

# Basisgegevens RIV(M) Rapport

Kenmerken:

Afdeling:  Jaar:

PIVOT:

Omvang:  Appendix:

Titel:

**Literatuuronderzoek naar de gevolgen  
van acute blootstelling aan stikstofdioxide**

Auteurs:

**Meulenbelt**

34880<sup>2</sup>004

~~NVIC Doc. nr. 4~~

LITERATUURONDERZOEK NAAR DE GEVOLGEN VAN ACUTE  
BLOOTSTELLING AAN STIKSTOFDIOXIDE

J. Meulenbelt

januari 1987

RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEUHYGIENE  
BILTHOVEN

NVIC Doc. nr. 4

LITERATUURONDERZOEK NAAR DE GEVOLGEN VAN ACUTE  
BLOOTSTELLING AAN STIKSTOFDIOXIDE

J. Meulenbelt

januari 1987

Dit literatuuronderzoek werd uitgevoerd in opdracht en ten laste van het Directoraat-Generaal van de Arbeid in het kader van het projekt inhoudelijke gezondheidskundige ondersteuning vanuit het Nationaal Vergiftingen Informatie Centrum

Verzendlijst

- 1 - 5 Directeur Generaal van het Directoraat-Generaal van  
de Arbeid
- 6 Directeur Gezondheid van het Directoraat-Generaal van  
de Arbeid
- 7 Hoofd van de afdeling Toxische stoffen van de Directie  
Gezondheid
- 8 Hoofd van de Afdeling Arbeidgezondheidskunde van de  
Directie Gezondheid
- 9 Hoofdinspecteur Directeur van de Arbeid van de  
Arbeidsinspectie
- 10 - 19 Geneeskundig Inspecteur van de Arbeid
- 20 Coördinator Bestrijdingsmiddelenbeleid, Dr. C.L. Maas
- 21 Directie Rijksinstituut voor Volksgezondheid en  
Milieuhygiëne
- 22 Adviescentrum Toxicologie
- 23 Dr. J.G. Vos
- 24 Ir. P.J.A. Rombout / Drs. L. van Bree
- 25 Afdeling documentatie van het Nationaal Vergiftigen  
Informatie Centrum
- 26 - 27 Projecten- en Rapportenregistratie
- 28 Auteur

28 - 35 Reserve

<u>Inhoud</u>	<u>pagina</u>
1. Inleiding	4
2. Fysische- en chemische eigenschappen van stikstofdioxide	4
3. Bronnen van stikstofdioxide	4
4. Waarnemingen bij dieren	5
5. Samenvatting van de waarnemingen bij dieren na expositie aan NO <sub>2</sub>	46
6. Overzicht van publicaties betreffende waarnemingen bij dieren na expositie aan NO <sub>2</sub>	50
7. Casuïstiek bij de mens	52
8. Samenvatting van de waarnemingen bij mensen na expositie aan NO <sub>2</sub>	67
9. Overzicht van publicaties betreffende waarnemingen bij mensen na expositie aan NO <sub>2</sub>	69
10. Kinetiek	71
11. Pathofysiologie	71
12. Klinische symptomatologie bij de mens	72
13. Therapie	72
14. Literatuur	75

LITERATUURONDERZOEK NAAR DE GEVOLGEN VAN ACUTE BLOOTSTELLING AAN  
STIKSTOFDIOXIDE

Inleiding

In de arbeidssituatie komt blootstelling aan stikstofdioxide regelmatig voor. Bij verschillende produktieprocessen vormt het vrijkomen van stikstofdioxide een potentieel gevaar.

Daar tot nu toe onvoldoende bekend is welke pathofysiologische mechanismen een rol spelen na acute inhalatie van hoge concentraties stikstofdioxide is het noodzakelijk dat hier nader onderzoek naar verricht wordt.

Om te komen tot een verantwoord projektvoorstel werd een literatuuronderzoek verricht. Eerst zullen de fysisch- en chemische eigenschappen en bronnen van stikstofdioxide worden besproken. Vervolgens zullen de waarnemingen bij dieren en daarna de waarnemingen bij mensen worden behandeld.

Fysische- en chemische eigenschappen van stikstofdioxide (NO<sub>2</sub>)

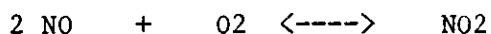
Stikstofdioxide heeft in gasvorm een bruine en in vloeibare vorm een gele kleur.

molekuulgewicht	46.01 Dalton
dichtheid	1.58 (lucht=1)
smeltpunt	-11.2 graden C
kookpunt	+21.2 graden C
oplosbaarheid in water	matig
1ppm	1.88 mg/m <sup>3</sup>
1 mg/m <sup>3</sup>	0.532 ppm
MAC	5 ppm

Bronnen van stikstofdioxide

Stikstofdioxide wordt door sommige bacteriën gevormd. Verder ontstaat NO<sub>2</sub> bij vulcanische activiteit en bij elektrische ontladingen tijdens onweer. Indien bronnen afkomstig van menselijk ingrijpen buiten beschouwing worden gelaten, dan zou de concentratie van NO<sub>2</sub> in lucht ongeveer 0.0002 tot 0.005 ppm zijn.

De hoofdbron van stikstofdioxide is verbranding van fossiele brandstoffen. Bij hoge verbrandingstemperaturen ziet men in het algemeen meer NO<sub>2</sub> produktie. Indien de temperaturen boven de 1000 graden C stijgen kan in lucht NO<sub>2</sub> ontstaan omdat de volgende reacties spontaan kunnen plaatsvinden:



Bij fermentatie in pas gevulde graansilo's kunnen zeer hoge (200 - 4000 ppm) concentraties aan NO<sub>2</sub> ontstaan. Bij het elektrisch lassen en in mindere mate bij lassen met gassen komt NO<sub>2</sub> vrij. Verder komt NO<sub>2</sub> vrij bij de fabricage van kunstmest, explosieven, kleurstoffen, vernissen en celluloid. Detonatie van explosieven gaat gepaard met het vrijkomen van NO<sub>2</sub>. In bedrijven waar men metalen in salpeter- of salpeterigzuur doopt, alsook in bedrijven waar men katoen of cellulose nitreert, komt NO<sub>2</sub> vrij.

Stikstofdioxide wordt onder meer gebruikt bij het nitreren van benzeen, anthraceen en naftaleen. Het wordt vanzelfsprekend ook gebruikt bij de produktie van salpeter- en salpeterigzuur. Stikstofdioxide werd gebruikt als component van de brandstof die ter voortstuwing van raketten dient.

#### Waarnemingen bij dieren.

Carson (1962) stelde ratten, konijnen en honden gedurende korte tijden bloot aan hoge concentraties NO<sub>2</sub> om de LC<sub>50</sub> vast te stellen. De NO<sub>2</sub> kwam uit een cilinder en werd via een 1000 ml expansievat en een siliconenolie bevattende manometer, in een expositiekamer geleid met een inhoud van 400 liter. De NO<sub>2</sub> cilinder (gekocht bij The Matheson Company, Inc., E. Rutherford, N.J.), het expansie vat en de manometer werden op een constante temperatuur gehouden van 31<sup>o</sup> C. In het artikel werd niet vermeld hoe de lucht in de expositiekamer werd ververst. De monsters afgenomen uit de expositiekamer, werden gekoeld en daarna werd hieraan het absorberend reagens toegevoegd. De monsters werden colorimetrisch geanalyseerd volgens de methode beschreven door Saltzman (1954). Eén monster werd voor de expositie afgenomen en nog één



vijf minuten nadat de expositie was begonnen. Tijdens de exposities die langer duurden werden twee tot drie monsters afgenomen. Er was slechts een minimaal verschil in concentratie tussen de verschillende monsters afgenomen tijdens een expositie. De concentraties werden uitgedrukt in ppm NO<sub>2</sub>.

De ratten werden in groepen van tien verdeeld en vervolgens gedurende respectievelijk 5, 15, 30 of 60 minuten aan NO<sub>2</sub> blootgesteld. De concentratie NO<sub>2</sub> waaraan de dieren per groep werden blootgesteld verschilde telkens. Hierna werd de LC<sub>50</sub> vastgesteld volgens de methode van Bliss (Finney 1952). De dieren die deze initiële procedure overleefden, werden gewogen en gedurende 21 dagen na de expositie geobserveerd.

De konijnen werden in groepen van vijf verdeeld en gedurende 15 minuten per groep aan NO<sub>2</sub> blootgesteld. De concentratie NO<sub>2</sub> per groep verschilde telkens. Vervolgens werd bij deze dieren de LC<sub>50</sub> bepaald (zie onderstaande tabel). De dieren die deze procedure hadden overleefd werden eveneens gewogen. Na 21, 42 en 90 dagen volgend op de expositie aan NO<sub>2</sub> werden de dieren pathologisch-anatomisch onderzocht. Beide diersoorten verloren 10 - 15 % van hun lichaamsgewicht in de eerste twee dagen na de expositie.

LC<sub>50</sub> waarden voor dieren blootgesteld aan NO<sub>2</sub>

expositie tijd in minuten	LC <sub>50</sub> (ppm)	dier- soort
5	416	rat
15	201	rat
15	315	konijn
30	162	rat
60	115	rat

Ratten werden ingedeeld in groepen van dertig en werden vervolgens blootgesteld aan NO<sub>2</sub> gedurende respectievelijk 5, 15 of 60 minuten om de concentratie vast te stellen waarbij geen of vrijwel geen effecten waarneembaar waren. De ratten werden aan een concentratie blootgesteld

die respectievelijk 50%, 25% of 15% van de berekende LC50 bedroeg. De ratten werden hierna verdeeld in groepen van vijf en vervolgens 4, 24 of 48 uren, of 7, 21 of 42 dagen na de expositie opgeofferd voor onderzoek. Bij de ratten die eenmalig gedurende respectievelijk 5, 15 of 60 minuten aan respectievelijk 190, 90 of 72 ppm waren blootgesteld, werden ernstige "respiratory distress" en slijmvlies irritatie van de ogen gezien. Van de dieren die aan NO<sub>2</sub> waren blootgesteld, was het longgewicht (door oedeem in de longen) in verhouding tot het lichaamsgewicht, t.o.v. de controle dieren in de eerste 48 uren significant toegenomen. Op de zevende dag was het longgewicht in beide groepen weer vergelijkbaar.

Honden (in groepen van twee), die op dezelfde wijze als de ratten waren blootgesteld, hadden slechts geringe "respiratory distress" maar deze verschijnselen waren na 60 minuten voorbij. De honden hoestten de eerste twee dagen na de expositie en hadden geïrriteerde ogen.

Ratten, die aan respectievelijk 104 of 65 ppm NO<sub>2</sub> gedurende 5 of 15 minuten werden blootgesteld, hadden alleen tijdens de expositie ademhalingsproblemen, maar de ademhaling was na een uur al weer normaal. Het longgewicht was ten opzichte van de controle groep significant toegenomen. De ratten die gedurende respectievelijk 5 of 15 minuten aan respectievelijk 74 of 33 ppm NO<sub>2</sub> waren blootgesteld hadden geen pathologische verschijnselen.

Bij het pathologisch onderzoek van de longen van de ratten, die aan NO<sub>2</sub> concentraties van 115-416 ppm hadden blootgestaan, viel op dat sommige delen van de longen donkerder van kleur waren (de oorzaak werd door de auteurs niet vermeld). Tevens bevatten de longen van de ratten, die het experiment hadden overleefd en later werden onderzocht macroscopisch diffuus purulente noduli. De konijnen blootgesteld aan een concentratie van 315 ppm hadden alleen donker gekleurde gebieden. Waaruit deze gebieden bestonden werd niet besproken.

Bij het microscopisch onderzoek van de ratten, 7 en 21 dagen na de expositie, werd in de longen focaal opeenhoping van intra-alveolaire macrofagen gezien. Tevens was er enige proliferatie van het alveolaire epitheel en ontstekingscellen. Na 42 en 90 dagen werden geen specifieke laesies meer teruggevonden.

De ratten die aan concentraties blootstonden die de helft waren van de tevoren bepaalde LC50, hadden 48 uren na de expositie bij het microscopisch onderzoek longoedeem. Het microscopisch onderzoek werd bemoeilijkt door "murine pneumonitis" die ernstiger was naarmate er meer tijd verstreken was na de expositie. De honden blootgesteld zoals boven genoemd hadden geen afwijkingen die aan de NO2 expositie konden worden toegeschreven.

Samenvatting:

Carson et al stelden (1962) ratten en konijnen bloot aan hoge concentraties NO2 om de LC50 te kunnen vaststellen.

LC 50 waarden voor dieren blootgesteld aan NO2

expositieduur in minuten	LC50(ppm)	diersoort
5	416	rat
15	201	rat
15	315	konijn
30	162	rat
60	115	rat

Verder werden ratten en een klein aantal honden aan lagere concentraties NO2 blootgesteld. Gezien het geringe aantal honden moeten de resultaten voorzichtig geïnterpreteerd worden. De ratten die aan NO2 waren blootgesteld, hadden longoedeem waarvan de ernst dosis afhankelijk was. Verder hadden deze dieren chronische "murine pneumonitis" en toename van de intra-alveolaire macrofagen en proliferatie van het alveolaire epitheel.

Kleinerman en Cowdrey (1968) stelden hamsters bloot aan 45 tot 55 ppm NO2 gedurende 21 tot 23 uren per dag en dat tijdens een periode van tien weken. De expositiekamer bestond uit een "lucite box" van 30"x 24"x 24" met een taps toelopende mengkamer. De stikstofdioxide kwam uit een tank en werd met ongefiltreerde kamerlucht vermengd en vervolgens via de expositiekamer naar buiten geleid. In de kamer werd de druk continu -2cm H2O t.o.v. de barometerdruk gehouden. De luchtstroom werd met 200 l/min. door de kamers geleid. De luchtstroom was voldoende om binnen 1 1/2 min. het luchtvolume in de kamer te wisselen. De NO2 werd continu gemeten met behulp van een Mastmeter en vastgelegd m.b.v een Honeywell-Brown 2,5 millivolt recorder. De

Mastmeter werd gecalibreerd m.b.v. chemische analyse volgens de Saltzman methode. De calibratie werd 4 tot 6 keren daags uitgevoerd. De temperatuur en de relatieve vochtigheid werden eveneens continu gemeten. De controle dieren ondergingen dezelfde behandeling, echter zonder dat zij NO<sub>2</sub> te inhaleren kregen.

Ongeveer één tot twee uren per dag werden de dieren uit de expositiekamers gehaald om ze te verschonen en te voeden. Deze dieren hadden de gehele dag de mogelijkheid water te drinken en van de "chow pallets" te eten. In totaal werden 48 hamsters op de beschreven wijze blootgesteld. De controle groep bestond uit 24 hamsters. Aanvankelijk was het de bedoeling na één week 6 blootgestelde hamsters en 4 controle dieren en aan het eind van de tien weken 10 dieren van de blootgestelde groep en 10 dieren van de controle groep te onderzoeken. De overige dieren, van beide groepen, zouden na vier weken, zonder dat zij verder aan NO<sub>2</sub> blootgesteld werden, onderzocht worden.

Echter op de eerste expositiedag bleken 7 dieren en op de tweede dag 6 dieren te zijn overleden. Zes dieren werden na een week onderzocht. Twee dieren gingen dood tijdens de acht weken durende observatieperiode. De hamsters hadden tijdens de eerste weken van de expositie een snelle ademhaling, maar in de weken erna was de ademhalingsfrequentie weer normaal (de auteurs vermeldden niet of de dieren een snellere ademhaling hadden t.o.v. het begin van het experiment of t.o.v. de controle dieren). Tijdens de expositie aten en dronken de dieren vrijwel niet. Aan het begin van de blootstelling waren de dieren wat onrustig maar daarna gingen zij rustig in een hoek van hun kooi zitten. Na enkele weken waren de dieren erg prikkelbaar, hetgeen zich vooral tijdens de verzorging uitte in bijten en dergelijke.

Na tien weken expositie werden focaal ernstige toename van ontstekingscellen, hypertrofie en hyperplasie van epitheelcellen ter hoogte van de bronchioli terminales waargenomen. In de ducti alveolares werden veel ontstekingscellen (neutrofielen en macrofagen) gezien. De ontstekingscellen werden ook in het peribronchiale bindweefsel aangetroffen. Er was diffuus in geringe mate longoedeem ter plaatse van de alveolaire structuren. Hoewel de alveolaire ruimtes verwijd leken, was er geen destructie van alveolaire septa. De dieren die na een week onderzocht werden, toonden dezelfde afwijkingen in mindere mate.

De dieren die vier weken na het experiment onderzocht werden, hadden veel minder ontstekingsverschijnselen ter hoogte van de distale luchtwegen zoals eerder beschreven. Tevens waren er geen aanwijzingen voor weefselbeschadiging. Het longvolume (longvolume werd d.m.v. water verplaatsing gemeten nadat de longen gefixeerd waren) in de aan de NO<sub>2</sub> blootgestelde groep bleek direkt na de expositie significant toegenomen (n.l.  $4.21 \pm 0.89$  ml van de controle en  $5.48 \pm 0.26$  ml van de blootgestelde groep). Vier weken na de blootstelling was het longvolume nog steeds licht toegenomen (n.l.  $4.14 \pm 0.48$  van de controle en  $4.69 \pm 0.55$  van de blootgestelde groep), maar het longvolume was inmiddels aanzienlijk verminderd t.o.v. de dieren die direkt na tien weken waren geobduceerd. Aanwijzingen voor emfyseem hebben de schrijvers niet kunnen waarnemen.

#### Samenvatting:

Kleinerman en Cowdrey (1968) zagen bij hamsters na blootstelling aan 45 tot 55 ppm NO<sub>2</sub> vooral afwijkingen ter hoogte van de bronchioli terminales en de ducti alveolares. Tevens werd hypertrofie en hyperplasie van het epitheel in de bronchioli terminales en ontstekingscellen in het peribronchiale bindweefsel waargenomen. Ook waren ontstekingscellen in de alveolaire ruimtes aangetroffen. De afwijkingen leidden niet tot destructie van de alveolaire septa. Emfyseem hebben zij niet waargenomen. De alveolaire ruimtes die na expositie verwijd waren, namen na enige tijd weer hun oude vorm aan.

Thomas et al (1968) stelden 6 ratten gedurende 4 uren aan 1 ppm NO<sub>2</sub> bloot om te onderzoeken of na NO<sub>2</sub> inhalatie lipideperoxiden in het longweefsel ontstaan. De expositiekamer bestond uit roestvrijstaal en glas en had een inhoud van  $0.4 \text{ m}^3$ . Per uur werd de lucht in de expositiekamer 30 maal met een lamilaire flow ververst. De NO<sub>2</sub> voor de expositie werd verkregen uit een cilinder waarin de NO<sub>2</sub> concentratie 1500 ppm was. De NO<sub>2</sub> werd vermengd met buitenlucht. Hierna werd het mengsel in de expositiekamer geleid. De NO<sub>2</sub> concentratie werd continu gemeten met een instrument, dat werd gecalibreerd m.b.v. de methode volgens Saltzman. Hiervoor werden 3 tot 6 monsters tijdens elke expositie genomen. Gedurende de expositie werd de concentratie van de NO<sub>2</sub> tussen de 0.94 tot 1.25 ppm gehouden. De temperatuur in de expositiekamer varieerde tussen de  $26^{\circ}\text{C}$  en  $28^{\circ}\text{C}$ , en de relatieve vochtigheidsgraad

tussen de 39% en 48%. De CO concentratie varieerde tussen 1 en 10 ppm en de deeltjes concentratie tussen 46 - 115 ug/m<sup>3</sup>.

De controle dieren werden op dezelfde wijze behandeld, alleen werden zij aan buitenlucht blootgesteld. De NO<sub>2</sub> concentratie in de expositiekamer van de controledieren was minder dan 0.01 tot 0.08 ppm. Lipideperoxidatie werd aannemelijk gemaakt door het aantonen van een absorptiepiek van ultraviolet licht bij 230 - 235 mu door dieenverbindingen, die ontstaan bij peroxidatie van arachidonzuur, linolzuur of andere door methyl onderbroken onverzadigde vetzuren. Een tweede absorptie piek werd bij 260 - 280 mu waargenomen, die vermoedelijk werd veroorzaakt door vorming van keton- of aldehyde dieenverbindingen.

