

G. Sciarra

Valori di riferimento ambientali e biologici degli idrocarburi policiclici aromatici

Unità Funzionale di Igiene e Tossicologia, Dipartimento di Prevenzione, Azienda USL 7 Siena

RIASSUNTO. Vengono riportati i requisiti minimi per la produzione dei Valori di Riferimento, riassumibili in un adeguato numero di soggetti monitorati, in misure di dosimetria individuale della durata di almeno 24 h, nella somministrazione di un idoneo questionario, nella ripetizione delle campagne di misura in più periodi dell'anno, nell'utilizzo di un metodo analitico di cui si conosca almeno ripetibilità e limite di rivelabilità e la cui accuratezza sia stata stimata tramite materiali certificati o, al minimo, tramite controlli interlaboratoriali. Vengono poi analizzati i pochissimi studi in cui sono riportate misure di dosimetria individuale di idrocarburi policiclici aromatici aerodispersi. Tra questi solo uno studio (Minoia e coll. 1997) risponde a tutti i requisiti per la definizione dei valori di riferimento ambientale. Lo studio, condotto nella città di Pavia su 28 soggetti maschi e 28 soggetti femmine, riporta valori medi di benzo(a)pirene di 0,37 ng/m³ nel periodo invernale e di 0,12 ng/m³ nel periodo estivo. Successivamente sono analizzati diversi lavori scientifici riguardanti l'1-idrossipirene urinario, dai quali appare evidente l'impossibilità di proporre un unico valore di riferimento biologico per popolazioni di nazioni diverse, a causa delle diverse condizioni ambientali e abitudini alimentari. Analizzando la letteratura scientifica di produzione italiana si è ritenuto di prospettare, quale valore di riferimento biologico, quanto indicato da Roggi e coll. (1996) che, per i non fumatori (125 soggetti provenienti da 3 città italiane), propone un valore medio di 1-idrossipirene urinario di 0,172 µg/g creat. L'analisi della letteratura riguardante altri indicatori biologici di esposizione a idrocarburi policiclici aromatici, quali l'1-naftolo e gli idrossifenantreni, ha portato alla conclusione che allo stato attuale non è possibile proporre valori di riferimento.

Parole chiave: valori di riferimento, popolazione generale, idrocarburi, policiclici aromatici, 1-idrossipirene, 1-naftolo, idrossifenantreni, IPA.

ABSTRACT. *www.gimle.fsm.it - Minimum requirements for the production of reference values are listed, namely: data of a sufficient number of monitored subjects, individual dosimetric measurements for at least 24 h, answers to an appropriate questionnaire, repetition of measurements at different times of year, and use of an analytical method with known reproducibility and detection limits, the accuracy of which has been established using certified materials or at least interlaboratory calibrations. The few studies reporting individual dosimetric measurements for airborne polycyclic aromatic hydrocarbons are reviewed. Only one of these studies (Minoia et al. 1997), conducted in Pavia with 28 male and 28 female subjects, meets all the requirements for definition of environmental reference values. It found mean benzo(a)pyrene values of 0.37 ng/m³ in winter and 0.12 ng/m³ in summer. Various papers on urinary 1-hydroxypyrene are then discussed and it is found impossible to propose a single biological reference value for populations of different nations, due to differences in environmental conditions and diet. A review of the literature produced in Italy suggests adoption of the biological reference value suggested by Roggi et al. (1996), namely 0.172 µg/g creat. for non smokers (125 subjects from three Italian towns). Perusal of the literature for other biological indicators of exposure to PAHs, such as 1-naphthol and hydroxyphenanthrenes, suggests that insufficient data is available to establish any reference values.*

Key words: Reference values, general population, polycyclic aromatic hydrocarbons, 1-hydroxypyrene, 1-naphthol, hydroxy-phenanthrenes.

Introduzione

Gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) sono una famiglia di composti a due o più anelli aromatici condensati, anche se quelli di interesse tossicologico hanno un numero di anelli superiore a due. Nelle molecole degli IPA possono essere presenti catene laterali di tipo alifatico o cicloalifatico (IPA ramificati), nonché eteroatomi quali ad es. azoto e zolfo.

Gli IPA sono ubiquitari e si formano durante i processi di combustione incompleta (specialmente se in carenza di ossigeno e con temperature di 650°-900°C) e per pirolisi di materiale organico. Si ritrovano nell'ambiente sia sotto forma di particolato sia di vapore, libero od adsorbito su particolato atmosferico.

Gli IPA sono anche presenti nel carbon fossile e negli oli minerali crudi e raffinati. Alcuni autori ipotizzano anche una loro sintesi biochimica da parte di molti vegetali (1, 2, 3, 4, 5).

Considerando anche i cosiddetti idrocarburi ramificati, cioè quelli che oltre agli anelli aromatici condensati contengono anche catene alifatiche laterali, la famiglia degli IPA annovera varie centinaia di composti. Più di 100 idrocarburi sono stati identificati nel particolato atmosferico (6) e più di 200 nel fumo di tabacco (7).

In generale questi composti non hanno una specifica tossicità acuta, mentre ad alcuni di loro è associata una tossicità cronica in quanto sospetti cancerogeni (8).

La sospetta cancerogenicità è correlata alla presenza di quattro o più anelli aromatici da cui prendono origine metaboliti quali i diidrodiolepossidi, nei quali il gruppo attivo tossicologicamente è collocato nella cosiddetta *bay region*, cioè l'ansa che si forma dalla fusione angolare di tre anelli aromatici (Figura 1).

In particolare, secondo le direttive europee, a sei di questi idrocarburi (benzo(a)pirene, benzo(a)antracene, di-benzo(a,h)antracene, benzo(b)fluorantene, benzo(j)fluorantene, benzo(k)fluorantene) è associata la frase di rischio R45 (può provocare il cancro) o R49 (può provocare il cancro per inalazione) (9).

La loro diffusione e le caratteristiche tossicologiche hanno fatto assumere agli IPA grande rilevanza dal punto di vista ambientale e sanitario. Si è quindi assistito a uno sviluppo di tecniche di monitoraggio e di indagine mirate

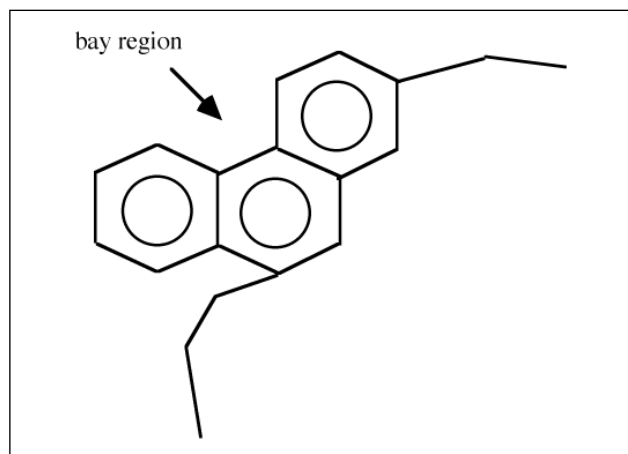


Figura 1. Bay region

a identificare *markers* sempre più affidabili. Ciò ha interessato sia lo studio degli IPA nell'ambiente in generale, sia la valutazione dell'esposizione della popolazione generale che professionalmente esposta.

Dal punto di vista chimico-fisico queste sostanze si presentano allo stato solido con una tensione di vapore molto variabile, ma abbastanza elevata per gli idrocarburi a basso e medio peso molecolare. A temperatura ambiente gli IPA a tre e quattro anelli si trovano normalmente anche allo stato di vapore, mentre quelli a cinque-sei anelli si trovano normalmente allo stato solido (10).

