

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA



FACOLTA' DI SCIENZE STATISTICHE

Corso Di Laurea Triennale In Statistica, Popolazione E Società

TESI DI LAUREA

**Le sorgenti e la composizione del particolato
atmosferico in relazione ai danni sulla salute umana
(Rassegna Statistica)**

**The sources and composition of particulate matter
related to damage on human health
(Statistical Review)**

RELATORE: CH.MO PROF. PIERANTONIO BELLINI

**LAUREANDA: ANNA TURRIN
MATRICOLA 562576**

ANNO ACCADEMICO 2009/10

A Matteo

Indice

Introduzione e obiettivi	p. 7
 1. LE SORGENTI MAGGIORMENTE INQUINANTI CHE PRODUCONO PARTICOLATO	
1.1. Le sorgenti maggiormente inquinanti secondo il workshop organizzato dall'EPA – Thurston G.D. et al. (2005)	p. 10
1.2. Le sorgenti maggiormente inquinanti individuate a St. Louis – Hopke P.K. (2008)	p. 12
1.3. Il caso italiano: sorgenti inquinanti di PM 10 e PM 2.5 a Milano – Marcazzan G.M. et al. (2003)	p. 14
 2. EFFETTI SULLA SALUTE UMANA DEI METALLI CONTENUTI NEL PARTICOLATO ATMOSFERICO	
2.1. Rassegna di studi clinici.....	p. 18
2.2. Rassegna di studi epidemiologici	
2.2.1. Effetti dovuti a brevi esposizioni alle componenti del particolato	p. 21
2.2.2. Effetti dovuti a lunghe esposizioni alle componenti del particolato	p. 23
2.2.3. Uno studio svolto ad Hong Kong dopo l'intervento di diminuzione dello zolfo nei combustibili.....	p. 25
2.2.4. Coefficienti di mortalità giornaliera e media delle concentrazioni delle componenti della FPM nelle comunità degli USA (NMMAPS).....	p. 26
2.3. Studi tossicologici	
2.3.1. Studi su inalazione di concentrazioni di particelle ambientali (CAPs) negli animali.....	p. 28
2.3.2. Effetti polmonari sugli animali dovuti all'inalazione del ROFA.....	p. 29

2.3.3. Effetti cardiovascolari dei metalli presenti nel ROFA.....	p. 30
2.4. Gli effetti del PM 10 sulla mortalità dipendono dal fatto che nella sua composizione sono presenti il nickel e il vanadio?	p. 30
2.5. Altri effetti sulla salute causati da esposizioni ad alte concentrazioni di nickel.....	p. 34
3. CONCLUSIONI.....	p. 35
Bibliografia.....	p. 37
Ringraziamenti.....	p. 44

Introduzione e obiettivi

Il particolato atmosferico indica il complesso di particelle solide o liquide disperse nell'atmosfera, che hanno un diametro che va da pochi nanometri fino a 500 micron e oltre, misurato di solito per unità di volume in m^3 . Queste particelle possono essere prodotte sia in natura che dalle attività dell'uomo. Viene utilizzato solitamente un identificativo formale delle dimensioni: il Particulate Matter, abbreviato in PM, seguito dal diametro aerodinamico massimo delle particelle. Il PM 10, quindi, si riferisce a tutte le particelle con diametro inferiore a 10 micron; un suo sottoinsieme è dato dal PM 2.5 (particolato fine) e dal PM 1 (particolato ultrafine).

Le fonti del particolato si possono dividere in due grandi classi, le fonti primarie, con le quali si indica l'immissione diretta di materiale particolato in atmosfera, e quelle secondarie, che riguardano la condensazione di molecole presenti in fase gassosa, la successiva nucleazione e coagulazione fino a formare aerosol, e la reattività chimica a partire dal particolato di origine primaria.

Si possono inoltre individuare tre classi principali di composizione del particolato: gli ioni inorganici (nitrati, solfati e ammonio), la frazione carboniosa (TC) formata dal carbonio organico e dal carbonio elementare, e il materiale crostale che può presentarsi o combinato al pulviscolo atmosferico (Al, Ca, Si...) o a elementi in traccia (Pb, Zn...).

Il particolato atmosferico è un importante argomento di studio per chimici, tossicologici, epidemiologi e statistici.

Da questi studi è emerso che i rischi sulla salute pubblica possono dipendere dalla dimensione del particolato e dalla sua composizione. Tra i disturbi attribuiti al particolato atmosferico ci sono patologie acute e croniche dell'apparato respiratorio come crisi d'asma, bronchiti, enfisema, allergie e tumori, e patologie a carico dell'apparato cardio-circolatorio.

È accertato anche che particelle con diametro minore sono più pericolose per la nostra salute di quelle con diametro maggiore. Le particelle *inalabili* possono raggiungere la faringe e la laringe in seguito a un'inalazione

attraverso la bocca e il naso e comprendono praticamente tutto il particolato. Le particelle *toraciche*, che corrispondono essenzialmente al PM 10, sono in grado di raggiungere la trachea e i bronchi; le particelle *respirabili*, che corrispondono alle particelle del PM 2.5, sono in grado di raggiungere gli alveoli e da questi passano poi al sangue. In letteratura si trovano molti studi che accertano l'associazione tra esposizione a polveri sottili e gli effetti negativi sulla salute delle persone prendendo in considerazione le dimensioni delle particelle PM10 e PM2.5.

Un esempio italiano di questi studi sono il MISA-1 (Biggeri A. et al. 2001) e MISA-2 (Biggeri A. et al. 2004) che mostrano come ad un aumento del PM 10 di $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ corrisponda un aumento della mortalità stimata nell'ordine di 0.5-1%.

Non si hanno invece evidenze scientifiche sulla pericolosità e sugli effetti sulla salute umana delle particelle del PM 1 e del PM 0.1, in quanto, ad oggi, anche per la difficoltà di rilevare componenti così piccole, non sono ancora pervenuti risultati significativi da studi tossicologici e da indagini epidemiologiche su larga scala.

In aggiunta alle dimensioni, il particolato, può essere studiato rispetto alla composizione chimica e fisica che cambia a seconda del tipo di sorgente da cui è stato emesso. L'analisi delle conseguenze sulla salute pubblica delle sorgenti maggiormente responsabili è, a tutt'oggi, poco studiata, (Pollice M. 2009), anche perché questo tipo di studi coinvolge diverse professionalità in un contesto in cui devono convivere in maniera originale analisi chimico-fisiche, elaborazioni statistiche e valutazioni clinico-epidemiologiche.

Ciò premesso, in questa tesi intendo condurre una rassegna statistica sugli studi più recenti pubblicati in letteratura che si occupano proprio di mettere in evidenza le sorgenti maggiormente inquinanti e i metalli componenti il particolato maggiormente responsabili dei danni sulla salute umana.

L'attenzione viene rivolta ai **dati** statistici impiegati in tali studi, alle **metodologie** statistiche utilizzate e ai risultati raggiunti.

A partire dal succitato articolo pubblicato su “Sis-Magazine”, ho deciso di esaminare i pochi studi che venivano considerati importanti al fine di individuare le sorgenti maggiormente inquinanti e i danni alla salute che queste provocano, presentati nelle seguenti pubblicazioni:

- *Environmental Health Perspective*, “Workgroup report: Workshop on source Apportionment of Particulate Matter Health Effects – Intercomparison of Results and Implications”, autori: Thurston G.D., Ito K., Mar T., Christensen W.F., Eatough D.J., Henry R.C., Kim E., Laden F., Lall R., Larson T.V., Liu H., Neas L., Pinto J., Stolzel M., Suh H., Hopke P.K. (2005)
- *Journal of Toxicology and Environmental Health*, “The use of source apportionment for air quality management and health assessment”, autore: Hopke P.K. (2008)
- *The Science of Total Environment*, “Source apportionment of PM10 and PM2.5 in Milan (Italy) using receptor modelling”, autori: Marcazzan G.M., Ceriani M., Valli G., Vecchi R. (2003).

Ho inoltre preso in considerazione per esaminare i dati, i modelli e i risultati statistici, riguardanti i metalli, gli articoli:

- *Inhalation Toxicology*, “Effects of metals within ambient air particulate matter (PM) on human health”, autori: Chen L.C., Lippmann M. (2009)
- *Environmental Health Perspective*, “Does the effect of PM10 on mortality depend on PM nickel and vanadium content? A reanalysis of the NMMAPS data”, autori: Dominici F., Peng R.B., Ebisu K., Zeger S.L., Samet J.M., Bell M.L. (2007)
- *Environmental Health Perspective*, “Cardiovascular effects of nickel in ambient air”, autori: Lippmann M., Ito K., Hwang J.S., Maciejczyk P., Chen L.C. (2006)

1. Le sorgenti maggiormente inquinanti che producono particolato

1.1. Le sorgenti maggiormente inquinanti secondo il workshop organizzato dall'EPA - Thurston G.D. et al. (2005)

Nel maggio del 2003 l'EPA (l'Agenzia di Protezione Ambientale degli Stati Uniti d'America) ha organizzato un workshop dedicato agli effetti delle polveri sottili sulla mortalità, e ha inoltre cercato di attribuirli alle sorgenti inquinanti con lo scopo di individuare le tipologie di particolato maggiormente responsabili dei danni alla salute pubblica.

In questo lavoro sette centri di ricerca sono stati chiamati ad individuare sorgenti e contributi sulla base delle concentrazioni giornaliere di PM 2.5 per due casi di studio riferiti alle città di Washington e Phoenix.

Un gran numero di differenti componenti chimiche sono associate con i vari tipi di particolato che dipendono dell'origine della loro sorgente. Ad esempio, le particelle primarie emesse dalla combustione del carbone sono caratterizzate da un alto livello di arsenico e di selenio, mentre i residui derivanti dalla combustione di petrolio sono più ricche in nickel e vanadio e quelle derivanti dal suolo sono ricche di silicio e alluminio. In più le componenti secondarie del particolato, come ad esempio i solfati, i nitrati e le componenti organiche, sono formate in atmosfera dalle emissioni inquinanti gassose. Queste componenti secondarie possono inoltre condensare con le particelle primarie o formare particelle secondarie che possono poi collidere e coagulare con le particelle primarie.

