

Valutazione Epidemiologica degli effetti sulla salute in relazione alla contaminazione da arsenico nelle acque potabili

Studio di coorte di mortalità nella popolazione residente in provincia di Viterbo, 1990-2010

Giugno, 2014

A cura del Dipartimento Epidemiologia del S.S.R. Regione Lazio

Indice

Sintesi dei principali risultati.....	4
Introduzione	8
Fonti di esposizione ad arsenico ed effetti sulla salute	8
L'esposizione ad arsenico nella provincia di Viterbo	9
Il programma di sorveglianza epidemiologica nella Regione Lazio	10
Studio di coorte di mortalità nella popolazione residente in provincia di Viterbo, 1990-2010.....	11
OBIETTIVO	11
DISEGNO E POPOLAZIONE IN STUDIO	11
MATERIALI E METODI	11
Fonti dei dati.....	11
Selezione della coorte	12
Georeferenziazione della residenza dei soggetti.....	12
Ricostruzione dell'esposizione individuale "lifetime".....	13
Procedure di follow-up e dati sanitari	14
Confondenti	14
Analisi statistica	14
RISULTATI	15
Associazione tra esposizione ad arsenico e mortalità: indicatore As_I	16
Associazione tra esposizione ad arsenico e mortalità: indicatore CAI	17
Associazione tra esposizione ad arsenico e mortalità: indicatore LDI	18
DISCUSSIONE	19
Bibliografia.....	25

Sintesi dei principali risultati

Sintesi dei risultati

- Lo studio è stato svolto su incarico dell'Assessorato all'Ambiente della Regione Lazio nell'ambito del programma di sorveglianza epidemiologica attivo dal 2010 e coordinato dal Dipartimento di Epidemiologia del SSR. La **prima fase dello studio**, ultimata nell'aprile 2012, includeva i 91 comuni del Lazio con richiesta di deroga per i livelli di Arsenico (As) nelle acque destinate al consumo umano (Direttiva 98/83/EC). La prima fase dell'indagine, che ha utilizzato un approccio ecologico (analisi per dati aggregati a livello comunale), ha evidenziato la presenza di plausibili effetti sulla salute nelle popolazioni residenti in aree con livelli di As > 20 µg/L, in particolare in alcuni comuni della provincia di Viterbo (scarica il rapporto dal sito <http://www.deplazio.net/it/arsenico-nelle-acque>).
- Il presente rapporto riporta i risultati della **seconda fase dello studio**, uno studio eziologico che utilizza un disegno **di coorte**, relativo a **17 comuni della provincia di Viterbo**. Si è ritenuto prioritario effettuare lo studio in alcuni comuni della provincia di Viterbo, sia per i livelli di arsenico presenti, (tra i più elevati riscontrati nelle aree vulcaniche italiane, Preziosi et al. 2010), che per l'estensione delle aree interessate e la numerosità della popolazione esposta.
- L'obiettivo dello studio è quello di definire indicatori di esposizione ad As a livello individuale e di valutare nelle popolazioni esposte possibili effetti sulla mortalità per tumori (polmone, vescica, prostata, fegato, rene) e per malattie croniche (cause cardiovascolari, respiratorie e diabete)
- La coorte è costituita da **165.609 soggetti** residenti in 8 comuni più esposti (As > 20 µg/L, livello medio As = 36.4, fonte: ARPA) ed in 9 comuni meno esposti (As < 10 µg/L, valori medi As = 8.7 µg/L). Per ogni soggetto è stato stimato il livello di esposizione ad As attraverso un approccio geografico (Baastrup et al. 2008) utilizzando le mappe dei bacini di utenza fornite dai gestori locali degli acquedotti e le misure della concentrazione di As nei diversi punti di prelievo della rete idrica). Per ogni soggetto inoltre attraverso i dati anagrafici è stata ricostruita la storia residenziale nell'area ed è stata stimata la durata di esposizione.
- Nello studio vengono utilizzati diversi indicatori di esposizione individuale ad arsenico:
 - **As_t**, µg/L: indicatore di esposizione media che tiene conto dell'esposizione in tutte le residenze del soggetto nel corso della vita;
 - **CAI**, (cumulative arsenic index, in µg) e **LDI** (lifetime daily intake, in µg/kg di peso corporeo), due indicatori di esposizione cumulata che tengono conto della storia residenziale, della durata di residenza,

dell'intake medio giornaliero di acqua potabile e l'ultimo del peso corporeo medio età-specifico della popolazione italiana (INRAN 2012).

- La relazione tra i diversi indicatori di esposizione ad arsenico e la mortalità per tumori e malattie croniche è stata stimata utilizzando un'analisi della sopravvivenza (modelli di Cox, periodo follow up: 1990-2010); l'associazione è espressa in termini di **Hazard Ratios (HR)**. *Un $HR > 1$ indica la presenza di eccesso di rischio, valutato rispetto al gruppo di riferimento (esposti a livelli di $As < 10 \mu g/L$).* Le stime sono stratificate per genere ed aggiustate per età, periodo di calendario, livello socio-economico, occupazione nel settore della ceramica ed esposizione a radon.
- Nella coorte il 33% dei soggetti (54.221 residenti) sono stati esposti a valori di $As \leq 10 \mu g/L$, il 29% (48.379 residenti) a valori tra 10 e $20 \mu g/L$ e il 38% (63,009 residenti) a livelli superiori a $20 \mu g/L$. La durata media di esposizione nell'intera coorte è pari a circa 40 anni.
- **I risultati** evidenziano, in entrambi i generi, un eccesso di mortalità per tutte le cause naturali e per cause specifiche ($HR > 1$) nella popolazione esposta, con un gradiente di rischio crescente in maniera lineare all'aumentare della concentrazione di arsenico. Per la maggior parte delle cause i rischi sono più alti negli uomini rispetto alle donne.
- **Mortalità per tumori maligni:** la mortalità per tumore del polmone nei due gruppi di esposti considerati (As tra $10-20 \mu g/L$ e $As > 20 \mu g/L$) risulta in eccesso, con HR pari rispettivamente a 1.47 (IC 95% 1.17-1.86) e 1.83 (IC 95% 1.41-2.39) negli uomini ed a 1.80 (IC 95% 1.23-2.66) e 1.69 (IC 95% 1.18-2.42) nelle donne. Tra gli uomini si osserva inoltre una mortalità più elevata per il tumore al fegato ($HR=1.58$, IC95% 1.08, 2.33 per valori $> 20 \mu g/L$). Considerando l'indicatore **LDI** di intake lifetime, nel gruppo a maggior esposizione ($LDI > 75^o$ percentile) si evidenzia un eccesso di mortalità per il tumore della vescica negli uomini ($HR=3.35$) e per il tumore al rene nelle donne ($HR=3.64$).
- **Mortalità per cause cardiovascolari:** in entrambi i generi si osservano eccessi significativi per il grande gruppo di cause e per alcune delle sottocause analizzate; gli eccessi più alti sono stati osservati per le malattie ischemiche del cuore ed, in particolare, per infarto del miocardio negli uomini, e per le malattie cerebrovascolari (ictus) nelle donne. Gli eccessi si osservano per tutti gli indicatori di esposizione considerati.
- **Mortalità per cause respiratorie:** La mortalità per cause respiratorie e per broncopneumopatia cronico ostruttiva (BPCO) risulta in eccesso negli uomini ($HR=1.94$ e $HR=2.04$ nel livello più alto di esposizione). Nelle donne la mortalità per le malattie dell'apparato respiratorio è pari a $HR=1.51$ nel livello di esposizione 10-

20 µg/L. Gli eccessi per BPCO si osservano anche per l'indicatore cumulato che tiene conto della durata di esposizione.

- **Mortalità per diabete:** nelle donne si osserva un eccesso di mortalità per diabete mellito (HR=2.08 per valori $\geq 20\mu\text{g/L}$). Gli eccessi si osservano per tutti gli indicatori di esposizione considerati.
- Nello studio è stato possibile tener conto della durata di esposizione e si evidenzia che l'esposizione "life-time" ad arsenico tramite acqua potabile è associata ad un aumento di rischio di mortalità per tumore del polmone, malattie cardiovascolari, BPCO e diabete. Per la maggior parte delle cause analizzate e per tutti gli indicatori si osserva un gradiente di rischio all'aumentare del livello di esposizione.
- Il principale limite dello studio è rappresentato dalla mancanza di dati individuali su possibili confondenti (es. abitudine al fumo di sigaretta); in studi su coorti così estese è difficile disporre di informazioni individuali su potenziali confondenti come l'abitudine al fumo di sigaretta. Nello studio è stato possibile tuttavia tener conto dell'occupazione nell'industria della ceramica e di altri confondenti (radon e livello socio-economico) a livello di area.
- E' da sottolineare che gli indicatori utilizzati si basano su misure di arsenico nelle acque potabili e sulla storia residenziale. Il reale livello di intake di arsenico della popolazione in studio non è noto ed è difficile da misurare. A questo proposito è da rilevare che altre fonti di esposizione possono avere contribuito all'intake totale di arsenico inorganico attraverso la dieta, in particolare attraverso il consumo di prodotti agricoli locali irrigati con acqua contaminata da As (non oggetto delle attuali normative) o coltivati su suoli agricoli contaminati. Un piccolo studio di biomonitoraggio condotto nel 2010 dall'ISS (Reparto di Tossicologia Alimentare e Veterinaria) ha evidenziato elevati valori di arsenico nelle urine fra coloro che avevano utilizzato l'acqua locale sia per cucinare che per bere (Cubadda et al. 2012). Questi risultati sono stati confermati dallo studio *SePIAS-Sorveglianza epidemiologica in aree interessate da inquinamento ambientale da arsenico di origine naturale o antropica* (Bustaffa et al. 2014) condotto nel 2012, quando le amministrazioni del territorio avevano già emesso ordinanze di divieto di uso dell'acqua di rete per bere e cucinare.
- È in corso la **terza fase di studio** che verrà effettuata su un sottocampione della coorte di Viterbo e su un campione di esposti residenti nella ASL RM/E; è prevista la somministrazione di un questionario per raccogliere informazioni sul consumo di acqua potabile, la dieta, condizioni di salute e su possibili confondenti (occupazione e stili di vita). Successivamente sarà effettuato lo studio di biomonitoraggio per misurare la concentrazione di arsenico nelle urine e nelle unghie. Questa fase permetterà di caratterizzare in modo più accurato il contributo di arsenico attraverso l'acqua e la dieta, in particolare tenendo conto del possibile contributo degli alimenti prodotti dall'agricoltura locale.

- In conclusione, i risultati dello studio di coorte evidenziano eccessi di rischio nella popolazione residente in aree con livelli di arsenico superiori a 10 µg/L e sono coerenti con quanto riportato fino ad oggi in letteratura.
- Si sottolinea che i rischi osservati si riferiscono ad esposizioni croniche relative ai decenni passati, nei quali i livelli di arsenico potevano essere superiori a quelli attuali. I risultati indicano la necessità di un continuo monitoraggio dei livelli di contaminazione da As delle acque e di interventi di sanità pubblica per assicurare il rispetto dei limiti previsti dalla legislazione attualmente in vigore (direttiva 98/83/EC, As<10 µg/L).

Introduzione

Fonti di esposizione ad arsenico ed effetti sulla salute

L'arsenico (As) è stato classificato dalla IARC come cancerogeno per l'uomo (Gruppo 1) per il tumore del polmone, della cute e della vescica (IARC 2012). L'As rappresenta un rilevante fattore di rischio per la salute di popolazioni esposte principalmente attraverso l'acqua potabile e dieta. Nell'acqua questo elemento si ritrova sotto forma di As inorganico, mentre è presente come As organico principalmente nei cereali, nel pesce e nei molluschi.

Le evidenze disponibili in letteratura relative agli studi epidemiologici condotti fino ad oggi suggeriscono un nesso causale tra esposizioni croniche ad As e diverse patologie, non solo tumorali, in popolazioni esposte in aree endemiche a livelli di arsenico molto elevati (tra 200 e 2000 µg/L); sono più scarse invece le informazioni sui possibili effetti sulla salute di esposizioni prolungate a livelli di As a dosi più basse (<100 µg/L) (Celik et al. 2008; Mink et al. 2008; Begum et al. 2012; Maull et al. 2012; Moon et al. 2012). Per questi valori di esposizione le evidenze sono ancora insufficienti per caratterizzare la relazione dose-risposta e individuare un valore soglia di concentrazione al di sotto del quale non si manifestano effetti sulla salute (Schmidt 2014). Alcuni autori ritengono che, considerata l'elevata tossicità dell'As, in particolare dei suoi composti inorganici, e la molteplicità dei suoi effetti sulla salute, anche dosi molto inferiori di quelle ritenute rilevanti negli studi condotti fino ad oggi non possano ritenersi sicure (NRC 2001; EFSA 2009), mentre altri autori sostengono che l'arsenico possa essere cancerogeno solo al di sopra di dosi sufficientemente elevate da indurre danni citotossici e proliferazione cellulare (Cohen 2013). Di conseguenza il dibattito sul valore standard di sicurezza per la salute, attualmente fissato a 10 µg/L (DWD 98/83/EC) è ancora in corso (Schmidt 2014). Questo limite è stato stabilito dall'Unione Europea nel 1998 in base ad una revisione delle evidenze scientifiche effettuata dall'OMS e sulla base del principio di precauzione soprattutto per proteggere le fasce di popolazione più suscettibili.

