



Comisión Nacional de Investigación  
Científica y Tecnológica - CONICYT



COMISIÓN NACIONAL DE INVESTIGACION CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA

VERSION OFICIAL N° 2

FECHA: 16/12/2016

**N° PROYECTO :** 1061085

**DURACIÓN :** 3 años

**AÑO ETAPA :** 2008

**TÍTULO PROYECTO :** DAÑO PULMONAR INDUCIDO POR OZONO: INTERACCION CON COBRE O CINC DEL MATERIAL PARTICULADO DEL AIRE Y SU EVENTUAL MODULACION INMUNOLOGICA Y/O ADAPTATIVA.

**DISCIPLINA PRINCIPAL :** G1 ENFERMEDADES RESPIRATORIAS, FISIOLGI

**GRUPO DE ESTUDIO :** MEDICINA G1

**INVESTIGADOR(A) RESPONSABLE :** MANUEL JESUS OYARZUN GOMEZ

**DIRECCIÓN :** [REDACTED]

**COMUNA :** [REDACTED]

**CIUDAD :** Santiago

**REGIÓN :** METROPOLITANA

**FONDO NACIONAL DE DESARROLLO CIENTIFICO Y TECNOLOGICO (FONDECYT)**

Moneda 1375, Santiago de Chile - casilla 297-V, Santiago 21

Telefono: 2435 4350 FAX 2365 4435

Email: informes.fondecyt@conicyt.cl

# INFORME FINAL

## PROYECTO FONDECYT REGULAR

### OBJETIVOS

Cumplimiento de los Objetivos planteados en la etapa final, o pendientes de cumplir. Recuerde que en esta sección debe referirse a objetivos desarrollados, NO listar actividades desarrolladas.

Nº	OBJETIVOS	CUMPLIMIENTO	FUNDAMENTO
1	Evaluar el posible sinergismo entre la exposición a ozono y la administración intratraqueal de los metales antropogénicos Cu <sup>+2</sup> ó Zn <sup>+2</sup> (en una dosis única de CuSO <sub>4</sub> o de ZnSO <sub>4</sub> ) sobre el daño pulmonar inducido aisladamente por estos contaminantes en la rata	TOTAL	
2	Evaluar la influencia de 0,25 ; 0,5 y 1 ppm de ozono administrado por un corto plazo (4 h) y de 0,25 ppm de ozono por largo plazo ( 2 meses, como también de la instilación de sulfato de cobre o de cinc (en dosis única de 5 y 10 microgramos/rata) sobre el daño pulmonar inducido en la rata.	TOTAL	
3	Evaluar los cambios inmunológicos producidos por ozono y [ozono + Cu <sup>+2</sup> ] y [ozono + Zn <sup>+2</sup> ] y determinar si estas alteraciones inmunológicas preceden al daño histológico, para lo cual estudiaremos las variables inmunológicas en dos concentraciones de ozono.	PARCIAL	El cumplimiento de este objetivo fue parcial solo en lo referente a estudiar los cambios inmunológicos inducidos por dos concentraciones de ozono, pues decidimos estudiar el efecto de 1 ppm de ozono. Esta decisión se fundamentó en los resultados obtenidos previamente con 0,25 -0,5 y 1 ppm de ozono en exposición aguda, en los cuales se obtenía mayor efecto con esta dosis. Sin embargo, los objetivos del estudio inmunológico se cumplieron totalmente, extendiéndose además al análisis de cambios de expresión de receptores celulares y producción de interleukinas por células mononucleares de sangre periférica, para estudiar el efecto sistémico de ozono y sulfato de cobre y cinc.
4	Correlacionar las alteraciones inmunológicas con el daño histológico del pulmón.	TOTAL	

Otro(s) aspecto(s) que Ud. considere importante(s) en la evaluación del cumplimiento de objetivos planteados en la propuesta original o en las modificaciones autorizadas por los Consejos.

La utilización de fondos asignados al proyecto en su 1er año sólo pudo hacerse en plenitud a contar del septiembre de 2006. Tal atraso logró ser superado en el 2º año del proyecto.

Considerando los resultados obtenidos en el desarrollo del proyecto, se efectuaron series experimentales adicionales en las que se invirtió la secuencia de exposición utilizada en el protocolo inicial, con las mayores dosis de sulfatos de cobre y zinc y de 1 ppm O<sub>3</sub> (ver informe 2º año). La inversión de la secuencia de exposición también fue aplicada en la exposición a más largo plazo.

A fin de estudiar la repercusión extrapulmonar del ozono y del sulfato de cobre y de cinc, el estudio de la respuesta inmune se extendió a su efecto sobre células mononucleares en sangre periférica.

## RESULTADOS OBTENIDOS (Nota: Las figuras citadas en el texto se incluyen en la sección anexos)

### 1.- Protocolos Experimentales efectuados en el proyecto

Tabla 1.- Protocolos experimentales

Instilación intratraqueal	Aire filtrado por 4 h	0,25 ppm O <sub>3</sub> por 4 h	0,50 ppm O <sub>3</sub> por 4 h	1 ppm O <sub>3</sub> por 4 h	Aire filtrado por 2 meses	0,50 ppm O <sub>3</sub> por 2 meses
NaCl 0,9%	10	6	10	7	6	7
CuSO <sub>4</sub> 5 µg	10	5	6	7		
CuSO <sub>4</sub> 10 µg	5	7	7	7 + 10*	7	7
ZnSO <sub>4</sub> 5 µg	7	6	7	7		
ZnSO <sub>4</sub> 10 µg	6	7	5	6 + 5*	7	7
Sin instilación	10	6	7	8	7	7

Cada cifra representa el número de ratas utilizadas en cada serie. \* Número de ratas en que se invirtió la secuencia de exposición.

Además de las 239 ratas descritas en la Tabla 1, se procesaron 142 ratas distribuidas en series controles y experimentales según se presentará en los resultados sobre respuesta inmune (ítem 5.4).

### 2.- Resultados en ratas instiladas con 5 ó 10 µg de CuSO<sub>4</sub> ó ZnSO<sub>4</sub> y expuestas a 0,25 a 1 ppm de ozono (O<sub>3</sub>) durante 4 horas.

#### 2.1.- Modificaciones del lavado broncoalveolar

a) Recuento celular: Hubo aumento del total de células y de macrófagos en todas las series instiladas con NaCl y que fueron expuestas a O<sub>3</sub>. El CuSO<sub>4</sub> y el ZnSO<sub>4</sub> también aumentaron el recuento de células totales y de macrófagos en las ratas con aire filtrado en relación a los controles (Fig.1). Hubo aumento de polimorfonucleares en las series instiladas con 5 y 10 µg de CuSO<sub>4</sub> y expuestas a 0,5 y 1 ppm de O<sub>3</sub> y también en las series con 5 µg de ZnSO<sub>4</sub> con aire filtrado (Fig. 2).

b) Actividad enzimática y proteínas totales. Hubo aumento significativo de la actividad de  $\gamma$ -glutamyl transpeptidasa (GGT) en la serie expuesta a 1 ppm O<sub>3</sub> en relación con el aumento de la dosis de CuSO<sub>4</sub> ( $p < 0,001$ ) o de ZnSO<sub>4</sub> ( $p < 0,01$ ) de 5 a 10 µg (Fig 3).

