

CHE COSA SONO LE NANOPATOLOGIE?

Stefano Montanari – Direttore Scientifico della Nanodiagnostics
Via E. Fermi, 1/L – 41057 San Vito (Modena)

www.nanodiagnostics.it

Potrebbe sembrare che molto di quanto verrà illustrato nelle poche pagine che seguono non abbia molto a che vedere con l'argomento che sta a cuore a chi interviene all'incontro.

In realtà, non è così.

Le nanopatologie sono le malattie provocate da micro- e, soprattutto, nanoparticelle¹ inorganiche che in qualche modo riescono a penetrare nell'organismo, umano o animale che sia, e non ha alcuna importanza come queste entità piccolissime riescono ad entrare o come sono prodotte. È un dato di fatto che i meccanismi seguiti da una particella una volta che questa sia penetrata nell'organismo sono gli stessi, indipendentemente dalla sua origine.

All'inizio degli anni Novanta, il Laboratorio di Biomateriali dell'Università di Modena fondato e diretto dalla dottoressa Antonietta Gatti si trovò ad investigare sul perché un filtro cavale si fosse rotto all'interno della vena cava di un paziente². Il perché il filtro si fosse rotto fu un problema di facile soluzione, ma la nostra analisi, eseguita con sistemi fisici, rivelò qualcosa di molto strano, vale a dire la presenza su quell'oggetto di elementi come, ad esempio, il titanio, che non fanno parte dell'organismo di alcun animale superiore né entrano nella composizione del dispositivo.

Un paio d'anni più tardi, ci si presentò un caso del tutto analogo e, ancora una volta, trovammo che elementi estranei sia ai tessuti umani sia alla lega metallica del filtro erano presenti.

Poi, alla fine del 1998, la dottoressa Gatti ebbe l'occasione di esaminare i reperti biotipici epatici e renali di un paziente che da oltre otto anni soffriva di febbre intermittente e di gravi compromissioni al fegato e, soprattutto, ai reni, senza che nessuno fosse in grado di dire da dove questi sintomi originassero. Con grande sorpresa, fu evidente che quei tessuti contenevano micro- e nanoparticelle di materiale ceramico, un materiale identico a quello che costituiva la protesi dentaria usurata che il paziente portava. Ciò che era avvenuto era abbastanza semplice: i detriti che la protesi produceva a causa di una cattiva occlusione e, dunque, di una scorretta masticazione, e di un tentativo scorretto di aggiustamento erano stati inghiottiti per otto anni. Poi questi detriti erano in qualche modo finiti nel fegato e nei reni dove erano restati, provocando una granulomatosi che si era aggravata tanto da condurre il paziente sull'orlo di un trattamento emodialitico cronico. Rimossa la protesi e trattato il soggetto con un'opportuna terapia cortisonica, i sintomi scemarono e non ci fu bisogno di ricorrere all'emodialisi.

Cominciammo allora a cercare negli archivi delle Università di Modena e di Magonza (Germania) e del Royal Free Hospital di Londra per avere reperti autotipici e biotipici di pazienti che soffrissero o

1 "Micro" è il prefisso per ordini di grandezza tra il milionesimo e il centomillesimo di metro; "nano" per quelli tra il miliardesimo e il diecimillesimo di metro.

2 I filtri cavali sono dispositivi di metallo che s'impiantano all'interno della vena cava - la più grande delle vene, che sfocia nel cuore destro - per impedire la trombo-embolia polmonare, cioè che emboli di sangue raggiungano la circolazione all'interno dei polmoni.

avessero sofferto di malattie criptogeniche, quelle, cioè, delle quali la Medicina non è in grado d'individuare la causa. Il materiale su cui cominciammo a lavorare riguardava principalmente varie forme tumorali e granulomatosi di origine non virale e non batterica. In tutti i casi i campioni contenevano micro- e nanoparticolato inorganico.

Sulla base di quanto stavamo trovando, la dottoressa Gatti chiese ed ottenne un supporto finanziario dalla Comunità Europea per allestire una ricerca più sistematica, e il progetto (QLRT-2002-147), che coinvolse anche le Università di Magonza e di Cambridge, la FEI (gruppo Philips) e la Biomatech (azienda privata di ricerca francese), fu battezzato "Nanopatologia", indicando con quel neologismo lo studio delle patologie indotte da micro- e nanoparticelle.

