chez l'homme. *Pollut Atmos* 1994;Janvier-mars:45-54.
3. MCKEE DJ, RODRIGUEZ RM : Health effects associated with ozone and nitrogen dioxide exposure. *Water Air Soil Pollut* 1993;67:11-35.
4. OZAWA M, FUJIMAKI H, IMAI T, HONDA Y, WATANABE N : Suppression of IgE antibody production after exposure to ozone in mice. *Int Archs Allergy Appl Immun* 1985;76:16-9.
5. MATSUMARA Y : The effects of ozone, nitrogen dioxide, and sulfur dioxide on the experimentally induced allergic respiratory disorder in guinea pigs. I. The effect on sensitization with albumin through the airway. *Am Rev Respir Dis* 1970;102:430-7.
6. OSEBOLD JW, GERSHWIN LJ, ZEE YC : Studies on the enhancement of allergic lung sensitization by inhalation of ozone and sulfuric acid aerosol. *J Environ Pathol Toxicol* 1980;3:221-34.
7. YANAI H, OHROI T, AIKAWA T, OKAYAMA H, SEKIZAWA K, MAEYAMA K, SASAKI H, TAKISHIMA T : Ozone increases susceptibility to antigen inhalation in allergic dogs. *J Appl Physiol* 1990;68:2267-73.
8. MOLFINO NA, WRIGHT SC, KATZ I, TARLO S SILVERMAN F, MC CLEAN PA, SZALAI JP, RAIZENNE M, SLUTSKY AS, ZAMEL N : Effect of low concentrations of ozone on inhaled allergen responses in asthmatic subjects. *Lancet* 1991;338:199-203.
9. BALL BA, FOLINSBEE LJ, PEDEN DB, KEHRL HR : Allergen bronchoprovocation of patients with mild allergic asthma after ozone exposure. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:563-72.
10. BASCOM R, NACLERIO RM, FITZGERALD TK, KAGEYSOBOTKA A, PROUD D : Effects of ozone inhalation on the response to nasal challenge with antigen of allergic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:594-601.
11. JÖRRES R, NOWAK D, MAGNUSSEN H : The effect of ozone exposure on allergen responsiveness in subjects with asthma or rhinitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:56-64.
12. PELTRE G, DESROUET L, CERCEAU-LARRIVAL MT : Models treatments simulating environmental action on allergenic *Dactylis glomerata* pollen. *Grana* 1991;30:59-61.
13. MASUCH G, SCHOENE K, FRANZ JT, MÜSKEN H, BERGMANN KC : Histological alterations and increase of group 5 allergen in anthers and pollens of *Lolium perenne* caused by ozone. *Eur Resp J* 1997;10(suppl. 25):246s.
14. GARSSEN J, VAN BREE L, VAN DER VLIET H, VAN LOVEREN H : Ozone-induced impairment of pulmonary type IV hypersensitivity and airway hyperresponsiveness in mice. *Inhal Toxicol* 1997;9:581-99.
15. STOKINGER HE : Evaluation of the hazards of ozone and oxides of nitrogen. *Arch Ind Health* 1957;15:181-90.
16. MILLER FJ, ILLING JW, GARDNER DE : Effect of urban ozone levels on laboratory-induced respiratory infections. *Toxicol Lett* 1978;2:163-9.
17. GILMOUR MI, SELGRADE MK : A comparison of the pulmonary defenses against streptococcal infection in rats and mice following O₃ exposure : differences in disease susceptibility and neutrophil recruitment. *Toxicol Appl Pharmacol* 1993;123:211-8.
18. GILMOUR MI, PARK P, SELGRADE MK : Ozone-enhanced pulmonary infection with *Streptococcus zooepidemicus* in mice. The role of alveolar macrophage function and capsular virulence factors. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:753-60.

