

Prove richieste

Valutazione di un campione di liquido seminale e di un campione di cellule staminali del paziente ██████████ affetto da linfoma. Lo studio ha comportato l'utilizzo di una tecnica innovativa di Microscopia Elettronica a Scansione (ESEM) onde verificare la presenza di corpi estranei (polveri) al corpo umano e di microanalisi a raggi X per valutarne la composizione chimica.

Materiali

Sono pervenuti al Laboratorio i seguenti reperti:

Reperto n.1

<u>Nome/paziente:</u>	F ████████ F ██████████
<u>Reperto/Medico d'invio:</u>	<u>S.I.S.Me.R. Società Italiana Studi Medicina della Riproduzione, Bologna. Dott. Marco Toschi</u>
<u>Data:</u>	<u>23/04/2004</u>
<u>Patologia:</u>	<u>linfoma</u>
<u>Descrizione reperto</u>	<u>N° 4 paillettes di liquido seminale</u>

Reperto n.2

<u>Nome/paziente:</u>	Finessi Francesco
<u>Reperto/Medico d'invio:</u>	<u>Az. Osp. Univ. Arcispedale S. Anna di Ferrara.</u> <u>Dott. Ermes Carlini</u>
<u>Data:</u>	<u>31/05/2004</u>
<u>Patologia:</u>	<u>linfoma</u>
<u>Descrizione reperto</u>	<u>provetta contenente sospensione di cellule staminali</u>

Condizioni di prova

La preparazione del campione spermatico ha visto un suo scongelamento ed il prelievo di alcune gocce che sono state strisciate su una superficie di acetato e successivamente osservate sotto l'ESEM.

La sospensione di cellule staminali è stata suddivisa in due aliquote: la prima quota è stata strisciata su un acetato come nel caso precedente mentre la seconda è stata sottoposta a centrifugazione al fine di isolare le cellule per esaminarle senza la componente plasmatica. Tutti i campioni strisciati sono stati osservati in tutta la loro estensione sotto il Microscopio Elettronico in diverse modalità: SED (elettroni secondari) e BSE (backscatterati), in basso vuoto a 25-30KV con spot vari. Eventuali corpi estranei, avendo una densità atomica superiore al tessuto biologico, venivano rilevati per il colore più chiaro.

Su questi detriti si è puntata la sonda microanalitica a raggi X per determinare la loro composizione chimica. Ogni reperto veniva fotografato ed archiviato con lo spettro degli elementi di cui era composto.

Risultati

Le seguenti tabelle riassumono i tipi di particelle che sono stati trovati nei campioni e la loro composizione chimica:

Tabella n° 1: reperto 1 liquido seminale

N° Area valutata	particelle e dimensioni	elementi presenti
1	detriti di Pb di 0.1-0.5 μm	C,Pb,O,Si,Na,Mg,Al,Ti,Fe,Cr,Ca
2	detrito di Fe di 3 μm	Fe,C,O,Na
3	pallina di Fe di 2,5 μm	C,Fe,O,Mg,Si,Ca,Al,P,Na,Mn,Cl
4	detrito di Pb, di 4 μm	Pb,C,O,Cr,Na
5	detrito di Sb di 1,5 μm	C,Sb,O
6	detriti di Pb di 0,1-0,5 μm	Pb,C,O,Cr,Na
7	detrito di Sb, Co di 3 μm	C,Sb,O,Co
8	detriti di Fe di 0,1-3 μm	Fe,C,O,Na
9	detrito di Cu, Zn, Pb di 6 μm	Cu,C,Zn,O,Cl,P,K,Pb,Ca,Fe,Ni

Tabella n°2: reperto 2 cellule staminali in toto

N° Area valutata	particelle e dimensioni	elementi presenti
1	detrito di Fe di 5 μm	Fe,Cl,C,O,Na,S,P,Ca,K,Mn
2	detrito di Fe,Cr,Ni di 9 μm	Fe,Cl,O,Cr,C,Na,S,Ni,K
3	detrito di Pb di 2 μm	Pb,C,Cl,O,Na,P,K
4	detrito di Pb di 4 μm	Pb,C,Cl,O,Na,P,K
5	pallina di Fe	Fe,Cl,C,O,Na,S,P,Ca,K,Mn

Tabella n°3: reperto 2 cellule staminali centrifugate

N° Area valutata	particelle e dimensioni	elementi presenti
1	detrito di Fe, Cr di 15 μm	Fe,C,O,Cr
2	detriti di Sb, Co di 0,5 μm	C,O,Sb,P,Co
3	detriti di Sb, Co di 0.5 μm	C,O,Sb,P,Co
4	detrito di Fe di 3 μm	C,O,Fe,Si,S,Ca,Ba

Si riportano di seguito alcune fotografie delle particelle più significative trovate con il relativo spettro chimico.

