

**Gli studi epidemiologici nella valutazione  
dell'associazione tra stato di salute ed  
esposizione a fattori ambientali *protettivi***

**Giuseppe Mastrangelo**

**Dipartimento di Medicina Ambientale e Sanità Pubblica  
Università di Padova**

**Case reports**  
**Studi epidemiologici**  
**(descrittivi, osservazionali, sperimentali)**  
**Meta-analisi**

**Relazione fra rischio di cancro polmonare  
ed esposizione a fattori protettivi  
(endotossine)**

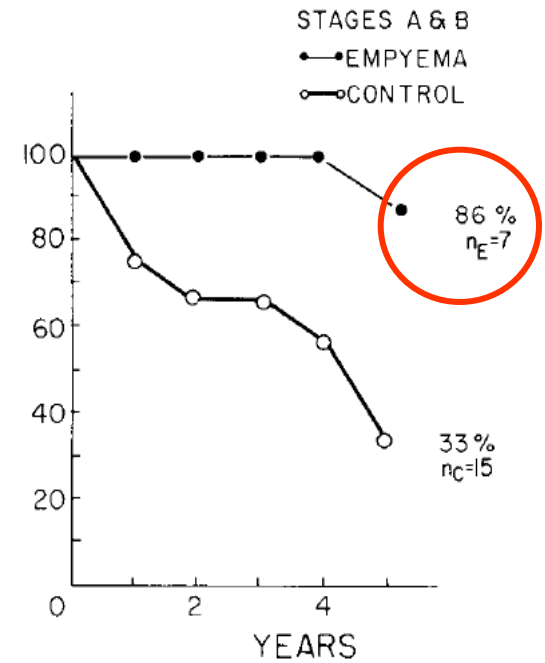
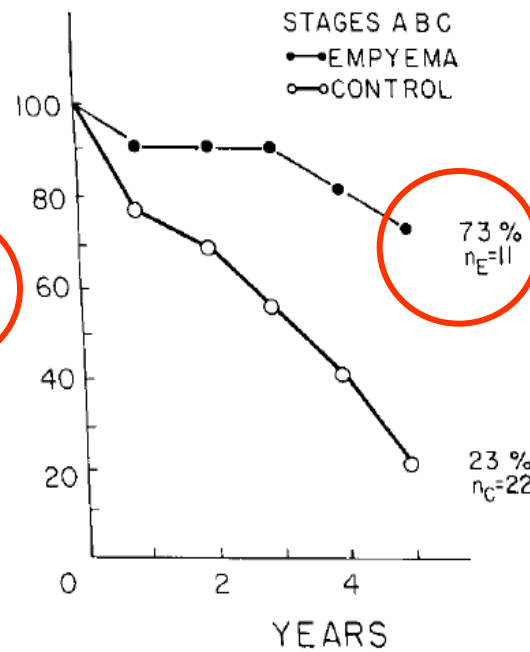
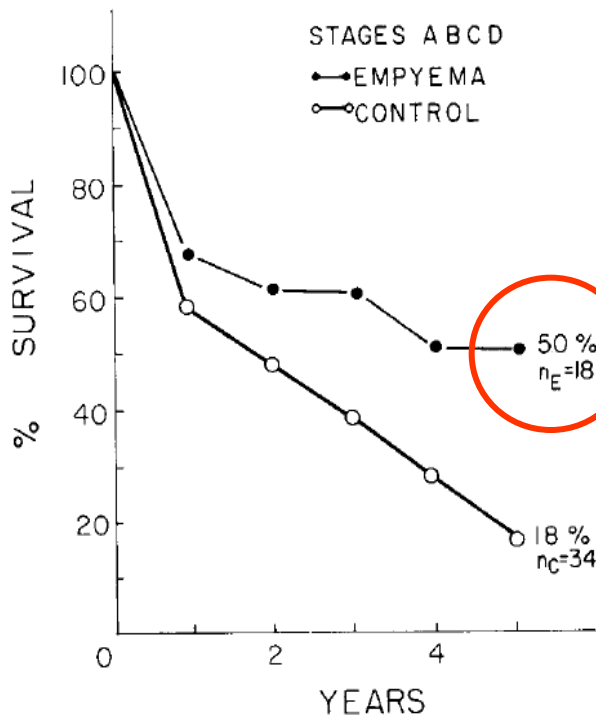
# **Segnalazione di casistiche (Case Reports)**

- **E' lo studio più semplice e facile, il cui obiettivo principale è di suggerire ipotesi**
- **Consiste nella descrizione di un'associazione tra un'esposizione rara e un effetto raro**

# POSTOPERATIVE EMPYEMA IMPROVES SURVIVAL IN LUNG CANCER

## Documentation and Analysis of a Natural Experiment

JOHN C. RUCKDESCHEL, B.S., STEPHEN D. CODISH, M.S., ALLAN STRANAHAN, M.D.,  
AND MARTIN F. MCKNEALLY, M.D., PH.D.



# Epidemiologia

## Epidemiologia descrittiva

- studia la distribuzione delle malattie nel tempo, nello spazio e a seconda di caratteristiche personali (età, sesso, professione, ... )
- formula ipotesi per spiegare le motivazioni di questa distribuzione

## Epidemiologia osservazionale

- studia l'insieme di tutte le conseguenze sul piano della salute sia dannose sia protettive che derivano dall'esposizione (studio coorte)
- valutare l'associazione di una qualsiasi malattia con un'esposizione (studio caso-controllo)

## Epidemiologia sperimentale

- il ricercatore interviene modificando le condizioni di esposizione (per motivi etici sono permessi solo interventi benefici)
- Il ricercatore ha il controllo di almeno alcune variabili

# Disegni di studi epidemiologici

## Studio Descrittivo

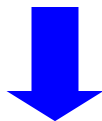
- In popolazioni
- Distribuzione:
  - tempo
  - spazio
  - persone