Si acquistò, allora, un microscopio elettronico a scansione ambientale (ESEM) accessorizzato con uno spettroscopio a raggi X a dispersione d'energia (EDS) e si approntò una metodica ad hoc, che ancora non ha uguali al mondo, per i nostri scopi. Il vantaggio principale di quel tipo di microscopio è la possibilità che offre di osservare campioni biologici vitali in condizioni ambientali, vale a dire non sotto vuoto (il che ne farebbe evaporare tutto il contenuto d'acqua, uccidendoli) e senza ricopertura di metalli o di carbone (il che introdurrebbe degli inquinanti). L'EDS, invece, permette di eseguire un'analisi elementare assolutamente precisa e puntuale del campione.

Iniziate le ricerche, fu subito evidente che il particolato micro- e nanometrico è in grado di entrare nell'organismo e, almeno in parte, non viene affatto eliminato come, invece, era sempre stato dato per scontato pur senza alcuna base scientifica sperimentale, dato che nessuna ricerca in proposito era mai stata eseguita. Fu altrettanto evidente come la via preferenziale d'ingresso di quel materiale sia l'inalazione. A causa delle loro ridottissime dimensioni, quelle particelle, non importa come prodotte, restano sospese nell'aria per tempi lunghissimi. Da qui, vengono ispirate e finiscono negli alveoli polmonari dove, se sono abbastanza grossolane (si parla, comunque di qualche millesimo di millimetro), sono fagocitate dai macrofagi, cellule addette alla guerra a tutto ciò che è estraneo all'organismo, virus, batteri e particelle compresi. Una volta che questi corpi estranei sono stati divorati, i macrofagi non sono però capaci di degradarli e, dunque, di distruggerli, perché quei corpi estranei non sono biodegradabili. La conseguenza è che, morto il macrofago, la particella rimane nell'organismo.

Se il particolato è di dimensioni nanometriche, e si parla da qualche decimillesimo di millimetro in giù, questo passa direttamente, in un circa un minuto, dall'alveolo polmonare alla circolazione sanguigna. Dal sangue agli organi il passo è breve, soprattutto se si pensa che le nanoparticelle entrano anche nei globuli rossi, un ottimo cavallo di Troia per superare ogni barriera.

Così, prima o poi, queste particelle sono sequestrate da qualche organo: fegato, rene, gangli linfatici, cervello e, in pratica, ogni tessuto dell'organismo. Ad aggravare la situazione, sta il fatto che il particolato che noi vediamo non è solo non biodegradabile, ma è anche non biocompatibile, il che significa che è sicuramente, per definizione stessa, patogenico, cioè capace d'innescare una malattia.

Come per un qualsiasi corpo estraneo, uno stato infiammatorio è la maniera con cui l'organismo reagisce alla presenza indesiderabile di quei minuscolissimi granelli di polvere, e questa reazione diventa visibile quando la concentrazione dei detriti è abbastanza elevata. Ma quando i granelli sono nanometrici, ecco che sono capaci di penetrare nelle cellule, e lo fanno profondamente, fino all'interno del nucleo, senza che di loro la cellula si accorga.

Nel primo caso, spesso l'infiammazione si cronicizza, e questa è una condizione favorevole all'istaurarsi di una patologia tumorale. Per il secondo caso, invece, non abbiamo una casistica sufficiente, ma, a lume di buon senso, si può pensare che una presenza estranea in un punto così delicato di una cellula possa interferire sia fisicamente sia chimicamente con i suoi componenti e, più segnatamente, con il DNA. Da aggiungere, poi, che in diverse circostanze abbiamo trovato particolato nello sperma da dove potrebbe entrare nell'ovocita, ragionevolmente provocando reazioni avverse. È un dato di fatto che i militari esposti ai fumi delle esplosioni, fumi che di particelle abbondano, generano una prole malformata con una frequenza niente affatto trascurabile. Si aggiunga pure il fatto che le pecore al pascolo nei pressi di alcune basi militari dove si fanno

esplodere bombe partoriscono frequentemente agnelli le cui malformazioni sono tanto gravi da essere incompatibili con la vita.

