

# Durezza dell'acqua potabile e malattie cronico-degenerative. Parte II. Malattie cardiovascolari

S. Monarca\*, I. Zerbini\*, C. Simonati\*, U. Gelatti\*

*Parole chiave: Durezza dell'acqua potabile, malattie cardiovascolari, magnesio, mortalità, prevenzione*  
*Key words: Drinking water hardness, cardiovascular diseases, magnesium, mortality, prevention*

## Summary

### *Water hardness and cardiovascular diseases. Part II*

Since the 1950s a causal relation between water hardness and cardiovascular diseases (CVD) in humans has been hypothesized. In order to evaluate the influence of calcium and magnesium, the minerals responsible for the hardness of drinking water, on human health, a review of all the articles published on the subject from 1980 up to today has been carried out. Many but not all geographic correlation studies showed an inverse association between water hardness and mortality for CVD. Most case-control and one cohort studies showed an inverse relation, statistically significant, between mortality from CVD and water levels of magnesium, but not calcium. Consumption of water containing high concentrations of magnesium seems to reduce of about 30-35% the mortality for CVD, but not the incidence. This inverse association is supported by clinical and experimental findings and is biologically plausible and in line with Hill's criteria for a cause-effect relationship.

## Introduzione

Fin dagli anni '50 la relazione tra durezza dell'acqua e malattie cardiovascolari è stata oggetto di numerose ricerche epidemiologiche, costituite soprattutto da studi di correlazione geografica. Queste indagini, note anche con il termine di studi ecologici, sono basate su dati aggregati, spesso già disponibili, e sono realizzabili con poche risorse e in tempi brevi, ma presentano alcuni punti di debolezza, poiché possono essere affette da bias di confrontabilità tra popolazioni differenti per molteplici fattori, oltre a quello in

esame (errore ecologico), da mancanza di controllo del confondimento e da problemi di classificazione dell'esposizione (28). Nel complesso, esse forniscono informazioni di valore limitato e sono utili solo se corroborate da risultati concordanti provenienti da studi di tipo analitico (di coorte e caso-controllo) o, meglio ancora, da trial randomizzati controllati.

Nell'analisi dei fattori che possono avere un ruolo nell'eziologia delle malattie cardiovascolari, il fattore "acqua potabile" è stato messo in rilievo per primo da Kobayashi (18), che in alcune zone del Giappone ha osserva-

\*Cattedra di Igiene, Università degli Studi di Brescia

to che all'aumentare della durezza dell'acqua la mortalità per apoplessia diminuiva (correlazione negativa o inversa).

Nell'introduzione ad uno studio epidemiologico riguardante 57 province italiane, Scassellati Sforzolini et al. hanno effettuato un'analisi critica delle ricerche condotte fino al 1977 (45). In diversi studi, ma non in tutti, era stata riscontrata una correlazione inversa tra la durezza dell'acqua potabile e la mortalità per malattie cardiovascolari, per cui il ruolo del "fattore acqua" nella eziologia di queste patologie era da ritenersi ancora dubbia.

Una rassegna esaustiva degli studi pubblicati fino alla fine degli anni '70 è stata condotta nel 1980 da Comstock (10), il quale ha raggruppato le indagini in 5 categorie, a seconda delle dimensioni dell'area interessata, in ordine decrescente: 1. intere nazioni e grandi città; 2. tutte le città o contee all'interno di uno stato per i Paesi confederati (Stati Uniti e Canada), o all'interno di una provincia per le altre nazioni; 3. tutte le aree geografiche all'interno di una città o contea; 4. singole comunità all'interno di una stessa area; 5. singoli individui all'interno di un'area definita. Le ricerche dei primi quattro tipi si possono considerare di correlazione geografica, mentre quelle del quinto comprendono gli studi cosiddetti analitici. In totale, l'Autore ha reperito 53 ricerche delle prime quattro categorie e solo tre dell'ultima, ed ha esaminato dettagliatamente le ricerche per tipologia, osservando che: 1) la maggior parte degli studi del primo gruppo (N=23) riscontrava una correlazione inversa tra durezza dell'acqua e mortalità per malattie cardiovascolari; 2) gli studi relativi al secondo gruppo (N=17) confermarono, anche se in maniera meno evidente, questa associazione; 3) negli studi della terza categoria, costituita soltanto da due studi, questa ipotesi non trovava conferma; 4) tra gli studi appartenenti al quarto gruppo (N=17) solo due avvaloravano l'ipotesi; 5) infine, le poche ricerche (N=3) della quinta categoria, condotte su dati raccolti a livello

individuale, presentavano risultati contraddittori con evidenze diverse nei maschi rispetto alle femmine. L'Autore concludeva la rassegna affermando che non vi erano dati definitivi sull'associazione tra durezza dell'acqua e mortalità per malattie cardiovascolari, e che gli studi fino ad allora condotti difficilmente avrebbero potuto dimostrare la relazione in oggetto, perché non avevano misure di esposizione a livello individuale, non tenevano conto del periodo di esposizione e non effettuavano correzioni per le possibili variabili di confondimento. Lo stesso Autore mostrava, infine, come i dati di un suo studio nella contea di Washington presentavano un apparente trend di riduzione della mortalità con l'aumentare della durezza dell'acqua nelle diverse aree, che però diventava non significativo quando veniva corretto per le variabili di confondimento.

La presente ricerca si prefigge lo scopo di reperire le indagini successive alle rassegne di Scassellati Sforzolini et al. e di Comstock per fare il punto sulle attuali conoscenze riguardanti la relazione tra le concentrazioni di calcio e di magnesio, elementi responsabili della durezza dell'acqua potabile, e le malattie cardiovascolari, analizzando criticamente la letteratura scientifica in merito al fine di fornire indicazioni utili per la sanità pubblica.

## Materiali e metodi

Sono stati sistematicamente ricercati e recuperati tutti gli studi epidemiologici riguardanti l'argomento in esame dalla fine degli anni '70 ad oggi. Gli articoli pubblicati anteriormente a questo periodo sono stati esclusi perché in gran parte criticabili sotto l'aspetto metodologico e perché già analizzati dalle due rassegne già menzionate (45, 10). I metodi di selezione dei lavori, l'estrazione delle informazioni e l'analisi dei dati sono illustrati nella prima parte della monografia (29).

In questo lavoro vengono presi in esame i seguenti raggruppamenti di patologie, secondo la IX revisione della classificazione internazionale delle malattie (ICD IX):

1. tutte le malattie cardiovascolari (MCV): cod. 390-438;
2. malattie ischemiche cardiache (MIC): cod. 410-414;
3. disturbi circolatori dell'encefalo (DCE): cod. 430-438;
4. infarto miocardico acuto (IMA): cod. 410.

## Risultati

### *Studi di correlazione geografica*

I principali studi di correlazione geografica pubblicati dalla fine degli anni '70 ad oggi in relazione all'area, all'anno di pubblicazione, al tipo di esposizione e alla patologia cardiovascolare considerata sono riportati nella tabella 1.

Cocchioni et al. hanno indagato la relazione tra mortalità per malattie cardiovascolari nel triennio 1970-72 e durezza dell'acqua potabile in 246 comuni delle Marche (8). Non è stata rilevata una correlazione tra durezza totale e magnesica e mortalità per malattie ischemiche del cuore.

