



Perspectives in Medicine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/permed



EINGELADENER ÜBERSICHTSARTIKEL

Die Toxikologie des Quecksilbers und seiner Verbindungen[☆]



Tore Syversen^{a,*}, Parvinder Kaur^b

^a Norwegian University of Science and Technology, Department of Neuroscience, Postboks 8905 MTF, N-7491 Trondheim, Norwegen

^b Norwegian University of Science and Technology, Department of Circulation and Medical Imaging, Postboks 8905 MTF, N-7491 Trondheim, Norwegen

Eingegangen am 30. Januar 2012; angenommen am 7. Februar 2012

SCHLÜSSELWÖRTER

Quecksilber;
Methylquecksilber;
Toxizität;
Neurotoxizität

Zusammenfassung Dieser Artikel gibt einen konzentrierten Überblick über die Toxikologie von anorganischem Quecksilber zusammen mit einer umfassenden Übersicht über die Neurotoxikologie von Methylquecksilber. Die Probleme bei der Verwendung von anorganischem Quecksilber in Dentalamalgam werden sowohl im Hinblick auf eine berufsbedingte Exposition als auch bezüglich der möglichen gesundheitlichen Belastung von Patienten behandelt. Ebenso werden die zwei „ungelösten Rätsel“ der Neurotoxizität von Methylquecksilber besprochen: die zelluläre Selektivität und das verzögerte Einsetzen der Symptome. Die für diese Aspekte relevante Literatur wird diskutiert, und es wird eine Reihe von Vorschlägen gemacht, wie diese Beobachtungen erklärt werden können.

© 2013 Published by Elsevier GmbH. Cet article est publié en Open Access sous licence [CC BY-NC-ND](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Inhalt

Einleitung.....	134
Elementares Quecksilber.....	135
Toxikokinetik.....	135
Toxische Effekte.....	135
Dentalamalgam.....	136
Anorganische Quecksilberverbindungen.....	136
Toxikokinetik.....	136
Toxische Effekte.....	137

DOI von Original Artikel: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtemb.2012.02.004>.

[☆] Dieser Artikel wurde in Englisch als Invited Review im Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 26 (2012) 215–226 publiziert. Aus dem Englischen von: Cornelia Schmutzler. E-Mail-Adresse: CABSchmutzler@aol.com. Deutsche Version online verfügbar seit: 17. Dezember 2013.

* Korrespondierender Autor. Tel.: +47 73 59 88 48; fax: +47 73 59 68 79.
E-Mail-Adresse: tore.syversen@ntnu.no (T. Syversen).

Organische Quecksilberverbindungen.....	137
Historischer Hintergrund	137
Speziation von Organoquecksilberverbindungen	137
Chemie.....	138
Wechselwirkung mit Sulfhydrylgruppen	138
Wechselwirkung mit Komplexbildnern	138
Selen aus der Nahrung (Se)	138
Epidemiologische Studien	139
Die Vergiftungsepidemien von Minamata und im Irak.....	139
Niedriggradige Exposition gegenüber MeHg in Lebensmitteln	139
Patienten mit Glutathionsynthesestörung.....	140
Pathologische Veränderungen	140
Wirkmechanismus	140
Hg ²⁺ als letztendlich toxische Verbindung nach MeHg-Exposition?.....	140
Wechselwirkung mit Sulfhydrylgruppen	142
Effekte auf die DNA-, die RNA- und die Proteinsynthese	142
Die Bedeutung von reaktiven Sauerstoffspezies und Glutathion.....	143
Wechselwirkung mit Mikrotubuli.....	143
Membrantransport von Quecksilber.....	143
Methylquecksilber könnte Exzitotoxizität auslösen	144
Das Cerebellum als entscheidendes Organ.....	144
Eigenschaften des Cerebellums.....	144
Geringe Größe und wenig Zytoplasma - einige Spekulationen.....	145
Schlussfolgerungen und zukünftiger Forschungsbedarf.....	145
Offenlegung von Interessenkonflikten	145
Danksagung	145

Einleitung

Eine PubMed-Recherche mit „Quecksilber“ als Suchbegriff ergibt nahezu 34 000 Treffer. Etwa 1700 der aufgelisteten Arbeiten sind Übersichtsartikel. Die Einträge in PubMed datieren zurück bis ins Jahr 1813, der älteste Review stammt aus dem Jahr 1963. Die Literatur deckt ein immenses Spektrum von Eigenschaften und Anwendungen des Quecksilbers und seiner Verbindungen ab. Selbst wenn die Suche auf „Quecksilbertoxizität“ eingeschränkt wird, finden sich seit 1926 etwa 5000 Publikationen und 600 Übersichtsartikel. Obwohl bereits eine Vielzahl von Fragen im Zusammenhang mit den Gefahren und Risiken einer Exposition gegenüber Quecksilber bearbeitet wurde, gibt es immer noch Themen, die unsere wissenschaftliche Neugier und unsere Forschungsaktivitäten verdienen. Im vorliegenden Artikel geben wir eine kurze Übersicht über die Toxikologie des Quecksilbers und machen den Leser auf einige kürzlich erschienene Reviews aufmerksam. Einige der Themen, von denen wir glauben, dass sie in Zukunft weiter bearbeitet werden sollten, sind u. a.:

- die Mechanismen der Neurotoxizität von Alkylquecksilber,
- das verzögerte Eintreten von Symptomen nach einer Exposition gegenüber Alkylquecksilber,
- die günstigen Auswirkungen von Nährstoffen auf die Risiken im Zusammenhang mit der Neurotoxizität von Alkylquecksilber.

Quecksilber ist ein hochtoxisches Element, das häufig zusammen mit Cadmium und Blei, zwei prominenten

Beispielen für toxische Schwermetalle, diskutiert wird. Quecksilber unterscheidet sich jedoch von Cadmium und Blei insofern, als es in der Umwelt in mehreren unterschiedlichen Formen vorkommt, die ein Spektrum toxikologischer Eigenschaften aufweisen. Die Messung der Elementkonzentration sowohl von Cadmium als auch von Blei in der Umwelt mag zu Expositionskriterien führen, die für die toxikologische Beurteilung dieser beiden Schwermetalle bedeutsam sind. Dies ist bei Quecksilber jedoch nicht der Fall, wo zumindest differenziert werden muss zwischen:

- elementarem Quecksilber (Hg₀),
- anorganischen Quecksilberverbindungen (mit Hg₂⁺⁺ und Hg²⁺),
- organischen Quecksilberverbindungen (v. a. Alkylquecksilberverbindungen).

Die oben erwähnten Quecksilberspezies unterscheiden sich sowohl im Hinblick auf ihr Verhalten in der Umwelt als auch bezüglich ihres Potenzials, in biologische Prozesse einzugreifen.

Quecksilber ist in der Erdkruste sowie in der Atemluft, im Trinkwasser und in Nahrungsmitteln enthalten. Darüber hinaus wird Quecksilber in einem breiten Spektrum von Produkten und Verfahren verwendet: von der Saatgutaufbereitung über Konsumprodukte und Zahnfüllungen bis hin zu Konservierungsstoffen für Impfstoffe. Daher sind wir alle Quecksilber in irgendeiner Form oder Konzentration ausgesetzt. Diese die Umwelt und die öffentliche Gesundheit betreffenden Aspekte des Quecksilbers sind von Clarkson 2002 in einem Übersichtsartikel ausführlich

behandelt worden [1]. Der Leser sei auf diesen Review mit dem Titel „The three modern faces of mercury“ verwiesen, in dem auf hervorragende Weise alle wichtigen Themen im Zusammenhang mit der Exposition von Menschen gegenüber Quecksilber und die besonderen Charakteristika der Chemie des Quecksilbers diskutiert werden.

Es liegen zahlreiche Übersichtsartikel vor, die sich mit der Toxizität von Quecksilber und seinen Verbindungen bei Säugetieren und Menschen befassen. Einen besonders umfassenden und gründlichen Review haben Clarkson und Magos publiziert [2]. In diesem Übersichtsartikel wird die Toxikologie sowohl von anorganischem als auch von organischem Quecksilber behandelt. Er beleuchtet insbesondere einige „Rätsel“, die immer noch unsere wissenschaftliche Neugier herausfordern. Ein solcher Aspekt ist das verzögerte Auftreten von Symptomen nach einer Exposition gegenüber Alkylquecksilberverbindungen. Die Latenzphase nach der Exposition kann einige Wochen bis mehrere Monate dauern, wobei die Symptome, wenn sie erst einmal eingesetzt haben, sich rasch verschlimmern. Die Latenzphase verkürzt sich nicht mit steigender Dosis und der Mechanismus, der die Latenzphase bewirkt, ist immer noch unbekannt. Noch nicht einmal der Schlüsselmechanismus ist bekannt, der der Neurotoxizität von Alkylquecksilberverbindungen zugrunde liegt, wobei ein vorgeschlagener Hauptmechanismus sowohl die Natur der Latenzphase als auch die Zellspezifität der Schäden erklären sollte.

Im Folgenden präsentieren wir eine kurze Übersicht über die allgemeine Toxikologie des Quecksilbers. Im Hauptteil des Artikels befassen wir uns jedoch mit der Toxikologie von Alkylquecksilber und machen den Versuch einer Bewertung der möglichen Mechanismen, die bei Überlegungen im Hinblick auf ein sicheres Ausmaß der Quecksilber-Exposition, z. B. durch den Verzehr von Fisch, von praktischer Bedeutung sind.

Elementares Quecksilber

Elementares Quecksilber (Hg^0) ist bei Raumtemperatur flüchtig und die Dämpfe können für den Menschen gefährlich sein. Eine Exposition gegenüber Quecksilber kann in Labors, an Arbeitsplätzen sowie in häuslicher Umgebung stattfinden. In privaten Haushalten werden u. U. beschädigte Quecksilberthermometer zu einer Expositionsquelle, da es sehr schwierig sein kann, ausgelaufenes Quecksilber aufzusammeln. In vielen Ländern ist die Verwendung von Quecksilber in Thermometern inzwischen verboten, um das Risiko für die Verbraucher und die Gefahr einer Freisetzung von Quecksilber in die Umwelt zu verringern. Eine Exposition am Arbeitsplatz kann in vielen Industrie- und sonstigen Branchen erfolgen, wo Quecksilber vor allem bei der Chlor-Alkali-Elektrolyse, in Dentalamalgam, elektronischen Schaltern und Leuchtstofflampen angewendet wird. In Ländern, die eine wirksame Arbeitsplatzkontrolle und Risikoindämmung vorschreiben, sind derartige Expositionen inzwischen selten. Jedoch hat die westliche Welt risikobelastete Industriezweige in Länder verlagert, deren Wirtschaft weniger entwickelt ist und in denen weniger strikte Auflagen für die Industrie gelten. In diesen Ländern stellen Verfahren, bei denen es zur Freisetzung von Quecksilber kommen kann, weiterhin ein Problem für Mensch und Umwelt dar.

Über die Verwendung in Dentalamalgam (siehe unten) hinaus ist Quecksilber in großem Umfang in Laborinstrumenten verwendet worden, die in den letzten Jahrzehnten jedoch durch andere Technologien ersetzt worden sind. So ist zwar die Verwendung von elementarem Quecksilber insgesamt reduziert worden, jedoch stellt sie mancherorts immer noch ein erhebliches Umweltproblem dar, wie z. B. in einigen Goldabbau gebieten Brasiliens und der Philippinen.

Toxikokinetik

Elementares Quecksilber aus der Luft wird über die Lungen leicht aufgenommen und 74% werden im menschlichen Körper zurückgehalten [3]. Mit dem Blut verteilt sich das elementare Quecksilber im gesamten Körper, da es die meisten Zellmembranen sowie die Blut-Hirn-Schranke und die Plazenta leicht passiert. Im Blut wird das elementare Quecksilber zu Quecksilber(II) oxidiert, z. T. unter Beteiligung der Katalase [4], und dies beeinflusst wiederum die Aufnahme von Quecksilber ins Gehirn [5]. Die Oxidation kann durch Alkohol inhibiert werden [6]. Daher spiegelt die Verteilung des als Quecksilberdampf inhaliierten Quecksilbers im Verlauf längerer Zeiträume sowohl die Diffusion der elementaren Form als auch die des oxidierten Quecksilbers wider. Es ist gezeigt worden, dass die Aufnahme von elementarem Quecksilber ins Gehirn abnimmt, wenn die Aktivität der Katalase im Gehirn inhibiert wird [7]. Die Aufnahme von elementarem Quecksilber ins Gehirngewebe hängt darüber hinaus stark von der Konzentration an Glutathion (GSH) im Gehirn ab. So führt eine Reduktion der GSH-Konzentration im Gehirn um 20% zu einem 66%igen Anstieg des Quecksilbergehalts des Gehirns [8].

