

Nanotubi di carbonio: una nuova rivoluzione industriale con implicazioni per la salute respiratoria?

Carbon nanotubes: a new industrial revolution with implications on respiratory health?

Riassunto

In anni recenti scienza e tecnologia hanno rivolto l'attenzione a materiali aventi dimensioni sempre più piccole, aprendo la strada alla ricerca sui nanomateriali ed allo sviluppo delle nanotecnologie. In questo lavoro si accenna dapprima alla nomenclatura relativa ai nanomateriali per fornire poi un quadro delle varie tipologie di nanoggetti e delle motivazioni che giustificano la rilevante attività di ricerca nel campo. Si passa poi ad analizzare le nanoparticelle a base di carbonio, con particolare attenzione ai nanotubi di carbonio (*Carbon NanoTube*, CNT) ed alle nanofibre di carbonio (*Carbon NanoFiber*, CNF) che rispondono strutturalmente ai requisiti di "fibra" secondo la definizione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS): lunghezza > 5 µm, larghezza < 3 µm, e rapporto lunghezza/larghezza > 3. Una fibra può avere rilevanza in termini patogenetici quando la sua struttura consente di essere inalata e trasportata all'interno del sistema respiratorio. Le fibre sufficientemente lunghe e biopersistenti si depositano nei polmoni e possono causare stress ossidativo ed infiammazione. Studi sperimentali, sia *in vivo* che *in vitro*, hanno documentato la potenziale tossicità delle fibre CNT e CNF a livello polmonare, con lesioni che vanno da alterazioni genetiche alla comparsa di reazioni allergiche, *remodelling* bronchiale, formazione di noduli fibroblastici, carcinogenicità. È pertanto imperativa una gestione dei rischi approfondita che copra tutti gli aspetti di salute, sicurezza e ambiente (*Health Security Environment*, HSE), a partire dall'esposizione negli impianti di nanofabbricazione sino ai consumatori.

Summary

Recently science and technology have focused on materials having smaller and smaller size, paving the way to the research on nanomaterials and to the development of nanotechnology. In this paper we initially outline the terminology concerning nanomaterials. Then we briefly describe the various types of nanobjects and the reasons behind the booming of research in the field. We subsequently analyze carbon nanoparticles with special focus on Carbon NanoTubes (CNT) and Carbon NanoFibers (CNF) as they fit the definition of "fiber" issued by the World Health Organization (WHO): length > 5 µm, width < 3 µm, length to width ratio > 3. A fiber might be relevant in pathogenetic terms when its structure allows inhalation and is vehiculated inside human respiratory system. Fibers that are sufficiently long and biopersistent will reach lungs and can lead to local oxidative stress and inflammation. *In vivo* and *in vitro* studies have highlighted the potential toxicity of CNT and CNF fibers at a pulmonary level, as they cause damages ranging from genetic modifications to allergic reactions, bronchial remodelling, formation of fibroblastic nodules, carcinogenicity. It is hence compulsory to develop a thorough risk assessment approach dealing with all Health Safety and Environmental (HSE) aspects from all people that might be affected, from workers in production plants to consumers.

Introduzione

Negli ultimi decenni la scienza e la tecnologia hanno sviluppato materiali solidi aventi taglie sempre minori. Dalla scala macrometrica (solidi aventi dimensioni superiori ad 1 mm) si è dapprima passati a quella micrometrica (particelle di solido aventi dimensioni superiori al micrometro ed inferiori al millimetro) per giungere infine a quella nanometrica (particelle di solido aventi dimensioni molto inferiori al micro-

metro, vedi oltre per la definizione rigorosa). Obiettivo di tale processo di miniaturizzazione è quello di sfruttare in modo ottimale le potenzialità dei materiali¹. Ad esempio, utilizzando nanoparticelle invece di particelle macroscopiche è possibile (a parità di massa) aumentare l'intensità di tutti i fenomeni legati all'interazione della superficie della particella con il mondo esterno, quali ad esempio l'adsorbimento di metalli pesanti presenti nelle acque per uso civile, l'efficienza e la rapidità dei processi di cata-



Antonella Serafini¹ (foto)
Paola Martucci²
Alberto Tagliaferro³

¹ S.C. Pneumologia, Centro per il Trattamento del Tabagismo, Ospedale Civile, Imperia; ² U.O.S.C. Pneumologia Interventistica, Centro per il Trattamento del Tabagismo, A.O.R.N. "A. Cardarelli", Napoli. Responsabile Gruppo di Studio "Educazionale, Prevenzione ed Epidemiologia" - AIPO; ³ Carbon Group, Dipartimento di Scienza Applicata e Tecnologia - Politecnico di Torino

Parole chiave

Nanotubi di carbonio • Fibra • Tossicità polmonare

Key words

Carbon nanotubes • Fiber • Lung toxicity

Ricevuto il 20-12-2016.

