

Caratterizzazione dimensionale di fibre anfiboliche nel polmone e nella pleura di casi di mesotelioma da esposizione ambientale

L. PAOLETTI, B.M. BRUNI

Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

KEY WORDS

Pleural mesothelioma; fibre size; electron microscopy

SUMMARY

«*Size distribution of amphibole fibres from lung and pleural tissues sampled from mesothelioma cases due to environmental exposure*». **Background:** It has been suggested that malignant mesothelioma might be mainly or only connected with the action of short and ultrathin fibres. On the basis of this hypothesis fibres less than 5 µm long and 0.2±0.1 µm thick would enter the pulmonary-pleura barrier and reach the parietal pleura thus inducing mesothelioma. The hypothesis raised a stimulating scientific discussion. **Objectives:** The aim of this communication is to report the initial results obtained comparing the size of amphibole fibres from healthy lung tissue with those from pleural tissue sampled from subjects whose death cause of death was mesothelioma. **Methods:** Four mesothelioma cases due to environmental exposure were studied; the fibres were categorized by scanning electron microscopy; for every fibre, length and diameter were measured and the mineral type was defined by its chemical composition determined by X-ray microanalysis. **Results:** The most important characteristics of the detected fibres were: the average length of fibres from the lung and pleural tissues taken from the same subject did not differ, in all cases, by more than 10-12%; 95% of fibres found in the lung tissues of all subjects had a length greater than 5 µm; 98% of fibres found in the pleural tissues had a length greater than 5 µm; the average diameter of the fibres found in the pleural tissues was 70% of the diameter of the fibres from the lung tissues. **Conclusions:** The experimental data obtained in this study confirm the correlation between malignant mesothelioma and the presence in the lung and pleural tissues of fibres with a length greater, even much greater, than 4÷5 µm; thus the hypothesis that the chief factors inducing mesothelioma are the "ultrashort" and "ultrathin" fibres appears rather weak.

RIASSUNTO

È stata avanzata l'ipotesi che il mesotelioma pleurico sia correlato prevalentemente, se non addirittura esclusivamente, all'azione di fibre corte ed ultrasottili. In base a questa ipotesi sarebbero le fibre con lunghezza inferiore a 5 µm e diametro non superiore a 0,2±0,1 µm che, in grado di superare la barriera polmone-pleura e raggiungere la pleura parietale, indurrebbero il mesotelioma. Questa ipotesi ha acceso un vivace dibattito scientifico. Lo scopo di questa comunicazione è presentare i primi risultati di uno studio volto a confrontare la granulometria delle fibre rinvenute nel tessuto polmonare sano con la granulometria delle fibre rinvenute nel tessuto pleurico di soggetti deceduti per mesotelioma. Sono stati studiati quattro casi di mesotelioma di soggetti con esposizione ambientale; le fibre

Pervenuto il 29.4.2008 - Accettato il 9.9.2008

Corrispondenza: Dr. Luigi Paoletti, Dipartimento Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, 00161 Roma - Tel. 06/49902236 - E-mail: luigi.paoletti@iss.it

sono state analizzate in microscopia elettronica a scansione; per ogni fibra individuata sono stati misurati la lunghezza ed il diametro ed è stato riconosciuto il tipo minerale mediante la relativa composizione chimica determinata con la microanalisi X. Le caratteristiche dimensionali più rilevanti delle fibre recuperate sono le seguenti: le lunghezze medie delle fibre trovate nel parenchima polmonare e nel tessuto pleurico dello stesso soggetto non differiscono, in tutti i quattro casi studiati, più del 10-12%; il 95% delle fibre recuperate nel parenchima polmonare dei soggetti studiati ha una lunghezza maggiore di 5 μm ; il 98% delle fibre recuperate nel tessuto pleurico ha una lunghezza maggiore di 5 μm ; nei casi studiati il diametro delle fibre trovate nel tessuto pleurico è risultato, mediamente, pari al 70% del diametro delle fibre trovate nel parenchima polmonare. Le osservazioni sperimentali, anche quelle del presente lavoro, confermano la correlazione fra il mesotelioma pleurico e la presenza nel parenchima polmonare e nel tessuto pleurico di fibre con lunghezza maggiore, e anche molto maggiore, di 4÷5 μm ; appare assai debole l'ipotesi che le fibre "ultracorte" ed "ultrasottili" siano il fattore prevalente per l'insorgenza del mesotelioma.

INTRODUZIONE

Recentemente, da parte di alcuni ricercatori, è stata avanzata l'ipotesi che il mesotelioma pleurico sia correlato prevalentemente, se non addirittura esclusivamente, all'azione di fibre corte ed ultrasottili (6, 18) cioè di fibre con lunghezza sostanzialmente minore sia di quelle così dette "normate", così classificate se hanno lunghezza superiore a 5 μm , sia delle fibre che la nota "ipotesi di Stanton" considera maggiormente patogena: le fibre con lunghezza maggiore di 8 μm (16). In base a questa nuova ipotesi sarebbero le fibre con lunghezza inferiore a 5 μm e diametro non superiore a 0,2÷0,1 μm che, in grado di superare la barriera polmone-pleura e raggiungere la pleura parietale, indurrebbero il mesotelioma.

Questa ipotesi, che ha acceso un vivace dibattito scientifico (15, 19), si basa essenzialmente su alcuni lavori che, utilizzando la microscopia elettronica analitica, hanno evidenziato una prevalenza di fibre ultrasottili e corte (fino a circa il 90% con lunghezza <5 μm e fino a circa il 93% con diametro <0,25 μm) nel tessuto polmonare e pleurico di soggetti a cui era stato diagnosticato il mesotelioma pleurico (3, 12, 17, 18).

