

Effetti biologici del PM₁₀ rilevanti per la salute dell'uomo

Maria BALDUZZI

*Sezione di Tossicologia e Scienze Biomediche,
Ente per le Nuove Tecnologie, l'Energia e l'Ambiente, Roma*

Riassunto. - Non esistono chiare evidenze scientifiche circa i meccanismi biologici attraverso i quali l'incremento dei livelli delle particelle aerosospese inalabili (PM₁₀) possa causare l'aumento di mortalità e di morbidità per malattie cardiovascolari e respiratorie nella popolazione esposta, così come dimostrato da studi epidemiologici. I dati tossicologici finora ottenuti indicano una migliore correlazione fra frazione fine del PM₁₀ e malattie polmonari e mortalità cardiovascolare, mentre la frazione *coarse* sembra contribuire agli effetti osservati nelle alte vie respiratorie e nel tratto tracheobronchiale. La diversità di effetti delle due principali frazioni granulometriche potrebbe essere conseguenza sia della distribuzione nell'apparato respiratorio che della reattività superficiale. L'attività biologica delle particelle sembra essere dovuta alla produzione di radicali e all'induzione di stress ossidativo ed infiammazione polmonare, con conseguente possibilità di uno stato infiammatorio e procoagulante sistemico.

Parole chiave: PM₁₀, particelle di emissione diesel, endotossine, specie reattive di ossigeno, infiammazione.

Summary (*Biological effects of PM₁₀ relevant to human health*). - Recent epidemiological studies have shown a consistent association between ambient levels of inhalable particles (PM₁₀) and exacerbation of respiratory diseases as well as cardiovascular morbidity and adult mortality in high risk groups. The particles responsible of the observed health effects are unknown; it seems that different particles could be related to different effects, depending on the deposition pattern in the airways and on the chemical reactivity. Larger particles could be more related to upper airway and tracheobronchial effects while the smaller carbonaceous particles seem to be preferentially involved in inflammation and cardiopulmonary injury. It has been proposed that the possible biological mechanisms of action of PM could be related to its radical activity and the induction of oxidative stress and lung inflammation followed by systemic low grade inflammation and pro-coagulant state.

Key words: PM₁₀, diesel exhaust particles, endotoxin, reactive oxygen species, inflammation.

Introduzione

Studi epidemiologici condotti negli ultimi dieci anni hanno mostrato una probabile associazione tra esposizione ambientale al materiale particolato aerosospeso inalabile (PM₁₀) e una serie di effetti acuti sulla salute osservati nella popolazione, con un maggior rischio associato a specifici sottogruppi quali gli anziani, i bambini e i soggetti con preesistenti patologie cardiovascolari [1-5]. Gli indici presi in esame (diminuzione della funzionalità polmonare, aumento della sintomatologia respiratoria, peggioramento delle malattie polmonari croniche, aumento dei ricoveri ospedalieri e di mortalità per cause polmonari e cardiovascolari, aumento dell'incidenza di attacchi asmatici e di infezioni polmonari) sembrano essere positivamente correlati all'esposizione acuta a concentrazioni relativamente basse di polveri inalabili. Questi studi non

consentono di concludere che gli effetti sulla salute siano più strettamente associati all'esposizione al PM₁₀ che ad altri inquinanti gassosi dell'aria, quali O₃, NO₂, NO, CO e SO₂, o, più probabilmente, alla miscela gas-particelle. La maggior parte degli studi epidemiologici ha preso in esame l'associazione tra mortalità totale e livelli di PM₁₀ in diverse zone geografiche e quindi in condizioni di esposizione qualitativamente dissimili. I risultati, pur se di difficile comparazione perché ottenuti utilizzando vari indici di esposizione (polveri sospese totali, PM₁₀, PM_{2.5}, fumo nero), hanno mostrato una sorprendente omologia per siti urbani e rurali ed indicano, nel complesso, un aumento della mortalità di circa l'1% per un incremento di 10 µg/m³ di PM₁₀ nell'aria. Non è possibile stabilire sulla base degli studi epidemiologici se gli effetti osservati correlino più strettamente con una delle frazioni del PM₁₀ e se esista un'associazione tra composizione

chimica del PM_{10} ed effetti sulla salute. L'analisi dei dati ottenuti ha però consentito di ipotizzare che la frazione fine del PM_{10} potrebbe essere responsabile degli effetti polmonari e cardiovascolari, mentre la frazione *coarse* sarebbe soprattutto coinvolta nell'aggravamento delle malattie asmatiche e nell'aumento delle patologie respiratorie [6]. Alcuni studi epidemiologici suggeriscono che le emissioni autoveicolari potrebbero essere implicate nell'induzione degli effetti sulla salute e che un ruolo significativo potrebbe essere svolto dalle particelle ultrafini [7-9].

Questo lavoro si propone di riassumere i dati di letteratura sulla tossicologia del materiale particolato e di fornire un quadro delle ipotesi correnti sui meccanismi biologici alla base degli effetti acuti osservati.