La presenza nell'ambiente di IPA è legata sia a sorgenti naturali (incendi, attività vulcanica, biosintesi, carbone minerale etc.) sia ad attività antropiche (utilizzo energetico di combustibili fossili, incenerimento di rifiuti, dispersione di oli minerali, etc.). Le principali matrici in cui gli IPA sono presenti risultano le seguenti:

- emissioni provenienti da impianti di riscaldamento alimentati con combustibili fossili, legna o gas, da impianti di incenerimento dei rifiuti, da centrali elettriche, etc.;
- fumi derivanti da qualsiasi tipo di combustione di materiale organico, incluso il fumo di tabacco;
- ceneri e materiali lapidei provenienti da eruzioni vulcaniche;
- residui solidi di combustione quali ceneri e materiali particolati provenienti da incendi, impianti di incenerimento dei rifiuti, centrali elettriche, etc.;
- scarichi dei mezzi di trasporto (auto, motocicli, treni, aerei, navi, macchine operatrici, etc.) alimentati con derivati del petrolio;
- carbone vegetale e minerale;
- uso di petrolio e derivati petroliferi;
- catrame e bitume;
- alimenti cotti alla brace o affumicati;
- suolo inquinato.

A prescindere quindi da specifiche esposizioni professionali, l'uomo assorbe comunque quantità variabili di IPA. Tra le situazioni sopra citate, l'assorbimento di IPA assume discreta rilevanza in relazione all'abitudine di fumare tabacco, all'inquinamento ormai ubiquitario dei gas di scarico degli autoveicoli (particolarmente accentuato in zone ad elevata densità di traffico) ed all'uso di cibi cotti alla brace o arrostiti.

Requisiti minimi nella metodologia di campionamento e analisi per la definizione dei Valori di Riferimento

La produzione di Valori di Riferimento Ambientali (VRA) e Biologici (VRB) comporta dei requisiti minimi sia nella metodologia di campionamento sia in quella analitica che possono essere sommariamente riassunti in:

- adeguato numero di soggetti monitorati, misure di dosimetria individuale della durata di almeno 24 ore qualora ci si riferisca ai VRA
- somministrazione di un idoneo questionario per evidenziare, oltre alle notizie anagrafiche, abitudini di vita (ad es. dieta, abitudine al fumo di tabacco etc.), localizzazione del posto di lavoro e dell'abitazione e in genere tutte le variabili che possono influenzare il risultato finale
- ripetizione delle campagne di misura in più periodi dell'anno per evidenziare eventuali variazioni stagionali
- utilizzo di un metodo analitico di cui si conosca almeno ripetibilità e limite di rivelabilità e la cui accuratezza sia stata stimata tramite materiali certificati o, al minimo, tramite controlli interlaboratoriali

Tipologia dei Valori di riferimento

Le proposte di valori di riferimento (VR) si possono suddividere in tre categorie:

- *tentativo di VR* - valori definiti da uno studio che, pur condotto correttamente, non è validato da studi analoghi perché inesistenti o perché condotti in condizioni sperimentali diverse
- *proposta di VR* - valore validato da studi analoghi, per il quale tuttavia sussistono ancora dubbi a causa della scarsità dei lavori oppure a causa del non sufficiente approfondimento di variabili (quali ad es. i diversi livelli di inquinamento ambientale tra zone diverse oppure diverse abitudini di vita o alimentari) che possono influenzare i VR
- *Valore di Riferimento* - valore validato da molti studi per il quale siano state prese in considerazione tutte le possibili variabili.

Valori di riferimento ambientali degli IPA

La diffusione di questa categoria di inquinanti e la rilevanza tossicologica, rendono particolarmente interessante stabilirne i valori di riferimento ambientali, quantomeno relativamente ai più importanti idrocarburi.

Anche escludendo le fonti di diffusione ambientale legate alle attività di carattere industriale, non omogeneamente diffuse sul territorio, la concentrazione ambientale degli IPA può variare notevolmente in ragione di altri fattori e particolarmente in ragione delle condizioni atmosferiche, della stagione, del traffico autoveicolare e del tipo di combustibile utilizzato per il riscaldamento domestico. Molti studi hanno evidenziato concentrazioni urbane ambientali più alte in inverno che nei mesi estivi (11, 12, 13, 14, 15, 16, 17) e ciò è riconducibile sia agli impianti di ri-

scaldamento accesi in inverno, sia a possibili fenomeni di inversione termica che impediscono la dispersione degli inquinanti in inverno, sia al minor volume di traffico estivo dovuto alle ferie. Ciò nonostante si possono verificare situazioni alquanto diverse se non addirittura opposte, come ad esempio il caso di una cittadina di villeggiatura marina dove durante l'estate si presenta un serrato traffico autoveicolare, decisamente più alto di quello invernale.

Sono stati effettuati molti studi di Igiene Ambientale per valutare l'inquinamento da IPA, ma in questi casi le tecniche di misura impiegate utilizzano alti flussi di campionamento e campionamenti in postazioni fisse collocate in varie zone dell'ambiente urbano o extraurbano. Queste misure, seppure permettono una mappatura degli inquinanti anche molto precisa, non forniscono dati attendibili sull'esposizione reale della popolazione generale. Il VRA è infatti una misura mediata dell'esposizione a IPA relativa ad un gruppo di popolazione che vive e si sposta all'interno di aree a volte molto vaste, con livelli di inquinamento diversi.

Quanto detto rende molto difficile stabilire VRA validi e invariabili nel tempo e nello spazio, con la conseguenza che le eventuali stime hanno validità solo relativamente ad un luogo e ad un periodo dell'anno solare. È poi ulteriormente da tenere presente che gli IPA stimati tramite i VRA rappresentano solo parte della quantità di idrocarburi che raggiungono l'organismo umano. Altre modalità di penetrazione sono l'attraversamento della barriera

cutanea (gli IPA hanno la capacità di attraversare la cute [18, 19, 20]) e l'assorbimento per via gastroenterica in conseguenza della dieta.

Con queste premesse non stupisce il fatto che siano rarissimi gli studi tendenti a definire i VRA degli IPA. Volendo prendere in considerazione le ricerche sulla popolazione non professionalmente esposta condotte tramite dosimetria individuale, sono solo 6 gli studi effettuati negli ultimi 5 anni trovati nella letteratura scientifica consultata (11, 13, 15, 16, 21, 22), di cui 1 (13) condotto da un gruppo di ricercatori francesi, 3 condotti sostanzialmente da uno stesso gruppo di ricercatori italiani (11, 15, 21) e gli ultimi 2 (16, 22) sempre da ricercatori italiani (in questi due ultimi studi la dosimetria individuale non era effettuata per 24 ore ma bensì per 5 ore). Di questi lavori solamente 2 erano condotti con lo scopo di valutare i VRA (13, 15), mentre negli altri lavori le dosimetrie individuali si riferivano a gruppi di controllo o comunque a studi con altre finalità. Il numero di soggetti indagati, il periodo e la durata del campionamento, le tecniche utilizzate e gli IPA determinati sono riportati in Tabella I. Le metodiche analitiche impiegate nei lavori in oggetto utilizzavano tutte la tecnica dell'HPLC con rivelazione spettrofluorimetrica, solo Minoia e coll. (15) utilizzavano come conferma della tecnica in cromatografia liquida quella in HRGC-MS (gascromatografia ad alta risoluzione con rivelazione in spettrometria di massa). Le condizioni analitiche, le ripetibilità e i limiti di rivelabilità delle metodiche utilizzate sono sufficientemente descritte negli artico-

Tabella I. Soggetti, localizzazione, periodi di campionamento, tecniche e durate di campionamento e IPA determinati in sei studi di dosimetria individuale

