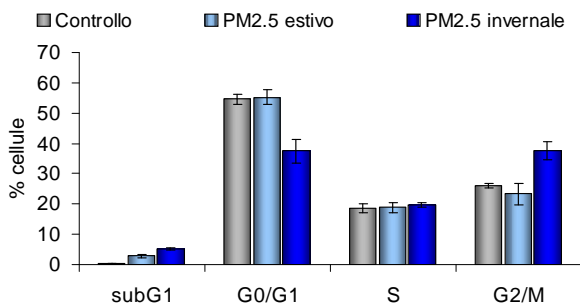


## RISULTATI IN VITRO

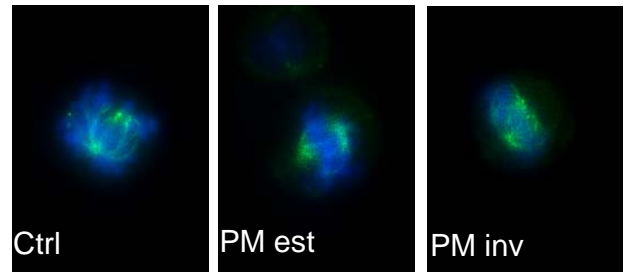
### Il PM2.5 invernale interagisce con il citoscheletro della cellula.

Gli esperimenti in vitro condotti su cellule THP-1, rappresentative dei monociti circolanti nel sangue, hanno evidenziato la capacità del PM2.5 di alterare la normale progressione del ciclo cellulare, ovvero come le cellule si accrescono e si dividono. Tale alterazione sembra dovuta ad una interazione del PM con gli elementi del citoscheletro che coordinano e dirigono le fasi più importanti della divisione cellulare, la mitosi. E' noto che alterazioni della normale progressione della mitosi possono risultare nella trasformazione di cellule sane in cellule tumorali. Questo meccanismo di danno verrà a studiato approfonditamente in quanto potrebbe fornire un modello per spiegare l'incremento di malattie polmonari gravi.

Alterazione del ciclo cellulare



Immagini che evidenziano danno ai microtubuli

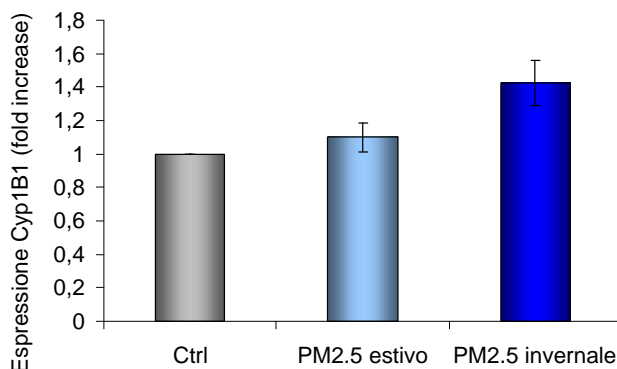


### Il PM2.5 invernale provoca danno al DNA.

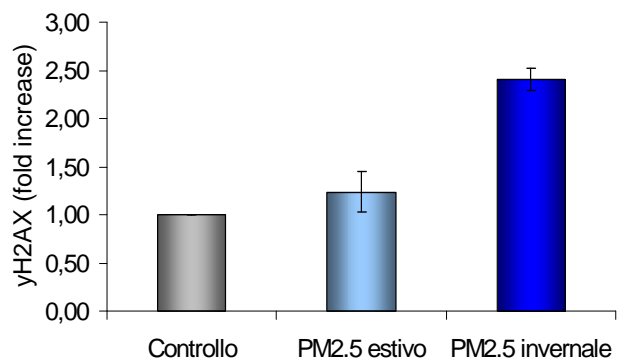
Il PM fine campionato a Milano attiva, in cellule rappresentative dell'epitelio alveolare, gli enzimi coinvolti con i meccanismi di detossificazione normalmente attivati dagli idrocarburi policiclici aromatici. I composti di trasformazione di questi composti chimici interagiscono tuttavia con il DNA cellulare portando danni al DNA anche gravi.

Questo è anche dimostrato dall'incremento della fosforilazione della molecola istone H2AX. La sua fosforilazione è infatti un noto marker di danno al DNA dovuto a stress ossidativo.

