



# FONDAMENTI CHIMICI E GENETICI DELLO SVILUPPO TUMORALE AMIANTO-CORRELATO

Loirella Pascolo



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI DI TRIESTE

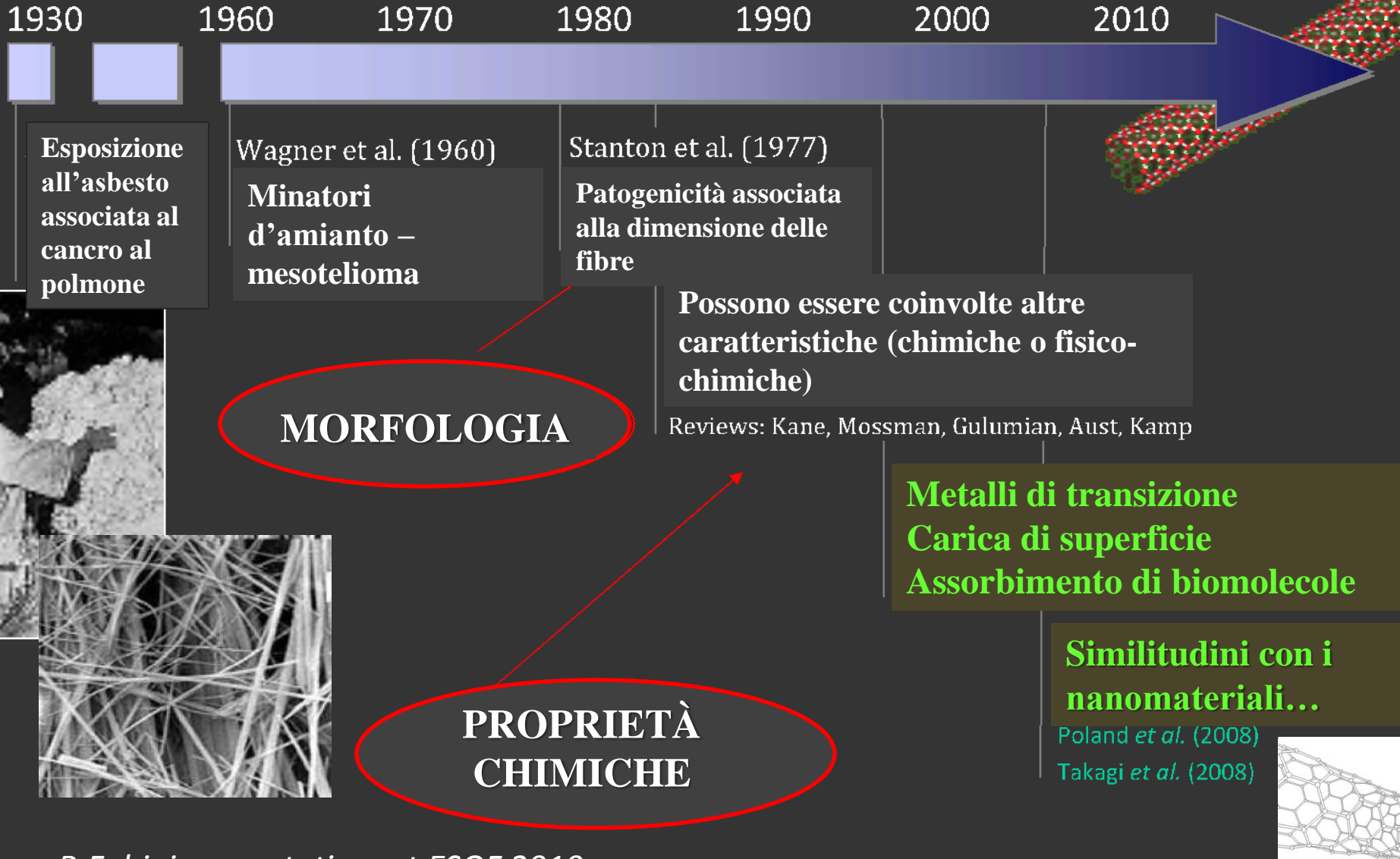
# **UTILIZZO DELLA LUCE DI SINCROTRONE PER STUDIARE I METABOLISMI COINVOLTI NELLA RISPOSTA DEL TESSUTO ALL' AMIANTO**

**Spettromicoscopie avanzate a raggi X e spettroscopie vibrazionali (imaging chimico) su campioni istologici e cellulari**

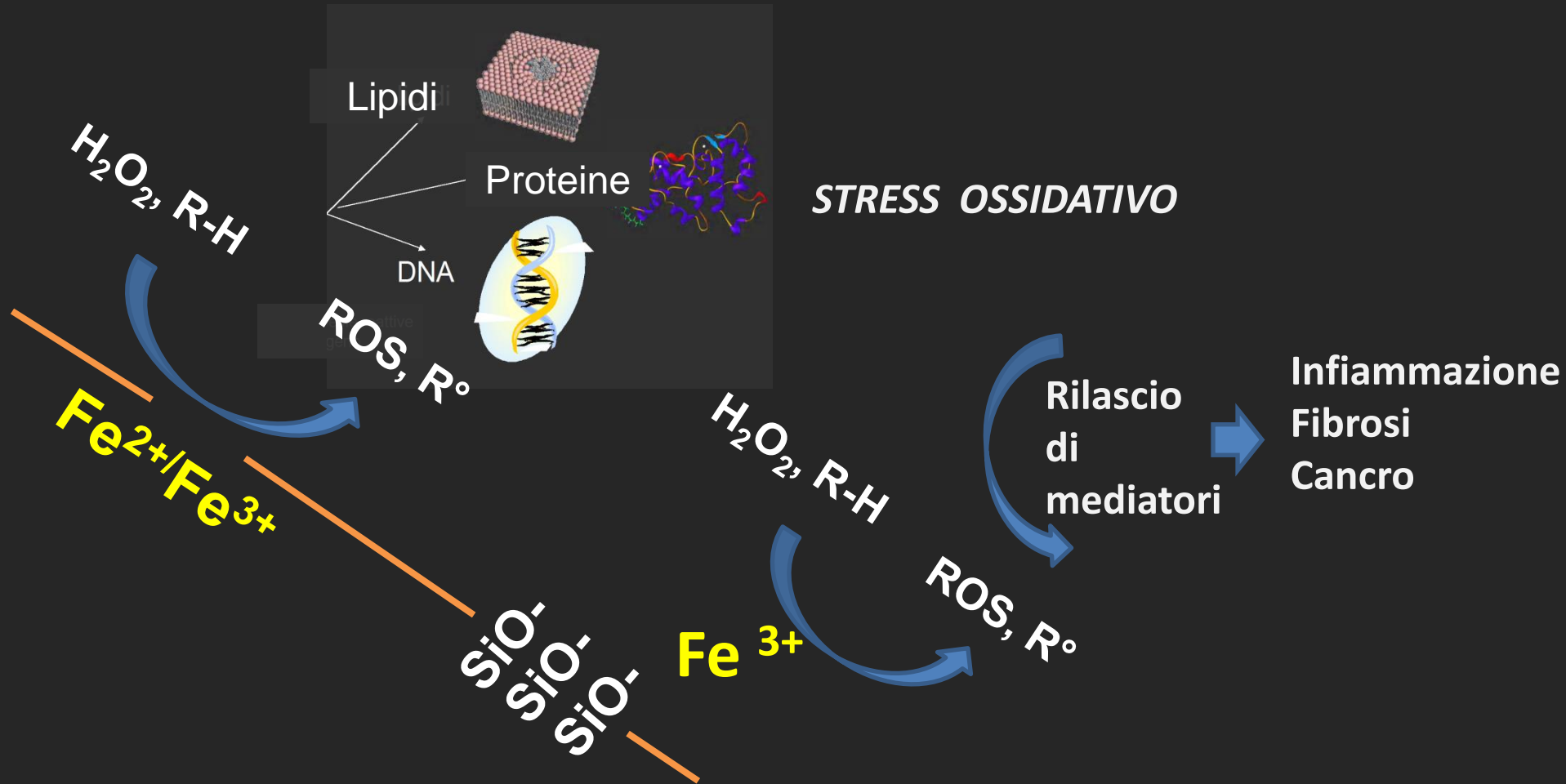
**Le informazioni morfologiche e chimiche permettono di:**

- tracciare la presenza dell'amianto nei campioni di tessuto di polmone (nuovi protocolli)**
- studiare l'interazione chimica tra fibre e tessuto (risposta dell'organismo)**
  - formazione dei corpi dell'amianto**
  - effetto delle fibre a livello della pleura**
  - ipotesi molecolari**

# Le caratteristiche dell'amianto che determinano la sua patogenicità



# Effetti biologici delle fibre di amianto: Il ruolo centrale del ferro



*Le fibre contengono metalli di transizione che catalizzano la formazione di radicali liberi  
L'amianto ha una superficie di gruppi chimici (del silicio) che attrae cationi  
Il Fe<sup>3+</sup> complessa con il silicio "carico" in modo molto stabile. Non ci sono enzimi capaci di rimuoverlo. (Ghio 2008)*

# Effetti biologici delle fibre di amianto: Il ruolo centrale del ferro

$Fe^{2+}/Fe^{3+}$   
 $SiO_2$

HOMg	MgOH
HOMg	MgOH
HOMg	MgO <sup>-</sup>
HOMg	MgOH
-OMg	MgOH
Fe <sup>3+</sup> -OSi	SiO <sup>-</sup>
-OSi	SiO <sup>-</sup> Fe <sup>3+</sup>
-OSi	SiO <sup>-</sup>
Fe <sup>3+</sup> -OSi	SiO <sup>-</sup>
-OSi	SiO <sup>-</sup> Fe <sup>3+</sup>
-OSi	SiO <sup>-</sup>

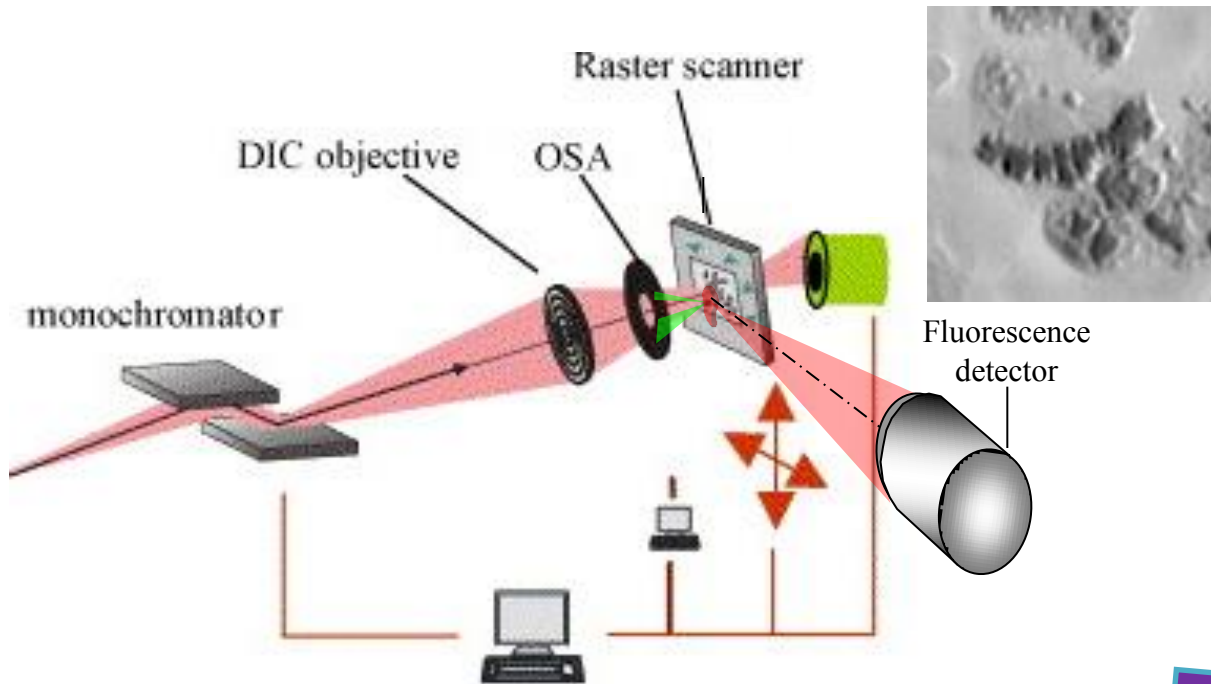
Inertizzazione o aumento della tossicità?

