

Benzene accumulato negli organi umani

Determinazione con nuovi metodi analitici

di Luigi Campanella, Mauro Castaldi, Rossella Grossi, Giuseppe Pigliucci, Mario Vincenzo Russo

È stato sviluppato un metodo analitico rapido, semplice e sensibile per determinare il benzene nei tessuti umani. Il principio del metodo si basa sull'analisi, mediante gascromatografia-spettrometria di massa, operando in SIM, dello spazio di testa in condizioni statiche. Tale metodo è stato applicato all'analisi di diversi tessuti umani provenienti da persone diverse sottoposte ad intervento chirurgico per affezioni patologiche differenti. I risultati ottenuti dimostrano che la maggior parte dei tessuti esaminati sono in grado di accumulare il benzene

Il benzene, attualmente, è uno degli inquinanti ambientali più diffusi [1-3] e le cause di questo incremento sono da imputare all'uso della benzina verde, al fumo delle sigarette e all'emissioni degli impianti di riscaldamento domestico [4-6]. L'azione cancerogena del benzene è stata dimostrata da diversi ricercatori [7-11]; inoltre è statisticamente verificato l'incremento dei tumori di questi ultimi anni, in modo particolare dei tumori renali, con la maggiore concentrazione di benzene. L'interazione fra benzene ed organismo umano è stata fino ad oggi spiegata sulla base di un processo metabolico con formazione di acido trans-trans muconico. Infatti nei test di tossicologia più noti, viene evidenziato che il benzene introdotto nell'organismo umano, è eliminato per il 70% attraverso l'apparato respiratorio ed urinario, mentre il 30% è metabolizzato, velocemente, senza possibilità di accumulo da parte degli organi umani [12]. Abbiamo voluto verificare la correttezza di tale asserzione. A tutt'oggi, in letteratura, è stato riportato un solo lavoro in cui si parla della determinazione del benzene negli organi umani e purtroppo si tratta di un caso particolare, infatti gli organi analizzati sono stati prelevati da una persona deceduta per intossicazione da benzene [13]. In questo lavoro è stato messo a punto un metodo analitico per la determinazione del benzene presente negli organi umani che si basa sull'analisi dello spazio di testa mediante gas cromatografia-spettrometria di massa, GC-MS-SIM, monitorando lo ione singolo (*single ion monitoring*, SIM). Tale metodo è stato applicato all'analisi di diversi tessuti (renale, polmonare, epa-

tico, intestinale, adiposo, muscolare, testicolare, vescicale, uretrale e pelvico) che provengono da persone differenti (per età, sesso, luogo di abitazione, lavoro ed abitudini) che sono state sottoposte ad intervento chirurgico per patologie diverse, ivi compreso il tumore, o decedute.

Parte sperimentale

Materiali e Strumentazione

Solventi: benzene RPE-ACS (99.5%) e pentano RPE (99.0%) prodotti dalla Carlo Erba (Milano, Italia). Fiale da 2 ml, con ghiera di alluminio e setto in gomma rivestito in PTFE e forniti dalla Supelco (Milano, Italia). Bilancia analitica modello Mettler AE

Tabella A

Campione	Tessuto	Concentrazione Benzene		DSR
		aggiunta (ppm)	trovata (ppm)	
1	Rene	1,1	1,0	1,9
2	Muscolo	1,1	1,2	2,0
3	Fegato	1,1	1,2	2,1
4	Adiposo	1,1	1,0	2,0
5	Polmone	1,1	1,2	2,1
6	Rene	3,3	3,2	1,9
7	Muscolo	3,3	3,3	1,9
8	Fegato	3,3	3,1	2,1
9	Adiposo	3,3	3,2	2,0
10	Polmone	3,3	3,4	2,1

DSR determinata su cinque campioni per ogni tessuto.

Campioni di tessuto sano, non affetti da patologie tumorali ed esenti da benzene ai quali è stata aggiunta una quantità nota di benzene ed analizzati con il metodo proposto

Luigi Campanella, Mauro Castaldi, Rossella Grossi, Giuseppe Pigliucci, Dipartimento di Chimica, Università "La Sapienza" - Piazzale A. Moro, 5 - 00185 - Roma - luigi.campanella@uniroma1.it.
Mario Vincenzo Russo, Facoltà di Agraria (Distaam) - Università del Molise - Via De Sanctis - 86100 Campobasso - mvrusso@unimol.it.