La actividad de fosfatasa alcalina aumentó significativamente en las series con aire filtrado e instiladas con 5 µg de CuSO<sub>4</sub> o de 5 µg de ZnSO<sub>4</sub> y alcanzó sus máximos valores en las series expuestas a 1 ppm O<sub>3</sub> e instiladas con 5 ó 10 µg de ZnSO<sub>4</sub> (Fig 4). En las series con aire filtrado solo se observó aumento significativo de proteínas totales con la instilación de 10 µg de ZnSO<sub>4</sub>. No se observó relación dosis efecto entre las concentraciones de O<sub>3</sub> y la concentración de proteínas.

#### 2.2.- Histopatología pulmonar

En las ratas instiladas con NaCl al 0,9%, ZnSO<sub>4</sub> o CuSO<sub>4</sub> y expuestas a O<sub>3</sub> hubo un mínimo grado de daño alveolar difuso e inflamación. La instilación de 5 µg de ZnSO<sub>4</sub> o de 5 µg de CuSO<sub>4</sub> produjo daño pulmonar histológicamente detectable en las series con aire filtrado. Sin embargo, la instilación de 10 µg ZnSO<sub>4</sub> produjo aumento moderado del número de macrófagos e inflamación pulmonar focal perivascular o peribronquial de grado leve, que no aumentó con la ulterior exposición a O<sub>3</sub> (Fig. 5). Por su parte, 10 µg de CuSO<sub>4</sub> sólo produjo inflamación en algunos de los animales que recibieron O<sub>3</sub>.

#### 2.3.- Estudios adicionales

a) Proteína C reactiva (pCr): Se utilizó como índice sistémico de inflamación en los animales que recibieron la dosis más alta de O<sub>3</sub> (1ppm O<sub>3</sub>). Al instilar las ratas que respiraron aire filtrado con 10 µg de CuSO<sub>4</sub> se apreció un aumento significativo ( $p < 0,01$ ) en la concentración de pCr en el plasma, respecto al control. Al aumentar la dosis de 5 a 10µg de CuSO<sub>4</sub> en las ratas que respiraron aire filtrado, se observó un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) en la concentración de pCr. Sin embargo, la exposición a O<sub>3</sub> en los animales instilados con CuSO<sub>4</sub> (10µg) tendió a inhibir el efecto de CuSO<sub>4</sub>. Se apreció una mayor concentración de pCr al instilarlas con 10 µg de CuSO<sub>4</sub> respecto a las que fueron instiladas con 10 µg de ZnSO<sub>4</sub> ( $p < 0,01$ ) (Fig 6).

b) Malondialdehído (MDA): Se utilizó como índice de lipoperoxidación en el tejido pulmonar. En comparación al nivel de la serie control, hubo un aumento significativo de MDA al exponer las ratas a 0,25 y 0,5 ppm de O<sub>3</sub> ( $p < 0,001$ ). El MDA también aumentó significativamente ( $p < 0,001$ ) en las series con aire filtrado con la instilación de ZnSO<sub>4</sub> siendo aún más alto con CuSO<sub>4</sub> ( $p < 0,05$ ). Sin embargo, no se observó aumento significativo al exponer las ratas con O<sub>3</sub> con instilación previa con CuSO<sub>4</sub> o ZnSO<sub>4</sub> (Tesis Medina, C; Fig 7). El MDA se determinó en muestras de pulmón de todas las series con exposición por 4 h a 0,25 -0,5 y 1 ppm de O<sub>3</sub> y con 5 µg de CuSO<sub>4</sub> y ZnSO<sub>4</sub>. Sin embargo, no fue posible determinar MDA en las series instiladas con 10 µg de sulfato de Cu o de Zn puesto que las muestras de

tejido resultaron inutilizables por desperfecto en el congelador a -80°C.- Puesto que se contaba con muestras de plasma de las series afectadas por el problema del congelador, en ellas se determinó FRAP

c) FRAP (“ferric reducing ability of plasma” o “ferric reducing activity power”). El FRAP se utilizó como indicador indirecto de la capacidad antioxidante total del plasma. Al instilar las ratas que respiraron aire filtrado con 10 µg de ZnSO<sub>4</sub>, hubo aumento significativo del FRAP respecto a la serie instilada con NaCl que respiró aire filtrado y respecto a la serie instilada con 5 µg de ZnSO<sub>4</sub> (p<0,01). La serie instilada con NaCl y expuesta a 1 ppm de O<sub>3</sub> presentó aumento de FRAP respecto al control. También, la instilación de 10 µg de CuSO<sub>4</sub> en ratas expuestas a 1 ppm de O<sub>3</sub> produjo aumento del FRAP respecto al control (Tesis Medina C; Fig 8).

### 3.- Inversión de la secuencia de exposición

Al invertir la secuencia original de exposición, es decir, la secuencia: instilación de 10 µg de CuSO<sub>4</sub> seguida de exposición a 1 ppm de O<sub>3</sub>, fue cambiada por exposición a O<sub>3</sub> seguida de instilación de CuSO<sub>4</sub>, se observó un aumento significativo de células totales, proteínas totales y GGT comparada con los controles (Fig 9). La histopatología pulmonar (Fig 10) detectó mayor puntaje de inflamación alveolar y aumento de polimorfonucleares en la serie O<sub>3</sub> + CuSO<sub>4</sub> (1,7 puntos; escala: 0= ausente; 1= leve; 2= moderado; 3= intenso; 4 = muy intenso) que en la serie CuSO<sub>4</sub> +O<sub>3</sub> (0,14) y que en todas las demás series (0 a 0,3) (p<0,05; Kruskal-Wallis). Concluimos que la exposición aguda a O<sub>3</sub> (1 ppm durante 4 h) seguida de la instilación intratraqueal de una dosis única de 10 µg de sulfato de cobre en la rata, produce mayor daño pulmonar que cuando se invierte el orden de dicha exposición (Sánchez et al Rev Chil Enf Respir 2008, 24: 352). Además, el daño pulmonar derivado de la interacción entre ozono y CuSO<sub>4</sub> dependería de la secuencia de exposición a estos contaminantes (Oyarzún et al Eur Respir J 2008, S52: P3835).

Considerando estos resultados, se comparó el daño pulmonar en la exposición a 1 ppm O<sub>3</sub> por 4 h seguida de la instilación intratraqueal de 10 µg de ZnSO<sub>4</sub> con la secuencia inversa. La histopatología pulmonar mostró un puntaje de inflamación promedio menor en la secuencia [O<sub>3</sub> + ZnSO<sub>4</sub>] que en [ZnSO<sub>4</sub> + O<sub>3</sub>] (puntaje: 0,4 vs. 1). En el LBA hubo aumento significativo (p ≤0,05; ANOVA y Newman-Keuls) de células y proteínas totales y disminución de fosfatasa alcalina en la secuencia [ZnSO<sub>4</sub>+ O<sub>3</sub>]. Por lo tanto, la exposición a [O<sub>3</sub> + ZnSO<sub>4</sub>] produce igual o menor daño pulmonar que la secuencia inversa. Por lo que se puede inferir que la interacción entre O<sub>3</sub> y ZnSO<sub>4</sub> sería diferente de la interacción entre O<sub>3</sub> y CuSO<sub>4</sub>.

