

## Livelli serici di policlorobifenili in due gruppi di popolazione italiana: distribuzione dei congeneri e correlazione con l'età

## Polychlorinated biphenyl serum levels in two Italian population groups: congener pattern and correlation with age

Roberta Turci,<sup>1</sup> Alessandro Marinaccio,<sup>2</sup> Claudio Balducci,<sup>3</sup> Giovanni Catenacci,<sup>4</sup> Enrico Finozzi,<sup>4</sup> Claudio Minoia<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio di misure ambientali e tossicologiche, Fondazione Salvatore Maugeri, Pavia

<sup>2</sup> Dipartimento di medicina del lavoro, Sezione di epidemiologia, ISPESL, Roma

<sup>3</sup> ASL 1 di Pesaro, Sezione di igiene, Novafeltria, Pesaro

<sup>4</sup> Dipartimento di medicina del lavoro, Fondazione Salvatore Maugeri, Pavia

Corrispondenza: Roberta Turci, Laboratorio di misure ambientali e tossicologiche, Fondazione Salvatore Maugeri, via Salvatore Maugeri 6, 27100 Pavia; tel. 0382 592312; fax 0382 592067; e-mail rturci@fsm.it.

### Cosa si sapeva già

- I policlorobifenili (PCB) sono inquinanti ubiquitari persistenti, che si accumulano lungo la catena alimentare.
- La principale fonte di esposizione a PCB nella popolazione generale è la dieta, in particolare il consumo di alimenti di origine animale. I PCB si accumulano nei tessuti grassi ed è stato osservato un incremento del carico corporeo di PCB con l'età.
- Sono noti effetti avversi per la salute riconducibili all'esposizione ai diversi congeneri di PCB.

### Cosa si aggiunge di nuovo

- E' stata valutata l'esposizione a policlorobifenili ed è stata studiata la distribuzione dei congeneri per due gruppi di popolazione generale italiana.
- L'analisi statistica ha mostrato che l'età è la variabile più significativa.
- La correlazione tra i livelli di PCB e l'età dei soggetti aumenta con il grado di clorurazione.

### Riassunto

**Obiettivo:** valutare l'esposizione a policlorobifenili (PCB) nella popolazione generale italiana e studiare la distribuzione dei singoli congeneri.

**Disegno:** poiché il profilo dei PCB può variare in funzione della zona geografica monitorata, sono stati selezionati due gruppi di popolazione, residenti nel Nord e nel Centro Italia e sono stati confrontati i dati ottenuti, in termini di concentrazione e distribuzione. Mediante questionario sono state raccolte informazioni riguardanti le caratteristiche demografiche e personali e lo stato di salute dei soggetti reclutati. Mediante analisi statistica è stata esaminata la correlazione tra i livelli serici di PCB e l'età.

**Setting:** Nord e Centro Italia.

**Partecipanti:** 162 soggetti residenti a Novafeltria (PS) e 164 residenti nella provincia di Pavia.

**Outcome principali:** livelli serici di PCB e profilo dei con-

generi; correlazione dei livelli di PCB con l'età.

**Risultati:** la concentrazione media dei PCB totali è risultata pari a 2,48 e 3,93 µg/l, rispettivamente per la popolazione dell'Italia centrale e per quella del Nord. Il numero dei congeneri rilevati è risultato lo stesso, 31 su 60, ma il profilo era leggermente differente. In accordo con i risultati reperibili in letteratura, i congeneri 153, 138, 180 e 170 sono i più abbondanti in entrambi i gruppi.

**Conclusioni:** l'analisi statistica univariata e multivariata ha mostrato che l'età è la variabile più significativa e che la correlazione tra i livelli di PCB e l'età dei soggetti aumenta con il grado di clorurazione. Le altre variabili (consumo di formaggio, pollame e alcool e il luogo di residenza) non sono risultate significative.

(*Epidemiol Prev* 2006; 30(2): 100-107)

**Parole chiave:** policlorobifenili (PCB), congeneri, popolazione italiana, correlazione con l'età

### Abstract

**Objective:** to examine the congener-specific concentrations and patterns of polychlorinated biphenyls in the Italian general population.

**Design:** two population groups were selected and monitored for the determination of up to 60 congeners in human serum. A very detailed questionnaire was administered to each participant to collect information concerning demographic, lifestyle, and me-

dical factors. Statistical analyses were performed to examine the relationships between PCB serum levels and age.

**Setting:** Northern and Central Italy.

**Participants:** 162 subjects from Novafeltria, Central Italy and 164 subjects from Pavia, Northern Italy.

**Main outcome measure:** serum concentrations of both coplanar and non-coplanar PCB congeners. Relationship between PCB levels and age.

**Results:** the mean concentration of total PCBs was found to be 2.48 and 3.93 µg/l for Novafeltria and Pavia, respectively. As waited, the most abundant congeners were CB-153, CB-138, CB-180, and CB-170. Age resulted to be the most significant determinant of PCB levels. Slight differences in the congener profile were observed in the two population groups.

**Conclusions:** as expected, a strong correlation between age and PCB levels has been observed. It is remarkable that the correla-

tion increased with increasing chlorination in both the population groups. Associations with other variables, such as gender, food and alcohol consumption, and cigarette smoking, appeared to be inconsistent.