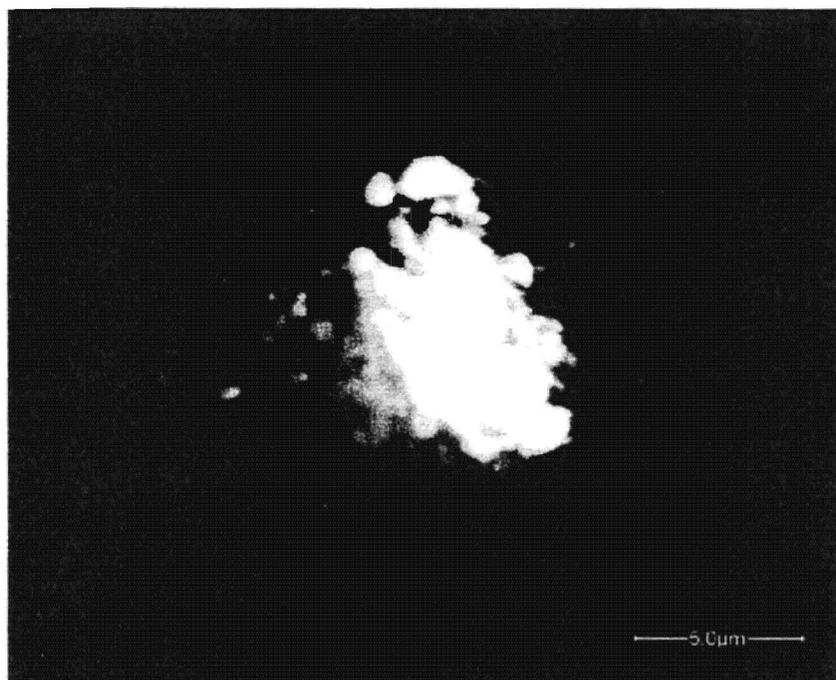


Fig. 1a Immagine ESEM dei detriti di dimensioni comprese tra 0.1-0.5 micron contenenti Carbonio (C), Piombo (Pb), Ossigeno (O), Silicio (Si), Sodio (Na), Magnesio (Mg), Alluminio (Al), Titanio (Ti), Ferro (Fe), Cromo (Cr), Calcio (Ca). (Area n.1 della tabella 1)

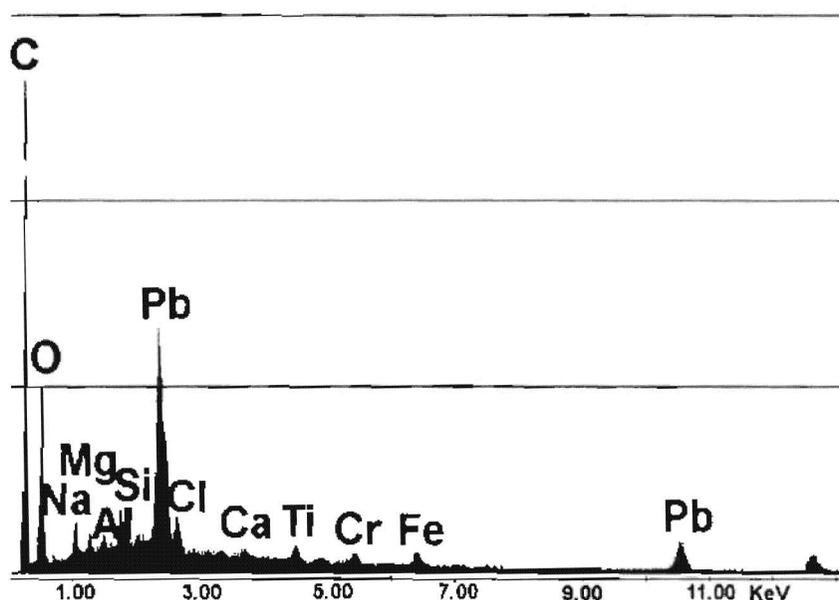


Fig. 1b Spettro EDS dei detriti (Fig. 1a).