Singole particelle presenti nell'aria della città possono contenere sia componenti primarie sia componenti secondarie e, inoltre, si è visto che la composizione degli aerosol ambientali, oltre a riflette le sorgenti da cui sono state emesse, differiscono tra di loro sia per il luogo (ad esempio città diverse) che per il tempo (a seconda delle stagioni).

I **dati** di questo studio sono ottenuti mediante delle specifiche analisi di laboratorio effettuate sui **rilevamenti giornalieri di particolato** che vengono effettuati in corrispondenza di un recettore. In questo modo per ogni singolo campione di particolato si possono avere molteplici indici sulle caratteristiche chimico-fisiche delle particelle.

Il fondamento principale su cui si basa questa analisi è la legge di conservazione della massa. In generale questo modello assume che la composizione del particolato non cambia nel passare dalla sorgente al recettore, per questo motivo la composizione rilevata al recettore può essere approssimata con la somma delle composizioni delle sorgenti. Se le sorgenti di inquinamento da PM sul territorio sono note e per ciascuna di esse si conosce il profilo emissivo, la stima dei contributi delle sorgenti, al fine di determinare il complesso del particolato, è ottenuta con i **modelli di regressione** (chiamati anche nel caso specifico **Chemical Mass Balance CMB**). Nel caso in cui, invece, non si conoscano i profili emissivi delle sorgenti vengono utilizzati i **modelli fattoriali multivariati** denominati **recettoriali** per stimare le quantità con cui le sorgenti contribuiscono alla formazione delle polveri sottili (Thurston et al. 2005, Hopke 2008).

I risultati di queste analisi ottenuti da ogni gruppo di ricerca sono stati confrontati tra di loro. Molti gruppi sono riusciti a identificare le stesse sorgenti principali, ma non tutte le sorgenti sono state identificate da tutti i ricercatori. I principali contributi al PM 2.5 sono stati individuati tra le sorgenti la cui composizione è più incerta: queste sono identificabili con il traffico e la combustione del legno per Washington, la combustione del legno e metalli a Phoenix.

Le sorgenti identificate sono poi state combinate con i **dati sanitari** sulla *mortalità totale* e sui decessi per *malattie cardiovascolari*.

Per la città di Washington sono stati trovati i seguenti risultati:

- Il traffico contribuisce per il 12% sulle morti per problemi cardiovascolari e per il 16% sulla mortalità totale;
- Il suolo contribuisce per il 23% sulle morti per problemi cardiovascolari e per il 18% sulla mortalità totale;

- Il solfato contribuisce per il 25% sulle morti per problemi cardiovascolari e per il 26% sulla mortalità totale;
- Ad un aumento di $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ del solfato secondario la mortalità totale aumenta del 3.8%.

Per la città di Phoenix sono stati trovati i seguenti risultati:

- Il traffico contribuisce per il 6% sulle morti per problemi cardiovascolari e per il 33% sulla mortalità totale;
- Il suolo contribuisce per il 4% sulle morti per problemi cardiovascolari e per il 7% sulla mortalità totale;
- Il solfato contribuisce per il 7% sulle morti per problemi cardiovascolari e per il 5% sulla mortalità totale;
- Ad un aumento di $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ del solfato secondario la mortalità totale aumenta del 5.2%.

In conclusione di questo studio si possono identificare, per la città di Washington, come maggiormente inquinanti le seguenti sorgenti: suolo, particolato secondario e nitrato, combustione di petrolio e incenerimento; le sorgenti che, invece, sono risultate meno correlate alla mortalità sono: la combustione del legno, il sale e il traffico.

Nella città di Phoenix sono state identificate come sorgenti maggiormente inquinanti il suolo, il traffico, il solfato secondario e lo spray marino; mentre sono risultate meno correlate con la mortalità la combustione del legno, i fumi industriali e le polveri generate dalla combustione del carbone.

1.2. Le sorgenti maggiormente inquinanti individuate a St. Louis – Hopke P.K. (2008)

Uno studio condotto su un **insieme di dati raccolti da aprile 2001 a settembre 2003 nella zona di St. Louis** ha identificato dieci tra le sorgenti maggiormente inquinanti. Queste dieci includono il solfato secondario, il particolato ricco in carbonio, i veicoli a benzina e diesel, il nitrato

secondario, le acciaierie, gli stabilimenti per la produzione di rame, fonderie di zinco e di piombo, e il suolo.

Le sorgenti che formano principalmente il solfato secondario sono l'ammonio e il solfato, il cui contributo maggiore si ha in estate.

Per quanto riguarda, invece, il nitrato secondario, si è visto che i picchi maggiori di nitrato si hanno nei mesi invernali quando le basse temperature favoriscono la formazione di nitrato ammonio dalla fase gassosa dell'acido nitrico e dell'ammoniaca.

Le aree in cui si trovano le maggiori emissioni di ammoniaca sono state identificate come quelle regioni in cui sono presenti grandi allevamenti e in cui vi è un maggiore uso di fertilizzanti agricoli.

E' stata inoltre identificata una sorgente di solfato secondario con un alto contenuto di carbonio; l'identificazione di questa sorgente, però, non è stata ancora completamente determinata. Sembra che rappresenti aerosol secondari, inclusa una quantità significativa di aerosol organico secondario. L'analisi suggerisce anche l'influenza di altre grandi aree. Queste aree provocano significative quantità di composti organici volatili (VOC) che supportano la produzione di ossidanti in fase gassosa che poi incrementano la produzione di solfato secondario.

Nell'area di St. Louis i punti principali in cui sono state focalizzate le sorgenti includono le acciaierie, le fonderie di zinco e di piombo, e gli stabilimenti per la produzione del rame.

La media del contributo del particolato secondario nel periodo estivo è quasi doppio di quella del periodo invernale, mentre per quanto riguarda i contributi del nitrato sono molto più ampi nel periodo invernale che in quello estivo.

Nessuno dei punti principali elencati prima, però, contribuiscono significativamente alla concentrazione di PM 2.5, ma contribuiscono alla concentrazione di specifiche tracce di elementi come il piombo, lo zinco, il rame e il ferro.

1.3. Il caso italiano: sorgenti inquinanti di PM 10 e PM 2.5 a Milano – Marcazzan G.M. et al. (2003)

Milano è una delle più grandi città dell'Italia con 3 milioni di abitanti nell'area urbana e provinciale, e ha un alto livello di traffico (0.6 veicoli per abitante). Anche la sua posizione è particolare perché localizzata nella valle del Po che, essendo in mezzo tra le Alpi e gli Appennini, non consente la dispersione delle particelle, soprattutto nel periodo invernale. Per questo particolare motivo geografico non è inusuale misurare alte concentrazioni di PM 10 e PM 2.5 in queste città.

I campioni di particolato per questo studio sono stati **raccolti nell'area urbana di Milano per l'intero anno 2001**.

Oltre a una componente stagionale è stata individuata anche una differenza nelle concentrazioni di PM 10 e PM 2.5 tra i giorni lavorativi e i giorni festivi.

Conducendo un'analisi mediante l'utilizzo di **modelli recettoriali** si è visto che la frazione di PM 2.5 contiene alte concentrazioni di zolfo, potassio, nickel, bromo e piombo, elementi correlati con le attività antropogeniche come i processi di combustione, i processi industriali e le emissioni del traffico. Invece, la frazione di PM (10-2.5) è dominata da elementi derivanti dal suolo come alluminio, silicio, calcio, titanio e ferro.

Un aspetto interessante è l'arricchimento del rame nella frazione grossolana, il quale potrebbe essere relazionato con una componente aggiuntiva del traffico.

Si è notato, inoltre, una diminuzione delle concentrazioni di elementi derivanti dal suolo, come lo zinco, durante la domenica. Questa diminuzione è dovuta a una minore sospensione nell'aria di polveri come conseguente diminuzione del volume del traffico e dei processi industriali. Sono state identificate quattro componenti principali, che in totale coprono il 91% della variabilità.

La prima componente, che spiega la gran parte della variabilità contiene alluminio, silicio, titanio, ferro, e solitamente è identificata con le

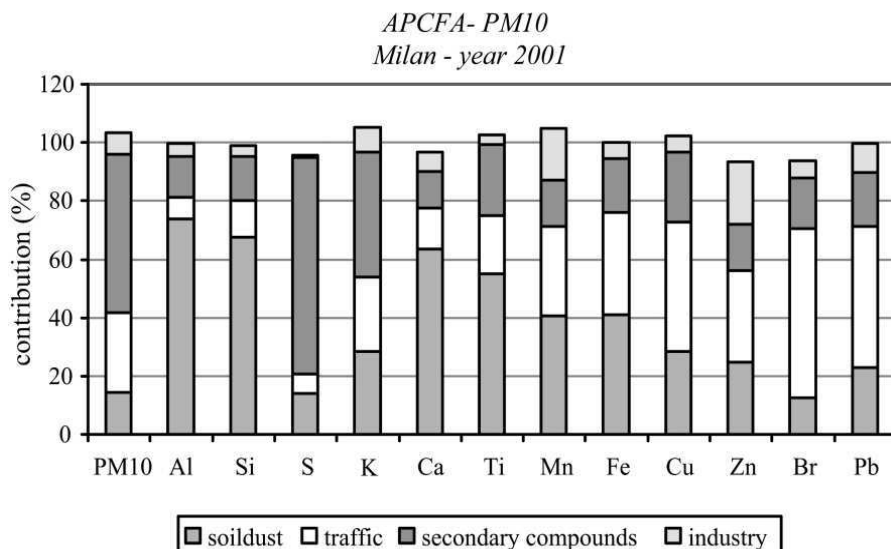
“*polveri*”. Questa sorgente è un miscuglio di molti sottotipi di sorgenti come asfalto, culture agricole, costruzioni edili e polveri trasportate dal vento.