240 e termostato Julabo UC 5B. Il benzene è determinato utilizzando un gas cromatografo modello 5890 serie II, collegato allo spettrometro di massa (Mass Selective Detector) modello 5970, interfacciato con un PC, "Chemstation 59940 A", che gestisce l'intero sistema, fornito dalla Hewlett-Packard (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA - USA). Nel gas cromatografo è installata una colonna capillare in silice fusa, fase stazionaria SE 54 (5% fenil-95% metilpolisilossano) con la parte terminale introdotta direttamente nella sorgente ionica dello spettrometro di massa ed avente diametro interno (D.I.) 200 μm , spessore della fase stazionaria (d_f) 0,25 μm e lunghezza 25 m, fornita dalla Chrompack (Chrompack Italia s.r.l., Cernusco, Mi-Italia). Le condizioni sperimentali, per l'analisi GC-MS, sono state le seguenti: isoterma della colonna capillare di 5 minuti alla temperatura iniziale di 40 °C, portata successivamente la temperatura di 180 °C, programmata a 10 °C min^{-1} . La temperatura del *transfer line* è mantenuta a 220 °C, quella dell'iniettore a 230°C. L'iniettore opera con la valvola paralizzatrice dello spillo chiusa per 30 s mentre il gas di trasporto impiegato, l'elio, è mantenuto alla pressione di 0,3 kPa. L'analisi del benzene è ottenuta operando in *Scan* (intervallo delle masse 45-200 u.m.a a 70 eV) o monitorando lo ione singolo, con massa, $m/z = 78$.

Origine e conservazione dei tessuti

I campioni di tessuto umano provengono dalle camere operatorie e dall'obitorio del Policlinico Umberto 1° dell'Università "La Sapienza" di Roma. Questi dopo il prelievo sono stati conservati in una provetta di vetro chiusa ermeticamente, in atmosfera di azoto e in freezer alla temperatura di -20 °C.

Preparazione del campione

Prima di procedere all'analisi gas cromatografica, 60-70 mg di tessuto umano, introdotti in una fiala, sono sottoposti ad un leggero flusso di azoto per 2 minuti, chiusi ermeticamente con il tappo a ghiera e conservati in freezer (-20 °C). La conservazione del tessuto in atmosfera di azoto è stata necessaria per impedire l'ossidazione del benzene da parte degli enzimi perossidasi e solfatasi [14].

Preparazione della soluzione standard di benzene

Con una microsiringa da liquidi si preleva un volume noto di benzene puro, lo si introduce in un matraccio tarato contenente 10 mL di pentano e si agita energicamente per alcuni minuti. La concentrazione del benzene è di $1,1 \times 10^{-4}$ g mL^{-1} . La soluzione, conservata alla temperatura di 4 °C, resta inalterata per un lungo periodo, circa 60 giorni.

Analisi quantitativa

La concentrazione del benzene nei campioni di tessuto, è determinata con il metodo delle aggiunte standard secondo questo procedimento: la fiala che contiene il campione di tessuto pesato, è stata per 30 minuti alla temperatura di 80 °C; quindi, con una microsiringa da gas, si prelevano 3 μL di fase vapore analizzati in GC-MS-SIM e in equilibrio termodinamico con la fase solida. Dopo questo primo prelievo, nella stessa fiala viene aggiunto, con una microsiringa, 1 μL di soluzione standard di benzene ($1,1 \times 10^{-4}$ g mL^{-1}) e, dopo termostatazione dello stesso si prelevano altri 3 μL di fase vapore poi analizzati in GC-MS-SIM utilizzando le stesse condizioni sperimentali del primo prelievo. La differenza tra le aree dei picchi ottenute prima e dopo l'aggiunta standard, è stata utilizzata per determinare, con una semplice proporzione, la concentra-

Tabella B - Correlazioni tra presenza del benzene nel tessuto renale e parametri soggettivi

	N° persone analizzate	N° persone con benzene	% positività
<i>Residenza</i>			
Città	23	14	61
Campagna	18	6	33
<i>Abitudine al fumo</i>			
Fumatori	17	11	65
Non fumatori	24	9	37
<i>Lavoro</i>			
Lavoratori	17	8	47
Non lavoratori	23	12	52
<i>Patologia</i>			
Deceduto, operato per tumore	22	16	73
Deceduto, operato per altre cause	19	4	21

Tabella C - Correlazioni tra presenza del benzene nel tessuto renale tumorale e condizione di fumatori e non

<i>Fumatori</i>	R_k/R_s	0,42-0,89-1,25-1,51-3,63
	$*R_k/R_s$	1,62
	Intervallo R_k/R_s	0,42-3,63
	Conc. Media R_k	1,71
	Conc. Media R_s	1,93
<i>Non fumatori</i>	R_k/R_s	1,12-1,50-2,76-2,91-3,28-9,87
	$*R_k/R_s$	3,67
	Intervallo R_k/R_s	1,12-9,87
	Conc. media R_k	2,89
	Conc. media R_s	1,01

Tabella D - Correlazioni tra presenza del benzene nel tessuto renale e luogo di residenti in città o campagna