(Epidemiol Prev 2006; 30(2): 100-107)

**Keywords:** polychlorinated biphenyls (PCBs), congener pattern, correlation with age, Italian population

## Introduzione

I policlorobifenili (PCB) sono una classe di idrocarburi aromatici clorurati di origine antropogenica. Anche se teoricamente è possibile sintetizzare 209 congenere, nelle miscele commerciali ne sono stati separati circa 130-140<sup>1,2</sup> che sono effettivamente presenti nell'ambiente. In letteratura si suggerisce che di questi soltanto 36 siano rilevanti dal punto di vista dell'impatto ambientale.<sup>2</sup> Una suddivisione fondamentale per quanto riguarda l'aspetto tossicologico di questi composti è quella tra PCB *dioxin-like* e PCB *non dioxin-like*.<sup>3,4</sup>

I PCB *dioxin-like* (non-orto e mono-orto sostituiti) si distinguono dai PCB *non dioxin-like* (di-orto sostituiti) per una

conformazione più planare alla quale sono legate alcune caratteristiche di resistenza alla degradazione ambientale e al metabolismo. Inoltre, la diversa conformazione chimica dei PCB planari determina la possibilità di interazione con un recettore citoplasmatico (recettore *Ah*) che media gli effetti tossici indotti dalle policlorodibenzo-*p*-diossine e dai policlorodibenzo furani, da cui il nome PCB *dioxin-like*, cioè diossino-simili.<sup>3,4</sup> I PCB nell'ambiente si distribuiscono principalmente nel suolo e nei sedimenti, dove tendono ad accumularsi. Tuttavia, sembra che grandi quantità di questi composti stiano ancora circolando tra i diversi comparti ambientali. L'erosione del suolo, il trasporto dei sedimenti, la volatilizzazione dal suolo

e dalla superficie dei corpi idrici, con il conseguente trasporto in atmosfera e la rideposizione sui terreni o sulla superficie delle acque, sono considerati i principali meccanismi di trasporto responsabili della presenza ubiquitaria dei PCB.

La capacità dei PCB di essere degradati o trasformati nell'ambiente dipende dal grado di clorurazione della molecola di difenile e dalla posizione relativa degli atomi di cloro. La reazione in fase vapore dei PCB con i radicali idrossilici è il processo di trasformazione predominante, mentre la fotolisi sembra essere l'unico processo chimico di degradazione possibile nelle acque.<sup>5,6</sup> La biodegradazione è invece stata osservata in condizioni sia aerobiche sia

	Novafeltria		Pavia	
	uomini (n. 81)	donne (n. 81)	uomini (n. 94)	donne (n. 70)
	(media ± DS)		(media ± DS)	
età (anni)	42,8 ± 10,3	43,0 ± 10,0	43,1 ± 12,7	37,6 ± 10,0
peso (kg)	79,4 ± 11,1	59,2 ± 8,1	81,8 ± 13,6	58,9 ± 10,0
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25,9 ± 3,2	22,7 ± 3,2	26,6 ± 4,0	22,6 ± 3,6
lipidi totali (mg/100 ml siero)	580 ± 140	546 ± 118	583 ± 317	567 ± 127
<b>luogo di residenza</b>				
città	49	52	45	27
fuori città	32	29	49	43
<b>fumatori</b>				
no	44	35	37	41
ex	12	24	22	10
si	22	25	35	19
<b>consumo di alcolici</b>				
no	27	57	40	66
vino	46	21	50	4
liquori	8	3	4	-
<b>consumo di pesce*</b>				
no	21	19	13	11
" 1 porzione/settimana	45	35	37	26
> 1 porzione/ settimana	14	27	44	33
<b>consumo di pollame**</b>				
no	36	25	37	48
si	44	54	57	22
<b>consumo di formaggio<sup>^</sup></b>				
0-2 porzioni/ settimana	19	21	37	32
3-4 porzioni/ settimana	42	36	28	18
>4 porzioni/ settimana	17	20	29	20

\*manca 1 dato relativo alla popolazione di Novafeltria

\*\*mancano 3 dati relativi alla popolazione di Novafeltria

<sup>^</sup>mancano 4 dati relativi alla popolazione di Novafeltria

Tabella 1. Caratteristiche demografiche e personali dei soggetti coinvolti nello studio.

Table 1. Demographic and personal characteristics of the two population groups involved in the study.

	media ± DS				mediana			
	Novafeltria		Pavia		Novafeltria		Pavia	
	µg/l	ng/g lipidi	µg/l	ng/g lipidi	µg/l	ng/g lipidi	µg/l	ng/g lipidi
PCB totali	2,48 ± 1,29	429 ± 234,8	3,93 ± 1,90	716 ± 413,9	2,29	397,1	3,73	633,6
PCB dioxin-like	0,243 ± 0,17	38,8 ± 36,9	0,232 ± 0,26	38,4 ± 56,3	0,21	32,4	0,13	15,9
tri-CB	0,026 ± 0,03	3,63 ± 5,37	0,147 ± 0,03	24,4 ± 2,9	0,01	1,8	0,01	0,02
tetra-CB	0,138 ± 0,07	20,7 ± 12,67	0,471 ± 0,38	80,7 ± 36,9	0,12	17,4	0,28	51,7
penta-CB	0,230 ± 0,17	39,0 ± 37,51	0,100 ± 0,21	16,5 ± 48,9	0,20	33,6	0,02	0,03
esa-CB	1,11 ± 0,62	194 ± 108,0	1,78 ± 0,96	333 ± 208,1	1,03	182,3	1,54	272,8
epta-CB	0,980 ± 0,59	172 ± 111,4	1,11 ± 0,72	206 ± 12,1	0,86	154,4	0,93	159,1

Tabella 2. PCB totali, dioxin-like e classi di clorurazione: media ± DS, mediana, massimo e 95° percentile per i due gruppi di popolazione.