La seconda componente mostra alte concentrazioni di ferro, rame, zinco, bromo e piombo ed è identificato con il “*traffico*”. Piombo e bromo erano componenti additive della benzina con piombo, presente al momento dello studio, ma che è poi stata vietata dal gennaio 2002. Ferro, rame e zinco derivano principalmente dall’usura dei freni, dei pneumatici e dall’impurità dell’olio del motore.

La terza componente, chiamata genericamente “*particolato secondario*”, è composta principalmente da solfuro. Il solfuro misurato in questi campioni è dovuto principalmente dal solfato secondario che è originato dall’ossidazione dell’ SO_2 emessa dalle industrie e dalle centrali elettriche.

L’ultima componente, chiamata “*industria*”, è composta dal manganese e dallo zinco. Questi due elementi sono stati identificati come tracce di attività metallurgiche le cui emissioni sono trasportate su scala regionale.

Il grafico sotto riportato mostra la percentuale dei contributi al PM 10, per elemento, per ogni tipo di sorgente che è stata misurata nell’anno 2001 a Milano. Come si può vedere dal grafico la sorgente maggiormente responsabile del PM10 è il particolato secondario.

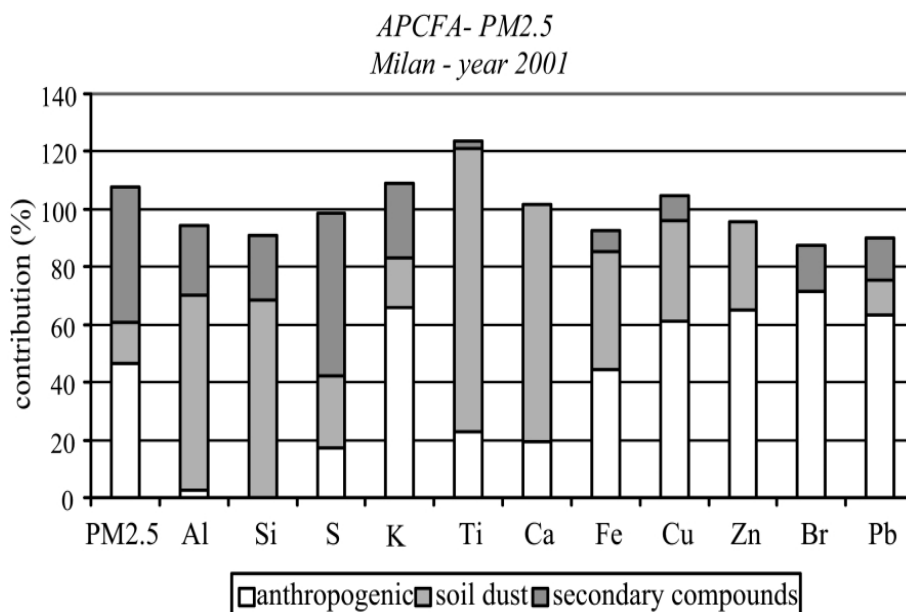


Fonte: Marcazzan G.M. et al. (2003)

Per quanto riguarda il PM 2.5 sono state rilevate 3 componenti che spiegano il 75% della variabilità e sono chiamate “*antropogeniche*”, che comprendono elementi originati dal traffico e dalle attività industriali, “*polveri*” e “*componenti secondarie*”.

L’interpretazione del PM 2.5 è molto più complessa di quella che è stata fatta per il PM 10 poiché la grande quantità di elementi in questa frazione rende l’identificazione delle “*polveri*” molto incerta e, inoltre, è difficile separare i contributi derivanti dal traffico e quelli derivanti dalle attività industriali.

Il grafico sotto riportato mostra la percentuale dei contributi al PM 2.5, per elemento, per ogni tipo di sorgente. Da quello che si può vedere le sorgenti che contribuiscono maggiormente al PM2.5 sono la componente antropogenica e il particolato secondario.



Fonte: Marcazzan G.M. et al. (2003)

2. Effetti sulla salute umana dei metalli contenuti nel particolato atmosferico

I metalli contenuti nel particolato, e specialmente alcuni di quelli contenuti nella frazione del particolato più fine (FPM), sono la componente che è considerata più tossica.

L'attenzione è rivolta soprattutto alla transizione di metalli come il ferro (Fe), il vanadio (V), il nickel (Ni), il cromo (Cr), il rame (Cu) e lo zinco (Zn) a causa della loro propensione a generare specie reattive dell'ossigeno (ROS) nei tessuti biologici.

Al momento non ci sono ancora studi riguardanti esposizioni su animali vivi o su cellule in vitro, che danno dei risultati significativi; ma esistono alcuni studi che hanno utilizzato esposizioni con alte dosi di FPM contenente un miscuglio di metalli, come ad esempio polveri derivanti dalla combustione del petrolio (ROFA), polveri derivanti dalla combustione del carbone (CFA) e concentrazione di particelle ambientali (CAPs), che hanno prodotto effetti che sembrano essere associati con bassi contenuti di metalli.

Resta comunque difficile determinare il ruolo giocato dai singoli metalli negli effetti osservati. Negli studi sono state usate alte dosi di CFA, ROFA e CAPs, quindi l'associazione tra gli effetti osservati nell'uomo e l'esposizione alle dosi presenti nell'ambiente, che sono molto più basse di quelle utilizzate negli studi, rimane ancora incerta.

Un altro limite di questi studi è dato dal complesso miscuglio in cui sono contenuti i metalli; questi studi comprendono sia **studi su volontari** esposti per un breve periodo al CAPs sia **studi sulla popolazione**.

Limitati dalla potenza statistica di questi studi, l'analisi epidemiologica è focalizzata prevalentemente sull'identificazione degli effetti dei contributi dei fattori o all'associazione delle sorgenti piuttosto che ai singoli metalli o altre componenti interne al particolato.

Gli studi clinici di laboratorio negli esseri umani hanno implicato l'infusione di particolato sospeso nei polmoni e la successiva **analisi di**

campioni di fluido brocoalveolare (BALF) per la ritenzione di particelle e il biomarkers per gli effetti.

Come detto nei paragrafi precedenti la composizione del PM varia nella sua composizione chimica a seconda delle emissioni delle varie sorgenti da cui è composta. Quindi anche la tossicità dipende dal tipo di sorgente. Per questo motivo se la tossicità della frazione fine del particolato (FPM) può essere associata alla composizione di una specifica sorgente, la ricerca sugli effetti sulla salute umana può essere focalizzata sulle specifiche componenti del particolato.

2.1. Rassegna di studi clinici

Nel 2000 è stato condotto uno studio da *Ghio* e colleghi su **37 volontari** a cui veniva fatto inalare per 2 ore il CAPs (concentrazione di particelle ambientali). I risultati ottenuti dall'analisi di questi campioni portarono a dire che l'esposizione causava infiammazioni neutrofiliache dei polmoni e l'aumento di fibrinogeno nel sangue.

Huang nel 2003 **rianalizzò i dati** per vedere quali componenti del CAPs fossero più pericolose. Trovò, infatti, che ferro (Fe), arsenico (As), selenio (Se) e solfato avevano nel PM 2.5 una concentrazione maggiore rispetto a nickel (Ni) e rame (Cu).

In termini biologici un fattore Fe/Se/Solfato produce un incremento della percentuale dei neutrofili nel BALF e un fattore Cu/Zn/V provoca un aumento del fibrinogeno nel sangue.

Un altro studio è stato condotto nel 2004 da *Urch e colleghi*, nel quale **24 adulti** sono stati esposti per 2 ore alla FPM. Usando il BAD come indice di risposta cardiovascolare, e prendendo come valore di riferimento 0.09 mm, è stata condotta un'**analisi di regressione lineare** per verificare se le componenti della FPM avevano un effetto statisticamente significativo sulle variazioni in media del BAD.

I **p-value** sono risultati significativi a un livello del 10% per il carbone organico (OC) (p-value 0.04), per l'EC (p-value 0.05), per il cadmio (p-

value 0.06), e per il potassio (p-value 0.09). Sono, invece, risultati non significativi (con un p-value compreso tra 0.13 e 0.17) elementi quali zinco, calcio e nickel; tutte le altre componenti avevano p-value superiori. Nel complesso il valore del p-value per la FPM è di 0.40.

E' da notare, però, che un punto debole dello studio è dato dalla numerosità del campione che è molto bassa.

Un altro studio è stato condotto nel 2006 da *Lanki e colleghi*, i quali hanno studiato l'influenza dell'esposizione al particolato fine sull'induzione di ischemia in **45 anziani non fumatori con stabili problemi coronari** ad Amsterdam (Olanda), Erfurt (Germania) e Helsinki (Finlandia). È stata individuata un'associazione di due classi di sorgenti, traffico e trasporti a lunga distanza, con la depressione del segmento ST durante esercizi di massimo sforzo condotti in laboratorio. Con **modelli recettoriali multivariati**, con i quali gli autori sono riusciti a separare gli effetti del solfato secondario dagli effetti delle emissioni veicolari, è risultata statisticamente significativa l'associazione tra effetti e le emissioni del traffico. Gli autori hanno, inoltre, esaminato la possibilità che altri metalli potenzialmente tossici come ferro, rame, zinco e vanadio potessero essere associati con la depressione del segmento ST. Quello che è risultato è che questi metalli non sono significativi, mentre resta significativo l'ABS cioè il parametro con cui viene misurata l'emissione del carbone elementare dai veicoli a motore.

Un altro studio effettuato su **pazienti con problemi coronarici (CHD)** è stato effettuato da *Chuang e colleghi* nel 2007, che hanno studiato 46 pazienti a Taipei (Taiwan). A queste persone viene misurata ogni ora la qualità dell'aria in termini di PM10, FPM e le sue componenti (solfato, nitrato, OC e EC). La variabilità della frequenza cardiaca (HRV) veniva ridotta in modo proporzionale all'aumento della FPM, solfato e OC, ma non si evidenziava nessun tipo di relazione con le altre componenti studiate con **modelli recettoriali univariati**.

Nei **modelli multivariati** solo il solfato rimaneva significativo, tuttavia non è stata considerata la correlazione tra la concentrazione dei metalli con

il solfato piuttosto che con la FPM o l'OC, e questo suggerisce che questi metalli possano influire sulla riduzione dell'HRV.

