

BICE FUBINI * - MAURA TOMATIS *

Dalla silicosi alle nano particelle: una lunga lotta per spiegare come, quando e perché alcuni particolati sono patogeni

Chemical basis of particles pathogenicity: from silicosis to nanoparticles

Summary – *Silicosis* is the oldest known occupational pulmonary disease. One of the earliest references to silicosis was made by Agricola, in the 16th century. Silicosis is a *pneumoconiosis* i.e. a fibrosis of the lung due to the inhalation of crystalline silica dusts. Silicosis is characterized by a persistent inflammation and scarring in forms of typical nodular lesions in the upper lobes of the lungs. Exposure to asbestos fibres causes another typical pneumoconiosis designated as *asbestosis* which, was only recognized in 1930. Not much later, in the '50 ties it become clear that exposure to asbestos may also induce lung cancer and *malignant mesothelioma* which is a cancer of the mesoderm, developing either at the pleura or in the peritoneum. This latter form of cancer, typical ly caused by some mineral fibres, is considered the hallmark of asbestos exposure. For this reason, by the end of the century several developed countries, including EU, have banned any use of asbestos. More recently it become clear that also exposure to silica dusts may induce some autoimmune diseases and lung cancer, as confirmed by the International Agency for Research on Cancer in 1997 and 2009. However this latter decision is still controversial, the carcinogenic potency of silica being much lower than that of asbestos.

Both silica and asbestos have some physico-chemical features linked to their toxic potential which they do not share with almost any other mineral dust. In spite of numerous experimental studies in the field, such features and their mechanisms of action have not yet been fully clarified at the molecular level. In the meanwhile nanoparticles, a set of new potentially dangerous finely divided materials, appear on the stage. While nanotechnology develops in most of industrial fields there is a general fear that such nanoparticles may cause severe health effects. Certainly their potential toxicity will be strictly linked to their physico-chemical nature, thus the exact knowledge of what makes asbestos, silicas and other larger particle toxic would help the prediction of which among nanoparticles would probably be more dangerous.

* Dipartimento di Chimica IFM e Centro Interdipartimentale per lo Studio degli Amianti e di Altri Particolati Nocivi dell'Università degli Studi di Torino «Giovanni Scansetti», Università di Torino, Via Pietro Giuria, 7, 10125 Torino. E-mail: bice.fubini@unito.it

Several aspects make the understanding of particle toxicity much more difficult than with other toxic entity, namely

1) *chemical-physical aspects*: chemistry has been long time neglected in the field of particle toxicology. Moreover particle toxicants come in contact with living matter at their surfaces, hence most mechanisms of interaction are governed by a complex surface chemistry, not only by the chemical composition. The surface state of a particle is determined by its history, namely mechanisms of dust generation, weathering, processing and contaminants. Consequently, materials with the same bulk composition may exhibit quite different surface reactivity and, hence, toxicity.

2) *political-economical issues*: the unique physical and chemical properties, which make e.g. asbestos or carbon nanotubes suitable for many applications imply a great economical interest in their production and commercialization. Asbestos, for example, has been widely used in the past century for the manufacture of an extremely large variety of products because of its remarkable durability, tensile strength, flame retarding capacity, and slow dissolution properties.

3) *epidemiological aspects*: some of the lung diseases, induced by particles or fibres, e.g. mesothelioma, have a long latency (15-40 years) of time between initiation and the point when symptoms appear. Moreover, particle toxicity may have several confounding factors (e.g. both cigarette smoking and asbestos exposure can cause lung cancer) which complicates the design of any epidemiological study.

In the present paper we highlight the most prominent factors involved in particle toxicology and the main historical episodes which allowed explaining the particulate toxicity.

Key words: silice, silicosi, amianto, nanoparticelle, chimica di superficie

Introduzione

Che alcuni particolati possano far male è noto da tempo. La silicosi è stata il primo esempio di malattia professionale associata alla lavorazione di materiali contenenti silice cristallina. Casi di silicosi sono stati osservati già in uomini del neolitico che lavoravano le pietre per costruire arnesi da taglio e punte di freccia, così come in numerosi lavoratori impiegati in attività di estrazione mineraria in Egitto tra il 4000 ed il 3000 a.C. [3].

In tempi molto più recenti, dalla rivoluzione industriale in poi, è talvolta capitato che alcuni materiali che offrivano proprietà eccezionali per svariate tecnologie abbiano mostrato un «doppio volto». Le stesse caratteristiche chimico-fisiche per cui furono apprezzati li resero una minaccia per la salute di chi li aveva lavorati ed utilizzati.

Gli amianti ne sono l'esempio più rappresentativo: furono un gran successo nel secolo passato, usati come materiale di elezione per uno svariato numero di applicazioni industriali, furono però anche responsabili di gravi danni alla salute per i lavoratori. L'amianto è ancora oggi la principale causa di cancro correlata ad esposizione occupazionale ed è, dopo il tabacco, l'agente cancerogeno che ha provocato il maggior numero di decessi.

A causa dei lunghi tempi di latenza della malattia l'allarme amianto non è

ancora cessato, mentre un nuovo allarme sembra provenire dalle «nanotecnologie». La preoccupazione circa i possibili danni alla salute causati dall'esposizione a nanoparticelle (sia quelle derivanti dalle nanotecnologie propriamente dette, sia quelle di origine «non intenzionale», ossia generate come prodotti secondari in alcuni tipi di impianti industriali) si è però accompagnata anche ad una crescente attenzione della comunità scientifica al loro impatto sugli ambienti di vita e di lavoro, come dimostrato dalla crescita esponenziale delle pubblicazioni sul tema. Un'attenzione particolare [31, 33, 45, 47, 48], forse per alcune similitudini con gli amianti come le elevate aspect/ratio e biopersistenza, è stata riservata ai nanotubi di carbonio, ormai usati in svariate applicazioni dalla costruzione di materiali per l'industria aeronautica alla preparazione di dispositivi per il rilascio controllato di farmaci.

I meccanismi di patogenicità del particolato ed il ruolo della chimica di superficie

In tossicologia si ha solitamente a che fare con «molecular toxicants» come cianuri o benzene e per molto tempo i tossicologi hanno trattato un qualunque particolato allo stesso modo. Le differenze tra «molecular toxicants» e «particulate toxicants» sono tuttavia sostanziali sia nelle caratteristiche che nel meccanismo di interazione con le cellule:

- le molecole intervengono sempre nello stesso modo e la loro tossicità dipende dalla struttura molecolare. Nel caso del particolato, invece, sono diversi i siti superficiali coinvolti nel meccanismo di tossicità e la loro natura non è prevedibile dalla sola composizione chimica poiché dipende da complessi fattori legati alla «storia» della particella;

- le molecole hanno in genere un meccanismo di azione ben definito, al contrario l'interazione tra la particella e la materia vivente è complessa, coinvolge più compartimenti biologici e differenti meccanismi d'azione;

- l'effetto delle molecole persiste fino a quando non vengono metabolizzate e/o espulse, eventi che si verificano normalmente in tempi abbastanza contenuti. L'effetto del particolato può persistere invece per lunghi periodi, in particolare quando si tratta di particelle con ridotta solubilità o con caratteristiche tali di ridurre i meccanismi di «clearance», come accade per le fibre di amianto.

Ogni particolato è costituito da particelle, ciascuna con la propria forma, cristallinità, morfologia e reattività di superficie e la sua pericolosità, dipendendo da svariati fattori, va determinata caso per caso (Fig. 1).