Lo scopo di questa comunicazione è presentare i primi risultati di uno studio volto a confrontare la granulometria delle fibre rinvenute nel tessuto polmonare sano con la granulometria delle fibre rinvenute nel tessuto pleurico sano di soggetti deceduti per mesotelioma.

Ad oggi, a causa della difficoltà incontrata nel reperire campioni autoptici di tessuto polmonare e pleurico adeguati allo studio progettato, è stato possibile studiare campioni di tessuto polmonare e di pleura parietale provenienti solo da quattro soggetti con esposizione ambientale a fibre anfiboliche, cioè di soggetti per i quali non si è potuta individuare alcuna esposizione di tipo professionale o dovuta alla residenza in zone limitrofe a impianti industriali in cui era utilizzato amianto o alla presenza di familiari conviventi esposti professionalmente, ma dei quali è documentata la residenza in aree con presenza di minerali anfibolici fibrosi nei suoli e nelle formazioni geologiche presenti nell'ambiente.

I primi due soggetti erano residenti in un'area della Regione Basilicata caratterizzata dalla presenza nei suoli di affioramenti di pietre verdi con documentata presenza di anfiboli fibrosi (14). L'anfibolo in questione, la tremolite, è un anfibolo monoclino appartenente alla serie calcifera povera di alcali. Tale minerale si presenta sotto forma sia di cristalli prismatici allungati sia in aggregati fibrosi. Alcune indagini ambientali effettuate nell'area di residenza dei soggetti hanno riportato una concentrazione di fibre aerodisperse compresa fra 0,2 e 0,5 fibre/litro (5).

Gli altri due soggetti erano residenti nel comune di Biancavilla, località nota per l'esistenza nel suo territorio di formazioni minerali in cui è presente l'anfibolo fluoro-edenite; tale minerale si può presentare sia in veste di cristalli prismatici che in

veste fibrosa (4). A Biancavilla l'utilizzo di materiali vulcanici autobrecciati, contenenti tali fibre, come inerti per l'edilizia locale ha causato un'ampia diffusione dell'anfibolo fibroso nell'ambiente con la conseguenza di determinare una anomala incidenza di casi di mesotelioma fra la popolazione (7, 13). Per l'ambiente di Biancavilla erano inoltre disponibili i risultati di campionamenti di fibre aerodisperse effettuati nell'area urbana del comune in un periodo precedente gli interventi di bonifica e di asfaltatura delle strade; le concentrazioni di fibre aerodisperse osservate variavano nei vari siti campionati fra 1 e 20 fibre/litro (4).

MATERIALI E METODI

Reperti analizzati

Sono stati studiati quattro casi di mesotelioma pleurico per cui era stato possibile recuperare campioni autoptici, conservati in formalina, sia del parenchima polmonare sano che del tessuto pleurico sano. I tabella 1 sono riassunti i dati anagrafici ritrovati relativi ai casi studiati.

Preparazione dei campioni

Per recuperare la componente minerale presente nel tessuto biologico, i campioni autoptici sono stati posti in ipoclorito di Na al 5%; dopo 12 ore è

stata ottenuta una soluzione limpida in cui la componente organica era quasi totalmente dissolta. Nei campioni in cui era presente una componente lipidica questa non è stata completamente solubilizzata, per rimuoverla dalla soluzione è stato aggiunto acetone (in cui i lipidi si dissolvono); dopo una energica agitazione la soluzione è stata lasciata a sedimentare fino a che le fasi "acqua" e "acetone con i lipidi" non si sono separate. La componente minerale è stata recuperata filtrando la fase acquosa su membrane in policarbonato con porosità da 0,2 μm . Il filtro è stato poi "lavato" con abbondante acqua deionizzata, facendo scorrere l'acqua a fine della filtrazione, per eliminare i residui di ipoclorito che contaminano il materiale recuperato. Nel caso in cui sui filtri fosse ancora presente una quantità eccessiva di materiale organico non completamente dissolto si è provveduto ad ossidare in plasma di ossigeno filtri e materiale recuperato. Con una esposizione di alcune ore si è ottenuta una adeguata eliminazione della componente organica. La componente minerale è stata recuperata sospendendo in acqua deionizzata la fase minerale rimasta e filtrando di nuovo su membrane di policarbonato. Per l'osservazione al SEM i filtri sono stati infine ricoperti con un film di Au.

Analisi delle fibre

Le fibre sono state analizzate in microscopia elettronica a scansione; è stato utilizzato un SEM

Tabella 1 - Casi di mesotelioma di cui è stato studiato il carico polmonare e pleurico di fibre anfiboliche

Table 1 - Mesothelioma cases considered in the present study

Caso	Sesso	Età decesso	Residenza	Storia residenziale e occupazionale	Esposizione presunta	Diagnosi
1	M	45	Biancavilla (CT)	Residente a Biancavilla Esposizione occupazionale improbabile (impiegato)	Ambientale	Istologica
2	F	86	Biancavilla (CT)	Residente a Biancavilla per tutta la vita Casalinga coniugata a un agricoltore	Ambientale	Istologica
3	M	52	Lauria (PZ)	Agricoltore-Allevatore	Ambientale	Istologica
4	F	79	Lauria (PZ)	Casalinga	Ambientale	Istologica

XL30 della FEI equipaggiato con uno spettrometro per raggi X a dispersione di energia (SEM-EDX). Per ogni fibra individuata sono stati misurati la lunghezza ed il diametro ed è stato riconosciuto il tipo minerale mediante la relativa composizione chimica determinata con la microanalisi X.