Indagini di popolazione

## Studio Osservazionale

- In individui
- Verifica ipotesi causali
- Controlli autoselezionati



Studio coorte



Studio caso-controllo

## Studio Sperimentale

- In individui
- Verifica ipotesi causali
- Controlli randomizzati



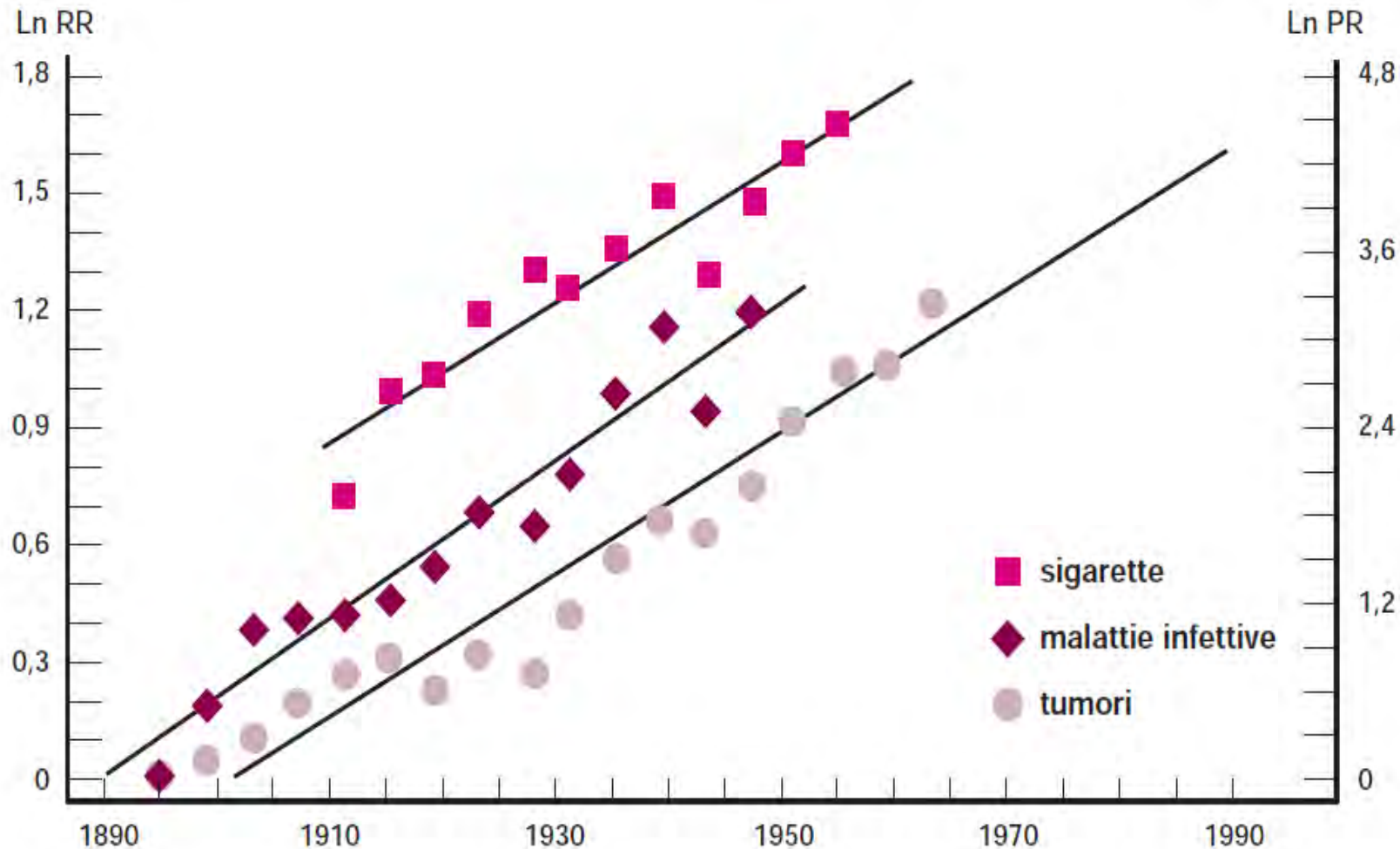
Randomized Controlled Trial

***Forza dell'evidenza di causalità tra fattore di rischio e malattia***



## Cancer increased after a reduction of infections in the first half of this century in Italy. Etiologic and preventive implications

Giuseppe Mastrangelo, Emanuela Fadda and Giovanni Milan



# Ospedale "Flavio Busonera" ieri Sanatorio oggi IOV





# Disegni di studi epidemiologici

## Studio Descrittivo

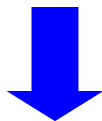
- In popolazioni
- Distribuzione:
  - tempo
  - spazio
  - persone



Indagini di popolazione

## Studio Osservazionale

- In individui
- Verifica ipotesi causali
- Controlli autoselezionati



Studio coorte



Studio caso-controllo

## Studio Sperimentale

- In individui
- Verifica ipotesi causali
- Controlli randomizzati



Randomized Controlled Trial

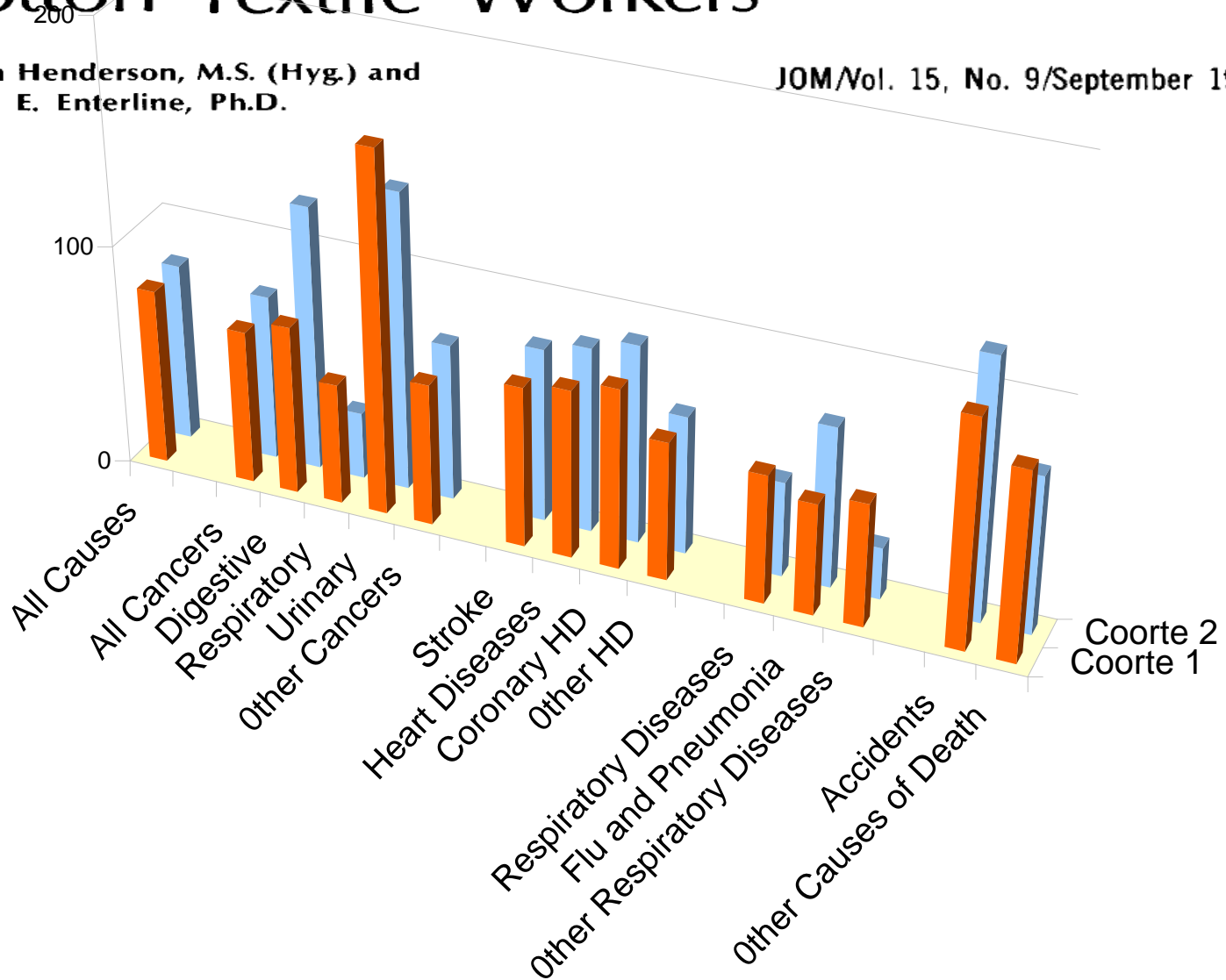
***Forza dell'evidenza di causalità tra fattore di rischio e malattia***



