

Maciej K. BEŁCIK, Katarzyna PIEKARSKA*

MECHANIZMY ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ ORGANIZMU NA PYŁ ZAWIESZONY PM₁₀ I PM_{2,5}

Zanieczyszczenie pyłem zawieszonym w powietrzu staje się coraz większym problemem w Polsce przyczyniając się między innymi do występowania epizodów sytuacji smogowych w miastach. Wdychanie przez człowieka takiego powietrza prowadzi do dostawania się cząstek pyłu przez układ oddechowy do organizmu w tym bezpośrednio do płuc. Organizm wykształcił mechanizmy obronne, które uniemożliwiają dostanie się obcych ciał stałych bezpośrednio do organizmu, mimo tego najdrobniejsze cząstki pyłu mogą dostawać się bezpośrednio do pęcherzyków płucnych. W pęcherzykach pył zawieszony podlega procesowi fagocytozy i powoduje aktywację receptorów Toll-podobnych (TLR). W pracy opisano i dokonano charakterystyki mechanizmów zwiększania efektywności fagocytozy cząstek pyłu oraz receptorów przekazujących sygnały aktywujące komórki.

1. WSTĘP

Od kilkunastu lat obserwuje się pogarszanie warunków środowiskowych na ziemi. Jednym z najbardziej widocznych efektów zanieczyszczenia środowiska jest zła jakość powietrza atmosferycznego. W coraz większej ilości miast w Europie, również w Polsce, obserwuje się intensyfikację sytuacji smogowych. Smog jest mieszaniną związków chemicznych i pyłów zawieszonych w powietrzu. Pyły te emitowane są do atmosfery z dwóch głównych źródeł: transportu samochodowego oraz emisji spalin z zakładów przemysłowych i indywidualnych pieców grzewczych. Według danych krakowskiego Instytutu Ekonomii Środowiska opublikowanych na stronach Gazety Wyborczej niemal 60% gospodarstw jednorodzinnych wyposażonych jest w niespełniające norm przestarzałe kotły węglowe [1, 2].

* Politechnika Wroclawska, Wydział Inżynierii Środowiska, Zakład Biologii Sanitarnej i Ekotechniki, Wyb. Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław, maciej.belcik@pwr.edu.pl.

Klasyfikacja pyłu zawieszonego w powietrzu pozwala na wyróżnienie frakcji zależnych od wielkości cząstek: PM_{10} , o wielkości cząstek mniejszej od 10 μm ; $PM_{2,5}$, o wielkości cząstek mniejszej od 2,5 μm oraz frakcja $PM_{0,1}$, o wielkości cząstek mniejszej od 0,1 μm . Normy stężenia pyłu zawieszonego w powietrzu określa w Polsce dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady Europy 2008/50/WE z dnia 21 maja 2008 roku w sprawie jakości powietrza i czystszej powietrza dla Europy [3, 4].

W wielu prowadzonych do tej pory badaniach przesiewowych, między innymi na bakteriach (test Ames), wykazano wysoką mutagenność pyłu zawieszonego w powietrzu, głównie ze względu na zawartość w nim wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych - w tym jedno- i dwupierścieniowych węglowodorów aromatycznych, węglowodorów alifatycznych, cykloalkanów oraz związków organicznych zawierających w swojej strukturze metale, siarkę, chlor i tlen [1, 5].

Jako jeden z głównych czynników wpływających na zachorowalność w badaniach *in vitro* jak i *in vivo* wykazano powstawanie stresu oksydacyjnego. Wśród cząstek pyłu zawieszonego największe znaczenie mają te najmniejsze poprzez swój niewielki rozmiar, a stosunkowo dużą powierzchnię, możliwość wnikania do głębokich partii płuc oraz wysoką zawartość związków organicznych, w tym wymienione wcześniej wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych [1, 7]. Wdychanie pyłu zawieszonego wywołuje zatem szkodliwe skutki zarówno w płucach, jak i całym organizmie, głównie układzie sercowo-naczyniowym. Wśród chorób wywołanych zanieczyszczeniem powietrza cząstkami stałymi najczęściej wymienia się: astmę, miażdżycę, przewlekłą obturacyjną chorobę płuc, choroby niedokrwienne serca i zaburzenia jego rytmu [6, 7].