L'analisi dei campioni per la ricerca delle fibre è stata effettuata utilizzando un SEM che nelle condizioni operative ottimali per l'osservazione ad alta risoluzione permette di raggiungere risoluzioni migliori di $4\div 5$ nm. Nelle condizioni sperimentali che si sono dovute adottare per la contemporanea analisi EDX e con la tipologia dei campioni stessi (fibre supportate da una membrana in policarbonato su cui erano presenti materiali eterogenei) il potere risolutivo (p.r.) ottenibile può essere stimato dell'ordine di $50\div 100$ nm (figure 1 e 2). Pertanto la risoluzione con cui sono stati analizzati i campioni è stata sicuramente inferiore a quella raggiungibile con un TEM valutabile, per campioni analoghi, fra 1 e 5 nm.

RISULTATI

Le fibre osservate nei reperti autoptici sono risultate tutte della stessa tipologia del minerale anfibolico presente nell'ambiente di vita dei soggetti studiati; in particolare non è stata recuperata alcuna fibra di crisotilo, di amosite o di crocidolite, gli amianti più diffusi nelle utilizzazioni industriali. Questo risultato è una forte conferma che l'esposizione dei soggetti è stata esclusivamente ambientale.

Nelle tabelle 2 e 3 sono riassunte le principali caratteristiche dimensionali delle fibre recuperate dai reperti autoptici provenienti dai casi di mesotelioma studiati.

Per una migliore valutazione dei dati sulle fibre rinvenute, in figura 3 è mostrata la distribuzione delle fibre, ritrovate rispettivamente nel parenchima polmonare e nel tessuto pleurico dei due casi di mesotelioma di Biancavilla, in funzione della loro lunghezza e del loro diametro; in figura sono riportate anche le fibre aerodisperse campionate nell'area urbana di Biancavilla.

Analogamente in figura 4 è mostrata la distribuzione delle fibre, ritrovate rispettivamente nel pa-

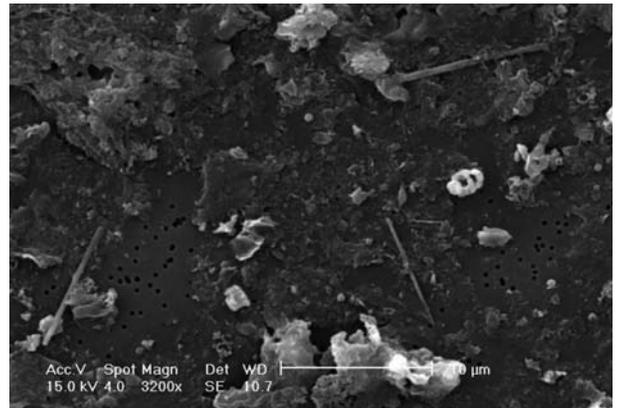


Figura 1 - Fibre di tremolite recuperate dal tessuto pleurico di un caso di mesotelioma osservato nella Regione Basilicata. La porosità del filtro utilizzato (osservabile in alcune delle aree dell'immagine non ricoperte dal materiale depositato) è di 200 nm. La risoluzione ottenuta sull'immagine può essere stimata migliore di 100 nm

Figure 1 - Tremolite fibres found in pleural tissue from the Basilicata cases. The filter porosity (evident in the sample areas where the deposited matter is absent) is 200 nm. The obtained image resolution can be estimated better than 100 nm

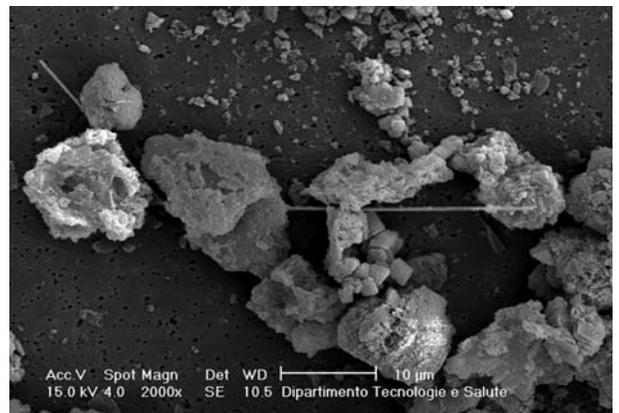


Figura 2 - Fibre di fluoro-edenite recuperate dal tessuto polmonare di un caso di mesotelioma osservato a Biancavilla. La porosità del filtro utilizzato (osservabile in alcune delle aree dell'immagine non ricoperte dal materiale trattato) è di 200 nm. La risoluzione ottenuta sull'immagine può essere stimata migliore di 100 nm

Figure 2 - Fluoro-edenite fibres found in lung tissue from the Biancavilla cases. The filter porosity (evident in the sample areas where the deposited matter is absent) is 200 nm. The obtained image resolution can be estimated better than 100 nm

renchima polmonare e nel tessuto pleurico dei due casi di mesotelioma della Basilicata, in funzione della loro lunghezza e del loro diametro.