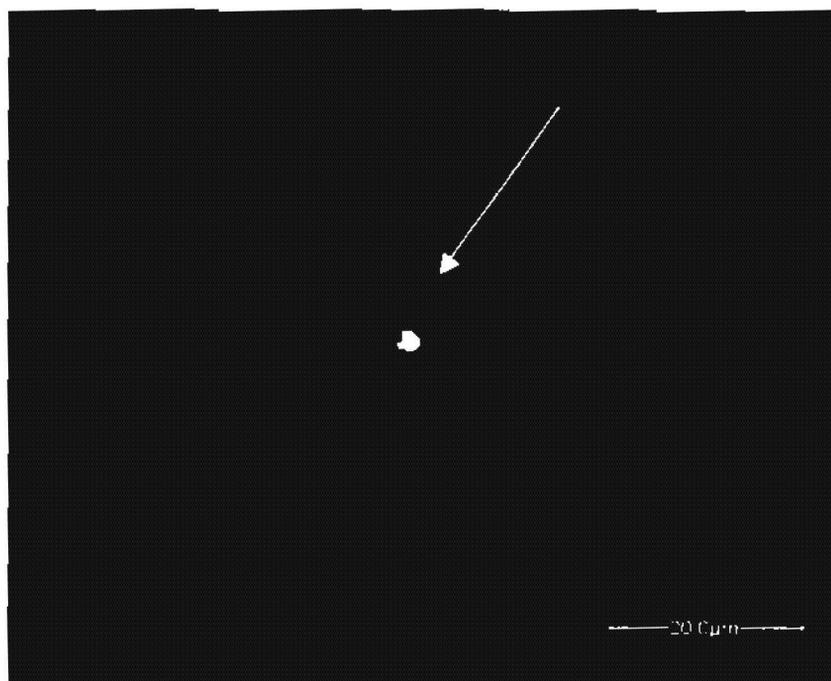


Fig. 2a Immagine ESEM del detrito di 1.5 micron contenente Carbonio (C), Antimonio (Sb), Ossigeno (O) nel liquido seminale. (Area n.5 della tabella 1)

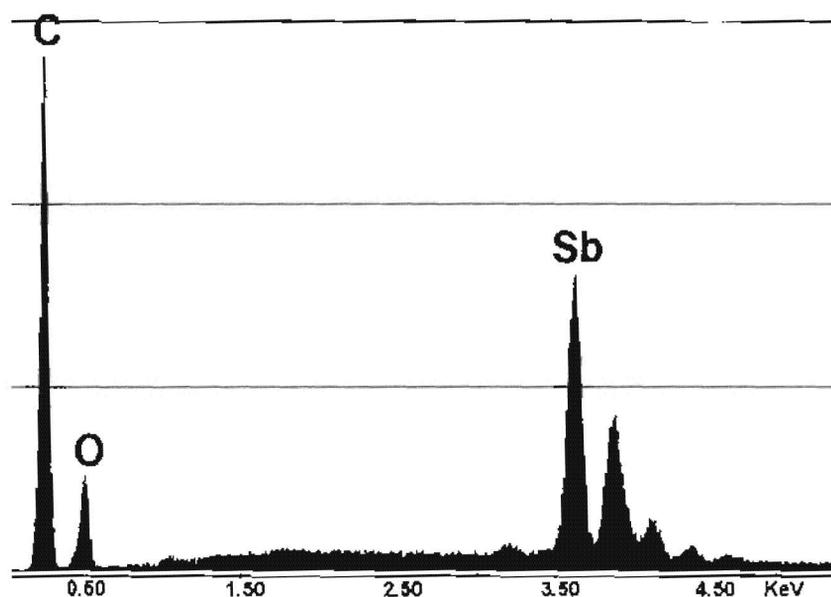


Fig. 2b Spettro EDS del detrito (Fig. 2a).

