

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA
DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE ENDOCRINOLOGICHE:
BASI MOLECOLARI DELL'AZIONE ORMONALE
XXV Ciclo
Coordinatore: Prof.ssa Lucia Frittitta

Dott. Pasqualino Malandrino

IL CANCRO TIROIDEO IN SICILIA: RISCHIO AMBIENTALE VULCANICO

TESI DI DOTTORATO

Relatore:

Chiar.mo Prof. S. Squatrito

ANNO ACCADEMICO 2012-2013

INDICE

Abstract.....	3
Riassunto.....	5
Introduzione.....	7
Pazienti e Metodi.....	16
Risultati.....	23
Discussione.....	37
Bibliografia.....	43

Abstract

Background: The high thyroid cancer incidence in volcanic areas suggests a potential relationship between the environment and residents' contamination with volcanic chemicals that have a carcinogenic effect on the thyroid. We compared the urinary concentrations of trace elements in residents of the volcanic area and of a control, non-volcanic area in Sicily as a marker of human exposure from one or more sources.

Study design: the study has been projected in three parts: 1) epidemiological study: comparison of the thyroid cancer incidence between the volcanic area of Mt Etna and the non-volcanic control area in Sicily; 2) environmental study: comparison of the concentrations of heavy metals and trace elements in drinking water between the volcanic area of Mt Etna and the non-volcanic control area in Sicily; 3) biological study: comparison of the urinary concentrations of heavy metals and trace elements in residents between the volcanic area of Mt Etna and the non-volcanic control area in Sicily

Methods: Thyroid cancer epidemiology data were extracted from the Sicilian Regional Registry for Thyroid Cancer (2002-2006). In total, 34 trace elements were measured in the urine of 278 adult residents of either the volcanic (n=140) or the control (n=138) area.

Results: Thyroid cancer incidence was higher in the volcanic area (age-standardized incidence rate for the world population = 18.5/105 vs. 9.6/105 in the control area) and exclusively involved the papillary histotype. In the volcanic area, cancers were more frequently multifocal and with extrathyroidal extension ($p < 0.01$). Trace elements were found at a significantly higher concentration in both drinking water and the urine of volcanic area residents suggesting biocontamination from atmosphere, water and/or soil

in the area of an active volcano. In this area boron, molybdenum, palladium and tungsten urinary concentrations were higher than Italian reference values in over 20% of the residents.

Conclusions: Most trace elements and heavy metals measured were significantly increased in the drinking water and the urine of residents of a volcanic area where thyroid cancer incidence is markedly increased. This association is compatible with, but does not demonstrate, a cause-effect relationship between one or more of these environmental chemicals and thyroid cancer.

Riassunto

Introduzione: L'aumentata incidenza del cancro tiroideo in diverse aree vulcaniche suggerisce una potenziale relazione tra l'ambiente e la contaminazione dei residenti con sostanze chimiche vulcaniche che hanno un effetto cancerogeno sulla tiroide.

Disegno dello studio: abbiamo sviluppato tre fasi: 1) studio epidemiologico: paragone dell'incidenza del cancro tiroideo nell'area vulcanica dell'Etna con quella di un'area di controllo non vulcanica.; 2) studio ambientale: paragone delle concentrazioni di metalli pesanti e oligoelementi nelle acque del sistema acquifero dell'Etna e dell'area di controllo non vulcanica in Sicilia; 3) studio biologico: paragone delle concentrazioni di metalli pesanti e oligoelementi nelle urine dei residenti nell'area vulcanica e dell'area di controllo in Sicilia.

Metodi: i dati di epidemiologia del cancro tiroideo sono stati estrapolati dal Registro Regionale Siciliano per il Cancro della Tiroide (periodo 2002-2006). In totale, 34 oligoelementi sono stati misurati nelle acque e nelle urine di 278 adulti residenti nell'area vulcanica (n = 140) e nell'area di controllo (n = 138).

Risultati: l'incidenza del cancro tiroideo era superiore nella zona vulcanica (tasso di incidenza standardizzato per l'età della popolazione mondiale= $18.5/10^5$ vs $9.6/10^5$ nella zona di controllo). Tale differenza era esclusivamente sostenuta da una maggiore incidenza di cancro tiroideo di istotipo papillare. Nella zona vulcanica i tumori erano più frequentemente multifocali e con estensione extratiroidea ($p < 0.01$). Gli elementi studiati sono stati trovati ad una concentrazione significativamente maggiore sia nelle acque che nelle urine dei residenti nell'area vulcanica, suggerendo la possibilità di una

biocontaminazione. In quest'area le concentrazioni urinarie di Boro, Molibdeno, Tungsteno e Palladio erano superiori ai valori di riferimento per l'Italia in oltre il 20% dei campioni analizzati.

Conclusioni: nell'area vulcanica dell'Etna, caratterizzata da un'elevata incidenza di cancro tiroideo, le concentrazioni di diversi oligoelementi e metalli pesanti sono significativamente aumentate nelle acque e nelle urine dei residenti. Questa associazione è compatibile (ma non dimostra) con una relazione di causa - effetto tra una o più di queste sostanze chimiche di origine vulcanica e il cancro tiroideo.

Introduzione.

La letteratura scientifica degli ultimi 15-20 anni descrive un fenomeno comune e riportato in diversi paesi del mondo caratterizzato da un costante e continuo aumento del tasso d'incidenza del carcinoma tiroideo (CT).

Con solo poche eccezioni che riguardano alcune regioni come l'Africa, Svezia, Norvegia, Danimarca e Olanda, i dati riportati dai registri tumori degli Stati Uniti, Canada, Australia, Europa, Cina, documentano che attualmente il tasso di incidenza del CT è più che raddoppiato rispetto a 20-30 anni fa. Ovviamente, a causa di diversi fattori genetici, delle influenze di fattori ambientali e del differente sistema sanitario (pubblico o privato), i tassi di incidenza in assoluto sono variabili tra queste regioni, ma questa tendenza generale si osserva indipendentemente dai tassi di incidenza iniziali ⁱ. Già oggi in Italia è il secondo tumore nelle donne di età inferiore a 50 anni (http://www.registri-tumori.it/PDF/AIOM2013/I_numeri_del_cancro_2013.pdf).

Il CT è oggi la neoplasia il cui tasso d'incidenza presenta il più rapido incremento percentuale annuo (APC= Annual Percentage Change) ⁱⁱ. Se negli anni '90 si piazzava al 14° posto in ordine di prevalenza, oggi si trova in quarta posizione dopo tumori come il cancro della mammella e della prostata, del polmone e del colonretto. Questo aumento appare tanto costante da far ipotizzare oggi che il CT diventerà entro il 2019 il terzo tumore più comune nelle donne.

Le ragioni per spiegare questo fenomeno non sono ancora del tutto comprese e tra gli esperti c'è chi ritiene che la crescente incidenza sia semplicemente dovuta al diffuso impiego di procedure diagnostiche più sensibili (ecografia del collo, biopsia mediante

aspirazione con ago sottile, tomografia computerizzata) o all'aumento rispetto al passato del numero di interventi di tiroidectomia totale, e chi crede che altri fattori siano almeno co-responsabili.

Allo stato attuale, nonostante i progressi compiuti che hanno permesso di comprendere la biologia del CT e le vie molecolari che ne stanno alla base, la nostra conoscenza sui fattori carcinogenetici tiroidei riconosciuti come tali (radiazioni ionizzanti, apporto iodico e familiarità per CT) è la stessa di 30-40 anni fa.

Pertanto, le ipotesi avanzate per tentare di dare una spiegazione plausibile al fenomeno derivano dalla valutazione dei dati epidemiologici disponibili e ciò ha contribuito a generare controversie. Infatti, molti esperti ritengono che la crescente incidenza del CT sia un fenomeno artificiale, quasi esclusivamente causato dal maggiore screening diagnostico, ma questa appare come una visione parziale di una questione più ampia e non ancora del tutto compresa.

L'incremento d'incidenza del CT è soprattutto dovuto alla diagnosi di tumori di piccole dimensioni (≤ 2 cm). Questo ovviamente può essere la conseguenza della maggior sensibilità e del maggior numero di prestazioni diagnostiche strumentali. Tuttavia, gli studi epidemiologici indicano che l'aumento d'incidenza coinvolge anche i tumori di maggior dimensioni e di stadio avanzato di malattia. Recentemente, uno studio sul CT nella popolazione del Nord America nel periodo 1999-2008 ha confermato che non è aumentata solo l'incidenza del CT confinato alla tiroide, ma anche dei tumori con estensione regionale e a distanza.

