

Valutazione delle fonti di assorbimento di mercurio tramite lo studio dei livelli di mercurio urinario della popolazione generale

L. MONTOMOLI, A.G. SISINNI, F. CIONI, L. BARABESI*, M.E. GILBERTI**, D. FESTA**, P. SARTORELLI

Istituto di Medicina del Lavoro, Università degli Studi di Siena

* Dipartimento di Metodi Quantitativi, Università degli Studi di Siena

** Cattedra di Medicina del Lavoro e Cattedra di Igiene Industriale, Università di Brescia

KEY WORDS

Mercury; urine; general population; amalgam fillings

SUMMARY

«Evaluation of the sources of mercury absorption through the study of urinary mercury levels in the general population». **Objectives:** The number of instances where mercury exposure is possible outside the workplace are numerous, with the main source being amalgam dental fillings and diet. It is also possible to envisage environmental exposure in subjects resident in areas where there is existing environmental contamination. This is probably what happened in Tuscany where past mining activity in the Monte Amiata area may have been the cause. This study estimated the concentration of urinary mercury (HgU) in non-occupationally exposed subjects from southern Tuscany, with the aim of evaluating the sources of mercury absorption in the general population. **Methods:** A questionnaire aimed at collecting specific information on factors which might influence the uptake of mercury was used. 164 subjects were studied: 82 subjects (41 males, 41 females) came from the Monte Amiata area and the other 82 (41 males, 41 females) from the Province of Siena. In this way it was possible to evaluate the elements associated with everyday life which may have influenced the presence of the metal in the urine. Since the distribution of the variables cannot be assumed multivariate normal as usual, a recently-proposed method based on a permutation procedure was adopted that allows the analysis of the variables as well as the single marginal analyses, without assuming any model for the distribution of variables. **Results and Conclusions:** The results showed significantly lower levels of HgU in the subjects from the Monte Amiata area. Highly significant differences were demonstrated in the population which was sub-divided according to number and surfaces of amalgam fillings, use of contact lenses and type of water drunk ($p < 0.001$). Correlations between the levels of HgU and the investigated variables were not observed. It was confirmed that mercury uptake is simultaneously influenced by many factors. Probably the presence of higher levels of mercury in the environment in the Monte Amiata area is a factor of minor importance compared to others, especially the number of amalgam fillings, in determining mercury absorption in the general population.

Pervenuto il 11.2.2002 - Accettato il 15.4.2002

Corrispondenza: Prof. Pietro Sartorelli, Istituto di Medicina del Lavoro, Università degli Studi di Siena, Via Tufi 1, 53100 Siena - Tel. 0577/586750 - Fax 0577/586159

RIASSUNTO

Le possibili fonti di esposizione extra-professionale a mercurio sono principalmente rappresentate dalle amalgame dentarie e dall'assunzione di pesce con la dieta. E' inoltre possibile ipotizzare una esposizione ambientale per i soggetti residenti in aree dove esiste una contaminazione ambientale. Ciò potrebbe essere avvenuto in Toscana nella zona del Monte Amiata, a causa dell'attività estrattiva dell'elemento svolta in passato. Lo scopo dello studio era quello di valutare le fonti di assorbimento di mercurio nella popolazione generale. Sono state determinate le concentrazioni del mercurio nelle urine di 164 soggetti non professionalmente esposti della Toscana meridionale. La somministrazione di un questionario mirato è stata in grado di raccogliere informazioni in merito a fattori quali il numero degli amalgami dentari, la dieta e le abitudini di vita e voluttuarie, potenzialmente in grado di influenzare l'uptake di mercurio. I soggetti dello studio sono stati per metà (41 maschi e 41 femmine) reclutati nella zona del Monte Amiata e per l'altra metà (41 maschi e 41 femmine) dal resto della Provincia di Siena per valutare i fattori di confondimento legati all'ambiente di vita. Contrariamente all'atteso i risultati dimostravano livelli significativamente inferiori di mercurio urinario nei soggetti provenienti dalla zona amiatina. Differenze significative nei valori di mercurio urinario si rilevavano in gruppi di popolazione suddivisi per numero di ricostruzioni dentarie, superficie delle amalgame, uso delle lenti a contatto e tipo di acqua utilizzata. Non è stato però possibile evidenziare correlazioni tra i livelli di mercurio urinario e le altre variabili considerate. Sulla scorta di questi dati si può ipotizzare che l'escrezione urinaria di mercurio sia influenzata contemporaneamente da più fattori, alcuni dei quali probabilmente esterni da quelli considerati nello studio

INTRODUZIONE

L'interesse per l'esposizione a mercurio è attualmente rivolto agli effetti causati dalle basse-bassissime dosi del metallo che non risultano ancora ben noti. L'esposizione infatti può essere riscontrata non solo in soggetti professionalmente esposti, ma anche in una parte della popolazione generale. Sono infatti numerose le possibili fonti di esposizione extra-professionali, principalmente rappresentate dalle amalgame dentarie (5) e dall'assunzione di pesce con la dieta, mentre minore importanza sembrano rivestire gli antisettici contenenti mercurio.