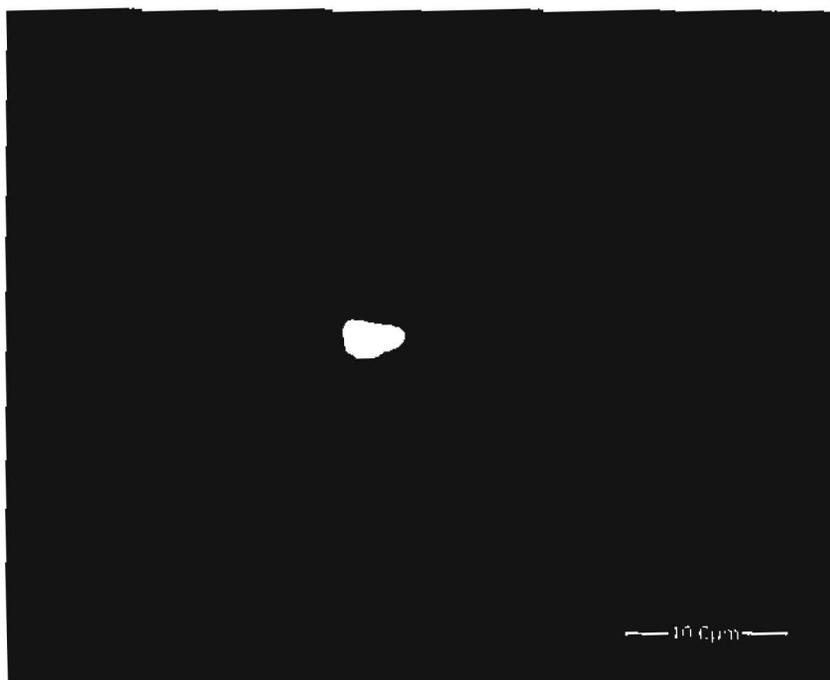


Fig. 3a Immagine ESEM del detrito di 3 micron contenente Carbonio (C), Antimonio (Sb), Ossigeno (O), Cobalto (Co). (Area n.7 della tabella 1)

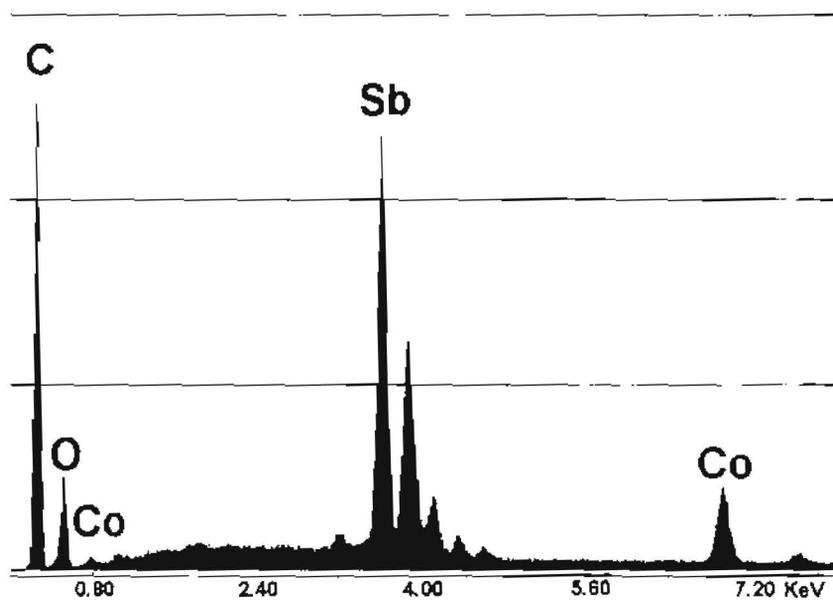


Fig. 3b Spettro EDS del detrito (Fig. 3a).