Wspomniane wcześniej normy jakości powietrza [3] określają jedynie dopuszczalne stężenia pyłu znajdującego się w powietrzu. Nie prowadzi się zatem szczegółowych badań substancji zaadsorbowanych na powierzchni pyłu, ani ich wpływu na organizm ludzki. Niniejsza praca skupia się na odpowiedzi immunologicznej organizmu wystawionego na ekspozycję pyłów zawieszonych $PM_{2,5}$ oraz PM_{10} .

2. MECHANIZMY ODPORNOŚCI W UKŁADZIE ODDECHOWYM

Główną drogą wnikania cząstek pyłu zawieszonego w powietrzu do organizmu człowieka jest układ oddechowy. Cząstki o odpowiednio dużej powierzchni zatrzymywane są w nosogardzieli, a drobniejsze w tchawicy. Najdrobniejszy pył zawieszony może penetrować aż do pęcherzyków płucnych i tam się osadzać. System obrony immunologicznej na każdym z etapów stara się eliminować obce substancje mogące dostawać się do organizmu, wykazując przy tym zróżnicowanie w działaniu, w zależności od miejsca w obrębie układu oddechowego [6, 8].

Składniki tkanki limfatycznej w układzie oddechowym występują w postaci dwóch skupisk: w jamie nosowo-gardłowej oraz oskrzelach. Ich główną rolą jest generowanie

miejscowej odpowiedzi immunologicznej prowadzącej do wytworzenia przeciwciał IgA, istotnych w górnych drogach oddechowych oraz w mniejszym stopniu, pochodzących z krążenia IgG, które dominują w pęcherzykach płucnych. Obrona nabłonka górnych dróg oddechowych polega w górnej warstwie na mechanicznym usuwaniu mikroorganizmów i zanieczyszczeń poprzez zlepianie ich i kierowanie z powrotem w kierunku gardła przy pomocy nieustannego ruchu rzęsek. W dalszym etapie obronę stanowią głównie białka wydzielane przez gruczoły podśluzowe, komórki nabłonka i komórki żerne, a są to między innymi lizozym, laktoferyna oraz fosfolipaza A_2 . W samych pęcherzykach płucnych, gdzie docierają cząstki o średnicy nie większej niż $5 \mu\text{m}$, rolę obronną odgrywają bardzo liczne makrofagi pęcherzyków płucnych – makrofagi pęcherzykowe [6, 8-9].

3. MAKROFAGI PĘCHERZYKOWE

Makrofagi pęcherzykowe są pierwszą linią obrony przed ciałami obcymi dostającymi się do pęcherzyków płucnych (w tym zanieczyszczeń pyłowych) i są bardziej wydajne od komórek nabłonkowych oskrzeli poprzez zróżnicowanie w ilości i rodzaju produkowanych przez te struktury cytokin. Makrofagi pęcherzykowe powodują wyższą produkcję cytokinin IL-8, IL-6, TNF- α , IL-1 oraz GM-CSF niż komórki nabłonkowe oskrzeli. Jedynie stężenie cytokininy LIF wykazuje większe stężenie w przypadku produkcji przez komórki nabłonkowe oskrzeli (tabela 1) [6, 9].

Tabela 1. Stężenie cytokinin produkowanych przez makrofagi pęcherzykowe i komórki nabłonkowe oskrzeli [9]

Cytokina	Stężenie [pg/ml]	
	Makrofagi pęcherzykowe	Komórki nabłonkowe oskrzeli
IL-8	100	90
IL-6	70	5
TNF- α	95	3
IL-1 β	57	18
GM-CSF	79	24
LIF	3	62

Zjawisko fagocytozy ziaren pyłu zawieszzonego przez makrofagi pęcherzykowe tłumaczyć można wieloma czynnikami powodującymi wywołanie stresu oksydacyjnego. Jednym z nich jest powstawanie reaktywnych form tlenu poprzez przemiany metali takich jak żelazo, wanad, nikiel i cynk i inne będących składnikami pyłów zawieszonych (głównie we frakcji $PM_{2,5}$). Innym czynnikiem wytwarzającym reaktywne formy tlenu mogą być zaadsorbowane na powierzchni pyłu wielopierścieniowe związki organiczne. Czynnikiem wpływającym na zwiększenie aktywności fagocytozy są także lipopolisacharydy. Dokładny mechanizm, który wpływa na zwiększenie tej aktywności nie jest do końca poz-

nany, ale uważa się, że lipopolisacharydy są w stanie wywołać stres oksydacyjny poprzez dinukleotydy nikotynoamidoadeninowy i aktywację receptora TLR4 [6, 8].