<i>Residenti in città</i>	R_k/R_s	0,42-0,89-1,26-1,60-2,91-3,28-3,63-9,87
	$*R_k/R_s$	2,96
	Intervallo R_k/R_s	0,42-9,87
	Conc. media R_k	3,33
	Conc. media R_s	1,80
<i>Residenti in campagna</i>	R_k/R_s	1,12-1,51-2,76
	$*R_k/R_s$	1,80
	Intervallo R_k/R_s	0,12-2,76
	Conc. media R_k	0,71
	Conc. media R_s	0,57

Tabella E - Correlazioni tra presenza del benzene nel tessuto renale e condizione lavorativa

<i>Lavoratori</i>	R_k/R_s	0,42-0,89-1,26
	$*R_k/R_s$	0,85
	Intervallo R_k/R_s	0,42-1,26
	Conc. media R_k	1,85
	Conc. media R_s	2,74
<i>Non lavoratori</i>	R_k/R_s	1,12-1,50-1,61-2,76-2,91-3,28-3,62-9,87
	$*R_k/R_s$	3,31
	Intervallo R_k/R_s	1,12-9,87
	Conc. media R_k	2,65
	Conc. media R_s	0,93

Tabella F - Correlazioni tra presenza del benzene nel tessuto epatico e parametri soggettivi

	N° persone analizzate	N° persone con benzene	% positività
Residenza			
Città	16	7	44
Campagna	7	2	29
Abitudine al Fumo			
Fumatori	16	8	50
Non fumatori	7	1	14
Lavoro			
Lavoratori	12	7	56
Non lavoratori	11	2	18
Patologia			
Deceduto, operato per tumore	4	4	100
Deceduto, operato per cause div.	19	5	26

Tabella G - Quantità media di benzene presente nel tessuto epatico degli individui esaminati

	Concentrazione media (ppm)	Intervallo concentrazione (ppm)
Residenza		
Città	1,80	0,55-4,70
Campagna	0,60	21x10 ⁻³ -1,20
Abitudine al fumo		
Fumatori	1,68	21x10 ⁻³ -4,70
Non fumatori	0,89	0,87-0,91
Lavoro		
Lavoratori	2,03	0,55-4,70
Non lavoratori	0,44	21x10 ⁻³ -0,89
Patologia		
Deceduto, operato per tumore	1,99	21x10 ⁻³ -4,70
Deceduto, operato per cause div.	1,09	0,89-1,20

Tabella H - Correlazioni tra presenza del benzene nel tessuto polmonare e parametri soggettivi

	N° persone analizzate	N° persone con benzene	% positività
Residenza			
Città	7	2	29
Campagna	4	0	0
Abitudine al fumo			
Fumatori	6	2	33
Non fumatori	5	0	0
Lavoro			
Lavoratori	3	2	67
Non lavoratori	8	0	0
Patologia			
Deceduto, operato per tumore	nd	nd	nd
Deceduto, operato per cause div.	11	2	18

zione del benzene nel campione. Nell'eventualità che nelle condizioni operative descritte il picco del benzene non venisse evidenziato, si effettua un prelievo di 30 µL di fase vapore già analizzato in GC-MS-SIM nelle stesse condizioni sperimentali descritte. In questo caso la determinazione quantitativa del benzene viene eseguita su un nuovo campione di tes-

suto, di peso uguale al precedente, a cui è stato aggiunto 1 µL di soluzione standard di benzene. Anche in questo caso la differenza tra le aree dei picchi, ottenute prima e dopo l'aggiunta standard, è stata impiegata per determinare la concentrazione incognita di benzene con una semplice proporzione.

