

# Aspetti tossicologici del micromercurialismo indotto da otturazioni in amalgama

**Dr Federico Ronchi**

The bulk of scientific data regarding the release of low doses of the toxic metal mercury from amalgam fillings is now so vast that the problem cannot be dismissed as irrelevant. 150 years of amalgam use have been paralleled closely by just as much research demonstrating that mercury does in fact leave fillings throughout their serviceable life and has a well documented effect on numerous biochemical substrates. These effects occur throughout the human body and in particular in certain critical target organs such as the brain. Dose-related effects have been clearly traced and there is a growing amount of evidence that dose-independent effects, involving mainly the immune system, can be of great importance in sensitive patients.

This review summarises the chemical nature of amalgam, the instability of mercury and the release of vapour in the oral cavity, adsorption through the lungs and kinetics of mercury distribution in the tissues. Data is presented relative to molecular and cellular effects of mercury and possible correlations with pathological states.

## Caratteristiche del materiale

La preparazione dell'amalgama prevede la miscelazione di una componente liquida rappresentata dal mercurio con una componente solida costituita da fini particelle di una lega contenente argento ed altri metalli, tra cui lo stagno il rame ed a volte lo zinco. Le percentuali di ciascun metallo nella lega permettono di classificare i prodotti finali come amalgami tradizionali ed amalgami non gamma-2 o ad alto contenuto di rame, laddove i secondi rappresentano l'evoluzione merceologica dei primi, offrendo caratteristiche meccaniche e di resistenza alla corrosione nettamente superiori.

Durante la miscelazione delle due componenti si assiste alla cosiddetta amalgamazione, ovvero alla dissoluzione delle particelle solide da parte del mercurio fino ad ottenere un prodotto plastico, il quale successivamente cristallizza formando appunto una amalgama di metalli.

La micro struttura di questo materiale è complessa e dipende fortemente dalle caratteristiche delle particelle con cui è realizzata la polvere: in esso sono sempre riconoscibili dei nuclei della lega iniziale parzialmente disciolti ed intrappolati in una matrice di prodotti di reazione costituita da

varie fasi metalliche. Negli anni lo studio delle reazioni di amalgamazione e della composizione finale dell'amalgama ha portato a delineare l'esistenza di un complesso sistema di fasi, che si differenziano notevolmente da quelle presenti nelle leghe per via della tendenza ad evolvere in senso dinamico, subendo importanti processi di riorganizzazione interna(30).

Per lungo tempo si è ritenuto e professato che l'amalgama, una volta completamente indurita, fosse un materiale assolutamente inerte e stabile, in cui tutto il mercurio libero viene interamente e permanentemente sequestrato all'interno di legami chimici con gli altri metalli, incapace di liberarsi nel cavo orale. Una simile rassicurante visione è frutto di approssimazioni notevoli, quali ritenere che i legami di tipo metallico che vengono a realizzarsi tra i componenti delle fasi siano paragonabili a forti legami di tipo covalente oppure, ancora, omettere il fatto che l'amalgamazione non è un processo che avviene in rapporti stechiometrici bensì prevede un notevole eccesso di mercurio, il quale necessariamente permane in sovrabbondanza nella struttura dell'amalgama cristallizzata, nonostante la più efficace condensazione.

D'altra parte le reazioni descrittive il processo di amalgamazione di mercurio e lega

si sono progressivamente complicate, con l'introduzione di nuove formulazioni per la fase gamma-1 e l'identificazione di una nuova fase metallica (30) nominata  $\beta 1$  (beta-uno), per la quale sono state proposte le composizioni 0.475Hg/0.45Ag/0.075Sn oppure 1Ag/1Hg

La fase  $\beta 1$ , contenente una quota minore di mercurio legato, rappresenta un'evoluzione nel tempo della fase gamma 1 a cui consegue l'arricchimento della quota di mercurio libero nell'amalgama, il quale può affiorare per capillarità verso la superficie sotto forma di gocce metalliche

Il rilascio di mercurio da parte delle otturazioni in amalgama è da imputare quasi interamente a questo fenomeno fisico, mentre riveste un ruolo del tutto marginale la corrosione del materiale, i cui prodotti ne contengono solo minime percentuali. Contrariamente a quanto auspicato, l'aumento della resistenza alla corrosione degli amalgami non gamma-2 non ha affatto comportato una diminuita cessione di mercurio bensì esattamente il contrario, essendo stata eliminata proprio la fase più stabile dal punto di vista del sequestro di mercurio a favore di fasi più instabili.

L'entità del mercurio introdotto in eccesso durante l'amalgamazione, a cui si aggiunge progressivamente la quota che si libera per l'evoluzione del sistema di fasi, è presente in un quantitativo totale in grado di sostenere la cessione di mercurio per tutta la durata clinica dell'otturazione.

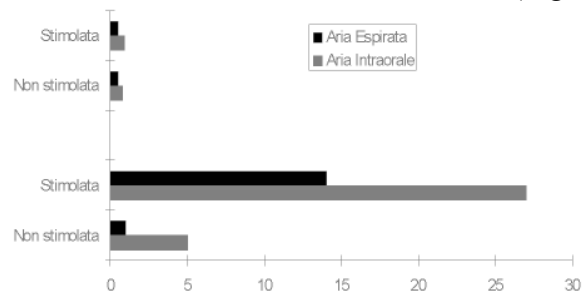
### **Rilascio di Mercurio in Vivo**

Il rilascio di vapori di mercurio, ovvero della forma metallica  $Hg^0$ , all'interno del cavo orale è ampiamente dimostrato a livello clinico ed è possibile ottenere precise misurazioni di concentrazione nei soggetti portatori di otturazioni in amalgama.