...all'interno dei macrofagi.....

*Le fibre contengono metalli di transizione che catalizzano la formazione di radicali liberi  
 L'amianto ha una superficie di gruppi chimici (del silicio) che attrae cationi  
 Il Fe<sup>3+</sup> complessa con il silicio "carico" in modo molto stabile. Non ci sono enzimi capaci di rimuoverlo. (Ghio 2008)*

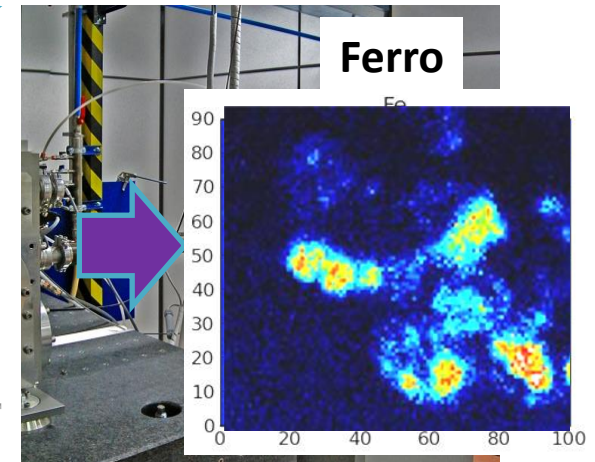
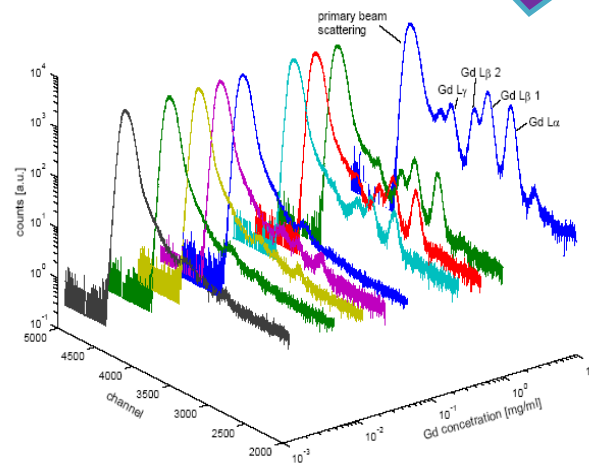
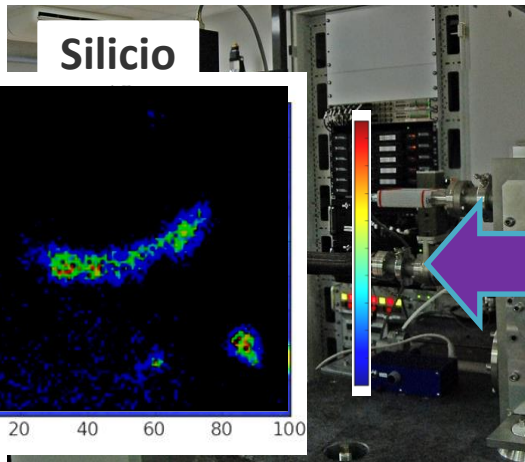
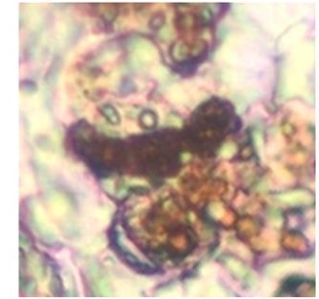


# MICROSCOPIA e FLUORESCENZA a RAGGI X con luce di SINCROTRONE



Assorbimento

Immagine ottica



# ANALISI DI SPETTROMICROSCOPIA IN 3 SINCROTRONI cambiando energie usate e risoluzione spaziale



Radiazione 12 keV  
(Ca, **Fe**, **Zn**, Ti, Ni)



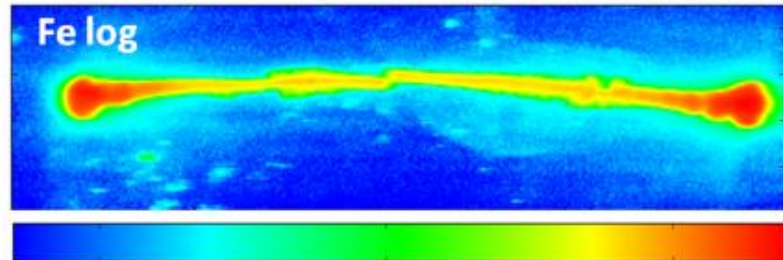
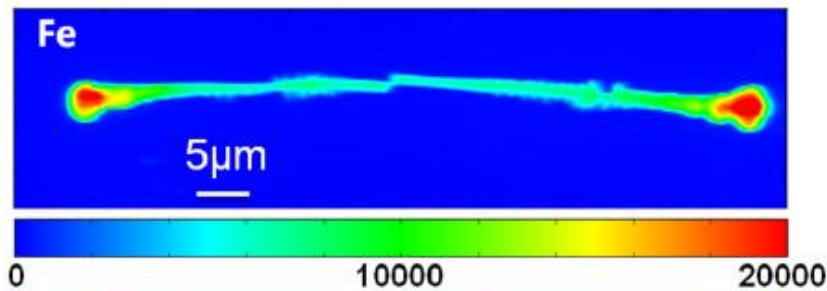
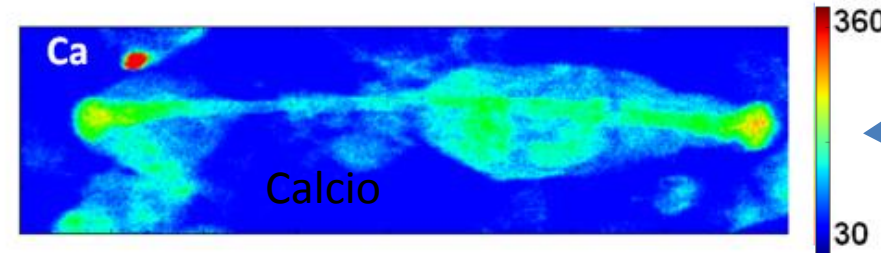
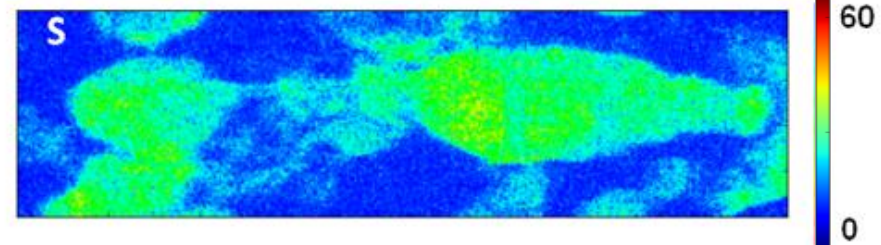
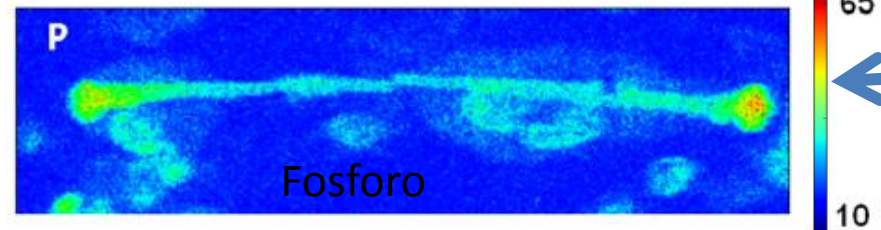
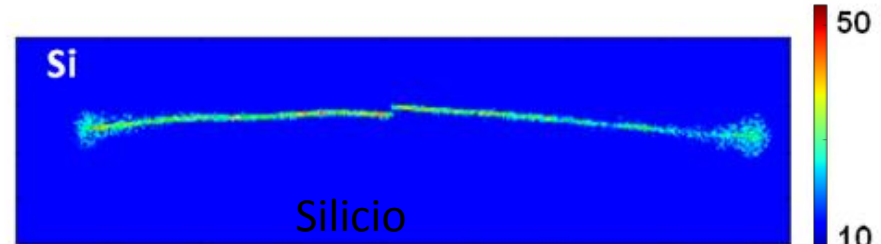
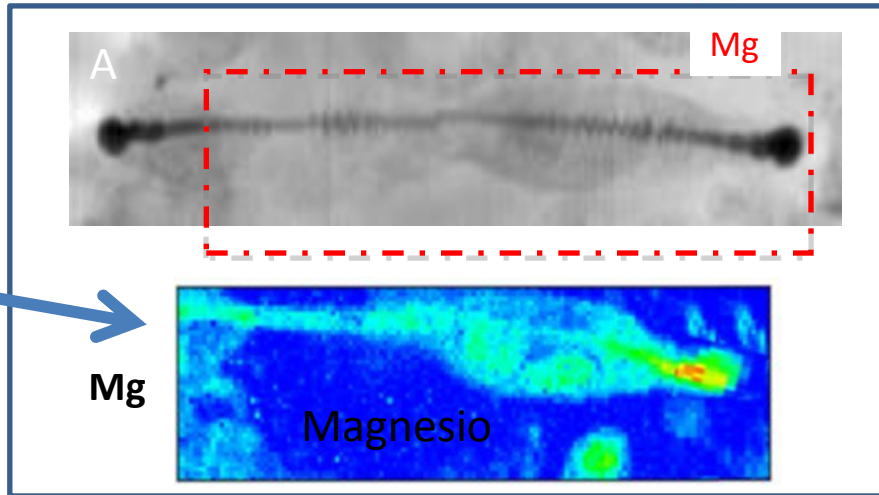
Radiazione 7 keV  
(K, P, S, Ca, **Fe**, Cr)

Radiazione 2 keV  
(C, O, Na, **Si**, Mg, Al)