Zes uren nadat de ratten waren blootgesteld aan NO<sub>2</sub> kon men de bovengenoemde dieenverbindingen nog niet aantonen. Twaalf uren na de blootstelling werd een maximum bereikt in de absorptie van ultraviolet licht, dat tenminste tot en met 48 uren na de expositie aanhield. Om uit te sluiten dat de dieenverbindingen ontstaan bij het maken van de longextracten voor het onderzoek, werd direkt na het doden van de dieren gebutyleerd hydroxytolueen toegevoegd om de oxidatie van de lipiden tegen te gaan. Ook na de voorbehandeling met gebutyleerd hydroxytolueen werd een absorptiepiek bij 230 - 235 mu gevonden. Hieruit kan men opmaken dat de dieenverbindingen in vivo ontstaan.

Vervolgens werden 8 ratten gedurende 3 dagen met 10 mg vitamine E (dl -  $\alpha$  tocoferol) opgelost in plantaardige olieën gevoed. Hierna werden de ratten gedurende 6 dagen 4 uren per dag aan 1 ppm NO<sub>2</sub> blootgesteld. Vier ratten bleven vitamine E tijdens de expositie krijgen, en de overige ratten kregen tijdens de expositie alleen plantaardige olieën zonder vitamine E. Daarnaast was er nog een controle groep van 4 ratten die vanaf het begin van het experiment uitsluitend plantaardige olieën kreeg. Direkt na de expositie werden drie ratten uit elke groep onderzocht. De overige dieren werden 24 uren na de expositie onderzocht. Achteraf waren er geen spectrale verschillen aantoonbaar bij de dieren, die direkt na de expositie werden onderzocht en de dieren, die na 24 uren werden onderzocht. De lipiden in het longextract van de dieren die aan NO<sub>2</sub> waren blootgesteld en geen vitamine E hadden gekregen, bevatten meer diëenverbindingen dan de lipiden in het longextract van de dieren, die wel vitamine E hadden gekregen tijdens de expositie aan NO<sub>2</sub> of van de controle groep, die vanaf het begin van het experiment

alleen plantaardige olieën te eten had gekregen.

Samenvatting:

Thomas et al (1968) maakten aannemelijk dat na expositie aan 1 ppm NO<sub>2</sub> in de lipiden van het longweefsel dieenverbindingen ontstaan die een indicatie zijn voor lipideperoxidatie. Indien de dieren vitamine E kregen tijdens de expositie aan NO<sub>2</sub> werd de vorming van dieenverbindingen enigszins beperkt.

Evans et al (1975) stelden 14 ratten gedurende 48 uren bloot aan 15-17 ppm NO<sub>2</sub>. Hoe de blootstelling aan NO<sub>2</sub> precies plaatsvond werd door de auteurs in het artikel niet vermeld. Vervolgens werden delende cellen direkt na de blootstelling gemerkt door de dieren met 500 uCi aan thymidine gebonden tritium intraperitoneaal te injecteren. Eén uur en 1, 2, 3, 4, 7 en 14 dagen na de intraperitoneale injectie werden steeds twee dieren onderzocht.

Aantal gemerkte cellen in het alveolaire epitheel werd met behulp van een elektronenmicroscop bepaald. Elke regel geeft de gegevens van één dier weer.

Tijdsduur na inbrengen met tritium ge- merkt thymidine	totaal aantal gemerkte cellen	% gemerkte type II cellen	% gemerkte niet te de- termineren cellen	% gemerkte type I cellen
1 uur	54	88.9	11.1	0
	59	86.4	11.9	1.7
1 dag	63	57.0	39.8	3.2
	61	62.4	32.7	4.9
2 dagen	56	41.0	28.6	30.4
	31	51.7	12.9	35.5
3 dagen	41	65.6	9.9	24.5
	36	44.4	19.4	36.1
4 dagen	47	57.5	16.9	25.6
	42	57.2	11.8	31.0
7 dagen	42	52.5	14.1	33.4
	(11)**	(72.8)	(9.0)	(18.2)
14dagen	21	52.5	19.0	28.5
	31	61.4	9.7	29.1

\*\* Wegens te weinig gemerkte cellen verder buiten de interpretatie van de gegevens gelaten.

Aanvankelijk nam het percentage gemerkte type II cellen af, terwijl de gemerkte ongedefinieerde cellen procentueel in aantal toenamen. Vervolgens nam het percentage gemerkte type I cellen toe en werd het percentage niet te determineren cellen minder. De auteurs concluderen hieruit dat de type II cellen mogelijk overgaan in de niet te determineren



cel, die vervolgens weer overgaat in een type I cel. De niet goed te determineren cellen waren die cellen, die in het alveolaire epitheel niet als type I of type II cellen te onderscheiden waren. Deze cellen bevatten elektronen dense insluitsels. Zij komen ongeveer één dag voor. De type I cellen verschijnen na 2 tot 3 dagen en bevatten aanvankelijk elektronen dense insluitsels, die na de vierde dag verdwenen zijn, vanaf dat moment hebben zij het normale aspect van een type I cel. Daar het percentage gemerkte type II cellen aanvankelijk afneemt om daarna vanaf de eerste tot en met de veertiende dag constant te blijven, doet vermoeden dat na 24 uren de transformatie tot type I cel al in gang wordt gezet. Niet alle type II cellen ondergaan deze transformatie, zodat het aantal na NO<sub>2</sub> expositie licht verhoogd blijft.

Samenvatting:

Evans et al (1975) vonden sterke aanwijzingen dat type II cellen, die na blootstelling aan 15 - 17 ppm NO<sub>2</sub> tot celdeling waren overgegaan, zich na de celdeling via een intermediaire cel kunnen transformeren tot type I cel. Echter niet alle type II cellen ondergaan deze transformatie.

Evans et al (1978) stelden 22 ratten gedurende 24 uren bloot aan 15 - 17 ppm NO<sub>2</sub>. Hoe de dieren precies aan NO<sub>2</sub> werden blootgesteld werd door de auteurs in het artikel niet vermeld. Vervolgens werden de dieren met 5.0 uCi per gram lichaamsgewicht aan thymidine gebonden tritium intraperitoneaal ingespoten. Na de injectie werden de dieren vervolgens na 1 uur, 1 dag, of na 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10 en 14 dagen onderzocht. Voor lichtmicroscopisch onderzoek werden laagjes van 1 um gesneden en bedekt met een laagje Ilford L-4 emulsie. Deze emulsie werd 3 weken in situ gelaten en vervolgens ontwikkeld. Een cel werd gemerkt beschouwd indien vier of meer zilverkorrels per kern met de lichtmicroscop werden waargenomen. De tellingen werden uitgedrukt in het gemiddeld aantal korreltjes per cel.

Bij het tweede experiment werden 18 ratten na blootstelling aan 15 - 17 ppm NO<sub>2</sub> in groepen van 6 verdeeld. Hierna ondergingen alle dieren de bovengenoemde intraperitoneale injectie. Vervolgens kregen de ratten de gelegenheid te herstellen van deze blootstelling. Na 14 dagen werd een groep gedurende 12 uren opnieuw blootgesteld aan 15 - 17 ppm NO<sub>2</sub>

en een andere groep gedurende 24 uren. De overige dieren werden niet aan NO<sub>2</sub> blootgesteld. Alle dieren werden direkt na de tweede expositie onderzocht.

Evans onderscheidde met de elektronenmicroscoop vijf celtypen in het epitheel van de bronchioli:

- gecilieerde cellen herkenbaar aan de cilia
- "brush" cellen herkenbaar aan de microvilli
- Clara cellen met ovale granula en glad endoplasmatisch reticulum zonder cilia
- type A cellen, zonder ovale granula en meestal zonder glad endoplasmatisch reticulum
- type B cellen, met ovale granula en zonder glad endoplasmatisch reticulum

Aantal gemerkte cellen in het bronchiolaire epitheel (experiment I)

tijdsduur na de intrape- ritoneale injectie	aantal gemerk- te cel- len	% type A cellen	% type B cellen	% Clara cellen	% brush cellen	% gecilieer- de cellen
1 uur	31	80.5	13.0	6.5	0	0
	26	100.0	0	0	0	0
1 dag	49	61.2	30.5	6.0	0	1
	39	76.0	18.2	6.1	0	0
2 dagen	55	27.4	49.0	16.3	0	7.3
	47	46.8	21.6	19.1	0	12.3
3 dagen	66	34.8	27.3	25.8	0	12.1
	73	26.1	28.6	32.9	0	12.3
4 dagen	62	27.4	21.0	25.8	0	25.8
	82	18.3	30.4	34.2	0	17.1
5 dagen	59	10.2	32.2	33.9	1.7	22.0
	56	23.2	19.7	39.2	3.6	14.3
6 dagen	62	12.9	16.1	43.5	1.6	25.8
	59	6.8	22.0	57.6	0	13.6
7 dagen	37	8.2	13.5	54.0	0	24.3
	51	3.9	2.0	66.7	0	27.4
10 dagen	31	3.2	6.4	64.5	0	25.8
	20	15.0	15.0	45.0	0	25.0
14 dagen	65	7.8	6.2	69.5	1.4	15.4
	45	11.1	6.7	53.5	2.2	26.7

Eén uur na de injectie waren alle cellen, die gemerkt waren ongecilieerd, hiervan waren 90 % type A cellen en de overige type B of Clara cellen. Geen van de "brush" of gecilieerde cellen waren gemerkt zodat alle gemerkte cellen die na dit tijdstip werden aangetroffen, afkomstig waren uit de groep cellen, die reedsna één uur waren gemerkt. De type A cellen namen aanvankelijk in de eerste 7 dagen van 90 % af tot 6.1 %. Alle andere cellen namen (zie bovenstaande tabel) procentueel toe. De type B cellen stegen in 2 dagen van 6.5 % tot 35 % om vervolgens na 7 dagen te dalen tot 7.8 %. Gedurende deze periode steeg het aantal Clara cellen van 3.3 tot 60.4 %. Men zou hieruit kunnen opmaken dat Clara cellen uit de type A cellen ontstaan met type B cel als intermediair. De type A cellen worden na vorming van ovale granula type B cellen. De type B cellen gaan na vorming van glad endoplasmatisch reticulum over in Clara cellen. De type A cellen zijn normaal gering in aantal, echter na expositie aan NO<sub>2</sub> neemt het aantal flink toe.

Resultaten experiment II. Aantal gemerkte cellen in het bronchiolaire epitheel na reëxpositie aan NO<sub>2</sub>.

tijds- duur	aantal gemerk- te cel- len	% type A cellen	% type B cellen	% Clara cellen	"brush" cellen	gecili- eerde cellen
-	43 <sub>+6</sub>	13.5 <sub>+5.0</sub>	8.2 <sub>+1.9</sub>	57.0 <sub>+8.6</sub>	0.6 <sub>+0.9</sub>	20.8 <sub>+5.9</sub>
12 uur	33 <sub>+4</sub>	42.1 <sub>+7.5</sub>	7.4 <sub>+4.2</sub>	27.7 <sub>+9.0</sub>	0.7 <sub>+1.1</sub>	22.1 <sub>+10.5</sub>
24 uur	47 <sub>+8</sub>	56.0 <sub>+7.8</sub>	5.9 <sub>+1.7</sub>	14.0 <sub>+5.4</sub>	0.5 <sub>+1.1</sub>	23.7 <sub>+4.5</sub>

Bij experiment II bleek, dat bij reëxpositie aan NO<sub>2</sub> gedurende 12 of 24 uren het percentage type A cellen was toegenomen en het percentage Clara cellen was afgenomen, terwijl het aantal zilverkorreltjes per cel gelijk was gebleven, zodat het niet waarschijnlijk is dat de gemerkte

cellen een celdeling hebben ondergaan. De meerderheid van de Clara cellen hebben hun granula verloren en kregen het uiterlijk van een type A cel. Het is niet bekend of de Clara cellen geen granula meer hebben omdat de normale synthese geremd wordt door NO<sub>2</sub>, of dat secretie van de granula bevorderd wordt door NO<sub>2</sub> of dat secretie van de granula een eerste vereiste is alvorens de cel in deling kan gaan. Wel is aannemelijk gemaakt dat de Clara cel zijn granula na NO<sub>2</sub> expositie in de eerste 24 uren verliest en dan het uiterlijk van een type A cel krijgt, die vervolgens gaat prolifereren. De celdeling vond ongeveer op de vierde dag plaats. De type A cel gaat vervolgens over in een type B cel, die op zijn beurt na vorming van glad endoplasmatisch reticulum overgaat in een Clara cel.

De Clara cel komt normaal veel frequenter voor dan de type A en B cellen, deze laatste cellen zijn vermoedelijk de verschillende functionele stadia van de Clara cel.

Normaal is het percentage gecilieerde cellen 65 en het percentage ongecilieerde cellen 35 in het bronchiolaire epitheel. Gezien het kleine monster dat was afgenomen kon over de "brush" cellen niets met zekerheid vermeld worden, maar het is mogelijk dat een aantal type A cellen overgaat in "brush" cellen. Het percentage gemerkte gecilieerde cellen namen eveneens toe, zodat aannemelijk is dat zij eveneens uit de niet gecilieerde type A cellen afkomstig zijn.

#### Samenvatting:

Evans et al (1978) stelden vast dat de Clara cel een belangrijke rol speelt bij de reëpithelialisatie van het epitheel van de bronchioli. Na expositie aan 15 - 17 ppm NO<sub>2</sub> verliezen de Clara cellen hun granula, waarna zij in deling gaan. Via intermediaire cellen differentieren zij zich in rijpe Clara cellen of gecilieerde cellen. De Clara cel is wat betreft het herstel van het bronchiolaire epitheel vergelijkbaar met de type II cellen in de alveoli.

Guidotti (1980) beademde vijf Beagles gedurende vier uren via een dubbel lumen canule, waarvan het ene kanaal eindigde in de rechter hoofdbronchus en de ander in de linker. De linkerlong werd gedurende 4 uren blootgesteld aan 37 ppm NO<sub>2</sub> met een ademvolume van 100 ml en

een frequentie van 20 keer per minuut. De rechterlong werd met kamerlucht beademd. De zuurstofopname werd vervolgens van beide longen afzonderlijk gemeten. Door de auteur werd aannemelijk gemaakt dat de afname van de zuurstofopname werd veroorzaakt door ongelijke ventilatie perfusie verhoudingen. De ongelijke ventilatie perfusie verhouding werd vermoedelijk door bronchospasme en mogelijk ook door veranderde perfusie veroorzaakt.

Bij lichtmicroscopisch onderzoek werden noch aan de blootgestelde long, noch aan de andere long pathologische veranderingen gezien. Wel werd bij elektronenmicroscopisch onderzoek in de blootgestelde long in geringe mate interstitieel oedeem waargenomen. Het endotheel van de longcapillairen was in beide longen opmerkelijk wisselend van dikte en het aantal vesikels varieerde sterk.

Bij morfometrische analyse werd na expositie toename van de doorsnede van de alveolaire septa vastgesteld (som van de drie lagen). Het alveolaire epitheel was niet in volume ratio toegenomen. Het interstitium had een toegenomen ratio oppervlak/volume, en volume ratio was ongeveer gelijk (vermoedelijk tengevolge van verandering in vorm). Het alveolocapillaire endotheel had een toegenomen ratio oppervlak/volume en meer vesikels aan de blootgestelde kant.

Morfometrische analyse van diverse ultrastructuren van de longen van aan NO<sub>2</sub> blootgestelde honden.

	volume ratio <sup>a</sup>		ratio oppervlak/ <sup>ab</sup>	
	links	rechts	volume	
expositie aan NO <sub>2</sub>	+	-	links	rechts
			+	-
alveolaire-capil- laire barriere	0.222	0.215	4.340	4.166
alveolair epitheel	0.104	0.090	0.028	0.033
interstitium	0.169	0.185	0.335	0.287
capillair endotheel	0.108*c	0.087	0.872	0.052
endotheel vesikels	0.167**	0.081	--- d	--- d

a Volume ratio  $V_i/V_t = P_i/P_t$ , en oppervlakte/volume ratio  $S_i/V_i = 4 N_i/ZP_i$ .

De  $P_i$  stelt het totale aantal "test grid points" voor die in alle frames op structuur  $i$  vallen t.o.v. alle punten  $P_t$  aanwezig in alle frames.

$N_i$  vertegenwoordigt het totale aantal intersecties die vallen binnen de grenzen van structuur  $i$  en een groot aantal "test grid lines" (op regelmatige afstand tussen de punten) met een lengte  $Z$ .

b Statistische analyse was niet toepasbaar op oppervlakte/volume ratio's daar deze ratio's de optelsom van alle observaties zijn, en niet in individuele metingen uit te splitsen zijn.

c De verschillen in  $P_i$  waarden tussen de longen zijn m.b.v. Student's  $t$  test als volgt aangegeven: \*  $P = 0.05$ , \*\*  $P < 0.001$ .

d Oppervlakte/volume berekeningen kon bij de gebruikte vergroting niet geschieden op de in de endotheelcellen aanwezige vesikels.

#### Samenvatting:

Guidotti (1980) vond een door NO<sub>2</sub> veroorzaakte vrijwel direct optredende ventilatie-perfusie verandering die tot gevolg had dat zuurstofopname via de aangedane long minder werd. Bij het elektronenmicroscopisch onderzoek werd in de aan 37 ppm NO<sub>2</sub> blootgestelde long interstitieel oedeem waargenomen. Het alveolaire capillaire endotheel had een toegenomen ratio oppervlak/volume en een toename van het aantal vesikels in het

alveolo-capillaire endotheel.

DeNicola et al (1981) stelden hamsters, drie groepen van twintig mannetjes en twintig vrouwtjes gedurende 48 uren bloot aan respectievelijk 12, 17 of 22 ppm NO<sub>2</sub>. De expositie aan NO<sub>2</sub> vond plaats in een "27. in. wide" roestvrijstalen kamer van het Laskin type. De NO<sub>2</sub> werd continu gemeten met behulp van een NO<sub>x</sub> "analyzer" (Thermo Electron Corp., Waltham, Mass.), welke NO en NO<sub>x</sub> bepaald. Door het verschil te berekenen (NO<sub>x</sub> - NO) werd de NO<sub>2</sub> bepaald. De NO werd bepaald met behulp van chemiluminescentie tijdens de reactie van NO met O<sub>3</sub>. Met de Saltzman methode werd gecontroleerd of de NO<sub>2</sub> bepalingen juist waren. De temperatuur werd tussen de 21 °C en 26 °C gehouden. De relatieve vochtigheid werd op 40% gehouden. De controle groep van 24 mannetjes en 24 vrouwtjes werd gedurende 48 uren op gelijke wijze behandeld als de aan NO<sub>2</sub> blootgestelde groep, alleen kregen zij geen NO<sub>2</sub> te inhaleren.

Na de eerste en de tweede dag van expositie en vervolgens na 6 en 19 dagen na het beëindigen van de expositie werden drie mannetjes en drie vrouwtjes onderzocht. Het hart-longblok werd in zijn geheel verwijderd en gewogen, daarna vond tweemaal broncho-alveolaire lavage plaats met 4 ml 0.15 M NaCl. De lavage vloeistof werd opgevangen in een glazen buis en gekoeld tot 5 °C. Vervolgens werd de lavage vloeistof gecentrifugeerd om de celfractie microscopisch te kunnen bekijken en het supernatant biochemisch te kunnen onderzoeken. De rechter long werd gehomogeniseerd voor biochemisch onderzoek. De lavage vloeistof en het longhomogenaat werden bekeken op de aanwezigheid van lactaat dehydrogenase, glucose 6 fosfaat dehydrogenase, glutathionreductase en peroxidase, alkalische fosfatase, zure fosfatase en B-glucuronidase. Siaalzuur en het eiwitgehalte werd eveneens in de lavage vloeistof bepaald.

Voor morfologisch onderzoek werden op de eerste en tweede dag na het starten van de expositie en vervolgens 6 en 19 dagen na de expositie vier (twee mannetjes en twee vrouwtjes) dieren onderzocht uit elke expositie (12, 17, 22 ppm NO<sub>2</sub>) groep. Terwijl op dezelfde dagen uit de controle groep drie mannetjes en drie vrouwtjes werden onderzocht.



Veranderingen in het aantal macrofagen en neutrofielen in de bronchoalveolaire lavage vloeistof van hamsters die gedurende korter of langer tijdsinterval aan verschillende NO<sub>2</sub> concentraties waren blootgesteld.