19. GILMOUR MI, PARK P, DOERFLER D, SELGRADE MK : Factors that influence the suppression of pulmonary antibacterial defenses in mice exposed to ozone. *Exp Lung Res* 1993;19:299-314.
20. GILMOUR MI, HMIELESKI RR, STAFFORD EA, JAKAB GJ : Suppression and recovery of the alveolar macrophage phagocytic system during continuous exposure to 0.5 ppm ozone. *Exp Lung Res* 1991;17:547-58.
21. ARANYI C, VANA SC, THOMAS PT, BRADOF JN, FENTERS JD : Effects of subchronic exposure to a mixture of O₃, SO₂, and (NH₄)₂SO₄ on host defenses of mice. *J Toxicol Environ Health* 1983;12:55-71.
22. THOMAS GB, FENTERS JD, EHRLICH R, GARDNER DE : Effects of exposure to ozone on susceptibility to experimental tuberculosis. *Toxicol Lett* 1981;9:11-7.
23. VAN LOVEREN H, ROMBOUT PJA, WAGENAAR SS, WALVOORT HC, VOS JG : Effects of ozone on the defense to a respiratory *Listeria monocytogenes* infection in the rat. Suppression of macrophage function and cellular immunity and aggravation of histopathology in lung and liver during infection. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988;94:374-93.
24. HENDERSON FW, DUBOVI EJ, HARDER S, SEAL E, GRAHAM D : Experimental rhinovirus infection in human volunteers exposed to ozone. *Am Rev Respir Dis* 1988;137(5):1124-8.
25. SELGRADE MK, ILLING JW, STARNES DM, STEAD AG, MÉNACHE MG, STEVENS MA : Evaluation of effects of ozone exposure on influenza infection in mice using several indicators of susceptibility. *Fund Appl Toxicol* 1988;11:169-80.
26. SOUKUP J, KOREN HS, BECKER S : Ozone effect on respiratory syncytial virus infectivity and cytokine production by human alveolar macrophages. *Environ Res* 1993;60:178-86.
27. JAKAB, G.J. and HMIELESKI, R.R. : Reduction of influenza virus pathogenesis by exposure to 0.5 ppm ozone. *J Toxicol Environ Health* 1988;23(4):455-72.
28. JAKAB GJ, SPANNHAKE EW, CANNING BJ, KLEEBCERGER SR, GILMOUR MI : The effects of ozone on immune function. *Environ Health Perspect* 1995, 103(suppl.2):77-89.
29. BOORMAN GA, SILLS RC, GRUMBEIN S, HAILEY R, MILLER RA, HERBERT RA : Long-term toxicity studies of ozone in F344/N rats and B6C3F1 mice. *Toxicol Lett* 1995;82/83:301-6.
30. SILLS RC, HONG HL, GREENWELL A, HERBERT RA, BOORMAN GA, DEVEREUX TR : Increased frequency of K-ras mutations in lung neoplasms from female B6C3F1 mice exposed to ozone for 24 or 30 months. *Carcinogenesis* 1995;16(7):1623-8.
31. MONCHAUX G, MORLIER JP, MORIN M, FRITSCH P, TREDANIEL J, MASSE R : Etude des effets cancérigènes et cocancérigènes de l'ozone chez le rat : résultats préliminaires. *Pollut Atmos* 1994;avril-juin:84-8.
32. ATWAL OS, SAMAGH BS, BHATNAGAR MK : A possible autoimmune parathyroiditis following ozone inhalation. II. A histopathologic, ultrastructural and immunofluorescent study. *Am J Pathol* 1975;79:53-68.
33. FUJIMAKI H, OZAWA M, IMAI T, SHIMIZU F : Effect of short-term exposure to O₃ on antibody response in mice. *Environ Res* 1984;35:490-6.
34. DZIEDZIC D, WHITE HJ : Thymus and pulmonary lymph node response to acute and subchronic ozone inhalation in the mouse. *Environ Res* 1986;41:598-609.
35. BLEAVINS MR, DZIEDZIC D : An immunofluorescence study of T and B lymphocytes in ozone-induced pulmonary lesions in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol* 1990;105:93-102.
36. GILMOUR MI, JAKAB GJ : Modulation of immune function in mice exposed to 0.8 ppm ozone. *Inhal Toxicol* 1991;3:293-308.
37. LI AFY, RICHTERS A : Ambient levels of ozone effects on subpopulations of thymocytes and spleen T lymphocytes. *Arch Environ Health* 1991;46(1):57-63.