I primi studi in tal senso, ad opera di Svare, hanno dimostrato concentrazioni basali almeno triple nell'aria espirata da tali soggetti quando confrontati con soggetti privi di amalgame ed aumenti repentini

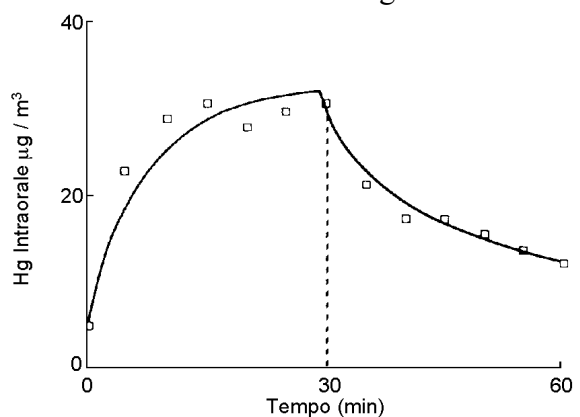
nell'emissione di mercurio durante la masticazione (25).

Il protocollo sperimentale è stato successivamente migliorato da Vimy e Lorscheider, i quali hanno eliminato alcune variabili scarsamente controllabili legate alla misurazione del mercurio nel flusso d'aria espirato ed hanno sviluppato una metodica di campionamento direttamente dell'aria intraorale (26). La nuova procedura di rilevamento ha conseguentemente permesso di arrivare ad una precisa determinazione del quantitativo di mercurio liberato dalle otturazioni in condizioni basali, senza carico masticatorio, e durante la masticazione (Fig 1)



I risultati a cui sono giunti i due autori dimostrano una differenza significativa tra il livello di vapori di mercurio nel cavo orale di soggetti con otturazioni in amalgama e soggetti di controllo, privi di restauri; per i primi il livello medio basale è di  $4.91 \pm 0.90 \mu g / m^3$ , contro lo  $0.54 \pm 0.37 \mu g / m^3$  dei soggetti di controllo. Tale valore resta pressoché invariato nei pazienti privi di restauri anche durante la masticazione di chewing gum per cinque minuti consecutivi, mentre si innalza drasticamente fino ad un valore medio di  $29.10 \pm 6.07 \mu g / m^3$  nei portatori di amalgame.

Un ulteriore studio effettuato dagli stessi autori ha fornito dati di grande interesse

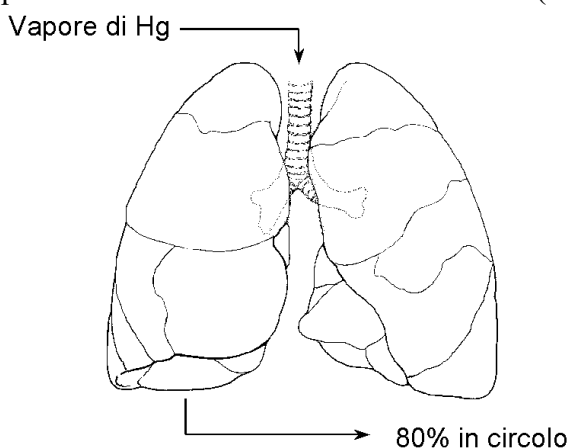


circa la dinamica del rilascio di mercurio durante la masticazione, dimostrando che esso aumenta rapidamente fin dai primi minuti in cui l'otturazione viene caricata (fig 2) e poi impiega un tempo eccedente i 90 minuti per ritornare a livelli basali (27).

Numerosi altri fattori fisici possono esacerbare l'emissione di vapori di mercurio tra cui i rialzi termici determinati dall'ingestione di cibi o bevande calde, le forze occlusali che si esercitano sulle superfici del restauro a seguito del bruxismo, lo spazzolamento, tutte le forme di bimetallismo orale ed anche l'esposizione a campi elettromagnetici ad alta frequenza.

### Esposizione ed assorbimento

La principale via di assimilazione del mercurio liberato dalle otturazioni in amalgama è rappresentata dalla inalazione del vapore, il quale è in grado di diffondere, con una efficienza prossima al 100%, a livello del letto alveolare ed è complessivamente assorbito, tenuto conto degli spazi morti funzionali, nella misura del 80% per via polmonare (33).



La via intestinale, tipica delle forme organiche del mercurio, quale il metilmercurio contenuto nel pesce, non sembra essere particolarmente rilevante per l'assorbimento della forma metallica  $Hg^0$ . Tutte le altre forme chimiche di mercurio, tra cui gli ioni, sono scarsamente rappresentate nel quadro complessivo del rilascio da parte dell'amalgama ed hanno, conseguentemente, un peso specifico pressoché irrilevante rispetto al vapore di mercurio.

Altre vie di assorbimento note e documentate, anche se di modesta entità, sono per via della mucosa orale e direttamente tramite i tessuti dentino-pulpari esposti, al di sotto delle otturazioni, a concentrazioni elevatissime di mercurio.

La dose di mercurio assorbita giornalmente, imputabile alle amalgame, è fortemente variabile da persona a persona e dipende da numerosi fattori quali il numero di otturazioni nel cavo orale, la loro superficie complessiva e lo stile di vita. Esiste tuttavia il consenso nel ritenere che nel soggetto medio, con un numero medio di restauri, tale valore si attesti sui  $10\mu g$  /die, con una variabilità individuale compresa fra 1.2 e  $100\mu g$  /die (27, 33). Tali valori sono da paragonare con i dati forniti dall'OMS sull'esposizione della popolazione

Fonte di Esposizione	Vapore di mercurio	Mercurio Ionico	Metil Mercurio
Aria	0.030	0.002	0.008
Alimentare			
Dal	0	0.600	2.4
Pesce			
Altro	0	3.6	0
Acqua potabile	0	0.050	0
Otturazioni in amalgama	3.8 - 21.0	0	0
TOTALE	3.9 - 21	4.3	2.41

generale alle varie fonti di mercurio, da cui si evince che l'amalgama è la principale sorgente di questo elemento, considerato che il consumo di pesce comporta un assunzione media di  $2.4\mu g$  /die, le altre fonti alimentari di  $3.6\mu g$  /die e l'inquinamento ambientale di  $0.04\mu g$  /die. (33)