Il materiale particolato aerodisperso inalabile

Le particelle aerodisperse inalabili (PM_{10}) sono una miscela complessa di particelle solide e/o liquide, variabili per massa, dimensione e composizione, in relazione alla diversa origine e alle diverse condizioni meteorologiche. Le particelle del PM_{10} sono suddivise, ai fini della loro misura e in base al diametro aerodinamico, in due frazioni granulometriche: la *coarse* e la fine [10].

La frazione *coarse* è costituita prevalentemente da particelle minerali di diametro compreso tra 2,5 e 10 μm , deriva principalmente da processi d'erosione del suolo e delle rocce e presenta composizione variabile a seconda della geologia del luogo.

La frazione fine è composta da una miscela di particelle carboniose derivanti da processi di combustione (principalmente da emissioni di motori diesel) e di sali generati da reazioni fotochimiche in atmosfera (solfati e nitrati parzialmente neutralizzati) aventi diametro inferiore a 2,5 μm . La frazione carboniosa è costituita da aggregati di carbonio elementare ed organico su cui sono adsorbiti metalli (Pb, Cd, V, Ni, Cu, Zn, Mn, Fe), composti organici e contaminanti biologici.

La frazione fine ne comprende una ultrafine, composta di particelle carboniose con diametro di circa 0,01-0,1 μm e derivata principalmente da emissioni diesel (DEP).

Le particelle ultrafini costituiscono la frazione numericamente più rilevante del PM_{10} e possono aggregarsi contribuendo in parte alla formazione delle particelle fini. Generalmente, nelle indagini ambientali di routine, il contributo della frazione ultrafine alla massa totale del PM_{10} non viene determinato, anche se la conoscenza di questo dato potrebbe essere importante negli episodi d'inquinamento. Infatti, ad un modesto incremento della massa di PM_{10} in atmosfera potrebbe corrispondere un considerevole aumento della massa di particelle ultrafini e quindi del numero totale delle particelle.

Il contributo delle tre frazioni alla miscela totale è variabile, ma generalmente le concentrazioni di $PM_{2,5}$ e PM_{10} sono strettamente correlate. I livelli di PM in atmosfera possono essere espressi secondo tre diversi parametri: la massa, la superficie e il numero di particelle per unità di volume. Ognuno di questi assume un'importanza relativa diversa a seconda della frazione granulometrica in esame: le frazioni *coarse* e fine sono predominanti per massa, la fine per superficie e l'ultrafine per numero. La rilevanza tossicologica di questi parametri è oggetto di studio [11] in quanto ad una diversa granulometria e composizione chimica potrebbero corrispondere effetti diversi, in relazione sia alla diversa deposizione nell'apparato respiratorio, da cui dipende l'effettiva dose di esposizione, sia alla diversa reattività ed interazione con le strutture biologiche. Alcuni studi epidemiologici suggeriscono che gli effetti sulla salute siano più strettamente associati alla concentrazione in numero piuttosto che alla concentrazione in massa del PM. Questa osservazione fa ritenere che le particelle ultrafini, il 20-40% delle quali derivano dagli scarichi di motori diesel e a benzina [12], potrebbero avere un ruolo importante nell'induzione degli effetti sulla salute.

Tossicologia del PM_{10} e sue frazioni

Allo stato attuale, non sono ancora stati raggiunti i principali obiettivi degli studi tossicologici e cioè:

- a) dimostrare la causalità dell'associazione tra esposizione al PM_{10} ed effetti acuti sulla salute;
- b) identificare la frazione e/o i componenti e le proprietà chimico-fisiche delle particelle ambientali aerosospese responsabili degli effetti sulla salute osservati e
- c) fornire ipotesi plausibili sui meccanismi biologici che ne sono alla base.

La maggior parte degli studi sulla tossicità delle particelle fini e ultrafini sono stati condotti esponendo animali da esperimento ad elevate concentrazioni di materiali particolati di riferimento, omogenei per composizione chimica e dimensione. I risultati di questi studi sono di difficile estrapolazione alle condizioni ambientali, ma hanno consentito di chiarire il ruolo dei vari parametri chimico-fisici delle particelle nell'induzione degli effetti tossici.

Studi sperimentali *in vivo* di esposizione per instillazione intratracheale o per inalazione al PM_{10} o sue frazioni (*coarse*, fine, ceneri volatili e DEP) hanno dimostrato che le particelle possono indurre uno stato di infiammazione polmonare [13-16], danno tissutale e diminuzione delle difese antiossidanti [17] e immunitarie [18, 19].

Gli effetti tossici sembrano essere correlati alla presenza di una componente solubile delle particelle

costituita da metalli e composti organici. Questa osservazione suggerisce che la frazione carboniosa fine del PM₁₀, quella cioè su cui sono adsorbiti questi componenti, potrebbe essere più tossica *in vivo* della frazione *coarse*, la cui componente metallica è relativamente insolubile.