# Meccanismo di formazione dei corpi dell'amianto: partecipazione di diversi elementi chimici





# FIBRE NON RICOPERTE e CORPI DELL' AMIANTO

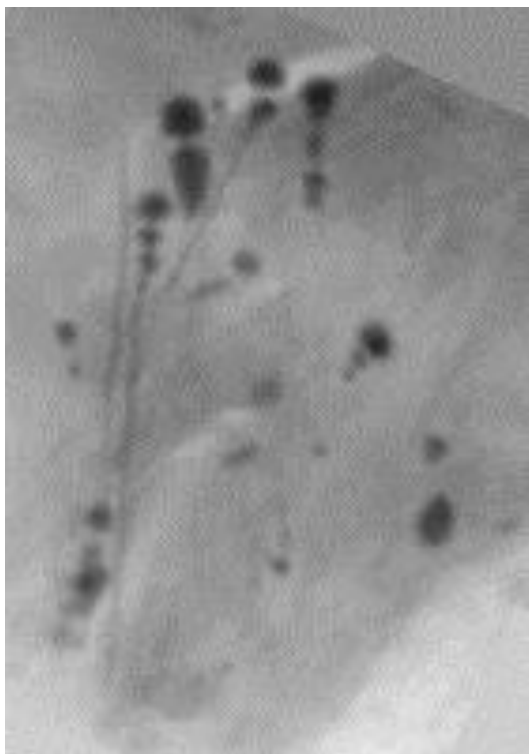
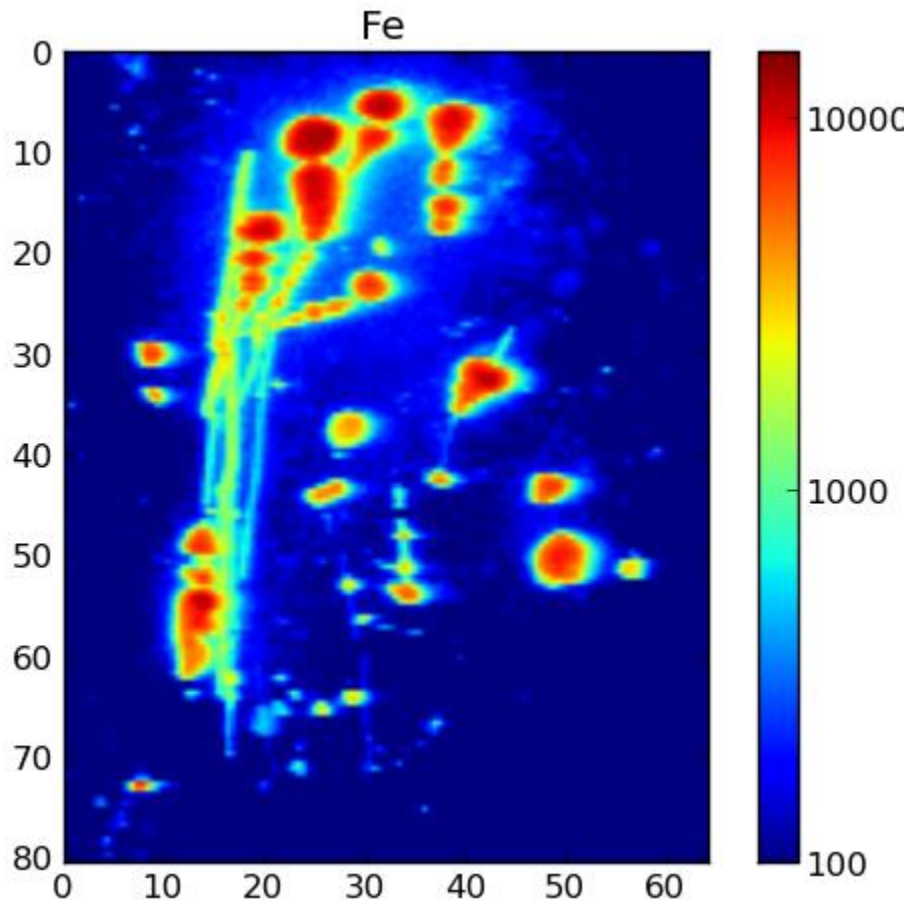
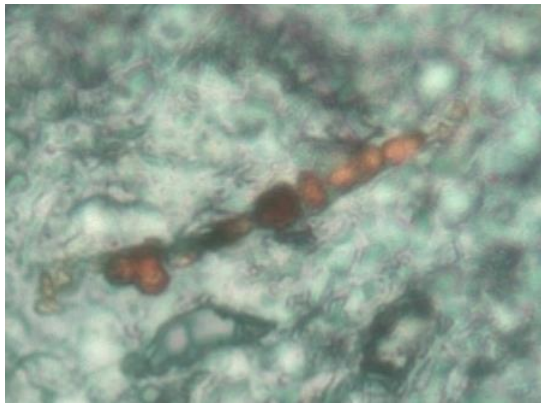


IMMAGINE IN ASSORBIMENTO



Diversi livelli di interazione fibre e ferro.

La presenza dell'amianto causa nel polmone un'alterazione del metabolismo del ferro (mobilitazione)



# Il ruolo del Ferro

## I corpi non sono strutture inerti



SCIENTIFIC  
REPORTS



SUBJECT AREAS:

MESOTHELIOMA

IRON

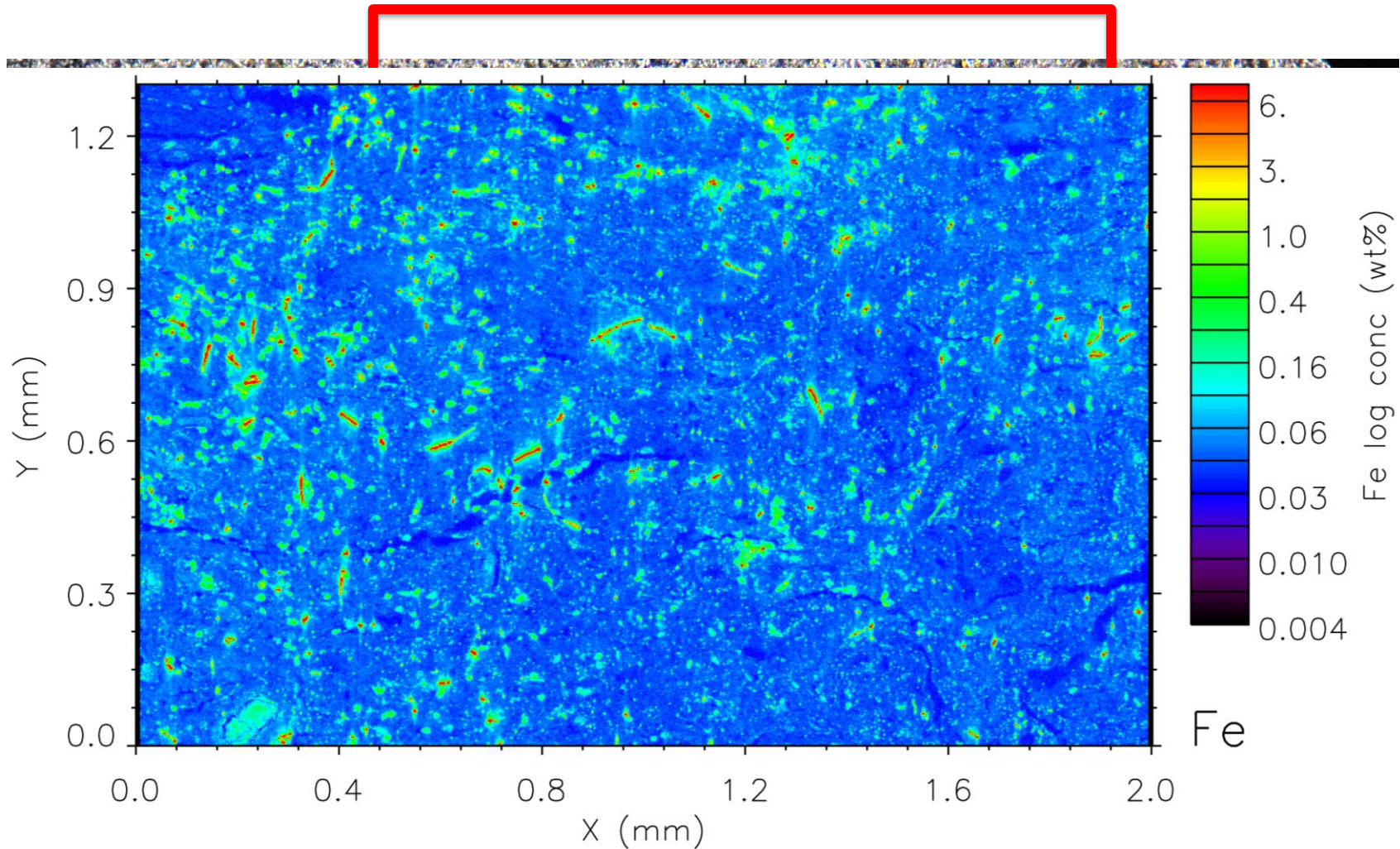
ONCOGENESIS

MECHANISMS OF DISEASE

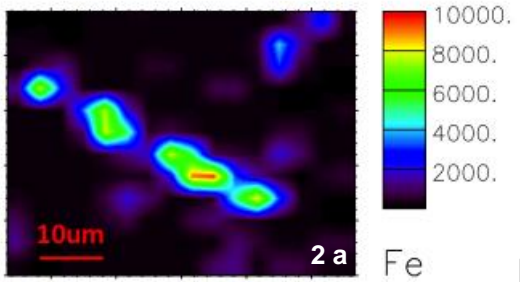
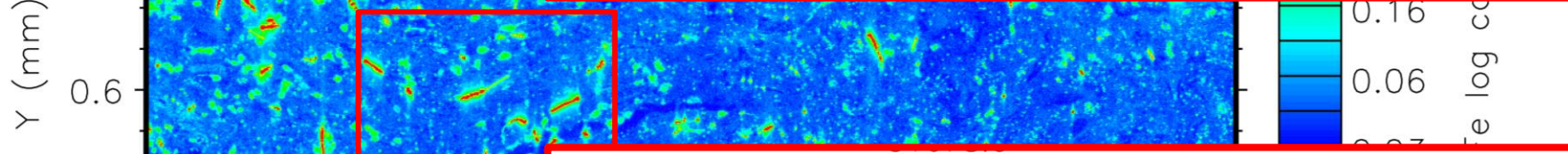
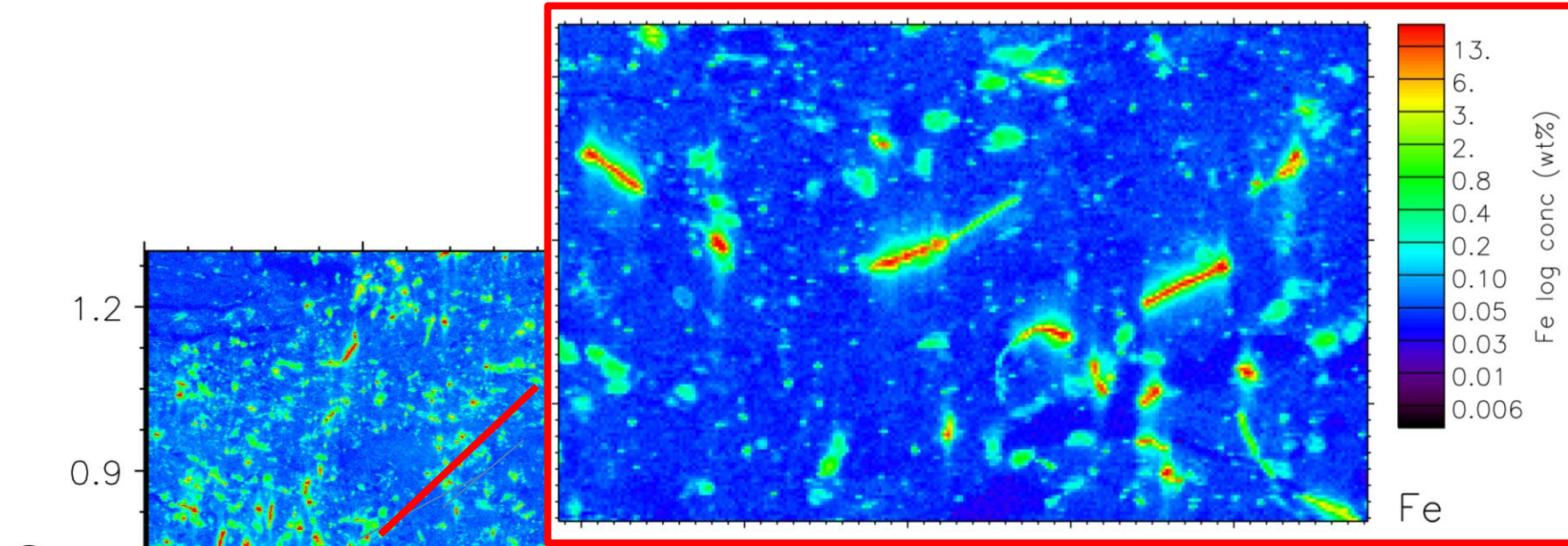
# The interaction of asbestos and iron in lung tissue revealed by synchrotron-based scanning X-ray microscopy