Toxische Effekte

Akute inhalative Exposition gegenüber Quecksilber in hoher Konzentration kann Atembeschwerden, einschließlich Dyspnoe, hervorrufen. Chronische Exposition kann vom Zentralnervensystem (ZNS) herrührende Symptome auslösen, wie z. B. Zittern, Wahnvorstellungen, Gedächtnisverlust und neurokognitive Störungen. Viele der mit einer leichten Vergiftung einhergehenden Anzeichen und Symptome klingen nach dem Ende der Exposition wieder ab. Eine starke Exposition kann jedoch zu bleibender Beeinträchtigung der Gehirnfunktion führen. Darüber hinaus kann eine langfristige Exposition auch Auswirkungen auf die Nieren haben. Clarkson und Magos [2] haben hierzu einen umfassenden Übersichtsartikel vorgelegt.

Es wird angenommen, dass die letztlich neurotoxische Komponente nach der Exposition gegenüber Quecksilberdampf Hg^{2+} ist. Die Belege für diese Annahme sind begrenzt. Warfvinge [9] hat jedoch gezeigt, dass die Verteilung von Hg^{2+} im Cerebellum nach einer Quecksilberdampf-Exposition der Verteilung ähnlich ist, die man nach einer Exposition gegenüber Methylquecksilber (MeHg) findet. Da sich die neurotoxischen Effekte von Quecksilberdampf und MeHg stark unterscheiden, schlagen wir dagegen vor, dass MeHg selbst und nicht Hg^{2+} nach Exposition gegenüber MeHg das letztendlich toxische Agens ist (siehe die ausführliche Diskussion weiter unten).

Dentalamalgam

Dentalamalgam wird seit mehr als 150 Jahren für Zahnfüllungen verwendet. Das Amalgam besteht zu etwa 50% aus metallischem Quecksilber, dazu kommen Silber und Kupfer sowie kleine Mengen anderer Metalle wie z. B. Zink. Die pulverisierten Metalle werden kurz vor der Verwendung mit dem Quecksilber gemischt. Dieser Schritt wurde üblicherweise von Hand durchgeführt, so dass das zahnmedizinische Personal dem Quecksilber ausgesetzt war. Der Einsatz von Dentalamalgam führt also zur Exposition sowohl des zahnmedizinischen Personals als auch der Patienten mit Amalgamfüllungen, da das Quecksilber mit der Zeit aus der Füllung freigesetzt wird. Letzteres kann einem Übersichtsartikel der WHO zufolge die Quelle für eine erhebliche Quecksilberexposition darstellen [10].

Das Ausmaß der Quecksilberfreisetzung aus Füllungen wird vor allem durch den Kauvorgang und die Temperatur von Speisen bestimmt, wie z. B. im Zusammenhang mit der Anwendung von Nikotinkaugummi demonstriert wurde [11]. Weiterhin wurde gezeigt, dass der Quecksilbergehalt im Urin die Zahl der Amalgamfüllungen widerspiegelt [12]. Amalgamfüllungen können allergische Reaktionen in der Mundhöhle auslösen, was allerdings sehr selten vorkommt. Davon abgesehen sind die durch Amalgamfüllungen verursachten biologischen Effekte denen von Quecksilberdampf oder Hg^{2+} ähnlich. In der Literatur gibt es zahlreiche Berichte über Patienten, die angaben, bei sich verschiedene Symptome zu bemerken, welche mit den Symptomen einer Quecksilberdampf-Exposition vergleichbar waren. In einigen dieser Fallberichte wurde außerdem angegeben, dass sich die Symptome nach Entfernen der Amalgamfüllungen besserten. Solche Studien sind nicht einfach durchzuführen, und die Validierung der Ergebnisse ist sogar noch schwieriger.

Des Weiteren wurde vermutet, dass Quecksilber Morbus Alzheimer auslösen könnte [13], da Gehirne von Alzheimer-Patienten einen erhöhten Quecksilbergehalt aufwiesen [14]. Dies kann jedoch auch das Ergebnis von Membranschäden sein, die dazu führen, dass die betroffenen Zellen mehr Quecksilber akkumulieren als normale Zellen. So kann man nur spekulieren, was Ursache und was Wirkung ist. Darüber hinaus ergab sich in einer epidemiologischen Studie keine Korrelation zwischen Zahnfüllungen und Alzheimer-Krankheit [15].

Mögliche Auswirkungen von Dentalamalgam auf kognitive Funktionen wurden in epidemiologischen Studien von Nitschke et al. [16] und Factor-Litvak et al. [17] untersucht, ohne dass ein Zusammenhang gefunden wurde. Man könnte annehmen, dass die gleichzeitige Exposition gegenüber MeHg , das z. B. in Fisch enthalten ist, durch Amalgam ausgelöste Effekte auf den Fetus verstärkt. Bei den Untersuchungen von Watson et al. [18] wurde ein solcher Zusammenhang jedoch nicht gefunden.

Bei Zahnärzten und zahnärztlichen Assistenten kann es während der Vorbereitung und der Verarbeitung von Dentalamalgam zur Exposition gegenüber Quecksilber kommen. Das sich hieraus möglicherweise ergebende berufsbedingte Risiko war der Gegenstand einer Reihe von Studien. Es bestehen Bedenken, eine Exposition gegenüber Quecksilberdampf, die zu einer Erhöhung der Quecksilberkonzentration

im Urin auf über 500 nmol/l führt, könne chronische kognitive Effekte verursachen; diesen wurde anhand einer Metaanalyse nachgegangen [19]. Weitere Studien von Langworth et al. [20] und Hilt et al. [21] gaben ebenfalls Anlass zu der Befürchtung, dass die Prävalenz sowohl von kognitiven Funktionsstörungen als auch von neuropsychologischen Symptomen bei zahnmedizinischem Personal erhöht sein könnte. Hinweise auf eine solche Assoziation ergaben sich aus der Studie von Ritchie et al. [22], doch die Unterschiede konnten nicht direkt auf die Exposition gegenüber Quecksilber zurückgeführt werden. Daher wurde z. B. von Echeverria [23] die Notwendigkeit weiterer Studien betont. In zwei jüngeren Studien wurden solche Langzeiteffekte allerdings nicht beobachtet [24,25]. Darüber hinaus wurde auch keinerlei Risiko für Schwangerschaften oder für angeborene Fehlbildungen nachgewiesen [26].

Anorganische Quecksilberverbindungen

Anorganische Quecksilberverbindungen werden in einem außerordentlich breiten Spektrum von medizinischen und kosmetischen Produkten verwendet, darunter Antiseptika, Zahnpulver für Babys und Bleichcremes für die Haut. Versehentliche oder absichtliche Vergiftungen mit Quecksilberchlorid sind nicht selten vorgekommen. Anorganische Quecksilberverbindungen können Quecksilber entweder in der Oxidationsstufe I (Hg_2^{++}) oder II (Hg^{2+}) enthalten. Quecksilber(I)-chlorid (Kalomel) ist in Wasser sehr schwer löslich und wird daher als ungefährlich betrachtet. Die Anwendung von quecksilberhaltigem Pulver bei zahnenden Babys verursachte jedoch einen deutlichen Anstieg des Quecksilbergehalts im Urin [27]. Es wurde außerdem spekuliert, dass Abraham Lincolns zeitweise unstabiles Verhalten die Folge seiner regelmäßigen Einnahme von „blauen Pillen“ sein könnte, die Quecksilber(I) enthielten [28].

Toxikokinetik

Anorganisches Quecksilber akkumuliert am stärksten in der Niere, gefolgt von der Leber. Die Kinetik des zweiwertigen Quecksilbers beim Menschen wurde von Rahola et al. [29] und von Hattula und Rahola [30] beschrieben. In den beiden Arbeiten wurde gezeigt, dass etwa 1-16% der anfänglichen Dosis aufgenommen wurden, wobei die Halbwertszeit im Körper 41 Tage betrug. Innerhalb der ersten 58 Tage wurde keine signifikante Ablagerung von Quecksilber im Kopfbereich beobachtet. Tierversuche von Friberg et al. [31] ergaben, dass auf die Haut aufgetragenes Quecksilber(II)-chlorid innerhalb von 5 h zu 8% aufgenommen werden kann. In Experimenten mit Ratten wurde gezeigt, dass sich Quecksilber im Nervensystem ungleich verteilt [32]. In Neuronen wurde mehr Quecksilber gefunden als in Gliazellen, wobei sich das Quecksilber in Lysosomen angereichert hatte. Die Motoneuronen enthielten mehr Quecksilber als die sensorischen Neuronen. Darüber hinaus wurde festgestellt, dass das Cerebellum Quecksilber enthielt, jedoch nicht in den Purkinje-Zellen.

Toxische Effekte

Die von einer akuten Quecksilbervergiftung am stärksten betroffenen Organe sind der Darm und die Nieren. Im Darm herrschen ätzende Effekte vor. In der Niere kann es aufgrund der Nekrose des Tubulusepithels innerhalb von 24 h zum Versagen kommen. Bereits 1 g kann für einen erwachsenen Menschen tödlich sein. Der auffälligste Effekt von zweiwertigem Quecksilber ist die Nekrose der Nierentubuli. Nach längerer Exposition wird darüber hinaus Glomerulonephritis beobachtet. Zweiseitiges Quecksilber kann darüber hinaus Autoimmunerkrankungen verursachen. Siehe dazu den Übersichtsartikel von Pollar und Hultman [33].

Organische Quecksilberverbindungen

Unter den organischen Quecksilberverbindungen galt das Hauptinteresse sowohl bei epidemiologischen als auch bei experimentellen Untersuchungen dem Methylquecksilber. Es sind verschiedene ausgezeichnete Übersichtsartikel verfügbar, die sich mit selektiver Neurotoxizität im Allgemeinen [34–36] sowie mit der Neurotoxizität von Methylquecksilber im Besonderen [37–46] befassen.

Historischer Hintergrund

Die Forschung zur Toxikologie organischer Quecksilberverbindungen beim Menschen hat eine lange Geschichte, wobei auch neurotoxische Effekte untersucht wurden. Der erste Fall einer berufsbedingten tödlichen Vergiftung mit MeHg wurde 1863 veröffentlicht. Laborpersonal, das mit der Synthese von organischen Quecksilberverbindungen beschäftigt war, erkannte offenbar nicht die toxischen Eigenschaften der Verbindungen, mit denen gearbeitet wurde [47,48]. Später beschrieben Hunter et al. [49,50] ausführlich die berufsbedingten Risiken durch organisches Quecksilber und dessen toxikologische Eigenschaften. In der früheren Arbeit wurde über vier Krankheitsfälle bei Menschen berichtet sowie über Experimente, die an Nagern und Affen durchgeführt wurden. Dabei wurden u. a. folgende wichtige Beobachtungen gemacht:

- Auftreten einer Verzögerungsphase vor dem Einsetzen von Symptomen;
- bei Affen stärkere und ausgedehntere morphologische Veränderungen im ZNS als bei Ratten, obwohl die Affen eine geringere Dosis an organischem Quecksilber erhalten hatten;
- deutliche Veränderungen an den Körnerzellen im Cerebellum, jedoch keine sichtbaren Veränderungen in den Purkinje-Zellen.

In der späteren Publikation von Hunter und Russel [50] wurden die Befunde beim Menschen bestätigt: Es kam zu einem starken Verlust von Körnerzellen, während die Purkinje-Zellen nicht betroffen waren. Die beobachtete Einschränkung des Sehfeldes wurde mit der Atrophie von Körnerzellen in der Area striata erklärt. In diesen frühen Berichten wurde bereits auf einige wichtige Aspekte der

Toxizität von MeHg hingewiesen, die immer noch einer Erklärung bedürfen:

- die Verzögerung („Latenzphase“) bis zum Auftreten von Symptomen,
- die zellspezifische Neurotoxizität von organischem Quecksilber.

Die mit der Latenzphase verbundenen Mechanismen sind von Weiss et al. [51] sowohl für die akute als auch für die chronische Exposition diskutiert worden. Die Autoren schlugen vor, dass in der Latenzphase nach einer Exposition gegenüber MeHg ein starker Kompensationsmechanismus vorherrschend ist, der Wochen oder Monate wirksam sein kann, bevor nach Erschöpfung dieses Mechanismus offenkundige toxische Symptome auftreten. Im Fall von MeHg-Vergiftungen besteht jedoch eine Tendenz zu längeren Latenzphasen, wenn die Konzentration im Blut höher ist. Die Autoren schlugen vor, dass solch ein Effekt auf eine nicht-monotone Dosis-Wirkungsbeziehung zurückgehen könnte, bei der eine starke Exposition die kompensatorischen Prozesse effektiver aktiviert als eine schwache.