Accettato il 30-1-2017.



Antonella Serafini
S.C. Pneumologia, Centro per il Trattamento del Tabagismo
Ospedale Civile
viale Sant'Agata, 57
18100 Imperia
serafini.antonella@vodafone.it

lisi ed anche le interazioni con fluidi biologici. Se focalizziamo l'attenzione su questa amplificazione dell'intensità dei fenomeni ci rendiamo conto di come vi sia un importante riflesso anche sul versante biocompatibilità². Poiché l'interazione di particelle inalate o ingerite è essenzialmente un fenomeno di interazione superficiale non possiamo assumere che un solido biocompatibile in forma macroscopica lo sia anche in forma di nanoparticella, ma occorrerà procedere con appropriati test *in vitro* ed *in vivo*³. Occorre peraltro rilevare come questa consapevolezza non sia nata contestualmente alla scoperta delle nanoparticelle ingegnerizzate⁴, ma sia stata recepita in anni più recenti da ISO, che ha emanato una normativa *ad hoc* sull'argomento⁵. Se inizialmente l'interesse per le nanoparticelle era principalmente legato allo sviluppo dei processi di produzione ed all'approfondimento delle loro proprietà chimico-fisiche, esse hanno rapidamente assunto una grande rilevanza anche a livello tecnologico ed applicativo, essendosi dimostrate in grado di migliorare la qualità di molti prodotti industriali: cosmetici, creme solari⁶, trattamenti antibatterici, rivestimenti autopulenti per superfici⁷. Ciò ha reso necessaria l'emanazione di una normativa a livello internazionale da parte di ISO⁸. In base a tale normativa si definisce nanoggetto una particella che abbia almeno una delle sue 3 dimensioni inferiore a 100 nanometri (nm) (Figura 1). Se il nanoggetto ha tutte le dimensioni inferiori a 100 nm viene definito nanoparticella (Figura 2). Tale termine dunque non indica una specifica tipologia di materiale od una sostanza in particolare, bensì una particella di un qualsiasi solido avente dimensioni nanometriche. Ne consegue che esisteranno nanoggetti molto diversi fra loro per forma, dimensione, composizione e proprietà⁹. Ad esempio le nanoparticelle di argento (metalliche) hanno spiccate proprietà antibatteriche¹⁰, mentre quelle di ossido di titanio (isolanti) hanno proprietà fotocatalitiche (in presenza di radiazione ultravioletta sono in grado di catalizzare la dissociazione di molecole)¹¹.

Fra gli elementi con i quali si producono nanoparticelle e nanoggetti assume un ruolo preminente il carbonio, per la diffusione a livello industriale e per le prospettive di applicazione.

Fra gli elementi con i quali si producono nanoparticelle e nanoggetti di particolare interesse scientifico ed industriale assume un ruolo preminente il carbonio, sia per la diffusione a livello industriale delle sue particelle sia per le prospettive di applicazione che si aprono per suoi specifici nanoggetti quali i nanotubi ed il grafene¹². In relazione alla diffusione ricordiamo che gli pneumatici sono prodotti con una miscela di elastomero e *carbon black* (nerofumo, materiale composto da nanoparticelle carboniose agglomerate). Per quanto riguarda i nanoggetti, il grafene, foglio di spessore atomico a struttura di nido d'ape (Figura 3)¹³ è un nanoggetto di estremo interesse al punto che l'Unione Euro-

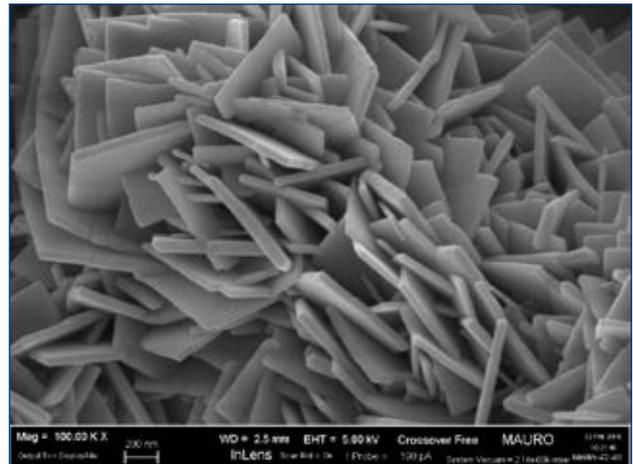


Figura 1. Nanoggetti di ossido di bismuto (aventi proprietà fotocatalitiche).