# An Unusual Mortality Experience in Cotton Textile Workers

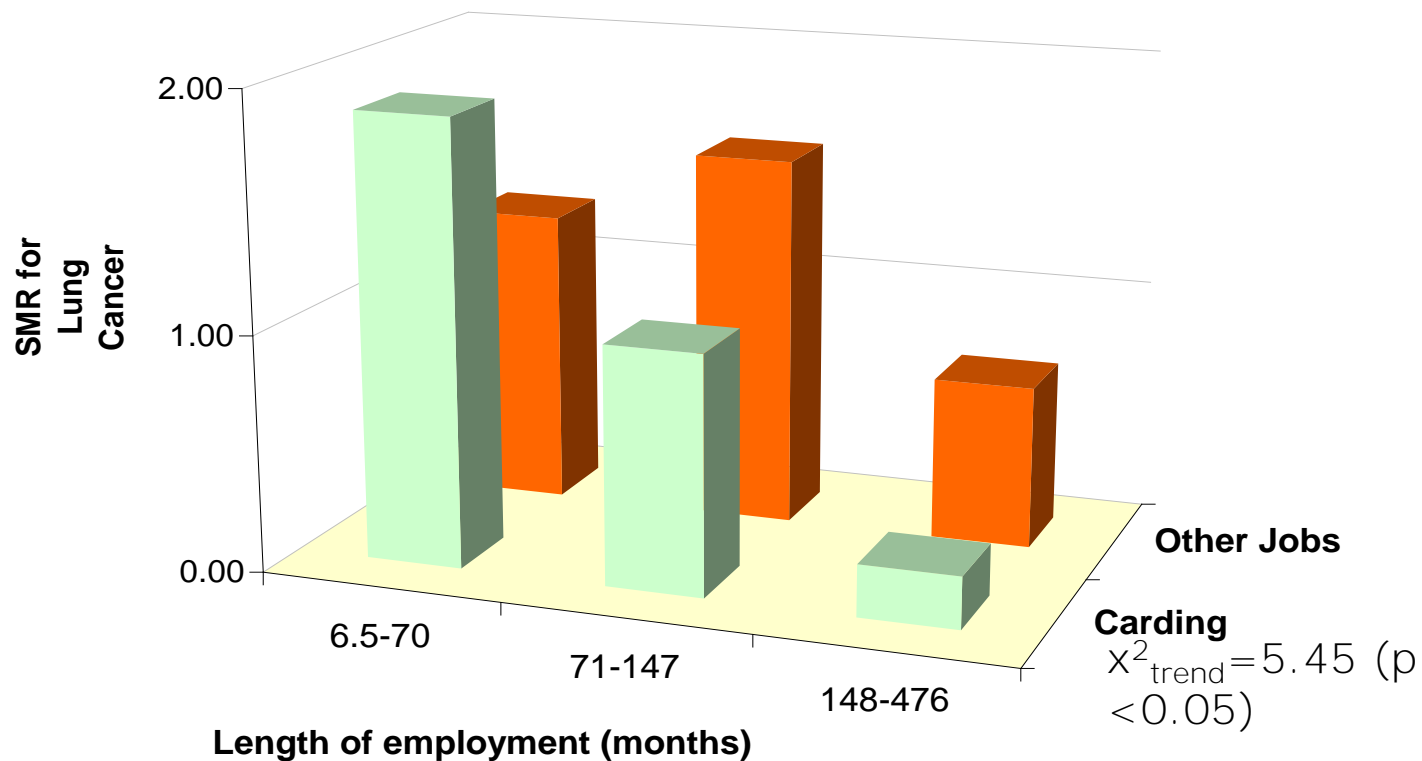
Vivian Henderson, M.S. (Hyg.) and Philip E. Enterline, Ph.D.

JOM/Vol. 15, No. 9/September 1973



# Lung and other cancer site mortality in a cohort of Italian cotton mill workers

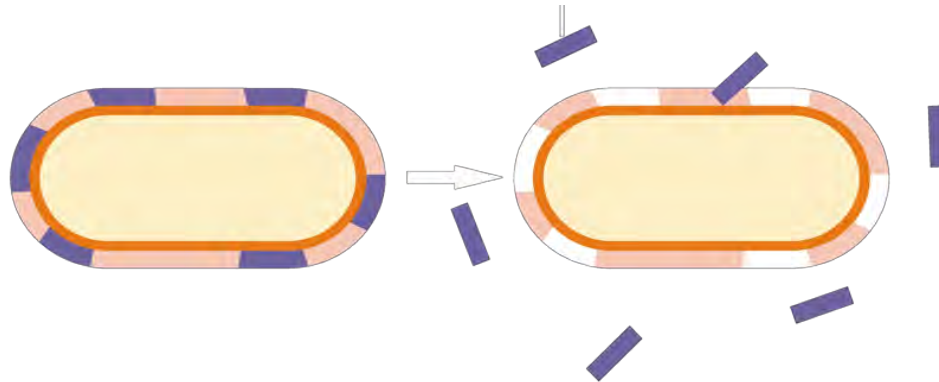
G Mastrangelo,<sup>1</sup> E Fadda,<sup>1</sup> R Rylander,<sup>2</sup> G Milan,<sup>1</sup> U Fedeli,<sup>1</sup> M Rossi di Schio,<sup>1</sup>  
J H Lange<sup>3</sup>



# Endotossine e cancro

Nel 1973, Henderson e Enterline proposero che le endotossine che contaminavano le polveri di cotone inalate dai lavoratori dell'industria tessile cotoniera fossero responsabili dell'effetto protettivo contro il tumore del polmone

## Endotossine



Le endotossine sono componenti strutturali della parete esterna dei batteri Gram-negativi, che si liberano alla morte dei batteri alla disgregazione dei corpi cellulari. Sono composti da lipopolisaccaridi (LPS)  
I Gram-negativi proliferano alla superficie di materiali ricchi di cellulosa (polveri organiche) specialmente se umidi

# Esposizione a endotossine

I lavoratori esposti ad elevati livelli di endotossina sono quelli impiegati in:

- **Industria tessile cotoniera, in particolare durante la cardatura e meno durante la filatura e tessitura**
- **Agricoltura, in particolare negli allevatori e meno nei coltivatori**

# Reduced Lung Cancer Mortality in Dairy Farmers: Is Endotoxin Exposure the Key Factor?

---

Giuseppe Mastrangelo, MD, Vita Marzia, MD, and Guido Marcer, MD



American Journal of Epidemiology

Copyright © 2005 by the Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health

All rights reserved

V

P

DOI: 10.1

---

## Lung Cancer Risk: Effect of Dairy Farming and the Consequence of Removing that Occupational Exposure

Giuseppe Mastrangelo<sup>1</sup>, John M. Grange<sup>2</sup>, Emanuela Fadda<sup>1</sup>, Ugo Fedeli<sup>1</sup>, Alessandra Buja<sup>1</sup>, and John H. Lange<sup>3</sup>

# Le aziende agricole tradizionali



Fino a poco tempo fa, in Veneto le aziende agricole erano piccole, gli animali erano confinati in stalle affollate e spesso in scarse condizioni igieniche, il fienile era situato sopra la stalla, e il fieno veniva lasciato cadere attraverso una botola. Le abitazioni degli allevatori erano vicine alle stalle.

L'esposizione a polveri organiche e prodotti microbici era elevato

# Indicatore di esposizione



In Italia non sono mai state condotte delle indagini di igiene ambientale per misurare i livelli di endotossina nelle stalle di bovini da latte

Pertanto il numero di animali presenti nell'azienda venne usato come indicatore surrogato del livello di esposizione ad endotossina



# **Ipotesi a priori**

**Lo scopo di questo studio era di:**

- **confermare la riduzione del rischio di cancro polmonare in relazione all'esposizione a endotossine**
- **valutare le conseguenze sul piano della salute dell'abbandono dell'attività di allevatore e del successivo impiego nell'industria o nei servizi, in cui l'esposizione ad agenti microbici era molto più bassa. Nel Veneto, infatti, gli agricoltori sono progressivamente diminuiti negli ultimi 30-40 anni**

