

**INQUINAMENTO URBANO:
LAVORATORI ESPOSTI E POPOLAZIONE GENERALE**

P. Boscolo¹, L. Di Giampaolo¹, A. Antonucci¹, M. Reale², A. Cristaudo³, M. Di Gioacchino¹

Studio in vitro sugli effetti immunitari dell'esposizione a nanoparticelle di palladio

Medicina del Lavoro¹ e Dipartimento di Neuroscienze² dell'Università "G. D'Annunzio" di Chieti-Pescara, Istituto Dermatologico San Gallicano, Roma³

RIASSUNTO. La dermatite allergica da contatto al Pd è in aumento nella popolazione; scopo di quest'indagine è di determinare, in donne sensibilizzate al Pd, il rilascio di citochine dalle PBMC esposte a nanoparticelle di Pd, simili a quelle emesse dalle marmitte catalitiche. PBMC di 8 donne non-atopiche e di 5 sensibilizzate al Pd erano incubate con stimolazione con LPS in presenza di nanoparticelle di Pd (5-10 nm) o potassio esa-cloropalladato 10^{-5} and 10^{-6} M. Questo sale di Pd inibiva il rilascio di IFN- γ , TNF- α , IL-10 ed IL-17 dalle PBMC delle donne non atopiche, mentre le nanoparticelle di Pd favorivano il rilascio di IFN- γ ed inibivano quello di TNF- α ed IL-17. Nelle donne sensibilizzate al Pd, con alti livelli basali di rilascio di citochine, l'esacloropalladato di Pd 10^{-5} M (ma non le nanoparticelle) inibivano il rilascio di IL-10 ed IL-17. In conclusione, il sale di Pd la produzione di citochine dalle PBMC, mentre le nanoparticelle di Pd esercitano effetti modulatori stimolando il rilascio di IFN- γ , con un ruolo importante nelle malattie autoimmunitarie.

ABSTRACT. *IN VITRO STUDY ON THE IMMUNE EFFECTS OF THE EXPOSURE TO PALLADIUM NANOPARTICLES. Pd allergic contact dermatitis is increasing in the general population; aim of this preliminary study was to determine, in women with Pd sensitization, the cytokine release from PBMC exposed to Pd nanoparticles similar to those emitted from catalytic converters. PBMC of 8 non-atopic and of 5 Pd sensitized women were incubated with LPS stimulation in presence of Pd nanoparticles (5-10 nm) or potassium hexa-chloropalladate 10^{-5} and 10^{-6} M. This Pd salt inhibited IFN- γ , TNF- α , IL-10 and IL-17 release from PBMC of non-atopic women, whereas Pd nanoparticles enhanced the release of IFN- γ and inhibited that of TNF- α and IL-17. In the Pd-sensitized women, with high basal values of cytokine release, the 10^{-5} M Pd salt (but not Pd nanoparticles) inhibited IL-10 and IL-17 release. In conclusion, Pd salt inhibits the cytokine release from PBMC, whereas Pd nanoparticles exert modulatory effects enhancing release of IFN- γ which plays an important role in autoimmune diseases.*

Key words: palladium, nanoparticles, ACD (allergic contact dermatitis).

Introduzione

L'emissione di platino (Pt), palladio (Pd) e rodio (Rh), ed iridio (Ir) elementi del gruppo del platino ("Pt group elements: PGE) dalle marmitte catalitiche è iniziata all'incirca nel 1976 negli Stati Uniti (1). Oggi la troposfera è contaminata da PGE, come è dimostrato dalle concentrazioni di PGE 40-120 volte più alte nella neve caduta di recente nella Groenlandia rispetto a quelle rilevate nella neve di 7000 anni fa (2).

Rilevazioni ambientali hanno dimostrato che i PGE emessi dalle marmitte catalitiche sono quasi completamente in forma metallica o come ossidi. Circa il 90 dei PGE sono sotto forma di particolato: particelle di alluminio con il diametro nell'ordine dei μm hanno disperse sulla loro superficie particelle di PGE, ed in particolare di Pd del diametro di alcuni nanometri (3, 4). Le particelle di Pd sono più solubili nella pioggia di quelle di Pt e di Rh (5); le particelle di Pd sono state rinvenute nel terreno, vicino ad una autostrada in Germania, a profondità di 12-16 cm mentre gli altri PGE si trovavano in prossimità della superficie. Il Pd essendo più solubile degli altri PGE può formare composti alogenati che possono essere dispersi in acque e sedimenti interagendo con vari composti, come i siderofori: il Pd, più degli altri PGE, può quindi esercitare effetti sugli organismi viventi ed entrare nella catena alimentare (7).

Ai nostri giorni, la percentuale di Pt contenuto nelle marmitte catalitiche è diminuita mentre è aumentata quella del Pd, elemento meno costoso e più reattivo (3, 4). Pertanto i livelli di Pd nell'ambiente sono aumentati: la concentrazione del Pd nel terreno circostante alle autostrade è aumentata di 15 volte dal 1994 mentre quella del Pt e del Rh si è solo raddoppiata; inoltre, i rapporti tra i PGE analizzati mostrano un aumento delle concentrazioni di Pd (8).

Attualmente nell'allestimento delle marmitte catalitiche è stato introdotto l'uso dell'iridio (Ir). Tuttavia, i valori di Ir nell'ambiente e nei liquidi biologici della popolazione, in particolare della città di Roma, non sono al momento elevati (8-10).

I livelli di PGE misurati nelle strade con traffico elevato sono inferiori ad 1 ng/m^3 mentre nell'aria delle industrie che producono marmitte catalitiche possono essere

nel "range" di 12-64 ng/m³ (1, 11, 12). Al momento, è stato chiaramente dimostrato che l'esposizione a PGE provoca asma, rinocongiuntivite, orticaria e DAC solamente nei lavoratori esposti a questi metalli nella produzione di marmitte catalitiche, industrie chimiche od oreficerie (11, 12) e non nella popolazione. In particolare i composti clorurati ed/od ammoniacali dei PGE, prodotti come composti intermedi, si sono dimostrati più immunotossici e sensibilizzanti dei singoli elementi. Inoltre i composti tetraivalenti di Pt e Pd sono più immunotossici dei bivalenti (12-14). È anche da segnalare che il Pd non è genotossico, mentre lo è il Rh ed ancor più il Pt (15).

È noto che l'esposizione a Pd deriva da: a) leghe dentarie, b) ornamenti, c) gas di scarico delle marmitte catalitiche (3, 4). Per quanto riguarda gli effetti immunotossici ed allergizzanti dei PGE, è noto che v'è un'alta percentuale di reazioni positive a PGE nella popolazione (anche se non è ancora dimostrato che ciò possa dipendere dall'esposizione a marmitte catalitiche); in particolare, è stata rilevata un'alta percentuale di sensibilizzazione a Pd in bambini tedeschi (16), nella popolazione non selezionata austriaca (17) ed in quella italiana (18).

In seguito al rapido sviluppo delle nanotecnologie, i materiali in micro o nano scala sono sempre più usati per scopi scientifici e nell'industria. Le nanoparticelle sono di grande interesse nella bio-medicina per le loro applicazioni nella sintesi di farmaci, per individuare "in vivo", come traccianti, molecole e strutture biologiche o per rilasciare geni. D'altro canto, le nanoparticelle presenti nell'ambiente possono esercitare effetti nocivi in quanto esse hanno dimensioni che consentono di attraversare le membrane plasmatiche ed interagire con strutture sub-cellulari; esse sono inoltre molto reattive con le macromolecole biologiche perché una grande percentuale dei loro atomi sono presenti sulle loro superfici esterne. Quest'indagine ha lo scopo di verificare preliminarmente se i sali di Pd e le nanoparticelle di Pd hanno gli stessi effetti sulle cellule immunitarie stimolate in vitro. Inoltre viene indagato se gli effetti delle nanoparticelle di Pd e dei sali di Pd sono gli stessi nei soggetti non atopici od in quelli sensibilizzati a Pd.

Materiali e metodi

Viene utilizzato potassio-esa-cloropalladato (Aldrich Chemical) e particelle di Pd di 5 nm di diametro medio, preparate dall'Arbeitsgruppe für Analytische Chemie, Technische Universität, München (Leopold e coll. 2008). Le soluzioni 10⁻⁴ M di sali di Pd e di nanoparticelle sono quindi diluite nelle culture a concentrazione 10⁻⁵ e 10⁻⁶ M. Cinque donne sensibilizzate a Pd, non in trattamento con farmaci ed esami emato-chimici di routine nella norma sono reclutate per questa indagine. Sangue venoso viene raccolto al mattino, tenuto in tubi eparinizzati, e trasportato in laboratorio per essere analizzato entro 3 ore dalla raccolta.

Cellule monocleate (PBMC) sono ottenute purificate attraverso centrifugazione in Ficoll-Hypaque (BioSpa, Milan, Italy) per 20 min at 400 x g e quindi trattate come riportato in un nostro studio precedente (Boscolo e coll.

2004). Le culture di PBMC sono allestite in "1 ml-well 24-wells Costar plastic plates", usando 0.8 ml di PBMC (contenenti 10⁶ cellule) nelle seguenti condizioni:

1. senza reagenti (controllo),
2. con 10 µg/ml di lipopolisaccaride (LPS),
3. con potassio-esacloropalladato 10⁻⁵ e 10⁻⁶ M in presenza di LPS,
4. con nanoparticelle di Pd 10⁻⁵ e 10⁻⁶ M in presenza di LPS.

Le culture sono quindi incubate a 37 °C in atmosfera umidificata con 5% di CO₂ per 48 ore; quindi, la vitalità delle cellule è determinata con trypan blue. Aliquote di sopranatante sono raccolte e conservate a -70°C prima dell'analisi per determinarne il contenuto in Interferon (IFN)-γ, IL-5 e Tumor-Necrosis-Factor (TNF)-α IL-10 ed IL-17 mediante Quantikine colorimetric ELISA kits (Benfer-Scheller, Key-Stone Laboratories, USA) secondo le istruzioni dei costruttori. Tutti gli esperimenti sono effettuati in duplicato. L'analisi statistica è stata effettuata con il software SPSS.

Risultati

Il test di Kolmogorov-Smirnov dimostrava una distribuzione di dati non parametrica. Per l'analisi statistica dei dati è stato quindi utilizzato il test non parametrico per dati appaiati di Wilcoxon.

La tabella I riporta i valori del rilascio delle citochine nel sopranatante delle donne non atopiche. L'antigene LPS stimolava notevolmente il rilascio di tutte le citochine.

Le nanoparticelle di Pd 10⁻⁵ M aumentavano il rilascio di IFN-γ dalle PBMC stimolate da LPS mentre inibivano quello di TNF-α ed IL-17 rispetto ai valori basali (tabella I). Le nanoparticelle di Pd 10⁻⁶ M inibivano il rilascio di IL-10.

Il sale esa-cloropalladato a concentrazione 10⁻⁵ M inibiva il rilascio di tutte le citochine dalle PBMC stimolate da LPS mentre il sale 10⁻⁶ M, ed in grado minore che a concentrazione 10⁻⁵ M, inibiva il rilascio di IL-10 (tabella I).

Nelle donne sensibilizzate al Pd i valori basali di rilascio di IL-10, TNF-α ed IFN-γ (ma non IL-17) erano aumentati. LPS aumentava ulteriormente il rilascio di tutte le citochine, in particolare quello di IFN-γ.

Nelle donne sensibilizzate al Pd, con alti livelli basali di rilascio di citochine, l'esacloropalladato di Pd 10⁻⁵ M inibiva il rilascio di IL-10 ed IL-17 mentre il sale a concentrazione 10⁻⁶ M e le nanoparticelle a concentrazione 10⁻⁵ e 10⁻⁶ M non esercitavano effetti statisticamente significativi.

Discussione

In questo studio abbiamo determinato l'effetto dell'esposizione delle PBMC a sali di esa-cloropalladato ed a nanoparticelle di Pd sul rilascio di: a) IFN-γ, marker della risposta Th1, b) IL-10 (una citochina Treg), c) IL-17, un nuovo tipo di citochina prodotta da un sottogruppo di cel-

Tabella I. Rilascio di citochine dalle PBMC di donne non atopiche in culture in condizioni basali o stimolate con LPS in presenza di nanoparticles (nano) di Pd o di esa-cloropalladato di potassio (sale) 10^{-5} o 10^{-6} M

Molarità (pg/ml)	IL 10		TNF- α		IFN- γ		IL-17	
	Med	Range 25-75%	Med	Range 25-75%	Med	Range 25-75%	Med	Range 25-75%
Basale	62	49-139	40	10-63	3.8	2.2-5.3	1.7	1.2-2.1
Con LPS	654	601-757	1237	848-1650	5.3	4.0-7.3	5.2	3.2-9.7
Pd nano 10-5	649	541-771	996	686-1324*	11.5	6.1-19.4*	1.7	0.4-4.7*
Pd-nano 10-6	606	541-716	1168	866-1495	5.9	3.6-8.2	2.7	1.6-5.9*
Pd sale 10-5	25	15-384**	9	11-707**	1.1	0.5-4.2**	1.7	1.1-5.4*
Pd sale 10-6	449	327-544*	1725	866-2962	2.5	1.0-6.6	3.6	2.3-7.2

Wilcoxon test: differenza statisticamente significativa: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

Tabella II. Rilascio di citochine dalle PBMC di donne sensibilizzate a Pd in culture in condizioni basali o stimolate con LPS in presenza di nanoparticles (nano) di Pd o di esa-cloropalladato di potassio (sale) 10^{-5} o 10^{-6} M

Molarità (pg/ml)	IL 10		TNF- α		IFN- γ		IL-17	
	Med	Range 25-75%	Med	Range 25-75%	Med	Range 25-75%	Med	Range 25-75%
Basale	609	523-633	671	145-1571	6.2	8.1-9.8	1.3	1.1-2.1
Con LPS	975	749-1171	1152	957-1673	28.8	14.3-51.3	1.8	1.1-3.4
Pd nano 10-5	905	728-1035	735	658-1135	26.4	12.4-54.9	0.7	0.5-1.1
Pd-nano 10-6	869	745-965	1040	784-1592	21.2	16.0-40.9	0.8	0.5-1.9
Pd sale 10-5	324	53-707*	2324	800-3851	11.3	6.8-29.3	0.3	0.2-0.4*
Pd sal 10-6	883	735-1049	1112	898-1706	13.1	9.8-19.8	1.0	0.5-1.9

Wilcoxon test: differenza statisticamente significativa: * $p < 0.05$

lule CD4⁺ (19), d) TNF- α , prodotto da un numero variabile di cellule immunitarie.

In uno studio precedente del nostro gruppo sono stati analizzati gli effetti di nanoparticelle (diametro di 50 nm) e micropolveri e sali di cobalto (Co) (20). Le soluzioni di Co inibivano IL-2, IL-10 and TNF- α mentre le nanoparticelle di Co stimolavano la produzione di TNF- α and IFN- γ ed inibivano quella di IL-10 ed IL-2, un modello di attività immunitaria simile a quello riscontrato sperimentalmente e clinicamente nelle forme autoimmunitarie.

Nel nostro esperimento, le nanoparticelle di Pd stimolavano nelle donne non atopiche il rilascio di IFN- γ mentre inibivano quello di TNF- α e di IL-17 mentre il sale esa-cloropalladato inibiva il rilascio di tutte le citochine. Dall'esame di questi dati risulta evidente che esistono similarità e differenze tra gli effetti del sale di Pd e quelli delle nanoparticelle di Pd sia nelle donne non atopiche che in quelle sensibilizzate al Pd; gli studi sono ancora in corso su un più ampio numero di soggetti.

