

Tossicità del mercurio: dalla lezione di Minamata agli studi di suscettibilità genetica individuale (2° parte)

Vincenza Briscioli

Gruppo ACP Pediatri per Un Mondo Possibile

In questa seconda parte dell'articolo sul mercurio si analizzano i meccanismi patogenetici e i danni sugli organi; inoltre vengono presentate le basi genetiche della suscettibilità al danno da mercurio, con una particolare attenzione all'azione tossica di questo elemento sulle cellule.

In this second part of the article on mercury the pathogenetic mechanisms and the damages on the organs are analyzed; moreover, the genetic bases of susceptibility to mercury damage are presented, with particular attention to the toxic action of this element on the cells.

Introduzione

La tossicità del mercurio è ben nota, ma non è ancora chiara la comprensione di tutti i meccanismi molecolari alla base del danno indotto da questo metallo. Sia i composti inorganici di Hg, sia quelli organici (rappresentati principalmente dal metil-mercurio o MeHg) fanno parte del complicato ciclo bio-geo-chimico del mercurio [1-4]. Vi è una chiara evidenza che dosi elevate di Hg siano causa di tossicità nell'uomo, mentre è ancora oggetto di discussione e di interpretazione il ruolo sulla salute umana dell'esposizione a basse dosi e a tal proposito il biomonitoraggio, che consente la valutazione dei livelli di Hg nel corpo, potrebbe fornire informazioni sul rischio per la salute dei soggetti ad esso esposti [5]. Oggi è noto che la tossicità al Hg e gli effetti sulla salute dell'uomo possono variare a livello individuale, dipendendo non solo dalla specie chimica del mercurio ma anche dalle concentrazioni dello stesso e dal tempo di esposizione, oltre che dalla suscettibilità individuale. Non tutte le persone rispondono allo stesso modo nelle stesse condizioni di esposizione e vi sono differenze individuali significative nell'accumulo di Hg e nella sua distribuzione ed eliminazione. Per questi motivi è complesso e difficile stabilire il limite di tollerabilità di alte dosi di Hg per la salute dell'uomo; recenti studi epidemiologici hanno tentato di indagare i fattori in grado di modificare la risposta dell'individuo all'esposizione al Hg, ma i risultati sono stati contrastanti e attualmente il pensiero dei ricercatori e gli studi in essere sembrano documentare una suscettibilità genetica individuale all'esposizione al Hg, con funzione più o meno protettiva in base alla presenza o assenza di determinati polimorfismi genetici [6]. In futuro una migliore conoscenza di questi aspetti genetici potrà giocare un ruolo preventivo in quanto fornirà strumenti per l'attuazione di misure mirate contro gli effetti tossici del mercurio.

Meccanismi di tossicità

La tossicità del mercurio dipende dagli stessi processi di assorbi-

mento, distribuzione, metabolismo ed escrezione tipici di qualsiasi metallo pesante. Il Hg nella sua forma elementare è allo stato liquido e ha un basso rischio per la salute umana, mentre quando passa allo stato di vapore si distribuisce in tutto il corpo, determinando soprattutto disturbi del SNC. Una volta che il Hg si trova nel sangue è ossidato dall'enzima catalasi a ione mercurico (Hg²⁺) e questa forma ionica ostacola, ma non completamente il passaggio attraverso la barriera emato-encefalica ed il suo assorbimento nel SNC. A livello intracellulare questo ione reagisce con enzimi e molecole (glutazione, canali ionici, trasportatori ecc.) inibendone l'attività o interferendo con le normali funzioni cellulari e con i processi di detossificazione cellulare. Urine e feci sono le principali vie di eliminazione del mercurio metallico e inorganico [7]. Il metil-mercurio (MeHg) è estremamente pericoloso ed è onnipresente negli ecosistemi marini. Prodotto da fonti biologiche per azione microbica, entra nella catena alimentare acquatica sia dolce che salata, dove viene bio-accumulato nei tessuti muscolari dei pesci, in particolare delle specie predatorie più longeve. L'esposizione umana è dovuta al consumo di pesce e si osserva soprattutto nelle popolazioni che vivono vicino agli oceani, ai laghi e ai fiumi. Il tratto gastrointestinale assorbe circa il 95% del MeHg ingerito, nel sangue esso stabilisce legami chimici con proteine tissutali, legandosi a gruppi sulfidrilici, cisteina e glutazione, che sono responsabili della sua tossicità. La distribuzione dal sangue ai tessuti è lenta, nel cervello l'assorbimento del MeHg è più lento rispetto agli altri organi, ma il SNC ha una maggiore affinità per il MeHg e mostra concentrazioni da 3 a 6 volte più alte che nel sangue; nel cervello si trova in forma idrosolubile nel complesso MeHg-glutazione. Attraverso la circolazione entero-epatica, il MeHg arriva al fegato e poi alla bile, che rappresenta la principale via di escrezione insieme al rene; viene quindi espulso con le feci [7-8]; la sua emivita è di circa 70/80 giorni nell'uomo. Il MeHg passa la barriera placentare e legandosi all'emoglobina raggiunge concentrazioni ematiche fetali superiori a quelle materne. All'interno del cervello fetale il MeHg interagisce con la tubulina, una proteina presente nei microtubuli neuronali e innesca una serie di alterazioni nei processi dello sviluppo neuronale. Una finestra di esposizione critica sembra quindi essere la gravidanza, con rischio di danni irreversibili al sistema nervoso in via di sviluppo, che vanno da difetti dello sviluppo a ritardo di crescita, mentre nelle madri non si osservano gravi alterazioni [9-10].