# Disegni di studi epidemiologici

## Studio Descrittivo

- In popolazioni
- Distribuzione:
  - tempo
  - spazio
  - persone



Indagini di popolazione

## Studio Osservazionale

- In individui
- Verifica ipotesi causali
- Controlli autoselezionati



Studio coorte



Studio caso-controllo

## Studio Sperimentale

- In individui
- Verifica ipotesi causali
- Controlli randomizzati



Randomized Controlled Trial

***Forza dell'evidenza di causalità tra fattore di rischio e malattia***



# STUDIO COORTE

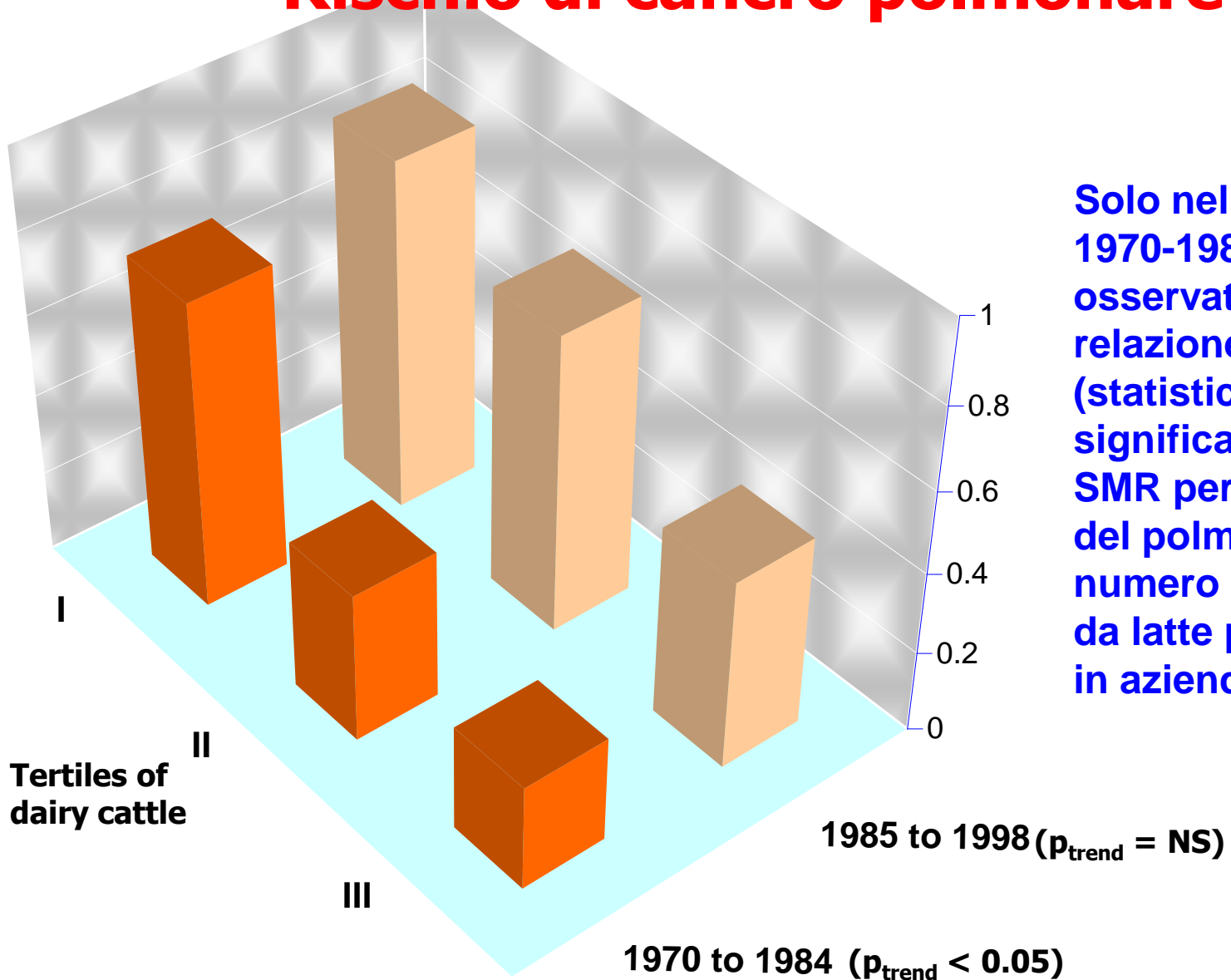
Dagli archivi dei “Coltivatori Diretti” sono stati selezionati 2916 allevatori di sesso maschile residenti in sette comuni della provincia di Vicenza, in cui l'allevamento di bovini era l'attività prevalente

Usando come confronto la mortalità causa-specifica della popolazione generale del Veneto è stato stimato il rischio di mortalità per:

- **Tumore del polmone**
- **Tumori fumo-correlati (escluso cancro polmonare)**

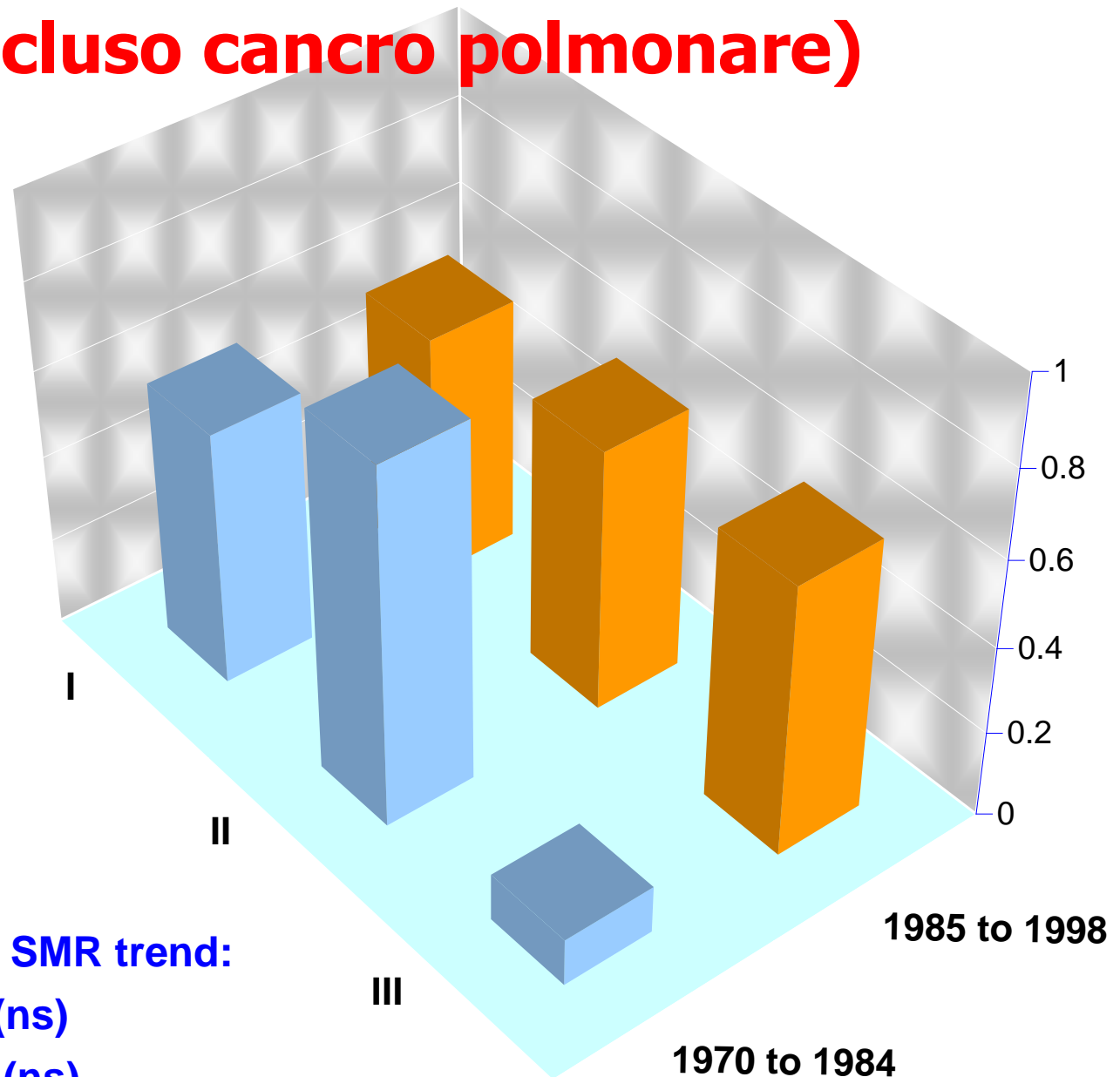
In due periodi (1970-1984; e 1985-1998) è stata calcolata la mortalità osservata e attesa e gli SMR attraverso i terzili del numero di bovini nell'azienda

# Rischio di cancro polmonare



Solo nel periodo 1970-1984, è stata osservata una relazione inversa (statisticamente significativa) tra SMR per cancro del polmone e numero di bovini da latte presenti in azienda

# Rischio di tumori fumo-correlati (escluso cancro polmonare)



Chi-square test for SMR trend:  
from 1970 to 1984 (ns)  
From 1985 to 1989 (ns)

# Disegni di studi epidemiologici

## Studio Descrittivo

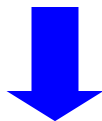
- In popolazioni
- Distribuzione:
  - tempo
  - spazio
  - persone



