

XXX CONGRESSO NAZIONALE

SIAAIC

Società Italiana di Allergologia,
Asma ed Immunologia Clinica



FIRENZE 6/9 APRILE 2017 | WWW.SIAAIC2017.ORG



Firenze, 6-9 aprile 2017

Nanoparticelle: funzionalità e tossicologia

Enrico Sabbioni



*Centro Scienze sull'Invecchiamento (CeSI),
Fondazione Università "G.d'Annunzio", Chieti*

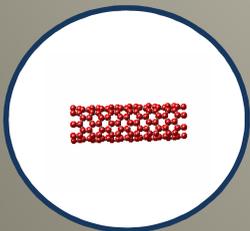


Nanomateriali: “angeli” o “demoni”?





Perché *nano* è diverso?



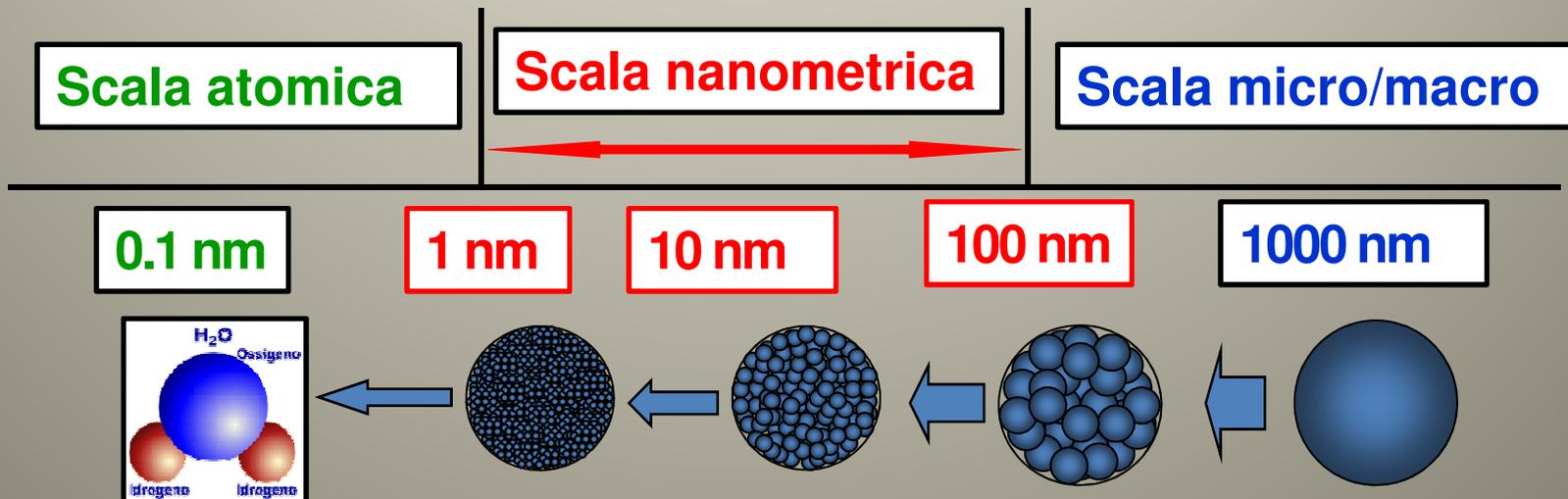
Vicent H. Crespi,
University of Pennsylvania

Nanoscala e insorgenza di fenomeni quantistici

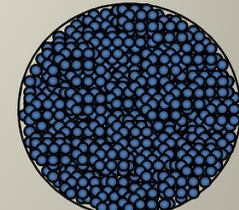
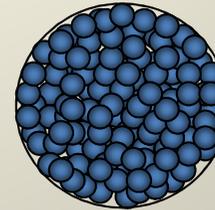
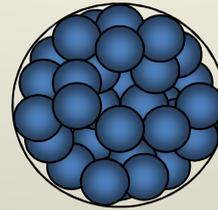
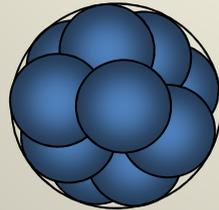
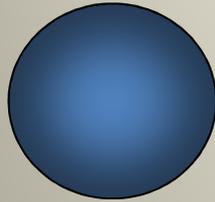
A livello di **scala micro** (1000 nm) o superiore, la **fisica classica** determinano le proprietà dei materiali

A livello di **scala nanometrica** (1-100 nm) le proprietà dipendono **esattamente** da **quanto grande** è la particella

A livello di **scala atomica** (0.1 nm), la **meccanica quantistica** determina le proprietà dei materiali



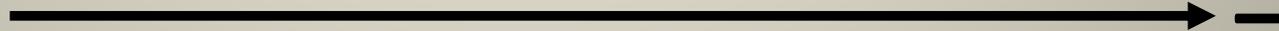
Nanoscala e insorgenza di effetti di superficie (elevato rapporto superficie/volume)



30nm 5%

3nm 50%

Dimensione

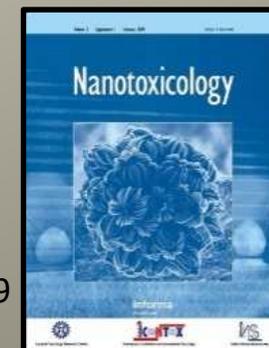


Area superficiale



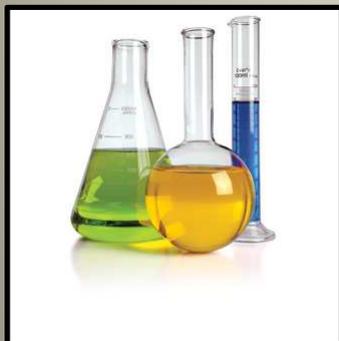
Quando le particelle divengono *nanoscopiche* **l'area superficiale aumenta enormemente** con grande aumento della **percentuale di atomi di superficie**

Reattività



Effetti quantistici e di superficie: conseguenze

Nel passaggio della materia dal macro- e dal micromondo al nanomondo le **proprietà** di **ogni elemento chimico possono cambiare radicalmente**



Chimiche

Reattività

Catalisi

Solubilità

Dispersibilità

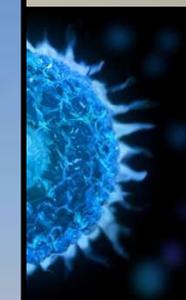


Nano-euforia !

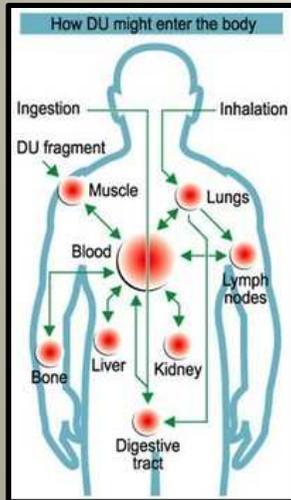
giche

ibilità

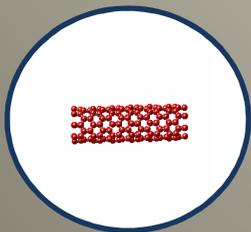
à



Il comportamento della materia a **livello nanometrico non può essere previsto** in base alle nostre conoscenze della stessa materia a livello macroscopico



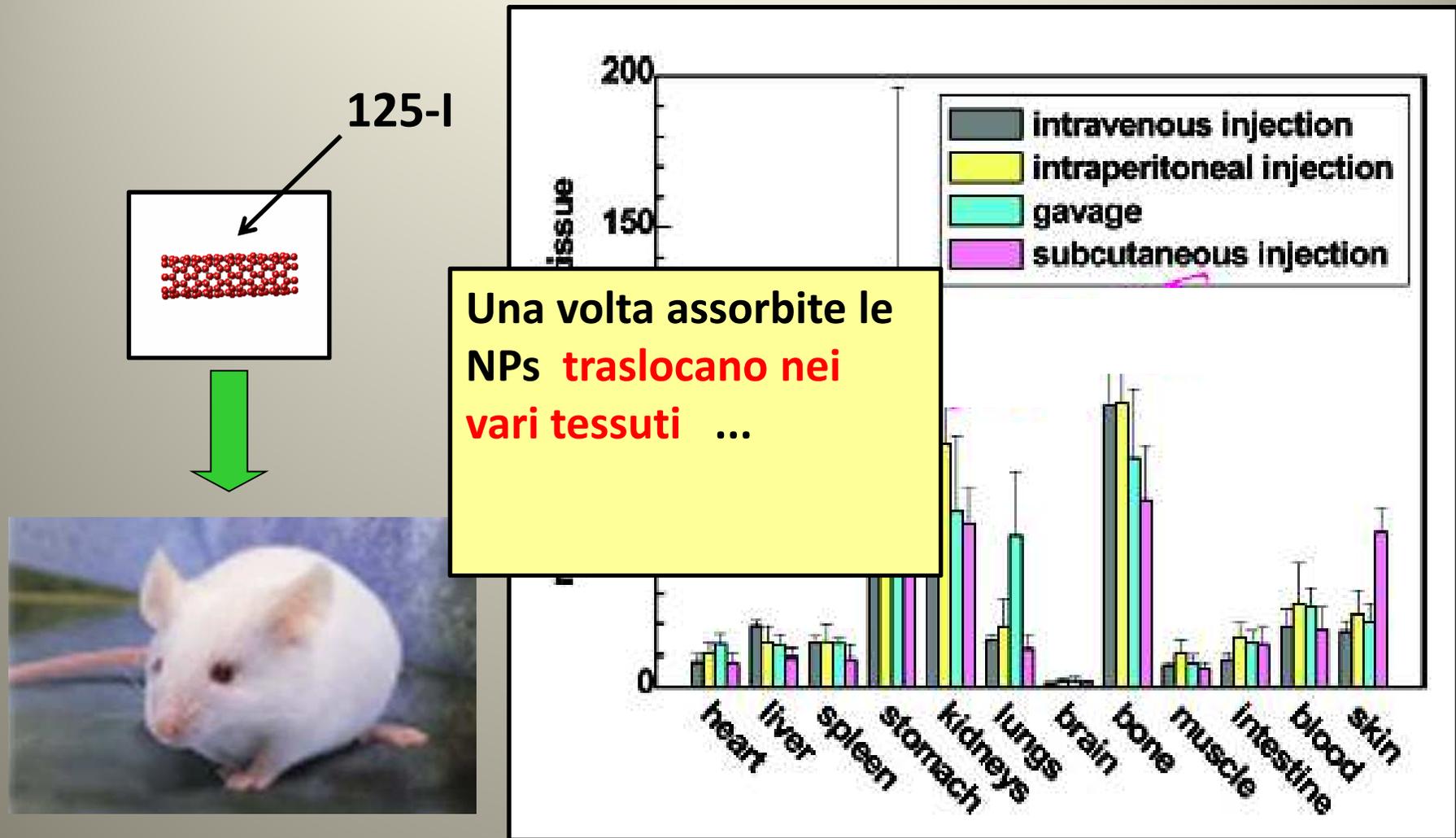
Quale destino delle nanoparticelle nell'organismo?