Riferimento bibliografico	N. soggetti	Luogo	Periodo	Tecnica	Durata (h)	IPA determinati
11	33 maschi e 32 femmine 47 non fumatori	Milano	estate e inverno	campionamento a faccia aperta con membrana in fibra di vetro di 20 mm Ø con in coda fiala ORBO 43 al flusso di 1,2 L/min	24	pirene
21	25 maschi e 25 femmine 37 non fumatori	Milano	non specificato	campionamento a faccia aperta con membrana in fibra di vetro di 20 mm Ø con in coda fiala ORBO 43 al flusso di 1,2 L/min	24	benzo(a)pirene
15	28 maschi e 28 femmine suddivisi in 4 sottogruppi di residenti nel centro della città e in zone a bassa, media o alta densità di traffico	Pavia	estate e inverno	campionamento a faccia aperta con membrana in fibra di vetro di 20 mm Ø con in coda fiala ORBO 43 al flusso di 1,2 L/min	24	benzo(a)antracene, benzo(b)fluorantene, benzo(k)fluorantene, benzo(a)pirene, dibenzo(a,h)antracene, indeno(1,2,3-cd)pirene
16, 22	23 maschi e 15 femmine non fumatori 11 maschi e 3 femmine fumatori (soggetti di controllo)	Genova	estate e inverno	campionamento con cono di riduzione con membrana in fibra di vetro di 37 mm Ø al flusso di 3 L/min per ottenere una velocità dell'aria in ingresso di 1,25 m/s	5 dalle ore 7.00 alle ore 12.00	benzo(a)pirene, benzo(b)fluorantene, benzo(k)fluorantene
13	17 maschi e 31 femmine tutti non fumatori*	Grenoble	estate e inverno	campionamento con ciclone Gussman-Kenny con membrana in teflon di 37 mm Ø al flusso di 4 L/min (campiona la frazione PM _{2,5} del particolato)	48	benzo(a)antracene, benzo(b)fluorantene, benzo(k)fluorantene, benzo(a)pirene, benzo(g,h,i)perilene, indeno(1,2,3-cd)pirene, crisene, fluorantene, pirene

* Venivano analizzati solamente le membrane relative a 7 campionamenti.

li, in alcuni casi però gli studi di accuratezza erano meno dettagliati o del tutto assenti.

Dalla Tabella I e da quanto descritto nei lavori, si evince che gli studi e le concentrazioni di IPA riportate non sono confrontabili per diverse ragioni:

- diversa efficienza di campionamento del particolato con variazioni anche molto rilevanti
- in 3 studi su 6 (13, 16, 22), mancanza di una fiala, in serie alla membrana, capace di captare gli eventuali vapori formati, fattore che può anche essere importante nel caso di campionamenti molto protratti nel tempo (13)
- diversa durata del campionamento, che in due casi (16, 22) risulta insufficiente per la stima dei VRA
- numero di membrane analizzate decisamente insufficiente in uno dei lavori citati (13).

Sulla base di quanto evidenziato appare molto difficile, se non impossibile, definire dei VR validi ed univoci a livello planetario, è molto probabile che i VR siano al massimo riferibili a zone precise del pianeta che possono essere più o meno vaste a seconda della tipologia dell'inquinante considerato. Nel caso degli IPA appare probabile che i VRA cambino almeno in funzione della presenza della tipologia delle fonti di emissione.

Tra gli studi citati, in conseguenza anche dei requisiti minimi necessari alla definizione dei VR, solamente 2 possono essere considerati in grado di fornire stime dei VRA. Dei due però, solo quello condotto da Minoia e coll. (15) risponde a tutti i possibili requisiti, poiché l'altro, quello condotto da Zmirou e coll. (13), si basa sulla determinazione degli IPA in sole 7 membrane delle 48 campionate. Necessariamente quindi, l'unico lavoro che propone dei valori definibili come "tentativo di VRA" trovato nella letteratura scientifica consultata risulta essere quello condotto da Minoia e coll. (15) nella città di Pavia di cui nella Tabella II si riportano i risultati.

Valori di riferimento biologici degli IPA

In realtà più che di VRB degli IPA occorrerebbe parlare di VRB dei relativi metaboliti, visto che per il monitoraggio biologico si ricorre generalmente a questi.

Tra i metaboliti conosciuti, quelli proposti come indicatori di esposizione ad IPA sono pochi e sostanzialmente riconducibili all'1-idrossipirene urinario (metabolita del pirene), all'1-naftolo urinario (metabolita del naftalene) e agli idrossifenantreni urinari (metaboliti del fenantrene). Esistono poi alcuni studi su altri metaboliti ma nessuno di questi è stato mai proposto come indicatore di esposizione.

Una menzione a parte merita il 3-idrossibenzo(a)pirene metabolita del benzo(a)pirene, proposto da più autori come indicatore di esposizione. Questa sostanza ha il vantaggio di essere metabolita di un cancerogeno e conseguentemente potrebbe essere utilizzata quale indice di esposizione ad IPA cancerogeni, purtroppo, però, si è dimostrato inutilizzabile poiché solamente una piccola frazione viene escreta con le urine, tanto da essere ritrovato solo in caso di forte se non fortissima esposizione.

Valori di riferimento biologici dell'1-idrossipirene urinario

Il pirene viene trasformato dall'organismo umano in 1-idrossipirene (1-OHPIR) che viene escreto con l'urina sotto forma di glucuronide e/o solfato. L'analisi, dopo idrolisi con β -glucuronidasi arilsolfatasi, viene generalmente condotta in HPLC con rivelazione spettrofluorimetrica.

Sino ad oggi 1-OHPIR urinario è l'unico metabolita validato quale indice biologico di esposizione a IPA sia per la popolazione professionalmente esposta sia per quella non professionalmente esposta.

Tabella II. Tentativo di definizione dei Valori di Riferimento Ambientale degli IPA nella città di Pavia (15)

Tentativo di VRA per il periodo invernale						
Sostanza	Media (DS) (ng/m ³)	Intervallo (ng/m ³)	Mediana (ng/m ³)	5° Perc. (ng/m ³)	95° Perc. (ng/m ³)	Quantità inalata (ng/die)
Benzo(a)antracene	0,19 (0,11)	0,05 - 0,76	0,16	0,11	0,58	3,42
Benzo(b)fluorantene	0,38 (0,14)	0,15 - 1,75	0,41	0,13	0,90	6,84
Benzo(k)fluorantene	0,18 (0,12)	0,10 - 0,60	0,19	0,08	0,42	3,24
Benzo(a)pirene	0,37 (0,15)	0,05 - 1,11	0,40	0,11	0,88	6,66
Dibenzo(a,h)antracene	0,09 (0,07)	n.d. - 0,41	0,09	0,06	0,31	1,62
Indeno(1,2,3-cd)pirene	0,13 (0,07)	n.d. - 0,40	0,12	0,08	0,27	2,34
Tentativo di VRA per il periodo estivo						
Benzo(a)antracene	0,08 (0,07)	n.d. - 0,29	0,06	0,02	0,24	1,44
Benzo(b)fluorantene	0,25 (0,11)	0,06 - 0,66	0,24	0,09	0,42	4,50
Benzo(k)fluorantene	0,07 (0,04)	0,02 - 0,19	0,07	0,03	0,16	1,26
Benzo(a)pirene	0,12 (0,07)	0,03 - 0,33	0,11	0,04	0,27	2,16
Dibenzo(a,h)antracene	-	n.d. - 0,17 ⁽¹⁾	-	-	-	-
Indeno(1,2,3-cd)pirene	-	n.d. - 0,54 ⁽²⁾	-	-	-	-

⁽¹⁾ Sostanza rilevata in due campioni. ⁽²⁾ Sostanza rilevata in 18 campioni.

L'apporto nell'organismo umano di pirene (di cui 1-OHPIR è il metabolita principale) nei soggetti non professionalmente esposti dipende da diversi fattori di cui i principali sono: il tipo di dieta, l'abitudine al fumo di tabacco, la respirazione di aria inquinata, il periodo dell'anno considerato. È naturale quindi che il peso percentuale dei singoli fattori può variare notevolmente.

A sostegno di quanto detto si possono citare numerosi lavori scientifici, quali ad es. quello di Van Rooij JGM e coll. (23) condotto su 76 olandesi di sesso maschile (37 fumatori e 39 non fumatori), di cui 9 professionalmente esposti, che hanno fornito 3 campioni di urina ciascuno (la prima urina del mattino, un campione del pomeriggio ed uno della sera). Gli autori trovavano differenze statisticamente significative nelle concentrazioni medie di 1-OHPIR tra fumatori (0,482 µg/g creat) e non fumatori (0,232 µg/g creat). Analogamente differenze significative si riscontravano per il momento della raccolta (la concentrazione del campione di urina della sera era significativamente più alta di quella del mattino). L'analisi di regressione multipla applicata alla concentrazione di 1-OHPIR, espressa come µg/g creat, spiegava il 74% della varianza totale con un modello in cui il fumo attivo spiegava da solo il 66%. In questo modello risultavano statisticamente significativi anche il fumo passivo (ETS), l'età (gli autori ipotizzano una minore escrezione di creatinina negli anziani), la dieta e il contenuto di grassi nell'organismo, anche se la varianza spiegata da queste variabili è decisamente più bassa rispetto al fumo attivo.