Scassellati Sforzolini et al. hanno analizzato la correlazione tra qualità delle acque potabili di 57 capoluoghi di provincia d'Italia e mortalità nel periodo 1968-72 per malattie cardiovascolari (45), rilevando solo nelle regioni del nord Italia una correlazione inversa, statisticamente significativa.

Successivamente Scassellati Sforzolini et al. hanno effettuato un'altra indagine di correlazione geografica tra mortalità per malattie cardiovascolari e durezza delle acque potabili in Umbria nel periodo 1967-76 (44). Sono state osservate solo deboli correlazioni, peraltro non significative, tra le malattie cardiovascolari considerate e la durezza dell'acqua.

Masironi et al. hanno effettuato uno studio sull'associazione tra incidenza di infarto cardiaco e durezza dell'acqua potabile in vari Paesi europei, rilevando un'associazione inversa ( $r = -0,46$ ) e constatando che le città europee con la più alta incidenza di infarto erano situate più a nord ed erano anche approvvigionate di acqua con i livelli di durezza più bassi (26).

Una ricerca epidemiologica assai complessa, denominata British Regional Heart Study (32), è stata condotta su vasta scala in Gran Bretagna con lo scopo di studiare il ruolo di diverse variabili, quali la qualità dell'acqua potabile, i fattori ambientali e socioeconomici e i parametri biologici, sulla mortalità e morbosità per malattie cardiovascolari. È stata riscontrata un'associazione inversa tra durezza dell'acqua e mortalità per malattie cardiovascolari ( $r = -0,67$ ) e l'associazione rimaneva significativa anche considerando gli altri fattori di rischio per le cardiopatie ischemiche, mentre non è stata rilevata alcuna correlazione tra concentrazione di magnesio nell'acqua e mortalità cardiovascolare (46).

Lacey e Shaper hanno studiato in alcune città dell'Inghilterra l'andamento dei tassi di mortalità per malattie cardiovascolari al variare dei livelli di durezza dell'acqua (19). La durezza delle acque potabili distribuite nella rete si era modificata tra il 1961 ed il 1971, riducendosi in 5 aree e aumentando in altre 9. Si è osservata, ma solo negli uomini, una riduzione statisticamente significativa del 7,5% della mortalità per malattie cardiovascolari per ogni aumento di 100 mg/l di  $\text{CaCO}_3$ . Questi dati sono in accordo con la riduzione del 7,8% della mortalità cardiovascolare per ogni aumento di 100 mg/l di  $\text{CaCO}_3$  nell'acqua potabile rilevata dal British Regional Heart Study.

In uno studio di correlazione geografica condotto da Leoni et al. è stato analizzato il tasso di mortalità per malattie cardiovascolari nel periodo 1969-78 nella popolazione residente in Abruzzo approvvigionata di acque

Tabella 1 - Studi di correlazione geografica (ecologici) sull'associazione tra durezza dell'acqua potabile e mortalità per malattie cardiovascolari.

Autori (anno di pubblicazione)	Luogo, popolazione	Anni	Esposizione	Patologia	Risultati
Cocchioni et al. (1978)	Italia, Marche 246 comuni maschi e femmine	1976	Durezza totale <sup>a</sup>	Mortalità per: MCV <sup>b</sup> MIC <sup>c</sup>	M: r = -0,60 F: r = -0,66 M: r = +0,14 F: r = -0,03
Scassellati Sforzolini et al. (1978)	Italia 57 città maschi e femmine	1968-1972	Concentrazione magnesio	Mortalità per: MCV <sup>b</sup> MIC <sup>c</sup>	M: r = -0,10 F: r = -0,50 M: r = +0,40 F: r = -0,35
Scassellati Sforzolini et al. (1979)	Italia, Umbria, 12 comuni, maschi e femmine	1967-1976	Durezza totale <sup>a</sup>	Mortalità per: MCV <sup>b</sup> IA <sup>d</sup> MIC <sup>c</sup> DCE <sup>e</sup>	M e F r = -0,15 M e F r = -0,05 M e F r = -0,06 M e F r = -0,19
			Durezza totale <sup>a</sup>	Mortalità per: IA <sup>d</sup> MIC <sup>c</sup> DCE <sup>e</sup>	M e F r = +0,46 M e F r = +0,28 M e F r = -0,07
			Concentrazione calcio	Mortalità per: IA <sup>d</sup> MIC <sup>c</sup> DCE <sup>e</sup>	M e F r = +0,046 M e F r = +0,37 M e F r = -0,05
			Concentrazione magnesio	Mortalità per: IA <sup>d</sup> MIC <sup>c</sup> DCE <sup>e</sup>	M e F r = +0,02 M e F r = -0,26 M e F r = -0,28
Masironi et al. (1979)	Europa, 17 città, maschi e femmine, 45-64 anni	1974	Durezza totale <sup>a</sup>	Incidenza IMA <sup>f</sup> in soggetti di 45-64 anni	r = -0,46
Pocock et al. (1980)	Gran Bretagna, 253 città, 35-74 anni	1969-1973	Durezza totale <sup>a</sup>	Mortalità per MCV <sup>b</sup>	r = -0,67
Lacey e Shaper, (1984)	Inghilterra e Galles, 14 aree, maschi e femmine, 45-74 anni	1968-1972	Durezza totale <sup>a</sup>	Mortalità per MCV <sup>b</sup>	Negli uomini: riduzione di 7,5% della mortalità per ogni aumento di 100 mg/l della durezza*

(segue Tabella 1)

Autori (anno di pubblicazione)	Luogo, popolazione	Anni	Esposizione	Patologia	Risultati
Leoni et al. (1985)	Italia, Abruzzo maschi e femmine	1969-1978	Durezza totale <sup>a</sup> (105,6-443,5)	Mortalità per: MCV <sup>b</sup> MIC <sup>c</sup> DCE <sup>e</sup>	M e F r = -0,55** M e F r = -0,59* M e F r = -0,24 M e F r = -0,17
Smith e Crombie (1978)	Scozia, 56 distretti	1979-1983	Durezza totale <sup>a</sup>	Mortalità per: MIC <sup>c</sup>	M e F r = -0,55 M e F r = -0,80 M e F r = +0,50 M e F r = -0,60
Grillo et al. (1989)	Italia, Sicilia 12 comuni, maschi e femmine	1980-1982	Durezza totale <sup>a</sup>	Mortalità per: MCV <sup>b</sup> IA <sup>d</sup> MIC <sup>c</sup> DCE <sup>e</sup>	M: r = -0,60 F: r = -0,45 M: r = -0,48 F: r = -0,37 M: r = -0,47 F: r = -0,41 M: r = -0,52 F: r = -0,32 M: r = -0,62 F: r = -0,45 M: r = -0,16 F: r = -0,49
Rylander et al. (1991)	Svezia, 27 comuni, maschi e femmine	1969-1978	Durezza totale <sup>a</sup>  Concentrazione calcio  Concentrazione magnesio	Mortalità per MCV <sup>b</sup> Mortalità per DCE <sup>e</sup> Mortalità per MIC <sup>c</sup> Mortalità per DCE <sup>e</sup> Mortalità per MCV <sup>b</sup> Mortalità per DCE <sup>e</sup> Mortalità per MIC <sup>c</sup> Mortalità per DCE <sup>e</sup>	Associazione inversa che perde rilevanza aggiustando per un indi- catore (clima freddo)
Gyllerup et al. (1991)	Svezia, 259 comuni, maschi 40-64 anni	1975-1984	Durezza totale <sup>a</sup> Concentrazione magnesio	Mortalità per IMA <sup>f</sup> Mortalità per IMA <sup>f</sup>	
Nerbrant et al. (1992)	Svezia, 76 comuni, maschi e femmine	1969-1983	Durezza totale <sup>a</sup>  Concentrazione calcio  Concentrazione magnesio	Mortalità per: MIC <sup>c</sup> DCE <sup>e</sup>  Mortalità per: MIC <sup>c</sup> DCE <sup>e</sup>  Mortalità per: MIC <sup>c</sup> DCE <sup>e</sup>	M*** F* M*** F***  M** F*** M F***  M F M F