Gli unici studi eseguiti su volontari per i quali è disponibile l'analisi di queste componenti sono quelli in cui vengono installate particelle sospese via endotracheale.

Dal momento che il ferro è il metallo presente in modo maggiore nell'aria, sono stati svolti alcuni studi su pazienti in cui venivano instillati nei polmoni degli agglomerati che contenevano ferro sia solubile che insolubile. Gli effetti che sono stati rilevati sono state infiammazioni, diminuzione delle concentrazioni di transferrina, e un aumento delle concentrazioni di ferritina e di lattoferrina. Ma né alte o basse concentrazioni di particelle di ossido di ferro hanno effetti sulla permeabilità delle cellule dell'epitelio dei polmoni e sulle funzioni dei polmoni nei volontari. Non si sono guardati però i possibili effetti che si sarebbero potuti avere su altri organi.

È stato mostrato, però, che questi tipi di test sono più informativi se vengono utilizzati **campioni reali di PM** associati agli effetti negativi **nella popolazione**.

Un esempio è dato dallo studio condotto a *Utah Valley* in seguito a un lungo periodo di sciopero di un'acciaieria; durante questo periodo è stata registrata una significativa diminuzione della mortalità e delle ammissioni ospedaliere rispetto ai periodi precedenti e successivi allo sciopero.

Un altro studio clinico, condotto da *Sorensen e colleghi* nel 2005, ha evidenziato che l'esposizione a vanadio e cromo solubili in **volontari sani** ha provocato un significativo aumento di stress ossidativi e un conseguente danno al DNA. Non sono risultati significativi, invece, altri metalli solubili come ferro, nickel, rame e platino.

2.2. Rassegna di studi epidemiologici

2.2.1. Effetti dovuti a brevi esposizioni alle componenti del particolato

Se si tralascia il lavoro di *Thurston e colleghi* (2005) descritto in precedenza che confronta in maniera omogenea i risultati relativi alla mortalità nelle due specifiche città, Washington e Phoenix, gli **studi epidemiologici** presenti in letteratura sul tema considerato sono molto eterogenei rispetto a tempi e luoghi di osservazione, composizione della FPM e numero di metalli analizzati, ipotesi di ricerca formulate con una conseguente capacità molto limitata di chiarire i possibili ruoli delle specifiche sorgenti nel provocare danni alla salute.

In passato *Thurston e colleghi* (1984) e *Ozkaynak e Thurston* (1987) avevano utilizzato i **dati delle composizioni presenti nel network sulle particelle inalabili dell'EPA** per acquisire le indicazioni delle sorgenti e i loro profili emissivi e per trovare quelli con maggiore influenza sulle variazioni della FPM. Tali studi suggerivano tra le sorgenti maggiormente influenzanti le variazioni di PM: le particelle del terreno trasportate dal vento (Si, Fe), le emissioni dei veicoli (Pb, Br), le polveri derivanti dalla combustione del petrolio (Ni, V), le emissioni delle industrie del ferro, dell'acciaio e dei metalli (Mn, Zn) e la combustione del carbone (Se, S).

Studi più recenti (*Finkelstein* (2004, 2005), *Gehering* (2006), *Hoek* (2002), *Nafstad* (2003, 2004), *Vinzents* (2005)), enfaticamente le **emissioni locali** piuttosto che quelle rilevate dalle stazioni di monitoraggio centrale, indicano nelle emissioni dei veicoli a motore la sorgente responsabile dei maggiori effetti sulla salute umana e inoltre, statisticamente più significativa.

Un'analisi sulla mortalità dovuta a esposizioni di breve durata alle sorgenti della FPM evidenzia che la tossicità della FPM varia al variare delle sorgenti. In uno studio di Harvard Six-City su **dati raccolti dal 1970 al 1980** (*Laden e colleghi* 2000, *Schwartz* 2003) sono state utilizzate le

composizioni elementari della FPM per identificare le singole sorgenti ed esaminare l'associazione di queste con la mortalità giornaliera nelle sei città di Harvard. Dall'analisi è stato identificato un fattore Si, classificato come materiale crostale e del suolo, un fattore Pb, identificato con le emissioni dei veicoli a motore, e un fattore Se, rappresentato dalla combustione del carbone. Tramite un **modello di regressione di Poisson** è stata poi stimata l'associazione della mortalità giornaliera con ogni singolo fattore; queste stime sono state aggiustate per il tempo, la stagione e per altri fattori relativi alla singola sorgente. La stima del rischio di mortalità calcolata in ogni città e per ogni tipo di sorgente non risulta mai essere significativa, solo l'associazione della sorgente traffico con la mortalità generale sembra essere significativa.

Uno studio condotto nella città di Phoenix da *Mar e colleghi* nel 2003 ha messo in evidenza l'associazione tra la mortalità giornaliera dovuta a problemi cardiovascolari e le emissioni dei veicoli a motore, gli incendi delle foreste, le polveri presenti nel manto stradale e il solfato.

Burnett e colleghi nel 2000 hanno studiato l'associazione tra 47 elementi contenuti sia nella frazione grossolana del PM che in quella fine (FPM) e la mortalità giornaliera in otto città canadesi. L'associazione più forte con la mortalità è stata individuata in 4 componenti della frazione fine del particolato, cioè il solfato, il ferro, il nickel e lo zinco. La stima del loro effetto risulta maggiore di quella della FPM totale. È stata trovata, inoltre, un'associazione significativa con la mortalità relativa al giorno successivo all'esposizione per questi quattro elementi che compongono la frazione grossolana del particolato: scandio, manganese, nickel e zinco. Combinando il nickel presente sia nella frazione grossolana che in quella fine c'è un aumento dell'1.2% della mortalità, mentre lo zinco l'aumenta dell'1.25%.

Roemer e colleghi (2000) hanno esaminato, in Europa, il ruolo delle componenti contenute nella frazione fine del particolato con gli effetti a breve termine sull'apparato respiratorio e hanno trovato un'associazione significativa con il traffico.

Janssen e colleghi (2002) hanno prodotto delle stime con un'**analisi di regressione** per le singole sorgenti che contribuiscono al PM 10 sulle basi dei **dati raccolti in 14 città degli Stati Uniti** relativi alle ammissioni ospedaliere per problemi cardiovascolari (CVD), per problemi cronici polmonari (COPD) e per polmoniti. Per fornire delle stime più precise sulle sorgenti, gli autori hanno considerato anche la presenza di aria condizionata all'interno dei locali; infatti, in ambienti più caldi le persone dovrebbero essere meno esposte alle polveri esterne di quanto lo siano le persone che stanno in ambienti più freddi. È risultata significativa l'associazione tra gli ingressi in ospedale per problemi cardiovascolari e le seguenti sorgenti: veicoli (a benzina e diesel), combustione di petrolio e lavorazione dei metalli. Non sono risultate significative le altre associazioni.

Ostro e colleghi (2007) esaminano il ruolo delle componenti della frazione fine del particolato sulla mortalità di breve termine su persone californiane. Questi hanno messo in evidenza l'associazione, nella stagione invernale, tra il traffico, il solfato, il calcio, il cloro, il rame, il ferro, il manganese, il piombo, il titanio, il vanadio, lo zinco e la mortalità generale o la mortalità nel breve periodo per problemi cardiovascolari. Mentre l'alluminio, il bromo e il nickel non sono risultati statisticamente significativi.

2.2.2. Effetti dovuti a lunghe esposizioni alle componenti del particolato

Alcuni **studi epidemiologici** presenti in letteratura suggeriscono che le particelle associate con il solfuro, come per esempio i prodotti della combustione del combustibile fossile, sono tra le più tossiche in termini di effetti sulla mortalità annua percentuale. Nel lavoro di *Thurston* (2001), infatti, viene riportato che le esposizioni, per un lungo periodo di tempo, a componenti della FPM come carbone, metalli e acciaio sono associate statisticamente con l'aumento della mortalità. Questi risultati ci dicono che l'impatto sulla mortalità dipende dalle differenti sorgenti che contribuiscono alla formazione della FPM.

Lo studio di *Lipfert e colleghi* (2006) ha esaminato l'influenza delle sorgenti della FPM sulla sopravvivenza in una **coorte di maschi**, veterani militari degli Stati Uniti. Usando **modelli** che considerano la **singola sostanza inquinante**, il predittore più forte della mortalità era la densità del traffico, ma importanti risultavano anche il NO₂ (biossido di azoto), il nitrato, il carbonio elementare (EC), il nickel e il vanadio. Nei **modelli statistici** che considerano **tutte le sostanze inquinanti** la variabile densità del traffico è risultata essere rilevante in quanto è l'unica che non ha perso la sua significatività, a differenza delle altre categorie emissive. La sua significatività si abbassa quando nel modello è presente l'EC, e questo perché l'EC è un'altra variabile che misura le emissioni veicolari. Quanto nel modello viene tolta la variabile densità del traffico il vanadio e il nickel diventano significativi.

Pope e colleghi nel 2007 hanno condotto uno studio nel quale viene esaminata l'influenza di uno sciopero di una fonderia di rame, in quattro Stati del sudovest America, sulla mortalità mensile rilevata in questi stessi Stati, in quelli adiacenti e in altri Stati. Le conclusioni a cui pervengono gli AA. sono una stima di riduzione della mortalità nei quattro Stati del 2.5% (i.c. al 95%= 1.1–4.0%) a “causa” dello sciopero perché accompagnata da una riduzione del 60% dell'inquinamento del solfato, e le fonderie di rame rappresentano come noto una delle maggiori sorgenti, (misurato durante lo sciopero) con una grande riduzione delle concentrazioni di metalli transitori.