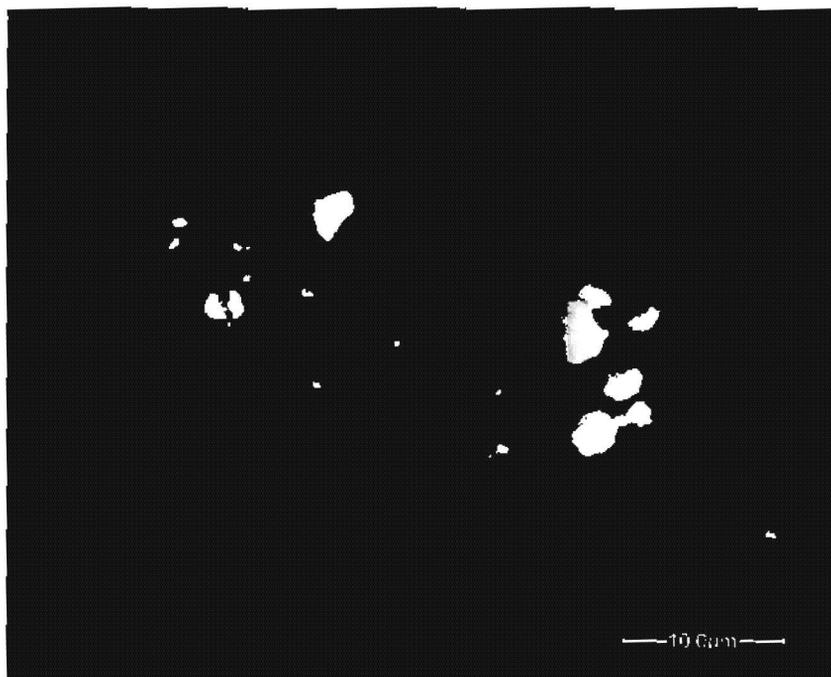


Fig. 4a Immagine ESEM dei detriti di dimensioni comprese tra 0.1-3 micron contenenti Ferro (Fe), Carbonio (C), Ossigeno (O), Sodio (Na) nel liquido seminale. (Area n.8 della tabella 1)

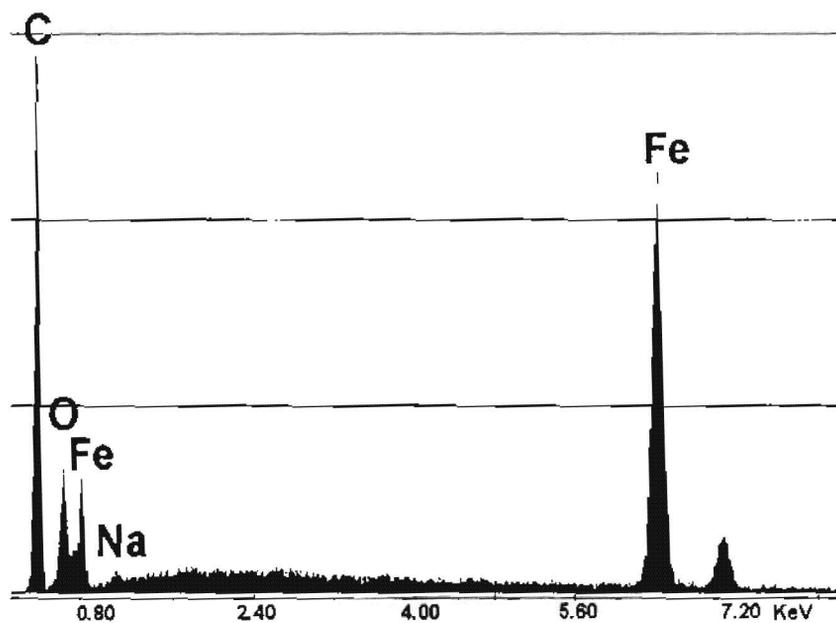


Fig. 4b Spettro EDS dei detriti (Fig. 4a)