(segue Tabella 1)

(segue Tabella 1)

Autori (anno di pubblicazione)	Luogo, popolazione	Anni	Esposizione	Patologia	Risultati
Yang et al. (1996)	Taiwan, 227 comuni, maschi e femmine	1981-1990	Durezza totale <sup>a</sup> < 75 mg/l 75-150 mg/l > 150 mg/l	Mortalità per MIC <sup>c</sup>	Rischio relativo (IC 95%) 1,096 (1,084-1,108)* 1,045 (1,032-1,058) Riferimento
Maheswaran et al. (1999)	Inghilterra, 305 aree, maschi e femmine >45 anni	1990-1992	Concentrazione calcio Concentrazione magnesio	Mortalità per: IMA <sup>f</sup> cio: 0,99 (0,94-1,05) 1,01 (0,96-1,06)	Rischio relativo (IC 95%) per aumento di 4 volte delle concentrazioni di magnesio e cal-

<sup>a</sup>Durezza totale in mg/l di CaCO<sub>3</sub>; <sup>b</sup>MCV = malattie cardiovascolari; <sup>c</sup>MIC = malattie ischemiche del cuore; <sup>d</sup>IA = ipertensione arteriosa; <sup>e</sup>DCE = disturbi circolatori dell'encefalo

<sup>f</sup>TMA = infarto miocardico acuto; M = maschi; F = femmine; r = coefficiente di correlazione; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001.

potabili con un ampio range di durezza (105,6-443,5 mg/l) (21). È stata osservata una correlazione inversa tra durezza totale dell'acqua e mortalità per malattie cardiovascolari ( $r = -0,55$ ).

Smith e Crombie hanno analizzato i dati di mortalità per malattie ischemiche cardiache in 56 distretti della Scozia tra i maschi di 35-64 anni nel periodo 1979-83 (49) ed hanno riscontrato un'associazione inversa molto debole e non significativa ( $r = -0,17$ ) tra durezza dell'acqua e mortalità per malattie ischemiche.

Grillo et al. hanno preso in esame la correlazione tra durezza dell'acqua in 12 comuni della provincia di Messina (111-435 mg/l di CaCO<sub>3</sub>) e i tassi di mortalità per malattie cardiovascolari nel triennio 1980-82 (14). È stata rilevata nei maschi una correlazione positiva statisticamente significativa per le malattie ischemiche del cuore ( $r = +0,90$ ) e nelle femmine una correlazione inversa, non significativa, per ipertensione arteriosa ( $r = -0,78$ ) e ictus ( $r = -0,5$ ).

Rylander et al. nel periodo 1955-85 hanno analizzato la relazione tra mortalità per malattie ischemiche cardiache e cerebrovascolari e durezza dell'acqua potabile in 27 comuni della Svezia approvvigionati di acque potabili con un range molto ampio di durezza (14,2-368,5 mg/l di CaCO<sub>3</sub>) (39). Si è osservata una correlazione inversa, soprattutto tra gli uomini, tra durezza dell'acqua e mortalità per malattie ischemiche del cuore ( $r = -0,60$ ) e per malattie cerebrovascolari ( $r = -0,48$ ). I dati suggeriscono soprattutto un effetto protettivo del magnesio, poiché è stata osservata una bassa mortalità in tutti i comuni con livelli elevati di questo elemento nell'acqua potabile ( $> 8$  mg/l).

Gyllerup et al. hanno valutato nel periodo 1975-84 l'associazione tra mortalità per malattie cardiovascolari e durezza dell'acqua nelle regioni settentrionali della Svezia, caratterizzate da un clima molto freddo e da un elevato tasso di mortalità per malattie cardiovascolari (16),

osservando un'associazione negativa tra durezza dell'acqua e mortalità per infarto miocardico, anche se la mortalità era maggiormente correlata con l'"indice di freddo".

Nerbrand et al. hanno studiato in 76 comuni di 7 contee della *Svezia* la correlazione tra durezza dell'acqua e mortalità per malattie ischemiche del cuore e per disturbi circolatori dell'encefalo negli anni 1969-83 (31). La mortalità per malattie ischemiche del cuore e per ictus è risultata inversamente e significativamente correlata con la durezza dell'acqua. Tuttavia, in un campione casuale di 14.675 uomini di 45-64 anni di età, dopo aver raccolto mediante un questionario postale informazioni sulla prevalenza di infarto miocardico e la presenza dei più comuni fattori di rischio per questa patologia, la durezza dell'acqua non è risultata essere associata all'infarto miocardico.

Yang et al. hanno condotto uno studio raccogliendo i dati sulla mortalità per malattie coronariche in 227 comuni di *Taiwan* dal 1981 al 1990 (54), osservando una correlazione inversa statisticamente significativa tra mortalità per malattie coronariche e durezza delle acque, e stimando un eccesso di morti coronariche del 9,6% nelle aree con acqua dolce rispetto a quelle con acqua dura.

Maheswaran et al. hanno condotto nel periodo 1990-92 uno studio in una regione del nord-ovest dell'*Inghilterra*, i cui acquedotti approvvigionavano circa 7 milioni di abitanti, con variazioni nella concentrazione di calcio e magnesio nell'acqua tra un'area e l'altra (24). Non è stata evidenziata alcuna associazione tra mortalità per infarto miocardico e concentrazioni di calcio e di magnesio, tenendo conto dei principali fattori geografici e confondenti per la malattia.

#### *Studi caso-controllo*

Nella tabella 2 vengono sintetizzati i principali studi caso-controllo sull'associazione tra durezza dell'acqua e mortalità per malattie cardiovascolari.

Luoma et al. hanno condotto uno studio sul rischio di infarto miocardico tra i maschi di una zona sud-orientale della *Finlandia* in relazione alle concentrazioni di calcio e di magnesio contenute nell'acqua delle loro abitazioni (22). In totale, 58 casi ospedalizzati per infarto miocardico negli anni 1974-75 sono stati appaiati a 58 controlli ospedalieri e a 50 controlli di popolazione. Si è osservato un aumento del rischio relativo di infarto miocardico per basse concentrazioni di magnesio nell'acqua ( $\leq 1,2$  mg/l), mentre il contenuto di calcio non appariva associato con la malattia.