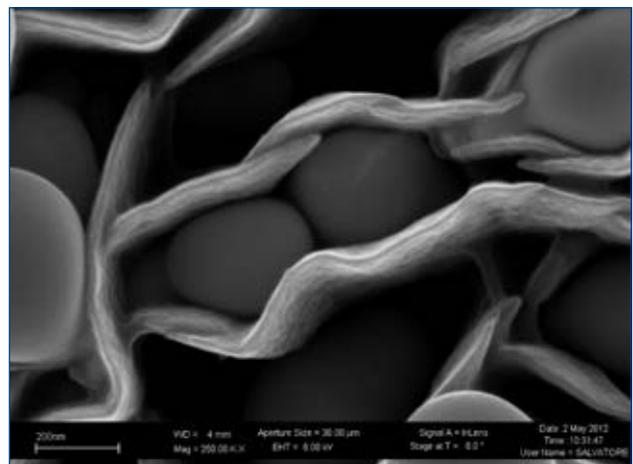


Figura 2. Nanoparticelle di bismuto incastonate fra pareti di spessore nanometrico di grafite.

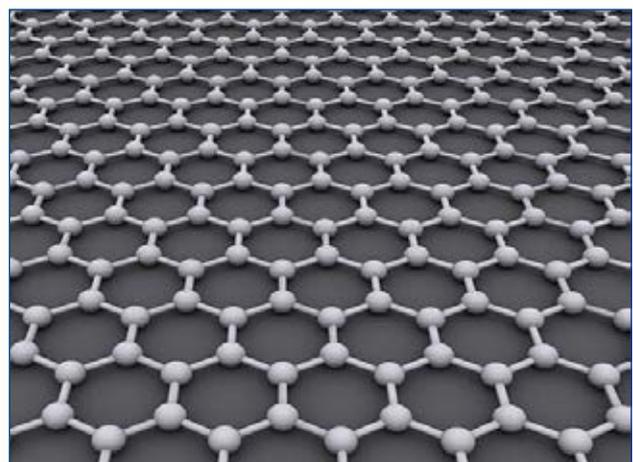


Figura 3. Struttura del grafene (www.carbonallotropes.com).

pea ha finanziato il 'Progetto Grafene' che coinvolge più di 200 gruppi di ricerca accademici ed industriali in tutta l'Unione Europea volto ad esplorare le proprietà e le possibili applicazioni del grafene¹⁴. Allo stato attuale, peraltro, non esistono prodotti commercializzati o prossimi alla commercializzazione contenenti grafene