Inoltre, un effetto di maggior screening dovrebbe riguardare tutti gli istotipi, mentre l'aumento osservato riguarda quasi esclusivamente interessa l' istotipo papillare. L'istotipo follicolare appare moderatamente aumentato mentre il tasso d'incidenza del CT anaplastico risulta stazionario o addirittura diminuito in alcuni studi. Questo potrebbe suggerire il ruolo di fattori carcinogenetici che influenzino specificamente l'insorgere di alterazioni molecolari determinanti la comparsa del CT papillare. Alcune evidenze, infatti, indicano che l'incidenza del CT con la mutazione del gene BRAF, cioè la principale aberrazione genetica riscontrata nel CT papillare, è aumentata nel corso degli ultimi decenni. Tuttavia, due fattori possono aver contribuito al crescente rapporto (circa 8:1) tra l'istotipo papillare e follicolare. Uno è il cambiamento della classificazione WHO che, dal 1988, ha meglio definito i criteri per la diagnosi della variante follicolare del carcinoma papillifero (in precedenza classificata come follicolare) e il secondo è la correzione della carenza iodica che in passato ha favorito l'insorgenza dell'istotipo follicolare.

In termini di età alla diagnosi, il CT ha tipicamente un picco di incidenza nei soggetti di 40-50 anni. Un recente studio del gruppo di lavoro dell' AIRTUM (Associazione Italiana Registri Tumori) ha documentato che tra gli adolescenti (15-19 anni) l' incidenza del CT è aumentata (APC +6,1%) nel periodo tra il 1988 e il 2008 ⁱⁱⁱ. Analogamente, in Gran Bretagna tra gli adolescenti e gli adulti (0-49 anni) è stato osservato un raddoppio del numero di casi diagnosticati durante il periodo 1976-2005. Anche nei soggetti di 15-39 anni che vivono in Australia, è stata osservata una tendenza analoga con valori di APC pari a +4,0% per i maschi (1982-2007) e pari a +2,1% per le femmine nel periodo 1982-2000 e +13,8% nel periodo 2000-2007. La crescente incidenza del CT nella popolazione in età giovane sembra

confermare il ruolo di altri fattori, e non solo un più esteso screening diagnostico, come responsabili dei recenti dati epidemiologici del CT.

È stato osservato come nell'uomo l'incidenza di molti tumori, non solo quello tiroideo, sia differente in base alla regione di residenza e all'etnia d'appartenenza. Ad esempio, negli Stati Uniti la popolazione afro-americana presenta una probabilità maggiore di sviluppare e morire di cancro rispetto a qualsiasi altra etnia. Questa differenza potrebbe essere una conseguenza delle disparità socioeconomiche tra i vari gruppi etnici ma non si può escludere che abbia basi genetiche. Al contrario, l'incidenza del CT in America è due volte superiore tra i bianchi rispetto agli Afro-Americani. Un recente studio ha riportato che i soggetti Afro-Americani con CT hanno un'età media superiore e più frequentemente un tumore più grande (> 4 cm) rispetto ai soggetti caucasici, ma è anche stato osservato che i soggetti Afro-Americani hanno minor probabilità di sviluppare tumore con stadio avanzato e la mortalità cancro-specifica non è differente nei due gruppi etnici. Gli autori concludono che la disparità di incidenza potrebbe essere in parte spiegata dal divario socio-economico ma anche dalla diversità dei fattori genetici e/o ambientali. Un altro studio ha riportato che i tassi di incidenza del CT nel periodo 1992-2009 differivano tra i quattro gruppi etnici presi in esame (caucasici, Afro-Americani, ispanici e asiatici). Il tasso di incidenza più alto è stato osservato negli asiatici, mentre le donne Afro-Americane avevano il più alto APC (+8,4 %). Pertanto, è stato ipotizzato che indipendentemente dallo status socio-economico e dell'etnia, alcuni fattori di rischio possano essere causa della crescente incidenza del CT.

Tuttavia, queste conclusioni appaiono contrastanti con altre evidenze relative all'influenza del sistema sanitario locale. Lo studio condotto da Lee e colleghi ^{iv} ha documentato come tra paesi con differenti sistemi sanitari i tassi di incidenza del CT erano superiori in quelli con una minore percentuale della spesa sanitaria pubblica. In altre parole, nei paesi con un'elevata percentuale di finanziamento sanitario privato (assicurazione sanitaria privata o pagamento diretto del paziente), l'incidenza del CT era superiore a causa della capacità individuale di pagare per i servizi sanitari. Analogamente, Morris e colleghi ^v hanno riportato che negli Stati Uniti elevati tassi di incidenza del CT sono associati con alti livelli di accesso alle cure mediche, comportando la diagnosi di tumori piccoli, in situ e indolenti, che non sarebbero stati diagnosticati in mancanza di più sofisticati interventi diagnostici.

Un utile supporto per chiarire le cause dell'aumento dell'incidenza del CT potrebbe derivare dai dati sui tassi di mortalità. Infatti, quando il tasso di incidenza di un tumore è realmente in aumento ci si aspetta che anche la mortalità sia in aumento, mentre in presenza di un aumento fittizio la mortalità sarebbe stazionaria. Purtroppo, i dati disponibili sulla mortalità del CT sono piuttosto contrastanti e incerti. Alcuni studi hanno documentato che il tasso di mortalità è rimasto stabile negli ultimi decenni, cioè circa 0,5 casi per 100.000 persone per anno. Dati recenti del registro americano SEER (Surveillance Epidemiology and End Results) mostrano che la mortalità per CT è significativamente aumentata negli ultimi decenni, soprattutto nei maschi. L' APC per la mortalità è +0,5 % per le donne nel periodo 1988-2010 (-2,7 % nel periodo 1975-1988) e +1,2 % per i maschi nel periodo 1983-2010 (-3,1 % nel periodo 1975-1983).

L'incertezza dei dati a disposizione sulla mortalità è legata a molteplici motivazioni: il numero di decessi per anno da cancro tiroideo è molto basso e pertanto anche minime variazioni in senso positivo o negativo possono non influire il tasso di mortalità; il CT presenta una lenta progressione, anche quando di stadio avanzato, quindi è possibile che l'effetto di un vero aumento dell'incidenza diventi apprezzabile sulla mortalità solo dopo decenni; il tasso di mortalità potrebbe realmente presentare un trend in aumento ma il miglioramento delle cure insieme alla diagnosi precoce potrebbero comportare una riduzione del tasso, determinando un "pareggio dei conti" causa dell'apparente stabilità dello stesso tasso.

Il CT non è la sola neoplasia con tasso d'incidenza aumentato negli ultimi decenni. I dati del Registro Tumori di Hong Kong documentano un aumento del tasso di incidenza del CT, ma anche del colon-retto nel maschio e dei tumori ormono-dipendenti, quali prostata, corpo dell'utero, cancro al seno e dell'ovaio. I dati riportati dal Registro Tumori Canadese mostrano che tra il 1970 e il 2007, l' APC medio del CT è stato del 3,6% e del 4,3% nei maschi e nelle femmine, rispettivamente. Una simile tendenza è stata osservata anche per il melanoma (3,7% e 2,9%) e per il carcinoma epatico (3,5% e 1,9%).

Di fronte a uno scenario del genere, è ipotizzabile che il ruolo delle più sensibili e diffuse procedure diagnostiche sia solo parziale e che altri fattori, ambientali ad esempio, possano spiegare il perché di tale incremento d'incidenza.

Tra i fattori ambientali le radiazioni ionizzanti costituiscono sicuramente il più studiato fattore etiologico del carcinoma tiroideo. L'incidente al reattore nucleare di Chernobyl del 1986 ha rappresentato un ottimo modello di studio per la valutazione dell'effetto carcinogenetico delle radiazioni ionizzanti sulla tiroide. L'effetto dell'esposizione ha interessato principalmente i bambini e gli adolescenti. La maggior incidenza di carcinoma tiroideo, infatti, è stata riscontrata in bambini che all'epoca dell'esposizione avevano 2-3 anni circa e il cancro tiroideo si è manifestato dopo circa 10-15 anni. Le radiazioni ionizzanti sono state utilizzate fino agli anni 50-60 del secolo scorso per trattare patologie benigne come la tinea capitis o l'emangioma del viso e questo si pensa possa aver contribuito a incrementare il rischio di cancro tiroideo. Negli ultimi 25 anni, inoltre, è raddoppiata la dose annua di radiazioni alla quale ciascun individuo è esposto, passando da 3 mSv/anno a 6 mSv/anno. Tale aumento è da imputare al maggior uso di tecniche di diagnostica per immagine, come ad esempio la tomografia computerizzata.

