

Danni biologici da particolato atmosferico, fine è peggio

Diversi studi dimostrano che il particolato atmosferico urbano (PM) può provocare danni al materiale genetico. Gli effetti più dannosi sono prodotti dalle frazioni più fini, non solo per la loro capacità di raggiungere livelli più profondi dell'apparato respiratorio, ma anche per le sostanze chimiche che veicolano. I risultati di uno studio sulla mutagenicità delle diverse frazioni campionate a Reggio Emilia dal 2002 al 2006 e realizzato da Arpa Emilia-Romagna.

Studi condotti in tutto il mondo su estratti organici di particolato atmosferico (PM) urbano, ne hanno dimostrato la genotossicità, cioè la capacità di provocare danni al materiale genetico a vari livelli (Tokiwa et al., 1998, Danish Environmental Protection Agency, 1999; De Martinis et al., 1999; Zhao et al., 2002; Massolo et al., 2002; Du Four et al., 2004; Cassoni et al., 2004; Erdinger et al. 2005).

Per rilevare l'attività delle sostanze che interagiscono con il Dna, sia singole sia in miscele complesse, da tempo vengono utilizzati i test di mutagenesi, in grado di fornire una caratterizzazione del rischio genotossico dovuto all'esposizione a sostanze mutagene presenti in matrici ambientali, anche a concentrazioni molto basse.

L'importanza del monitoraggio degli effetti biologici del particolato atmosferico, costituito da

una miscela complessa di diversi contaminanti, è ampiamente dimostrata da studi che associano l'esposizione al PM non solo all'aumento di mutazioni al Dna, ma anche a numerose patologie, ad esempio respiratorie e cardiovascolari (US Environmental Protection Agency, 1996; World Health Organization, 2000; Laden et al., 2000; Pope et al., 2002; Peters et al., 2004).

Da numerosi studi è inoltre emerso che le frazioni delle polveri aerodisperse che hanno gli effetti più gravi sulla salute sono le più fini, non solo per il fatto che raggiungono gli alveoli polmonari e passano direttamente nel circolo ematico, ma anche perché a esse risultano associate le sostanze più pericolose.

In questo studio, parte di un progetto condotto da Arpa Emilia-Romagna volto alla caratterizzazione chimico-fisica del particolato atmosferico urbano,

è stata valutata la mutagenicità, mediante test di mutagenesi su *Salmonella typhimurium*, di 8 diverse frazioni di PM con diametro aerodinamico minore o uguale a 10 µm (tab. 1). Le frazioni di PM, a seconda delle loro dimensioni, possono distribuirsi a livelli diversi dell'apparato respiratorio (fig. 1) e il campionamento tramite impattore Andersen permette di simulare quello che avviene nell'albero respiratorio.

Materiali e metodi

Il particolato atmosferico è stato campionato con un impattore di tipo Andersen a 8 stadi a basso volume; i prelievi sono stati fatti in novembre e in febbraio per 4 anni consecutivi (da novembre 2002 a febbraio 2006), nella città di Reggio Emilia. La determinazione del peso delle polveri è stata effettuata con metodo gravimetrico. Gli estratti organici delle singole frazioni sono stati sottoposti a test di mutagenesi sui ceppi TA98 e TA100 di *Salmonella typhimurium* – con e senza attivazione metabolica (S9) (metodo di incorporazione in piastra) – in accordo con i metodi standard (Maron and Ames, 1983). L'utilizzo di due ceppi di *Salmonella typhimurium* permette di evidenziare due diversi tipi di danni genetici a livello di una o poche coppie di basi nel Dna (mutazioni puntiformi); in particolare il ceppo TA98 rileva mutazioni per inserzione o delezione di basi mentre il ceppo TA100 rileva mutazioni per sostituzione di basi.

Per distinguere le sostanze che per esercitare la loro azione mutagena devono essere metabolizzate (promutageni) – ad esempio gli idrocarburi policiclici aromatici (Ipa) – da quelle che possono agire sul Dna direttamente (mutageni diretti) – ad esempio i nitroderivati degli Ipa – tutti i test su *S. typhimurium* vengono condotti con e senza attivazione metabolica esogena; a tal fine si utilizza la frazione microsomiale epatica di ratto S9 ottenuta da ratti nei quali è stata stimolata l'attività degli enzimi epatici.

Risultati

Durante il periodo monitorato le sostanze con attività mutagena sono risultate associate alle fra-

zioni più fini del particolato atmosferico, quelle con diametro aerodinamico minore o uguale a 2,1 µm (fig. 2).

La mutagenicità ha mostrato un andamento inversamente proporzionale al diametro aerodinamico delle particelle aumentando dalle frazioni più grossolane verso le frazioni più fini. La figura 3 riporta gli andamenti medi della mutagenicità indotta in ogni singolo ceppo di *Salmonella* dagli estratti degli ultimi 4 stadi dell'impattore, calcolati con analisi statistica (Anova GLM). L'aumento delle sostanze mutagene al diminuire del diametro aerodinamico del particolato è evidente in tutti i quattro test e si è dimostrato statisticamente significativo ($p < 0.05$) nei test condotti in assenza di attivazione metabolica esogena. Questo evidenza una prevalenza di sostanze ad azione mutagena diretta (quali sono ad esempio i nitroderivati degli Ipa) negli estratti di queste frazioni. Dall'analisi statistica non emergono differenze fra la mutagenicità dei campioni prelevati nei quattro anni e nei due periodi stagionali.