Indagini di popolazione

## Studio Osservazionale

- In individui
- Verifica ipotesi causali
- Controlli autoselezionati



Studio coorte



Studio caso-controllo

## Studio Sperimentale

- In individui
- Verifica ipotesi causali
- Controlli randomizzati



Randomized Controlled Trial

***Forza dell'evidenza di causalità tra fattore di rischio e malattia***



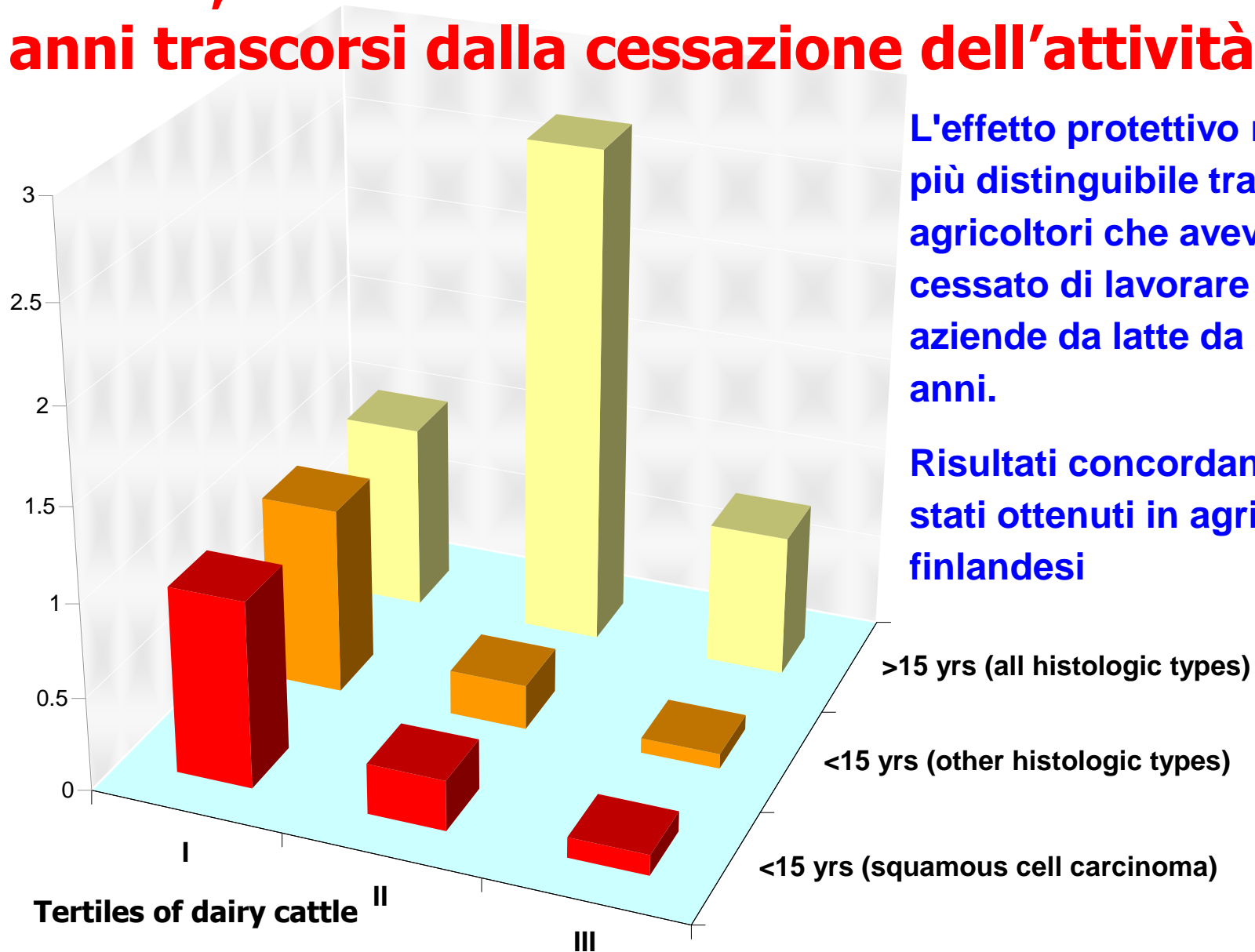
# STUDIO CASO-CONTROLLO

Uno studio caso-controllo è stato condotto nella coorte di agricoltori per escludere che la riduzione del rischio di cancro polmonare fosse dovuto al confondimento (negativo) del fumo. L'abitudine al fumo è stata ricostruita in 62 casi (con diagnosi di cancro polmonare confermata dalla cartella clinica) e 333 controlli (soggetti selezionati dalla coorte non affetti da cancro polmonare). L'analisi della regressione logistica è stata usata per calcolare il rischio di cancro polmonare aggiustato per età e fumo

Questo è stato fatto in relazione a:

- terzili di bovini da latte presenti in azienda
- anni ( $\leq 15$  oppure  $> 15$ ) dalla cessazione del lavoro di allevatore
- istologia del cancro polmonare

# Rischio di cancro polmonare aggiustato per età e fumo, in relazione al numero di bovini e agli anni trascorsi dalla cessazione dell'attività



L'effetto protettivo non era più distinguibile tra agricoltori che avevano cessato di lavorare nelle aziende da latte da oltre 15 anni.

Risultati concordanti sono stati ottenuti in agricoltori finlandesi

>15 yrs (all histologic types)

<15 yrs (other histologic types)

<15 yrs (squamous cell carcinoma)



# Criteria di Hill sul nesso di causalità

**Associazione forte:** RR elevato (o basso) e poco disperso entro i limiti di confidenza

**Gradiente biologico:** presenza di una relazione dose-risposta

**Sequenza nel tempo:** la causa deve precedere l'effetto di un intervallo di tempo sufficiente allo svolgersi del processo patogenetico

**Riproducibilità del risultato:** la stessa associazione deve essere trovata da altri ricercatori, campionando altre popolazioni, ricorrendo a disegni e metodi di studio differenti

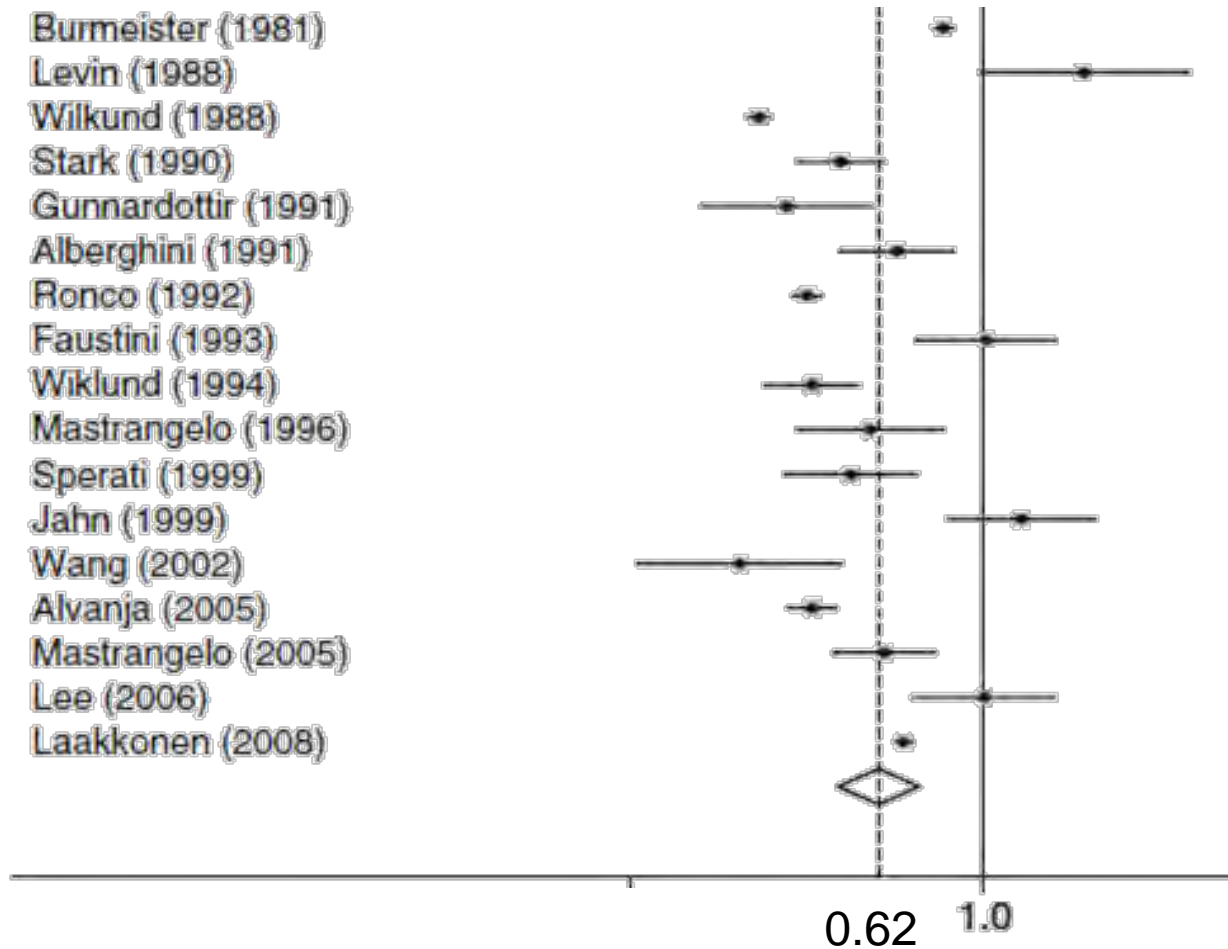
# Meta-analisi: sintesi quantitativa nelle rassegne sistematiche di letteratura