Come riportato nell'introduzione, è noto che v'è un'alta percentuale di reazioni positive a PGE nella popolazione. In particolare nella città di Roma l'1.3% della popolazione è attualmente sensibilizzata a Pd. Questo fenomeno potrebbe essere, in parte, in rapporto con una pregressa sensibilizzazione al Ni, in quanto questo elemento, per le sue caratteristiche fisico-chimiche può essere fonte di sensibilizzazione crociata a Pd (14).

In conclusione, i nostri dati dimostrano che le nanoparticelle di Pd esercitano sulle cellule immunitarie effetti in parte differenti da quelli dei sali. È probabile che questi effetti possano essere causa sia processi infiammatori che autoimmunitari.

Bibliografia

- 1) Merget R, Rosner G. Evaluation of the health risk of platinum group metals emitted from automotive catalytic converters. *Sci Total Environ* 2001; 270: 165-173.
- 2) Barbante C, Veyseyere A, Ferrari C, van de Velke K, Morel C, Capodoglio G, Cescon P, Scarponi G, Boutron C. Greenland snow evidence of large scale atmospheric contamination by platinum, palladium and rhodium. *Environ Chi Technol* 2001; 35: 835-839.
Leopold K, Maier M, Schuster M. Preparation and characterization of Pd/Al₂O₃ nanoparticles as standardized test material for chemical and biochemical studies of traffic related emissions. *Sci total Environ* 2008; 394: 177-182.
- 3) Leopold K, Maier M, Weber S, Scuster M. Long term study of palladium in road tunnel and sewage sludge ash. *Environ Pollut* 2008; 156: 341-347.
- 4) Jarvis KE, Parry SJ, Piper JM. Temporal and spatial studies of auto-catalyst-derived platinum, rhodium, and palladium and selected vehicle-derived trace elements in the environment. *Environ Sci Technol* 2001; 35: 1031-1036.
- 5) Zereini F, Wiseman C, Pyttman W. Changes in palladium, platinum, rhodium concentrations, and their spatial distribution in soils along a major highway in Germany from 1994 to 2004. *Environ Sci Technol* 2007; 41: 451-456.

- 6) Dhalheimer SR, Neal CR, Fein JB. Potential mobilization of platinum-group elements in siderophores in surface environments. *Environ Sci Technol* 2007; 41: 870-875.
- 7) Iavicoli I, Bocca B, Carelli G, Caroli S, Caimi S, Alimenti a, Fontana L. Biomonitoring of tram drivers exposed to airborne platinum, rhodium and palladium, *Int Arch Occup Environ Health* 2007; 81: 109-114.
- 8) Iavicoli I, Carelli G, Bocca B, Caimi S, Fontana L, Alimonti A. Environmental and biological monitoring of iridium in the city of Rome. *Chemosphere* 2007; 71: 568-573.
- 9) Iavicoli I, Bocca B, Caroli S, Caimi S, Alimonti A, Carelli G, Fontana L. Exposure of Rome city tram drivers to airborne platinum, rhodium, and palladium. *J Occup Environ Med* 2008; 50: 1158-66.
- 10) Linnet PJ, Hughes EG. 20 years of medical surveillance on exposure to allergenic and non-allergenic platinum compounds: the importance of chemical speciation. *Occup Environ Med* 1999; 56: 191-196.
- 11) Merget R, Kulzer R, Dierkes-Globisch A, Breitstadt R, Gebler A, Kniffa A, Artelt S, Koenig HP, Alt F, Vormberg R, Baur X, Schultze-Werninghaus G. Exposure-effect relationship of platinum salt allergy in a catalyst production plant: conclusions from 5-year prospective cohort study. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 364-370.
- 12) Di Gioacchino M, Di Giampaolo L, Verna N, Reale M, Di Sciascio MB, Volpe AR, Carmignani M, Paganelli R, Sabbioni E, Boscolo P. "in vitro" effects of high and low doses of platinum compounds on lymphocyte proliferation and cytokine release. *Ann Clin Lab Sci* 2004; 34: 195-202.
- 13) Boscolo P, Di Giampaolo L, Reale M, Castellani ML, Ritavolpe A, Carmignani M, Ponti J, Paganelli R, Sabbioni E, Conti P, Di Gioacchino M. Different effects of platinum, palladium, and rhodium salts on lymphocyte proliferation and cytokine release. *Ann Clin Lab Sci* 2004; 34: 299-306.
- 14) Migliore L, Frenzilli G, Nesti C, Fortaner S, Sabbioni E. Cytogenic and oxidative damage induced in human lymphocytes by platinum, rhodium and palladium compounds. *Mutagenesis* 2002; 17: 411-417.
- 15) Brasch J, Geier J, 1997. Patch test results in schoolchildren. Results from the information network of Departments of Dermatology (IVDK) and the German Contact Dermatitis Research Group (DKG). *Contact Dermat* 1997; 37: 286-293.
- 16) Whorl S, Hemmer W, Focke M, Gotz M, Jarisch R. Patch testing in children, adults, and the elderly: influence of age and sex on sensitization patterns. *Pediatr Dermatol* 2003; 20: 119-123.
- 17) Larese Fillon F, Uderzo D, Bagnato E. Sensitization to palladium chloride: a 10-year evaluation. *Am J Contact Dermat* 2003; 14: 78-81.
- 18) Annunziato A, Cosmi L, Santarlaci V, Maggi L, Liotta F, Mazzinghi B, Parente E, Fili L, Ferri S, Frosali F, Giudici F, Romagnani P, Parronchi P, Tonelli F, Maggi E, Romagnani S. Phenotypic and functional features of human Th17 cells. *J Exper Med* 2007; 204: 1849-1861.
- 19) Petrarca C, Perrone A, Sabbioni E, Di Giampaolo L, Boscolo P, Mariani-Costantini R, Di Gioacchino M. Cobalt nano-particles modulate cytokine in vitro release by human mononuclear cells mimicking autoimmune disease. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2006; 19 (4s): 11-14.

Richiesta estratti: Paolo Boscolo - *Medicina del Lavoro, Università di Chieti, Via dei Vestini, 66110 Chieti, Italy - Tel. e Fax 0871-355704, E-mail: boscolo@unich.it*

A. Panfili

Inquinamento urbano: lavoratori esposti e popolazione in generale. Dall'evidenza dei dati all'urgenza delle politiche

Medico-Chirurgo, Specialista in Ortopedia, Docente presso l'Università Sapienza di Roma
Delegato del Sindaco di Roma per le ASL e per i Rapporti con gli Enti Istituzionali Sanitari
Membro EFSA (European Food Security Authority), Roma

RIASSUNTO. La salute dei lavoratori è spesso ben oltre il loro plausibile controllo. La genetica ci insegna che è possibile modulare l'espressione genica, pertanto anche se si dispone di un corredo "a rischio" per una particolare patologia, ciò non significa che la si debba necessariamente contrarre. Esistono numerose opzioni che consentono di silenziare od amplificare l'espressività di un gene.

Uno studio di Traka et al, (2008) che nel caso del gene predispositivo all'insorgenza del carcinoma prostatico è possibile inattivarlo assumendo con il pasto il corrispettivo di una porzione di broccoli a settimana.

ABSTRACT. URBAN POLLUTION. Workers exposed and common people. Workers' health is influenced by genes. It is easy to feel as if a lot of our health is beyond our control. After all, we can't just change our genes or re-sequence our DNA. However, new research is revealing that we might be able to control the expression of our genes. So even if you have a gene that predisposes you to a certain disease there are things you can do to either silence or amplify the expression of that gene. Traka et al found that workers who have a specific gene that predisposes them to prostate cancer were able to suppress the expression of this gene substantially by eating the equivalent of just one portion of broccoli per week.

Ciò premesso la battaglia dell'inquinamento urbano non si combatte solo dall'esterno, ma anche e specialmente dall'interno, innalzando le difese immunitarie dell'ospite, in questo caso del lavoratore.

Emergenza Inquinamento per lavoratori e popolazione in generale

Nelle 8 maggiori città italiane l'inquinamento atmosferico urbano responsabile di 3.472 decessi, 4.597 ricoveri ospedalieri, decine di migliaia di casi di disturbi bronchiali e asmatici ogni anno

I costi dell'emergenza smog in Austria, Francia e Svizzera sono in netto aumento secondo dati recenti OMS.

Non tragga in inganno il fatto che l'Italia non compaia in questa lista. Infatti nel nostro paese non si dispone di una banca dati fruibile ed attendibile il che non consente di eseguire proiezioni di alcune genere.

La salute dei cittadini e dei lavoratori dovrà essere interesse prioritario degli amministratori

Occorrono provvedimenti di contenimento delle emissioni che coinvolgano i cittadini e dalle Domeniche Ecologiche alle Giornate Europee senz'auto, si dovrà ragionare in termini ben più ampi ed esaustivi per poter incidere sul wellbeing individuale e collettivo.

10 morti al giorno per smog. 10 vittime dell'inefficienza delle politiche italiane in tema di mobilità e inquinamento urbano.

3.472 decessi ogni anno, 4.597 ricoveri ospedalieri, decine di migliaia di casi di disturbi bronchiali e asmatici. I dati discussi oggi da Legambiente e Oms nel corso di un seminario su "Inquinamento urbano e salute in Italia e in Europa: dall'evidenza dei dati all'urgenza delle politiche", appaiono drammaticamente gravi. Lo studio del Centro Europeo Ambiente e Salute dell'Oms mette infatti in evidenza l'impatto sulla salute dei cittadini delle alte concentrazioni di inquinanti nell'aria delle nostre città, calcolando le morti, i ricoveri ospedalieri ed i casi di malattia imputabili alle concentrazioni medie di PM10 (la frazione respirabile delle polveri che grazie al piccolo diametro può arrivare sino alle vie più profonde portandosi dietro sostanze altamente inquinanti e spesso cancerogene come il benzo(a)pirene).

L'attuale normativa europea – applicata solo dalla Regione Lombardia, che si pone così all'avanguardia in Italia

e in Europa – stabilisce provvedimenti di limitazione della circolazione quando il limite di attenzione di 50 microgrammi per metro cubo di polveri giornalieri viene superato per più giorni di seguito, e il blocco totale della circolazione in caso di superamento del livello di allarme pari a 100 microgrammi per metro cubo. Per quanto riguarda la media annuale, invece, la normativa europea fissa un limite di 40 microgrammi per metrocubo che si prevede addirittura di portare ad uno standard (entro il 2010) di 20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

Vista la pericolosità di queste polveri sarebbe utile che tutte le amministrazioni regionali prendessero a modello quella lombarda.

L'impatto dell'inquinamento da PM10 sulla salute dei residenti stimato nelle 8 maggiori città italiane, ha rivelato che nella popolazione di oltre trenta anni, il 4.7% di tutti i decessi osservati nel 1998, pari a 3.472 casi, è attribuibile al PM10 in eccesso di 30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. In altre parole, riducendo il PM10 ad una media di 30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ si potrebbero prevenire circa 3.500 morti all'anno nelle 8 città. Si sono ottenute poi stime di migliaia di ricoveri per cause respiratorie e cardiovascolari, e decine di migliaia di casi di bronchite acuta e asma fra i bambini al di sotto dei quindici anni, che potrebbero essere evitati riducendo le concentrazioni medie di PM10 a 30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

Un sostanziale numero di decessi, ricoveri ospedalieri e disturbi respiratori, specie nei bambini, sono attribuibili quindi all'inquinamento atmosferico urbano, nell'ordine di grandezza di migliaia o decine di migliaia di casi per anno nelle otto maggiori città italiane.

Nella Regione Lazio invece è stata svolta una campagna di monitoraggio sull'inquinamento da polveri sottili (PM10) eseguendo misurazioni random nei quartieri romani nei quali ha sostato a più riprese un Pulman Laboratorio della Salute, allestito all'uopo. Tale campagna è stata effettuata dall'Associazione Ecoland e dall'azienda etica Centro Ecologia dell'Habitat, da anni mobilitate in campagne contro vecchie e nuove forme di inquinamento e che per la loro struttura e i loro statuti sono garanzia di equità e professionalità scientifica. A riprova di ciò la collaborazione, alcuni anni fa, con i vigili urbani di Roma in seguito alla quale furono spostate alcune centraline della capitale in postazioni più "attendibili".

Nella legge sulle polveri sottili è il Decreto l. nr 60 del 2 aprile 2002. sono previsti limiti solo per il PM10, le altre polveri, il PM7, PM2,5 e PM1 non sono ancora normate. Il limite è di 50 microgrammi al metro cubo, che si può superare 35 volte l'anno al massimo, (e comunque non deve mai superare la media annuale di 40 microgrammi al metro cubo).

I risultati riscontrati da questo studio random hanno sostanzialmente evidenziato che ben il 78% delle misurazioni superano i limiti di legge. Di queste il 57% li supera di più del doppio.

Mettendo a confronto i valori emergenti con quelli reperiti sul sito internet dell'ARPA Lazio si riscontrano delle "anomalie". Anche per l'ARPA Lazio più del 70% dei valori superano i limiti di legge ma in maniera meno evidente di quanto appurato dallo studio Ecoland. Questo è dovuto al metodo di misurazione delle centraline, che è spalmato sulle 24 ore giornaliere. Il problema focale però

è che chi vive la città respira l'aria del mattino e del pomeriggio, al più della sera. I valori spalmati sulle 24 ore invece tengono conto anche delle emissioni notturne, molto vicine allo zero, che quindi abbassano drasticamente la media giornaliera, in alcuni casi riportandola persino al di sotto dei limiti di legge.

"La salute pubblica va salvaguardata con ogni mezzo, amministratori e sindaci devono impegnarsi in maniera decisiva affinché quello dell'inquinamento non sia più il principale male delle nostre città. Migliorare la mobilità sostenibile, rendere più veloci i percorsi degli autobus proteggendo le corsie preferenziali, sostenere l'uso di mezzi alternativi: ibridi, elettrici, proporre con agevolazioni soluzioni come il car-sharing, l'auto in multiproprietà, fino alla sperimentazione di veicoli alimentati con tecnologie più moderne e ecocompatibili, sono tutti possibili interventi per contenere l'inquinamento atmosferico, ottenendo importanti ricadute in termini di salute e di costi sociali".

I dati OMS (R. Bertolini, direttore del Centro Europeo Ambiente e Salute dell'OMS) - confermano la gravità dell'inquinamento atmosferico nelle città italiane. Questo studio non considera che una parte del problema (alcuni effetti delle polveri fini) e fornisce verosimilmente una sottostima, ma è ormai evidente che migliaia di cittadini italiani di tutte le età che vivono nelle grandi città si ammalano e muoiono a causa dell'inquinamento urbano che si somma e moltiplica gli effetti di altri fattori di rischio per la salute. Decine di migliaia di attacchi d'asma e casi di bronchite acuta nei bambini sono evitabili. E sfortunatamente il problema è condiviso dalle città italiane con altre metropoli europee, come dimostrato da un recente studio pubblicato sulla prestigiosa rivista Lancet ed effettuato con la stessa metodologia da noi impiegata in Italia. Occorre promuovere politiche di contenimento delle emissioni che coinvolgano i cittadini, e che mirino ad una effettiva e duratura riduzione dell'inquinamento atmosferico che nelle città italiane è principalmente e per gran parte dell'anno associato al traffico veicolare".

I benefici potenzialmente raggiungibili dipendono naturalmente da quanto si riducono le concentrazioni. Con abbassamenti più o meno accentuati, i benefici sarebbero in proporzione. Ad esempio per la mortalità (ma analoghe considerazioni valgono per tutti gli esiti sanitari): riducendo l'inquinamento a 40 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ sarebbe possibile evitare circa 2000 morti; riducendolo a 30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ sarebbe possibile evitarne circa 3500; riducendo l'inquinamento a 20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ sarebbe possibile evitare circa 5500 morti.