**Tabla 2.- Histopatología pulmonar en exposición aguda**

Serie	Inflamación	Otras lesiones	Comentarios
AF sin instilar	0		
AF con NaCl	0		
O <sub>3</sub> + aire filtrado	0		Macrófagos peri-bronquiales
O <sub>3</sub> +NaCl	0		
AF+CuSO <sub>4</sub>	0,33    2/6		PMN alveolares 2/6
O <sub>3</sub> +CuSO <sub>4</sub>	1,7    6/6	Cristaloides eosinófilos 1/6	PMN alveolares 6/6
CuSO <sub>4</sub> +O <sub>3</sub> **	0,14    1/7	Edema perivascular	
O <sub>3</sub> +ZnSO <sub>4</sub>	0,4    1/5		Macrófagos +
ZnSO <sub>4</sub> + O <sub>3</sub> **	1,0    6/6		Macrófagos ++

El primer valor es el promedio aritmético de la intensidad de la lesión de 0 a 4. El segundo valor indica la frecuencia.\*\* Secuencia de exposición original. AF= aire filtrado; PMN = células polimorfonucleares.

### 5.- Resultados de la instilación de 10 µg de CuSO<sub>4</sub> ó ZnSO<sub>4</sub> seguida por la exposición intermitente a O<sub>3</sub>

Se evaluó el posible sinergismo entre la exposición crónica e intermitente a ozono [0,5 ppm O<sub>3</sub>; 5 días a la semana, 4h diarias por 2 meses] y la administración intratraqueal de 10 µg de sulfato de cobre o de cinc, sobre el daño inducido aisladamente por estos contaminantes en el pulmón de rata.

#### 5.1.- Series experimentales

Tabla 3.- Protocolos experimentales: exposición crónica e intermitente a ozono

Instilación Intratraqueal	Aire filtrado	0,5 ppm O <sub>3</sub> por 4 h/5día por 2 meses
NaCl 0,9%	7*	7
10 µg CuSO <sub>4</sub>	7	7
10 µg ZnSO <sub>4</sub>	7	7
Sin instilación	7	7

\* Cada cifra indica en número de ratas de cada serie

## 5.2.- Determinaciones en el Lavado Broncoalveolar

En relación al resto de las series controles hubo un aumento significativo en el recuento total de células en las series instiladas con sulfato de cobre y que inhalaban aire filtrado o fueron expuestas a ozono. También hubo aumento significativo de las células de la serie tratada con ozono (sin instilar) y con ozono + sulfato de cinc. El mayor recuento celular correspondió a la serie [ozono + sulfato de cobre] (Figura 11).

El recuento de neutrófilos del LBA alcanzó su mayor nivel en la serie [aire filtrado + sulfato de cobre], las proteínas también alcanzaron su mayor elevación en esta serie y en la serie con ozono sin instilación. Sin embargo, no se encontró diferencias significativas en estos índices entre ninguna de las series estudiadas.

La actividad de la  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa (GGT) de las series [ozono + sulfato de cobre] y [ozono + sulfato de cinc] mostró un aumento significativo respecto a sus controles ( $p < 0,05$ ). No hubo diferencias significativas entre la actividad GGT de la serie [ozono + sulfato de cobre] versus [aire filtrado + sulfato de cobre]. Por su parte la serie [ozono + sulfato de cinc] presentó mayor actividad de GGT que la serie [aire filtrado + sulfato de cinc] (Figura 12).

La actividad de fosfatasa alcalina presentó un aumento significativo en las series expuestas a [ozono + sulfato de cobre] y [ozono + sulfato de cinc] en comparación a las series controles. La fosfatasa alcalina alcanzó su mayor actividad en la serie [ozono + sulfato de cinc] (Figura 13).

La concentración de proteína C reactiva se encontró aumentada en las series [aire filtrado + sulfato cúprico], [ozono + sulfato cúprico] y [ozono + sulfato de cinc], alcanzando su concentración más baja en la serie [aire filtrado + sulfato cinc]. (Figura 14).

La concentración plasmática de F2 isoprostano en la serie [aire filtrado + sulfato de cobre] fue tres veces más alto que el valor de las series controles. Su valor promedio también estuvo aumentado, aunque en menor grado en las series [ozono + sulfato de cobre], [aire filtrado + sulfato de cinc] y [ozono + sulfato de cinc] (Figura 15).

## 5.3.- Histopatología pulmonar

El puntaje histopatológico de lesiones (Tabla 4) mostró asociación entre la exposición a ozono y bronconeumonía. Por otra parte, la instilación de  $\text{CuSO}_4$  o de  $\text{ZnSO}_4$  tanto en las series con aire filtrado como en las series con ozono produjo daño en los macrófagos expresado en la detección de macrófagos vacuolados, que corresponden a una población de macrófagos con citoplasma espumoso. Por lo tanto, el estudio histopatológico (Tabla 4) sugiere que la exposición crónica e intermitente a ozono estaría asociada a bronconeumonía, en tanto que la instilación de sulfato de cinc o de cobre produciría un daño pulmonar estructural evidenciado por la acumulación de macrófagos.

**Tabla 4.- Estudio histopatológico en exposición crónica e intermitente a 0,5 ppm de ozono y ulterior instilación con 10  $\mu\text{g}$  de sulfato de cobre o de cinc**

Serie	Inflamación	Macrófagos	Comentarios
AF sin instilar (n=7)	0	0,14 1/7	
AF con NaCl (n=6)	0	1 6/6	
O3 sin instilar (n=7)	1,14 3/7(PMN)	0	3 con bronconeumonía
O3 + NaCl (n=7)	0,28 1/7 (PMN)	0,86 6/7	1 con bronconeumonía
AF+CuSO4 (n=7)	0,43 1/7 (PMN)	1,14 7/7 (M $\phi$ vacuolados)	1 con cristales eosinófilos
O3+CuSO4 (n = 7)	0,43 2/7	1,29 7/7 M $\phi$ vacuolados+pigmento	1 con bronconeumonía multifocal
AF + ZnSO4 (n = 7)	0,28 1/7 (PMN)	0,43 2/7 (M $\phi$ vacuolados)	1 con bronconeumonía multifocal
O3 +ZnSO4 (n = 7)	0,28 1/7 (PMN)	1,28 7/7 (M $\phi$ vacuolados)	1 con bronconeumonía

El primer valor es el promedio aritmético de la intensidad de las lesiones detectadas en escala de 0 a 4. El segundo valor indica la frecuencia. AF= aire filtrado; PMN = células polimorfonucleares. M $\phi$ = macrófagos.

#### 5.4.-Respuesta inmune a la inhalación de ozono o/e instilación bronquial de sulfato de cobre o de cinc

Los protocolos experimentales de exposición aguda a ozono en los que se llevó a efecto el estudio inmunológico se señalan en la Tabla 5.