Le basi genetiche della suscettibilità individuale al mercurio

Gli studi di genetica ambientale offrono un'opportunità per comprendere le basi della vulnerabilità individuale alla tossicità da mercurio, e i fattori genetici sono uno dei tanti fattori che influenzano tale suscettibilità. In particolare il genoma umano contiene milioni di varianti della sequenza del DNA, defini-

te polimorfismi, i più frequenti dei quali sono i polimorfismi a singolo nucleotide (SNP). Ogni variazione genetica può avere un impatto sulla regolazione della trascrizione, in particolare alcuni polimorfismi sono caratterizzati da delezioni del gene quindi da perdita di materiale genetico, e ciò può determinare l'assenza dell'attività di un dato enzima o di una proteina, mentre altri polimorfismi possono essere caratterizzati da duplicazioni del gene e quindi determinare un'attività enzimatica più alta o ridondante. Inoltre vi sono anche polimorfismi silenti, che non determinano alcuna alterazione della funzione dell'enzima o della proteina da loro codificati. I più studiati sono dei polimorfismi a singolo nucleotide definiti nsSNP, che si verificano in regioni codificanti del gene e che inducono differenze nella struttura molecolare primaria del DNA, alterando la sequenza degli aminoacidi, influenzando la composizione, la funzione e l'interazione con altre molecole. Molti studi si sono concentrati sul ruolo svolto da questi nsSNP nella tossico-cinetica del Hg al fine di chiarirne i meccanismi d'azione e la suscettibilità individuale [11]. Una overview recentemente pubblicata a cura di Andreoli e Sproviero ha esaminato innumerevoli studi presenti in letteratura su polimorfismi e tossicocinetica del mercurio, identificando sottoclassi di polimorfismi potenzialmente interagenti con il suo metabolismo [1].

Classi di interesse genico e polimorfismi correlati

Il sistema del glutatione (GSH- γ -glutamyl-cisteinilglicina) è un tripeptide essenziale presente in grandi quantità in tutte le cellule di mammifero. E' l'agente principale del sistema di disintossicazione del glutatione (GSHs), protegge le cellule dallo stress ossidativo, favorisce una risposta dell'organismo al danno da Hg. Diversi studi epidemiologici hanno ipotizzato che la risposta dell'individuo al Hg sia influenzata dalle varianti presenti in diversi geni regolatori del sistema del Glutatione, che sono coinvolti nella tossicocinetica del mercurio; i soggetti con specifici polimorfismi possono tollerare esposizioni più elevate di Hg a causa della loro capacità di eliminazione più rapida del metallo e/o della migliore capacità antiossidante del loro sistema del glutatione (esempio la famiglia della S-transferasi GST) [12].

La famiglia delle metallotioneine (MT) sono una classe di proteine di basso peso molecolare, localizzate nell'apparato del Golgi, ricche di cisteina con funzione di trasporto, stoccaggio e detossificazione dei metalli pesanti. Esse possono svolgere un ruolo parziale nella prevenzione dell'accumulo di Hg nel fegato e nel sangue e ne riducono la tossicità renale. Negli ultimi anni sono stati pubblicati diversi studi sul loro ruolo nella suscettibilità individuale alla tossicità da metalli pesanti, anche se solo alcune varianti hanno mostrato una significativa correlazione con l'esposizione umana al Hg. Dal punto di vista clinico gli effetti molecolari di queste varianti polimorfiche non sono chiariti completamente, questi polimorfismi sono però localizzati in regioni importanti per la regolazione della trascrizione e della traduzione ed è quindi probabile che possano alterare le strutture molecolari delle metallotioneine e che possano influenzare la capacità di ritenzione del Hg ed i livelli dello stesso nei biomarcatori [13].