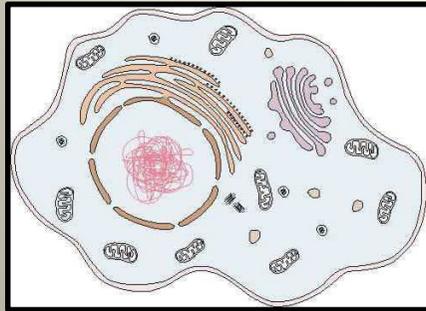
Vicent H. Crespi,
University of Pennsylvania



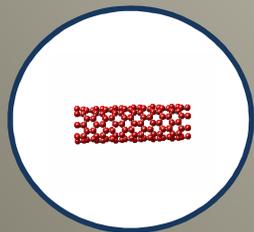
Bioistribuzione di ^{125}I - SWCN nel ratto trattato con diversi modi di somministrazione



Zhen Chen et. al., Institute of High Energy Physics, Chinese Academy of Sciences, Beijing, presented at NAMLS8, April 17-21, Rio Janeiro, Brasil

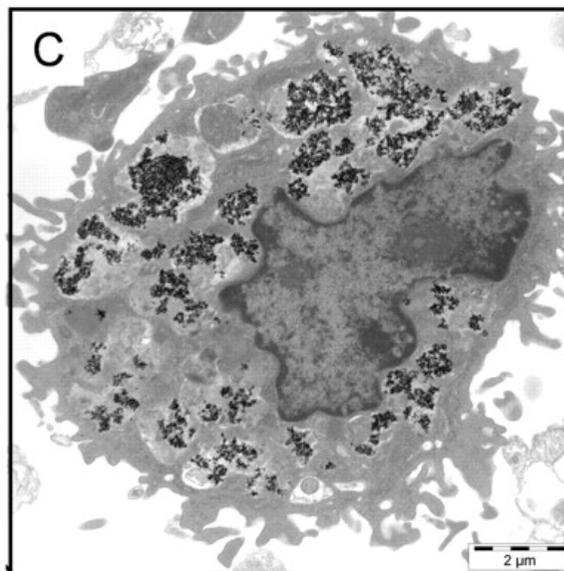
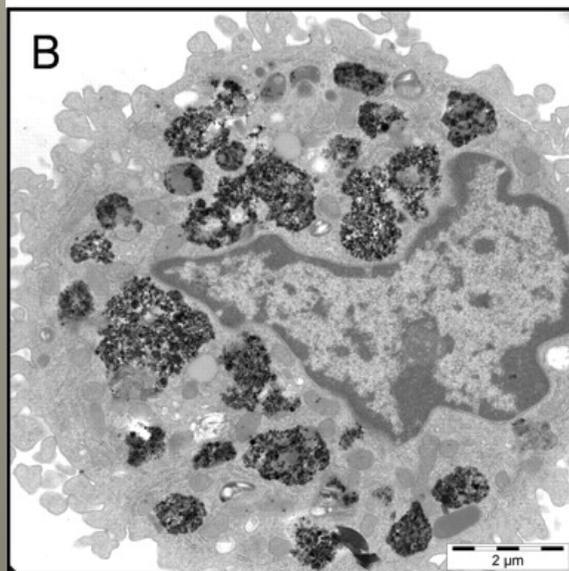
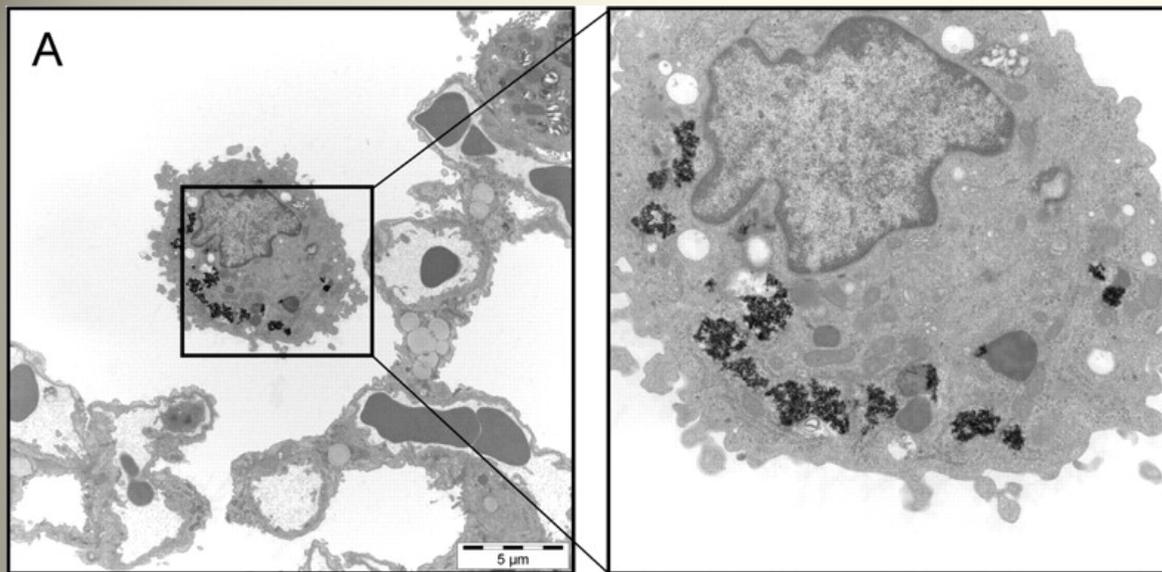


Le nanoparticelle penetrano nella cellula?



Vicent H. Crespi,
University of Pennsylvania





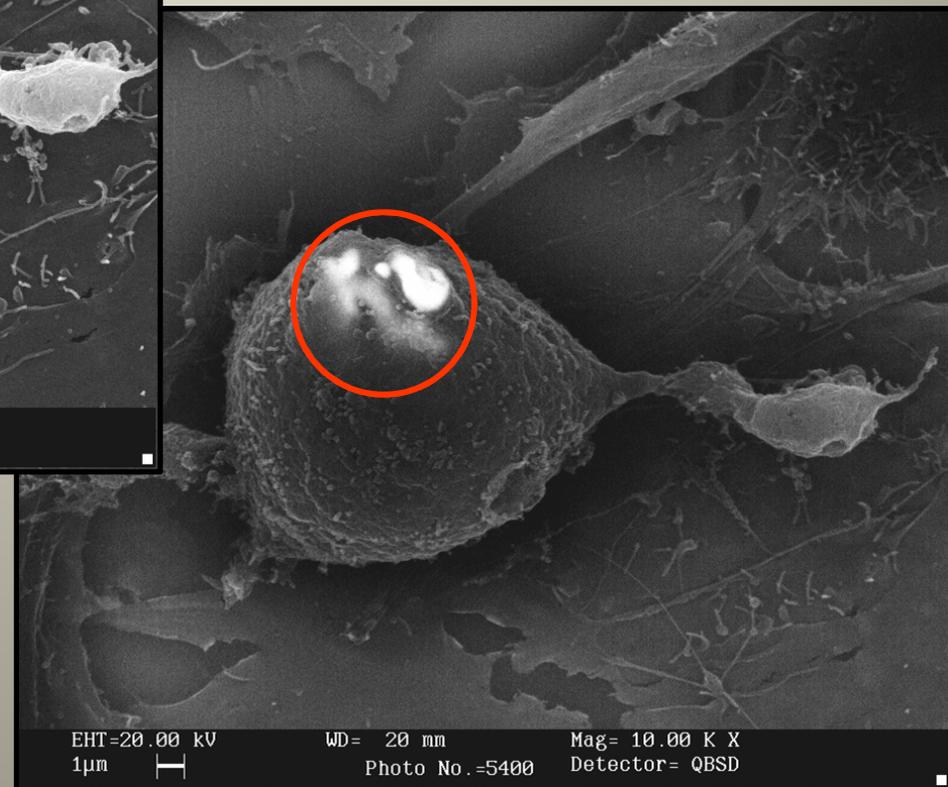
Studi *in vivo*: immagini TEM di macrofagi polmonari di cavia dopo esposizione a nano-TiO₂

Le NPs **penetrano rapidamente** nelle cellule ...

... un pre-requisito per indurre tossicità

Elina et al. Airway Exposure to Silica-Coated TiO₂ Nanoparticles Induces Pulmonary Neutrophilia in Mice
2009, Toxicol Sci. 113, 422-433

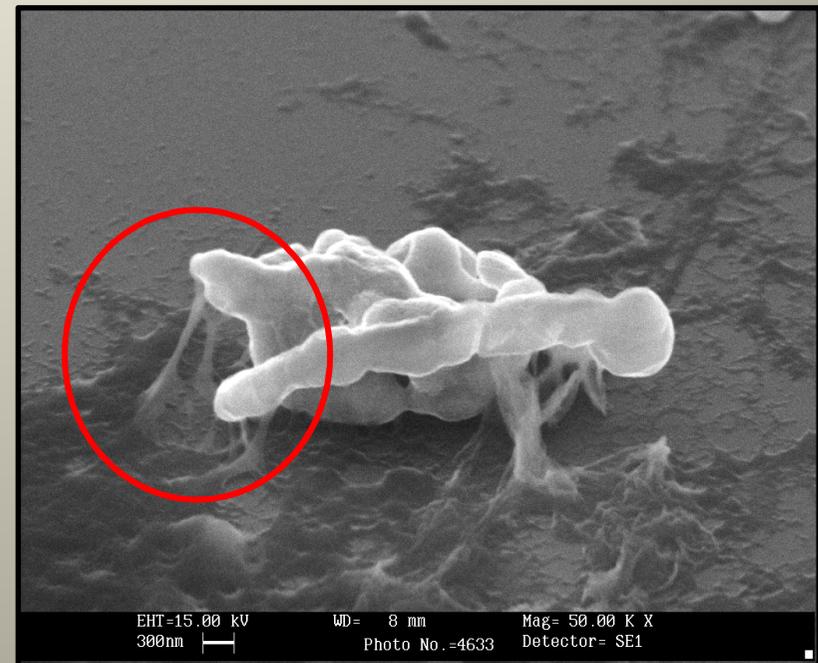
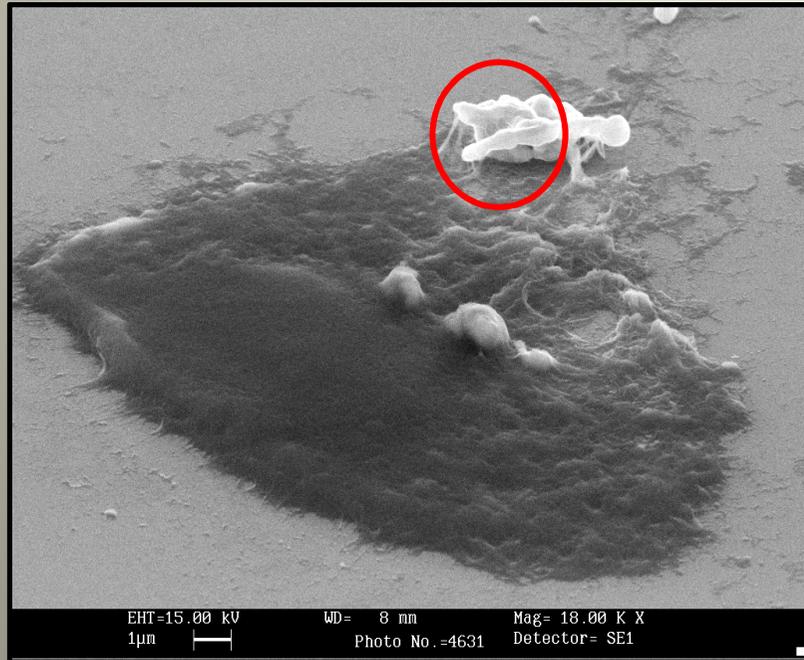
Microfotografie SEM di fibroblasto di topo Balb/3T3 dopo esposizione a nanoparticelle di cobalto



T. Hartung and E. Sabbioni 2011
Alternative in vitro assays in
nanomaterial toxicology *WIREs*
Nanomed Nanobiotechnol 3: 545-573



Microfotografie SEM di cellule Balb/3T3 esposte a nanoparticelle di cobalto



E. Sabbioni , *In Vitro* nanotoxicology research: a great potential for nuclear and radiochemical techniques, 8th Nuclear Analytical Methods in the Life Sciences, Rio de Janeiro, 17-2April 2005



Le nanoparticelle penetrano gli organelli cellulari ?