Risultati e discussione

Nella Tabella A sono riportati i valori della concentrazione di benzene e la deviazione standard relativa (DSR), ottenuti su diversi tessuti umani, esenti da benzene, ai quali è stata aggiunta una quantità nota di questo ed analizzati con il metodo proposto in questo lavoro. Si può osservare che la DSR è molto contenuta; infatti, essa è compresa in un intervallo molto ristretto, 1,9-2,1%, e non sembra dipendere dal tipo di tessuto umano analizzato. Occorre, in ogni caso, tener presente che analizzando 3 µL, di fase vapore il limite di rivelabilità del benzene è di 0,12 ppm (µg g⁻¹) con una DSR del 2,5% (risultato ottenuto analizzando 10 campioni) e che tale prelievo determina un decremento dello 0,15% della concentrazione del benzene nel campione analizzato rispetto alla concentrazione iniziale, una quantità molto piccola e quindi trascurabile dal punto di vista pratico. Nel prelievo di 30 µL di fase vapore, il limite di rivelabilità del benzene risulta molto più basso, infatti è di 21 ppb (ng g⁻¹) con una DSR del 13% e del 14% rispettivamente per il tessuto del rene e del fegato. Questi valori sono stati ottenuti analizzando cinque campioni di tessuto renale e di fegato prima esenti da benzene e a cui poi è stata aggiunta una quantità nota. Inoltre, il simbolo *nr* (non rivelato) che è stato riportato nelle tabelle deve essere inteso non come assenza di benzene ma come quantità inferiore ai 21 ppb, che è il limite minimo rivelabile. Questo valore è stato determinato tenendo presente la definizione data da Knoll's [15]: "la concentrazione di analita che produce un picco cromatografico uguale a tre volte la deviazione standard del segnale del fondo". I risultati che sono stati riportati nelle Tabelle [1-11] si riferiscono complessivamente all'analisi di 134 tessuti forniti da 74 individui, con patologie diverse. I simboli *K* ed *S* indicano, rispettivamente, il tessuto tumorale e quello sano. Le concentrazioni di benzene determinate nei diversi tessuti analizzati, sono state riportate e divise tenendo conto di alcuni parametri, come la residenza degli individui, in centri urbani (città di Roma) o in zone rurali (campagna della provincia di Roma), del tipo di tessuto studiato, dell'età, del tipo di lavoro svolto, del motivo dell'intervento chirurgico, della causa di decesso, dell'abitudine o meno al fumo di sigaretta e del sesso (*M=maschio* e *F=femmina*). Molti di questi parametri, puramente soggettivi, sono stati riportati nella speranza di poter trovare delle correlazioni significative tra l'insorgenza della patologia tumorale e la presenza del benzene. Dai risultati riportati nelle Tabelle [1-11], risulta che su 134 campioni di tessuto analizzati solo 53 sono risultati positivi, per quanto concerne la presenza del benzene, con una percentuale del 39,6% e con una concentrazione compresa nell'intervallo fra 21 ppb e 24 ppm. Se, invece, ci riferiamo ai 74 individui, dai quali sono stati prelevati i 134 campioni di tessuto, la positività per la presenza di benzene raggiunge il 71,6%, un valore elevato. I risultati ottenuti in questa ricerca, così come sono stati tabulati, purtroppo, non evidenziano correlazioni significative ed è noto che gli individui residenti in città e i lavoratori sono i più esposti all'inquinamento, in particolare a quello automobilistico, rispetto a coloro che risiedono in zone rurali o ai

Tabella 1 - Benzene in campioni di tessuto renale di individui residenti in centri urbani con differenti patologie

Campione	Età (sesso)	Lavoro	Sigarette/die	Patologia	Tessuto	Benzene (ppm)	DSR
1	67 (M)	Pensionato	Non fumatore	Tumore renale	Rene K/S	0,43/nr	1,9/-
2	66 (M)	Impiegato	10	Tumore renale	Rene K/S	1,47/1,16	2,0/1,7
3	70 (F)	Casalinga	Non fumatrice	Tumore renale	Rene K/S	4,69/1,61	1,9/2,1
4	72 (F)	Pensionata	Non fumatrice	Tumore renale	Rene K/S	nr/nr	-/-
5	31 (F)	Impiegata	15	Tumore renale	Rene K/S	nr/nr	-/-
6	70 (M)	Pensionato	10	Tumore renale	Rene K/S	3,53/1,00	2,0/2,0
7	45 (M)	Impiegato	15	Tumore renale	Rene K/S	1,96/2,05	2,0/2,0
8	73 (F)	Pensionata	Non fumatrice	Tumore renale	Rene K/S	2,20/0,67	1,8/1,9
9	65 (F)	Pensionata	Non fumatrice	Tumore renale	Rene K/S	11,65/1,18	2,2/2,0
10	55 (M)	Impiegato	10	Tumore renale	Rene K/S	-/24,37	-/2,2
11	70 (M)	Pensionato	Non fumatore	Ictus	Rene K/S	nr	-/-
12	56 (M)	Impiegato	Non fumatore	Ictus	Rene K/S	nr	-/-
13	56 (F)	Impiegata	Non fumatrice	Infarto	Rene K/S	nr	-/-
14	45 (M)	Impiegato	10	Ictus	Rene K/S	nr	-/-
15	68 (F)	Pensionata	Non fumatrice	Calcolosi renale	Rene K/S	nr	-/-
16	53 (M)	Impiegato	10	Infarto	Rene S	1,83	1,8
17	61 (M)	Operat. ecologico	10	Tumore renale	Rene K/S	2,13/5,02	1,9/1,8
18	76 (M)	Pensionato	Non fumatore	Tumore renale	Rene K/S	nr/nr	-/-
19	66 (M)	Pensionato	15	Ictus	Rene S	nr	-
20	54 (M)	Operaio	5	Tumore renale	Rene K/S	-/2,30	-/1,8
21	53 (M)	Impiegato	Non fumatore	Ictus	Rene K/S	-/1,18	-/1,9
22	71 (M)	Pensionato	Non fumatore	Tumore renale	Rene K/S	1,95/1,30	1,9/2,0
23	76 (M)	Pensionato	10	Infarto	Rene S	1,75	1,8

DSR determinata su tre campioni.