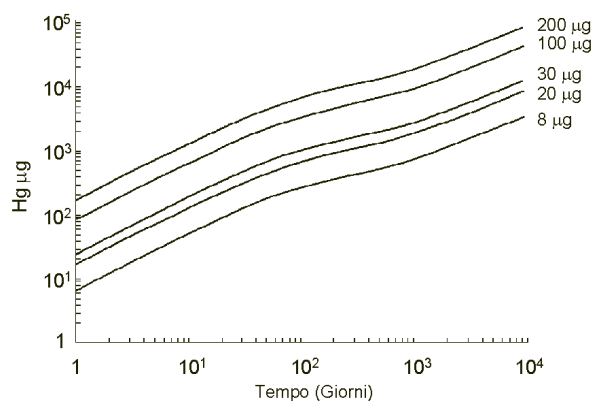
### Destino Organico

Il destino organico del vapore di mercurio, una volta assimilato, è la conversione nella forma ionica ad opera di una catalasi ematica o tissutale (13). La forma metallica  $Hg^0$  è fortemente liposolubile ed è in grado di superare direttamente la barriera emato-encefalica e placentare, dando origine a forme di sequestro dovute alla ionizzazione in tali tessuti ed alla conseguente impossibilità per la molecola di fuoriuscirne.

L'emivita ematica del mercurio inorganico è particolarmente breve per via della rapida distribuzione ai tessuti; la misurazione del mercurio ematico non rappresenta quindi un valido parametro di valutazione di forme di intossicazioni croniche (33, 3).

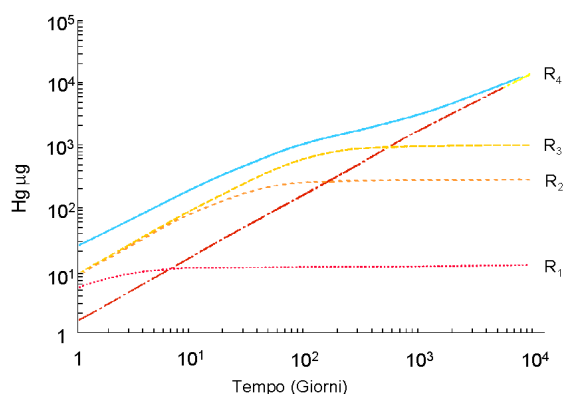
Numerose sperimentazioni effettuate sugli animali impiegando traccianti radioattivi ed attraverso indagini autoptiche in soggetti portatori di amalgame hanno permesso di definire precisamente le caratteristiche di accumulo del mercurio inorganico, il quale, essendo un metallo pesante, è solo parzialmente eliminato attraverso le urine e le feci e presenta una forte tendenza a depositarsi nei tessuti. Tra i bersagli preferenziali di questo metallo si annoverano il Sistema Nervoso Centrale ed in particolare l'ipofisi, tutti gli organi parenchimosi ed in particolar modo il rene, il fegato ed i tessuti ectodermici (33). Il sistema delle emivite del mercurio a livello tissutale è particolarmente complesso essendo un parametro sito specifico e risultante delle diverse forme biochimiche di sequestro che si realizzano nei diversi distretti dell'organismo. Bernard e Purdue hanno sviluppato delle equazioni empiriche che descrivono un modello multicompartimentale, caratterizzato da quattro sistemi con emivite diverse, compreso un compartimento con emivita pari a 27 anni (3). E' da notare che i compartimenti non si identificano necessariamente con un tessuto bensì con un forma chimica di deposito che pertanto può esistere in diversi organi contemporaneamente. Vimy ha

ha successivamente potuto sviluppare una routine di calcolo iterativo che simula la quantità totale di mercurio depositato nei tessuti dato un valore costante (fig 4)



di assorbimento ed un lasso di tempo ed, al contrario, il tempo necessario al raggiungimento di un equilibrio (fig 5) nei quattro compartimenti descritti dalle equazioni (28)

Se si considera una esposizione base di 30 µg /die, corrispondente, secondo gli autori, alla quantità di mercurio assorbita da un individuo portatore di 12 superfici ricostruite in amalgama i primi tre compartimenti



raggiungono l'equilibrio dopo 5, 100 e 300 giorni rispettivamente. La situazione è invece critica nel quarto compartimento, che non raggiunge l'equilibrio prima dei 100000 giorni (270 anni !) ed incomincia a presentare un flesso solo dopo 10000 giorni (27 anni).

Dai risultati si deduce che i primi tre compartimenti smettono di accumulare ulteriore mercurio dopo circa una settimana, tre mesi e mezzo e poco meno di un anno, mentre il quarto non si satura mai, determinando un crescendo continuo del contenuto totale corporeo.

Sia gli studi su modelli animali (7) che gli esami tossicologici effettuati su tessuti prelevati da cadaveri (17) hanno confermato l'esistenza di accumuli rilevanti di mercurio anche al livello di esposizione determinato

delle otturazioni in amalgama ed hanno permesso una mappatura precisa degli organi bersaglio di questo fenomeno .

### **Conseguenze dell'intossicazione cronica : Effetti Clinici e Biologici**

Le conoscenze scientifiche sulle conseguenze delle intossicazioni croniche di lunga durata sono tuttora limitate ed insufficienti. Molto è noto sulla tossicità acuta del mercurio, a cui si associa una sintomatologia franca, patognomica e sovente drammatica, mentre scarsi sono invece i dati disponibili circa gli effetti clinici che si verificano a bassi livelli di esposizione, come nel caso dell'amalgama. Il micromercurialismo è notoriamente un quadro patologico difficile da diagnosticare per via dell'aspecificità e numerosità dei sintomi con i quali può presentarsi. A tuttora tutti gli studi epidemiologici hanno preso in considerazione popolazioni limitate ed una sintomatologia molto ampia, fornendo dati scarsamente significativi e mai conclusivi. Molto frequentemente esiste inoltre una notevole difficoltà nel valutare l'entità e l'esistenza stessa dei segni clinici : basti pensare a quanto sono difficilmente quantificabili alcuni sintomi di tipo psichiatrico quali la depressione e l'irascibilità, a quanto è comune ed assolutamente non patognomica la cefalea e di come sia del tutto soggettiva l'interpretazione di stati quale l'affaticamento. Da un punto di vista tossicologico non è possibile, allo stato attuale, definire un livello al quale si ha l'assenza assoluta di effetti ne un livello di sicurezza per l'esposizione della popolazione generale al mercurio, come si evince anche dai rapporti specifici dell'OMS. Nella valutazione dei rischi connessi all'esposizione cronica al mercurio occorre ricordare che può esistere patologia anche in condizioni di silenzio sintomatico, che certe manifestazioni possono non essere immediatamente riconducibili al mercurio a causa delle loro multifattorialità e che comunque può esistere il rischio di patologia, magari a lungo termine ed in via di possibilità.