Lorella Pascolo<sup>1</sup>, Alessandra Gianoncelli<sup>2</sup>, Giulia Schneider<sup>3</sup>, Murielle Salomé<sup>4</sup>, Manuela Schneider<sup>5</sup>, Carla Calligaro<sup>6</sup>, Maya Kiskinova<sup>2</sup>, Mauro Melato<sup>1</sup> & Clara Rizzardi<sup>3</sup>

# Analisi XRF a livello millimetrico al Sincrotrone Australiano: entità dell'aumento del ferro



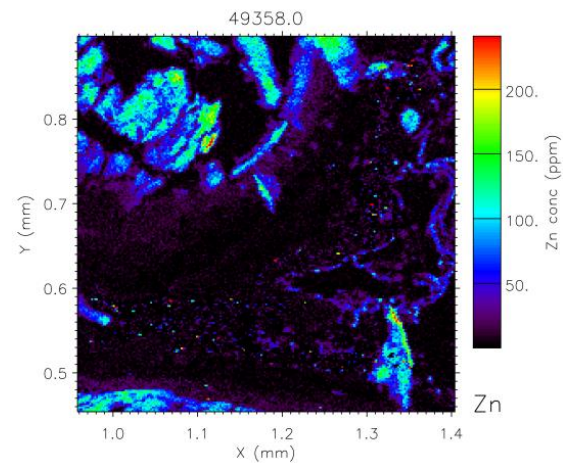
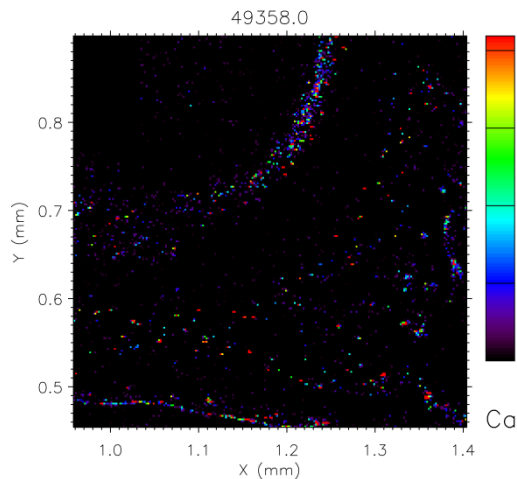
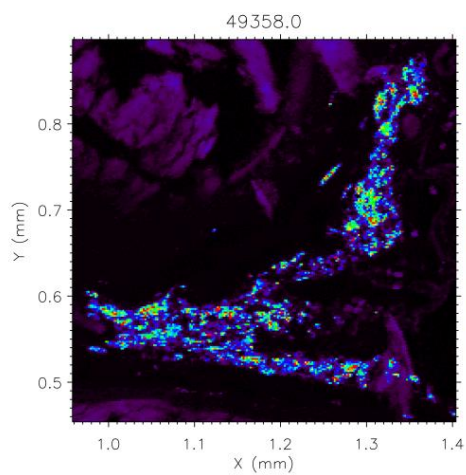
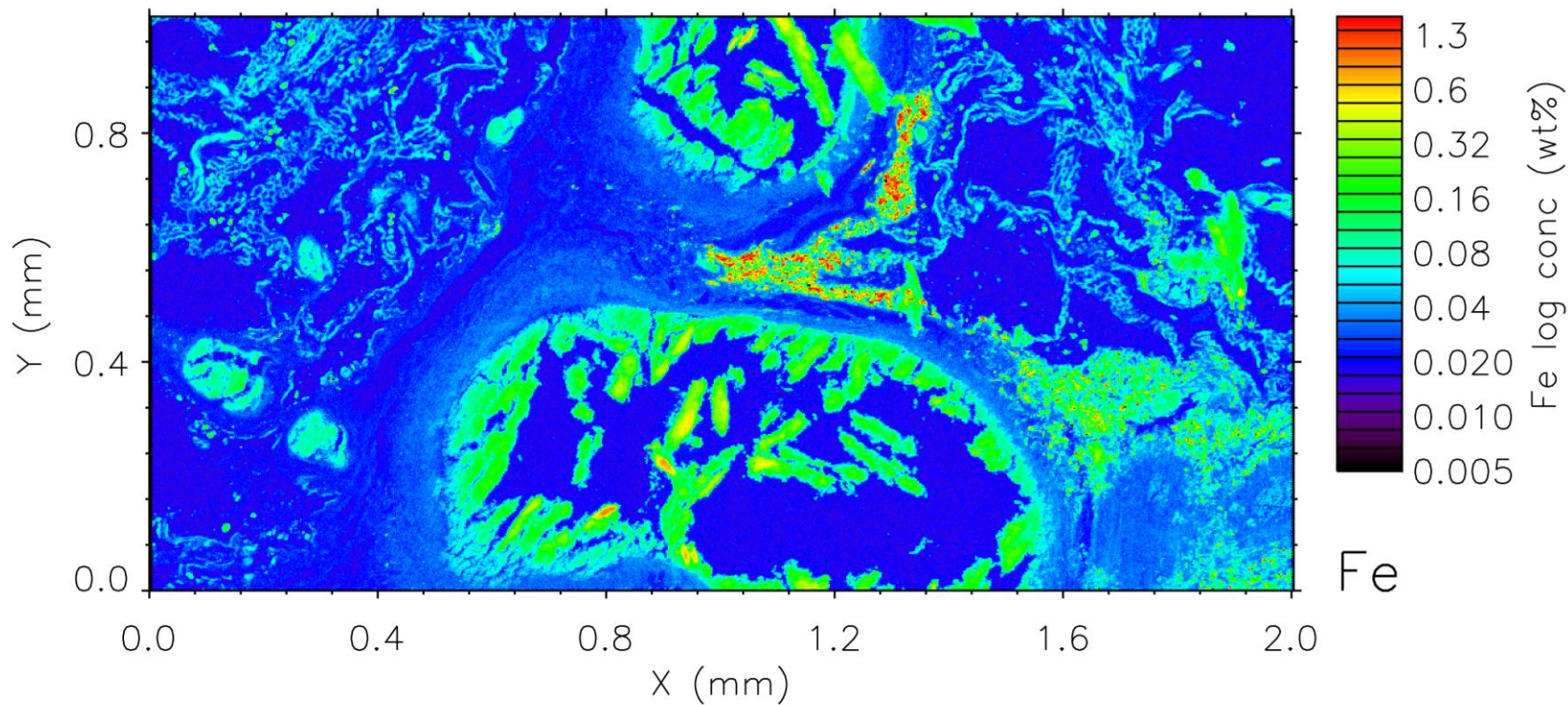




Fibra di crocidolite isolata



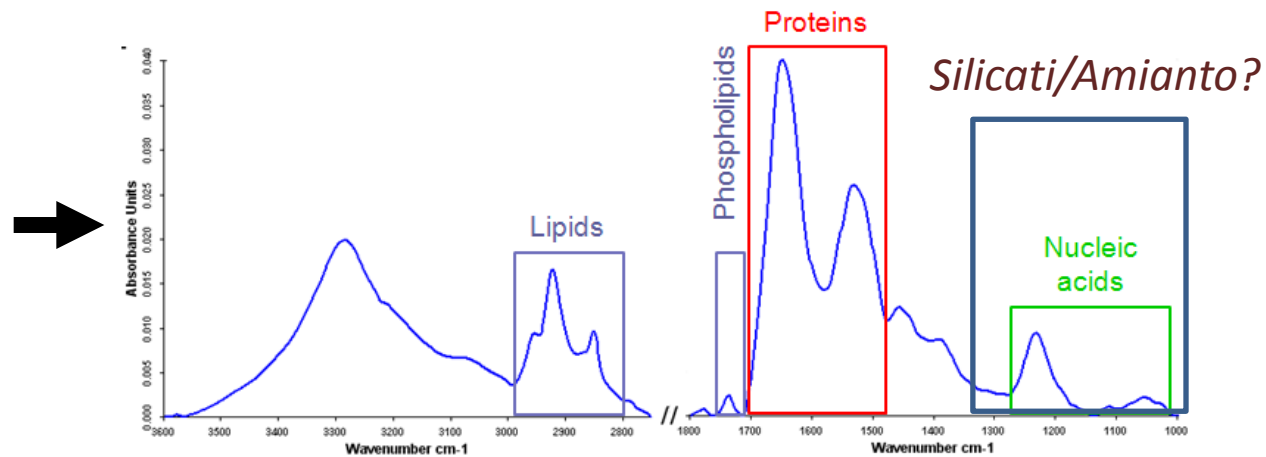
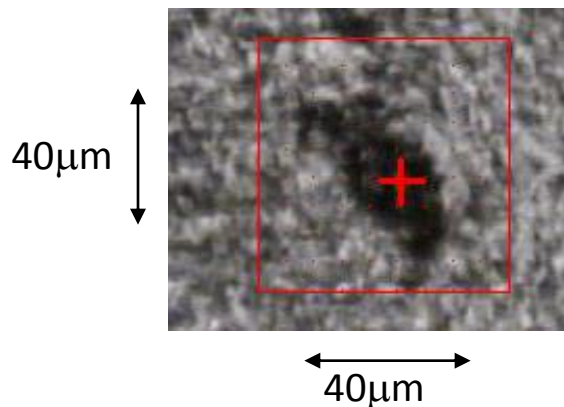
# Altri inquinanti- paziente non esposto



# Altra tecnica di imaging chimico utilizzabile presso i sincrotroni: microscopia FT-IR

La microscopia FT-IR è un metodo riconosciuto per l'identificazione e localizzazione spaziale di specifiche sostanze in campioni complessi