Esposizione di cellule epiteliali umane a nano-SiO₂ fluorescenti (70 nm, 0.5µm, 5µm)

solo nel caso delle NPs (70 nm)

la fluorescenza è presente nel nucleoplasma)

Al contrario. le particelle di altre dimensioni sono localizzate nel citoplasma

Sotto certe dimensioni le NPs penetrano negli organelli cellulari...

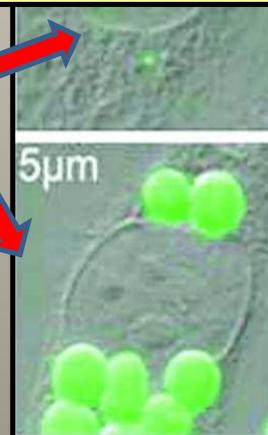


epithelial control cell

nano-SiO₂ induced

- protein aggregates/clusters
- inhibition of replication
- inhibition of transcription
- proteasomal proteolysis
- inhibition of cell proliferation

alteration of nuclear structure and function

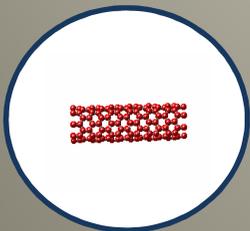


no alteration of nuclear structure and function

Unfried K et al. Nanotoxicology, Cellular responses to nanoparticles: Target structures and mechanisms 2007, 1 : 52-71)



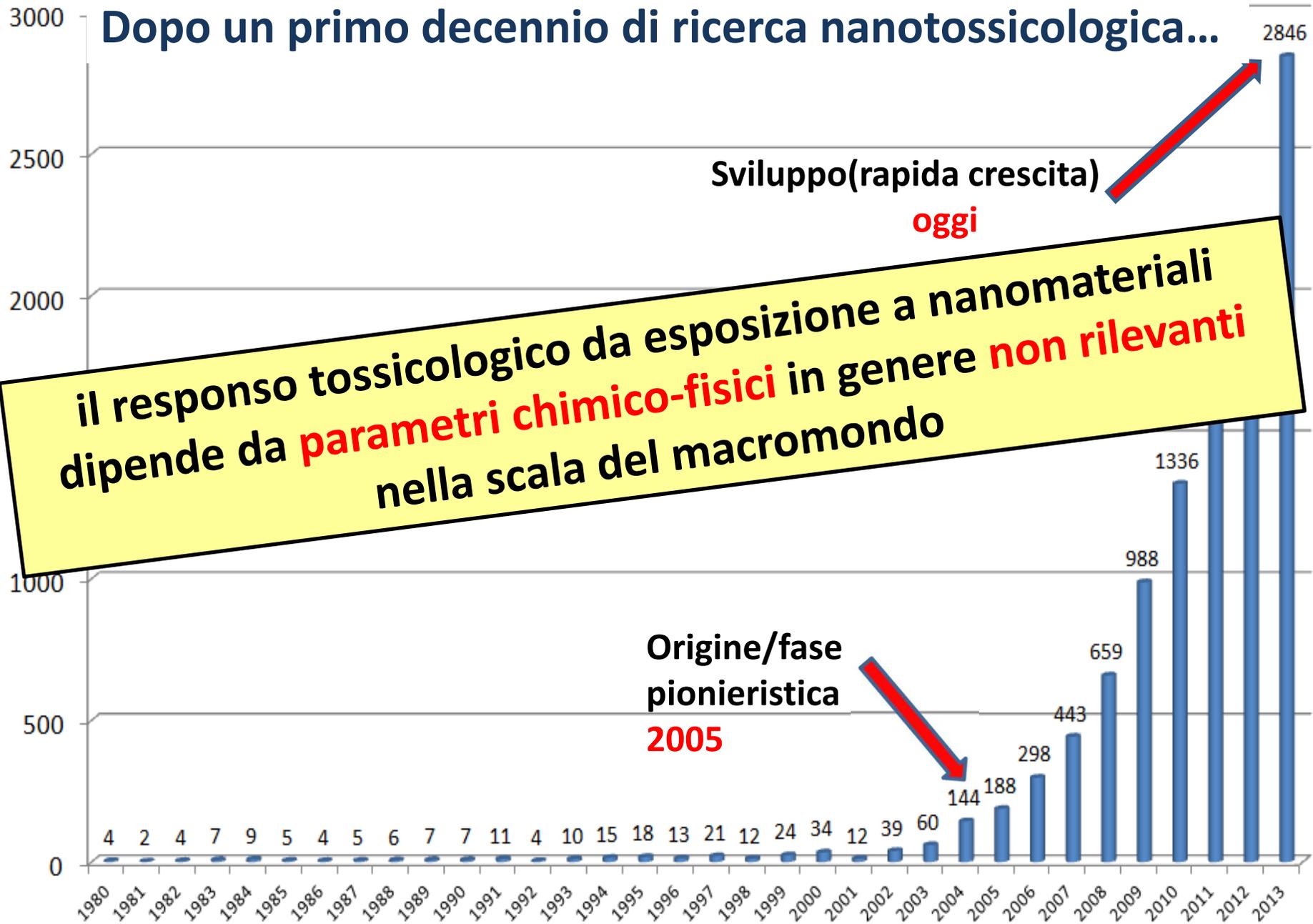
Perché i nanomateriali sono di particolare interesse per il tossicologo?



Vicent H. Crespi,
University of Pennsylvania



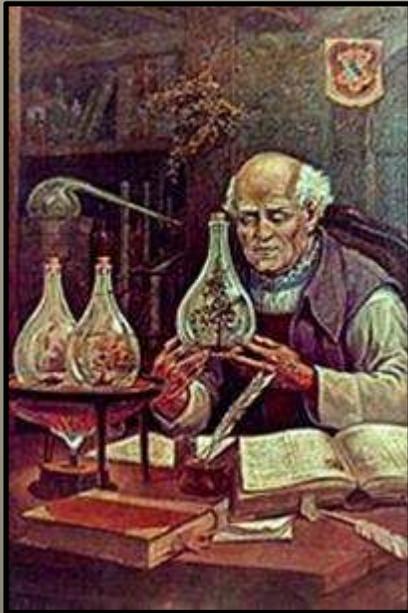
Dopo un primo decennio di ricerca nanotossicologica...



Parametri determinanti il responso tossicologico di macro-/ micro- e nanomateriali

**Paradigma «classico»
(macro-/ micro materiali)**

**Paradigma
«nanomateriali»**

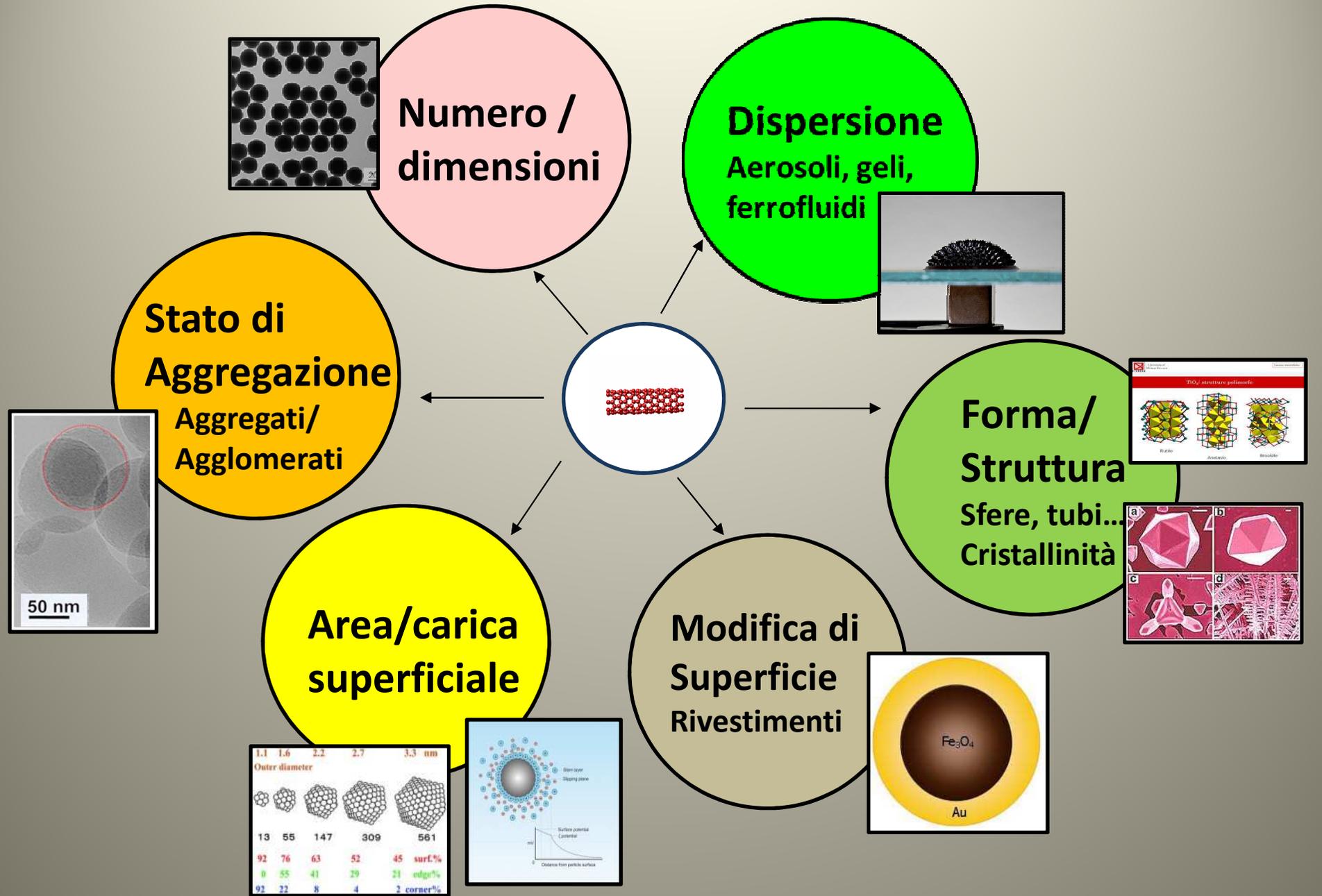


Paracelsus, padre della tossicologia

La dose è il **principale parametro** che determina l'effetto tossico

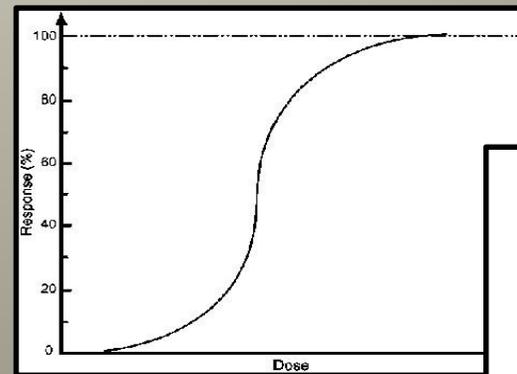
Parametri dosimetrici:
massa per **unità di peso** ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) o
per **unità di volume** ($\mu\text{g}/\text{m}^3$ o $\mu\text{g}/\text{L}$)

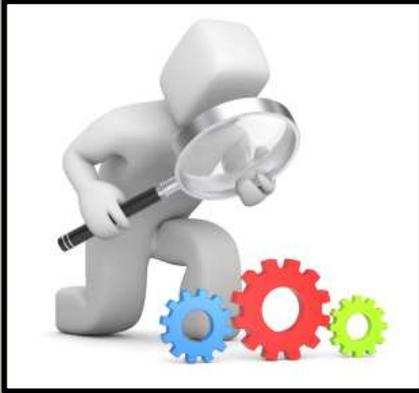
Parametri determinanti il responso tossicologico di nanomateriali



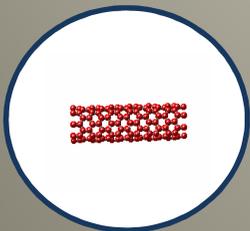
La dose non è il parametro principale che determina l'effetto tossico dei nanomateriali : conseguenza

Attualmente, forti limiti all'identificazione del pericolo (**hazard**) a causa dell'**impossibilità di stabilire con certezza** un parametro che correli il **dosaggio** alla **tossicità**





Aggregati/agglomerati...
Effetto corona...
Dissoluzione...