38. BLEAVINS MR, SARGENT NE, DZIEDZIC D : Effects of cyclosporine A on ozone-induced pulmonary lesion formation: pharmacologic elimination of the T-lymphocyte regulatory response. *Arch Environ Contam Toxicol* 1995;28:240-7.
39. FUJIMAKI H, SHIRAIISHI F, ASHIKAWA T, MURAKAMI M : Changes in delayed hypersensitivity reaction in mice exposed to O₃. *Environ Res* 1987;43:186-90.
40. DZIEDZIC D, WHITE HJ : T-cell activation in pulmonary lymph nodes of mice exposed to ozone. *Environ Res* 1986;41:610-22.
41. DZIEDZIC D, WHITE HJ : Response of T-cell-deficient mice to ozone exposure. *J Toxicol Environ Health*, 1987;21:57-71.
42. SELGRADE MK, DANIELS MJ GROSE EC : Acute, subchronic, and chronic exposure to a simulated urban profile of ozone: effects on extrapulmonary natural killer cell activity and lymphocyte mitogenic responses. *Inhal Toxicol* 1990;2:375-89.
43. HOTCHKISS JA, HARKEMA JR, KIRKPATRICK DT, HENDERSON RF : Response of rat alveolar macrophages to ozone: quantitative assessment of population size, morphology, and proliferation following acute exposure. *Exp Lung Res* 1989;15:1-16.
44. MOCHITATE K, MIURA T : Metabolic enhancement and increase of alveolar macrophages induced by ozone. *Environ Res* 1989;49:79-92.
45. KLEEBERGER SR, LEVITT RC, ZHANG LY : Susceptibility to ozone-induced inflammation. I. Genetic control of the response to subacute exposure. *Am J Physiol* 1993;264(1)part 1:L15-20.
46. SCHULTHEIS AH, BASSET DJP : Guinea pig lung inflammatory cell changes following acute ozone exposure. *Lung* 1994;172:169-81.
47. KOREN HS, DEVLIN RB, BECKER S, PEREZ R, MCDONNELL WF : Time-dependent changes of markers associated with inflammation in the lungs of humans exposed to ambient levels of ozone. *Toxicol Pathol* 1991;19(4)part 1:406-11.
48. DEVLIN RB, MCDONNELL WF, BECKER S, MADDEN MC, MCGEE MP, PEREZ R, HATCH G, HOUSE DE, KOREN HS : Time-dependant changes of inflammatory mediators in the lungs of humans exposed to 0.4 ppm ozone for 2 hr: a comparison of mediators found in bronchoalveolar lavage fluid 1 and 18 hr after exposure. *Toxicol Appl Pharmacol* 1996;138:176-85.
49. LUM H, TYLER WS, HYDE DM, PLOPPER CG : Morphometry of in situ and lavaged pulmonary alveolar macrophages from control and ozone-exposed rats. *Exp Lung Res* 1983;5:61-78.
50. WITZ, G, AMORUSO MA, GOLDSTEIN BD : Effect of ozone on alveolar macrophage function: membrane dynamic properties. *Advan Mod Environ Toxicol* 1983;5:263-72.
51. DORMANS JAMA, ROMBOUT PJA, VAN LOVEREN H : Surface morphology and morphometry of rat alveolar macrophages after ozone exposure. *J Toxicol Environ Health* 1990;31:53-70.
52. COFFIN DL, GARDNER MS, HOLZMAN RS, WOLOCK FJ : Influence of ozone on pulmonary cells. *Arch Environ Health* 1968;16:633-6.
53. GOLDSTEIN E, BARTLEMA HC, VAN DER PLOEG M, VAN DUIJN P, VAN DER STAP JGMM, LIPPERT W : Effect of ozone on lysosomal enzymes of alveolar macrophages engaged in phagocytosis and killing of inhaled *Staphylococcus aureus*. *J Infec Dis* 1978;138(3):299-311.
54. SCHLESINGER RB, ZELIKOFF JT, CHI CHEN L, KINNEY PL : Assessment of toxicologic interactions resulting from acute inhalation exposure to sulfuric acid and ozone mixtures. *Toxicol Appl Pharmacol* 1992;115:183-90.
55. DRISCOLL KE, VOLLMUTH TA, SCHLESINGER RB : Acute and subchronic ozone inhalation in the rabbit: response of alveolar macrophages. *J Toxicol Environ Health* 1987;21:27-43.
56. CHRISTMAN CA, SCHWARTZ LW : Enhanced phagocytosis by alveolar macrophages induced by short-term ozone insult. *Environ Res* 1982;28:241-50.