Table 2. Total PCBs, dioxin-like PCBs and PCB groups with different degree of chlorination: mean ± SD, median, maximum and 95° percentile for the two population groups of Novafeltria and Pavia.

anaerobiche ed è il maggiore processo di degradazione dei PCB nel suolo e nei sedimenti.<sup>7,8</sup>

La popolazione può essere esposta a PCB prevalentemente per ingestione e inalazione. Il contatto cutaneo è invece riconducibile a rari eventi accidentali. La dieta ha fornito e continua a fornire il maggior contributo al carico corporeo di PCB nella popolazione generale.

Una corretta valutazione della potenziale esposizione umana a PCB è condizionata dalla disponibilità di metodi di campionamento e analisi. Inoltre, la comparazione tra i vari studi è complicata dal fatto che i risultati sono riportati talvolta come *Aroclor*, tal altra come classi di clorurazione, più recentemente indicando i singoli congeneri. Storicamente, la quantificazione dei PCB totali come *Aroclor* è stata effettuata da moltissimi autori. Tuttavia, questa procedura non è corretta e rischia di condurre a una errata interpretazione dei dati dal punto di vista del loro significato tossicologico. Essa infatti presuppone che le distribuzioni dei congeneri nei campioni ambientali e nelle miscele commerciali siano simili. In realtà, la distribuzione dei congeneri negli *Aroclor* è alterata in modo significativo dai processi fisici, chimici e biologici che subiscono una volta rilasciati nell'ambiente, in particolare quando si verifica il fenomeno della biomagnificazione, cioè l'aumento della concentrazione lungo le catene alimentari.

Per valutare la contaminazione residua nella popolazione generale, l'analisi del siero è l'approccio più adeguato, anche per la relativa facilità con cui si reperiscono i campioni, rispetto, per esempio, all'analisi del tessuto grasso.

Con lo scopo di definire i valori di riferimento (VR) dei PCB è stato sviluppato e validato un metodo analitico adatto all'utilizzo routinario e caratterizzato da semplicità della fase preparativa e da costi contenuti, per la determinazione di 60 congeneri selezionati sulla base del loro significato ambientale e tossicologico. La precisione e l'accuratezza del metodo, così come la sensibilità e la specificità, sono risultate adeguate.<sup>9</sup>

Il limite di rilevabilità è stato fissato in 0,1 µg/l e il limite di quantificazione è risultato pari a 0,2 µg/l, confermando l'applicabilità della procedura alla definizione dei valori di rife-

rimiento, ovvero valori che caratterizzano la popolazione non esposta occupazionalmente e/o accidentalmente a PCB.

L'affidabilità del metodo è stata ulteriormente verificata analizzando in doppio alcuni campioni reali mediante spettrometria di massa a bassa e ad alta risoluzione e confrontando i risultati ottenuti.<sup>10</sup> Il metodo è stato quindi applicato alla definizione dei valori di riferimento per due gruppi di popolazione italiana.

#### Materiali e metodi

Poiché la contaminazione ambientale, e di conseguenza l'entità dell'esposizione della popolazione generale, è funzione di molteplici fattori legati anche all'area geografica, lo studio è stato condotto in due zone, rispettivamente del Centro e del Nord Italia. Un primo gruppo di popolazione è stato selezionato a Novafeltria, nelle Marche, dove sono stati raccolti 162 campioni di siero. Successivamente, è stato monitorato un secondo gruppo di popolazione, costituito da 164 soggetti residenti nella provincia di Pavia. La dimensione campionaria consente di ottenere stime con un errore massimo del 7,6% con un livello di confidenza del 95% per entrambi i gruppi.

Tutti i volontari che hanno preso parte allo studio hanno compilato, con l'aiuto di personale competente, un questionario molto dettagliato per la raccolta di variabili demografiche e voluttuarie (sesso, età, altezza e peso, storia personale e professionale, stile di vita, abitudini alimentari, consumo di alcool o medicine, abitudine al fumo). Per tutti i soggetti reclutati non è risultata nota alcuna situazione espositiva pregressa a PCB, né occupazionale né accidentale. Inoltre, sono stati effettuati esami clinici per la determinazione di trigliceridi, colesterolo totale, colesterolo ad alta densità (HDL), eritrociti, leucociti e per la valutazione della funzionalità epatica.

In tabella 1 sono riportate alcune caratteristiche demografiche e personali, per i due gruppi di popolazione.

Poiché i livelli serici di PCB sono influenzati dalle variazioni temporali del contenuto di lipidi nel siero, le concentra-

Massimo				95° Percentile			
Novafeltria		Pavia		Novafeltria		Pavia	
µg/l	ng/g lipidi	µg/l	ng/g lipidi	µg/l	ng/g lipidi	µg/l	ng/g lipidi
6,30	1.430	9,12	2.462	5,24	1.009	7,66	1.567
1,19	280	1,55	445	0,64	100	0,763	125
0,19	36,5	1,07	153	0,077	13,5	0,523	104
0,60	97,1	1,76	312	0,284	45,8	1,19	229
1,31	312	1,55	450	0,537	90,4	0,474	72,8
3,22	586	4,27	1.152	2,38	436	3,63	784
4,15	856	3,14	757	2,14	379	2,64	530

zioni sono calcolate sia in µg/l sia in ng/g lipidi. La distribuzione dei composti organocloruranti tra la frazione lipidica del siero e i lipidi presenti nei tessuti corporei è infatti in equilibrio dinamico. Un cambiamento del contenuto di lipidi nel sangue altera questo equilibrio e pertanto individui con un carico corporeo di PCB confrontabile, ma con diversi valori di lipidi nel siero, possono essere classificati erroneamente in categorie differenti. Per questo motivo, è importante effettuare l'analisi statistica dei dati sia prima sia dopo la correzione per il numero di lipidi, soprattutto quando si vogliono confrontare gruppi di popolazione differenti.