---

NO<sub>2</sub> con-  
centratie  
(ppm)

macrofagen

neutrofielen

---

1 dag na begin expositie

0	57 $\pm$ 16	4 $\pm$ 2
12	140 $\pm$ 77*	10 $\pm$ 7*
17	91 $\pm$ 13*	67 $\pm$ 70*
22	255 $\pm$ 66*	579 $\pm$ 313*

2 dagen na begin expositie

0	50 $\pm$ 15	3 $\pm$ 1
12	99 $\pm$ 18*	37 $\pm$ 20*
17	188 $\pm$ 51*	388 $\pm$ 123*
22	362 $\pm$ 248*	736 $\pm$ 479*

6 dagen na eindigen van de expositie

0	51 $\pm$ 10	2 $\pm$ 1
12	92 $\pm$ 27*	5 $\pm$ 3*
17	60 $\pm$ 13	7 $\pm$ 7*
22	105 $\pm$ 11*	6 $\pm$ 3*

19 dagen na eindigen van de expositie

0	50 $\pm$ 9	4 $\pm$ 3
12	57 $\pm$ 11	7 $\pm$ 3
17	54 $\pm$ 13	2 $\pm$ 2
22	57 $\pm$ 11	3 $\pm$ 2

---

\* Deze waarden verschillen significant van de controle groep (p < 0.01)

Mann - Whitney U test.

De vermelde waarden zijn het gemiddelde van het aantal cellen/mm<sup>3</sup> ± SD genomen van zes monsters. De tellingen werden verricht in "cell pellets" waarin de cellen waren gesuspendeerd in 1.0 ml van 0.15 M NaCl en vervolgens geëxtrapoleerd naar de concentratie van de cellen in de totale lavage vloeistof.

Tijdens de obductie bleek dat bij de dieren die aan concentraties van 17 ppm NO<sub>2</sub> waren blootgesteld de longen niet meer 760samenvielen na het openen van de thorax. De longen hadden een roodachtig aspect. In de trachea werd een schuimende vloeistof aangetroffen. Het gewicht van de longen was tot 129% gestegen. Dit was het ongedroogde longgewicht dat werd uitgedrukt in longgewicht per kilogram lichaamsgewicht. Hierbij dient te worden opgemerkt dat in het artikel niet werd vermeld of het gewicht van de dieren na de expositie was veranderd. De groep dieren die aan 22 ppm was blootgesteld had dezelfde verschijnselen, echter het tracheavocht was nu ook sanguinolent en het longgewicht was gestegen tot 253%.

Na een blootstellingsduur van één dag aan 12 ppm werd bij het microscopisch onderzoek een milde multifocale necrotiserende brochiolitis in de brochioli terminales waargenomen. Bij de dieren die 48 uren aan 22 ppm waren blootgesteld werd een ernstige necrotiserende bronchiolitis met infiltratie van veel neutrofielen gezien. In de alveolaire ruimte constateerden de schrijvers uitgebreide bloedingen en eiwitrijk vocht. Zes dagen na het beëindigen van de expositie bestond er nog een geringe bronchiolitis terminalis, met bronchiolaire epitheelhyperplasie. Na 19 dagen werden geen longafwijkingen meer aangetroffen.

Het sialzuur en de eiwitconcentratie in de lavagevloeistof namen na de blootstelling aan NO<sub>2</sub> aanzienlijk toe. Deze toename van de concentratie was dosis afhankelijk en ging in het algemeen gepaard met toename van het longgewicht. Volgens Henderson et al (1978) komt deze stijging in concentratie voort uit beschadiging van de alveolaire-capillaire membraan die dan doorgankelijker wordt voor eiwit en sialzuur. De stijging van de sialzuurconcentratie kan ook het gevolg zijn van grotere doorlaatbaarheid van de basaalmembraan of door toegenomen produktie van gobletcellen (Reid 1977). Echter indien de toegenomen concentratie te wijten zou zijn aan verhoogde produktie van de goblet-

cellen dan zou volgens DeNicola de eiwitconcentratie niet zijn gestegen.

Het biochemisch onderzoek van de lavagevloeistof verkregen nadat de dieren twee dagen aan respectievelijk 17 of 22 ppm NO<sub>2</sub> waren blootgesteld, toonde een significante stijging van de activiteit van de lactaat dehydrogenase, beta-glucuronidase, zure fosfatase, glutathion reductase en glutathion peroxidase. De siaalzuur- en eiwitconcentratie was eveneens significant gestegen. Alleen bij de blootstelling aan 22 ppm NO<sub>2</sub> was ook de alkalische fosfatase verhoogd.

Volgens DeNicola zou het onwaarschijnlijk zijn dat de toegenomen enzym activiteit in de lavagevloeistof alleen het gevolg is van vergrote doorgankelijkheid van de basale membraan. Het is waarschijnlijker dat de verhoogde activiteit ontstaat door cellysis. De enzymen: alkalische fosfatase, lactaat dehydrogenase, glucose 6 fosfaatdehydrogenase, glutathionreductase en glutathionperoxidase, zouden afkomstig zijn uit gelyseerde weefselcellen. De verhoogde activiteit van zure fosfatase en beta-glucuronidase was volgens DeNicola het gevolg van lysis van alveolaire macrofagen en neutrofielen of van toegenomen fagocyterende activiteit van deze cellen.

De toegenomen activiteit van de alkalische fosfatase is vermoedelijk afkomstig van de type II cellen. De in de acute fase verhoogde activiteit van de alkalische fosfatase wordt verklaard door cellysis van de type II cellen, terwijl de stijging in de latere fase verklaard kan worden door hyperplasie en hypertrofie van de type II cellen.

#### Samenvatting:

DeNicola et al (1981) vonden dat blootstelling aan respectievelijk 12, 17 of 22 ppm NO<sub>2</sub> gedurende 48 uren dosis afhankelijke beschadiging gaf van de alveolaire epitheelcellen en alveolaire fagocyterende cellen, hetgeen zij aantoonde door verhoogde activiteit van diverse enzymen in de bronchoalveolaire lavagevloeistof. Verder werd aannemelijk gemaakt dat expositie aan deze concentraties NO<sub>2</sub> aanleiding geeft tot beschadiging aan de alveolo-capillaire membraan. Zij zagen een ernstige necrotiserende bronchiolitis in de bronchioli terminales na blootstelling aan 22 ppm NO<sub>2</sub> gedurende 48 uren.

Case et al (1982) verdeelden 20 hamsters in groepen van vijf. Vijftien dieren werden aan  $28 \pm 1.5$  ppm NO<sub>2</sub> blootgesteld respectievelijk gedurende 6, 24 of 48 uren, waarna zij werden onderzocht. De laatste groep werd ook 48 uren aan NO<sub>2</sub> blootgesteld maar kreeg de gelegenheid om 48 uren te herstellen. Het aantal controle dieren bestond uit drie. De dieren werden per groep in afzonderlijke kooien in een expositiekamer van plexiglas aan NO<sub>2</sub> blootgesteld. Indien de dieren gedurende de vereiste tijd aan NO<sub>2</sub> waren blootgesteld, werd hun kooi uit de expositiekamer verwijderd. De NO<sub>2</sub> werd continu gemeten met een "mast meter" en met behulp van een Brown - Honeywell recorder vastgelegd. De "mast meter" werd met behulp van de Saltzman methode gecalibreerd. Hoe de expositie aan NO<sub>2</sub> plaatsvond werd door de auteurs niet vermeld, hiervoor werd naar het artikel van Kleinerman en Rynbrandt (1976) verwezen.

Bij het lichtmicroscopisch onderzoek bleek, dat na 6 uren expositie er vrijwel geen beschadigingen werden gezien. Na 24 uren was het aantal cellen met cilia bij de aan NO<sub>2</sub> blootgestelde dieren t.o.v. de controle dieren afgenomen. De gecilieerde cellen, die nog aanwezig waren, hadden een geringer aantal cilia dan normaal. Het bronchiolaire epitheel van deze dieren was afgevlakt in vergelijking tot dat van de controle dieren. Na 48 uren blootstelling was het verlies van cilia ernstiger. Het absolute aantal gecilieerde cellen leek licht te zijn toegenomen, echter in vergelijking met de groep die 6 uren was blootgesteld en de controle groep was het aantal nog steeds verminderd. Wel bleek het bronchiolaire epitheel vrijwel volledig afgevlakt. Alveolaire macrofagen en polymorfonucleairen waren opeengehoopt rondom de beschadigde bronchioli. Bovendien werd hypertrofie van het epitheel in de bronchioli en dealveoli gezien.

Met behulp van licht en transmissie elektronenmicroscopie vastgestelde veranderingen in het bronchiolaire epitheel.

blootstel- lingsduur (uren)	aan- tal die- ren	aantal cel- len met cilia * (% van het totale aantal cellen )	mate van cilia verlies (0 tot +++)	afvlakking van het epitheel** ( % )	apicale membraan beschadi- ging *** (0 tot +++)
0	3	58 ± 3.5	0 tot +	35 ± 17	0
6	5	58	0 tot +	31	0 tot +
24	5	26	+++	68	+++
48	5	41	+++	84	+++
48 + 48 uur herstel	5	53	++	24	0 tot +

\* bepaald met behulp van lichtmicroscopie ( n > 100 cellen) en bevestigd met elektronenmicroscopie ( n > 15), n is hier het aantal onderzochte cellen

\*\* % van het totale aantal cellen zonder cilia waarvan de apicale uitstulpingen lichtmicroscopisch ontbreken

\*\*\*kwalitatief bepaald met behulp van elektronenmicroscopie

De auteurs vermelden niet waarom zij bij de groep van de controle dieren wel een afwijking van het gemiddelde aangeven en bij de overige groepen niet.

Elektronenmicroscopisch onderzoek bevestigde de bevindingen bij lichtmicroscopisch onderzoek. Met het elektronenmicroscopisch onderzoek bleek het verlies aan cilia ernstiger dan met de lichtmicroscopie was waargenomen.

Een aantal bronchiolaire epitheelcellen was na 48 uren blootstelling dermate ernstig beschadigd dat zij niet meer als zodanig herkenbaar waren.

Bij de dieren die 6 en 24 uren aan NO<sub>2</sub> waren blootgesteld zagen de auteurs beschadigingen aan de "tight junctions" van het bronchiolaire epitheel. Na 48 uren blootstelling (zonder en met de gelegenheid tot 48

uren herstel) aan NO<sub>2</sub> was er een ernstige onderbreking van "tight junctions" van de membranen waarmee de cellen van het bronchiolaire epitheel met elkaar verbonden zijn. Na 48 uren blootstelling en een gelegenheid tot herstel gedurende 48 uren, zagen de auteurs langs de membranen waarmee de cellen aan elkaar grenzen, gebieden met losliggend materiaal van de "tight junctions". Dit materiaal werd op grotere afstand van de apex teruggevonden dan bij de controle groepen. Tevens werden langs de gehele membraan van apex tot basis desmosomen aangetroffen, terwijl bij de controle dieren deze structuren alleen in kleine aantallen aan de apex aanwezig bleken.

De "tight junctions" van het bronchus epitheel waren slechts in geringe mate beschadigd. Ook aan het alveolaire epitheel werden slechts geringe beschadigingen aan de "tight junctions" gezien.

#### Samenvatting:

Case et al (1982) vonden bij hamsters, die aan 28 ppm NO<sub>2</sub> waren blootgesteld beschadigingen aan het bronchiolaire epitheel. De alveolaire macrofagen en de polymorfonucleaire cellen waren opeengehoopt rondom het beschadigde epitheel. Ook de "tight junctions" waren ter plaatse van de bronchioli beschadigd. De auteurs veronderstelden dat ter plaatse van de beschadigde "tight junctions" de permeabiliteit verhoogd zou kunnen zijn.

Elsayed en Mustafa (1982) stelden ratten van 8 weken oud gedurende 7 dagen bloot aan 3 ppm NO<sub>2</sub> in een roestvrijstalen expositiekamer met een inhoud van 320 liter. De NO<sub>2</sub> (verkregen uit een mengsel van 15 % NO<sub>2</sub> in stikstof van de firma Liquid Carbonic, Los Angeles, Calif.) werd zodanig vermengd met gefilterde kamerlucht, dat de gewenste concentratie werd verkregen. De NO<sub>2</sub> concentraties werden continu bepaald m.b.v. een stikstofoxide analyzer (Model CSI - 1600, Columbia Scientific Instruments, Austin, Tex.). De controle dieren kregen in dezelfde expositiekamer alleen kamerlucht te inhaleren.

De auteurs gaven drachtige ratten, die na 10 dagen à term waren een dieet en brachten de dieren onder in twee groepen. De ene groep werd met 50 IU vitamine E/kg dieet gevoed, terwijl de andere groep een dieet kreeg dat vrij was van vitamine E. Nadat de dieren hun jongen geworpen hadden, werden de dieren samen met hun jongen ondergebracht

in een kamer met een lamilaire flow met gefiltreerde kamerlucht. De ratten werden in een pathogeen vrije omgeving verzorgd. Na de geboorte kregen de dieren nog gedurende 8 weken hetzelfde dieet. Niet vermeld werd hoelang de dieren gespeend werden. Vervolgens werden de acht weken oude ratten aan NO<sub>2</sub> blootgesteld.

Hoewel de vitamine E concentratie in de ratteweefsels van de gesuppleerde groep hoger was dan in de niet gesuppleerde groep, is het niet duidelijk waarom de concentratie in het longweefsel en het plasma na expositie aan NO<sub>2</sub> toenam bij de gesuppleerde ratten. Bij de niet gesuppleerde ratten werd dit niet waargenomen. Volgens de auteurs zou een verklaring hiervoor kunnen zijn, dat na expositie aan NO<sub>2</sub> er een toename van vitamine E (daar vitamine E een antioxidant is) gebruik in het longweefsel ontstaat. Verder veronderstelden zij dat vitamine E uit andere delen van het lichaam werd gemobiliseerd en via de bloedstroom naar de longen werd vervoerd. Hierdoor zou verklaard kunnen worden waarom wel een hogere vitamine E concentratie in de longen en het plasma werd gevonden en niet in het hart of de nieren. De mobilisatie van vitamine E naar de long, zoals blijkbaar gebeurt bij gesuppleerde ratten, was misschien niet mogelijk in de niet gesuppleerde ratten, omdat de weefsels vermoedelijk te weinig vitamine E bevatten. In feite werd juist een afname van vitamine E concentratie in longweefsel en plasma gevonden na expositie aan NO<sub>2</sub>, hetgeen doet vermoeden dat er een continu verbruik aan vitamine E is onder invloed van oxidantia.

Deze verklaring wordt volgens de auteurs mogelijk gesteund door het feit dat de lipidenconcentratie van het longweefsel en het plasma toenam na expositie aan NO<sub>2</sub> bij de niet met vitamine E gesuppleerde ratten. Vitamine E is een in vet oplosbaar vitamine en de lipiden zouden als vehicel voor het vitamine E kunnen dienen. De auteurs veronderstelden dat de toename van lipiden in de long een compensatoir mechanisme zou kunnen zijn om vitamine E bij inhalatie van oxiderende stoffen op de plaats te krijgen waar vitamine E zou kunnen beschermen tegen deze oxiderende stoffen.

Het lichaamsgewicht (uitgedrukt in g) nam bij de niet gesuppleerde ratten t.o.v. hun controle groep na expositie aan NO<sub>2</sub> licht toe van  $140 \pm 24$  tot  $152 \pm 33$  (n=6). Het longgewicht (uitgedrukt in g) nam bij de dieren die geen vitamine E kregen na expositie aan NO<sub>2</sub> significant toe van  $0.59 \pm 0.15$  tot  $0.79 \pm 0.20$  (n=6). Tevens

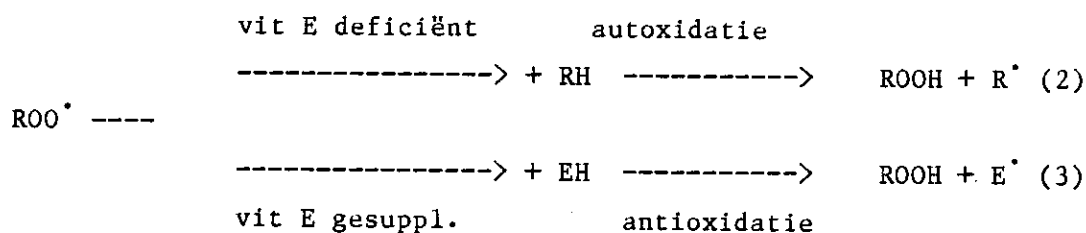
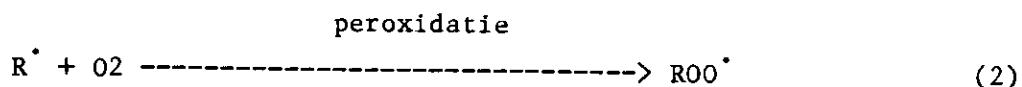
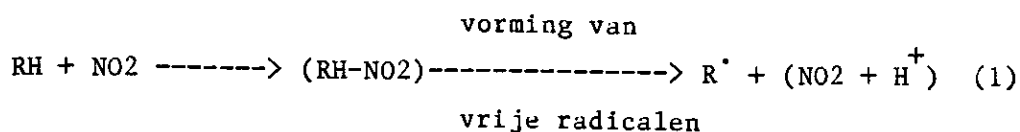
was bij deze dieren de eiwitconcentratie ( $63.7 \pm 7.8$  tot  $92.2 \pm 81.0$  mg/long) en de DNA concentratie ( $6.45 \pm 0.98$  tot  $7.92 \pm 0.61$  mg/long) significant gestegen. Deze verschillen werden niet waargenomen bij de dieren die vitamine E in het dieet hadden.

De zuurstof consumptie in het longhomogenaat nam na expositie aan NO<sub>2</sub> bij de dieren die geen vitamine E kregen significant toe t.o.v. de niet aan NO<sub>2</sub> blootgestelde dieren. De glutathion peroxidase activiteit (43%,  $p < 0.05$ ) en de glutathionreductase (27%,  $p < 0.05$ ) activiteit steeg significant bij de dieren die wel aan NO<sub>2</sub> waren blootgesteld en geen vitamine E in hun dieet kregen t.o.v. de controle groep die niet aan NO<sub>2</sub> was blootgesteld en geen vitamine E had gekregen.

De activiteit van de NADP - reducerende enzymen, glucose 6 fosfaat dehydrogenase, 6 fosfogluconaat dehydrogenase en isocitraat dehydrogenase steeg significant bij de dieren die aan NO<sub>2</sub> waren blootgesteld en geen vitamine E in het dieet kregen t.o.v. de bovengenoemde controle groep.



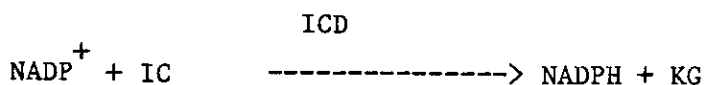
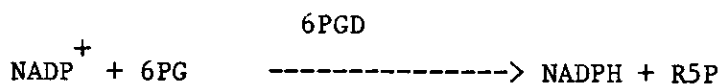
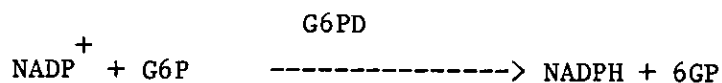
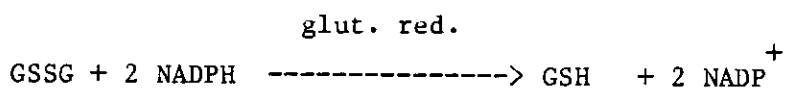
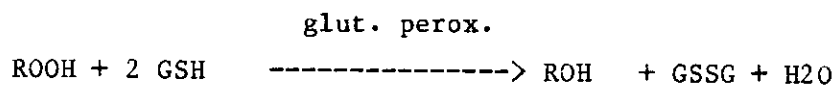
De auteurs geven in een schema weer hoe de invloed van NO<sub>2</sub> en de rol van vitamine E daarbij op de long zou kunnen zijn.



(1) begin van de reactie

(2) voortgaan van de reactie

(3) stoppen van de reactie



ROOH = lipidehydroxyperoxide; RH = lipide; R<sup>•</sup> = lipide radicaal

$E^\cdot$  = vit E radicaal;  $ROO^\cdot$  = lipideperoxide radicaal; EH = vit E  
ROH = lipidealcohol; GSH = gereduceerd glutathion; GSSG = geoxideerd  
glutathion; NADPH = gereduceerd nicotinamide adenine dinucleotide  
fosfaat;  $NADP^+$  = geoxideerd nicotinamide adenine dinucleotide  
fosfaat; G6P = glucose 6 fosfaat; G6PD = glucose 6 fosfaat dehydrogenase;  
6PG = 6 fosfogluconaat; 6PGD = fosfogluconaat dehydrogenase; R5P =  
ribulose 5 fosfaat; IC = isocitraat; ICD = isocitraat dehydrogenase;  
 $\alpha$ KG =  $\alpha$ ketoglutaraat.