Rubenowitz et al. hanno effettuato in 17 comuni della *Svezia* meridionale uno studio reclutando come casi 854 uomini di 50-69 anni di età morti per infarto miocardico e come controlli 989 soggetti appaiati ai casi per sesso e per età e deceduti per tumore (36). Il rischio relativo di morte per infarto miocardico si riduceva progressivamente con l'aumentare delle concentrazioni di magnesio nell'acqua, fino a un minimo di 0,65 per i livelli più elevati di magnesio. Non è stata trovata alcuna associazione tra il calcio e questa malattia.

Yang et al. hanno condotto a *Taiwan* uno studio sull'associazione tra calcio e magnesio nell'acqua potabile e il rischio di morte per disturbi circolatori dell'encefalo (55). Sono stati inclusi come casi 17.133 individui di 50-69 anni deceduti per malattie cerebrovascolari negli anni 1989-93 e come controlli persone decedute per altre cause, escluse quelle cardiovascolari, appaiati ai casi per sesso, età ed anno di morte. Si è riscontrata una significativa riduzione del rischio relativo di morte per malattie cerebrovascolari con l'aumentare della concentrazione di magnesio nell'acqua potabile, ma non con l'aumentare di quella del calcio, fino a un minimo di 0,60 per livelli di magnesio superiori a 13,5 mg/l.

In un altro studio condotto dagli stessi Autori (53) a *Taiwan* nel periodo 1990-94 sulla mortalità per ipertensione arteriosa, i soggetti deceduti per questa patologia sono

Tabella 2 - Studi caso-controllo sull'associazione tra durezza dell'acqua potabile e mortalità per malattie cardiovascolari.

Autori (anno di pubblicazione)	Luogo	Popolazione in studio	Età	Esposizione	Odds ratio (OR) (IC 95%)
Luoma et al. (1983)	Finlandia	58 maschi con IMA <sup>a</sup> , vivi o morti (casi) 58 maschi (controlli ospedalieri) 50 maschi (controlli popolazione)	30-64	Concentrazione calcio <16 mg/l 17-18 mg/l 19-20 mg/l Concentrazione magnesio <1,2 mg/l 1,2-1,5 mg/l 1,6-3,0 mg/l	Controlli di popolazione 0,56 (0,25-1,28) 0,73 (0,22-1,99) 0,77 (0,30-1,91) 0,91 (0,35-2,36) 4,67 (1,30-25,32) 1,11 (0,41-3,10) 1,00 (0,36-3,08)
Rubenzowitz et al. (1996)	Svezia meridionale, 17 comuni	854 maschi morti per IMA <sup>a</sup> (casi) 989 maschi morti per tumori (controlli)	50-69	Concentrazione calcio < 33 mg/l 34-45 mg/l 46-81 mg/l ≥ 82 mg/l Concentrazione magnesio < 3,5 mg/l 3,6-6,8 mg/l 6,9-9,7 mg/l ≥ 9,8 mg/l	OR aggiustati per età: Riferimento 0,88 (0,65-1,19) 0,84 (0,64-1,10) 1,06 (0,82-1,38) Riferimento 0,88 (0,66-1,16) 0,70 (0,53-0,93)* 0,65 (0,50-0,84)*
Yang et al. (1998)	Taiwan, 252 comuni	17.133 maschi e femmine morti per DCE <sup>b</sup> (casi) 17.133 maschi e femmine morti per altre cause, escluse MCV <sup>c</sup> (controlli)	50-69	Concentrazione calcio < 24 mg/l 24,4-42,3 mg/l 42,4-81,0 mg/l Concentrazione magnesio < 7,3 mg/l 7,4-13,4 mg/l 13,5-41,3 mg/l	OR aggiustati per età e sesso: Riferimento 1,5 (0,99-1,11) 0,95 (0,88-1,01) Riferimento 0,75 (0,65-0,85)* 0,60 (0,52-0,70)*
Yang et al. (1999)	Taiwan, 252 comuni	2.336 maschi e femmine morti per IA <sup>d</sup> (casi) 2.336 maschi e femmine morti per altre cause esclu- se MCV <sup>e</sup> (controlli)	50-69	Concentrazione calcio 4,0-11,3 mg/l 11,4-30,0 mg/l 30,1-37,7 mg/l 37,8-53,4 mg/l 53,5-81,0 mg/l	OR aggiustati per età e sesso: Riferimento 1,23 (0,94-1,62) 1,32 (0,98-1,78) 1,12 (0,83-1,51) 1,26 (0,92-2,02)

(segue Tabella 2)



(segue Tabella 2)

Autori (anno di pubblicazione)	Luogo	Popolazione in studio	Età	Esposizione	Odds ratio (OR) (IC 95%)
Rubenowitz et al. (1999)	Svezia meridionale, 16 comuni	378 femmine morte per IMA <sup>a</sup> (casi) 1.368 femmine morte per tumori (controlli)	50-69	Concentrazione magnesio 1,5-3,8 mg/l 3,9-8,2 mg/l 8,3-11,1 mg/l 11,2-16,3 mg/l 16,4-41,3 mg/l	Riferimento 0,73 (0,57-0,93) 0,66 (0,50-0,87) 0,67 (0,50-0,89) 0,63 (0,47-0,84)  OR aggiustati per età e sesso  Riferimento 0,61 (0,39-0,94) 0,71 (0,49-1,02) 0,66 (0,47-0,94)
Rubenowitz et al. (2000)	Svezia meridionale, 18 comuni	263 maschi e femmine morti per IMA <sup>a</sup> (casi) 258 maschi e femmine morti per altre cause (controlli)	50-74	Concentrazione magnesio ≤ 3,4 mg/l 3,5-6,7 mg/l 6,8-9,8 mg/l ≥ 9,9 mg/l	Riferimento 1,08 (0,78-1,49) 0,93 (0,64-1,34) 0,70 (0,50-0,99)  OR aggiustati per età e magnesio (quartile più alto/quartili più bassi) M: 1,01 (0,64-1,59) F: 0,68 (0,29-1,59)  OR aggiustati per età e calcio (quartile più alto/quartili più bassi) M: 0,69 (0,43-1,09) F: 0,51 (0,21-1,22)  OR aggiustati per età e calcio (quartile più alto/quartili più bassi) M: 0,97 (0,75-1,26) F: 0,90 (0,59-1,38)  OR aggiustati per età e calcio (quartile più alto/quartili più bassi) M: 1,19 (0,91-1,54) F: 1,09 (0,70-1,70)

<sup>a</sup>IMA =infarto miocardico acuto; <sup>b</sup>DCE = disturbi circolatori dell'encefalo; <sup>c</sup>MCV = malattie cardiovascolari; <sup>d</sup>IA = ipertensione arteriosa; M = maschi; F = femmine; IC 95% = intervallo di confidenza al 95%; \* p<0,05.

stati considerati come casi (N=2.336), mentre i controlli erano costituiti da soggetti deceduti per altre cause, escluse quelle cardiovascolari, appaiati ai casi per sesso e anno di nascita e di morte. È stata osservata una significativa riduzione del rischio di morte per ipertensione arteriosa in presenza di livelli elevati di magnesio nell'acqua potabile, ma non di quelli di calcio, fino a un minimo di 0,63 per i soggetti residenti nelle aree con i più alti livelli di magnesio nell'acqua.