**Tabla 5.- Series experimentales del estudio inmunológico en exposición aguda a ozono**

Instilación Intratraqueal	Aire filtrado	1 ppm O <sub>3</sub> por 4 h
NaCl 0,9%	41	13
5 µg CuSO <sub>4</sub>	6	6
10 µg CuSO <sub>4</sub>	12	10
10 µg ZnSO <sub>4</sub>	12	10
Sin instilación	9	6

\* Cada cifra indica en número de ratas de cada serie

Inicialmente se efectuaron las siguientes determinaciones en células mononucleares (MNC) de sangre periférica y en células del LBA: el porcentaje, y la intensidad media de fluorescencia (IMF) de linfocitos TCD4+ y TCD8+ y los marcadores de activación CD25+ y moléculas co-estimuladoras CD28+ presentes en linfocitos TCD4+ y TCD8+. Además las células obtenidas fueron cultivadas por 24 horas en presencia y ausencia de PHA (fitohemoaglutinina) y LPS (lipopolisacáridos), luego el sobrenadante fue guardado a -20°C para el posterior análisis de interleukinas.

En sangre periférica se observó un aumento significativo del porcentaje de células T CD4+CD25+ y T CD8+CD25+ cuando las ratas fueron expuestas a la inhalación de O<sub>3</sub> sólo o asociado a la instilación de NaCl, y de CuSO<sub>4</sub>, ya sea en concentración de 5 ó de 10 µg en comparación con ratas control expuestas a la inhalación de aire filtrado (Figura 17a y 17b).

La Intensidad Media de Fluorescencia (IMF) de las moléculas de CD25+ que es un índice del número de moléculas de cada célula, se encontró disminuida tanto en células TCD4+ como TCD8+ expuestas a la inhalación de O<sub>3</sub> y a la instilación de NaCl ya sea sólo o con O<sub>3</sub>. También la instilación de CuSO<sub>4</sub> sólo o con O<sub>3</sub> produjo disminución de la IMF de CD25+.

Las células que expresan las moléculas co-estimuladoras CD28+ no presentaron aumento porcentual después de la instilación de las partículas. Sin embargo, la intensidad media de fluorescencia (IMF) de las moléculas CD 28+ disminuyó significativamente con la instilación de CuSO<sub>4</sub> y ZnSO<sub>4</sub> tanto en células TCD4+ como TCD8+. (Figura 18a y 18b).

Estos resultados, sugieren que tanto el O<sub>3</sub> como el CuSO<sub>4</sub> y el ZnSO<sub>4</sub> a pesar de ser introducidos por vía respiratoria e intratraqueal tienen repercusión sistémica. Además, a pesar de que el número de células T que expresan CD25+ aumentan, las moléculas de ellas disminuyen al igual que las moléculas de CD28+, esto podría alterar la capacidad de respuesta inmune de estas células.

Para hacer este estudio en las células mononucleares del LBA en ocasiones fue necesario juntar el LBA de 3 ratas para obtener un número aceptable de células, debido al escaso número de células mononucleares obtenidas en el LBA individual (Figuras 19 y 20).

En las series experimentales señaladas en la Tabla 5 también se estudiaron las siguientes interleuquinas: TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10, IL-4 e INF- $\gamma$  en los sobrenadantes de células mononucleares de sangre periférica (MNC) y del lavado broncoalveolar (LBA) estimuladas con fitohemaglutinina (PHA) y/o lipopolisacáridos (LPS).

En líneas generales podemos informar que en las ratas instiladas con CuSO<sub>4</sub> o con ZnSO<sub>4</sub> se encontró un aumento significativo de la producción de ILs de fase aguda (TNF- $\alpha$  e IL-6), tanto en células obtenidas del LBA como en MNC de sangre periférica. En las células del LBA, fundamentalmente constituida por macrófagos alveolares, se detectó una producción significativamente mayor de TNF- $\alpha$  e IL-6 que en las células mononucleares de sangre periférica en todas las series estudiadas. La exposición a 1 ppm de ozono aumentó la producción de estas ILs. Sin embargo, cuando a la exposición a ozono se agrega la instilación intratraqueal de CuSO<sub>4</sub> o de ZnSO<sub>4</sub> la producción de estas interleuquinas no se modifica o bien disminuye.

La producción de IFN- $\gamma$ , IL-10 e IL-4 tiene diferente respuesta según el protocolo experimental. En las ratas expuestas a 1 ppm de O<sub>3</sub> se produce aumento de la producción de estas interleuquinas. En tanto que la instilación de CuSO<sub>4</sub> o de ZnSO<sub>4</sub> no muestra efecto tanto a nivel de MNC de sangre periférica como en células del LBA.

Es destacable que de que la instilación de CuSO<sub>4</sub> y de ZnSO<sub>4</sub> ellos se realiza por vía intratraqueal, se hata observado relación entre los cambios producidos en células de LBA y MNC de sangre periférica, indicando que hay un efecto sistémico.

Los gráficos que se presentan a continuación están expresados en medianas, percentil 25-75 y valor mínimo y máximo. En el análisis estadístico se utilizó ANOVA, Kruskal-Wallis y Mann-Whitney. Las células obtenidas del LBA y de sangre periférica fueron estimuladas por 24 h con PHA+LPS

Las células del LBA producen mayor cantidad de TNF- $\alpha$  (pg/ml) cuando las ratas han sido instiladas con ZnSO<sub>4</sub> 10  $\mu$ g que con CuSO<sub>4</sub> a igual concentración y que aquellas tratadas con NaCl. (Figura 21). Hay que destacar que la instilación de NaCl es capaz de inducir mayor producción TNF- $\alpha$  que los controles que solo inhalaron aire filtrado

Las células mononucleadas de sangre periférica (MNC) producen mayor cantidad de TNF- $\alpha$  en aquellas ratas tratadas con NaCl que en las controles sin instilar que respiraron aire filtrado. Estas MNC producen significativamente mayor cantidad de TNF- $\alpha$  en animales tratados con CuSO<sub>4</sub> 10  $\mu$ g, lo que a diferencia del LBA, no ocurre con ZnSO<sub>4</sub> indicando que el CuSO<sub>4</sub> podría tener mayor efecto sistémico. Las ratas tratadas con O<sub>3</sub> disminuyen la producción de TNF- $\alpha$  en comparación con las no tratadas tanto en las instiladas con CuSO<sub>4</sub> 10  $\mu$ g como las instiladas con 10  $\mu$ g de ZnSO<sub>4</sub> (Figura 22).

Las células del LBA de las ratas tratadas con O<sub>3</sub> y ZnSO<sub>4</sub> (10  $\mu$ g) y con O<sub>3</sub> y CuSO<sub>4</sub> (5  $\mu$ g) producen significativamente más IL-6 que las controles instiladas con NaCl+O<sub>3</sub> (Figura 23).

En las MNC el O<sub>3</sub> tiene el efecto de aumentar la capacidad de producción de IL-6. En cambio en aquellas ratas tratadas con O<sub>3</sub> e instiladas con CuSO<sub>4</sub> 10  $\mu$ g y con ZnSO<sub>4</sub> 10  $\mu$ g disminuye la capacidad de producir IL-6 en relación a la administración única de CuSO<sub>4</sub> o de ZnSO<sub>4</sub> (Figura 24).