Novafeltria	variabili significative e <i>p</i> value delle variabili	R <sup>2</sup> dei modelli	<i>p</i> value dei modelli
ln (PCB totali)	età (<0,01)	0,37	(<0,01)
ln (PCB dioxin-like)	età (<0,01)	0,26	(<0,01)
ln (tri-CB)	BMI (<0,01), sesso (0,03), fumo (0,03)	0,16	(0,03)
ln (tetra-CB)	-	0,11	ns
ln (penta-CB)	età (<0,01), sesso (<0,01)	0,27	(<0,01)
ln (esa-CB)	età (<0,01)	0,40	(<0,01)
ln (epta-CB)	età (<0,01)	0,38	(<0,01)

Tabella 3. Variabili significative nei modelli di regressione, coefficienti di determinazione (R<sup>2</sup>) e livelli di significatività (*p*). Tutte le variabili sono espresse in log naturale (ln). I livelli di concentrazione sono stati calcolati in ng/g lipidi (ns= non significativo).

Table 3. Significant variables in regression models, coefficients of determination (R<sup>2</sup>) and significance levels (*p* values) for the relationship between explanatory and dependent variables. All variables are natural log-transformed. Concentration levels were calculated as ng/g lipids (ns= not significant).

Pavia	Variabili significative e <i>p</i> value delle variabili	R <sup>2</sup> dei modelli	<i>p</i> value dei modelli
ln (PCB totali)	età (<0,01)	0,37	(<0,01)
ln (PCB dioxin-like)	età (<0,01)	0,31	(<0,01)
ln (tri-CB)	BMI (<0,01), sesso (0,03), fumo (0,03)	0,06	ns
ln (tetra-CB)	-	0,04	ns
ln (penta-CB)	età (<0,01), sesso (<0,01)	0,21	(<0,01)
ln (esa-CB)	età (<0,01)	0,41	(<0,01)
ln (epta-CB)	età (<0,01)	0,47	(<0,01)

Tabella 4. Variabili significative nei modelli di regressione, coefficienti di determinazione (R<sup>2</sup>) e livelli di significatività (*p*). Tutte le variabili sono espresse in log naturale (ln). I livelli di concentrazione sono stati calcolati in ng/g lipidi (ns= non significativo).

Table 4. Significant variables in regression models, coefficients of determination (R<sup>2</sup>) and significance levels (*p* values) for the relationship between explanatory and dependent variables. All variables are natural log-transformed. Concentration levels were calculated as ng/g lipids (ns= not significant).

In accordo con quanto riportato nella letteratura specializzata,<sup>11</sup> i valori inferiori al limite di rilevabilità sono stati computati come la metà del limite stesso, cioè pari a 0,005 µg/l (0,01 ng/g lipidi).

I soggetti appartenenti a ciascuna delle due popolazioni sono stati suddivisi in gruppi in base alle abitudini (fumatori, non fumatori, ex fumatori), al consumo di alcool (astemi, consumo di vino, consumo di superalcolici), al consumo di pesce, formaggio, pollame (differenziando in funzione delle porzioni consumate a settimana) e al luogo di residenza (zona industriale o rurale).

Per ciascun congenere sono stati elaborati il numero di campioni con una concentrazione rilevabile, la media aritmetica e la deviazione standard, la media aritmetica riferita ai soli soggetti con un livello di PCB analiticamente rilevabile, la mediana, il valore massimo e il 95° percentile. Inoltre, data la sufficiente dimensione campionaria, è stata valutata la normalità della distribuzione dei valori dei singoli congeneri e delle classi di clorurazione, attraverso il test di Kolmogorov-Smirnov. La normalità è stata riverificata con lo stesso test dopo aver trasformato le variabili in scala logaritmica. Per verificare l'effetto delle variabili anagrafiche e relative allo stile di vita sui livelli di PCB in ambito multivariato, sono stati stimati i parametri e le misure di adattamento ai dati osservati di modelli lineari generalizzati in cui la variabile dipendente è il livello di PCB (totali e classi di clorurazione) e le covariate sono l'età e il BMI; i fattori sono invece le variabili categoriche di dieta, residenza, genere, assunzione di alcool e abitudini al fumo.

Per ciascun modello è stata valutata la bontà dell'accostamento ai dati osservati con l'indice R<sup>2</sup>, la normalità della distribuzione dei residui con il test di Kolmogorov-Smirnov e la omoschedasticità dei residui con il test di Levene. Infine, i coefficienti di correlazione parziale con l'età sono stati aggiustati per le variabili risultate significative dall'analisi multivariata.

Tutte le analisi statistiche sono state effettuate mediante il sistema SPSS® vers. 10.0 (Statistical Package for Social Sciences).