È stato stimato in popolazioni residenti in aree non endemiche che l'esposizione ad arsenico inorganico sia attribuibile per il 35-45% al consumo di acqua potabile, per il 30% all'utilizzo dell'acqua per preparare gli alimenti e per il rimanente 25-30% all'assunzione di alimenti (Kurzius-Spencer 2014). Il contributo da parte degli alimenti diventa preponderante nelle aree dove l'arsenico è presente nell'acqua potabile a livelli "di fondo" (1.1-2.0 µg/L, EFSA 2014, Lucentini et al. 2013). Considerando l'esposizione aggregata dovuta ad acqua ed alimenti, in popolazioni residenti in aree non endemiche l'intake medio "lifetime" di arsenico inorganico è pari a 0.09-0.38 µg/kg di peso corporeo/giorno nella popolazione adulta (EFSA 2014), che corrispondono a 6.3-26.6 µg/giorno per un soggetto adulto di 70 kg (INRAN 2012); nelle popolazioni più esposte

l'intake medio può essere anche maggiore (95° percentile della distribuzione: 0.14-0.64 µg/kg di peso corporeo/giorno) (EFSA 2014).

L'esposizione ad arsenico nella provincia di Viterbo

In Italia il problema della contaminazione da As in acque potabili riguarda diverse regioni tra cui la Regione Lazio dove i livelli di As sono tra i più elevati registrati sul territorio nazionale (Cubadda et al. 2010; Baiocchi et al. 2011), in particolare nella provincia di Viterbo che è caratterizzata dalla presenza del sistema vulcanico Cimino-Vico, con un acquifero molto esteso che scorre in profondità all'interno delle rocce sedimentarie del Pliocene-Pleistocene. L'acquifero vulcanico è caratterizzato da formazioni geologiche caratterizzate da un elevato contenuto di arsenico, il più elevato riscontrato nelle aree vulcaniche italiane (Preziosi et al. 2010). L'arsenico viene rilasciato nelle acque sotterranee a causa delle interazioni acqua-roccia e di processi geotermici e raggiunge concentrazioni molto elevate nelle falde (fino a 130-370 mg/L), documentate fin dagli anni '70 (Angelone et al. 2009; Preziosi et al. 2010; Baiocchi et al. 2011). La falda acquifera vulcanica copre una vasta area di 5.500 km² e fornisce acqua per il consumo umano a circa 200.000 abitanti e per le attività agricole nella provincia di Viterbo (Angelone et al. 2009; Preziosi et al. 2010). L'elevato grado di contaminazione delle acque è confermato anche dall'elevato contenuto di arsenico fitodisponibile nei suoli agricoli che raggiunge il suo massimo nel Viterbese rispetto alle altre regioni italiane (Cubadda et al. 2010). In particolare, essendo l'agricoltura la principale attività economica dell'area e mancando in Italia un controllo normativo dell'acqua destinata all'irrigazione presente nei numerosi pozzi artesiani della zona, è probabile che la popolazione locale sia stata esposta da lungo tempo ad arsenico non solo attraverso l'acqua di rete usata per bere e cucinare, ma anche attraverso il consumo di alimenti del territorio irrigati con acqua contaminata. Tuttavia, l'effettivo livello di esposizione della popolazione non è noto. Solo di recente, un piccolo studio di biomonitoraggio condotto dall'Istituto Superiore di Sanità (Reparto di Tossicologia Alimentare e Veterinaria) ha fornito una prima indicazione dell'esposizione della popolazione locale, misurando il contenuto di arsenico nelle urine, come arsenico inorganico e suoi metaboliti (1.7-72.4 µg/L) e riportando valori ben al di sopra del range di riferimento (2-15 µg/L) per la popolazione italiana. Inoltre, le esposizioni di arsenico nelle urine e nelle unghie erano ancora maggiori fra coloro che avevano utilizzato l'acqua locale sia per cucinare che per bere (Cubadda et al. 2012).

Il problema della contaminazione da As è stato recentemente oggetto di un progetto multicentrico "Sorveglianza epidemiologica in aree interessate da inquinamento ambientale da arsenico di origine naturale o antropica-Progetto SEpiAs CCM 2010", nel quale è stata valutata l'esposizione ad As nella popolazione 20-44 anni in modo diretto

dalla misura dei livelli urinari ed ematici. Inoltre, lo studio prevedeva la valutazione di danno cromosomico ed epigenetico attraverso biomarcatori e di danno precoce cardiovascolare tramite specifici esami clinici. Lo studio è stato condotto nel 2012 nell'area di Viterbo (comuni di Civita Castellana e Ronciglione) e in altre tre aree a rischio per la presenza documentata d'inquinamento ambientale da arsenico di origine naturale o antropico: comuni di Abbadia San Salvatore e Piancastagnaio (Amiata), comune di Taranto, comune di Gela (Bustaffa 2014). L'analisi dei dati per l'area di Viterbo conferma livelli di arsenico urinario (mediana 1.36 µg/L, 75° percentile 1.75 µg/L) superiori ai valori di riferimento per la popolazione italiana, anche nel periodo successivo alla dichiarazione dello stato di emergenza durante il quale le autorità comunali hanno vietato l'utilizzo dell'acqua di rete per bere e cucinare.

Il programma di sorveglianza epidemiologica nella Regione Lazio

In tutte le aree della Regione Lazio interessate dall'emergenza arsenico il Dipartimento di Epidemiologia del Servizio Sanitario Regionale, su incarico dell'Assessorato all'Ambiente della Regione Lazio, ha attivato un programma di sorveglianza epidemiologica e sta conducendo dal 2011 una serie di indagini per accertare l'esposizione ad arsenico e valutare i possibili danni alla salute. Il programma è articolato in tre fasi:

- **Prima fase: studio ecologico.** L'indagine ha incluso le popolazioni residenti nei 91 comuni del Lazio in stato di emergenza,. I risultati principali, pubblicati ad aprile 2012 sono disponibili sul sito del Dipartimento di Epidemiologia (www.deplazio.net).
- **Seconda fase: studio di coorte.** Lo studio è limitato alla provincia di Viterbo che nel contesto regionale presenta le concentrazioni di As più elevate e la maggiore prevalenza di esposti. Lo studio di tipo etiologico utilizza dati individuali ed è stato condotto su circa 150,000 residenti in 17 comuni della provincia di Viterbo che includevano 8 comuni con arsenico maggiore di 20 µg/L e 9 comuni con arsenico minore di 10 µg/L; lo studio è stato recentemente concluso ed i metodi e i risultati dell'indagine sono descritti nel presente rapporto.
- **Terza fase: Indagine con questionario sul consumo di acqua e abitudini alimentari ed indagine di biomonitoraggio su un campione di popolazione selezionato all'interno dello studio di coorte.** L'indagine, in collaborazione con il Reparto di Tossicologia Alimentare e Veterinaria dell'Istituto Superiore di Sanità, è attualmente in corso.

Studio di coorte di mortalità nella popolazione residente in provincia di Viterbo, 1990-2010

OBIETTIVO

Lo studio è stato condotto con l'obiettivo di valutare l'associazione tra esposizione cronica ad As ed effetti sulla mortalità in un periodo di 20 anni (1990-2010) utilizzando un approccio spaziale per stimare l'esposizione ad arsenico a livello individuale. Inoltre, poiché la popolazione può essere stata esposta per lungo tempo e attraverso diverse fonti, lo studio si propone di stimare l'esposizione ad arsenico inorganico nella popolazione utilizzando diversi indicatori che tengano conto del livello di esposizione, dell'intake di acqua giornaliero e della durata della residenza.

DISEGNO E POPOLAZIONE IN STUDIO

Il disegno di studio utilizzato è quello di coorte. Sono stati selezionati 17 comuni inclusi nell'analisi ecologica residenti nel periodo 1990-2010. I comuni sono stati identificati sulla base del livello di As nelle acque destinate al consumo umano utilizzando il livello medio di As a livello comunale (dati ARPA) e classificato in due livelli:

- comuni esposti: con valori medi di esposizione ad $As > 20 \mu\text{g/L}$ (8 comuni)
- comuni non esposti: con valori medi di esposizione ad $As < 10 \mu\text{g/L}$ (9 comuni)

La popolazione in studio è quindi costituita dalla totalità della popolazione residente nel periodo 1990-2010 nei 2 gruppi di comuni selezionati (Figura 2, Parte A).

MATERIALI E METODI

Fonti dei dati

I dati relativi all'esposizione ad arsenico sono stati forniti da ARPA Lazio che raccoglie sistematicamente le rilevazioni effettuate per monitorare la qualità dell'acqua potabile di ogni acquedotto pubblico. Misurazioni puntuali della concentrazione di arsenico sono disponibili solo a partire dal 2005. Tuttavia per gli anni precedenti (periodo di interesse dello studio) i livelli di arsenico nella rete degli acquedotti pubblici si ritiene possano

essere considerati stabili per le caratteristiche geologiche degli acquiferi (Angelone 2009, Preziosi 2010) e per l'assenza di interventi strutturali sugli acquedotti.

In aggiunta ai dati di ARPA Lazio, per ricostruire i livelli di esposizione della popolazione residente sono state acquisite le mappe della rete idrica e le utenze servite dagli enti gestori.

La durata di esposizione è stata stimata attraverso la storia residenziale utilizzando i dati degli archivi anagrafici della popolazione residente per l'intero periodo in studio (fonte: Ufficio Anagrafe del Comune). I dati di mortalità sono stati estratti dall'archivio ReNCaM regionale.

Selezione della coorte

La coorte comprende tutti i soggetti residenti al 1 gennaio 1990 (o primo anno disponibile nel periodo in studio) e tutti i nati e gli immigrati negli anni successivi fino al 31 dicembre 2010.

Dagli archivi anagrafici comunali è stato quindi ricostruito un archivio di 165,609 residenti di cui 82,643 residenti nei comuni esposti e 82,966 residenti nei comuni non esposti (Figura 2, Parte A).

Georeferenziazione della residenza dei soggetti

Dagli archivi anagrafici comunali per ogni soggetto residente è stata ricostruita la storia di residenza utilizzando tutti i movimenti anagrafici avvenuti nel periodo in studio. A ciascuna residenza sono state attribuite le coordinate geografiche attraverso il software ArcGIS. A ogni indirizzo geocodificato è stata inoltre attribuita la sezione di censimento di residenza e l'indicatore di livello socio-economico (Caranci et al. 2010; Cesaroni et al. 2006). Il livello socioeconomico è una caratteristica dell'individuo di particolare interesse negli studi epidemiologici perché sono state documentate importanti differenze di salute a seconda del livello sociale, con una generale tendenza al peggioramento degli indici di mortalità e morbosità per le popolazioni di basso livello socioeconomico (Colais et al. 2013; Gallo et al. 2012).

La ricostruzione della storia di residenza dei soggetti della coorte consente una stima del livello di esposizione individuale nel corso della vita (lifetime) che tenga conto delle variazioni di residenza e della durata di ciascuna residenza.

Ricostruzione dell'esposizione individuale "lifetime"

Per attribuire a ciascun soggetto della coorte un indicatore individuale di esposizione ad arsenico, è stato utilizzato un approccio geografico (Baastrup et al. 2008) utilizzando le misure disponibili di arsenico a livello ambientale (mappe dei bacini di utenza fornite dai gestori locali degli acquedotti e le misure effettuate dall'ARPA in specifici punti di prelievo della rete idrica). A tutti gli indirizzi di residenza situati all'interno delle mappe dei bacini di utenza disponibili, è stata attribuita la concentrazione di arsenico stimata nel bacino di utenza di appartenenza. Per gli indirizzi di residenza esterni alle mappe, è stata invece attribuita la concentrazione di arsenico del più vicino punto di prelievo, tramite il metodo "point-to-point spatial join" (Voronoi method). Infine, agli indirizzi di residenza a cui non è stato possibile attribuire un riferimento geografico è stata assegnata la concentrazione di arsenico media comunale utilizzata nella precedente analisi ecologica (As_E).