Tabella 2 - Caratteristiche dimensionali delle fibre recuperate dai reperti autoptici dei casi di mesotelioma pleurico in soggetti residenti a Biancavilla*Table 2 - Diameters and lengths of fibres from lung and pleural tissues sampled from the Biancavilla cases*

Caso	Tipologia delle fibre	Reperto autoptico	Numero delle fibre	Lunghezza media L (μm)	Diametro medio D (μm)	A.R. medio
1	Fluoro-edenite	Parenchima polmonare	73	16,34 (G.M. 12,6)	0,45 (G.M. 0,41)	35,4
		Pleura	37	14,68 (G.M. 12,1)	0,34 (G.M. 0,31)	49,5
2	Fluoro-edenite	Parenchima polmonare	72	12,16 (G.M. 10,7)	0,47 (G.M. 0,42)	30,7
		Pleura	27	10,28 (G.M. 9,5)	0,32 (G.M. 0,30)	37,0

A.R.: aspect ratio (L/D) - G.M.: media geometrica

Tabella 3 - Caratteristiche dimensionali delle fibre recuperate dai reperti autoptici dei casi di mesotelioma pleurico in soggetti residenti in Basilicata*Table 3 - Diameters and lengths of fibres from lung and pleural tissues sampled from the Basilicata cases*

Caso	Tipologia delle fibre	Reperto autoptico	Numero delle fibre	Lunghezza media L (μm)	Diametro medio D (μm)	A.R. medio
3	Tremolite	Parenchima polmonare	106	14,25 (G.M. 11,6)	0,56 (G.M. 0,49)	29,3
		Pleura	53	14,92 (G.M. 12,6)	0,34 (G.M. 0,33)	44,8
4	Tremolite	Parenchima polmonare	105	16,27 (G.M. 13,5)	0,55 (G.M. 0,46)	35,4
		Pleura	52	18,72 (G.M. 14,8)	0,33 (G.M. 0,32)	58,1

A.R.: aspect ratio (L/D) - G.M.: media geometrica

In ambedue le figure le aree evidenziate in grigio ed in tratteggio rappresentano rispettivamente quella che si può definire “zona di Suzuki” (lunghezza inferiore a $4 \mu\text{m}$ e diametro inferiore a $0,2 \mu\text{m}$) e quella che si può definire “zona di Stanton” (lunghezza superiore a $8 \mu\text{m}$ e diametro inferiore a $0,25 \mu\text{m}$), cioè le aree dove dovrebbero trovarsi prevalentemente le fibre con le caratteristiche geometriche indicate dai due autori citati; la zona nera in basso rappresenta l’area “cieca” quella cioè delle fibre non rivelabili, nell’analisi dei campioni, disponendo di un potere risolutivo inferiore a 100 nm .

Nel caso dei soggetti provenienti da Biancavilla è stato possibile confrontare, figura 3 e tabella 4, le fibre recuperate dai reperti autoptici con le fibre aerodisperse campionate nell’area urbana del comune di residenza (4).

In questo caso la lettura dei campioni (filtri in policarbonato su cui erano state raccolte le fibre aerodisperse) era stata effettuata, sulla base della normativa vigente, prendendo in considerazione unicamente le fibre normate e conseguentemente in figura 3 non sono riportate fibre aerodisperse (simbolo \times) con lunghezza < di $5 \mu\text{m}$. Occorre inoltre considerare che le fibre recuperate dal pa-