Incremento di citocromi in cellule esposte a PM2.5 invernale



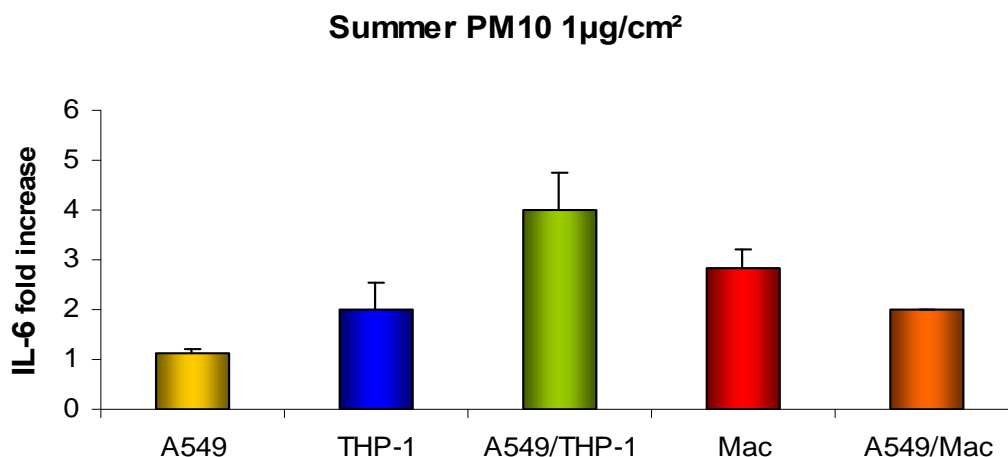
Incremento del danno ossidativo al DNA



**Il PM fine invernale oltre a modificare la progressione del ciclo cellulare induce anche danno al DNA con le possibili gravi conseguenze per la salute.**

**PM estivo in co-culture:**

In sistemi composti da cellule dell'epitelio alveolare (A549) e da cellule di monociti (THP-1) la risposta infiammatoria è maggiore rispetto all'esposizione delle singole



### **PM10 estivo**

In vitro induce il rilascio di una importante proteina infiammatoria (IL-1 $\beta$ ), coinvolta nei normali processi di risposta immunitaria.

IL-1 $\beta$  può indurre

**Effetti locali** (basse quantità): attivazione linfociti T e B, aumento delle capacità adesive, della citotossicità e della capacità fagocitica;

su cellule endoteliali induce attività pro-coagulante, induzione di NO e PGL2, chemochine, molecole di adesione e vasodilatazione

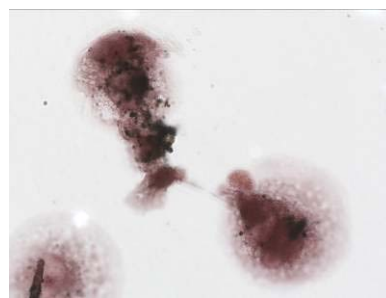
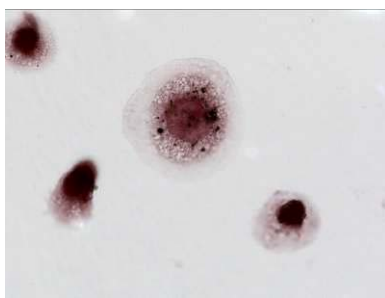
**Effetti sistemici** (alte quantità): sul sistema nervoso centrale (febbre, sonnolenza), sul fegato (ipoglicemia), sul midollo osseo, sul cuore (inibizione contrattilità), sui vasi sanguigni (trombi) e sulla muscolatura scheletrica (aumento catabolismo proteico)

La ricerca sta indagando i meccanismi di rilascio di questa interleuchina. In particolare si sta analizzando l'attivazione dell'inflammosoma, meccanismo che regola in modo fine il rilascio di interleuchine. IL-1 $\beta$  è la proteina infiammatoria che, dopo traslocazione ad altri organi, può produrre effetti significativi