Speziation von Organoquecksilberverbindungen

Organische Quecksilberverbindungen enthalten u. a. Alkyl- und Phenylgruppen als organische Reste. Phenylquecksilberverbindungen werden hauptsächlich als Konservierungsmittel in der Medizin eingesetzt. Die aktuelle Ausgabe z. B. des „Goodman & Gilman“ [52] bietet eine hervorragende Einführung in die Pharmakologie und Toxikologie dieser Verbindungen. Von den bekannten Alkylverbindungen können sowohl die Methyl- als auch die Ethylquecksilberverbindungen in der Umwelt vorliegen. Es können sowohl Monoalkyl- als auch Dialkylverbindungen auftreten. Die Dialkylverbindungen sind sehr flüchtig und für praktische Zwecke, einschließlich toxikologischer Untersuchungen, schwierig zu handhaben [53,54]. Darüber hinaus werden diese Verbindungen sowohl über die Atemwege als auch durch die intakte Haut leicht resorbiert und sind selbst in geringen Mengen hochtoxisch. Die Erfahrungen mit diesen Dialkylverbindungen beim Menschen sind äußerst begrenzt. Es gibt jedoch einen gut dokumentierten Fall, der die Gefahren beim Umgang mit dieser Art von Verbindungen illustriert [55]. Es wird angenommen, dass Dialkylquecksilberverbindungen Auswirkungen auf die Verteilung des organischen Quecksilbers in der Umwelt haben, da sie äußerst flüchtig und in Wasser unlöslich sind und nicht an Sulfhydrylgruppen (SH-Gruppen) binden.

Obwohl Ethyl- und Methylquecksilberverbindungen sehr ähnliche toxikologische Eigenschaften haben, gibt es einige wichtige Unterschiede, die erwähnt werden sollten. Ethylquecksilber wird schneller zu Hg^{2+} abgebaut und nach einer Exposition gegenüber Ethylquecksilber wird weniger Quecksilber im Gehirn gefunden als bei einer Exposition gegenüber MeHg in derselben Dosierung. Weitere Einzelheiten zu den Unterschieden zwischen Ethyl- und Methylquecksilber finden sich in Magos et al. [56].

MeHg wird bei Inhalation leicht resorbiert und nach einer Exposition gegenüber dem Dampf werden 80% zurückgehalten. Liegt MeHg in einem Aerosol vor, hängt die

Resorptionsrate von der Größe und den Eigenschaften der Partikel ab. Nach oraler Exposition erfolgt im Darm eine praktisch 100%ige Resorption, obwohl das MeHg in Lebensmitteln an SH-Gruppen gebunden ist. MeHg kann auch durch die intakte Haut resorbiert werden [57].

Resorbiertes MeHg bindet an SH-Gruppen von Proteinen in Blut und Geweben, in geringerem Ausmaß dagegen an SH-Gruppen z. B. von Cystein und GSH. Durch die Zellmembran wird es hauptsächlich an Cystein gebunden transportiert, und zwar vom Large Neutral Amino Acid Transporter („Transporter für große neutrale Aminosäuren“) [58]. Darüber hinaus sind noch weitere Mechanismen an der Aufnahme in Zellen beteiligt, darunter auch passive Diffusion [59]. Die Verteilung aus dem Blut in die Gewebe verläuft langsam und das Gleichgewicht stellt sich erst 4 Tage nach einer Exposition ein.

Etwa 10% der Körperlast wird im Kopfbereich gefunden. Die Aufnahme ins Gehirn erfolgt langsamer als die in andere Organe. Das Gehirn weist jedoch eine höhere Affinität für MeHg auf, und es wurde gezeigt, dass die Konzentration im Gehirn 3- bis 6-mal höher ist als im Blut. Etwa 20% des MeHg im Gehirn ist wasserlöslich und liegt hauptsächlich als MeHg-GSH-Komplex vor. Im übrigen Körper ist MeHg mehr oder weniger gleichmäßig verteilt, obwohl in der Leber und der Niere einige konzentrationsabhängige Effekte auftreten. MeHg wird durch die Plazenta transportiert und im Fetus abgelagert. Im Gleichgewicht kann das Gehirn des Fetus MeHg in derselben Konzentration enthalten wie das Gehirn der Mutter. Jedoch ist beim Menschen die Konzentration im fetalen u. U. höher als im mütterlichen Blut. Möglicherweise liegt dies an Unterschieden beim Hämoglobin, da dies das wichtigste Bindungsprotein für MeHg in Erythrozyten ist und sich der Hämoglobingehalt zwischen Mutter und Fetus unterscheidet.

Es wurde gezeigt, dass bei langfristiger Verabreichung von MeHg an Affen die Hg^{2+} -Menge nur langsam ansteigt [60]. Das anorganische Quecksilber reichert sich vor allem in Astrozyten und der Mikroglia an. Die Bedeutung dieses Prozesses im Rahmen der Neurotoxizität von MeHg wird später diskutiert.

Die Exkretion von MeHg erfolgt hauptsächlich über die Galle und die Nieren. Die tägliche Netto-Exkretionsrate von 1% der Körperlast resultiert in einer Halbwertszeit von etwa 70 Tagen. Diese Schätzung passt sehr gut zu den Daten in der umfangreichen Datenbank, die während der Vergiftungsepidemie im Irak [61] erstellt wurde. Die enterohepatische Rezirkulation von MeHg ist ein wichtiger Faktor im Zusammenhang mit der Exkretion von MeHg über die Faeces. Clarkson et al. entwickelten ein SH-Harz zur oralen Einnahme, um den enterohepatischen Kreislauf zu unterbrechen und so die Exkretionsrate von MeHg zu erhöhen [62]. Demethylierung im Darm kann signifikant zu einer erhöhten fäkalen Exkretion beitragen, da Hg^{2+} über den enterohepatischen Kreislauf nicht im demselben Ausmaß reabsorbiert wird wie MeHg.

Chemie

Wechselwirkung mit Sulfhydrylgruppen

MeHg hat eine hohe Affinität zu SH-Gruppen; der logK liegt im Bereich von 15 bis 23 [63]. Trotz der hohen Affinität

findet ein äußerst rascher Austausch des MeHg zwischen SH-Gruppen statt, der zu einer schnellen Umverteilung des MeHg führt, wenn neue SH-Gruppen verfügbar werden [64]. Da SH-Gruppen ebenso wie Disulfidbrücken in Proteinen häufig sind, findet das MeHg molekulare Bindungsstellen im ganzen Körper. Diese Bindungseigenschaften tragen zu der mehr oder weniger gleichförmigen Verteilung im Körper bei, die nach langfristiger Exposition beobachtet wird.

Wechselwirkung mit Komplexbildnern

Chelatbildner, die im Zusammenhang mit Quecksilberverbindungen klinisch von Nutzen sein können, enthalten eine oder zwei SH-Gruppen. Wie bereits erwähnt hat Quecksilber eine hohe Affinität für SH-Gruppen, so dass eine schnelle Umverteilung erfolgt, wenn neue SH-Gruppen verfügbar werden. Daher ist die Wirksamkeit eines SH-Chelatbildners abhängig von den Bindungseigenschaften des Chelatbildners im Vergleich zu denen der gleichzeitig anwesenden biologischen SH-Gruppen. Soll sich ein Chelatbildner für die klinische Anwendung eignen, muss er wasserlöslich sein, damit eine Ausscheidung über den Urin möglich ist. Wenn der Komplex fettlöslich ist, kann dies zu einer Umverteilung von Quecksilber führen, die dem Patienten nicht zuträglich ist. Der mögliche Einsatz von Chelatbildnern zur Behandlung von Quecksilbervergiftungen wurde kürzlich in einem Review von Guzzi und La Porta diskutiert [43]. Das von der WHO [10] für Patienten mit einer Vergiftung durch anorganisches Quecksilber vorgeschlagene Mittel der ersten Wahl ist DMPS (2,3-Dimercapto-1-propanthioleinsäure). Weitere Chelatbildner, die klinisch genutzt werden können, sind DMSA (2,3-Dimercaptobernsteinsäure), D-Penicillamin, Dimercaprol und NAC (N-Acetylcystein). Der Nutzen von DMSA ist angezweifelt worden, da diese Verbindung die zelluläre Aufnahme von MeHg steigern kann. Allerdings führt dies nicht zu Schäden, was anhand von intakten Mikrotubuli nachgewiesen werden konnte [65].

Selen aus der Nahrung (Se)

Selen (Se) ist ein essenzielles Spurenelement, von dem bekannt ist, dass es toxische Effekte von MeHg abschwächt oder sogar verhindert [66,67]. Die Bindungsaffinität von Se für Quecksilber ($\log K 10^{45}$) ist eine Million Mal höher als seine Affinität für Schwefel ($\log K 10^{39}$) in analogen Verbindungen [68]. In einigen Studien wurde gezeigt, dass Se bei Quecksilbervergiftungen eine schützende Wirkung hat, die auf verschiedenen Mechanismen beruht:

- Bindung von Hg [69,70],
- antioxidative Wirkung [71,72],
- GSH-Synthese [73],
- Erhöhung der GSH-Peroxidase-(GPx-)Aktivität [74],
- hohe Selenoprotein-Spiegel [75],
- gesteigerte Demethylierung [76].

Darüber hinaus scheint keine toxische Wirkung von MeHg aufzutreten, wenn Se in Geweben im Vergleich zu Hg in molarem Überschuss vorliegt [75].

Daten von Ralston und Raymond zeigen, dass die Purkinje-Zellen im Cerebellum und die Pyramidenzellen im Hippocampus hohe Konzentrationen von Selenoprotein W enthalten [77]. Eine hohe Konzentration an Selenoproteinen

kann als intrazelluläre Quelle für Se dienen, das nach einer Intoxikation durch MeHg wiederum zur Bindung von Quecksilber beitragen und so in Purkinje-Zellen eine schützende Wirkung entfalten kann.

Die beobachteten toxischen Effekte auf wichtige biochemische Prozesse sind abhängig von der effektiven Konzentration, die in der Zelle an der entsprechenden Stelle vorliegt, sowie von der biochemischen „Kapazität“, die der Zelle für den jeweiligen Prozess zur Verfügung steht. Insofern reduziert jeder Unterschied in Bezug auf die Möglichkeiten, Quecksilber an Stellen innerhalb von Zellen zu binden, wo es keinen Schaden anrichten kann, die Quecksilberdosis, die an kritischen Stellen vorliegt. Daher können Unterschiede zwischen Zellen z. B. hinsichtlich ihres Gehalts an Selenoproteinen zu einem äußerst wichtigen Aspekt im Hinblick auf ein besseres Verständnis der zellspezifischen MeHg-Neurotoxizität werden. Das Wissen um solche Unterschiede könnte auch zu einem besseren Verständnis der Latenzphase beim Einsetzen von Symptomen beitragen, da diese möglicherweise erst dann auftreten, wenn sämtliche Quecksilber-Bindungskapazität erschöpft ist.

Epidemiologische Studien

Die Vergiftungsepidemien von Minamata und im Irak

Bisher hat es zwei durch MeHg verursachte Vergiftungsepidemien katastrophalen Ausmaßes gegeben, bei denen Menschen betroffen waren. Die erste ereignete sich in Japan während der späten 1940er Jahre. Damals leitete eine chemische Fabrik MeHg in die Minamata-Bucht ein, das bei der Herstellung von Acetaldehyd als Nebenprodukt anfiel. Die Einleitung wurde bis 1968 fortgesetzt, so dass die betroffenen Personen durch den Verzehr von kontaminiertem Fisch und anderen Meeresprodukten bis zu 20 Jahre lang exponiert waren. Insgesamt waren schätzungsweise etwa 200 000 Menschen dem MeHg ausgesetzt. Etwa 17 000 ortsansässige Personen erhoben Ansprüche, offiziell als Katastrophenopfer der anerkannt zu werden, bisher haben dies 2264 Betroffene erreicht. Fisch ist die wichtigste Proteinquelle im ländlichen Japan. Bei Erwachsenen entwickelte sich eine Reihe neurologischer Probleme, wie z. B. Verschwommensehen, Hörschäden, Geruchs- und Geschmacksstörungen, ataxischer Gang, Ungeschicklichkeit der Hände, Sprachstörungen sowie somatosensorische und psychiatrische Störungen. Bei betroffenen Feten wurden schwere Störungen der mentalen und motorischen Entwicklung beobachtet. Die Patienten hatten erhebliche Probleme beim Kauen, Schlucken, Sprechen, Gehen sowie bei der Koordination und zeigten unwillkürliche Bewegungen. Diese Behinderungen betrafen stets beide Körperseiten. Die pathologische Untersuchung betroffener Gehirne ergab einen Verlust von Neuronen in der Körnerzellschicht des Cerebellums sowie in den betroffenen Teilen des Kortex, wie dem somatosensorischen, visuellen und auditorischen Kortex, einen Verlust von Körnerzellen. Im Gehirn betroffener Feten machten sich die pathologischen Veränderungen in noch ausgedehnteren Bereichen bemerkbar und waren diffuser verteilt als im Gehirn von Erwachsenen. Übersichtsartikel zur Minamata-Epidemie wurden kürzlich von Ekino et al. [78] sowie von Eto [79] publiziert.