Nel terzo “**National Health and Nutrition Examination Survey** (NHANES III)” *Schober e colleghi* (2006) hanno studiato l'associazione tra il piombo presente nel sangue (Pb) e la mortalità su un **campione di 9757 persone sopra i 40 anni** rappresentative della popolazione degli Stati Uniti nella stessa fascia di età considerata. I dati sono stati analizzati dal 1988 al 1994. Il 68% delle persone analizzate aveva una quantità di piombo nel sangue minore a 5 µg/dl, mentre un altro 26% ha una quantità compresa tra 5 e 9 µg/dl. Non si conosce quanto di queste quantità sia dovuto dall'inalazione e nemmeno se è dovuto a esposizioni passate che si sono

depositate nelle ossa. Usando come valore soglia 5 µg/dl, è stato evidenziato un aumento statisticamente significativo del rischio relativo (RRs), sia per la mortalità generale che per quella dovuta alla presenza del cancro, nelle persone in cui vi è una quantità di piombo nel sangue compresa tra 5 e 9 µg/dl. Per le persone che hanno una quantità di piombo nel sangue maggiore di 10 µg/dl il rischio relativo aumenta notevolmente; per queste persone è stato inoltre evidenziato anche un aumento del rischio relativo per la mortalità dovuta a problemi cardiovascolari.

Un altro studio condotto da *Menke e colleghi* nel 2006 evidenzia il fatto che i livelli di piombo nel sangue e nelle ossa, in **giovani che sono esposti per cause professionali**, influenzano la pressione sistolica aumentandola significativamente. *Jain e colleghi* (2007), invece, hanno trovato che l'aumento di un punto della deviazione standard dei livelli di piombo nel sangue e nelle ossa dei **veterani di mezza età e anziani** è associata a un aumento significativo della probabilità di avere malattie cardiache ischemiche.

2.2.3. Uno studio svolto ad Hong Kong dopo l'intervento di diminuzione dello zolfo nei combustibili

Dopo un cambiamento imposto a Hong Kong il 1° luglio 1990 sul combustibile fossile portato a basse concentrazioni di zolfo, *Hedley e colleghi* (2002) hanno pensato di comparare la **mortalità mensile** e il trattamento per iperattività bronchiale nelle persone per i 5 anni precedenti l'intervento e per i 5 anni successivi. Gli autori hanno mostrato che l'abbassamento delle concentrazioni di zolfo ha portato a un dimezzamento delle concentrazioni di SO₂ (biossido di zolfo) nell'aria; ma le diminuzioni degli altri elementi non sono risultate statisticamente significative. La diminuzione di SO₂ è associata con la pronta e persistente riduzione della mortalità totale giornaliera del 2.2%, con la riduzione della mortalità per problemi cardiaci di circa il 2%, e della riduzione della mortalità per problemi respiratori di circa il 4.5%. Gli autori precisano però che questa

diminuzione della mortalità potrebbe non essere completamente dovuta alla diminuzione di SO₂, ma su di essa potrebbe aver influito anche la diminuzione nell'aria della concentrazione di altre componenti che non sono state misurate. In uno scritto successivo (2004), infatti, gli stessi autori hanno documentato, dopo l'introduzione della normativa del 1° luglio 1990, una forte diminuzione delle concentrazioni di nickel e vanadio, ma non di altri metalli. Unendo questi risultati si può affermare che il nickel e il vanadio, componenti del ROFA, hanno degli effetti significativi sulla mortalità giornaliera e sulla iperattività bronchiale.

2.2.4. Coefficienti di mortalità giornaliera e media delle concentrazioni delle componenti della FPM nelle comunità degli USA (NMMAPS)

I risultati ottenuti da *Hedley* (2002, 2004), sopracitati, sono serviti a *Lippmann e colleghi* (2006) per esaminare i possibili ruoli delle componenti del PM, come metalli, ioni e polveri del suolo, sulla variazione delle stime del rischio di mortalità per PM 10 in ognuna delle città che hanno considerato.

Per sviluppare questa analisi *Lippmann et al.* hanno utilizzato i **dati** delle componenti della FPM trovate nel "**U.S. EPA FPM speciation network**" e le stime del rischio di mortalità per PM 10, prodotte utilizzando dei **modelli lineari generalizzati** (GLM), presenti nel **NMMAPS** (National Mortality and Morbidity Air Pollution Study) in ognuna delle **60 aree metropolitane** considerate. Sono state individuate 40 tipi diversi di particelle che compongono la FPM. Però nell'analisi si è focalizzata l'attenzione su 16 di quelle, che sono considerate più associate alle maggiori sorgenti inquinanti: alluminio (Al), arsenico (As), cromo (Cr), rame (Cu), carbone elementare (EC), ferro (Fe), manganese (Mn), nickel (Ni), nitrati (NO₃), carbone organico (OC), piombo, selenio (Se), silicio (Si), ioni solfati (SO₄), vanadio (V), e zinco (Zn).

Gli autori hanno valutato l'associazione tra effetti a breve termine del PM 10 per tutte le cause di mortalità, espresso come percentuale di morti in più che si hanno per un aumento di $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ nel PM 10, (β^c), e le concentrazioni medie delle 16 componenti chimiche del PM 2.5 (x^c) in 60 comunità degli USA. Separatamente per ciascuna componente chimica, è stato fissato un **modello di regressione lineare ponderata** con β^c come variabile dipendente e x^c come variabile indipendente con “pesi basati sugli standard error di β^c ” (Lippmann e colleghi 2006). I β^c e i loro standard error sono stati stimati sulla base dei **dati NMMAPS** [Internet-based Health and Air Pollution Surveillance System (iHAPSS) 2007; Zeger et al. 2006] per il periodo 1987-1994, e i valori x^c sono stati ottenuti dall'**U.S. EPA 2003**, per il periodo 2000-2003. Con eccezione dell'alluminio e del silicio, che sono presenti principalmente nella frazione grossolana del particolato, e del ferro, che è presente in quantità apprezzabili sia nella frazione fine che in quella grossolana, le altre componenti del PM sono state trovate principalmente nella frazione fine del particolato, che è stata supposta essere simile in tutti gli anni considerati. Tuttavia, c'è sicuramente stato un cambiamento significativo della composizione della FPM tra il 1990 e il 1995 dovuto all'introduzione di una norma (Clean Air Act Amendments 1990) che ha portato alla riduzione del 50% delle emissioni di SO_2 delle fabbriche elettriche. Questa consistente riduzione di SO_2 è stata accompagnata da una conseguente riduzione di SO_4 , Se, e Ni che quindi hanno portato a degli errori nelle stime del rischio di mortalità.

Dall'analisi svolta, comunque, è risultato che le concentrazioni medie di nickel o di vanadio del PM 2.5 modificano positivamente l'associazione tra il PM 10 del giorno precedente (lag1) e la mortalità generale. Sulla base di questo risultato gli autori hanno concluso che le stime del rischio di mortalità del PM 10 erano alte per il nickel e il vanadio (0.60) in comunità dove nickel e vanadio erano significativamente elevati (95° percentile), mentre in comunità dove il nickel e il vanadio erano più bassi (5° percentile) si sono trovate stime del rischio più basse.

Mentre per componenti come EC, Zn, SO₄, Cu, Pb, e OC non si è visto un aumento significativo della stima del rischio (0.21). I metalli associati alle polveri del suolo come Al, Si, hanno i valori più bassi e questo suggerisce che probabilmente non sono influenti sulla mortalità giornaliera.

2.3. Studi tossicologici

I metalli sospesi, a causa della loro potenza per le attività di ossidazione e la produzione di specie reattive di ossigeno (ROS), sono stati a lungo sospettati di essere i maggiori componenti del particolato che producono effetti negativi sulla salute. L'importanza di queste componenti nel produrre effetti avversi è stata confermata anche dallo studio condotto a Utah Valley, con il quale è stata osservata una riduzione dei metalli contenuti nel PM in seguito a un lungo periodo di chiusura di un'acciaieria locale. Il ruolo dei metalli (come V, Fe, Cu, Zn, Ni) è confermato anche da studi condotti successivamente, sia studi clinici su umani che **studi tossicologici su animali**.

2.3.1. Studi su inalazione di concentrazioni di particelle ambientali (CAPs) negli animali

Come è stato detto anche per gli studi epidemiologici, è chiaro il sospetto che la FPM possa causare effetti cardiopolmonari. Ma in conseguenza dei bassi livelli di concentrazione misurati in questi studi, soprattutto per le tracce metalliche, per verificare gli effetti biologici di queste componenti è stato preferibile eseguire studi tossicologici sugli animali. Ad oggi ci sono molti studi tossicologici che trattano le risposte degli animali all'inalazione o all'instillazione intratracheale del PM ambientale, ma solo pochi si occupano dei contributi delle specifiche componenti dell'inquinamento (sia come singola componente sia come miscuglio) nel produrre effetti negativi sulla salute umana. Dal momento che inquinanti ambientali possono interagire tra di loro sia dal punto di vista chimico che biologico è molto

difficile definire uno studio sugli animali che rispecchi le condizioni ambientali reali e le concentrazioni. Alcuni, ma non tutti, studi di breve periodo sull'inalazione di CAPs hanno trovato cambiamenti cardiopolmonari nei roditori e nei cani dovuti ad alte concentrazioni della FPM, come descritto in dettaglio nel recente "Particulate Matter Criteria Document (PMCD) (U.S. EPA 2004)". Questi studi hanno evidenziato che questi aggregati o componenti specifiche di PM sono responsabili di alcuni effetti dannosi alla salute, e che certe componenti sono più tossiche di altre. Le componenti che sono risultate statisticamente significative con problemi cardiopolmonari sono il carbone nero, l'alluminio, il magnesio, il silicio, lo zinco, il titanio, il vanadio, il nickel e il ferro (*Clarke e colleghi*, 2000).

In un altro studio condotto sui **ratti bruni di Norway, allergici e sani**, esposti al CAPs, hanno notato (*Morishita e colleghi*, 2004) che i ratti allergici avevano una maggiore ritenzione polmonare rispetto agli altri di lantanio, vanadio, magnesio, e zolfo in corrispondenza a una maggiore infiammazione dei polmoni. Da uno studio condotto da *Gurgueira e colleghi* (2002), utilizzando **modelli di regressione lineare** per ogni singola componente, sono risultati fortemente associati il ferro, il magnesio, il rame e lo zinco a problemi polmonari, il ferro, l'alluminio, il silicio e il titanio a problemi cardiaci.