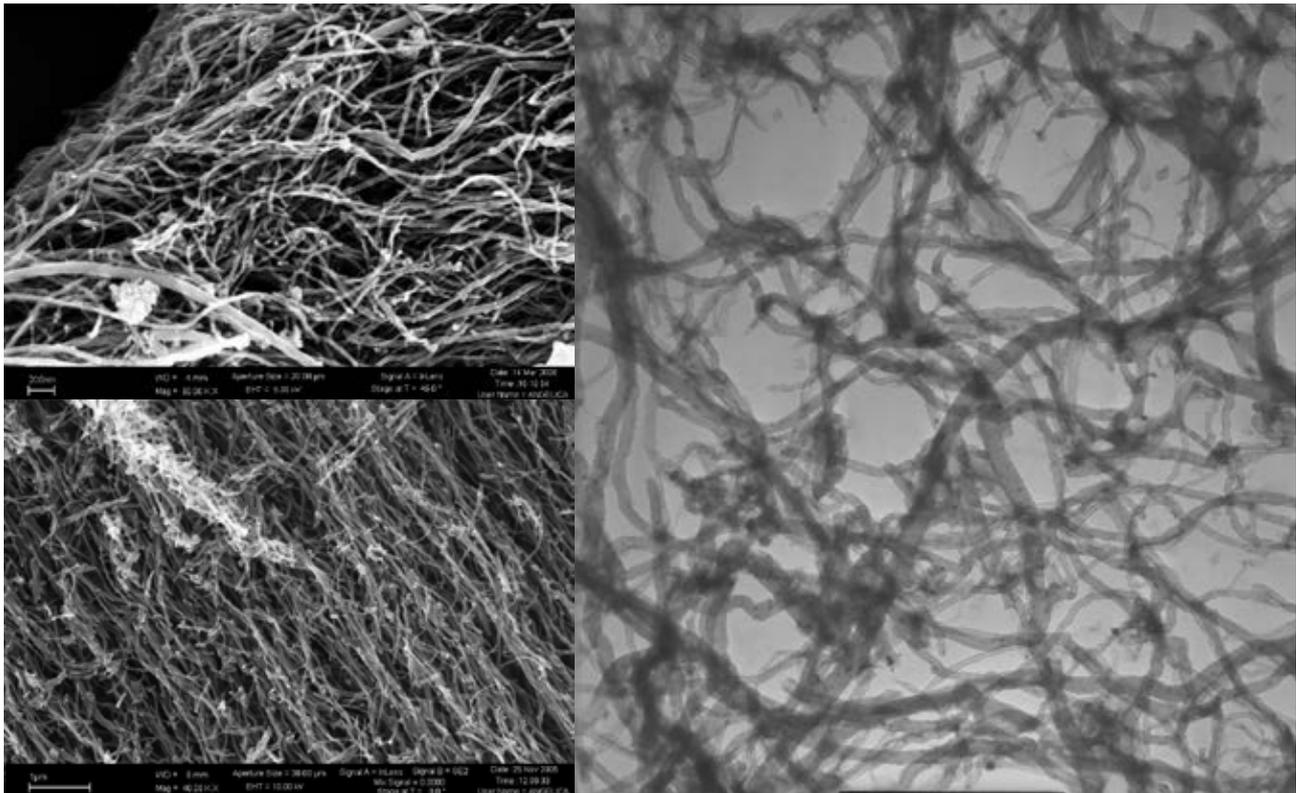


Figura 4. Nanotubi di carbonio a parete multipla.

per cui le implicazioni per la salute sono limitate agli operatori dedicati alla sua produzione e manipolazione in centri di ricerca. I nanotubi di carbonio (*Carbon NanoTube* o CNT, piani di grafene arrotolati a forma di cilindro) sono invece utilizzati a livello industriale¹⁵ per cui ha particolare interesse soffermarsi sia sulla loro struttura che sulla loro tossicità. Per molte applicazioni, al fine di migliorare le caratteristiche dei nanotubi, si procede ad una alterazione chimica della loro superficie tramite un processo di funzionalizzazione¹⁵ che consiste nel decorare la superficie dei nanotubi con gruppi chimici (es. ossidrilici, carbossilici) che ne favoriscano l'interazione con l'esterno.

Nanotubi di carbonio e nanofibre di carbonio

Il carbonio è l'elemento che forma il maggior numero di allotropi, sia su scala macroscopica (es. diamante, grafite, lonsdaleite) che a livello di nanoggetti (es. fullerene, grafene, nanotubi, nanofibre); ciascun allotropo è dotato di proprietà e caratteristiche specifiche (es. durezza e trasparenza il diamante, bassa resistenza elettrica ed elevato assorbimento di luce la grafite)¹⁶. Per quanto attiene agli allotropi nanostrutturati, focalizziamo l'attenzione sui CNT e nanofibre di carbonio (*Carbon NanoFiber*, CNF). Esteriormente CNT e CNF possono apparire simili, avendo entrambi forma cilindrica molto allungata (il rapporto fra lunghezza e diametro può essere superiore al migliaio). Infatti, a fronte

di diametri dell'ordine di qualche decina di nanometri, si possono raggiungere lunghezze anche superiori al centimetro¹⁷. Peraltro i processi di produzione e la struttura interna di CNT e CNF differiscono marcatamente. Mentre le CNF sono prodotte come fibre di carbonio di diametro micrometrico (filatura di specifici polimeri, seguita da trattamento termico in atmosfera inerte a temperatura superiore a 800 °C)¹⁸, i CNT sono prodotti a partire da precursori gassosi (metano, etilene, ecc.) in presenza di un catalizzatore, a temperatura inferiore (si può scendere fino a 150-200 °C)¹⁹. Dal punto di vista strutturale i CNT esistono in due forme: i SWCNT (*Single Wall CNT* o a parete singola, in cui è presente un solo cilindro di diametro variabile da 0,5 a 1,5 nm) ed i MWCNT (*Multi Wall CNT* o a parete multipla, in cui sono presenti cilindri concentrici, in numero variabile da 2 a qualche decina, con diametri che possono arrivare fino a 70-80 nm) (Figura 4)²⁰. Mentre i SWCNT tendono ad agglomerarsi formando matasse di dimensioni micrometriche, i MWCNT possono anche rimanere isolati. In tal caso, almeno i MWCNT di lunghezza micrometrica finiscono per ricadere nella definizione di fibre data dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS)²¹. In tale definizione ricadono anche le CNF, che non hanno generalmente tendenza ad agglomerarsi, ma hanno dimensioni esterne simili ai MWCNT. Sarebbe però fuorviante ritenere che la struttura interna dei due allotropi sia simile. Per chiarirne la diversità ricordiamo che la grafite è composta da piani di grafene impilati. I MWCNT sono formati da fogli di grafene arrotolati e concentrici, mentre le CNF sono

costituite da lamelle di grafene impilate più o meno ordinatamente e sagomate a forma di cilindro. Ciò porta i due allotropi a possedere diverse proprietà chimiche e di assorbimento di molecole. In conseguenza di tali diversità strutturali, se si prende in esame la biocompatibilità di CNT e CNF non è possibile estrapolare i risultati ottenuti per una tipologia all'altra, ma vi è necessità di test dedicati.