La famiglia delle selenoproteine. La presenza di selenio (Se) in diversi distretti corporei sembra svolgere un importante ruolo

nella conservazione del Hg e nella sua distribuzione tissutale. Questo micronutriente esercita la sua funzione attraverso proteine selenio-dipendenti denominate selenoproteine. Esse svolgono due importanti ruoli nella protezione contro la tossicità da Hg: **1.** possono legare più Hg attraverso il loro gruppo tiolico altamente reattivo e **2.** hanno proprietà antiossidanti che aiutano ad eliminare i radicali ossidrilici indotti dall'azione del mercurio. Inoltre elevate concentrazioni di MeHg possono direttamente indurre una diminuzione dell'espressione di molti geni che codificano per le selenoproteine e questo può determinare una deplezione di metaboliti importanti per la risposta dell'organismo alla tossicità del mercurio [14-15]. Esistono anche in questo caso polimorfismi genetici che modulano l'espressione di queste proteine determinando alterazioni nei meccanismi di protezione, che l'organismo mette in atto in presenza di elevati livelli di Hg. Tutte queste modifiche che coinvolgono i geni delle selenoproteine e gli effetti che hanno sulla regolazione epigenetica possono alterare il delicato equilibrio tra selenio e mercurio e sono necessari ulteriori studi genetici per identificare i loro effetti complessi sulla salute umana [16].

Le proteine trasportatrici xenobiotiche. Non sono ancora stati identificati specifici trasportatori del mercurio, ma sappiamo che gli atomi di Hg hanno una capacità di legarsi a proteine, peptidi o aminoacidi come i GSH-Hg o Hg-Cys. Queste interazioni possono dare origine a specifici substrati per le proteine trasportatrici, che sono coinvolte nel trasporto sia intra che extra cellulare delle diverse forme di Hg attraverso le membrane cellulari. Le proteine ABC (dall'inglese ATP-binding cassette) sono trasportatori trans-membrana, che intervengono nel trasporto attraverso le membrane endo ed extracellulari di una grande quantità di sostanze, inclusi farmaci, metaboliti, steroidi; sono classificate in virtù del loro dominio che lega ATP, e influenzano l'assorbimento, la distribuzione e l'eliminazione di Hg a livello molecolare, modulandone l'efflusso cellulare. E' stato dimostrato che la soppressione dell'attività genetica del sistema ABC aumenta il contenuto di Hg nelle cellule e la sensibilità alla tossicità da mercurio in vitro [17]. Diversi studi sembrano mostrare come alcuni polimorfismi genetici del sistema ABC siano in correlazione con la modulazione del trasporto di Hg nelle cellule e con la sua eliminazione, ma rimane ancora poco chiara la correlazione tra queste varianti polimorfiche e gli esiti della tossicità al mercurio sul sistema nervoso fetale. Questo filone di ricerca è quindi meritevole di ulteriori indagini [18-19]. Le evidenze scientifiche sembrano mostrare che alcune varianti genetiche di geni codificanti sistemi enzimatici e proteici coinvolti nei processi di assorbimento ed eliminazione del mercurio possano svolgere un ruolo nella modulazione degli effetti neurotossici di questo metallo [20]. In particolare alcune di queste varianti si ipotizza possano alterare il funzionamento di alcuni neurotrasmettitori nel SNC in risposta all'azione neurotossica del Hg [21]. Negli ultimi anni vi è una crescente preoccupazione circa il ruolo del Hg nelle patologie cardiovascolari, soprattutto nella esposizione a basse dosi. I meccanismi alla base di questo effetto non sono stati ben chiariti, anche se si ipotizza siano dovuti a un aumento dello stress ossidativo per la presenza di un'eccessiva produzione di radicali liberi [22]. Le ricerche sulle varianti genetiche del sistema della Glutatione Sintetasi (GSH) hanno dimostrato la loro capacità di influenzare il metabolismo del Hg, alterando selettivamente le corrispondenti attività enzimatiche o l'espressio-

Tabella 1. Effetti della tossicità del mercurio sulla salute umana (Fonte: voce bibliografica 1, modificata).