2.3.2. Effetti polmonari sugli animali dovuti all'inalazione del ROFA

Le componenti maggiori della FPM derivano spesso dalla combustione di petrolio e vengono identificate con il solfato e il nitrato. Il ROFA, ovvero le polveri derivanti dalla combustione del petrolio, è un miscuglio complesso di solfato, nitrato e metalli come il ferro, il vanadio e il nickel. Il picco di questo influsso occorre 18-24 ore dopo l'esposizione. L'afflusso cellulare persiste 96 ore dopo. Il danno ai polmoni dopo l'esposizione al ROFA è accompagnato da iperattività delle vie aeree, un incremento nella suscettibilità alle infezioni (*Antonini e colleghi* 2002, 2004) e, ad alte

concentrazioni, a edemi polmonari (*Watkinson e colleghi* 1998). Ci sono effetti dell'esposizione al ROFA anche nell'apparato cardiaco degli animali, come aritmie, arresto cardiaco, bradicardia rafforzata, aritmie (*Watkinson e colleghi* 2000, 2001), depressione del segmento ST in **ratti spontaneamente ipertensivi** (*Kodavanti e colleghi* 2000), infiammazioni cardiache, degenerazione del miocardio e fibrosi (*Kodavanti e colleghi* 2003). In molti di questi studi la concentrazione dei metalli era molto più alta di quella presente nell'ambiente, per questo motivo i risultati possono essere stati influenzati dalla metodologia con cui è stato condotto lo studio.

2.3.3. Effetti cardiovascolari dei metalli presenti nel ROFA

Studi sull'instillazione del ROFA associato ai metalli mostrano che il ferro causa risposte leggere, mentre il vanadio causa una marcata bradicardia e ipotermia immediatamente seguente all'instillazione. Il nickel non causa immediate risposte ma induce un ritardo nei sintomi che iniziano nelle 24 ore successive e che durano per i giorni seguenti. Quando viene instillato un miscuglio di metalli il nickel sembra esagerare l'immediato effetto del vanadio mentre il ferro sembra attenuarli. In uno studio condotto da *Muggenburg e colleghi* (2003), in cui sono stati utilizzati **cani con pre-esistenti problemi cardiovascolari**, si sono valutati gli effetti dell'esposizione a breve termine, con concentrazioni 2-4 volte superiori a quelle presenti nell'ambiente, ma non si sono trovati risultati significativi.

2.4. Gli effetti del PM 10 sulla mortalità dipendono dal fatto che nella sua composizione sono presenti il nickel e il vanadio?

Negli studi citati in precedenza il nickel e il vanadio risultano componenti del PM 10 che hanno degli effetti statisticamente significativi sulla salute dell'uomo e anche sulla mortalità.

Ci sono in letteratura due studi importanti che cercano di verificare l'associazione tra nickel e vanadio e mortalità generale, uno è quello di Lippmann e colleghi (2006), i cui risultati sono appena stati descritti, e l'altro è quello di *Dominici e colleghi* (2007).

Lippmann ha esaminato l'associazione tra le composizioni di PM e la mortalità per la popolazione considerata nel NMMAPS (National mortality and Morbidity Air Pollution Study). Ha, inoltre, condotto uno studio sui topi arteriosclerotici che sono stati esposti a concentrazioni di particelle della FPM (CAPs) a Toledo e New York. Per i topi esposti al CAPs la media di nickel registrata è di 43 ng/m^3 , ma durante i 14 giorni, è stato registrato un picco di nickel di circa 175 ng/m^3 . Esposizioni dovute all'inalazione di particelle emesse da sorgenti ricche in metalli come il nickel, il vanadio e il ferro hanno riportato effetti sulle funzioni cardiovascolari. Ad esempio, 3 mg/m^3 di ROFA provocano aritmia, anomalie nell'ECG e diminuzione della variabilità della frequenza cardiaca (HRV) in ratti con infarto miocardico. Esposizioni simili in cani beagle non hanno avuto effetti sull'ECG ma hanno prodotto un andamento decrescente della frequenza cardiaca (HR) (*Wellenius e colleghi* 2002). Al contrario, brevi periodi di inalazioni di singole componenti di nickel non hanno prodotto alcun cambiamento nella funzione cardiovascolare. Misurazioni elettrocardiografiche sui topi esposti hanno mostrato che il nickel è associato significativamente con cambiamenti acuti nella frequenza cardiaca e nella sua variabilità.

Nel **NMMAPS**, la mortalità giornaliera nelle 60 città risulta associata significativamente con il nickel e il vanadio, ma non con altre componenti. Anche ad Hong Kong, come già riportato prima, dove successivamente a un intervento c'è stata una forte diminuzione del diossido di zolfo, sono risultati statisticamente significativi solo il nickel e il vanadio, e non le altre componenti, alla diminuzione della mortalità per problemi cardiovascolari e polmonari.

Dominici e colleghi (2007) hanno esteso l'analisi dell'associazione tra nickel e vanadio e la mortalità giornaliera usando i **dati forniti dall' U.S.**

EPA e dal NMMAPS (prendendo in considerazione il periodo **1987-2000**, cioè due anni in più di quelli considerati nello studio di Lippmann). Il loro obiettivo era quello di verificare se vi erano ancora prove per indicare che le concentrazioni medie di nickel e vanadio nel PM 2.5 modificano positivamente l'associazione tra il PM 10 del giorno precedente (lag1) e la mortalità generale. Hanno, quindi, stimato gli effetti a breve termine del PM 10 per la mortalità generale e specifica per 90 comunità urbane degli Stati Uniti. Ogni comunità del NMMAPS si basa su una singola contea o una serie di province contigue. Sono state identificate 72 contee degli Stati Uniti per cui si hanno sia delle stime dell'effetto di mortalità per PM 10 sia dei dati sulla composizione chimica del PM 2.5. Queste 72 contee sono incluse nelle 69 comunità del NMMAPS, a ogni comunità corrisponde una singola contea ad eccezione di due comunità. La prima è quella di New York che comprende sei contee: Bronx, Kings, New York, Richmond, Queens e Westchester. I dati relativi alla composizione del PM 2.5 sono disponibili per le sole contee di Queens, New York e Bronx. La seconda comunità è quella di Minneapolis che comprende due contee, quella di Ramsey e quella di Hennepin. Per entrambe queste contee sono disponibili i dati della composizione chimica del PM 2.5. Per quanto riguarda i valori delle stime dell'effetto è stato usato per le tre contee di New York quello della comunità NMMAPS di New York, e per le due contee di Minneapolis è stato usato il valore della comunità NMMAPS di Minneapolis. È stata poi stimata l'associazione tra la mortalità reale, relativa al giorno precedente (lag1), causata dal PM 10 e la media di nickel e vanadio in ogni contea usando dei **modelli di regressione gerarchica bayesiana**.

I risultati riportati confermano quelli trovati da Lippmann (2006), cioè che contee con alte concentrazioni medie di nickel e vanadio hanno effetti più elevati del PM 10 sulla mortalità totale al lag1. È stata condotta un'analisi sulla sensibilità per verificare se una o più contee avessero contribuito più di altre alla significatività dei risultati. Si è scoperto, infatti, che quando vengono escluse dallo studio le tre contee di New York (Queens, New York e Bronx) le stime diventano statisticamente poco significative. Per

condurre questa seconda parte dell'analisi le stime del parametro di regressione sono del tipo:

$$\beta^c = \alpha_0 + \alpha_1(x^c - \bar{x}) + N(0, \tau^2)$$

Includendo tutte le 72 contee nell'analisi si trova una forte evidenza dell'effetto del nickel e del vanadio. La probabilità a posteriori che il parametro α_1 sia positivo è 0.99 per il nickel e 1.0 per il vanadio. Il corrispondente **p-value** di α_1 , ottenuto dalla regressione ponderata è pari a **0.004** per il nickel e **0.002** per il vanadio.

Quando le tre contee della comunità di New York (Queens, New York e Bronx) vengono escluse l'evidenza dell'effetto del nickel e del vanadio diventa debole. La probabilità a posteriori che il parametro α_1 sia positivo è 0.76 per il nickel e 0.89 per il vanadio. Con un **p-value** rispettivamente di **0.38** e **0.14**. Anche dopo aver ricondotto l'analisi escludendo una singola contea per volta, solo quando le tre contee corrispondenti alla comunità di New York sono omesse non viene trovata una forte evidenza dell'effetto del nickel e del vanadio. Tuttavia, nel momento in cui le altre contee vengono omesse ad una ad una l'evidenza dell'effetto rimane forte.

La comunità di New York ha livelli particolarmente alti di nickel e vanadio, e le tre contee di New York hanno le più alte concentrazioni di Ni e V rispetto a tutte le altre 72 contee prese in considerazione (la concentrazione di Ni è 8.9 volte superiore alle concentrazioni di altre contee e quella del V è 3.4 volte superiore). Per cui escludendo le tre contee di Queens, New York e Bronx la varianza tra comunità si riduce del 68%, quindi anche la forza della statistica si riduce notevolmente.

Gli alti livelli di Ni e V sono probabilmente attribuibili alle emissioni delle centrali termoelettriche a carbone e alle emissioni delle navi; possono derivare anche dalla combustione di petrolio.

Anche se il lavoro condotto da Lippmann e colleghi indicava, con una forte evidenza, che effetti a breve termine del PM 10 sulla mortalità erano modificati a lungo termine dalle concentrazioni medie del nickel e del vanadio, con l'analisi condotta da Dominaci e colleghi questa evidenza è legata principalmente all'influenza delle concentrazioni di Ni e V nelle tre

contee di New York. Questo non significa che il nickel e il vanadio non abbiano effetti sulla mortalità, ma che sono probabilmente necessari altri studi per verificare questa associazione.