57. OOSTING RS, VAN GOLDE LMG, VERHOEF J, VAN BREE L : Species differences in impairment and recovery of alveolar macrophages functions following single and repeated ozone exposures. *Toxicol Appl Pharmacol* 1991;110:170-8.
58. CANNING BJ, HMIELESKI RR, SPANNHAWKE EW, JAKAB GJ : Ozone reduces murine alveolar and peritoneal macrophage phagocytosis: the role of prostanoids. *Am J Physiol* 1991;261:L277-82.
59. WENZEL DG, MORGAN DL : *In vitro* inhibition of alveolar macrophage phagocytosis by ozone: absence of a role for serum or mode of ozone administration. *Toxicol Lett* 1983;18:57-61.
60. VALENTINE R : An *in vitro* system for exposure of lung cells to gases: effects of ozone on rat macrophages. *J Toxicol Environ Health* 1985;16:115-26.
61. BECKER S, MADDEN MC, NEWMAN SL, DEVLIN RB, KOREN HS : Modulation of human alveolar macrophage properties by ozone exposure *in vitro*. *Toxicol Appl Pharmacol* 1991;110:403-15.
62. CHI CHEN L, QU Q, AMDUR MO, SCHLESINGER RB : Alteration of pulmonary macrophage intracellular pH following inhalation exposure to sulfuric acid/ozone mixtures. *Exp Lung Res* 1995;21:113-28.
63. HURST DJ, GARDNER DE, COFFIN DL : Effect of ozone on acid hydrolases of the pulmonary alveolar macrophage. *J Reticuloendothelial Soc* 1970;8:288-300.
64. ZELIKOFF JT, PARSONS E, SISCO M, THOMAS D, YANG ZJ, SCHLESINGER RB : Inhaled air pollutants disrupt macrophage-mediated immunity in the lung. *Toxicologist* 1992;12:46.
65. SCHLESINGER RB, EL-FAWAL HAN., ZELIKOFF JT, GORCZYNSKI JE, MCGOVERN T, NADZIEJKO CE, CHI CHEN L : Pulmonary effects of repeated episodic exposures to nitric acid vapor alone and in combination with ozone. *Inhal Toxicol* 1994;6:21-41.
66. SHERWOOD RL, LIPPERT WE, GOLDSTEIN E : Effect of 0.64 ppm ozone on alveolar macrophage lysozyme levels in rats with chronic pulmonary bacterial infection. *Environ Res* 1986;41:378-87.
67. KIMURA A, GOLSTEIN E : Effect of ozone on concentrations of lysozyme in phagocytizing alveolar macrophages. *J Infec Dis* 1981;143(2):247-51.
68. SHINGU H, SUGIYAMA M, WATANABE M, NAKAJIMA T : Effects of ozone and photochemical oxidants on interferon production by rabbit alveolar macrophages. *Bull Environm Contam Toxicol* 1980;24:433-8.
69. IBRAHIM AL, CHUNG ZEE Y, OSEBOLD JW : The effects of ozone on the respiratory epithelium and alveolar macrophages of mice. I. Interferon production. *Proc Soc Exp Biol Med* 1976;152:483-8.
70. PENDINO KJ, SHULER RL, LASKIN JD, LASKIN DL : Enhanced production of interleukin-1, tumor necrosis factor- α and fibronectin by rat lung phagocytes following inhalation of a pulmonary irritant. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994;11:279-86.
71. ARSALANE K, GOSSET P, VANHEE D, VOISIN C, HAMID Q, TONNEL AB, WALLAERT B : Ozone stimulates synthesis of inflammatory cytokines by alveolar macrophages *in vitro*. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995;13:60-8.
72. DRISCOLL KE, SCHLESINGER RB : Alveolar macrophage-stimulated neutrophil and monocyte migration : effects of *in vitro* ozone exposure. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988;93:312-8.
73. MOSBACH M, WIENER-SCHMUCK M, SEIDEL A : Influence of surfactant on cytokine release from ozone-exposed human and bovine alveolar macrophages *in vitro*. *Inhal Toxicol* 1996;8:771-81.
74. OSEBOLD JW, OWENS SL, CHUNG ZEE Y, DOTSON WM, LABARRE DD : Immunological alterations in the lungs of mice following ozone exposure: changes in immunoglobulin levels and antibody-containing cells. *Arch Environ Health* 1979;July/August:258-65.
75. PETERSON ML, SMIALOWICZ R, HARDER S, KETCHAM B, HOUSE D : The effect of controlled ozone exposure on human lymphocyte function. *Environ Res* 1981;24:299-308.