Domande	Compiti
I risultati di diversi studi sono simili?	Valutare l'eterogeneità statistica dei dati
Le differenze possono essere spiegate?	Sensitivity analysis
Qual è la migliore stima d'insieme?	Stimare l'effetto comune
Quanto precisa è la stima?	Stimare i limiti di confidenza.

# **Endotoxin exposure and lung cancer risk: a systematic review and meta-analysis of the published literature on agriculture and cotton textile workers**

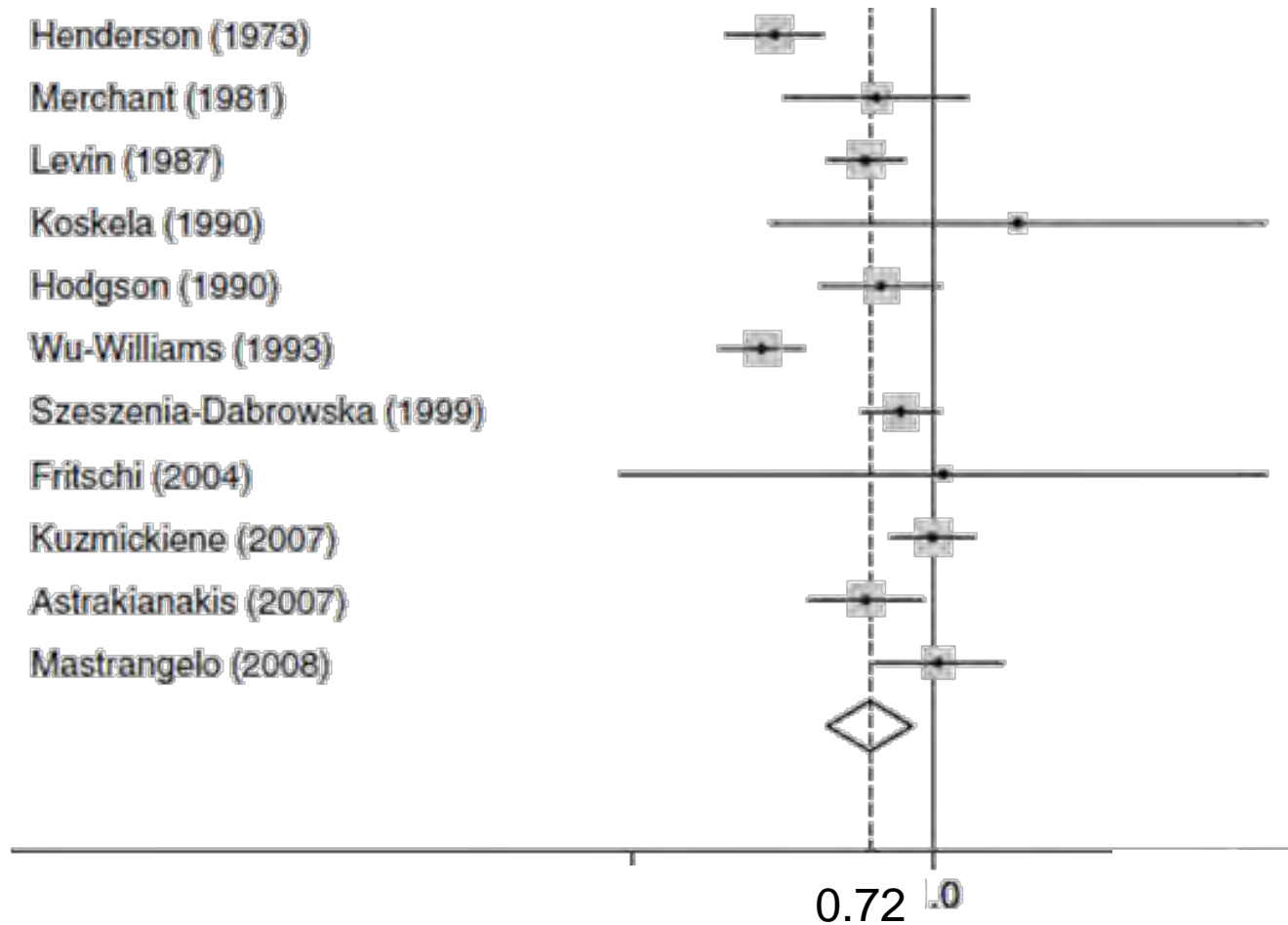
**Virissa Lenters · Ioannis Basinas · Laura Beane-Freeman · Paolo Boffetta · Harvey Checkoway · David Coggon · Lützen Portengen · Malcolm Sim · Inge M. Wouters · Dick Heederik · Roel Vermeulen**

# Agricoltori: meta-analisi



L'effetto comune (o rischio aggregato) è 0.62 (0.52–0.75)

# Industria tessile cotoniera: meta-analisi



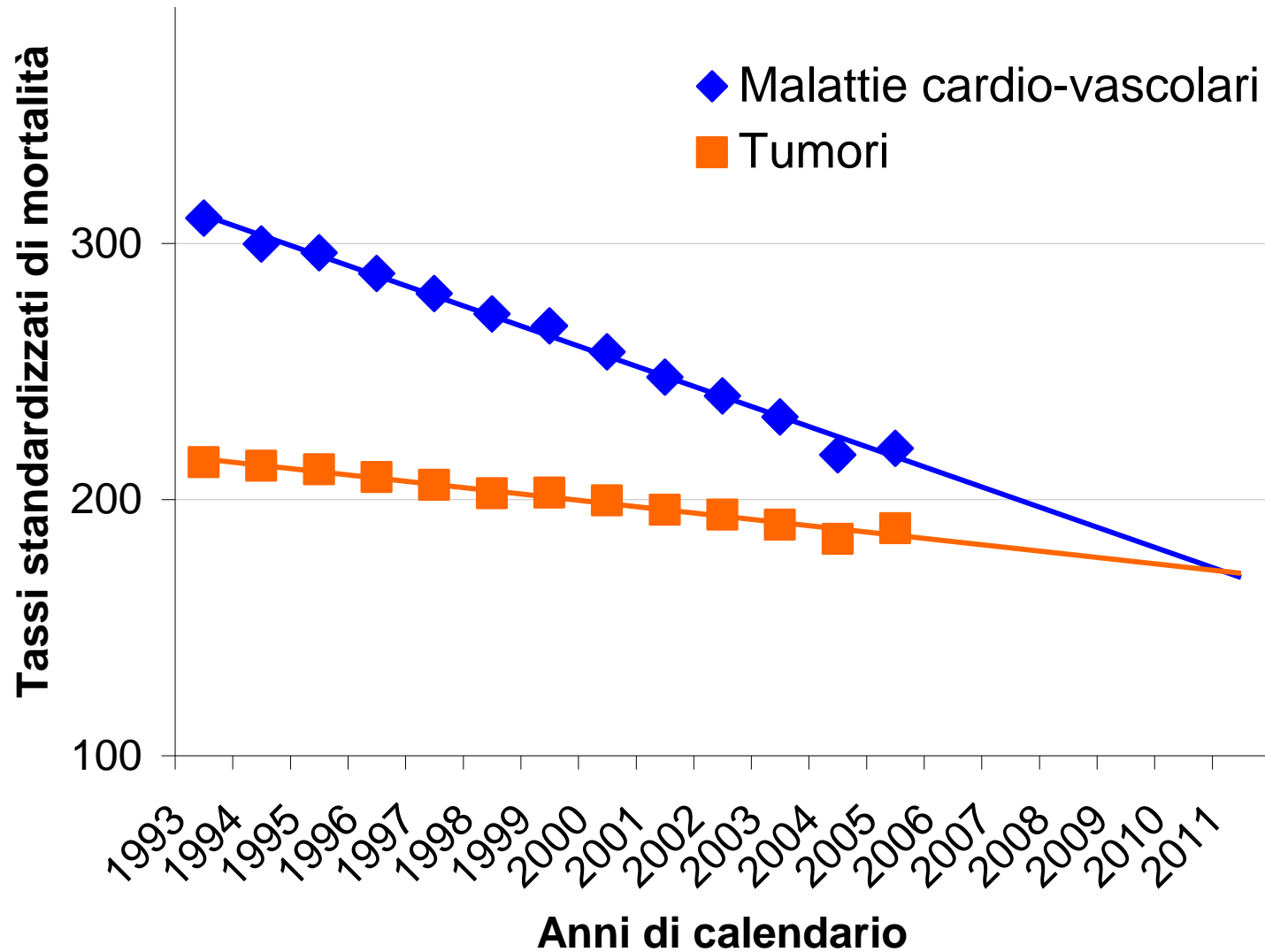
L'effetto comune (o rischio aggregato) è 0.72 (0.57–0.90)