Rubenowitz et al. in *Svezia* hanno esteso lo studio da loro precedentemente condotto, prendendo in esame donne di 50-69 anni residenti negli stessi comuni considerati nella prima ricerca (37). I casi erano costituiti da 378 donne morte per infarto miocardico acuto durante il periodo 1982-93 ed i controlli da 1.368 donne morte per cancro nel medesimo periodo. Il rischio relativo di morte per infarto miocardico era 0,70 per i livelli più alti di magnesio e 0,66 per i livelli più alti di calcio.

Più recentemente, Rubenowitz et al. hanno effettuato un nuovo studio in 18 comuni della *Svezia*, considerando come casi 1.086 soggetti maschi e femmine di 50-74 anni, che nel periodo 1994-96 erano stati colpiti da infarto miocardico acuto (263 deceduti), e come controlli 1.111 soggetti (258 deceduti), appaiati ai casi per sesso e per età (38). Il rischio di morte per infarto miocardico era ridotto tra i soggetti che utilizzavano acqua a più alto contenuto di magnesio (odds ratio di 0,69 per i maschi e 0,51 per le femmine), mentre non si riscontrava alcuna associazione con i livelli di calcio. I casi ancora in vita (N=823) ed i controlli ad essi appaiati (N=853) sono stati intervistati per raccogliere informazioni sui principali fattori di rischio per l'infarto miocardico. Sono state misurate le concentrazioni di magnesio e di calcio nell'acqua delle loro abitazioni e, mediante un questionario, è stata stimata l'assunzione dei due minerali con la dieta. Questa indagine non mostrava alcuna associazione tra assunzione di magnesio e di calcio nell'acqua e

incidenza di infarto, tenendo conto dei principali fattori di rischio coronarico. Pertanto questi risultati suggeriscono un ruolo protettivo del magnesio nell'acqua nei confronti del rischio di morte per infarto miocardico acuto, ma non nei confronti del rischio di essere colpiti da questa patologia.

#### *Studi di coorte*

Il numero degli *studi di coorte* pubblicati è molto limitato e pertanto non si è ritenuto opportuno inserirli in una apposita tabella.

Punsar e Karvonen hanno studiato la relazione tra qualità dell'acqua potabile e mortalità per malattie ischemiche del cuore in due regioni rurali della *Finlandia* con marcate differenze riguardanti la mortalità per queste malattie (33). L'indagine, iniziata nel 1959, includeva tutti gli uomini nati tra il 1900 ed il 1919 e considerava i soggetti deceduti nel periodo 1964-74. Nel 1970 sono state analizzate le acque potabili di entrambe le regioni per 22 parametri. Si è visto che i residenti nella regione con più basse concentrazioni di magnesio (3,1 mg/l vs. 13,1 mg/l) avevano una proporzione di morti per malattie ischemiche del cuore più alta rispetto a quella rilevata negli abitanti dell'altra regione (14,7% vs. 8,7%).

Comstock et al. hanno condotto uno studio nella *contea di Washington (Maryland)* sui residenti di almeno 25 anni di età (30.000 persone circa) che utilizzavano acqua potabile proveniente dall'acquedotto comunale o da pozzi con profondità superiore a 15 metri (9). Non si è evidenziata alcuna associazione tra durezza dell'acqua e mortalità per malattie cardiovascolari in un follow-up di 12 anni (1963-75).

#### **Discussione e conclusioni**

##### *Durezza totale, calcio e malattie cardiovascolari*

La durezza totale ed il calcio presenti nell'acqua potabile vengono qui analizzati

congiuntamente per la loro influenza sulle malattie cardiovascolari, poiché i risultati ottenuti per questi due parametri sono sostanzialmente sovrapponibili, essendo il calcio il principale componente della durezza.

Successivamente alle rassegne di Scasselati Sforzolini et al. (45) e di Comstock (10) sono stati pubblicati diversi altri studi epidemiologici sulla relazione tra durezza dell'acqua e mortalità per patologie cardiovascolari, e la presente monografia ne ha individuati 22, di cui 14 di correlazione geografica (Tab. 1), 6 studi caso-controllo (Tab. 2) e 2 di coorte. Gli studi di correlazione geografica condotti dalla fine degli anni '70 a oggi mostrano nell'insieme risultati discordanti, come quelli condotti in precedenza. Tra di essi, diversi studi di buona qualità per dimensioni demografiche e cura nel disegno confermano la relazione inversa tra durezza dell'acqua e mortalità per malattie cardiovascolari già evidenziata in passato (26, 32, 19, 39, 31, 54), mentre gli studi più recenti non mostrano alcuna associazione allorché si tiene conto dei principali fattori di rischio coronarico (16, 31, 24), analogamente ai risultati ottenuti in uno studio di coorte (9).

In alcuni studi di correlazione geografica (24, 31, 39, 44) l'influenza del calcio e del magnesio sulle malattie cardiovascolari è stata analizzata separatamente con risultati contrastanti. Inoltre, gli studi caso-controllo, considerati più attendibili rispetto a quelli di correlazione geografica, hanno considerato separatamente l'effetto del calcio e del magnesio e i risultati non sempre hanno mostrato un'azione protettiva del calcio, rilevata invece per il magnesio.

Nel complesso, analizzando l'associazione tra durezza dell'acqua potabile o concentrazione di calcio nell'acqua e mortalità cardiovascolare secondo i criteri di Bradford Hill per la valutazione del nesso di causa-effetto in epidemiologia (35), si possono trarre le seguenti conclusioni:

1) la *forza dell'associazione* tra durezza dell'acqua e malattie cardiovascolari appare *modesta*: i rischi relativi per il calcio, stimati negli studi caso-controllo, appaiono sempre inferiori a 1,5;

2) l'associazione mostra *scarsa coerenza*, poiché non è stata sempre riscontrata in popolazioni differenti e perché da un lato i risultati degli studi di correlazione geografica più recenti non sono significativi quando si tiene conto dei più comuni fattori di rischio coronarico, e dall'altro i risultati degli studi caso-controllo e di coorte non suggeriscono alcuna associazione;

3) la *relazione temporale* tra esposizione (assunzione di acqua) ed evento osservato (malattie vascolari ischemiche) appare in genere rispettata;

4) non vi è evidenza di *relazione dose-risposta*;

5) la *plausibilità biologica* è incerta e si basa sulla possibile presenza nelle acque dolci di agenti cardiotossici, quali il cadmio ed il piombo e forse altri metalli derivanti dalla corrosione delle tubature e su di un possibile effetto diretto cardioprotettivo della durezza dell'acqua;

6) non vi è *evidenza sperimentale* di un effetto benefico del consumo di acqua dura né sull'animale né sull'uomo.