Uno studio recente condotto in Austria, Francia e Svizzera sui costi sanitari dell'inquinamento atmosferico ha evidenziato che il numero dei casi di bronchite acuta nei bambini attribuibili all'inquinamento atmosferico (PM10 in totale) sono ben 543.300, di cui 300.000 dovuti proprio allo smog generato dal traffico veicolare. Dei 37.800 ricoveri ospedalieri determinati dall'inquinamento atmosferico, ben 25.000 sono dovuti ai veleni prodotti dal traffico, così come 162.000 casi di attacchi di asma nei bambini (sul totale di 300.900).

Su 30.5 milioni di giorni lavorativi ridotti a causa di malattie respiratorie, ben 16 milioni sono generati dall'in-

quinamento da traffico, mentre per la mortalità nei tre paesi, lo studio fornisce oltre 40.500 casi di cui 21.000 attribuibili sempre allo smog da traffico.

Nei tre Paesi l'inquinamento atmosferico riconducibile al traffico veicolare produce costi per 27 miliardi di Euro l'anno, pari a 360 Euro pro capite.

“Gli effetti dell'inquinamento atmosferico sono quindi tutt'altro che trascurabili. Non possiamo che raccomandare nuovamente di dare seguito con urgenza agli accordi sottoscritti dai Ministri di Sanità, Ambiente e Trasporti di oltre 50 paesi europei, che li impegna ad affrontare con più decisione questa emergenza per la sanità pubblica”.

**TABELLE RELATIVE AGLI STUDI
CONDOTTI IN ITALIA**

**Tabella I. Concentrazioni medie annuali PM10
nelle 8 città italiane, 1999 - $\mu\text{g}/\text{mc}$ $\mu\text{g}/\text{mc}$**

	$\mu\text{g}/\text{mc}$		$\mu\text{g}/\text{mc}$
Torino	53.8	Firenze	46.5
Genova	46.1	Roma	51.2
Milano	47.4	Napoli	52.1
Bologna	51.2	Palermo	44.4

Tabella II. Esiti sanitari attribuibili a PM10 (concentrazioni superiori a 30 $\text{m g}/\text{m}^3$), anno 1998

	Proporzione sul totale	Numero casi
Stime approssimate al 95% attribuibili al PM 10		
Mortalità totale (età>30)	4.7	3472
Ricoveri respiratori	3.0	1887
Ricoveri cardiovascolari	1.7	2710
Bronchite cronica (età>25)	14.1	606
Bronchite acuta (età<15)	28.6	31524
Attacchi d'asma (età<15)	8.7	29730

**Tabella III. Mortalità attribuibili all'inquinamento da PM10.
Età >30 anni**

Città	Numero dei casi	Percentuale sul totale degli esiti
Torino	420	5.7
Genova	260	3.9
Milano	441	4.2
Bologna	252	5.1
Firenze	181	4.0
Roma	1278	5.1
Napoli	444	5.3
Palermo	197	3.5
Totale	3472	4.7

Tabella IV. Ricoveri ospedalieri per cause respiratorie

Città	Numero dei casi	Percentuale sul totale degli esiti
Torino	243	3.6
Genova	119	2.5
Milano	370	2.7
Bologna	107	3.2
Firenze	30	2.5
Roma	648	3.2
Napoli	257	3.4
Palermo	114	2.2
Totale	1887	3.0

Tabella V. Ricoveri ospedalieri per cause cardiovascolari

Città	Numero dei casi	Percentuale sul totale degli esiti
Torino	275	2.1
Genova	171	1.4
Milano	520	1.5
Bologna	148	1.9
Firenze	58	1.5
Roma	1007	1.9
Napoli	370	1.9
Palermo	163	1.3
Totale	2710	1.7

TABELLE RELATIVE ALLO STUDIO EUROPEO

Concentrazione di PM 10 media annuale in m g/m ³	Austria	Francia	Svizzera	Francia
PM 10 in totale	26.0	23.5	21.4	23.5
	18.0	14.6	14.0	14.6
PM 10 attribuito al traffico veicolare*	(69.2%)	(62.1%)	(65.4%)	(62.1%)
PM 10 da altre fonti	8.0	8.9	7.4	8.9

Media annua pesata di concentrazioni di PM10 a cui è esposta la popolazione.

*All'aumento dei livelli di concentrazione di PM10 corrisponde l'aumento della percentuale prodotta dal traffico veicolare.

L'impatto sulla salute attribuibile all'inquinamento atmosferico da traffico veicolare nei tre Paesi (circa 73 milioni di abitanti). Risultati quantitativi

Effetti	Numeri di casi attribuibili a:	
	inquinamento atmosferico (PM10 totale)	di cui generato dal traffico veicolare
Bronchite acuta nei bambini	543 300	300 000
Bronchite cronica negli adulti	471 100	25 000
Ricoveri ospedalieri per malattie respiratorie e cardiovascolari	37 800	25 000
Attacchi di asma nei bambini	300 900	162 000
Attacchi di asma negli adulti	733 300	395 000

Richiesta estratti: A. Panfili - Medico-Chirurgo, Specialista in Ortopedia, Università Sapienza di Roma, Delegato del Sindaco di Roma per le ASL e per i Rapporti con gli Enti Istituzionali Sanitari, Membro EFSA (European Food Security Authority), Campidoglio, Via Tempio di Giove 3, 00186 Roma, Italy - Tel. +39 066710 2671 /5581, Fax +39 066710 9713 /5538, E-mail: adolfo.panfili@comune.roma.it

P. Maestrelli

Nuovi metodi per valutare gli effetti degli inquinanti urbani

Dipartimento di Medicina Ambientale e Sanità Pubblica, Università di Padova

RIASSUNTO. L'inquinamento atmosferico rappresenta un rischio per la salute per la popolazione che abita nelle città e per i lavoratori che si trovano ad operare nell'ambiente urbano. Nella popolazione generale gli effetti a breve termine dell'esposizione riguardano prevalentemente soggetti con preesistenti patologie polmonari o cardiovascolari. Questo contributo riguarda le metodologie di studio degli effetti a breve termine a carico dell'apparato respiratorio dell'esposizione ad inquinanti urbani. Esistono alcune criticità nel disegnare questi studi perché l'inquinamento atmosferico è diffuso, outdoor e indoor, e quindi è problematico esaminare individui in condizioni di non esposizione. Inoltre, la molteplicità dei componenti dell'aria urbana rende difficile identificare gli agenti causali.

È controverso se inquinanti urbani agiscano con un meccanismo infiammatorio. Per valutare l'infiammazione polmonare sono stati introdotti metodi non invasivi, i quali sono adatti per studiare numeri elevati di soggetti, particolarmente se sani. I metodi meglio standardizzati sono l'espettorato indotto, l'ossido nitrico esalato e il condensato dell'aria espirata.

ABSTRACT. NEW METHODS FOR EVALUATION OF THE EFFECTS OF URBAN POLLUTANTS. Air pollution represents a health risk for inhabitants of cities and workers operating in urban environment. Short-term effects of pollutants are mainly observed in individuals with preexisting pulmonary and cardiovascular diseases. The present paper reviews the methods for studying short-term effects of pollutants on respiratory tract. The design of such studies is problematic since pollution is present indoor and outdoor making it difficult the examination of non-exposed individuals. Moreover, the causing agent(s) cannot be easily identified due to the multiplicity of pollution components. Whether an inflammatory mechanism plays a role, it is still controversial. Non invasive methods to study pulmonary inflammation have been introduced, that are suitable to study elevated number of subjects, particularly if they are healthy. The methods better standardized are induced sputum, exhaled nitric oxide and exhaled breath condensate.

Key words: induced sputum, exhaled nitric oxide, breath condensate.

Introduzione

L'inquinamento atmosferico rappresenta un rischio per la salute sia per la popolazione che abita nelle città sia per i lavoratori che si trovano ad operare nell'ambiente urbano come vigili urbani, autotrasportatori, edicolanti, manutentori di strade, ecc. Negli anni dal 1960 al 1980, alcuni studi epidemiologici hanno mostrato aumento della morbilità e mortalità per malattie cardiorespiratorie collegato ad elevato inquinamento atmosferico. Successivamente (1989-95), altri studi epidemiologici hanno riportato effetti negativi di esposizioni a livelli relativamente bassi di particolato urbano (PM). Gli effetti a lungo termine dell'esposizione cumulativa a PM sono rappresentati da aumento del rischio di sviluppare broncopneumopatia cronica ostruttiva od asma e aumento di mortalità per cause cardiopolmonari e per tumori dell'apparato respiratorio, senza che vi sia evidenza di sottogruppi di popolazione particolarmente suscettibili. Viceversa, è stato dimostrato che gli effetti a breve termine riguardano prevalentemente soggetti con preesistenti patologie polmonari o cardiovascolari (1). Questo contributo riguarda le metodologie di studio degli effetti a breve termine a carico dell'apparato respiratorio dell'esposizione ad inquinanti urbani.

Disegno degli studi

Alcuni studi hanno utilizzato un disegno in cui venivano confrontati soggetti esposti ad inquinamento e soggetti non esposti. McCreanor *et al* (2) hanno reclutato 60 adulti con asma per uno studio 'cross-over' che prevedeva una camminata di 2 ore in una strada di Londra (Oxford street) e, in un'occasione distinta, attraverso un parco (Hyde Park). L'esposizione in Oxford street dei partecipanti ha comportato maggiore esposizione a PM fine (<2.5 µm di diametro aerodinamico), PM ultrafine, carbonio e NO₂ rispetto a quella in Hyde Park. Dopo 2 ore di passeggiata in Oxford Street è stata osservata una riduzione dei volumi polmonari (fino al 5-6%), che risultava statisticamente significativa rispetto a quella dopo passeggiata nel parco. Queste variazioni si accompagnavano ad aumento di biomarcatori di infiammazione neu-

trofila (mieloperossidasi nell'espettorato) e acidificazione del condensato dell'aria espirata. In uno studio che abbiamo condotto a Padova, sono stati esaminati prima e dopo turno di lavoro dei vigili urbani esposti a traffico e degli impiegati in ufficio (3). Nei vigili non si è osservata nessuna variazione significativa degli indici spirometrici dopo turno di lavoro. Tuttavia, i livelli della proteina derivata dalle Clara Cells (CC16) nel siero si riduceva dopo turno, suggerendo una riduzione della funzionalità dell'epitelio bronchiolare. Inoltre, la concentrazione di NO esalato post-turno, indicativa di flogosi bronchiale, risultava aumentata e correleva positivamente con i livelli di SO₂ ambientali. Questi risultati suggeriscono che l'esposizione a traffico urbano sia associata ad effetti subclinici sulle vie aeree.

Questo tipo di studi soffre di alcuni inconvenienti. Innanzitutto, risulta difficile stabilire l'esposizione di controllo, cioè la non esposizione, perché l'inquinamento atmosferico è diffuso, *outdoor* e *indoor*. In secondo luogo, è problematico riferire gli effetti ad uno o più componenti della miscela di inquinanti atmosferici. Per ovviare a queste limitazioni, sono necessari esperimenti in camere di esposizione dove possano essere controllati tipo e concentrazione degli agenti inalati e create atmosfere di aria filtrata. In alternativa, possono essere condotti studi sul campo su gruppi di soggetti esaminati longitudinalmente con misure ripetute sia di parametri biologici che di indicatori di esposizione ad inquinanti. L'analisi dei dati permette di stabilire quale(i) variabile sia associata a variazioni dei singoli inquinanti.

Studi longitudinali

Mentre c'è abbastanza evidenza che la funzione respiratoria in bambini asmatici viene ridotta dall'esposizione ad inquinamento urbano, i dati riguardanti gli asmatici adulti sono più controversi. Negli studi epidemiologici per valutare l'effetto degli inquinanti aerodispersi sull'apparato respiratorio sono prevalentemente usate le misure del picco di flusso espiratorio (PEF). Sebbene sia stato stabilito che il volume espiratorio massimo al secondo (VEMS) sia il migliore predittore di mortalità respiratoria e cardiovascolare, questo indice viene utilizzato raramente in relazione con l'inquinamento atmosferico. In uno studio condotto nella città di Padova, abbiamo testato gli effetti dell'esposizione a vari inquinanti atmosferici (PM₁₀, NO₂, SO₂ e CO) sulla funzione respiratoria di asmatici adulti utilizzando sia il PEF che il FEV₁ (4). Una coorte di 19 asmatici che vivevano e lavoravano in Padova sono stati seguiti per 5 periodi di un mese per due anni consecutivi. Il PEF e il VEMS sono stati ottenuti con un misuratore elettronico portatile e sono state analizzate 1492 misure del mattino e 1434 misure serali. Questi dati sono stati messi in relazione con i livelli giornalieri di inquinanti ambientali e variabili meteorologiche misurati dalle centraline dell'ARPA Veneto, nello stesso giorno e nei 3 precedenti (lag 0-3). L'associazione tra inquinanti e dati funzionali è stata esaminata

con modelli lineari marginali per variabili continue. I risultati sono espressi come coefficienti di regressione (β) e intervallo di confidenza (95% CI). Sono state osservate significative associazioni tra il PEF del mattino e della sera e i livelli di CO ($p=0.01-0.03$), senza chiare differenze rispetto agli intervalli di tempo (lag 0 e 3 giorni). Un incremento di 1 mg/m³ di CO era associato con variazioni del PEF tra -2.6% e 2.8%. Tutti le stime di effetto fra PEF e CO rimanevano significative, o diventavano più forti, dopo aver applicato modelli di analisi che tenevano conto di inquinanti multipli come PM₁₀, NO₂ ed SO₂. Un trend simile è stato osservato anche per il FEV₁, ma le associazioni non risultavano significative. In conclusione, in questa coorte di asmatici adulti con malattia di grado medio-grave la funzione respiratoria era influenzata dall'esposizione ad inquinanti gassosi, in particolare il CO. Questi effetti sono stati osservati a livelli di concentrazioni al di sotto di quelli che sono gli standard applicati a livello europeo. In questo studio, il PEF risulta essere più sensibile del FEV₁. Questa osservazione può apparire sorprendente visto che entrambi gli indici derivano da un'unica manovra di espirazione forzata e il VEMS fatto sotto supervisione in laboratorio è più sensibile nell'identificare la bronco ostruzione. Poiché la misura ottimale del VEMS è tecnicamente più impegnativa di quella del PEF, quest'ultimo è probabilmente più adatto per il monitoraggio a domicilio. L'evidenza che i livelli di CO ambientale influenzano la funzione respiratoria nell'asma è moderata; infatti solo 3 tre studi in letteratura riportano questa associazione (5). Una relazione diretta tra peggioramento dell'asma ed esposizione a CO manca di plausibilità biologica. Tuttavia il CO può essere un indicatore di altri prodotti di combustione, misurabili o no, nell'ambiente come le particelle ultrafini.

L'assenza di associazioni significative tra PM₁₀ e funzione respiratoria può essere dovuta al fatto che le concentrazioni ambientali di PM non necessariamente riflettono l'effettiva esposizione personale a particolato; infatti esistono sorgenti indoor di particolato e la maggior parte della vita quotidiana è spesa in ambienti interni (6). In una coorte di 32 asmatici, abbiamo valutato la relazione tra esposizione personale a PM₁₀ e PM_{2.5} e variazioni del decorso dell'asma e della risposta infiammatoria del polmone. Ogni soggetto è stato esaminato in sei occasioni, corrispondenti a diverse stagioni, estate, autunno e inverno, per due anni consecutivi. L'esposizione a PM è stata determinata con campionatori personali nelle 24 ore precedenti la valutazione in laboratorio. Il decorso dell'asma è stato valutato con il Saint George Hospital Respiratory Questionnaire (SGRQ) e con il VEMS; la risposta infiammatoria del polmone è stata valutata con metodiche non invasive come la concentrazione di NO nella aria esalata (FeNO) e con il pH del condensato espiratorio (EBC). Incrementi di 10 µg/m³ di esposizione personale a PM₁₀ erano associati ad una peggiore percezione della salute, dimostrata da un aumento del punteggio del SGRQ ($\beta=0.22$; 95% CI -0.005/4.451; $p=0.055$), ma non è stata rilevata alcuna associazione significativa tra PM e VEMS o indicatori in infiammazione polmonare (7).