76. ORLANDO GS, HOUSE D, DANIEL EG, KOREN HS, BECKER S : Effect of ozone on T-cell proliferation and serum levels of beta-endorphin in exercising males. *Inhal Toxicol* 1988;1:53-63.
77. BECKER S, JORDAN RL, ORLANDO GS : *In vitro* ozone exposure inhibits mitogen-induced lymphocyte proliferation and IL-2 production. *J Toxicol Environ Health* 1989;26:469-83.
78. ESKEW ML, SCHEUCHENZUBER WJ, SCHOLZ RW, REDDY CC, ZARKOWER A : The effects of ozone inhalation on the immunological response of selenium-and vitamin E-deprived rats. *Environ Res* 1986;40:274-84.
79. BECKER S, QUAY J, KOREN HS : Effect of ozone on immunoglobulin production by human B cells *in vitro*. *J Toxicol Environ Health* 1991;34(3):353-66.
80. VAN LOVEREN H, KRAJNC EI, ROMBOUT PJA, BLOMMAERT FA, VOS JG : Effects of ozone, hexachlorobenzene, and bis(tri-*n*-butyltin)oxide on natural killer activity in the rat lung. *Toxicol Appl Pharmacol* 1990;102:21-33.
81. BURLESON GR, KEYES LL, STUTZMAN JD : Immunosuppression of pulmonary natural killer activity by exposure to ozone. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1989;11(4):715-35.
82. HARDER DH, HARRIS DT, HOUSE D, KOREN HS : Inhibition of human natural killer cell activity following *in vitro* exposure to ozone. *Inhal Toxicol* 1990;2:161-73.
83. FUJIMAKI H. : Impairment of humoral immune responses in mice exposed to nitrogen dioxide and ozone mixtures. *Environ Res* 1989;48:211-7.
84. VAN LOVEREN H, STEERENBERG PA, GARSSEN J, VAN BREE L : Interaction of environmental chemicals with respiratory sensitization. *Toxicol Lett* 1996;86:163-7.
85. HAZBUN ME, HAMILTON R, HOLIAN A, ESCHENBACHER WL : Ozone-induced increases in substance P and 8-epi-prostaglandin F_{2α} in the airways of human subjects. *Amer J Respir Cell Molec Biol* 1993;9:568-72.
86. PETERSON ML, HARDER S, RUMMO N, HOUSE D : Effect of ozone on leukocytes function in exposed human subjects. *Environ Res* 1978;15:485-93.
87. WEIDEMAN PA, SCHLESINGER RB : Effect on *in vitro* exposure to ozone on eicosanoid metabolism and phagocytic activity of human and rabbit neutrophils. *Inhal Toxicol* 1994;6:43-55.
88. SPANNHAKE E W : Down regulation of canine airway mast cell function following exposure to ozone *in vivo*. *Exp Lung Res* 1996;22:163-78.
89. PEDEN DB, DAILEY L : Modulation of mast cell functions by *in vitro* exposure. *Am J Physiol* 1995;268:L902-10.
90. HATCH GE, SLADE R, STEAD AG, GRAHAM JA : Species comparison of acute inhalation toxicity of ozone and phosgene. *J Toxicol Environ Health* 1986;19:43-53.
91. DUAN X, BUCKPITT AR, PINKERTON KE, JI C, PLOPPER CG : Ozone-induced alterations in glutathione in lung subcompartments of rats and monkeys. *Amer J Respir Cell Molec Biol* 1996;14:70-5.
92. PINO MV, HYDE DM, STOVALL MY : Strain differences in the response of the rat lung to an acute ozone exposure. *Am Rev Respir Dis* 1991;143(4-2):A91.
93. WATKINSON WP, HIGHFILL JW, SLADE R, HATCH GE : Ozone toxicity in the mouse: comparison and modeling of responses in susceptible and resistant strains. *J Appl Physiol* 1996;80(6):2134-42.
94. KRAFT K, MADDEN M, HATCH G, COSTA D, DEVLIN RB : Inflammatory effects of ozone exposure in juvenile rats of three strains. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151(4)part 2:A501.
95. DORMANS JAMA, BOERE AJF, VAN LOVEREN H, ROMBOUT PJA, MARRA M, VAN BREE L : Age-related toxicity in rat lungs following acute and repeated ozone exposure. *Inhal Toxicol* 1996;8:903-25.