Tabella 2 - Benzene in campioni di tessuto renale di individui residenti in zone rurali con differenti patologie

Campione	Età (sesso)	Lavoro	Sigarette/die	Patologia	Tessuto	Benzene (ppm)	DSR
1	65 (M)	Pensionato	Non fumatore	Tumore renale	Rene K/S	1,23/1,10	1,9/2,0
2	56 (F)	Casalinga	5	Tumore renale	Rene K/S	0,75/nr	2,5/-
3	51 (F)	Impiegata	Non fumatrice	Tumore renale	Rene K/S	nr/nr	-/-
4	43 (M)	Infermiere	10	Tumore renale	Rene K/S	nr/nr	-/-
5	64 (M)	Agricoltore	Non fumatore	Tumore renale	Rene K/S	nr/nr	-/-
6	72 (M)	Pensionato	Non fumatore	Tumore renale	Rene K/S	0,58/0,21	2,3/2,5
7	69 (M)	Pensionato	10	Tumore renale	Rene K/S	0,62/0,41	2,0/2,2
8	75 (M)	Pensionato	Non fumatore	Tumore renale	Rene K/S	0,38/nr	2,1/-
9	59 (M)	Impiegato	5	Infarto	Rene S	0,39	2,3
10	45 (F)	Casalinga	Non fumatrice	Angiolipoma	Rene S	nr	-/-
11	53 (F)	Casalinga	Non fumatrice	Infarto	Rene S	nr	-/-
12	70 (F)	Pensionata	Non fumatrice	Ictus	Rene S	nr	-/-
13	52 (F)	Impiegata	Non fumatrice	Infarto	Rene S	nr	-/-
14	55 (M)	Agricoltore	Non fumatore	Infarto	Rene S	nr	-/-
15	70 (M)	Pensionato	Non fumatore	Infarto	Rene S	nr	-/-
16	68 (F)	Pensionata	Non fumatrice	Ictus	Rene S	nr	-/-
17	50 (M)	Impiegato	10	Ictus	Rene S	nr	-
18	69 (M)	Parrucchiere	5	Ictus	Rene S	nr	-

DSR determinata su tre campioni.

non lavoratori (casalinghe e pensionati sono stati considerati dei non lavoratori) in quanto meno esposti all'inquinamento ambientale. È doveroso, a questo punto, evidenziare alcuni fatti importanti. Le persone che, abitualmente, vivono in città presentano una concentrazione media di benzene nel sangue di 300 ng L⁻¹ contro i 200 ng L⁻¹ di coloro che vivono in zone rurali, con un rapporto pari a 1,5 [16]. Per i fumatori ricordiamo che ogni sigaretta contiene da 35 a 57 µg di benzene e

recenti studi hanno evidenziato concentrazioni di benzene di 547 ng L⁻¹ nel sangue dei fumatori contro i 190 ng L⁻¹ dei non fumatori, corrispondente ad un rapporto di circa 3 [17]. Risulta evidente, quindi, che gli individui che fumano e che risiedono abitualmente in città assumono una quantità di benzene molto più elevata, di 5-10 volte, rispetto ai non fumatori e a coloro che vivono in campagna [18]. Anche rispetto al sesso degli individui, in uno studio recente è stato evidenziato che nelle

Tabella 3 - Benzene in campioni di tessuto epatico di individui residenti in centri urbani con differenti patologie

Campioni	Età (sesso)	Lavoro	Sigarette/die	Patologia	Tessuto	Benzene (ppm)	DSR
1	62 (M)	Falegname	5	Ictus	Fegato	0,55	1,8
2	65 (F)	Casalinga	Non fumatrice	Ictus	Fegato	0,89	2,1
3	56 (M)	Garagista	20	Infarto	Fegato	4,7	1,7
4	75 (F)	Pensionata	Non fumatrice	Ictus	Fegato	nr	-
5	70 (M)	Pensionato	10	Ictus	Fegato	nr	-
6	67 (M)	Commerciante	10	Ictus	Fegato	nr	-
7	67 (M)	Autista	15	Infarto	Fegato	3,80	2,1
8	83 (F)	Casalinga	Non fumatrice	Ictus	Fegato	nr	-
9	63 (F)	Pensionata	5	Infarto	Fegato	nr	-
10	70 (F)	Pensionata	Non fumatrice	Pancreatite	Fegato	nr	-
11	61 (M)	Portiere	10	Infarto	Fegato	nr	-
12	72 (M)	Pensionato	Non fumatore	Infarto	Fegato	nr	-
13	70 (M)	Commerciante	10	Ictus	Fegato	nr	-
14	53 (M)	Impiegato	15	Tumore fegato	Fegato	0,89	2,1
15	49 (M)	Impiegato	10	Tumore fegato	Fegato	1,12	1,8
16	45 (M)	Impiegato	5	Tumore fegato	Fegato	1,15	1,8

DSR determinata su tre campioni.

donne, in ragione di una capacità metabolica superiore di circa il 25%, la quantità di benzene risulta più bassa rispetto a quella degli uomini [19]. Le concentrazioni di benzene da noi trovate e riportate in questo lavoro non confermano questa differenza in nessun tessuto. Da quanto premesso e per una più agevole interpretazione dei risultati ottenuti, sono stati tabulati i valori, riferiti alla concentrazione del benzene nei tessuti analizzati, tenendo conto anche dei parametri soggettivi menzionati in precedenza.