Le polveri, specie se di piccole dimensioni (diametro inferiore a 3 μm), restano sospese a lungo nell'aria e se inalate possono raggiungere gli alveoli polmonari. Le polveri di dimensioni maggiori, invece, si depositano nelle prime vie aeree e sono allontanate dal sistema mucociliato. Le particelle che giungono a livello alveolare e si depositano sulle pareti degli alveoli vengono individuate come corpo estraneo dal sistema immunitario. Possono quindi essere fagocitate dai macrofagi alveolari (Fig. 2), le cellule «spazzine», che ne favoriscono l'eliminazione o la

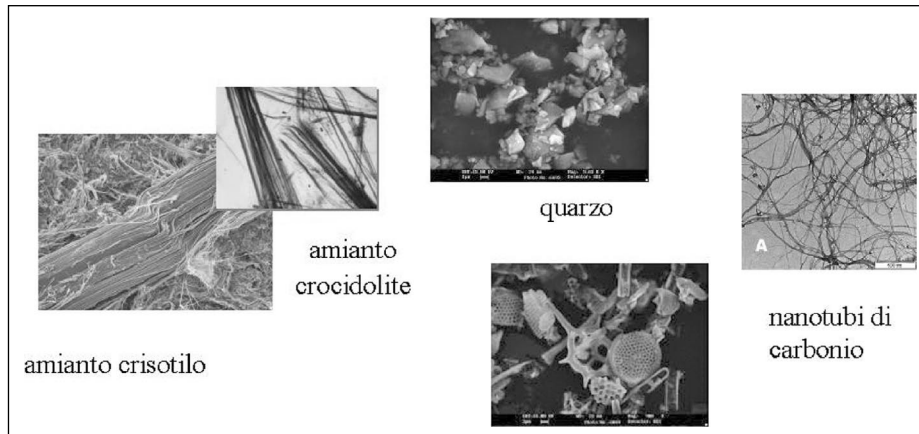


Fig. 1. Fotografie al microscopio elettronico a scansione di particolati di diversa origine.

migrazione ai vari organi attraverso il circolo linfatico. In alcuni casi è possibile che, in seguito alla fagocitosi, si verifichi un'attivazione del macrofago che comporta sia il rilascio di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e dell'azoto (RNI) in grado di reagire con varie biomolecole e scatenare un processo infiammatorio, sia di fattori di crescita in grado di stimolare l'attività replicativa di fibroblasti, cellule epitelia-

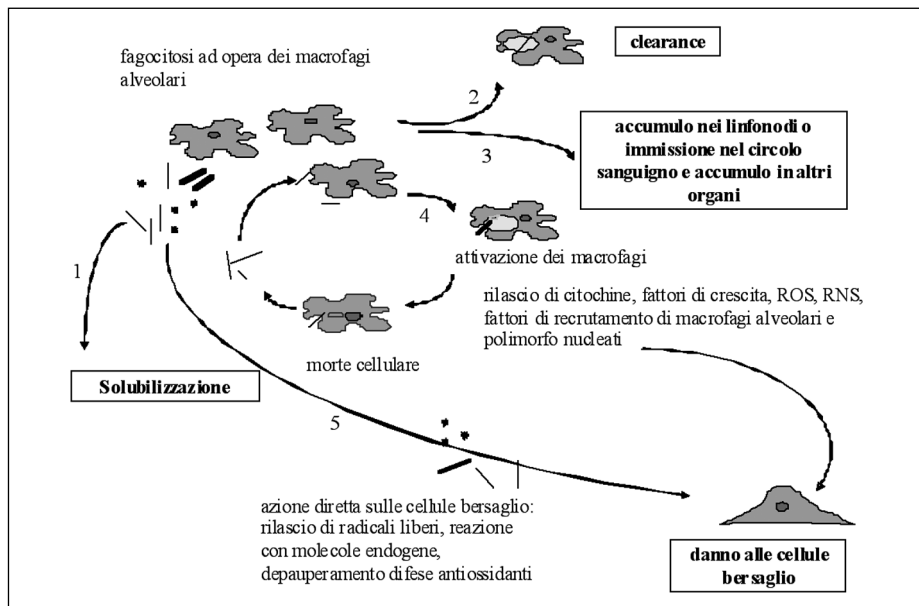


Fig. 2. Schema dei possibili eventi che seguono l'inalazione di un particolato.

li, cellule mesoteliali ecc. Le sostanze inalate, infine, possono danneggiare direttamente le cellule circostanti sia attraverso il rilascio di radicali liberi, che mediante la riduzione delle difese antiossidanti [14, 16].

Tra i principali parametri che modulano la tossicità del particolato [14, 16] vi sono:

a) forma e dimensioni: le fibre (particelle con lunghezza $> 5 \mu\text{m}$, diametro $< 3 \mu\text{m}$ e rapporto lunghezza/diametro $\geq 3:1$) risultano più patogene di particelle aventi uguale composizione chimica, mentre particelle con bordi irregolari e spigoli acuti sono in genere più pericolose di polveri dalle forme regolari e dai bordi arrotondati;

b) biopersistenza (tempo di ritenzione all'interno del polmone): particolati con lunghi tempi di ritenzione a livello polmonare sono più patogeni di quelli eliminati rapidamente;

c) composizione chimica e reattività di superficie: sulla superficie del particolato sono presenti atomi o ioni che, a differenza di quelli che si trovano nel «bulk», non stabiliscono legami in tutte le direzioni e presentano quindi delle insaturazioni che possono renderli particolarmente reattivi. Questi ioni, principalmente metalli di transizione come il Fe, possono catalizzare la formazione di specie radicaliche [22-25]. I radicali liberi sono specie molto reattive in grado di attaccare DNA, proteine, lipidi ecc. Le conseguenze di questo attacco dipendono dal ruolo biologico della molecola bersaglio ma c'è comunque un generale consenso nell'individuare nei radicali liberi un fattore importante nella comparsa di numerose patologie.

La silicosi, la più antica malattia professionale

La silicosi è una malattia nota sin dall'antichità [3]: se ne trova menzione negli scritti di Ippocrate che nel 400 rileva una forma di «pneumoconiosi nei minatori che respirano con difficoltà» e di Plinio il Vecchio che fa richiesta di maschere protettive per i minatori onde evitare che respirino la «polvere fatale» e ancora:

Georgius Agricola (1556) in *De Re Metallica*, un trattato sistematico sull'estrazione mineraria e la metallurgia, scrive a proposito delle miniere dei Carpazi in Boemia: «Le miniere producono asma nei minatori ...alcune miniere sono così prive di acqua che la secchezza peggiora gli effetti ...le mogli dei minatori si spavano fino a sette volte ...».

Bernardino Ramazzini, medico e scrittore italiano (1700), nel suo trattato *De morbis Artificum diatribe*, primo studio nella storia della medicina sulle malattie professionali, considerato l'atto fondante di quella che oggi viene chiamata «medicina del lavoro», nota che «Tagliatori di pietre respirano schegge aguzze che schizzano ovunque durante la lavorazione».

Il fisiologo britannico John Haldane, (1904) rileva che a Witwatersrand (South Africa) «prima della guerra dei Boeri, un sesto dei perforatori di rocce moriva di silicosi a causa delle polveri».

Nel 1830 il medico inglese Arnold Knight descrive in dettaglio i sintomi della silicosi, anche se il termine «silicosi» (dal latino «selex», selce, pietra) viene utilizzato per la prima volta intorno al 1870 dall'anatomo-patologo milanese Achille Visconti: «...un vero tipo di silicosi polmonare fu il caso osservato dal Dr. Visconti in un lavorante in pietra focaia che, dopo aver sofferto per fenomeni d'indurimento d'ambo i polmoni, presentò alla tavola anatomica i polmoni quasi perfettamente sclerotizzati con molti corpuscoli opachi e irregolari sparsi nel connettivo. L'esame chimico rivelò un contenuto in ceneri pari al 6,95% di polmone secco; la silice era in proporzione del 3,4% di polmone fresco, e cioè il 49% della cenere: una quantità straordinariamente grande...» [46].