Vicent H. Crespi,
University of Pennsylvania



Agglomerazione/Aggregazione



Particella primaria

Agglomerazione/Aggregazione



Particella primaria



Particelle primarie agglomerate (Agglomerato)

Agglomerazione/Aggregazione



Particella primaria



**Particelle primarie agglomerate
(Agglomerato)**



Particelle primarie aggregate (Aggregato)

Agglomerazione/Aggregazione



Particella primaria



**Particelle primarie agglomerate
(Agglomerato)**



Particelle primarie aggregate (Aggregato)



Agglomerato Aggregati

Formazione di agglomerati

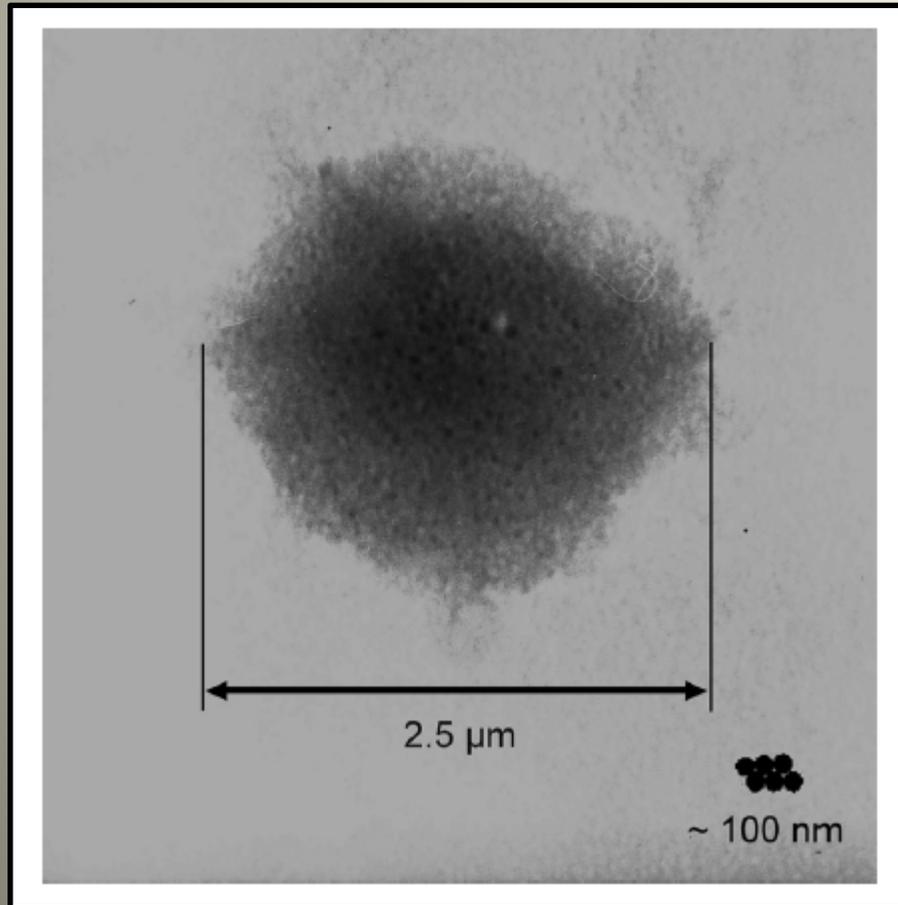


Immagine TEM mostrante la tendenza di **nanoparticelle di TiO₂** a formare agglomerati:

nanoparticelle primarie di ~ 5nm formano agglomerati con un diametro di **2.5μm**



Formazione di aggregati

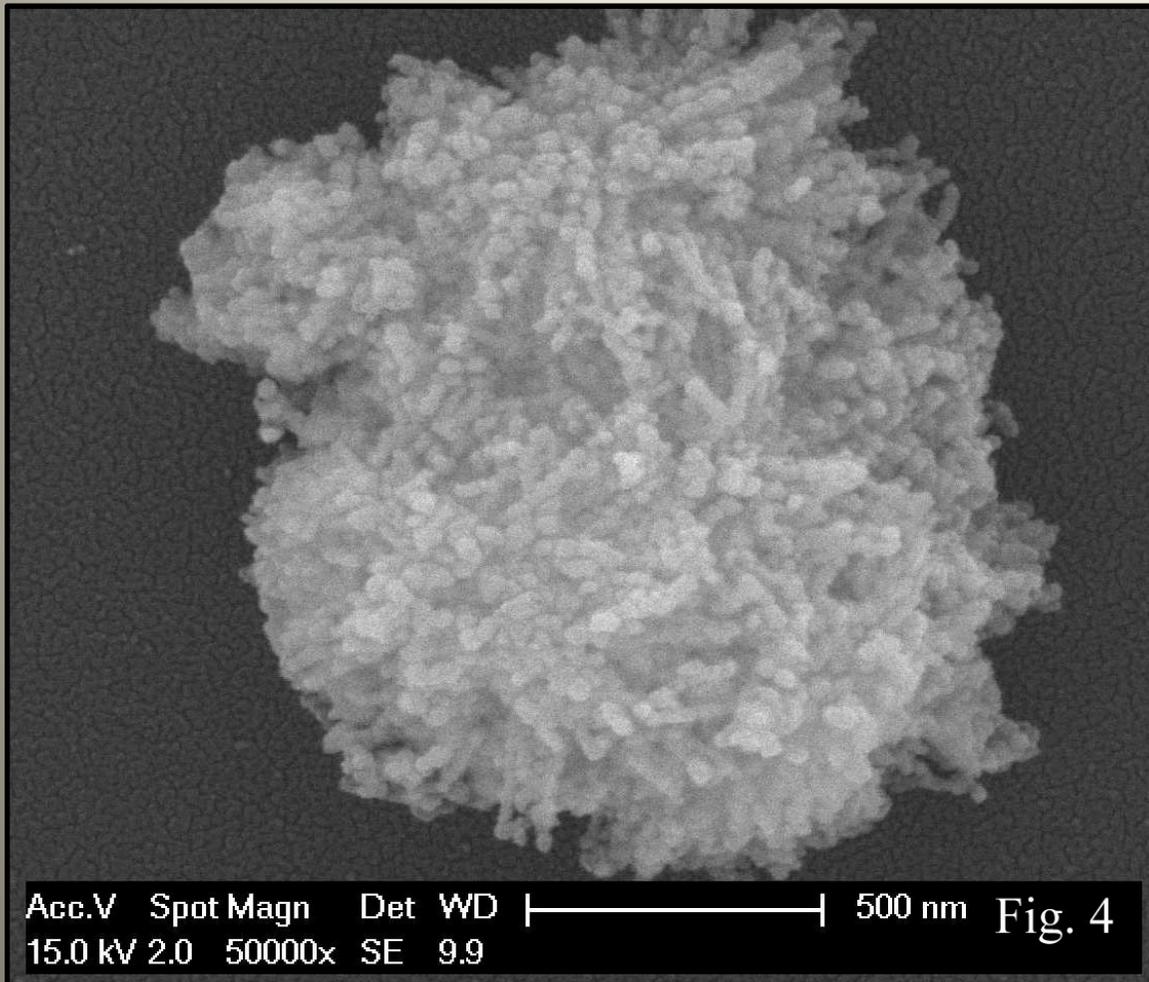
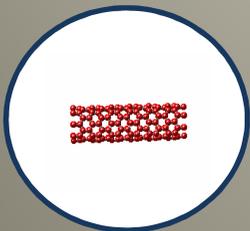


Immagine di **nano-Co₃O₄** ottenute al SEM





Aggregati/agglomerati...
Effetto corona...
Dissoluzione...



Vicent H. Crespi,
University of Pennsylvania

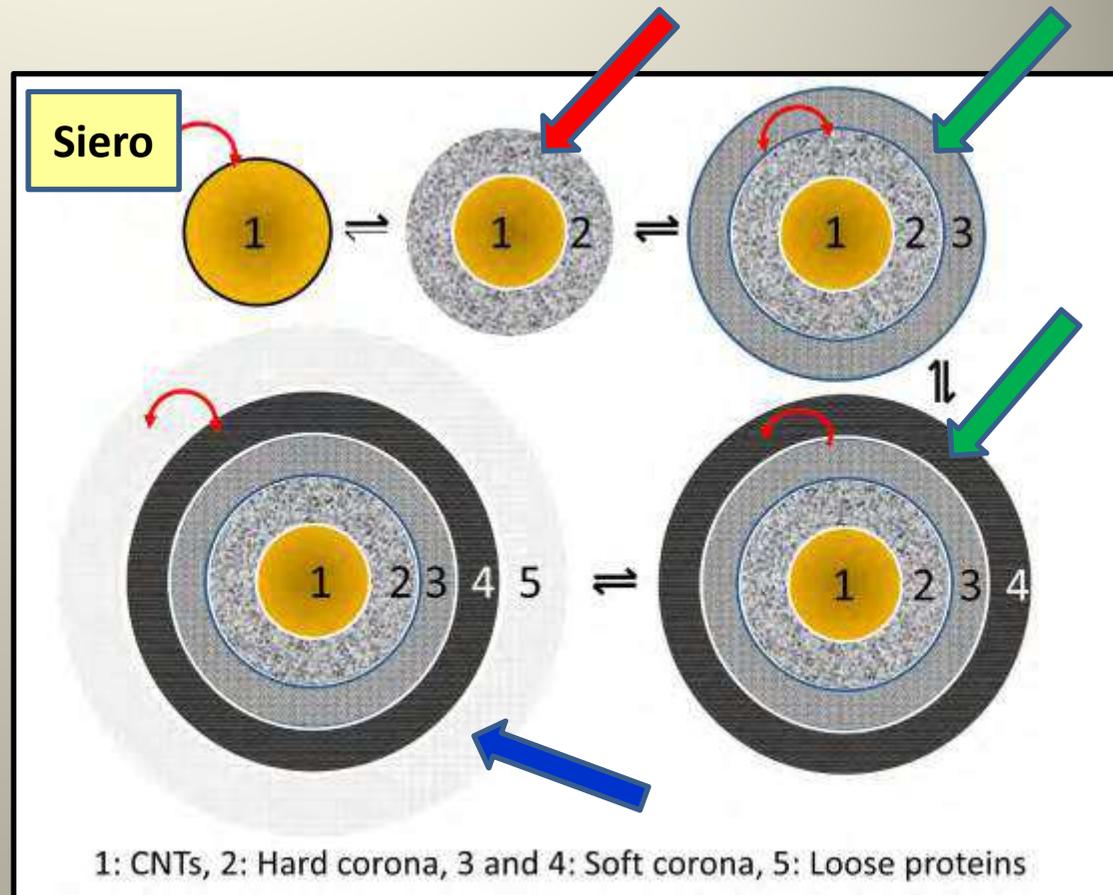


Effetto corona di nanoparticelle

Quando NPs incontrano siero o altri fluidi biologici tendono ad **assorbire proteine** sulla loro superficie