#### Samenvatting:

Elsayed en Mustafa (1981) vonden bij ratten na expositie aan 3 ppm  $NO_2$  in het longweefsel bij ratten die geen vitamine E in hun voeding kregen een significante toename van DNA en eiwitconcentratie, zuurstofconsumptie, long- en lichaamsgewicht en activiteit van NADP-reducerende enzymen in het longhomogenaat. Tevens stelden de auteurs vast dat na  $NO_2$  expositie de vitamine E concentratie in het longweefsel bij de dieren die vitamine E suppletie kregen, toenam terwijl de vitamine E concentratie in het longweefsel bij de dieren die geen vitamine E in de voeding kregen juist afnam t.o.v. de controle dieren. De elevatie van vitamine E in het longweefsel na  $NO_2$  expositie doet vermoeden dat het vitamine E elders uit het lichaam gemobiliseerd wordt en via het plasma naar de longen wordt vervoerd.

Brown et al (1983) stelden 20 ratten bloot aan 518 ppm  $NO_x$  gedurende 5 minuten (onder  $NO_x$  wordt de optelsom van NO en  $NO_2$  verstaan) en eveneens 20 ratten aan 1435 ppm  $NO_x$  gedurende 1 minuut. De ratten bevonden zich tijdens de expositie aan  $NO_2$  in een kamer met een inhoud van 55 liter. Het  $NO_2$  gas voor de expositie werd verkregen door stikstof door vloeibare  $NO_2$  van 0 °C (afgenomen van BOC International PLC) te leiden. Het  $NO_2$  gas werd vermengd met NO uit een cilinder. Dit mengsel werd in een luchtstroom van 115 liter/min. geleid. Deze luchtstroom ging vervolgens door de expositiekamer. De  $NO_x$  werd continu gemeten met behulp van chemiluminescentie monitor.

Elke groep van 20 ratten werd weer onderverdeeld in groepen van vier. Er waren dus vijf groepen. De eerste groep werd direkt na de expositie onderzocht. De overige groepen werden respectievelijk 6 uren, 24 uren, 2 en 5 dagen na de expositie onderzocht. De controle groep bestond uit

5 dieren.

Eén van de dieren uit de groep die aan 518 ppm NO<sub>2</sub> was blootgesteld stierf twee dagen na de expositie en t.g.v. cannibalisme was onderzoek op dit dier niet mogelijk.

Bij observatie van de dieren werden in de eerste zes uren noch in de aan 518 ppm noch in de aan 1435 ppm NO<sub>x</sub> blootgestelde groep afwijkingen geconstateerd. Enkele dieren die aan 1435 ppm NO<sub>x</sub> waren blootgesteld, hadden na 24 uren een reutelende ademhaling, die later weer verdween. Alle 20 dieren blootgesteld aan 518 ppm NO<sub>x</sub> hadden na 24 uren een reutelende ademhaling die het ernstigst was na 48 uren. De dieren waren lethargisch, aten en dronken slecht en hadden een lichte "ruffling of fur". Na 5 dagen was er een verbetering in de toestand van de dieren gekomen, zij waren nog wel enigszins lethargisch.

Direkt na de expositie aan 1435 ppm NO<sub>x</sub> werden geen significante histopathologische veranderingen waargenomen. Bij twee dieren zagen de onderzoekers verspreid over beide longen samengevallen alveoli en bij één van de andere dieren werd een geringe hoeveelheid bronchiaal celhoudend exudaat aangetroffen. Zes uren na de expositie hadden de dieren alveolairoedeem dat in ernst wisselde. Bij 3 van de 4 dieren werden samengevallen alveoli gezien die met macrofagen en lymfocyten geïnfilteerd waren. Bij één van deze dieren werd eveneens celhoudend bronchiaalexudaat waargenomen. Na 24 uren waren deze verschijnselen duidelijker. De intraalveolaire macrofagen waren in aantal toegenomen. Eén dier uit deze groep had beschadigingen aan het alveolaire epitheel. Na 48 uren waren de bevindingen vergelijkbaar met die van na 24 uren. Vijf dagen na de expositie werd bij één dier in een gedeelte van een long consolidatie gezien. Er werden nu meer samengevallen alveoli met oedeem waargenomen en bij twee dieren zag men infiltratie van lymfocyten en polymorfonucleairen.

Histologische bevindingen bij de dieren blootgesteld aan 1435 ppm NOx

Tijdstip van onderzoek	Samengevallen alveoli	Consolidatie	Oedeem	Infiltratie van cellen	Bronchiaal exudaat
direkt na	0	0	0	0	2
expositie	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	2
	1	0	1	0	0
6 uur na	1	0	3	0	0
expositie	1	0	1	M2	2
	1	0	1	M1	0
	0	0	2	L1	0
				M2	
24 uur na	2	0	2	M1	0
expositie	2	0	1	M2	0
	2	1	2	P1	0
				M2	
	0	0	2	M2	0
2 dagen na	0	0	1	M1	1
expositie	1	0	0	M1	1
	1	0	1	0	0
	1	0	0	M1	0
5 dagen na	2	2	2	M2	0
expositie				L1	
				P1	
	1	3	2	M2	0
				L2	
				P1	
	2	0	2	M2	2
	1	0	0	M1	0

0= niet aanwezig; 1= in lichte mate, verspreid; 2= matig; 3= iets ernstiger  
M= macrofagen; L= lymfocyten; P= polymorfonucleairen.

Histologische bevindingen na blootstelling aan 518 ppm NOx

Tijdstip van onderzoek	Samengevallen alveoli	Consolidatie	Oedeem	Infiltratie van cellen	Bronchiaal exudaat
direkt na expositie	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	2
	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0
6 uur na expositie	0	2	2	L1	0
	2	1	1	M2	0
	0	0	0	0	0
	1	0	1	M1	0
24 uur na expositie	2	0	0	M1	0
	2	0	3	M2	0
	2	0	1	0	0
	2	2	2	M3	2
				L2	
				P1	
2 dagen na expositie	1	0	1	M1	0
				P1	
	1	0	1	M1	0
	2	2	1	M1	0
	2	2	0	M3	2
				L2	
			P1		
5 dagen na expositie	1	0	1	M1	0
	2	0	0	M1	2
				L1	
	1	3	2	M2	1
			L1		

Zie voor verklaring van de tekens hierboven.

Direkt na de expositie aan 518 ppm werden geen histologische afwijkingen gezien. Bij de dieren die na zes uren onderzocht waren, werd bij twee dieren geringe samenvalling van alveoli en longconsolidatie gezien. Drie van de vier dieren hadden longoedeem. Bij twee dieren zagen de auteurs infiltratie van macrofagen in de alveoli. Eén dier had celhoudend exudaat in de bronchi.

Een deel van de dieren die na 24 uren onderzocht werden, hadden in sommige longdelen oedeem en bij andere vond men diffuus longoedeem. Het aantal macrofagen in de alveoli was toegenomen. Na 2 dagen hadden alle dieren in deze groep longoedeem en samengevallen alveoli. Twee dieren hadden consolidatie van sommige longdelen. Tevens was er toename van ontstekingscellen waarvan de macrofagen het talrijkst waren.

Vijf dagen na de expositie waren bij twee van de drie dieren de longen geïnfiltrerd met macrofagen en/of lymfocyten. Tevens hadden deze dieren cellulair bronchiaal infiltraat.

Bij het elektronenmicroscopisch onderzoek werden direkt na de expositie aan 1435 ppm NO<sub>2</sub> pinocytotische vesikels in het endotheel waargenomen. Het endotheel was verder normaal. Na 24 uren vond uitstulping van de endotheelcellen in de alveolaire capillairen plaats. De zwelling en het aantal vesikels was toegenomen. Het endotheel was na 5 dagen deels hersteld.

In de type II cellen was de mitochondriale lamellenstructuur beschadigd en waren de mitochondrieën gezwollen. Na 1 dag werd diffuus in de alveoli oedeem gezien (de alveolaire ruimtes waren gevuld met vloeistof met daarin veel fibrine en debris). Na 5 dagen werd het alveolairoedeem meer verspreid teruggevonden en bevatte talrijke macrofagen. Vanaf de eerste dag werd interstitieeloedeem waargenomen.

Bij het elektronenmicroscopisch onderzoek van de dieren die aan 518 ppm NO<sub>2</sub> waren blootgesteld zag men direkt na de expositie vesikels in en uitstulping van het capillaire endotheel. Tevens werd waargenomen dat het epitheel van de alveoli losliet. Gedurende 5 dagen bleven deze afwijkingen aanwezig. De type II cellen waren ernstig beschadigd en de mitochondrieën hadden de bovengenoemde veranderingen ook ondergaan. Na 24 uren werd zowel alveolair- als interstitieeloedeem gezien, hetgeen na 5 dagen grotendeels verdwenen was. Ook werd direkt na de expositie vacuolisatie in het endotheel van

de arteriolen gezien, terwijl het endotheel van de venulen pas na 24 uren was aangedaan. Na 5 dagen was het herstel vrijwel volledig.

Samenvatting:

Brown et al (1983) vonden bij het lichtmicroscopisch onderzoek:

- samengevallen alveoli werden vrijwel direkt na de blootstelling geconstateerd en bleven in de vijf volgende dagen bestaan.
- consolidatie van het longweefsel zag men na 2-5 dagen (de schrijvers vermoedden dat dit het gevolg was van een secundaire infectie van de longen die door longoedeem waren aangedaan).
- na 6 uren werd het longoedeem manifest en bleef tijdens de gehele observatieperiode van 5 dagen aanwezig.
- bij blootstelling aan 518 ppm waren meer alveoli samengevallen en was tevens de consolidatie van bepaalde longgebieden ernstiger in de periode van 6 tot 48 uren na de expositie. Hierna was deze groep vergelijkbaar met de groep die aan 1435 ppm was blootgesteld.

Het elektronenmicroscopisch onderzoek liet vooral de afwijkingen, die aan het endotheel van capillairen, arteriolen en venulen waren ontstaan, zien. Tevens bleek dat de mitochondrieën van de type II cellen beschadigd waren. Bij blootstelling aan 518 ppm werd loslating van de type II cellen waargenomen.

Kobayashi et al (1981) stelden groepen van drie ratten gedurende 24 uren bloot aan respectievelijk 5, 10, 15, 20 of 25 ppm NO<sub>2</sub>. De controle groep van 10 ratten onderging dezelfde behandeling zonder blootstelling aan NO<sub>2</sub>. Alleen het experiment met 20 ppm werd herhaald met zes ratten, hierbij bestond de controle groep ook uit zes ratten. De expositie vond plaats in een kamer met een inhoud van 1.16 m<sup>3</sup>. De relatieve vochtigheid werd op 55 ± 5 % gehouden en de temperatuur op 25 ± 1 °C. De luchtstroom had een snelheid van 110 m<sup>3</sup>/uur. De NO<sub>2</sub> werd met behulp van chemiluminescentie gemeten. De onderzoekers vonden een dosis afhankelijke remming van de prostacycline synthese in longhomogenaat en in de intacte long na een blootstellingsduur van 24 uren. De afname van de prostacycline synthese in de intacte long na expositie aan NO<sub>2</sub> werd aannemelijk gemaakt door na te gaan of de remming van de plaatjesaggregatie, die door ADP geïnduceerd wordt, afnam. Het afnemen van de remming van de trombocyten aggregatie

door afname van de prostacycline synthese is volgens de auteurs mogelijk het gevolg van lipideperoxiden die ontstaan in het longweefsel na expositie aan NO<sub>2</sub>. Tevens is het mogelijk dat door de beschadiging van de pulmonale epitheel- en endotheel cellen deze synthese geremd wordt. Door continue synthese in de endotheelcellen en type II cellen, en het vrijkomen van prostacycline in de bloedbaan, wordt vermoedelijk de aggregatie van thrombocyten tegengegaan. Het is mogelijk dat NO<sub>2</sub> het evenwicht tussen thromboxaan A<sub>2</sub> en prostacycline verstoort, waardoor de aggregatie van thrombocyten beïnvloed wordt, thromboxaan A<sub>2</sub> en prostacycline hebben een antagonistisch effect op de thrombocyten aggregatie. De schrijvers stelden vast dat de door ADP geïnduceerde aggregatie van thrombocyten na blootstelling aan hogere concentraties NO<sub>2</sub> minder geremd werd, waardoor de kans op thrombocyten aggregatie wordt vergroot.

Kobayashi et al (1983) stelden groepen van zes ratten gedurende respectievelijk 1, 3, 5, 7 of 14 dagen bloot aan 10 ppm NO<sub>2</sub>. De controle-groep bestond uit zes ratten. Tijdens het experiment werden twee identieke expositiekamers gebruikt met een inhoud van 1.3 m<sup>3</sup>. In de ene expositiekamer werden de controle dieren uitsluitend aan gefilterde lucht blootgesteld terwijl in de andere expositiekamer de dieren tevens aan NO<sub>2</sub> werden blootgesteld. De temperatuur werd tijdens de expositie op 25 ± 1 °C gehouden. De relatieve vochtigheid werd op 55 ± 5 % gehouden. De druk in de expositiekamers was -5 cm H<sub>2</sub>O t.o.v. de barometerdruk. De luchtstroom in de expositiekamers was 110 m<sup>3</sup>/uur. De NO<sub>2</sub> en de NO werden continu gemeten met een NO<sub>x</sub> "analyzer" d.m.v. chemiluminescentie (Monitor Labs Model 8440). De NO concentratie in beide kamers was zo laag dat deze niet meetbaar was.

De prostacycline synthese was in het longhomogenaat na expositie aan NO<sub>2</sub> afgenomen. Deze afname was het duidelijkst op de derde expositiedag. Ondanks het voortzetten van de expositie herstelde de prostacycline synthese, om na 14 dagen op het normale niveau te zijn teruggekeerd. De thromboxaan A<sub>2</sub> produktie in de thrombocyten nam juist in de eerste drie dagen toe om vervolgens na 14 dagen te normaliseren. Het aantal thrombocyten in het perifere bloed was significant gedaald in de eerste zeven dagen van de blootstelling. Op de veertiende dag van expositie was het aantal thrombocyten weer normaal.

De auteurs toonden tevens aan dat de activiteit van het enzym PGI<sub>2</sub>



(prostacycline) synthetase was afgenomen. Daar PGI<sub>2</sub> synthetase een belangrijke rol speelt in de synthese van PGI<sub>2</sub> uit PGH<sub>2</sub> (prostaglandine H<sub>2</sub>) werd de PGI<sub>2</sub> synthetase activiteit gemeten door weefselhomogenaat te incuberen met <sup>14</sup>C-PGH<sub>2</sub> gedurende 30 seconden bij 26 °C. De omzettingssnelheid van <sup>14</sup>C PGH<sub>2</sub> tot <sup>14</sup>C PGI<sub>2</sub> in longhomogenaat was bij de controle ratten 26.5 %, terwijl dit bij de NO<sub>2</sub> blootgestelde ratten (op de derde dag) slechts 10.5 % was. Secundair hieraan zal de produktie van prostacycline verminderen. De afname wordt vermoedelijk veroorzaakt door lipideperoxiden, die na expositie aan NO<sub>2</sub> in de longen gevormd worden. Zoals hierboven vermeld hebben prostacycline en thromboxaan A<sub>2</sub> t.o.v. de trombocyten aggregatie een antagonistisch effect. De continue produktie en de afgifte van prostacycline door de long zou een belangrijke rol kunnen spelen bij het voorkomen van trombocyten aggregatie, omdat verlaagde concentratie van prostacycline aanleiding geeft tot verhoogde trombocyten aggregatie. Prostacycline verhoogt de intracellulaire concentratie aan cyclisch-AMP in de trombocyt. Het cyclisch-AMP remt de activiteit van fosfolipase A<sub>2</sub> en cyclooxygenase, waardoor de synthese van thromboxaan A<sub>2</sub> afneemt.

#### Samenvatting:

Kobayashi et al (1981 en 1983) zagen na expositie aan NO<sub>2</sub> gedurende 24 uren een dosis afhankelijke afname van de PGI<sub>2</sub> (prostacycline) synthese. Echter bij blootstelling aan 10 ppm NO<sub>2</sub> gedurende één tot veertien dagen stelden zij aanvankelijk een afname van de PGI<sub>2</sub> (prostacycline) synthese vast, die na drie dagen maximaal was. Vervolgens was na veertien dagen expositie aan NO<sub>2</sub> de prostacycline synthese terug op het niveau van voor de blootstelling aan NO<sub>2</sub>. De thromboxaan A<sub>2</sub> synthese was juist in de eerste drie dagen gestegen om na veertien dagen expositie weer tot het niveau van voor de expositie terug te keren. Tijdens de periode dat de prostacycline synthese was afgenomen, bleek eveneens het aantal trombocyten in het perifere bloed verlaagd te zijn.

Tsubone et al (1984) stelden ratten gedurende 150 minuten bloot aan 20 ppm NO<sub>2</sub>. Twaalf ratten ondergingen een tracheostomie en werden via de ingebrachte canule aan NO<sub>2</sub> blootgesteld. De overige twaalf ratten werden zonder een trachea canule aan NO<sub>2</sub> blootgesteld. De NO<sub>2</sub> (5000 ppm) werd vermengd met kamerlucht en de verdunde NO<sub>2</sub>

werd in een kamer gebracht van roestvrijstaal en glas, deze kamer had een inhoud van 240 liter. De NO<sub>2</sub> concentratie werd in de expositiekamer gemeten met behulp van een NO<sub>2</sub> "analyzer" (Monitor Labs. ML 8440 H) d.m.v. chemiluminescentie. De temperatuur werd op  $22 \pm 1$  °C gehouden. De luchtstroom in de expositiekamer werd niet door de auteurs vermeld.

Zes ratten uit beide groepen kregen net voor de expositie en vervolgens om de 60 minuten een subcutane injectie met 0.3 mg atropine per kilogram lichaamsgewicht. De auteurs zagen na 60 minuten expositie bij de niet geatropiniseerde ratten, een onregelmatig ademhalingspatroon gepaard gaande met diepe ademhalingsteugen, die werden afgewisseld met kortdurende apneu's en snelle oppervlakkige ademhaling.

Verder hadden deze dieren na 70 minuten blootstelling bradycardieën. Bij de geatropiniseerde dieren, die aan NO<sub>2</sub> waren blootgesteld, werd een regelmatige diepe ademhaling gezien. Er werden bij deze dieren geen bradycardieën waargenomen.

Het maakte wat betreft de bevindingen geen verschil of de dieren wel of geen tracheostomie hadden ondergaan.

#### Samenvatting:

Tsubone et al (1984) vonden bij ratten die zonder of met een tracheacanule gedurende 150 minuten aan 20 ppm NO<sub>2</sub> waren blootgesteld een onregelmatig ademhalingspatroon en bradycardieën tijdens de blootstelling, die konden worden voorkomen door de dieren tevoren te atropiniseren.

McGrath et al (1984) stelden muizen gedurende 10 minuten bloot aan respectievelijk 15, 50 of 100 ppm NO<sub>2</sub>. De muizen werden tijdens de expositie in een roestvrijstalen kamer geplaatst. De luchtstroom was zodanig dat ongeveer 20.5 maal per uur de lucht in de expositiekamer werd verwisseld. Tijdens deze expositie werd de temperatuur op ongeveer 24 °C en de relatieve vochtigheid op  $48 \pm 20$  % gehouden. De NO<sub>2</sub> werd continu gemeten m.b.v. chemiluminescentie (Thermo electron Chemiluminescent NO<sub>2</sub> Analyzer Model 14 B/E) en vastgelegd op een "strip chart recorder" (Houston Instruments). De "analyzer" werd gecalibreerd door "gas phase titration" (Gas Phase Titration Calibrator Model 101 N - Thermoelectron Corp.).

In totaal waren 60 dieren bij het experiment betrokken. Acht minuten na het starten van de expositie werd de ademprequentie, het ademvolume en het ademminuutvolume bepaald. De dieren die aan 15 ppm waren blootgesteld hadden geen verandering in de bovengenoemde parameters. Bij de dieren die waren blootgesteld aan 50 ppm was het ademvolume afgenomen en de ademprequentie toegenomen. Het ademminuutvolume was gelijk gebleven. Bij blootstelling aan 100 ppm was de ademprequentie significant toegenomen, terwijl het ademvolume en het ademminuutvolume significant waren afgenomen.