# Endotossine e tumori di varie sedi

Vari studi epidemiologici sono stati condotti in Cina in circa 300.000 operai dell'industria tessile che avevano lavorato in fabbriche in cui erano disponibili dati storici di esposizione. L'esposizione cumulativa a endotossina era inversamente correlata al rischio di:

- cancro del polmone ( $p_{\text{trend}} = 0.004$ ) [Astrakianakis 2007]
- cancro dell'esofago ( $p_{\text{trend}} = 0.01$ ) [Wernli 2006]
- cancro dello stomaco ( $p_{\text{trend}} = 0.001$ ) [Wernli 2006]
- cancro del retto ( $p_{\text{trend}} = 0.08$ ) [De Roos 2005]
- cancro del fegato ( $p_{\text{trend}} = 0.02$ ) [Chang 2006]
- cancro del pancreas ( $p_{\text{trend}} = 0.001$ ) [Li 2006]
- cancro della mammella ( $p_{\text{trend}} = 0.001$ ) [Ray 2007]

# US National Center for Health Statistics, 2006

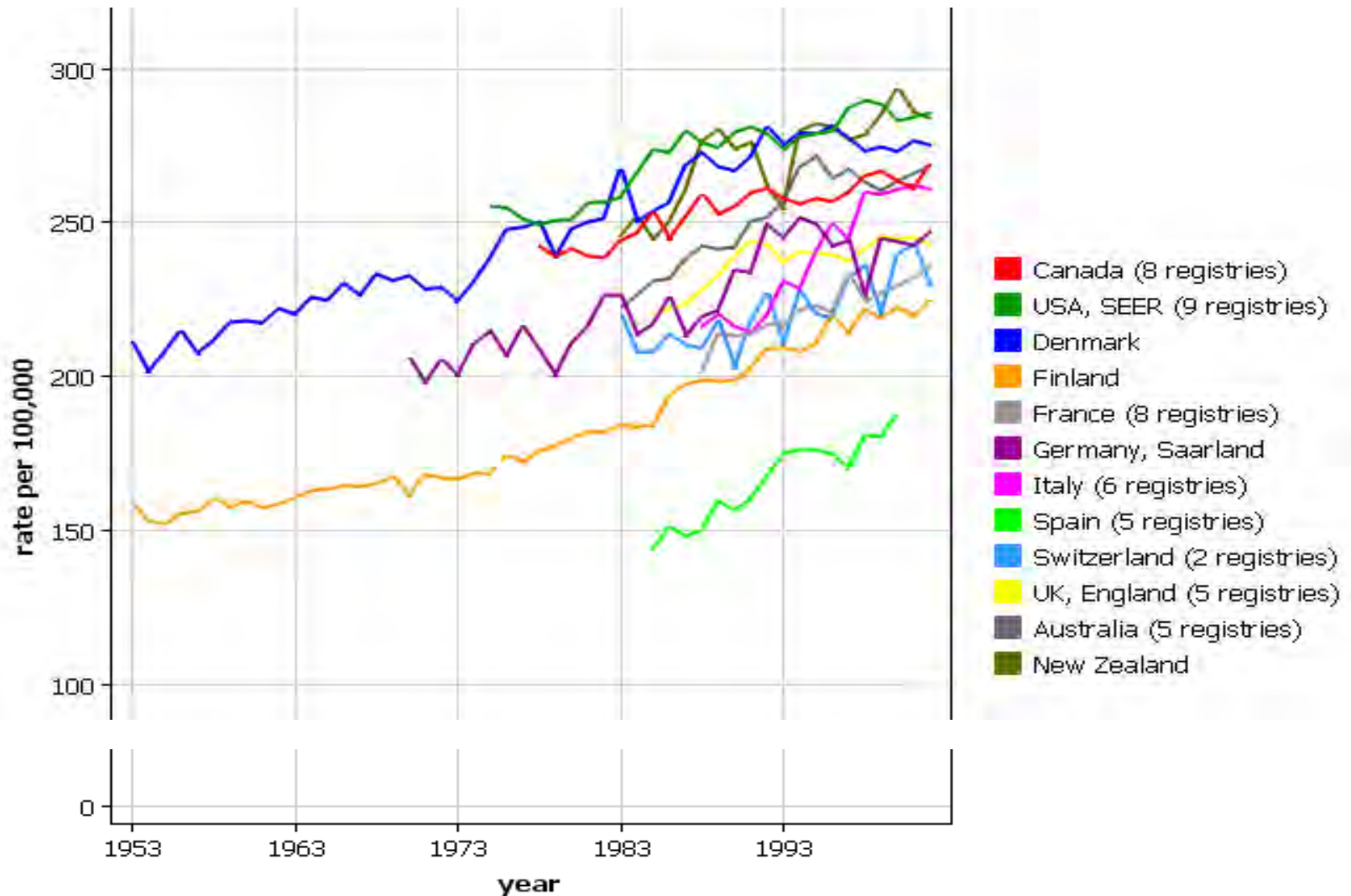






# IARC CancerMondial database

Time trend of age-standardized cancer incidence rates (all ages, females)



# Disegni di studi epidemiologici

## Studio Descrittivo

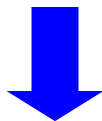
- In popolazioni
- Distribuzione:
  - tempo
  - spazio
  - persone