L'apporto iodico rappresenta un ulteriore fattore avente un ruolo nella carcinogenesi tiroidea. Alcuni studi hanno dimostrato come nelle aree a carenza iodica il rapporto papillare/follicolare è minore rispetto ad aree ad adeguato apporto iodico. Inoltre, nelle aree iodo carenti, dopo interventi di iodoprofilassi, il rapporto papillare/follicolare si spostava a favore del primo.

Tipicamente il CT è 3-4 volte più frequente nelle donne rispetto agli uomini. Si ipotizza che gli estrogeni possano causare tale disparità di genere. Infatti, le cellule di CT esprimono il recettore per gli estrogeni e il rapporto femmine/maschi diminuisce nelle

fasce d'età post- menopausale. Tuttavia, l'associazione del CT con il periodo di fertilità, la parità o la terapia con estrogeni non è stata confermata.

Discordanti sono anche gli studi che prendono in considerazione le abitudini alimentari. Una certa associazione è stata comunque riscontrata con i nitrati che frequentemente contaminano l'acqua in aree a intensa lavorazione agricola. I nitrati a livello tiroideo competono con la captazione dello iodio mostrando quindi un certo effetto di "interferente endocrino" e sono stati associati con un aumentato rischio di CT.

Tra gli inquinanti ambientali di origine antropogena vanno sicuramente citati il bisfenolo A e i bifenili policlorati. Anch'essi hanno un potenziale effetto di "interferente endocrino" ma il loro ruolo carcinogenetico tiroideo non è stato dimostrato. Tra gli inquinanti ambientali di origine non antropogena quelli derivanti dall'attività vulcanica rappresentano sicuramente un interessante modello di studio.

Secondo alcuni studi, infatti, l'incidenza del tumore tiroideo è aumentata tra i soggetti residenti in regioni vulcaniche quali l'Islanda e le Hawaii ma i meccanismi chiamati in causa per spiegare ciò non sono ancora ben definiti. Il vulcano Etna, il più grande e attivo vulcano d'Europa, ha delle caratteristiche simili ai vulcani islandesi e hawaiani (rocce basaltiche e eruzione di tipo effusivo). Uno studio condotto dal nostro gruppo di ricerca ha mostrato una più alta incidenza di tumore tiroideo tra le persone residenti nella provincia di Catania ^{vi} rispetto al resto della Sicilia. In tale studio è stata valutata l'incidenza di cancro tiroideo nelle nove province siciliane nel triennio 2002-2004. I risultati mostrano che in provincia di Catania il tasso d'incidenza annuale standardizzato per la popolazione mondiale era di 31,7/100.000 e 6,4/100.000 nelle donne e negli uomini, rispettivamente,

mentre il tasso d'incidenza rilevato nelle altre province è circa la metà, anche quando trattasi di province geograficamente limitrofe a quella di Catania (ad esempio: Messina 16,2/100.000 e 4,2/100.000; Enna 15,9/100,000 e 2,8/100,000). Questo studio ha confermato che i residenti in un'area vulcanica sono relativamente a più alto rischio di sviluppare il carcinoma tiroideo rispetto a residenti di aree non vulcaniche. Questa constatazione, comunque, ha bisogno di essere avvalorata mediante l'individuazione del veicolo di contaminazione che potrebbe essere l'acqua, l'atmosfera, il suolo o il cibo. La provincia di Catania riceve per i tre quarti acqua proveniente dal sistema acquifero del vulcano Etna, mentre sono diverse le fonti di approvvigionamento delle province di Messina (sistema acquifero dei monti Peloritani), Enna (sistema acquifero dei monti Erei), Siracusa e Ragusa (sistema acquifero dei monti Iblei). L'acqua, durante il suo passaggio tra le porosità della roccia vulcanica, reagendo con l'anidride carbonica contenuta nei gas vulcanici, diviene acida (acido carbonico) e ciò favorisce il rilascio di vari elementi chimici (inclusi metalli pesanti) da parte delle rocce basaltiche. A conferma di ciò vari studi hanno mostrato un'elevata concentrazione di alcuni elementi (tra cui HCO₃⁻, SO₄, Ca, F, Cl, Mg, B, Mn, Fe e V) nelle acque provenienti dalle falde del vulcano Etna e da altre aree vulcaniche. È stato quindi ipotizzato che una o più di queste sostanze sia (co)responsabile dell'aumentata incidenza di cancro della tiroide in provincia di Catania.

Oggetto della presente tesi sarà pertanto, lo studio epidemiologico comparativo dell'incidenza del tumore tiroideo nella provincia di Catania rispetto a due province non vulcaniche (Messina e Palermo) nel quinquennio 2002-2006. Per la valutazione dell'impatto ambientale del vulcano Etna verrà inoltre analizzata la concentrazione di vari

elementi in campioni di acqua del sistema acquifero vulcanico. Tali dati saranno paragonati alle concentrazioni ottenute da campioni di acqua prelevati dal sistema acquifero delle province di Messina e Palermo (area di controllo non vulcanica). Infine, per la valutazione della contaminazione della popolazione residente nell'area vulcanica saranno valutate le concentrazioni urinarie degli elementi studiati, paragonandole alle concentrazioni rilevate nei residenti dell'area di controllo non vulcanica (Messina e Palermo).

Pazienti e Metodi

Disegno sperimentale.

- a. Lo studio epidemiologico è stato realizzato estrapolando i dati del Registro Regionale Siciliano per il Cancro Tiroideo (RRSCT). I dati epidemiologici utilizzati sono relativi al periodo 2002-2006.
- b. Per lo studio ambientale è stata scelta l'acqua per la presenza di precedenti dati dimostranti elevate concentrazione di elementi chimici nell'acqua dell'acquifero vulcanico, ma anche perché l'acqua viene comunemente utilizzata per l'irrigazione dei campi adibiti a coltivazione di frutta e vegetali che potrebbero pertanto essere anch'essi stessi contaminati e fungere da ulteriore veicolo di contaminazione.
- c. Per lo studio di biomonitoraggio abbiamo scelto come marcatore biologico le urine poiché le concentrazioni urinarie rappresentano un marcatore di esposizione recente

ma probabilmente riflettono anche una (presunta) esposizione a inquinanti di origine vulcanica avvenuta anni prima in quanto il vulcano Etna è stato costantemente attivo nel corso degli ultimi anni e del secolo scorso.

Per tutti e tre i punti a, b e c sono state confrontate due aree della Sicilia: l'area vulcanica della provincia di Catania che presenta una maggiore incidenza di CT e l'area non-vulcanica delle province di Messina e Palermo caratterizzata da tassi d'incidenza del CT sovrapponibili ai valori medi italiani.

Il rationale di eseguire uno studio comparativo di coorte per il confronto tra le due aree, e non di uno studio caso-controllo tra individui con e senza CT si basa sui seguenti presupposti:

- 1) tutti i residenti di una zona vulcanica sono potenzialmente esposti a ipotetici inquinanti ambientali in modo del tutto simile, sia che essi abbiano o no il CT;
- 2) il processo di iniziazione tumorale nei soggetti con CT risale a epoca imprecisata (anche ad anni o decenni prima della valutazione delle concentrazioni urinarie). Se studiassimo le concentrazioni urinarie in questi pazienti i valori potrebbero essere influenzati dal trattamento del CT (terapia chirurgica e medica).

Identificazioni delle aree di campionamento.

A) Zona vulcanica. Il vulcano Etna si estende per una superficie di circa 1.200 Km² a nord della provincia di Catania (Sicilia orientale). Il sistema acquifero dell'Etna fornisce acqua a più di 700.000 abitanti della provincia di Catania e per l'irrigazione di vaste aree adibite a

agricoltura. Per lo studio ambientale e di biomonitoraggio è stata selezionata l'area compresa entro un raggio di 35 chilometri dalla cima del vulcano.