Receptory TLR (Toll-like receptors) należą do receptorów specyficznych dla antygeny i są one pierwszym etapem odpowiedzi immunologicznej. Receptory te nie uczestniczą w fagocytozie, za to ich głównym zadaniem jest aktywacja komórek. Receptory TLR odgrywają ważną rolę w utrzymaniu i regulacji adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej na pył zawieszony. Pośród trzynastu zidentyfikowanych receptorów dwa – TLR2 i TLR4 są uważane za głównie związane z zanieczyszczeniami pyłowymi [6, 9].

Receptor TLR2 powoduje zainicjowanie odpowiedzi na peptydoglikan występujący u bakterii gram dodatnich, podczas gdy receptor TLR4 inicjuje kaskadę w odpowiedzi na lipopolisacharyd obecny w błonie zewnętrznej bakterii gram ujemnych. Mechanizm oddziaływania tych dwóch receptorów na zanieczyszczenia pyłowe polega na tym, iż pył zawieszony w powietrzu zawiera niewielkie ilości materiałów pochodzących od drobnoustrojów: bakterii, zarodników grzybów i pyłków. W pracy Alexis i inni [11] wykazano, że ekspresja receptorów TLR została zmniejszona w próbce pyłu zawieszonego poddanej obróbce cieplnej mającej na celu dezaktywację materiału biologicznego w stosunku do próbki wyjściowej [6, 8, 10].

Makrofagi pęcherzykowe potrafią wytworzyć 10-krotnie więcej TLR4 niż komórki nabłonka oskrzeli [12], a pył zawieszony frakcji PM10, zawiera w swoim składzie znacznie więcej endotoksyn niż frakcja PM2,5. Uważa się, że frakcja PM10 jest dużo bardziej zależna od receptora TLR4 i wytwarza cytokiny prozapalne poprzez stymulację makrofagów pęcherzykowych, podczas gdy frakcja PM2,5 jest zależna od receptorów TLR2 i w większym stopniu powoduje aktywację komórek nabłonka oskrzeli do produkcji cytokin (tabela 2) [6, 8, 11].

Tabela 2. Ogólna charakterystyka wrodzonych czynników immunologicznych [6, 11]

	Makrofagi pęcherzykowe	Komórki nabłonkowe oskrzeli
Główny szlak receptorów TLR	TLR4	TLR2
Frakcja pyłu zawieszonego	PM10	PM2,5
Główny czynnik stymulujący	Endotoksyny	Reaktywne formy tlenu

4. PODSUMOWANIE

Mimo wprowadzania do ustawodawstwa rygorystycznych norm czystości powietrza, zarówno w stosunku do gazów, jak i pyłów nadal sporym problemem są cząstki stałe emitowane do powietrza, głównie na skutek procesów spalania węgla i paliw płynnych. Wiele miast w Polsce boryka się ze zjawiskiem smogu wywołanego między innymi wysokimi stężeniami pyłu w powietrzu atmosferycznym.

Drobne frakcje pyłu zawieszonego dostają się do organizmu ludzkiego w wyniku oddychania, podczas którego przeciętny człowiek pobiera od 12 do 15 m³ powietrza na dobę.