En las células del LBA de las ratas expuestas a [O<sub>3</sub> + CuSO<sub>4</sub>] hay una mayor producción de IFN- $\gamma$  que con la instilación única de CuSO<sub>4</sub>. Esto no ocurre en las ratas instiladas con ZnSO<sub>4</sub> a pesar que el ZnSO<sub>4</sub> (10  $\mu$ g) induce mayor producción de IFN- $\gamma$  que el CuSO<sub>4</sub> (10  $\mu$ g). (Figura 25)

En células MNC la producción de IFN- $\gamma$  mostró una respuesta diferente en las ratas sometidas a la inhalación de O<sub>3</sub> e instiladas con 10  $\mu$ g de CuSO<sub>4</sub>. En este caso hubo disminución significativa de la producción de IFN- $\gamma$  en relación a la instilación única de 10  $\mu$ g CuSO<sub>4</sub> (Figura 26).

La IL-10 es producida por las células del LBA en cantidades significativamente mayores en ratas instiladas con ZnSO<sub>4</sub>. Cuando se agrega O<sub>3</sub> tanto el ZnSO<sub>4</sub> como el CuSO<sub>4</sub> en dosis de 10  $\mu$ g producen aumento de la producción de IL-10 (Figura 27). La IL-10 producida por MNC, en cambio disminuye en las ratas tratadas con ZnSO<sub>4</sub> 10  $\mu$ g y O<sub>3</sub> (Figura 28).

Las células del LBA produjeron mayor cantidad de IL-4 en la serie [5  $\mu$ g de CuSO<sub>4</sub> + O<sub>3</sub>] que en la serie [ZnSO<sub>4</sub> +O<sub>3</sub>] (Figura 29). Esto es coincidente con el hallazgo histopatológico de eosinófilos en ratas tratadas con CuSO<sub>4</sub>. La IL-4 aunque no actúa como quimiotáctico para eosinófilos su presencia generalmente se acompaña de IL-5 que es la IL activante de eosinófilos. En contraste en las MNC, hubo mayor producción de IL-4 en ratas tratadas con ZnSO<sub>4</sub> que con CuSO<sub>4</sub> (Figura 30)

### 5.3.- Estudio Inmunológico en ratas expuestas crónica e intermitentemente a ozono

**Tabla 6.- Series del estudio inmunológico en exposición crónica e intermitente a O<sub>3</sub>**

Instilación Intratraqueal	Aire filtrado	0,5 ppm O <sub>3</sub> por 4 h/5 días por 2 meses
10 $\mu$ g CuSO <sub>4</sub>	6	5
Sin instilación	9	6

En las células del LBA de ratas expuestas crónica e intermitentemente a 0,5 ppm de O<sub>3</sub> por 2 meses la producción de TNF no se alteró, pero la producción de IL-6 disminuyó significativamente con la instilación de CuSO<sub>4</sub> (Figura 31). En esta misma serie de ratas la producción de IFN- $\gamma$  por las células del LBA está disminuida. No hay variación en la producción de IL-10 e IL-4 (Figura 32).



## OTROS LOGROS DEL PROYECTO:

- **Formación de recursos humanos**

- 

*Unidades de investigación:*

**a) Pregrado :** " *Daño pulmonar inducido por ozono: Interacción con cobre del material particulado del aire*"(2007). Rosario Ruiz-Tagle, Cindy Urrea y Nicole Vásquez, alumnas del 2º año de medicina, Univ. de Chile y Catherine Darling, alumna de intercambio de la Univ. California, Berkeley.

*Efecto de la secuencia de exposición sobre el daño pulmonar inducido por la interacción entre sulfato de zinc y ozono* (2008) Pilar Acuña, Francisca Alvarado y Jaime Barahona, alumnos 2º año Medicina, Univ de Chile.

**b) Postgrado:** "*Daño Pulmonar inducido por la exposición a sulfato de cobre y ozono: efecto de la secuencia de exposición*". Susan Sánchez R., Programa de Magíster en Ciencias Biológicas y Médicas, Facultad de Medicina, Univ. de Chile. 2008

- **Actividades de difusión y/o extensión en la temática del proyecto, a cargo del Investigador Responsable**

1.- Conferencia: "Contaminación del aire e impacto sobre el sistema respiratorio" XV Jornadas de Invierno Sociedad Chilena de Enfermedades Respiratorias: "Contaminación, Tabaco y Salud" Santiago 9 de Junio, 2006.

2.- "Impacto de la contaminación atmosférica sobre el sistema respiratorio" Charla en el Simposio *Farmacología de Enfermedades Respiratorias: contaminación ambiental y tabaco*" XXVIII Congreso Anual de la Sociedad de Farmacología de Chile. Olmué 22 de Agosto, 2006.

3.- "Efectos de la contaminación atmosférica en la salud". Conferencia dictada el 4 de Diciembre, 2006, en el Curso de Gestión y Política Ambiental para Latinoamérica y el Caribe. Centro Nacional del Medio Ambiente, Universidad de Chile, con el apoyo de la Agencia de Cooperación Internacional de Japón (JICA) y la Agencia de Cooperación Internacional de Chile (AGCI). Santiago, 20 de Noviembre al 7 de Diciembre de 2006.

4.- "Efectos adversos de los contaminantes aéreos sobre la salud I". Charla realizada el 11 de septiembre, 2007 en el Curso Efectos Biomédicos de los Contaminantes Ambientales, Escuela de Postgrado, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 2º semestre 2007.

5.- "Efectos de la contaminación atmosférica en la salud". Conferencia dictada el 5 de Noviembre, 2006, en el Curso de Gestión y Política Ambiental para Latinoamérica y el Caribe. Centro Nacional del Medio Ambiente, Universidad de Chile, con el apoyo de la Agencia de Cooperación Internacional de Japón (JICA) y la Agencia de Cooperación Internacional de Chile (AGCI). Santiago, 22 de Octubre al 9 de Noviembre de 2007.

6.- "Efectos de la contaminación aérea sobre el sistema respiratorio" Charlas realizadas en el Curso Avanzado de Fisiopatología Respiratoria 2007 y 2008, Escuela de Postgrado, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 2º semestre 2007 y 2008.

7.- "Contaminación ambiental –atmosférica e intradomiciliaria- y sus efectos en salud" 1er Congreso de Atención Primaria en Salud: "*Mejorando la red asistencial con un enfoque multidisciplinario*" Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Católica del Maule. Talca 29.08.2008.

8.- "Desencuentros entre los conocimientos y las políticas públicas para afrontar la contaminación atmosférica" y "Características y evolución de la contaminación extradomiciliaria en Chile" Dos conferencias programadas para mayo de 2009 por la Sociedad Chilena de Neumología Pediátrica (Sochinep)

- **Artículo Editorial**

Oyarzún M. Desencuentros entre los conocimientos y las políticas públicas para afrontar la contaminación atmosférica. Rev Chil Enf Respir 2006, 22 (3):151-154.

## RESUMEN

Considerando que en ciertas condiciones en el aire pueden coexistir elevadas concentraciones de ozono ( $O_3$ ) y de partículas conteniendo metales, o bien una elevación de la concentración de partículas con metales puede ser precedida o sucedida por aumento del  $O_3$  troposférico, y dado que existiría sinergismo entre material particulado aéreo y  $O_3$ , el propósito de este proyecto fue evaluar la posible interacción entre la instilación intratraqueal de sulfato de cobre o de cinc y la exposición aguda o prolongada e intermitente a  $O_3$ .