2.5. Altri effetti sulla salute causati da esposizioni ad alte concentrazioni di nickel

La presenza del nickel nel particolato atmosferico, si è visto, essere considerato come un fattore di rischio per la salute umana. Da quanto riportato nel WHO (**World Health Organization 2002**) i rischi per la salute riguardano l'origine dei tumori. Con riguardo a **persone esposte per motivi professionali** ad alte dosi di nickel nel particolato, *Costa* (2000), ha riassunto le evidenze presenti in letteratura che documentano eccessivi casi di cancro ai tratti respiratori. Con riguardo ad altri effetti associati all'inalazione di polveri contenenti nickel, ci sono evidenze per reazioni allergiche della pelle e dell'apparato respiratorio. Ad oggi, comunque, non ci sono evidenze in letteratura che dimostrino la relazione tra persone professionalmente esposte ad alte concentrazioni di nickel e problemi cardiovascolari.

3. Conclusioni

Nell'ambito delle ricerche epidemiologiche e tossicologiche riguardanti l'influenza della frazione fine del particolato sugli effetti dannosi per la salute, vengono messe in risalto le differenze dovute alla composizione del particolato collegate allo spazio e al tempo di esposizione. Gli effetti negativi sulla salute umana sembrano dipendere dalla composizione delle polveri e dalle molteplici sorgenti che contribuiscono alla loro formazione. Alla luce della rassegna statistica condotta nella presente tesi, l'identificazione delle varie composizioni del particolato avviene principalmente per via indiretta sulla base dell'impiego di modelli denominati recettoriali, con cui si stimano i profili emissivi delle sorgenti e i loro relativi contributi. Questa scelta è dovuta al fatto che è molto difficile conoscere, e misurare in modo diretto, i profili emissivi delle sorgenti in quanto queste sono composte da un miscuglio di sostanze, alcune delle quali presenti con una bassissima concentrazione.

Per le analisi condotte in questi studi, che cercano appunto di valutare gli effetti dei metalli, sono stati usati prevalentemente modelli di analisi multifattoriale mentre per verificare gli effetti dei singoli metalli, sono stati utilizzati modelli di regressione lineare e modelli di regressione di Poisson. Da questi pochi studi è emersa comunque un'associazione statistica tra l'inalazione di alcuni metalli (il nickel, il vanadio, il piombo e lo zinco) presenti nella frazione di PM, in concentrazioni simili o più elevate a quelle presenti nell'ambiente, e gli effetti avversi sulla salute umana .

In particolare per il nickel, studi tossicologici evidenziano che alti picchi di nickel presenti nei CAPs sono significativamente associati con l'aumento, nel breve periodo, della frequenza cardiaca (HR) e con la diminuzione della variabilità della frequenza cardiaca (VHR) in topi affetti da arteriosclerosi. È stata, inoltre, discussa epidemiologicamente l'evidenza che nickel e vanadio, derivanti dalla combustione di petrolio, sono in modo significativo statisticamente associati con l'aumento della mortalità giornaliera. Il nickel è stato anche associato a diversi effetti negativi dell'apparato cardiaco. Non

sono state evidenziate, invece, altre associazioni significative tra singoli metalli e danni alla salute umana, non escludendo comunque la presenza di effetti negativi. Sono quindi necessari ulteriori studi per cogliere gli eventuali effetti negativi provocati sulla salute umana da nickel e vanadio, generalmente associati alle emissioni derivanti dalla combustione del petrolio, ma fino ad oggi scarsamente conosciuto, di altri metalli tossici presenti nel particolato?

Esistono vari motivi sul perché non sono ancora chiari i ruoli che i singoli metalli giocano sulla salute umana. Un primo motivo è forse dovuto al fatto che le concentrazioni dei metalli nel particolato ambientale sono di pochi $\mu\text{g}/\text{m}^3$ e in alcuni casi si parla anche di misure inferiori a $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Inoltre le ricerche epidemiologiche del settore sono limitate dai pochi dati disponibili riguardo alle concentrazioni delle componenti del particolato probabilmente per il fatto che solo pochi centri di ricerca tossicologici e clinici possono disporre delle ingenti risorse necessarie per affrontare studi sulle concentrazioni di particolato basati su misurazioni dirette e prolungate nel tempo.

In sintesi l'affermazione “sono ancora pochi gli studi che riguardano le sorgenti maggiormente responsabili dei danni alla salute” riportata nel lavoro di Pollice M. (2009), citato nella introduzione, può essere affiancata sulla base della mia rassegna da ...“ sono (altrettanto) ancora pochi gli studi relativi all'influenza dei singoli metalli sui danni alla salute umana”.

Bibliografia

- Antonini J.M., Roberts J.R., Jernigan M.R., Yang H.M., Ma J.Y., Clark R.W. (2002), "Residual oil fly ash increases the susceptibility to infection and severely damages the lungs after pulmonary challenge with a bacterial pathogen", *Toxicol. Sci.* 70: 110-119
- Antonini J.M., Taylor M.D., Leonard S.S., Lawryk N.J., Shi X., Clarke R.W., Roberts J.R. (2004) "Metal composition and solubility determine lung toxicity induced by residual oil fly ash collected from different sites within a power plant", *Mol. Cell. Biochem.* 255: 257-265
- Biggeri A., Bellini P., Terracini B. (2001), "Meta-analysis of the Italian studies on short-term effects of air pollution", *Epidemiologia & Prevenzione*, 25 supplemento:1-72
- Biggeri A., Bellini P., Terracini B. (2004), "Metanalisi italiana degli studi sugli effetti a breve termine dell'inquinamento atmosferico 1996-2002", *Epidemiologia & Prevenzione*, 28 (4-5) supplemento:1-100
- Burnett R.T., Brook J., Dann T., Delocla C., Philips O., Cakmak S., Vincent R., Goldberg M.S., Krewski D., (2000), "Association between particulate and gas-phase components of urban air pollution and daily mortality in eight Canadian cities", *Inhal. Toxicol.* 12 (suppl. 4): 15-39
- Chen L.C., Lippmann M. (2009) "Effects of metals within ambient air particulate matter (PM) on human health", *Inhalation Toxicology*, 21, pp. 1-31
- Chuang K.J., Chan C.C., Su T.C., Lin L.Y., Lee C.T. (2007) "Associations between particulate sulphate and organic carbon exposures and heart rate variability in patients with or at risk for cardiovascular diseases", *J. Occup. Environ. Med.* 49: 610-617
- Clarke R.W., Coull B., Reinisch U., Catalano P., Killingsworth C.R., Koutrakis P., Kavouras I., Murthy G.G., Lawrence J., Lovett E., Wolfson J.M., Verrier R.L., Godleski J.J., (2000), "Inhaled concentrated ambient particles are associated with hematologic and bronchoalveolar lavage changes in canines", *Environmental Health Perspective*, 108: 1179-1187

- Costa M. (2000) "Trace elements: aluminium, arsenic, cadmium, and nickel", *Environmental Toxicants* (Lippmann M, ed). 2nd ed. NewYork:Wiley, 811-850
- Dominici F., Peng R.B., Ebisu K., Zeger S.L., Samet J.M., Bell M.L. (2007) "Does the effect of PM10 on mortality depend on PM nickel and vanadium content? A reanalysis of the NMMAPS data", *Environmental Health Perspective*, 115: 1701-1703
- Finkelstein M., Jerrett M., Sears M.R., (2004), "Traffic air pollution and mortality rate advancement periods", *Am. J. Epidemiol.* 160: 173-177
- Finkelstein M., Jerrett M., Sears M.R., (2005), "Environmental inequality and circulatory disease mortality gradients", *J. Epidemiol. Commun. Health* 59: 481-487
- Gehring U., Heinrich J., Kramer U., Grote V., Hochadel M., Sugiri D., Kraft M., Rauchfuss K., Eberwein H.G., Wichmann H.E., (2006), "Long-term exposure to ambient air pollution and cardiopulmonary mortality in women", *Epidemiology* 17: 545-551
- Ghio A.J., Kim C., Devlin R.B., (2000), "Concentrated ambient air particles induce mild pulmonary inflammation in healthy human volunteers", *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 162: 981-988
- Gurgueira S.A., Lawrence J., Coull B., Murthy G.G., Gonzalez-Flecha B., (2002), "Rapid increases in the steady-state concentration of reactive oxygen species in the lungs and heart after particulate air pollution inhalation", *Environmental Health Perspective*, 110: 749-755
- Hedley A.J., Chau P.Y.K., Wong C.M., (2004), "The change in subspecies of particulate matter before and after an intervention to restrict sulphur content of fuel in Hong Kong" Poster presented at Better Air Quality/Asian Development Bank meeting at Angra, India.
- Hedley A.J., Wong C.M., Thach T.Q., Ma S., Lam T.H., Anderson H.R., (2002), "Cardiorespiratory and all-cause mortality after restrictions on sulphur content of fuel in Hong Kong: an intervention study", *Lancet* 360: 1646-1652

- Hoek G., Brunckreef B., Goldbohm S., Fischer P., Van Den Brandt P.A., (2002), "Association between mortality and indicators of traffic-related air pollution in the Netherlands; a cohort study", *Lancet* 360: 1203-1209
- Hopke P.K. (2008) "The use of source apportionment for air quality management and health assessment", *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 71, pp. 555-563
- Huang Y.C.T., Ghio A.J., Stoneheurner J., McGee J., Carter D., Grambow S.C., Devlin R.B., (2003) "The role of soluble components in ambient air fine particles-induced changes in human lungs and blood", *Inhalation Toxicology* 15: 327-342
- Jain N.B., Potula V., Schwartz J., Vokonas P.S., Wright R.O., Nie H., Hu H., (2007), "Lead levels and ischemic heart disease in a prospective study of middle aged and elderly men: The VA normative aging study", *Environmental Health Perspective*, 115: 871-875
- Janssen N.A.H., Schwartz J., Zanobetti A., Suh H., (2002), "Air conditioning and source-specific particles as modifiers of the effect of PM10 on hospital admissions for heart and lung disease", *Environmental Health Perspective*, 110: 43-49
- Kodavanti U.P., Schladweiler M.C., Ledbetter A.D., Watkinson W.P., Campen M.J., Winsett D.W., Richards J.R., Crissman K.M., Hatch G.E., Costa D.L., (2000a), "The spontaneously hypertensive rat as a model of human cardiovascular disease: Evidence of exacerbated cardiopulmonary injury and oxidative stress from inhaled emission particulate matter", *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 164: 250-263
- Kodavanti U.P., Mebane R., Ledbetter A., Krantz T., McGee J., Jackson M.C., Walsh L., Hilliard H., Chen B.Y., Richards J., Costa D.L., (2000b), "Variable pulmonary responses from exposure to concentrated ambient air particles in a rat model of bronchitis", *Toxicol. Sci.*, 54: 441-451
- Kodavanti U.P., Moyer C.F., Schladweiler M.C., Ledbetter A.D., Costa D.L., Hauser R., Christiani D.C., Nyska A., (2003), "Inhaled environmental

combustion particles cause myocardial injury in the Wistar Kyoto rat.”, *Toxicol. Sci.*, 71: 237-245