Analizzando i dati riportati nella Tabella B, si evidenzia che gli individui residenti in città, fumatori e pazienti deceduti per patologie tumorali, sono coloro ai quali è stato riscontrato un maggiore accumulo di benzene, con una percentuale, rispettivamente, del 61%, del 65% e del 73%, rispetto al 33%, al 37% e al 21% degli abitanti in campagna, dei non fumatori e di coloro che sono stati operati o deceduti per altre patologie, mentre per i lavoratori e non, è risultato difficile riscontrare correlazioni significative con l'esame del solo tessuto renale. Per gli individui che hanno fornito il tessuto renale tumorale e parte sana dello stesso organo sono state ricavate le correlazioni seguenti:

- R_k/R_s indice del rapporto tra la concentrazione di benzene nel tessuto renale tumorale e la concentrazione presente nella parte sana, calcolato per ogni singolo individuo;
- $*R_k/R_s$ indice ricavato dalla media dei rapporti.

I valori riportati nelle Tabelle C, D, E evidenziano che nel tessuto renale tumorale la concentrazione media di benzene è più alta rispetto al tessuto sano, infatti la maggior parte dei valori dell'indice (R_k/R_s) risulta >1 . Se consideriamo il luogo di residenza, invece, si può notare che le persone che risiedono in città presentano, rispetto a quelli che risiedono in campagna, una concentrazione media di benzene, nel tessuto renale tumorale e in quello sano, più elevata di circa 4 volte.

Nelle Tabelle 3 e 4, dove sono stati riportati i valori riferiti all'analisi del tessuto epatico, si evidenziano due concentrazioni di benzene, precisamente di 3,8 e 4,7 ppm, molto alte rispetto alla concentrazione media di benzene riscontrata nel tessuto epatico, che risulta pari a 1,6 ppm. Questi valori sono stati de-

terminati nei tessuti di due persone, che svolgevano rispettivamente la professione di autista e di garagista ed entrambi fumatori. Questo dato e i valori riportati nelle Tabelle F e G, quindi, sottolineano la notevole correlazione esistente tra la presenza del benzene e l'attività svolta da ogni individuo. Inoltre nella Tabella G si può notare che la concentrazione del benzene per i residenti in città risulta più elevata di circa 3 volte rispetto al valore trovato nei residenti in campagna, per i fumatori di circa 2 volte rispetto ai non fumatori, mentre per i lavoratori tale valore risulta più alto di circa 5 volte rispetto ai non lavoratori. In Tabella 5 sono stati riportati i valori di benzene riscontrati nel tessuto polmonare di individui residenti in centri urbani, mentre non sono stati riportati i valori ottenuti su quattro campioni di tessuto polmonare appartenenti ad individui residenti in zone rurali poiché non è stata riscontrata la presenza del benzene. Risulta evidente, (Tabella H), che su 11 individui analizzati solo 2 due sono risultati positivi, con una bassa concentrazione di benzene; si tratta per di più di due persone che abitano in città e che sono fumatori e lavoratori. Nella Tabella 6 sono state riportate le concentrazioni del benzene riscontrate nel tessuto intestinale di individui residenti in centri urbani in cui si evidenzia che solo un caso è risultato positivo con una concentrazione pari a 0,39 ppm. Inoltre sono stati analizzati tre campioni di tessuto intestinale di individui residenti in zone rurali sui quali non è stata riscontrata la presenza di benzene. I risultati ottenuti sul tessuto adiposo sono stati riportati in Tabella 7 e 8. La correlazione che se ne ricava è che su 6 individui operati per patologie tumorali solo 4 hanno dato un riscontro positivo, con una concentrazione di benzene compresa tra 1,4 e 3,6 ppm. Anche per il tessuto muscolare, come per il tessuto adiposo si può osservare dai risultati, riportati nelle Tabelle 9 e 10, che su 5 persone operate per patologie tumorali 4 sono risultate positive con una concentrazione di benzene compresa tra 0,14 e 12,6 ppm. L'analisi sul tessuto vescicale, uretale e pelvico di tre individui residenti in centri urbani ed affetti da patologia tumorale non ha dato alcun risultato positivo per quanto riguarda la presenza del benzene. Risulta evidente, comunque, sia in questo caso come negli altri esempi, che la concentrazione del benzene potrebbe risultare

Tabella 4 - Benzene in campioni di tessuto epatico di individui residenti in zone rurali con differenti patologie