Nel caso specifico alcuni effetti sono dose dipendenti mentre altri, di natura allergica ed immunitaria, possono non esserlo. In alcuni casi esiste una notevole incertezza sull'entità degli effetti in rapporto alla dose: come avviene per le radiazioni ionizzanti è possibile che esista una correlazione lineare tra dose ed effetto ma che, al di sotto di una certa soglia, gli effetti si perdano nel rumore statistico. In questi casi non necessariamente si potrà parlare di assenza di effetti ma piuttosto di impossibilità di misurazione. Come per le radiazioni, è probabile che anche per il mercurio esista un livello accettabile da un punto di vista del rapporto costi beneficio, ma non uno sicuro in senso assoluto.

### **Reazioni Allergiche**

L'allergia al mercurio sembra essere la sintomatologia legata dall'amalgama con la maggiore incidenza nella popolazione e può presentarsi in forma localizzata, con reazioni confinate al cavo orale, oppure essere di tipo sistemico.

Tipicamente possono comparire dermatiti, eczema, orticaria o reazioni eritematose, con l'interessamento della faccia, del collo , delle braccia e delle gambe e del torace. La percentuale di pazienti palesemente allergici al mercurio contenuto negli amalgami si attesta su valori nell'ordine del 5%, ma occorre ricordare che vari studi hanno evidenziato reazioni di ipersensibilità cutanea al mercurio somministrato tramite patch test (tipicamente 0.5ml di una soluzione di cloruro di mercurio allo 0.1%) nel 2 - 35% dei soggetti portatori di otturazioni e che questi valori sono notevolmente maggiori nel caso vengano impiegate metodiche più sensibili quali il MELISA (Memory Lymphocyte Immuno Stimulatory Assay), originariamente sviluppato per lo screening degli epitopi allergenici dei farmaci a basso peso molecolare (23) Tale metodica è fortemente specifica e notevolmente più sensibile del patch test, riuscendo ad evidenziare anche soggetti normalmente negativi agli altri esami allergologici epicutanei.

Attualmente molti casi di lichen planus sono attribuiti a reazioni di tipo allergico dipendenti dalle otturazioni in amalgama ed una delle strategie terapeutiche frequentemente applicata prevede proprio la rimozione di tale materiale (21). Vari studi hanno cercato di perfezionare un protocollo diagnostico atto a predire il livello di beneficio atteso per il paziente affetto da lichen che si sottopone alla bonifica dei restauri in amalgama, ottenendo generalmente una sottostima dei risultati rispetto ai miglioramenti clinici successivamente registrati (20). In tal senso le reazioni dermcutanee ai test per contatto sembrano essere solo parzialmente correlate alla presenza di lesioni orali lichenoidi ed, in caso di negatività, non dimostrano l'estraneità del mercurio nella eziopatogenesi del processo patologico.

### **Effetti sul sistema immunitario**

Negli ultimi dieci anni grande attenzione è stata posta sulla capacità del mercurio inorganico di alterare la funzione del sistema immunitario. Ciò che sembra ormai certo è l'esistenza di effetti dose dipendente coesistenti con altri dose indipendenti ma legati ad alcuni genotipi del complesso maggiore di istocompatibilità. La suscettibilità al mercurio è dunque anche un fatto di tipo soggettivo, per il quale non è possibile stabilire parametri e soglie certe. Attualmente si è a conoscenza del fatto che il mercurio mercurico è un potente stimolante dei linfociti T umani in vitro e che possiede, già alle concentrazioni riscontrabili comunemente nel sangue, notevoli capacità di legame sulla membrana cellulare e di captazione da parte del nucleo.

Herrstrom ha dimostrato una bassa ma comunque significativa correlazione tra numero di otturazioni in amalgama ed alterazioni numeriche dei linfociti B e T, i T4 e T8, dei monociti ed dei granulociti, oltre che di fattori umorali quali le immunoglobuline di classe IgC, IgG1, IgC2, IgC3, IgG4, IgA, IgM, IgE, l'albumina, l'alfa-1-antitripsina, l'oromucoside e gli anticorpi anti nucleo (8).

Da tempo è nota la capacità del cloruro di mercurio e del mercurio metallico di indurre fenomeni di tipo autoimmune. A livello sperimentale sono stati impiegati in molti studi i ratti di razza Brown Norway come modello animale in quanto noti essere geneticamente suscettibili al mercurio. In questi ratti infatti basse dosi di cloruro di mercurio (50 µg /kg tre volte alla settimana) inducono una glomerulopatia autoimmune mentre a dosi più elevate (100 µg /kg tre volte alla settimana) compare anche proteinuria (9). Il meccanismo patogenetico con cui si instaura la patologia consiste in una attivazione policlonale dei linfociti B ad opera delle cellule T, con produzione di anticorpi diretti contro il self (membrana basale glomerulare, immunoglobuline, DNA, mieloperossidasi) che si dispongono poi in modo lineare lungo la membrana basale. Ad alti dosaggi di cloruro di mercurio si assiste alla comparsa di una glomerulonefrite membranosa con depositi subepiteliali di IgG che tende ad evolvere verso la sindrome nefrosica e la morte per insufficienza renale. Lo stato patologico è preceduto da un aumento della concentrazione di IgE circolanti.

A tale proposito sembra essere un dato di particolare interesse il fatto che la specificità antigenica degli autoanticorpi antinucleolo isolati nei modelli sperimentali sia esattamente sovrapponibile con quella presentata dagli autoanticorpi circolanti nel siero di pazienti affetti da sclerodermia (14). In ulteriori esperimenti sull'animale è stata dimostrata la comparsa di reazioni autoimmuni anche a carico del polmone, con manifestazioni cliniche ed anatomia patologiche sovrapponibili alla sindrome di Goodpasture (1).