Sui possibili effetti del calcio sulla salute è necessario fare alcune considerazioni fisiopatologiche. Il calcio è un nutriente essenziale per l'uomo ed è necessario per la normale crescita, sviluppo e mantenimento di ossa e denti (30). Esso inoltre ha un ruolo importante nella contrazione e rilassamento della muscolatura liscia e quindi nel controllo del tono vascolare e della pressione arteriosa. È stata ipotizzata una capacità diretta del calcio di ridurre la pressione arteriosa e quindi un suo ruolo nella prevenzione e trattamento di questa condizione (27). Una recente meta-analisi degli studi osservazionali di Cappuccio et al. (7), corretta da Birkett (5), stima una relazione inversa, statisticamente

significativa, tra quantità di calcio assunto con la dieta e la pressione arteriosa, anche se la relazione appare di interesse clinico limitato per la scarsa entità dell'effetto: un aumento dell'apporto di calcio di 1.000 mg porterebbe ad una riduzione della pressione sistolica di soli 0,5-4 mmHg, ed un effetto anche inferiore sulla diastolica (5). Tuttavia, i principali trial randomizzati controllati mostrano che assumere dei supplementi di calcio o alimentarsi con una dieta ricca di questo minerale (15, 51) non riduce la pressione arteriosa in soggetti ipertesi o normotesi (41, 42, 52). Anche tre recenti meta-analisi indicano che non vi sono elementi per raccomandare l'assunzione di calcio per la prevenzione ed il trattamento dell'ipertensione arteriosa (1, 6, 13). Peraltro, un importante trial dietetico condotto di recente ha mostrato che una dieta ricca di verdura, frutta e latticini magri portava ad una riduzione significativa della pressione arteriosa (3), mentre l'assorbimento del calcio veniva ridotto dall'abbondante quantità di fibre ingerite.

In conclusione, dai dati finora disponibili non è possibile dimostrare un effetto protettivo della durezza dell'acqua e della concentrazione di calcio nell'acqua sul rischio cardiovascolare.

### *Magnesio e malattie cardiovascolari*

Il magnesio svolge un ruolo essenziale nel funzionamento del cuore e del tessuto muscolare liscio: anche modesti cambiamenti nella concentrazione di magnesio extracellulare e intracellulare hanno importanti effetti sull'eccitabilità cardiaca, sul tono vascolare, sulla contrattilità e reattività vascolare, influenzando la regolazione della pressione arteriosa (2, 20, 43). Animali sottoposti a dieta povera di magnesio presentano una maggiore reattività cardiovascolare alle catecolamine e anomalie del metabolismo lipidico favorevoli allo sviluppo di aterosclerosi (2, 20).

È stato ipotizzato un ruolo del magnesio nell'insorgenza dell'ipertensione arteriosa

(20), poiché questo minerale regola il tono e la reattività vasale modulando sia la concentrazione intracellulare di calcio, magnesio e potassio che il pH, fattori essenziali nella regolazione dei processi di contrazione e rilassamento della muscolatura liscia. È stato osservato che i livelli di magnesio intracellulare nei tessuti muscolari e nel cuore di individui con ipertensione arteriosa sono mediamente inferiori rispetto a quelli di soggetti non ipertesi (20), e studi prospettici mostrano una relazione inversa tra livelli ematici di magnesio e insorgenza di ipertensione arteriosa. Alcuni trial randomizzati controllati mostrano che un aumentato apporto di calcio o di magnesio con la dieta o con integratori non è efficace nel ridurre la pressione arteriosa in soggetti normotesi o ipertesi (52, 15, 51, 41, 42), ma un importante trial, lo studio DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension), condotto su soggetti normotesi e ipertesi nord-americani ha dimostrato che è possibile ottenere una significativa riduzione della pressione arteriosa con una dieta povera di grassi e ricca di frutta, verdura, latticini magri, carni bianche, pesce e noci, che risulta più ricca di calcio e magnesio rispetto alla dieta abituale (3, 11). In questi casi, tuttavia, le modifiche dietetiche sono complesse ed è difficile dire quale sia il ruolo effettivo del magnesio. A sostegno di questi risultati, studi autoptici mostrano che i morti per infarto miocardico hanno livelli di magnesio nel muscolo cardiaco inferiori rispetto ai deceduti per cause accidentali (25). Uno studio trasversale su oltre 15.000 soggetti di 4 comunità degli Stati Uniti ha mostrato una relazione inversa tra livelli sierici di magnesio e presenza di malattie cardiovascolari, ipertensione arteriosa, lesioni aterosclerotiche e diabete mellito, anche tenendo conto dei principali fattori di rischio coronarico (23). Uno studio prospettico condotto su circa 44.000 uomini negli Stati Uniti ha mostrato una relazione inversa tra magnesio assunto con gli alimenti e rischio di ictus, in particolare tra gli ipertesi (4).

Gli studi sperimentali avvalorano l'ipotesi di un effetto protettivo del magnesio nei confronti della mortalità per malattie cardiovascolari nell'uomo. Due trial randomizzati controllati condotti in un'area dell'India su individui ad elevato rischio cardiovascolare e su soggetti con sospetto infarto miocardico hanno mostrato una riduzione dell'incidenza di eventi cardiaci e della mortalità totale con l'assunzione di una dieta ricca di alimenti contenenti magnesio (47, 48).

Va ricordato che il magnesio è di impiego corrente in diverse condizioni cliniche come l'infarto miocardico complicato, lo spasmo coronario, alcune aritmie ed altre malattie cardiovascolari (34). Da questi dati clinici, in accordo con quelli degli studi epidemiologici (38), si può ipotizzare che il magnesio eserciti la sua azione protettiva, soprattutto evitando che il cuore infartuato vada incontro a complicanze, in genere aritmie, che frequentemente sono la causa di morte del soggetto.

Nel complesso, vi è evidenza scientifica a favore del ruolo preventivo del magnesio nei confronti delle malattie vascolari ischemiche, anche se persistono dubbi sul fatto che sia il magnesio di per sé, piuttosto che qualche altro minerale presente insieme al magnesio, o la combinazione di più di un elemento, a svolgere tale effetto. Attualmente, le raccomandazioni per la prevenzione e il trattamento dell'ipertensione arteriosa della US Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure (17) includono anche un adeguato apporto di magnesio, unitamente a quello di calcio e potassio, con gli alimenti e l'acqua potabile, ma non un supplemento di questi minerali oltre i livelli raccomandati.

Alla luce degli studi clinici sperimentali, delle indagini alimentari e degli studi epidemiologici analizzati, la valutazione dell'associazione tra il contenuto di magnesio nell'acqua potabile e la mortalità cardiovascolare porta alle seguenti conclusioni, in relazione

al nesso causa-effetto secondo i criteri di Hill, in accordo con altri Autori (40):

1. la forza dell'associazione è *moderatamente elevata*: nella maggior parte degli studi caso-controllo (Tab. 2) e di coorte si riscontra una riduzione del rischio relativo del 30-35% per i livelli più elevati di magnesio nell'acqua, rispetto ai valori più bassi;

2. l'associazione è *coerente*: i 6 studi caso-controllo ed uno studio di coorte hanno rilevato una riduzione della mortalità per malattie cardiovascolari per livelli elevati di magnesio nell'acqua. Alcuni studi di correlazione geografica non hanno rilevato alcuna associazione, ma, come già riferito, potrebbero essere affetti da bias;

3. la *relazione temporale* tra esposizione (assunzione di acqua) ed evento (malattie cardiovascolari) appare in genere rispettata;

4. quasi tutti gli studi analitici mostrano una *relazione dose-risposta*: si osserva una progressiva riduzione del rischio al crescere della concentrazione di magnesio nell'acqua;

5. l'associazione presenta *plausibilità biologica*, come dimostrano numerosi studi clinici, sperimentali ed epidemiologici;

6. vi è *evidenza sperimentale* degli effetti negativi sul sistema vascolare conseguenti a un deficit di magnesio in studi sull'animale e di un effetto benefico di un aumentato apporto di magnesio in soggetti con deficit in studi sull'uomo.