En este proyecto nos interesó conocer si existe sinergismo entre el daño pulmonar producido por la exposición a  $O_3$  y a sulfato de cobre o de cinc y su eventual modulación por los mecanismos de defensa de inmunidad celular y por la potencial adaptación a la exposición crónica intermitente a  $O_3$ .

Para estos fines se expusieron ratas machos Sprague-Dawley de 2 meses de edad a 0,25; 0,5 y 1 ppm de  $O_3$  durante 4 h (exposición aguda) y por 2 meses, 4 h diarias por 5 días a la semana (exposición crónica intermitente). La exposición a  $O_3$  fue complementada en algunas de las diversas series con la instilación intratraqueal de una dosis única de 5 ó de 10  $\mu g$  de sulfato de cobre o de cinc. El daño pulmonar se evaluó por determinaciones en el lavado broncoalveolar (recuento total y diferencial de células, proteínas totales y actividad enzimática) y por histopatología. La respuesta inmune se evaluó determinando subpoblaciones linfocitarias en el del lavado broncoalveolar (LBA) y la expresión de marcadores de activación. En los sobrenadantes de células mononucleares de sangre periférica (MNC) y LBA estimuladas con fitohemaglutinina (PHA) y/o lipopolisacáridos (LPS) se estudiaron las siguientes interleuquinas (IL): TNF- $\alpha$  (factor de necrosis tumoral alfa), IL-6, IL-10, IL-4 e INF- $\gamma$  (interferón gama).

Resultados alcanzados:

En ratas respirando aire filtrado ( $PM_{10}$ ), la instilación intratraqueal de 5  $\mu g$  de sulfato de cinc produjo más alteraciones pulmonares que el sulfato de cobre en igual dosis. Cuando se usó 10  $\mu g$  de sulfato de cobre o de cinc el daño pulmonar tiende a igualarse en algunos índices y se acompaña de reacción inflamatoria sistémica. La inhalación de 0,25 a 1 ppm de  $O_3$  por 4 h produce una inflamación alveolar neutrofílica mínima. La instilación de sulfato de cobre o de cinc en dosis de 5 ó de 10  $\mu g$  seguida de la inhalación de 0,25 a 1 ppm de  $O_3$  por 4 h no produce un efecto nocivo sumatorio sobre el pulmón que sea estadísticamente significativo. La interacción entre sulfato de cobre (10  $\mu g$ ) y ozono (1 ppm) dependió de la secuencia de exposición ya que la exposición a 1 ppm de  $O_3$  seguida de instilación intratraqueal de sulfato de cobre provocó mayor daño pulmonar que la secuencia inversa. En contraste, el daño pulmonar producido por sulfato de cinc (10  $\mu g$ ) y ozono (1 ppm) es independiente de la secuencia de exposición. Lo cual sugiere que la interacción entre la exposición a  $O_3$  y sulfato de cobre es diferente a la interacción entre  $O_3$  y sulfato de cinc.

En las ratas instiladas con sulfato de cobre o con sulfato de cinc se encontró un aumento significativo de la producción de interleuquinas de fase aguda (TNF- $\alpha$  e IL-6), tanto en células obtenidas del LBA como en MNC de sangre periférica. En las células del LBA, fundamentalmente constituida por macrófagos alveolares, se detectó una producción significativamente mayor de TNF- $\alpha$  e IL-6 que en las células mononucleares de sangre periférica en todas las series estudiadas. La exposición a 1 ppm de ozono aumentó la producción de estas interleuquinas. Sin embargo, cuando a la exposición a ozono se agrega la instilación intratraqueal de sulfato de cobre o de sulfato de cinc la producción de estas interleuquinas no se modifica o bien disminuye.

La producción de IFN- $\gamma$ , IL-10 e IL-4 por parte de células del LBA y MNC de sangre periférica difiere según el contaminante. La exposición a 1 ppm de  $O_3$  aumenta de la producción de estas interleuquinas. En tanto que la instilación de sulfato de cobre o de cinc no generó cambios significativos en estas interleuquinas.

Por otra parte, la relación observada entre los cambios producidos en células del LBA y células mononucleares circulantes, indicaría que hay un efecto sistémico de los contaminantes administrados por vía intratraqueal.

La exposición crónica e intermitente a 0,5 ppm de ozono por 2 meses produjo aumento del recuento de células totales y de fosfatasa alcalina en el LBA. La instilación de sulfato de cobre "per se" produce aumento de células y de gama glutamiltraspesptidasa (GGT) del LBA asociado a un notable aumento de F2 isoprostano, por lo que el daño producido por sulfato de cobre podría estar asociado a estrés oxidativo. A pesar de esto, la administración de  $O_3$  (agente oxidante) seguida de instilación de sulfato de cobre, no produce un mayor incremento de células y GGT en el LBA. La instilación de sulfato de cinc "per se" no produce cambios importantes en el LBA, aunque asociado a  $O_3$  produce aumento de células, GGT y fosfatasa alcalina.

En las células del LBA de ratas expuestas crónica e intermitentemente a 0,5 ppm de  $O_3$  por 2 meses la producción IL-6 e IFN- $\gamma$  disminuyó significativamente con la instilación de sulfato de cobre. El estudio histopatológico sugiere que la exposición crónica e intermitente a ozono estaría asociada a bronconeumonía, en tanto que la instilación de sulfato de cinc o de cobre produciría un daño pulmonar estructural evidenciado por la acumulación de macrófagos.

En resumen, hemos demostrado que la exposición a ozono, sulfato de cobre y sulfato de cinc produce una reacción inflamatoria aguda y crónica. El daño pulmonar podría explicar el aumento de susceptibilidad a infecciones respiratorias en individuos expuestos a estos contaminantes y también el aumento de hiperreactividad bronquial descrita en esta condición.

# PRODUCTOS

## ARTÍCULOS

Para trabajos en Prensa/ Aceptados/Enviados adjunte copia de carta de aceptación o de recepción.

**N° :** 1  
**Autor (a)(es/as) :** Oyarzún,M.; Sánchez, S.;Dussaubat,N.; Miller, ME.; González, S.  
**Nombre Completo de la Revista :** Revista Médica de Chile  
**Título (Idioma original) :** Efecto del sulfato de cobre en el daño pulmonar inducido por la exposición crónica intermitente a ozono  
**Indexación :** ISI  
**ISSN :** 0034-9897  
**Año :** 2017  
**Vol. :**  
**N° :**  
**Páginas :**  
**Estado de la publicación a la fecha :** Aceptada  
**Otras Fuentes de financiamiento, si las hay :**

**Envía documento en papel :** no  
**Archivo(s) Asociado(s) al artículo :**  
AceptacionMsRMChMOyarzun.pdf  
[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_articulos/descarga/4815291/1061085/2008/90897/1/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_articulos/descarga/4815291/1061085/2008/90897/1/)  
  
MsOzono+CuTextoVcorregida\_....pdf  
[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_articulos/descarga/4815291/1061085/2008/90897/2/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_articulos/descarga/4815291/1061085/2008/90897/2/)  
  
TablasFigsMs5346.pdf  
[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_articulos/descarga/4815291/1061085/2008/90897/3/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_articulos/descarga/4815291/1061085/2008/90897/3/)