**Recentemente applicata su campioni biologici, con prospettive diagnostiche**

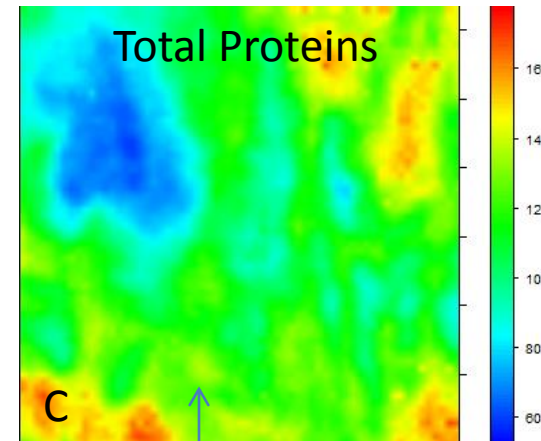
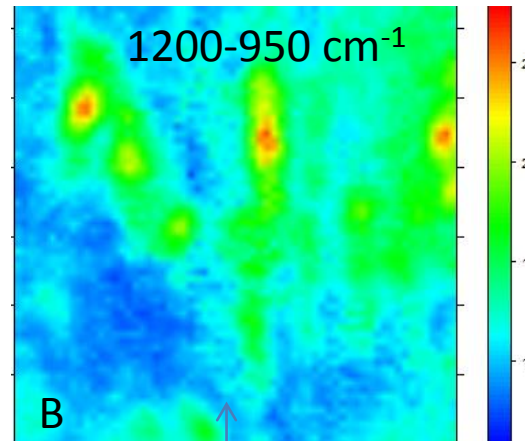
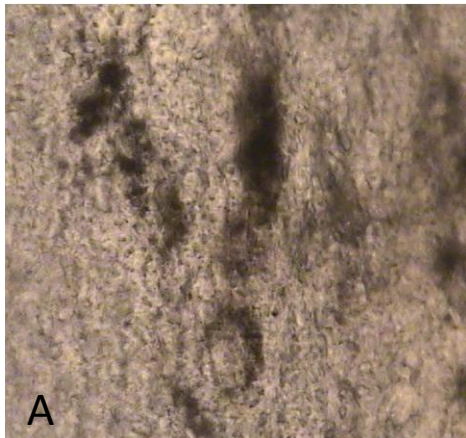
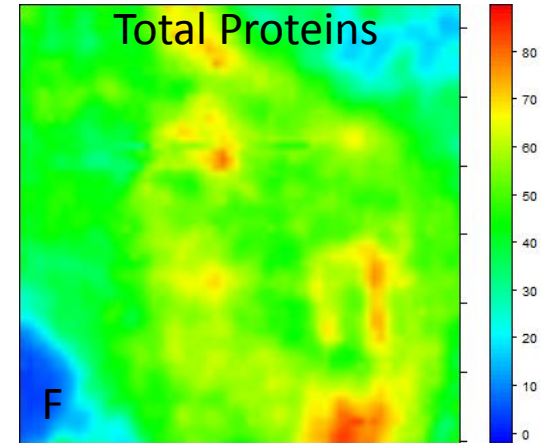
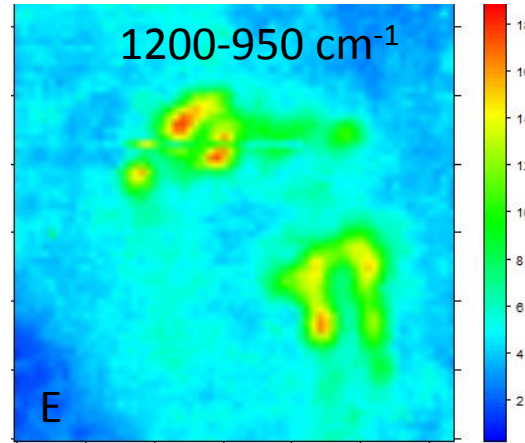
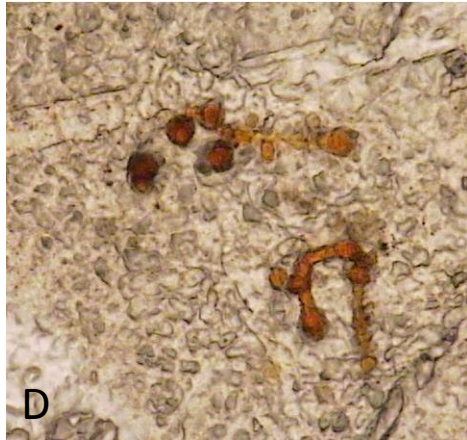




# Analisi FT-IR su campioni di polmone

La regione 1200-950 identifica amianto e particolato

Amide I: sui corpi dell'amianto c'è abbondanza di proteine



Silicati

Proteine

# LA PLEURA E LA DIMENSIONE DELLE FIBRE....

Diametro di circa 3-10 micron

Ken Donaldson (2011)

Membrana pleurica

Parete toracica

Stroma bloccato

Slow

Fibre lunghe

aggregati

Fast

Fibre Corte - Medie

ALVEOLO

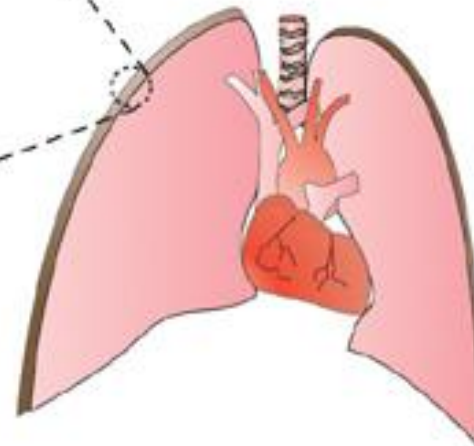
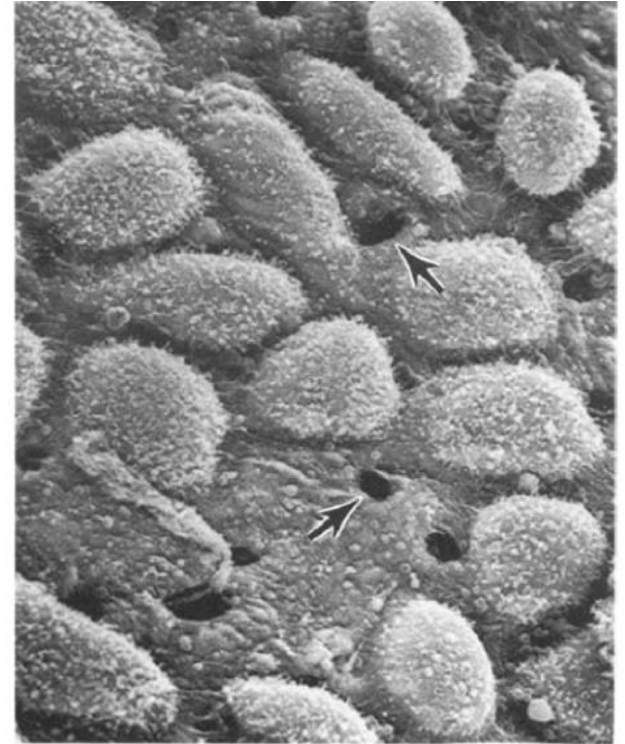
Spazio Pleurico