	$r_s$		p	
	Novafeltria	Pavia	Novafeltria	Pavia
PCB totali	0,59	0,51	<0,01	<0,001
PCB dioxin-like	0,42	0,41	<0,01	<0,001
tri-PCB	-0,06	-0,05	ns	ns
tetra-CB	0,15	0,06	ns	ns
penta-CB	0,36	0,10	<0,01	ns
esa-CB	0,60	0,57	<0,01	<0,001
epta-CB	0,63	0,63	<0,01	<0,001

Tabella 5. Coefficienti di correlazione di Spearman ( $r_s$ ) e valori di p relativi alla correlazione tra i livelli di PCB misurati nelle popolazioni di Novafeltria (NF) e Pavia (PV) e l'età dei soggetti monitorati (ns= non significativo).

Table 5. Correlation between serum PCB levels and age for the two population groups. Spearman non-parametric correlation coefficients ( $r_s$ ) and p values (significance of correlation, ns= not significant).

## Risultati

In figura 1 è riportato il numero di campioni positivi, in percentuale, per ogni congenere. Dei 60 congeneri ricercati, in ciascun gruppo di popolazione ne sono stati rilevati 31, presenti in concentrazioni superiori al limite di quantificazione del metodo in almeno un campione. La figura 2 riporta le concentrazioni medie di ciascun congenere nei due gruppi di popolazione.

Il livello medio di PCB totali è risultato di 2,48  $\mu\text{g/l}$  (429 ng/g lipidi) per la popolazione marchigiana e di 3,93  $\mu\text{g/l}$  (716 ng/g lipidi) per i soggetti lombardi. Per quanto riguarda la som-

ma dei congeneri *dioxin-like*, la concentrazione media è pressoché identica nei due gruppi, con valori di 0,243  $\mu\text{g/l}$  e 0,232  $\mu\text{g/l}$ , per Novafeltria e Pavia, rispettivamente. I dati (media  $\pm$  DS, mediana) per i PCB totali, i *dioxin-like* e i congeneri raggruppati per classi di clorurazione sono riassunti in tabella 2.

Tra i congeneri *dioxin-like*, otto sono stati rilevati nei campioni provenienti da Novafeltria, sette in quelli raccolti in provincia di Pavia.

Nel complesso, le differenze più significative tra i due gruppi si osservano per le classi di clorurazione più basse (tri, tetra e penta-CB), mentre per esa ed epta-CB si hanno valori simili.

I congeneri #153, #138 e #180 (secondo la numerazione di Ballschmiter e Zell) sono risultati presenti nel 100% dei campioni analizzati, in entrambi i gruppi di popolazione. Il congenere #170 era presente in tutti i campioni raccolti nella provincia di Pavia. In media questi quattro congeneri costituivano il 60% della quantità totale di PCB, con concentrazioni medie comprese tra 0,226  $\mu\text{g/l}$  e 0,904  $\mu\text{g/l}$ .

Questi risultati sono in accordo con i dati presenti in letteratura.<sup>12-14</sup>

Nel gruppo di Pavia, un soggetto maschio di 51 anni è stato trovato positivo per 24 congeneri, con un livello di PCB totali pari a 18,9  $\mu\text{g/l}$ . Questo non è stato incluso nella statistica, in quanto valori superiori a 10  $\mu\text{g/l}$  di PCB totali