Per ogni soggetto della coorte sono stati attribuiti tre indicatori di esposizione individuale ad arsenico (Ahsan 2006, Hough 2010):

1. As_i , µg/l: indicatore di esposizione media che tiene conto dell'esposizione in tutte le residenze del soggetto nel corso della vita;
2. CAI, µg: indicatore di esposizione cumulata che tiene conto dell'intera storia residenziale (cambi di residenza), della durata di ogni residenza e dell'intake medio giornaliero di acqua potabile. Tale indicatore è definito come segue: $CAI = \sum As_i \times D_i \times Q$, dove As_i corrisponde alla concentrazione di arsenico stimata a livello individuale alla residenza i , D_i durata espressa in giorni nella residenza i , $Q=0.8$ l/giorno, intake medio giornaliero di acqua potabile. L'intake medio giornaliero di acqua potabile (0.8 l/giorno) è stato desunto da una indagine dell'Istituto Nazionale della Nutrizione sommando gli intake medi giornalieri (g/giorno) di acqua utilizzata per bere e per preparare bevande non alcoliche (escluse bevande a base di latte), come caffè, tè e succhi (INRAN 2012)
3. LDI, lifetime daily intake, µg/kg b.w. per giorno: $LDI = \sum As_i \times Q / BW$. Questo indicatore dell'intake medio giornaliero di arsenico inorganico è calcolato come prodotto di As_i per l'intake medio giornaliero di acqua potabile ($Q=0.8$ l/giorno) diviso per il peso corporeo (BW) medio della popolazione italiana età-specifico (INRAN 2012), assumendo che l'intake giornaliero dell'arsenico sia attribuibile interamente al consumo di acqua. Questo indicatore di esposizione è stato utilizzato per effettuare un confronto con i valori di riferimento del Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JEFCA) di 15 µg/kg b.w. per settimana che corrispondono a 2.1 µg/kg b.w. per giorno e con i dati medi sull'esposizione cronica ad arsenico inorganico nelle popolazioni europee (EFSA 2014).

Procedure di follow-up e dati sanitari

Per ogni soggetto incluso nella coorte è stato accertato lo stato in vita alla fine del periodo in studio utilizzando gli archivi anagrafici dei comuni. Il follow-up dello stato in vita della coorte è stato effettuato al 31 dicembre 2010. Per ogni soggetto della coorte è stata quindi attribuita la fine del periodo di esposizione che corrispondeva alla data di decesso, o emigrazione o alla data di fine follow-up.

Per i soggetti deceduti la causa di morte (classificata secondo la revisione ICD-IX) è stata attribuita con procedure di linkage con il Registro nominativo delle cause di morte della Regione Lazio. Gli effetti a lungo termine dell'esposizione ad arsenico è stata valutata per tutte le cause di decesso risultate associate in studi precedenti. L'elenco delle cause analizzate è riportato in Tabella 1.

Confondenti

Come possibili confondenti, sono stati considerati l'anno di calendario, l'età e l'indicatore di posizione socioeconomica (Caranci et al. 2010).

Inoltre, poiché l'area in studio è caratterizzata dalla presenza di industrie della ceramica e poiché questa esposizione è associata ad alcuni esiti considerati nello studio (patologie respiratorie, tumore polmonare, tumore della vescica) si è deciso di tenere conto anche di questo potenziale confondente. I dati relativi all'occupazione nel settore della ceramica sono stati recuperati da uno studio di coorte precedente sui lavoratori occupati nell'industria della ceramica (Cavarani et al. 1995; Forastiere et al. 2002). Inoltre, come possibile confondente è stata valutata l'esposizione "indoor" a radon (Bq/m³) disponibile come valore medio a livello comunale per il periodo 2004-2008 (<http://www.arpalazio.net/main/agenti/radon3.php>).

Analisi statistica

L'associazione tra esposizione ad arsenico utilizzando i tre indicatori e la mortalità per tumori e per malattie croniche è stata valutata attraverso modelli di analisi della sopravvivenza (modelli di Cox). Per tener conto della maggior correlazione dei dati di soggetti appartenenti allo stesso comune e dell'eterogeneità tra diversi comuni, è stata inclusa nei modelli di Cox un'intercetta "random" per la variabile "comune di residenza" (Gutierrez 2002). È stata quindi effettuata un'analisi di sopravvivenza con "frailty condivise" (shared frailties Cox proportional hazard model), separatamente per uomini e

donne. Nell'analisi l'indicatore di esposizione cumulata (CAI) è stato considerato come variabile tempo-dipendente.

L'assunzione di rischi proporzionali è stata testata con il test Mantel-Cox) e nel caso in cui non fosse verificata sono stati utilizzati modelli di Cox stratificati. Tutti i modelli sono stati aggiustati per i possibili confondenti, considerando l'età dei soggetti come asse temporale. Per l'analisi, As_I è stato categorizzato in $As_I \leq 10 \mu\text{g/L}$, $10 < As_I < 20 \mu\text{g/L}$ e $As_I \geq 20 \mu\text{g/L}$, mentre gli altri due indicatori (CAI, LDI) sono stati categorizzati in base ai quartili: <25° percentile, 25°-75° percentile, >75° percentile. Gli Hazard Ratio (HR and 95% Confidence Intervals, 95%CI) sono stati stimati considerando $As_I < 10 \mu\text{g/L}$ oppure <25° percentile come categorie di riferimento. È stato effettuato un test per il trend tra le categorie di arsenico per valutare se ci fosse un andamento lineare nei rischi all'aumentare dei livelli di arsenico (significatività $p\text{-value} < 0.05$) (Greenland 1995).

Per tenere conto di un periodo minimo di latenza tra l'esposizione ad arsenico e il decesso per patologie croniche, tutte le analisi sono state ristrette ai soggetti con una durata di residenza di almeno 5 anni.

RISULTATI

La coorte arruolata è composta da 165,609 residenti, 82,169 uomini e 83,440 donne.

Nella figura 2 è riportata la distribuzione dell'esposizione calcolata a livello individuale (As_I) e quella calcolata a livello comunale (As_E). Rispetto a quest'ultima, l'indicatore individuale (As_I) mette in evidenza una più ampia eterogeneità all'interno dei comuni: il 33% della coorte (54.221 residenti) è esposta a valori di $As \leq 10 \mu\text{g/L}$, il 29% (48.379 residenti) a valori tra 10 e 20 $\mu\text{g/L}$ e il restante 38% (63,009 residenti) a concentrazioni superiori a 20 $\mu\text{g/L}$.

Nella coorte la concentrazione media di As_I è pari a 19.3 $\mu\text{g/L}$ e varia da 0.5 $\mu\text{g/L}$ (1° percentile) a 80.4 $\mu\text{g/L}$ (99° percentile). L'indicatore cumulato (CAI) è in media 630.6 μg , e varia da 12 μg (1° percentile) a 3.3 grammi (99° percentile). Il valore medio dell'intake giornaliero di arsenico (LDI) è pari a 0.27 $\mu\text{g/}$ per kg di peso corporeo al giorno, con range che varia da 0.01 (1° percentile) a 1.71 (99° percentile). Il livello medio di esposizione individuale ad arsenico varia da 6.5 $\mu\text{g/L}$ nella categoria $As_I < 10 \mu\text{g/L}$, a 13.7 $\mu\text{g/L}$ nella categoria 10-20 $\mu\text{g/L}$, a 34.6 $\mu\text{g/L}$ nella categoria $\geq 20 \mu\text{g/L}$ come mostrato in Figura 3.

La tabella 2 riporta le caratteristiche principali della coorte nei diversi livelli di As_I ($\leq 10 \mu\text{g/L}$, 10-20 $\mu\text{g/L}$, $> 20 \mu\text{g/L}$). Complessivamente il 90% degli indirizzi è stato

georeferenziato e al rimanente 10% degli indirizzi è stata assegnata la concentrazione media di arsenico stimata a livello comunale (As_E). L'età media all'arruolamento è di 32 anni e la durata media di esposizione è pari a 39.5 anni, con durata superiore a 20 anni in quasi il 70% dei soggetti. Quasi un quarto della popolazione risiede in sezioni di censimento con livello socio economico medio basso o basso, proporzione che tende ad aumentare all'aumento del livello di As_I . Come per il livello socio economico, anche la proporzione dei soggetti esposti a livelli di gas radon superiori a 200 Bq/m³ aumenta al crescere dell'esposizione (test per il trend $p<0.001$).

Escludendo i soggetti con durata di esposizione minore di 5 anni (26,809 soggetti), nella coorte composta di 138,800 individui si sono verificati 20,776 decessi per cause naturali. Il 67% dei deceduti erano residenti in aree con $As_I > 10 \mu\text{g/L}$. L'età media al decesso è di 66 anni, la percentuale dei decessi tra gli over 65 è significativamente più alta tra i deceduti esposti a valori $\leq 10 \mu\text{g/L}$ rispetto a coloro che sono stati esposti a $As_I > 20 \mu\text{g/L}$. Il 16% dei deceduti ha livello socio economico medio basso-basso, percentuale che raggiunge il 18% nel livello di As_I più elevato. Tra i deceduti, anche la percentuale di esposti a radon (valori superiori a 200 Bq/m³) cresce all'aumentare dell'esposizione ad arsenico (test per il trend $p<0.001$).

Associazione tra esposizione ad arsenico e mortalità: indicatore As_I

Nella tabella 3 sono riportati i risultati per l'indicatore As_I , separatamente per gli uomini e per le donne. In entrambi i generi si osserva un eccesso di mortalità per tutte le cause naturali e per cause specifiche nella popolazione esposta, con un gradiente di rischio crescente in maniera lineare all'aumentare della concentrazione di As_I . Per la maggior parte delle cause i rischi sono più alti negli uomini che nelle donne.

La **mortalità per tutti i tumori maligni** risulta in eccesso in entrambi i livelli di esposizione, sia negli uomini (HR=1.27 e HR=1.51) che nelle donne (HR=1.26 e HR=1.32).

Per le singoli sedi tumorali analizzate si osserva una mortalità significativamente più alta per **tumore del polmone** nei due gruppi esposti, con HR pari rispettivamente a 1.47 (IC 95% 1.17-1.86) e 1.83 (IC 95% 1.41-2.39) negli uomini ed a 1.80 (IC 95% 1.23-2.66) e 1.69 (IC 95% 1.18-2.42) nelle donne. Si osserva, inoltre, tra gli uomini una mortalità più elevata per **tumore al fegato** (HR=1.58, IC95% 1.08, 2.33 per $As_I > 20 \mu\text{g/L}$). Non si osservano eccessi di mortalità per tumore alla prostata, vescica e rene.

La mortalità per **cause cardiovascolari** risulta in eccesso in entrambe le classi di esposizione sia negli uomini che nelle donne. In entrambi i sessi si osservano eccessi

significativi per alcune delle sottocause analizzate. Sia negli uomini che nelle donne si osservano eccessi per malattie ischemiche del cuore, con eccessi sia per infarto del miocardio sia per aterosclerosi coronarica, e per malattie cerebrovascolari, con un eccesso specifico per ictus. Inoltre, negli uomini si osserva anche un eccesso per malattie delle arterie.

La mortalità per **cause respiratorie e per broncopneumopatia cronico ostruttiva (BPCO)** risulta in eccesso negli uomini in entrambi i livelli di esposizione (rispettivamente $HR=1.48$ e 1.94 e $HR=1.84$ e 2.04). La mortalità per le malattie dell'apparato respiratorio risulta in eccesso anche nelle donne nel livello di esposizione tra 10 e 20 $\mu g/L$ ($HR=1.51$).

Infine si osserva, solo nelle donne ed in entrambe le categorie di esposizione, una mortalità significativamente più alta per **diabete mellito** ($HR=2.12$ per 10-20 $\mu g/L$ e $HR=2.08$ per $As_I \geq 20 \mu g/L$).

Associazione tra esposizione ad arsenico e mortalità: indicatore CAI

I risultati dell'analisi di mortalità per l'indicatore CAI sono riportati nella tabella 4. L'analisi conferma i risultati ottenuti con l'indicatore As_I ed evidenzia associazioni più forti sia con la **mortalità generale** che per specifiche cause. Nel dettaglio, gli uomini con valore del CAI compreso tra il 25° e il 75° percentile della distribuzione hanno un rischio più elevato di morire per tutte le cause ($HR=1.59$) rispetto al riferimento, mentre il rischio risulta ancora più elevato, circa il doppio, tra coloro che sono esposti a livelli più elevati di CAI ($HR=2.02$, oltre il 75° percentile) con un trend statisticamente significativo ($p<0.001$). Associazioni significative ma meno forti si osservano nella popolazione femminile, con valori di HR pari a 1.45 per valori intermedi di CAI e pari a 1.59 per CAI > 75° percentile (p for trend <0.001).

Negli uomini l'eccesso di mortalità per **tumori maligni** è pari a 1.69, per livelli di CAI compresi tra il 25° e il 75° percentile, e pari a 2.17 tra i soggetti con livelli di CAI più elevati, mentre nelle donne i rischi sono rispettivamente pari a 1.73 e 2.08. Negli uomini la mortalità per **tumore del polmone** è significativamente maggiore rispetto al riferimento in entrambe le categorie di esposizione ($HR=2.03$ e 2.61 , rispettivamente), mentre nelle donne si osserva un eccesso solo nel livello di CAI più elevato.

I risultati dell'analisi di mortalità per le malattie cardiovascolari e per le specifiche sottocause confermano il quadro descritto dal precedente indicatore. In entrambi i generi si riscontrano dei rischi significativamente più alti rispetto a quelli osservati nel gruppo dei meno esposti sia per le malattie cardiovascolari che per le malattie ischemiche del cuore e per le malattie cerebrovascolari. Solo negli uomini si osservano eccessi di mortalità per infarto del miocardio.