La disponibilità di valori di riferimento degli indicatori di esposizione a mercurio può costituire un utile elemento di discriminazione dei livelli espositivi (2). D'altro canto disponendo di informazioni relative al numero di amalgami dentari, alle abitudini alimentari e voluttuarie dei soggetti studiati si può tentare di valutare l'influenza dei singoli fattori sull'uptake del mercurio. Il terreno è stato riconosciuto come potenziale fonte di esposizione a tossici ambientali ed è quindi possibile ipotizzare una esposizione per i soggetti residenti in aree dove esistono terreni contaminati. Per il mercurio ciò potrebbe essere avvenuto in Toscana nella zona del

Monte Amiata, a causa dell'attività estrattiva svolta in passato (6). Tale ipotesi deve essere considerata nella valutazione degli indicatori biologici del mercurio nella popolazione residente nella Toscana meridionale.

Il presente studio prevedeva la determinazione della concentrazione del mercurio urinario (HgU) in soggetti non professionalmente esposti della Toscana meridionale per valutare le fonti di assorbimento di mercurio nella popolazione generale.

METODI

Soggetti

I criteri di selezione della popolazione di riferimento prevedevano di considerare nello studio solo soggetti di razza bianca, non professionalmente esposti, di età compresa tra 20 e 60 anni. La popolazione, tutta residente in piccoli centri (<100.000 abitanti) ed in aree rurali, era per metà di sesso maschile e per metà di sesso femminile per evitare influenze legate al sesso. Sono stati raccolti i campioni di urine per la determinazione dell'HgU in 82 soggetti residenti nella zona del Monte Amiata

(Comuni di Abbadia S. Salvatore e Piancastagnaio) ed in 82 soggetti residenti nel resto della Provincia di Siena.

E' stato messo a punto e validato un questionario per la raccolta delle informazioni riguardanti vari fattori potenzialmente in grado di influenzare l'*uptake* del mercurio, quali il numero degli amalgami dentari, la dieta e le abitudini di vita e voluttuarie.

Il personale addetto alla compilazione dei questionari è stato istruito mediante un breve *training* presso i locali studi odontoiatrici per la valutazione degli amalgami dentari presenti nei soggetti intervistati.

Determinazione della concentrazione del mercurio urinario

L'HgU è stata adottata come indicatore biologico di esposizione a mercurio della popolazione generale perché rappresenta un buon tracciante dell'esposizione, sia recente che pregressa, conseguente all'inquinamento ambientale da mercurio.

I campioni di urine sono stati trasferiti ciascuno in 3 provette dove erano stati preventivamente posti 200 mg di ac. solfammico e mantenuti refrigerati. I campioni di urine così preparati sono stati inviati presso la Cattedra di Medicina del Lavoro dell'Università di Brescia dove la concentrazione urinaria del mercurio è stata determinata con il metodo dei vapori freddi con FIAS 400 e successiva analisi con ICP-MS (3).

Analisi statistica

Le variabili analizzate sono quelle riportate in tabella 1. Per l'analisi statistica non è stato possibile utilizzare una tecnica multivariata standard, in quanto erano presenti dati provenienti da variabili di differenti tipi (ovvero categoriali, discrete e continue) la cui distribuzione congiunta non può essere assunta come normale multivariata.