Altri autoanticorpi che possono comparire nel ratto dopo esposizione al cloruro di mercurio sono gli anticorpi anti fosfolipidi (aPL), in particolare nelle forme anti cardiolipina (aCL) e lupus anticoagulante (LAC). Gli aPL possono avere un ruolo rilevante in alcune patologie tra le quali la trombosi vascolare, l'aborto spontaneo, la trombocitopenia, livedo reticularis ed affezioni neurologiche, mentre i

LAC sono implicati nel lupus eritematoso sistemico.

Gli effetti avversi dell'amalgama sul sistema immunitario sono stati dimostrati da Hultman utilizzando un protocollo sperimentale che impiega il materiale in questione direttamente quale elemento sensibilizzante, impiantandolo nella cavità peritoneale di topi SJL/N in quantità variabili da 8 a 100 mg, per tempi complessivi di 10 settimane o 6 mesi. I risultati della ricerca hanno evidenziato ipergammaglobulinemia cronica, autoanticorpi circolanti anti nucleolo e depositi di immunocomplessi in tutti i soggetti con una distribuzione dose e tempo dipendente ed alterazioni della funzionalità delle cellule T e B spleniche (10). L'autore conclude il suo studio affermando che in condizioni di suscettibilità genetica e con un adeguato livello di esposizione, l'amalgama può contribuire ad aberrazioni immunitarie che sfociano in fenomeni di autoimmunità.

Tutti i dati sperimentali disponibili concordano nel sostenere il ruolo fondamentale della predisposizione genetica affinché si manifestino fenomeni autoimmuni. Tali effetti sono comuni a tutti i vertebrati ma dipendono da una suscettibilità legata a tre o quattro geni, alcuni dei quali facenti parte del complesso maggiore di istocompatibilità.

### **Interazioni a livello del sistema nervoso**

Le modalità con cui il mercurio provoca danni al sistema nervoso sono diverse da quelle riscontrabili a livello degli altri tessuti.

Se a livello di altri organi il meccanismo tossico è legato principalmente alla inattivazione di enzimi a causa del legame con i gruppi sulfidrici, a livello della cellula nervosa il danno immediato del mercurio è da imputare alla sua azione perturbante la funzione elettrica. Come dimostrato sperimentalmente nei preparati di rana, lo ione mercurico è in grado di forzare il passaggio attraverso i canali del sodio e del calcio causando depolarizzazione ed un marcato rilascio di neurotrasmettitori. A tale azione fa seguito da un blocco irreversibile

dell'emissione di neurotrasmettitore e quindi una paralisi funzionale del neurone stesso (15).

La sintomatologia neurologica tipica dell'intossicazione acuta è in parte spiegata dal repentino calo della concentrazione intrasynaptica di trasmettitori, mentre poco è noto in via di certezza per quanto riguarda le proporzioni e le conseguenze di questo fenomeno nelle esposizioni croniche a basso livello. Il rischio teorico di un effetto sommativo nel tempo è però ipotizzato ed altamente temibile, data la natura irreversibile della lesione. Tali preoccupazioni trovano una loro parziale conferma nella frequente osservazione che i danni neurologici derivanti da esposizioni professionali perdurano per tempi molto protratti, nell'ordine delle decine di anni, anche dopo la cessazione dell'attività. Altri studi sulla biochimica della tossicità del mercurio hanno confermato l'esistenza di inibizioni enzimatiche di notevole importanza ed in particolare della ADP ribossilazione, che costituisce un processo fondamentale del metabolismo delle proteine neuronali e della loro funzione nel contesto di reazioni formanti polimeri strutturali (31).

Tramite l'inibizione dell'enzima attuata dal mercurio viene impedita la formazione dell'actina e della tubulina ribossilate, due proteine strutturali del citoscheletro, con conseguente produzione di intermedi inattivi e si altera la funzione di fattore di crescita della proteina B-50/43kDa. L'effetto finale dell'interferenza mercurio mediata sulla strutturazione terziaria delle proteine neuronali è la formazione di grovigli di neurofibrille anatomopatologicamente sovrapponibili a quelle riscontrate nel morbo di Alzheimer (18).

Alcune delle ragioni per le quali non è possibile fissare un valore di sicurezza per l'esposizione al mercurio risiedono proprio nell'esistenza di questi gravi danni a carico di una popolazione cellulare permanente qual'è quella neuronale, in cui ogni singolo insulto non viene compensato nel tempo ma anzi aggiunto ad i precedenti (16).

## **Interferenza con la funzione renale**

La tendenza del mercurio derivante dalle amalgame ad accumularsi in notevole quantità nel rene è stata ampiamente dimostrata sia in animali quali la pecora e la scimmia sia nell'umano ed ha indotto alcuni ricercatori a investigare gli effetti che tali innalzate concentrazioni di metallo provocano sulla funzionalità renale. Il fatto che il mercurio, già a bassissimi dosaggi, sia in grado di interferire con la funzione renale è un dato acquisito, al punto che attualmente una delle poche metodiche che permette di valutare con una approssimazione accettabile il livello di esposizione di un soggetto è basata proprio sulla analisi del profilo escretivo delle porfirine. Le porfirine sono una famiglia di molecole, intermedie nella biosintesi dell'eme, con un scheletro composto da un numero di atomi di carbonio variabile da cinque a otto che vengono escrete con le urine secondo un preciso pattern

Il mercurio, causando un'alterazione del metabolismo delle porfirine a livello del tubulo prossimale, porta a delle alterazioni del profilo escretivo con un progressivo e notevole innalzamento del livello delle porfirine con quattro e cinque atomi di carbonio e la comparsa di una porfirina anomala, denominata 'precoproporfirina', in modo fortemente dose dipendente con il livello esposizione (32).

L'impiego di tale metodica valuta la dose di mercurio assorbita in base all'effetto su di un tessuto bersaglio, quale è appunto il parenchima renale, permettendo di superare le imprecisioni e la non linearità della quantificazione dell'esposizione attraverso la misurazione del mercurio escreto con le urine.