Come osservato nell'analisi di mortalità con As_t , gli uomini presentano dei rischi più elevati sia per le malattie del sistema respiratorio, rispettivamente di 1.53 tra coloro che si trovano tra il 25° e il 75° percentile, e di 1.76 tra i più esposti; per BPCO i rischi sono rispettivamente di 2.20 e di 2.54. Nessun eccesso si osserva nella mortalità per diabete mellito negli uomini. Nelle donne non si osservano eccessi di mortalità per le malattie dell'apparato respiratorio e per BPCO, mentre si riscontra un eccesso tra coloro che sono esposte a valori più estremi di CAI per il diabete mellito con rischio pari a 2.56.

Associazione tra esposizione ad arsenico e mortalità: indicatore LDI

Sono riportati nella tabella 5 i risultati dell'analisi con l'indicatore di esposizione LDI. Si osserva un'associazione più forte tra LDI e la mortalità generale e per causa nelle donne rispetto a quella osservata negli uomini. In particolare, per la mortalità per cause naturali eccessi significativi si osservano nella categoria intermedia di esposizione, tra il 25°-75° percentile, e nella categoria più estrema, superiore al 75° percentile; nelle donne con rischi rispettivamente di 1.45 e di 1.79, mentre, negli uomini, si osserva un eccesso significativo solo nella categoria di esposizione più estrema con $HR=1.47$.

In entrambi i generi si osservano eccessi di mortalità per tutti i tumori maligni e tra questi, per tumore del polmone e per tumore del fegato. Negli uomini gli eccessi si osservano solo tra coloro che hanno valori di LDI superiori al 75° percentile con rischi rispettivamente di 1.62, 1.72 e 2.05, mentre nelle donne gli eccessi si osservano anche tra coloro che hanno valori di LDI compresi tra il 25° e il 75° percentile. Negli uomini con $LDI > 75^\circ$ percentile si osserva una mortalità significativamente più alta per tumore alla vescica ($HR=3.35$). Nelle donne con $LDI > 75^\circ$ percentile si osserva un eccesso anche per tumore al rene ai limiti della significatività statistica ($HR=3.64$).

Gli eccessi di mortalità si osservano anche per le malattie del sistema circolatorio e le relative sottocause. Negli uomini con $LDI > 75^\circ$ percentile si osservano eccessi per il grande gruppo delle malattie del sistema circolatorio ($HR=1.55$), delle malattie ischemiche del cuore ($HR=1.68$), per infarto del miocardio ($HR=1.85$) e per ictus ($HR=1.52$). La mortalità per ictus negli uomini risulta in eccesso anche per valori di LDI compresi tra il 25° e il 75° percentile. Nelle donne il quadro di mortalità relativo a questo

gruppo di cause risulta essere maggiormente compromesso rispetto a quanto osservato nel genere maschile: in entrambe le categorie di esposizione sono presenti eccessi di mortalità per tutte le cause cardiovascolari considerate.

Negli uomini, la mortalità per le malattie dell'apparato respiratorio, per BPCO e per diabete mellito risulta essere simile a quella della popolazione di riferimento. Nelle donne, invece, si osservano eccessi di mortalità sia per il grande gruppo delle malattie dell'apparato respiratorio che per il diabete mellito.

DISCUSSIONE

Lo studio di coorte effettuato nella provincia di Viterbo rappresenta uno dei più grandi studi condotti in Europa su popolazioni esposte a dosi di arsenico inferiori a 100 µg/L nelle acque destinate al consumo umano. È rilevante la lunga durata di esposizione (in media 40 anni) dei soggetti inclusi nello studio. I risultati forniscono nuove evidenze che anche in aree non endemiche in popolazioni esposte da lungo tempo, l'arsenico possa avere numerosi effetti sulla salute. Eccessi di mortalità si evidenziano in particolare per il tumore polmonare, le malattie del sistema circolatorio, le malattie respiratorie e il diabete, con rischi anche due volte superiori a quelli delle popolazioni di riferimento. I rischi tendono ad aumentare in modo lineare all'aumentare della concentrazione di arsenico. È importante notare che il gruppo di riferimento è anch'esso esposto ad arsenico, sebbene a livelli inferiori a 10 µg/L (6.5 µg/L in media), e quindi gli effetti stimati nello studio potrebbero essere anche maggiori se confrontati con una popolazione di non esposti. La grande dimensione campionaria è un importante valore dello studio di coorte, poiché i pochi studi finora condotti evidenziano deboli associazioni per la bassa numerosità campionaria (Baastrup et al. 2008; García-Esquinas et al. 2013; Gibb et al. 2011; James et al. 2013; Jovanovic et al. 2013; Leonardi 2012; Medrano et al. 2010; Moon et al. 2013).

Lo studio ha ricostruito l'esposizione lifetime ad arsenico da acqua potabile a livello individuale, attraverso l'identificazione del bacino di utenza idrico, i livelli di As misurati nella rete degli acquedotti e la durata di residenza.

È invece da rilevare che un limite dello studio è rappresentato dalla mancanza di misure di esposizione relative ad anni precedenti al 2005. Tuttavia, gli studi ambientali disponibili documentano che i livelli di arsenico nelle acque sono rimasti costanti durante tutto il periodo in studio per la stabilità dei processi geologici sottostanti (Angelone et al. 2009; Preziosi et al. 2010) e poiché nessun intervento strutturale è stato effettuato prima del 2010.

Nel nostro studio l'effetto dell'arsenico sembra essere più forte negli uomini rispetto alle donne per la maggior parte delle cause considerate e questo risultato è supportato da studi precedenti (Ahsan et al. 2006; Steinmaus et al. 2007). Il differente effetto osservato nei due generi potrebbe essere spiegato da differenze biologiche, ad esempio di tipo ormonale, come suggerito da studi sperimentali che hanno dimostrato un'interazione dell'arsenico con gli ormoni steroidei (Lindberg et al. 2007, 2008; Tseng 2009; Waalkes et al. 2007). Inoltre, potrebbero esistere delle differenze di genere nella efficienza di metilazione, come suggerito dal biomonitoraggio condotto nell'area di Viterbo nell'ambito dello studio SepiAS (Bustaffa et al. 2014). Non possono essere esclusi possibili effetti di confondimento, per esempio legati ad esposizioni occupazionali o al fumo di sigaretta, più diffusi negli uomini.

I risultati ottenuti per tutti i tumori maligni supportano, in particolare, un'associazione dell'As con il tumore polmonare. Solo di recente, un altro studio di coorte in un paese non endemico ha mostrato effetti simili a quelli rilevati nel nostro studio (Garcia-Esquinas et al. 2013), mentre una precedente meta-analisi su soggetti esposti a dosi relativamente basse aveva trovato associazioni ai limiti della significatività statistica per questa patologia (Begum et al. 2012; Celik et al. 2008). Considerata la plausibilità biologica dell'associazione arsenico-tumore del polmone i risultati dello studio di coorte sono coerenti con la valutazione IARC di cancerogeno gruppo 1 per l'As (IARC 2012). Soprattutto per il tumore del polmone uno dei più importanti limiti dello studio è quello di non aver potuto tener conto del confondimento dell'abitudine al fumo.

Considerando le altre sedi tumorali, i risultati non sono sempre coerenti per i tre indicatori di esposizione considerati; infatti un'associazione dell'arsenico con il tumore del fegato si osserva negli uomini per As_I e in entrambi i generi per l'indicatore individuale di intake (LDI), mentre l'associazione con il tumore della vescica negli uomini e quella più debole con il tumore del rene nelle donne si osservano solo per LDI. Per questi tumori l'evidenza da studi sulle basse dosi è ancora controversa (Begum et al. 2012; IARC 2012; Mink et al. 2008), ma è importante notare che tutti questi tumori hanno un rischio di mortalità nel corso della vita piuttosto basso (<http://www.deplazio.net/>) che richiede probabilmente una maggiore numerosità campionaria perché sia messa in evidenza una possibile associazione con l'arsenico (Gibb et al. 2011).

L'analisi suggerisce un effetto dell'arsenico sulla mortalità per malattie del sistema circolatorio, principalmente imputabile alle malattie ischemiche del cuore e, in particolare, all'infarto del miocardio negli uomini, ed alle malattie cerebrovascolari e in particolare all'ictus nelle donne. I risultati supportano l'associazione con queste cause anche a dosi di arsenico basse-moderate, coerentemente con un altro studio effettuato in aree non endemiche (Moon et al. 2013), mentre una precedente meta-analisi su basse dosi non aveva messo in evidenza alcuna associazione significativa a causa della

manca di studi con disegno prospettico e per limiti nella misura dell'esposizione e dell'esito (Moon et al. 2012). A supporto dei risultati del presente studio, una serie di recenti indagini epidemiologiche su popolazioni esposte a dosi basse o moderate ha messo in evidenza associazioni con indicatori di danno cardiaco preclinico, quali placche carotidee, aumento dello spessore medio intinale, disfunzione endoteliale e infiammazione vascolare (Moon et al. 2012; Moon et al. 2013), e studi sperimentali stanno chiarendo i meccanismi patogenetici (Balakumar and Kaur 2009).

Lo studio fornisce evidenza di un'associazione con la mortalità per diabete. I risultati sono coerenti con un altro studio di coorte su popolazioni non endemiche (James et al. 2013), mentre gli studi precedenti sulle basse dosi avevano fornito risultati contrastanti (Maull et al. 2012), ad eccezione di pochi studi in cui la misurazione dell'outcome era stata effettuata in modo più accurato (ad esempio, tramite i livelli ematici di glucosio a digiuno) che mostravano associazioni positive (Maull et al. 2012). Nella coorte in studio l'effetto è limitato alle donne, analogamente a quanto già evidenziato negli Stati Uniti (James 2013). Questa maggiore suscettibilità delle donne può avere una plausibilità biologica (Chiou et al. 2005).

Infine è stato evidenziato un effetto dell'As sulle cause respiratorie e, in particolare, sulla BPCO con associazioni più consistenti negli uomini. Nessun confronto diretto con altri studi è possibile a causa del fatto che gli studi disponibili sulle basse dosi sono limitati per questo outcome e avevano valutato esiti diversi, come la prevalenza di sintomi respiratori o la funzione polmonare (Amster et al. 2011; Meliker 2007; Parvez et al. 2010, 2013). Studi sperimentali sembrano invece supportare i risultati dello studio di coorte. Una esposizione ad arsenico è stata associata ad una ridotta risposta immunitaria ad infezioni respiratorie a causa di una alterata espressione dei geni per le citochine e dei loro recettori (Kožel et al. 2009). Altri possibili meccanismi consistono nell'accumulo dell'arsenico nell'epitelio polmonare causando infiammazione dei tessuti e conseguente fibrosi polmonare e insufficienza respiratoria (Parvez et al. 2010) oppure in un danno a livello delle cellule Clara dell'epitelio alveolare con ridotta secrezione della proteina anti-infiammatoria CC16 (Parvez et al. 2008).

Gli indicatori utilizzati si basano su misure di arsenico nelle acque potabili e sulla storia residenziale. Il reale livello di intake di arsenico della popolazione in studio non è noto ed è difficile da misurare. È probabile che le dosi giornaliere effettive siano ancora maggiori e che l'esposizione ad arsenico inorganico nella coorte sia stata sottostimata perché nello studio non si è potuto tener conto del contributo di arsenico attraverso gli alimenti che nelle popolazioni che vivono in aree non endemiche può raggiungere il 50-60% (Kurzius-Spencer et al. 2014). Essendo l'area di Viterbo ad economia prevalentemente rurale, si può assumere non trascurabile la quota di arsenico legata al consumo di alimenti locali. Questo è plausibile anche considerando che le acque destinate all'irrigazione nel

territorio, in molti casi provenienti da pozzi artesiani privati, non sono oggetto della normativa vigente e possono raggiungere livelli di contaminazione anche elevati. I risultati del recente studio SepiAs confermano un livello di esposizione nell'area in studio al di sopra dei parametri di riferimento anche dopo il 2010 (Bustaffa et al. 2014), quando le amministrazioni locali avevano già emanato i divieti per l'utilizzo dell'acqua di rete per bere e cucinare (media geometrica campione di Viterbo pari a 1.93 µg/L vs 1.5 µg/L del riferimento).

Un limite dello studio è rappresentato dalla mancanza di misure dirette dell'intake individuale che possono essere derivate soltanto da campagne di biomonitoraggio e indagini tramite questionario sulla dieta, strumenti non utilizzabili in uno studio di queste dimensioni. Tuttavia l'indicatore LDI da noi stimato pari a 0.27 µg/kg di peso corporeo/giorno in media, conferma gli elevati livelli di esposizione della popolazione in studio essendo compreso nel 95° percentile del valore delle popolazioni europee (0.14-0.64 µg/kg di peso corporeo/giorno) (EFSA 2014).