B) Zona di controllo non-vulcanica. Le province di Palermo (Sicilia occidentale) e di Messina (Sicilia nord-orientale) sono state selezionate come aree di controllo, perché non sono di origine vulcanica ed entrambe contengono un'area metropolitana, grandi aree rurali e zone di montagna, in proporzione simile alla provincia di Catania. I dati provenienti da Palermo e Messina sono stati riuniti insieme e classificati come "zona di controllo non -vulcanica".

Sia l'area vulcanica che quella di controllo sono caratterizzate dalla presenza di piccole zone di gozzo endemico (meno del 5% della popolazione di ogni provincia), dove la iodoprofilassi programmata e "silente" degli ultimi 30 anni ha corretto la carenza iodica (10-12). In ogni caso i residenti nelle aree di gozzo endemico sono stati esclusi dallo studio. Nelle tre province studiate, la popolazione ha un simile stato socio-economico, abitudini alimentari, stile di vita e accesso all'assistenza medica.

Selezione della popolazione di studio.

La dimensione del campione da studiare è stata calcolata considerando i precedenti dati relativi alla concentrazione di alcuni elementi in campioni di acqua del sistema acquifero dell'Etna, che documentano concentrazioni di boro, ferro, manganese e vanadio superiori ai livelli normali e eccedenti la concentrazione massima consentita (MAC) in circa un terzo dei campioni prelevati ^{vi}. Assumendo una differenza del 30 % delle concentrazioni urinarie tra i residenti nell'area vulcanica e quelli dell'area di controllo e impostando la potenza

statistica al 80% con un livello di significatività <0.05 , abbiamo stimato di dover arruolare 140 soggetti per ogni area (vulcanica e non-vulcanica).

Tutti i soggetti, volontari sani adulti di età compresa tra 18 e 72 anni, sono stati selezionati in modo casuale dalla popolazione residente delle due aree studiate attraverso una collaborazione con i Medici di Medicina Generale del territorio. I soggetti delle due aree sono stati appaiati con rapporto 1:1 per genere, età (± 5 anni) e residenza urbana/rurale. All'interno delle due aree di studio il 65-75% dei soggetti esaminati risiedeva in area urbana e il 25-35% proveniva da zone rurali. Sulla base della nostra precedente osservazione riportante un aumento di B, Fe, Mn, V e ^{222}Rn in acqua potabili della zona vulcanica, solo i soggetti che utilizzavano acqua di rubinetto o della rete idrica pubblica (fontanelle) per tutti gli usi domestici (bere e cucinare) sono stati scelti per lo studio, escludendo i soggetti che consumavano acqua potabile da fonti diverse come l'acqua minerale (in bottiglia) o acqua filtrata. Inoltre, per ciascuna abitazione con nucleo familiare è stato selezionato un solo soggetto.

Tutti hanno firmato il consenso informato e compilato un questionario che è stato somministrato o da un componente del nostro gruppo di ricerca o dai Medici di Medicina Generale, finalizzato alla raccolta di informazioni riguardanti le abitudini alimentari e il consumo di acqua, lo stato di salute e l'eventuale assunzione di farmaci, lo stile di vita e la potenziale esposizione professionale. Sono stati esclusi tutti i soggetti fumatori di oltre 10 sigarette al giorno, i soggetti che assumevano farmaci noti per interferire con la funzione tiroidea e la funzione renale o che presentavano patologie d'organo clinicamente rilevanti. Inoltre, sono stati esclusi i soggetti con malattie della tiroide precedenti o in corso.

In totale sono stati arruolati 140 soggetti nella zona vulcanica di Catania e 138 nella zona di controllo non-vulcanica di Messina (n = 67) e Palermo (n = 71).

La suddivisione per genere vedeva il 67,9% e il 66,7% di donne (p = 0.9) nell'area vulcanica e di controllo, rispettivamente. L'età media era $48,1 \pm 16,7$ e $46,3 \pm 17,1$ anni (p = 0,4) nelle due aree.

Raccolta, conservazione e trasporto dei campioni di acqua urina.

I campioni di acqua e urina sono stati raccolti nel periodo marzo-settembre 2011.

Per ciascun soggetto sono stati raccolti un campione di acqua e due campioni delle unire del mattino (c.d. "single spot") in provette sterili da 15 ml in polipropilene (BD Falcon, BD Bioscience, San Jose, CA, USA). Un campione di urina è stato utilizzato per la misurazione della creatinina, che è stata eseguita attraverso una metodica enzimatica colorimetrica lo stesso giorno della raccolta presso i laboratori ospedalieri dei centri partecipanti di Catania, Messina e Palermo.

Il secondo campione di urina di ciascun partecipante e quello di acqua dell'abitazione sono stati conservati a -20° C fino al trasporto in ghiaccio secco presso il Laboratorio di Igiene Ambientale e Tossicologia Industriale della Fondazione Maugeri IRCCS (Pavia), dove i campioni sono stati correttamente conservati nelle stesse condizioni fino al momento dell'analisi.

Metodologia di dosaggio.

I seguenti elementi dosati in entrambi i campioni di acqua e d'urina sono stati selezionati in parte perché notoriamente aumentati nelle acque del sistema acquifero dell'Etna ^{vii} o perché erano disponibili dal pannello dei dosaggi eseguiti presso il Laboratorio di Igiene Ambientale di Pavia:

argento (Ag), alluminio (Al), arsenico (As), boro (B), bario (Ba), berillio (Be), bismuto (Bi), bromo (Br), cadmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr), rame (Cu), gadolinio (Gd), germanio (Ge), mercurio (Hg), lantanio (La), litio (Li), manganese (Mn), molibdeno (Mo), nichel (Ni), piombo (Pb), palladio (Pd), platino (Pt), antimonio (Sb), selenio (Se), stagno (Sn), stronzio (Sr), tellurio (Te), tallio (Tl), uranio (U), vanadio (V), tungsteno (W), zinco (Zn) e zirconio (Zr).

Per il dosaggio è stato utilizzato un sistema di spettrometria di massa a plasma accoppiato induttivamente (ICP-MS). Dopo lo scongelamento aliquote da 1 ml di urina sono state diluite con una soluzione all'1% di HNO₃. I campioni sono stati analizzati direttamente dopo la diluizione. Il livello di accuratezza analitica dei valori ottenuti è stato calcolato, come suggerito da enti internazionali quali ISO e EURACHEM/CITAC, considerando i contributi di tre fattori confondenti relativi a 1) curva di taratura, 2) misurabilità dell'analita e 3) la procedura di diluizione.

Analisi statistica.

Per ciascun elemento, la concentrazione urinaria è stata espressa normalizzando per grammo di creatininuria. Sono stati calcolati media geometrica (MG) e intervallo di confidenza al 95% (95% IC). La MG è stata calcolata assegnando a ciascun valore al di sotto

del LOD (limit of detection) un valore uguale allo stesso LOD diviso per la radice quadrata di 2. Quando il numero di campioni per ciascun elemento con valori al di sotto del LOD era superiore al 40%, la MG non è stata calcolata e tale elemento è stato classificato come "non dosabile".

I valori di riferimento delle due aree siciliane sono stati espressi come 5° e 95° percentile e sono stati confrontati con il 5° e 95° percentile dei valori standard di riferimento per le urine in Italia, ottenuti dalla Società Italiana Valori di Riferimento (SIVR) (2005) o con la media±deviazione standard ottenuti dai dati dell'Istituto Superiore di Sanità quando i dati del SIVR non erano disponibili.

Il confronto delle MG tra l'area vulcanica e l'area di controllo è stato eseguito mediante il test T di Student a due code, considerando statisticamente significativo un valore di p inferiore a 0,05. I calcoli statistici sono stati eseguiti mediante il programma SPSS 13.0 per Windows.

Risultati

a. Studio epidemiologico.

Nei cinque anni 2002-2006 sono stati diagnosticati in Sicilia 3431 nuovi casi di carcinoma tiroideo: 2797 donne e 634 uomini; età media alla diagnosi 49,0±14.3.

Suddividendo i casi per istotipo abbiamo individuato: 3059 carcinomi papillari; 240 carcinomi follicolari; 61 carcinomi midollari; 40 carcinomi anaplastici; 5 linfomi. In 26 casi non è stato definito il sottotipo istologico.