Valutazione non invasiva dell'inflammatione polmonare

Una serie di studi epidemiologici hanno mostrato che picchi di inquinamento sono associati ad esacerbazioni di malattie polmonari e cardiovascolari che avvengono dopo poche ore o giorni. Poiché queste esacerbazioni sono in genere associate ad inflammatione locale o sistemica, il meccanismo infiammatorio è stato invocato per spiegare la tossicità del particolato. Tuttavia, studi di coorte longitudinali o di esposizione sperimentale non sono concordi nella dimostrazione di una relazione tra esposizione a PM, inflammatione polmonare e decremento della funzione respiratoria (8). Per valutare l'inflammatione polmonare sono stati introdotti ed impiegati metodi non invasivi, i quali sono adatti per studiare numeri elevati di soggetti, particolarmente se si tratta di soggetti sani. I metodi meglio standardizzati sono l'espettorato indotto, l'ossido nitrico esalato e il condensato dell'aria espirata. L'utilizzo di questi metodi nel contesto delle pneumopatie professionali è illustrato in dettaglio nel documento della Task Force dell'EAACI (9).

Espettorato indotto

L'analisi dell'espettorato indotto dall'inhalazione di soluzione salina ipertonica tramite un nebulizzatore ultrasonico permette una valutazione del tipo e dell'intensità dell'inflammatione delle vie aeree tramite la conta leucocitaria. Inoltre, nel supernatante possono essere misurati una serie di mediatori con metodi immunologici. La procedura è stata standardizzata da una task force dell'European Respiratory Society (10). L'espettorato indotto è stato utilizzato in pochi studi sul campo volti a valutare gli effetti dell'inquinamento atmosferico. McCreanor *et al.* non ha trovato alcuna differenza significativa di cellularità o di mediatori solubili dopo esposizione a traffico urbano in asmatici; vi era solo un trend in aumento per neutrofili e mieloperossidasi (2). Dragonieri *et al.* in un piccolo studio trasversale in vigili urbani esposti a traffico ha trovato percentuali di neutrofili più elevate che nei controlli non esposti; tuttavia l'esposizione ad inquinanti non era stata determinata (11).

Vi sono alcuni inconvenienti che limitano l'uso dell'espettorato indotto negli studi sul campo: un campione adeguato non è ottenibile in tutti i soggetti, la procedura di induzione è minimamente invasiva perché può indurre bronco-costrizione, la procedura è lunga e la processazione del campione va eseguita rapidamente.

Ossido nitrico nell'aria esalata

La frazione di ossido nitrico (FeNO) prodotta nel tratto respiratorio può essere misurata nell'aria espirata con analizzatori fissi o portatili. La standardizzazione della procedura è stata pubblicata a cura dell'European Respiratory Society e dell'American Thoracic Society (12). FeNO è elevato nell'asma non trattato e si riduce con il trattamento cortisonico. Sebbene FeNO correli con le percentuali di eosinofili nell'espettorato, in soggetti sotto terapia cortisonica e nell'asma severo tale correlazione viene meno. Rispetto all'espettorato indotto, la misura del FeNO è total-

mente non invasiva, rapida e semplice. Tuttavia, elevate concentrazioni di FeNO non sono specifiche dell'asma e dell'inflammatione eosinofila, perché sono riscontrate anche in altre malattie e vi sono numerose condizioni che influenzano i livelli di FeNO.

La misura di FeNO è stata utilizzata in numerosi studi in bambini ed adulti per monitorare l'effetto sulle vie aeree dell'inquinamento atmosferico. Sono state trovate relazioni con PM, carbonio elementare e particelle carboniose, inquinanti gassosi come SO₂, CO, NO, ozono (2, 7, 13-15).

Condensato espiratorio

Il condensato dell'aria espirata (CAE) è un modo non invasivo che permette ripetute analisi dell'acidificazione, dello stress ossidativo e dell'inflammatione delle vie aeree. Sono state pubblicate a cura dell'European Respiratory Society e dell'American Thoracic Society le raccomandazioni su come raccogliere il condensato e le problematiche per l'analisi dei componenti (16). La misura del pH nel CAE è l'indicatore più semplice e meglio standardizzato (17). Nonostante la misura sia riproducibile, il pH del CAE si è tuttavia rivelato poco sensibile a variazioni della condizioni cliniche nell'asma (18,19). I risultati dell'applicazione di questa metodica in relazione con l'inquinamento atmosferico hanno dato risultati contrastanti.

Bibliografia

- 1) Pope CA. Air pollution and health. *N Engl J Med* 2004; 351: 1132-34.
- 2) McCreanor J, Cullinan P, Nieuwenhuijsen MJ, Stewart-Evans J, Malliarou E, Jarup L, Harrington R, Svartengren M, Han I-K, Ohman-Strickland P, Chung KF, Zhang J. Respiratory effects of exposure to diesel traffic in persons with asthma. *N Engl J Med* 2007; 357: 2348-2358.
- 3) Guarneri G, Lodde V, Ferrazzoni S, Bordin A, Venturini R, Zaninotto M, Confero E, Maestrelli P. Effetto acuto dell'inquinamento ambientale sulle vie aeree in vigili urbani. *G Ital Med Lav Erg* 2007; 29: 838-840.
- 4) Canova C, Torresan S, Simonato L, Scapellato ML, Tessari R, Visentin A, Lotti M, Maestrelli P. Carbon monoxide pollution is associated with decreased lung function in asthmatic adults. *Eur Respir J* 2010; 35: 35: 266-72.
- 5) Canova C, Torresan S, Maestrelli P. Short-term adverse effects of carbon monoxide pollution on respiratory system in adults: a systematic review. *Annals of Respiratory Medicine* 2010; 1: 89-98.
- 6) Scapellato ML, Canova C, de Simone A, Carrieri M, Maestrelli P, Simonato L, Bartolucci GB. Personal PM10 exposure in asthmatic adults in Padova, Italy: seasonal variability and factors affecting individual concentrations of particulate matter. *Int J Hyg Environ Health*. 2009; 212: 626-636.
- 7) Maestrelli P, Canova C, Scapellato ML, Visentin A, Bordin A, Bartolucci GB, Simonato L, Lotti M. Personal Exposure to Particulate Matter Is Associated with Worse Health Perception in Asthma. *Proceedings of the American Thoracic Society* 2008: A426.
- 8) Scapellato ML, Lotti M. Short-term effects of particulate matter: an inflammatory mechanism? *Crit Rev Tox* 2007; 37: 461-487.
- 9) Quirce S, Lemièrre C, de Blay F, del Pozo V, Gerth Van Wijk R, Maestrelli P, Pauli G, Pignatti P, Raulf-Heimsoth M, Sastre J, Storaas T, Moscato G. Noninvasive methods for assessment of airway inflammation in occupational settings. *Allergy* 2010; 65: 445-58.
- 10) Paggiaro PL, Chanez P, Holz O, Ind PW, Djukanovic R, Maestrelli P, Sterk PJ. Sputum induction. *Eur Respir J* 2002; 20 Suppl. 37: 3S-8S.
- 11) Dragonieri S, Musti M, Izzo C, Esposito LM, Foschino MP, Resta O, Spanevello A. Sputum induced cellularity in a group of traffic policemen. *Tot Sci Env* 2006; 367: 433-36.

- 12) ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the on-line and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 912-930.
- 13) Koenig JQ, Jansen K, Mar TF, Lumley T, Kaufman J, Trenga CA, Sullivan J, Liu L-JS, Shapiro GG, Larson TV. Measurement of offline exhaled nitric oxide in a study of community exposure to air pollution. *Environ Health Perspect* 2003; 111: 1625-1629.
- 14) Delfino RJ, Staimer N, Gillen D, Tjoa T, Sioutas C, Fung K, Gorge SC, Kleinman MT. Personal and ambient air pollution is associated with increased exhaled nitric oxide in children with asthma. *Environ Health Perspect* 2006; 114: 1736-1743.
- 15) Adamkiewicz G, Ebelt S, Syring M, Slater J, Speizer FE, Schwartz J, Suh H., Gold DR. Association between air pollution exposure and exhaled nitric oxide in an elderly population. *Thorax* 2004; 59: 204-209.
- 16) Horváth I, Hunt J, Barnes PJ, Alving K, Antczak A, Baraldi E, *et al.* ATS/ERS Task Force on Exhaled Breath Condensate. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. *Eur Respir J* 2005; 26: 523-48.
- 17) Kostikas K, Papatheodorou G, Ganas K, Psathakis K, Panagou P and Loukides S. pH in Expired Breath Condensate of Patients with Inflammatory Airway Diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 1364-1370.
- 18) Accordino R, Visentin A, Bordin A, Ferrazzoni S, Marian E, Rizzato F, Canova C, Venturini R, Maestrelli P. Long-term repeatability of exhaled breath condensate pH in asthma. *Respir Med* 2008; 102: 377-381.
- 19) Ferrazzoni S, Scarpa MC, Guarnieri G, Corradi M, Mutti A, Maestrelli P. Exhaled nitric oxide and breath condensate pH in asthmatic reactions induced by isocyanates. *Chest* 2009; 136: 155-62.

Richiesta estratti: Prof. Piero Maestrelli - Dipartimento di Medicina Ambientale e Sanità Pubblica, Università di Padova, Via Giustiniani 2, 35128 Padova, Italy - E-mail: piero.maestrelli@unipd.it

M.L. Scapellato

Esposizione individuale a particolato e attività autonoma in pazienti con infarto del miocardio

Dipartimento di Medicina Ambientale e Sanità Pubblica, Università degli Studi di Padova

RIASSUNTO. L'esposizione a particolato aerodisperso (PM) è stata correlata in numerosi studi con un aumento a breve termine della morbilità e mortalità per malattie cardiovascolari. Alcune di queste malattie si ritiene possano essere esacerbate da alterazioni della regolazione del ritmo cardiaco. Un nostro studio in pazienti con pregresso infarto miocardico ha dimostrato che la riduzione della variabilità della frequenza cardiaca (HRV) correla con l'intensità dell'esposizione personale a PM quasi-ultrafine (PM_{0,25}). Questa correlazione non è stata osservata nei pazienti in terapia con β-bloccanti. I risultati suggeriscono che l'effetto del PM_{0,25} possa essere dovuto ad un rapido squilibrio nella regolazione autonoma del cuore. Le principali ipotesi sui meccanismi d'azione del PM vengono discusse alla luce di questi risultati e portano alla conclusione che l'infiammazione polmonare, l'ipotesi più esplorata, potrebbe causare meccanismi riflessi, oppure più probabilmente che il PM potrebbe interagire direttamente con recettori bronchiali, e l'infiammazione semplicemente coesistere.

ABSTRACT. *INDIVIDUAL EXPOSURE TO PARTICULATE MATTER AND AUTONOMIC ACTIVITY IN PATIENTS WITH MYOCARDIAL INFARCTION. Particulate matter (PM) exposures are correlated in several studies with short-term increases of morbidity and mortality for cardiovascular diseases. Some of these effects are believed to be exacerbated by dysregulation of cardiac rhythm. We studied patients with antecedent myocardial infarction showing that a reduction of heart rate variability (HRV) correlates with the intensity of exposures to quasi-ultrafine particles (PM_{0,25}). However, this correlation was not found in patients taking β-blockers. These data suggest that the effects of PM could be mediated through a rapid imbalance of the autonomic regulation of the heart. Current mechanistic hypotheses are discussed leading to the conclusion that the most studied one, i.e. pulmonary inflammation, may trigger reflexes or, more likely PM interact with bronchial receptors directly, and inflammation may be simply bystander.*

Key words: individual PM exposure, HRV, arrhythmias (individual PM exposure, myocardial infarction, autonomic nervous system, arrhythmias).

Introduzione

Lo studio della variabilità della frequenza del ritmo cardiaco (Heart Rate Variability, HRV) rappresenta un metodo affidabile nell'analisi dell'attività autonoma del cuore la cui riduzione rappresenta fattore di rischio di infarto del miocardio (15).

L'HRV è stata correlata negativamente in vari studi clinici con l'esposizione a particolato aerodisperso (PM) e si ritiene che la sua riduzione possa giustificare gli eccessi di morbilità e mortalità per malattie cardiovascolari, come coerentemente dimostrato in numerosi studi epidemiologici (1, 12).

Pochi studi hanno esplorato la variabilità della frequenza cardiaca in rapporto all'esposizione a PM in soggetti con malattia coronarica. In uno studio di panel è stata riscontrata una diminuzione della HRV mentre in altri due non sono state osservate variazioni dopo esposizioni controllate a PM (7, 13).

Un nostro studio (3) su pazienti con pregresso infarto miocardico, ha indagato gli effetti sul profilo aritmico e autonomo dell'esposizione individuale a particolato di varie dimensioni granulometriche e offre lo spunto per una discussione sul coinvolgimento del sistema autonomo nell'esposizione a PM.

HRV, aritmie ed esposizione a PM

Nell'ambito di un progetto di ricerca (PRIN 2005) è stata valutata l'esposizione individuale di 24 ore a PM₁₀, PM_{2,5} e PM_{0,25} (rispettivamente particolato inferiore a 10 μm, 2.5 μm, 0.25 μm) in un gruppo di 39 soggetti (età media 60.3 ± 4.8 anni) con pregresso infarto del miocardio; questi sono stati valutati longitudinalmente in tre diversi periodi dell'anno e, nella giornata di misura dell'esposizione personale, hanno effettuato un monitoraggio elettrocardiografico sec. Holter di 24 ore per l'analisi dell'attività neurovegetativa (Indicatori di HRV nel dominio del tempo: SDNN, SDANN, RMSSD) e degli eventi aritmici maggiori (tachicardie ventricolari sostenute e non sostenute). Sono stati inoltre misurati alcuni indici ematici di infiammazione: proteina C reattiva, pentaxina, e cito-

chine proinfiammatorie quali IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF e TNF- α .

Gli indicatori di HRV sono risultati stabili nei tre diversi periodi considerati e non sono emerse correlazioni statisticamente significative con le concentrazioni di PM di varia granulometria. Però, suddividendo i pazienti in due gruppi in base all'assunzione di β -bloccanti, le concentrazioni di PM_{0,25} sono risultate correlate negativamente con SSDN e SDANN nei pazienti che non assumevano β -bloccanti (PM_{0,25} vs. SDNN $r=-0.645$, $p<0.05$; PM_{0,25} vs. SDANN $r=-0.684$, $p=0.03$). Questa correlazione, poiché non riscontrata con le concentrazioni di PM₁₀ e PM_{2,5}, sembra confermare una maggior tossicità delle particelle quasi-ultrafini (2).

L'azione protettiva dei β -bloccanti è stata riportata in precedenza solo in uno studio nel quale l'associazione fra esposizione a PM_{2,5} e riduzione dell'HRV è risultata più debole in soggetti in terapia con β -bloccanti, anche se non sono disponibili informazioni sulle condizioni cliniche dei soggetti e l'esposizione è stata valutata con stazioni fisse misurando solo il PM_{2,5} (11). L'effetto protettivo dei β -bloccanti potrebbe essere la conseguenza di una ridotta deposizione del PM_{0,25} nelle vie respiratorie a causa di una diminuita ventilazione. Infatti i soggetti in terapia con β -bloccanti hanno mostrato valori di FEV1 più bassi (media \pm D.S.: $86\% \pm 16\%$ vs $99\% \pm 10\%$, $p=0.005$). Un'altra spiegazione potrebbe essere nell'azione anti-infiammatoria dei β -bloccanti. Nei soggetti in terapia con questi farmaci, sono stati infatti riscontrati livelli inferiori di Ossido Nitrico esalato (media \pm D.S.: 26 ± 14 vs 43 ± 62 p.p.b., $p<0.05$).