Dopo l'inalazione, la via d'assunzione più frequente per i micro- e nanodetriti è l'ingestione. Le particelle che fluttuano in aria prima o poi cadono a terra, depositandosi su frutta e verdura che sono alimento per l'uomo, e sull'erba che è cibo per gli animali.

Anche l'apparato digerente lascia transitare con una certa libertà il particolato che, come avviene per quello inspirato, entra nel sangue e nei vasi linfatici, seguendo poi la stessa sorte dell'altro.

Ma altre, seppur meno frequenti, via d'ingresso nell'organismo esistono. Ad esempio, il fumo di tabacco (sigaretta, pipa o sigaro non fanno alcuna differenza e provocano identico danno, contrariamente a ciò che molti credono) contiene particolato che penetra sia nei polmoni, dove in parte resta e da dove in parte migra, sia nella mucosa della bocca dove si accumula.

A questo punto, la domanda che sorge ovvia è: esiste una relazione causa-effetto certa tra la presenza di particelle e malattia?

Una delle basi della scienza medica è la statistica e la statistica si avvicina sempre più alla verità con il crescere dei numeri. Benché il nostro gruppo raccolga da anni dati sempre coerenti e mai contraddittori, non possiamo affermare di avere una quantità sufficiente di casi (ad oggi, settembre 2005, sono circa 400) per avere il diritto d'affermare che la relazione esiste con certezza assoluta. Tuttavia, una delle basi della scienza in assoluto per valutare la bontà di una teoria è la sua capacità di predire i fenomeni. È un dato di fatto che ogni volta che ci si è presentata la possibilità di conoscere dati rilevanti in nanopatologie, noi siamo stati capaci di predire con precisione l'istaurarsi di una malattia. In molte circostanze, poi, semplicemente esaminando con la nostra metodologia un campione patologico, siamo in grado di ricostruire le condizioni d'inquinamento in cui il soggetto è vissuto, fino ad indovinare quale sia la marca di sigarette che questi eventualmente fuma o ha fumato. Fra le tante, una prova per tutte sulla capacità della nuova branca della scienza di prevedere, è quella accaduta poco dopo il crollo delle Torri Gemelle a New York. Noi allora comunicammo che entro qualche anno un numero grandissimo di persone scampate al crollo, ma coinvolte per giorni o mesi nell'ambiente dove aleggiavano enormi quantità di polveri, si sarebbero ammalate di patologie simili a quelle di cui soffrono i reduci dalle guerre del Golfo e dei Balcani. La cosa si è puntualmente avverata, tanto che ora il nostro gruppo è stato chiamato a lavorare su un campione di pazienti newyorkesi per cercarne la detossificazione.

Un altro punto da considerare è l'esperimento che eseguimmo qualche anno fa su una popolazione di ratti, iniettando nei muscoli di una metà della loro schiena delle nanoparticelle metalliche ed impiantando nell'altra metà dischetti relativamente grandi dello stesso materiale. Entro sei mesi, tutti i ratti mostrarono segni evidentissimi di cancro nella metà dove era stato immesso il particolato, mentre dove si erano impiantati i dischetti si notava solo una innocua fibrosi.

Ancora da tenere presente è come indagini eseguite su tessuti di soggetti sani (giovani morti in incidenti stradali) non rivelarono presenze di nanoparticolato, e così accade quando si osserva il tessuto di pazienti in punti appena esterni a quelli nei quali la patologia è manifesta e dove la presenza di micro- e nanoparticelle è evidente.

Un altro fondamento della scienza nella valutazione di un modello è la sua capacità di spiegare i fenomeni, e non c'è dubbio che la teoria nanopatologica spiega con chiarezza l'origine di non poche affezioni criptogeniche.

Si può allora discutere sui meccanismi biologici coinvolti nella connessione tra causa ed effetto, e questa è cosa che si sta facendo e che si dovrà indubbiamente approfondire, ma l'atteggiamento di chi vuol considerare le micro- e le nanoparticelle inorganiche innocue solo facendosi scudo della propria ignoranza è ingenuo quanto quello dello struzzo.