Tijdens het tweede experiment stelden de auteurs 20 muizen gedurende 3 dagen aan 5 ppm NO<sub>2</sub> bloot en vergeleken deze dieren wat betreft bovengenoemde parameters met 20 muizen die onder dezelfde omstandigheden alleen lucht geïnhaald hadden. Aan het einde van deze 3 dagen waren de bevindingen bij beide groepen dieren vergelijkbaar. Vervolgens werden de dieren van beide groepen gedurende 10 minuten blootgesteld aan 100 ppm NO<sub>2</sub>. Direct na het begin van deze blootstelling kregen de dieren kortdurende apneu's en snelle oppervlakkige ademhaling. Beide groepen dieren hadden een verhoogde ademprequentie gekregen. Na 2 en 8 minuten was de ademprequentie van de groep dieren die niet tevoren aan NO<sub>2</sub> was blootgesteld significant hoger ten opzichte van de groep die dat wel had ondergaan. Het ademvolume was in beide groepen in gelijke mate afgenomen, respectievelijk 68% en 72%. Het ademminuutvolume was eerder en ernstiger afgenomen in de groep die tevoren aan NO<sub>2</sub> was blootgesteld nl. tot 78%. In de niet van tevoren blootgestelde groep dieren was het ademminuutvolume gedaald tot 92%. Tien minuten nadat de expositie aan 100 ppm NO<sub>2</sub> was gestopt, waren beide groepen wat betreft bovengenoemde parameters vergelijkbaar. Bij beide groepen was het ademvolume nog licht verlaagd en de ademprequentie nog licht verhoogd, terwijl het ademminuutvolume weer hetzelfde was als het ademminuutvolume van deze dieren voordat zij aan 100 ppm NO<sub>2</sub> waren blootgesteld.

De auteurs concluderen dat de dieren die van tevoren aan 5 ppm waren blootgesteld minder gevoelig waren voor de expositie aan 100 ppm NO<sub>2</sub>, omdat de ademprequentie van deze dieren minder toenam dan van de andere groep. Daar het ademvolume van beide groepen dieren vergelijkbaar was afgenomen betekende dit dat de groep die tevoren aan NO<sub>2</sub> was blootgesteld, een lager ademminuutvolume had en dus een geringere dosis NO<sub>2</sub> binnen kreeg tijdens de expositie aan 100 ppm NO<sub>2</sub>. Waarom

de dieren, die van tevoren aan 5 ppm NO<sub>2</sub> waren blootgesteld een geringere stijging van de ademhaling kregen werd niet duidelijk.

Samenvatting:

McGrath et al (1984) zagen bij muizen die zij blootstelden aan 100 ppm NO<sub>2</sub> een significante toename van de ademfrequentie en een significante afname van het ademvolume en het ademminuutvolume. Bij muizen die tevoren gedurende 3 dagen aan 5 ppm NO<sub>2</sub> waren blootgesteld bleek de ademfrequentie tijdens de expositie aan 100 ppm NO<sub>2</sub> minder toe te nemen dan bij de groep muizen die dit niet hadden ondergaan. Dit had uiteindelijk tot gevolg dat het ademminuutvolume bij de tevoren blootgestelde dieren was afgenomen. De verklaring hiervoor werd door de auteurs niet gegeven. Ook vermeldden zij niet of het afgenomen ademminuutvolume bij deze dieren aanleiding gaf tot minder longbeschadiging.

Foster et al (1985) stelden 8 ratten en 8 hamsters gedurende 24 uren aan 20 ppm NO<sub>2</sub> bloot, vervolgens werden de dieren een uur na de expositie onderzocht. De dieren werden in glazen kamers met een inhoud van 140 liter aan NO<sub>2</sub> blootgesteld. De controle dieren werden op dezelfde wijze behandeld echter zij kregen geen NO<sub>2</sub> te inhaleren. De luchtstroom in de kamers was 0.5 liter/min per dier. De NO<sub>2</sub> concentratie werd continu gemeten met een Ecoylser 3000 electrochemical analyzer (Analysis Automation Ltd, Oxford, UK).

De parameters die zij bekeken werden vergeleken met acht controle dieren van beide diersoorten. Na de expositie werd zowel bij de hamsters als bij de ratten een verhoogde concentratie surfactant in het longhomogenaat aangetroffen. De surfactant concentratie in de celvrije bronchoalveolaire lavagevloeistof was alleen bij de hamsters significant verhoogd.

Met het lichtmicroscopisch onderzoek werd bij ratten een glad epitheeloppervlak waargenomen terwijl normaal het oppervlak een sterke onregelmatigheid laat zien. Deze irregulariteit wordt veroorzaakt door uitstulping van het cytoplasma van de Clara cellen.

Met de elektronenmicroscopie werd bij ratten een duidelijke afname waargenomen van de secretie granula in de Clara cellen. De gecilieerde cellen waren hun cilia verloren en hadden een toename van autofagische vacuolen. In de type I cellen waren de organellen gezwollen en het cytoplasma

verdikt. Een aantal type II cellen was in deling.

De hamsters hadden na de expositie een ernstiger beschadiging van de longen dan de ratten (desquamatie van de epitheliale bekleding in de bronchioli terminales, die niet bij de ratten werd waargenomen). Het lumen van de brochioli bevatte necrotische epitheliale cellen en infiltratie van mononucleairen, neutrofielen en rode bloedcellen. Op plaatsen waar het epitheel minder ernstig was beschadigd, werd een gladder epitheeloppervlak waargenomen.

Bij het elektronenmicroscopisch onderzoek van de hamster bleken de gecilieerde cellen hun cilia verloren te hebben. Een groot aantal Clara cellen was in deling. Enkele Clara cellen hadden toename van het aantal granula. Het lumen van de bronchioli bevatten veel debris. De type I cellen waren even ernstig beschadigd als bij de rat. De type II cellen waren normaal.

Na de expositie was er bij de ratten geen verandering in de lavage vloeistof. Bij hamsters werd voornamelijk een toename van het aantal lymfocyten en polymorfonucleairen in de lavagevloeistof waargenomen.

Effect op de celpopulatie in de lavagevloeistof bij ratten en hamsters na expositie gedurende 24 uren aan 20 ppm NO<sub>2</sub>.

diersoort	expositie aan NO <sub>2</sub>	% macro- fagen	% lymfocyten	% neutrofielen
rat	-	98.6 <sub>±</sub> 0.21	1.0 <sub>±</sub> 0.20	0.2
	+	95.9 <sub>±</sub> 1.28	1.4 <sub>±</sub> 0.38	1.7 <sub>±</sub> 0.89
hamster	-	86.9 <sub>±</sub> 0.96	9.9 <sub>±</sub> 0.66	2.3 <sub>±</sub> 0.69
	+	41.2 <sub>±</sub> 4.00*	17.6 <sub>±</sub> 6.7**	36.8 <sub>±</sub> 6.08*

De resultaten zijn het gemiddelde van 8 dieren  $\pm$  SE

Significantie berekend in vergelijking tot de controle dieren met behulp van Student's t - test: \* P < 0.001 ; \*\* P < 0.05.

De auteurs opperen de mogelijkheid dat Clara cellen van belang zouden kunnen zijn voor de detoxificatie gezien het feit dat bij hamsters waar de beschadigingen ernstiger waren, de Clara cellen in deling gingen.

In de longen van de hamsters werd geen verhoogde activiteit of toename van het aantal type II cellen waargenomen, terwijl de surfactant produktie wel verhoogd was. De auteurs veronderstelden daarom dat de Clara cellen mogelijk bij de hamsters een rol zouden kunnen spelen bij de produktie van surfactant.

Bij de rat werd een accumulatie van surfactant in de type II cellen gezien en was een groter aantal type II cellen in deling.

Samenvatting:

Foster et al (1985) zagen na blootstelling gedurende 24 uren aan 20 ppm NO<sub>2</sub> bij ratten en hamsters een toename van de surfactant produktie, echter alleen bij de hamster werd het surfactant ook buiten de cellen aangetroffen. De beschadiging aan het epitheel van de bronchioli terminales en het proximale deel van de alveoli was na blootstelling aan dezelfde NO<sub>2</sub> concentratie ernstiger in de longen van de hamster dan in de rattelongen.

Guth (1985) stelde ratten in groepen van zes gedurende 4 uren bloot aan respectievelijk 10, 20, 30 of 40 ppm NO<sub>2</sub>. De expositiekamer was van glas en had een inhoud van 29 liter. De NO<sub>2</sub> (0.5% NO<sub>2</sub> in N<sub>2</sub>, Air Products) werd verdund met perslucht. De luchtstroom in de kamers was 6 liter/min. De NO<sub>2</sub> concentratie werd continu gemeten met een Beckman Model 925 A analyzer die met standaard 11.5 ppm NO<sub>2</sub> in N<sub>2</sub> van Air Products werd gecalibreerd. De concentratie in de expositiekamer werd drie maal per dag met behulp van de Saltzman methode gecontroleerd. De concentratie werd in de expositiekamer binnen 5% van de bedoelde concentratie gehouden. De NO concentratie in de expositiekamers was steeds minder dan 1% van de NO<sub>2</sub> concentratie.

Na de expositie werden de dieren onderzocht. Er vond bronchoalveolairelavage plaats, waarna de vrije cellen van de lavagevloeistof gescheiden werden. Het longhomogenaat werd onderzocht op o.a. eiwit, DNA, zure fosfatase, lactaat dehydrogenase, glutathion reductase, glucose 6 fosfaat dehydrogenase, etc., maar significante verschillen van de blootgestelde dieren t.o.v. de controle dieren konden niet worden aangetoond.

Vergelijking van de celvrije lavage vloeistof van de aan 40 ppm NO<sub>2</sub> blootgestelde dieren ten opzichte van de controle dieren.

	controle	NO <sub>2</sub>	
eiwit	3.63 ± 1.00	85.3 ± 41.0	*
siaalzuur	49.1 ± 9.9	747.3 ± 386.8	*
lactaat dehydrogenase	381 ± 144	647 ± 334	**
malaat dehydrogenase	457 ± 264	709 ± 367	**
glucose 6 fosfaat dehydrogenase	7.03 ± 2.42	20.9 ± 5.8	*
isocitraat dehydrogenase	10.7 ± 9.9	39.4 ± 12.2	*
zure fosfatase	22.2 ± 9.2	55.9 ± 18.8	*

Alle enzymen zijn uitgedrukt in units/long; eiwit in mg/long; siaalzuur in ug/long.

De waarden zijn het gemiddelde van zes dieren ± SD

\* Het verschil t.o.v. de controle groep, berekend met de Mann-Whitney test  
p < 0.05

\*\* Het verschil t.o.v. de controle groep, berekend met de Mann-Whitney test  
p < 0.10

De parameters die in de celvrije lavagevloeistof significant verhoogd waren, werden eveneens in het plasma bepaald om na te gaan in hoeverre transudatie van plasma verantwoordelijk was voor de verhoging van het eiwit, het siaalzuur en de enzymen. De stijging van het eiwit, het siaalzuur en de zure fosfatase zouden verklaard kunnen worden door transudatie van plasma in de luchtwegen. Echter de stijging van de overige enzymen kon hiermee niet verklaard worden.

Het isoenzym patroon van lactaat dehydrogenase in de lavagevloeistof kwam niet precies overeen met hetgeen in longhomogenaat, plasma en erythrocyten werd gevonden, zodat het niet waarschijnlijk is dat uitsluitend of het longhomogenaat of het plasma of de erythrocyten, geïsoleerd verantwoordelijk zijn voor de verhoogde lactaat dehydrogenase activiteit in de lavagevloeistof. Het isoenzym patroon van het lactaat dehydrogenase kwam nog het meest overeen met dat van het longhomogenaat. Daarnaast blijft het mogelijk dat bepaalde isoenzymen door NO<sub>2</sub> geïnactiveerd worden, waardoor de interpretatie nog problematischer wordt.

De overige enzymen zijn vermoedelijk grotendeels afkomstig uit de beschadigde vrije cellen, die met behulp van lavage uit de luchtwegen gespoeld worden.

Samenvatting:

Guth (1985) vond bij ratten die respectievelijk aan 10, 20, 30 of 40 ppm NO<sub>2</sub> waren blootgesteld in de bronchoalveolaire lavagevloeistof verhoogde concentraties van eiwit en sialzuur. Het meest aannemelijk was dat het eiwit en het sialzuur evenals de verhoogde activiteit van zure fosfatase afkomstig waren uit het plasma, dat door transudatie in de luchtwegen was gekomen. Verhoogde activiteit van de enzymen in de celvrije lavagevloeistof zoals maleaat dehydrogenase, glucose 6 fosfaat dehydrogenase en isocitraat dehydrogenase was afkomstig uit de beschadigde vrije cellen in de luchtwegen. De oorsprong van de verhoogde activiteit van het lactaat dehydrogenase kon niet met zekerheid worden vastgesteld.



### Samenvatting van de waarnemingen bij dieren na expositie aan NO<sub>2</sub>

Allereerst dient te worden opgemerkt, dat de onderzoekers bij de dieren na inhalatie van NO<sub>2</sub> niet altijd dezelfde parameters hebben onderzocht, zodat deze bevindingen niet met elkaar vergeleken kunnen worden. Bovendien werden voor de experimenten verschillende species gebruikt, waardoor de resultaten van het onderzoek, indien wel dezelfde parameters zouden zijn bekeken, evenmin zonder meer met elkaar vergeleken zouden kunnen worden. Met deze opmerkingen in gedachten zal een samenvatting worden gegeven van de waarnemingen die bij dieren na expositie aan NO<sub>2</sub> werden gedaan.

#### Observatie:

Indien hamsters acuut gedurende 24 uren blootgesteld werden aan 50 ppm NO<sub>2</sub>, dan nam hun ademhalingsfrequentie toe en werden zij onrustig. Werd de blootstelling voortgezet dan ziet men de activiteit van de dieren afnemen en gingen zij in een hoek van hun kooi zitten. Enkele dieren overleden binnen een dag aan de gevolgen van deze expositie (Kleinerman 1968).

Carson vond in de eerste twee dagen na de expositie een lichaamsgewichtverlies van 10 - 15 % bij ratten en konijnen, die gedurende respectievelijk 5 tot 60 minuten aan hoge concentraties NO<sub>2</sub> variërend van 416 tot 115 ppm waren blootgesteld.

Tsubone (1984) vond bij ratten die gedurende 150 minuten aan 20 ppm NO<sub>2</sub> werden blootgesteld een onregelmatig ademhalingspatroon en bradycardieën. Deze verschijnselen konden worden tegengegaan door de dieren tevoren atropine te geven.

McGrath (1984) vond bij muizen, die gedurende 10 minuten waren blootgesteld aan 100 ppm NO<sub>2</sub> een significante toename van de ademfrequentie en een significante afname van het ademvolume en het ademinuutvolume.

#### Macroscopische bevindingen:

Bij ratten, die gedurende 48 uren aan 17 ppm NO<sub>2</sub> waren blootgesteld, vielen na het openen van de thorax de longen niet meer samen (DeNicola 1981). De longen hadden macroscopisch een roodachtig aspect. In de

trachea werd na expositie gedurende 48 uren aan 22 ppm NO<sub>2</sub> sanguinolent sputum aangetroffen.

Het longgewicht kan na expositie aan NO<sub>2</sub> toenemen, doordat er in de longen oedeem ontstaat (Carson 1962, DeNicola 1981, Elsayed 1982).

#### Microscopische bevindingen:

Na expositie aan NO<sub>2</sub> werden in de longen vooral afwijkingen in de kleinere luchtwegen en alveoli gezien.

Men kan zowel interstieel als alveolair oedeem waarnemen. Alveolair oedeem ziet men met name indien de blootstellingsduur langer of de concentratie waaraan de dieren zijn blootgesteld hoger is geweest. Het oedeem in de longen na expositie aan NO<sub>2</sub> ontstaat door:

- Toename van de doorgankelijkheid van de basale membraan voor grotere moleculen (DeNicola 1981, Guth 1985).
- Onderbreking van de epitheliale bekleding van alveoli en bronchioli (DeNicola 1981, Case 1982, Brown 1983)
- Vermoedelijk doorgankelijker worden van het alveolocapillaire endotheel.

Verder kan men na expositie aan NO<sub>2</sub> veel samengevallen alveoli aantreffen (Brown 1983). Mogelijk dat verminderde surfactantproductie door de type II cellen hiervoor verantwoordelijk is. Tevens is het mogelijk dat door exsudatie van plasmaeiwitten in de alveoli het surfactant geïnactiveerd wordt.

Uren na het begin van de expositie aan NO<sub>2</sub> kan er ter plaatse van de bronchioli terminales een ontstekingsreactie ontstaan. Hierbij ziet men toename van polynucleairen en macrofagen ter hoogte van de bronchioli terminales (Kleinerman 1968, DeNicola 1981, Case 1982). Deze ontsteking, die zowel bij ratten als bij hamsters werd waargenomen, geeft aanleiding tot een bronchiolitis obliterans. Hierbij kan men een verdikking van het slijmvlies waarnemen. Na de aanvankelijke infiltratie van polynucleairen ziet men veel fibroblasten in een losse matrix van collageen. Deze ontstekingsverschijnselen kunnen restloos genezen.

#### Biochemisch onderzoek:

DeNicola (1981) bij hamsters en Guth (1985) bij ratten vonden in de celvrije bronchoalveolaire lavagevloeistof verhoogde concentraties van eiwitten en sialzuur. Zij maakten het aannemelijk dat door beschadiging

van de basale membraan er exsudatie van eiwitten en sialzuur vanuit het plasma in de alveolaireruimte plaatsvindt.

DeNicola stelde bij hamsters en Guth bij ratten vast, dat door toename van de activiteit van cytoplasmatische enzymen in de celvrije bronchoalveolaire lavage vloeistof, er iets over de mate van celbeschadiging kan worden voorspeld. De cytoplasmatische enzymen, lactaat dehydrogenase, glutathion peroxidase en glutathion reductase zijn volgens DeNicola een gevoelige parameter voor cellysis. De beschadiging of lysis van de fagocyterende cellen gaat gepaard met toename van de lysosomale enzymen, zure fosfatase en B glucuronidase in de celvrije bronchoalveolaire-lavagevloeistof. Deze laatste enzymen zijn tevens in verhoogde concentratie aanwezig bij toegenomen fagocyterende activiteit. Volgens Guth zou de verhoogde zure fosfatase activiteit in de lavagevloeistof verklaard kunnen worden door beschadiging van de basale membraan waardoor exsudatie van zure fosfatase uit het bloedplasma in de long plaatsvindt.

Kobayashi (1981 en 1983) stelde, na expositie aan 5 - 25 ppm NO<sub>2</sub> bij ratten een verminderde synthese van prostacycline in het longhomogenaat en een toename van de thromboxaan A<sub>2</sub> synthese in de trombocyten, vast. Indien de expositie aan NO<sub>2</sub> gecontinueerd werd, bleek na veertien dagen de synthese weer op het niveau te zijn van voor de expositie aan NO<sub>2</sub>. Tijdens de verminderde prostacycline synthese was de trombocyten concentratie in het perifere bloed afgenomen.

#### Pathofysiologie:

Stikstofdioxide is matig in water oplosbaar, waardoor het slechts in geringe mate wordt "weggevangen" in de hogere luchtwegen. Hierdoor worden vooral de afwijkingen in de kleinere luchtwegen en alveoli aangetroffen.

Men nam vroeger aan dat na expositie aan NO<sub>2</sub>, de in de long gevormde HNO<sub>2</sub> en HNO<sub>3</sub> verantwoordelijk waren voor de longbeschadigingen. Tegenwoordig is men van mening dat door vorming van reactieve verbindingen, zoals het vrije lipide radicaal, (via lipidehydroperoxide) hydroxyl radicaal en lipideperoxide radicaal, de celmembranen beschadigd worden. Vervolgens kan de cel niet meer goed functioneren en wordt necrotisch. Thomas (1968) was de eerste die lipideperoxidatie aannemelijk maakte, door het aantonen van een absorptiepiek van ultravioletlicht bij 230 -

235 nu door dieenverbindingen in lipiden van longhomogenaat van aan NO<sub>2</sub> blootgestelde ratten. Dieenverbindingen ontstaan bij peroxidatie van onverzadigde vetzuren.

Gevolgen:

Door de prikkelende invloed van NO<sub>2</sub> op het bronchusslijmvlies kan ernstige bronchospasme ontstaan waardoor de ventilatie belemmerd wordt (Guidotti 1980). Tevens wordt de ventilatie nadelig beïnvloed door het samenvallen van alveoli. Tengevolge van interstieel en alveolair oedeem zal de gasuitwisseling in de longen belemmerd worden. Zowel de gestoorde ventilatie als de afgenomen diffusie capaciteit van de longen zou tot gevolg kunnen hebben dat de arteriële pO<sub>2</sub> zo ernstig daalt dat de dieren hierdoor overlijden. In een latere fase kan de ventilatie beperkt worden door een bronchiolitis obliterans.