Fast

Particelle

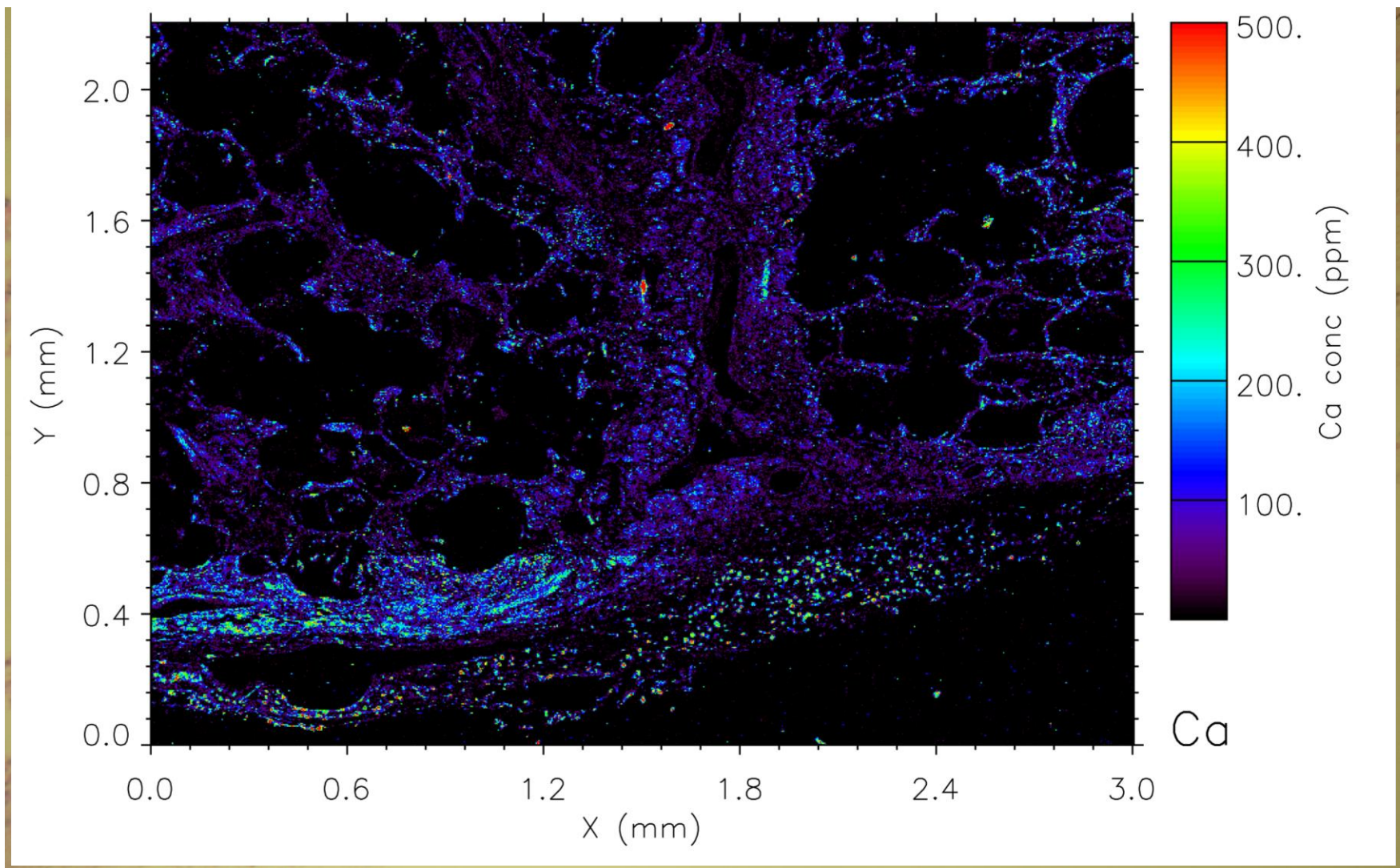
Uscita attraverso lo stroma

Lungs



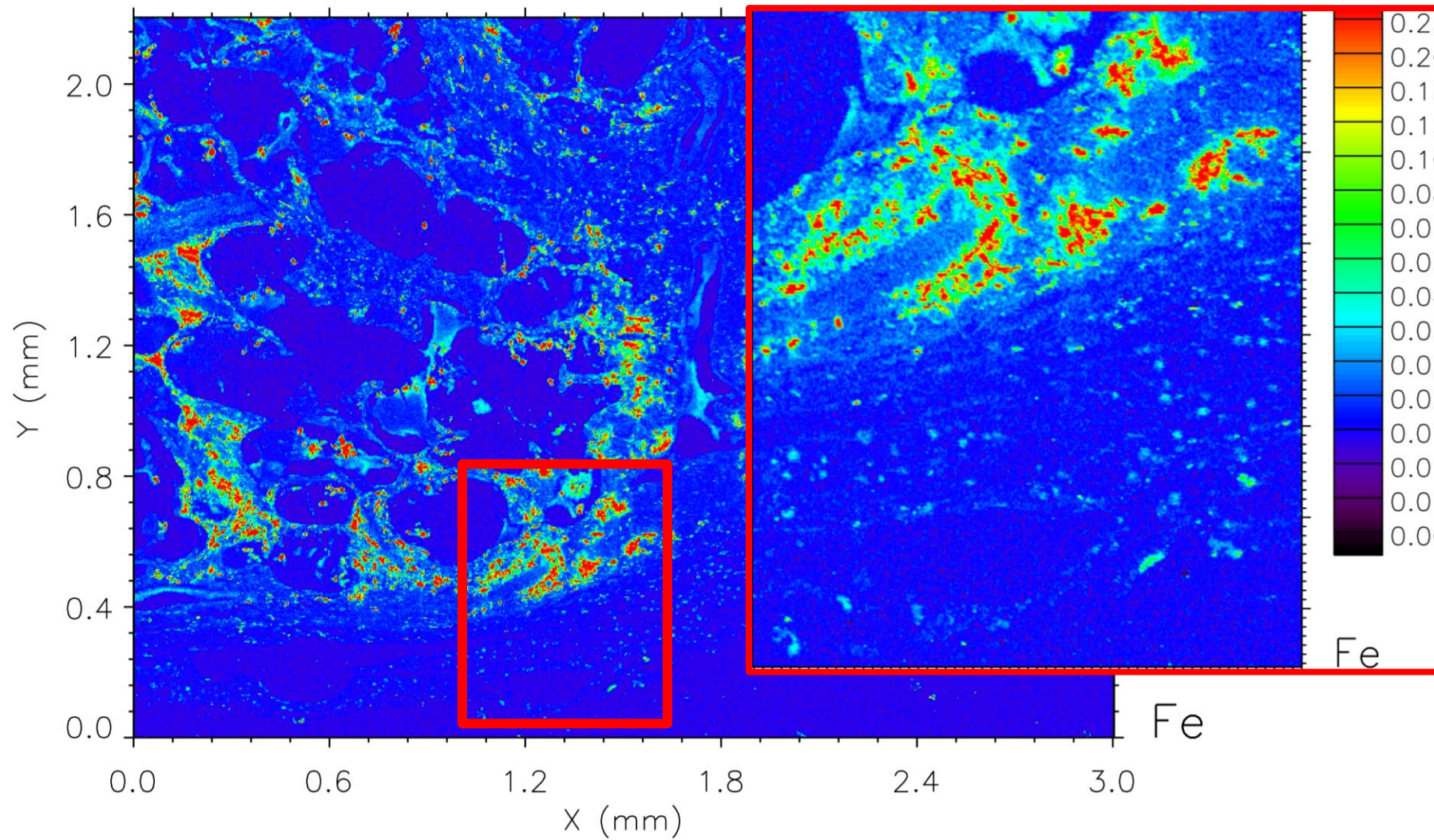


# ANALISI XRF AL SINCROTRONE AUSTRALIANO SU CAMPIONI DI PLEURA

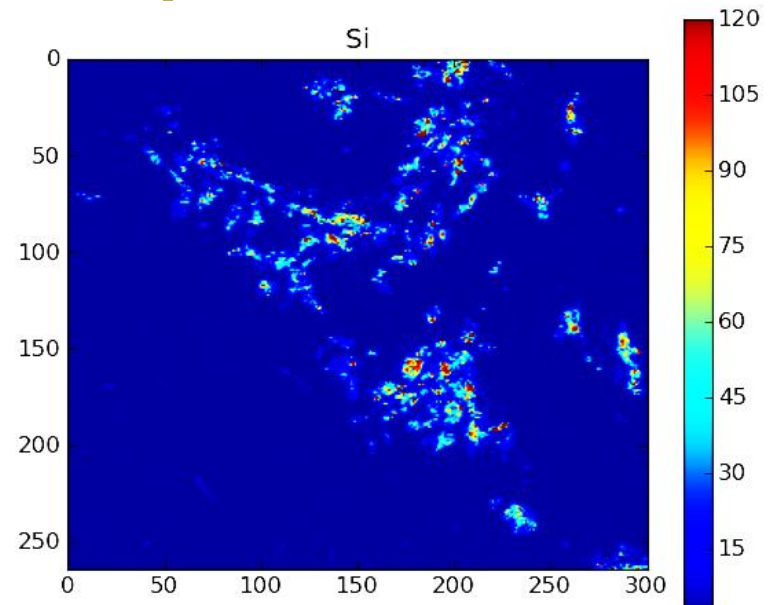
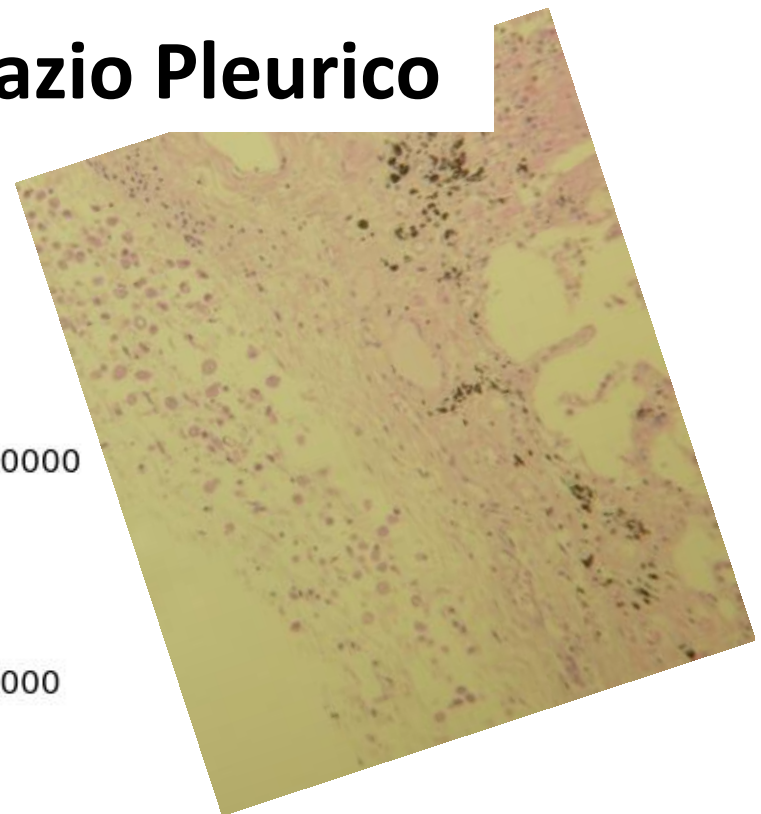
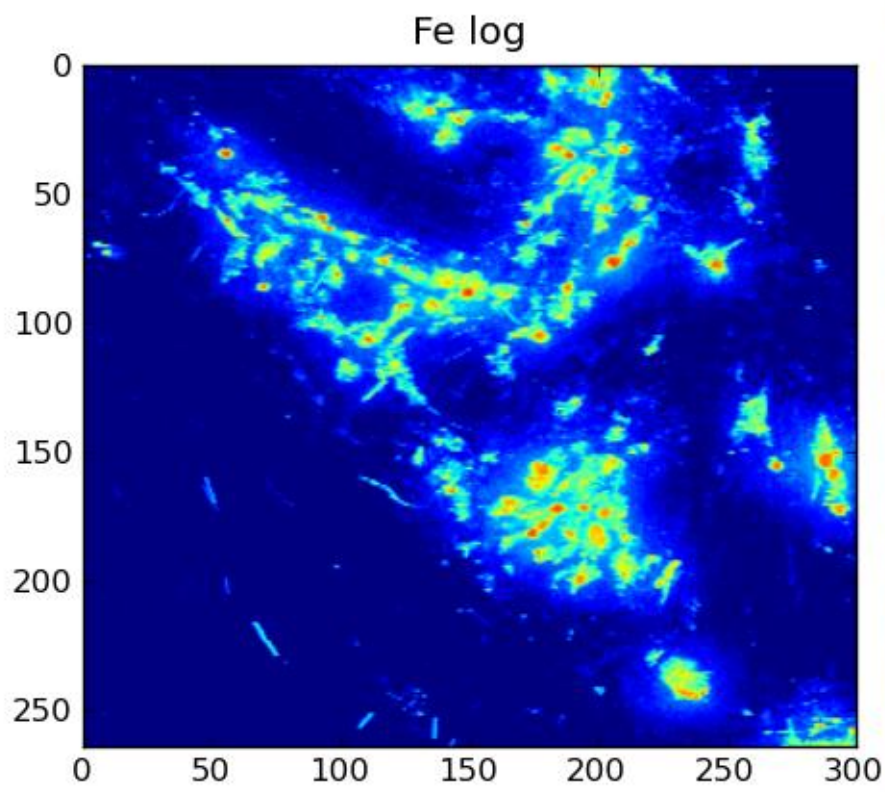




# ANALISI XRF AL SINCROTRONE AUSTRALIANO SU CAMPIONI DI PLEURA



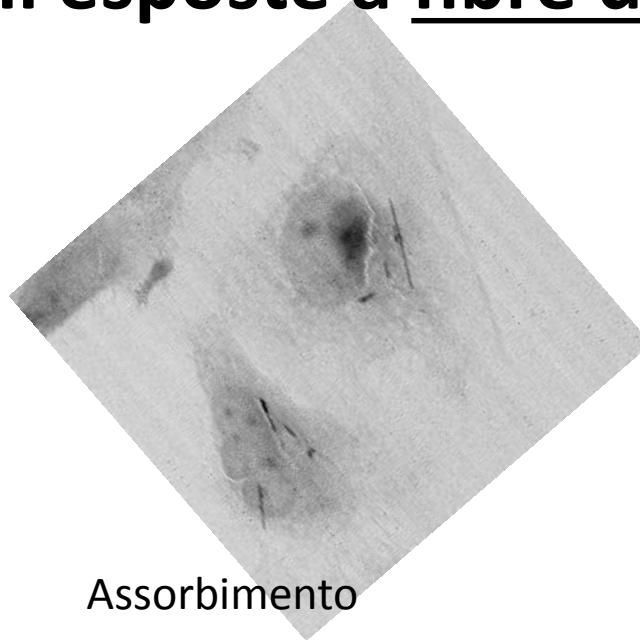
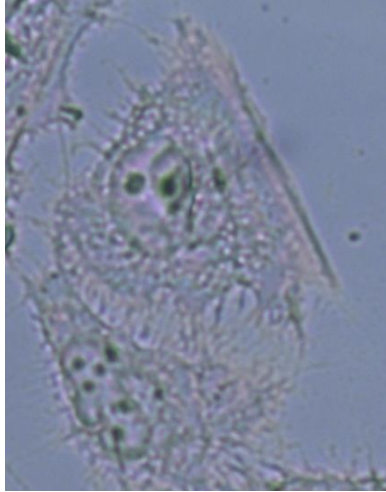
# ANALISI XRF: Fibre nello spazio Pleurico