Fibra e patogenicità

L'analisi mineralogica condotta in alcuni pazienti esposti all'inalazione di detriti del *World Trade Center* (WTC) ed affetti da interstiziopatia polmonare o interessamento delle piccole vie ha evidenziato anche la presenza di CNT (in concentrazioni che vanno da 11.000 a 230.000 nanotubi/g di peso umido in quattro dei sette campioni di polvere raccolti dal sito del WTC), oltre ad altri minerali, suggerendo che l'esposizione possa aver contribuito allo sviluppo della malattia polmonare.

L'analisi mineralogica in pazienti esposti ai detriti del *World Trade Center* ed affetti da interstiziopatia ha evidenziato la presenza di CNT, suggerendone un possibile contributo allo sviluppo della malattia polmonare.

Inoltre tracce di CNT sono state identificate in campioni di controllo dalla *tri-state area* (New York, New Jersey, Connecticut) a concentrazioni minime (dati non pubblicati)²². Queste potrebbero provenire dai motori a combustione delle automobili²³. Il paradigma "fibra e patogenicità" è stato sviluppato negli anni 1970-80 e si basa sulla relazione tra struttura della fibra e sua tossicità; la struttura consente la previsione della patogenicità delle fibre in relazione a lunghezza, spessore e biopersistenza²⁴.

Una fibra può avere rilevanza per la salute quando la sua struttura le consente di essere inalata e trasportata all'interno del sistema respiratorio.

Una fibra può avere rilevanza per la salute quando la sua struttura le consente di essere inalata e trasportata all'interno del sistema respiratorio. Al fine di valutarne la rilevanza per l'esposizione, l'OMS ha formulato la seguente definizione di "fibra": una fibra è $> 5 \mu\text{m}$ di lunghezza, $< 3 \mu\text{m}$ di larghezza e con un rapporto lunghezza/larghezza > 3 ²¹. Le fibre sufficientemente lunghe e biopersistenti si depositano nei polmoni e possono causare stress ossidativo ed infiammazione²⁴. I CNT sono classificati come nanomateriali, ma in base ad alcuni parametri morfologici i CNT e i CNF si comportano come fibre, con elevata penetrazione e reattività, nonché patogenicità, simili alle fibre di amianto ed altre fibre²⁵.

Meccanismi patogenetici

In modelli animali i CNT inducono alterazioni patologiche sia a livello delle alte che delle basse vie respiratorie²⁶. I primi studi *in vivo* relativi alla tossicità sono stati condotti sugli SWCNT, ma l'attenzione dei ricercatori si è rivolta in pochi anni anche agli MWCNT perché commercialmente di maggior impatto²⁵. Gli studi sono stati condotti sui meccanismi molecolari e cellulari indotti dagli SWCNT grezzi sulle cellule epiteliali bronchiali umane (BEAS-2B); l'asbesto (crocidolite) era utilizzato come controllo positivo.

Si è visto che la bioattività degli SWCNT grezzi è associata a stress ossidativo e danno a carico del DNA cellulare, dimostrando pertanto che gli SWCNT grezzi attivano meccanismi molecolari che portano ai vari meccanismi patogenetici implicati nella malattia polmonare²⁷. Altri studi hanno evidenziato risposte citotossiche e danni al DNA nelle BEAS-2B da parte degli MWCNT purificati così come da parte delle CNF, molto simili nella struttura, si registrano risposte biologiche analoghe agli MWCNT²⁶.

Nel contesto delle dimensioni nano (1-100 nm) i nanomateriali ingegnerizzati (*Engineered Nano Materials*, ENM) possono essere sintetizzati in diverse forme, con diverse funzionalizzazioni di superficie che possono influenzare la tossicità da loro indotta²⁸. Molti CNT possono trattenere impurità o residui dei processi di fabbricazione²⁹. In analogia con le fibre di asbesto, la tossicità dei CNT è stata attribuita alla biopersistenza tissutale, nonché alla loro lunghezza e rigidità, anche se è stato evidenziato più recentemente che MWCNT differenti per spessore e lunghezza inducono una analoga risposta infiammatoria a livello di polmone²⁹. Studi di tossicogenomica hanno valutato le risposte tossiche a livello di genoma indotte dagli ENM in modo da definire specifiche proprietà cui attribuire il conseguente danno a livello di profilo d'espressione del genoma o trascrittoma (*gene-expression profiling*).