Die zweite durch MeHg verursachte Vergiftungsepidemie katastrophalen Ausmaßes ereignete sich im Winter 1971-1972 im ländlichen Irak und wurde von Bakir et al. [61] dokumentiert. Schätzungen zufolge wurden mindestens 40 000 Personen vergiftet, etwa 6000 wurden stationär behandelt. Die Ursache für die Epidemie war selbstgebackenes Brot, für das mit organischen Quecksilberverbindungen wie Methyl- und Ethylquecksilber behandeltes Saatgetreide verwendet worden war. Aufgrund der Latenzphase der MeHg-Neurotoxizität blieben bei den Opfern der irakischen Massenvergiftung Symptome aus, während sie das Brot verzehrten. Als erstes Symptom trat in der Regel Parästhesie auf, der rasch ernstere Symptome wie z. B. Ataxie, Dysarthrie und Einschränkung des Gesichtsfeldes folgten. Dies sind klinische Symptome, die den von Hunter et al. [49,50] beschriebenen ähneln und eine akute Exposition gegenüber hohen Dosen von organischem Quecksilber anzeigen. Die Universität Rochester (NY, USA) führte unter der Leitung von Professor T. W. Clarkson eine breit angelegte Studie zu der irakischen Epidemie durch. Dank dieser Bemühungen steht ein umfangreicher Datensatz zu Blut- und Haarproben zur Verfügung. Dies war eine wichtige Voraussetzung dafür, eine Beziehung zwischen biologischen Indikatoren (Quecksilber in Blut/Urin/Haaren) und dem Auftreten von Symptomen herzustellen. Die Gruppe der Universität Rochester setzte ihre Arbeit fort an Bevölkerungsgruppen in anderen Teilen der Welt, die kontinuierlich geringen Dosen ausgesetzt waren. Ihre umfassenden Untersuchungen wurden von Myers et al. [80] zusammengefasst.

Niedriggradige Exposition gegenüber MeHg in Lebensmitteln

Die Hauptquelle einer langfristigen Exposition gegenüber niedrigen Dosen von MeHg ist Fisch. In aquatischer Umgebung können durch Mikroorganismen im Bodensediment alle Formen von Quecksilber zu MeHg umgesetzt werden. In der Folge sammelt sich MeHg in der Nahrungskette an. Dabei enthalten, als Faustregel, Spezies, die größer und älter werden, die höchsten Konzentrationen an MeHg. Die Konzentration von MeHg in der Umwelt hängt von der lokalen Situation ab, da manche aquatische Umgebungen durch Quecksilber aus Industrieabwässern belastet sind, während andere den globalen Quecksilberkreislauf widerspiegeln, bei dem etwa 50% aus natürlichen Quellen stammen [81]. Wie Übersichtsberichten der WHO [10,82] zu entnehmen ist, konnten bei epidemiologischen Untersuchungen in Kanada, Peru, Samoa und in Mittelmeerländern keine schädlichen Auswirkungen infolge einer Aufnahme von MeHg durch den Verzehr von Fisch und Meeresfrüchten nachgewiesen werden, obwohl gelegentlich ein erhöhter Gehalt in Blut und Haaren gemessen wurde. Das Hauptinteresse im Zusammenhang mit MeHg in Fisch gilt jedoch den möglichen Effekten einer pränatalen Exposition auf die Entwicklung. Drei umfangreichen Studien wurde die meiste Aufmerksamkeit zuteil, da jeweils große Zahlen von Mutter-Kind-Paaren daran teilnahmen:

- die Neuseeland-Studie [83],
- die Studie auf den Färöer-Inseln in der Nordsee [84],
- die Studie auf den Seychellen im Indischen Ozean [85].

Diese Studien zusammen mit den Daten aus dem Irak bildeten die Grundlage, um für die gefährdete Bevölkerungsgruppe, schwangere Frauen, sichere Werte für eine Exposition gegenüber MeHg infolge des Verzehrs von Fisch festzulegen. Zwischen diesen Studien gibt es einige bedeutende Unterschiede im Hinblick sowohl auf das Design als auch auf die Ergebnisse. In der Neuseeland-Studie wurde der Quecksilbergehalt im mütterlichen Haar während der Schwangerschaft mit dem IQ, der Sprachentwicklung und den motorischen Fertigkeiten ihrer Kinder im Alter von 6 Jahren in Beziehung gesetzt. Mit Konzentrationen von 13-15 ppm während der Schwangerschaft waren niedrigere Scores verbunden. Auf den Färöern ist Walfleisch die Hauptquelle für MeHg, womit gleichzeitig polychlorierte Biphenyle aufgenommen werden. Es wurden Proben von Nabelschnurblut und mütterlichem Haar gesammelt, und die Kinder wurden während des ersten Lebensjahrs und im Alter von sieben Jahren untersucht. Bei den 7-jährigen Kindern wurde eine umfassende neurologische und neuropsychologische Testbatterie durchgeführt. Auf den Seychellen wurden während der Schwangerschaft mütterliche Haarproben gesammelt und mit den Ergebnissen verschiedener neurologischer Tests, dem IQ und Entwicklungsmeilensteinen der Kinder im Alter von bis zu 9 Jahren in Beziehung gesetzt. Dabei wurden keine ausreichenden Belege für eine Beeinträchtigung der kindlichen Entwicklung durch eine pränatale Exposition gegenüber MeHg aus Seefisch gefunden. Eine ausführliche Diskussion der Auswirkungen einer MeHg-Exposition durch den Verzehr von Fisch sprengt den Rahmen dieser Arbeit, und der Leser sei auf den Übersichtsartikel zu diesen Studien von Clarkson und Magos [2] verwiesen.

Bei sämtlichen Einschränkungen des Verzehrs von Fisch sollten auch die günstigen Auswirkungen bedacht werden, die Fisch auf die menschliche Gesundheit hat, insbesondere auf das sich entwickelnde Gehirn. Daniels et al. [86] untersuchten mehr als 7000 Kinder und zeigten, dass der Verzehr von Fisch durch Mütter und Kleinkinder zu einem höheren Entwicklungs-Score bei den Kindern führte. Ein vom Harvard Center for Risk Assessment organisiertes Gremium bewertete das mit MeHg in Fisch verbundene Risiko und kam zu dem Schluss, dass die Aufsichtsbehörden die Auswirkungen einer Regulierung des Fischkonsums von schwangeren Frauen und der Bevölkerung allgemein sorgfältig prüfen sollten, da ein geringerer Verzehr von Fisch insgesamt einen negativen Effekt auf die öffentliche Gesundheit haben könnte [87–89]. Es sollte beachtet werden, dass einige in Fisch vorhandene Nährstoffe, wie z. B. Selen und Omega-3-Fettsäuren, die Entwicklung des Gehirns fördern, andere dagegen die toxischen Effekte von MeHg reduzieren können [44,90].

Patienten mit Glutathionsynthesestörung

Zum Thema GSH-Mangel gibt es einen bemerkenswerten Bericht über einen Patienten mit einem angeborenen Defekt bei der GSH-Synthese. Der Patient war seit dem Kindesalter geistig behindert und zeigte Anzeichen und Symptome ähnlich denen, die bei den Patienten mit der Minamata-Krankheit beobachtet wurden [91]. Bei dem Patienten wurden eine generalisierte GSH-Defizienz und eine 5-Oxoprolinurie diagnostiziert, und er war mit Bikarbonat

zur Kontrolle seiner metabolischen Azidose behandelt worden. Die Post-Mortem-Untersuchung ergab eine selektive Atrophie der Körnerzellschicht im Cerebellum sowie fokale Läsionen im rechten frontoparietalen Kortex, im visuellen Kortex und im Thalamus. Die wichtigsten klinischen Symptome sowie die Läsionen im Gehirn ähnelten den Symptomen einer MeHg-Vergiftung, wie sie z. B. bei den Minamata-Patienten auftraten. Jedoch ist es unwahrscheinlich, dass der Patient eine MeHg-Vergiftung hatte, da der Quecksilbergehalt im Gehirn zum Zeitpunkt der Autopsie im normalen Bereich lag. Es ist eine bekannte Tatsache, dass MeHg zu einer Erniedrigung der GSH-Konzentration im Gehirn führen kann, und neurologische Symptome traten auch bei anderen Patienten mit angeborener GSH-Synthetase-Defizienz auf. Jedoch wurden bei diesen anderen Patienten, die in Njalsson und Norgren [92] diskutiert werden, keine pathologischen Post-Mortem-Untersuchungen durchgeführt.

Pathologische Veränderungen

Bei Primaten ist das in diesem Zusammenhang entscheidende Organ das Gehirn. Dagegen werden bei Nagetieren Schäden in der Niere und an peripheren Nerven beobachtet, wobei diese bei Dosen auftreten, die niedriger sind als die Dosen, die das Gehirn schädigen [93]. Bei Ratten und Kaninchen betreffen die ersten sichtbaren morphologischen Veränderungen die Spinalganglien. Bei höheren Konzentrationen werden auch Effekte im Cerebellum und im Stammhirn beobachtet [94–96]. Charbonneau et al. [97] zeigten, dass bei Katzen die ersten Veränderungen im Cerebellum auftreten, wo zunächst die Körnerzellen, dann die Purkinje-Zellen degenerieren. Des Weiteren kommt es zu Veränderungen im okzipitalen, parietalen und temporalen Kortex. Bei Primaten, und zwar bei allen Spezies, werden Veränderungen an den Körnerzellen, im Cerebellum sowie am visuellen Kortex beobachtet [98–100].

Zum Thema Empfindlichkeit der Körnerzellen gegenüber einer MeHg-Exposition haben Fonnum und Lock [34] bereits einen Übersichtsartikel publiziert. Das Ausbleiben eines MeHg-Effekts in den Purkinje-Zellen bleibt erstaunlich, da diese Zellen ebensoviel oder sogar mehr MeHg akkumulieren als die cerebellären Körnerzellen [101–103]. Es darf jedoch nicht vergessen werden, dass mit Untersuchungen zur zellulären Verteilung von MeHg beträchtliche technische Herausforderungen verbunden sind.

Wirkmechanismus

Hinsichtlich möglicher Mechanismen der Zellspezifität neurotoxischer Verbindungen sei der Leser an die hervorragenden Übersichtsartikel von Fonnum und Lock [34] über das Cerebellum, Philbert et al. [36] über das Zentralnervensystem und Fonnum und Lock [35] über die cerebellären Körnerzellen verwiesen.

Hg²⁺ als letztendlich toxische Verbindung nach MeHg-Exposition?

Bevor wir die molekularen und zellulären Effekte von MeHg in Nervengewebe betrachten, muss noch eine andere Frage

behandelt werden: Kann Hg^{2+} die letztendlich toxische Komponente sein, die anstelle von MeHg selbst für die Neurotoxizität von MeHg verantwortlich ist?

Hargreaves et al. [104] schlugen vor, dass Hg^{2+} nach einer MeHg-Exposition diese Rolle spielen könnte und dass das Vorliegen von Hg^{2+} in Neuronen die Folge einer MeHg-Überladung der Gliazellen ist. Zu diesem Vorschlag haben Tiffany-Castiglioni und Qian einen Review publiziert [60]. Hargreaves et al. [104] nutzten die von Pihl [105] beschriebene Methode der Silbermarkierung für ihre Untersuchungen und berichteten, dass Quecksilber während der Latenzphase in Gliazellen, während der symptomatischen Phase in Neuronen vorliegt. Dieser Befund bildete die Grundlage für die Hypothese, dass MeHg in den Gliazellen demethyliert und anschließend das entstandene Quecksilber in die Neuronen transportiert wird, wo es seine Neurotoxizität entfaltet. Auf diese Weise könnte die „Auswahl“ der Neuronen, die geschädigt werden, in den benachbarten Gliazellen erfolgen, wo die Demethylierung von MeHg abläuft. Das späte Einsetzen der Symptome ließe sich durch den langsamen Prozess der Demethylierung und des Transfers des Quecksilbers aus den Gliazellen in die Neuronen erklären.

Magos und Clarkson [106] stellten eine Methode vor, mit der das Gesamt- und das anorganische Quecksilber in derselben biologischen Probe ermittelt werden kann. Mithilfe dieser Methode bestimmte Syversen [107] den Gesamtquecksilbergehalt sowie den Gehalt an Hg^{2+} in subzellulären Fraktionen von Rattenhirnen nach einer einzelnen intravenösen Injektion von ^{203}Hg -markiertem MeHgCl oder HgCl_2 . Die Daten zeigten, dass der Hg^{2+} -Gehalt im Gehirn nach Injektion von MeHg etwa 20-mal höher war als nach Injektion einer ähnlichen Dosis von HgCl_2 . Dies unterstreicht, dass im Hirngewebe Demethylierung stattfindet und dass durch diesen Prozess mehr intrazelluläres Hg^{2+} produziert wird, als über die Blut-Hirn-Schranke aufgenommen wird. Die Hg^{2+} -Spitzenkonzentration im Gehirn wurde einen Tag nach HgCl_2 -Exposition, jedoch erst 8 Tage nach MeHg-Exposition erreicht.