La Tabella 1 riporta i casi di CT diagnosticati nelle 9 province siciliane e i relativi tassi d'incidenza standardizzati per la popolazione mondiale (ASRw).

Provincia	n. abitanti	n. casi carcinoma tiroide	ASRw (95% IC)		
			Totale	F	M
Agrigento		187	6.5 (4.3-8.7)	10.6 (6.7-14.5)	2.1 (0.4-3.9)
Caltanissetta		132	7.6 (4.6-10.6)	11.0 (6.1-16.0)	3.9 (0.8-7.0)
Catania		1228	18.5 (16.2-20.9)	29.8 (25.6-34.0)	6.4 (4.4-8.4)
Enna		89	8.3 (4.3-12.3)	13.1 (6.0-20.1)	3.1 (0.0-6.2)
Messina		458	11.0 (8.7-13.3)	17.7 (13.5-21.9)	3.9 (2.0-5.9)
Palermo		689	8.9 (7.4-10.4)	14.1 (11.4-16.8)	3.3 (2.0-4.7)
Ragusa		216	11.0 (7.6-14.4)	18.4 (12.2-24.6)	3.5 (0.8-6.1)
Siracusa		228	12.3 (8.6-15.9)	19.3 (12.8-25.8)	5.1 (1.7-8.5)
Trapani		160	6.0 (3.8-8.1)	8.7 (5.1-12.4)	3.1 (0.9-5.3)
Non noto		44	-	-	-

Confronto tra i dati epidemiologici e istopatologici della provincia di Catania (area vulcanica) e le province di Messina e Palermo (area di controllo).

La Tabella 2 riporta il ASRw per l'area vulcanica (provincia di Catania) e l'area di controllo (Messina e Palermo). Il ASRw era circa il doppio nell'area vulcanica e tale proporzione persisteva anche quando il ASRw veniva calcolato suddividendo i casi incidenti in base al diametro tumorale in micro- (≤ 1 cm) e macro-carcinomi (> 1 cm).

Tabella 2. Tassi d'incidenza annuale standardizzati per la popolazione mondiale (ASRw) per il cancro tiroideo nell'area vulcanica e non vulcanica (2002-2006).

Area	Genere	n. casi carcinoma tiroide	Tutti i carcinomi		Micro carcinomi (≤ 10 mm)		Macro carcinomi (> 10 mm)	
			ASRw	95% IC	ASRw	95% IC	ASRw	95% IC
Vulcanica	F	1019	29.8	(25.6-34)	16.8	(13.7-19.9)	13.0	(10.2-15.8)
	M	209	6.4	(4.4-8.4)	3.3	(1.9-4.7)	3.2	(1.8-4.6)
Non vulcanica	F	936	15.4	(13.1-17.7)	8.6	(6.9-10.3)	6.8	(5.3-8.3)
	M	211	3.5	(2.4-4.6)	1.4	(0.7-2.1)	2.1	(1.3-2.9)

Nelle due aree il rapporto F / M era simile (4.9:1.0 vs 4.4:1.0, $p = 0,41$), così come l'età media dei pazienti al momento della diagnosi ($48,8 \pm 14,1$ vs $49,0 \pm 14,0$ anni, $p = 0,73$).

La differenza di incidenza del cancro della tiroide tra le due aree era esclusivamente dovuta alla maggiore incidenza dell'istotipo papillare nell'area vulcanica, dove il rapporto papillare:follicolare era 22,9 nelle donne e 27,6 negli uomini, rispetto a 8,3 e 5,1, rispettivamente, nella zona di controllo (Tabella 3).

Tabella 3. Tassi d'incidenza annuale standardizzati per la popolazione mondiale (ASRw) per il cancro tiroideo nell'area vulcanica e non vulcanica (2002-2006) suddivisi per istotipo.

Area	Genere	Papillare		Follicolare		Anaplastico		Midollare	
		ASRw	95% IC	ASRw	95% IC	ASRw	95% IC	ASRw	95% IC
Vulcanica	F	27.9	(23.9-31.9)	1.1	(0.4-1.8)	0.1	(0-0.3)	0.3	(0.01-0.7)
	M	6.0	(4.1-7.9)	0.2	(0-0.4)	0.1	(0-0.3)	0.1	(0-0.2)
Non vulcanica	F	13.4	(11.3-15.5)	1.5	(0.9-2.1)	0.1	(0-0.3)	0.3	(0.01-0.6)
	M	2.9	(1.9-3.9)	0.5	(0.1-0.9)	0.1	(0-0.2)	0.1	(0-0.2)

Nelle donne dell'area vulcanica il rapporto tra micro- e macro-carcinoma (1.31) era molto simile al dato delle donne nell'area di controllo (1.29), mentre per gli uomini, il rapporto era significativamente più alto nella zona vulcanica (1.01) rispetto al zona di controllo (0,64, $p = 0,03$). Di conseguenza, il diametro tumorale medio era simile tra le due aree per le donne, ma era significativamente maggiore nella zona di controllo ($1,94 \pm 1,94$ cm) rispetto alla zona vulcanica ($1,56 \pm 1,39$ centimetri; $p = 0,03$) per i pazienti di sesso maschile.

I tumori della tiroide nell'area vulcanica, tuttavia, erano più frequentemente multifocali (33,4% vs 24,9%, $p < 0,01$) e extratiroidei (17,6% vs 13,5%, $p < 0,01$). Il coinvolgimento linfonodale (45,6% vs 40,6%) era superiore, ma non significativamente, nell'area vulcanica ($p = 0,2$).

b. Studio ambientale.

Concentrazioni dei metalli pesanti e degli oligoelementi nei campioni di acqua potabile.

La Tabella 4A mostra gli elementi con concentrazioni nei campioni di acqua significativamente superiori nell'area vulcanica rispetto a quella di controllo. Tali elementi erano i seguenti: As, B, Br, Cd, Ge, Hg, Li, Mn, Mo, Pd, Sb, Se, U, V, W.

Tabella 4A. Elementi con concentrazione superiore nelle acque dell'area vulcanica rispetto a quella di controllo.

Elemento ($\mu\text{g/g}$ creatinina)	Area	% > LOD (a)	Media geometrica (95% IC)	P
As	Area vulcanica	100	1.33 (1.15-1.53)	<0.0001
	Controllo	100	0.34 (0.29-0.40)	
B	Area vulcanica	100	179.63 (153.88 - 209.68)	<0.0001
	Controllo	100	39.65 (33.00-47.65)	
Br	Area vulcanica	100	131.9 (117.3-148.3)	<0.0001
	Controllo	100	80.0 (70-91.3)	
Cd	Area vulcanica	96.9	0.02 (0.01 - 0.02)	<0.0001
	Controllo	62.5	0.001 (0.0007 - 0.002)	
Ge	Area vulcanica	100	0.01 (0.008-0.01)	<0.0001
	Controllo	79.5	0.002 (0.001-0.003)	
Hg	Area vulcanica	48.5	0.004 (0.003 - 0.005)	<0.0001

	Controllo	6.8	0.0008 (0.0007 - 0.001)	
Li	Area vulcanica	100	5.7 (4.8-6.9)	0.005
	Controllo	100	3.7 (2.9-4.8)	
Mn	Area vulcanica	82.3	0.12 (0.07-0.2)	0.0007
	Controllo	62.5	0.03 (0.01-0.06)	
Mo	Area vulcanica	100	7.8 (6.3-9.6)	<0.0001
	Controllo	100	0.5 (0.4-0.7)	
Pd	Area vulcanica	69.2	0.003 (0.002-0.005)	<0.0001
	Controllo	37.5	0.0003 (0.0002 - 0.0004)	
Sb	Area vulcanica	100	0.05 (0.05-0.06)	0.0001
	Controllo	100	0.03 (0.03-0.04)	
Se	Area vulcanica	51.1	0.07 (0.04-0.1)	<0.0001
	Controllo	34.1	0.006 (0.003-0.01)	
U	Area vulcanica	100	1.1 (0.8-1.4)	<0.0001
	Controllo	100	0.3 (0.2-0.4)	
V	Area vulcanica	100	19.9 (16.2-24.4)	<0.0001
	Controllo	100	0.5 (0.3-0.7)	
W	Area vulcanica	98.5	0.2 (0.17-0.3)	<0.0001
	Controllo	38.6	0.004 (0.002 - 0.006)	

La tabella 4B mostra gli elementi con concentrazioni significativamente superiori nei campioni di acqua nell'area di controllo non vulcanica. Tali elementi erano i seguenti: Ba, Co, Ni, Tl, e Zn.