La terza fase di indagine nell'area di Viterbo, condotta su un sottocampione della coorte, prevede uno studio di biomonitoraggio e una survey con questionario dettagliato sulla dieta e sulle abitudini legate al consumo di acqua per bere e per la preparazione degli alimenti. I risultati dell'indagine permetteranno di ottenere una stima più accurata dell'esposizione aggregata ad arsenico considerando le molteplici fonti di esposizione (acqua di rete, prodotti agricoli irrigati con acqua di pozzo, acque non controllate dalla normativa). Lo studio valuterà inoltre l'utilizzo dell'acqua di rete per cucinare utilizzando lo strumento già validato in un piccolo studio di biomonitoraggio condotto nel 2010 dall'ISS (Reparto di Tossicologia Alimentare e Veterinaria) che aveva evidenziato elevati valori di arsenico nelle urine fra coloro che avevano utilizzato l'acqua locale sia per cucinare che per bere (Cubadda et al. 2012).

I risultati dello studio documentano associazioni dell'arsenico sulla mortalità per diverse patologie, ma non è possibile escludere che gli effetti osservati siano almeno in parte da attribuire a fattori di rischio per le stesse patologie, quali il fumo ed in generale gli stili di vita a rischio, per i quali non sono disponibili informazioni a livello individuale. È stato invece possibile valutare il ruolo del confondimento attribuibile alla posizione socio-economica, all'esposizione a radon (a livello di area) e all'occupazione nel settore della ceramica e all'età (a livello individuale).

In conclusione, lo studio evidenzia che un'esposizione lifetime ad arsenico tramite acqua potabile è associata ad un aumento di rischio di mortalità per tumore del polmone, malattie cardiovascolari, BPCO e diabete. Lo studio fornisce nuove evidenze per la valutazione del rischio in popolazioni esposte in aree non endemiche e contribuisce al dibattito ancora aperto sulla definizione di una dose soglia che rappresenti un rischio per la salute (Schmidt 2014). Considerata la peculiare struttura idrogeologica dell'area di

studio che ha determinato una continua esposizione ad arsenico della popolazione, gli effetti osservati sulla salute sottolineano l'urgenza di garantire il rispetto del limite di 10 µg/L nelle acque destinate al consumo umano in aree non endemiche come la provincia di Viterbo.

Bibliografia

1. Ahsan H, Chen Y, Parvez F, Zablotska L, Argos M, Hussain I, Momotaj H, Levy D, Cheng Z, Slavkovich V, van Geen A, Howe GR, Graziano JH. Arsenic exposure from drinking water and risk of premalignant skin lesions in Bangladesh: baseline results from the Health Effects of Arsenic Longitudinal Study. *Am J Epidemiol*. 2006 Jun 15;163(12):1138-48. Epub 2006 Apr 19.
2. Amster ED, Cho JI, Christiani D. Urine arsenic concentration and obstructive pulmonary disease in the U.S. population. *J Toxicol Environ Health A*. 2011;74(11):716-27. doi: 10.1080/15287394.2011.556060.
3. Angelone M, Cremisini C, Piscopo V, Proposito M, Spaziani F. Influence of hydrostratigraphy and structural setting on the arsenic occurrence in groundwater of the Cimino-Vico volcanic area (central Italy). *Hydrogeology Journal* (2009) 17: 901–914.
4. Baastrup R, Sørensen M, Balstrøm T, Frederiksen K, Larsen CL, Tjønneland A, Overvad K, Raaschou-Nielsen O. Arsenic in drinking-water and risk for cancer in Denmark. *Environ Health Perspect*. 2008 Feb;116(2):231-7. doi: 10.1289/ehp.10623.
5. Baiocchi A, Lotti F, Piscopo V. Influence of hydrogeological setting on the arsenic occurrence in groundwater of the volcanic areas of central and southern Italy. *AQUA mundi* (2011) - Am04035: 131 - 142
6. Balakumar P, Kaur J. Arsenic exposure and cardiovascular disorders: an overview. *Cardiovasc Toxicol*. 2009 Dec;9(4):169-76. doi: 10.1007/s12012-009-9050-6. Review.
7. Begum M, Horowitz J, Hossain MI. Low-Dose Risk Assessment for Arsenic: A Meta-Analysis Approach. *Asia Pac J Public Health*. 2012 Nov 27. [Epub ahead of print]
8. Benbrahim-Tallaa L, Waalkes MP. 2008. Inorganic Arsenic and Human Prostate Cancer. *Environ Health Perspect* 116:158–164.
9. Bustaffa E, Minichilli F, Bianchi F. Studies on markers of exposure and early effect in areas with arsenic pollution: methods and results of the projects SepiAs. *Epidemiol Prev* 2014; 38(3-4) suppl 1: 1-94.
10. Caranci N, Biggeri A, Grisotto L, Pacelli B, Spadea T, Costa G. [The Italian deprivation index at census block level: definition, description and association with general mortality]. *Epidemiol Prev*. 2010 Jul-Aug;34(4):167-76.

11. Cavariani F, Di Pietro A, Miceli M, Forastiere F, Biggeri A, Scavalli P, Petti A, Borgia P. Incidence of silicosis among ceramic workers in central Italy. *Scand J Work Environ Health*. 1995;21 Suppl 2:58-62.
12. Celik I, Gallicchio L, Boyd K, Lam TK, Matanoski G, Tao X, Shiels M, Hammond E, Chen L, Robinson KA, Caulfield LE, Herman JG, Guallar E, Alberg AJ. Arsenic in drinking water and lung cancer: a systematic review. *Environ Res*. 2008 Sep;108(1):48-55.
13. Cesaroni G, Agabiti N, Rosati R, Forastiere F, Perucci CA. 2006. [An index of socioeconomic position based on 2001 Census, Rome]. *Epidemiol Prev*. Nov-Dec;30(6):352-7. Italian.
14. Chiou JM1, Wang SL, Chen CJ, Deng CR, Lin W, Tai TY. Arsenic ingestion and increased microvascular disease risk: observations from the south-western arseniasis-endemic area in Taiwan. *Int J Epidemiol*. 2005 Aug;34(4):936-43. Epub 2005 May 23.
15. Cohen SM, Arnold LL, Beck BD, Lewis AS, Eldan M. Evaluation of the carcinogenicity of inorganic arsenic. *Crit Rev Toxicol*, 2013; 43(9): 711–752.
16. Colais P, Agabiti N, Fusco D, Pinnarelli L, Sorge C, Perucci CA, Davoli M Inequality in 30-day mortality and the wait for surgery after hip fracture: the impact of the regional health care evaluation program in Lazio (Italy)..*Int J Qual Health Care*. 2013 Jul;25(3):239-47. doi: 10.1093/intqhc/mzs082. Epub 2013 Jan 18.
17. Cubadda F, Ciardullo S, D'Amato M, Raggi A, Aureli F, Carcea M. Arsenic contamination of the environment-food chain: a survey on wheat as a test plant to investigate phytoavailable arsenic in Italian agricultural soils and as a source of inorganic arsenic in the diet. *J. Agric. Food Chem*. 2010, 58, 10176–10183. DOI:10.1021/jf102084p
18. Cubadda F, Aureli F, D'Amato M, Raggi A, Turco AC, Mantovani A. Speciated urinary arsenic as a biomarker of dietary exposure to inorganic arsenic in residents living in high-arsenic areas in Latium, Italy. *Pure Appl. Chem.*, Vol. 84, No. 2, pp. 203–214, 2012.
19. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM)2, 3 SCIENTIFIC OPINION Scientific Opinion on Arsenic in Food. *EFSA Journal* 2009; 7(10):1351
20. European Food Safety Authority – EFSA. Scientific Report of EFSA. Dietary exposure to inorganic arsenic in the European population. *EFSA Journal* 2014;12(3):3597.

21. Forastiere F, Goldsmith DF, Sperati A, Rapiti E, Miceli M, Cavariani F, Perucci CA. Silicosis and lung function decrements among female ceramic workers in Italy. *Am J Epidemiol*. 2002 Nov 1;156(9):851-6.
22. Gallo V, Mackenbach JP, Ezzati M, Menvielle G, Kunst AE, Rohrmann S, et al. Social inequalities and mortality in Europe--results from a large multi-national cohort. *PLoS One*. 2012;7(7):e39013. doi: 10.1371/journal.pone.0039013.
23. García-Esquinas E, Pollán M, Umans JG, Francesconi KA, Goessler W, Guallar E, Howard B, Farley J, Best LG, Navas-Acien A. Arsenic exposure and cancer mortality in a US-based prospective cohort: the strong heart study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013 Nov;22(11):1944-53. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0234-T. Epub 2013 Oct 17.
24. Gibb H, Haver C, Gaylor D, Ramasamy S, Lee JS, Lobdell D, Wade T, Chen C, White P, Sams R. Utility of recent studies to assess the National Research Council 2001 estimates of cancer risk from ingested arsenic. *Environ Health Perspect*. 2011 Mar;119(3):284-90. doi: 10.1289/ehp.1002427. Epub 2010 Oct 27.
25. Greenland S. 1995. Dose-response and trend analysis in epidemiology: alter natives to categorical analysis. *Epidemiology* 6,356–365.
26. Gutierrez RG. Parametric frailty and shared frailty survival models, *The Stata Journal* (2002) 2, Number 1, pp. 22–44
27. Hough RL, Fletcher T, Leonardi GS, Goessler W, Gnagnarella P, Clemens F, Gurzau E, Koppova K, Rudnai P, Kumar R, Vahter M. Lifetime exposure to arsenic in residential drinking water in Central Europe. *Int Arch Occup Environ Health*. 2010 Jun;83(5):471-81. doi: 10.1007/s00420-010-0519-1. Epub 2010 Apr 17.
28. Huang CF, Chen YW, Yang CY, Tsai KS, Yang RS, Liu SH. 2011. Arsenic and diabetes: Current perspectives. *Kaohsiung J Med Sci* 27:402-410.
29. Huang CY, Su CT, Chu JS, Huang SP, Pu YS, Yang HY, et al. 2011. The polymorphisms of P53 codon 72 and MDM2 SNP309 and renal cell carcinoma risk in a low arsenic exposure area. *Toxicol Appl Pharmacol* 257:349–355 IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Arsenic, metals, fibres, and dusts. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. 2012;100(Pt C):11-465.
30. INRAN - National Institute of Research for Food and Nutrition. 2012. Italian food consumption survey 2005-2006 INRAN_SCAI 2005-06 http://nut.entecra.it/710/I_consumi_alimentari__INRAN-SCAI_2005-06.html

31. James KA, Marshall JA, Hokanson JE, Meliker JR, Zerbe GO, Byers TE. A case-cohort study examining lifetime exposure to inorganic arsenic in drinking water and diabetes mellitus. *Environ Res.* 2013 May;123:33-8. doi: 10.1016/j.envres.2013.02.005. Epub 2013 Mar 15.
32. Jovanovic D, Rasic-Milutinovic Z, Paunovic K, Jakovljevic B, Plavsic S, Milosevic J. Low levels of arsenic in drinking water and type 2 diabetes in Middle Banat region, Serbia. *Int J Hyg Environ Health.* 2013 Jan;216(1):50-5. doi: 10.1016/j.ijheh.2012
33. Kitchin KT, Conolly R. 2010. Arsenic-induced carcinogenesis oxidative stress as a possible mode of action and future research needs for more biologically based risk assessment. *Chem Res Toxicol* 23:327-335
34. Kozul CD, Ely KH, Enelow RI, Hamilton JW. Low-dose arsenic compromises the immune response to influenza A infection in vivo. *Environ Health Perspect.* 2009 Sep;117(9):1441-7. doi: 10.1289/ehp.0900911. Epub 2009 May 20.
35. Kurzius-Spencer M, Burgess JL, Harris RB, Hartz V, Roberge J, Huang S, Hsu CH, O'Rourke MK. Contribution of diet to aggregate arsenic exposures-an analysis across populations. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2014 Mar-Apr;24(2):156-62. doi: 10.1038/jes.2013.37. Epub 2013 Jul 17.
36. Leonardi G, Vahter M, Clemens F, Goessler W, Gurzau E, Hemminki K, Hough R, Koppova K, Kumar R, Rudnai P, Surdu S, Fletcher T. Inorganic arsenic and basal cell carcinoma in areas of Hungary, Romania, and Slovakia: a case-control study. *Environ Health Perspect* 2012; 120(5): 721-726.
37. Lindberg AL, Kumar R, Goessler W, Thirumaran R, Gurzau E, Koppova K, Rudnai P, Leonardi G, Fletcher T, Vahter M. Metabolism of low-dose inorganic arsenic in a central European population: influence of sex and genetic polymorphisms. *Environ Health Perspect.* 2007 Jul;115(7):1081-6.
38. Lindberg AL, Rahman M, Persson LA, Vahter M. The risk of arsenic induced skin lesions in Bangladeshi men and women is affected by arsenic metabolism and the age at first exposure. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008 Jul 1;230(1):9-16. doi: 10.1016/j.taap.2008.02.001. Epub 2008 Feb 14.
39. Lucentini L, Aureli F, Crebelli R, Cubadda F, D'Amato M, La Sala L, Ottaviani M, Veschetti E, Mantovani A. Esposizione ad arsenico attraverso acqua e alimenti in aree a rischio: il caso del Lazio. *Not Ist Super Sanità* 2013;26(2):11-15