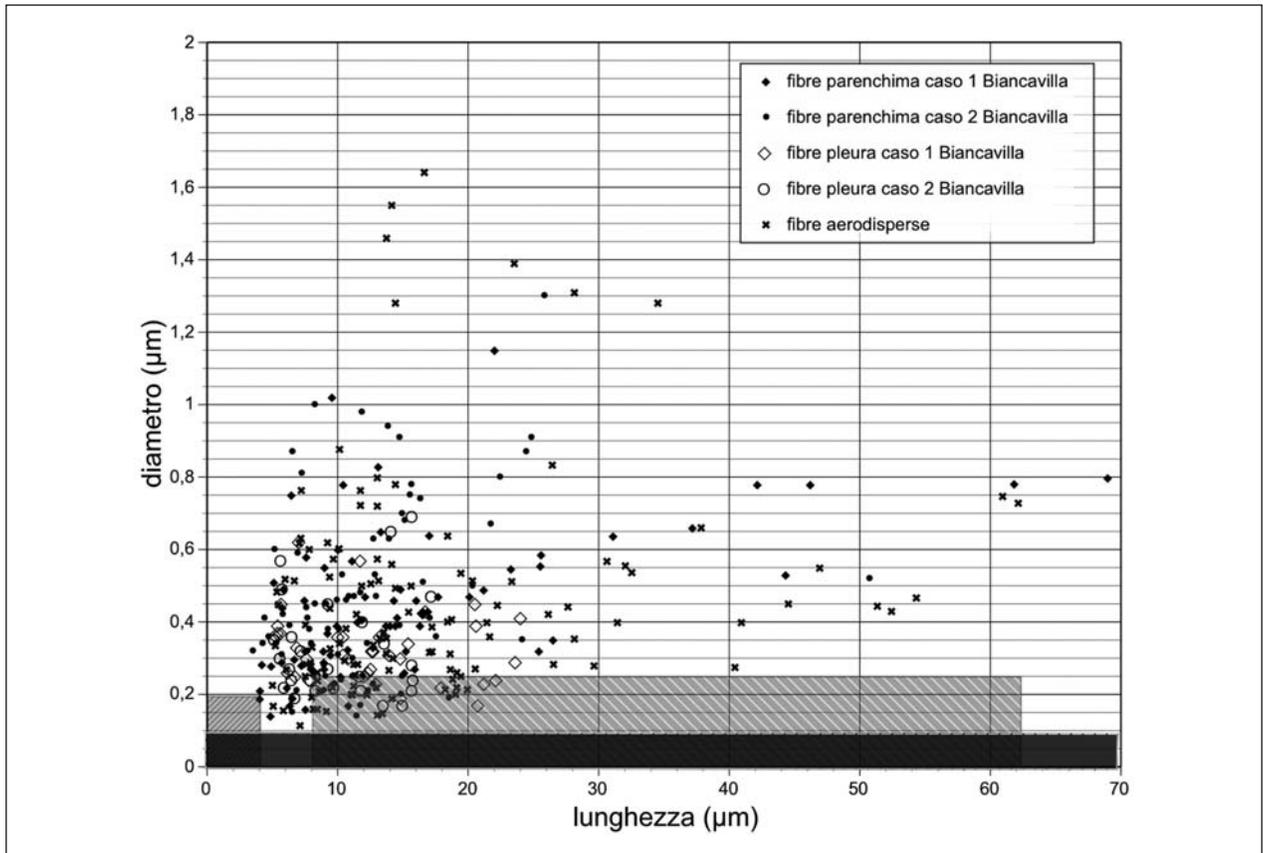


Figura 3 - Sono mostrate le fibre, ritrovate rispettivamente nel parenchima polmonare (◆, ●) e nel tessuto pleurico (◇, ○) dei due casi di mesotelioma di Biancavilla. Sono mostrate inoltre le fibre aerodisperse (×) campionate nell'area urbana di Biancavilla

Figure 3 - Fibres from the Biancavilla cases: distribution of length and diameter of fibres from lung tissue (◆, ●) and pleural tissue (◇, ○). Airborne fibres (×) sampled in the Biancavilla area are also shown

renchima polmonare rappresentano l'effetto di una esposizione che verosimilmente si è prolungata per diversi anni; tali fibre pertanto possono solamente essere considerate una "foto sfocata" di una situazione ambientale trascorsa che in qualche modo potrebbe differire dalla situazione "fotografata" dai campionamenti effettuati a Biancavilla. Pur con questi limiti è interessante constatare che il confronto fra i dati relativi alle fibre recuperate dai reperti di tessuto polmonare dei soggetti residenti a Biancavilla e le fibre aerodisperse nel loro ambiente di vita, ha evidenziato una notevole corrispondenza fra tali fibre sia relativamente alla tipologia minerale sia relativamente alle caratteristiche granulometriche (figura 5) e suggerisce che la situazione ambientale sperimentata dai due soggetti

non si discostasse molto da quella monitorata successivamente.

La limitata presenza, ma non totale assenza, di fibre nella fascia corrispondente ai diametri < 200 nm delle figure 3 e 4 può essere, in parte, spiegata tenendo conto che tali fibre avrebbero diametri prossimi al potere risolutivo (p.r. inferiore a $50 \div 100$ nm) raggiungibile nelle condizioni operative come quelle che si sono dovute adottare nella presente indagine. Tuttavia occorre tener presente che nel caso di minerali anfibolici effettivamente le fibrille più sottili prodotte dallo sfaldamento delle fibre più grandi raramente presentano diametri inferiori a 0,1-0,2 µm (11), diversamente dal crisotilo che produce per sfaldamento fibrille anche inferiori a 0,1-0,05 µm di diametro.

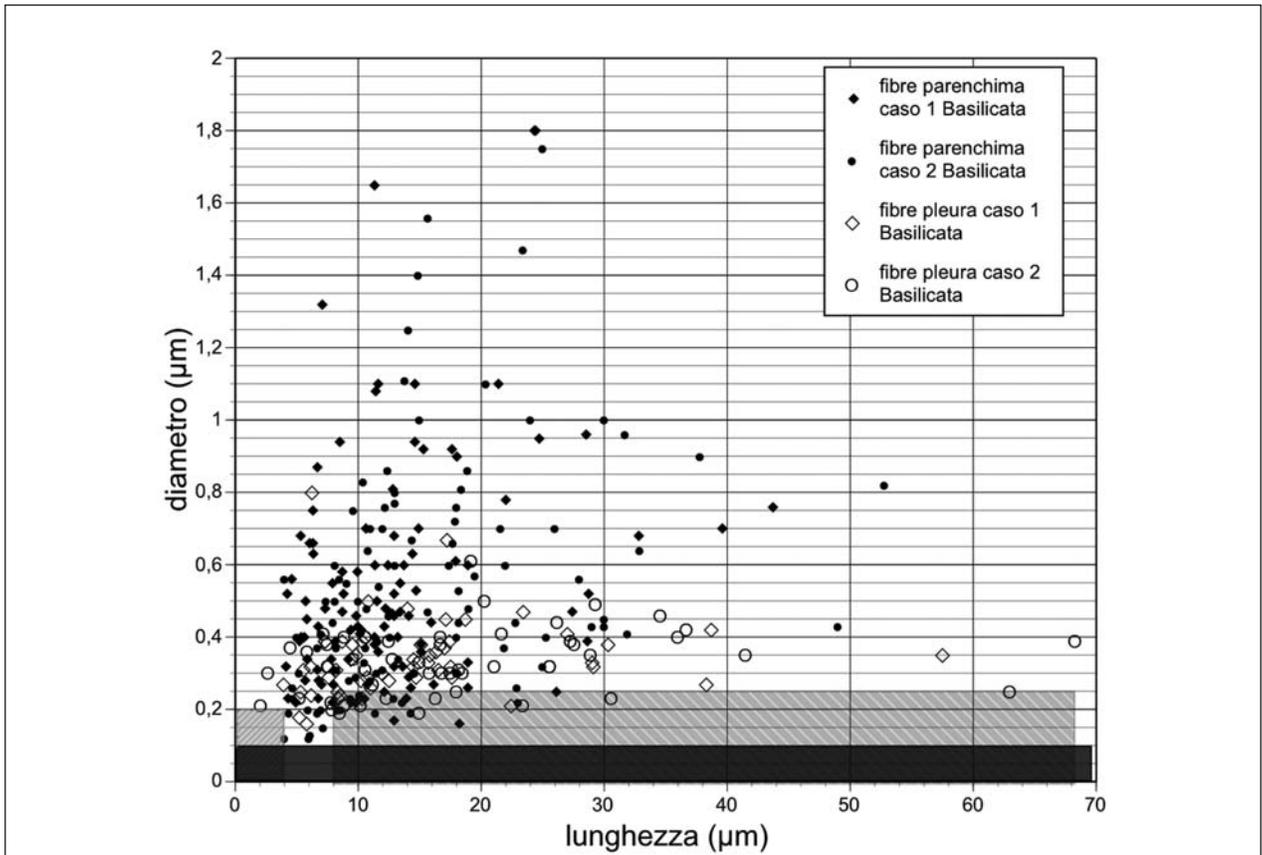


Figura 4 - Sono mostrate le fibre, ritrovate rispettivamente nel parenchima polmonare (◆, ●) e nella pleura (◇, ○) dei due casi di mesotelioma della Basilicata