**N° :** 2  
**Autor (a)(es/as) :** Oyarzún, M.; Dussaubat, N.;Miller, ME.; López, M.;Méndez, G.;Miranda, J.  
**Nombre Completo de la Revista :** Revista Chilena de Enfermedades Respiratorias  
**Título (Idioma original) :** El ejercicio físico aumenta el daño pulmonar inducido por la exposición aguda e intermitente a 0,5 ppm de ozono en ratas juveniles  
**Indexación :** SciELO  
**ISSN :** 0716-2065  
**Año :** 2013  
**Vol. :** 29  
**N° :** 3  
**Páginas :** 141-148  
**Estado de la publicación a la fecha :** Publicada  
**Otras Fuentes de financiamiento, si las hay :**

**Envía documento en papel :** no  
**Archivo(s) Asociado(s) al artículo :**  
OzonoEjercicio.pdf

## OTRAS PUBLICACIONES / PRODUCTOS

**N° :** 1  
**Autor (a)(es/as) :** Oyarzún, M.  
**Título (Idioma original) :** Contaminación atmosférica  
**Tipo de publicación o producto :** Capítulo de Libro  
**ISBN :** 978-856-220-315-9  
**Editor (es) (Libro o Capitulo de libros) :** Rodríguez, JC.; Undurraga, A.  
**Nombre de la editorial /Organización :** Mediterráneo Ltda. Texto Enfermedades Respiratorias, 2ª Edición  
**País :** CHILE  
**Ciudad :** Santiago  
**Fecha :** Noviembre - 2009  
**Año :** 2011  
**Vol. :** Capitulo61  
**N° :**  
**Páginas :** 1171-1191  
**Otras Fuentes de financiamiento, si las hay :**

**Envía documento en papel :** si

**Archivo(s) Asociado(s) al artículo :**

CONSTANCIA\_10.03.2008.pdf

[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_otras\\_publicaciones/descarga/4815291/1061085/2008/120/1/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_otras_publicaciones/descarga/4815291/1061085/2008/120/1/)

CAtmMedR.pdf

[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_otras\\_publicaciones/descarga/4815291/1061085/2008/120/2/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_otras_publicaciones/descarga/4815291/1061085/2008/120/2/)

---

**N° :** 2  
**Autor (a)(es/as) :** Oyarzún, M.; Pino, P.  
**Título (Idioma original) :** Contaminación atmosférica y del aire intradomiciliario  
**Tipo de publicación o producto :** Capítulo de Libro  
**ISBN :** 978-956-220-340-1  
**Editor (es) (Libro o Capitulo de libros) :** Herrera, O.; Quezada, A.  
**Nombre de la editorial /Organización :** Mediterráneo Ltda. Text:Enfermedades Respiartorias en Pediatría  
**País :** CHILE  
**Ciudad :** Santiago  
**Fecha :** Diciembre - 2007  
**Año :** 2012  
**Vol. :** Capitulo 5  
**N° :**

**Páginas :** 39-48

**Otras Fuentes de financiamiento, si las hay :**

**Envía documento en papel :** si

**Archivo(s) Asociado(s) al artículo :**

CONSTANCIA\_11.03.2008\_DR.O.H.G..pdf

[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_otras\\_publicaciones/descarga/4815291/1061085/2008/122/1/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_otras_publicaciones/descarga/4815291/1061085/2008/122/1/)

Capitulo\_Texto\_MOyartzunPPino.pdf

[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_otras\\_publicaciones/descarga/4815291/1061085/2008/122/2/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_otras_publicaciones/descarga/4815291/1061085/2008/122/2/)

---

**N° :** 3

**Autor (a)(es/as) :** Oyarzún, M.

**Título (Idioma original) :** Contaminación atmosférica e intradomiciliaria

**Tipo de publicación o producto :** Otros **Especificar :** Capítulo de texto electrónico de Enfermedades Respiratorias

**ISBN :**

**Editor (es) (Libro o Capítulo de libros) :**Undurraga, A.

**Nombre de la editorial /Organización :** Medichi.

**País :** CHILE

**Ciudad :** Santiago

**Fecha :** Julio - 2009

**Año :**

**Vol. :**

**N° :**

**Páginas :**

**Otras Fuentes de financiamiento, si las hay :**

**Envía documento en papel :** si

**Archivo(s) Asociado(s) al artículo :**

ConstanciaTxE.pdf

[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_otras\\_publicaciones/descarga/4815291/1061085/2008/124/1/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_otras_publicaciones/descarga/4815291/1061085/2008/124/1/)

---

**N° :** 4

**Autor (a)(es/as) :** Oyarzún, M.

**Título (Idioma original) :** Contaminación aérea y sus efectos en la salud

**Tipo de publicación o producto :** Seminario/Taller/Curso

**ISBN :**

**Editor (es) (Libro o Capitulo de libros) :**Cid, D.

**Nombre de la editorial /Organización :** 1er Congreso de atención primaria en salud: Mejorando la red asistencial con un enfoque multidisciplinario. Universidad

**País :** CHILE

**Ciudad :** Talca

**Fecha :** Diciembre - 2009

**Año :**

**Vol. :**

**Nº :**

**Páginas :**

**Otras Fuentes de financiamiento, si las hay :**

**Envía documento en papel :** no

**Archivo(s) Asociado(s) al artículo :**

Congreso\_Atencion\_Primary\_en\_Salud\_2008.pdf

[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_otras\\_publicaciones/descarga/4815291/1061085/2008/125/1/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_otras_publicaciones/descarga/4815291/1061085/2008/125/1/)

---

## CONGRESOS

**Nº :** 1

**Autor (a)(es/as) :** Oyarzún M.;Medina, C.;Miller, ME.;Dussaubat, N.;González, S.

**Título (Idioma original) :** Pulmonart effects of intratracheally instiled cupric or zinc sulphate in rats exposed to ozone

**Nombre del Congreso :** Annual Congress 2007 European Respiratory Society

**País :** SUECIA

**Ciudad :** Estocolmo

**Fecha Inicio :** 15/09/2007

**Fecha Término :** 19/09/2007

**Nombre Publicación :** European Respiratory Journal

**Año :** 2007

**Vol. :** 30

**Nº :** S51

**Páginas :** E2779

**Envía documento en papel :** no

**Archivo Asociado :**

European\_Respiratory\_Society\_STOCKHOLM\_2007.pdf

[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_congresos/descarga/4815291/1061085/2008/749/1/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_congresos/descarga/4815291/1061085/2008/749/1/)

---

**Nº :** 2

**Autor (a)(es/as) :** Oyarzún, M.; Medina, C.; Miller, ME.;Dussaubat, N.; González, S.

**Título (Idioma original) :** Efecto pulmonar a corto plazo de la instilación intratraqueal de Cu+2 ó Zn+2 y su eventual interacción con la exposición a ozono  
**Nombre del Congreso :** 40° Congreso Sociedad Chilena de Enfermedades Respiratorias  
**País :** CHILE  
**Ciudad :** Temuco  
**Fecha Inicio :** 07/11/2007  
**Fecha Término :** 10/11/2007  
**Nombre Publicación :** Revista Chilena de Enfermedades Respiratorias  
**Año :** 2007  
**Vol. :** 23  
**Nº :** 4  
**Páginas :** 271  
**Envía documento en papel :** no  
**Archivo Asociado :**  
CER\_2007.pdf  
[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_congresos/descarga/4815291/1061085/2008/755/1/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_congresos/descarga/4815291/1061085/2008/755/1/)