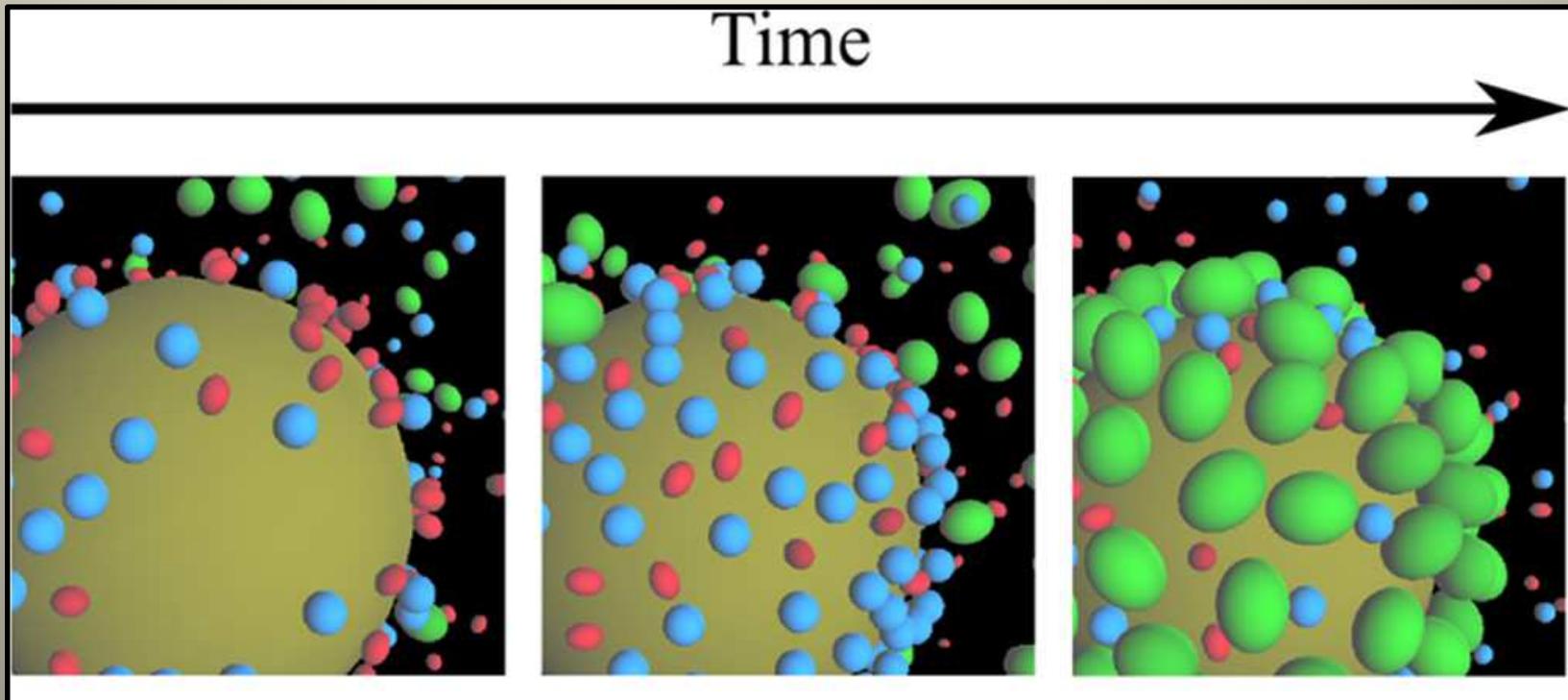
Formazione di **corona 'hard'** che può attrarre altri strati di proteine chiamati **corona soft**

Ci può essere poi qualche proteina **liberamente associata** con lo strato più esterno



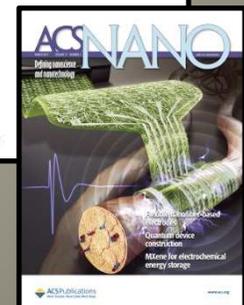
Effetto corona di nanoparticelle

La corona **non è composta** solo di una **singola proteina**



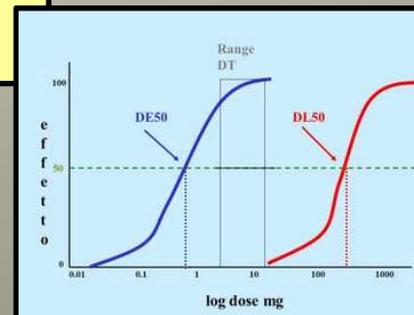
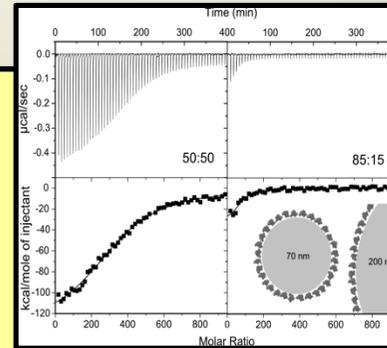
Kinetics of protein adsorption onto NPs.
Red: Albumin, blue: Transferrin, green: Fibrinogen.

Oriol Vilanova; Judith J. Mittag; Philip M. Kelly; Silvia Milani; Kenneth A. Dawson; Joachim O. Rädler; Giancarlo Franzese; *ACS Nano* **2016**, 10, 10842-10850.



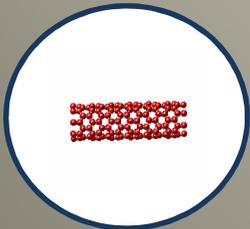
Effetto corona di nanoparticelle: conseguenze

L'**effetto corona** è considerato fondamentale nel definire l'**identità biologica delle nanoparticelle**, determinandone l'**assorbimento** nelle cellule, influenzandone la **biocinetica**, la **biodistribuzione** ed in ultima analisi l'**effetto tossico**





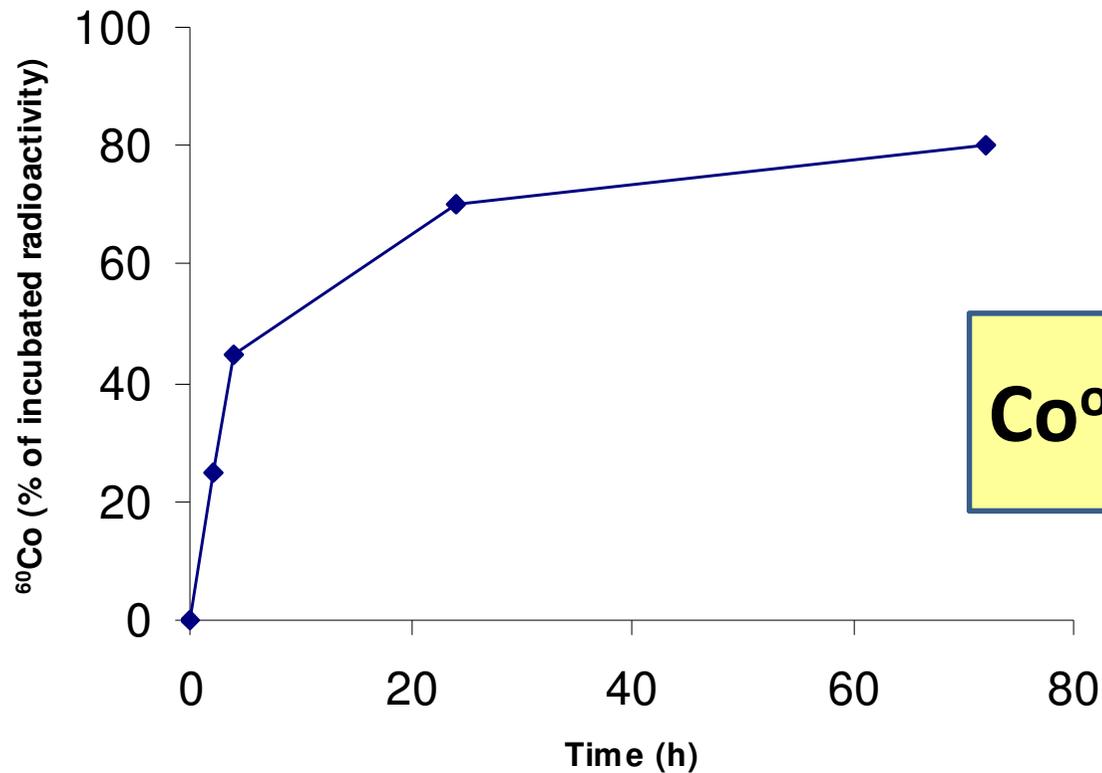
Aggregati/agglomerati...
Effetto corona...
Dissoluzione...



Vicent H. Crespi,
University of Pennsylvania



Cinetica di dissoluzione di ^{60}Co -nanoparticelle in DMEM



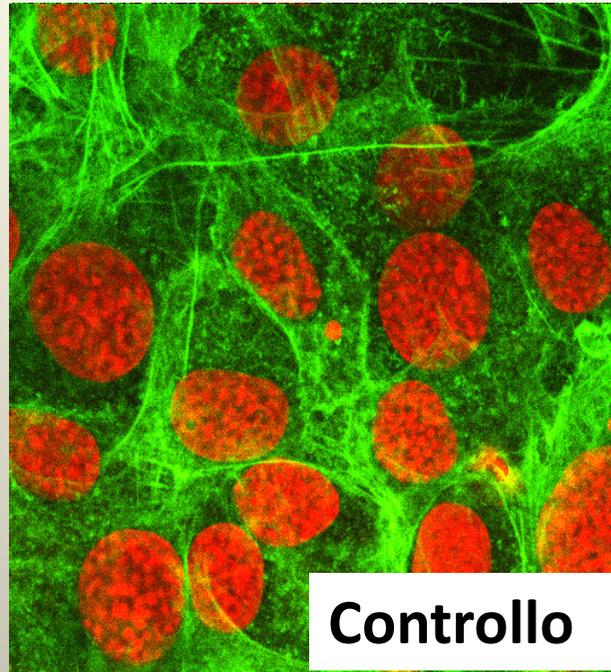
Progressiva dissoluzione delle ^{60}Co -nanoparticelle nel mezzo di coltura



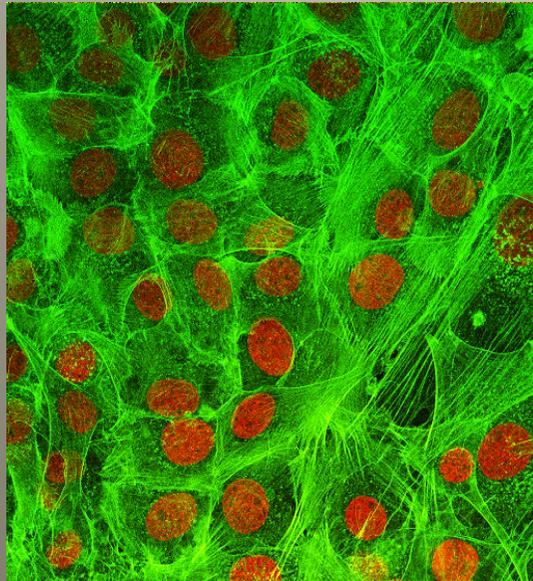
'Nanoparticles for European Industry – *Manufacture, Scale-up, Stabilization, Characterization and Toxicology*'.