Sistema coinvolto	Via di esposizione	Biomarcatori	Effetti sulla salute
Sistema Nervoso Centrale	Alimentare/lavorativa, amalgama dentali/professionale/ transplacentare	Sangue del cordone ombelicale, latte materno, capelli, sangue, urine	Bambini: ritardo del linguaggio, deficit di attenzione, ritardo neuro-comportamentale. Adulti: depressione, paranoia, irritabilità, deficit di concentrazione, disturbo della memoria, tremori, cefalea, insonnia, astenia, cecità, neuropatia ottica, retinopatia, perdita d'udito, deficit comportamentali
Sistema Nervoso Periferico	Prenatale e postnatale, cibo contaminato (pesce), inalazione per attività estrattiva mineraria	Materni: capelli. Adulto: urine, capelli, sangue	Disturbi della funzione motoria, astenia, ipotonia muscolare deambulazione rallentata
Cardio Vascolare	Esposizione cronica attribuita al cibo o all'attività mineraria	Unghie, sangue, urine, capelli	Cardiomiopatia, ipertensione, malattia coronarica, infarto del miocardio, aritmie, ictus, ischemia cardiaca, arteriosclerosi
Polmonare	Inalatoria per esposizione professionale ai vapori o per combustione	Urine	Polmonite chimica, asma, bronchite necrotizzante, tosse, fibrosi polmonare, dispnea
Renale	Professionale, per abuso di cosmetici che contengono mercurio, amalgama dentali, alimentare	Urine capelli e sangue	Glomerulopatia, glomerulonefriti, incremento creatinina, proteinuria, sindrome nefritica e nefrosica
Endocrino/ Riproduttivo	Esposizione prenatale e postnatale alle amalgama, esposizione professionale	Bambini: urine e sangue. Adulti: urine, capelli e sangue	Iperplasia/atrofia surrenalica, ipotiroidismo, tiroiditi, depressione, disfunzione pancreatica, infertilità, difetti congeniti
Immunitario/ Ematologico	Amalgama, professionale cronica, alimentare	Adulti: urine e test di stimolazione linfociti/monociti	Patologie autoimmuni in popolazione suscettibile, deficit immunitario, anemia aplastica e emolitica
Embrionale	Esposizione professionale materna, alimentare materna, e amalgama	Sangue cordonale e fetale e capelli materni	Ipoplasia cerebellare, riduzione neuroni delle corteccia cerebrale, riduzione del peso del cervello, anomalie della migrazione neurale, aborti spontanei, aumento natimortalità, basso peso alla nascita

ne del gene stesso [12,23]. Le future linee di ricerca potrebbero portare a una migliore comprensione dei meccanismi biologici sottostanti al metabolismo del Hg, della sua variabilità e delle sue finestre critiche di suscettibilità, migliorando la valutazione del rischio e facilitando le misure preventive e di trattamento dei suoi esiti, con un miglioramento complessivo delle condizioni di salute globale e della qualità di vita e una riduzione delle disparità sociali. Inoltre la comprensione del legame esistente tra corredo genetico e sua variabilità individuale nell'espressione fenotipica potrebbe consentire l'identificazione di risposte individuali reali alla tossicità da Hg, colmando così il divario tra la percezione del rischio e il reale pericolo; e questo tipo di informazioni potrebbe individuare popolazioni ad alto rischio di esposizione al Hg per ragioni etniche e genetiche. E' infatti stato chiarito che alcune varianti polimorfiche del GST possono avere un impatto diverso sulla eliminazione del metil mercurio o del mercurio inorganico [12,23]; così come le varianti molecolari delle metallothioneine o delle selenoproteine o del sistema ABC [12-16, 20] possono interagire con l'esposizione ambientale al MeHg. Inoltre poter definire specifici "profili genetici" di suscettibilità individuale al Hg è particolarmente rilevante per l'esposizione cronica al Hg e il rischio di compromissione neurologica e cardiovascolare.

Conclusioni

Gli studi epidemiologici sembrano mostrare che vi è una correlazione tra alcune varianti polimorfiche genetiche presenti nel genoma umano e la risposta individuale all'esposizione al Hg, ovvero che esiste una diversa suscettibilità agli effetti tossici del mercurio. E' quindi fondamentale comprendere i meccanismi biologico-molecolari coinvolti nell'assorbimento, metabolizzazione ed eliminazione di questo metallo per attuare un piano d'azione globale di protezione della salute pubblica, consentendo di identificare e quindi proteggere le popolazioni/gli individui più sensibili e a rischio di tossicità da Hg. Senza dimenticare che comunque la principale priorità rimane quella di ridurre l'inquinamento da Hg [1].