Una serie di esperimenti è stata condotta utilizzando animali modello di ipertensione polmonare o bronchite cronica al fine di riprodurre sperimentalmente le condizioni di rischio osservate negli studi epidemiologici [20, 21]. Alcuni di questi studi hanno evidenziato una maggiore suscettibilità, rispetto all'animale sano, in termini di diminuzione della funzionalità polmonare, aumento dell'infiammazione, edema, alterazioni dell'elettrocardiogramma e presenza di mortalità [13].

Esperimenti *in vivo* di esposizione a breve termine con particelle di emissione diesel hanno dimostrato, in animali trattati per istillazione intratracheale o per inalazione, una diminuzione della funzionalità polmonare, iperreattività bronchiale, edema polmonare e diminuzione della funzionalità macrofagica [22-27].

E' stato anche dimostrato, sia negli animali da esperimento che nell'uomo [28, 29], un possibile ruolo di queste particelle nell'esacerbazione delle risposte di tipo asmatico [30, 2], dovuto a diversi fattori:

a) aumento della sensibilità agli allergeni (come conseguenza dei danni indotti nell'epitelio polmonare dalla reazione infiammatoria);

b) azione di trasporto nelle vie respiratorie degli allergeni da parte delle particelle [31];

c) effetto adiuvante sulla produzione di IgE specifiche [32] (dovuto sia ad un aumento della produzione di citochine [33] e NO [34], conseguente all'interazione delle cellule dell'apparato respiratorio con le particelle, sia alla presenza sulle particelle stesse di sostanze con noto effetto adiuvante, come endotossine e β -glucano).

Studi di inalazione a breve termine (1 h) a concentrazioni elevate, ma raggiungibili nell'ambiente, di DEP condotti con volontari umani sani hanno dimostrato che l'esposizione induce una ben definita risposta infiammatoria polmonare e sistemica [35]. Il lavaggio broncoalveolare e la broncoscopia, seguita da immunoistochimica, eseguiti 6 ore dopo l'esposizione, hanno mostrato una marcata infiltrazione leucocitaria, un aumento di trascrizione di citochine (IL-8 e GRO- α) [36], di molecole di adesione endoteliale (ICAM-1, VCAM-1) [35] e di fibronectina. Nel sangue periferico è stato rilevato un aumento di piastrine e neutrofili.

Studi *in vitro* sulla tossicità del PM₁₀ e delle sue frazioni (PM₁₀, PM_{2,5}, ceneri volatili, DEP) sono stati effettuati esponendo colture di macrofagi e di cellule epiteliali polmonari a sospensioni di particelle. Questi tipi cellulari rappresentano il primo target delle particelle introdotte per via inalatoria e costituiscono una

barriera metabolicamente attiva, deputata ai meccanismi di rimozione e difesa. I macrofagi alveolari fagocitano le particelle inalate e, di conseguenza, diventano attivati e rilasciano una serie di mediatori della risposta infiammatoria e immunitaria e di fattori pro-coagulanti. E' stato recentemente dimostrato che anche l'epitelio polmonare è attivamente coinvolto nella risposta alle sostanze tossiche inalate e che il contatto con le particelle induce la liberazione da parte di queste cellule di citochine e chemochine, con conseguente richiamo di cellule infiammatorie nel polmone e danno tissutale. I risultati di questi studi dimostrano che l'esposizione a particelle ambientali induce citotossicità [37], diminuzione della funzionalità macrofagica [38], aumento nell'espressione di fattori di trascrizione (NF κ B) [39] e rilascio nel mezzo di coltura di citochine e chemochine (quali IL-1, IL-6, IL-8, GM-CSF, TNF) [40], specie reattive dell'ossigeno e nitrossido [38, 15, 16, 27]. Gli effetti sono correlati alla presenza sulle particelle di fattori solubili identificati come metalli di transizione o endotossine. Questi dati concordano con i risultati degli esperimenti *in vivo* nell'attribuire un più elevato potenziale tossicologico alla frazione fine del PM₁₀ anche se, in studi effettuati su monociti e macrofagi [41, 42], è stato mostrato che tossicità e rilascio di citochine erano maggiormente associati con la frazione *coarse* e con il suo contenuto in endotossine.

Alcuni studi *in vitro* dimostrano che le particelle ambientali possono diminuire l'efficienza della risposta macrofagica a batteri e virus [43-45] ed offrono una possibile interpretazione dei dati epidemiologici sull'aumento dei ricoveri per infezioni polmonari.

Studi *in vitro* con particelle diesel mostrano che gli idrocarburi policiclici aromatici adsorbiti sulle particelle aumentano la produzione di IgE da linfociti B stimolati, confermando un loro possibile ruolo nell'esacerbazione delle risposte asmatiche [2].

Caratteristiche chimico-fisiche del PM₁₀ rilevanti per l'induzione di effetti tossici

Dimensione delle particelle

Uno dei fattori determinanti per la tossicità delle particelle inalate è rappresentato dal loro diametro aerodinamico, da cui dipende l'effettiva dose di esposizione e la regione polmonare interessata.