Garman et al. [108] verabreichten Makaken ^{203}Hg -markiertes MeHg über eine Magensonde und untersuchten deren Gehirne mittels Histopathologie und Autoradiographie. Die Autoradiographien wurden erstellt, indem Gewebeschnitte mit einer photographischen Silberhalogenemulsion behandelt wurden. In einer Notiz am Ende des Artikels wird jedoch erwähnt, dass die Autoradiogramme nicht das Isotop, sondern den Hg-Ag-Komplex zeigen, der in der Emulsion entsteht. Solch ein Komplex kann sich nur zwischen Hg^{2+} und Ag ausbilden, nicht zwischen MeHg und Ag. Der Großteil der Radioaktivität (die Hg^{2+} repräsentiert) lag in den Gliazellen vor und nicht in den Neuronen. Sakai et al. [109] führten eine ähnliche Silbermarkierung an Gehirnschnitten von Minamata-Opfern durch und zeigten, dass sich der Großteil der Radioaktivität in den Gliazellen befand, obwohl auch in den meisten anderen cerebellären Neuronen Hg-Ag-Körner zu sehen waren. Einmal mehr sollte betont werden, dass diese anorganisches Quecksilber und nicht das Gesamtquecksilber repräsentieren.

Magos et al. [56] verglichen die Neurotoxizität von MeHg und Ethylquecksilber. Nach Exposition gegenüber Ethylquecksilber im Vergleich zu MeHg war die Hg^{2+} -Konzentration höher, wobei eine Schädigung der Körnerzellschicht nur nach MeHg-Exposition erkennbar war. Daraus

wurde der Schluss gezogen, dass Hg^{2+} oder die Demethylierung nicht die primäre Ursache für die Neurotoxizität von Alkyl-Hg sein kann. Darüber hinaus wiesen silbermarkierte histochemische Präparate keine Signale in den Körnerzellen auf. Die Autoren wiesen darauf hin, dass mit der Silbermarkierungsmethode in diesen Präparaten nur das anorganische Hg^{2+} und nicht die Alkylverbindungen nachgewiesen werden können.

In der Studie von Charleston et al. [110] wurden Affen über längere Zeit niedrigen Dosen von MeHg ausgesetzt. Die Ablagerung von anorganischem Quecksilber wurde mithilfe der oben erwähnten Silbermarkierungsmethode nachgewiesen. Die stärksten Ablagerungen wurden in Astrozyten und Mikroglia beobachtet, während in Neuronen nach 6 Monaten, wenn überhaupt, nur sehr geringe Ablagerungen erkennbar waren. Nach 12 Monaten Exposition wurden bei den Tieren auch einige Ablagerungen in Neuronen gefunden, die nach 18 Monaten noch weiter zunahmten. In allen Fällen wurden jedoch mehr Ablagerungen in den Gliazellen als in den Neuronen festgestellt. In einer weiteren Arbeit über dieselben Tiere [111] schlugen die Autoren vor, dass Hg^{2+} die proximale toxische Form von MeHg ist und seine Wirkung über Populationen von Astrozyten und Mikroglia entfaltet.

Vahter et al. [112] wiesen darauf hin, dass die Latenzphase, die mit einer MeHg-Exposition verbunden ist, auf die langsame, über Monate hinweg erfolgende Produktion und Akkumulation von Hg^{2+} im Gehirn zurückgehen könnte. Weiss et al. [113] zufolge würde man jedoch erwarten, dass die Ablagerung von anorganischem Hg bei stärkerer MeHg-Exposition schneller abläuft, so dass sich bei höherer Dosis eine kürzere Latenzphase ergeben sollte. Magos et al. [56] verglichen die Toxizität von Methyl- und Ethylquecksilber und bestimmten dabei auch die Freisetzung von Hg^{2+} . Dabei fanden sie, dass Ethylquecksilber zur Produktion von mehr Hg^{2+} führt als MeHg, aber trotzdem weniger toxisch ist. Ihre Schlussfolgerungen sprechen daher gegen eine zentrale Rolle von Hg^{2+} , wie sie von Vahter et al. [112] vorgeschlagen wurde. Burbacher et al. [114] berichteten über die Verteilung von Quecksilber bei Affenbabys, denen Ethylquecksilber in Form von Thimerosal intramuskulär injiziert wurde, im Vergleich zu einer zweiten Gruppe von Affen, denen eine MeHg-Verbindung oral eingegeben wurde. In der Studie sollte der Impfplan für menschliche Neugeborene simuliert werden. Burbacher et al. [114] berichteten, dass der Gehalt an organischem Quecksilber im Gehirn der Affenbabys, die Thimerosal erhalten hatten, niedriger war als bei den Affen, die MeHg oral erhalten hatten. Damit bestätigten sie die Schlussfolgerungen, die Mago et al. [56] aus Untersuchungen am Rattenmodell gezogen hatten. Die Halbwertszeit im Gehirn (definiert als die Zeit, in der der Hg-Gehalt im Gehirn auf die Hälfte absinkt) unterschied sich ebenfalls. Die Clearance-Halbwertszeit von organischem Hg im Gehirn betrug im Mittel 58 Tage nach oraler Exposition gegenüber MeHg im Vergleich zu 14 Tagen nach Injektion von Ethylquecksilber.

In verschiedenen Studien an erwachsenen Javaneraffen [110–112,115] wurde die Pharmakokinetik der Demethylierung von MeHg im Gehirn untersucht. Sechs Monate nach Ende der MeHg-Exposition wurde im Gehirn der Affen eine höhere Hg^{2+} -Konzentration beobachtet, während das organische Quecksilber aus dem Gehirn verschwunden war. Die ermittelte Halbwertszeit des organischen Quecksilbers im

Gehirn dieser erwachsenen Affen betrug 37 Tage. Dieser Zeitraum war konsistent über verschiedene Gehirnregionen hinweg und vergleichbar mit der Halbwertszeit von MeHg im Gehirn von Affenbabys, die von Burbacher et al. bestimmt worden war [114]. Die ermittelte Halbwertszeit von Hg^{2+} im Gehirn derselben erwachsenen Affen variierte erheblich zwischen verschiedenen Bereichen im Gehirn: Sie betrug zwischen 227 und 540 Tagen. Die Hg^{2+} -Konzentration unterschied sich ebenfalls deutlich zwischen den einzelnen Gehirnregionen. Sechs Monate nach dem Ende der Exposition gegenüber MeHg war sie in einigen Bereichen gleich geblieben (Thalamus), während sie in anderen (Hypophyse) auf das Doppelte angestiegen war [112]. Stereologische und autometallographische Untersuchungen ergaben Hinweise darauf, dass Hg^{2+} im Gehirn der Affen persistierte und mit einer signifikanten Erhöhung der Anzahl der Mikroglia sowie einem Rückgang der Anzahl der Astrozyten verbunden war. Es ist bemerkenswert, dass diese Effekte 6 Monate nach dem Ende einer chronischen Exposition gegenüber MeHg beobachtet wurden [110,111,115] und dass sie bei den erwachsenen Tieren mit Hg^{2+} -Gehalten im Gehirn verbunden waren, die etwa fünfmal höher lagen als diejenigen, die von Burbacher et al. [114] bei den mit Ethylquecksilber behandelten Affenbabys beobachtet worden waren.

Bei einigen Studien zeigten MeHg und Ethylquecksilber in Experimenten an Gewebekulturen gleiche Toxizität, während sich Hg^{2+} in neuronalen Zellmodellsystemen sowohl von Vertebraten als auch von Invertebraten als weniger toxisch erwies. In PC12-Phäochromozytomzellen beispielsweise ist MeHg, gemessen am Überleben der Zellen, 6- bis 40-mal toxischer als Hg^{2+} [116,117]. Während Hg^{2+} und MeHg in einer Insektenzelllinie nahezu äquivalente Zytotoxizität zeigten, inhibierte MeHg in diesen Zellen die Proliferation etwa 20-mal stärker als Hg^{2+} [118]. Darüber hinaus verzögerte MeHg 10-mal stärker als Hg^{2+} das Wachstum von Nervenfasern bei Spinalganglien-Explantaten von Hühnern [119]. Insgesamt sprechen diese Untersuchungen in einer Reihe von Modellen, die von Invertebraten- bis hin zu Säugersystemen reichen, gegen die Auffassung, dass Hg^{2+} sowohl bei Exposition gegenüber MeHg wie auch gegenüber Ethylquecksilber die eigentliche Ursache der Schäden ist. Diese Untersuchungen sollten jedoch mit Vorsicht interpretiert werden, da sie alle unter den artifiziellen Bedingungen von Gewebekulturen durchgeführt wurden.

So gibt es also eine Reihe von Studien, die die Hypothese stützen, dass Hg^{2+} bei einer MeHg-Exposition das eigentliche toxische Agens ist, andererseits deutet eine Vielzahl von Arbeiten an unterschiedlichen biologischen Modellen eher darauf hin, dass Hg^{2+} eine solche Rolle nicht spielen kann. Wir schließen daraus, dass die Demethylierung von MeHg zu Hg^{2+} nicht der Mechanismus ist, der für die Entwicklung neurologischer Effekte im Verlauf der chronischen Latenzphase während der Exposition verantwortlich ist. Clarkson und Magos [2] schlugen vor, dass die Demethylierung von MeHg ein Teil der Verteidigungsstrategie der Gliazellen sein könnte, was einmal mehr die Bedeutung der interzellulären Abhängigkeit zwischen Neuronen und Gliazellen betont.

Wechselwirkung mit Sulfhydrylgruppen

Wir haben bereits auf die Bedeutung von SH-Gruppen für die Bindung von Quecksilber hingewiesen, durch die wiederum

die Konzentration von „freiem“ Quecksilber verringert wird, das eine Interaktion mit sensitiven zellulären Bindungsstellen eingehen kann. Purkinje-Zellen sind reich an SH-Gruppen [120], die als inerte Bindungsstellen fungieren und so ein Quenching der Wirkung von Hg im Zellinneren herbeiführen können, was den Zellen eine höhere Toleranz gegenüber Hg verleiht [121,122]. Bei einer MeHg-Behandlung von Astrozyten im Cerebellum ist eine stärkere Depletion von GSH beobachtet worden als bei Astrozyten im Kortex [123]. Der Grund für die höhere Produktion von ROS in cerebellären Astrozyten war der höhere Gehalt an GSH in kortikalen Astrozyten im Vergleich zu cerebellären Astrozyten. Jedoch wurden keine Unterschiede hinsichtlich der zellulären Verteilung von GSH zwischen Körner- und Purkinje-Zellen festgestellt [124].

Nach Exposition gegenüber MeHg wurde vor allem in Bergmann-Gliazellen, Purkinje-Zellen, Astrozyten und Gliazellen der weißen Substanz Metallothionein (MT) nachgewiesen, nicht dagegen in Körnerzellen [103]. Metallothioneine bestehen aus etwa 62 Aminosäuren, wobei 20 davon Cysteinreste sind. Dies verleiht dem Protein eine außerordentlich hohe Kapazität für die Chelierung von Metallen, die an SH-Gruppen binden. Daher stellen Metallothioneine einen wichtigen Faktor dar, der die Bindung von Quecksilber an funktionell bedeutsame SH-Gruppen reduzieren kann.

Dies sind wichtige Gesichtspunkte im Hinblick auf die unterschiedlichen Effekte in Neuronen sowie im Zusammenhang mit indirekten Wirkungen auf Neuronen als Ergebnis von Effekten, die in Gliazellen ausgelöst werden. Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass der Gehalt an SH-Gruppen die MeHg-bedingten toxischen Effekte beeinflussen und zum Teil die unterschiedliche Sensitivität der verschiedenen Zelltypen erklären kann, die sich z. B. anhand von Befunden zur Synthese von Makromolekülen zeigen lässt [125–127].

Effekte auf die DNA-, die RNA- und die Proteinsynthese

MeHg stört die Synthese von DNA, RNA und Proteinen. Der Mechanismus ist nicht bekannt, jedoch kann angenommen werden, dass die Bindung an wichtige SH-Gruppen bei diesen Veränderungen eine bedeutende Rolle spielt, z. B. durch sekundäre Veränderungen an DNA und RNA sowie Konformationsänderungen bei ribosomalen Proteinen [128]. Frühe Untersuchungen über die MeHg-bedingte Reduktion der Proteinsynthese umfassten In-vivo-Studien von Yoshino et al. [129] und Chen [130] sowie In-vitro-Experimente von Syversen [131]. Jacobsen et al. [95] und Syversen et al. [132] beobachteten degenerative Veränderungen am endoplasmatischen Retikulum, und diese morphologischen Befunde bestätigten die biochemischen Veränderungen. Der einzige Bericht über eine gesteigerte Synthese von DNA, RNA und Proteinen im Gehirn wurde von Brubaker et al. [133] publiziert. Syversen [125] gelang es, aus dem Cerebellum und dem Kortex von MeHg-vergifteten Ratten mit Neuronen angereicherte Zellfraktionen zu isolieren. Die Proteinsynthese in vivo war in den Körnerzellen und Purkinje-Zellen im Cerebellum sowie in kortikalen Neuronen reduziert. Interessanterweise erholte sich die Proteinsynthese in zwei

Zelltypen, nicht jedoch in den cerebellären Körnerzellen. Diese Daten weisen darauf hin, dass in manchen Zellen, nicht aber in anderen, wichtige Reparaturmechanismen für Makromoleküle wirksam sein könnten und dass die Kapazität für die Reparatur des ersten Insults entscheidend dafür sein könnte, welche Zellen degenerieren. Das gleiche Prinzip der Zellselektion aufgrund einer eingeschränkten Reparaturkapazität wurde auch von Jacobs et al. [95] und von Sarafian et al. [134] vorgeschlagen.