Øvrebo S e coll. (24), per popolazioni che vivevano in Polonia (Slesia) in tre zone con presenza di miniere di carbone e cokerie, trovavano valori di 1-OHPIR compresi tra 0,791 e 2,971 µg/g creat, mentre popolazioni che vivevano in zone non industrializzate presentavano valori compresi tra 0,270 e 0,386 µg/g creat. Inoltre, venivano anche riscontrate variazioni statisticamente significative tra estate ed inverno.

Al contrario, uno studio di Vyskocil A e coll. (17) condotto su tre gruppi di soggetti non professionalmente esposti che vivevano in una città industriale (due gruppi) e in una zona di montagna non industrializzata della repubblica Ceca (un gruppo), evidenziava una situazione piuttosto complessa con livelli di 1-OHPIR compresi tra 0,058 e 0,251 µg/g creat, con differenze a volte statisticamente significative tra i tre gruppi, non riconducibili però all'inquinamento urbano, né alla stagione, ma probabilmente alla dieta.

Siwinska e coll., in un interessantissimo studio (25), esaminavano la variabilità intra e interindividuale nell'escrezione di 1-OHPIR in un gruppo di 30 bambini di 8 anni di età (18 maschi e 12 femmine) che vivevano in Slesia (Polonia). Lo studio era condotto sui bambini nel mese di Giugno per evitare l'influenza di variabili quali l'aria inquinata dagli impianti di riscaldamento a carbone. Le urine erano quelle del mattino di sei giorni consecutivi. La concentrazione di 1-OHPIR nei 6 giorni considerati variava tra 0,135 e 6,984 µg/g creat, con mediane oscillanti tra 0,540 e 1,138 µg/g creat. La cosa molto interessante era che la variabilità intraindividuale, espressa come coefficiente di variazione percentuale sulla concen-

trazione corretta per la creatinuria, variava tra 14% e 86% e quella interindividuale tra 74% e 109%. Quando si utilizzava la correzione per la creatinuria, l'unica variabile significativa risultava essere il giorno di raccolta, mentre se la concentrazione di 1-OHPIR era espressa in µg/L, il sesso (maschi > femmine) e l'ETS risultavano variabili significative. Veniva infine notato che le concentrazioni riscontrate erano più alte di quelle riscontrate in adulti viventi nell'Europa Occidentale e si addebitava questa differenza al maggior inquinamento ambientale della Slesia. Gli autori arrivavano alla conclusione che la grande variabilità intra e interindividuale è probabilmente riconducibile alla dieta, che la correzione per la creatinuria minimizzava l'effetto di altre variabili (ETS e sesso), che l'1-OHPIR non era un buon indice individuale di esposizione ambientale, mentre lo era se lo si considerava come indice di gruppo.

Kanoh T e coll., in uno studio condotto su ratti e su scolari di Tokyo (26), trovavano che i ratti sottoposti alla respirazione di aria inquinata da gas di scarico di motori diesel presentavano escrezioni di idrossipirene 2,4 volte più alte dopo 2 settimane dall'inizio dell'esperimento e 5,6 volte più alte dopo 4-8 settimane. Nessuna differenza statisticamente significativa era notata negli scolari per la classe frequentata e per il sesso, mentre due gruppi di scolari che vivevano in due zone ad alto inquinamento atmosferico presentavano escrezioni di 1-OHPIR mediamente 1,1-1,6 volte più alte rispetto ad un gruppo che viveva in una zona a basso inquinamento. La concentrazione urinaria media più alta nei tre gruppi fu individuata nei campioni di urina raccolti nel mese di giugno (altri campioni erano stati raccolti nei precedenti mesi di ottobre, gennaio e maggio). Tale concentrazione risultò di 138 ± 32 ng/L per i maschi e di $149 \pm 3,8$ ng/L per le femmine del gruppo che viveva nella zona meno inquinata, di 187 ± 58 ng/L per i maschi e di 159 ± 113 ng/L per le femmine di uno dei gruppi che vivevano nelle zone più inquinate e, infine, di 214 ± 50 ng/L per i maschi e di 207 ± 28 ng/L per le femmine dell'altro gruppo che viveva in una zona inquinata. Le differenze osservate sia nella sperimentazione animale sia negli scolari studiati portò gli autori a dedurre che l'1-OHPIR potesse essere considerato un buon indicatore di inquinamento ambientale a parità di abitudini dietetiche.

Pavanello S e coll. (27), in uno studio dove erano coinvolti soggetti esposti e non esposti professionalmente ad IPA, tutti non fumatori, nei 53 soggetti non professionalmente esposti trovavano una escrezione media di 1-OHPIR di $0,135 \pm 0,212$ µg/g creat. Per questi soggetti era poi trovato che l'ETS non influenzava l'escrezione del metabolita, mentre i soggetti che introducevano con la dieta quantità di pirene > 1 µg/24 h presentavano escrezioni significativamente superiori a quei soggetti che con la dieta introducevano quantità di pirene < 1 µg/24 h ($0,154 \pm 0,251$ µg/g creat contro $0,077 \pm 0,116$ µg/g creat).

In merito alla correzione dei valori di escrezione per la creatinuria, alcuni autori (26, 28, 29) ritengono che non sia significativa, mentre Jongeneelen FJ, forse il più importante ricercatore in questo settore, ritiene che la correzione vada necessariamente effettuata (30, 31).

Sicuramente tra le variabili quelle riconosciute da tutti i ricercatori come statisticamente significative sono la dieta e l'abitudine al fumo di tabacco. Molto più difficile da valutare sembra invece essere l'ETS il cui effetto, come prima descritto, è stato rilevato da Van Rooij JGM e coll. (23) con un'incidenza sull'escrezione di 1-OHPIR decisamente bassa.

Volendo fare delle considerazioni di carattere generale, appare ragionevole supporre che l'apporto di pirene dovuto alla dieta può essere più povero nelle regioni del mondo dove è più alto il consumo di vegetali e più basso il consumo di cibi affumicati e arrostiti (ad esempio in Italia e in altri paesi mediterranei). D'altro canto l'utilizzo di carbone (paesi dell'Europa orientale, Cina etc.) per il riscaldamento domestico insieme ad altri fattori legati al clima può aumentare fortemente l'apporto di pirene tramite la respirazione nei periodi invernali (17, 24, 32, 33). Più in generale, come già detto, l'inquinamento ambientale da IPA è una variabile legata alla presenza di impianti industriali o al traffico autoveicolare che possono dare origine a inquinamento dell'aria, del suolo e dell'acqua, con possibili variazioni stagionali anche di una certa entità. Ciò può comportare differenze nell'escrezione di 1-OHPIR sia in ragione della residenza che della stagione di raccolta dell'urina. È anche possibile che i bambini e gli anziani presentino metabolismi diversi sia per l'1-OHPIR sia per la creatinina ed è poi da notare che i bambini consumano, se rapportata al peso dei soggetti, una quantità di cibo decisamente superiore a quella degli adulti e molto spesso, almeno nei paesi occidentali, preferiscono consumare cibi ricchi di IPA quali patate e patatine fritte, popcorn, pizza etc.

Stabilire univocamente quale sia il "peso" delle singole variabili sull'assunzione di pirene e sull'escrezione di 1-OHPIR è probabilmente impossibile poiché tali variabili pesano diversamente per popolazioni diverse che vivono in luoghi diversi. Quanto detto, spiega almeno in parte, le non piccole differenze tra le concentrazioni di 1-OHPIR riscontrate in alcuni paesi del mondo e riportate in Tabella III, ripresa da uno studio di Levin J.O. e coll. (34) o in Tabella IV, che sinteticamente riporta i risultati di studi condotti da vari autori non italiani.