De bronchospasmen en de beschadiging van de gecilieerde cellen geeft aanleiding tot sputumretentie. Hierdoor kunnen bacteriën die in de lagere luchtwegen zijn terecht gekomen moeilijker opgehoest worden. De sputumretentie en de door NO<sub>2</sub> veroorzaakte beschadiging aan epitheel en macrofagen in de kleinere luchtwegen en alveoli maakt, dat de aan NO<sub>2</sub> blootgestelde dieren vatbaarder zijn voor infecties.

In het algemeen ziet men gedurende de eerste dagen na expositie aan NO<sub>2</sub> de afwijkingen in de longen toenemen. Hierna komt het herstel geleidelijk op gang. Evans (1975) toonde de belangrijke rol aan, die type II cellen hebben bij de reëpithelialisatie van de alveoli na expositie aan NO<sub>2</sub>. In de bronchiolus terminalis is het de Clara-cel die na expositie aan NO<sub>2</sub> verantwoordelijk is voor de reëpithelialisatie (Evans 1978). De beschadigingen aan de alveoli en de bronchiolitis obliterans kunnen restloos genezen.

OVERZICHT VAN DE PUBLIKATIES BETREFFENDE WAARNEMINGEN BIJ DIEREN NA EXPOSITIE AAN NO<sub>2</sub>

<u>Auteurs</u>	<u>Jaartal</u>	<u>Diersoort</u>	<u>Concentratie NO<sub>2</sub> (ppm)</u>	<u>Expositieduur</u>	<u>Bevindingen na NO<sub>2</sub> expositie</u>
Carson	1962	konijnen ratten honden	sterk wisselend	5 minuten 15 minuten 30 minuten 60 minuten	- LC50 longoedeem, intra-alveolaire macrofagen, proliferatie van alveolair epitheel
Kleinerman	1968	hamsters	45-55 ppm	21-23 uren per dag gedurende 10 weken	- ontsteking t.h.v. bronchiolus terminalis en ductus alveolaris hypertrofie + hyperplasie van het bronchiolus terminalis epitheel
Thomas	1968	ratten	1 ppm	4 uren	- lipideperoxidatie
Evans	1975	ratten	15-17 ppm	48 uren	- belangrijke rol van type II cellen bij reëpithelisatie van de alveolus
Evans	1978	ratten	15-17 ppm	24 uren	- belangrijke rol van Clara-cellen bij de reëpithelisatie van de bronchiolus terminalis
Guidotti	1980	beagles	37 ppm	4 uren	- ventilatie - perfusie veranderingen, inter- stitieeloedeem
De Nicola	1981	hamsters	12 ppm 17 ppm 22 ppm	48 uren	- beschadigingen aangetoond van de alveolo- capillaire membraan, alveolaire epitheelcellen en macrofagen door veranderingen van enzymen, eiwitten, sialzuur in de broncho-alveolaire lavage vloeistof
Case	1982	hamsters	28 ppm	6 uren 24 uren 48 uren	- beschadigingen aan het bronchiolaire epitheel. De tight junctions waren vooral t.h.v. de bronchioli beschadigd. Opeenhoping van neutro- fielen en alveolaire macrofagen rondom het beschadigde epitheel
Elsayed	1982	ratten	3 ppm	7 dagen	- de invloed van vitamine E na inhalatie van NO <sub>2</sub> op de volgende parameters in de long: longgewicht, DNA en eiwitconcentratie, zuurstofverbruik, aktiviteit van de NADP reducerende enzymen

<u>Auteurs</u>	<u>Jaartal</u>	<u>Diersoort</u>	<u>Concentraties NO<sub>2</sub> (ppm)</u>	<u>Expositieduur</u>	<u>Bevindingen na NO<sub>2</sub> expositie</u>
Kobayashi	1981	ratten	5 ppm 10 ppm 15 ppm 20 ppm 25 ppm	24 uren	prostacycline synthese afgenomen thromboxaan A2 synthese toegenomen
Kabayashi	1983	ratten	10 ppm	1 dag 3 dagen 5 dagen 7 dagen 14 dagen	prostacycline synthese tijdelijk verminderd thrombocyten aantal in perifere bloed tijdelijk afgenomen
Brown	1983	ratten	± 518 ppm ± 1435 ppm	5 minuten 1 minuut	samenvallen alveoli longoedeem consolidatie van longweefsel endotheelbeschadigingen
Tsubone	1984	ratten	20 ppm	150 minuten	irregulaire ademhaling bradycardieën
McGrath	1984	muizen	15 ppm 50 ppm 100 ppm	10 minuten	ademfrequentie toegenomen ademvolume afgenomen ademminuutvolume afgenomen
Foster	1985	ratten hamsters	20 ppm	24 uren	surfactantproductie toegenomen
Guth	1985	ratten	10 ppm 20 ppm 30 ppm 40 ppm	4 uren	in broncho-alveolaire lavage vloeistof eiwit en sialzuur concentratie toegenomen t.g.v. transudatie van plasma in de long

Casuïstiek bij de mens

Lowry (1956) beschreef 4 patiënten die een graansilo binnengingen die één of twee dagen tevoren gevuld was. Een 28 jarige boer opende de top van zijn graansilo, waarna hij blootgesteld werd aan NO<sub>2</sub>, hij werd misselijk, hoestte, kreeg een piepende ademhaling en was kortademig bij inspanning. Hij werd moe en lusteloos. Zestien dagen na de blootstelling kreeg hij koude rillingen en koorts. De dyspnoe en het hoesten werden erger. Op de 21e dag werd hij behandeld wegens verdenking op een longontsteking. De 27e dag was hij ernstig kortademig en cyanotisch. Zijn temperatuur was 38,9 °C. Hij had een heftige niet produktieve hoest. Het expirium was verlengd. Zowel bij in- als uitademing werden over beide longen fijne tot middelfijne vochtige ronchi gehoord. Bronchospasme was vooral hoorbaar bij de expiratie. Laboratorium: BSE 77 mm., Hb 14.1 gr.% leucocyten  $26.6 \times 10^9$  (neutrofielen 85%, lymfocyten 13%, monocyten 2%) Op de röntgenfoto van de longen werden over alle longvelden fijne nodulaire verdichtingen gezien met een doorsnede van 1-5 mm. Dit Röntgenbeeld kan ook bij miliaire tuberculose gezien worden. De patiënt werd behandeld in een O<sub>2</sub> tent. Hij kreeg codeïne en later meperidinehydrochloride tegen de hoest. Verder werd aminofylline i.v. gegeven, echter zonder resultaat. Daar gedacht werd aan een infectie, werd de patiënt behandeld met penicilline, streptomycine en chlooramfenicol. Geleidelijk liep de arteriële pCO<sub>2</sub> op en overleed de patiënt op de 30e dag na de expositie. Bij obductie wogen de longen te veel en waren oedemateus. Beide longen bevatten diffuus kleine noduli. Bij het microscopisch onderzoek werd verdwijning van de epitheliale bekleding van de bronchioli waargenomen en was er ter plaatse infiltratie van ontstekingscellen die het lumen opvulden, waarna ingroei van fibroblasten werd gezien. Deze afwijkingen passen bij een bronchiolitis obliterans. De ingezette bacteriële kweken bleken achteraf negatief.

De tweede patiënt (31 jaar) had een vergelijkbaar ziektebeeld en stierf 27 dagen na de expositie. Hij had eveneens een bronchiolitis obliterans.

De derde patiënt (48 jaar) die blootgesteld was geweest aan NO<sub>2</sub> uit een graansilo had naast de initiële symptomen van vermoeidheid geen klachten. Echter, 21 dagen na de expositie kreeg hij dyspnoe en begon te hoesten. De temperatuur was 37.8 oC. De röntgenfoto

van de longen liet een diffuus micronodulair beeld zien. Hij kreeg 3 x daags prednison, nadat antibiotica niet het gewenste effect hadden. Na het starten van de prednison, verbeterde de toestand van de patiënt binnen twaalf uur klinisch aanzienlijk. De longafwijkingen op de röntgenfoto namen af, echter waar verder het snelle herstel uit bestond werd niet vermeld. Na 13 dagen werd de patiënt uit het ziekenhuis ontslagen. Drie weken na ontslag uit het ziekenhuis hervatte de patiënt zijn werk. Na vier maanden waren op de röntgenfoto van de longen nog kleine nodulaire verdichtingen te zien.

De vierde patiënt (45 jaar) kreeg dyspnoe klachten 10 dagen nadat hij zijn graansilo had betreden. De kortademigheid was snel progressief. Op de röntgenfoto van de longen 23 dagen na de expositie werden kleine nodulaire verdichtingen gezien. De patiënt had op de 27e dag een temperatuur van  $40^{\circ}\text{C}$  en was cyanotisch. Zijn ademhaling was 54/min. Men gaf hem uitsluitend prednison. Na 24 uren was de patiënt veel minder ziek. Negen dagen na het starten van de prednison therapie werd de patiënt ontslagen en de prednison gestopt. Drie weken na het ontslag uit het ziekenhuis hervatte hij zijn werk. Hoewel hij geen klachten meer had, werden op de röntgenfoto van de longen nog geringe nodulaire afwijkingen gezien.

#### Samenvatting:

Lowry (1956) beschreef vier patiënten, die na het binnen gaan van een kort tevoren gevulde graansilo, kortademig werden. Na het vullen van hun silo's was door fermentatie van de in planten aanwezige anorganische nitraten  $\text{NO}_2$  ontstaan, dat bij het openen van de silo ontsnapte. Alle patiënten waren na de initiële symptomen (zoals hoesten, bijtend gevoel tijdens de ademhaling, misselijkheid en overgeven) vrij van klachten. Na enige weken kregen de patiënten klachten van kortademigheid die snel in ernst toenamen. Twee patiënten overleden wegens insufficiëntie van de ademhaling. De twee patiënten die met corticosteroiden waren behandeld, herstelden. Lowry gaf aan dit ziektebeeld de naam silo-filler's disease.

Grayson (1956) beschreef een 66-jarige man die zijn ongeventileerde graansilo binnenging, waarin hij een geelbruin gas ( $\text{NO}_2$ ) aantrof. Hij raakte buiten bewustzijn en werd door zijn neef d.m.v. kunstmatige



ademhaling gered. De patiënt kwam gedeeltelijk weer bij bewustzijn. Hij was ernstig cyanotisch en kortademig. Toen de patiënt werd opgenomen had hij een temperatuur van  $36,3^{\circ}\text{C}$  en werden over alle longvelden luide ronchi gehoord. Via een neuscatheter werd hem  $\text{O}_2$  toegediend. Hij overleed 20 uur na de expositie in shock. Tijdens de obductie werd een complete consolidatie van beide longen gezien. Bij het microscopisch onderzoek van de longen werd een middelmatige hoeveelheid alveolair oedeem waargenomen. Verder was er beiderzijds een ernstige bronchopneumonie.

De neef (31 jaar) had tijdens het betreden van de silo een pijnlijk gevoel bij de ademhaling opgemerkt. Veertien uren hierna moest hij overgeven. Vervolgens kreeg hij een lichte cyanose en een oppervlakkige snelle ademhaling (frequentie 60/min.). Bij de opneming werden verspreide ronchi gehoord. De röntgenfoto van de longen gaf diffuse, confluierende infiltraten te zien in het middelste  $2/3$  deel van beide longen. Deze patiënt werd behandeld met penicilline, streptomycine, zuurstof en bronchospasmolytica. Hij bleef afebriel, en 48 uren nadat hij was opgenomen was de klinische toestand al aanzienlijk verbeterd. Vijf dagen na de opneming kreeg de patiënt temperatuur waarna de antibiotische therapie werd gewijzigd in Achromycin. Hierna werd de temperatuur weer normaal. De patiënt herstelde en bij een poliklinische controle na 8 maanden was hij klachtenvrij en was de röntgenfoto van de longen normaal.

#### Samenvatting:

Grayson (1956) beschreef twee patiënten met silo-filler's disease, waarvan er een overleed en de andere, nadat hij gedurende enige tijd in een ziekenhuis was behandeld, volledig herstelde.

Moskowitz (1964) beschreef één patiënt (20 jaar) met silo-filler's disease. De patiënt had drie uur in een afgesloten silo gewerkt. Hij had tijdens het binnengaan van de silo een gas opgemerkt dat slijmvlies irritatie veroorzaakte. De man voelde zich vervolgens slapjes en duizelig, maar ging door met zijn werkzaamheden. Gedurende twee weken werkte hij elke dag 15-30 minuten in de silo. Hij werd gedurende deze periode toenemend kortademig en vermoeid. Aan het eind van deze veertien dagen kreeg hij koorts en last van hoesten. Hij bezocht toen een dokter die hem tetracycline voorschreef. De klachten verergerden en de

patiënt werd vervolgens met een temperatuur van 40 °C en koude rillingen opgenomen in het ziekenhuis. Hij was cyanotisch en zijn ademhaling was 72/min., met over de longen verspreide ronchi en een piepend expirium. Over enkele longvelden werd bronchiaal ademen en bronchofonie gehoord. De arteriële O<sub>2</sub> saturatie was ernstig verlaagd (68%). In het sputum werden geen pathologische microorganismen aangetroffen. Op de röntgenfoto van de longen werden diffuse infiltratieve parenchymale afwijkingen gezien, die centraal meer uitgesproken waren en intensiever in de rechter long. De infiltraten waren in de meeste longvelden fijn nodulair van aard. De patiënt werd gedurende de eerste 48 uren behandeld met penicilline, streptomycine en cortison (300 mg per dag). Daarna werden de antibiotica gestopt. De cortison werd de eerste drie weken gehandhaafd in deze dosering en in de drie maanden daarna geleidelijk verminderd tot nul. Zesendertig uren na de opneming werd de ademhaling rustiger en was de temperatuur al bijna weer normaal (37.5 °C). De ademfrequentie was binnen een week gedaald tot beneden de twintig per minuut. De afwijkingen op de röntgenfoto waren na ongeveer twee weken afgenomen en verdwenen na zes weken.

Achttien dagen na de opneming werd een open longbiopt genomen. Bij het microscopisch onderzoek werd in de terminale bronchioli een chronisch interstieel infiltraat met mononucleaire cellen (vooral lymfocyten) gezien. Clusters van deze cellen en macrofagen waren ook in de alveoli aanwezig. Het meest opvallend was dat in elke bronchiolus (en alleen hier) een georganiseerde weefselmassa werd waargenomen, vooral bestaande uit fibroblasten in een losse matrix van collageen. Het bronchiolaire epitheel was afwezig in sommige bronchioli terwijl in andere bronchioli het epitheel beschadigd was. Op sommige plaatsen werd regeneratieve hyperplasie van het bronchiolaire epitheel gezien. De beschreven afwijkingen passen bij een bronchiolitis obliterans.

Op de 39e dag na de opneming werd de patiënt asymptomatisch ontslagen. Hierna bleef hij klachtenvrij.

Ongeveer zes maanden na het instellen van de behandeling werd de open longbiopsie herhaald. Bij het microscopisch onderzoek bleek het exudaat in de bronchioli volledig te zijn verdwenen. Slechts zeer geringe infiltratie van lymfocyten werd nog waargenomen in het interstitium. In de alveoli waren enkele macrofagen aanwezig. Een geringe verdikking van het collageen in de alveolaire septa werd her en der waargenomen.

Verspreid werden enkele verwijde luchtruimtes aangetroffen, die mogelijk zouden kunnen duiden op centrilobulair emfyseem. Het herstel in de longen was dus vrijwel volledig.

Wel had de patiënt na 18 maanden een vergroot residuaal longvolume en een aanzienlijke toename van het functionele residu volume, hetgeen past bij een hyperinflatie van de longen. Er waren geen aanwijzingen voor bronchoconstrictie.

Samenvatting:

Moskowitz (1964) beschreef de ziektegeschiedenis van een patiënt met silo-filler's disease. De patiënt had een bronchiolitis obliterans die gepaard ging met ernstige kortademigheid. De patiënt werd kortdurend antibiotisch en gedurende drie maanden met corticosteroïden behandeld. De patiënt was asymptomatisch na de behandeling. Na 18 maanden werd een vergroot residuaal longvolume en functioneel residuaal longvolume waargenomen.

Rigner en Swensson (1961) onderzochten 14 patiënten die in het verleden aan NO<sub>2</sub> waren blootgesteld. De patiënten hadden daarna klachten van kortademigheid, cyanose, ronchi over beide longen, bloed ophoesten en sommigen hadden hierbij verhoogde temperatuur. Deze verschijnselen waren van dien aard dat opname in een ziekenhuis noodzakelijk bleek. De meeste patiënten hadden bij de opname een afwijkende röntgenfoto van de longen. Verscheidene jaren (varierend van een tot veertien jaar) na het ongeval had vrijwel geen van de patiënten nog klachten die direkt verband hielden met het ongeval. De longfunctie bij deze patiënten was niet passend bij longemfyseem, zodat de auteurs concluderen, dat na NO<sub>2</sub> expositie emfyseem niet frequent voorkomt. De röntgenfoto van de longen was gerelateerd aan de leeftijd vrijwel bij alle personen normaal. De auteurs merken op dat indien de patiënten de expositie aan NO<sub>2</sub> aanvankelijk overleven de prognose op langere termijn goed is. Eén patiënt overleed later tengevolge van een hersenemboli afkomstig uit het hart bij boezemfibrilleren. Deze patiënt bleek een mitralisstenose en een mitralisinsufficiëntie te hebben. De eerste maal dat deze patiënt boezemfibrillatie had gekregen was tentijde van de expositie aan NO<sub>2</sub>.

Samenvatting:

Rigner en Swensson (1961), die een onderzoek verrichtten bij personen die in het verleden blootgesteld waren aan NO<sub>2</sub>, vonden bij deze personen geen afwijkingen die direkt in verband gebracht konden worden met de NO<sub>2</sub> expositie. Zij concluderen dat indien de aan NO<sub>2</sub> blootgestelde personen het ongeval aanvankelijk overleven, zij op langere termijn een goede prognose hebben. Zij merken op dat personen die tevoren hart- of longziekten hebben mogelijk een minder goede prognose hebben.

Müller (1969) beschreef de ziektegeschiedenis van 7 patiënten die NO<sub>2</sub> inademen na een explosie in een tunnel. Voor drie patiënten was opname in een ziekenhuis noodzakelijk. Van deze drie patiënten volgt nu de ziektegeschiedenis.

De eerste patiënt (61 jaar) voelde na de explosie een druk op de borst. Drie dagen na de expositie aan NO<sub>2</sub> gaf hij over. Na zeven dagen werd hij vermoeid en dyspnoeïsch. Veertien dagen na het ongeval kreeg hij een prikkelhoest, bloederig sputum en ernstige kortademigheid. De week daarna werden de klachten erger, en moest hij met spoed worden opgenomen in een ziekenhuis. Hij was bij de opneming cyanotisch en kortademig in rust. De uitademing was verlengd. Beiderzijds werden vochtige en droge ronchi gehoord. De vitale capaciteit was verminderd nl. 4000 ml (voorspelde V.C. was 4300), de FEV<sub>1</sub> 68% (normaal > 75%), M.A.V. 108 l/min. (voorspelde waarde was 130 l/min). De röntgenfoto van de longen liet fijne infiltratieve afwijkingen in de beide onder-velden zien. De sinus pleuralis was beiderzijds gesluierd.

De tweede patiënt een 49 jarige man had na de eerste explosie geen klachten, echter na een tweede explosie 10 dagen later, kreeg hij een prikkelhoest, kortademigheid en een temperatuur van 38 °C. Na acht dagen namen de klachten snel in ernst toe en moest hij in een ziekenhuis worden opgenomen. Hij was cyanotisch en dyspnoeïsch. De ademprequentie was 44/min. Over de longen werden beiderzijds vochtige en droge ronchi gehoord. De vitale capaciteit was 4000 ml (voorspelde waarde 4150) F.E.V.<sub>1</sub> was 52%, M.A.V. 73 l/min (voorspelde waarde 125 l/min). De röntgenfoto van de longen toonde diffuse fijne infiltratieve afwijkingen. De sinus pleuralis was beiderzijds gesluierd.

De derde patiënt was een 46 jarige man die direkt na de explosie kortademig werd. De dag erna hoestte hij bloederig sputum op. Twee dagen na de explosie werd hij in een ziekenhuis opgenomen met extreme kortademigheid

en cyanose. Over de longen werd beiderzijds een verlengd expirium, alsook droge en vochtige ronchi gehoord. De V.C. was licht verlaagd n.l. 4100 ml (voorspelde waarde 4450), F.E.V.1 60%, M.A.V. was 98 l/min. (voorspelde waarde 135 l/min). De röntgenfoto van de longen toonde confluerende infiltraten beiderzijds.