Die Bedeutung von reaktiven Sauerstoffspezies und Glutathion

Einer der wichtigsten Mechanismen der MeHg-bedingten Toxizität ist die Bildung reaktiver Sauerstoffverbindungen (ROS) und die Depletion von GSH [135]. Das Gleichgewicht zwischen oxidativen und reduktiven zellulären Prozessen ist entscheidend im Zusammenhang mit der MeHg-induzierten Neurotoxizität. Nach Exposition gegenüber MeHg gehen erniedrigte GSH-Konzentrationen in der Regel mit erhöhten ROS-Konzentrationen einher [136–139]. In einer epidemiologischen Studie, in der ein Zusammenhang zwischen oxidativem Stress und MeHg-Exposition hergestellt wurde [140], wurden bei erhöhtem Gesamt-Hg-Gehalt sowohl erhöhte als auch erniedrigte GSH-Konzentrationen bestimmt. Diese Ergebnisse legen nahe, dass MeHg die Bildung von ROS steigern kann, die wiederum entweder die GSH-Konzentration erniedrigen oder durch die Erhöhung der GSH-Konzentration eine adaptive Reaktion auf oxidativen Stress auslösen kann.

Darüber hinaus wurde gezeigt, dass die Induktion einer gesteigerten GSH-Synthese [123,141,142] gegen MeHg-induzierte Neurotoxizität schützen kann. Wichtige Inhaltsstoffe aus Fisch und Meeresfrüchten, wie z. B. Fettsäuren, Selen und Antioxidanzien, schützen nachgewiesenermaßen ebenfalls gegen MeHg-induzierte ROS [71,143,144]. Im Gehirn scheinen Interaktionen zwischen Neuronen und Gliazellen eine wichtige Rolle bei der Neurotoxizität von MeHg zu spielen. Die Astrozyten versorgen die Neuronen mit verschiedenen Faktoren wie Cystein, Glyzin und Glutamin für die GSH-Synthese [145]. Der erhöhte Gehalt an GSH in kortikalen im Vergleich zu cerebellären Astrozyten war Publikationen zufolge verantwortlich für die erhöhte Produktion von ROS in cerebellären Astrozyten [123]. Insgesamt gesehen könnten Änderungen des intrazellulären MeHg-Gehalts zusammen mit der Modulation der GSH-Konzentration die Erklärung für die erhöhte Empfindlichkeit bestimmter Zelltypen gegenüber MeHg-induziertem oxidativem Stress sein [123,142].

Wechselwirkung mit Mikrotubuli

Neuronen sind hochspezialisierte Zellen mit einer einzigartigen zellulären Architektur, die durch langgezogene Fortsätze, die Axone und Dendriten, gekennzeichnet ist. Ein Teil des Zytoskeletts, das die dreidimensionale Form der Zellen aufrechterhält, sind die Mikrotubuli. Sie stellen wichtige strukturelle Komponenten dar, die außerdem für den intrazellulären Transport erforderlich sind. Mikrotubuli sind Polymere von Tubulin, an deren Oberfläche eine Reihe von Mikrotubuli-assoziierten Proteinen, sogenannte MAPs,

angeheftet sind. Mikrotubuli spielen eine entscheidende Rolle bei einer Vielzahl zellulärer Prozesse, darunter der axonale und dendritische Transport [146,147], Wachstum und Differenzierung der Neuronen [148,149], die Aufrechterhaltung der Struktur [150] und die Zellmigration [151]. Ein Tubulin-Monomer enthält mindestens 13 freie SH-Gruppen. Wenn MeHg oder Hg^{2+} an SH-Gruppen in Mikrotubuli binden, depolymerisieren die Mikrotubuli und zerfallen, was zur Degeneration von Neuronen führt [65,151–153]. Mikrotubuli enthalten α - und β -Tubulin und zeigen in Neuronen Mikroheterogenität und Kompartimentalisierung [154,155], z. B. im Hinblick auf die MAPs, die sich in den Axonen und Dendriten befinden. Purkinje-Zellen weisen in der axonalen Region einen hohen Gehalt an MAP1a und MAP1b auf. In den dornigen Dendriten von Purkinje-Zellen jedoch ist der Gehalt an MAP2a und MAP2b niedrig [156]. Der Dendritenbaum von Purkinje-Zellen ist dicht gepackt und nimmt insgesamt einen wesentlich kleineren Raum ein als der Dendritenbaum einer neokortikalen Pyramidenzelle. Aufgrund dieses Baus benötigt eine Purkinje-Zelle eine deutlich geringere Anzahl von Mikrotubuli. Dies stellt einen metabolischen Vorteil dar und ist möglicherweise auch von Vorteil bei einer MeHg-Exposition, deren toxische Effekte zur Störung der Dynamik der Mikrotubuli führt.

Membrantransport von Quecksilber

Kerper et al. [157] verwendeten Endothelzellen aus bovinen Gehirnkapillaren und zeigten an diesem Modell, dass die Aufnahme von MeHg (zum Teil) vom MeHg-L-Cystein-Komplex abhängig war, die Freisetzung von MeHg in den interstitiellen Raum des Gehirns dagegen vom GSH-Komplex vermittelt wurde, und dass dieser Transport von ATP unabhängig war. Der MeHg-S-Cystein-Komplex verhielt sich wie ein Imitat der neutralen Aminosäure Methionin, die ein Substrat des Transportersystems L für neutrale Aminosäuren ist [157]. Dieses Mimikri ist der Literatur zufolge verantwortlich für einen großen Teil der MeHg-Aufnahme in Zellen. Die Aufnahme von MeHg in Zellen kann, abhängig von der Hg-Spezies [59,158,159], aktiv und energieabhängig (z. B. MeHg-Cystein) oder passiv sein (z. B. MeHgCl in Zellkultur). Kürzlich wurde gezeigt, dass MeHg den Transporter für neutrale Aminosäuren ASCT2 inhibiert [160]. Der ASCT2 ist ein die Aminosäuren Alanin, Serin, Cystein bevorzugender Neutral Amino Acid Exchanger („Austauscher neutraler Aminosäuren“), der am Transport von Aminosäuresubstraten wie L-Serin, L-Glutamin, L-Cystein und/oder L-Glutamat sowie D-Serin beteiligt ist [161] und damit eine wichtige Rolle bei der Regulation des intrazellulären GSH-Gehalts spielt. Bei Energiemangel übernimmt ASCT2 die wichtige Aufgabe, exzitotoxisches L-Glutamat abzutransportieren [162]. Der ASCT2-Transporter fehlt in Astrozyten, in Neuronen kommt er nur in Dendriten vor und nicht im neuronalen Zellkörper. In Purkinje-Zellen dagegen ist er auch im Zellkörper zu finden [161]. Diese Eigenschaften des neuronalen ASCT2-Transporters weisen erstens darauf hin, dass er ein wichtiger Regulator der antioxidativen Kapazität von Neuronen sein könnte. Darüber hinaus kann spekuliert werden, dass er bei einer MeHg-Vergiftung eine wichtige Rolle spielt, indem er exzitotoxische Konzentrationen an L-Glutamat bei Purkinje-Zellen effektiver aus dem

extrazellulären Raum entfernt als z. B. bei cerebellären Körnerzellen. In der Tat wurde berichtet, dass der von diesem Transporter katalysierte Glutamin-Glutamin-Antiport bei einer MeHg-Vergiftung inhibiert ist [160].

Um die protektive Kapazität sowohl der Plazenta als auch der Blut-Hirn-Schranke beurteilen zu können ist es wichtig zu wissen, wie MeHg biologische Membranen passiert. Des Weiteren könnte dies auch zur Klärung des Mechanismus der Quecksilbereinlagerung in die Haare beitragen. Haare sind wertvolle Proben für die biologische Überwachung, die einfach und auf nichtinvasive Weise gewonnen werden können. Zur Einlagerung von MeHg in Haare kommt es als Folge der Akkumulation von MeHg in den Zellen des Haarfollikels. Wenn die Aufnahme von MeHg in diese Zellen über den Transport des MeHg-Cystein-Komplexes erfolgt, dann reflektiert das MeHg in den Haaren den Gehalt an transportablen MeHg-Spezies im Blut. Daraus folgt, dass das MeHg im Haar ein nützlicher Indikator für die Menge an MeHg sein könnte, das für die Aufnahme ins Gehirn verfügbar ist. Der Nutzen von Quecksilber im Haar als Indikator wurde bei Vergiftungsepidemien wie der im Irak [61] überzeugend belegt, und mit den heute zur Verfügung stehenden modernen Instrumenten kann sogar die Spurenelementkonzentration im Zeitverlauf in einem einzigen Haar untersucht werden [163].

Methylquecksilber könnte Exzitotoxizität auslösen

Es wurde vorgeschlagen, dass es infolge von Störungen in Astrozyten zu neuronaler Dysfunktion kommen kann [164]. Wie von Aschner und Syversen zusammengefasst [165], akkumulieren Astrozyten MeHg. Neben anderen Effekten inhibiert MeHg in diesen Zellen deutlich die Aufnahme von Glutamat und stimuliert dessen Efflux [166,167]. Dadurch erhöht sich die Glutamat-Konzentration in der extrazellulären Flüssigkeit, was möglicherweise zu exzitotoxischer Schädigung von Neuronen führt. Das Cerebellum enthält weniger Astrozyten als der cerebrale Kortex, was zweierlei implizieren könnte. Erstens würde eine eingeschränkte Fähigkeit, die extrazelluläre Umgebung unter Stress stabil zu halten, die Neuronen im Cerebellum verglichen mit Neuronen im cerebralen Kortex gegenüber der Wirkung von MeHg verwundbarer machen. Wenn zweitens die Schädigung auf Exzitotoxizität infolge von Fehlfunktionen der Astrozyten zurückgeht, würde man erwarten, dass die Schädigung in Regionen mit geringerer Astrozytendichte am stärksten ist. Dies scheint nicht der Fall zu sein. Die Verschönerung der Purkinje-Zellen und die Sensitivität von Körnerzellen im Cerebellum können jedoch nicht (allein) auf die Vulnerabilität der cerebellären Astrozyten gegenüber MeHg zurückgeführt werden, da unter diesen Umständen sowohl die Purkinje-Zellen als auch die Körnerzellen auf die von extrazellulärem Glutamat verursachte Exzitotoxizität reagieren sollten. Dies könnte bedeuten, dass die Astrozyten möglicherweise nicht das Hauptziel sind, sondern eher als Verstärker des primären Effekts auf die Neuronen fungieren. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass ionotrope Rezeptoren vom NMDA-Typ nur in Neuronen vorkommen und nicht in Gliazellen [168]. Im Fall von Neuronen wurde eine regional und zellulär unterschiedliche Expression der verschiedenen Untereinheiten des NMDA-Rezeptors beobachtet. Es wurde

berichtet, dass die NMDAR1-Untereinheit im menschlichen Cerebellum wesentlich stärker exprimiert wird als in Körnerzellen. In Körnerzellen dagegen wird im Vergleich zu Purkinje-Zellen die NMDAR2C-Untereinheit stärker exprimiert [169]. Generell werden in Purkinje-Zellen eine stärkere Expression von NMDA-Rezeptoruntereinheiten und ein höheres Verhältnis von NMDAR1- zu NMDAR2-Untereinheiten beobachtet als in Körnerzellen. In der Körnerzellschicht wird jedoch ein hohes Ausmaß an NMDA-sensitiver Bindung von [³H]-Glutamat gefunden, in der Purkinje-Zellschicht dagegen ein niedriges [170]. Die Funktion dieser Rezeptoruntereinheiten in den beiden Zelltypen im Zusammenhang mit der niedrigeren Glutamatbindung und der höheren Rezeptordichte in Purkinje-Zellen ist derzeit noch unbekannt.

Das Cerebellum als entscheidendes Organ

Der unterschiedliche Effekt von MeHg auf Körnerzellen im Vergleich zu den größeren Purkinje-Zellen im Cerebellum ist hier bereits mehrfach kommentiert worden. Es wurde ebenfalls bemerkt, dass im Cerebellum einige der wichtigsten pathologischen Veränderungen in den Körnerzellen erfolgen. Das Volumen des Zytoplasmas scheint daher ein wichtiger bestimmender Faktor dafür zu sein, inwieweit Zellen zum Ziel einer permanenten Schädigung durch MeHg werden. Das andere wichtige Problem ist die Beziehung zwischen den Neuronen und den Gliazellen. Der Einfachheit halber sollen diese Fragen nun, gestützt auf die oben geschaffene Grundlage in Biochemie und Pathologie, am Cerebellum als Modellregion für das Gehirn untersucht werden.