Di conseguenza è stata utilizzata una tecnica proposta recentemente in letteratura e che è basata su una procedura di permutazione che combina i test marginali relativi ad ogni singola variabile (4). Il metodo permette l'analisi statistica congiunta delle variabili, contemporaneamente alle singole

Tabella 1 - Informazioni raccolte tramite somministrazione del questionario

Residenza (zona rurale, industriale, urbana)
Ricostruzioni dentarie (numero)
Superficie delle amalgame (mm ²)
Rimozione di amalgame nell'ultimo anno (numero)
Bruxismo (si-no)
Uso di chewing-gum (si-no)
Assunzione di acqua giornaliera ($\leq 1/4$ l, $\leq 1/2$ l, $\geq 1/2$ l)
Tipo di acqua consumata (rete idrica, minerale in bottiglia, pozzo privato)
Abitudine al fumo (si-no)
Fumo di sigaretta (numero di sigarette al giorno)
Consumo di caffè (numero di caffè giornalieri)
Consumo di alcool (si-no)
Consumo di pesce di mare (molto raramente o saltuariamente, più di 1 volta a sett.)
Uso di lenti a contatto (si-no)
Uso di farmaci contenenti mercurio (si-no)

analisi marginali, senza effettuare nessuna assunzione sulla distribuzione della popolazione in oggetto di studio.

Utilizzando tale metodo, l'ipotesi di base per omogeneità dei due gruppi rispetto a k variabili viene scomposta nell'intersezione di k sottopotesi marginali, ognuna delle quali relativa all'omogeneità dei due gruppi rispetto ad ogni singola variabile. In questo caso, i k test marginali vengono adoperati per verificare la relativa ipotesi marginale. Successivamente, la significatività di ogni statistica marginale è ottenuta con una procedura di permutazione ed i valori di significatività vengono combinati in modo da ottenere una statistica globale. A sua volta la significatività della statistica globale è calcolata utilizzando le stesse permutazioni effettuate sui dati. In questa maniera la struttura di dipendenza delle statistiche marginali viene riprodotta in modo non-parametrico dalla procedura di permutazione. Quindi, se l'ipotesi globale è rifiutata si può determinare da quale variabile marginale dipende il rifiuto. Inoltre, essendo il test statistico globale solo una trasformata delle singole significatività osservate, le ipotesi marginali possono essere verificate mediante statistiche test di tipologia differente, permettendo di conseguenza l'analisi congiunta di variabili di tipo misto (7).

RISULTATI

Nella tabella 2 sono riportati i valori di HgU rilevati nelle due popolazioni studiate. L'ipotesi di base per omogeneità globale delle due popolazioni può essere respinta in modo piuttosto netto, essendo la differenza osservata altamente significativa ($p < 0,001$). In particolare per quanto riguarda l'analisi delle variabili marginali, risulta un livello di significatività elevato per la variabile HgU ($p < 0,0004$). Un'analisi esplorativa dei dati porta immediatamente a verificare che i valori più alti di questa variabile sono presenti nel gruppo proveniente da Siena.

Ulteriori variabili per cui la significatività osservata risulta elevata sono il numero di ricostruzioni dentarie, l'uso delle lenti a contatto ed il tipo di acqua utilizzata ($p < 0,001$). Nella tabella 3 sono descritte le frequenze delle risposte al questionario per quanto riguarda tali variabili nella popolazione amiatina ed in quella senese ed il livello di significatività delle differenze riscontrate. Non sono state osservate differenze significative nel consumo di pesce di mare.

In una successiva analisi statistica è stata verificata la correlazione esistente tra i livelli di HgU e le altre variabili. Tuttavia non si sono evidenziate correlazioni evidenti anche se la maggiore dipendenza

Tabella 2 - Valori di HgU rilevati nelle due popolazioni studiate e significatività delle differenze osservate

	Mercurio urinario ($\mu\text{g}/\text{gr}$ creatinina)			Valore di p
	Media \pm DS	Mediana	Range	
Siena	1,40 \pm 1,13	1,02	0,13-6,68	0,0004
Abbadia	0,81 \pm ,80	0,59	0,07-5,49	

di questa variabile si è ottenuta con il numero delle amalgame, la superficie degli amalgami e l'uso di lenti a contatto.

DISCUSSIONE

Come atteso i livelli di HgU rilevati nella popolazione generale sono assai bassi se confrontati con quelli delle popolazioni lavorative esposte. Basti pensare che l'attuale limite di concentrazione urinaria del mercurio per soggetti professionalmente esposti è pari a 35 $\mu\text{g}/\text{g}$ creatinina (1). I valori di HgU riscontrati nelle due popolazioni studiate appaiono simili ai valori di riferimento recentemente misurati in una popolazione di 400 soggetti provenienti da quattro città italiane tra cui Siena (3). In quest'ultimo studio i valori di mediana della HgU

Tabella 3 - Frequenze delle risposte al questionario per quanto riguarda le variabili numero delle ricostruzioni dentarie, tipo di acqua consumata e uso di lenti a contatto e significatività delle differenze osservate nelle due popolazioni studiate