2nd/3rd May 2006 – The Olympia Conference Centre, London

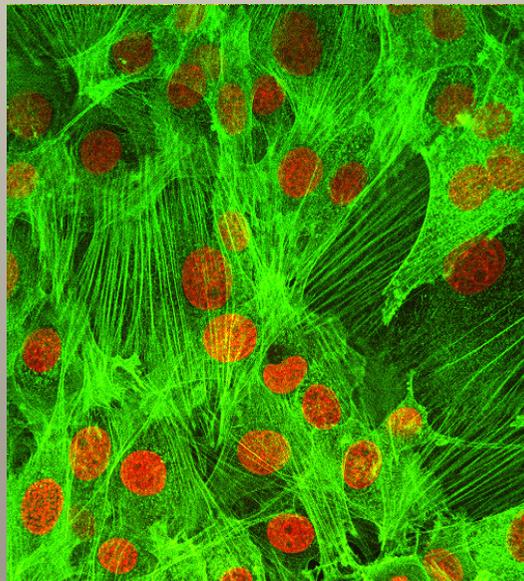
**Microscopia
confocale di cellule
Balb/3T3 esposte a
nano-Co**



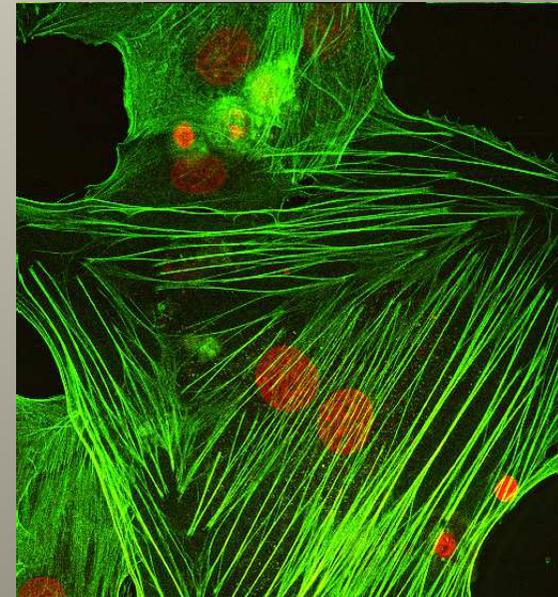
1 μ M



7 μ M

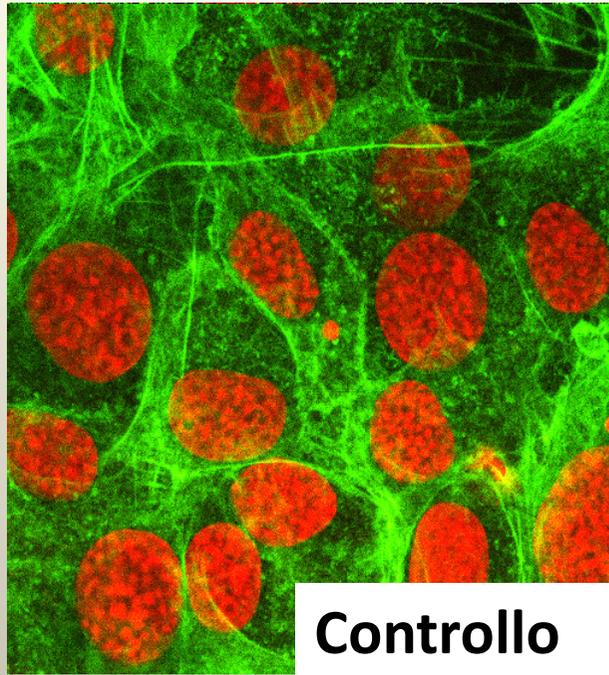


100 μ M



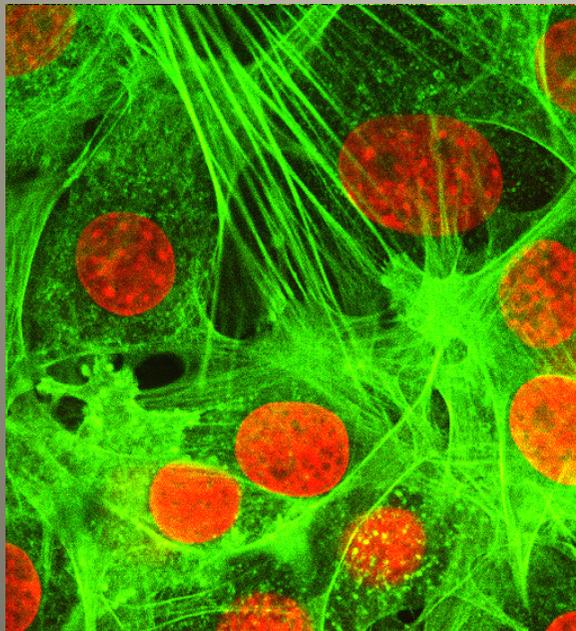
T. Hartung and E. Sabbioni *Alternative in vitro* assays in nanomaterial toxicology, WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology 2011, 3: 545-573

**Microscopia confocale
di cellule Balb/3T3
esposte a cobalto ione**

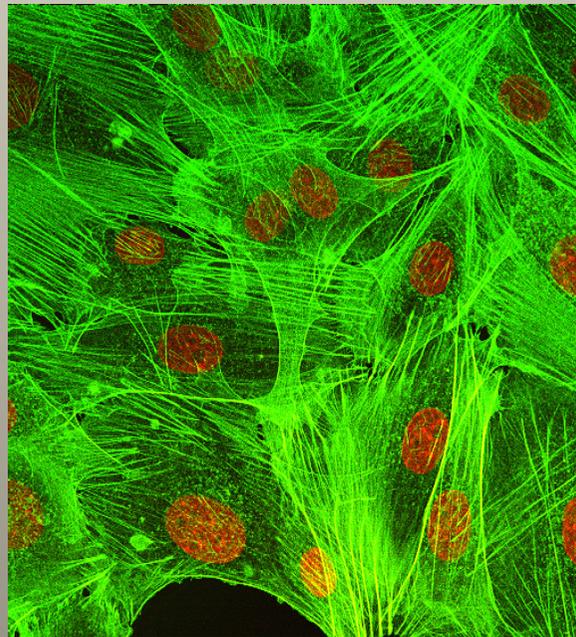


T. Hartung and E. Sabbioni *Alternative in vitro* assays in nanomaterial toxicology, *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology* 2011, 3: 545-573

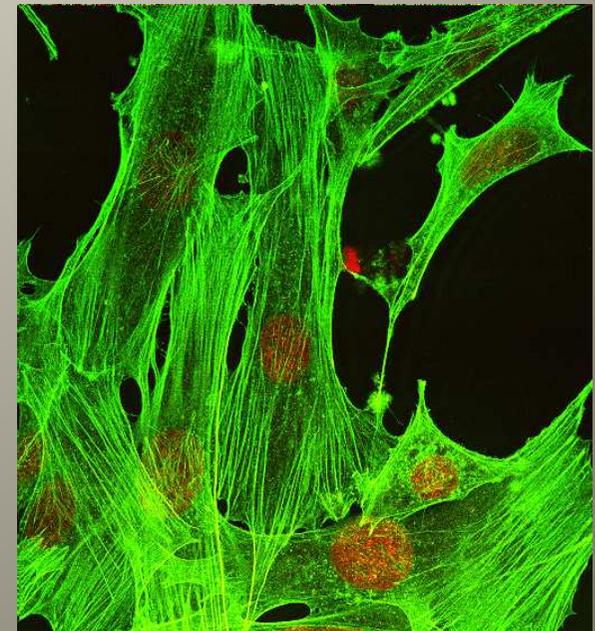
1 μ M

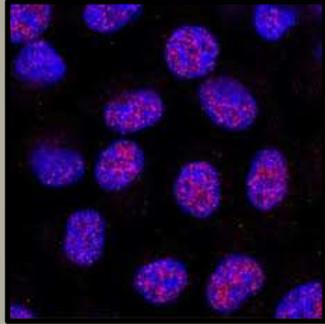


30 μ M

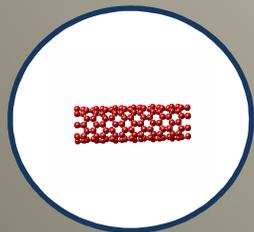


100 μ M





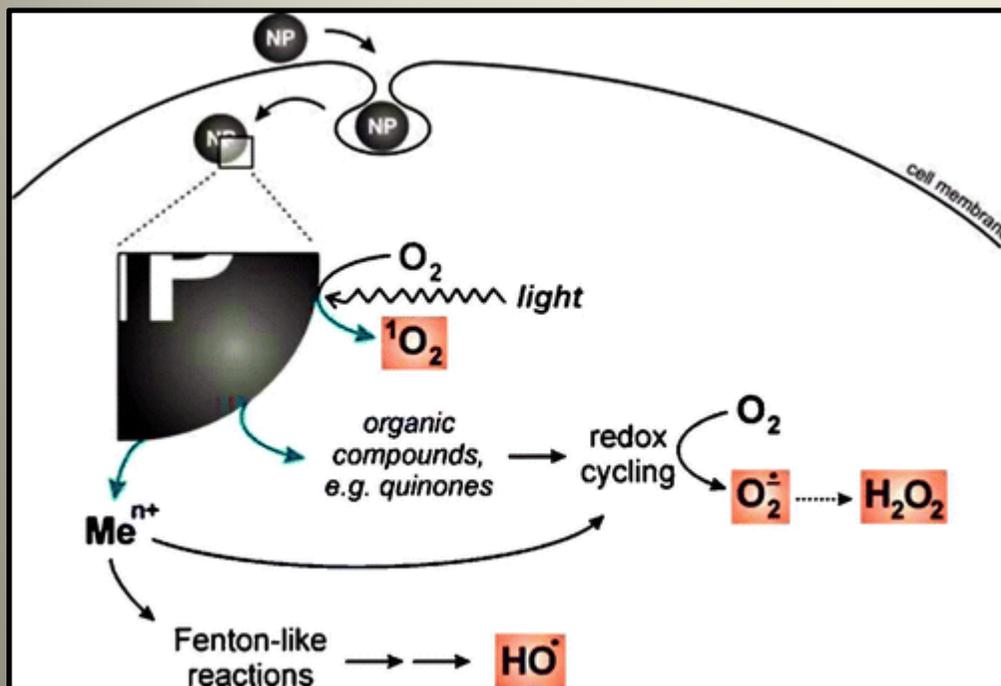
Quali gli effetti biologici indotti da nanoparticelle ?



Vicent H. Crespi,
University of Pennsylvania



Induzione di stress ossidativo- infiammazione

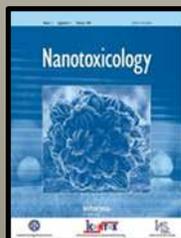


Generazione di ROS da parte di NP a causa della loro reattività chimica intracellulare

Dal 2006, lo **stress ossidativo** è stato considerato uno dei meccanismi più importanti effetti citotossici di NP (**perossidazione lipidica, ossidazione delle proteine, danno al DNA**)

Poichè la produzione di ROS è stata ripetutamente segnalata per un numero considerevole di nanoparticelle, il fenomeno è **probabilmente generico** per (quasi) tutti i nanomateriali

Unfried K et al. Nanotoxicology, 2007
Cellular responses to nanoparticles: Target structures and mechanisms 1:52-71



Radicali Liberi



La **dimensione**, e quindi **la superficie**, sembra essere il fattore principale delle interazioni di NP con tessuti biologici e sistema immunitario

Alcune NP si accumulano nei linfonodi regionali, dove possono essere captate ed elaborate da cellule dendritiche, interagire con auto-proteine , **modificando la loro antigenicità** e suscitare **risposte immunitarie alterate e perfino autoimmunità**.