Figure 4 - Fibres from the Biancavilla cases: distribution of length and diameter of fibres from lung tissue (◆, ●) and pleural tissue (◇, ○)

Tabella 4 - Caratteristiche delle fibre aerodisperse campionate nell'ambiente di Biancavilla

Table 4 - Diameters and lengths of airborne fibres in the Biancavilla area

Area urbana di Biancavilla	Tipologia delle fibre aerodisperse	Numero delle fibre	Lunghezza media (µm)	Diametro medio (µm)	A.R. (L/D) medio
	Fluoro-edenite fibrosa	120	17,8 (G.M. 14,5)	0,46 (G.M. 0,39)	46

A.R.: aspect ratio (L/D) G.M.: media geometrica

A nostro parere è invece diversa la ragione per cui è risultato scarsissimo il numero di fibre con lunghezza inferiore a 4 µm sia nel parenchima polmonare che nella pleura dei casi studiati.

Le condizioni operative avrebbero sicuramente permesso di evidenziare tali fibre a meno di non ipotizzare che praticamente tutte le fibre con lun-

ghezza < di 4 µm presentassero anche un diametro < di 0,1-0,05 µm, ipotesi poco verosimile.

Una spiegazione più convincente può essere trovata nell'ipotesi ben nota che le fibre con lunghezza < 5 µm siano efficacemente allontanate dall'apparato respiratorio per azione dei macrofagi alveolari (1), la cui azione non avrebbe al contrario effetto

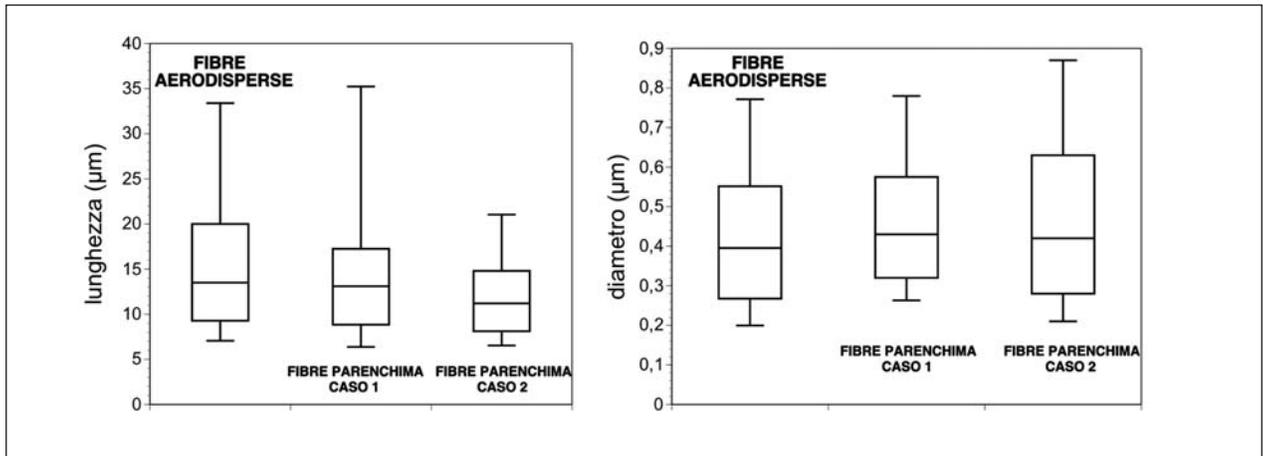


Figura 5 - Caratteristiche dimensionali delle fibre aerodisperse campionate nell'ambiente di Biancavilla e delle fibre recuperate dai reperti di tessuto polmonare dei soggetti ivi residenti [le linee in basso, al centro ed in alto nei box corrispondono rispettivamente al 25esimo, al 50esimo e al 75esimo percentile. Le barre in basso ed in alto rispettivamente al 10mo e 90esimo percentile]

Figure 5 - Airborne fibres in the Biancavilla environment compared with fibres recovered from the lung tissue [the top, bottom, and line through the middle of the box correspond to the 75th percentile, 25th percentile, and 50th percentile (median) respectively. The whiskers on the bottom extend from the 10th percentile and top 90th percentile]

per le fibre più lunghe, quelle cosiddette “normate” cioè quelle che la normativa prescrive di considerare nella valutazione della qualità dell'ambiente.