Contrariamente all'effetto del PM_{0,25} sulla riduzione dell'HRV, le aritmie ventricolari più gravi sono state osservate nei soggetti con esposizioni più elevate a PM₁₀ e PM_{2,5}, suggerendo quindi un diverso meccanismo.

Infine, non sono state evidenziate correlazioni tra gli indici di infiammazione ed esposizione a PM.

Ipotesi di meccanismo

Il riscontro di variazioni dell'HRV in soggetti sani e cardiopatici in rapporto all'esposizione a PM non è coerentemente riportato nella letteratura (7, 13). I nostri risultati indicano tuttavia che in soggetti con pregresso infarto del miocardio vi è una correlazione tra intensità dell'esposizione a PM_{0,25} e riduzione della HRV. Inoltre, la protezione offerta dai β -bloccanti suggerisce che questi effetti siano mediati dal sistema parasimpatico, anche se con meccanismi sconosciuti. Al riguardo sono state formulate alcune ipotesi (figura 1) che però trovano diversa considerazione tra i ricercatori (5).

Nella letteratura (1, 5, 7, 9, 13) predomina l'ipotesi infiammatoria che viene prospettata in due modi. Da un lato il PM inalato provocherebbe una risposta infiammatoria nei polmoni, con conseguente rilascio di citochine pro-infiammatorie e pro-trombotiche nella circolazione sistemica in grado di determinare una risposta a livello cardiovascolare. Tuttavia, studi dopo esposizioni controllate nei quali vengono valutati gli indici di infiammazione sistemica e gli effetti cardiovascolari, sia in soggetti sani che

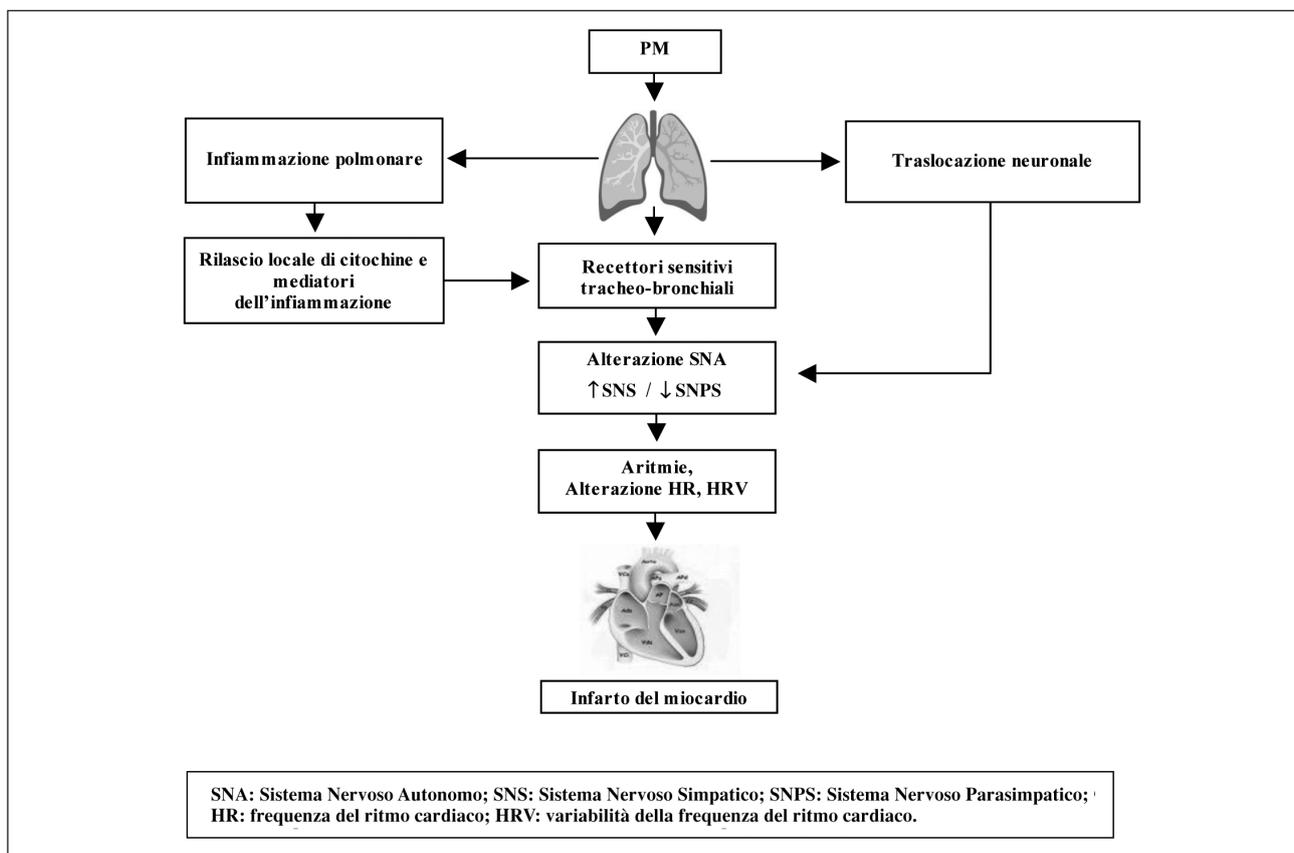


Figura 1. Effetti del PM sul cuore: possibili meccanismi mediati dal Sistema Nervoso Autonomo

affetti da malattia coronarica, evidenziano correlazioni modeste e contraddittorie tra esposizione a PM, infiammazione e alterazioni della funzione cardiovascolare. L'infiammazione aggiuntiva indotta dalla presenza del PM nell'albero bronchiale, può tuttavia essere di diversa entità in ciascun individuo, e giustificare in tal modo questi risultati contrastanti. Infatti, le risposte infiammatorie sono modulate attraverso vie riflesse sensitive, ipotalamiche e parasimpatiche colinergiche efferenti, che potrebbero determinare una diversa attivazione dei macrofagi e del rilascio di citochine (14).

Un'altra modalità di valutare il ruolo patogenetico dell'infiammazione valorizza l'ipotesi di una infiammazione circoscritta al polmone con rilascio locale di citochine e mediatori dell'infiammazione, conseguente stimolazione delle terminazioni nervose bronchiali e quindi un riflesso del sistema autonomico.

Rimane tuttavia da spiegare la compatibilità temporale tra la rapidità dell'evento cardiaco ed i tempi necessari all'insorgere dell'infiammazione in seguito all'esposizione. Se consideriamo ad esempio la risposta parasimpatica della broncocostrizione in seguito a stimolazione aspecifica, l'evidenza dimostra che il riflesso precede l'accorrere delle cellule infiammatorie nell'albero bronchiale (8). Inoltre, resta difficile poter distinguere il modesto contributo infiammatorio del PM sull'andamento cronico di malattie alla cui base c'è l'infiammazione.

Esistono anche ipotesi che, tralasciando l'infiammazione, suggeriscono un meccanismo riflesso ad origine broncopolmonare (1, 5, 7, 9, 13). Il particolato inalato potrebbe stimolare direttamente recettori sensitivi polmonari e causare un'alterazione dell'equilibrio del sistema autonomico con aumento del riflesso della componente simpatica e conseguente alterazione del controllo del ritmo cardiaco. Uno squilibrio tra sistema simpatico e parasimpatico viene anche suggerito da studi sugli animali nei quali gli effetti causati dal PM determinano un'aumentata reattività dei neuroni sensitivi periferici e dei neuroni del nucleo del tratto solitario (4). Una stimolazione dei recettori polmonari è suggerita anche dai cambiamenti nella reattività delle vie aeree osservati dopo esposizione a PM. La broncocostrizione può essere mediata dall'interazione diretta del PM con i recettori broncopolmonari vagali, che sono responsabili delle risposte riflesse agli irritanti, quali ad esempio le terminazioni delle fibre-C (6). Studi su pazienti trapiantati di cuore e polmone hanno evidenziato che a fronte di una denervazione polmonare ed in situazioni di rigetto associate ad infiammazione delle vie aeree, questi soggetti mostrano un'aumentata reattività bronchiale alla metacolina. Viceversa, l'inalazione di capsicina che causa broncocostrizione negli asmatici è inefficace nei pazienti trapiantati, anche se con iperreattività alla metacolina. Quindi la reattività alla metacolina e alla capsicina rappresentano due risposte distinte. Un eventuale contributo di questi meccanismi agli effetti del PM è tuttavia ignoto considerando che pochi studi hanno valutato dopo esposizione a PM la reattività alla metacolina, e nessuno alla capsicina (13).

Infine, alcuni studi hanno valutato la possibilità che le particelle ultrafini possano traslocare per transocitosi nel

sistema nervoso (10). Dopo instillazione nasale e tracheale di microsferi (20-200 nm) nei roditori, le particelle sono state rilevate nel ganglio trigeminale e nel ganglio nodoso, quest'ultimo connesso al sistema vagale. Non è chiaro tuttavia cosa possa significare la presenza di particelle nel sistema nervoso autonomo.

In conclusione, la riduzione della HRV in pazienti con ischemia miocardica e l'effetto protettivo dei β -bloccanti - che permettono una regolazione dell'attività simpatica e diminuiscono gli effetti delle catecolamine sul consumo miocardico di ossigeno - suggeriscono che il PM abbia effetti simpaticomimetici. Rimane tuttavia da dimostrare il nesso tra esposizione a PM, riduzione della HRV e gli eventi cardiaci acuti documentati dagli studi epidemiologici.

Prospettive

I risultati sinora descritti richiedono da un lato conferme con strumenti diversi dalla misura dell'HRV, dall'altro la comprensione dei meccanismi che sottendono queste alterazioni della funzione cardiaca. A quest'ultimo riguardo, gli studi epidemiologici e di panel offrono poche prospettive. Studi dopo esposizioni controllate (ad esempio in una camera di esposizione ove è possibile l'esecuzione contestuale di diversi test) potrebbero rendere possibili protocolli sperimentali più complessi ed il controllo di molti fattori di confondimento. Il meccanismo che appare più probabile, praticamente inesplorato e legato ad una interazione con i recettori bronchiali, potrebbe quindi trovare conferme. Ad esempio, la stimolazione selettiva delle vie afferenti da parte del PM è verificabile con l'uso di specifici test di provocazione e rilevabile nelle sue conseguenze sul sistema nervoso autonomo. Il controllo negativo potrebbe essere rappresentato dall'assenza di effetti con l'assunzione di β -bloccanti. Questi studi possono essere effettuati su animali, su individui malati e sani e diversi per età e genere. Inoltre, si potranno esplorare più precisamente le relazioni temporali tra gli effetti pro-infiammatori del PM e quelli sul sistema autonomo. In tal modo si chiarirà se l'infiammazione polmonare abbia un ruolo patogenetico o semplicemente coesiste.

Infine, l'esposizione controllata può essere realizzata con PM di diversa granulometria e composizione e caratterizzata non solo in termini di concentrazione in massa ma anche di numerosità delle particelle e di loro superficie.

Bibliografia

- 1) Brook RD. Cardiovascular effects of air pollution. *Clin Sci* 2008; 115: 175-187.
- 2) Chuang KJ, Chan CC, Chen NT, Su TC, Lin LY. Effects of particle size fractions on reducing heart rate variability in cardiac and hypertensive patients. *Environ Health Perspect* 2005; 113: 1693-1697.
- 3) Folino AF, Scapellato ML, Canova C, Maestrelli P, Bertorelli G, Simonato L, Iliceto S, Lotti M. Individual exposure to particulate matter and autonomic profiles in patients with myocardial infarction. *Eur Heart J* 2009; 30: 1614-1620.

- 4) Joad JP, Sekizawa SI, Chen CY, Bonham AC. Air pollutants and cough. *Pulmon Pharmacol* 2007; 20: 347-354.
- 5) Knol AB, de Hartog JJ, Boogaard H, Slottje P, van der Sluijs JP, Lebbert E, Cassee FR, Wardekker A, Ayres JG, Borm PJ, Brunekreef B, Donaldson K, Forestiere F, Holgate ST, Kreyling WG, Nemery B, Pekkanen J, Stone V, Wichmann E, Hoek G. Expert elicitation on ultrafine particles: likelihood of health effects and casual pathways. *Particle and Fibre Toxicology* 2009; 6: 19.
- 6) Lee LY, Widdicombe JG. Modulation of airway sensitivity to inhaled irritants: role of inflammatory mediators. *Environ Health Perspect* 2001; 109: S585-S589.
- 7) Lotti M, Olivato I, Bergamo L. Inflammation and short-term cardiopulmonary effects of particulate matter. *Nanotoxicology* 2009; 3: 26-31.
- 8) McCreanor J, Cullinan P, Nieuwenhuijsen MJ, Stewart-Evans J, Malliarou E, Jarup L, Harrington R, Svartengren M, Han IK, Ohman-Strickland P, *et al.* Respiratory effects of exposure to diesel traffic in persons with asthma. *N Engl J Med* 2007; 357(23): 2348-2358.
- 9) Mills NL, Donaldson K, Hadoke PW, Boon NA, MacNee W, Cassee FR, Sandström T, Blomberg A, Newby DE. Adverse cardiovascular effects of air pollution. *Nature Clinical Practice* 2009; 6: 36-44.
- 10) Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect* 2005; 113: 823-839.
- 11) Park SK, O'Neill MS, Vokonas PS, Sparrow D, Schwartz J. Effects of air pollution on heart rate variability: the VA normative aging study. *Environ Health Perspect* 2005; 113: 304-309.
- 12) Pope CA, Dockery DW. Health effects of fine particulate air pollution: lines that connect. *J Air Waste Manage Assoc* 2006; 56: 709-742.
- 13) Scapellato ML, Lotti M. 2007. Short-term effects of particulate matter: An inflammatory mechanism? *Crit Rev Toxicol* 2007; 37: 461-487.
- 14) Tracey K. The inflammatory reflex. *Nature* 2002; 420: 853-859.
- 15) Tsuji H, Larson MG, Venditti FJ Jr, Manders ES, Evans JC, Feldman CL, Levy D. Impact of reduced heart rate variability on risk for cardiac events. The Framingham Heart Study. *Circulation* 1996; 94: 2850-2855.

Richiesta estratti: Scapellato Maria Luisa - Dipartimento di Medicina Ambientale e Sanità Pubblica, Università degli Studi di Padova, Via Giustiniani 2, 35128 Padova, Italy - Tel. 049 8211369, E-mail: marialuisa.scapellato@unipd.it

N. Sannolo, M. Lamberti, P. Pedata

Effetti dell'inquinamento da particolato ultrafine sulla salute umana

Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sezione di Medicina del Lavoro, Igiene e Tossicologia Industriale. Seconda Università degli Studi di Napoli

RIASSUNTO. Studi clinici ed epidemiologici hanno mostrato un'evidente correlazione tra concentrazione ambientale di particelle ultrafini (UFPs) ed effetti avversi per la salute. In particolare, è stata dimostrata l'associazione con infezioni respiratorie, cancro polmonare, broncopneumopatie croniche ostruttive e patologie del sistema cardiovascolare. Sebbene i meccanismi biologici alla base di queste associazioni non siano ancora sufficientemente chiariti, i risultati di studi tossicologici *in vitro* hanno dimostrato che le UFPs sono responsabili di diversi effetti cellulari, quali la citotossicità, la mutagenicità, il danno ossidativo al DNA e la stimolazione della produzione di citochine proinfiammatorie. In questo lavoro vengono riportati i risultati di recenti studi epidemiologici e tossicologici relativi agli effetti avversi per la salute umana secondari all'esposizione a UFPs.