40. Marsit CJ, Karagas MR, Danaee H, Liu M, Andrew A, Schned A, et al. 2006. Carcinogen exposure and gene promoter hypermethylation in bladder cancer. *Carcinogenesis*.27:112–116,
41. Maull EA, Ahsan H, Edwards J, Longnecker MP, Navas-Acien A, Pi J, Silbergeld EK, Styblo M, Tseng CH, Thayer KA, Loomis D. Evaluation of the association between arsenic and diabetes: a National Toxicology Program workshop review. *Environ Health Perspect*. 2012 Dec;120(12):1658-70. doi: 10.1289/ehp.1104579. Epub 2012 Aug 10.
42. Medrano MA, Boix R, Pastor-Barriuso R, Palau M, Damián J, Ramis R, Del Barrio JL, Navas-Acien A. Arsenic in public water supplies and cardiovascular mortality in Spain. *Environ Res*. 2010 Jul;110(5):448-54. doi: 10.1016/j.envres.2009.10.002. Epub 2009 Oct 31.
43. Meliker JR, Wahl RL, Cameron LL, Nriagu JO. Arsenic in drinking water and cerebrovascular disease, diabetes mellitus, and kidney disease in Michigan: a standardized mortality ratio analysis. *Environ Health*. 2007 Feb 2;6:4.
44. Mink PJ, Alexander DD, Barraj LM, Kelsh MA, Tsuji JS. Low-level arsenic exposure in drinking water and bladder cancer: a review and meta-analysis. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2008 Dec;52(3):299-310. doi: 10.1016/j.yrtph.2008.08.010. Epub 2008 Aug 26.
45. Moon K, Guallar E, Navas-Acien A. Arsenic exposure and cardiovascular disease: an updated systematic review. *Curr Atheroscler Rep*. 2012 Dec;14(6):542-55. doi: 10.1007/s11883-012-0280-x.
46. Moon KA, Guallar E, Umans JG, Devereux RB, Best LG, Francesconi KA, Goessler W, Pollak J, Silbergeld EK, Howard BV, Navas-Acien A. Association between exposure to low to moderate arsenic levels and incident cardiovascular disease. A prospective cohort study. *Ann Intern Med*. 2013 Nov 19;159(10):649-59.
47. NRC (National Research Council). 2001. Arsenic in Drinking Water 2001 Update. Washington, DC:National Academy Press. Available: <http://www.nap.edu/openbook.php? isbn=0309076293> [accessed 19 October 2010].
48. Parvez F, Chen Y, Brandt-Rauf PW, Bernard A, Dumont X, Slavkovich V et al. 2008. Nonmalignant respiratory effects of chronic arsenic exposure from drinking water among never-smokers in Bangladesh *Environ Health Perspect* 116:190–195.
49. Parvez F, Chen Y, Brandt-Rauf PW, Slavkovich V, Islam T, Ahmed A, Argos M, Hassan R, Yunus M, Haque SE, Balac O, Graziano JH, Ahsan H. A prospective study

of respiratory symptoms associated with chronic arsenic exposure in Bangladesh: findings from the Health Effects of Arsenic Longitudinal Study (HEALS). *Thorax*. 2010 Jun;65(6):528-33. doi: 10.1136/thx.2009.119347.

50. Parvez F, Chen Y, Yunus M, Olopade C, Segers S, Slavkovich V, Argos M, Hasan R, Ahmed A, Islam T, Akter MM, Graziano JH, Ahsan H. Arsenic exposure and impaired lung function. Findings from a large population-based prospective cohort study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013 Oct 1;188(7):813-9. doi: 10.1164/rccm.201212-2282OC.
51. Preziosi E, Giuliano G, Vivona R. Natural background levels and threshold values derivation for naturally As, V and F rich groundwater bodies: a methodological case study in Central Italy. *Environ Earth Sci* (2010) 61:885–897
52. Schmidt CW. Low-dose arsenic: in search of a risk threshold. *Environ Health Perspect*. 2014 May;122(5):A130-4. doi: 10.1289/ehp.122-A130.
53. Steinmaus C1, Moore LE, Shipp M, Kalman D, Rey OA, Biggs ML, Hopenhayn C, Bates MN, Zheng S, Wiencke JK, Smith AH. Genetic polymorphisms in MTHFR 677 and 1298, GSTM1 and T1, and metabolism of arsenic. *J Toxicol Environ Health A*. 2007 Jan 15;70(2):159-70.
54. Tseng CH. A review on environmental factors regulating arsenic methylation in humans. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2009 Mar 15;235(3):338-50. doi: 10.1016/j.taap.2008.12.016. Epub 2008 Dec 30.
55. Waalkes MP, Liu J, Diwan BA. Transplacental arsenic carcinogenesis in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 222 (2007) 271–280
56. Walton FS, Harmon AW, Paul DS, Drobna Z, Patel YM, Styblo M. 2004. Inhibition of insulin-dependent glucose uptake by tri-valent arsenicals: possible mechanism of arsenic-induced diabetes. *Toxicol Appl Pharmacol* 198:424–433.
57. Wang W, Xie Z, Lin Y, Zhang D. 2014. Association of inorganic arsenic exposure with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. *J Epidemiol Community Health* 68:176–184.
58. Yen YP, Tsai KS, Chen YW, Huang CF, Yang RS, Liu SH. 2010. Arsenic inhibits myogenic differentiation and muscle regeneration. *Environ Health Perspect* 118:949–956.
59. Zierold KM, Knobeloch L, Anderson H. 2004. Prevalence of Chronic Diseases in Adults Exposed to Arsenic-Contaminated Drinking Water. *Am J Public Health* 94: 1936–1937.

Tabella 1. Indicatori dello stato di salute inclusi nello studio di coorte; evidenza epidemiologica su dosi basse/medio-basse (<100 µg/L) e possibili meccanismi patogenetici.

INDICATORI (ICD-9)	EVIDENZA EPIDEMIOLOGICA		EVIDENZA SPERIMENTALE	
	STUDI RILEVANTI	SINTESI DEGLI EFFETTI	STUDI RILEVANTI	POSSIBILI MECCANISMI
Tumori maligni (140-208)				
Trachea, bronchi e polmoni (162)	SR (Celik et al. 2008; Begum et al. 2012; IARC 2012) S (Garcia-Esquinas et al. 2013)	- Associazione causale ad alte dosi ma evidenza limitata e incerta a basse dosi. - Dose-risposta lineare con mortalità per tumori in una coorte negli Stati Uniti.	S (Kitchin and Conolly 2001)	Meccanismi non chiari; danno ossidativo al DNA nell'epitelio polmonare a causa dell'elevata pressione dell'ossigeno o per la produzione di radicali liberi generati dal gas dimetilsina.
Vescica (188)	SR (Mink et al. 2008; Begum et al. 2012; IARC 2012)	- Associazione causale ad alte dosi ma evidenza limitata a basse dosi.	S (Marsit et al. 2006; Jo et al. 2009)	Alterazioni epigenetiche, i.e. ridotta acetilazione degli istoni nelle cellule epiteliali della vescica e ipermetilazione della regione promotore dei geni oncosoppressori.
Fegato (155, 156)	SR (IARC 2012)	- Associazione positiva ma limitata ad alte e basse dosi.	R (Liu and Waalkes 2008)	Meccanismi non chiari; instabilità genomica nelle cellule epatiche causata da alterazioni epigenetiche, i.e. ipometilazione globale del DNA
Prostata (185)	SR (IARC 2012) S (Garcia-Esquinas et al. 2013)	- Associazione positiva ma limitata ad alte e basse dosi. - Dose-risposta lineare con la mortalità per tumore in una coorte negli Stati Uniti.	R (Benbrahim-Tallaa and Waalkes 2008)	Proliferazione cellulare nell'epitelio della prostata causata da ipometilazione del DNA e sovraespressione di K-ras che codifica per una proteina di membrana coinvolta nella trasduzione del segnale agli ormoni androgeni.
Rene (189)	SR (IARC 2012)	- Associazione positiva ma evidenza limitata ad alte e basse dosi.	S (Huang C-Y et al. 2011)	Proliferazione delle cellule renali causata dall'inattivazione del gene oncosoppressore p53 in certi polimorfismi genetici o dalla sovraespressione dell'oncogene mdm2 che provoca alterazione del ciclo cellulare.
Malattie del sistema circolatorio (390-459)				
Malattie ischemiche del cuore (410-414)	SR (Moon et al. 2012) S (Medrano et al. 2010; Moon et al. 2013)	- Associazione causale ad alte dosi ma evidenza insufficiente a basse dosi e bassa qualità degli studi.	R (Balakumar and Kaur 2009)	Danno aterosclerotico nelle cellule dell'endotelio vascolare dovuto ad una ridotta attività fibrinolitica, rilascio di citochine proinfiammatorie, proliferazione delle cellule del tessuto muscolare liscio, stress ossidativo e danno endoteliale.
Infarto del miocardio (410)	S (Zierold et al. 2004; Melker et al. 2007)	- Dose-risposta lineare con la mortalità e incidenza di malattia cardiaca coronarica e ictus negli Stati Uniti e in Spagna.		Distruzione dell'endotelio vascolare causata da una riduzione dei livelli di ossido nitrico, citotossicità endoteliale, aumentato stress ossidativo e ridotta vasodilatazione endotelio-dipendente.
Aterosclerosi coronarica (414)	S (Melker et al. 2007)			
Malattie cerebrovascolari (430-438)	SR (Moon et al. 2012) S (Medrano et al. 2010; Moon et al. 2013)			
Ictus (430, 431, 434, 436)	S (Zierold et al. 2004)			
Malattia delle arterie (440-448)	SR (Moon et al. 2012)			
Malattie del sistema respiratorio (460-519)				
BPCO (490-496)	S (Parvez et al. 2010; 2013)	- Evidenza scarsa ad alte e basse dosi; possibile associazione con sintomi respiratori e funzione polmonare.	S (Kozul et al. 2009; Parvez et al. 2008)	Meccanismi non noti. Ridotta risposta immunitaria alle infezioni respiratorie, i.e. riduzione immediata nelle cellule dendritiche nei linfonodi mediastinali. Danno sull'epitelio alveolare (i.e. cellule Clara) e ridotta secrezione della proteina antinfiammatoria CC16.
Diabete mellito (250)	SR (Maul et al. 2012; Wang et al. 2014) S (James et al. 2013; Jovanovic et al. 2013)	- Evidenza limitata-sufficiente di una associazione causale ad alte dosi ma evidenza insufficiente a basse dosi eccetto che in pochi studi con outcome ed esposizione misurati in modo più accurato. - Associazione positiva con diabete negli Stati Uniti e Serbia.	R (Huang CF et al. 2011) S (Walton et al. 2004; Yen et al. 2010)	Evidenza inconclusiva sui meccanismi. Danno mediato dallo stress ossidativo nelle cellule pancreatiche e ridotta secrezione glucosio-mediata di insulina dalle cellule β pancreatiche. Insulino resistenza delle cellule dei tessuti periferici (i.e. inibizione del segnale intracellulare o dell'uptake di glucosio, o alterata differenziazione cellulare).

R: revisione narrativa; S: singolo studio; SR: revisione sistematica

Figura 1. Concentrazione media di arsenico nelle acque potabili nei comuni della provincia di Viterbo, 1990-2010.