Tabella III. Livelli di 1-idrossipirene urinario, espressi come mediana, rilevati in gruppi di popolazione generale residenti in diversi Paesi (da Levin J.O. (34))

Nazione	Non fumatori		Fumatori	
	N.	µg/g creat	N.	µg/g creat
Danimarca	27	<0,135	76	<0,135
Svezia	48	0,058	10	0,174
Germania	90	0,077	49	0,232
Canada	95	0,135	45	0,251
Italia	19	0,154	22	0,251
Turchia	15	0,463	14	0,637
Olanda 1°	52	0,502	38	0,540
Olanda 2°	14	0,328	28	0,984
USA	10	0,521	11	1,466
Cina	74	1,312	84	1,466

(1) Media aritmetica.

Tabella IV. Concentrazioni di 1-idrossipirene urinario (µg/g creat) in campioni di popolazione non italiana non esposta professionalmente ad IPA

		Media (DS)	Mediana	Intervallo	95° Percentile	Variabili significative
Scherer G e coll. (45) 41 M + 28 F Urina raccolta per 6 volte a distanza di 4-8 settimane	27 Fumatori 42 Non Fumatori [Fumatori] [Non Fumatori]	0,346 (0,048)* 0,157 (0,249)* [0,231]** [0,105]**		0,11-1,16 * 0,05-0,46 *		Fumo
Van Rooij JGM e coll. (23) 76 M di cui 9 professionalmente esposti Urina raccolta 3 volte in un giorno	37 Fumatori 39 Non Fumatori		0,482 0,232	0,193-1,524 0,077-0,56		Fumo, dieta, momento della raccolta (sera> mattino)
Göen J e coll. (46) Tre gruppi di non esposti del Sud della Germania (sesso non dichiarato)	21 Fumatori 28 Non Fumatori 8 Fumatori 13 Non Fumatori 11 Fumatori <11 s/d 9 Fumatori >10 s/d 16 Ex-Fumatori 33 Non Fumatori		0,23 0,12 0,17 0,10 0,27 0,30 0,13 <0,04	<0,04-1,31 <0,04-0,33 <0,10-1,29 <0,10-0,23 <0,04-0,45 <0,04-0,60 <0,04-0,54 <0,04-0,39	0,55 0,33 - - - - - -	Fumo
Gündel J (47) 154 F Casalinghe che vivevano in una zona inquinata della Germania (Ruhr)	27 Fumatrici 97 Non fumatrici	0,57 (037) 0,19 (0,19)	0,48 0,15	0,18-1,50 0,06-1,56	1,45 0,46	Fumo

*µg/24 h. **Valori in µg/g creat ottenuti correggendo il valore medio per un'escrezione di 1,5 g/24 h di creatinina.

In base a queste considerazioni risulta poco credibile la formulazione di un VRB per 1-OHPIR valido per tutti i paesi del mondo, ma, per quanto attiene all'Italia, è probabilmente possibile poiché sono stati condotti diversi studi, grazie anche all'opera dei ricercatori che fanno capo alla SIVR, la quale ha da anni costituito un gruppo di lavoro sugli IPA.

La Tabella V sintetizza alcuni studi di autori italiani che hanno stimato la concentrazione di 1-OHPIR in gruppi di controllo composti da popolazione generale non esposta professionalmente ad IPA.

È da notare però che degli studi riportati nelle Tabelle IV e V, solamente quelli condotti da Pavanello e coll. (gruppo di controllo di popolazione urbana del Nord Italia) (27) e da Sciarra e coll. (popolazione urbana proveniente dalle province di Siena e Grosseto) (comunicazione personale) rispondono ai requisiti minimi di campionamento e analisi per la definizione dei VR sopra riportati. Dei due studi, però, quello di Pavanello e coll. (27) riguarda solo soggetti maschi.

Gli studi SIVR, poiché specificamente condotti, rispondono pienamente ai requisiti minimi necessari alla definizione dei VRA. Di questi il primo lavoro è stato presentato al II° Congresso Nazionale SIVR (35), seguito da ulteriori indagini (36, 37) pubblicate successivamente.

Dal primo di questi studi, condotto da Roggi C e coll. (35), è emerso che campioni di popolazione di città diverse (Pesaro, Verona, Siena) situate in varie regioni (Marche, Veneto e Toscana) mostravano valori di escrezione di 1-OHPIR non significativamente differenti. Differenze statisticamente significative sono state evidenziate confrontando questi tre gruppi urbani con un campione di popolazione residente in un centro agricolo della provincia di Pavia che è risultato quello con valori di 1-OHPIR più elevati. Questo riscontro è stato attribuito all'uso diffuso del ri-

scaldamento a legna (stufe e camini) nel centro agricolo ma non nei centri urbani considerati.

Nello stesso studio sono emerse differenze statisticamente significative tra soggetti fumatori e non fumatori. Inoltre, nei soggetti fumatori, è stata osservata una buona correlazione tra il numero di sigarette fumate e l'escrezione urinaria del metabolita. Le Tabelle VI e VII presentano una sintesi dello studio.

In un successivo studio condotto in ambito SIVR (36), sono stati determinati i livelli di 1-OHPIR urinario in un gruppo di bambini di 3-11 anni, provenienti dalla provincia di Siena e in un gruppo di bambini e adolescenti di età compresa tra 9 e 13 anni residenti in due comunità delle province di Benevento e Napoli, come riportato in Tabella VIII.

Concludendo, osservando gli studi condotti in Italia che rispondono ai requisiti minimi per la formulazione dei VR, si può notare che i valori riscontrati per i non fumatori da Pavanello (27), Sciarra (comunicazione personale) e Roggi (35) sono molto simili. È quindi realistico proporre come valore di riferimento dell'1-idrossipirene per la popolazione urbana dell'Italia centro-settentrionale i valori, proposti da Roggi e coll. (35), riportati nelle Tabelle VI e VII.

Valori di riferimento biologici dell'1-naftolo urinario

Il maggior metabolita del naftalene è l'1-naftolo (1-NAF), detto anche α -naftolo, che viene prevalentemente escreto come glucuronide o solfato. 1-NAF non è un metabolita specifico del naftalene, ma lo è anche del carbaryl, un insetticida della classe dei carbammati.

La letteratura scientifica non riporta molti lavori riguardanti 1-NAF, in particolare sono molto pochi quelli riguardanti la sua determinazione nella popolazione non

Tabella V. Concentrazioni di 1-idrossipirene urinario in campioni di popolazione italiana non esposta professionalmente ad IPA

		Media (DS)	Media Geometrica	Mediana	Intervallo	95° Percentile	Variabili significative
Pastorelli R e coll. (11) 32 M + 33 F Urina delle 24 h raccolta per 2 volte in estate e inverno a Milano	18 Fumatori 37 Non Fumatori	0,54 (0,31) 0,24 (0,24)		0,52 0,17			Fumo
Merlo F e coll. (16) 27 M +16 F Urina raccolta dopo 5 ore di lavoro a Genova	7 Fum. ≤ 15 s/d 4 Fum. > 15 s/d 32 Non Fumatori	0,251 (0,206) 0,511 (0,286) 0,129 (0,096)					Fumo, sesso
Pavanello S e coll. (27) 53 M	53 Non Fumatori	0,135 (0,212)			0,190-1,486		Dieta
Sciarra G e coll. (comunicazione personale) 124 M + 55 F Residenti nella Toscana Meridionale	87 Fumatori [38 Fum. < 11 s/d] [36 Fum. 11-20 s/d] [13 Fum. > 20 s/d] 92 Non Fum.	0,356 (0,246) [0,298 (0,223)] [0,371 (0,235)] [0,481 (0,301)] 0,162 (0,137)	0,284 0,248 0,286 0,414 0,125	0,304 0,220 0,355 0,380 0,130	0,020-1,320 0,080-1,310 0,020-1,030 0,186-1,320 0,006-0,808	0,715 0,363	Fumo, numero di sigarette fumate