Gli effetti dell'esposizione alla silice balzano all'attenzione pubblica in seguito al disastro di Gauley Bridge. Benché non ci siano statistiche definitive sull'entità del disastro, si stima che negli anni '30 circa 500 dei 5000 minatori addetti alla perforazione di una galleria idroelettrica, in un terreno particolarmente ricco di silice in Virginia, per conto dell'Union Carbide, morirono di silicosi acuta e circa 1500 furono colpiti da forme gravi di silicosi in un arco di tempo di 3-4 anni [4].

Pochi anni dopo nelle industrie di granito del Vermont vennero introdotti dei limiti di esposizione alla silice. Nel 1962 l'A.C.G.I.H. (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) riconobbe che il rischio per la salute era direttamente correlato alla concentrazione di silice cristallina (indicata anche come quarzo) presente nella polvere respirata ed adottarono un Threshold Limit Value ($100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ per 8 h lavorative), non inteso come limite legale, ma solo come linea guida per gli igienisti industriali. Le attuali raccomandazioni del NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health) sono di mantenere ogni forma di silice cristallina sotto i $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ per 10h/gg durante le 40 h/settimanali lavorative [3, 37].

Negli ultimi decenni numerosi studi hanno mostrato che l'esposizione alla silice può causare oltre alla silicosi, anche severe patologie autoimmuni e talvolta cancro polmonare. Nel 1997 la IARC (International Agency for Research on Cancer) concluse che vi erano sufficienti evidenze della cancerogenicità di alcuni polimorfi di silice cristallina [28] con la seguente frase

«crystalline silica inhaled in the form of quartz or cristobalite from occupational sources is carcinogenic to humans»

ma in modo assai inusuale il giudizio veniva preceduto da questo preambolo

«Carcinogenicity in humans was not detected in all industrial circumstances studied. Carcinogenicity may be dependent on inherent characteristics of the crystalline silica or on external factors affecting its biological activity or distribution of its polymorphs»

affidando di fatto a studi chimico-fisici il compito di capire cosa rende patogena una silice.

La decisione di inserire la silice cristallina fra gli agenti cancerogeni per gli

esseri umani fu controversa e negli anni che seguirono apparvero, da un lato, lavori epidemiologici che sembravano contraddire tale ipotesi e, dall'altro, lavori sperimentali che evidenziavano una notevole variabilità del potenziale patogeno di polveri di quarzo provenienti da diverse sorgenti [12, 13]. Ma, con il trascorrere degli anni, si affermò sempre più distintamente l'idea che le polveri di silice cristallina differiscano l'una dall'altra e che non tutte siano egualmente patogene. Oggi, è ormai chiaro che le *inherent characteristics* non possono che essere caratteristiche di tipo chimico (dimensioni e micromorfologia delle particelle, caratteristiche della superficie come presenza di fratture fresche, grado di idrofilia, ecc.) così come gli *external factors* sono sostanzialmente i vari contaminanti (ioni metallici come Al o Fe, minerali associati come l'argilla, impurezze acquisite durante la lavorazione, macromolecole depositate, polimeri, ecc.) in grado di modificare le proprietà di superficie della silice.

I lavori sperimentali che seguirono confermarono un ruolo primario della forma e della reattività di superficie nel determinare il potenziale patogeno delle polveri di silice e la IARC, in una nuova monografia [29] sulla base di questi ultimi dati, ha confermato l'inserimento di quarzo e cristobalite in classe 1 (cancerogeno per gli esseri umani).

I fattori che rendono una polvere di silice più o meno patogena debbono, però, ancora essere definiti esattamente.

La SiO_2 si presenta in una grande varietà di forme. Tra le silici cristalline il quarzo è la forma stabile a pressione e temperatura ambiente ed è anche la più abbondante sulla crosta terrestre. Per riscaldamento si formano la tridimite (circa 870 °C) e la cristobalite (1470 °C). La cristobalite si può formare anche per riscaldamento, a temperature più basse, delle silici di origine biogenica, cioè quelle derivanti da residui di organismi viventi, — come le terre di diatomee e le spugne — spesso originariamente amorfe.

Delle varie forme di silice presenti in natura, finora sono state riconosciute responsabili di silicosi solamente quarzo, tridimite e cristobalite. È invece in discussione la tossicità della coesite, della silice vetrosa, di origine industriale o vulcanica, e della terra di diatomee. Anche nell'ambito dello stesso polimorfo di silice vi possono essere notevoli differenze nell'attività biologica in relazione all'origine: le polveri di cristobalite formatesi per riscaldamento di polveri di quarzo non causano trasformazioni cellulari, al contrario delle polveri ottenute per macinazione di cristobalite naturale e per trasformazione di terra di diatomee [17, 21]. La responsabilità di una risposta così variabile viene attribuita alle diverse proprietà chimico-fisiche della superficie delle particelle [13, 15]. La superficie varia non solo a seconda della struttura amorfa o cristallina, ma anche a seconda del metodo di produzione (macinazione, sintesi) e dei trattamenti (termici, chimici) subiti. Le silici sintetiche preparate per precipitazione o per combustione di composti contenenti silicio, sono costituite da particelle sferiche molto regolari mentre le polveri ottenute per macinazione dei minerali di quarzo o cristobalite presentano spigoli

aguzzi. Le polveri ottenute per macinazione, specie se recente, sono ricche di radicali di superficie e/o cariche superficiali come conseguenza della rottura dei legami silicio-ossigeno. I radicali di superficie generati per rottura omolitica di questi legami costituiscono siti reattivi in grado sia di reagire direttamente con le molecole presenti nell'ambiente cellulare, sia di generare radicali liberi in soluzione. La generazione di radicali liberi può essere catalizzata anche da metalli di transizione, in particolare ferro, che possono essere presenti come impurezze in stati coordinativi e ossidativi diversi [19]. La presenza di questi contaminanti è frequente non solo nei campioni di origine naturale, ma anche in quelli di sintesi in quanto possono essere introdotti a seguito di processi lavorativi. Non è inusuale neppure la presenza di alluminio, che pur non influenzando la reattività in termini di capacità di produrre specie radicaliche, può modificare il grado di idrofilia (da cui dipende l'interazione con i componenti dei fluidi biologici come proteine, molecole antiossidanti, ecc.) e la carica superficiale. La presenza di alluminio è, in generale, associata ad una diminuzione della tossicità.

Il solo dato cristallografico riportante il contenuto di silice cristallina in un campione di polvere inalabile non è, dunque, sufficiente per stimare l'entità del rischio associato alle diverse sorgenti ed alle diverse lavorazioni. I minerali associati, come le argille (contenenti alluminio) o i minerali ferrosi, la presenza di ioni metallici (derivanti, ad esempio, da impurità connesse alla genesi o al degrado dei materiali con cui la silice è stata a contatto), la distribuzione granulometrica della frazione respirabile, gli eventuali trattamenti termici, chimici e meccanici subiti durante la lavorazione con eventuale generazione di superfici fresche, alterazioni della morfologia e delle dimensioni, ecc. sono fattori importanti che devono essere considerati a questo scopo.

Gli amianti o asbesti: una tragedia del XX secolo che continua tutt'ora

Amianto (che in greco significa «incorruttibile») e asbesto («inestinguibile») sono due sinonimi usati per indicare vari tipi di silicati naturali che si presentano in forma fibrosa.