96. VINCENT R, VU D, HATCH G, POON R, DREHER K, GUÉNETTE J, BJARNASON S, POTVIN M, NORWOOD J, MCMULLEN E : Sensitivity of lung of aging Fischer 344 rats to ozone: assessment by bronchoalveolar lavage. *Am J Physiol* 1996;271:L555-65.
97. WATKINSON WP, LYON JY, MCKEE JL, NORWOOD J, DOERFLER DL, HATCH GE, COSTA DL : Dosimetric, physiological, and biochemical effects of ozone exposure during treadmill exercise and CO₂-stimulated ventilation in the rat. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151(4)part 2:A496.
98. GUNNISON AF, HATCH GE, CRISSMAN K, BOWERS A : Comparative sensitivity of lactating and virgin female rats to ozone-induced pulmonary inflammation. *Inhal Toxicol* 1996;8:607-23.
99. MCKITTRICK T, ADAMS WC : Pulmonary function response to equivalent doses of ozone consequent to intermittent and continuous exercise. *Arch Environ Health* 1995;50(2):153-8.
100. WIESTER MJ, WATKINSON WP, COSTA DL, CRISSMAN KM, RICHARDS JH, WINSETT DW, HIGHFILL JW : Ozone toxicity in the rat. III. Effect of changes in ambient temperature on pulmonary parameters. *J Appl Physiol* 1996;81(4):1691-700.
101. VAN BREE L, MARRA M, ROMBOUT PJA : Differences in pulmonary biochemical and inflammatory responses of rats and guinea pigs resulting from daytime or nighttime, single and repeated exposure to ozone. *Toxicol Appl Pharmacol* 1992;116:209-16.
102. UMEZU T, MIURA T, TSUBONE H : Development of tolerance against ozone effects on drinking and eating behaviors in rats by intermittent exposures. *Inhal Toxicol* 1994;6:289-302.
103. LARKIN EC, RAO GA : Reduced growth in rats exposed to ozone as compared to pair-fed controls breathing air. *IRCS Med Sci* 1984;12:741-2.

Tableau I - Effets de l'ozone sur la phagocytose des macrophages alvéolaires.