La dimensione delle particelle è, infatti, inversamente proporzionale all'efficienza di deposizione totale e alla ritenzione polmonare, con una chiara tendenza delle particelle più piccole a raggiungere livelli elevati di deposizione periferica. Le particelle della frazione *coarse* si depositano con maggiore effi-

cienza nelle regioni naso-faringea e tracheo-bronchiale, dove sono rapidamente rimosse mediante *clearance* mucociliare. Le particelle fini e ultrafini penetrano più profondamente e si depositano nelle regioni alveolare e, limitatamente alle ultrafini, interstiziale, distretti in cui la rimozione è estremamente più lenta in quanto avviene per fagocitosi da parte dei macrofagi e per dissoluzione [46]. Nell'organismo sano, i meccanismi di difesa del polmone sono generalmente adeguati a rimuovere e neutralizzare un grande numero di particelle depositate sulla superficie polmonare. Quando questi meccanismi di difesa sono inefficienti (cioè in presenza di una ridotta funzionalità polmonare), anche un aumento molto piccolo nella massa delle particelle inalate può essere sufficiente a produrre effetti dannosi. La rimozione delle particelle dalla regione polmonare varia in relazione alla velocità di solubilizzazione del materiale nei liquidi corporei e allo sviluppo superficiale della particella. Studi sperimentali nell'uomo [10] hanno evidenziato una significativa variabilità individuale nella deposizione. Inoltre, individui con preesistenti patologie polmonari possono presentare un aumento della deposizione alveolare di particelle fini e ultrafini e quindi una condizione favorevole all'instaurarsi di sovraccarico localizzato. La frazione di PM relativamente insolubile permane a lungo nel distretto polmonare, mentre la componente solubile può essere metabolizzata dalle cellule presenti, lasciare rapidamente il tratto respiratorio ed essere trasportata ad altri tessuti dove produrre un effetto specifico per la sostanza. Il materiale particellare depositato nell'apparato respiratorio può interagire direttamente con neurorecettori presenti nel naso e nelle alte vie respiratorie, alterando la profondità e la frequenza del respiro, oppure provocare indirettamente una risposta tramite l'interazione con i diversi tipi cellulari presenti nel polmone e principalmente con cellule epiteliali e macrofagi.

La deposizione frazionale del PM offre un supporto all'ipotesi predominante, anche se non dimostrata, di una rilevanza maggiore delle frazioni fini ed ultrafini del materiale particellare ambientale nel determinare gli effetti sulla salute osservati.

Studi di esposizione per via inalatoria ad un'uguale concentrazione in peso di TiO_2 nelle granulometrie fini, NTiO_2 (0,25 μm di diametro), e ultrafini, UF TiO_2 (0,02 μm), hanno dimostrato che i ratti esposti alla polvere ultrafine sviluppavano una più marcata infiammazione polmonare, probabilmente a causa di una diminuzione della fagocitosi e conseguente ritenzione interstiziale delle particelle [47].

Esperimenti simili effettuati con *carbon black* hanno dimostrato che le particelle ultrafini inducevano una reazione infiammatoria più marcata delle fine. Questi studi sono stati condotti utilizzando elevate concentrazioni di polvere, ma in uno studio analogo, è

stato dimostrato lo stesso effetto per esposizione a basse concentrazioni di fumi di teflon [48].

In uno studio *in vitro* [47] è stato dimostrato che UF TiO_2 presentava un'attività radicalica notevolmente maggiore del NTiO_2 , così suggerendo che la generazione di radicali liberi potrebbe avere un ruolo nella patogenicità delle particelle. È stato ipotizzato che gli elementi responsabili della tossicità delle particelle ultrafini possano essere l'aumentata deposizione interstiziale e l'elevato sviluppo superficiale. Uno studio di inalazione a breve termine con particelle ultrafine di carbonio e di ossidi metallici a concentrazioni paragonabili ai livelli ambientali di particolato inalabile non ha mostrato alcun effetto a livello polmonare in ratti sani [6]. La generica natura fisica di ultrafini potrebbe, perciò, non essere determinante per l'induzione di effetti polmonari, mentre la chimica di superficie spiegherebbe meglio l'attività biologica delle particelle [48].

Componente biologica associata alle particelle

Alcuni studi hanno caratterizzato il materiale di origine biologica associato alle particelle, comprendente virus, batteri, endotossine, spore, pollini e frammenti cellulosici [49]. Con l'eccezione di alcuni virus, questa componente appartiene all'intervallo di dimensioni della frazione *coarse*. È stato dimostrato che particelle emesse da motori diesel hanno la capacità di legare frammenti di polline e allergeni comuni negli ambienti *indoor* e potrebbero, perciò, sia contribuire a mantenere un'elevata concentrazione degli allergeni nell'aria, sia rappresentare un possibile veicolo per gli allergeni verso le vie polmonari.