Vijf van de zeven patiënten herstelden binnen 7 tot 14 maanden volledig. De overige twee patiënten, die voor het ongeluk bekend waren met een lichte bronchitis, waren daarna niet meer in staat hun werk te hervatten. De symptomen die deze twee patiënten bleven houden waren ernstige bronchitis, prikkelhoest, sputumproductie en kortademigheid bij inspanning. Eén van de beide patiënten had op de röntgenfoto van de longen na 14 maanden een aanzienlijke longfibrose paracardiaal rechts en de ander had hyperlucente longvelden.

#### Samenvatting:

Müller (1969) beschreef 7 personen die o.a. klachten kregen van kortademigheid na een explosie in een tunnel waarbij NO<sub>2</sub> vrijkwam. Vijf patiënten herstelden in periode van 7 - 14 maanden. Twee patiënten die tevoren lichte bronchitis hadden, behielden klachten en waren niet meer in staat hun werk te hervatten.

Milne (1969) beschreef de ziektegeschiedenis van een 52 jarige man, die NO<sub>2</sub> had geïnhaled nadat hij zilver bij salpeterzuur had gedaan om zilvernitraat te maken. De man moest daarna hoesten en had geringe hoofdpijn. Twaalf uren later werd hij wakker van de kortademigheid en moest hoesten. Vervolgens werd hij in een ziekenhuis opgenomen. Bij de opname was hij cyanotisch, dyspnoeïsch en had hij bronchospasme. Over de longen werden ronchi gehoord. De röntgenfoto van de longen toonde een beeld passend bij longoedeem. Laboratorium: BSE 40 mm/uur, leucocyten  $11 \times 10^9$ , art. pO<sub>2</sub> 78 mm Hg, art pCO<sub>2</sub> 37 mm Hg. De gestelde diagnose: chemische pneumonie. De patiënt werd behandeld met hydrocortison en aminofylline intraveneus. Furosemide en penicilline werd intramusculair gegeven en Mysteclin oraal. Zuurstof werd aanvankelijk via een neuscatheter gegeven, en daarna met behulp van een Bird Respirator. Twee dagen na de opname was de patiënt al weer grotendeels hersteld. De röntgenfoto van de longen vijf dagen na de opname genomen, toonde geen afwijkingen meer. De patiënt werd na zeven dagen uit het

ziekenhuis ontslagen. Na veertien dagen hervatte hij zijn werk. Op de eerste werkdag voelde hij zich erg vermoeid, had algemene malaise klachten en verminderde eetlust. De nacht hierna werd hij transpirerend wakker, was kortademig, had koude rillingen en moest hoesten. Hij werd vervolgens weer opgenomen. De patiënt was aanvankelijk niet cyanotisch en nauwelijks dyspnoeïsch, maar kort na de opneming verslechterde zijn klinische toestand en moest hij beademd worden. Hij werd met dezelfde medicatie behandeld als bij de eerste opname. Het herstel verliep nu trager. De afwijkingen op de röntgenfoto, die vergelijkbaar waren met die van de eerste opname, werden ook waargenomen op de röntgenfoto die veertien dagen na de tweede opneming werd gemaakt. In de afgenomen sputumkweken werden geen microorganismen aangetroffen. De Psittacosis complement fixatietest was negatief. De patiënt kon na drie dagen geëntubeerd worden. Op de 15e dag mocht hij uit bed. De röntgenfoto op de 25e dag was vrijwel normaal. Op de 28e dag na de tweede opneming werd hij uit het ziekenhuis ontslagen. Een week na het ontslag werden de corticosteroiden gestopt. Na twee maanden hervatte hij zijn werk en was hij klachtenvrij.

#### Samenvatting:

Milne (1969) beschreef een patiënt die na expositie aan NO<sub>2</sub> kortdurend klachten kreeg van hoesten en hoofdpijn, daarna voelde hij zich weer goed. Twaalf uur na de expositie werd hij kortademig en moest vervolgens in een ziekenhuis worden opgenomen. Na zeven dagen kon de man vrij van klachten uit het ziekenhuis ontslagen worden. Twintig dagen na de expositie kreeg hij koorts en werd hij weer kortademig, waarna hij voor de tweede keer in het ziekenhuis werd opgenomen. Nu moest hij twee dagen beademd worden. Twee maanden na de tweede ziekenhuis opname was de patiënt asymptomatisch.

Tse en Bockman (1970) beschreven de ziektegeschiedenissen van 4 brandweermannen, die tengevolge van een lekkage in een chemische fabriek bloot waren gesteld aan NO<sub>2</sub>.

Een brandweerman (49 jaar) werd twaalf uur nadat hij NO<sub>2</sub> had ingeademd in een ziekenhuis opgenomen wegens kortademigheid. Hij had tien minuten NO<sub>2</sub> gas ingeademd. Aanvankelijk had hij hoofdpijn en een droge hoest. Bij de opneming was hij cyanotisch en had hij een temperatuur van 38.9 °C

Zijn ademfrequentie was 44/min. Over de longen werden reutels en bronchospasmen gehoord. De röntgenfoto van de longen paste bij een beeld van longoedeem. Dertig minuten na de opneming werd de patiënt subcomateus. Hij werd vervolgens behandeld met intermitterende positieve druk beademing. Aan medicatie kreeg hij isoproterenol hydrochloride via een aerosol, aminofylline, hydrocortison natriumsuccinaat en digitalis intraveneus. Tevens werd een flebotomie verricht waarbij 500 ml bloed werd afgenomen. Hierna herstelde de patiënt aanzienlijk. De behandeling werd later gewijzigd in tetracycline en prednison. Vijf dagen na de opneming was de patiënt asymptomatisch. De röntgenfoto van de longen toonde na vijf dagen geen afwijkingen meer. De prednison dosering werd na de twaalfde dag verminderd. Na 17 dagen werd alle medicatie gestopt. Echter op de 18e dag kreeg hij koorts, koude rillingen, cyanose, last van hoesten en hemoptoë. Op de röntgenfoto van de longen werden nu kleine nodulaire infiltraten gezien. De patiënt werd weer behandeld met prednison en antibiotica (chlooramfenicol wegens een Pseudomonas in het sputum). Hierna verbeterde zijn klinische toestand vrijwel direkt. Op de röntgenfoto van de longen vijf weken na het ontstaan van deze afwijkingen, werden de kleine nodulaire afwijkingen nog steeds gezien. Zeven weken nadat de patiënt was opgenomen werd hij ontslagen uit het ziekenhuis. Hij bleef klachten houden van kortademigheid bij inspanning, terwijl er op de röntgenfoto geen afwijkingen meer werden waargenomen. Bij longfunctieonderzoek werd een afname van de vitale capaciteit en een toename van het residu volume waargenomen. Het maximaal ademminuutvolume en de longcompliance waren verminderd. Tevens was de arteriële zuurstof concentratie afgenomen, terwijl de respons op 100% zuurstof normaal was.

De tweede brandweerman (43 jaar) die eveneens gedurende tien minuten NO<sub>2</sub> had ingeademd, kreeg na zeven weken toenemende klachten van kortademigheid. De man had een temperatuur van 37.4 °C en over alle longvelden werden ronchi gehoord. De röntgenfoto van de longen toonde geen afwijkingen. Zonder therapie was hij na enkele dagen weer klachtenvrij.

De derde brandweerman (26 jaar) had aanvankelijk, nadat hij gedurende enkele minuten NO<sub>2</sub> had ingeademd, nauwelijks klachten, maar na vier en een halve week kreeg hij retrosternale pijn die door drinken van melk verminderde. Bij het lichamelijke onderzoek en röntgenonderzoek

werden geen afwijkingen gevonden. Echter tien dagen na het ontstaan van deze klachten, kreeg hij koorts, cyanose, druk op de borst en een produktieve hoest met taai bruin sputum. Op de röntgenfoto van de borstkas werden kleine nodulaire infiltraten in het middenveld van de linker long gezien. Ondanks het geven van intermitterende positieve druk beademing en antibiotische therapie, breidden zich de infiltraten snel over de andere longvelden uit. De sputumkweken leverde geen pathogeen microörganisme op. De serologie op adenovirus, type A en B influenzavirus, parainfluenzavirus 1, 2, en 3, Eaton agent, en psittacosis was negatief. Er werden geen koude agglutinenen aangetoond. Negen dagen na het instellen van de behandeling was de patiënt vrij van klachten. De röntgenfoto van de borstkas vijf weken na het ontstaan van de afwijkingen was nog niet helemaal vrij van nodulaire infiltraten. De longfunctie zes weken en 18 maanden na de opneming was normaal.

De vierde brandweerman (47 jaar) had aanvankelijk gedurende korte tijd een pijnlijke keel. Na vier weken kreeg hij druk op de borst. Het lichamelijke onderzoek en het röntgenonderzoek waren normaal. Zonder behandeling was hij na enkele dagen klachtenvrij.

#### Samenvatting:

Tse en Bockman (1970) beschreven 4 patiënten die na NO<sub>2</sub> expositie klachten van kortademigheid hadden gekregen. Twee patiënten werden hiervoor tijdelijk in een ziekenhuis opgenomen. Opvallend was dat na de initiële symptomen direkt na de expositie de patiënten een periode vrij van klachten waren. Hierna kregen de patiënten na enige weken opnieuw klachten van kortademigheid. Bij twee patiënten ging dit gepaard met afwijkingen bij het lichamelijke onderzoek en op de röntgenfoto van de longen.

Ramirez en Dowell (1971) beschreven een patiënt (36 jaar) die 39 dagen nadat hij zijn net gevulde silo binnenging opgenomen werd in een ziekenhuis wegens algemene malaise, gewichtsverlies, subfebrile temperatuur en leukocytose. Op de röntgenfoto van de longen werden in beide longen uitgebreide infiltraten waargenomen.

Bij het binnengaan van de silo had de man het gevoel gehad of hem de keel werd dichtgeknepen daarna was hij wat duizelig geweest. Na 18 dagen was zijn eetlust afgenomen en voelde hij zich na een werkdag



extreem vermoeid. Vervolgens had hij hoofdpijn en temperatuursverhoging gekregen. Drie weken na de expositie werd hij door zijn arts wegens longinfiltraten behandeld met penicilline, para-aminosalicylzuur en novobiocin. Met deze behandeling daalde de temperatuur wel, maar de infiltratieve longafwijkingen op de röntgenfoto van de longen bleven aanwezig.

Bij de opneming had de patiënt een temperatuur van  $37^{\circ}\text{C}$ , en was niet kortademig. Bij het lichamelijk onderzoek werden geen afwijkingen gevonden. Het leukocyten aantal was  $12.7 \times 10^9$ . Bij longfunctie onderzoek werd een vergroot residu volume en een vergroot functioneel residu volume gevonden. De röntgenfoto bij de opneming toonde inmiddels t.o.v. de vorige foto, die 15 dagen tevoren was gemaakt, minder infiltratieve afwijkingen. De auteurs stelden de diagnose silo-filler's disease. Echter, omdat de afwijkingen op de röntgenfoto waren afgenomen, werd besloten om van behandeling af te zien. Een maand later werd de patiënt zonder klachten ontslagen uit het ziekenhuis. Bij onderzoek, dat na 7 jaren werd verricht was in rust en bij inspanning de arteriële  $\text{pCO}_2$  nog steeds verhoogd. De arteriële  $\text{pO}_2$  was in rust nog verlaagd. Patiënt was overigens asymptomatisch.

#### Samenvatting:

Ramirez en Dowell (1971) beschreven de ziektegeschiedenis van een man die na het betreden van zijn silo, blootgesteld werd aan  $\text{NO}_2$ . Na de initiële klachten (gevoel alsof zijn keel werd dichtgeknepen, duizeligheid) was hij klachtenvrij. Na 18 dagen kreeg hij algemene malaise klachten en subfebriële temperatuur. Op de röntgenfoto van de longen werden infiltraten gezien, die zonder gerichte therapie uiteindelijk verdwenen. De auteurs stelden de diagnose silo-filler's disease. De patiënt was na de ziekenhuis opname klachtenvrij, hoewel in rust de arteriële  $\text{pCO}_2$  iets verhoogd en de arteriële  $\text{pO}_2$  verlaagd was.

Horvath et al (1978) beschreven vijf patiënten die  $\text{NO}_2$  hadden geïnhaled. De eerste patiënt (63 jaar) was een dag nadat hij in zijn pasgevolle graansilo had gewerkt opgenomen in een ziekenhuis wegens koorts, cyanose, transpireren en piepende ademhaling. Kort nadat hij was opgenomen werd hij subcomateus. Op de röntgenfoto van de thorax werd een

beeld passend bij longoedeem gezien. Men stelde de diagnose silo-filler's disease. De patiënt werd behandeld met ACTH 80 Units i.m. waarna de klinische toestand van de patiënt snel verbeterde. Hierna kreeg hij dagelijks 40 mg prednison. De dagelijkse dosis werd snel verminderd tot 15 mg per dag. De prednison werd helemaal gestopt na veertien dagen. Binnen een week kreeg hij weer klachten. De prednison werd hervat in een dosering van 40 mg per dag. Hierna namen de klachten wederom af. Vervolgens werd de prednison verlaagd tot om de dag 20 mg en helemaal gestopt na 2 maanden. Na viereneenhalf jaar werd de patiënt weer onderzocht. Hij had alleen bij flinke inspanning nog geringe last van kortademigheid. Bij het longfunctieonderzoek bleek de gemiddelde geforceerde expiratie flow halverwege de uitademing van de vitale capaciteit en de flow na 75% expiratie van de vitale capaciteit gering te zijn afgenomen.

De tweede patiënt (19 jaar) een werknemer bij een munitiefabriek werd nadat hij een week klachten had gehad van kortademigheid, hoesten, en hemoptoë opgenomen. Hij moest katoen in salpeterzuur dopen. Hierbij kwam regelmatig NO<sub>2</sub> vrij. Patiënt was twaalf dagen voordat hij werd opgenomen, ernstig blootgesteld geweest. Tijdens de opneming werd een cyanotische man gezien, die een adembaling had van 50/min. Zijn temperatuur was 39.4 °C. Over beide longen werden ronchi gehoord. Op de röntgenfoto van de longen werden diffuus kleine infiltraten gezien. De arteriële pO<sub>2</sub> was 42 mmHg. Een miliaire tuberculose of een virale pneumonie behoorde tot de mogelijkheden. De therapie bestond uit isoniazide, streptomycine, O<sub>2</sub> en prednison (60 mg twee keer daags). De patiënt herstelde in de twee weken na het starten van de behandeling slechts in geringe mate. In de sputumkweken en de beenmergaspiratie werden geen mycobacteriën, schimmels, en pathogene microorganismen aangetoond. Alleen de prednison werd gecontinueerd. Op de 23e dag na de opneming werd een open longbiopt genomen. Bij het microscopisch onderzoek van het longbiopt werd een bronchiolitis obliterans waargenomen. Ook in de weefselkweken werden geen microorganismen aangetroffen. Op de 27e dag werd hij uit het ziekenhuis ontslagen. Een maand na ontslag had hij nog een licht verlaagde arteriële pO<sub>2</sub>, en een geringe luchtweg obstructie. Na zeveneneenhalf jaar was hij alleen bij flinke inspanning kortademig. De gemiddelde geforceerde expiratie flow halverwege de uitademing van de vitale capaciteit was verlaagd.

De overige patiënten waren bij de opname duidelijk kortademig en hypoxisch. Deze drie patiënten werden na 2 1/2 tot 13 1/2 jaar na de expositie opnieuw onderzocht. Alle patiënten waren met corticosteroiden behandeld. Eén patiënt had een duidelijke luchtweg obstructie en "air trapping". Ook was de arteriële O<sub>2</sub> saturatie verlaagd bij deze patiënt. Eén andere patiënt die een bronchiolitis obliterans had gehad, hield een verminderde diffusie. De derde patiënt had een licht verlaagde arteriële pO<sub>2</sub>.

Samenvatting:

Horvath et al (1978) beschreven 5 patiënten die aan NO<sub>2</sub> waren blootgesteld. Allen hadden jaren na de expositie in lichte of ernstige mate nog longfunctiestoornissen.

Yockey et al (1980) beschreven het McConnell Missile Accident. Hierbij waren in totaal 24 mensen betrokken. Er kwam 49200 liter stikstoftetroxide vrij.

Eén patiënt (29 jaar) overleed binnen een half uur. Bij obductie werden chemische huidverbrandingen waargenomen en verder werd longoedeem gezien.

De tweede patiënt (22 jaar) was binnen 30 minuten misselijk, gaf over en werd kortademig. Na vier uur moest deze patiënt beademd worden. Na het geven van een hoge dosering corticosteroiden en PEEP beademing namen de longafwijkingen af. Hij kreeg een sepsis gepaard gaande met diffuse intravasale stolling en nierinsufficiëntie. De patiënt overleed tien dagen na de expositie. Bij de obductie vond men longoedeem en een bilaterale bronchopneumonie.

De derde patiënt (19 jaar) werd na 30 minuten misselijk, moest overgeven en werd kortademig. Hij werd na vier uren geïntubeerd en beademd. Op de röntgenfoto van de borstkas werd een beeld passend bij longoedeem gezien. Deze patiënt werd gedurende 21 dagen met corticosteroiden behandeld en gedurende 13 dagen beademd. Tijdens de ziekenhuisopname van 46 dagen heeft hij een adem- en hartstilstand gehad en een linkszijdige paralyse. De FEV<sub>1</sub> was na negen maanden 4370 ml (90% van de voorspelde waarde) en de FVC was 4680 ml (80% van de voorspelde waarde). De arteriële O<sub>2</sub> saturatie was 97%.

Van de overige 21 personen hadden er vier oppervlakkige verbrandingen. Vijf andere personen hadden oog en keel irritatie, hetgeen na 48 uren over was. Zes van de 21 personen hadden in de eerste 24 uren klachten van hoesten, kortademigheid en druk op de borst. Eén persoon had hemoptoë. De bloedgasanalyse bij deze zes personen was normaal. Ook de röntgenfoto van de borstkas toonde geen afwijkingen. Vier andere patiënten die aanvankelijk geen klachten hadden, kregen veertien dagen na de expositie tijdelijk een hypoxie.

Zeven patiënten hadden corticosteroïden gekregen. De dosering was 60 mg per dag gedurende respectievelijk een week of twee maanden. Twee van de symptomatische patiënten waren na het starten van de therapie snel klachtenvrij. Vier van de zes patiënten, die tevoren hypoxisch waren, hadden na het starten van de corticosteroïden een normale bloedgasanalyse. Een patiënt bleef klachten houden van chronisch hoesten. Na een jaar had hij een restrictieve longfunctiestoornis. Zijn totale longcapaciteit was 75% van de voorspelde waarde.

#### Samenvatting:

Yockey et al (1980) beschreven de symptomatologie bij 24 personen na inhalatie van stikstofdioxiden. Een persoon overleed vrijwel direkt en een tweede overleed na tien dagen in het ziekenhuis t.g.v. een sepsis. Een derde persoon werd gedurende 13 dagen beademd. Een van de overige 21 personen had na een jaar een restrictieve longfunctiestoornis.

Myint (1983) beschreef de ziektegeschiedenis van een 42 jarige man, die gedurende 3 uren blootgesteld was geweest aan nitreuse dampen. Na twaalf uren kreeg hij een droge hoest en werd acuut kortademig. Hij werd vervolgens in een ziekenhuis opgenomen. Bij de opneming was hij cyanotisch en dyspnoeïsch. Zijn ademfrequentie was 38/min. Over beide longen werden crepitaties gehoord. De arteriële pO<sub>2</sub> was 53 mmHg. Leukocyten aantal  $24 \times 10^9$ . Op de röntgenfoto van de longen waren de midden en ondervelden gesluierd, hetgeen kan passen bij longoedeem. De patiënt werd behandeld met zuurstof, hydrocortison, ampicilline en prednison. Op de tweede dag van de opneming werd hij geïntubeerd en beademd. De afwijkingen op de röntgenfoto waren na 5 dagen afgenomen en verdwenen na 3 maanden. De prednison werd na 7 weken gestopt. In

het artikel wordt niet vermeld wanneer de patiënt geëxtubeerd werd en na hoeveel dagen hij uit het ziekenhuis werd ontslagen. Na 75 dagen zou de patiënt volledig hersteld zijn.

Samenvatting:

Myint (1983) beschreef een patiënt die na expositie aan NO<sub>2</sub> in een ziekenhuis werd opgenomen en tijdelijk beademd moest worden. Hij werd behandeld met antibiotica en corticosteroiden. De patiënt was na 75 dagen volledig asymptomatisch.