Tabella 4B. Elementi con concentrazione superiore nelle acque dell'area di controllo rispetto a quella vulcanica.

Elemento ($\mu\text{g/g}$ creatinina)	Area	% > LOD (a)	Media geometrica (95% IC)	P
Ba	Area vulcanica	100	3.04 (2.51-3.68)	<0.0001
	Controllo	100	10.01 (7.87-12.73)	
Co	Area vulcanica	100	0.03 (0.03 - 0.04)	0.03
	Controllo	96.6	0.04 (0.03 - 0.05)	
Ni	Area vulcanica	71.5	0.06 (0.03-0.1)	<0.0001
	Controllo	93.2	0.4 (0.3-0.6)	
Tl	Area vulcanica	50.8	0.0003 (0.0002-0.0004)	<0.0001
	Controllo	65.9	0.001 (0.0007 - 0.002)	
Zn	Area vulcanica	100	3.1 (2.3-4)	0.03
	Controllo	100	5.0 (3.4-7.2)	

Non sono riportate le concentrazioni relative a Cr, Cu, Sr e Te in quanto i valori riscontrati non differivano tra le due aree di studio, ne tantomeno quelle di Al, Be, Gd, La, Pb, Pt, Sn e Zr poiché in oltre il 40% dei campioni le concentrazioni non superavano il LOD.

c. Studio di biomonitoraggio.

Concentrazioni urinarie dei metalli pesanti e degli oligoelementi.

Gli elementi con le concentrazioni urinarie più elevate erano, in ordine decrescente, Br, B, Zn, Sr e Mo.

Le concentrazioni di Ag, Al, Be, Bi, Cr, Gd, Ge, La, Pt e Zr erano inferiori al LOD in oltre il 40% dei campioni. Pertanto, questi elementi sono stati esclusi da ulteriori analisi.

Le concentrazioni di As, Ba, Ni, Pb e Sb non erano significativamente differenti tra i residenti della zona vulcanica e della zona di controllo. I valori urinari di As e Ni, tuttavia, erano più alti del 95° percentile dei valori di riferimento italiani in circa il 30% dei soggetti residenti in entrambe le aree della Sicilia (Tabella 5).

Tabella 5. Elementi con concentrazioni urinarie non differenti nei residenti delle due aree studiate.

Elemento ($\mu\text{g/g}$ creatinina)	Area	% > LOD (a)	Media geometrica (95% IC)	P	Valori di riferimento (b)	% di soggetti con valori > il 95° percentile del riferimento italiano
As	Area vulcanica	100.0	16.33 (13.02-20.50)	0.11	2.8-179.8	31.4
	Controllo	100.0	12.37 (9.99-15.97)		1.3-207.7	29.0
	Italia (**)				2.3-31.1	
Ba	Area vulcanica	98.5	0.72 (0.60 - 0.87)	0.18	0.07-2.51	0
	Controllo	93.8	0.58 (0.45 - 0.75)		0.01-4.07	0
	Italia (*)				0.1-4.5	
Ni	Area vulcanica	81.3	0.54 (0.38-0.76)	0.99	0.007-4.7	30.0
	Controllo	82.8	0.54 (0.38-0.76)		0.005-5.5	30.4
	Italia (*)				0.1-2.0	
Pb	Area vulcanica	81.3	0.07 (0.05-0.10)	0.34	0.004-2.37	0
	Controllo	82.8	0.06 (0.04-0.08)		0.005-1.40	0
	Italia (*)				<0.5-3.5	
Sb	Area vulcanica	79.3	0.02 (0.02-0.03)	0.75	0.007-0.07	0.7

Controllo	91.4	0.02 (0.02-0.03)	0.004-1.3	7.2
Italia (*)			0.01-0.15	

(a) Percentuale di campioni con valori > il limit of detection (LOD) <0.01 µg/l.

(b) 5° - 95° percentile.

(*) Da SIVR (Società Italiana dei Valori di Riferimento, <http://www.valoridiriferimento.it/>).

(**) Da Alimonti A, Bocca B, Mattei D, Pino A. Biomonitoraggio della popolazione italiana per l'esposizione ai metalli: valori di riferimento 1990-2009. (Rapporti ISTISAN 10/22).

I rimanenti 19 elementi sono stati trovati ad una concentrazione significativamente superiore nelle urine dei residenti dell'area vulcanica rispetto all'area di controllo. In particolare, le medie geometriche di Cd, Hg, Mn, Pd, Te, Tl, U, V e W erano due o più di due volte superiori nella zona vulcanica. (Tabella 6).

Tabella 6. Elementi con concentrazioni urinarie significativamente superiori nei residenti dell'area vulcanica rispetto all'area di controllo.

Elemento (µg/g creatinina)	Area	% > LOD (a)	Media geometrica (95% IC)	P	Valori di riferimento (b)	% di soggetti con valori > il 95° percentile del riferimento italiano
B	Area vulcanica	100.0	853 (759 - 958)	<0.0001	239 - 2443	22.1%
	Controllo	100.0	520 (457 - 591)		146 - 1784	8.0
	Italia (*)		-		250 - 1500	
Br	Area vulcanica	100.0	1863 (1683 - 2061)	0.0006	659 - 4784	-

	Controllo	100.0	1333 (1137 - 1564)		250 - 4587	-
	Italia		-		N.A.	

Cd	Area vulcanica	100.0	0.21 (0.18 - 0.24)	<0.0001	0.06 - 0.75	0
	Controllo	100.0	0.10 (0.09 - 0.12)		0.01 - 0.48	0
	Italia (*)		-		0.1 - 1.5	

Co	Area vulcanica	100.0	0.27 (0.24 - 0.31)	0.0007	0.08 - 1.09	0
	Controllo	99.3	0.19 (0.17 - 0.22)		0.05 - 1.00	0
	Italia (*)		-		0.1 - 1.5	

Cu	Area vulcanica	100.0	5.50 (5.07 - 6.00)	<0.0001	2.9 - 13.1	0
	Controllo	100.0	3.47 (3.09 - 3.89)		1.3 - 11.0	0
	Italia (*)		-		5 - 60	

Hg	Area vulcanica	80.0	0.21 (0.15 - 0.28)	<0.0001	0.01 - 1.4	0
	Controllo	71.0	0.08 (0.06 - 0.10)		0.01 - 0.8	0
	Italia (*)		-		0.1 - 4.5	

Li	Area vulcanica	100.0	14.1 (12.4 - 16.0)	<0.0001	3.6 - 46.0	-
----	----------------	-------	-----------------------	---------	------------	---

	Controllo	100.0	7.8 (6.7 - 9.1)		2.0 - 31.5	-
	Italia (**)		-		17.3±13.6	

Mn	Area vulcanica	99.3	0.91 (0.79 - 1.05)	<0.0001	0.2 - 2.7	0
	Controllo	89.8	0.34 (0.26 - 0.46)		0.005 - 2.6	0
	Italia (*)		-		0.2 - 4.0	

Mo	Area vulcanica	100.0	59.6 (51.3 - 69.3)	<0.0001	15 - 304	26.4
	Controllo	100.0	31.2 (26.6 - 36.7)		7 - 147	13.0
	Italia (*)		-		10 - 100	

Pd	Area vulcanica	65.0	0.09 (0.06 - 0.13)	<0.0001	0.005 - 3.1	60.7
	Controllo	40.6	0.01 (0.01 - 0.01)		0.004 - 0.08	18.8
	Italia (**)		-		0.003 - 0.03	

Se	Area vulcanica	100.0	21.5 (20.2 - 22.9)	<0.0001	13 - 40	0
	Controllo	100.0	13.4 (12.3 - 14.6)		7 - 31	0
	Italia (*)		-		10 - 70	

Sn	Area vulcanica	100.0	0.19 (0.16 - 0.23)	0.0001	0.03 - 1.22	-
----	----------------	-------	-----------------------	--------	-------------	---