Campioni	Età (sesso)	Lavoro	Sigarette/die	Patologia	Tessuto	Benzene (ppm)	DSR
1	69 (M)	Parrucchiere	5	Ictus	Fegato	nr	-
2	66 (M)	Elettricista	10	Infarto	Fegato	nr	-
3	50 (M)	Impiegato	5	Tumore fegato	Fegato K/S	0,14/1,20	2,0/1,9
4	82 (M)	Pensionato	Non fumatore	Ictus	Fegato	nr	-
5	82 (M)	Pensionato	5	Edema Polmonare	Fegato	nr	-
6	73 (M)	Pensionato	10	Infarto	Fegato	21x10 ⁻³	14
7	71 (M)	Pensionato	Non fumatore	Ictus	Fegato	nr	-

DSR determinata su tre campioni.

Tabella 5 - Benzene in campioni di tessuto polmonare di individui residenti in centri urbani affetti da patologie diverse

Campioni	Età (sesso)	Lavoro	Sigarette/die	Patologia	Tessuto	Benzene (ppm)	DSR
1	83 (F)	Casalinga	Non fumatrice	Ictus	Polmone	nr	-
2	63 (F)	Pensionata	5	Infarto	Polmone	nr	-
3	70 (F)	Pensionata	Non fumatrice	Pancreatite	Polmone	nr	-
4	61 (M)	Portiere	10	Infarto	Polmone	nr	-
5	72 (M)	Pensionato	Non fumatore	Infarto	Polmone	nr	-
6	70 (M)	Commerciante	10	Ictus	Polmone	0,13	2,3
7	52 (F)	Impiegata	10	Infarto	Polmone	0,85	2,1

DSR determinata su tre campioni.

Tabella 6 - Benzene in campioni di tessuto intestinale di individui residenti in centri urbani affetti da patologie diverse

Campioni	Età (sesso)	Lavoro	Sigarette/ die	Patologia	Tessuto	Benzene (ppm)	DSR
1	83 (F)	Casalinga	Non fumatrice	Ictus	Intestino	nr	-
2	63 (F)	Pensionata	5	Infarto	Intestino	nr	-
3	70 (F)	Pensionata	Non fumatrice	Pancreatite	Intestino	nr	-
4	61 (M)	Portiere	10	Infarto	Intestino	nr	-
5	72 (M)	Pensionato	Non fumatore	Infarto	Intestino	0,39	2,0
6	65 (M)	Impiegato	5	Tumore intestino	Intestino	nr	-

DSR determinata su tre campioni.

Tabella 7 - Benzene in campioni di tessuto adiposo di individui residenti in centri urbani affetti da patologie diverse

Campioni	Età (sesso)	Lavoro	Sigarette/die	Patologia	Tessuto	Benzene (ppm)	DSR
1	76 (M)	Pensionato	Non fumatore	Tumore rene	Adiposo	3,59	1,8
2	65 (M)	Impiegato	5	Tumore intestino	Adiposo	nr	-
3	66 (M)	Pensionato	15	Ictus	Adiposo	nr	-

DSR determinata su tre campioni.

Tabella 8 - Benzene in campioni di tessuto adiposo di individui residenti in zone rurali affetti da patologie diverse

Campioni	Età (sesso)	Lavoro	Sigarette/die	Patologia	Tessuto	Benzene (ppm)	DSR
1	66 (M)	Ufficiale pensione	Non fumatore	Tumore rene	Adiposo	2,14	1,9
2	58 (F)	Casalinga	5	Tumore rene	Adiposo	2,96	1,8
3	51 (F)	Impiegata	Non fumatrice	Tumore rene	Adiposo	1,37	2,2
4	43 (M)	Infermiere	10	Tumore rene	Adiposo	nr	-

DSR determinata su tre campioni.

Tabella 9 - Benzene in campioni di tessuto muscolare di individui residenti in centri urbani affetti da patologie diverse

Campioni	Età (sesso)	Lavoro	Sigarette/die	Patologia	Tessuto	Benzene (ppm)	DSR
1	76 (M)	Pensionato	Non fumatore	Tumore rene	Muscolo	1,51	2,0
2	65 (M)	Impiegato	5	Tumore intestino	Muscolo	nr	-
3	66 (M)	Pensionato	15	Ictus	Muscolo	nr	-

DSR determinata su tre campioni.

Tabella 10 - Benzene in campioni di tessuto muscolare di individui residenti in zone rurali affetti da patologie diverse

Campioni	Età (sesso)	Lavoro	Sigarette/die	Patologia	Tessuto	Benzene (ppm)	DSR
1	65 (M)	Ufficiale pensione	Non fumatore	Tumore rene	Muscolo	0,14	2,3
2	58 (F)	Casalinga	5	Tumore rene	Muscolo	12,56	1,7
3	51 (F)	Impiegata	Non fumatrice	Tumore rene	Muscolo	2,79	1,9

DSR determinata su tre campioni.