Tra le alterazioni indotte dai CNT è stato dimostrato che varietà differenti di CNT inducono quadri di fibrosi polmonare.

Tra le alterazioni indotte dai CNT è stato dimostrato che varietà differenti di CNT inducono quadri di fibrosi polmonare: sono stati analizzati al 1°, al 28° e al 92° giorno gli effetti indotti dall'instillazione intratracheale di quattro dosi (0, 6, 18, 54 mg/topo) di 10 tipi di MWCNT commerciali suddivisi in tre gruppi diversi per morfologia (sottili, spessi, corti) e funzionalizzazione superficiale (idrossilica, carbosilica, amminica, quelle di uso più comune nella tecnologia applicativa) in polmoni di ratti femmine C57BL/6J. Il danno infiammatorio a livello parenchimale è stato valutato in termini di conteggio cellulare e dosaggio proteine nel liquido di lavaggio broncoalveolare

(*Bronchoalveolar lavage*, BAL) negli intervalli di tempo definiti, insieme ad analisi istopatologica del tessuto parenchimale polmonare. Il BAL al 1°, 28° e al 92° giorno evidenziava una lieve infiammazione indotta già al 1° giorno, caratterizzata da aumento dei neutrofili e delle proteine (tempo e dose dipendente). Le sezioni istologiche dimostravano una preferenziale distribuzione degli MWCNT nelle aree centrolobulari, in parte liberi negli alveoli oppure come depositi più o meno scuri nei macrofagi alveolari o in granulomi da corpo estraneo. Venivano descritti aggregati linfocitari, principalmente perivascolari o peribronchiolari, con uno *score* leggermente più alto al 92° giorno dall'esposizione e quindi dose-dipendente; in particolare la progressione dello *score* linfocitario era osservata dal 28° giorno al 92° giorno per tutte le esposizioni a MWCNT, tranne che per 3 tipologie (MWCNT sottili non trattati e con funzionalizzazione carbossilica e MWCNT spessi con funzionalizzazione carbossilica) in cui si osservava una regressione dello *score*. Ulteriori alterazioni istopatologiche descritte erano rappresentate da ispessimento dei setti interalveolari e segni di alveolite focale²⁹. Non si evidenziavano nette differenze cito/istopatologiche indotte dai diversi gruppi di MWCNT, mentre si evidenziavano diversità in relazione alla dose di esposizione ed al tempo. L'identificazione di danni al DNA è stata valutata attraverso il test di mutagenesi "comet assay" o "test della cometa". Nella genesi dell'infiammazione e della genotossicità indotta da CNT riveste comunque un ruolo predittivo l'area specifica superficiale (superficie per unità di massa) il cui valore viene misurato tramite la tecnica BET (*Brunauer-Emmett-Teller*) ed è influenzato da lunghezza, diametro e trattamento superficiale dei nanotubi. Studi sui roditori hanno infine consolidato l'ipotesi che alcune tipologie di CNT siano potenti *trigger* per la fibrogenesi, con fibrosi conseguente a livello interstiziale, bronchiale e pleurica e caratterizzata da eccessiva deposizione di fibre collagene.

I CNT possono indurre fibrosi interstiziale attraverso un'acuta risposta infiammatoria con neutrofili, macrofagi e linfociti, oltre ad elevata produzione di citochine proinfiammatorie e profibrotiche, chemokine, fattori di crescita.

I CNT possono indurre fibrosi interstiziale attraverso un'acuta risposta infiammatoria con neutrofili, macrofagi e linfociti, oltre ad elevata produzione di citochine proinfiammatorie e profibrotiche, chemokine, fattori di crescita (TGF- α , IL-1 β , IL-6, MCP-1, TGF- β 1 e PDGF-A subunità A). La risposta infiammatoria raggiunge la massima espressione a 7 giorni dall'esposizione e induce una reazione fibrosante testimoniata dalla deposizione di fibre collagene nei setti interalveolari già al primo giorno dall'esposizione. Nella fase di fibrosi cronica si ha una reazione

infiammatoria di media entità, foci fibrotici e granulomi epitelioidi. Miofibroblasti e fibroblasti giocano un ruolo funzionale distinto nello sviluppo della fibrosi; in particolare nuova enfasi è stata posta sul ruolo dei miofibroblasti e sul coinvolgimento del TGF- β 1 nella fibrosi indotta dalla esposizione a CNT³⁰. Come l'inalazione di fibre più conosciute, quale l'asbesto, storicamente dannose per il polmone sia per la loro struttura che per la biopersistenza nei tessuti, porta ad una serie di lesioni istologiche che vanno dal granuloma, alla fibrosi dei setti interalveolari, all'iperplasia epiteliale, al carcinoma, così l'inalazione di CNT comporta analoghe lesioni a livello polmonare, ma la conoscenza della loro tossicità e relativi meccanismi è ancora da approfondire³¹.