(GRM : globules rouges de mouton ; Staph. : *Staphylococcus aureus* ; Str. : *Streptococcus zooepidemicus*)

Modèle expérimental	Exposition	Type de particule	Opsonisation	Phagocytose	Références
In vivo					
Lapin	0,3-9,5 ppm / 3h	<i>Str. spe.</i>		↘	[52]
Rat	2,5 ppm / 5h	<i>Staph.</i>		↘	[53]
Souris	0,4 ; 0,8 ppm / 3h	<i>Str.</i>		↘	[19]
Ex vivo					
Lapin	0,1 ; 0,3 ; 0,6 ppm / 3h	Billes de latex	+	↘	[54]
	0,1 ppm / 2h	Billes de latex	-	↘ ¹	[55]
Rat	0,8 ppm / 3, 7, 20j	Billes de latex	+	↗	[56]
	0,13-0,75 ppm / 1sem	<i>Listeria</i>	-	↘	[23]
	0,4 ppm / 1, 3, 7j	GRM	+	↗ ¹	[57]
Souris	0,5 ppm / 1-14j	GRM	+	↘ ¹	[20, 58]
	0,4 ppm / 1, 3, 7j	GRM	+	↘	[57]
Homme	0,4 ppm / 2h	<i>Candida</i>	+ et -	↘	[48]
In vitro					
Rat	0,74-4,48 ppm / 1h	Billes de latex	-	↘	[59]
	0,2-6,1 ppm / 2h	Billes de latex	-	↘	[60]
Homme	0,18 ; 0,5 ; 1 ppm / 4h	GRM	+	↘	[61]

¹ Effet transitoire

Tableau II - Effets de l'ozone sur les constituants intracellulaires bactéricides des macrophages alvéolaires (MA).

(β-gluc : β-glucuronidase ; Lys : lysozyme ; PA : phosphatase acide ; pHi : pH intracellulaire)

Modèle expérimental Exposition	pHi	Hydrolases			O ₂ ^{-•}	Références
		Lys	PA	β-gluc		
Lapin 0,1 ; 0,3 ; 0,6 ppm / 3h 0,25-7 ppm / 3h 0,3 ppm / 4j 0,15 ppm / 4 sem	↘	↘ ¹	↘ ¹	↘ ¹	→	[62]
					→	[63]
						[64]
						[65]
Rat 0,64 ppm / 4 sem ² 2,5 ppm / 5h	↘ ³	↘ ³	↘ ³	↘ ³		[66]
						[53, 67]
MA humains 1 ppm / 2h (<i>in vitro</i>)					→ ⁴ ↘ ⁵	[61]

--	--	--	--	--	--	--

¹ Effet transitoire

² Rats infectés ou non par *Pseudomonas aeruginosa* 10 jours avant

³ Uniquement chez les macrophages ayant phagocyté *Staphylococcus aureus*

⁴ Spontané

⁵ Induit par l'ester de phorbol

Tableau III - Effets de l'ozone sur l'activité sécrétrice des macrophages alvéolaires (MA).

(FCL : Facteurs Chimiotactiques pour les Leucocytes ; IFN : Interféron ; IL : Interleukine ; PGE2 : Prostaglandine E2 ; TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α)

Modèle expérimental Exposition	IFN	TNF- α	IL-1	IL-6	IL-8	PGE2	FCL	Références
Lapin 1 ; 5 ppm / 3h 0,3 ppm / 4j	↘	↘ ¹						[68] [64]
Souris 0,8 ppm / 14, 21j	→							[69]
Rat 2 ppm / 3h		↗	↗					[70]
MA humains (in vitro) 0,1 ; 0,4 ; 1 ppm / 1h 1 ppm / 2-4h 0,1 ; 0,3 ; 1 ppm / 2h 1,2 ppm / 2h		↗ →	↗ →	↗ →	↗	↗	↗	[71] [61] [61] [72]
MA cobaye (in vitro) 0,1 ; 0,4 ; 1 ppm / 1h		↗	↗					[71]
MA bovins (in vitro) 0.25-1 ppm 2 ou 4h		↗					↗	[73]

¹Après stimulation par le LPS

Tableau IV – Réponses prolifératives lymphocytaires non spécifiques en réponse à l'ozone.