Considerando il peso delle singole frazioni si nota che quelle più rappresentate in atmosfera (in µg/Nm³) oltre lo Stadio 1

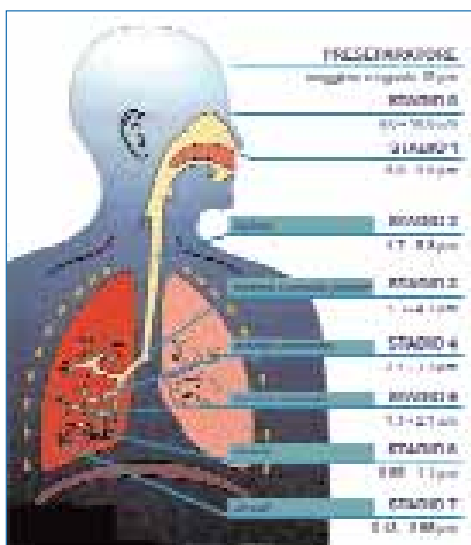


Fig. 1 Distribuzione, nell'apparato respiratorio, del particolato atmosferico (PM) in base alle diverse dimensioni delle particelle. Le frazioni più fini di PM raggiungono gli alveoli polmonari.

Stadio 1	10-9 µm
Stadio 2	9-5.8 µm
Stadio 3	5.8-4.7 µm
Stadio 4	4.7-3.3 µm
Stadio 5	3.3-2.1 µm
Stadio 6	2.1-1.1 µm
Stadio 7	1.1-0.7 µm
Stadio F	0.7-0.4 µm

Tab. 1 Diametro aerodinamico delle otto sub-frazioni di PM10

(PM10-0,9), sono gli Stadi 6 e 7 che selezionano le particelle con diametro aerodinamico compreso fra 2,1 e 0,7 μm ; ciò indica un'abbondante presenza di particelle dalle dimensioni fra 1 e 2 μm , con elevata attività mutagenica (fig. 1 e 4).

Conclusioni

Da quanto esposto emerge l'importanza di affiancare all'analisi chimico-fisica la valutazione degli effetti biologici delle diverse frazioni di PM. Questo lavoro, come altri già condotti a livello nazionale e internazio-

nale, evidenzia la maggiore pericolosità delle frazioni più fini del particolato atmosferico urbano non solo perché queste penetrano più profondamente a livello polmonare ma anche, e soprattutto, per la loro maggiore attività mutagenica (e quindi potenziale cancerogenicità), rispetto alle polveri più grossolane. Si sottolinea il fatto che le particelle più fini presentano una superficie molto vasta in rapporto al loro volume e questo fa sì che, a parità di peso con le polveri più grossolane, l'interazione con le cellule dell'organismo, e quindi il passaggio a queste di sostanze tossiche, sia decisamente maggiore per le particelle più fini, aumentandone la pericolosità. Risulta quindi necessario impegnare risorse nella prevenzione

primaria dei rischi sanitari connessi con questi inquinanti ambientali indirizzando il monitoraggio e gli studi verso la caratterizzazione delle frazioni più fini del particolato atmosferico ($\text{PM} \leq 2,5 \mu\text{m}$).

Francesca Cassoni

Clara Bocchi

Giancarlo Pinto

Federica Fontana

Eccellenza Mutagenesi ambientale

Sezione provinciale di Parma

Giovanni Pecchini

Sezione provinciale di Reggio Emilia

Arpa Emilia-Romagna

Anna Martino

Dipartimento di Genetica biologia dei microrganismi, antropologia, evoluzione

Università di Parma

27

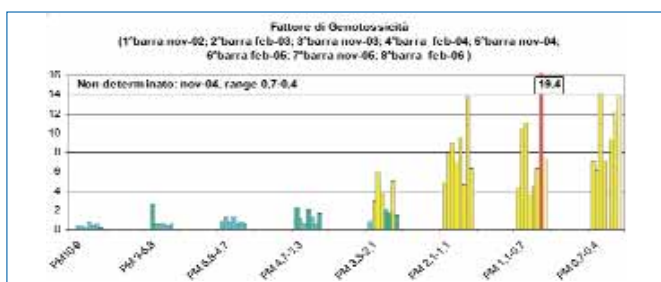


Fig. 2 Per rappresentare l'effetto mutageno totale dei diversi campioni si utilizza il Fattore di Genotossicità (FG) che si ottiene sommando gli effetti di tutti i test condotti in Salmonella. Nel grafico sono rappresentati i valori del Fattore di Genotossicità dei campioni di particolato atmosferico prelevati con campionatore Andersen a Reggio Emilia, nei periodi indicati. L'attività mutagenica è risultata inversamente proporzionale al diametro aerodinamico delle particelle: valori di FG "positivi" o "fortemente positivi" si riscontrano solo per le particelle con un diametro aerodinamico al di sotto di 3,3 μm .