Parole chiave: particolato ultrafine, effetti sulla salute, esposizione ambientale.

ABSTRACT. HUMAN HEALTH EFFECTS OF ULTRAFINE PARTICLES. *Epidemiologic and clinical studies have linked elevated concentrations of ambient ultrafine particles (UFPs) to adverse health effects. In particular, has been demonstrated an association between UFPs exposure and occurrence of acute respiratory infections, lung cancer, chronic chronic obstructive pulmonary diseases and cardiovascular diseases. Although the biological mechanisms behind these associations are not fully understood, the results of in vitro toxicological research have shown that UFPs induces several types of adverse cellular effects, including cytotoxicity, mutagenicity, DNA oxidative damage and stimulation of proinflammatory cytokine production.*

In this reviewer are summarized the results of the recent epidemiological and toxicological studies on adverse health effects from exposure to UFPs.

Key words: ultrafine particles, health effects, environmental exposure.

Introduzione

L'evidenza scientifica più recente relativa agli effetti dell'inquinamento atmosferico sulla salute umana mostra che le particelle ultrafini (PM_{0.1}; diametro aerodinamico medio inferiore a 0.1 µm) svolgono un ruolo rilevante nella genesi e nell'esacerbazione di patologie dell'apparato respiratorio e cardiovascolare, sia a breve che a lungo termine. Tra i principali effetti dell'esposizione a breve termine a particelle ultrafini (UFPs) vi sono, infatti, patologie infiammatorie a carico del sistema respiratorio (bronchiti, asma, allergie, etc.) in aggiunta a quelle del sistema cardiovascolare (alterazioni della frequenza cardiaca e dei valori pressori, IMA, etc.). Gli effetti dell'esposizione a UFPs nel lungo periodo sono, invece, rappresentati primariamente da un'augmentata incidenza di patologie polmonari ostruttive croniche e cardiovascolari; significativo è anche l'incremento di patologie cancerose, tra cui, in particolare, il tumore polmonare nei lavoratori esposti.

In ragione della distribuzione sistemica, attribuibile alla capacità di traslocare verso siti extrapolmonari quali interstizi, linfa e circolo sanguigno, le UFPs sembrano essere responsabili non solo di effetti respiratori e cardiovascolari, ma anche di alterazioni a carico del SNC e SNA, di danni cutanei, di alterazioni epatiche, etc. (1-4).

La produzione di UFPs è da attribuire sia a fenomeni naturali, quali processi chimici e fotochimici in atmosfera, attività tettonica, eruzioni vulcaniche, azione erosiva dei venti, etc. sia ad attività antropiche. In relazione a queste ultime è da osservare che esistono numerose informazioni circa l'esposizione a UFPs generate da attività industriali, da processi di combustione e saldatura, da emissioni diesel, etc., mentre sono ancora scarsi i dati relativi alle particelle ingegnerizzate (5, 6).

Gli effetti delle UFPs ed i meccanismi tramite i quali l'esposizione a tali particelle conduce allo sviluppo o all'aggravamento di patologie sono oggetto di una intensa attività di ricerca, come dimostrato dalla presenza in letteratura di numerosi studi condotti sin dagli inizi degli anni '90. Di seguito vengono, quindi, riportati i risultati di recenti studi epidemiologici e tossicologici riguardanti gli effetti sulla salute umana secondari all'esposizione a UFPs.

Effetti sulla salute

Effetti sull'apparato respiratorio

L'esistenza di una stretta correlazione fra inquinamento da UFPs ed aumentata incidenza di patologie polmonari, ospedalizzazioni e tassi di mortalità nelle aree urbane è confermata da vari studi epidemiologici. Sono state condotte indagini volte ad indagare l'associazione tra variazione giornaliera dei sintomi respiratori o della funzione polmonare ed inquinamento atmosferico in soggetti affetti da patologie polmonari (7-10). In questi pazienti è stata osservata una diminuzione dei valori spirometrici con un tempo di latenza rispetto all'esposizione fino a 7 giorni. Numerosi lavori indicano che i bambini e gli adolescenti residenti in aree urbane sono più suscettibili agli effetti delle UFPs: sono state documentate, in particolare, alterazioni della funzionalità (riduzione FEV₁) e dello sviluppo polmonare (11-16). Per quanto riguarda l'esposizione professionale, studi epidemiologici hanno riportato nei lavoratori esposti decrementi della funzionalità respiratoria, BPCO e pneumopatie interstiziali (17-20); inoltre, è stato documentato un aumento di incidenza di cancro polmonare per esposizione a UFPs emesse dai motori diesel e da fumi di saldatura (21, 22). Rilevanti sono i dati riportati da un recente lavoro condotto da Brüske e coll., i quali hanno dimostrato che l'esposizione di soggetti affetti da BPCO ed asma ad inquinanti gassosi e UFPs causa un'alterazione della formula leucocitaria, caratterizzata nelle fasi iniziali da una immediata diminuzione dei leucociti polimorfonucleati e solo dopo 24 ore dall'esposizione da un incremento dei monociti circolanti. I linfociti, invece, non sembrano essere influenzati dalle UFPs, mentre aumentano in seguito ad esposizione ad inquinanti gassosi (23). Per ciò che concerne il meccanismo d'azione, studi condotti su animali hanno evidenziato la capacità delle particelle ultrafini di accedere direttamente alle strutture intracellulari tramite meccanismi diffusivi e adesivi, evitando i consueti processi di endocitosi (24). Un recente lavoro, condotto da Moon e coll. in cavie sottoposte a somministrazione intraperitoneale di biossido di titanio (TiO₂), ha mostrato un'aumentata risposta infiammatoria polmonare, caratterizzata dalla presenza nel liquido di lavaggio bronco alveolare di neutrofili, ROS e mediatori pro-infiammatori, quali il TNF-alfa, l'interleuchina (IL)-1 beta e proteine infiammatorie macrofagiche (MIP) (25). Significativi appaiono i risultati di uno studio condotto da Edere e coll. nel 2009, che ha mostrato una down-regulation del citocromo P450 1B1 (CYP1B1) indotta da UFPs in monociti umani, macrofagi e cellule epiteliali bronchiali, con conseguente riduzione della capacità di metabolizzare i tossici inalati (26).

Effetti sull'apparato cardiovascolare

Ricerche tossicologiche ed epidemiologiche hanno mostrato che l'inquinamento da UFPs è associato ad un aumento della ospedalizzazione e della mortalità per eventi cardiovascolari. L'esposizione acuta a UFPs sembra essere

correlata ad incremento della viscosità del plasma, alterazioni della frequenza cardiaca e dei valori pressori ed aumento in circolo dei markers di infiammazione, oltre che ad alterazione dei parametri della coagulazione (27, 28). Altri studi condotti sull'uomo hanno dimostrato un legame tra i livelli di particolato ultrafine e la variabilità della frequenza cardiaca, soprattutto nei soggetti anziani con preesistente malattia cardiovascolare. L'esposizione cronica ad UFPs sembra invece associata ad una progressione dell'aterosclerosi coronarica e ad ipertensione cronica (29, 30). Recenti studi epidemiologici dimostrano che i pazienti diabetici sono più suscettibili agli effetti cardiovascolari correlati all'esposizione a UFPs. Gli autori, infatti, suggeriscono l'esistenza di una relazione inversa tra inquinamento atmosferico da UFPs e funzione endoteliale/reattività vascolare che sarebbe alla base di un aumento del rischio cardiovascolare (31). Sono stati descritti in letteratura possibili meccanismi d'azione volti a spiegare le alterazioni indotte dall'UFPs sul sistema cardiovascolare, quali il rilascio nel torrente circolatorio di mediatori pro-ossidativi e pro-infiammatori, lo squilibrio del sistema nervoso autonomo e l'azione diretta sul cuore e vasi sanguigni delle UFPs traslocate nella circolazione sistemica (32).

Effetti sul sistema nervoso

In letteratura sono presenti ipotesi differenti circa la modalità con cui le particelle possono penetrare nel SNC. Una di queste prevede la traslocazione delle UFPs dalle vie aeree superiori agli assoni neurali tramite i nervi sensoriali presenti nelle regioni nasofaringee e tracheobronchiali. Un'altra ipotesi suggerisce il superamento della barriera ematoencefalica attraverso meccanismi di diffusione passiva o di trasporto endocitotico mediato da carriers (4, 33). Studi condotti su animali da esperimento hanno dimostrato l'instaurarsi di processi flogistici e alterazioni neurodegenerative dei neuroni corticali e subcorticali (34). Altri studi hanno mostrato una riduzione del 29% circa dei neuroni dopaminergici della pars compacta della substantia nigra (35). Allo scopo di comprendere il ruolo delle UFPs nelle patologie degenerative cerebrali, alcuni studi *in vivo* hanno mostrato una modulazione significativa dell'attivazione dei fattori di trascrizione NF-kappa B e AP-1 nel cervello di topi Apo E Knockout dopo l'esposizione a UFPs (36). Comunque, anche se esistono dati che indicano una relazione causale tra l'esposizione a lungo termine a UFPs ed effetti neurotossici nell'uomo, sono tuttavia necessari ulteriori studi per verificare l'ipotesi che le tali particelle possano causare effetti neurodegenerativi.

Effetti sul sistema cutaneo

Mentre sono abbastanza noti i meccanismi di assorbimento e penetrazione delle UFPs attraverso l'apparato respiratorio, i dati disponibili sul processo di penetrazione e di assorbimento delle particelle attraverso la cute sono ancora limitati. Ciò nonostante, anche in questo caso il meccanismo di penetrazione sembra essere dipendente dalle dimensioni delle particelle e, soprattutto, dalla composi-

zione chimica. Infatti, solo le particelle liposolubili sono in grado di muoversi attraverso la componente lipidica intercellulare e raggiungere le cellule dello strato corneo. Un recente studio *in vitro* ha mostrato che gli effetti indotti dalle particelle di biossido di titanio (TiO₂) su linee cellulari HaCat sono da ricondurre ad alterazione del rimodellamento della matrice cellulare. Mediante tecniche di microarray, gli autori hanno osservato modificazioni dell'espressione dei geni che codificano metalloproteinasi di matrice e dei geni coinvolti nell'adesione cellulare (37). Nuove ipotesi, inoltre, suggeriscono che il danno indotto dalle UFPs è potenziato dai raggi ultravioletti (UVA). L'azione combinata di questi fattori è stata messa in relazione con l'aumentata incidenza di tumori cutanei (38).

Conclusioni

L'inquinamento da polveri ultrafini ha importanti conseguenze sulla salute pubblica come anche dimostrato dall'interesse per l'argomento da parte di ricercatori impegnati in diversi campi (medico, chimico, fisico, ingegneristico, etc.). La letteratura epidemiologica, clinica e tossicologica dimostra che l'esposizione alle UFPs è causa di effetti avversi per la salute, in particolare per le popolazioni "a rischio" (bambini, anziani, soggetti affetti da patologie cardiopolmonari e/o sistemiche, lavoratori esposti). Il meccanismo di tossicità dell'UFPs, ancora non completamente chiarito, sembra essere connesso all'ampia area superficiale delle particelle, alla alta efficienza di deposizione nel polmone profondo e alla dimostrata abilità delle particelle di attraversare le barriere epiteliali, oltre che alla capacità di adsorbire e veicolare sulla propria superficie sostanze tossiche (IPA, metalli, etc.).

Considerato l'evidente e crescente impatto dell'inquinamento atmosferico sulla salute umana, al fine di garantire la tutela della salute pubblica e di quella dei lavoratori emerge la necessità di incrementare gli studi volti a caratterizzare le proprietà chimico-fisiche delle UFPs, mettere a punto accurati sistemi di valutazione dell'esposizione, chiarire i meccanismi di azione, identificare specifici e sensibili biomarcatori di esposizione ed effetto.

Bibliografia

- 1) Katsouyanni K, Touloumi G, Samoli E, *et al.* Confounding and effect modification in the short-term effects of ambient particles on total mortality: results from 29 European cities within the APHEA2 Project. *Epidemiology* 2001; 12: 521-531.
- 2) Biggeri A, Bellini P, Terraccini B. Meta-analysis of the Italian studies on short-term effect of air pollution. *Epidemiol Prev* 2004; 25 (2): 1-100.
- 3) Brook R. D, Franklin B, Cascio W, *et al.* Air pollution and cardiovascular disease. A statement for healthcare professionals from the expert panel on population and prevention science of the American Heart Association. *Circulation* 2004; 109: 2655-2671.
- 4) Oberdörster G, Elder A, Rinderknecht A. Nanoparticles and the brain: cause for concern? *J Nanosci Nanotechnol* 2009; 9 (8): 4996-5007.
- 5) Kim S, Shen S, Sioutas C, Zhu Y, Hinds W. Size distribution and diurnal and seasonal trends of ultrafine particles in source and receptor sites of the Los Angeles Basin. *J Air Waste Manag Assoc* 2002; 52: 297-307.
- 6) Möhlmann C. German activity on the ultra-fine particles in the workplaces. In: First International Symposium on Occupational Health Implications of nanomaterials: a risk to health at work? Buxton, UK, 2004; 128-130.
- 7) Wichmann HE, Peters A. Epidemiological evidence of the effects of ultrafine particle exposure. *Phil Trans R Soc* 2000; 358: 2751-2769.
- 8) Penttinen P, KL Timonen, P Tittanen, A Mirme, J Ruuskanen, J Pekkanen. Ultrafine particles in urban air and respiratory health among adult asthmatics. *Eur Respir J* 2001; 17: 428-435.
- 9) Peters A *et al.* Respiratory effects are associated with the number of ultrafine particles. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1997; 155: 1376-1383.
- 10) Von Klot S, Wolke G, Tuch T, *et al.* Increased asthma medication use in association with ambient fine and ultrafine particles. *Eur Respir J* 2002; 20: 691-702.
- 11) Stone V. Environmental air pollution. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 44-47.
- 12) Brunekreef B, Holgate S.T. Air pollution and health. *Lancet* 2002; 360: 1233-1242.
- 13) Babin SM, Burkom HS, Holtry RS, *et al.* Pediatric patient asthma-related emergency department visits and admissions in Washington, DC, from 2001-2004, and associations with air quality, socio-economic status and age group. *Environ Health* 2007; 6: 9-13.
- 14) Villeneuve PJ, Chen L, Rowe BH, Coates F. Outdoor air pollution and emergency department visits for asthma among children and adults: a case-crossover study in northern Alberta, Canada. *Environ Health* 2007; 6: 40-48.
- 15) Oftedal B, Nystad W, Brunekreef B, Nafstad P. Long-term traffic-related exposures and asthma onset in schoolchildren in oslo, norway. *Environ Health Perspect* 2009; 117 (5): 839-844.
- 16) Morgenstern V, Zutavern A, Cyrys J, *et al.* Atopic diseases, allergic sensitization, and exposure to traffic-related air pollution in children. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177 (12): 1331-1337.
- 17) Elihn K, Ulvestad B, Hetland S, Wallen A, Randem BG. Exposure to ultrafine particles in asphalt work. *J Occup Environ Hyg* 2008; 5 (12): 771-779.
- 18) Lewné M, Plato N, Gustavsson P. Exposure to particles, elemental carbon and nitrogen dioxide in workers exposed to motor exhaust. *Ann Occup Hyg* 2007; 51(8): 693-701.
- 19) Lorber M, Gibb H, Grant L, *et al.* Assessment of inhalation exposures and potential health risks to the general population that resulted from the collapse of the World Trade Center towers. *Risk Anal* 2007; 27 (5): 1203-1221.
- 20) Hopke PK, Rossner A. Exposure to airborne particulate matter in the ambient, indoor, and occupational environments. *Clin Occup Environ Med* 2006; 5 (4): 747-771.
- 21) Vineis P, Forastiere F, Hoek G, Lipsett M. Outdoor air pollution and lung cancer: recent epidemiologic evidence. *Int J Cancer* 2004; 111: 647-652.
- 22) Garshick E, Laden F, Hart JE, Rosner B, Smith TJ, Dockery DW, Speizer FE. Lung cancer in railroad workers exposed to diesel exhaust. *Environ Health Perspect* 2004; 112 (15): 1539-1543.
- 23) Brüske I, Hampel R, Socher M, *et al.* Impact of ambient air pollution on the differential white blood cell count in patients with chronic pulmonary disease. *Inhal Toxicol* 2010; 22 (3): 245-252.
- 24) Geiser M, Rothen-Rutishauser B, Kapp N, *et al.* Ultrafine particles cross cellular membranes by nonphagocytic mechanisms in lungs and cultured cells. *Environ Health Perspect* 2005; 113: 1555-1560.
- 25) Moon C, Park HJ, Choi YH, Park EM, Castranova V, Kang JL. Pulmonary inflammation after intraperitoneal administration of ultrafine titanium dioxide (TiO₂) at rest or in lungs primed with lipopolysaccharide. *J Toxicol Environ Health A* 2010; 73 (5): 396-409.
- 26) Eder C, Frankenberger M, Stanzel F, *et al.* Ultrafine carbon particles down-regulate CYP1B1 expression in human monocytes. *Part Fibre Toxicol* 2009; 16: 6-27.
- 27) Ralph JD, Sioutas C, Malik S. Potential role of ultrafine particles in associations between airborne particle mass and cardiovascular health. *Environ Health Perspect* 2005; 113: 934-946.
- 28) Ruckerl R, Ibalid-Mulli A, Koenig W, *et al.* Air pollution and markers of inflammation and coagulation in patients with coronary heart disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 432-441.
- 29) Timonen KL, Vanninen E, de Hartog J, *et al.* Effects of ultrafine and