Sono 6 i minerali fibrosi considerati amianti dalla legge: crisotilo [amianto bianco, $Mg_3Si_2O_5(OH)_2$], crocidolite [amianto blu, $Na_2(Fe^{3+})_2(Fe^{2+}, Mg)_3Si_8O_{22}(OH)_2$] amosite [amianto bruno, $(Fe^{2+}, Mg)_7Si_8O_{22}(OH)_2$], che hanno conosciuto grande diffusione commerciale, ed antofillite [$(Mg, Fe)_7Si_8O_{22}(OH)_2$], tremolite [$Ca_2Mg_5Si_8O_{22}(OH)_2$] ed actinolite [$Ca_2(Mg, Fe)_5Si_8O_{22}(OH)_2$] di scarso interesse industriale, ma presenti come contaminanti in vari materiali (es. talco) ed in molti ambienti naturali.

L'uso dell'amianto è noto da oltre 2000 anni [50]. Persiani e Romani utilizzavano manufatti in amianto per avvolgere i cadaveri da cremare. Marco Polo ne «Il Milione» racconta che nella provincia cinese di Chingitalas, filando questo minerale si otteneva un tessuto impiegato per confezionare tovaglie. Risale al '600 la

ricetta del medico naturalista Boezio che illustra l'uso dell'amianto nelle medicine dell'epoca per la cura di ulcerazioni agli arti. L'amianto è stato usato per alcune preparazioni medicinali sino agli anni '60, quando lo si riscontra ancora in una polvere contro la sudorazione dei piedi ed in una pasta dentaria per le otturazioni.

La prima utilizzazione dell'amianto da parte dell'industria risale agli ultimi decenni dell'800, come materiale per isolamento termico in Inghilterra. Da quel momento inizia un incremento esponenziale del suo uso che si estende al resto dell'Europa, all'America, all'Asia. A fine '800, negli Stati Uniti nasce l'industria del cemento amianto, mentre in Italia si diffonde l'uso nel settore tessile. Gli amianti trovano impiego nell'industria e nel settore edilizio come coibentanti, isolanti termici, rinforzanti del cemento, nell'industria tessile per tessuti ignifughi, nell'industria automobilistica per le pastiglie dei freni, nell'industria chimica per la preparazione di filtri ecc.

Alla fine dell'800 comincia lo sfruttamento di giacimenti di crisotilo in Canada, intorno ai primi del '900 quello di crocidolite in Sud Africa. In Italia intorno agli anni '20 inizia la sua attività estrattiva anche la cava di Balangero (TO), la più grande cava d'amianto dell'Europa Occidentale, che rimarrà attiva fino agli inizi degli anni '90 (Fig. 3). In questa cava lavorò anche Primo Levi che ne lascia una precisa testimonianza ne «Il sistema periodico».

La produzione mondiale di amianto cresce esponenzialmente e passa da qualche centinaia di tonnellate/anno alla fine del '800 a quasi 3.500.000 ton/anno [56] nel 1970, quando si raggiunge il massimo utilizzo. In provincia di Torino, in posizione strategica alle porte della Valle di Lanzo nelle vicinanze della cava di Balangero, apre i battenti, alla fine dell'800, la manifattura Bender e Martiny per la produzione di articoli in amianto e gomma. Questo stabilimento per ampiezza e capacità produttiva sarà per un lungo periodo tra i più rilevanti in Italia e secondo solo a poche industrie estere. Sarà in questo stabilimento, che nel 1925, inizierà la produzione delle famose scarpe marchiate «Superga». La lavorazione dell'amianto nella zona non desta particolare preoccupazione fino a quando, nel 1906, un settimanale locale¹ osserva, scorrendo le statistiche dei decessi del paese, che i morti aventi come causa «tisi anemica» e «gastroenteriti» sono principalmente operai dello stabilimento. È uno dei primi episodi di sensibilizzazione dell'opinione pubblica nei confronti delle morti legate al lavoro ed in particolare all'esposizione all'amianto. La dirigenza dello stabilimento denuncia per diffamazione il direttore del settimanale, che però vincerà la causa sia in prima istanza sia in appello².

Nel 1901 l'austriaco Ludwig Hatschek brevetta il cemento-amianto cui darà il nome di Eternit (dal latino «aeternitas», eternità). Poco dopo inizia la propria atti-

¹ Il Progresso del Canavese e delle valli Stura, 8 giugno 1906.

² La causa giudiziaria fu intentata dalla «British Asbestos Company» entrata in società con la «Bender e Martiny» che nel frattempo aveva aperto uno stabilimento a Londra.

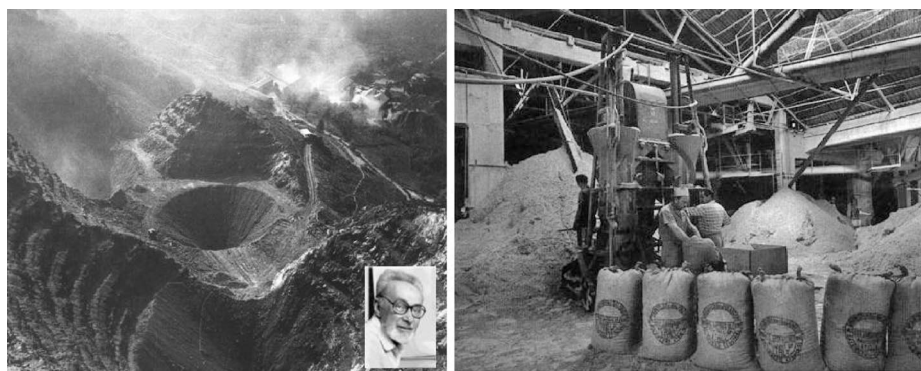


Fig. 3. (per gentile concessione di R.S.A. - s.r.l. (TO): *a sinistra*: miniera di crisotilo di Balangero negli anni '70. Primo Levi (nel riquadro a destra in basso) scrive a proposito ne «Il sistema periodico»: «In una collina tozza e brulla, tutta scbeggioni e sterpi, si affondava una ciclopica voragine conica, un cratere artificiale del diametro di quattrocento metri...» – *a destra*: operai al lavoro all'interno degli stabilimenti di Balangero negli anni '70. «C'era amianto dappertutto, come una neve cenerina: se si lasciava per qualche ora un libro su di un tavolo e poi lo si toglieva, se ne trovava il profilo in negativo;...» (tratto da Primo Levi «Il sistema periodico»).

vità lo stabilimento di Casale Monferrato (Al), il primo in Italia per produzione di cemento amianto. Nel 1960 vi lavorano 1650 operai [35].

La Eternit di Casale fa da sfondo ad una delle più gravi tragedie industriali del nostro paese: solo dal 1964 al 1986, anno in cui chiude i battenti per fallimento, si registrano fra gli operai 117 morti per cancro al polmone, 43 per asbestosi e 89 per mesotelioma [35]. Un eccesso di mesoteliomi si riscontra tra i familiari degli operai e tra i residenti della cittadina che non hanno mai lavorato nello stabilimento, il quale dista però poco più di 1000 m dal centro. Alla contaminazione proveniente direttamente dalla fabbrica – pur ridotta dagli anni '70 dopo la realizzazione di sistemi di filtraggio – si aggiunge quella trasmessa dagli operai alle famiglie attraverso le tute coperte di polvere e quella dovuta alla diffusione nel territorio casalese di scarti di lavorazione dell'amianto (il cosiddetto «polverino»), regalati dalla Eternit ai cittadini per realizzare pavimentazioni e coibentazioni.

Circa 20 anni dopo la chiusura, ad aprile 2009, si avvia a Torino, con grande eco mediatico (Fig. 4), il processo contro i titolari della Eternit accusati di disastro doloso. Dalla consulenza della procura emerge che sono 622 gli ex dipendenti morti per cause riconducibili all'esposizione all'amianto su un totale di 3.440 operai che lavorarono nello stabilimento dal 1950 al 1980.

Benché la sua pericolosità sia nota da tempo, la percezione pubblica della mortalità associata all'esposizione all'amianto si è consolidata solo negli anni '70.