Samenvatting van de waarnemingen bij mensen na expositie aan NO<sub>2</sub>

De eerste beschrijvingen over stikstofdioxide intoxicaties, waarbij patiënten blootstonden aan hoge doseringen stikstofdioxide dateren uit de begin jaren vijftig. Lowry (1956) beschreef een aantal boeren die hun graansilo binnen gingen nadat de silo één of twee dagen tevoren met graan gevuld was. In deze silo's waren door fermentatie hoge concentraties stikstofdioxide ontstaan. Deze boeren kregen doordat zij hoge concentraties stikstofdioxide inhaleerden de zgn. silo-filler's disease, een term die voor het eerst door Lowry werd gebruikt. Aan dit ziektebeeld zijn verschillende stadia te onderscheiden. De initiële symptomen, zoals hoesten, piepende ademhaling door bronchospasme, retrosternale pijn, misselijkheid en overgeven kunnen snel voorbijgaan, waarna met een latentie van enige uren de kortademigheid opnieuw kan verergeren. Maakt men nu een röntgenfoto van de longen (Horvath 1978, Myint 1983) dan ziet men een beeld passend bij longoedeem (aanvankelijk interstitieel later ook alveolair oedeem). Overleeft de patient deze fase, dan kan na enkele weken weer dyspnoe ontstaan, die gepaard gaat met verhoogde temperatuur. Bij onderzoek van de longen hoort men een piepende in- en uitademing. Op de röntgenfoto van de longen ziet men nu een diffuus micronodulair beeld. De longfunctie toont een obstructief longbeeld. De arteriële zuurstofspanning is verlaagd en de arteriële koolzuurspanning is verhoogd. Een open longbiopt in deze fase (Moskowitz 1964) toont ter plaatse van de bronchioli terminalis een losse matrix van collageen met veel fibroblasten. Het bronchiolaire epitheel is her en der beschadigd en soms afwezig (beeld passend bij bronchiolitis obliterans).

Therapie die tot nu toe bij mensen werd toegepast, bestond uit symptomatische behandeling (mucolytica, fysiotherapie, zuurstof vaak in hoge concentraties, bronchospasmolytica, beademing). Als bronchospasmolyticum werd aminofylline gebruikt. Corticosteroiden werden gegeven om de lokale ophoping van neutrofiele leukocyten en de leukotriënen productie te remmen (Sluiter 1985). Leukotriënen veroorzaken o.a. contractie van het gladde spierweefsel van de bronchiën en dus bronchospasme. Tevens werden de corticosteroiden gegeven om de bronchiolitis obliterans

te behandelen, echter gecontroleerde onderzoeken om na te gaan of deze therapie effectief is, zijn niet bekend.

OVERZICHT VAN DE PUBLICATIES BETREFFENDE WAARNEMINGEN BIJ MENSEN NA EXPOSITIE AAN NO<sub>2</sub>

<u>Auteur</u>	<u>Jaartal</u>	<u>Leeftijd patiënt</u>	<u>Tijdstip begin klachten na expositie</u>	<u>Tijdstip van ziekenhuisopname na expositie</u>	<u>Cyanose</u>	<u>Temperatuur</u>
Lowry	1956	28	binnen 1 dag	24 dagen	+	38.9 °C
		31	binnen 1 dag	26 dagen	+	?
		48	voorbijgaande kortdurende initiële klachten daarna tot 21e dag symptoomvrij	25 dagen	-	37.8 °C
		45	10 dagen	27 dagen	+	40 °C
Graysen	1956	66	direct	dezelfde dag	+	36.3 °C
		31	14 uren	dezelfde dag	+	-
Moskowitz	1964	20	± 14 dagen	21 dagen	+	40 °C
Müller	1969	61	3 dagen	30 dagen	+	+
		49	10 dagen	31 dagen	+	38 °C
		46	direct	2 dagen	+	?
Milne	1969	52	kortdurend hoesten + hoofdpijn hierna symptoomvrij tot 12 uren	1 dag (na 7e dag ontslag zonder klachten) heropname 14 dagen na ontslag	+	?
Tse	1970	49	binnen 20 uren	1e dag	+	38.9 °C
		43	7 weken	-	-	37.4 °C
		26	4½ week	6 weken	+	+
Ramirez	1971	36	voorbijgaande initiële symptomen 18e dag algemene malaise	39 dagen	-	subfebriel
Horvath	1978	63	enkele uren	1 dag	+	+
		19	niet zeker mogelijk na 5 dagen	± 12e dag	+	39.4 °C



<u>Auteur</u>	<u>Jaartal</u>	<u>Leeftijd patiënt</u>	<u>Tijdstip begin klachten na expositie</u>	<u>Tijdstip van ziekenhuis- opname na expositie</u>	<u>Cyanose</u>	<u>Temperatuur</u>
Yockey	1980	29	direkt	binnen 30 minuten overleden		
		22	30 minuten	1e dag	+	?
		19	30 minuten	1e dag	+	?
Myint	1983	42	12 uren	1e dag	+	?

### Kinetiek

Eigenlijk is alleen de blootstelling aan NO<sub>2</sub> via de inhalatie van belang. Daar NO<sub>2</sub> matig in water oplosbaar is, dringt NO<sub>2</sub> vooral door tot in de kleinere luchtwegen en alveoli. Uit stikstofdioxide kan in combinatie met water salpeter- en salpeterigzuur ontstaan. Salpeter- en salpeterigzuur worden in de longen gedeeltelijk geresorbeerd, echter de concentraties van NO<sub>2</sub><sup>-</sup> en NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, die in het bloed aangetroffen worden, zijn hoewel hier niet systematisch onderzoek naar werd verricht, vermoedelijk niet zo hoog dat methemoglobine vorming klinisch een belangrijke rol speelt.

### Pathofysiologie

In het verleden werd aangenomen, dat de door NO<sub>2</sub> veroorzaakte schadelijke effecten het gevolg waren van weefselbeschadiging door HNO<sub>2</sub> en/of HNO<sub>3</sub>.

Tegenwoordig denkt men dat door de sterke oxiderende werking van NO<sub>2</sub> er reactieve verbindingen ontstaan, zoals het vrije lipide radicaal, (via lipidehydroxide) hydroxyl radicaal en lipideperoxide radicaal die met celstructuren reageren, waardoor celbeschadiging ontstaat. De cellen kunnen hierdoor necrotisch worden. Vooral t.h.v. de bronchiolus terminalis en ductus alveolaris wordt de weefselbeschadiging waargenomen. De beschadiging van de basale membraan in combinatie met de celbeschadiging t.h.v. de alveolus kan interstitieel en/of alveolairoedeem tot gevolg hebben. Na de initiële weefselbeschadiging kan een ernstige ontstekingsreactie ontstaan, meestal ter plaatse van de bronchiolus. Deze ontsteking kan een bronchiolitis obliterans tot gevolg hebben. De bronchiolitis obliterans wordt in het algemeen na enkele weken manifest, terwijl de patiënt in de tussentijd klachtenvrij is.

De zuurstofopname kan belemmerd worden door bronchospasme t.g.v. de direkte prikkeling van het bronchusslijmvlies, door interstiële - en/of alveolairoedeem en door bronchiolitis obliterans. Het bronchospasme wordt direkt na de blootstelling waargenomen. Het longoedeem (interstiële of alveolair) ontstaat in het algemeen vijf tot veertien uren na de expositie. Hierna vindt meestal herstel plaats en zijn de patiënten klachtenvrij. Echter na enkele weken kan de bronchiolitis obliterans manifest worden, waardoor de patiënt wederom kortademig kan worden.

### Klinische symptomatologie bij de mens

Bij inhalatie van hoge concentraties NO<sub>2</sub> (circa > 50 - 150 ppm = 94 - 282 mg/m<sup>3</sup>) kan een gevoel worden waargenomen alsof de keel wordt dichtgeknepen, prikkelhoest, kortademigheid door bronchospasme, pijn achter het borstbeen, overgeven en algemene malaise klachten. Tevens vindt men hierbij prikkeling van de slijmvliezen van de ogen en bovenste luchtwegen.

Indien blootstelling aan nog hogere concentraties (circa > 400 - 1000 ppm = 752 - 1880 mg/m<sup>3</sup>) plaatsvindt, kan men snel in coma geraken en overlijden.

Deze initiële symptomen kunnen snel overgaan. Vervolgens kan na enkele uren weer kortademigheid door longoedeem ontstaan. Op de röntgenfoto van de longen wordt nu een beeld passend bij longoedeem gezien. Indien de patiënt hiervan herstelt, kan na enkele weken, waarin de patiënt klachtenvrij is opnieuw dyspnoe, cyanose, hoesten, soms met sanguinolent sputum ontstaan. De respiratoire insufficiëntie kan snel verergeren, en de patiënt kan in deze fase alsnog in een ziekenhuis opgenomen moeten worden wegens ernstige respiratoire insufficiëntie. De röntgenfoto van de longen toont nu kleine nodulaire infiltraten. Ook na deze fase zal in het algemeen volledig herstel kunnen plaatsvinden. Voor patiënten die tevoren een chronische aspecifieke respiratoire aandoening hadden is de prognose vermoedelijk minder gunstig.

### Therapie

De behandeling die tot nu toe werd toegepast was symptomatisch. Er is tot op heden geen goede geëvalueerde behandeling bekend. Aan de hand van gegevens uit de literatuur zal een behandelingsvoorstel worden gegeven.

De patiënt dient zo spoedig mogelijk uit de met NO<sub>2</sub> gecontamineerde omgeving te worden gehaald. Hierbij moet men wel de eigen veiligheid in acht nemen.

De initiële symptomen zijn in het algemeen kort van duur en behoeven vaak geen behandeling. Heeft blootstelling aan hoge concentraties (b.v. 50 ppm = 94 mg/m<sup>3</sup> NO<sub>2</sub> gedurende 60 minuten of 100 - 200 ppm = 188 - 376 mg/m<sup>3</sup> NO<sub>2</sub> gedurende 5 minuten) plaatsgevonden dan is het raadzaam de patiënt zo spoedig mogelijk naar een ziekenhuis te brengen voor observatie ook al lijken de symptomen aanvankelijk

mee te vallen. Immers na enkele uren kan ernstige respiratoire insufficiëntie ontstaan door longoedeem.

Mocht de patiënt vanwege arteriële hypoxie zuurstof nodig hebben, dan is het vermoedelijk verstandig het aanbod aan zuurstof zo laag mogelijk te houden daar zuurstof de vorming van zeer reactieve verbindingen in de longen bevordert en daardoor de longbeschadiging door NO<sub>2</sub> kunnen verergeren. Een arteriële pO<sub>2</sub> van ongeveer 60 mmHg zou men kunnen nastreven door de FiO<sub>2</sub> zodanig te kiezen dat dit bereikt wordt.

De bronchospasme kan men proberen te behandelen met theofylline. Mogelijk dat beta 2 sympathicomimetica (salbutamol [Ventolin<sup>R</sup>], terbutaline [Bricanyl<sup>R</sup>], fenoterol [Berotec<sup>R</sup>]) via inhalatie of via een subcutane injectie de bronchospasme kunnen opheffen.

Verder wordt vaak geadviseerd corticosteroïden via inhalatie of intraveneus te geven, echter zoals vermeld is tot op heden geen goede geëvalueerde studie bekend, die deze behandeling rechtvaardigt. Deze therapie werd ingesteld om het ontstaan van longoedeem tegen te gaan en de kans op een bronchiolitis obliterans te beperken of te behandelen. Om de vorming van longoedeem te beperken is het verstandig een voorzichtig infuus beleid te voeren en te streven naar een negatieve vochtbalans van ongeveer 500 ml in de eerste 24 uren en de dagen hierna proberen de vochtbalans in evenwicht te houden. Ondanks de toegenomen vatbaarheid voor infecties kan men beter niet profylactisch antibiotica geven, maar doet men er goed aan op geleide van de sputumkweken (indien aannemelijk is dat men met een infectie te maken heeft) antibiotische therapie in te stellen.

Indien in de eerste 24 uren na de expositie de arteriële bloedgassen en de röntgenfoto niet afwijkend zijn geworden, dan zou men de patiënt verder poliklinisch kunnen vervolgen. Geef de patiënt(e) wel het advies mee dat hij / zij bij beginnende klachten van kortademigheid zich zo spoedig mogelijk laat onderzoeken. Een enkele keer ontstaat het longoedeem later dan 24 uren. Tevens kan na enkele weken de patiënt klachten krijgen van een bronchiolitis obliterans, waarvoor observatie in een ziekenhuis nodig blijkt te zijn.

Zoals hierboven beschreven wordt bij de behandeling van een bronchiolitis obliterans wel corticosteroïden gegeven, echter een goede geëvalueerde studie om na te gaan of deze therapie daadwerkelijk zinvol is,

is niet bekend. Tot op heden is voor de bronchiolitis obliterans die na expositie aan NO<sub>2</sub> is ontstaan alleen een symptomatische therapie mogelijk.

LITERATUUR

Akino T, Ohno K. Phospholipids of the lung in normal, toxic and diseased states. CRC Critical Reviews in Toxicology 1981; 9: 201-74.

Brown RFR et al. The histopathology of rat lung following short term exposures to mixed oxides of nitrogen (NOx). Br J Exp Path 1983; 64: 579-93.

Carson TR et al. The responses of animals inhaling nitrogen dioxide for single, short-term exposures. Am Ind Hyg Assoc J 1962; 23: 457-62.

Case BW et al. Acute bronchiolar injury following nitrogen dioxide exposure: A freeze fracture study. Environ Res 1982; 29: 399-413.

Clayton GD, Clayton FE. Patty's industrial hygiene and toxicology. Third edition. New York 1981. J Wiley and sons: 4097-114.

DeNicola DB et al. Early damage indicators in the lung V. Biochemical and Cytological Response to NO<sub>2</sub> inhalation. Toxicology and applied pharmacology 1981; 60: 301-12.

Elsayed NM, Mustafa MG. Dietary antioxidants and the biochemical response to oxidant inhalation. Toxicology and applied pharmacology 1982; 66: 319-28.

Evans MJ et al. Transformation of alveolar type II cells to type I cells following exposure to NO<sub>2</sub>. Experimental and molecular pathology 1975; 22: 142-50.

Evans MJ et al. Role of the Clara cell in renewal of the bronchiolar epithelium. Lab Invest 1978; 38: 648-55.

Finney DJ. Probit Analysis, 2nd Ed. Cambridge University Press London 1952.

Foster JR et al. A comparative study of the pulmonary effects of NO<sub>2</sub> in the rat and hamster. Br J Exp Path 1985; 66: 193-204.

Grayson RR. Silage gas poisoning: nitrogen dioxide pneumonia, a new disease in agricultural workers. Annals of Internal Medicine 1956; 45: 393-408.

Guidotti TL. Oxidant gas injury to the lung: a discussion on the functional implications. Journal of applied toxicology 1985; 5: 320-6.

Guidotti TL. Toxic inhalation of nitrogen dioxide: morphologic and functional changes; Experimental and molecular pathology 1980; 33: 90-103.

Guth DJ, Mavis RD. Biochemical assessment of acute nitrogen dioxide toxicity in rat lung. Toxicology and applied pharmacology 1985; 81: 128-38.

Henderson RF et al. Early damage indicators in the lung I. Lactate dehydrogenase activity in the airways. Toxicology and applied pharmacology 1978; 44: 291-7.

Henderson RF et al. Early damage indicators in the lung III. Biochemical and cytological response of the lung to inhaled metal salts. Toxicology and applied pharmacology 1979; 50: 123-36.

Henderson RF et al. Early damage indicators in the lung IV. Biochemical and cytologic response of the lung to lavage with metal salts. Toxicology and applied pharmacology 1979; 51: 129-35.

Henderson RF et al. New approaches for the evaluation of pulmonary toxicity: broncho-alveolar fluid analysis. Fundamental and applied toxicology 1985; 5: 451-8.

Hinners RG et al. Animal inhalation exposure chambers. Arch Environ Health 1968; 16: 194-206.

Horvath EP et al. Nitrogen dioxide-induced pulmonary disease. Journal of Occupational Medicine 1978; 20: 103-10.

Hu PC et al. Protein accumulation in lung lavage fluid following ozone exposure. Environmental research 1982; 29: 377-88.

Kleinerman J, Rijnbrandt D. Lung proteolytic activity and serum protease inhibition after NO<sub>2</sub> exposure. Arch Environ Health 1976; 31: 33-7.

Kleinerman J, Cowdrey CR. The effects of continuous high level nitrogen dioxide on hamsters. Yale Journal of Biology and Medicine 1968; 40: 579-85.

Kobayashi T et al. Effects of acute nitrogen dioxide exposure on the prostacyclin synthesis in lung. Toxicology Letters 1981; 9: 373-8.

Kobayashi T et al. Effects of nitrogen dioxide exposure on prostacyclin synthesis in lung and thromboxane A<sub>2</sub> synthesis in platelets in rats. Prostaglandins 1983; 26: 303-10.

Lowry T, Schuman LM. Silo-filler's disease - a syndrome caused by nitrogen dioxide. JAMA 1956; 162: 153-60.

McGrath JJ, Smith DL. Respiratory responses to nitrogen dioxide inhalation. Subtitle: nitrogen dioxide. J Environ Sci Health 1984; A19: 417-31.

Milne JEH. Nitrogen dioxide inhalation and bronchiolitis obliterans. J Occup Med 1969; 11: 538-47.

Moskowitz RL et al. Silo-filler's disease: clinical, physiologic and pathologic study of a patient. Am J Med 1964; 36: 457-62.

Mourik JHC van. Nitreuze dampen in glasblazerijen. T Soc Geneesk 1967; 45: 49-54.

Müller B. Nitrogen dioxide intoxication after a mining accident.



Respiration 1969; 26: 249-61.

Myint SS and Lee SK. Pulmonary effects of acute exposure to nitrous fumes - a case report. Singapore Med J 1983; 24: 312-3.

Nieding G von et al. Wirkung von glukokortikosteroiden bei der experimentellen inhalation von Stickstoffdioxid ( $\text{NO}_2$ ). Int Arch Occup Environ Hlth 1977; 40: 145-52.

Norwood WC et al. Nitrogen dioxide poisoning due to metal cutting with oxyacetylene torch. J Occ Med 1966; 8: 301-6.

Prowse K. Nitrous fume poisoning. Bull Europ Physiopath resp 1977; 13: 191-202.

Ramirez-RJ. Silo-filler's disease: nitrogen dioxide induced lung injury. Annals of Internal Medicine 1971; 74: 569-76.

Ramirez-RJ. The first death from nitrogen dioxide fumes. JAMA 1974; 229: 1181-2.

Reid LM. Secretory cells. Federation Proceedings 1977; 36: 2704-07.

Rigner KG, Swensson A. The late prognosis of nitrous fume poisoning: a follow-up study. Acta Medica Scandinavica 1961; 170: 291-9.

Saltzman BE. Colorimetric microdetermination of nitrogendioxide in the atmosphere. Analytical chemistry 1954; 26: 1950-5.

Sluiter HJ et al. De obstructieve longziekten (CARA). In: Sluiter HJ et al, red. Leerboek longziekten. 1e ed. Assen: Van Gorcum, 1985.

Sriskandan K, Pettingale KW. "Numismatist's pneumonitis". A case of acute nitrogen dioxide poisoning. Postgraduate Medical Journal 1985; 61: 819-21.

Thomas HV et al. Lipoperoxidation of lung lipids in rats exposed to nitrogen dioxide. Science 1968; 159: 532-4.

Tse RL, Bockman AA. Nitrogen dioxide toxicity: report of four cases in firemen. JAMA 1970; 212: 1341-4.

Tsubone H et al. Changes of cardiac and respiratory rhythm in non- and tracheostomized rats exposed to nitrogen dioxide. Environmental research 1984; 35: 197-203.

Ward PA et al. Complement and experimental respiratory failure. Intensive Care Medicine 1986; 12: 17-21.

Westaby S. Mechanism of membrane damage and surfactant depletion in acute lung injury. Intensive Care Medicine 1986; 12: 2-5.

Widdicombe JG, Pack RJ. The Clara cell. Eur J Respir Dis 1982; 63: 202-20.

Witschi H, Côté MG. Primary pulmonary responses to toxic agents. CRC Critical reviews in toxicology 1977; 5: 23-66.

World Health Organization. Oxides of nitrogen. Environmental Health Criteria 4; Geneva 1977.

Wright ES et al. Changes in phospholipid biosynthetic enzymes in type II cells and alveolar macrophages isolated from rat lungs after NO<sub>2</sub> exposure. Toxicology and applied pharmacology 1982; 66: 305-11.

Yockey CC et al. The McConnell Missile Accident. JAMA 1980; 244: 1221-3.