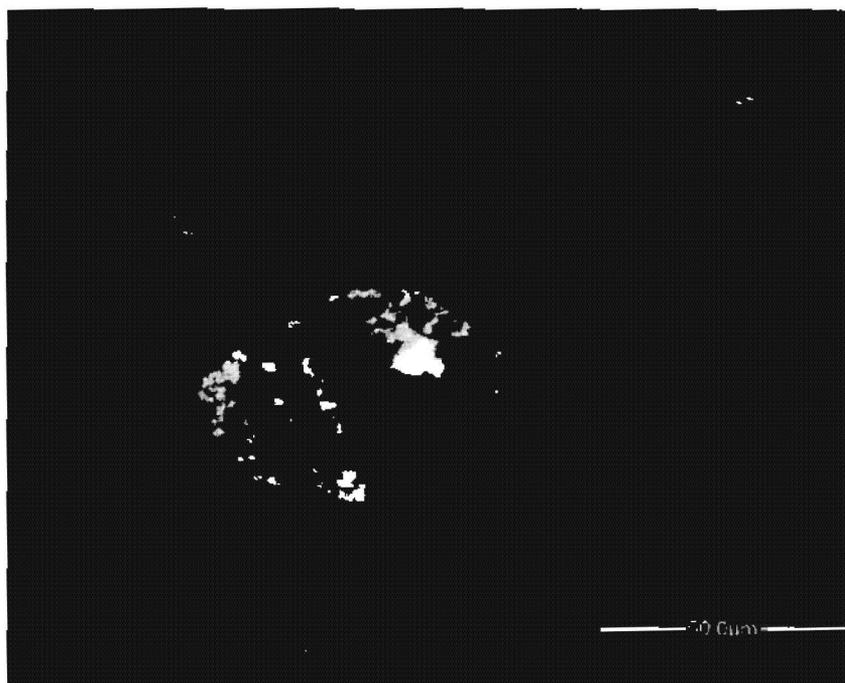


Fig. 5a Immagine ESEM del detrito di 5 micron contenente Ferro (Fe), Cloro (Cl), Carbonio (C), Ossigeno (O), Sodio (Na), Zolfo (S), Fosforo (P), Calcio (Ca), Potassio (K), Manganese (Mn) nelle cellule staminali in toto. (Area n.1 della tabella 2)

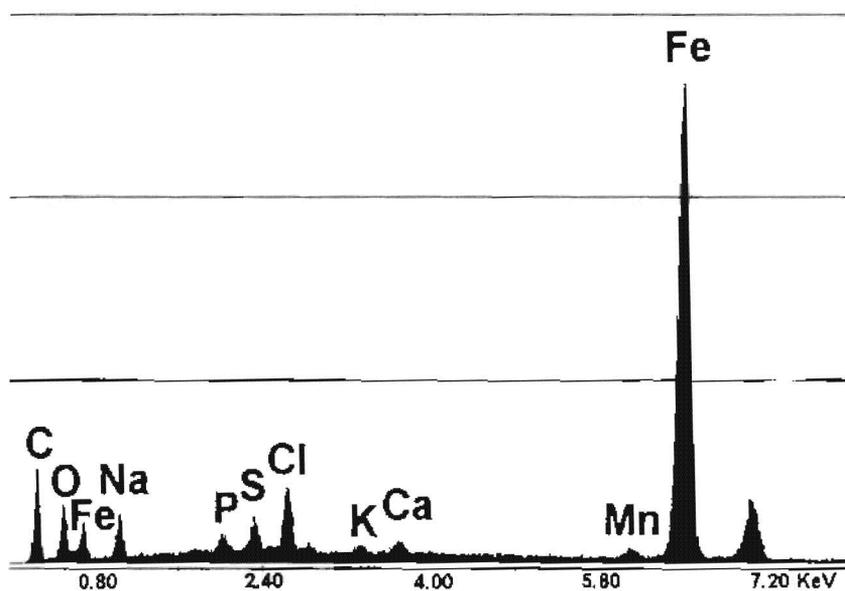


Fig. 5b Spettro EDS del detrito (Fig. 5a).