---

**Nº :** 3  
**Autor (a)(es/as) :** Oyarzún, M.; Medina, C.; Miller, ME.; Dussaubat, N.; Díaz, P.; González, S.  
**Título (Idioma original) :** Daño pulmonar inducido por cobre o cinc y su eventual interacción con la exposición a ozono  
**Nombre del Congreso :** Congreso X Aniversario Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.  
**País :** CHILE  
**Ciudad :** Santiago  
**Fecha Inicio :** 12/09/2007  
**Fecha Término :** 13/09/2007  
**Nombre Publicación :** Resúmenes X Aniversario ICBM, F. Medicina, Universidad de Chile  
**Año :** 2007  
**Vol. :** 1  
**Nº :** 1  
**Páginas :** 43  
**Envía documento en papel :** si  
**Archivo Asociado :**  
CongXICBM.pdf  
[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_congresos/descarga/4815291/1061085/2008/760/1/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_congresos/descarga/4815291/1061085/2008/760/1/)

---

**Nº :** 4  
**Autor (a)(es/as) :** Medina, C.; Miller, ME.; Dussaubat, N.; González, S.; Oyarzún, M.  
**Título (Idioma original) :** Daño pulmonar inducido por cobre o cinc y su eventual interacción con ozono  
**Nombre del Congreso :** 50ª Reunión anual, Sociedad de Biología de Chile y 22ª Reunión anual Sociedad Chilena de Ciencias fisiológicas

**País :** CHILE  
**Ciudad :** Pucón  
**Fecha Inicio :** 21/11/2007  
**Fecha Término :** 24/11/2007  
**Nombre Publicación :** Biological Research  
**Año :** 2007  
**Vol. :** 40  
**Nº :** SplA  
**Páginas :** R96  
**Envía documento en papel :** si  
**Archivo Asociado :**  
50\_REUNIÓN\_ANUAL\_SOC\_BIOL\_DE\_CHILE.pdf  
[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_congresos/descarga/4815291/1061085/2008/766/1/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_congresos/descarga/4815291/1061085/2008/766/1/)

---

**Nº :** 5  
**Autor (a)(es/as) :** Medina, C.; Dussaubat, N.; Miller, ME.; Díaz, P.; González, S.; Oyarzún, M.  
**Título (Idioma original) :** Lung damage induced by ozone and copper or zinc sulphate in rats:influence of the sequence of exposure  
**Nombre del Congreso :** European Respiratory Society Annual Congress 2008  
**País :** ALEMANIA  
**Ciudad :** Berlín  
**Fecha Inicio :** 04/10/2008  
**Fecha Término :** 08/10/2008  
**Nombre Publicación :** European Respiratory Journal  
**Año :** 2008  
**Vol. :** 32  
**Nº :** S52  
**Páginas :** P3835  
**Envía documento en papel :** no  
**Archivo Asociado :**  
ERS\_18th\_Annual\_Congress\_Abstracts.pdf  
[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_congresos/descarga/4815291/1061085/2008/771/1/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_congresos/descarga/4815291/1061085/2008/771/1/)

---

**Nº :** 6  
**Autor (a)(es/as) :** Sánchez, S.; Dussaubat, N.; Miller, ME.; Medina, C.; González, S.; Oyarzún M.  
**Título (Idioma original) :** Daño pulmonar producido por la exposición aguda a sulfato de cobre: Efecto de la secuencia de exposición  
**Nombre del Congreso :** 41º Congreso Chileno de Enfermedades Respiratorias  
**País :** CHILE  
**Ciudad :** Termas de Chillán  
**Fecha Inicio :** 05/11/2008  
**Fecha Término :** 08/11/2008



**Nombre Publicación :** Revista Chilena de Enfermedades Respiratorias  
**Año :** 2008  
**Vol. :** 24  
**Nº :** 4  
**Páginas :** 352  
**Envía documento en papel :** no  
**Archivo Asociado :**  
CER\_2008.pdf  
[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_congresos/descarga/4815291/1061085/2008/777/1/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_congresos/descarga/4815291/1061085/2008/777/1/)

---

**Nº :** 7  
**Autor (a)(es/as) :** Sánchez, S; Dussaubat, N.; Miller, ME.; Díaz, P.; González, S.; Oyarzún M.  
**Título (Idioma original) :** Daño pulmonar por exposición crónica e intermitente a ozono. Efectos de la instilación intratraqueal de sulfato de cobre o de cinc  
**Nombre del Congreso :** 42º Congreso Chileno de Enfermedades Respiratorias  
**País :** CHILE  
**Ciudad :** Linares  
**Fecha Inicio :** 04/11/2009  
**Fecha Término :** 07/11/2009  
**Nombre Publicación :** Revista Chilena de Enfermedades Respiratorias  
**Año :** 2009  
**Vol. :** 25  
**Nº :** 4  
**Páginas :** 269  
**Envía documento en papel :** no  
**Archivo Asociado :**  
Resumenes.pdf  
[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_congresos/descarga/4815291/1061085/2008/145564/1/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_congresos/descarga/4815291/1061085/2008/145564/1/)

---

## TESIS/MEMORIAS

**Nº :** 1  
**Título de Tesis :** Daño pulmonar inducido por cobre o cinc y su eventual interacción con ozono  
**Nombre y Apellidos del(de la) Alumno(a) :** Claudia Medina Valeria  
**Nombre y Apellidos del(de la) Tutor(a) :** Manuel Oyarzún Gómez  
**Título Grado :** Pregrado  
**Institución :** Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile  
**País :** CHILE  
**Ciudad :** Santiago  
**Estado de Tesis :** Terminada  
**Fecha Inicio :** 05/04/2006  
**Fecha Término :** 12/03/2007

**Envía documento en papel :** no  
**Archivo Asociado :**  
tesis\_Claudia\_Medina\_Valeria1.pdf  
[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_tesis\\_memorias/descarga/4815291/1061085/2008/325/1/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_tesis_memorias/descarga/4815291/1061085/2008/325/1/)

---

**N° :** 2  
**Título de Tesis :** Daño pulmonar inducido por la exposición crónica e intermitente a ozono: efecto del sulfato del cobre  
**Nombre y Apellidos del(de la) Alumno(a) :** Susan Sánchez Rodríguez  
**Nombre y Apellidos del(de la) Tutor(a) :** Manuel Oyarzún Gómez  
**Título Grado :** Magister  
**Institución :** Facultad de Medicina,Universidad de Chile  
**País :** CHILE  
**Ciudad :** Santiago  
**Estado de Tesis :** Terminada  
**Fecha Inicio :** 03/03/2008  
**Fecha Término :** 31/07/2009  
**Envía documento en papel :** no  
**Archivo Asociado :**  
AvanceTesisSSánchezR.pdf  
[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_tesis\\_memorias/descarga/4815291/1061085/2008/327/1/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_tesis_memorias/descarga/4815291/1061085/2008/327/1/)  
Tesis\_SusanSanchez\_vf.pdf  
[http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4\\_tesis\\_memorias/descarga/4815291/1061085/2008/327/2/](http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_tesis_memorias/descarga/4815291/1061085/2008/327/2/)

---