Organizm ludzki przystosowany jest do obrony przed ciałami obcymi, poprzez wykształcenie odpowiednich struktur pozwalających zatrzymać pył zawieszony dostający się do organizmu poprzez układ oddechowy. W pęcherzykach płucnych, gdzie dostawać mogą się jedynie najdrobniejsze frakcje pyłu, mimo braku wykształcenia specyficznych struktur mających na celu zabezpieczenie się przed pyłem zawieszonym organizm ludzki stara się przeciwdziałać zagrożeniu. W tym celu wykorzystywane są zarówno makrofagi, prowadzące fagocytozę ziaren pyłu zawieszzonego, jak i receptory TLR, które reagują dzięki temu, iż na powierzchni pyłu zaadsorbowane są nie tylko zanieczyszczenia chemiczne, ale także między innymi związki pochodzenia bakteryjnego.

Szczegółowe mechanizmy działania zarówno makrofagów jak i receptorów TLR w odpowiedzi na pojawienie się zanieczyszczeń pyłowych nie są do końca poznane i stają się obiektem zainteresowania naukowców i badaczy na całym świecie. W ramach tego obszaru także Zakład Biologii Sanitarnej i Ekotechniki planuje rozpocząć badania wpływu pyłu zawieszzonego na ludzki układ immunologiczny.

Praca opracowana w ramach dotacji celowej na prowadzenie badań naukowych lub prac rozwojowych oraz zadań z nimi związanych służących rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich.

LITERATURA

- [1] BELCIK M., PIEKARSKA K., *Badania genotoksyczności próbek środowiskowych na przykładzie testów wykorzystujących szczep Salmonella typhimurium*, Interdyscyplinarne zagadnienia w inżynierii i ochronie środowiska: praca zbiorowa. T. 4 / pod red. Teodory M. Traczeńskiej i Bartosza Kaźmierczaka, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 2014. 37–44.
- [2] http://wyborcza.biz/biznes/1,143682,17418853,Oddychac_po_ludzku__wyrzucmy_kopciuchy.html [dostęp: 21.02.2015].
- [3] Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2008/50/WE z dnia 21 maja 2008 roku w sprawie jakości powietrza i czystsze powietrze dla Europy.
- [4] PARK E-J., ROH J. I in., *PM_{2,5} collected in a residential area included Th1-type inflammatory responses with oxidative stress in mice*, Environ. Res., 2011, Vol. 111 (3), 348–355.
- [5] PIEKARSKA K., *Modyfikacje testu Salmonella do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego*, Prace Naukowe Instytutu Inżynierii Ochrony Środowiska Politechniki wrocławskiej, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 2008.
- [6] RYOHEI M., VAN EEDEN S.F., *The innate and adaptive immune response induced by alveolar macrophages exposed to ambient particulate matter*, Toxicology and Applied Pharmacology 2011 Vol. 257, 209–226.
- [7] NING L., TIAN X. i in., *The role of oxidative stress in ambient particulate matter-induced lung diseases and its implications in the toxicity of engineered nanoparticles*, Free Radical Biology & Medicine, 2008, Vol. 44, 1689–1699.
- [8] GŁĄB J., JAKÓBISIAK M. i in., *Immunologia*, Wyd. Naukowe PWN, Warszawa 2009.
- [9] VAN EEDEN S.F., HOGG J.C., *Systemic inflammatory response induced by particulate matter air pollution: the importance of bone-marrow stimulation*, Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues, 2002, Vol. 65:20, 1597–1613.

- [10] ALEXIS N.E., LAY J.C. i in., *Biological material on inhaled coarse fraction particulate matter activates airway phagocytes in vivo in healthy volunteers*, J. Allergy Clin. Immunol. 2006, Vol. 117, 1396–1403.
- [11] BECKER S., MUNDANDHARA S. i in., *Regulation of cytokine production in human alveolar macrophages and airway epithelial cells in response to ambient air pollution particles: further mechanistic studies*, Toxicol. Appl. Pharmacol., 2005, Vol. 207, 269–275.

IMMUNE RESPONSE MECHANISMS RELATED WITH PM₁₀ AND PM_{2.5}

Particulate matter in the air is becoming an increasing problem in Poland contributing, inter alia, the situation of episodes of smog in cities. Human organism developed defense mechanisms to prevent foreign objects getting into body, but fine dust particles can penetrate directly into alveoli. There particulate matter is subjected to phagocytosis process and activate toll-like receptors. This article describes the mechanism of improvement the efficiency of phagocytosis and receptor activation caused by particulate matter.