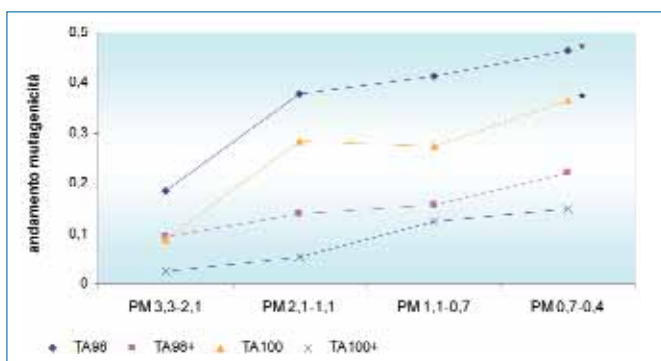


Fig. 3 Andamento medio della mutagenicità, calcolato con ANOVA GLM, indotta dagli estratti delle frazioni più fini di particolato atmosferico, prelevato con campionatore Andersen. Le particelle con diametro aerodinamico compreso nel range: 0,7-0,4 μm , risultano più mutagene di quelle con diametro aerodinamico maggiore, la differenza risulta statisticamente significativa nei test condotti in assenza di attivazione metabolica (*: $p < 0,05$).

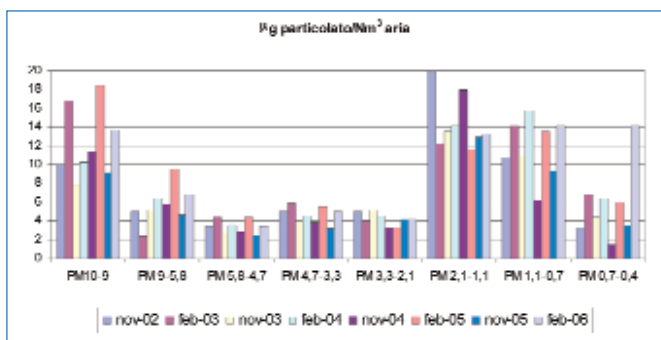


Fig. 4 Concentrazioni in atmosfera ($\mu\text{g}/\text{Nm}^3$) delle differenti frazioni di PM campionato nei periodi indicati. Le frazioni più rappresentate sono quelle con diametro aerodinamico compreso nei range: 10-0,9 μm e 2,1-0,7 μm .

BIBLIOGRAFIA

- Massolo, L., Muller, A., Tueros, M., Rehwagen, M., Franck, U., Ronco, A. and Herbarth, O. (2002). *Assessment of mutagenicity and toxicity of different fractions of air particulates from La Plata, Argentina, and Leipzig, Germany*. Environ. Toxicol.; 17(3): 219-231.
- Zhao, X., Wan, Z., Chen, G., Zhu, H., Jiang, S. and Yao, J. (2002). *Genotoxic activity of extractable organic matter from urban airborne particles in Shanghai, China*. Mutat. Res., 514: 177-192.
- Du Four, V.A., Van Larebeke, N. and Janssen, C.R. (2004). *Genotoxic and mutagenic activity of environmental air samples in Flanders, Belgium*. Mutat. Res., 558: 155-167.
- Cassoni, F., Bocchi, C., Martino, A., Pinto, G., Fontana, F., Buschini A. (2004) *The Salmonella mutagenicity of urban airborne particulate matter (PM2,5) from eight sites of the Emilia-Romagna regional monitoring network (Italy)*. Sci Total Environ; 324: 79-90.
- Erdinger, L., Durr, M., Hopker, KA. (2005). *Correlation between mutagenic activity of organic extracts of airborne particulate matter, NOx and sulphure dioxide in southern Germany: results of a two-years study*. Environ Sci Pollut Res Int; 12(1): 10-20.
- US Environmental Protection Agency (1996). *Air Quality Criteria for Particulate Matter*. Epa 600/P-95/001aF.
- Peters, A., Von Klot, S., Heier, M., Trentinaglia, I., Hormann, A., Wichmann, H.E. and Lowel, H. (2004). *Exposure to traffic and the onset of myocardial infarction*. N. Engl. J. Med., 351: 1721-1730.
- World Health Organization (WHO, 2000). *Air Quality Guidelines for Europe*.
- Laden, F., Neas, L.M., Dockery, D.W. and Schwartz, J. (2000). *Association of Fine Particulate Matter from Different Sources with Daily Mortality in Six U.S. Cities*. Environ. Health Perspect., 108 (10): 941-947.
- Pope, C.A.III, Burnett, R.T., Thun, M.J., Calle, E.E., Krewski, D., Ito, K. and Thurston, G.D. (2002). *Lung Cancer, Cardiopulmonary Mortality and Long-term Exposure to Fine Particulate Air pollution*. JAMA, 287 (9): 1132-1141.
- Maron, D.M. and Ames, B.N. (1983). *Revised methods for the Salmonella mutagenicity test*. Mutat. Res. 113: 173-215.