Eigenschaften des Cerebellums

Das Cerebellum besteht im Wesentlichen aus vier Arten von Neuronen: Körnerzellen, Purkinje-Zellen und zwei Arten inhibitorischer Interneuronen, Golgi-Zellen und Stern-/Korbzellen [171]. Es unterteilt sich in drei Hauptschichten: die Körnerzellschicht, die Purkinje-Zellschicht und die Molekularschicht. Die Körnerzellschicht liegt am tiefsten und enthält eine außerordentlich große Anzahl an dicht gepackten Interneuronen, die sogenannten Körnerzellen. Die Purkinje-Zellschicht besteht aus einer einzigen Schicht von Zellkörpern von Purkinje-Zellen. Die Molekularschicht enthält unmyelinisierte Axone in hoher Dichte, die als Parallelfasern bezeichnet werden. Die Purkinje-Zellen werden als einer der ersten Neuronentypen in der Kleinhirnplatte gebildet, während die Körnerzellen aus der äußeren Keimschicht entstehen. Die Körnerzellen wandern zunächst durch die Molekularschicht, dann durch die Purkinje-Zellschicht bis in ihre endgültige Position im erwachsenen Gehirn und bilden die innere Körnerzellschicht. Informationen erreichen die Purkinje-Zellen über die Körnerzellen, wobei die Axone der Körnerzellen, also die Parallelfasern in der Molekularschicht, auf den Dendritendornen der Purkinje-Zellen exzitatorische Synapsen ausbilden.

Die Dichte der Körnerzellen liegt bei etwa 80 Zellen pro 0,1 mm³. Die Zellen sind extrem klein (4-6 µm Durchmesser) und es finden sich selten Astrozyten in ihrer Nachbarschaft. Das Verhältnis zwischen Kern- und Zytoplasmavolumen in diesen Zellen ist hoch. Die Gesamtzahl der Körnerzellen

beträgt $9,2 \times 10^7$ [172,173], die Anzahl der Purkinje-Zellen liegt zwischen $2,78 \times 10^5$ [172] und $5,5 \times 10^5$ [174]. Darüber hinaus wurde berichtet, dass auf jede Purkinje-Zelle etwa 274 Körnerzellen kommen [175].

Geringe Größe und wenig Zytoplasma - einige Spekulationen

Körnerzellen sind kleiner, und ihr geringes Zytoplasmavolumen könnte ein wichtiger Schlüssel zum Verständnis ihrer Vulnerabilität gegenüber MeHg-bedingter Schädigung sein. Dies bedeutet nämlich, dass es weniger Bindungsstellen für Quecksilber gibt, so dass bei einer Exposition die kritische MeHg-Konzentration im Bereich empfindlicher Stellen früher erreicht ist. Für die Zytoskelettproteine, insbesondere die Mikrotubuli, ist die Entfernung zwischen der äußeren Zellmembran und dem Kern sehr klein, und es kann spekuliert werden, dass selbst eine begrenzte Depolymerisierung der Mikrotubuli tiefgreifende Auswirkungen auf den Metabolismus der Zellen und die Aktivität der Mitochondrien hat. Während einer MeHg-Exposition besteht eine erhöhte Notwendigkeit, Proteine durch Proteinsynthese zu ersetzen. Dies wiederum erfordert eine effiziente Funktion der Mitochondrien bei gleichzeitiger Aufrechterhaltung der intrazellulären GSH-Balance. Dazu sind nicht nur bestimmte Enzyme nötig, sondern auch ein ausreichender intrazellulärer Gehalt an Selen, da einige dieser Enzyme Selenoproteine sind. Wie bereits betont wurde, hat Quecksilber eine deutlich höhere Affinität für Selen als für Schwefel, und es kann zu Situationen kommen, in denen Selen aus diesen Selenoproteinen extrahiert wird und stattdessen an Quecksilber bindet. So wirkt Quecksilber, wie hier ausgeführt, nicht nur über einen Mechanismus, sondern es läuft eine Reihe von Prozessen gleichzeitig ab, die in der Summe Zellen mit geringem Volumen gefährden.

Ein Mechanismus oder vielmehr eine Folge von Ereignissen zur Erklärung der Selektivität von MeHg sollte außerdem die beobachtete Latenzphase zwischen der Exposition und dem Einsetzen von Symptomen mit einbeziehen. Zunächst einmal ist bekannt, dass das Cerebellum eine große Zahl an Körnerzellen enthält und dass im gesamten Gehirn ein hoher Grad an Redundanz herrscht. Dies bedeutet, dass das System über einige Reservekapazität verfügt, mit der die erforderliche Leistung des neuronalen Netzwerks aufrechterhalten werden kann. Diese Redundanz hat jedoch Grenzen, und wenn diese erreicht sind, kommt es zu einem Zusammenbruch des Netzwerks. Es dauert einige Zeit, bis das Quecksilber die intrazellulären Verteidigungsmechanismen erschöpft, sogar in kleinen Neuronen, und dies muss in einer ausreichenden Anzahl von Neuronen geschehen, bevor das Netzwerk versagt. Ist es jedoch erst einmal so weit, dann entwickeln sich die Symptome sehr schnell.

Schlussfolgerungen und zukünftiger Forschungsbedarf

Die Zellspezifität und das verzögerte Einsetzen von Symptomen gehören zu den wichtigen „Rätseln“ im Zusammenhang mit der Neurotoxizität von MeHg. In diesem Übersichtartikel

haben wir versucht, die folgenden Hypothesen zu diesen Rätseln zu untermauern:

- Die Neurotoxizität geht von MeHg selbst aus und nicht von durch Demethylierung gebildetem Hg^{2+} , obwohl Demethylierung im Gehirn stattfindet.
- Die selektive Schädigung im Gehirn spiegelt zelluläre Verteidigungsmechanismen wider, die sich erschöpfen.
- Ein Schlüsselement der zellulären Verteidigungsmechanismen ist die Verfügbarkeit von Selen sowie von SH-Gruppen, die Quecksilber chelieren können.
- Zellen mit einem kleinen Zytoplasmavolumen sind durch die Toxizität von MeHg stärker gefährdet als größere Zellen.
- Die Ursache für das verzögerte Einsetzen von Symptomen ist möglicherweise eine Kombination aus der zellulären Reparaturkapazität der einzelnen Zellen und der Redundanz des neuronalen Netzwerks.

Eines der Rätsel jedoch, die noch gelöst werden müssen, ist die Dosisunabhängigkeit der Latenzphase vor dem Einsetzen der Symptome.

Offenlegung von Interessenkonflikten

Bei keinem der Autoren besteht ein Interessenkonflikt.

Danksagung

Der Erstautor (T. Syversen) möchte sich bei Professor T. W. Clarkson für seine Unterstützung, seine Anregungen und seine Freundschaft in 40 Jahren der Arbeit über die Toxikologie des Quecksilbers und seiner Komponenten bedanken. In der letzten Phase der Vorbereitung dieses Manuskripts hat er wertvolle Vorschläge beigesteuert.

Literatur

- [1] Clarkson TW. The three modern faces of mercury. *Environ Health Perspect* 2002;110:11–23.
- [2] Clarkson TW, Magos L. The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Crit Rev Toxicol* 2006;36:609–62.
- [3] Hursh JB, Cherian MG, Clarkson TW, Vostal JJ, Mallie RV. Clearance of mercury (HG-197 HG-203) vapor inhaled by human subjects. *Arch Environ Health* 1976;31:302–9.
- [4] Halbach S, Clarkson TW. Enzymatic oxidation of mercury vapor by erythrocytes. *Biochim Biophys Acta* 1978;523:522–31.
- [5] Eide I, Syversen TL. Relationship between catalase activity and uptake of elemental mercury by rat brain. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 1983;52:217–23.
- [6] Magos L, Halbach S, Clarkson TW. Role of catalase in the oxidation of mercury vapor. *Biochem Pharmacol* 1978;27:1373–7.
- [7] Eide I, Syversen TL. Uptake of elemental mercury and activity of catalase in rat, hamster, guinea-pig, normal and acatalase-mic mice. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 1982;51:371–6.
- [8] Eide I, Syversen TL. Uptake of elemental mercury by brain in relation to concentration of glutathione and activity of glutathione peroxidase. *Toxicol Lett* 1983;17:209–13.
- [9] Warfvinge K. Mercury distribution in the neonatal and adult cerebellum after mercury vapor exposure of pregnant squirrel monkeys. *Environ Res* 2000;83:93–101.

- [10] WHO. Inorganic mercury. Environmental Health Criteria, vol. 118. Geneva: World Health Organization; 1991.
- [11] Sallsten G, Thoren J, Barregard L, Schutz A, Skarping G. Long-term use of nicotine chewing gum and mercury exposure from dental amalgam fillings. *J Dent Res* 1996;75:594–8.
- [12] Dye BA, Schober SE, Dillon CF, Jones RL, Fryar C, McDowell M, et al. Urinary mercury concentrations associated with dental restorations in adult women aged 16-49 years: United States, 1999-2000. *Occup Environ Med* 2005;62:368–75.
- [13] Mutter J, Naumann J, Sadaghiani C, Schneider R, Walach H. Alzheimer disease: mercury as pathogenetic factor and apolipoprotein E as a moderator. *Neuroendocrinol Lett* 2004;25:331–9.
- [14] Fung YK, Meade AG, Rack EP, Blotcky AJ. Brain mercury in neurodegenerative disorders. *J Toxicol Clin Toxicol* 1997;35:49–54.
- [15] Saxe SR, Wekstein MW, Kryscio RJ, Henry RG, Cornett CR, Snowdon DA, et al. Alzheimer's disease, dental amalgam and mercury. *J Am Dent Assoc* 1999;130:191–9.
- [16] Nitschke I, Muller F, Smith J, Hopfenmuller W. Amalgam fillings and cognitive abilities in a representative sample of the elderly population. *Gerodontology* 2000;17:39–44.
- [17] Factor-Litvak P, Hasselgren G, Jacobs D, Begg M, Kline J, Geier J, et al. Mercury derived from dental amalgams and neuropsychological function. *Environ Health Perspect* 2003;111:719–23.
- [18] Watson GE, Lynch M, Myers GJ, Shamlaye CF, Thurston SW, Zareba G, et al. Prenatal exposure to dental amalgam: evidence from the Seychelles Child Development Study main cohort. *J Am Dent Assoc* 2011;142:1283–94.
- [19] Rohling ML, Demakis GJ. A meta-analysis of the neuropsychological effects of occupational exposure to mercury. *Clinical Neuropsychol* 2006;20:108–32.
- [20] Langworth S, Sallsten G, Barregard L, Cynkier I, Lind ML, Soderman E. Exposure to mercury vapor and impact on health in the dental profession in Sweden. *J Dent Res* 1997;76:1397–404.
- [21] Hilt B, Svendsen K, Syversen T, Aas O, Qvenild T, Sletvold H, et al. Occurrence of cognitive symptoms in dental assistants with previous occupational exposure to metallic mercury. *Neurotoxicology* 2009;30:1202–6.
- [22] Ritchie KA, Gilmour WH, Macdonald EB, Burke FJ, McGowan DA, Dale IM, et al. Health and neuropsychological functioning of dentists exposed to mercury. *Occup Environ Med* 2002;59:287–93.
- [23] Echeverria D. Mercury and dentists. *Occup Environ Med* 2002;59:285–6.
- [24] Jones L, Bunnell J, Stillman J. A 30-year follow-up of residual effects on New Zealand School Dental Nurses, from occupational mercury exposure. *Hum Exp Toxicol* 2007;26:367–74.
- [25] Sletvold H, Svendsen K, Aas O, Syversen T, Hilt B. Neuropsychological function and past exposure to metallic mercury in female dental workers. *Scand J Psychol* 2011.
- [26] Heggland I, Irgens A, Tollanes M, Romundstad P, Syversen T, Svendsen K, et al. Pregnancy outcomes among female dental personnel – a registry-based retrospective cohort study. *Scand J Work Environ Health* 2011;37:539–46.
- [27] Warkany J. Acrodynia – postmortem of a disease. *Am J Dis Child* 1966;112:147–56.
- [28] Mayell H. Did mercury in „little blue pills” make Abraham Lincoln erratic? National Geographic: National Geographic News October 28; <http://news.nationalgeographic.com/news/2001/07/0717lincoln.html>; 2010.
- [29] Rahola T, Hattula T, Korolainen A, Miettinen JK. Elimination of free and protein-bound ionic mercury (203Hg²⁺) in man. *Ann Clin Res* 1973;5:214–9.
- [30] Hattula T, Rahola T. The distribution and biological half-time of 203Hg in the human body according to a modified whole-body counting technique. *Environ Physiol Biochem* 1975;5:252–7.
- [31] Friberg L, Skog E, Wahlberg JE. Resorption of mercuric chloride and methyl mercury dicyandiamide in guinea-pigs through normal skin and through skin pretreated with acetone, alkylaryl-sulphonate and soap. *Acta Derm Venereol* 1961;41:40–52.
- [32] Moller-Madsen B, Danscher G. Localization of mercury in CNS of the rat: I Mercuric chloride (HgCl₂) per os. *Environ Res* 1986;41:29–43.
- [33] Pollard KM, Hultman P. Effects of mercury on the immune system. *Met Ions Biol Syst* 1997;34:421–40.
- [34] Fonnum F, Lock EA. Cerebellum as a target for toxic substances. *Toxicol Lett* 2000;112:9–16.
- [35] Fonnum F, Lock EA. The contributions of excitotoxicity, glutathione depletion and DNA repair in chemically induced injury to neurones: exemplified with toxic effects on cerebellar granule cells. *J Neurochem* 2004;88:513–31.
- [36] Philbert MA, Billingsley ML, Reuhl KR. Mechanisms of injury in the central nervous system. *Toxicol Pathol* 2000;28:43–53.
- [37] Aschner M, Onishchenko N, Ceccatelli S. Toxicology of alkylmercury compounds. *Metal Ions Life Sci* 2010;7:403–34.
- [38] Aschner M, Syversen T. Methylmercury. Recent advances in the understanding of its neurotoxicity. *Ther Drug Monit* 2005;27:278–83.
- [39] Castoldi AF, Coccini T, Ceccatelli S, Manzo L. Neurotoxicity and molecular effects of methylmercury. *Brain Res Bull* 2001;55:197–203.
- [40] Ceccatelli S, Dare E, Moors M. Methylmercury-induced neurotoxicity and apoptosis. *Chem Biol Interact* 2010;188:301–8.
- [41] do Nascimento JL, Oliveira KR, Crespo-Lopez ME, Macchi BM, Maues LA, Pinheiro Mda C, et al. Methylmercury neurotoxicity & antioxidant defenses. *Indian J Med Res* 2008;128:373–82.
- [42] Farina M, Rocha JB, Aschner M. Mechanisms of methylmercury-induced neurotoxicity: evidence from experimental studies. *Life Sci* 2011;89:555–63.
- [43] Guzzi G, La Porta CA. Molecular mechanisms triggered by mercury. *Toxicology* 2008;244:1–12.
- [44] Newland MC, Paletz EM, Reed MN. Methylmercury and nutrition: adult effects of fetal exposure in experimental models. *Neurotoxicology* 2008;29:783–801.
- [45] Rice DC. Overview of modifiers of methylmercury neurotoxicity: chemicals, nutrients, and the social environment. *Neurotoxicology* 2008;29:761–6.
- [46] Sanfeliu C, Sebastia J, Cristofol R, Rodriguez-Farre E. Neurotoxicity of organomercurial compounds. *Neurotox Res* 2003;5:283–306.
- [47] Edwards GN. Two cases of poisoning by mercuric methide. *Saint Bartholomews Hosp Rep* 1865;1:141–50.
- [48] Edwards GN. Note on the termination of the second case of poisoning by mercuric methide. *Saint Bartholomews Hosp Rep* 1866;2:211–2.
- [49] Hunter D, Bomford RR, Russel DS. Poisoning by methyl mercury compounds. *Q J Med* 1940;9:193–206.
- [50] Hunter D, Russell DS. Focal cerebral and cerebellar atrophy in a human subject due to organic mercury compounds. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1954;17:235–41.
- [51] Weiss B, Clarkson TW, Simon W. Silent latency periods in methylmercury poisoning and in neurodegenerative disease 173. *Environ Health Perspect* 2002;110(Suppl. 5):851–4.
- [52] Brunton LL, Chabner BA, Knollman BC. Goodman & Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. <http://accessmedicine.com/resourceTOC.aspx?resourceID=651>; 2012.
- [53] Syversen T. Distribution of mercury in enzymatically characterized subcellular fractions from the developing rat brain after injections of methylmercuric chloride and diethylmercury. *Biochem Pharmacol* 1974;23:2999–3007.