- Laden F., Neas L.M., Dockery D.W., Schwartz J., (2000), “Association of fine particulate matter from different sources with daily mortality in six U.S. cities”, *Environmental Health Perspective*, 108: 941-947
- Lanki T., de Hartog J.J., Heinrich J., Hoek G., Janssen N.A.H., Peters A., Stolzel M., Timonen K.L., Vallius M., Vanninen E., Pekkanen J., (2006), “Can we identify sources of fine particles responsible for exercise-induced ischemia on days with elevated air pollution? The ULTRA study”, *Environmental Health Perspective*, 114: 655-660
- Lippfert F.W., Baty J.D., Miller J.P., Wyzga R.E., (2006), “PM2.5 constituents and related air quality variables as predictors of survival in a cohort of U.S. military veterans”, *Inhalation Toxicology*, 18: 654-657
- Lippmann M., Ito K., Hwang J.S., Maciejczyk P., Chen L.C. (2006) “Cardiovascular effects of nickel in ambient air”, *Environmental Health Perspective*, 114: 1662-1669
- Mar T.F., Norris G.A., Larson T.V., Wilson W.E., Koenig J.Q., (2003), “Air pollution and cardiovascular mortality in Phoenix, 1995-1997”, *Revised analyses of time-series studies of air pollution and health. Special report*, pp.177-182, Boston, MA: Health effects institute.
- Marcazzan G.M., Ceriani M., Valli G., Vecchi R. (2003) “Source apportionment of PM10 and PM2.5 in Milan (Italy) using receptor modelling”, *The Science of Total Environment*, 317, pp. 137-147
- Menke A., Muntner P., Batuman V., Silbergeld E.K., Guallar E., (2006), “Blood lead below 10 µg/dL and mortality among US adults”, *Epidemiology*, 114: 1388-1394
- Morishita M., Wagner J.G., Marsik F.J., Timm E.J., Dvonch J.T., Harkerna J.R., (2004), “Pulmonary retention of particulate matter is associated with airway inflammation in allergic rats exposed to air pollution in urban Detroit”, *Inhalation Toxicology*, 16: 633-674
- Muggenburg B.A., Benson J.M., Barr E.B., Kubatko J., Tilley L.P., (2003), “Short-term inhalation of particulate transition metals has little

effect on the electrocardiograms of dogs having pre-existing cardiac abnormalities”, *Inhalation Toxicology*, 15: 357-371

- Nafstad P., Haheim L.L., Oftedal B., Gram F., Holme I., Hjermann I., Leren P., (2003), “Lung cancer and air pollution: a 27 year follow up of 16209 Norwegian men”, *Thorax*, 58:1071-1076
- Nafstad P., Haheim L.L., Wisloff T., Oftedal B., Gram F., Holme I., Hjermann I., Leren P., (2004), “Urban air pollution and mortality in a cohort of Norwegian men”, *Environmental Health Perspective*, 112: 610-615
- Ostro B., Feng W.Y., Broadwin R., Green S., Lipsett M., (2007), “The effects of components of fine particulate air pollution on mortality in California: results from CALFINE”, *Environmental Health Perspective*, 115:13-19
- Ozkaynak H., Thurston G.D., (1987) “Association between 1980 U.S. mortality rates and alternative measures of airborne particle concentration”, *Risk Anal.*, 7: 449-460
- Pope C.A.III, Rodermund D.L., Gee M.M., (2007), “Mortality effects of a copper smelter strike and reduced ambient sulphate particulate matter air pollution”, *Environmental Health Perspective*, 115: 679-683
- Pollice M. (2009) “Qualità dell’aria e salute: statistici, chimici ed epidemiologi...l’unione fa la forza!”, *Sis-Magazine*
- Roemer W., Hock G., Brunekreef B., Clench A., J., Forsberg B., Pekkenen J., Schutz A., (2000), “PM10 elemental composition and acute respiratory health effects in European children”, *Eur. Respir. J.*, 15: 553-559
- Schober S.E., Mirel L.B., Graubard B.L., Brody D.J., Flegal K.M., (2006), “Blood lead levels and death from all causes, cardiovascular disease and cancer”, *Environmental Health Perspective*, 114: 1538-1541
- Schwartz J, (2003), “Daily deaths associated with air pollution in six US cities and short-term mortality displacement in Boston”, *Revised analyses of time-series studies of air pollution and health*, pp. 219-226 Boston: Health Effects Institute

- Sorensen M., Schins R.P.F., Hertel O., Loft S., (2005), “Transition metals in personal samples of PM_{2.5} and oxidative stress in human volunteers”, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prevent.*, 14(5): 1340-1343
- Thurston G.D., Ozkaynak H., Schatz A. (1984), “A chemical characterization and source apportionment of the IP Network fine particle data”, Paper 84-58.5. *Presented at the 77th Annual Meeting of the Air Pollution Control Association, San Francisco, CA, June*
- Thurston G.D., Ito K., Mar T., Christensen W.F., Eatough D.J., Henry R.C., Kim E., Laden F., Lall R., Larson T.V., Liu H., Neas L., Pinto J., Stolzel M., Suh H., Hopke P.K. (2005) “Workgroup report: Workshop on source Apportionment of Particulate Matter Health Effects – Intercomparison of Results and Implications”, *Environmental Health Perspective*, 113, pp. 1768-1774
- Urch B., Brook J.R., Wasserstein D., Brook R.D., Rajagopalan S., Corey P., Silverman F., (2004), “Relative contributions of PM_{2.5} chemical constituents to acute arterial vasoconstriction in humans”, *Inhalation Toxicology*, 16:345-352
- Vinzents P.S., Meller P., Sorensen M., Knudsen L.E., Hertel O., Jensen F.P., Schibye B., Loft S., (2005), “Personal exposure to ultrifine particles and oxidative DNA damage”, *Environmental Health Perspective*, 113: 1485-1490
- Watkinson W.P., Campen M.J., Costa D.L., (1998), “Cardiac arrhythmia induction after exposure to residual oil fly ash particles in a rodent model of pulmonary hypertension”, *Toxicol. Sci.*, 41: 209-216
- Watkinson W.P., Campen M.J., Nolan J.P., Kodavanti U.P., Dreher K.L., Su W.Y., Highfill J.W., Costa D.L., (2000a), “Cardiovascular effects following exposure to particulate matter in healthy and cardiopulmonary-compromised rats”, *Relationships between acute and choronic effects of air pollution*, eds. U. Heinrich, U. Mohr, pp.447-463, Washington, DC; ISLI Press
- Watkinson W.P., Campen M.J., Dreher K.L., Su W.Y., Kodavanti U.P., Highfill J.W., Costa D.L., (2000b), “Thermoregulatory effects following

exposure to particulate matter in healthy and cardiopulmonary-compromised rats”, *J. Therm. Biol.*, 25: 131-137

- Watkinson W.P., Campen M.J., Nolan J.P., Costa D.L., (2001), “Cardiovascular and systemic responses to inhaled pollutants in rodents: effects of ozone and particulate matter”, *Environmental Health Perspective*, 109 (suppl.4): 539-546
- Wellenius G.A., Saldiva P.H.N., Batalha J.R.F., Murthy G.G.K., Coull B.A., Verrier R.L., Godleski J.J., (2002), “Electrocardiographic changes during exposure to residual oil fly ash (ROFA) particles in a rat model of myocardial infarction”, *Toxicol. Sci.*, 66: 327-335.

Ringraziamenti

Dopo questi tre anni di Università sono finalmente giunta a un primo traguardo. Volevo ringraziare innanzitutto Matteo per essermi stato vicino in questi anni, per aver creduto in me, per avermi incoraggiato a non mollare nei momenti difficili e anche per avermi sopportato (tanto...).

Volevo inoltre ringraziare i miei genitori che con molti sacrifici mi hanno dato la possibilità di studiare e di raggiungere questa meta.

Un'altra persona importante per me, e che non posso non ringraziare, è mia nonna Rina che si è sempre presa cura di me e per un periodo mi ha fatto da "seconda mamma". Volevo anche ringraziare mia zia Antonietta con la quale ho un rapporto un po' speciale.

Un grazie anche ai miei nonni Ottavia e Leontino e a tutti i numerosi zii materni che mi sono stati vicini in tutti questi anni.

Un ringraziamento speciale va a mio cugino Sebastiano che in tutti questi anni è stato per me come un fratello, una presenza costante su cui fare riferimento.

Ringrazio anche Donatella e Lorenzo per la pazienza che hanno portato nel vedermi in giro per casa in questi ultimi anni, e la piccola Rachele che mi rallegra le giornate e alla quale voglio bene come se fosse una sorellina.

Passando agli amici, il mio primo grazie va alla mia amica storica Rachele, con la quale ho passato momenti stupendi e, anche se adesso non ci vediamo più molto spesso per problemi di lavoro e scuola, so che posso sempre contare su di lei per qualsiasi problema; grazie anche per contagiarmi sempre con la tua allegria.

Un grazie va anche ai miei amici Alessandra, Andrea, Federico, Jessica, Michela, Silvia e Simone con i quali passo momenti divertentissimi, e sui quali so che posso contare per qualsiasi cosa.

Ringrazio anche tutte le altre persone che mi sono state vicine in questi anni e che non ho citato, ma che porto nel cuore.

Un ringraziamento speciale va soprattutto al professor Bellini che mi ha aiutato con molta pazienza e disponibilità a portare a termine questa tesi.