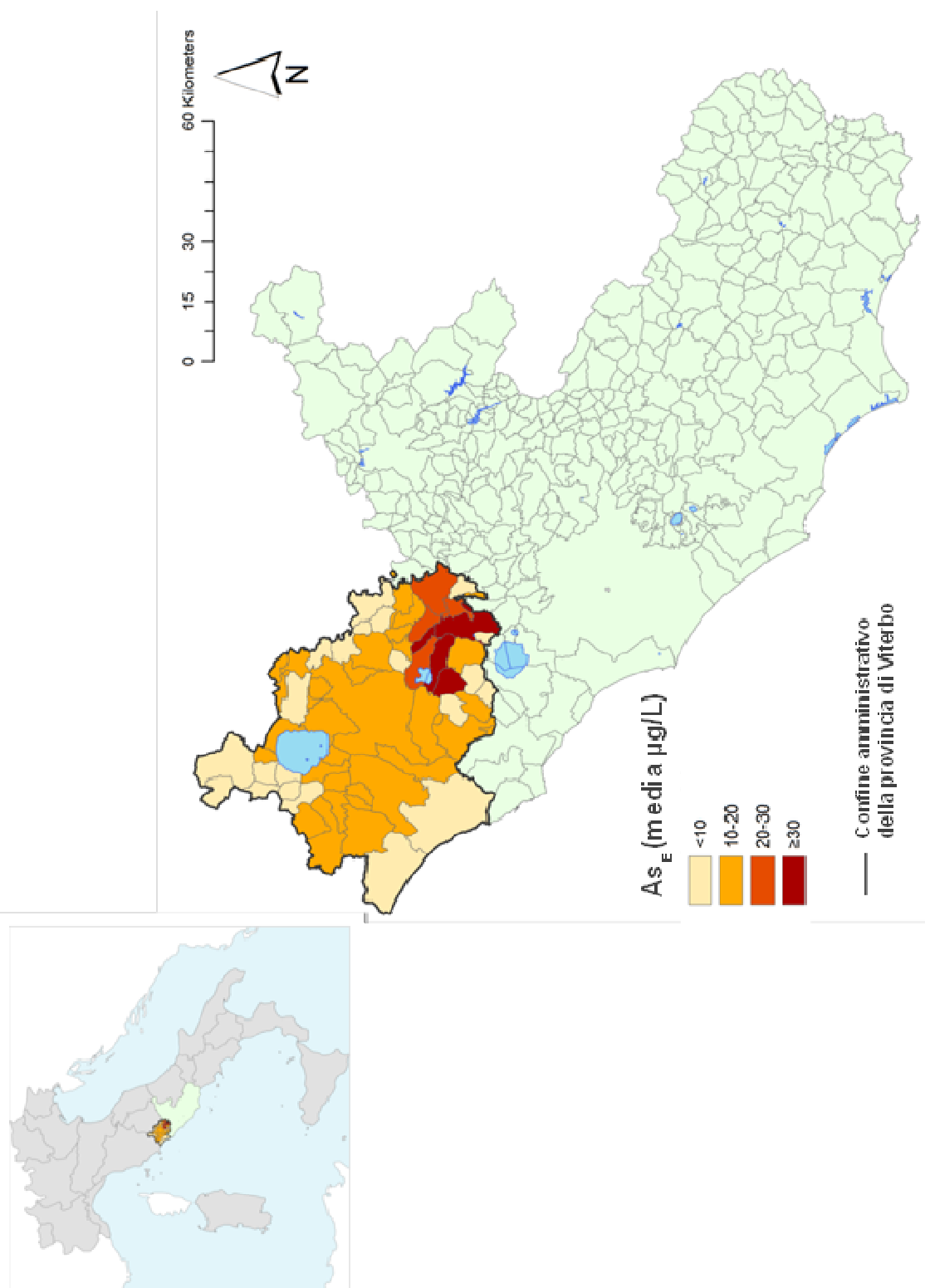
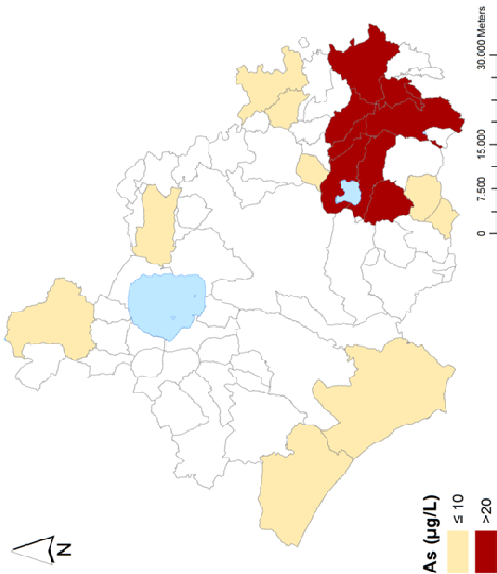


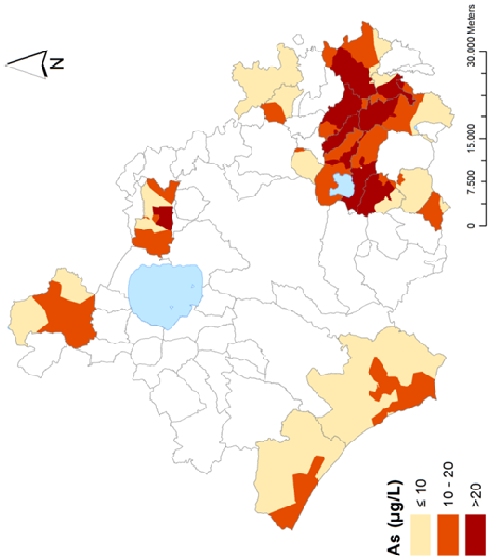
Figura 2. Esposizione ad arsenico a livello ecologico (As_E) e individuale (As_I) nei comuni inclusi nello studio di coorte, 1990-2010.

Analisi ecologica: Esposizione a livello comunale (As_E)



Analisi di coorte: Esposizione a livello individuale(As_I)

Comuni della Provincia di Viterbo	Popolazione	Concentrazione media di Arsenico (µg/L) (As _E)
Orte	13,218	5.7
Montalto Di Castro	10,987	7.4
Acquapendente	8,565	8.1
Canepina	4,693	8.3
As≤10	6,733	8.5
Basano Romano	5,247	9.4
Vasanello	5,372	9.8
Oriolo Romano	5,171	9.9
Bagnoregio	23,023	10.0
Tarquinia		
Caprarola	8,239	24.6
Fabrica Di Roma	11,030	26.8
Castel Sant'Elia	3,263	28.5
Civita Castellana	24,751	29.5
As≥20	2,822	30.0
Carbognano	12,052	30.8
Nepi	8,598	31.7
Capranica	11,845	80.4
Ronciglione		
Totale	165,609	



Concentrazione di Arsenico nello studio di coorte (As _I), N=165,609					
Concentrazione di Arsenico nello studio ecologico (As _E)	≤10		10-20		≥20
	N.	%	N.	%	N.
	52047		30754		208
≤10	62.7		37.0		0.3
≥20	2174		17625		62801
	2.6		21.4		76.0
Totale	54,221		48,379		63,009
	32.8		29.2		38.0

34

Concentrazione di Arsenico (<i>As_{II}</i> , µg/L)	Popolazione in studio (n=165,609)						Decessi (n=20,776)												
	≤10 (n=54221)			10-20 (n=48379)			≥ 20 (n=63009)			≤10 (n=6891)			10-20 (n=5317)			≥ 20 (n=8568)			p-value
	n	%		n	%		n	%		n	%		n	%		n	%		
Genere																			
Maschi	26938	49.7		23972	49.6		31259	49.6		3553	51.6		2759	51.9		4502	52.5		
Femmine	27283	50.3		24407	50.4		31750	50.4		3338	48.4		2558	48.1		4066	47.5		0.218
Indirizzi di residenza georeferenziati	48198	88.9		47041	97.2		54414	86.4											
Età all'arruolamento (anni)																			
media (DS)	32.8 (23.5)			31.9 (23.3)			31.5 (23.7)			66.4 (13.1)			66.2 (13.2)			65.6 (13.6)			
≤35	30840	56.9		28032	57.9		37404	59.4		182	2.6		145	2.7		277	3.2		
36-64	17149	31.6		15341	31.7		18545	29.4		2428	35.2		1963	36.9		3194	37.3		
≥65	6230	11.5		5006	10.3		7055	11.2		4281	62.1		3209	60.4		5097	59.5		<0.001
Durata di residenza al 1 gennaio 1990 (anni)																			
≤ 5	20513	37.8		17713	36.6		22228	35.3		199	2.9		224	4.2		122	1.4		
5-10	2328	4.3		2085	4.3		2822	4.5		52	0.8		45	0.8		31	0.4		
10-20	5702	10.5		5283	10.9		6960	11.0		118	1.7		61	1.1		84	1.0		
> 20	25678	47.4		23298	48.2		30999	49.2		6522	94.6		4987	93.8		8331	97.2		<0.001
Durata di esposizione al 31 dicembre 2010 (anni)																			
≤ 5	9877	18.2		7448	15.4		9484	15.1											
5-10	3064	5.7		3051	6.3		3613	5.7		84	1.2		100	1.9		61	0.7		
10-20	4623	8.5		4428	9.2		6157	9.8		137	2.0		142	2.7		90	1.1		
> 20	36657	67.6		33452	69.1		43755	69.4		6670	96.8		5075	95.4		8417	98.2		<0.001
Stato socioeconomico																			
Alto	6986	12.9		10543	21.8		7915	12.6		581	8.4		895	16.8		561	6.5		
Medio-alto	13854	25.6		10184	21.1		16375	26.0		953	13.8		1300	24.4		1248	14.6		
Medio	10430	19.2		11165	23.1		11620	18.4		926	13.4		1082	20.3		1117	13.0		
Medio-basso	7151	13.2		10002	20.7		9225	14.6		623	9.0		817	15.4		684	8.0		<0.001
Basso	3768	6.9		2957	6.1		7697	12.2		163	2.4		261	4.9		868	10.1		
Missing	12032	22.2		3528	7.3		10177	16.2		3645	52.9		962	18.1		4090	47.7		
Radon (Bq/m³)																			
≤200	48862	90.1		29639	61.3		27050	42.9		6555	95.1		3830	72.0		3517	41.0		
>200	5359	9.9		18740	38.7		35959	57.1		336	4.9		1487	28.0		5051	59.0		<0.001

Figura 3. Distribuzione dell'arsenico a livello individuale (As_I) per categorie di As_I

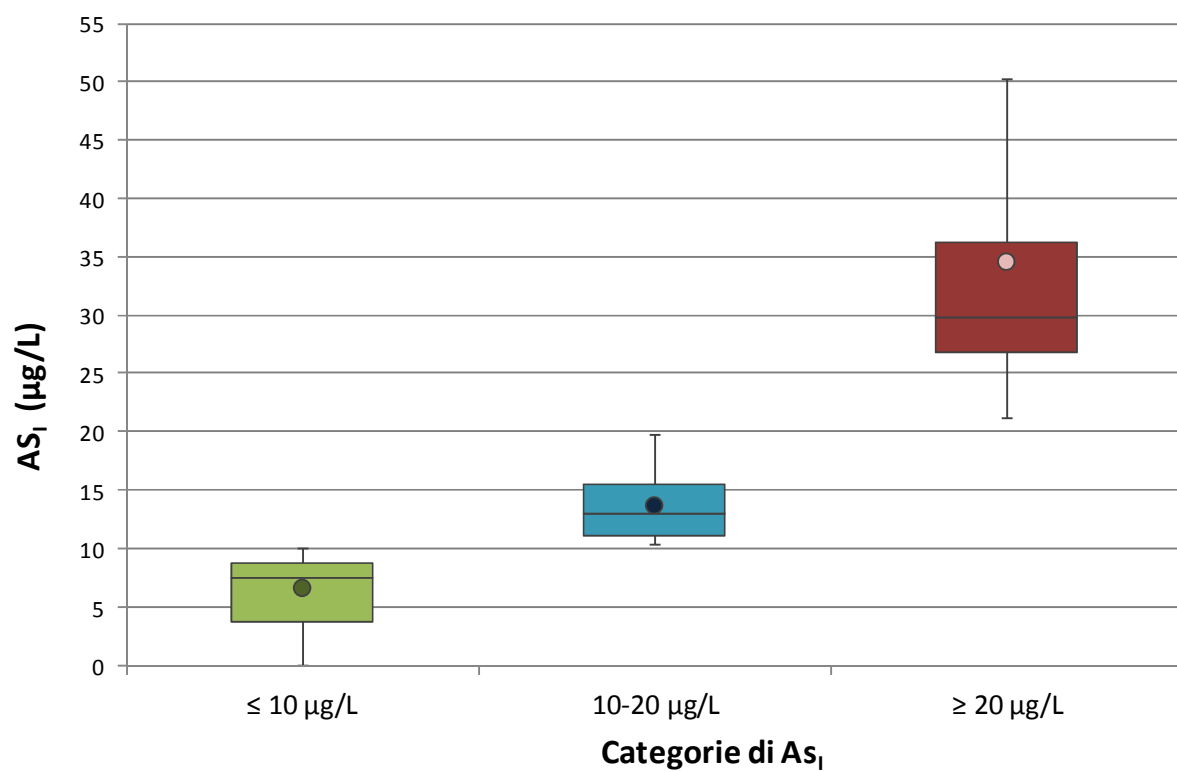


Tabella 3. Associazione tra esposizione ad arsenico individuale (As_I) e mortalità per causa (HR, Intervalli di Confidenza 95%, IC 95%) nello studio di coorte, 1990-2010.