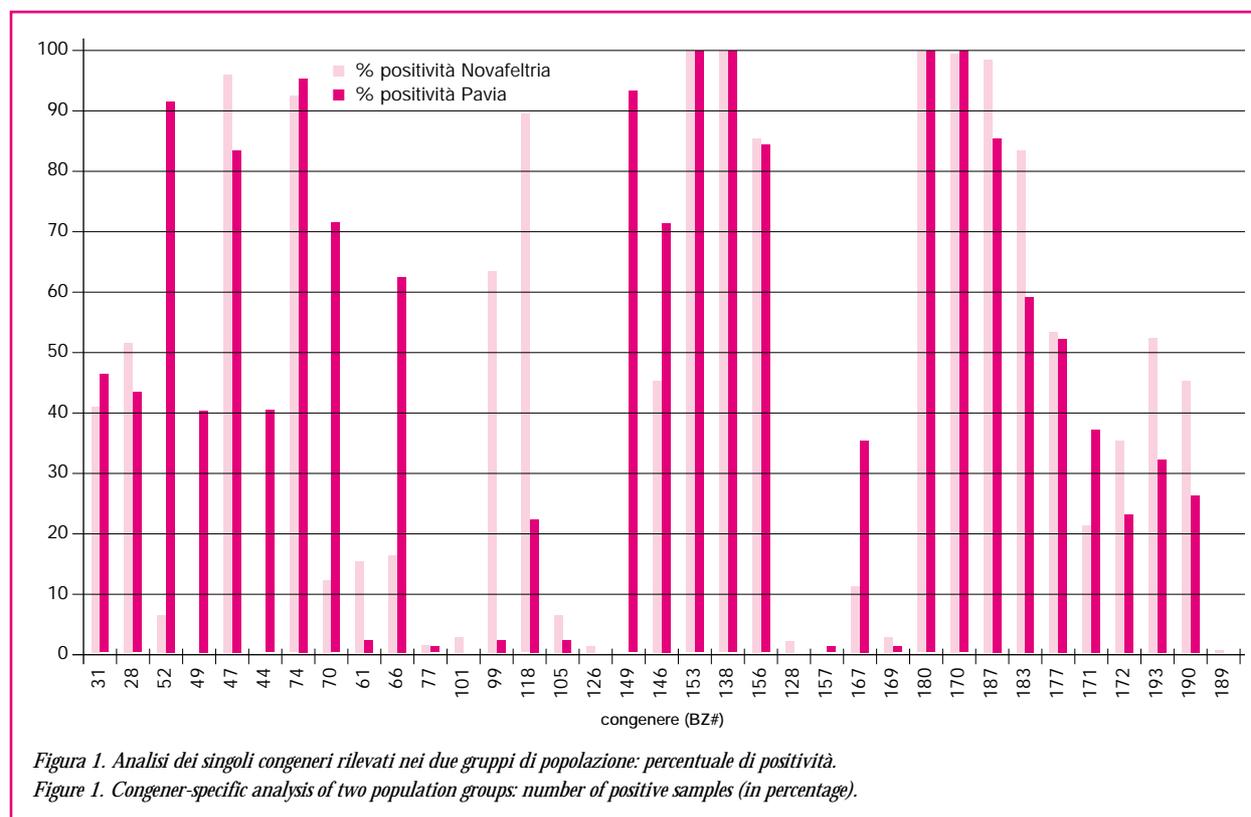


Figura 1. Analisi dei singoli congeneri rilevati nei due gruppi di popolazione: percentuale di positività.

Figure 1. Congener-specific analysis of two population groups: number of positive samples (in percentage).

non sono ritenuti caratteristici della popolazione generale italiana.

Dopo la trasformazione logaritmica, le variabili sono risultate normali. Su tutti i modelli di regressione stimati è stata verificata la normalità e la omoschedasticità dei residui. Per due variabili (tri-CB e tetra-CB), le diagnostiche sulla omoschedasticità della varianza dei residui sono risultate insoddisfacenti (Levene test  $p$  value <0,001) e sono state pertanto eliminate dall'analisi (anche l'indice di accostamento dei modelli risultava non significativamente diverso da zero).

I coefficienti di determinazione e i livelli di significatività relativi ai due gruppi di popolazione sono riportati nelle tabelle 3 e 4, per Novafeltria e Pavia, rispettivamente.

Per i due gruppi di popolazione monitorati nell'ambito del nostro studio, i coefficienti di correlazione di Spearman ( $r_s$ ) e i valori di probabilità  $p$  sono riportati nella tabella 5.

### Discussione e conclusioni

L'età, il luogo di residenza e il consumo di pesce o di altri alimenti di origine animale possono essere posti in relazione con i livelli serici di PCB a causa di esposizioni cumulative nei soggetti più anziani, o di esposizioni maggiori in determinate zone più contaminate, o ancora per l'ingestione di cibo contaminato. L'anamnesi medica è invece importante perché alcune malattie croniche possono alterare la tossico-

cinetica dei composti organoclorurati liposolubili, modificando i meccanismi di metabolizzazione e la distribuzione del grasso corporeo.

Sulla base di queste considerazioni è stata esaminata la correlazione dei livelli serici di PCB con alcune variabili ritenute significative.

Come risulta dai dati riportati in tabella 5, la correlazione con l'età è più elevata per il gruppo di Pavia. La differenza più rilevante tra le due popolazioni è quella relativa alla somma dei congeneri con cinque atomi di cloro: per il primo gruppo, la correlazione con l'età è significativa ( $p < 0,01$ ), mentre per il secondo i penta-CB non correlano con l'età.

Relativamente al gruppo di Novafeltria, se si correggono i dati per le altre variabili (BMI, sesso, abitudine al fumo, consumo di alcolici e dieta), si ha un incremento medio del livello di PCB totali pari al 3,03% (IC 95% 2,1-3,95) per ogni anno di età. La correlazione con l'età è significativa anche per la somma dei congeneri *dioxin-like*. L'analisi multivariata conferma l'aumento della correlazione con l'età con l'aumentare del grado di clorurazione (tabella 3).

Considerazioni analoghe possono essere fatte per il gruppo di Pavia (tabella 4). Si osserva infatti che i volontari più anziani hanno livelli più elevati di PCB nel siero e inoltre presentano un maggior numero di congeneri più persistenti (esa ed epta-clorurati). Questo è verosimilmente dovuto alla progressiva diminuzione della produzione e dell'uso dei PCB,