È ormai assodato che di fronte agli ordini di grandezza nei quali le particelle, soprattutto quelle nanometriche, si situano, le leggi della biologia classica non funzionano più, così come la fisica di Newton non è capace di spiegare il comportamento degli atomi o della luce e, anzi, questi comportamenti vedrebbe come assurdi. Occorre allora comprendere che, dal punto di vista biologico, queste entità di cui noi ci occupiamo non si comportano né come oggetti di dimensioni

più grossolane né come ioni, cosa, quest'ultima, che riesce piuttosto ostica a chi sia educato alla tossicologia classica. È indispensabile comprendere che alla tossicità chimica di un determinato materiale si sovrappone un effetto deleterio di natura fisica, cioè il fatto stesso di essere corpo estraneo e di avere dimensioni tali da poter interferire con i tessuti a livello cellulare e subcellulare. I due effetti combinati sinergicamente danno luogo a reazioni biologiche mai indagate prima che non possono essere valutate con gli occhi della medicina novecentesca se non si vuole correre il rischio di fraintenderle.

È certo che la nostra scienza è appena una neonata, ma è altrettanto certo che le conquiste alle quali è già pervenuta sono notevolissime. A questo punto, messo piede su un continente sconosciuto, occorre solo essere armati di voglia di fare, di discernimento e, soprattutto, di tanta umiltà.

Per valutare la nocività delle micro- e nanoparticelle bisogna considerare un certo numero di fattori. Probabilmente il più importante è il loro essere corpi estranei, elementi, cioè, che l'organismo vede come nemici e che, per questo, combatte, cercando di distruggerli o, alla peggio, d'isolarli. In ambedue i casi, ricordandoci che quegli oggetti così piccoli non sono né biocompatibili né biodegradabili, il risultato è una malattia, non necessariamente evidente, o non necessariamente subito evidente, dal punto di vista clinico.

Va da sé che la composizione chimica è di grande importanza nel determinare la tossicità della particella: che il mercurio sia più velenoso del ferro o l'antimonio dello zinco è nozione comune.

Pure le dimensioni del particolato sono importanti: più queste sono grosse, meno sono insidiose. E importante è anche la velocità con cui queste sono inalate o ingerite: più l'introduzione è rapida e più alta è la concentrazione, maggiore è la pericolosità.

Infine, senza entrare in ulteriori particolari, la forma è elemento da considerare. Particelle a forma di ago, come, ad esempio, quelle di amianto, sono penetranti assai più di quelle tondeggianti.

Ora, un'altra domanda è: possiamo liberarci da queste presenze una volta che si siano stabilite nel nostro corpo?

Al momento, la risposta è no. Questo, però, non significa affatto che non esistano sistemi artificiali, come, ad esempio, fu qualche decennio fa con l'emodialisi per i pazienti nefropatici. Malauguratamente, per studiare questi sistemi occorrono cervelli e denari. A quanto pare, i cervelli ci sarebbero pure, ma i denari si preferisce spenderli altrimenti. Così, per ora ci dobbiamo limitare ad attuare in ogni modo forme di prevenzione, cercando per prima cosa di non creare particolato o, quanto meno, di non crearne troppo, e poi di difenderci da quello che già esiste. Ci sono forme di prevenzione che non costano nulla e che non si mettono in atto solo per ignoranza. Tanto per non fare che qualche esempio, basterebbe coprire con un foglio di plastica la verdura esposta dai negozi sulla strada per veder cadere drasticamente la quantità di particelle nella frutta e nella verdura (un cavolo è impossibile da lavare). Oppure basterebbe che il macellaio, una volta affilato il coltello, non tagliasse la carne subito ma lo passasse su uno straccio e lo lavasse. Oppure, ancora, basterebbe che i saldatori non portassero a casa gli indumenti da lavoro e indossassero un copricapo e una mascherina. E che dire della verdura cresciuta ai margini delle autostrade o vicino agli inceneritori? Insomma, con un poco di conoscenza ed un pizzico di cervello, se non altro per quel *sensus communis* del buon padre di famiglia che il diritto romano prescriveva, si potrebbe evitare una buona fetta di guai.