Tabella VI. Valori di 1-idrossipirene urinario ($\mu\text{g/g creat}$) in 4 gruppi di popolazione generale di Pesaro, Verona, Siena e Rovescala (35)

Comune	No.	Media (DS)	MG (DSG)	Mediana	95° percentile	5° percentile
Rovescala						
Intera popolazione	425	0,273 (0,396)	0,184 (2,254)	0,173	0,744	0,054
Maschi	186	0,329 (0,540)	0,200 (2,483)	0,192	1,073	0,050
Femmine	239	0,229 (0,219)	0,173 (2,065)	0,161	0,645	0,058
Fumatori	92	0,408 (0,312)	0,313 (2,138)	0,333	1,059	0,076
Non fumatori	327	0,233 (0,411)	0,143 (2,438)	0,149	0,654	0,052
Maschi fumatori	58	0,403 (0,307)	0,308 (2,178)	0,304	1,126	0,060
Maschi non fumatori	125	0,297 (0,623)	0,172 (2,477)	0,149	1,041	0,042
Femmine fumatrici	34	0,415 (0,324)	0,323 (2,099)	0,360	1,200	0,083
Femmine non fumatrici	202	0,194 (0,175)	0,153 (1,928)	0,147	0,454	0,056
Pesaro+Verona+Siena						
Intera popolazione	184	0,192 (0,174)	0,137 (2,280)	0,129	0,591	0,037
Maschi	81	0,165 (0,151)	0,119 (2,249)	0,106	0,510	0,037
Femmine	103	0,214 (0,187)	0,153 (2,275)	0,145	0,621	0,037
Fumatori	59	0,234 (0,183)	0,171 (2,296)	0,176	0,597	0,041
Non fumatori	125	0,172 (0,166)	0,123 (2,228)	0,117	0,611	0,036
Maschi fumatori	32	0,192 (0,142)	0,148 (2,148)	0,510	0,537	0,041
Maschi non fumatori	49	0,148 (0,156)	0,103 (2,259)	0,094	0,598	0,025
Femmine fumatrici	27	0,248 (0,214)	0,205 (2,427)	0,240	0,761	0,038
Femmine non fumatrici	76	0,189 (0,171)	0,138 (2,178)	0,131	0,636	0,036

Tabella VII. Valori di 1-idrossipirene urinario ($\mu\text{g/l}$) in 4 gruppi di popolazione generale di Pesaro, Verona, Siena e Rovescala (35)

Comune	No.	Media (DS)	MG (DSG)	Mediana	95° percentile	5° percentile
Rovescala						
Intera popolazione	425	0,318 (0,687)	0,175 (2,642)	0,80	0,967	0,050
Maschi	186	0,450 (0,980)	0,239 (2,679)	0,225	1,291	0,050
Femmine	239	0,209 (0,259)	0,136 (2,393)	0,120	0,660	0,050
Fumatori	92	0,539 (0,610)	0,354 (2,477)	0,330	2,070	0,750
Non fumatori	327	0,256 (0,704)	0,143 (2,438)	0,140	0,606	0,050
Maschi fumatori	58	0,561 (0,653)	0,372 (2,432)	0,360	2,459	0,079
Maschi non fumatori	125	0,404 (1,108)	0,95 (2,624)	0,190	1,168	0,050
Femmine fumatrici	34	0,474 (0,491)	0,319 (2,483)	0,310	1,498	0,057
Femmine non fumatrici	202	0,164 (0,161)	0,117 (2,183)	0,110	0,510	0,050
Pesaro+Verona+Siena						
Intera popolazione	184	0,257 (0,228)	0,181 (2,344)	0,180	0,730	0,047
Maschi	81	0,263 (0,216)	0,193 (2,239)	0,200	0,766	0,050
Femmine	103	0,252 (0,237)	0,172 (2,432)	0,160	0,730	0,045
Fumatori	59	0,307 (0,221)	0,227 (2,312)	0,250	0,772	0,050
Non fumatori	125	0,233 (0,228)	0,162 (2,317)	0,150	0,717	0,042
Maschi fumatori	32	0,305 (0,201)	0,238 (2,148)	0,243	0,732	0,053
Maschi non fumatori	49	0,236 (0,223)	0,168 (2,249)	0,160	0,859	0,045
Femmine fumatrici	27	0,310 (0,246)	0,216 (2,540)	0,260	0,868	0,048
Femmine non fumatrici	76	0,243 (0,232)	0,158 (2,371)	0,147	0,648	0,040

Tabella VIII. Livelli di 1-idrossipirene urinario in bambini residenti nella provincia di Siena e in bambini e adolescenti residenti in due province della Campania (36)

$\mu\text{g/g l}$						
	No.	Media (DS)	MG (DSG)	Mediana	95° percentile	5° percentile
Bambini di Siena	66	0,235 (0,197)	0,174 (2,21)	0,185	0,720	0,040
Bambini/adolescenti della Campania	20	0,183 (0,085)	0,166 (1,60)	0,159	0,393	0,079
$\mu\text{g/g creat.}$						
Bambini di Siena	66	0,307 (0,198)	0,244 (2,10)	0,260	0,706	0,044
Bambini/adolescenti della Campania	20	0,206 (0,084)	0,192 (0,15)	0,195	0,442	0,102

esposta professionalmente e nessuno risulta idoneo per una stima del VR.

Tra i pochi lavori degni di nota, Bieniek G e coll. (38) in 24 soggetti non esposti professionalmente a IPA, trovano una concentrazione media di 1-NAF di 0,13 mg/l (media geometrica) con una deviazione standard geometrica di 1,868, equivalenti a 0,10 mg/g creat con deviazione standard di 2,514.

Heikkilä P e coll. (39) in 5 soggetti non professionalmente esposti a IPA, ma fumatori, hanno determinato un valore medio di 1-NAF inferiore al limite di rivelabilità analitico ($<0,07 \mu\text{mol/l}$ equivalente a $10,1 \mu\text{g/l}$).

Hansen AM e coll. (40) hanno esaminato due gruppi di soggetti maschi non esposti professionalmente a IPA. Nel primo gruppo (30 fumatori e 19 non fumatori) la concentrazione di 1-NAF urinario, espressa come mediana, era rispettivamente di $2,31 \mu\text{mol/mole creat}$ ($2,9 \mu\text{g/g creat}$) e $0,80 \mu\text{mol/mole creat}$ ($1,0 \mu\text{g/g creat}$). Nel secondo gruppo la concentrazione mediana di 47 fumatori e 19 non fumatori era di 1,78 e $0,94 \mu\text{mol/mole creat}$ ($2,3$ e $1,2 \mu\text{g/g creat}$).

Sempre Hansen AM e coll. (41) hanno riportato i risultati di uno studio condotto su 236 soggetti maschi, 121 soggetti non esposti professionalmente a IPA e 115 esposti a bassi livelli di IPA. Non essendo state rilevate differenze statisticamente significative tra le concentrazioni di 1-NAF nei soggetti esposti e non esposti, è stata effettuata un'unica elaborazione dei dati ottenuti. La concentrazione media, espressa come media aritmetica, era di $2,710 \pm 5,652 \mu\text{mol/mole creat}$ ($3,4 \pm 7,2 \mu\text{g/g creat}$).

Più interessante lo studio pubblicato da Yang M e coll. (42) che hanno analizzato, con un metodo analitico perfettamente validato, l'urina di 119 soggetti giapponesi maschi, 63 fumatori e 56 non fumatori, prendendo in considerazione numerose variabili (quali ad es. l'abitudine al fumo, l'età, il consumo di te, caffè e alcol etc.) e la variabilità genetica. Il metabolita era detectabile nel 90% dei soggetti ($\text{LR} = 0,27 \mu\text{g/L}$). La concentrazione di 1-NAF nei non fumatori, espressa come media geometrica, risultava di $2,3 \mu\text{g/g creat}$ con 5,4 di deviazione standard, mentre nei fumatori era di $5,8 \mu\text{g/g creat}$ con 3,4 di deviazione standard. L'abitudine al fumo era l'unica variabile statisticamente significativa tra le abitudini di vita e il numero di sigarette fumate correlava statisticamente con l'escrezione di 1-NAFT.