I danni renali mercurio mediati possono essere di vario tipo ed attribuibili a processi patogenetici diversi: oltre alla tossicità diretta possono comparire lesioni più gravi dipendenti dalla produzione di auto anticorpi diretti contro le componenti glomerulari, come dimostrato nei modelli animali.

Le conseguenze di reazioni autoimmuni, tipicamente non dose dipendente, sono la

comparsa di quadri di glomerulonefrite in soggetti geneticamente suscettibili.

La nefrotossicità del mercurio è stata valutata attraverso la misurazione di alcuni enzimi cellulari tipici dell'epitelio tubulare quali la  $\gamma$ -glutamyl transferasi ed enzimi lisosomiali quali la  $\beta$ -galattosidasi renale, la  $\beta$ -glucuronidasi e la N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasi (NAG), rilevando un leggero aumento di quest'ultimo nelle urine di pazienti con in amalgama (6).

Maggiori informazioni circa l'impatto del mercurio amalgamale sulla funzione renale è stato valutato da Boyd misurando la clearance dell'inulina ed il riassorbimento degli elettroliti in 8 pecore a cui sono stati realizzate 12 otturazioni occlusali. Nelle pecore esposte all'amalgama la clearance dell'inulina raggiunge una perdita di efficienza pari al 54% già dopo 30 giorni, mentre aumenta l'escrezione del sodio, quale indicatore di un impedimento funzionale nel riassorbimento tubulare (4). Le alterazioni riscontrate sembrano imputabili, secondo l'autore, all'interazione tra il mercurio ed i gruppi sulfidrici presenti a livello di membrana, che porta a variazioni della permeabilità ed inattivazione enzimatica.

## **Mutagenicità del Mercurio**

La potenziale mutagenicità del mercurio deriva dalla sua capacità di legame chimico con l'acido ribodesossinucleico e quindi nella possibile alterazione dei meccanismi di replicazione del materiale genetico. Dati interessanti emergono dagli studi sperimentali di mutagenesi nelle cellule di ovaio di cavia (AS52), in cui si è osservato il legame del mercurio al DNA in modo dose dipendente. A concentrazioni di mercurio lontane dall'essere citotossiche (da 0.1 a 0.4  $\mu$ M) si assiste ad un aumento della frequenza di mutazione del gene gpt, variabile tra 1.7 e 3.1 volte rispetto ai controlli non trattati (10). In maniera simile il cloruro di mercurio è in grado di indurre mutazioni in cellule di linfoma murino e danni al DNA nel topo e nel ratto.



Il quadro completo degli effetti possibili é complesso e dipende dalla forma chimica del mercurio: frequentemente si assiste ad una incapacità dei composti ad indurre mutazioni puntiformi nei batteri ma alla comparsa di effetti clastogenici nelle cellule eucariote, dovuti all'azione inibitrice della superspiralizzazione attuata attraverso il legame del mercurio con gruppi sulfidrici. La conseguenza dell'interazione con i meccanismi di replicazione porta alla comparsa di figure mitotiche C e conseguente aploipia o poliploipia delle cellule emergenti (5).

Altro fenomeno legato al mercurio capace di causare danni al DNA é l'inibizione delle reazioni che conferiscono alla cellula le capacità riparativa del materiale genetico

### **Effetti sulla fertilità femminile**

Vari studi effettuati sulle assistenti dentali hanno evidenziato un calo della fertilità legato alla quantità ed alle modalità con cui vengono preparati gli amalgami per otturazione. La più grande indagine di questo tipo é stata realizzata da Rowland, che ha inviato dettagliati questionari a 7000 assistenti dentali californiane ed ha successivamente selezionato una popolazione di 418 soggetti significativi in quanto rimaste incinte nei precedenti quattro anni.

Informazioni dettagliate sul numero di amalgame preparate alla settimana, sulle modalità operative e sul numero di cicli mestruali privi di copertura contraccettiva richiesti per il concepimento sono state raccolte tramite intervista telefonica. La fecondabilità media, intesa come probabilità di concepire per ciclo mestruale, calcolata nelle assistenti dentali fortemente esposte é risultata essere del 63%, confrontabile con il 95% nelle colleghe non esposte al mercurio (19).

Nessuno studio finora eseguito ha misurato quantitativamente l'esposizione tramite campionamenti dell'aria respirata o valutazioni dei livelli di mercurio escreti.

### **Passaggio verticale al feto e tossicità fetale**

La distribuzione del mercurio ai tessuti del feto é un evento che normalmente dipende dalla preventiva esposizione della madre, anche se questa può in effetti essere piuttosto lontana nel tempo a causa della lunga emivita dell'elemento nei tessuti materni ed alla presenza di fenomeni di redistribuzione. Diverse evidenze scientifiche dimostrano il passaggio del mercurio attraverso la barriera placentare, con modalità simili a quanto accade a livello della barriera ematoencefalica.

Una di queste dimostrazioni é stata fornita da Vimy che ha monitorato in total body scan il passaggio verticale del mercurio in una pecora. I suoi risultati illustrano come i valori ematici del mercurio raggiungono un livello di picco nel sangue materno, nel liquido amniotico e nel sangue fetale dopo 48 ore dall'esecuzione di restauri in amalgama contenenti il tracciante radioattivo  $^{203}\text{Hg}$  nella dentatura della pecora e come tali livelli rimangano costantemente elevati per tutta la durata dell'esperimento, ovvero 140 giorni (29)

Valori di mercurio riportati dall'autore a fine esperimento sono stati di 4 ng/g per il sangue materno ed il liquido amniotico e 10 ng/g nel sangue fetale.

Dall'insieme delle misurazioni comparative fatte a livello sperimentale nell'animale emerge, come del resto prevedibile, che non tutte le forme chimiche del mercurio hanno la stessa capacità di attraversare la barriera placentare. Le due forme in assoluto più diffusibili sono il mercurio metallico ed il metil mercurio a causa della loro liposolubilità. Per quanto riguarda la forma elementare, ovvero il mercurio metallico  $\text{Hg}^0$ , il superamento della barriera placentare coincide con la rapida ossidazione alla forma divalente e, parallelamente a ciò che avviene a livello del sistema nervoso, al sequestro tissutale determinato dalla impossibilità a retrodiffondere per la molecola ionizzata.