Variabili	Numero di casi (percentuale sul totale)		Valore di p
	Zona Amiata	Zona Siena	
<i>Numero ricostruzioni dentarie</i>			0,0004
0	30 (36,59%)	12 (14,63%)	
1-4	37 (45,12%)	38 (46,34%)	
5-9	15 (18,29%)	22 (26,83%)	
10-13	0	10 (12,2%)	
<i>Tipo di acqua</i>			0,0004
Rete	42 (51,22%)	16 (19,51%)	
Minerale	40 (48,78%)	66 (80,49%)	
<i>Lenti a contatto</i>			0,0004
No	80 (97,56%)	67 (81,71%)	
Si	2 (2,44%)	15 (18,29%)	

erano di 0,79 µg/g creatinina nelle quattro città e di 0,80 µg/g creatinina a Siena. Tali valori si inseriscono tra quelli dei soggetti provenienti dalla zona del Monte Amiata e quelli della popolazione del resto della Provincia di Siena.

I risultati paradossalmente dimostrano livelli significativamente inferiori di HgU nei soggetti provenienti dalla zona amiatina. Differenze altamente significative nei valori di HgU si rilevano in gruppi di popolazione suddivisi per numero di ricostruzioni dentarie, superficie degli amalgami, uso delle lenti a contatto e tipo di acqua utilizzata. Non è stato però possibile evidenziare correlazioni tra i livelli di HgU e le altre variabili. Apparentemente i differenti livelli di HgU misurati nelle due popolazioni non sembrano essere influenzati dal consumo di pesce. Tuttavia tale fattore dovrebbe essere meglio indagato, dato che solo alcuni tipi di pesce di mare contengono quantità di mercurio tali da poter influenzarne l'*uptake*.

Sulla scorta di questi dati si può ipotizzare che la HgU sia influenzata contemporaneamente da più fattori, alcuni dei quali probabilmente esterni rispetto a quelli considerati nello studio. Tali fattori potrebbero essere legati al diverso metodo utilizzato per raccogliere la casistica nella zona del Monte Amiata e nel resto della Provincia di Siena. Nel primo caso si trattava di volontari invitati a partecipare all'indagine dai propri medici curanti, nel secondo invece erano stati reclutati prevalentemente soggetti operanti nell'ambito della sanità. In tal modo è possibile che si siano create delle differenze socio-economiche tra le due popolazioni, in grado di influenzare le abitudini di vita. Basti pensare alle

differenze esistenti nel numero di ricostruzioni dentarie, tipo di acqua consumata ed uso di lenti a contatto.

In definitiva la presenza di livelli ambientali di mercurio più elevati nella zona Amiata, se esistente, costituirebbe un fattore di minore importanza rispetto ad altri (in primo luogo il numero delle amalgame) nel determinare l'assorbimento di mercurio nella popolazione generale.

BIBLIOGRAFIA

1. ACGIH: *Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices for 2000-2001*. Cincinnati (Ohio): American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 2000
2. APOSTOLI P: Application of reference values in occupational health. *Int Arch Occup Environ Health* 1999; 72: 191-194
3. APOSTOLI P, CORTESI I, MANGILI A, et al: Assessment of reference values for mercury in urine: the results of an Italian polycentric study. *Sci Total Environ* (in stampa)
4. BARABESI L, FATTORINI L: Permutation techniques for testing homogeneity of social groups from questionnaire results. In Conte R, Hegselmann R, Terno P: *Simulating social phenomena*. Berlin: Springer, 1997: 513-519
5. BARREGARD L, SALLSTEN G, JARVHOLM B: People with high mercury uptake from their own dental amalgam fillings. *OEM* 1995; 52: 124-128
6. BELLANDER T, MERLER E, CECCARELLI F, BOFFETTA P: Historical exposure to inorganic mercury at the smelter works of Abbadia San Salvatore, Italy. *Ann Occup Hyg* 1998; 42: 81-90
7. PESARIN F: *Permutation testing of multidimensional hypotheses by nonparametric combination of dependent tests*. Padova: CLEUP, 1999: 1-343

RINGRAZIAMENTI: *La selezione della casistica è stata resa possibile grazie all'aiuto offerto dalla Dott.ssa Bianca Volpini. Si ringraziano inoltre per la cortese collaborazione il Dott. Riccardo Flori, il Dott. Bruno Gini, il Dott. Giancarlo Minghi e la Dott.ssa Anna Seriacopi*