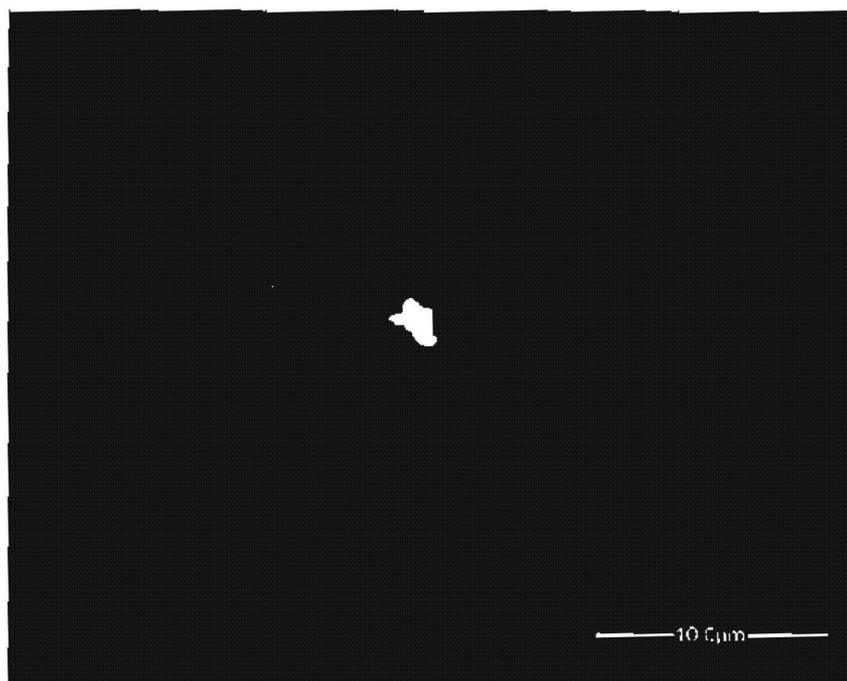


Fig. 6a Immagine ESEM del detrito di 2 micron contenente Piombo (Pb), Carbonio (C), Cloro (Cl), Ossigeno (O), Sodio (Na), Fosforo (P), Potassio (K). (Area n.3 della tabella 2)

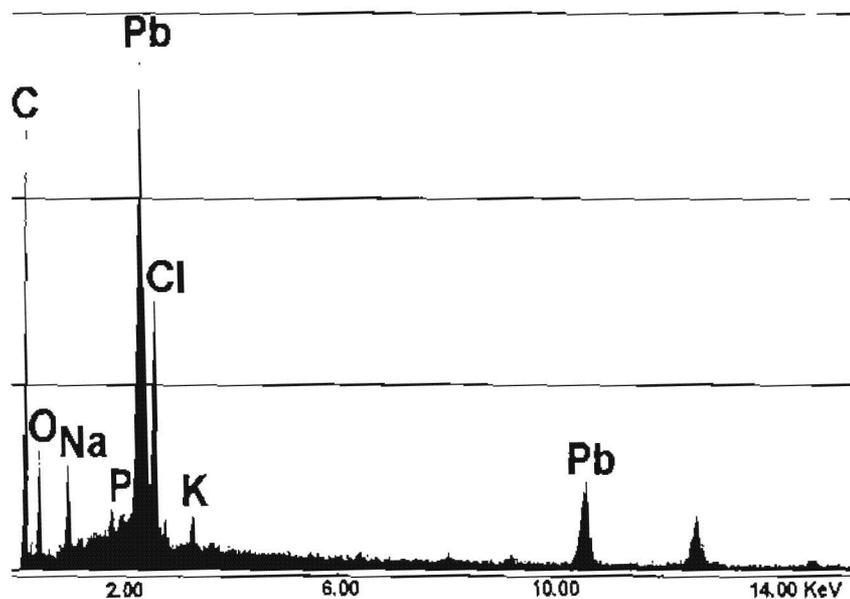


Fig. 6b Spettro EDS del detrito (Fig. 6a).