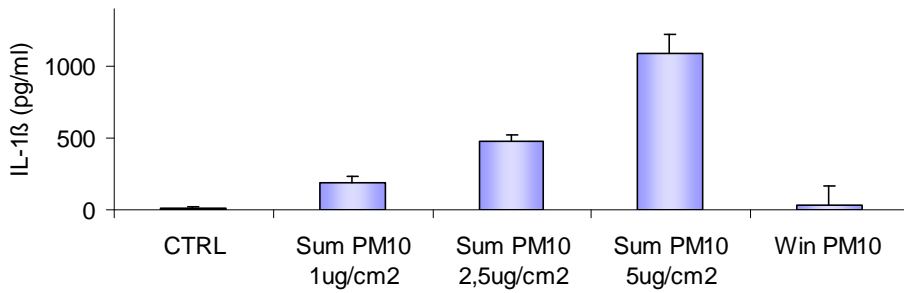
Macrofagi controllo



Macrofagi esposti a PM10 estivo con particelle internalizzate

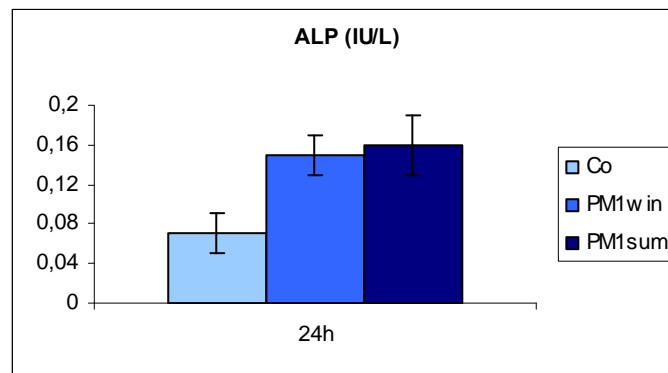


Incremento dose dipendente di IL-1 $\beta$  rilasciata da macrofagi esposti a PM10

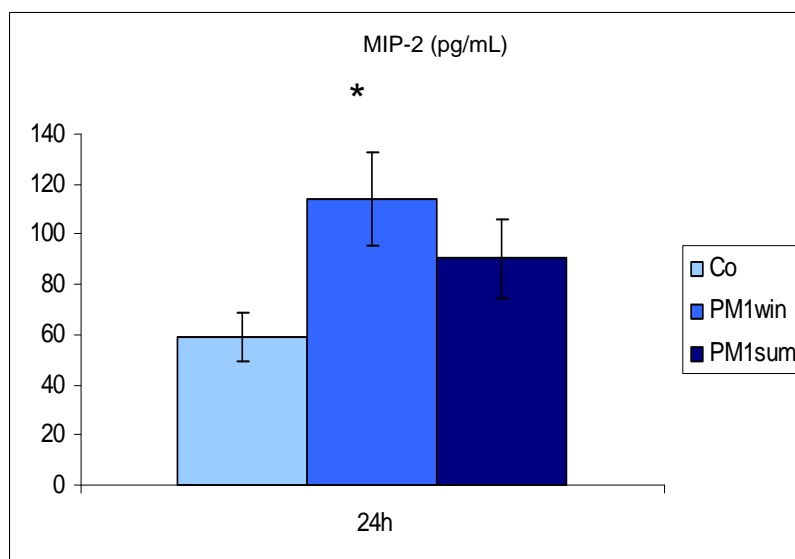


## RISULTATI IN VIVO

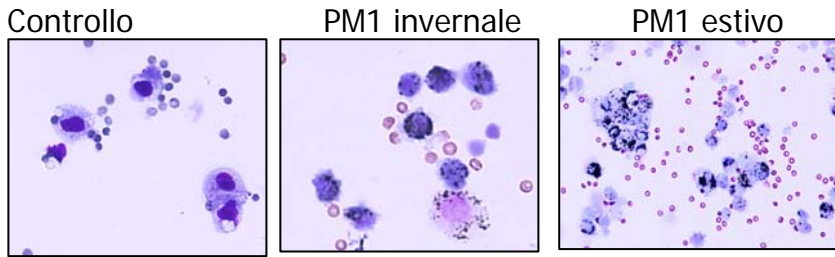
Si osserva nel liquido di lavaggio dei polmoni un incremento della fosfatasi alcalina (ALP) indice di tossicità del PM sulle cellule dell'epitelio polmonare. L'effetto è paragonabile per i PM fini testati (estate e inverno)



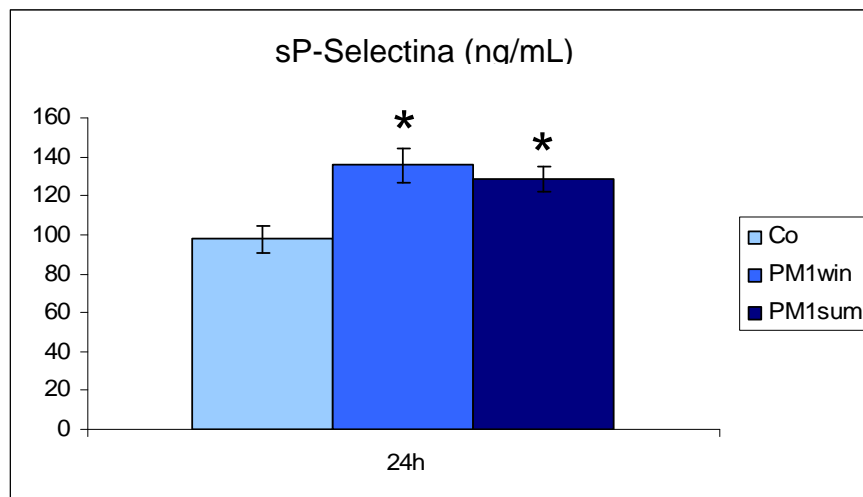
Oltre ad indurre morte cellulare il PM fine invernale risulta indurre uno stato di lieve infiammazione, come osservato dall'incremento delle proteine pro infiammatoria MIP-2.