- fine particulate and gaseous air pollution on cardiac autonomic control in subjects with coronary artery disease: the ULTRA study. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2006; 16 (4): 332-412.
- 30) Künzli N, Jerrett M, Garcia-Esteban R, *et al.* Ambient air pollution and the progression of atherosclerosis in adults. *PLoS One* 2010; 8 (2): 90-96.
- 31) O'Neill MS, Veves A, Zanobetti A, *et al.* Diabetes enhances vulnerability to particulate air pollution-associated impairment in vascular reactivity and endothelial function. *Circulation* 2005; 111(22): 2913-2920.
- 32) Brook RD, *et al.* Air Pollution and Cardiovascular Disease. *Circulation* 2004; 109: 2655-2671.
- 33) Lockman R, Mumper RJ, Khan MA, Alien D. Nanoparticle technology for drug delivery across the blood-brain barrier. *Drug Dev Ind Pharm* 2002; 28: 1-12.
- 34) Calderon-Garciduehas L, Azzarelli B, Acuna H, *et al.* Air pollution and brain damage. *Toxicol Pathol* 2002; 30: 373-389.
- 35) Campbell A, Oldham M, Becaria A, *et al.* Particulate matter in polluted air may increase biomarkers of inflammation in mouse brain. *Neurotoxicology* 2005; 26: 133-40.
- 36) Campbell A, Araujo JA, Li H, Sioutas C, Kleinman M. Particulate matter induced enhancement of inflammatory markers in the brains of apolipoprotein E knockout mice. *J Nanosci Nanotechnol* 2009; 9 (8): 5099-5104.
- 37) Fujita K, *et al.* Effects of ultrafine TiO₂ particles on gene expression profile in human keratinocytes without illumination: involvement of extracellular matrix and cell adhesion. *Toxicol Lett* 2009; 191 (2-3): 109-117.
- 38) Burke KE, Wei H. Synergistic damage by UVA radiation and pollutants. *Toxicol. Ind. Health*. 2009; 25 (4-5): 219-224.

Richiesta estratti: Nicola Sannolo - Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sezione di Medicina del Lavoro, Igiene e Tossicologia Industriale, Seconda Università degli Studi di Napoli, Via Luigi De Crecchio 7, 80138 Napoli, Italy - Tel. 081-5665900/02/03, E-mail: nicola.sannolo@unina2.it

A. Sancini¹, T. Caciari¹, M. Di Famiani¹, A. Vitarelli³, M.V. Rosati¹, I. Samperi¹, A. Panfili¹, P. Cialone¹, G. Tomei², F. Tomei¹

Metanalisi: effetti sull'apparato cardiovascolare in lavoratori esposti a inquinamento urbano

¹ "Sapienza" Università di Roma, Unità Operativa di Medicina del Lavoro, Dipartimento di Scienze Anatomiche, Istologiche, Medico-Legali e dell'Apparato Locomotore, Roma

² University of Rome "Sapienza", Department of Psychiatric Science and Psychological Medicine, Rome

³ University of Rome "Sapienza", Department of Science and Morphological Cardiovascular and Respiratory, Rome

RIASSUNTO. Background. Numerosi studi hanno dimostrato un'associazione tra esposizione ad elevati livelli di inquinamento urbano. Nella fattispecie, l'esposizione al particolato, sia a breve termine che a lungo termine ed il rumore da traffico veicolare sono fattori di rischio per l'insorgenza nonché la mortalità per patologie cardiovascolari.

Design. Meta analysis of case-control design.

Objectives. Valutare l'associazione esistente tra effetti cardiovascolari ed esposizione occupazionale ad inquinamento atmosferico in ambiente urbano.

Data sources. Biomedcentral, MEDLINE/ PubMed, MEDLINE/ National Library of Medicine (NLM), MEDLINE Plus, Nioshtic-2, Scopus, TOXNET/Toxline, inclusi studi non ancora pubblicati, di cui gli autori erano a conoscenza e gli atti dei Convegni nazionali ed internazionali, dal 1988 al Maggio 2010. non è stata effettuata nessuna restrizione di lingua o tipo di pubblicazione alla ricerca.

Study eligibility criteria. Sono stati inclusi gli studi caso-controllo in cui i lavoratori esposti ad inquinamento urbano sono stati comparati con quelli non esposti in relazione agli effetti sull'apparato cardiovascolare.

Participants, and interventions. Sono stati selezionati gli studi in cui la popolazione degli esposti all'inquinamento urbano era costituita da addetti ad attività in ambiente outdoor, viabilisti, benzinai ed autisti professionali mentre il gruppo dei controlli era rappresentato da addetti ad attività indoor, amministrativi, studenti universitari e soggetti selezionati tra la popolazione generale.

Study appraisal and synthesis methods. I dati, estratti da due autori diversi in modo indipendente, sono stati raggruppati in due classi di variabili, la prima costituita da variabili continue (pressione arteriosa sistolica, pressione arteriosa diastolica, frequenza cardiaca, colesterolo totale, colesterolo HDL, colesterolo LDL, trigliceridi) e la seconda da variabili discontinue (alterazioni elettrocardiografiche, ipertensione, ipercolesterolemia, ipertrigliceridemia). Gli studi che riportavano i dati relativi ad entrambe le classi e per ciascuna classe più variabili sono stati inseriti e quindi utilizzati più volte per l'elaborazione dei risultati. Per ciascuna variabile è stata calcolata l'eterogeneità, per le variabili continue è stato effettuato il calcolo dell'ES mentre per le variabili discontinue è stato effettuato il calcolo dell'OR e della sua significatività.

Results. Su un totale di 378 pubblicazioni, sono stati selezionati ed inclusi nella meta analisi 16 articoli. Le variabili studiate non mostrano differenze statisticamente significative nel gruppo degli esposti rispetto ai controlli tranne che per i trigliceridi.

Limitations. Gli studi controllati risultano essere limitati e sono caratterizzati da una non omogenea valutazione sia dei tempi di esposizione dei lavoratori all'inquinamento urbano sia dei valori di esposizione professionale.

ABSTRACT. META-ANALYSIS: CARDIOVASCULAR EFFECTS IN WORKERS OCCUPATIONALLY EXPOSED TO URBAN POLLUTION.

Background. Many studies showed a connection between exposition to high levels of urban pollution (especially to particulate and traffic noise) and the onset of even deadly cardiovascular diseases.

Design. Meta-analysis of case-control design.

Objectives. The aim of this study is to estimate the association between cardiovascular effects and occupational exposition to atmospheric pollution in urban environment.

Data sources. Biomedcentral, MEDLINE/ PubMed, MEDLINE/ National Library of Medicine (NLM), MEDLINE Plus, Nioshtic-2, Scopus, TOXNET/Toxline, unpublished studies known by the authors and acts of national and international conferences between 1988 and May 2010 included. There has not been any kind of language or typological restriction.

Criteria of eligibility. The research on cardiovascular effects includes control cases of workers exposed to urban pollution, compared with non-exposed subjects.

Participants and interventions. The selected studies present outdoor workers exposed to urban pollution (drivers and petrol pump attendants) and a control group of indoor workers (managers, university students and other selected subjects).

Study appraisal and synthesis methods. The evidences (independently taken from two different authors) have been grouped in two classes, the first one formed by continuous variables (systolic blood pressure, diastolic blood pressure, heart rate, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides) and the second one by discontinuous variables (electrocardiographic abnormalities prevalence, hypertension prevalence, hypercholesterolemia prevalence).

The studies related to both classes and presenting more than one variable for each class have been included and used, in order to elaborate the results. We calculated heterogeneity in each variable (ES calculation for continuous variables and OR calculation for discontinuous variables).

Results. On 378 publications, we have selected and included 16 articles. The variables show statistically irrelevant differences between exposed group and control group, except regarding the triglycerides.

Limitations. The controlled studies are limited and characterized by a non-homogeneous evaluation of both expositional times of workers to urban pollution and of professional expositional values.

Conclusions and implications of key findings. Considering the heterogeneity and the lack of studies, it is impossible at the moment to document effects on the cardiovascular system in workers exposed to urban pollution. The results of this meta-analysis only suggest the association of urban

Conclusions and implications of key findings. Considerata l'eterogeneità e la scarsità degli studi, soprattutto per alcuni parametri, al momento non è possibile documentare, nei lavoratori professionalmente esposti all'inquinamento urbano, la presenza di effetti avversi sull'apparato cardiovascolare. Infatti l'analisi dei risultati ottenuti con la nostra meta analisi suggerisce la sola associazione inquinamento urbano ed alterazioni dei livelli ematici di trigliceridi, il risultato è inoltre relativo perché riferito a tre studi. A fronte di quanto riportato in materia dalla letteratura scientifica relativamente alla popolazione generale, è necessario che la ricerca futura approfondisca tale tematica in ambito professionale con studi condotti in maniera più idonea ed omogenea.

Parole chiave: sistema cardiovascolare, malattie cardiache, inquinamento urbano.

pollution with alteration of triglycerides blood levels (referring to just three studies). As reported in scientific literature on this subject, it is necessary to conduct a future professional investigation on this subject with more qualified and homogeneous studies.

Key words: cardiovascular system, cardiovascular diseases, urban pollution.

References

Articles marked with an asterisk are those used for the meta-analysis

- 1) Brunekreef B, Holgate ST. Air pollution and health. *Lancet* 2002; 360: 1233-1242.
- 2) Hassing HC, Twickler TB, Kastelein JJ, *et al.* Air pollution as noxious environmental factor in the development of cardiovascular disease. *Neth J Med* 2009; 67: 116-121.
- 3) Brook RD. Cardiovascular effects of air pollution. *Clinical Science* 2008; 115: 175-187.
- 4) Bhatnagar A. Environmental cardiology: studying mechanistic links between pollution and heart disease. *Circ Res* 2006; 99 (7): 692-705.
- 5) Hoffmann B, Moebus S, Stang A, Beck EM, Dragano N, Möhlenkamp S, Schermund A, Memmesheimer M, Mann K, Erbel R, Jöckel KH. Heinz Nixdorf RECALL Study Investigative Group. Residence close to high traffic and prevalence of coronary heart disease. *Eur Heart J* 2006; 27 (22): 2696-702.
- 6) Pope CA 3rd, Burnett RT, Thurston GD, *et al.* Cardiovascular mortality and long-term exposure to particulate air pollution: epidemiological evidence of general pathophysiological pathways of disease. *Circulation* 2004; 109 (1): 71-7.
- 7) Dockery DW. Epidemiologic evidence of cardiovascular effects of particulate air pollution. *Environ Health Perspect* 2001; 109 (Suppl 4): 483-486.
- 8) Peters A, Dockery DW, Muller JE, *et al.* Increased particulate air pollution and the triggering of myocardial infarction. *Circulation* 2001a; 103: 2810-2815.
- 9) Peters A, von Klot S, Heier M, *et al.* Exposure to traffic and the onset of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2004; 1: 1721-1730.
- 10) Katsouyanni K, Touloumi G, Samoli E, *et al.* Confounding and effect modification in the short-term effects of ambient particles on total mortality: results from 29 European cities within the APHEA2 project. *Epidemiology* 2001; 12: 521-531.
- 11) Mills NL, Donaldson K, Hadoke PW, *et al.* Adverse cardiovascular effects of air pollution. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2009; 6: 36-44.
- 12) *Tomei F, Rosati MV, Baccolo TP, *et al.* Ambulatory (24 Hour) Blood Pressure Monitoring in Police Officers. *J Occup Health* 2004; 46: 235-243.
- 13) *Volpino P, Tomei F, La Valle C, *et al.* Respiratory and cardiovascular function at rest and during exercise testing in a healthy working population: effects of outdoor traffic air pollution. *Occup Med* 2004; 54: 457-482.
- 14) *Tomaio E, Tiziana PB, Rosati V, *et al.* The effects of air pollution on the lipid balance of traffic police personnel. *Ann Saudi Med* 2002; 22 (5-6): 287-290.
- 15) Hoek G, Brunekreef B, Goldbohm S, *et al.* Association between mortality and indicators of traffic-related air pollution in the Netherlands: a cohort study. *Lancet* 2002; 360: 1203-1209.
- 16) Papanikolaou NC, Hatzidaki EG, Belivanis S, *et al.* Lead toxicity update. A brief review. *Med Sci Monit* 2005; 11: 329-336
- 17) Ademuyiwa O, Ugbaja RN, Idumebor F, *et al.* Plasma lipid profiles and risk of cardiovascular disease in occupational lead exposure in Abeokuta, Nigeria. *Lipids Health Dis* 2005; 4: 19.
- 18) Al-Saleh I, Shinwari N, Mashhour A, *et al.* Is lead considered as a risk factor for high blood pressure during menopause period among Saudi women? *Int J Hyg Environ Health* 2005; 208: 341-56.
- 19) Karita K, Yano E, Dakeishi M, *et al.* Benchmark dose of lead inducing anemia at the workplace. *Risk Anal* 2005; 25: 957-962.
- 20) Eibensteiner L, Del Carpio Sanz A, Frumkin H, *et al.* Lead exposure and semen quality among traffic police in Arequipa, Peru. *Int J Occup Environ Health* 2005; 11: 161-166.
- 21) Khalil N, Wilson JW, Talbott EO, *et al.* Association of blood lead concentrations with mortality in older women: a prospective cohort study. *Environ Health* 2009; 8: 15.
- 22) Maitre A, Bonnetterre V, Huillard L, *et al.* Impact of urban atmospheric pollution on coronary disease. *Eur Heart J* 2006; 27 (19): 2275-84.
- 23) Leon Bluhm G, Berglund N, Nordling E, *et al.* Road traffic noise and hypertension. *Occup Environ Med* 2007; 64: 122-6. 29. Tomei G, Anzani MF, Casale T, *et al.* Extra-auditory effects of noise. *G Ital Med Lav Ergon* 2009; 31 (1): 37-48.
- 24) Tomei G, Anzani MF, Casale T, *et al.* Extra-auditory effects of noise. *G Ital Med Lav Ergon* 2009; 31 (1): 37-48.
- 25) Everitt BS, Howell DC. *Encyclopaedia of statistics in behavioural science*. Chichester, West Sussex (UK): John Wiley and Sons, Ltd 2005.
- 26) *Meta-analysis of Observational Studies in Epidemiology. A proposal for reporting. Consensus Statement. JAMA, April 19, 2000 - Vol 283, No. 15.*
- 27) *Biava PM. Indagine epidemiologica sulle condizioni di salute dei vigili urbani di Milano in rapporto all'inquinamento da traffico veicolare. *Med Lav* 1992; 83 (3): 249-258.
- 28) *Bigert C, Gustavsson P, Hallqvist J, *et al.* Myocardial Infarction Among Professional Drivers. *Epidemiology* 2003; 14: 333-339.
- 29) *Cervone M, Pavone D, Tracanna A, *et al.* Sottopopolazioni linfocitarie nei vigili urbani di Pescara (studio preliminare). In Atti 56° Congresso Nazionale della Società Italiana di Medicina del Lavoro e Igiene Industriale. Venezia 21- 23 ottobre 1993, Vol II: 731-734.
- 30) *Hedberg GE, Jacobsson KA, Janlert U, *et al.* Risk indicators of ischemic heart disease among male professional drivers in Sweden. *Scand J Work Environ Health* 1993; 19: 326-33.
- 31) *Mormontoy W, Gastañaga C, Gonzales GF *et al.* Blood lead levels among police officers in Lima and Callao, 2004. *Int J Hyg Environ Health* 2006; 209: 497-502.
- 32) *Pala K, Akiş N, İzgi B, *et al.* Blood lead levels of traffic policemen in Bursa, Turkey. *Int J Hyg Environ Health* 2002; 205: 361-365.
- 33) *Sakata S, Shimizu S., Ogoshi K. *et al.* Inverse relationship between serum erythropoietin and blood lead concentrations in Kathmandu tricycle taxi drivers. *Int Arch Occup Environ Health* 2007; 80: 342-345.
- 34) *Sancini A, Palermo P, Di Giorgio V, *et al.* Cardiovascular parameters in workers exposed to urban pollutions. *G Ital Med Lav Ergon* 2010 Jan-Mar; 32 (1): 32-9.