L'inalazione di CNT comporta lesioni a livello polmonare analoghe a quelle osservate con le fibre più note, ma la conoscenza della loro tossicità e relativi meccanismi è ancora da approfondire.

Pur essendo necessari ulteriori studi, sono stati evidenziati i seguenti meccanismi patogenetici indotti dagli CNT²⁶:

- reazioni allergiche: l'inalazione *short-term* di due tipi di MWCNT (*rod-like rigid e flexible tangled*) ha evidenziato come soltanto il tipo rigido induca infiammazione a carico delle vie aeree di tipo allergico con infiltrazione eosinofila, ipersecrezione di muco e citochine Th2. In particolare i CNT e non le CNF promuovono l'infiltrazione eosinofila³²;
- *remodelling* bronchiale, attraverso citochine TNF-1, IL-1, MCP-1, IL-3 e reclutamento di cellule infiammatorie;
- alterazioni genetiche: i SWCNT comportano alterazioni della mitosi in culture cellulari³³;
- noduli fibroblastici: la formazione di noduli fibroblastici è stata evidenziata in colture di fibroblasti umani polmonari trattati con SWCNT o MWCNT, suggerendo la potenziale fibrogenicità degli CNT³⁴;
- carcinogenicità, anche verso mesotelioma³⁵.

Conclusioni

I CNT e le CNF sono sempre più utilizzati in molte applicazioni industriali, in particolare, come nanocompositi polimerici per fornire resistenza, rigidità, resistenza al calore e durata. L'esposizione a nanomateriali ingegnerizzati può verificarsi durante il processo di produzione oppure nel successivo utilizzo da parte dei consumatori³⁶.

Non vi sono studi epidemiologici disponibili, ma gli studi sperimentali sia *in vivo* che *in vitro* hanno evidenziato potenziali modelli di tossicità che richiedono una gestione dei rischi approfondita che copra tutti gli aspetti di HSE, a partire dall'esposizione ne-

gli impianti di nanofabbricazione, possibili potenziali luoghi di rischio per la salute, al fine di evitare effetti come quelli osservati a seguito di esposizione all'amianto.

Gli studi sperimentali sia *in vivo* che *in vitro* hanno evidenziato potenziali modelli di tossicità che richiedono una gestione dei rischi approfondita che copra tutti gli aspetti di HSE.