	Controllo	100.0	0.11 (0.09 - 0.14)		0.01 - 1.03	-
	Italia (**)		-		0.90±0.64	
Sr	Area vulcanica	100.0	110 (92 - 132)	0.007	28 - 468	-
	Controllo	100.0	74 (60 - 93)		8 - 322	-
	Italia (**)		-		154±91	
Te	Area vulcanica	100.0	0.05 (0.05 - 0.06)	<0.0001	0.01 - 0.2	-
	Controllo	99.3	0.02 (0.02 - 0.02)		0.006 - 0.1	-
	Italia (**)		-		<1	
Tl	Area vulcanica	100.0	0.18 (0.16 - 0.20)	<0.0001	0.06 - 0.5	0
	Controllo	100.0	0.09 (0.07 - 0.10)		0.001 - 0.04	0
	Italia (*)		-		0.05 - 0.5	
U	Area vulcanica	67.1	0.012 (0.011 - 0.014)	<0.0001	0.003 - 0.07	0
	Controllo	59.4	0.006 (0.005 - 0.007)		0.001 - 0.04	0
	Italia (**)		-		<1	
V	Area vulcanica	100.0	0.16 (0.13 - 0.20)	<0.0001	0.02 - 0.92	0

	Controllo	100.0	0.02 (0.01 - 0.02)		0.00 - 0.16	0
	Italia (*)		-		0.1 - 1.0	
W	Area vulcanica	98.6	0.12 (0.10 - 0.15)	<0.0001	0.02 - 0.55	27.1
	Controllo	95.7	0.05 (0.05 - 0.07)		0.01 - 0.30	7.2
	Italia (*)		-		0.01 - 0.25	
Zn	Area vulcanica	100.0	217 (195 - 240)	<0.0001	87 - 582	0
	Controllo	100.0	148 (130 - 169)		34 - 476	0
	Italia (*)		-		250 - 650	

(a)) Percentuale di campioni con valori > il limit of detection (LOD) <0.01 µg/l.

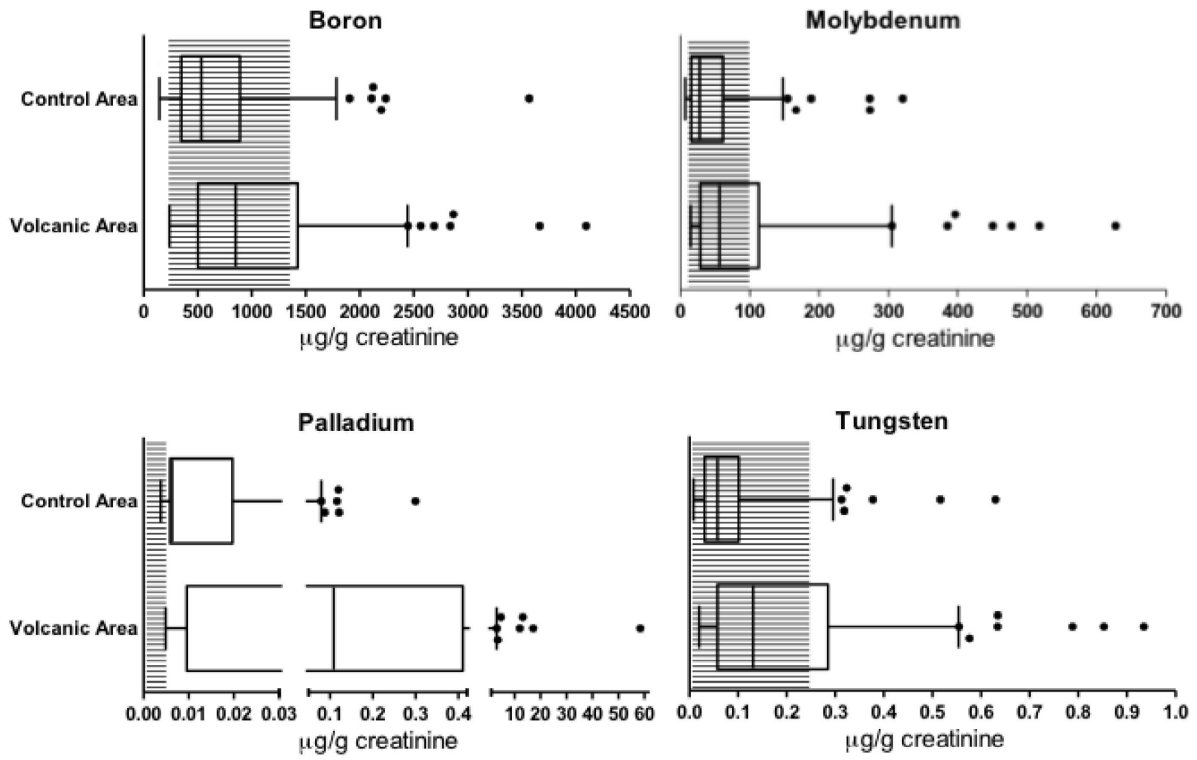
(b) 5° - 95° percentile o media ± due deviazioni standard.

(*) Da SIVR (Società Italiana dei Valori di Riferimento, <http://www.valoridiriferimento.it/>).

(**) Da Alimonti A, Bocca B, Mattei D, Pino A. Biomonitoraggio della popolazione italiana per l'esposizione ai metalli: valori di riferimento 1990-2009. (Rapporti ISTISAN 10/22).

Le concentrazioni medie dei seguenti elementi risultavano significativamente aumentate sia nelle acque che nelle urine della zona vulcanica: B, Br, Cd, Hg, Li, Mn, Mo, Pd, Se, U, V, W.

Infine, le concentrazioni urinarie di B, Mo, Pd e W, erano superiori al 95 ° percentile dei valori di riferimento italiani in oltre il 20 % dei residenti della zona vulcanica, ma non della zona di controllo (Figura 1).



Discussione

Questo studio conferma che la maggiore incidenza del CT nell'area vulcanica di Catania è dovuto esclusivamente all'aumento del cancro papillare della tiroide. Abbiamo inoltre riscontrato che i tumori dalla zona vulcanica hanno la tendenza ad essere più aggressivi (più frequentemente multifocaliti e con estensione extratiroidea), nonostante nei pazienti maschi il diametro tumorale medio sia inferiore.

La causa della maggiore incidenza del CT nella zona vulcanica di Catania non è nota. I dati precedenti in letteratura indicano che il CT è più frequente in alcune aree vulcaniche, suggerendo che uno o più inquinanti non-antropogenici di origine vulcanica possono essere presenti e promuovere la carcinogenesi tiroidea. Questo studio sul cancro tiroideo in area vulcanica è da ritenere originale poiché per la prima volta: 1) sono messe a confronto due aree adiacenti con simile etnia e stile di vita; 2) sono ricercati gli elementi inquinanti nell'acqua dell'acquifero vulcanico; 3) è valutata la biocontaminazione dei residenti dell'area vulcanica mediante urine. Le urine, infatti, sono un biomarcatore affidabile e sono comunemente utilizzate come strumento per la valutazione dell'esposizione individuale globale nei confronti di sostanze chimiche ambientali assorbite per ingestione, inalazione o contatto. Abbiamo pertanto testato l'ipotesi che i residenti della zona vulcanica siano contaminati con una serie di sostanze chimiche ambientali. Questo studio è un passo preliminare indispensabile per identificare un potenziale inquinante vulcanico che favorisce la carcinogenesi tiroidea e in particolare l'istotipo papillare.

Sulla base delle ipotesi indicate nei Metodi e seguendo l'approccio consolidato usato in passato per definire la carenza iodica attraverso la misurazione dello iodio nelle urine di una coorte di residenti nelle aree di endemia gozzigena, abbiamo identificato un certo numero di biocontaminanti nell'area vulcanica siciliana confrontando la concentrazione di alcuni elementi in tracce nelle urine dei residenti sani della zona vulcanica e dei residenti di zone di controllo in Sicilia.

La maggior parte delle sostanze chimiche esaminate aveva una concentrazione media significativamente superiore nell'acqua e nelle urine dei residenti della zona vulcanica rispetto alle aree di controllo, indicando che chi vive nell'area vulcanica dell'Etna è esposto a diversi contaminanti ambientali. Il veicolo di diffusione di tali contaminanti è sconosciuto, ma l'acqua e il cibo di produzione locale sono i veicoli più probabili.