Già Plinio il Giovane (61-114 a.C.) aveva osservato l'insorgenza di malattie negli schiavi che lavoravano con l'asbesto, osservazioni analoghe furono fatte da Agricola e da Paracelsio nel 1550, ma nessuno correlò queste patologie alla pre-

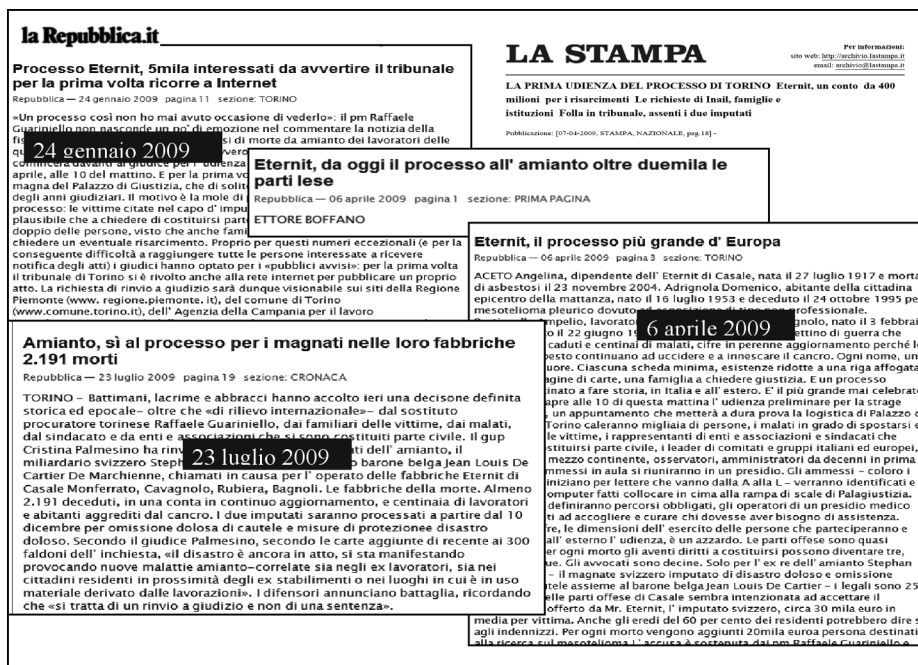


Fig. 4. Alcuni titoli di giornali sul processo ai titolari della Eternit di Casale Monferrato.

senza delle fibre. Nel 1914, il patologo tedesco Fahr [11] notò la presenza di cristalli (corpuscoli dell'asbesto, ossia fibre ricoperte di materiale proteico ed ossidi di ferro) nel polmone di una lavoratrice con fibrosi polmonare. Anche in questo caso però nessuna menzione dell'asbesto. E anche negli anni successivi quando apparvero evidenti numerosi casi di fibrosi tra i lavoratori dell'asbesto [43], le cause furono ricondotte all'inalazione di silice. Soltanto nel 1928 viene descritto il primo caso di fibrosi univocamente associabile alle fibre e si apre la strada al riconoscimento dell'asbestosi [49]. Sempre negli anni '30 appaiono le prime evidenze sulla correlazione tra esposizione agli amianti e cancro polmonare e nel '59/'60 si conferma anche la correlazione tra esposizione all'amianto e mesotelioma pleurico [57]. Nel corso degli anni seguenti, medici clinici, patologi ed epidemiologi contribuiscono alla descrizione delle principali malattie associate all'amianto. Da questo momento si moltiplicano anche gli studi sperimentali: nel 1981 Stanton sulla base di una serie di studi effettuati su ratti, osserva che le fibre lunghe e sottili sono più attive nell'indurre la comparsa del mesotelioma rispetto a quelle corte [51]. Questa teoria sarà seguita negli anni successivi e fatta propria anche da numerosi paesi che, nelle disposizioni di legge inerenti al monitoraggio delle fibre aerodisperse negli ambienti di lavoro, stabiliscono che debbano essere quantificate solo le fibre di lunghezza superiore ai 5 µm.

Nel 1977 la IARC [27] dichiara cancerogene le fibre di amianto, ma passano numerosi anni prima che l'utilizzo di questo materiale venga regolamentato e/o bandito dalla maggioranza degli stati occidentali³. L'amianto, infatti, viene tuttora utilizzato in Russia, Canada, India (Fig. 5), Cina, Brasile, Zimbabwe. La Federazione Russa ed i paesi asiatici consumano oggi l'85% dell'asbesto prodotto nel mondo.

In Italia una prima regolamentazione risale al 1986, quando vengono dati dei limiti piuttosto ristretti per la concentrazione di crocidolite (l'amianto che ha mostrato la maggiore patogenicità) negli ambienti di lavoro. Bisogna però attendere il 1992 (legge n. 257) affinché si arrivi al divieto, esteso a tutte le forme commerciali di amianto, di estrazione ed utilizzo di materiali contenenti asbesti. Questa scelta pone il nostro paese in una posizione avanzata rispetto ad altri stati, che fanno distinzione fra i diversi tipi di amianto e consentono un uso, seppure limitato, del crisotilo. Ciò permette di includere, nelle disposizioni di legge a favore del personale impiegato, tutti i lavoratori che sono stati esposti, indipendentemente dal tipo di amianto e di lavorazione eseguita. Diverso è l'atteggiamento del Canada,



Fig. 5. Famiglia di operai al lavoro in un'abitazione in India (2004). A terra e sui ripiani uno strato di fibre di amianto.

³ Stati in cui l'amianto risultava bandito nel 2005: Arabia Saudita, Argentina, Austria, Australia, Belgio, Cile, Danimarca, Finlandia, Francia, Gabon, Germania, Gran Bretagna, Honduras, Irlanda, Islanda, Italia, Kuwait, Lettonia, Lussemburgo, Norvegia, Olanda, Polonia, Seychelles, Slovenia, Spagna, Svezia, Svizzera, Uruguay.

ancora oggi uno dei maggiori produttori di crisotilo al mondo. Recentemente, ha fatto piuttosto scalpore la vicenda di un parere richiesto ad un gruppo di esperti dall'Health Canada, il ministero della salute canadese, sulle differenze di pericolosità tra il crisotilo canadese e gli altri tipi di amianto. Il rapporto conclusivo [5], che evidentemente non riportava quanto atteso in alcuni ambienti governativi, fu tenuto segreto per oltre 2 anni, malgrado interrogazioni parlamentari, articoli di denuncia [10] ed editoriali comparsi su riviste scientifiche [9, 42].

Lo scopo principale era, probabilmente, non far rientrare il crisotilo nella lista delle sostanze pericolose della convenzione di Rotterdam che ne regola il commercio verso paesi terzi.

Le malattie indotte dall'esposizione ad asbesto sono generalmente progressive e cumulative, alcune hanno una latenza di circa quindici-vent'anni, il mesotelioma anche di quaranta. Questa è la ragione per cui benché il suo uso sia stato vietato in molti paesi, ci si aspetti un numero di casi di mesoteliomi in crescita fino al 2020 (Fig. 6) [44].

Da anni si sta lavorando per cercare di chiarire quali siano i meccanismi molecolari che sono alla base della patogenicità di questi minerali.