Le caratteristiche dimensionali più rilevanti delle fibre recuperate rispettivamente dal parenchima polmonare e dal tessuto pleurico dei soggetti studiati sono le seguenti:

- le lunghezze medie delle fibre trovate nel parenchima polmonare e nel tessuto pleurico dello stesso soggetto non differiscono, in tutti i quattro casi studiati, più del 10-12%;
- il 95% delle fibre recuperate nel parenchima polmonare dei soggetti studiati ha una lunghezza maggiore di 5 µm;
- il 98% delle fibre recuperate nel tessuto pleurico dei soggetti studiati ha una lunghezza maggiore di 5 µm;
- nei due casi di Biancavilla i diametri medi delle fibre trovate nel tessuto pleurico sono risultati, rispettivamente, il 71% e il 75% dei diametri delle fibre trovate nel parenchima polmonare del caso corrispondente;
- nei due casi della Basilicata i diametri medi delle fibre trovate nel tessuto pleurico sono risultati, rispettivamente il 67% e il 69% dei diametri del-

le fibre trovate nel parenchima polmonare del caso corrispondente;

- in tutti i casi studiati l'A.R. (aspect ratio L/D) delle fibre pleuriche variava fra 40 e 60 circa, l'A.R. delle fibre del parenchima polmonare era compreso fra 30 e 35.

I dati ottenuti in questa indagine indicano che le fibre che hanno superato la barriera polmone-pleura e raggiunto la pleura parietale sono state in prevalenza quelle che, indipendentemente dalla loro lunghezza, presentavano diametri $<0,4 \pm 0,5$ µm.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I dati sperimentali ottenuti nella presente indagine hanno evidenziato che la differenza maggiore fra le fibre recuperate nel parenchima polmonare e quelle recuperate nel tessuto pleurico dei quattro casi studiati si riscontra nei diametri delle fibre stesse, con le fibre “pleuriche” che presentano diametri fra il 65 ed il 75% più piccoli. Meno rilevante è la differenza fra le lunghezze delle due categorie di fibre, con le “pleuriche” circa il 10% più corte delle altre; fra le fibre “pleuriche” è presente inoltre

una non trascurabile percentuale di fibre di lunghezza $> 30 \mu\text{m}$.

In accordo con i dati qui riportati, gli studi presenti in letteratura sulle dimensioni delle fibre nel tessuto pleurico o peritoneale di soggetti esposti all'amianto sono coerenti nel riferire, per tali fibre, valori dei diametri costantemente inferiori a quelli delle fibre recuperate dal parenchima polmonare (1, 10); relativamente alla lunghezza delle fibre "pleuriche" nelle diverse indagini presenti in letteratura è riscontrabile una ampia variabilità di risultati che appaiono dipendere dal tipo di esposizione sperimentata dai soggetti studiati (8-10, 12)

I metodi analitici utilizzati nel presente lavoro non permettono di evidenziare la eventuale presenza nei reperti di fibre con diametri inferiori a circa 100 nm, come è stato anche chiarito nelle figure 3 e 4, tuttavia dai dati ottenuti si deduce un quadro delle fibre mesotelioma-correlate diverso da quello riportato nei lavori di Suzuki (17, 18) su cui si basa principalmente l'ipotesi del ruolo preponderante delle fibre ultracorte ed ultrasottili nell'insorgenza del mesotelioma.

In questi ultimi lavori sono stati studiati 168 casi di mesotelioma di soggetti con una gran varietà di esposizioni (tipo e durata), l'analisi dei campioni autoptici di tessuto polmonare e mesoteliale è stata effettuata utilizzando un TEM ad alta risoluzione e sostanzialmente i dati riportati evidenziano una gran quantità di fibrille molto corte e ultrasottili di crisotilo e una quantità molto minore di fibre anfiboliche con dimensioni medie che non si discostano in modo sostanziale da quanto riportato in analoghe indagini descritte nella letteratura del settore.

Riteniamo in effetti che l'interpretazione dei dati sperimentali riportata nei lavori di Suzuki relativamente al ruolo preponderante nell'insorgenza del mesotelioma delle fibre ultracorte sia discutibile, più precisamente:

- nella generalità dei casi non sono confrontati i dati relativi a fibre ritrovate nel polmone e nella pleura dei medesimi soggetti, per cui è arduo dedurre cosa e quanto dal polmone è passato nella pleura;

- il 19% delle fibre totali osservate dall'autore (18) sono costituite da fibre anfiboliche; presentano una granulometria sostanzialmente coerente con

quanto riportato in letteratura in analoghi studi e con quanto osservato da noi; in particolare i diametri medi delle fibre anfiboliche sono vicini a quelli riportati nelle tabelle 2 e 3;

- in sostanza l'interpretazione dei dati sperimentali si basa sui dati relativi alle fibrille di crisotilo recuperate: l'81% delle fibre totali osservate complessivamente nel tessuto polmonare e nel tessuto mesoteliale, costituite da fibre "ultracorte" ed "ultrasottili" (18). Queste fibre presentano, diversamente da quelle anfiboliche, diametri e lunghezze tali da apparire come una "popolazione" a parte rispetto alle altre fibre.

La loro granulometria non è correlata con quella delle fibre di crisotilo presenti negli ambienti di vita e di lavoro nei quali è ben documentata la presenza anche di fibre molto più lunghe e con maggiori diametri. Poiché è noto che la biopersistenza del crisotilo è limitata (1, 2) e che tale minerale viene degradato efficacemente nell'ambiente biologico, una ragionevole ipotesi è che le numerosissime "microfibre" di crisotilo rappresentino prevalentemente quel che rimane, dopo la loro permanenza nell'apparato respiratorio, delle originali fibre inalate.

La conclusione che la granulometria delle fibre correlate all'insorgenza del mesotelioma sia quella determinata valutandone le caratteristiche dimensionali sommando due "popolazioni" diverse, "microfibre di crisotilo" + "fibre anfiboliche", non si può considerare un approccio corretto.

Va inoltre considerato che, per il peso statistico molto diverso delle due "popolazioni", una media complessiva di tutti i dati rende il "peso" del gruppo di dati meno numeroso, le fibre anfiboliche, del tutto trascurabile e perciò viene perduta completamente l'informazione sul ruolo di tali fibre.