Ma da dove vengono queste particelle?

A ben guardare, le fonti d'inquinamento particolato sembrano essere infinite. Alcune sono insite nella natura, altre, la maggior parte di esse, almeno per quanto riguarda la quantità di materiale scaricato, sono opera dell'uomo.

Particelle delle dimensioni che ci interessano sono prodotte dalle eruzioni vulcaniche, dagli incendi, dall'erosione delle rocce e dei terreni, dalle miniere a cielo aperto e degli edifici, e dal sollevarsi della sabbia dei deserti (queste polveri che cadono spesso come pioggia rossa sono chiaramente visibili a tutti anche a migliaia di chilometri dall'origine). Dalle discariche di rifiuti si sollevano non trascurabili quantità di particolato, e perfino l'interno delle case non è immune dal problema: i vecchi pavimenti di linoleum, infatti, possono liberare aghi nanometrici d'amianto. Ma i grandi

responsabili del problema sono i procedimenti ad alta temperatura che oggi sono diventati comuni, soprattutto nell'industria. Dunque, i motori a scoppio, le fonderie, gl'inceneritori e i termovalorizzatori, le esplosioni in genere, e giù fino ad operazioni apparentemente più innocue come le saldature. Se le temperature sono elevate, molte sostanze volatilizzano per poi ricondensarsi sotto forma di quelle particelle che abbiamo descritto e che, stante la loro massa piccolissima, si comportano alla stregua di un gas, restando sospese in aria anche per mesi e subendo poi la sorte di cui si è detto.

In presenza d'insediamenti industriali o d'impianti a caldo per il trattamento dei rifiuti, di norma si eseguono indagini sulla qualità dell'aria, e queste indagini sono tese ad individuare inquinanti, certo nocivi, quali, tra i molti altri, ossidi di carbonio e ossidi d'azoto, o composti come gli organoalogeni (per esempio, le diossine), che si formano quando la combustione non è completa. Tra gl'inquinanti, ci sono anche i metalli pesanti, e questi vengono liberati nell'aria spesso in forma ionica, per poi raggrupparsi in particelle solide che non di rado, se la temperatura è sufficientemente alta, formano leghe del tutto casuali. E sono proprio queste particelle ad essere responsabili delle nanopatologie. Un caso tra le alcune centinaia su cui abbiamo avuto occasione di cimentarci fu quello di un soggetto affetto da mesotelioma peritoneale, una forma di cancro non comune. All'indagine ultrastrutturale nanopatologica, le biopsie mostravano la presenza di particolato contenente, tra gli altri metalli, uranio la cui provenienza appariva un po' sorprendente e certo difficile da stabilire. Dopo non poche ricerche, venimmo a sapere che il paziente mangiava da almeno trent'anni radicchi di campo provenienti da una valletta posta tra due colline. Le ricerche che svolgemmo sul posto rivelarono la presenza sui vegetali di particolato identico a quello rinvenuto nei reperti biotici, e questo materiale proveniva da un'industria ceramica situata a qualche chilometro di distanza, industria che utilizzava quei metalli, tra i quali l'uranio, per smaltare i propri prodotti.

Ancora oggi, benché la scienza di punta abbia accertato almeno a grandi linee come e quanto sia nocivo il particolato inorganico, nessun paese ne ha regolamentata la produzione e lo scarico e ben pochi sono i medici a conoscenza del problema. Così, noi continuiamo a trovare notevoli quantità di particelle nel pane, nei biscotti, nella carne e perfino negli alimenti per l'infanzia, senza che nessuno intervenga, se non altro per iniziare una serie di controlli. E l'industria si guarda bene dall'allestire spontaneamente una ricerca volta ad eliminare o, almeno, a ridurre le fonti d'inquinamento. Allora, se non sarà la gente comune a chiedere che si faccia chiarezza, faremo ciò che spesso abbiamo fatto in passato: chiuderemo la stalla a buoi abbondantemente scappati.