Contenuto in acidi forti

I dati epidemiologici suggeriscono che l'acido solforico e i suoi sali parzialmente neutralizzati, presenti nell'intervallo delle particelle fini, potrebbero essere causalmente associati agli effetti sulla salute. Studi clinici sull'uomo hanno dimostrato che soggetti sani non presentano, anche sotto esercizio, decremento della funzionalità polmonare dopo esposizione singola per un'ora ad aerosol di H_2SO_4 di varie dimensioni e a concentrazioni fino a 2000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Soggetti asmatici sembrano essere più sensibili e rispondono all'esposizione con broncocostrizione. L'esposizione all'aerosol acido provoca un decremento della *clearance* mucociliare e delle difese polmonari immunitarie in soggetti sani a livelli di 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

Dati sperimentali su animali sani di diverse specie confermano, anche ad elevate concentrazioni di aerosol acido, la mancanza di effetti sulla funzionalità polmonare.

L'esposizione per un'ora a 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ di aerosol acido induceva in cavie un lieve stato di infiamma-

ne polmonare e di alterazione della *clearance* [49]. In uno studio recente [50] è stato riportato un aumento della tossicità per via inalatoria di aerosol di acido solforico, in termini di diminuzione della funzionalità dei macrofagi alveolari, quando l'acido era adsorbito su particelle come *carbon black* o ZnO.

Studi di tossicità per inalazione a lungo termine con aerosol di ammonio solfato e ammonio nitrato hanno dimostrato decremento della funzionalità e aumento della permeabilità polmonari in animali trattati, con una maggiore tossicità per il solfato [49]. E' stato provato *in vitro* che la componente solfato potrebbe legare il ferro associato alle particelle e quindi agire come adiuvante, favorendo la tossicità dei metalli presenti [51].

Contenuto di elementi in traccia: metalli e composti organici

I livelli di esposizione per inalazione ai metalli adsorbiti in traccia sul particolato inalabile sono ritenuti troppo bassi per indurre fenomeni di tossicità secondo i meccanismi classici specifici per ogni elemento. Una serie di studi sperimentali ha però dimostrato che i metalli svolgono un ruolo fondamentale nella tossicità del PM ambientale, partecipando alla produzione di radicali dell'ossigeno attraverso reazioni di Fenton [52, 15, 53]. La maggior parte di questi metalli si presentano, in relazione alla sorgente di emissione, sotto forma di specie chimiche diverse, con diverse biodisponibilità e possibilità di partecipare a reazioni redox. Perciò, la semplice misura del contenuto in metalli delle particelle non è necessariamente indicativa del loro potenziale tossicologico.

Un meccanismo d'azione simile è stato proposto per i composti organici di struttura molecolare chinonica adsorbiti sul nucleo carbonioso delle particelle fini e ultrafini. Anche questi composti, contenuti in traccia, sono in grado di partecipare a reazioni redox con produzione di radicali dell'ossigeno [54].

E' stato dimostrato che campioni di PM sottoposti ad estrazione o chelazione perdevano la loro attività biologica e che i fattori responsabili erano presenti in una frazione solubile. In conclusione, metalli e sostanze chinoniche solubilizzabili sembrano essere direttamente coinvolti nei meccanismi di tossicità delle particelle tramite la capacità di produrre specie radicali dell'ossigeno.

Meccanismi tossicologici del materiale particellare

I risultati degli studi *in vivo* e *in vitro* concordano nell'attribuire un ruolo fondamentale per la tossicità delle particelle alla capacità di produrre radicali dell'ossigeno tramite i metalli di transizione e i composti

organici adsorbiti sulla loro superficie e facilmente solubilizzabili.

La chimica di superficie delle particelle rappresenterebbe, perciò, un fattore determinante per gli effetti biologici esercitati sulle cellule con cui le particelle entrano in contatto, principalmente macrofagi e cellule epiteliali.

I macrofagi alveolari fagocitano rapidamente le particelle che si depositano nelle vie aeree, ma la loro capacità fagocitaria diminuisce all'aumentare del numero delle particelle stesse. Di conseguenza, il tempo di ritenzione delle particelle nel polmone aumenta e parallelamente anche la loro interazione con le altre cellule presenti, principalmente le epiteliali. I radicali liberi generati alla superficie particellare inducono danno ossidativo ed attivazione dei macrofagi con conseguente rilascio di specie reattive dell'ossigeno e molecole pro-infiammatorie, le quali danno inizio alla risposta infiammatoria acuta nel polmone. Le cellule epiteliali polmonari, anch'esse in grado di fagocitare le particelle, amplificano la risposta infiammatoria e rispondono allo squilibrio nel bilancio redox cellulare indotto dai radicali liberi con l'attivazione di fattori di trascrizione (NFκB, AP-1 e AP-2) e il rilascio di citochine pro-infiammatorie, chemochine, molecole di adesione cellulare e recettori per i mediatori dell'infiammazione. Le particelle ultrafini, penetrando nelle regioni interstiziali del polmone, entrano in contatto con i macrofagi interstiziali ed inducono la liberazione di mediatori dell'infiammazione che possono entrare nel circolo sanguigno e produrre una risposta infiammatoria sistemica. Diversi fattori ematologici, quali la viscosità plasmatica, il fibrinogeno, il fattore VII e l'inibizione dell'attivatore del plasminogeno, che aumentano in conseguenza delle reazioni infiammatorie, sono predittivi di malattia cardiovascolare. Peters *et al.* [6] hanno recentemente dimostrato un'associazione tra livelli di particolato aerosospeso e aumento della viscosità del plasma in un campione significativo della popolazione. L'aumento della viscosità del sangue potrebbe essere anche correlato alla secrezione di fibrinogeno nel fegato, a sua volta stimolata dall'IL-6 prodotta dai macrofagi attivati dalla fagocitosi di particelle [39]. L'esposizione di volontari sani a DEP ha dimostrato un aumento del numero di leucociti e piastrine nel sangue periferico, fattori che possono modificare il flusso sanguigno aumentando la resistenza periferica in molti organi.