Altre NP possono indurre sensibilizzazione allergica, ossia la **dermatite allergica da contatto** (Pd)

Le NP sono in grado in vitro di modulare la produzione di citochine verso la risposta **Th1 (Pt, Pd, Ni, Co)** o **Th2 (Ti, nanotubi di C)**

Alcune NP sono state collegate a **sensibilizzazione allergica**. Tuttavia, è **improbabile** che possano agire **come un aptene** con induzione di una specifica **IgE**. E' probabile che esse possono agire come **adiuvante** e indurre un percorso specifico di citochine, anticorpo e cellule **che favoriscono la sensibilizzazione** allergica ad allergeni ambientali

I dati disponibili suggeriscono che attraverso l'elicitazione di un meccanismo di stress ossidativo, le NP possono contribuire a processi di stati pro-infiammatori nel polmone, in particolare allergia

2011

M. Di Gioacchino et al
Immunotoxicity of nanoparticles

Int J Immunopathol Pharmacol.
2011 24(1 Suppl):65S-71S



Petrarca et al. *Clinical and Molecular Allergy* (2015) 13:13
DOI 10.1186/s12948-015-0020-1

2015

CLINICAL AND
MOLECULAR ALLERGY

Open Access

REVIEW

Engine
immu

Claudia Petrarca
Ivo Iavicoli⁶, S

MeNPs rappresentano un avanzamento tecnologico che può anche aiutare lo **sviluppo di strumenti terapeutici innovativi e più potenti**

Tuttavia, la loro esposizione non intenzionale potrebbe causare, almeno teoricamente, **effetti sul sistema immunitario**

innate

ni Bernardini^{4,5},
to^{1,2*}

Come mai la Airforce USA indaga sugli effetti delle nanoparticelle di alluminio in atmosfera?



United States Air Force

Il **nanoparticolato di alluminio altera la funzione immunitaria**: questo è il titolo dell'articolo scientifico pubblicato nel 2010 dall'**Applied Biotechnology Branch, dell'Air Force Research Laboratory**.

Il gruppo di ricerca della Air Force ha esaminato gli effetti dei nanoparticolati di alluminio in un microambiente polmonare simulato: "La via più probabile di esposizione ai nanoparticolati di alluminio è l'inalazione, dato il loro utilizzo nei carburanti di jet e nelle munizioni."

ione di alluminio e acqua ghiacciata (non a caso AL-ICE)

Ghiaccio e alluminio nei serbatoi dei razzi che esploreranno il sistema solare

<http://www.nogeoingegneria.com/>

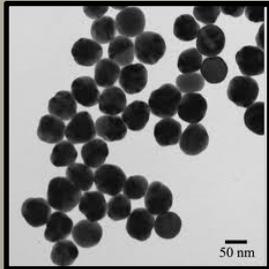
Nanomateriali: due facce della stessa medaglia



Il panorama sull'impiego di nanomateriali è caratterizzato da due aspetti tra loro contrapposti:

potenziali benefici
possibili rischi

Nanoparticelle: angeli o demoni?



**Nanoparticelle
ingegnerizzate**

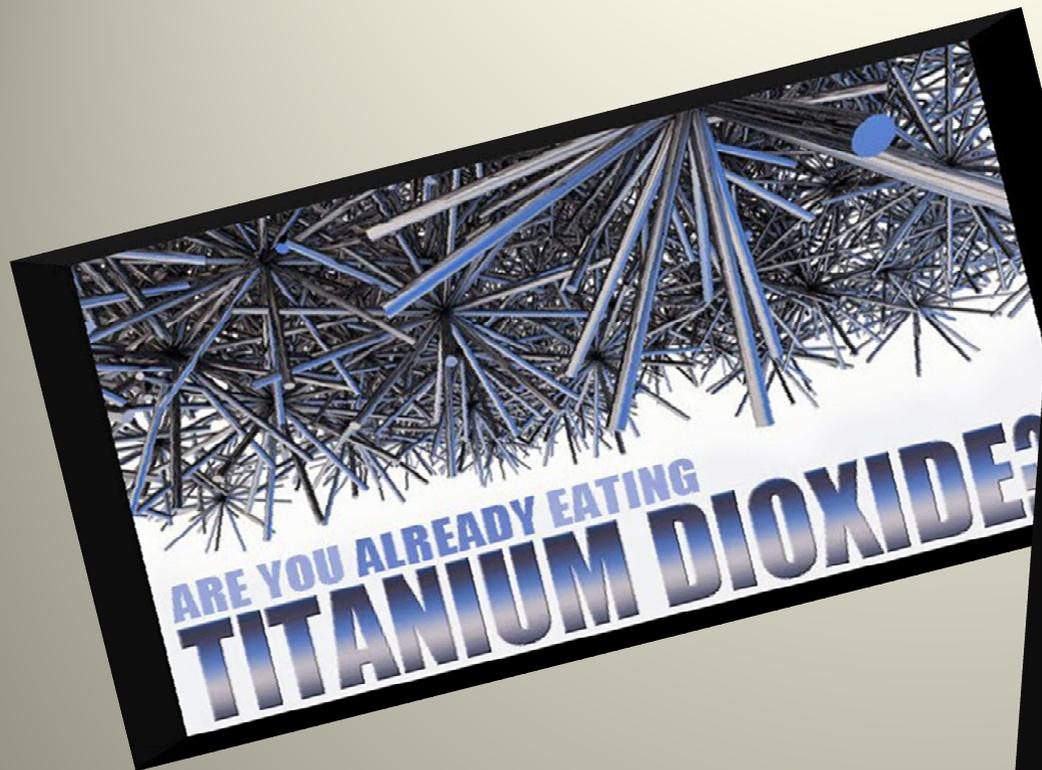
Eccezionali opportunità
al servizio dei cittadini e di
innovazione tecnologica

Indicazioni di tossicità in modelli
sperimentali *in vitro/in vivo*

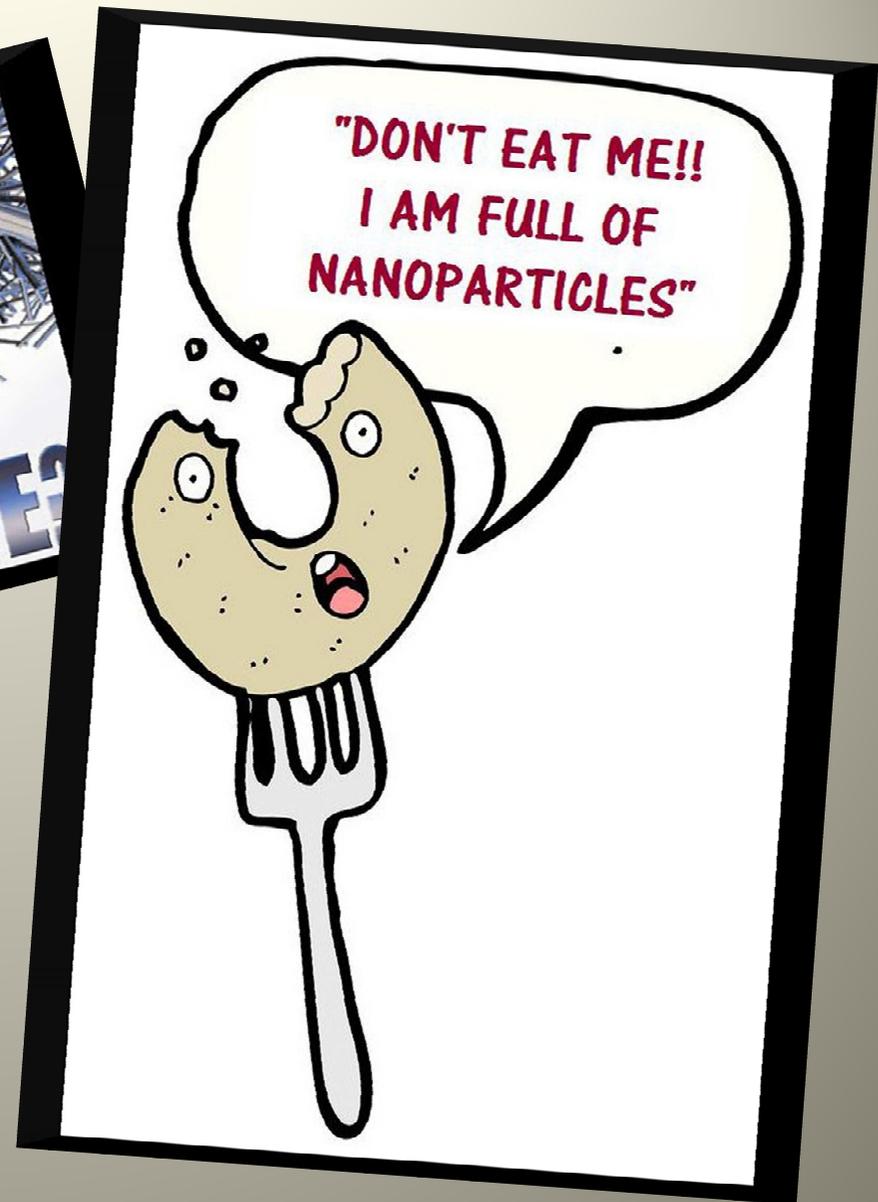


A tutt'oggi **non esiste alcuna evidenza scientifica** di
patologie specifiche causate da nanoparticelle
ingegnerizzate

L'uso del termine **Nanopatologie** può risultare
fuorviante



Titanio, silicio, argento sono tra i metalli più comuni utilizzati a scopo alimentare, hanno proprietà stabilizzanti (capaci ossia di preservare la conservazione di alimenti o preparazioni in polvere), anti-agglomeranti e antibatteriche ma **solo se in nano dimensioni**