Cause (ICD-9)	As _I (µg/L)								P value for trend	
	≤10		10-20			≥ 20				
	Decessi	Decessi	HR ^{a,b}	IC 95%	IC 95%	Decessi	HR ^{a,b}	IC 95%		
Maschi										
Cause Naturali (001-799)	3553	2759	1.27	1.18	1.38	4502	1.51	1.36	1.67	<0.001
Tumori maligni (140-208)	1068	841	1.27	1.11	1.45	1451	1.51	1.28	1.78	<0.001
Fegato e dotti biliari (155, 156)	64	45	1.20	0.78	1.87	98	1.58	1.08	2.33	0.019
Trachea, bronchi e polmoni (162)	283	259	1.47	1.17	1.86	469	1.83	1.41	2.39	<0.001
Prostata (185)	89	60	1.21	0.86	1.72	98	1.15	0.86	1.53	0.360
Vescica (188)	54	32	0.95	0.56	1.62	71	1.36	0.82	2.25	0.229
Rene (189)	24	18	1.45	0.72	2.93	26	1.22	0.64	2.33	0.546
Malattie cardiovascolari (390-459)	1317	1061	1.39	1.23	1.58	1659	1.54	1.32	1.80	<0.001
Malattie ischemiche del cuore (410-414)	380	310	1.42	1.15	1.75	567	1.70	1.33	2.16	<0.001
Infarto miocardio acuto (410)	202	139	1.32	0.99	1.75	302	1.74	1.30	2.33	<0.001
Aterosclerosi coronarica (414)	168	162	1.50	1.11	2.01	248	1.58	1.14	2.19	0.008
Malattie cerebrovascolari (430-438)	372	263	1.44	1.14	1.80	443	1.50	1.16	1.94	0.002
Ictus (430, 431, 434, 436)	301	211	1.47	1.14	1.90	365	1.59	1.20	2.12	0.001
Malattie arterie periferiche (440-448)	93	101	1.52	1.03	2.25	102	1.26	0.79	2.01	0.230
Malattie apparato respiratorio (460-519)	190	163	1.48	1.09	2.01	393	1.94	1.38	2.72	<0.001
BPCO (490-496)	78	81	1.84	1.24	2.72	160	2.04	1.41	2.96	<0.001
Diabete mellito (250)	67	46	1.25	0.78	2.01	110	1.43	0.91	2.23	0.122
Femmine										
Cause Naturali (001-799)	3338	2558	1.14	1.05	1.24	4066	1.19	1.07	1.33	0.001
Tumori maligni (140-208)	717	648	1.26	1.08	1.47	961	1.32	1.08	1.60	0.004
Fegato e dotti biliari (155, 156)	45	46	1.57	0.80	3.06	65	1.45	0.62	3.41	0.398
Trachea, bronchi e polmoni (162)	63	69	1.80	1.23	2.66	100	1.69	1.18	2.42	0.015
Vescica (188)	18	11	1.19	0.50	2.82	9	0.57	0.23	1.36	0.292
Rene (189)	10	11	2.17	0.84	5.59	10	1.09	0.43	2.74	0.871
Malattie cardiovascolari (390-459)	1435	1054	1.17	1.03	1.33	1855	1.20	1.03	1.40	0.020
Malattie ischemiche del cuore (410-414)	304	263	1.36	1.06	1.74	447	1.23	0.92	1.65	0.171
Infarto miocardio acuto (410)	121	104	1.43	1.00	2.04	172	1.38	0.94	2.03	0.100
Aterosclerosi coronarica (414)	180	156	1.43	1.05	1.95	267	1.27	0.91	1.76	0.199
Malattie cerebrovascolari (430-438)	454	279	1.17	0.95	1.43	530	1.26	1.02	1.56	0.030
Ictus (430, 431, 434, 436)	359	237	1.23	0.99	1.52	424	1.28	1.03	1.59	0.026
Malattie arterie periferiche (440-448)	89	91	1.20	0.79	1.83	104	1.24	0.72	2.14	0.391
Malattie apparato respiratorio (460-519)	127	107	1.51	1.05	2.16	185	1.26	0.86	1.85	0.253
BPCO (490-496)	46	42	1.59	0.96	2.65	69	1.49	0.93	2.38	0.152
Diabete mellito (250)	95	84	2.12	1.45	3.11	200	2.08	1.47	2.94	<0.001

^a HR: Hazard Ratio e IC 95% calcolati rispetto al gruppo di riferimento As≤10 µg/L; HR e p trend significativi evidenziati in grassetto

^b Modelli aggiustati per età, periodo di calendario, livello socio economico, occupazione nella ceramica ed esposizione a radon

Tabella 4. Associazione tra esposizione cumulata ad arsenico (CAI) e mortalità per causa (HR, Intervalli di Confidenza 95%, IC 95%) nello studio di coorte, 1990-2010.

Cause (ICD-9)	CAI (µg)									P value for trend
	25° pct		25° -75° pct			75° pct				
	(≤ 204.9 µg)		(204.9 -804.0 µg)			(> 804.0 µg)				
	Decessi	Decessi	HR ^{a,b}	95% CI		Decessi	HR ^{a,b}	95% CI		
Maschi										
Cause Naturali (001-799)	748	4589	1.59	1.45	1.74	5477	2.02	1.82	2.25	<0.001
Tumori maligni (140-208)	202	1458	1.69	1.43	2.00	1700	2.17	1.79	2.62	<0.001
Fegato e dotti biliari (155, 156)	14	87	1.31	0.72	2.37	106	1.62	0.88	3.00	0.089
Trachea, bronchi e polmoni (162)	53	419	2.03	1.48	2.79	539	2.61	1.84	3.71	<0.001
Prostata (185)	17	105	1.19	0.71	1.99	125	1.32	0.79	2.20	0.239
Vescica (188)	13	56	0.82	0.43	1.58	88	1.32	0.67	2.60	0.114
Rene (189)	4	34	1.95	0.67	5.72	30	1.93	0.63	5.96	0.418
Malattie cardiovascolari (390-459)	242	1720	1.61	1.38	1.87	2075	2.06	1.73	2.46	<0.001
Malattie ischemiche del cuore (410-414)	64	519	1.87	1.41	2.51	674	2.61	1.90	3.60	<0.001
Infarto miocardio acuto (410)	33	266	1.90	1.28	2.82	344	2.94	1.92	4.51	<0.001
Aterosclerosi coronarica (414)	29	238	1.78	1.16	2.72	311	2.10	1.33	3.33	0.003
Malattie cerebrovascolari (430-438)	65	471	1.50	1.12	2.02	542	1.72	1.24	2.39	0.003
Ictus (430, 431, 434, 436)	56	373	1.42	1.03	1.97	448	1.74	1.22	2.48	0.002
Malattie arterie periferiche (440-448)	14	133	2.20	1.20	4.04	149	2.44	1.27	4.66	0.024
Malattie apparato respiratorio (460-519)	35	260	1.53	1.03	2.27	451	1.76	1.14	2.71	0.017
BPCO (490-496)	11	121	2.20	1.13	4.30	187	2.54	1.27	5.08	0.016
Diabete mellito (250)	15	87	1.25	0.68	2.29	121	1.30	0.67	2.50	0.482
Femmine										
Cause Naturali (001-799)	720	4021	1.45	1.32	1.58	5221	1.59	1.43	1.77	<0.001
Tumori maligni (140-208)	147	1009	1.73	1.43	2.11	1170	2.08	1.67	2.60	<0.001
Fegato e dotti biliari (155, 156)	11	68	1.32	0.63	2.74	77	1.18	0.50	2.77	0.821
Trachea, bronchi e polmoni (162)	15	98	1.66	0.93	2.95	119	2.09	1.15	3.80	0.014
Vescica (188)	5	18	0.91	0.31	2.67	15	0.71	0.23	2.24	0.482
Rene (189)	1	18	4.51	0.58	35.31	12	3.03	0.37	25.22	0.803
Malattie cardiovascolari (390-459)	241	1732	1.65	1.41	1.92	2371	1.70	1.42	2.02	<0.001
Malattie ischemiche del cuore (410-414)	57	394	1.57	1.15	2.15	563	1.60	1.13	2.26	0.036
Infarto miocardio acuto (410)	23	170	1.54	0.95	2.49	204	1.50	0.89	2.53	0.277
Aterosclerosi coronarica (414)	34	219	1.52	1.01	2.28	350	1.69	1.09	2.61	0.032
Malattie cerebrovascolari (430-438)	70	529	1.69	1.28	2.23	664	1.87	1.38	2.53	0.001
Ictus (430, 431, 434, 436)	60	417	1.58	1.17	2.13	543	1.82	1.32	2.51	0.001
Malattie arterie periferiche (440-448)	20	105	1.32	0.78	2.26	159	1.38	0.78	2.45	0.345
Malattie apparato respiratorio (460-519)	31	150	1.00	0.64	1.57	238	1.11	0.68	1.79	0.573
BPCO (490-496)	10	54	0.96	0.46	2.01	93	1.30	0.62	2.75	0.220
Diabete mellito (250)	17	120	1.43	0.82	2.52	242	2.56	1.43	4.57	<0.001

^a HR: Hazard Ratio e IC 95% calcolati rispetto al gruppo di riferimento CAI≤204.9 µg; HR e p trend significativi evidenziati in grassetto

^b Modelli aggiustati per età, periodo di calendario, livello socio economico, occupazione nella ceramica ed esposizione a radon

Tabella 5. Associazione tra esposizione ad arsenico individuale (LDI) e mortalità per causa (HR, Intervalli di Confidenza 95%, IC 95%) nello studio di coorte, 1990-2010.

Cause (ICD-9)	LDI (µg per Kg b.w./day)									P value for trend
	25° pct		25° -75° pct			75° pct				
	(≤0.113 µg per Kg b.w./day)	(0.113 -0.429 µg per Kg b.w./day)			(> 0.429 µg per Kg b.w./day)					
	Decessi	Decessi	HR ^{a,b}	95% CI	Decessi	HR ^{a,b}	95% CI			
Maschi										
Cause Naturali (001-799)	4397	5408	1.00	0.93	1.08	1009	1.45	1.30	1.63	<0.001
Tumori maligni (140-208)	1346	1661	0.98	0.87	1.12	353	1.62	1.34	1.97	<0.001
Fegato e dotti biliari (155, 156)	83	101	0.97	0.66	1.43	23	2.05	1.10	3.83	0.112
Trachea, bronchi e polmoni (162)	378	529	1.02	0.82	1.26	104	1.72	1.22	2.41	0.014
Prostata (185)	102	124	1.15	0.87	1.51	21	1.05	0.65	1.69	0.484
Vescica (188)	58	70	1.20	0.77	1.87	29	3.35	1.74	6.47	0.002
Rene (189)	31	31	0.96	0.53	1.73	6	1.11	0.39	3.12	0.956
Malattie cardiovascolari (390-459)	1650	2000	1.04	0.93	1.16	387	1.55	1.29	1.86	<0.001
Malattie ischemiche del cuore (410-414)	488	645	1.08	0.89	1.31	124	1.68	1.22	2.30	0.007
Infarto miocardio acuto (410)	251	323	1.17	0.91	1.49	69	1.85	1.23	2.77	0.008
Aterosclerosi coronarica (414)	225	299	1.01	0.77	1.32	54	1.53	0.97	2.41	0.178
Malattie cerebrovascolari (430-438)	454	538	1.15	0.94	1.41	86	1.28	0.90	1.84	0.110
Ictus (430, 431, 434, 436)	361	445	1.29	1.03	1.61	71	1.52	1.02	2.26	0.013
Malattie arterie periferiche (440-448)	133	139	0.88	0.62	1.26	24	1.46	0.74	2.90	0.827
Malattie apparato respiratorio (460-519)	246	440	1.00	0.76	1.32	60	1.07	0.69	1.65	0.818
BPCO (490-496)	110	177	1.09	0.76	1.55	32	1.25	0.69	2.25	0.457
Diabete mellito (250)	86	110	0.83	0.54	1.28	27	0.98	0.50	1.91	0.822
Femmine										
Cause Naturali (001-799)	2512	5899	1.43	1.32	1.55	1551	1.76	1.58	1.97	<0.001
Tumori maligni (140-208)	526	1433	1.54	1.32	1.79	367	1.94	1.57	2.40	<0.001
Fegato e dotti biliari (155, 156)	31	100	2.03	1.02	4.05	25	2.88	1.16	7.12	0.024
Trachea, bronchi e polmoni (162)	48	142	1.64	1.12	2.40	42	2.62	1.57	4.40	<0.001
Vescica (188)	13	20	0.95	0.43	2.14	5	0.93	0.26	3.31	0.898
Rene (189)	7	17	1.48	0.54	4.03	7	3.64	0.98	13.55	0.069
Malattie cardiovascolari (390-459)	1029	2619	1.51	1.34	1.70	696	1.92	1.63	2.27	<0.001
Malattie ischemiche del cuore (410-414)	213	639	1.70	1.33	2.17	162	2.07	1.48	2.86	<0.001
Infarto miocardio acuto (410)	83	250	1.69	1.20	2.37	64	2.30	1.43	3.72	<0.001
Aterosclerosi coronarica (414)	128	377	1.66	1.23	2.22	98	1.93	1.29	2.89	0.001
Malattie cerebrovascolari (430-438)	312	753	1.43	1.19	1.72	198	1.95	1.48	2.56	<0.001
Ictus (430, 431, 434, 436)	263	605	1.37	1.13	1.68	152	1.70	1.27	2.28	<0.001
Malattie arterie periferiche (440-448)	64	181	1.41	0.93	2.13	39	1.36	0.73	2.53	0.237
Malattie apparato respiratorio (460-519)	92	258	1.50	1.08	2.10	69	1.71	1.08	2.72	0.018
BPCO (490-496)	33	99	1.53	0.96	2.44	25	1.73	0.90	3.33	0.084
Diabete mellito (250)	73	227	1.92	1.33	2.78	79	2.38	1.47	3.84	<0.001

^a HR: Hazard Ratio e IC 95% calcolati rispetto al gruppo di riferimento LDI≤0.113 µg per Kg b.w./day; HR e p trend significativi evidenziati in grassetto

^b Modelli aggiustati per età, periodo di calendario, livello socio economico, occupazione nella ceramica ed esposizione a radon