Le alterazioni della coagulabilità del sangue e della velocità del flusso sanguigno, conseguenti allo stato infiammatorio polmonare indotto dalle particelle ultrafini, potrebbero spiegare, secondo alcuni autori [55], l'aggravarsi delle patologie cardiovascolari e l'aumento di mortalità registrati nella popolazione a rischio in concomitanza a fenomeni di inquinamento da particelle.

Lavoro presentato su invito.

Accettato il 13 maggio 2003.

BIBLIOGRAFIA

1. Anderson HR, Spix C, Medina S, Schouten JP, Castellsague J, Rossi G, Zmirou D, Toulomi G, Wojtyniak B, Ponka A, Bacharova L, Schwartz J, Katsouyanni K. Air pollution and daily admissions for chronic obstructive pulmonary disease in 6 European cities: results from the aphea project. *Eur Res J* 1997; 10:1064-71.
2. Diaz-Sanchez D. The role of diesel exhaust particles and their associated polyaromatic hydrocarbons in the induction of allergic airways disease. *Allergy* 1997;52(38 Suppl):52-6, discussion 57-8.
3. Dockery DW, Pope CA, Xu X, Spengler JD, Ware JH, Fay ME, Ferris BG, Speizer FE. An association between air pollution and mortality in six US cities. *N Engl J Med* 1993;329:1753-9.
4. Kunzli N, Keiser R, Medina S, Studnicka M, Chanel O, Filliger P, Herry M, Horak F, Puybonnieux-Textier V, Quenel P, Schneider J, Seethaler R. Public-health impact of outdoor and traffic-related air pollution: a European assessment. *Lancet* 2000;356:795-801.
5. Schwartz J. Air pollution and daily mortality. A review and meta analysis. *Environ Res* 1994;64:36-52.
6. Peters A, Wichmann HE, Tuch T, Heinrich J, Heyder J. Respiratory effects are associated with the number of ultrafine particles. *Am J Res Crit Care Med* 1997;155:1376-83.
7. Brunekreef B, Janssen NA, de Hartog J, Harssema H, Knafe M, van Vliet P. Air pollution from truck traffic and lung function in children living near motorways. *Epidemiology* 1997;8:298-303.
8. Pope CAIII, Thun MJ, Namboodiri MM, Dockery DW, Evans JS, Speizer FE. Particulate air pollution as a predictor of mortality in a prospective study of US adults. *Am J Res Crit Care Med* 1995;151:669-74.
9. van Vliet P, Knafe M, de Hartog J, Janssen N, Harssema H, Brunekreef B. Motor vehicle exhaust and chronic respiratory symptoms in children living near freeways. *Environ Res* 1997; 74:122-32.
10. US Environmental Protection Agency. Air quality criteria for particulate matter. 1996; vol. 1-3. (EPA/600/P-95/001a).
11. Chen LC, Wu CY, Qu QS. Number concentration and mass concentration as determinants of biological response to inhaled irritant particles. *Inhal Toxicol* 1995;7:577-88.
12. Hildemann LM, Markowski GR, Cass GR. Chemical composition of emission from urban sources of fine organic aerosol. *Environ Sci Technol* 1991;25:744-58.
13. Godleski JJ, Sioutas C, Verrier RL. Inhalation exposure of canine to concentrated ambient air particles. *Am J Res Crit Care Med* 1997;155: A246.
14. Gordon T, Nadzjeko C, Schlesinger R, Chen LC. Pulmonary and cardiovascular effects of acute exposure to concentrated ambient particulate matter in rats. *Toxicol Lett* 1998;96:285-8.
15. Li XY, Gilmour PS, Donaldson K, Macnee W. Free radical activity and pro-inflammatory effects of particulate air pollution (PM₁₀) *in vivo* and *in vitro*. *Thorax* 1996;51(12):1216-22.