Le cellule presenti nel lavaggio bronco alveolare mostrano inoltre la presenza di macrofagi con presenza di particelle fini internalizzate nelle cellule.

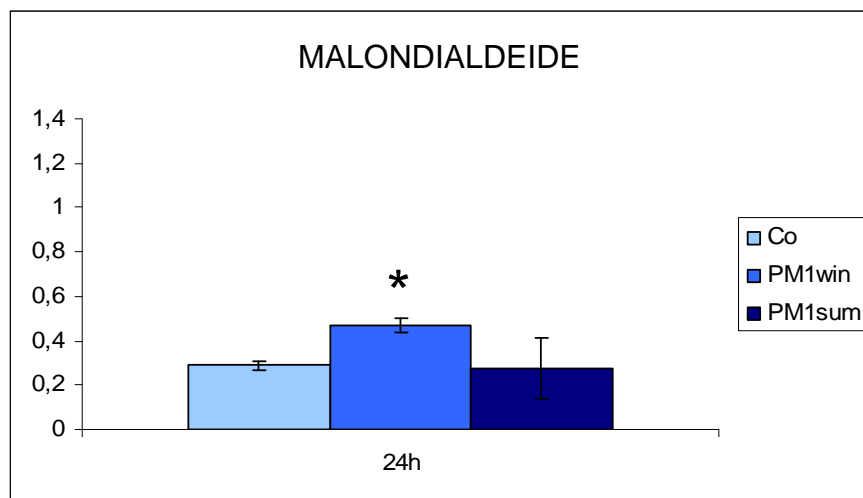


L'analisi del sangue periferico dei topi esposti ha evidenziato un incremento del parametro sP – Selectina. L'incremento di questa proteina è indice di una possibile interferenza delle particelle col sistema della coagulazione e sembra sostenere l'ipotesi della traslocazione delle particelle, cioè dello spostamento delle stesse nell'organismo. E' tuttavia possibile che gli effetti pro infiammatori, evidenziati in vitro ed in vivo, possano contribuire alla modificazione di tale parametro. A prescindere dal meccanismo questi dati confermano la correlazione tra esposizione a PM ed effetti sulla sistema circolatorio.



Di notevole interesse i risultati ottenuti su campioni di tessuto cerebrale estratto da topi esposti a PM fine.

Su questi tessuti è stato valutato il grado di degenerazione delle membrane cellulari dovuto a stress ossidativo. I dati ottenuti in vitro hanno dimostrato una maggiore capacità dei PM invernali di indurre stress ossidativo. In vivo questa proprietà non solo viene confermata ma trova applicazione anche a livello delle cellule cerebrali. L'incremento dei livelli di malondialdeide indica infatti un danno ai lipidi delle membrane cellulari nel tessuto cerebrale, mediato dalle specie reattive dell'ossigeno (radicali liberi) che vengono prodotti con maggiore efficienza dai campioni di particolato invernale. Anche questi dati suggeriscono in qualche modo la possibilità di traslocazione delle particelle più fini del PM fino alla regione cerebrale.



I risultati in vitro ed in vivo permettono di tracciare un quadro interessante dei possibili effetti dovuti all'esposizione a PM.

In estate la copresenza di elementi chimici e componenti biologiche non solo attiva il rilascio delle normali citochine infiammatorie (IL6 e IL8) ma promuove un importante rilascio di IL-1 $\beta$ , citochina in grado di promuovere risposte infiammatorie a livello tessuto polmonare, indurre modificazione delle proprietà di coagulazione e, una volta traslocata nel sistema circolatorio, produrre effetti in altri organi una volta immessa.

I PM invernali sono invece caratterizzati da un maggiore potenziale genotossico, come risulta dalle analisi in vitro, e dalla capacità di indurre stress ossidativo, non solo in cellule dell'epitelio polmonare ma anche, dopo traslocazione a livello di altri organi.