Fino agli anni '80 (Fig. 7) le principali caratteristiche chimico-fisiche associate alla patogenicità erano la forma (le fibre sono più patogene di particelle con analoga composizione chimica) e le dimensioni (le fibre lunghe inducono una maggiore incidenza di mesoteliomi rispetto alle fibre corte) [51]. Infatti, il diametro influenza la respirabilità di una particella, mentre la lunghezza ne condiziona la penetrazione attraverso la parete alveolare e la deposizione nelle vie aeree terminali, dove il lume

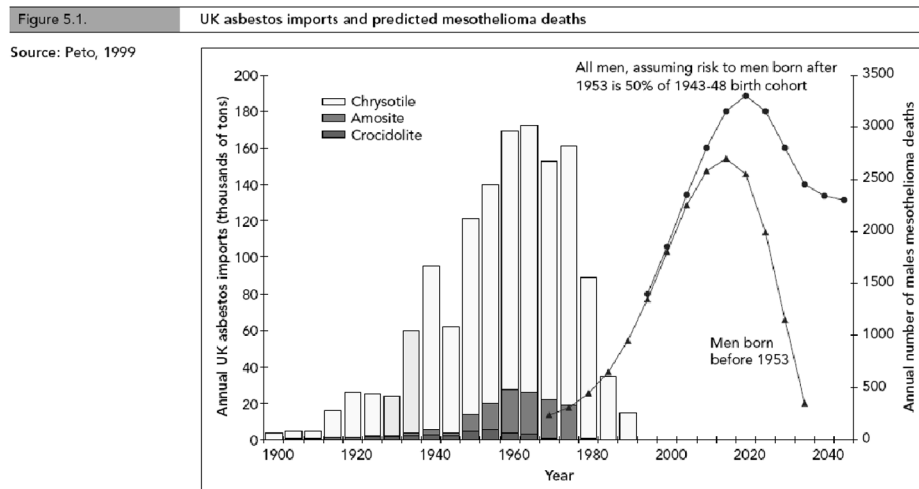


Fig. 6. Trend dell'incidenza di mesotelioma in Gran Bretagna comparato con il consumo di amianto (da Peto et al., 1999).

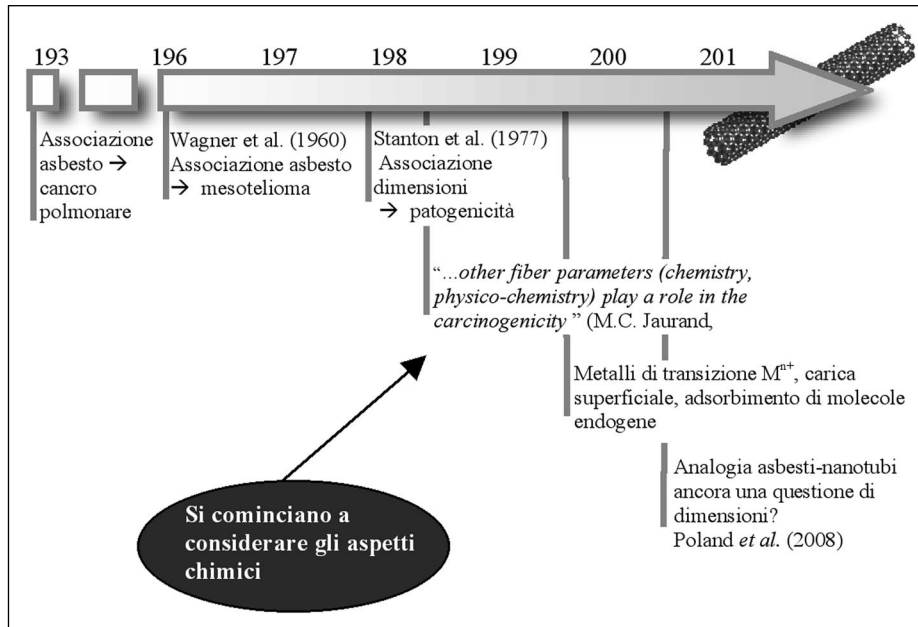


Fig. 7. Principali eventi che hanno contribuito a far luce sulla patogenicità degli asbesti.

assai ridotto aumenta la probabilità di intersezione. L'aumento della lunghezza delle fibre non solo porta, progressivamente, ad una loro minore rimovibilità dagli spazi alveolari tramite preventivo inglobamento da parte dei macrofagi [54], ma provoca anche una fagocitosi incompleta con conseguente danneggiamento della membrana citoplasmatica degli stessi macrofagi e liberazione di enzimi ossidanti e fluidi lisosomiali. È proprio durante questa fase che possono essere rilasciate specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto in grado di danneggiare i tessuti circostanti.

Grande importanza è sempre stata assegnata anche alla biopersistenza/durabilità delle fibre, legando il potenziale dannoso di un solido alla sua capacità di rimanere, a lungo e largamente inalterato, all'interno dell'organismo.

Dagli anni '90 si comincia a considerare la generazione di radicali liberi e di specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto, si riconosce il ruolo della presenza di metalli di transizione, principalmente ferro [20, 34, 55], sulla superficie delle fibre nel rilascio delle specie radicaliche [26, 32] e la «chimica di superficie» nel suo insieme [14, 30] viene finalmente presa in considerazione.

Il particolato nell'inquinamento atmosferico urbano

Soltanto negli ultimi anni (Fig. 8) è emerso che l'esposizione all'inquinamento atmosferico provoca seri danni alla salute. Lo ha dimostrato, in maniera eclatante,

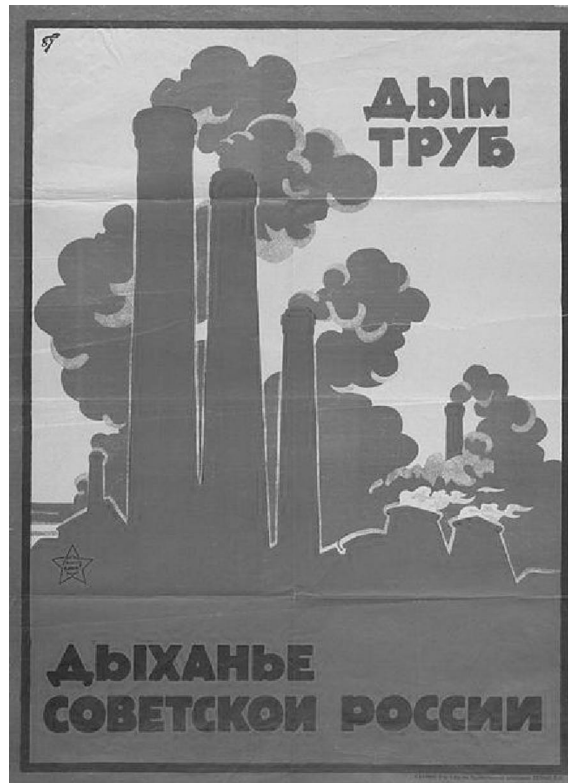


Fig. 8. «Il fumo delle ciminiere è il respiro della Russia Sovietica» recita questo cartello propagandistico degli anni '50.

il «Great smog» di Londra del 1952 [52], sicuramente il più grave episodio di inquinamento avvenuto nel Regno Unito, che portò in pochi mesi alla prematura scomparsa di circa 4000 persone. Studi sulla correlazione tra decessi/morbilità e concentrazione di particelle hanno portato ad individuare i primi legami tra esposizione a particelle fini ed ultrafini ed effetti sulla salute e conseguentemente all'individuazione di valori limiti per le particelle fini nell'ambiente da parte dell'Environmental Protection Agency – USA (1987). Il particolato derivante da emissioni dei motori diesel è stato uno dei primi a catturare l'attenzione del mondo scientifico [38], ma la presa di coscienza sul possibile rischio dovuto a particelle fini/ultrafini è avvenuta lentamente sulla base di studi di tossicologia, il cui numero è progressivamente aumentato a partire dalla fine degli anni '90 [41]. In periodi antecedenti alcuni studi pionieristici sui fumi di saldatura, in cui per altro si ignorava la presenza di particelle ultrafini, e su «fumed silica», evidenziano episodi infiammatori acuti del tratto respiratorio in lavoratori esposti [8, 7]. Negli anni '80 alcuni studi