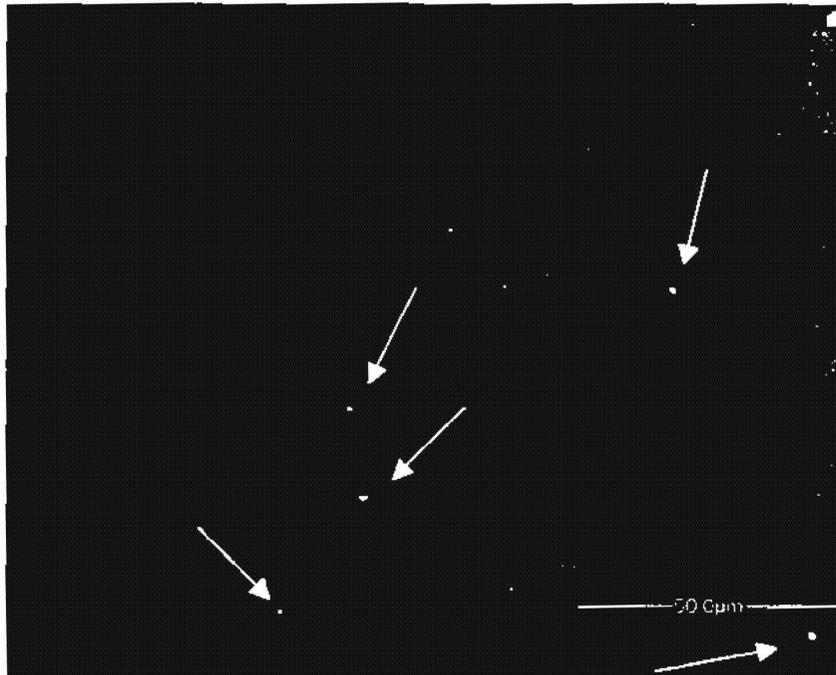


Fig. 7a Immagine ESEM dei detriti di 0.5 micron contenenti Carbonio (C), Ossigeno (O), Antimonio (Sb), Fosforo (P), Cobalto (Co) nel preparato di cellule staminali. (Area n.2 della tabella 3)

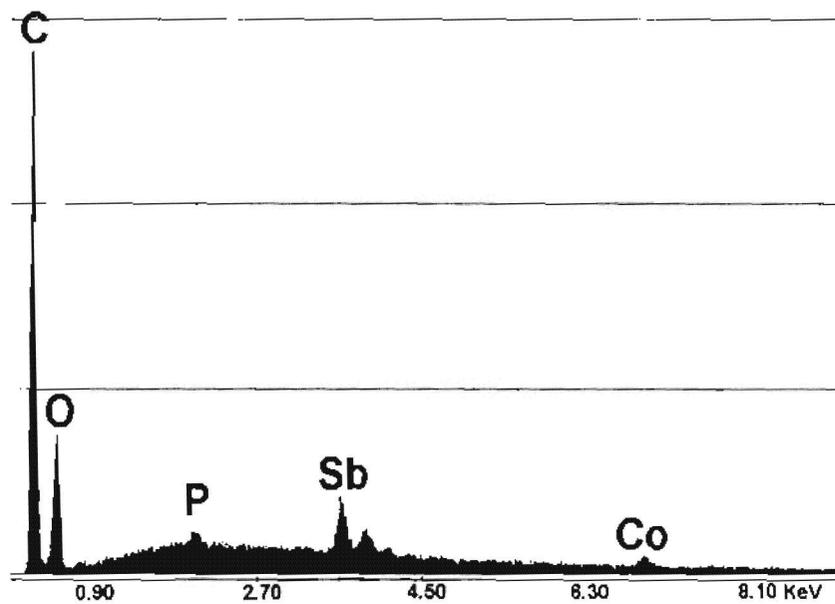


Fig. 7b Spettro EDS dei detriti (Fig. 7a).



Fig. 8a Immagine ESEM dei detriti di 0.5 micron contenenti Carbonio (C), Ossigeno (O), Antimonio (Sb), Fosforo (P), Cobalto (Co) nel preparato di cellule staminali. (Area n.3 della tabella 3)

Conclusioni

Nei campioni osservati si è trovato la presenza di corpi estranei micro e nano dimensionati

In tutti i campioni è presente un composto di Ferro con una composizione complessa, la stessa cosa si può dire per i composti di Rame e Zinco per quelli di Piombo.

La complessità di composizione di alcune particelle potrebbe derivare da processi di fusione incontrollata ad alta temperatura.

Particolare attenzione deve essere posta per le particelle di Antimonio e Antimonio-Cobalto.

Questi ultimi composti assieme a quelli di Rame-Zinco e Piombo non sono sicuramente biocompatibili e per la loro composizione chimica e per la loro ridotta dimensione.

La presenza di questi composti in sedi così interne del corpo umano, nello sperma e nelle cellule staminali, sta ad indicare una disseminazione in tutte le parti del corpo. Non sono noti in letteratura i possibili effetti tossici sintetici di tali particelle.

Modena, 30/07/04

Dott.ssa Antonietta M. Gatti