- 35) *Sardelli P, D'Aniello MA, Padula M, *et al.* Sorveglianza sanitaria e rilevazione del rischio ambientale in un campione di vigili urbani di Napoli. In Atti 58° Congresso SIMLII. Bologna 11-14 October 1995; 1087-1091.
- 36) *Wang PD. Coronary heart disease risk factors in urban bus drivers. *Public health.* 2001; 115: 261-264.
- 37) *Zefferino R, Facciorusso A, Lasalvia M, *et al.* Salivary markers of work stress in an emergency team of urban police (1 degree step). *G Ital Med Lav Erg* 2006; 28: 4,472-477.
- 38) *Zefferino R, L'Abbate N, Facciorusso A, *et al.* Assessment of heart rate variability (HRV) as a stress index in an emergency team of urban police. *G Ital Med Lav Ergon* 2003; 25: 167-169.
- 39) *Zhang W *et al.* Early health effects and biological monitoring in persons occupationally exposed to tetraethyl lead. *Int Arch Occup Environ Health* 1994; 65: 395-399.
- 40) Borenstein M, Hedges LV, Higgins J, *et al.* Introduction to meta-analysis. Chichester, West Sussex (UK): John Wiley and Sons, Ltd 2009.
- 41) Urch B, Silverman F, Corey P, *et al.* Acute blood pressure responses in healthy adults during controlled air pollution exposures. *Environ Health Perspect.* 2005; 113: 1052-1055.
- 42) Folino AF, Scapellato ML, Canova C, *et al.* Individual exposure to particulate matter and the short term arrhythmic and autonomic profiles in patients with myocardial infarction. *European Heart Journal* 2009; 30: 1614-1620.
- 43) Sun Q, Hong X, Wold LE. Cardiovascular effects of ambient particulate air pollution exposure. *Circulation* 2010; 121 (25): 2755-65.
- 44) Twickler M, Iinga-Thie G, Cramer MJ. Trojan Horse Hypothesis: Inhaled Airborne Particles, Lipid Bullets, and Atherogenesis. *JAMA*, May 24/31, 2006 - Vol 295, No. 20
- 45) Winkleby MA, Ragland DR, Syme SL. Self-reported stressors and hypertension: evidence of an inverse association. *Am J Epidemiol* 1988; 127: 124-134.
- 46) Schnall PL, Pieper C, Schwartz JE, Karasek RA, Schluskel Y, Devereux RB, Ganau A, Alderman M, Warren K, Pickering TG. The relationship between job strain, workplace diastolic blood pressure, and left ventricular mass index. Results of a case-control study. *JAMA* 1990; 263: 1929-1935.
- 47) Albright CL, Winkleby MA, Ragland DR, *et al.* Job strain and prevalence of hypertension in a biracial population of urban bus drivers. *Am J Public Health* 1992; 82 (7): 984-989.
- 48) Nyklíček I, Vingerhoets JJ, Van Heck GL. Hypertension and objective and self-reported stressor exposure: a review. *J Psychosom Res* 1996; 40: 585-601.

Richiesta estratti: Prof. Francesco Tomei - Via Monte delle Gioie 13, 00199 Rome, Italy - Phone: +390686203350, +390649912541, Fax: +390686203178, +390649912554, E-mail: francesco.tomei@uniroma1.it

L. Bisceglia¹, R. Giua¹, A. Morabito¹, M. Serinelli¹, C. Calculli², I. Galise³, A. Pollice², G. Assennato¹

Individuazione e caratterizzazione delle sorgenti di Benzo(a)pirene nel comune di Taranto e stima del rischio cancerogeno associato all'esposizione della popolazione generale

¹ ARPA Puglia, Bari

² Dipartimento di Scienze Statistiche Carlo Cecchi, Università degli Studi di Bari

³ Registro Tumori Puglia, IRCCS Oncologico "Giovanni Paolo II", Bari

ABSTRACT. SOURCE APPORTIONMENT OF BENZO(A)PYRENE IN TARANTO AND CARCINOGENIC RISK ESTIMATE IN GENERAL POPULATION.

Introduction. In 2009 the limit value of benzo(a)pyrene (BaP) in ambient air of 1.0 ng/m³ has been exceeded in the urban district of Taranto near to the industrial area, where a several large plants are located, including an integrated cycle steel plant. **Objective.** To identify emission sources and quantify relative contribution to the PAHs levels; to estimate health impact associated to PAHs exposure in general population.

Methods. Multivariate receptor models have been used.

Concentration of PAHs measured in 4 location in Taranto in 2008-2009 have been analyzed. 5 different models estimated profiles of unknown sources and identified significant chemical species. To compute the lung cancer risk the WHO unit risk estimate for BaP (8.7×10^{-5} ng/m³) has been adopted.

Results. Models employed identify 3 to 4 emission sources.

Estimated profiles have been compared with measured ones.

Based on the average annual BaP level measured (1.3 ng/m³), 2 attributable cancer cases in the district Taranto population are estimated to result from a life-time exposure.

Conclusions. Among different emissive sources, the analysis identifies theoretical sources whose profiles, compared with observed data, allow to identify dominant contributions to PAHs pollution and to design corrective actions to reduce environmental and health impact.

Key words: benzo(a)pyrene, source apportionment, carcinogenic health risk.

Introduzione

Gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) sono un'ampia classe di composti organici la cui formazione avviene principalmente per cause antropiche nel corso di processi industriali e civili. Il benzo(a)pirene (BaP) è considerato il "marker" degli IPA. L'Agenzia per la Ricerca sul Cancro (IARC) ha classificato il BaP come cancerogeno per l'uomo (classe 1) e altri IPA come probabili (classe 2A) o possibili (classe 2B) cancerogeni per l'uomo.

È ormai ampiamente noto che diversi IPA sono in grado di determinare tumori in animali da esperimento e studi epidemiologici su lavoratori esposti, in particolare in cokeria e nelle fonderie di alluminio, hanno mostrato chiari eccessi di rischio di tumore del polmone e altamente suggestivi rischi di tumore della vescica (1). Nonostante la letteratura scientifica sia concorde nell'affermare che l'esistenza dell'associazione tra l'esposizione ad IPA e aumento di rischio di tumore sia oltre ogni ragionevole dubbio (2), vi è una certa incertezza circa la stima quantitativa del rischio cancerogeno e quindi della relazione tra esposizione e risposta, che è evidentemente la base per stabilire standard di esposizione ambientali e professionali. Per quanto riguarda i dati tratti da indagini epidemiologiche, sono stati utilizzati i risultati di studi di grandi coorti di lavoratori delle cokerie e di fonderie di alluminio (2), per la stima della relazione dose-risposta. Una sintesi dei diversi valori di rischio unitario stimato è disponibile in Boström *et al.* (3). Ulteriori stime sono state calcolate da Vyskocil *et al.* (4) utilizzando sia la tossicità equivalente a BaP dei singoli IPA derivata da studi animali (che porta a stime comprese tra $0.012-4.7 \times 10^{-5}$ in fonderia di alluminio) sia attraverso studi epidemiologici basati su misure di esposizione di BaP ($0.02-89 \times 10^{-5}$, sempre in fonderia). Armstrong *et al.* (5), attraverso una revisione e meta-analisi di 39 coorti professionali, pervengono a stime di rischio relativo unitario per esposizione a 100 µg/m³ di BaP /anni cumulativi pari di 1.35 e di 2.68, a seconda del modello di analisi utilizzato.

Nel 2009, il valore obiettivo per il BaP in aria ambiente pari a 1,0 ng/m³ è stato superato nel quartiere Tamburi di Taranto, sito a ridosso dell'area industriale che ospita un impianto siderurgico a ciclo integrato, una raffineria, un cementificio, un inceneritore di rifiuti urbani e diverse centrali elettriche. La norma prevede che, in tali

casi, le autorità regionali siano tenute a definire specifici piani di risanamento che riconducano al rispetto del valore obiettivo, anche attraverso interventi sulle principali sorgenti di emissione.

L'obiettivo della relazione è quello di identificare e quantificare il contributo delle varie sorgenti di emissione alle concentrazioni di BaP misurate e di stimare l'impatto sanitario associato.

Materiali e metodi

Oltre alla valutazione sistematica dei dati di monitoraggio prodotti, è stato calcolato il bilancio emissivo delle sorgenti puntuali e diffuse presenti nell'area ed è stato quindi applicato un sistema modellistico diffusionale lagrangiano. Le sorgenti puntuali considerate sono rappresentate dall'agglomerato e dalla cokeria del siderurgico e dai camini della raffineria, del cementificio e dall'inceneritore. Le sorgenti diffuse incluse sono la cokeria e l'altoforno del siderurgico, nonché il traffico portuale e stradale.

Ai fini del *source apportionment* sono stati inoltre utilizzati modelli recettoriali multivariati, che si basano sul principio della "conservazione della massa" secondo il quale la composizione chimica degli inquinanti non subisce alterazioni nel passaggio dalla sorgente emissiva al sito recettore. A questo scopo sono stati analizzati i dati delle concentrazioni medie mensili di IPA rilevati presso 4 siti nel comune di Taranto nei periodi maggio 2008 – dicembre 2008 e gennaio 2009 – dicembre 2009. Le analisi sono state eseguite utilizzando il software UNMIX dell'US-EPA. Sono stati utilizzate 5 distinte specificazioni del modello a recettore in funzione degli IPA (distinguendo tra IPA leggeri e IPA pesanti) e del numero delle stazioni incluse. Per ogni specificazione UNMIX stima i profili delle sorgenti incognite e utilizza dei metodi diagnostici per individuare quante sorgenti devono essere considerate e quali specie chimiche risultano significative per l'analisi.

Per la stima del rischio cancerogeno, è stata utilizzata la procedura di calcolo del rischio unitario (UR: Unit Risk) del World Health Organization (WHO) (6), ossia del rischio incrementale per una data popolazione esposta per tutta la vita ("*life-time*") ad una concentrazione media ponderata di $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ di agente cancerogeno. Per il BaP, l'UR adottato è pari a $8.7 \times 10^{-5} \text{ ng}/\text{m}^3$, applicato alla popolazione residente nel quartiere Tamburi (17.644 abitanti). Tale metodologia, che combina l'estrapolazione a basse dosi e l'estensione della stima ad un'ipotetica popolazione generale, è comunque condizionata dalla incidenza di base della malattia, dalla definizione dei livelli di esposizione che non è sempre agevole e dall'aver posto le seguenti assunzioni:

- la risposta è funzione della dose cumulativa;
- non è ammessa una dose-soglia;
- il modello determina una estrapolazione lineare della relazione dose-risposta.

La stima del rischio è prodotta sulla base dei dati di uno studio sui lavoratori di cokeria e utilizza il BaP come indicatore di esposizione dell'intera miscela di IPA.

Risultati

Il bilancio emissivo conferma il predominante apporto dello stabilimento siderurgico, e della cokeria in particolare, in misura tale che nessuna delle altre sorgenti considerate raggiunge lo 0,1% del totale. La modellistica diffusionale stima che le concentrazioni medie annuali al suolo di BaP siano dovute alle emissioni provenienti dalla cokeria nella misura del 99,5%.

Il modello a recettori multivariato identifica da tre a quattro sorgenti emissive prevalenti teoriche il cui confronto qualitativo con i profili misurati consente di individuare i contributi prevalenti dell'inquinamento da IPA a Taranto.

Partendo dalla concentrazione media di BaP rilevata presso il sito di via Machiavelli a Taranto ($1.3 \text{ ng}/\text{m}^3$) e impiegando il valore di Unit Risk indicato dall'OMS, si stima un rischio incrementale per la concentrazione misurata pari a 11.3×10^{-5} . La stima dei casi di tumore del polmone nella popolazione dovuti ad una esposizione per tutta la vita (life-time) al livello considerato di BaP risulta pari a 2.

Discussione

Tutti i dati indicano concordemente che il contributo emissivo all'origine, in modo preponderante, del superamento del valore obiettivo per il BaP è costituito dai processi produttivi condotti nell'area a caldo dello stabilimento siderurgico e, in modo maggioritario, dalla cokeria.

Su queste basi è possibile disegnare azioni correttive che permettano di ridurre l'impatto ambientale e sanitario.

Bibliografia

- 1) Boffetta P, Jourenkova N, Gustavsson P. Cancer risk from occupational and environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Cancer Causes and Control* 1997; 8 (3): 444.
- 2) Armstrong B, Hutchinson E, Unwin J, Fletcher T. Lung cancer risk after exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: A review and meta-analysis. *Environ Health Perspect* 2004 (112): 970-978.
- 3) Boström C, Gerde P, Hanberg A, Jernström B, Johansson C, Kyrklund T, *et al.* Cancer risk assessment, indicators, and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air. *Environ Health Perspect* 2002 (110): 451-488.
- 4) Vyskocil A, Viau V, Camus M. Risk assessment of lung cancer related to environmental PAH pollution sources. *Hum Exp Toxicol* 2004; 23: 115-127.
- 5) Armstrong B, Gibbs G. Exposure-response relationship between lung cancer and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): estimates from a large aluminium smelter cohort. *Occup Environ Med* 2009; 66: 740-746.
- 6) WHO. Air quality guidelines for Europe. WHO Regional Office for Europe 1987.