La congettura sul ruolo preponderante delle microfibre di crisotilo è conseguenza dell'aver "guardato" all'insieme delle fibre recuperate dai campioni autoptici senza distinguere le componenti di tale insieme e la loro genesi.

In conclusione riteniamo che, allo stato delle attuali conoscenze, siano da considerarsi assai deboli i dati sperimentali presentati a supportare l'ipotesi che le fibre "ultracorte" ed "ultrasottili" siano il fattore prevalente per l'insorgenza del mesotelioma.

Al contrario le osservazioni sperimentali, anche quelle del presente lavoro, confermano la correlazione fra il mesotelioma pleurico e la presenza nel parenchima polmonare e nel tessuto pleurico di fibre con lunghezza maggiore, e anche molto maggiore, di $4\div 5\ \mu\text{m}$, fibre quindi la cui lunghezza corrisponde molto meglio a quella indicata nell'ipotesi di Stanton.

NO POTENTIAL CONFLICT OF INTEREST RELEVANT TO THIS ARTICLE WAS REPORTED

BIBLIOGRAFIA

1. AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY - DIVISION OF HEALTH ASSESSMENT AND CONSULTATION. *Report on the Expert Panel on Health Effects of Asbestos and Synthetic Vitreous Fibers: The Influence of Fiber Length*. Atlanta, GA: Prepared for: ATSDR, 2003
2. BERNSTEIN DM, ROGERS R, SMITH P: The biopersistence of canadian chrysotile asbestos following Inhalation. *Inhal Toxicol* 2003; *15*: 1247-1274
3. BOUTIN C, DUMORTIER P, REY F, et al: Black spots concentrate oncogenic asbestos fibers in the parietal pleura. Thoracoscopic and mineralogic study *Am J Respir Crit Care Med* 1996; *153*: 444-449
4. BRUNI BM, PACELLA A, MAZZIOTTI TAGLIANI S, et al: Nature and extent of the exposure to fibrous amphiboles in Biancavilla. *Science of the Total Environment* 2006; *370*: 9-16
5. BURRAGATO F, CRISPINO M, MONTI F et al: Environmental pollution from airborne asbestiform fibres: development of fibre propagation maps. *Asbestos Monitoring and Analytical Methods*. AMAM2005. Venezia, 5-7 dicembre 2005: 60-61
6. CHIAPPINO G: Mesotelioma: il ruolo delle fibre ultrafini e conseguenti riflessi in campo preventivo e medico legale. *Med Lav* 2005; *96*: 3-23
7. COMBA P, GIANFAGNA A, PAOLETTI L: The pleural mesothelioma cases in Biancavilla are related to the new fibrous amphibole fluoroedenite. *Arch Environ Health* 2003; *58*: 229-232
8. DODSON RF, WILLIAMS MG, HUANG J, BRUCE JR: Tissue Burden of Asbestos in Nonoccupationally Exposed Individuals from East Texas. *Am J Ind Med* 1999; *35*: 281-286
9. DODSON RF, O'SULLIVAN MF, HUANG J, et al: Asbestos in Extrapulmonary Sites: Omentum and Mesentery. *Chest* 2000; *117*: 486-493
10. McDONALD JC, ARMSTRONG BG, EDWARDS CW, et al: Case-referent survey of young adults with mesothelioma: lung fibre analysis. *Ann Occup Hyg* 2001; *45*: 513-518
11. MEEKER GP, LOWERS HA, SWAYZE GA, et al: *Mineralogy and morphology of amphiboles observed in soils and rocks*. Reston, Virginia: US Geological Survey, 2006.
12. PAOLETTI L, FALCHI M, BATISTI D, et al: Characterization of asbestos fibers in pleural tissue from 21 cases of mesothelioma. *Med Lav* 1993; *84*: 373-378
13. PAOLETTI L, BATISTI D, BRUNO C, et al: Unusually high incidence of malignant pleural mesothelioma in a town of eastern Sicily: an epidemiological and environmental study. *Arch Environ Health* 2000; *55*: 392-398.
14. PASETTO R, BRUNI BM, BRUNO C, e coll: Mesotelioma pleurico ed esposizione ambientale a fibre minerali: il caso di un'area rurale in Basilicata. *Ann Ist Super Sanità* 2004; *40*: 251-265
15. PIOLATTO PG, PIRA E, PUTZO MG, e coll: Patologia da asbesto e ruolo delle microfibre. *G Ital Med Lav Erg* 2006; *28*: 273-275
16. STANTON MF, LAYARD M, TEGERIS A, et al: Relation of particles dimension to carcinogenicity in amphibole asbestoses and fibrous minerals. *J Natl Cancer Inst* 1981; *67*: 965-975
17. SUZUKI Y, YUEN SR: Asbestos tissue burden study on human malignant mesothelioma. *Ind Health* 2001; *39*: 150-160
18. SUZUKI Y, YUEN SR, ASHLEY R: Short, thin asbestos fibers contribute to the development of human malignant mesothelioma: pathological evidence. *Int J Hyg Environ Health* 2005; *208*: 201-210
19. TOMATIS L, CANTONI S, CARNEVALE F, e coll: Il ruolo della dimensione delle fibre di amianto nella patogenesi e nella prevenzione del mesotelioma. *Epidemiologia e Prevenzione* 2006; *30*: 289-294

RINGRAZIAMENTI: *Gli autori desiderano ringraziare la Azienda Sanitaria USL 3 di Lagonegro e il Dipartimento di Medicina Interna dell'Università di Catania per i campioni autoptici studiati nel presente lavoro*