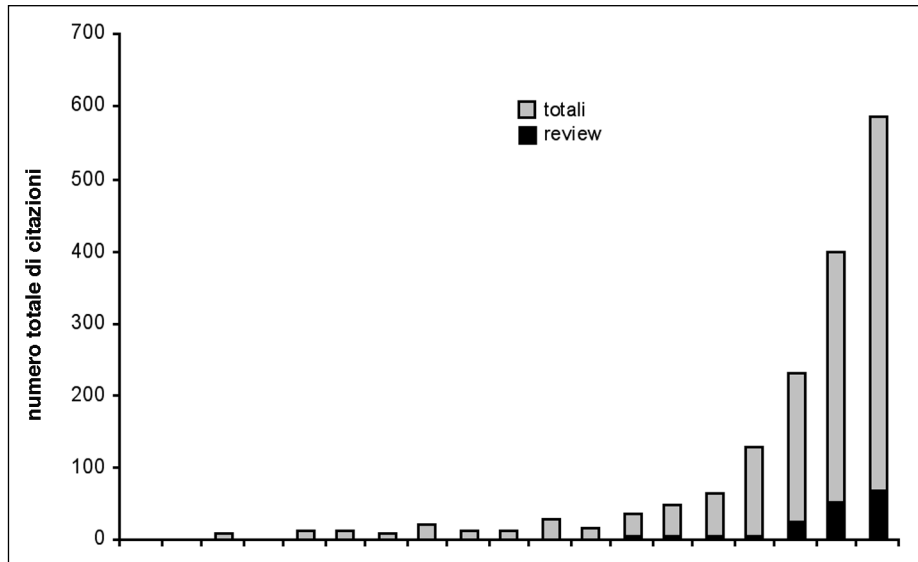


Fig. 9. Quantità di pubblicazioni sulle nanoparticelle apparse negli ultimi vent'anni su riviste scientifiche (fonte ISI Web of Knowledge).

in vivo su nanoparticelle di ossido di zinco confermano le osservazioni epidemiologiche [1, 36]. Vengono pubblicati i primi studi sulla traslocazione della particelle e «l'uptake» cellulare e nel 1994 l'International Commission on Radiological Protection (ICRP-USA) fornisce le prime dettagliate informazioni sulla deposizione delle particelle ultrafini nel tratto respiratorio che mostrano come le particelle di dimensioni inferiori a $100 \mu\text{m}$ siano in grado di distribuirsi ovunque, ma in maniera dimensione dipendente [41].

Intorno alla metà degli anni '90 emerge per alcuni tipi di nanoparticelle una correlazione fra area superficiale e tossicità [39]; verso la fine degli stessi anni molti studi sembrano indicare il danno ossidativo come uno dei principali meccanismi di tossicità per alcuni tipi di nanoparticelle come carbon black [53], polystyrene [2] e metalli [58].

Il nuovo millennio vede un incremento degli studi su particelle derivanti da nanotecnologie (Fig. 9) (nanotubi di carbonio, quantum dots ecc.) e sulla traslocazione di queste in vari organi e tessuti.

La crescente attenzione della comunità scientifica al possibile rischio per la salute associato all'inalazione di nanoparticelle ha però velocemente raggiunto anche i media sotto forma di un allarme generalizzato verso qualunque tipo di nanoparticella.

Effettivamente, nell'intervallo dimensionale nanometrico ($<100 \mu\text{m}$) i materiali presentano proprietà diverse da quelle possedute dagli stessi materiali con dimen-

sioni maggiori: elevata area superficiale e conseguente elevato rapporto tra gli atomi di superficie e gli atomi del bulk, forze interparticellari spesso pronunciate che possono portare alla formazione di aggregati o agglomerati, possibilità di migrazione in diversi compartimenti biologici. In alcuni casi la riduzione della taglia può portare all'insorgenza di reattività specifiche non presenti negli analoghi materiali micrometrici. Ciò non implica, tuttavia, che tutte le nanoparticelle siano più tossiche dello stesso materiale micrometrico [18].

Oggi è ormai assodato che accanto alle dimensioni debbano essere presi in considerazione numerosi altri parametri: dalla composizione chimica all'area superficiale, dalla cristallinità alla biopersistenza, al metodo di preparazione [40]. Ognuno di essi influisce, infatti, in modo determinante sulla tossicità del materiale nanometrico. Pertanto, ancora una volta vale l'assunto che ogni tipologia di nanoparticelle debba essere valutata singolarmente e che la chimica, in special modo la chimica di superficie e la chimica dei materiali, abbia un ruolo non certo trascurabile nel determinarne la pericolosità.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Amdur M.O., J.F. McCarthy, M.W. Gill, 1982. Respiratory response of guinea pigs to zinc oxide fume. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 43, 887-889.
- [2] Brown D.M., M.R. Wilson, W. MacNee, V. Stone, K. Donaldson, 2001. Size-dependent proinflammatory effects of ultrafine polystyrene particles: a role for surface area and oxidative stress in the enhanced activity of ultrafines particles. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 175, 191-199.
- [3] Castranova V., V. Vallyathan, W.E. Wallace, CRC Press Inc (ed), 1996. *Silica and Silica-Induced Lung Diseases*. Boca Raton, F. USA.
- [4] Cherniack M. (ed), 1986. *The Hawk's Nest Incident: America's Worst Industrial Disaster*. Yale University Press, Yale, 1-194.
- [5] Chrysotile Asbestos Expert Panel, 2009. Chrysotile asbestos consensus statement and summary.
- [6] Donaldson K., P.J. Borm, 1998. The quartz hazard: a variable entity. *Annals of Occupational Hygiene*, 42, 287-294.
- [7] Drinker P., R.M. Thomson, J.L. Finn, 1927. Metal fume fever: IV. Threshold doses of zinc oxide preventive measures and the chronic effects of repeated exposures. *Journal of Industrial Hygiene*, 9, 331-345.
- [8] Drinker P., R.M. Thomson, J.L. Finn, 1927. Metal fume fever: II. Resistance acquired by inhalation of zinc oxide on two successive days. *Journal of Industrial Hygiene*, 9, 98-105.
- [9] Editorial, 2008. Asbestos mortality: a canadian export. *Canadian Medical Association Journal*, 179, 871-872.
- [10] Editorial, 2008. Asbestos panel chair mystified by secrecy surrounding report. *Canadian Medical Association Journal*, 180, 1100-1101.
- [11] Fahr T, 1914. Demonstrationen: Präparate und Microphotogrammes von einen Falle von Pneumokoniose. *Muenchen Medizin Wochen*, 11, 625-628.
- [12] Fubini B., 1998. Health effects of silica. In: *The Surface Properties of Silica* (Legrand, ed.) J. Wiley and Sons, Chichester, United Kingdom, 415-464.