16. Li XY, Gilmour PS, Donaldson K, Macnee W. *In vivo* and *in vitro* proinflammatory effects of particulate air pollution (PM₁₀). *Environ Health Persp* 1997;105:1279-83.
17. Peters A, Doring A, Wichmann HE, Koenig W. Increased plasma viscosity during an air pollution episode: a link to mortality. *Lancet* 1997;349:1582-7.
18. Hatch GE, Boykin E, Graham JA, Lewtas J, Pott F, Loud K, Mumford JL. Inhalable particles and pulmonary host defence: *in vivo* and *in vitro* effects of ambient air and combustion particles. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000;168(2):140-8.
19. Zelikoff JT, Frampton MW, Cohen MD, Morrow PE, Sisco M, Tsai Y, Utell MJ, Schlesinger RB. Effects of inhaled sulfuric acid aerosols on pulmonary immunocompetence: a comparative study in humans and animals. *Inhal Toxicol* 1997;9731-52.
20. Kodavanti U, Schladweiler MC, Ledbetter AD, Watkinson WP, Campen MJ, Winsett DW, Richards JR, Crissman KM, Hatch GE, Costa DL. The spontaneously hypertensive rat as a model of human cardiovascular disease: evidence of exacerbated cardiopulmonary injury and oxidative stress from inhaled emission particulate matter. *Toxicol Sci* 2000;54(2):390-8.
21. Watkinson WP, Campen MJ, Costa DL. Cardiac arrhythmia induction after exposure to residual oil fly ash particles in a rodent model of pulmonary hypertension. *Toxicol Sci* 1998; 41(2):209-16.
22. Ichinose T, Furuyama A, Sagai M. Biological effects of diesel exhaust particles. (DEP) II Acute toxicity of DEP introduced into the lung by intratracheal instillation. *Toxicology* 1995; 99:153-67.
23. Lim HB, Ichinose T, Miyabara Y, Takano H, Kumagai Y, Shimoyjo N, Devalia JL, Sagai M. Involvement of superoxide and nitric oxide on airway inflammation and hyperresponsiveness induced by diesel exhaust particles in mice. *Free Rad Biol Med* 1998;25(6): 635-44.
24. Madden MC, Richards, JH, Dailey LA, Hatch GE, Ghio AJ. Effect of ozone on diesel exhaust particle toxicity in rat lung. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000;168(2):140-8.
25. Nightingale JA, Maggs R, Cullinan P, Donnelly LE, Rogers DF, Kinnersley R, Fan Chung K, Barnes PJ, Ashmore M, Newman-Taylor A. Airway inflammation after controlled exposure to diesel exhaust particulates. *Am J Res Crit Care Med* 2000; 162(1):161-6.
26. Ohta K, Yamashita N, Tajima M, Miyasaka T, Nakano J, Nakajima M, Ishii A, Horiuchi T, Mano K, Miyamoto T. Diesel exhaust particulate induces airway hyperresponsiveness in a murine model: essential role of GM-CSF. *J All Clin Immunol* 1999;104(5):1024-30.
27. Sagai M, Saito H, Ichinose T, Kodama M, Mori Y. Biological effects of diesel exhaust particles. I. *In vitro* production of superoxide and *in vivo* toxicity in mouse. *Free Rad Biol Med* 1994, 14:37-47.
28. Diaz-Sanchez D, Tsien A, Casillas A, Dotson AR, Saxon A. Enhanced nasal cytokine production in human beings after *in vivo* challenge with diesel exhaust particles. *J All Clin Immunol* 1996;98:114-23.
29. Diaz-Sanchez D, Garcia MP, Wang M, Jyrala M, Saxon A. Nasal challenge with diesel exhaust particles can induce sensitisation to a neoallergen in the human mucosa. *J All Clin Immunol* 1999; 104(6):1183-8.