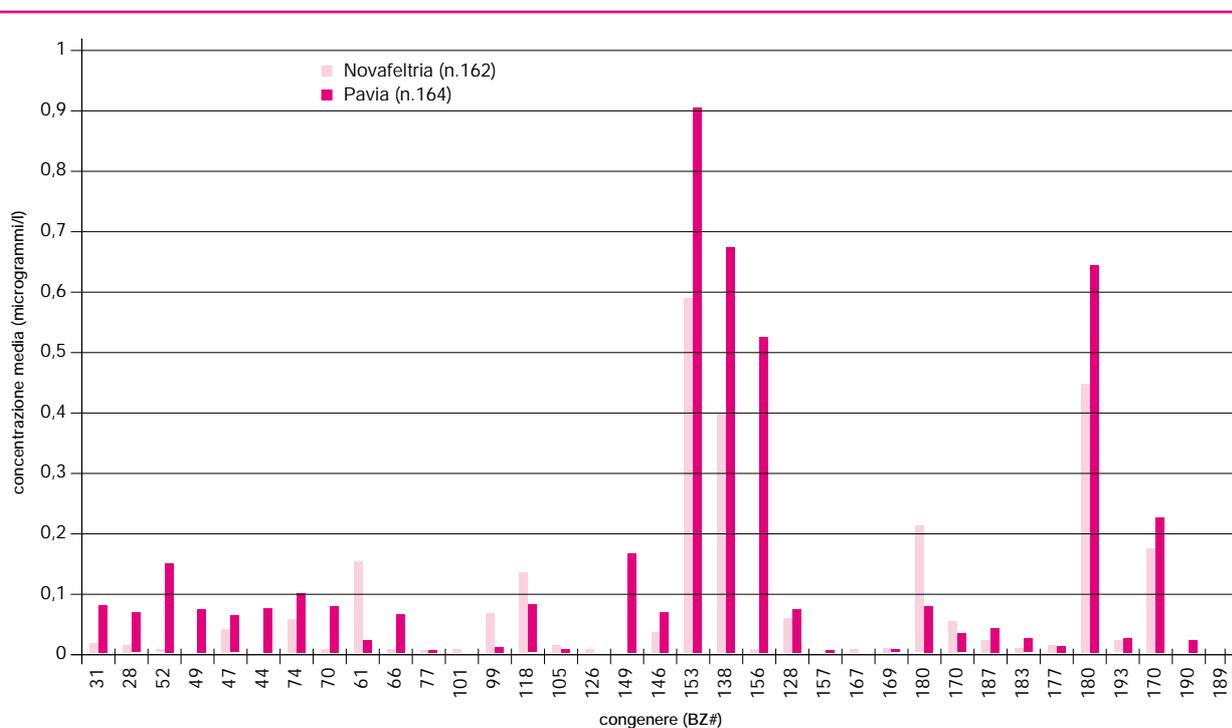


Figura 2. Concentrazione media ( $\mu\text{g/l}$ ) di 35 congeneri rilevati nei due gruppi di popolazione di Novafeltria e Pavia.

Figure 2. Mean concentration ( $\mu\text{g/l}$ ) of 35 congeners detected in serum samples from two population groups.

con conseguente calo dei livelli di PCB nell'ambiente e negli alimenti. Per queste ragioni, e a causa di un periodo di esposizione più breve, i soggetti più giovani presentano livelli serici di PCB più bassi.

In particolare, nel secondo gruppo, si ha una correlazione significativa per tutte le classi, con l'eccezione dei tri e dei tetra-clorurati. Per i PCB totali e gli esa-CB, si osserva anche una correlazione con il sesso.

Diversamente da quanto rilevato per la popolazione di Novafeltria, si evidenzia una correlazione significativa ( $p=0,015$ ) anche tra la somma dei congeneri *dioxin-like* e il consumo di pesce.

Le altre variabili (consumo di formaggio, pollame e alcool e il luogo di residenza) non sono risultate significative neanche per il gruppo di Pavia.

Sulla base dei risultati ottenuti, si è ritenuto opportuno approfondire l'analisi statistica, valutando la significatività della correlazione tra l'età e i singoli congeneri rilevati nella popolazione lombarda. In particolare, sono stati considerati quelli presenti in più della metà dei campioni di siero analizzati. Tra questi, i congeneri #52, #47, #70, #66 e #149 non hanno mostrato alcuna correlazione significativa con l'età.

L'interpretazione di questi risultati non è semplice, in quanto le informazioni disponibili sulla distribuzione dei PCB nell'uomo sono limitate. Tuttavia, sulla base dei dati sperimentali ottenuti per l'animale e delle proprietà chimico-fisiche dei PCB, è ragionevole attendersi che questi composti, lipofili, si accumulino preferibilmente nei tessuti grassi. La capacità con cui i PCB possono essere trattenuti in tali tessuti è strettamente legata al metabolismo e pertanto ci si aspetta che i PCB a più alto grado di clorurazione siano più persistenti. Inizialmente, però, a causa dell'elevata velocità di perfusione nel sangue, potrebbero accumularsi nel fegato.

Come è noto, l'escrezione dei PCB tal quali è estremamente limitata. La prima fase della biotrasformazione è la formazione di ossidi arilici mediata dal citocromo P-450. Gli ossidi arilici sono per lo più trasformati in composti aromatici idrossilati e, in misura minore, in metaboliti metilsolfonici. Inoltre, diversi congeneri possono dare luogo alla formazione dello stesso metabolita idrossilato.

La maggior parte dei metaboliti idrossilati dei PCB sono escreti nelle feci e/o nell'urina. Molti altri sono invece trattenuti nel corpo, o per l'elevata lipofilità o perché formano legami irreversibili con le proteine. Alcuni PCB idrossilati sono stati caratterizzati nel siero umano. Numerosi studi hanno tra l'altro mostrato che la velocità con cui i PCB vengono metabolizzati dipende dal numero e dalla posizione degli atomi di cloro sull'anello fenilico, oltre che dalla specie animale considerata.<sup>15</sup>

Questo significa che per alcuni congeneri non si osserva alcuna correlazione con l'età a causa delle trasformazioni metaboliche subite. Infatti, il profilo dei PCB nel siero umano, analizzato subito dopo l'esposizione, riflette la fonte espositiva,

mentre dopo 4-24 ore, esso è alterato dal metabolismo selettivo, dall'escrezione, e dalla deposizione.<sup>16</sup> Inoltre, un'analisi sommaria dei residui di PCB fornisce indicazioni sulla presenza di 4-6 congeneri predominanti nell'uomo come in altre specie animali, ma analisi più complete dimostrano che i profili variano in funzione delle diverse situazioni espositive.