Food Safety News

Breaking news for everyone's consumption

2011

Caution Urged with Nanoparticles in Food

By Andrew Schneider | December 6, 2011

Food Safety News

Breaking news for everyone's consumption

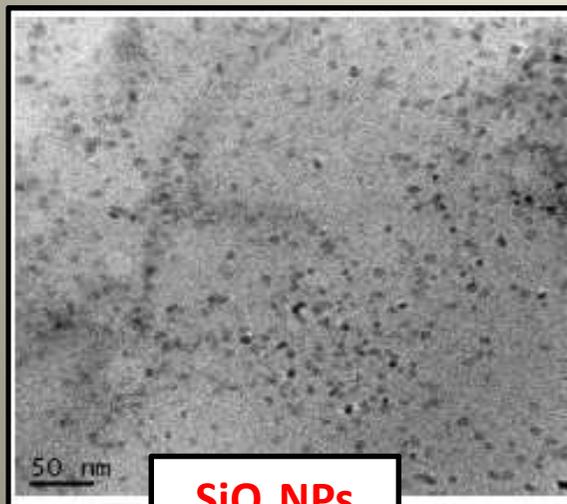
2014

EPA Stops Sale of Food Containers Made With Nano Silver

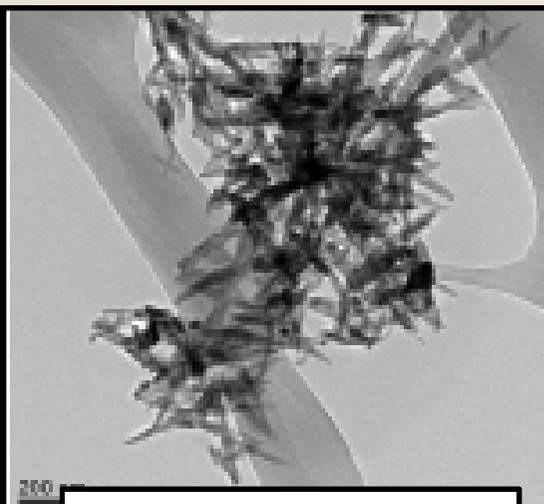
By News Desk | April 2, 2014



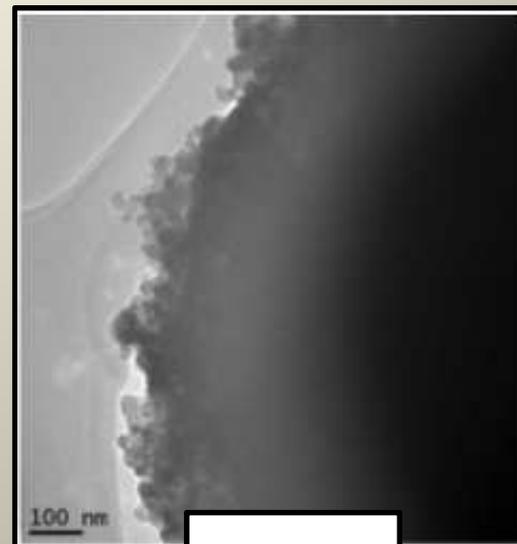
Nanomateriali identificati in alimenti per neonati (microscopia TEM-EDX, Arizona State University)



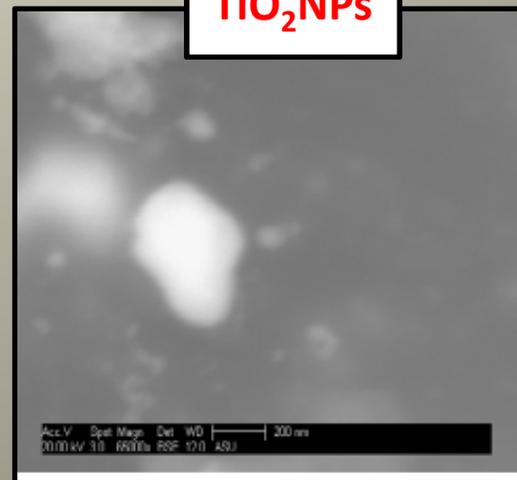
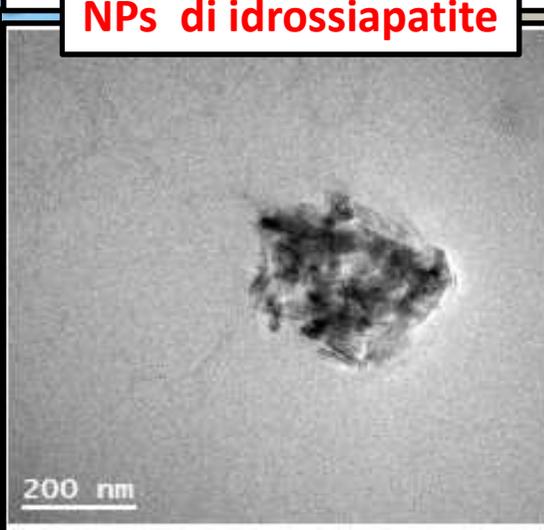
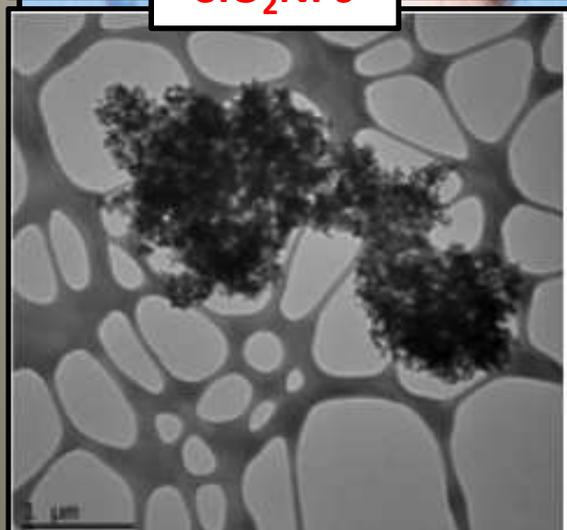
SiO₂NPs



NPs di idrossiapatite



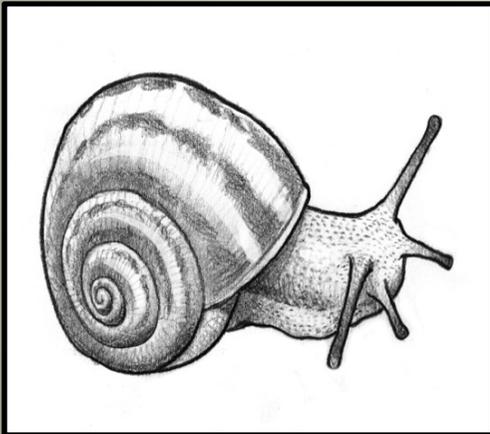
TiO₂NPs



Attualmente i nanomateriali non debbono essere considerati nè “angeli” nè “demoni”



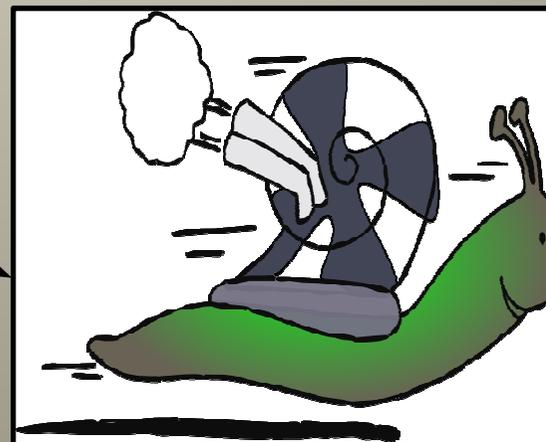
**Ricerca
nanotossicologia**



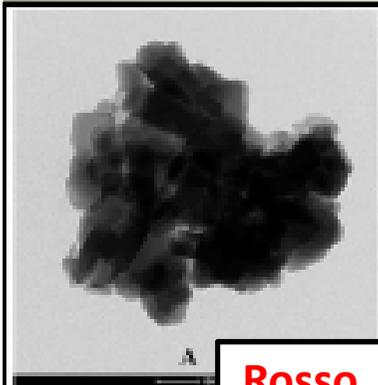
**Produzione di
nanomateriali**



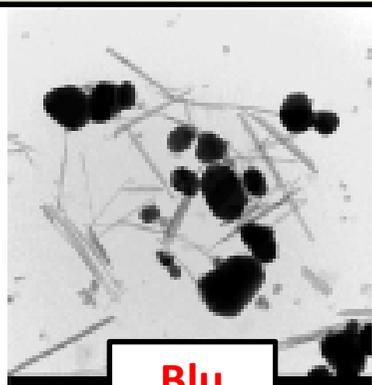
...un severo divario



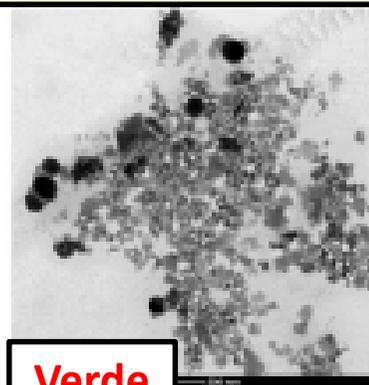
Componenti “nano” in inchiostri per tatuaggi !



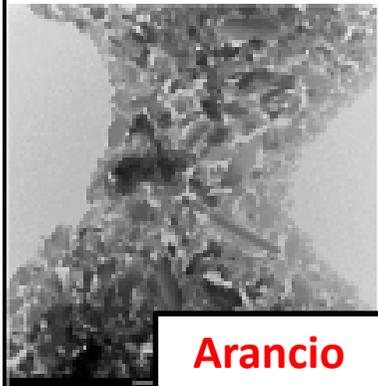
Rosso



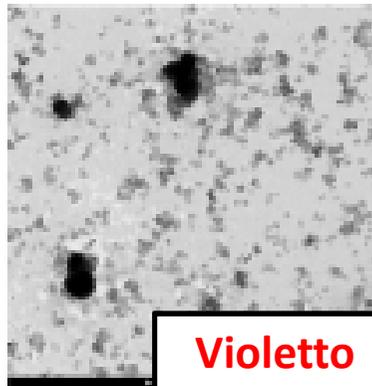
Blu



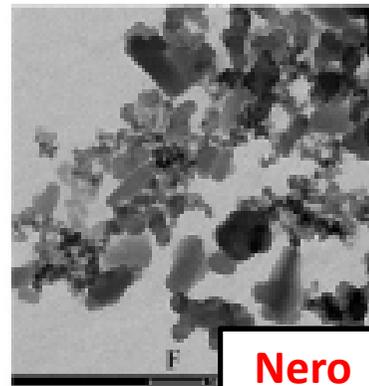
Verde



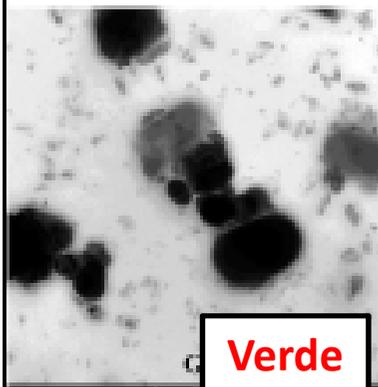
Arancio



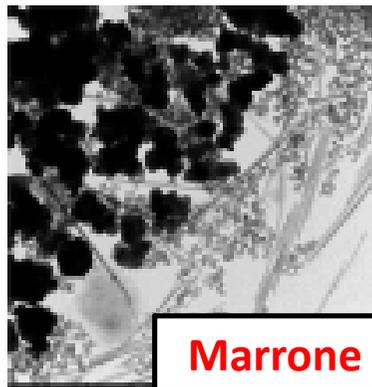
Violetto



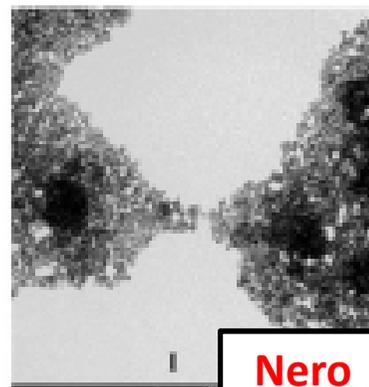
Nero



Verde



Marrone



Nero

Immagini TEM di inchiostri per tatuaggi:

identificazione di particelle polidisperse con dimensioni da **decine** a qualche **centinaia** di **nm**)

by

limonti^a

A fluffy brown rabbit is sitting on a black office chair at a light blue desk. The rabbit is looking towards a computer monitor on the desk. On the desk, there is a white computer monitor, a keyboard, a mouse, and a stack of papers. A red gift box with orange and yellow tissue paper is on the floor next to the desk. The background is a wood-paneled wall with a small framed picture.

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

enrico.sabbioni@alice.it