Concludendo, non rispondendo nessuno degli studi ai requisiti minimi richiesti per la formulazione dei VR, non si ritiene possibile formulare alcun VRB per l'1-NAF.

Valori di riferimento degli idrossifenantreni urinari

Il fenantrene metabolizza in vari idrossifenantreni che vengono escreti sotto forma glucuronidi e solfati. Si distinguono in monoidrossifenantreni (1-idrossifenantrene, 2-idrossifenantrene, 3-idrossifenantrene, 4-idrossifenantrene, 9-idrossifenantrene) e in diidrodrossifenantreni (1,2-diidrossi-1,2-diidrofenantrene, 3,4-diidrossi-3,4-diidrofenantrene e 9,10-diidrossi-1,2-diidrofenantrene).

La letteratura scientifica riporta un numero limitato di metodiche analitiche per la determinazione dei metaboliti del fenantrene, alcune riguardano il dosaggio dei soli monoidrossifenantreni mentre altre, più complesse, riguardano la determinazione dei monoidrossi- e dei diidrossididroderivati.

Poche sono le pubblicazioni scientifiche sugli idrossifenantreni relativamente alla popolazione generale, tra queste, Martin F e coll. (43) trovavano che i fumatori e i soggetti che avevano appositamente assunto alimenti ricchi di IPA eliminavano quantità leggermente superiori di metaboliti, senza però riscontrare differenze statisticamente significative. Differenze significative erano invece trovate con i soggetti professionalmente esposti a IPA. Le concentrazioni medie rilevate (valore medio della somma delle concentrazioni dei cinque monoidrossifenantreni) erano dell'ordine di $1,5 \mu\text{g/g creat}$ per i 6 soggetti non esposti non fumatori e di $2,2 \mu\text{g/g creat}$ per i 6 soggetti fumatori di 25-44 sigarette al giorno.

Jacob J e coll. (44), tramite un metodo analitico molto complesso che dosava sia i monoidrossi- che i diidrossididrofenantreni, analizzavano le urine di 10 non fumatori, 10 fumatori (a cui erano raccolte urine delle 24 h per 10 volte a distanza di 6 settimane) e 10 fumatori malati di cancro al polmone (a cui era raccolto un unico campione di urina). Le concentrazioni medie di monoidrossifenantreni (somma dei singoli) risultavano di $1422 \pm 739 \text{ ng/24 h}$ per i non fumatori, di $1654 \pm 665 \text{ ng/24 h}$ per i fumatori e di 1492 ± 1071 per i malati di cancro. Le concentrazioni medie di diidrossididrofenantreni risultavano invece di $855 \pm 720 \text{ ng/24 h}$ per i non fumatori, di $874 \pm 635 \text{ ng/24 h}$ per i fumatori e di $1368 \pm 1185 \text{ ng/24 h}$ per i malati di cancro. In nessun caso era evidenziata una differenza statisticamente significativa.

Sciarra G e coll. (comunicazione personale) con un metodo in HPLC a rivelazione spettrofluorimetrica, analizzavano l'urina (seconda minzione del mattino) di 21 soggetti, 9 maschi (6 fumatori e 3 non fumatori) e 12 femmine (6 fumatrici e 6 non fumatrici), non esposti professionalmente a IPA. Tra fumatori e non fumatori esisteva una differenza statisticamente significativa e i risultati ottenuti sono riportati nella Tabella IX.

Concludendo, come per l'1-NAF, anche per i metaboliti del fenantrene, non sono, allo stato attuale, ipotizzabili VRB.

Tabella IX. Concentrazione ($\mu\text{g/l}$) di monoidrossifenantreni (somma di tutti i metaboliti monoidrossilati) riscontrata nell'urina di soggetti non esposti professionalmente ad IP

	Non Fumatori	Fumatori
N.	9	12
Media	0,32	0,90
DS	0,12	0,41
Media Geometrica	0,29	0,77
Mediana	0,31	0,95
Intervallo	0,10-0,46	0,30-1,78