Indagini di popolazione

## Studio Osservazionale

- In individui
- Verifica ipotesi causali
- Controlli autoselezionati



Studio coorte



Studio caso-controllo

## Studio Sperimentale

- In individui
- Verifica ipotesi causali
- Controlli randomizzati

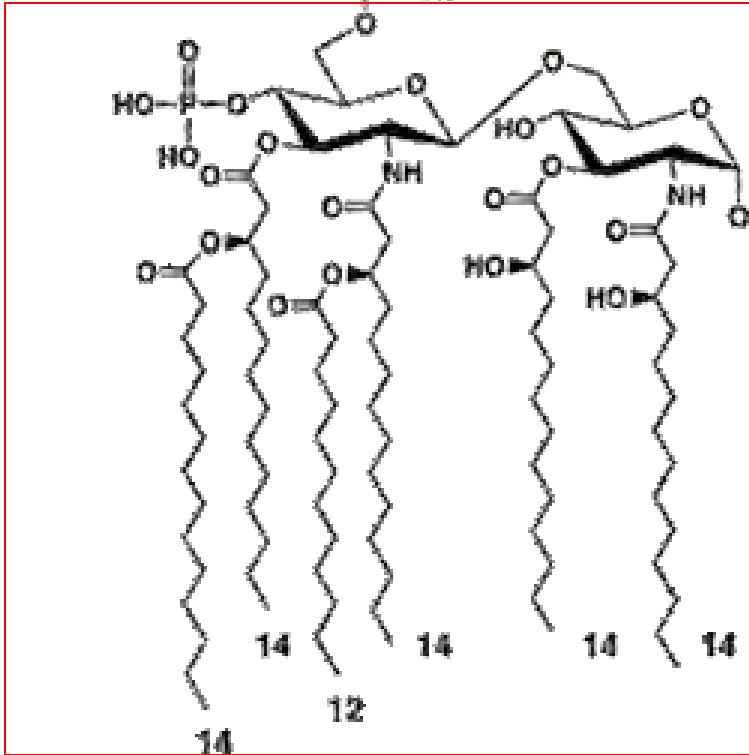
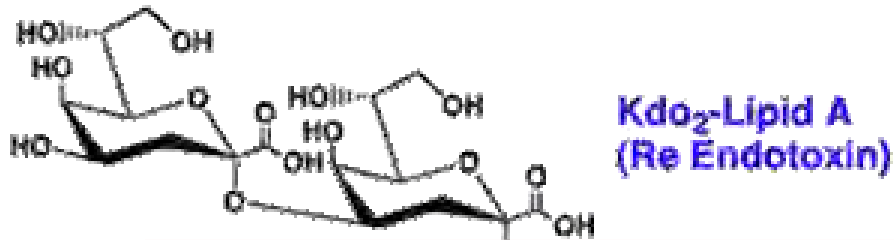


Randomized Controlled Trial

***Forza dell'evidenza di causalità tra fattore di rischio e malattia***

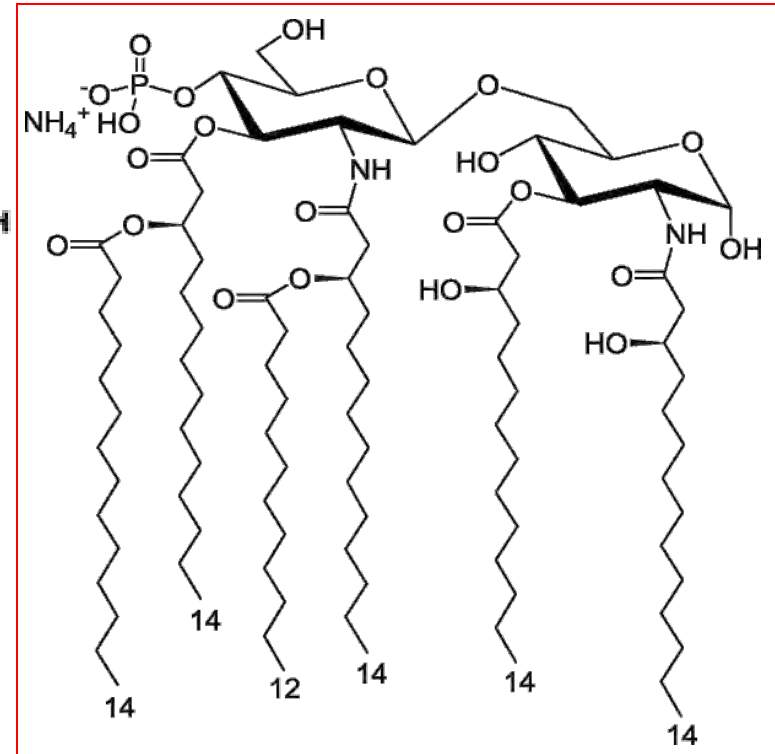


# Endotossina (Lipid-A) e Monophosphoril Lipid-A



La maggioranza dei batteri Gram-negativi sintetizza endotossine (Lipid A) la cui formula è simile a quella (vedi sopra) prodotta da E. coli

**Mono-phosphoril Lipid A (MPL®) è un derivato detossificato di Lipid A**



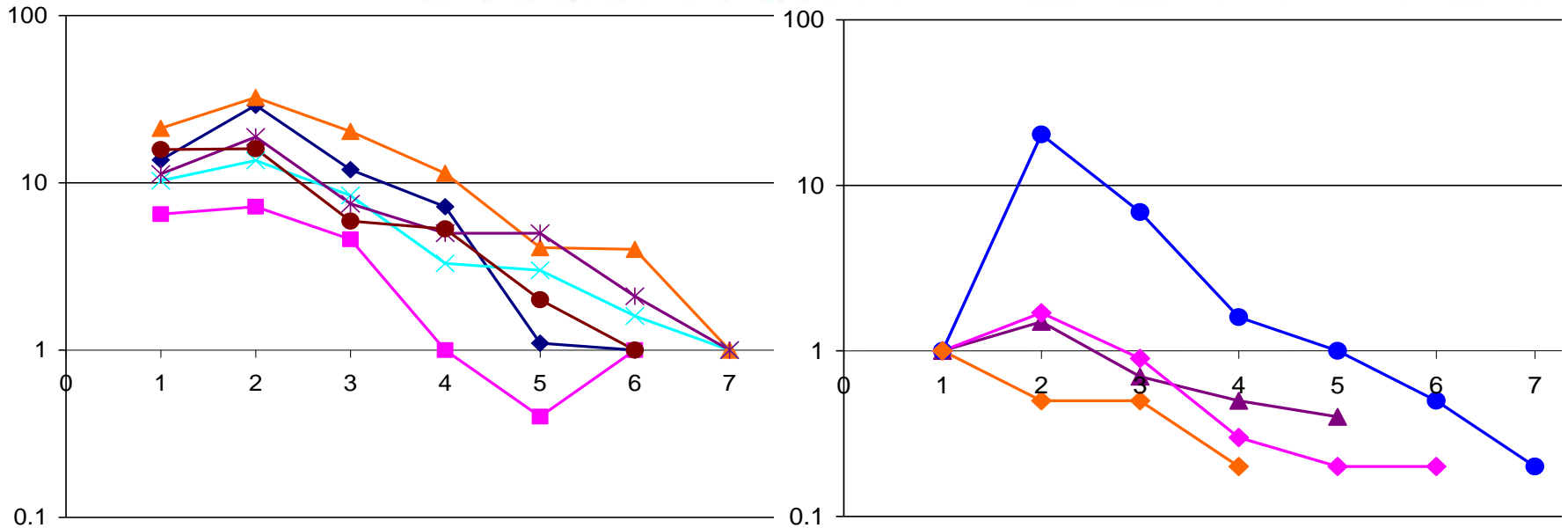
**MPL® conserva l'attività immunostimolante sulle cellule dendritiche, trasformando i linfociti TH<sub>2</sub> in TH<sub>1</sub>, che sopprimono lo sviluppo di allergia e asma**



ELSEVIER

# Elevated lung cancer risk shortly after smoking cessation: Is it due to a reduction of endotoxin exposure?

J.H. Lange <sup>a</sup>, G. Mastrangelo <sup>b,\*</sup>, E. Fadda <sup>b</sup>, G. Priolo <sup>b</sup>, D. Montemurro <sup>c</sup>,  
A. Buja <sup>b</sup>, J.M. Grange <sup>d</sup>



- ◆ Hammond (1966): 1,051,038 USA; M+F (20+ c/day)
- ▲ Garfinkel (1988): 619, 925 USA; F (20+ c/day)
- ✱ Rogot (1980): 293,958 USA; M (any c/day)
- Hammond (1966): 1,051,038 USA, M+F (1-19 c/day)
- ✧ Garfinkel (1988): 619,925 USA; F (1-19 c/day)
- Doll (1976): 40,636 UK; M+F (any c/day)

- ▲ Benhamou (1989): 1057/1503 France; M (any c/day)
- Pohlabein (1997): 839/839 Germany; M (any c/day)
- ◆ Bhurgri (2002): 282/561 Pakistan; M+F (any c/day)
- ◆ Suzuki (1994): 123/123 Brazil; M+F (any c/day)

# **Suggerimento di un nuovo studio**

**Studio clinico randomizzato controllato sull'incidenza di cancro in soggetti che hanno smesso di fumare da meno di 5 anni, trattati o non trattati con MPL**

# Endotoxin – mechanisms of action