(ConA : concanavaline A ; GLM : ganglion lymphatique médiastinal ; LPS : lipopolysaccharide ; PHA : phytohémataglutinine ; PWM : mitogène de Pokeweed)

Espèce Origine des lympho.	Exposition	Mitogène	Prolifération	Références
Homme				
Sang	0,6 ppm / 2h	ConA, PWM	→	[75]
"	"	PHA	↘ ¹	
Sang	0,12 ; 0,4 ppm / 2h	PHA	↘ ²	[76]
Sang	1 ppm / 4-6h (<i>in vitro</i>)	ConA, PHA, PWM	↘	[77]
Rat				
Rate	1 ppm / 7j	ConA, PHA, LPS	↗	[78]
"	2 ppm 4j / air / 2 ppm 1j profil urbain / 1-78 sem	"	→	
Rate	"	ConA, PHA	→	[42]
Souris				
GLM	0,7 ppm / 28j	ConA	↗ ³	[40]
Rate et GLM	0,8 ppm / 1-14j	PHA	↘ ⁴	[36]
Rate	0,1 ppm / 103j	ConA, PHA	↘	[21]
"	"	LPS	→	

¹ Deux et quatre semaines après l'exposition

² 24 et 72 heures après l'exposition

³ Prolifération au 14^{ème} et 28^{ème} jour d'exposition seulement

⁴ Au premier jour d'exposition seulement

Tableau V - Effets de l'ozone sur l'activité NK.

Origine Espèce	Exposition	Activité NK	Références
Poumon			
Rat	1 ppm / 1, 5, 7, 10j	↘ ¹	[81]
"	0,8 ppm / 7j	↘	[80]
"	0,2 ; 0,4 ppm / 7j	↗	
Rate			
Souris	0,8 ppm / 1, 3, 7, 14j	↘ ¹	[36]
Rat	Profil urbain / 1-78 sem	→	[42]
Sang			
Homme	0,18 ; 0,5 ; 1 ppm / 6h (<i>in vitro</i>)	↘ ¹	[82]

¹ Effet transitoire

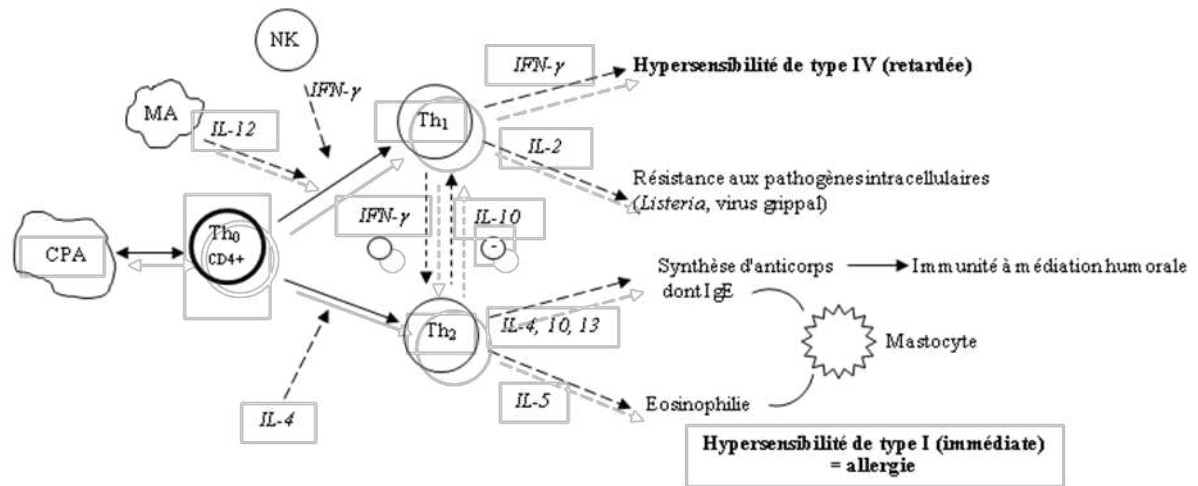


Figure 1 - Développement de la réponse immunitaire suite à l'inhalation d'un constituant étranger (allergène, microorganisme)
 (CPA : Cellule Présentant l'Antigène, IFN-γ : Interferon-γ ; IL : Interleukine ; MA : Macrophage Alvéolaire, NK : cellule à activité Natural Killer ; Th : lymphocyte T helper)