Alcuni ricercatori (25) rilevano un paradosso tra l'entità relativamente alta dell'effetto protettivo e l'apporto modesto di magnesio con l'acqua rispetto alla quantità del minerale ingerita con gli alimenti. Infatti, il consumo di acqua dura fornirebbe un apporto di circa 6 mg di magnesio in più al giorno rispetto al consumo di acqua dolce (71 vs. 65 mg), una differenza modesta, che non sembra poter giustificare una riduzione del 40% del rischio di morte per malattie cardiovascolari. Tuttavia, è stato osservato che nei Paesi sviluppati molti soggetti hanno un'assunzione di magnesio inferiore ai livelli raccoman-

dati di 6 mg/Kg di peso corporeo al giorno (12), a causa di un ridotto apporto attraverso gli alimenti o per la presenza di alcune condizioni, quali il diabete mellito, l'abuso di alcol, la diarrea dovuta ad un uso protratto di antibiotici, l'uso di diuretici tiazidici (40). In questi casi l'apporto di magnesio attraverso l'acqua potabile potrebbe diventare di rilevante importanza: in uno studio condotto in Svezia è risultato che diversi soggetti con un apporto di magnesio inferiore a 160 mg/giorno, consumando due litri di acqua ad elevata concentrazione di magnesio al giorno (40 mg/l), avrebbero introdotto un ulteriore apporto di 80 mg/giorno, pari al 30% del totale (31). È stato anche dimostrato che il magnesio presente nell'acqua possiede una più elevata biodisponibilità rispetto a quello assunto attraverso gli alimenti, poiché, essendo presente sotto forma di ioni idrati, viene assorbito dall'organismo più facilmente e velocemente (50), mentre il magnesio assunto attraverso gli alimenti non sempre è utilizzabile dall'organismo, poiché il calcio ed i grassi ne diminuiscono l'assorbimento. Pertanto, a parità di apporto, la quantità di magnesio assorbita attraverso l'acqua è maggiore rispetto alla quota ingerita con gli alimenti.

In conclusione, l'attuale evidenza scientifica sembra dimostrare un'azione protettiva del magnesio presente nell'acqua potabile nei confronti della mortalità per malattie cardiovascolari.

### Riassunto

Fin dagli anni '50 è stata studiata la relazione tra durezza dell'acqua potabile e malattie cronic-degenerative. Allo scopo di valutare l'influenza del calcio e del magnesio, minerali responsabili della durezza nell'acqua potabile, sulle malattie cardiovascolari (MCV), è stata effettuata una revisione di tutti gli articoli pubblicati sull'argomento negli ultimi 20 anni. Molti studi di correlazione geografica hanno evidenziato una relazione inversa tra durezza dell'acqua e mortalità per MCV e la maggior parte degli studi caso-controllo e uno studio di coorte hanno mostrato una associazione inversa, statisticamente significativa, tra la mortalità per MCV e le concentrazioni di

magnesio (ma non di calcio) nell'acqua. Il consumo di acqua ricca di magnesio sembra comportare una riduzione del 30-35% circa della mortalità, ma non dell'incidenza, di MCV ischemiche. Questa relazione, convalidata anche da dati clinici e sperimentali, sembra biologicamente plausibile e risponde ai criteri di Hill sui rapporti di causa-effetto.

### Bibliografia

- Allender PS, Cutler JA, Follmann D, Cappuccio FP, Pryer J, Elliott P. Dietary calcium and blood pressure: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Ann Intern Med* 1996; **124**: 825-31.
- Altura BM, Zhang A, Altura B. Magnesium, hypertensive vascular diseases, atherogenesis, subcellular compartmentation of Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> and vascular contractility. *Miner Electrolyte Metab* 1993; **19**: 323-36.
- Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E et al., for the DASH Collaborative Research Group. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. *N Engl J Med* 1997; **336**: 1117-24.
- Ascherio A, Rimm EB, Ernán MA et al. Intake of potassium, magnesium, calcium and fiber and risk of stroke among US men. *Circulation* 1998; **22**: 1198-204.
- Birkett NJ. Comments on a meta-analysis of the relation between dietary calcium intake and blood pressure. *Am J Epidemiol* 1998; **148**: 223-28.
- Bucher HC, Cook RJ, Guyatt GH et al. Effects of dietary calcium supplementation on blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA* 1996; **275**: 1016-22.
- Cappuccio FP, Elliot P, Allender PS, Folman DA, Cutler JA. Epidemiologic association between dietary calcium intake and blood pressure: a meta-analysis of published data. *Am J Epidemiol* 1995; **142**: 935-45.
- Cocchioni M, La Rosa F, Pellegrini MG, Cresci A. Relazione tra durezza dell'acqua potabile e mortalità per malattie del sistema cardiocircolatorio. *L'Igiene Moderna* 1978; **71**: 751-60.
- Comstock GW, Cauthen GM, Helsing KJ. Water hardness at home and deaths from arteriosclerotic heart disease in Washington County, Maryland. *Am J Epidemiol* 1980; **112**: 209-16.
- Comstock GW. The epidemiologic perspective: water hardness and cardiovascular disease. *J Environ Pathol Toxicol* 1980; **3**: 9-25.
- Conlin PR, Chow D, Miller ER et al. The effect of dietary patterns on blood pressure control in hyper-