Bibliografia

- 1 Davis ME, Chen ZG, Shin DM. *Nanoparticle therapeutics: an emerging treatment modality for cancer*. Nat Rev Drug Discov 2008;7:771-82.
- 2 Naahidi S, Jafari M, Edalat F, et al. *Biocompatibility of engineered nanoparticles for drug delivery*. J Control Release 2013;166:182-94.
- 3 Li X, Wang L, Fan Y, et al. *Biocompatibility and toxicity of nanoparticles and nanotubes*. J Nanomater 2012:Article ID 548389:1-19. doi:10.1155/2012/548389
- 4 Kessler R. *Engineered nanoparticles in consumer products: understanding a new ingredient*. Environ Health Perspect 2011;119:A120-5.
- 5 ISO/TS 12901 - *Nanotechnologies - Occupational risk management applied to engineered nanomaterials*. http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=53375.
- 6 Smijs TG, Pavel S. *Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness*. Nanotechnol Sci Appl 2011;4:95-112.
- 7 Yaghoobia H, Taghaviniab N, Alamdaria EK. *Self cleaning TiO₂ coating on polycarbonate: surface treatment, photocatalytic and nanomechanical properties*. Surf Coat Tech 2010;204:1562-8.
- 8 ISO/TS 80004 - *Nanotechnologies - Vocabulary*.
- 9 Kirill Levine. *Smart Nanoobjects: from laboratory to industry (Nanotechnology Science and Technology)*. New York: Nova Science Publishers 2013.
- 10 Singh M, Shingh S, Prasad S, Gambhir S. *Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles*. Dig J Nanomater Biostruct 2008;3:115-22.
- 11 Sharon M, Modi F, Sharon M. *Titania based nanocomposites as a photocatalyst: a review*. AIMS Materials Science 2016;3:1236-54.
- 12 Choi W, Lahiri I, Seelaboyina R, Kang YS. *Synthesis of graphene and its applications: a review*. Crit Rev Solid State 2010;35:52-71.
- 13 Graphene flagship. *What is graphene?* Link: <http://graphene-flagship.eu/material/graphene/Pages/What-is-graphene.aspx>
- 14 Graphene flagship. Link: <http://graphene-flagship.eu/>
- 15 De Volder MLF, Tawfick SH, Baughman RH, Hart RJ. *Carbon Nanotubes: present and future commercial applications*. Science 2013;339:535-9.
- 16 NanoScienceWorks. *Carbon allotropes*. Link: <http://www.nanoscienceworks.org/nanopedia/carbon-allotropes/>
- 17 Zheng LX, O'Connell MJ, Doorn SK, et al. *Ultralong single-wall carbon nanotubes*. Nat Mater 2004;3:673-6.
- 18 Ramakrishna S, Fujihara K, Teo WE, et al. *An introduction to electrospinning and nanofibers*. Singapore: World Scientific 2005.
- 19 Dervishi E, Biris AR, Driver JA, et al. *Low-temperature (150 °C) carbon nanotube growth on a catalytically active iron oxide-graphene nano-structural system*. J Catalysis 2013;299:307-15.
- 20 Saifuddin N, Raziah AZ, Junizah AR. *Carbon nanotubes: a review on structure and their interaction with proteins*. J Chemistry 2013;article ID 676815:1-19.
- 21 World Health Organization (WHO). *Determination of airborne fiber number concentrations. A recommended method, by phase-contrast optical microscopy (membrane filter method)*. Link: http://www.who.int/occupational_health/publications/airfibre/en/.
- 22 Wu M, Gordon RE, Herbert R, et al. *A case report: lung disease in World Trade Center responders exposed to dust and smoke: carbon nanotubes found in the lungs of World Trade Center patients and dust samples*. Environ Health Persp 2010;118:499-504.
- 23 Lam C, James JT, McKluskey R, et al. 2006. *A review of carbon toxicity and assessment of potential occupational and environmental health risks*. Crit Rev Toxicol 2006;36:189-217.
- 24 Donaldson K, Poland CA, Murphy FA, et al. *Pulmonary toxicity of carbon nanotubes and asbestos - similarities and differences*. Adv Drug Deliv Rev 2013;65:2078-86.
- 24 Fatkhutdinova LM, Khaliullina TO, Shvedova AA. *Carbon nanotubes exposure risk assessment: from toxicology to epidemiologic studies (overview of the current problem)*. Nanotechnol Russ 2015;10:501-9.
- 26 Pacurari M, Lowe K, Tchounwou PB, Kafoury R. *A review on the respiratory system toxicity of carbon nanoparticles*. Int J Environ Res Public Health 2016;13:325.
- 27 Pacurari M, Schwegler-Berry D, Friend S, et al. *Raw single-walled carbon nanotube-induced cytotoxic effects in human bronchial epithelial cells: comparison to asbestos*. Toxicol Environ Chem 2011;93:1045-72.
- 28 Nikota J, Williams A, Yauka CL, et al. *Meta-analysis of transcriptomic responses as a means to identify pulmonary disease outcomes for engineered nanomaterials*. Part Fibre Toxicol 2016;13:25.
- 29 Poulsen SS, Jackson P, Kling K, et al. *Multi-walled carbon nanotube physicochemical properties predict pulmonary inflammation and genotoxicity*. Nanotoxicology 2016;10:1263-75.
- 30 Dong J, Ma Q. *Myofibroblasts and lung fibrosis induced by carbon nanotube exposure*. Part Fibre Toxicol 2016;13:60.
- 31 Frank EA, Carreira VS, Birch ME, Yadav JS. *Carbon nanotube and asbestos exposures induce overlapping but distinct profiles of lung pathology in non-swiss albino CF-1 Mice*. Toxicol Pathol 2016;44:211-25.
- 32 Nygaard UC, Samuelsen M, Marioara CD, Løvik M. *Carbon nanofibers have IgE adjuvant capacity but are less potent than nanotubes in promoting allergic airway responses*. Biomed Res Int 2013;2013:article ID 476010.
- 33 Toyokuni S. *Genotoxicity and carcinogenicity risk of carbon nanotubes*. Adv Drug Deliv Rev 2013;65:2098-110.
- 34 Luanpitpong S, Wang L, Manke A, et al. *Induction of stem-like cells with fibrogenic properties by carbon nanotubes and its role in fibrogenesis*. Nano Lett 2014;14:3110-6.
- 35 Luanpitpong S, Wang L, Davidson DC, et al. *Carcinogenic potential of high aspect ratio carbon nanomaterials*. Environ Sci Nano 2016;3:483-93.
- 36 Jensen EK, Larsen SY, Nygaard UC, et al. *Early combination of material characteristics and toxicology is useful in the design of low toxicity carbon nanofiber*. Materials 2012;5:1560-80.

Gli Autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interesse con l'argomento trattato nell'articolo.