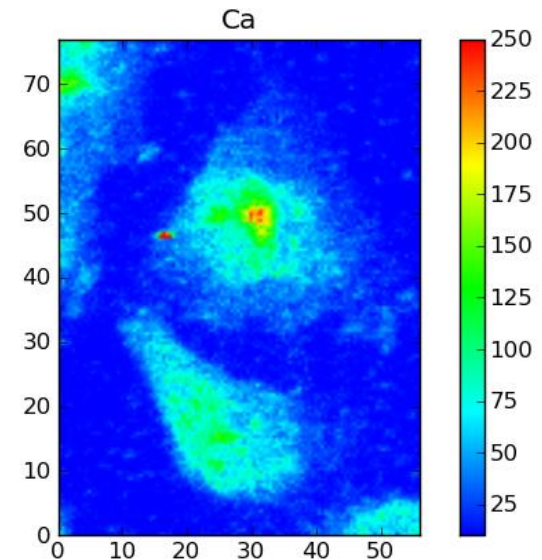
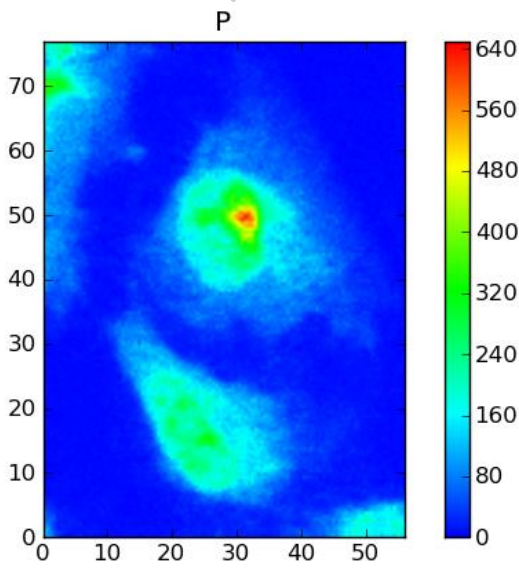
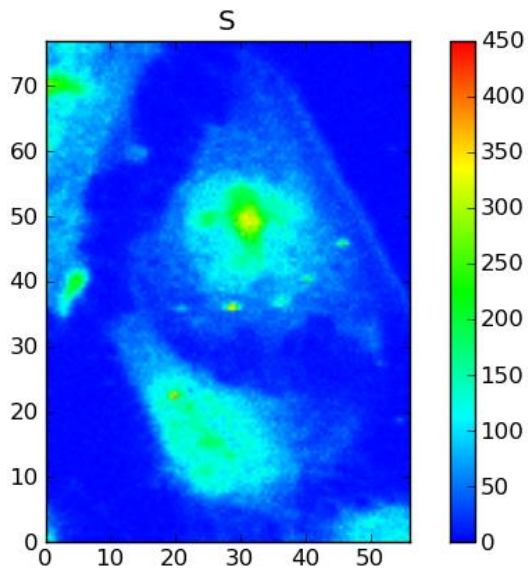
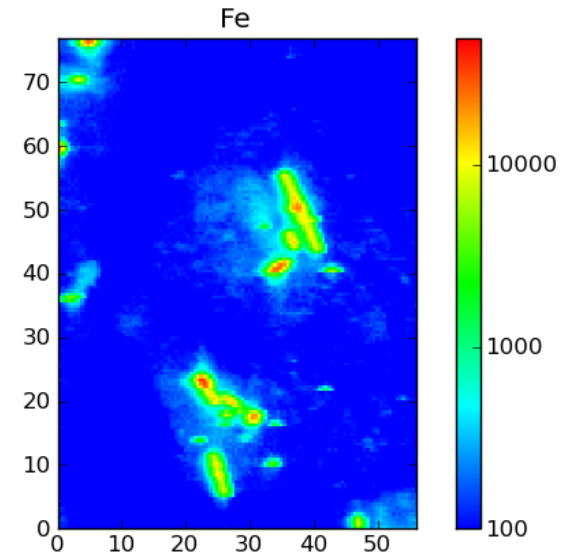
**Dimensioni: 2-20  $\mu\text{m}$**   
**Contengono ferro!**



# Analisi XRF: esperimenti *in vitro* con cellule mesoteliali esposte a fibre di crocidolite

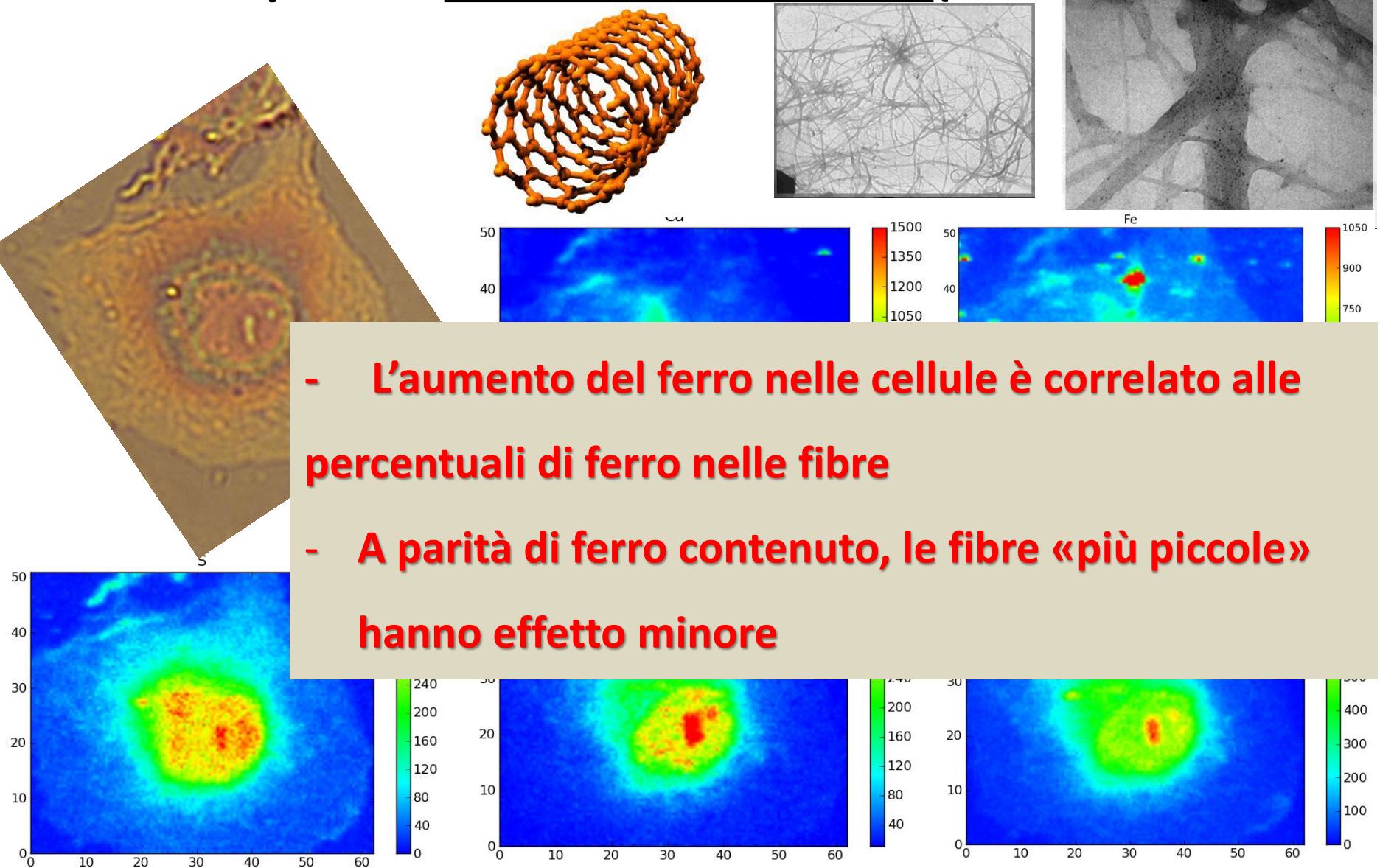


Assorbimento



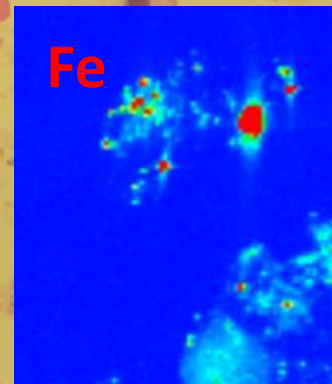
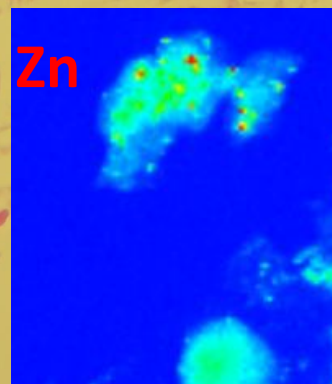
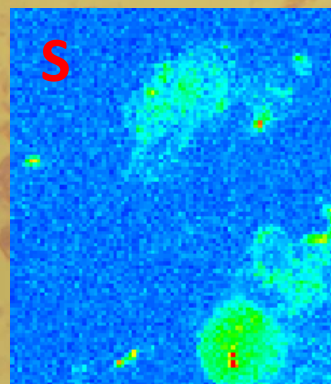
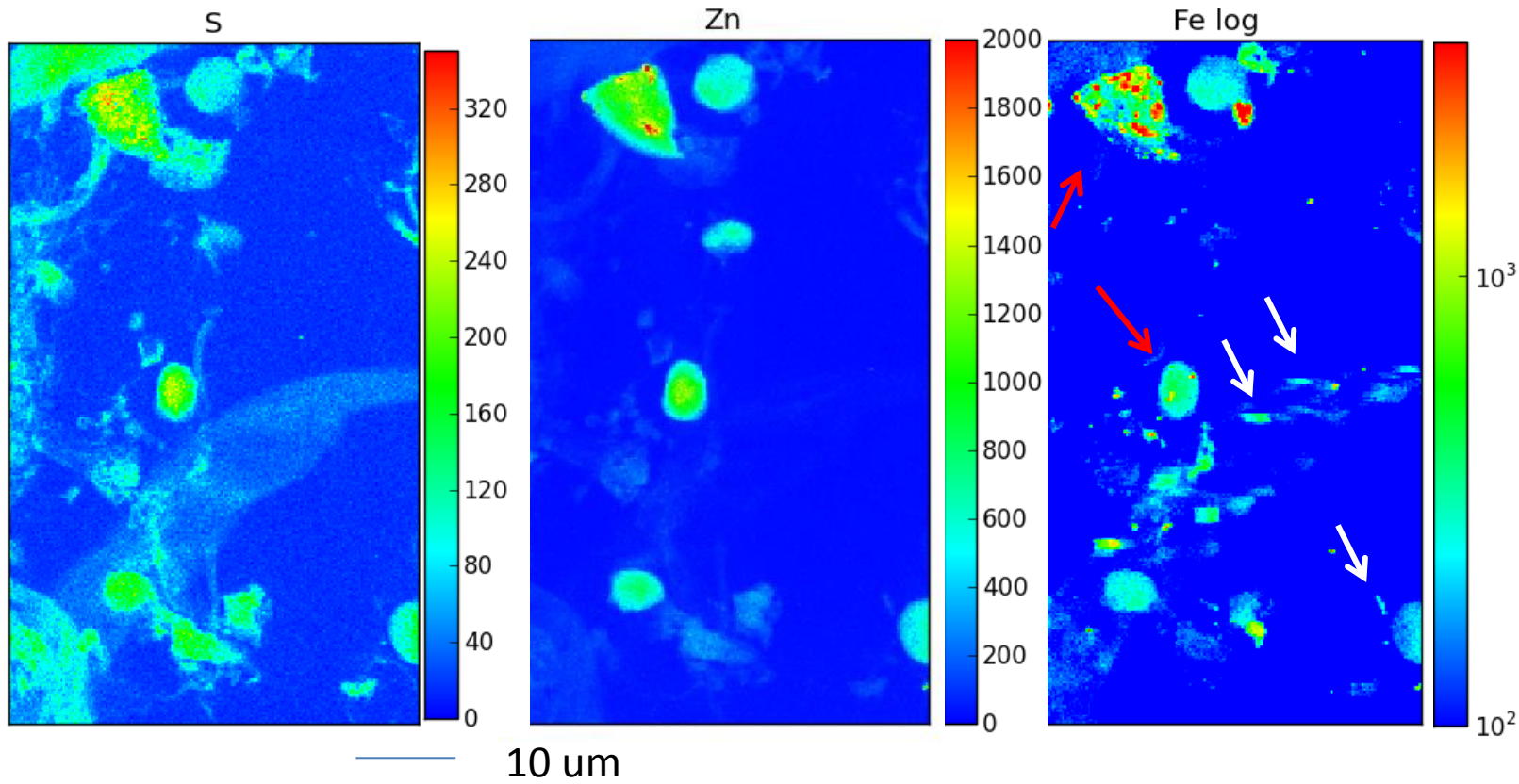