- tensive patients: results from the dietary approaches to stop hypertension (DASH) Trial. *Am J Hypertens* 2000; **13**: 949-55.
12. Durlach J. Recommended dietary amounts of magnesium: Mg RDA. *Magnes Res* 1989; **2**: 265-73.
  13. Griffith LE, Guyatt GH, Cook RJ, Bucher HC, Cook DJ. The influence of dietary and nondietary calcium supplementation on blood pressure: an update meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Hypertens* 1999; **12**: 84-92.
  14. Grillo OC, Scoglio ME, Di Pietro A. Durezza dell'acqua potabile e mortalità per malattie cardiovascolari. *Rivista Italiana d'Igiene* 1989; **49**: 174-83.
  15. Grossman E, Vald A, Peleg E, Sela B, Rosenthal T. The effects of a combined low-sodium, high potassium, high-calcium diet on blood pressure in patients with mild hypertension. *J Hum Hypertens* 1997; **11**: 789-94.
  16. Gyllerup S, Lanke J, Lindholm H, Schersten B. Water hardness does not contribute substantially to the high coronary mortality in cold region of Sweden. *J Intern Med* 1991; **230**: 487-92.
  17. Joint National Committee. The sixth report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *Arch Intern Med* 1997; **157**: 2413-46.
  18. Kobayashi J. Geographical relationship between chemical nature of river water and death rate from apoplexy. *Ber Ohara Inst Landwirtsch Biol Okayama Univ* 1957; **11**: 12-21.
  19. Lacey RF, Shaper AG. Changes in water hardness and cardiovascular death rates. *Int J Epidemiol* 1984; **13**: 18-24.
  20. Laurant P, Touyz RM. Physiological and pathophysiological role of magnesium in the cardiovascular system: implication in hypertension. *J Hypertens* 2000; **18**: 1177-91.
  21. Leoni V, Fabiani L, Ticchiarelli L. Water hardness and cardiovascular mortality rate in Abruzzo, Italy. *Arch Environ Health* 1985; **40**: 274-78.
  22. Luoma H, Aromaa A, Helminen S et al. Risk of myocardial infarction in Finnish men in relation to fluoride, magnesium and calcium concentration in drinking water. *Acta Med Scand* 1983; **213**: 171-76.
  23. Ma J, Folsom AR, Melnick SL et al. Associations of serum and dietary magnesium with cardiovascular disease, hypertension, diabetes, insulin, and carotid arterial wall thickness: the ARIC study. *J Clin Epidemiol* 1995; **48**: 927-40.
  24. Maheswaran R, Morris S, Falconer S et al. Magnesium in drinking water supplies and mortality from acute myocardial infarction in north west England. *Heart* 1999; **82**: 455-60.
  25. Marx A, Neutra RR. Magnesium in drinking water and ischemic heart disease. *Epidemiol Rev* 1997; **19**: 258-72.
  26. Masironi R, Pisa Z, Clayton D. Myocardial infarction and water hardness in the WHO myocardial infarction registry network. *Bull WHO* 1979; **57**: 291-99.
  27. McCarron DA. Role of adequate dietary calcium intake in the prevention and management of salt-sensitive hypertension. *Am J Clin Nutr* 1997; **65**: 712S-16S.
  28. Morgenstern H. Ecologic Studies. In: Rothman K, Greenland S, eds. *Modern Epidemiology*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1998: 459-80.
  29. Nardi G, Donato F, Monarca S, Gelatti U. Durezza dell'acqua potabile e malattie cronico-degenerative. Parte I. Analisi delle ricerche epidemiologiche. *Ann Ig* 2003; **15**: 35-40.
  30. National Institutes of Health. Optimal calcium intake. NIH Consensus Development Panel on Optimal Calcium Intake. *JAMA* 1994; **272**: 1943-48.
  31. Nerbrand CH, Svardsudd K, Ek J, Tibblin G. Cardiovascular mortality and morbidity in seven counties in Sweden in relation to water hardness and geological settings. *Eur Heart J* 1992; **13**: 721-27.
  32. Pockock SJ, Shaper AG, Cook DG et al. British Regional Heart Study: geographic variation in cardiovascular mortality, and the role of water quality. *Br Med J* 1980; **280**: 1243-49.
  33. Punsar S, Karvonen MJ. Drinking water quality and sudden death: observations from West and East Finland. *Cardiology* 1979; **64**: 24-34.
  34. Reinhart RA. Clinical correlates of the molecular and cellular actions of magnesium on the cardiovascular system. *Am Heart J* 1991; **121**: 1513-20.
  35. Rothman KJ, Greenland S. *Modern Epidemiology*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998.
  36. Rubenowitz E, Axelsson G, Rylander R. Magnesium in drinking water and death from acute myocardial infarction. *Am J Epidemiol* 1996; **143**: 456-62.
  37. Rubenowitz E, Axelsson G, Rylander R. Magnesium and calcium in drinking water and death from acute myocardial infarction in women. *Epidemiology* 1999; **10**: 31-6.
  38. Rubenowitz E, Molin I, Axelsson G, Rylander R. Magnesium in drinking water in relation to morbidity and mortality from acute myocardial infarction. *Epidemiology* 2000; **11**: 416-22.

39. Rylander R, Bonevik H, Rubenowitz E. Magnesium and calcium in drinking water and cardiovascular mortality. *Scand J Work Environ Health* 1991; **17**: 91-4.
40. Rylander R. Environmental magnesium deficiency as a cardiovascular risk factor. *J Cardiovasc Risk* 1996; **3**: 4-10.
41. Sacks FM, Brown LE, Appel L, Borhani NO, Evans D, Whelton P. Combinations of potassium, calcium, and magnesium supplements in hypertension. *Hypertension* 1995; **26**: 950-56.
42. Sacks MF, Willet WC, Smith A, Brown LE, Rosner B, Moore TJ. Effect on blood pressure of potassium, calcium, and magnesium in women with low habitual intake. *Hypertension* 1998; **31**: 131-38.
43. Saris NEL, Mervaala E, Karpunen H, Khawaja JA, Lewenstam A. Magnesium. An update on physiological, clinical and analytical aspects. *Clin Chim Acta* 2000; **294**: 1-26.
44. Scassellati Sforzolini G, Damiani P, Romoli R, Pasquini R, Conti R. Correlazione epidemiologica tra qualità delle acque potabili e mortalità per malattie del sistema circolatorio. *L'Igiene Moderna* 1979; **4**: 3-35.
45. Scassellati Sforzolini G, Pasquini R, Conti R. Correlazione epidemiologica tra qualità delle acque potabili e mortalità per malattie del sistema circolatorio. Indagini nei capoluoghi di provincia italiani. *L'Igiene Moderna* 1978; **8**: 1019-43.
46. Shaper AG, Packham RF, Pocock SJ. The British Regional Heart Study: Cardiovascular mortality and water quality. *J Environ Pathol Toxicol* 1980; **4**: 89-111.
47. Singh RB, Rastogi SS, Verma R et al. Randomised controlled trial of cardioprotective diet in patients with recent acute myocardial infarction: result of one year follow up. *Br Med J* 1992; **304**: 1689-90.
48. Singh RB. Effect of dietary magnesium supplementation in the prevention of coronary heart disease and sudden cardiac death. *Magnes Trace Elem* 1990; **9**: 143-51.
49. Smith WC, Crombie IK. Coronary heart disease and water hardness in Scotland. Is there a relationship? *J Epidemiol Community Health* 1987; **41**: 227-28.
50. Theophanides T, Angiboust JF, Polissiou M, Anastassopoulou J, Manfait M. Possible role of water structure in biological magnesium systems. *Magnes Res* 1990; **3**: 5-13.
51. Whelton PK, Kumanyika SK, Cook NR et al. Efficacy of nonpharmacologic interventions in adult with high-normal blood pressure: results from phase 1 of the Trials of Hypertension Prevention. *Trials of Hypertension Prevention Collaborative Research Group Am J Clin Nutr* 1997; **65**: 652S-660S.
52. Yamamoto ME, Applegate WB, Klag MJ et al. Lack of blood pressure effect with calcium and magnesium supplementation in adults with high-normal blood pressure. Results from Phase 1 of the Trial of Hypertension Prevention (TOHP). *Ann Epidemiol* 1995; **5**: 96-107.
53. Yang CY, Chiu HF. Calcium and magnesium in drinking water and the risk of death from hypertension. *Am J Hypertens* 1999; **12**: 894-99.
54. Yang CY, Chiu JF. Relationship between water hardness and coronary mortality in Taiwan. *J Toxicol Environ Health* 1996; **49**: 1-9.
55. Yang CY. Calcium and magnesium in drinking water and risk of death from cerebrovascular disease. *Stroke* 1998; **29**: 411-14.