- [13] Fubini B., 1998. Surface chemistry and quartz hazard. *Annals of Occupational Hygiene*, 42, 521-530.
- [14] Fubini B., C.O. Arean, 1999. Chemical aspects of the toxicity of inhaled mineral dusts. *Chemical Society Reviews*, 28, 373-381.
- [15] Fubini B., V. Bolis, A. Cavenago, M. Volante, 1995. Physicochemical properties of crystalline silica dusts and their possible implication in various biological responses. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 21 Suppl 2, 9-14.
- [16] Fubini B., I. Fenoglio, 2007. Toxic potential of mineral dusts. *Elements*, 3, 407-414.
- [17] Fubini B., I. Fenoglio, Z. Elias, O. Poirot, 2001. Variability of biological responses to silicas: effect of origin, crystallinity, and state of surface on generation of reactive oxygen species and morphological transformation of mammalian cells. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 20 (1), 95-108.
- [18] Fubini B., I. Fenoglio, M. Tomatis, 2005. Physicochemical characteristics of nanoparticles that determine potential toxicity. In: *Nanotoxicology: characterization, dosing and health effects*, Monteiro-Riviere N. and Tran Lang C. Eds, Informa Healthcare, New York, 59-70.
- [19] Fubini B., A. Hubbard, 2003. Reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) generation by silica in inflammation and fibrosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 34, 1507-1516.
- [20] Fubini B., L. Mollo, E. Giamello, 1995. Free radical generation at the solid/liquid interface in iron containing minerals. *Free Radical Research*, 23, 593-614.
- [21] Fubini B., G. Zanetti, S. Altiglia, R. Tiozzo, D. Lison, U. Saffiotti, 1999. Relationship between surface properties and cellular responses to crystalline silica: studies with heat-treated cristobalite. *Chemical Research in Toxicology*, 12, 737-745.
- [22] Gutteridge J.M., B. Halliwell, 1989. Iron toxicity and oxygen radicals. *Bailliere's Clinical Haematology*, 2, 195-256.
- [23] Halliwell B., J.M. Gutteridge, 1986. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 246, 501-514.
- [24] Halliwell B., J.M. Gutteridge, 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in Enzymology*, 186, 1-85.
- [25] Halliwell B., J.M. Gutteridge, 1985. The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. *Molecular Aspects of Medicine*, 8, 89-193.
- [26] Hardy J.A., A.E. Aust, 1995. Iron in asbestos chemistry and carcinogenicity. *Chemical Reviews*, 95, 97-111.
- [27] IARC, 1977. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man: asbestos. 14, 1-106.
- [28] IARC, 1997. Monograph on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Silica, some silicates, coal dusts para-amid fibrils.
- [29] IARC, 2009. A review of human carcinogens.
- [30] Jaurand M.C., L. Magne, J.L. Boulmier, J. Bignon, 1981. In vitro reactivity of alveolar macrophages and red blood cells with asbestos fibres treated with oxalic acid, sulfur dioxide and benzo-3,4-pyrene. *Toxicology*, 21, 323-342.
- [31] Jaurand M.C., A. Renier, J. Daubriac, 2009. Mesothelioma: do asbestos and carbon nanotubes pose the same health risk? *Particle and Fibre Toxicology*, 6, 16-17.
- [32] Kamp D.W., P. Graceffa, W.A. Pryor, S.A. Weitzman, 1992. The role of free radicals in asbestos-induced diseases. *Free Radical Biology and Medicine*, 12, 293-315.
- [33] Kane A.B., R.H. Hurt, 2008. Nanotoxicology: the asbestos analogy revisited. *Nature Nanotechnology*, 3, 378-379.
- [34] Lund L.G., A.E. Aust, 1991. Iron-catalyzed reactions may be responsible for the biochemical and biological effects of asbestos. *Biofactors*, 3, 83-89.

- [35] Magnani C., B. Terracini, C. Ivaldi, M. Botta, A. Mancini, A. Andrion, 1995. Pleural malignant mesothelioma and non-occupational exposure to asbestos in Casale Monferrato, Italy. *Occupational and Environmental Medicine*, 52, 362-367.
- [36] McCarthy J.F., G.J. Yurek, J.F. Elliott, M.O. Amdur, 1982. Generation and characterization of submicron aerosols of zinc oxide. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 43, 880-886.
- [37] National Institute for Occupational Safety and Health, 1974. Criteria for recommended standard: occupational exposure to crystalline silica.
- [38] Oberdorster G., R.M. Celein, J. Ferin, B. Weiss, 1995. Association of Particulate Air Pollution and Acute Mortality: Involvement of Ultrafine Particles? *Inhalation Toxicology*, 7, 111-124.
- [39] Oberdorster G., J. Ferin, R. Gelein, S.C. Soderholm, J. Finkelstein, 1992. Role of the alveolar macrophage in lung injury: studies with ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, 97, 193-199.
- [40] Oberdorster G., E. Oberdorster, J. Oberdorster, 2005. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, 113, 823-839.
- [41] Oberdorster G., V. Stone, K. Donaldson, 2007. Toxicology of nanoparticles: A historical perspective. *Nanotoxicology*, 1, 2-25.
- [42] Ogden T., 2008. Canada, chrysotile, and the search for truth. *Annals of Occupational Hygiene*, 52, 673-674.
- [43] Pancoast H.K., Pancoast E.P., 1925. A review of our present knowledge of pneumoconiosis, based upon roentgenologic studies, with notes on the pathology of the condition. *American Journal of Roentgenology and Radium Therapy*, 14, 381-385.
- [44] Peto J., A. Decarli, V.C. La, F. Levi, E. Negri, 1999. The European mesothelioma epidemic. *British Journal of Cancer*, 79, 666-672.
- [45] Poland C.A., R. Duffin, I. Kinloch, A. Maynard, W.A. Wallace, A. Seaton, V. Stone, S. Brown, W. MacNee, K. Donaldson, 2008. Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study. *Nature Nanotechnology*, 3, 423-428.
- [46] Rovida C.L., 1871. Un caso di silicosi del polmone con analisi chimica. *Annali di Chimica Applicati alla Medicina*, 13, 102-105.
- [47] Ryman-Rasmussen J.P., M.F. Cesta, A.R. Brody, J.K. Shipley-Phillips, J.I. Everitt, E.W. Tewksbury, O.R. Moss, B.A. Wong, D.E. Dodd, M.E. Andersen, J.C. Bonner, 2009. Inhaled carbon nanotubes reach the subpleural tissue in mice. *Nat Nano*, advance online publication.
- [48] Sanchez V.C., J.R. Pietruska, N.R. Miselis, R.H. Hurt, A.B. Kane, 2009. Biopersistence and potential adverse health impacts of fibrous nanomaterials: what have we learned from asbestos? *Nanomedicine*, 1, 511-529.
- [49] Seiler H.E., 1928. A case of pneumoconiosis result of the inhalation of asbestos dust. *British Medical Journal*, 2, 980-982.
- [50] Selikoff I.J.L.D. (ed), 1978. *Asbestos and disease*. Academic Press, New York.
- [51] Stanton M.F., M. Layard, A. Tegeris, E. Miller, M. May, E. Morgan, A. Smith, 1981. Relation of particle dimension to carcinogenicity in amphibole asbestoses and other fibrous minerals. *Journal of the National Cancer Institute*, 67, 965-975.
- [52] Stegeman J.J., A.R. Solow, 2002. A Look Back at the London Smog of 1952 and the Half Century Since; A Half Century Later: Recollections of the London Fog. *Environmental Health Perspectives*, 110, 733-734.
- [53] Stone V., J. Shaw, D.M. Brown, W. MacNee, S.P. Faux, K. Donaldson, 1998. The role of oxidative stress in the prolonged inhibitory effect of ultrafine carbon black on epithelial cell function. *Toxicology in Vitro*, 12, 649-659.

- [54] Timbrell V., 1982. Deposition and retention of fibres in the human lung. *Annals of Occupational Hygiene*, 26, 347-369.
- [55] Turver C.J., R.C. Brown, 1987. The role of catalytic iron in asbestos induced lipid peroxidation and DNA-strand breakage in C3H10T1/2 cells. *British Journal of Cancer*, 56, 133-136.
- [56] Virta R.L., 2002. Asbestos; geology, mineralogy, mining and uses U.S. Geological Survey Open-File report. 149,
- [57] Wagner J.C., C.A. Sleggs, P. Marchand, 1960. Diffuse pleural mesothelioma and asbestos exposure in the North Western Cape Province. *British Journal of Industrial Medicine*, 17, 260-271.
- [58] Zhang Q., Y. Kusaka, K. Sato, K. Nakakuki, N. Kohyama, K. Donaldson, 1998. Differences in the extent of inflammation caused by intratracheal exposure to three ultrafine metals: role of free radicals. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 53, 423-438.