# Analisi XRF: esperimenti *in vitro* con cellule mesoteliali esposte a nanotubi di carbonio (ferro <30%)



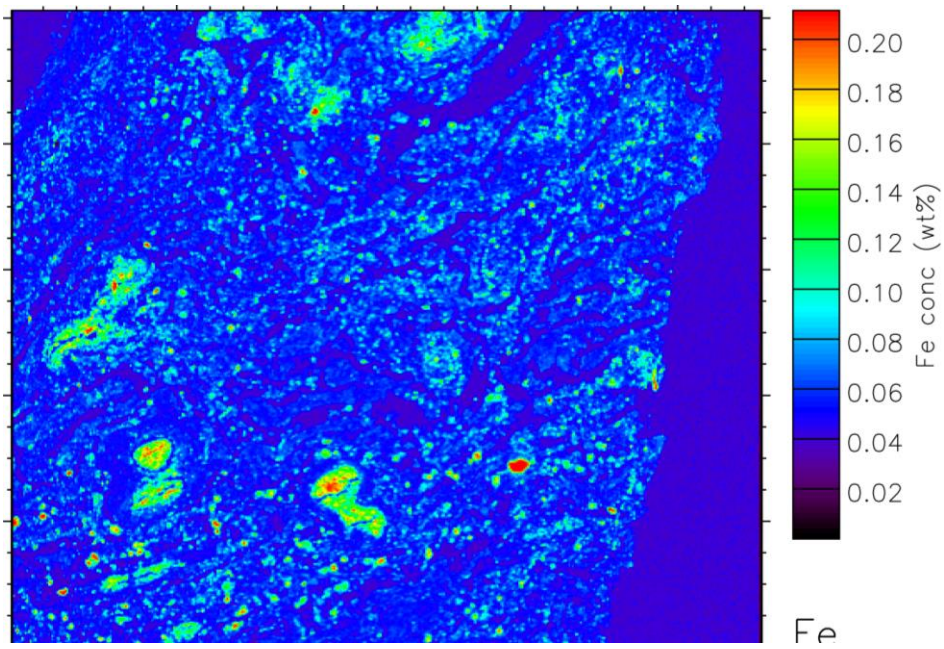
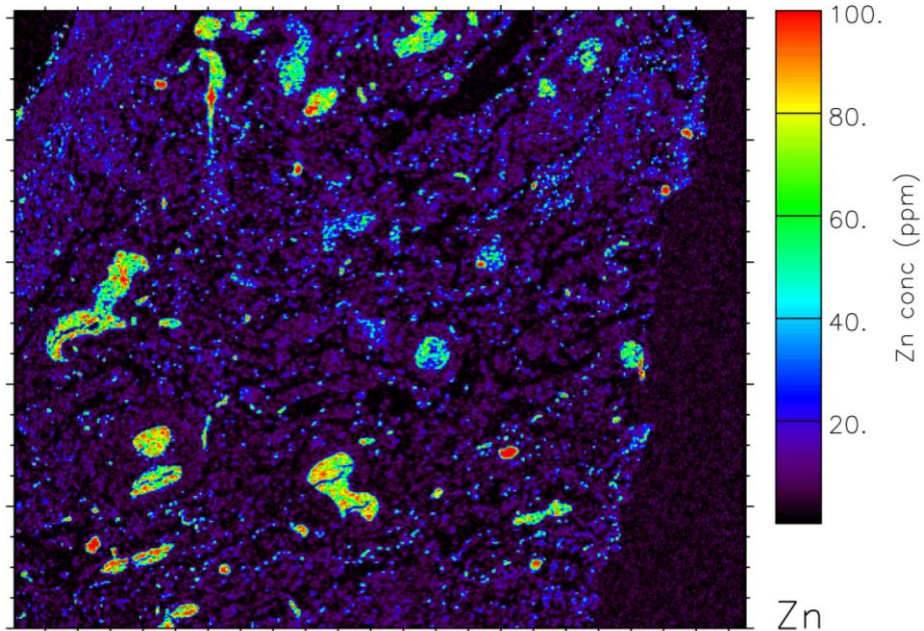
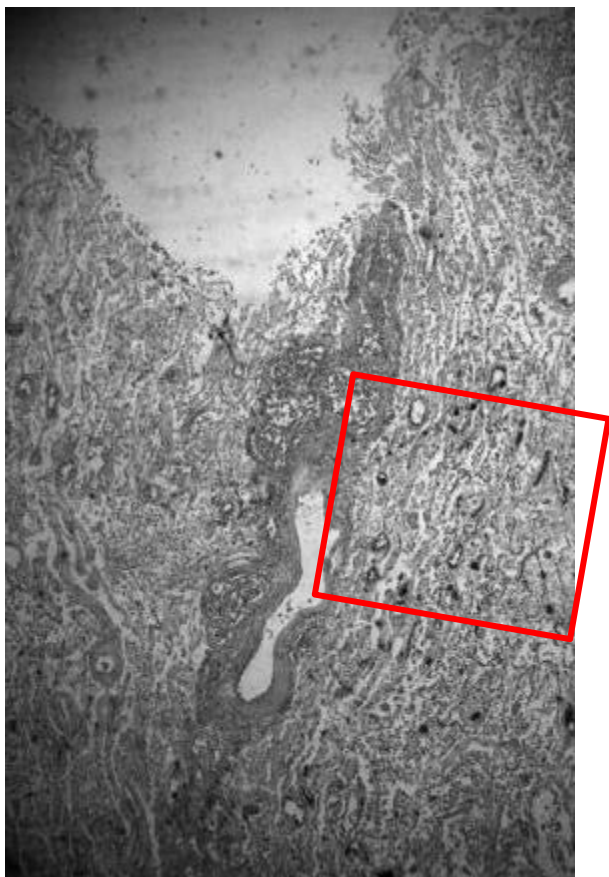
# NANO-XRF-imaging a ID22

## Nanofibre nelle cellule di pleura attivata



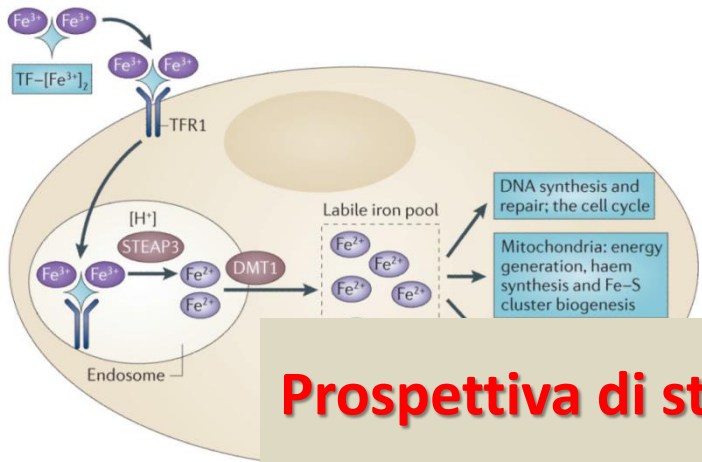


# Ferro e Zinco nel mesotelioma





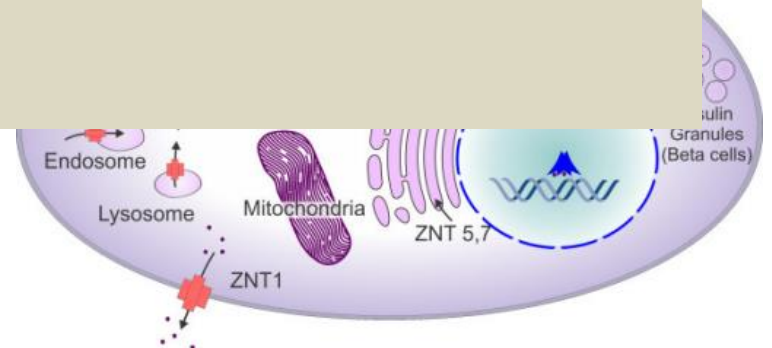
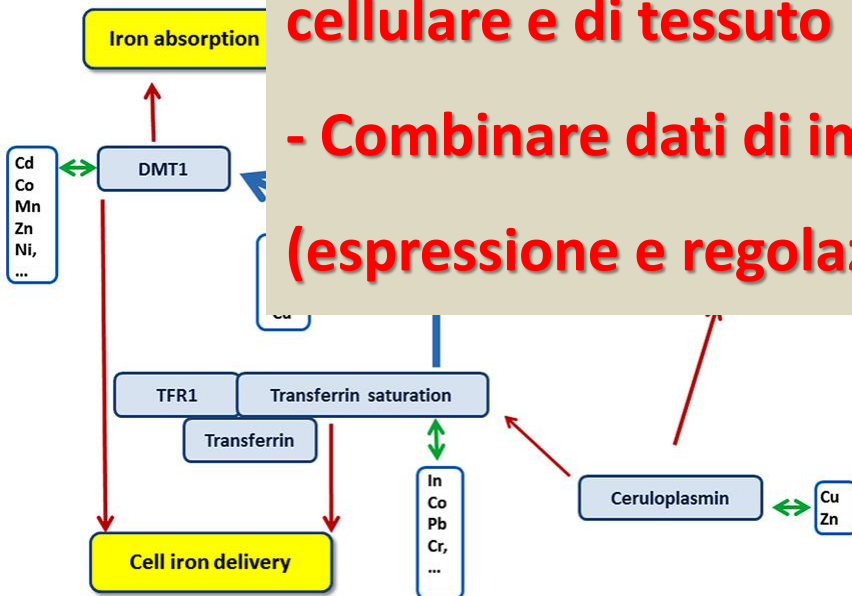
# I metabolismi di ferro e zinco si intersecano a diversi livelli



Meccanismi di trasporto  
Compartimenti intracellulari  
Attività enzimatiche  
Regolazione dell'espressione genica

## Prospettiva di studio:

- Studi di XRF per chiarire metabolismi Fe e Zn a livello cellulare e di tessuto
- Combinare dati di imaging con studi molecolari (espressione e regolazione)



- **CRO IRCCS: V. Canzonieri, E. Minatel**
- **Università di Trieste: C. Rizzardi, F. Cammisuli, V. Borrelli, G. Zabucchi, E. Athanasakis**
- **Sincrotrone Trieste Elettra: A. Gianoncelli, M. Kiskinova, L. Vaccari, D. Bedolla, G. Kourousias**
- **Ospedale di Monfalcone: Schneider M., A. Brollo**
- **ESRF: M. Salome, M. Cotte**
- **Università di Udine: C. Calligaro, E. Pascotto**

**Fondi Commissione Regionale Amianto – Grant INAIL 2013**



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI DI TRIESTE