La concentrazione totale del mercurio nel sangue del nascituro risulta pertanto superiore a quello misurata nel sangue materno (11)

Poco è noto su gli effetti determinati dal mercurio sullo sviluppo fetale. Alcune ricerche di particolare interesse indicano l'esistenza di alterazioni nello sviluppo del sistema nervoso già a basse concentrazioni di mercurio nei tessuti, a livelli paragonabili a quelle potenzialmente riscontrabili nel cervello di feti umani. Soederstroem ha dimostrato l'esistenza di alterazioni rilevanti nella distribuzione del NGF (Nerve Growth Factor) e dei suoi recettori p75 a bassa affinità e p140 ad alta affinità nei tessuti cerebrali di feti di ratti esposti ai vapori di mercurio (22). Simili anomalie biochimiche sono presenti già ad una concentrazione tissutale di mercurio pari a 4 ng/g

### **Induzione di resistenza batterica**

La grande adattabilità dei batteri all'ambiente è ancora una volta dimostrata dalla loro capacità di sviluppare meccanismi di resistenza al mercurio.

Mentre molte forme di resistenza ai metalli sono comuni a batteri che trovano il loro habitat nel terreno o negli scarichi di tipo industriale, la mercurio-indifferenza ai composti organici ed inorganici è una caratteristica frequente delle flore batteriche intestinali dei mammiferi.

Il meccanismo biochimico che determina la diminuzione della tossicità nei confronti dei batteri resistenti è la conversione dello ione  $Hg^{++}$ , particolarmente attivo, nella forma  $Hg^0$ , meno dannosa per il metabolismo del microrganismo. La reazione avviene ad opera di una  $Hg^{++}$  riduttasi citoplasmatica ed un sistema di trasporto costituito da due oppure tre proteine che trasferiscono il mercurio dalla membrana cellulare all'ambiente intracellulare. L'intero sistema proteico è codificato da un operone mer, di origine plasmidica, ed è sotto il controllo sia positivo che negativo della proteina MerR, capace di legare il DNA e dotata di una spiccata affinità per il mercurio.

La comparsa di resistenze verso il mercurio, in apparenza poco rilevante per l'uomo, è

invece un fenomeno allarmante e potenzialmente pericoloso in quanto associato ad una simultanea induzione di resistenze nei confronti di comuni antibiotici ampiamente utilizzati in medicina.

La presenza di flora batterica resistente è un fattore individuale che presenta variazioni della percentuale di elementi resistenti comprese tra il 10% ed il 90%, ma la correlazione tra mercurio resistenza ed antibiotico resistenza è stringente.

I lavori sperimentali della Summers dimostrano come l'esecuzione di otturazioni nelle scimmie porti ad un prevedibile aumento della concentrazione fecale di mercurio accompagnato dalla comparsa di numerose speci batteriche resistenti. Sia i gram negativi appartenenti alla famiglia Enterobacteriaceae che gli enterococchi gram positivi e gli streptococchi orali presentano un marcato aumento del numero di elementi resistenti nei confronti dell'ampicillina, della kanamicina, del chloramfenicolo e della tetraciclina già dopo due settimane dall'esecuzione delle otturazioni, come verificabile tramite replica plating su terreni selettivi (24).

Da un punto di vista biologico e molecolare la resistenza congiunta al mercurio ed agli antibiotici è facilmente spiegata dall'esistenza di plasmidi che trasferiscono congiuntamente i geni responsabili della indifferenza a più sostanze. In questo caso il mercurio diventa un elemento di selezione per i batteri dotati di plasmidi e quindi del corredo genetico necessario alla sopravvivenza ma determina simultaneamente un arricchimento anche per quanto riguarda i geni cotrasportati relativi alla antibiotico resistenza (12)

Il fatto che la trasmissione del genotipo resistente avvenga tramite plasmidi, e quindi tramite meccanismi di fertilità batterica, apre la possibilità che batteri saprofiti trasferiscano, nel contesto della loro stessa famiglia batterica, fattori di resistenza ad altri batteri invece patogeni.

### **Conclusione**

Il rilascio di mercurio da parte delle otturazioni in amalgama è oggi un fatto

acquisito e ben documentato, così come ne è dettagliatamente conosciuto il destino biologico all'interno dell'organismo. Le conseguenze dell'intossicazione cronica che ne deriva sono tutt'ora poco comprese e studiate e necessitano di essere approfondite attraverso studi sperimentali ed epidemiologici affidati a specialisti dei diversi settori della medicina. Ulteriori dati sono necessari rapidamente circa la soggettività

genetica della risposta immune ed allergica al mercurio, al fine di poter identificare quei soggetti che, in modo maggiore di altri, risentono dell'impiego dell'amalgama quale materiale da otturazione. Alla luce dei dati scientifici oggi disponibili occorrerebbe iniziare a considerare l'amalgama al pari di una farmaco e quindi dotato, in quanto tale, di specifiche indicazioni, di controindicazione ed, inevitabilmente, di effetti collaterali.

### **Bibliografia**

- 1 ALBRIGHT JF GOLDSTEIN RA Airborne pollutants and the immune system Otolaryngology Head Neck Surgery 1996 ;114:232-8
- 2 ARIZA ME HOLLIDAY J WILLIAMS MV Mutagenic effect of mercury (II) in eukaryotic cells In Vivo 1994 ;8:559-563
- 3 BERNARD SR PURDUE P Metabolic models for methyl and inorganic mercury Health Phys 1984 ;46:695-9
- 4 BOYD ND BENEDIKTSSON H VIMY MJ HOOPER DE LORSCHIEDER FL Mercury from dental silver tooth fillings impairs sheep kidney function Am J Physiol 1991 ;261:R1010-14
- 5 DEFLORA S BENNICELLI C BAGNASCO M Genotoxicity of mercury compounds - A review Mutation Research 1994 ;317:57-79
- 6 ETI S WEISMAN R HOFFMAN R REIDENBERG MM Slight renal effect of mercury from amalgam fillings Pharmacol Toxicol 1995 ;76:47-9
- 7 HAHN LJ KLOIBER R VIMY MJ TAKAHASHI Y LORSCHIEDER FL Dental 'silver' tooth fillings: a source of mercury exposure revealed by whole-body image scan and tissue analysis FASEB J 1989 ;3:2641-6
- 8 HERRSTROM P HOLMEN A KARLSSON A RAIHLE G SCHULTZ A HOGSTEDT B Immune factors, dental amalgam and low dose exposure to mercury in Swedish adolescents Archives Environmental Health 1994 ;49:160-4
- 9 HUA J PELLETIER L BERLIN M DRUET P Autoimmune glomerulonephritis induced by mercury vapour exposure in the Brown Norway rat Toxicology 1993 ;79:119-29
- 10 HULTMAN P JOHANSSON U TURLEY SJ LINDH U ENESTROM S POLLARD KM Adverse immunological effects and immunity induced by dental amalgam and alloy in mice FASEB J 1994 ;8:1183-90