30. Casillas AM, Hiura T, Li N, Nel AE. Enhancement of allergic inflammation by diesel exhaust particles: permissive role of oxygen species. *Ann All Asthma Immunol* 1999;86 (6Pt2):624-9.
31. Knox RB, Suphioglu C, Taylor P, Desai R, Watson HC, Peng JL, Bursill LA. Major grass pollen allergen Lol p 1 binds to diesel exhaust particles: implications for asthma and air pollution. *Clin Exp All* 1997;27:246-51.
32. Ormstad H. Suspended particulate matter in indoor air: adjuvants and carriers. *Toxicology* 2000;152:53-68.
33. Takano H, Yoshikawa T, Ichinose T, Miyabara Y, Imoaka K, Sagai M. Diesel exhaust particles enhance antigen-induced airway inflammation induced by diesel exhaust particles in mice. *Am J Res Crit Care Med* 1997;156:36-42.
34. Takano H, Lim HB, Miyabara Y, Ichinose T, Yoshikawa T, Sagai M. Manipulation of the L-arginine- nitric oxide pathway in airway inflammation induced by diesel exhaust particles in mice. *Toxicology* 1999;29,139(1-2):19-26.
35. Salvi S, Blomberg A, Rudell B, Kelly F, Sandstrom T, Holgate ST, Frew A. Acute inflammatory responses in the airways and peripheral blood following short term exposure to diesel exhaust in healthy human volunteers. *Am J Res Crit Care Med* 1999;159 (3):702-9.
36. Salvi S, Nordenhall C, Blomberg A, Rudell B, Pourazr J, Kelly F, Wilson S, Sandstrom T, Holgate ST, Frew AJ. Acute exposure to diesel exhaust increases IL-8 and GRO-alpha production in healthy human airways. *Am J Res Crit Care Med* 2000;161 (2Pt1):550-7.
37. Murphy SA, BeruBe KA, Richards RJ. Bioreactivity of carbon black and diesel exhaust particles to primary Clara and type II epithelial cell culture. *Occup Environ Med* 1999;56(12):813-9.
38. Becker S, Soukup JM. Decreased CD11B expression, phagocytosis, and oxidative burst in urban particulate pollution-exposed human monocytes and alveolar macrophages. *J Toxicol Environ Health* 1998;55(part A):455-77.
39. Jimenez LA, Thompson J, Brown DA, Rahman I, Antonicelli F, Duffin R, Drost EM, Hay RT, Donaldson K, MacNee W. Activation of NF-kappaB by PM₁₀ occurs via an iron-mediated mechanism in the absence of I-kappaB degradation. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000;166(2):101-10.
40. Boland S, Baeza-Squiban A, Fournier T, Houcine O, Gndron MC, Chevrier M, Jouvenot G, Coste A, Aubier M, Marano F. Diesel exhaust particles are taken up by human airway epithelial cells *in vitro* and alter cytokine production. *Am J Physiol* 1999; 276(4 Pt 1):L604-13.
41. Monn C, Becker S. Cytotoxicity and induction of proinflammatory cytokines from human monocytes exposed to fine (PM_{2.5}) and coarse particles (PM_{10-2.5}) in outdoor and indoor air. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999;155(3):245-52.
42. Soukup JM, Becker S. Human alveolar macrophages responses to air pollution particulates are associated with insoluble components of coarse material, including particulate endotoxin. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001;171(1):245-52.
43. Soukup JM, Becker S. Urban air particulate uptake by human alveolar macrophages alters the response to respiratory syncytial virus. *Am J Res Crit Care Med* 157:A865.
44. Yang HM, Barger MW, Castranova V, Ma JK, Yang J-J, Ma JY. Effects of diesel exhaust particles (DEP), carbon black, and silica on macrophage responses to lipopolysaccharide: evidence of DEP suppression of macrophage activity. *J Toxicol Environ Health* 1999;58(5):261-78.
45. Zelikoff JT, Fang K, Li Y, Nadziejko C, Schlesinger RB, Cohen MD, Chen LCC, Gordon T. Exposure to PM suppresses pulmonary immune defence mechanisms important for host resistance against a pneumonia-producing bacteria. *Am J Res CritCare Med* 1998;157:A153.
46. Ferin J, Oberdoster G, Penney DP. Pulmonary retention of ultrafine and fine particles in rats. *Am J Res Cell Mol Biol* 1992;6:535-42.
47. Donaldson K, Beswick PH, Gilmour PS. Free radical activity associated with the surface of particles: a unifying factor in determining biological activity? *Toxicol Lett* 1996;88:293-8.
48. Murphy SA, BeruBe KA, Pooley FD, Richards RJ. The response of lung epithelium to well characterised fine particles. *Life Sci* 1998;62(19):1789-9.
49. Loscutoff SM, Cannon WC, Buschbom RL, Busch RH, Killand BW. Pulmonary function in elastase-treated Guinea pigs and rats exposed to ammonium sulfate and ammonium nitrate aerosols. *Environ Res* 1985;36:170-80.
50. Chen LC, Miller PD, Amdur MO, Gordon T. Airway hyperresponsiveness in guinea pigs exposed to acid-coated ultrafine particles. *J Toxicol Environ Health* 1992;35:165-74.
51. Ghio AJ, Stoneheurner J, McGee JK, Kinsey JS. Sulfate content correlates with iron concentrations in ambient air pollution particles. *Inhal Toxicol* 1999;11:293-307.
52. Gilmour PS, Brown M, Lindsay TG, Beswick PH, MacNee W, Donaldson K. Adverse health effects of PM particles: involvement in iron generation of hydroxyl radical. *Occup Environ Med* 1996;53:817-22.
53. Pritchard RJ, Ghio AJ, Lehmann JR, Winsett DW, Tepper JS, Park P, Gilmour MI, Dreher KL, Costa DL. Oxidant generation and lung injury after particulate air pollutant exposure increase with the concentrations of associated metals. *Inhal Toxicol* 1996;8:457-77.
54. Roth C, Karg E, Heyder J. Do inhaled ultrafine particles cause acute healthy effects in rats? I. Particle production. *J Aerosol Sci* 1998;29:679-80.
55. Macnee W, Donaldson K. How can ultrafine particles be responsible for increased mortality? Monaldi *Arch Chest Dis* 2000; 55(2):135-9.