Molti degli elementi riscontrati elevati nelle urine dei residenti nell'area vulcanica avevano in realtà concentrazioni elevate anche nelle acque del sistema acquifero vulcanico. Gli elementi in questione erano: B, Br, Cd, Hg, Li, Mn, Mo, Pd, Se, U, V, W. Inoltre tra questi elementi B, Mo, Pd e W avevano una concentrazione urinaria superiore ai valori di riferimento in Italia in oltre il 20% dei residenti dell'area vulcanica.

Il nostro studio di biomonitoraggio ha valutato l'esposizione dell'uomo alle sostanze chimiche presenti nell'ambiente vulcanico. Il riscontro di valori aumentati nelle urine rappresenta un indicatore della maggiore esposizione ma non implica che la sostanza chimica di per sé sia causa della malattia oncologica. Aver documentato una coesistenza tra la contaminazione biologica da metalli pesanti e oligoelementi e la maggiore incidenza del cancro papillare della tiroide, quindi, non prova necessariamente una relazione di

causa-effetto, ma è compatibile con questa teoria. Infatti sono necessarie ulteriori informazioni:

- 1) per molte delle sostanze chimiche studiate non è stabilito quali siano le concentrazioni di urina esenti da rischio biologico o associate a patologia. Alcuni elementi riscontrati aumentati nell'area vulcanica sono comunemente riconosciuti per il loro ruolo fisiologico di cofattori enzimatici nell'uomo. Altri elementi hanno effetti tossici riconosciuti e sono stati esaminati come potenziali agenti cancerogeni a causa della loro genotossicità e/o induzione di stress ossidativo, l'inibizione della riparazione del DNA e l'alterazione della trasduzione del segnale o di metilazione del DNA.
- 2) lo studio delle concentrazioni dei singoli elementi non tiene conto della loro speciazione (ossia i diversi stati inorganici e organici) con cui l'organismo viene a contatto e assorbe. Ciascun elemento infatti, può essere presente sotto forma di diversi sali e differenti forme organiche ed espletare pertanto un effetto biologico differente (inclusa la carcinogenesi) a seconda della sua biodisponibilità e della concentrazione nei tessuti bersaglio (compresa la tiroide). Ad esempio, l'arsenico organico contenuto nei frutti di mare (arsenobetaina) influenza la concentrazione urinaria globale ma è relativamente non tossico se confrontato con l'arsenico inorganico.
- 3) Inoltre, l'effetto biologico di una specifica sostanza chimica può essere influenzato da altre sostanze chimiche in modo sinergico o additivo, causando una co-carcinogenesi o esercitando un effetto protettivo.

Riteniamo che quattro elementi che hanno una concentrazione significativamente maggiore nelle acque del sistema acquifero etneo e nelle urine dei residenti nell'area vulcanica meritano un'attenzione particolare, anche alla luce dell'osservazione che i loro livelli urinari sono superiori non solo a quelli dell'area di controllo ma anche al range dei valori di riferimento italiani in una percentuale significativa della popolazione dell'area vulcanica. Questi elementi sono B, Mo, Pd e W. Purtroppo sono scarse le informazioni disponibili sugli effetti di questi elementi e sul loro effetto biologico a livello tiroideo. Gli studi condotti sull'uomo e sugli animali sono pochi e riguardano principalmente il ruolo di questi elementi come potenziali interferenti endocrini. Ad esempio, il borato di sodio riduce le concentrazioni degli ormoni tiroidei nei suini; il molibdato riduce il legame della T3 alle proteine nucleari in colture cellulari di fegato di ratto; la concentrazione urinaria del Pd è stata trovata elevata in 11 pazienti ipo-ipertiroidei; la concentrazione urinaria del W è stata associata con una diminuzione dei livelli di T4 e T3 e un aumento del TSH, e la somministrazione di tungstato nei ratti comportava una quasi completa inattivazione della xantina ossidasi e deidrogenasi tiroidea.

Purtroppo nessun dato è disponibile al momento riguardo alla capacità della tiroide di concentrare questi elementi ed al potenziale effetto cancerogeno sulla tiroide di questi quattro elementi. Anche il loro potenziale effetto cancerogeno in altri organi o tessuti è stato poco studiato. Nei ratti, l'apporto dietetico di Mo ha un effetto inibitorio sul cancro esofageo indotto dalla N- metil-N-benzilnitrosamina e sul cancro mammario indotto dalla N-nitroso-N-metilurea (NMU). Nello stesso ceppo di ratto il Mo inibiva e il W promuoveva l'insorgenza del cancro mammario indotto dalla NMU. È interessante notare

che il tungstato radiomarcato somministrato nei ratti veniva rapidamente assorbito in vari tessuti compresa la tiroide, e che la tiroide era tra gli organi con concentrazioni superiori di tungstato dopo 21 giorni dall'esposizione per inalazione. Negli Stati Uniti, anche se una relazione diretta non è stata confermata, diversi tipi di cancro sono stati associati a livelli elevati W nell'ambiente.

In conclusione, il presente studio fornisce le prime informazioni disponibili su:

- 1) aumento dell'incidenza del carcinoma papillare tiroideo nell'area vulcanica rispetto ad un'area adiacente di controllo con simili caratteristiche etniche e ambientali (eccetto l'ambiente vulcanico);
- 2) aumento di diversi metalli pesanti ed elementi in traccia;
- 3) aumento, nei residenti che utilizzano l'acqua potabile dell'acquifero etneo di molti degli elementi studiati, con il dato preoccupante che per quattro di essi (B, Mo, Pd e W) le concentrazioni urinarie sono al di fuori dei parametri di normalità in oltre il 20% del campione esaminato.

Questo studio deve essere considerato, pertanto, un primo passo per l'identificazione di fattori che potrebbero avere un potenziale effetto cancerogeno sulla tiroide. Ulteriori studi biologici e molecolari sono necessari, compresa una valutazione della capacità della tiroide di concentrare questi elementi rispetto ad altri tessuti, per la valutazione della capacità di queste sostanze chimiche di influenzare la funzione della tiroide, la proliferazione e l'effetto mutageno.

Nel mondo oltre 500 milioni di persone vivono in zone vulcaniche. I vulcani non sono tutti uguali e solo alcuni sono attualmente attivi come l'Etna. Per esempio, un altro vulcano importante in Italia è il Vesuvio, nei pressi di Napoli, il quale è inattivo dal 1945. Pertanto, il potenziale effetto cancerogeno sulla tiroide (ed eventualmente anche in altri tessuti) di inquinanti ambientali di origine vulcanica merita più valutazione.

Se fosse dimostrato che uno o più inquinanti non antropogeni di origine vulcanica avesse un rapporto di causa-effetto con il cancro della tiroide, allora la popolazione residente in aree vulcaniche andrebbe studiata per valutare il rischio di induzione di cancro tiroideo. Inoltre, poiché i metalli pesanti sono sempre più utilizzati per diverse applicazioni (ad esempio, nella metallurgia, l'industria militare, le vernici, gli apparecchi elettrici e medicali), è anche possibile un aumento dell'inquinamento di origine antropogenica, il quale potrebbe svolgere un ruolo nella crescente incidenza di cancro tiroideo nel mondo.

Bibliografia

- ⁱ Kilfoy, B.A., et al. "International patterns and trends in thyroid cancer incidence, 1973–2002." *Cancer Causes & Control* 20.5 (2009): 525-531.
- ⁱⁱ Howlader N et al. "SEER Cancer Statistics Review, 1975-2010, National Cancer Institute. Bethesda, MD".
- ⁱⁱⁱ I tumori in Italia - Rapporto AIRTUM 2012: I tumori dei bambini e degli adolescenti"; <http://www.registri-tumori.it/cms/it/Rapp2012>.
- ^{iv} Lee, Tae-Jin, et al. "The Incidence of Thyroid Cancer Is Affected by the Characteristics of a Healthcare System." *Journal of Korean medical science* 27.12 (2012): 1491-1498.
- ^v Morris, Luc GT, et al. "The increasing incidence of thyroid cancer: the influence of access to care." *Thyroid* (2013).
- ^{vi} Pellegriti, G et al. "Papillary thyroid cancer incidence in the volcanic area of Sicily." *Journal of the National Cancer Institute* 101.22 (2009): 1575-1583.
- ^{vii} Giammanco, S et al. "Major and trace elements geochemistry in the ground waters of a volcanic area: Mount Etna (Sicily, Italy)." *Water Research* 32.1 (1998): 19-30.