Tabella 11 - Benzene in campioni di tessuto testicolare di individui residenti in centri urbani affetti da patologie diverse

Campioni	Età (sesso)	Lavoro	Sigarette/ die	Patologia	Tessuto	Benzene (ppm)	DSR
1	25 (M)	Studente	10	Tumore testicolare	Testicolo K/S	2,68/3,69	2,0/1,9
2	18 (M)	Studente	Non fumatore	Tumore testicolare	Testicolo S	0,94	2,1

DSR determinata su tre campioni.

inferiore al limite minimo di rivelabilità (<21 ppb). I risultati ottenuti sul tessuto testicolare sono stati riportati nella Tabella 11 e si evidenzia che questi sono riferiti a due individui di giovane età (16 e 25 anni), gli unici presenti nei campioni investigati. Inoltre, il fatto di aver riscontrato del benzene nel tessuto testicolare, mette in risalto che la mancanza di tale idrocarburo nel tessuto vescicale ed uretale non può essere imputato al fatto che queste zone risultano di continuo dilavate dai liquidi provenienti da processi metabolici. Oltre ai campioni fin qui menzionati sono stati analizzati la laringe ed il rene prelevati da due campioni di feto e campioni di intestino, fegato, laringe e rene (due campioni) provenienti da due neonati, anche in questi campioni non è stata riscontrata la presenza di benzene.

Conclusioni

I risultati esposti in questo lavoro dimostrano che il benzene come tale può essere accumulato dai tessuti umani e che

l'entità del fenomeno dipende dalle condizioni ambientali e dalle abitudini di vita dei soggetti. In particolare è stato evidenziato che nel tessuto renale tumorale c'è un maggiore accumulo di benzene rispetto allo stesso tessuto prelevato nella zona sana dell'organo colpito da tumore e al tessuto renale prelevato da soggetti che non presentano patologie tumorali. Dall'analisi dei parametri soggettivi, inoltre, è stato evidenziato che i fumatori, i residenti in città, i lavoratori e le persone operate o decedute per patologie tumorali risultano le categorie che maggiormente hanno dato riscontri positivi per quanto riguarda la presenza del benzene nei tessuti analizzati.

Lavoro eseguito con il contributo del CNR gruppo Nazionale per la Protezione da Rischio Chimico, Industriale ed Ecologico.

Ringraziamenti al prof. N. Cerulli per averci agevolato nell'acquisizione dei campioni di tessuto.

Bibliografia

- [1] L.A. Wallace, *Environ. Health Perspect.*, 1989, **82**, 165.
- [2] WHO-Europe, *Air quality guidelines for Europe*, WHO Regional Pub. Eur. Series n° 23, 1987.
- [3] H.A. Hattermer-Frey, C.C. Travis, M.L. Land, *Environ. Res.*, 1990, **53**, 221.
- [4] T.L. Baldassarri, *Benzene emissions from automobiles and air pollution in Italian cities*, In *advice of Italian CCTN on the health risk assessment relative to exposure to automobile emissions*, 1998, 37.
- [5] G. Bronzetti, M. Cini, *et al.*, *J. Environ. Pathol., Toxicol., Oncol.*, 1997, **16**, 147.
- [6] S. Fuselli, G.V. Settimo *et al.*, *Aria-Acqua*, 1990, **10**, 867.
- [7] D. Sammett, E. W. Lee *et al.*, *J. Toxicol. Environ. Health*, 1979, **5**, 782.
- [8] H. Glatt, G. Witz, *Mutagenesis*, 1990, **5**, 263.
- [9] L. Cirasino, R. Invernizzi, *Adv. Occ. Med. Rehab.*, **1**, n° 2 May-August 1995.
- [10] R. Jakobsson, A. Ahlbom, *et al.*, *Arch. Environ. Health*, 1993, **48**, 255.
- [11] R.I. Nilsson, R.G. Nordlinder, *et al.*, *Am. J. Ind. Med.*, 1996, **30**, 317.
- [12] Casaret, Doull, *Toxicology, the basic science of poisons*, MacMillan (Eds.), 1998.
- [13] N. Barbera, G. Bulla, *et al.*, *Sci.*, 1990, **43** (6), 1250.
- [14] M.T. Smith, J.W. Yager *et al.*, *Environ. Health Pers.*, 1989, **82**, 23.
- [15] J.K. Knoll, *J. Chromatogr. Sci.*, 1985, **23**, 442.
- [16] F. Brugnone, L. Perbellini *et al.*, *Arch. Environ. Health*, 1992, **64**, 179.
- [17] H. Hajimirahga, U. Ewers *et al.*, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 1989, **6**, 513.
- [18] L. Fishbein, *Scand. J. Work Environ. Health*, 1992, **1** (18/suppl.), 5.
- [19] E. A. Brown, M. L. Shelley, J.W. Fisher, *Risk Analysis*, 1998, **18** (2).