Tra l'altro, il contributo della dieta al carico corporeo di PCB è stato valutato in uno studio di prossima pubblicazione, effettuato su campioni di alimenti prelevati presso la mensa universitaria di Pavia.<sup>17</sup> In funzione del consumo medio giornaliero di cibo e della concentrazione di PCB misurata nei singoli alimenti, è stato calcolato un apporto giornaliero medio di PCB totali (21 congeneri) pari a 0,26 µg/persona/giorno. Dallo studio emerge che gli alimenti che maggiormente contribuiscono all'assunzione di PCB totali nella dieta sono il pesce, la carne, i cereali e i vegetali. Inoltre, la distribuzione dei singoli congeneri, e di conseguenza il loro apporto, varia molto con il tipo di alimento. Per esempio, nei vegetali si riscontrano per lo più i congeneri a basso grado di clorurazione.

Pertanto, la valutazione dell'esposizione a PCB non può limitarsi alla determinazione dei PCB totali, ma richiede necessariamente l'identificazione dei singoli isomeri. L'obiettivo finale è infatti quello di associare eventuali effetti avversi al profilo di congeneri. Situazioni espositive atipiche (per esempio, consumo di alimenti contaminati) sono in questo modo facilmente rilevabili, consentendo anche di individuare l'origine della contaminazione.

Per tutte queste ragioni, è importante valutare i possibili effetti sulla salute umana derivanti dall'esposizione a PCB, effettuando l'analisi specifica dei singoli congeneri e, in prospettiva, dei PCB idrossilati ed eventualmente dei PCB metilsolfonati, anche grazie alla recente disponibilità commerciale degli standard.

Le fasi successive dello studio prevedono un ulteriore ampliamento della casistica e la valutazione dell'andamento temporale dei livelli serici di PCB in ciascun gruppo di popolazione. I valori di riferimento devono infatti essere il più possibile rappresentativi dell'intera popolazione italiana ed è quindi necessario analizzare un numero adeguato di campioni, raccolti in zone e in periodi differenti.

Conflitti di interesse: nessuno

## Bibliografia

1. Larsen B, Bowadt S, Tilio R. Congener specific analysis for 140 chlorobiphenyls in technical mixtures on five narrow-bore GC columns. *Int J Environ Anal Chem* 1992; 47: 47-68.
2. McFarland VA, Clarke JU. Environmental occurrence, abundance, and potential toxicity of polychlorinated biphenyl congeners: considerations for a congener-specific analysis. *Environ Health Perspect* 1989; 81: 225-239.
3. Van den Berg M, Bimbaum L, Bosveld ATC, et al. Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environ Health Perspect* 1998; 106(12): 775-792.

4. Giesy JP, Kannan K. Dioxin-like and non-dioxin-like toxic effects of polychlorinated biphenyls (PCBs): implications for risk assessment. *Crit Rev Toxicol* 1998; 28(6): 511-569.
5. Brubaker WW, Hites RA. Gas-phase oxidation products of biphenyl and polychlorinated biphenyls. *Environ Sci Technol* 1998; 32: 3913-18.
6. EPA. *Water-related environmental fate of 129 priority pollutants*, Vol. II. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, 40-2 to 43-10. EPA 440/4-79-029a, 1979.
7. Haluska L, Barancikova G, Balaz S, et al. Degradation of PCB in different soils by inoculated *alcaligenes xylooxidans*. *Sci Total Environ* 1995; 175(3): 275-285.
8. Abramowicz DA. Aerobic and anaerobic PCB biodegradation in the environment. *Environ Health Perspect Suppl* 1995; 103(5): 97-99.
9. Turci R, Angeleri F, Minoia C. A rapid screening method for routine congener-specific analysis of polychlorinated biphenyls in human serum by high-resolution gas chromatography with mass spectrometric detection. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2002; 16(20): 1957-1964.
10. Turci R, Mariani G, Marinaccio A, Balducci C, Bettinelli M, Fanelli R, Nichetti S, Minoia C. Critical evaluation of a high-throughput analytical method for polychlorinated biphenyls in human serum: which detector for the establishment of the reference values? *Rapid Commun Mass Spectrom* 2004; 18(4): 421-434.
11. U.S. EPA. 1998a. Guidance for Data Quality Assessment: Practical Methods for Data Analysis EPA QA/G9. QA-97 Version. Office of Research and Development. EPA/600/R-96/084.
12. Duarte-Davidson R, Wilson SC, Jones KC. PCBs and other organochlorines in human tissue samples from the Welsh population: I-adipose. *Environ Pollut* 1994; 84(1): 69-77.
13. Demers A, Ayotte P, Brisson J, Dodin S, Robert J, Dewailly E. Plasma concentrations of polychlorinated biphenyls and the risk of breast cancer: a congener-specific analysis. *Am J Epidemiol* 2002; 155(7): 629-635.
14. Costabeber I, Emanuelli T. Influence of alimentary habits, age and occupation on polychlorinated biphenyl levels in adipose tissue. *Food Chem Toxicol* 2003; 41(1):73-80.
15. Safe S, Bandiera S, Sawyer T, et al. PCBs: Structure-function relationships and mechanism of action. *Environ Health Perspect* 1985; 60: 47-56.
16. Hansen LG. *The ortho side of PCBs: Occurrence and disposition*. Boston, MA: Kluwer Academic Publishers, 1999.
17. Turci R, Turconi G, Comizzoli S, Roggi C, Minoia C. Assessment of dietary intake of polychlorinated biphenyls from a total diet study conducted in Pavia, Northern Italy. *Food Additives and Contaminants*, 2006, in press.