Bibliografia

- 1) Borneff J, Selenka F, Kunte H. Experimental studies on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons in plants. *Environ Res* 1968; 2: 22-29.
- 2) Graf W. On the natural occurrence and importance of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Medianische Klinik* 1965; 60: 561-570.
- 3) Graf W, Diehl H. Concerning the naturally caused normal level of carcinogenic polycyclic aromatic and its cause. *Arch Hyg* 1966; 150: 249-259.
- 4) Morgante A. Variazione del contenuto di idrocarburi policiclici aromatici (IPA) durante il processo di maturazione delle olive. *Quad Merceol* 1974; 12(II): 177-182.
- 5) Morgante A. Contenuto in idrocarburi policiclici aromatici in olive prelevate entro l'area di una fabbrica che lavora a caldo pece di carbon fossile. *Riv Merceol* 1988; 27(II): 83-91.
- 6) Lao RC, Thomas RS, Oja H, Dubois L. Application of a gas chromatograph-mass spectrometer-data processor combination to analysis of the polycyclic aromatic hydrocarbon content of airborne pollutants. *Anal Chem* 1973; 45(6): 908-915.
- 7) Lee ML, Novotny MV, Bartle KD. Analytical chemistry of polycyclic aromatic compounds. New York, Accademic Press. 1981.
- 8) International Agency for Research on Cancer. Evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1, Chemical, environmental and experimental data. Vol. 32. Lyon. 1983.
- 9) DMS Decreto Ministero della Sanità, Attuazione dell'art. 37, commi 1 e 2, del decreto legislativo 3 febbraio 1997, n. 52, concernente classificazione, imballaggio ed etichettatura delle sostanze pericolose. G.U 19/8/1997.
- 10) Yamasaki H, Kuwata K, Miyamoto H. Effects of ambient temperature on aspects of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ Sci Technol* 1982; 6(4): 189-194.
- 11) Pastorelli R, Guanci M, Restano J, Berri A, Micoli G, Minoia C, Alcini D, Carrer P, Negri E, La Vecchia C, Fanelli R, Airolidi L. Seasonal effect on airborne pyrene, urinary 1-hydroxypyrene, and benzo(a)pyrene diol epoxide-hemoglobin adducts in the general population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8(6): 561-565.
- 12) Bini G, Di Vaio V, Liguori E, Marini E, Pagliai L. Carcinogens in the urban environment of Italian cities: benzene and benzo(a)pyrenes. *Med Lav* 1998; 89(2): 177-187.
- 13) Zmirou D, Masclat P, Boudet C, Dor F, Dechenaux J. Personal exposure to atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons in a general adult population and lung cancer risk assessment. *J Occup Environ Med* (2000); 42(2): 121-126.
- 14) Caricchia A, Chiavarini S, Pezza M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the urban atmospheric particulate matter in the city of Naples (Italy). *Atm Environ* 1999; 33(23): 3731-3738.
- 15) Minoia C, Magnaghi S, Micoli G, Fiorentino ML, Turci R, Angeleri S, Berri A. Determination of environmental reference concentration of six PAHs in urban areas (Pavia, Italy). *Sci Total Environ* 1997; 198: 33-41.
- 16) Merlo F, Andreassen A, Weston A, Pan CF, Haugen A, Valerio F, Reggiardo G, Fontana V, Garte S, Puntoni R, Abbondandolo A. Urinary Excretion of 1-Hydroxypyrene as a Marker for Exposure to Urban Air Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev* 1998; 7(2): 147-55.
- 17) Vyskocil A, Fiala Z, Fialova D, Krajak V, Viau C. Environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in Czech Republic. *Hum Exp Toxicol* 1997; 16(10): 589-595.
- 18) Sanders CL, Skinner C, Gelman RA. Percutaneous absorption of [7,10-¹⁴C]-benzo[a]pyrene and [7,12-¹⁴C]-dimethylbenz[a]anthracene in mice. *Environ Res* 1984; 33: 353-360.
- 19) Sartorelli P, Aprea C, Novelli MT, Sciarra G, Matteucci G. Studio dell'assorbimento cutaneo di idrocarburi policiclici aromatici: modello in vitro con cute di scimmia. In: Ambrosi L (Ed.) Atti I Congresso Nazionale A.U.I.M.L. Bernardino Ramazzini, Il rischio chimico professionale ed ambientale. Bari, p. 132. 1993.
- 20) Yang JJ, Roy TA, Mackerer CR. Percutaneous absorption of anthracene in the rat: comparison of in vivo and in vitro results. *Toxicol Ind Health* 1986; 2: 79-84.
- 21) Pastorelli R, Guanci M, Cerri A, Minoia C, Carrer P, Negri E, Fanelli R, Airolidi L. Benzo(a)pyrene diepoxide-haemoglobin and albumin adducts at low levels of benzo(a)pyrene exposure. *Biomarkers* 2000; 5(4): 245-251.
- 22) Merlo F, Bolognesi C, Peluso M, Valerio F, Abbondandolo A, Puntoni R. Airborne levels of polycyclic aromatic hydrocarbons: ³²P-postlabeling DNA adducts and micronuclei in white blood cells from traffic police workers and urban residents. *J Environ Patol Toxicol Oncol* 1997; 16(2-3): 157-162.
- 23) Van Rooij JGM, Veeger MMS, Bodelier-Bade MM, Scheepers PTJ, Jongeneelen FJ. 1994; Smoking and dietary intake of polycyclic aromatic hydrocarbons as sources of interindividual variability in the baseline excretion of 1-hydroxypyrene in urine. *Int Arch Occup Environ Health* 66, 55-65.
- 24) Øvrebo S, Fjeldstad PE, Grzybowska E, Kure EH, Chorazy M, Haugen A. Biological monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbon exposure in a highly polluted area of Poland. *Environ Health Perspect* 1995; 103(9): 838-843.
- 25) Siwinska E, Mielzynska D, Smolik E, Bubak A, Kwapulinski J. Evaluation of intra- and interindividual variation of urinary 1-hydroxypyrene, a biomarker of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Sci Total Environ* 1995; 217(1-2): 175-183.
- 26) Kanoh T, Fukuda M, Onozuca H, Kinouchi T, Ohnishi Y. Urinary 1-hydroxypyrene as a marker of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in environment. *Environ Res* 1993; 62: 230-241.
- 27) Pavanello S, Genova A, Foà V, Clonfero E. Valutazione dell'esposizione professionale ad idrocarburi policiclici aromatici mediante l'analisi dei livelli urinari di 1-pirenolo. *Med Lav* 2000; 91(3): 192-205.
- 28) Kang DH, Rothman N, Cho SH, Lim HS, Kwon HJ, Kim SM, Schwartz B, Strickland PT. Association of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (estimated from job category) with concentration of 1-hydroxypyrene glucuronide in urine from workers at steel plant. *Occup Environ Med* 1995; 52: 593-599.
- 29) Levin JO, Rhén M, Sikström E. Occupational PAH exposure: urinary 1-hydroxypyrene levels of coke oven workers, aluminium smelter pot-room workers, road pavers, and occupationally non-exposed persons in Sweden. *Sci Total Environ* 1995; 163(1-3): 169-177.
- 30) Jongeneelen FJ, Anzion RBM, Henderson PT. Determination of hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine. *J Chromatogr* 1987; 413: 227-232.
- 31) Jongeneelen FJ, Van Leeuwen FE, Oosterink S, Anzion RBM, Van Der Lop F, Bos RP, Van Veen HG. Ambient and biological monitoring of cokeoven workers: determinants of internal dose of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Brit J Ind Med* 1990; 47: 454-461.
- 32) Zhao ZH, Quan WY, Tian DH. Experiments on the effects of several factors on the 1-hydroxypyrene level in human urine as an indicator of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Sci Total Environ* 1992; 113: 197-207.
- 33) Zhao ZH, Quan WY, Tian DH. The relationship between polycyclic aromatic hydrocarbons in ambient air and 1-hydroxypyrene in human urine. *J Environ Sci Health* 1992; A27(7): 1949-1966.
- 34) Levin JO. First international workshop on hydroxypyrene as a biomarker for PAH exposure in man - summary and conclusion. *Sci Total Environ* 1995; 163: 165-168.
- 35) Roggi C, Maccarini L, Bernabeo F, Sciarra G, Aprea C, Cenni A, Bay A, Bregante G, Bavazzano P, Perico A, Pavan I, Massiccio M, dell'Omo M, Curti G, Galimberti E, Minoia C, Grignani E, Micoli G, Apostoli P, Raggi G, Cecco A, Valerio F, Curina P, Balducci C, Nidasio G, Fonte A, Rogledi S. Valori di riferimento dell'1-idrossipirene urinario in tre regioni italiane. In: Aprea C, Sciarra G, Fiorentino ML, Minoia C (Ed.ri) I Valori di Riferimento e i Valori Limite nella Prevenzione Ambientale e Occupazionale - Morgan Edizioni Tecniche - Milano, pp. 67-88. 1996.
- 36) Cenni A, Sciarra G, Sartorelli P, Sartorelli E, Roggi C, Micoli G, Minoia C. Valori di riferimento dell'1-idrossipirene urinario. In: P Apostoli, C Minoia, L Alessio (Ed.ri) Atti del Convegno Nazionale Idrocarburi policiclici aromatici negli ambienti di vita e di lavoro: esposizione ed effetti. Gargnano 27-29 marzo 1996, pp. 407-417. 1996.
- 37) Roggi C, Minoia C, Sciarra G, Apostoli P, Maccarini L, Magnaghi S, Cenni A, Fonte A, Nidasio GF, Micoli G. Urinary 1-hydroxypyrene as a marker of exposure to pyrene: an epidemiological survey on a general population group. *Sci Total Environ* 1997; 199: 247-254.

- 38) Bieniek G. The presence of 1-naphthol in the urine of industrial workers exposed to naphthalene. *Occup Environ Med* 1994; 51: 357-359.
- 39) Heikkilä P, Luotamo M, Riihimäki V. Urinary 1-naphthol excretion in the assessment of exposure to creosote in an impregnation facility. *Scand J Work Environ Health* 1997; 23: 199-205.
- 40) Hansen AM, Poulsen OM, Sigsgaard T, Christensen JM. The validity of determination of α -naphthol in urine as a marker for exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Anal Chim Acta* 1994; 291: 341-347.
- 41) Hansen AM, Christensen JM, Sherson D. Estimation of reference values for urinary 1-hydroxypyrene and α -naphthol in Danish workers. *Sci Total Environ* 1995; 163: 211-219.
- 42) Yang M, Koga M, Katoh T, Kawamoto T. A study for the proper application of urinary naphthols, new biomarkers for airborne polycyclic aromatic hydrocarbons. *Arch Environ Contam Toxicol* 1999; 36(1): 99-108.
- 43) Martin F, Hoepfner I, Scherer G, Adlkofer F, Dettbarn G, Grimmer G. Urinary excretion of hydroxy-phenanthrenes after intake of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ Int* 1989; 15: 41-47.
- 44) Jacob J, Grimmer G, Dettbarn G. Profile of urinary phenanthrene metabolites in smokers and non-smokers. *BIOMARKERS* 1999; 4(5): 319-327.
- 45) Scherer G, Frank S, Riedel K, Meger-Kossien I, Renner T. Biomonitoring of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons of nonoccupationally exposed persons. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9(4): 373-380.
- 46) Göen T, Gundel J, Schaller KH, Angerer J. The elimination of 1-hydroxypyrene in the urine of the general population and workers with different occupational exposures to PAH. *Sci Total Environ* 1995; 163(1-3): 195-201.
- 47) Gündel J, Mannschreck C, Büttner K, Ewers U, Angerer J. Urinary levels of 1-hydroxypyrene, 1-, 2-, 3-, and 4-hydroxyphenanthrene in females living in an industrial area of Germany. *Arch Environ Contam Toxicol* 1996; 31(4): 585-590.