- 11 KOOS BJ LONGO LD Mercury toxicity in the pregnant woman, fetus and newborn infant - A review *Am J Obstet Gynecol* 1976 ;126:390-409
- 12 LORSCHIEDER FL VIMY MJ SUMMERS AO ZWIERS H The dental amalgam mercury controversy--inorganic mercury and the CNS; genetic linkage of mercury and antibiotic resistances in intestinal bacteria *Toxicology* 1995 ;97:19-22
- 13 MAGOS L HALBCH S CLARKSON TW Role of catalase in the oxidation of mercury vapour *Biochem Pharmacol* 1978 ;27:1373-7
- 14 MIRTSCHewa J NURNBERGER W HALMANN B STILLER WINKLER R GLEICHMANN E Genetically determined susceptibility of mice to HgCl<sub>2</sub> induced antinuclear antibodies (ANA) and glomerulo nephritis. *Immunol Biology* 1987 ;175:323-4
- 15 MIYAMOTO MD Hg<sup>2+</sup> causes neurotoxicity at an intercellular site following entry through Na and Ca channels *Brain Res* 1983 ;267:375-9
- 16 NGIM CH DEVATHASAN G Epidemiologic study on the association between body burden mercury levels and idiopathic Parkinson's disease *Neuroepidemiology* 1989 ;8:128-41
- 17 NYLANDER M FRIBERG L LIND B Mercury concentrations in the human brain and kidneys in relation to exposure from dental amalgam fillings *Swed Dent J* 1987 ;11:179-87
- 18 PALKIEWICZ P ZWIERS H LORSCHIEDER FL ADP-ribosylation of brain neuronal proteins is altered by in vitro and in vivo exposure to inorganic mercury *Journal of Neurochemistry* 1994 ;62:2049-52
- 19 ROWLAND AS BAIRD DD WEINBERG CR SHORE DL SHY CM WILCOX AJ The effect of occupational exposure to mercury vapour on the fertility of female dental assistants *Occupational Environmental Medicine* 1994 ;51:28-34
- 20 SKOGLUND A Value of epicutaneous patch testing in patients with oral, mucosal lesions of lichenoid character *Scand J Dent Res* 1994 ;102:216-22
- 21 SMART ER MACLEOD RI LAWRENCE CM Resolution of lichen planus following removal of amalgam restorations in patients with proven allergy to mercury salts: a pilot study. *Br Dent J* 1995 ;178:108-12
- 22 SOEDERSTROEM S FREDRIKSSON A DENCKER L EBENDAL T The effect of mercury vapour on cholinergic neurons in the fetal brain: studies on the expression of nerve growth factor and its low- and high-affinity receptors *Developmental Brain Research* 1995 ;85:96-108
- 23 STEJSKAL VDM. CEDERBRANT K LINDVALL A FORSBECK M Melisa - an in vitro tool for the study of metal allergy *Toxic in Vitro* 1994 ;8:991-1000
- 24 SUMMERS AO WIREMAN J VIMY MJ LORSCHIEDER FL MARSHALL B

- LEVY SB BENNET S BILLARD L Mercury released from dental "silver" fillings provokes an increase in mercury- and antibiotic-resistant bacteria in oral and intestinal floras of primates *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1993 ;37:825-34
- 25 SVARE CW PETERSON LC REINHARDT JW BOYER DB FRANK CW GAY DD COX RD The effect of dental amalgams on mercury levels in expired air *J Dent Res* 1981 ;60:1668-71
- 26 VIMY MJ LORSCHIEDER FL Intraoral air mercury released from dental amalgam *J Dent Res* 1985 ;64:1069-71
- 27 VIMY MJ LORSCHIEDER FL Serial measurements of intraoral air mercury : Estimation of daily dose from dental amalgam *J Dent Res* 1985 ;64:1072-75
- 28 VIMY MJ LUFT AJ LORSCHIEDER FL Estimation of mercury body burden from dental amalgam : computer simulation of a metabolic compartment model *J Dent Res* 1986 ;65:1415-19
- 29 VIMY MJ TAKAHASHI Y LORSCHIEDER FL Maternal-fetal distribution of mercury (<sup>203</sup>Hg) released from dental amalgam tooth restorations in sheep *Am J Physiol* 1990 ;258:R939-45
- 30 VRIJHOEF A VERMEERSCH AG SPANAUF AJ Dental Amalgam. Quintessence Publishing Co., Inc, Chicago 1980
- 31 WENSTRUP D EHMANN WD MARKESBERY WR A search for longitudinal variations in trace element levels in Alzheimer's disease patients *Brain Res* 1990 ;533:125-31
- 32 WOODS JS MARTIN MD NALEWAY CA ECHEVERRIA D Urinary porphyrin profiles as a biomarker of mercury exposure: studies on dentists with occupational exposure to mercury vapor *J Toxicol Environ Health* 1993 ;40:235-46
- 33 WORLD HEALTH ORGANIZATION Environmental health criteria - 118: Inorganic Mercury, Geneva, Switzerland, 1991

Key words: amalgam - toxicity - micromercurialism

Author : Dr. Federico Ronchi  
Accademia Internazionale Odontoiatria Biologica  
info@aiob.it