1. Andreoli V, Sprovieri F. Genetic Aspects of Susceptibility to Mercury Toxicity: An Overview. *Int J Environ Res Public Health*. 2017 ;14(1): 93.
2. United Nations Environment Programme. Global Mercury Assessment. United Nations Environment Programme, UNEP Chemicals; Geneva, Switzerland: 2002.
3. [Guidelines for Identifying Populations at Risk from Mercury Exposure.](#)
4. United Nations Environment Programme .Global Mercury Assessment 2013: Sources, Emissions, Releases and Environmental Transport. UNEP Chemicals Branch; Geneva, Switzerland: 2013
5. Poulin J, Gibb H. Mercury: Assessing the Burden of Disease at National and Local Levels. World Health Organization; Geneva, Switzerland: 2008.
6. Basu N, Goodrich JM, Head J. Ecogenetics of mercury: From genetic polymorphisms and epigenetics to risk assessment and decision making. *Environ. Toxicol. Chem.* 2014;33:1248–1258.
7. Rice KM, Walker EM, Wu M, et al. Environmental mercury and its toxic effects. *J Prev Med Public Health* 2014;47:74–83.
8. Clarkson TW, Magos L, Myers GJ. The toxicology of mercury—Current exposures and clinical manifestations. *N. Engl. J. Med.* 2003;349:1731–1737.
9. Syversen T, Kaur P. The toxicology of mercury and its compounds. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2012;26:215–226.
10. World Health Organization. Children's Exposure to Mercury Compounds. World Health Organization; Geneva, Switzerland: 2010.

11. Shastry BS. SNPs: Impact on gene function and phenotype. *Methods Mol. Biol.* 2009;578:3–22.
12. Engström KS, Strömberg U, Lundh T. et al. Genetic variation in glutathione-related genes and body burden of methylmercury. *Environ. Health Perspect.* 2008;116:734–739.
13. Wang Y, Goodrich JM, Gillespie B. et al. An investigation of modifying effects of metallothionein single-nucleotide polymorphisms on the association between mercury exposure and biomarker levels. *Environ. Health Perspect.* 2012;120:530–534.
14. Ralston NVC, Ralston CR, Raymond LJ. Selenium Health Benefit Values: Updated Criteria for Mercury Risk Assessments. *Biol. Trace Elem. Res.* 2016;171:262–269.
15. Penglase S, Hamre H, Ellingsen S. Selenium prevents downregulation of antioxidant selenoprotein genes by methylmercury. *Free Radic. Biol. Med.* 2014;75:95–104.
16. Chen C, Yu H, Zhao J, et al. The roles of serum selenium and selenoproteins on mercury toxicity in environmental and occupational exposure. *Environ. Health Perspect.* 2006;114:297–301.
17. Bridges CC, Zalups RK. Molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metals. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2005;204:274–308
18. Engström K, Love TM, Watson GE et al. Polymorphisms in ATP-binding cassette transporters associated with maternal methylmercury disposition and infant neurodevelopment in mother-infant pairs in the Seychelles Child Development Study. *Environ. Int.* 2016;94:224–229.
19. Llop S, Engström K, Ballester F, et al. Polymorphisms in ABC transporter genes and concentrations of mercury in newborns—Evidence from two Mediterranean birth cohorts. *PLoS ONE.* 2014;9(5):e97172
20. Echeverria D, Woods JS, Heyer NJ, et al. Chronic low-level mercury exposure, BDNF polymorphism, and associations with cognitive and motor functions. *Neurotoxicol. Teratol.* 2005;27:781–796.
21. Woods JS, Heyer NJ, Russo JE, et al. Genetic polymorphisms of catechol-O-methyltransferase modify the neurobehavioral effects of mercury in children. *J. Toxicol. Environ. Health A.* 2014;77:293–312.
22. Yorifuji T, Tsuda T, Kashima S, et al. Long-term exposure to methylmercury and its effects on hypertension in Minamata. *Environ. Res.* 2010;110:40–46.
23. Wahlberg K. Et al. Maternal polymorphisms in glutathione-related genes are associated with maternal mercury concentrations and early child neurodevelopment in a population with a fish-rich diet. *Environ. Int.* 2018, 115:142-149.

Pediatri per Un Mondo Possibile

Gruppo di studio sulle patologie correlate all'inquinamento ambientale dell'Associazione Culturale Pediatri (ACP)
mail: pump@acp.it