- [54] Grundt IK, Stensland E, Syversen TL. Changes in fatty acid composition of myelin cerebrosides after treatment of the developing rat with methylmercury chloride and diethylmercury. *J Lipid Res* 1980;21:162–8.
- [55] Nierenberg DW, Nordgren RE, Chang MB, Siegler RW, Blayney MB, Hochberg F, et al. Delayed cerebellar disease death after accidental exposure to F dimethylmercury. *N Engl J Med* 1998;338:1672–6.
- [56] Magos L, Brown AW, Sparrow S, Bailey E, Snowden RT, Skipp WR. The comparative toxicology of ethyl- and methylmercury. *Arch Toxicol* 1985;57:260–7.
- [57] Aberg B, Ekman L, Falk R, Greitz U, Persson G, Snihs JO. Metabolism of methyl mercury (203Hg) compounds in man. *Arch Environ Health* 1969;19:478–84.
- [58] Yin Z, Jiang H, Syversen T, Rocha JB, Farina M, Aschner M. The methylmercury-L-cysteine conjugate is a substrate for the L-type large neutral amino acid transporter. *J Neurochem* 2008;107:1083–90.
- [59] Heggland I, Kaur P, Syversen T. Uptake and efflux of methylmercury in vitro: comparison of transport mechanisms in C6, B35 and RBE4 cells. *Toxicol In Vitro* 2009;23:1020–7.
- [60] Tiffany-Castiglioni E, Qian Y. Astroglia as metal depots: molecular mechanisms for metal accumulation, storage and release. *Neurotoxicology* 2001;22:577–92.
- [61] Bakir F, Damluji SF, Amin-Zaki L, Murtadha M, Khalidi A, al-Rawi NY, et al. Methylmercury poisoning in Iraq. *Science* 1973;181:230–41.
- [62] Clarkson TW, Magos L, Cox C, Greenwood MR, Amin-Zaki L, Majeed MA, et al. Tests of efficacy of antidotes for removal of methylmercury in human poisoning during the Iraq outbreak. *J Pharmacol Exp Ther* 1981;218:74–83.
- [63] Hughes WL. A physicochemical rationale for the biological activity of mercury and its compounds. *Ann N Y Acad Sci* 1957;65:454–60.
- [64] Rabenstein DL, Fairhurst MT. Nuclear magnetic resonance studies of the solution chemistry of metal complexes, XI. The binding of methylmercury by sulfhydryl-containing amino acids and by glutathione. *J Am Chem Soc* 1975;97:2086–92.
- [65] Sager PR, Syversen TL. Differential responses to methylmercury exposure and recovery in neuroblastoma and glioma cells and fibroblasts. *Exp Neurol* 1984;85:371–82.
- [66] Ganther HE, Goudie C, Sunde ML, Kopecky MJ, Wagner P. Selenium: relation to decreased toxicity of methylmercury added to diets containing tuna. *Science* 1972;175:1122–4.
- [67] Koeman JH, Peeters WH, Koudstaal-Hol CH, Tjioe PS, de Goeij JJ. Mercury–selenium correlations in marine mammals. *Nature* 1973;245:385–6.
- [68] Dyrssen D, Wedborg M. The sulfur–mercury(II) system in natural waters. *Water Air Soil Pollut* 1991;56:507–19.
- [69] Magos L, Webb M, Hudson AR. Complex formation between selenium and methylmercury. *Chem Biol Interact* 1979;28:359–62.
- [70] Ralston NV, Ralston CR, Blackwell 3rd JL, Raymond LJ. Dietary and tissue selenium in relation to methylmercury toxicity. *Neurotoxicology* 2008;29:802–11.
- [71] Kaur P, Evje L, Aschner M, Syversen T. The in vitro effects of selenomethionine on methylmercury-induced neurotoxicity. *Toxicol In Vitro* 2009;23:378–85.
- [72] Ralston NV, Raymond LJ. Dietary selenium's protective effects against methylmercury toxicity. *Toxicology* 2010;278:112–23.
- [73] Burk RF. Selenium, an antioxidant nutrient. *Nutrition in Clinical Care: An Official Publication of Tufts University* 2002;5:75–9.
- [74] Michalke B, Schramel P. Selenium speciation in human milk with special respect to quality control. *Biol Trace Elem Res* 1997;59:45–56.
- [75] Ralston NV, Blackwell 3rd JL, Raymond LJ. Importance of molar ratios in selenium-dependent protection against methylmercury toxicity. *Biol Trace Elem Res* 2007;119:255–68.
- [76] Khan MAK, Wang F. Chemical demethylation of methylmercury by selenoamino acids. *Chem Res Toxicol* 2010;23:1202–6.
- [77] Ralston NV, Raymond L. Selenium's pivotal role in molecular mechanisms of mercury toxicity. In: Banuelos GS, Lin ZQ, Yin XB, Duan N, editors. *Selenium: global perspectives of impacts on humans, animals and the environment*. Hefei, China: University of Science and Technology of China Press; 2011.
- [78] Ekino S, Susa M, Ninomiya T, Imamura K, Kitamura T. Minamata disease revisited: an update on the acute and chronic manifestations of methyl mercury poisoning. *J Neurol Sci* 2007;262:131–44.
- [79] Eto K. Minamata disease. *Neuropathology* 2000;20: S14–9.
- [80] Myers GJ, Davidson PW, Cox C, Shamlaye C, Cernichiari E, Clarkson TW. Twenty-seven years studying the human neurotoxicity of methylmercury exposure. *Environ Res* 2000;83:275–85.
- [81] Fitzgerald WF, Clarkson TW. Mercury and monomethylmercury: present and future concerns. *Environ Health Perspect* 1991;96:159–66.
- [82] WHO Mercury. *Environmental health criteria, vol. 1*. Geneva: International Program on Chemical Safety, World Health Organization; 1976.
- [83] Kjellstrom T, Kennedy P, Allis S, Tewart A, Riberg L. Physical and mental development of children with prenatal exposure to mercury from fish. Stage II: interviews and psychological tests at age 6. Solna, Sweden: National Swedish Environmental Protection Board Report; 1989.
- [84] Grandjean P, Weihe P, White RF, Debes F, Araki S, Yokoyama K, et al. Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicol Teratol* 1997;19:417–28.
- [85] Myers GJ, Davidson PW, Cox C, Shamlaye CF, Palumbo D, Cernichiari E, et al. Prenatal methylmercury exposure from ocean fish consumption in the Seychelles child development study. *Lancet* 2003;361:1686–92.
- [86] Daniels JL, Longnecker MP, Rowland AS, Golding J. Fish intake during pregnancy and early cognitive development of offspring. *Epidemiology* 2004;15:394–402.
- [87] Cohen JT, Bellinger DC, Connor WE, Kris-Etherton PM, Lawrence RS, Savitz DA, et al. A quantitative risk-benefit analysis of changes in population fish consumption. *Am J Prev Med* 2005;29:325–34.
- [88] Cohen JT, Bellinger DC, Connor WE, Shaywitz BA. A quantitative analysis of prenatal intake of n-3 polyunsaturated fatty acids and cognitive development. *Am J Prev Med* 2005;29:366–74.
- [89] Cohen JT, Bellinger DC, Shaywitz BA. A quantitative analysis of prenatal methyl mercury exposure and cognitive development. *Am J Prev Med* 2005;29:353–65.
- [90] Strain JJ, Bonham MP, Duffy EM, Wallace JMW, Robson PJ, Clarkson TW, et al. Nutrition and neurodevelopment: the search for candidate nutrients in the Seychelles Child Development Nutrition Study. *Seychelles Med Dent J* 2004;7:77–83.
- [91] Skullerud K, Marstein S, Schrader H, Brundelet PJ, Jellum E. The cerebral lesions in a patient with generalized glutathione deficiency and pyroglutamic aciduria (5-oxoprolinuria). *Acta Neuropathol* 1980;52:235–8.
- [92] Njalsson R, Norgren S. Physiological and pathological aspects of GSH metabolism. *Acta Paediatr* 2005;94:132–7.
- [93] Magos L, Butler WH. Cumulative effects of methylmercury dicyandiamide given orally to rats. *Food Cosmet Toxicol* 1972;10:513–7.

- [94] Carmichael N, Cavanagh JB, Rodda RA. Some effects of methyl mercury salts on the rabbit nervous system. *Acta Neuropathol* 1975;32:115–25.
- [95] Jacobs JM, Carmichael N, Cavanagh JB. Ultrastructural changes in nervous system of rabbits poisoned with methyl mercury. *Toxicol Appl Pharmacol* 1977;39:249–61.
- [96] Chang LW, Hartmann HA. Ultrastructural studies of the nervous system after mercury intoxication. II. Pathological changes in the nerve fibers. *Acta Neuropathol* 1972;20:316–34.
- [97] Charbonneau SM, Munro IC, Nera EA, Willes RF, Kuiper-Goodman T, Iverson F, et al. Subacute toxicity of methylmercury in the adult cat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1974;27:569–81.
- [98] Eto K, Yasutake A, Korogi Y, Akima M, Shimozeiki T, Tokunaga H, et al. Methylmercury poisoning in common marmosets – MRI findings and peripheral nerve lesions. *Toxicol Pathol* 2002;30:723–34.
- [99] Eto K, Yasutake A, Kuwana T, Korogi Y, Akima M, Shimozeiki T, et al. Methylmercury poisoning in common marmosets – a study of selective vulnerability within the cerebral cortex. *Toxicol Pathol* 2001;29:565–73.
- [100] Eto K, Yasutake A, Nakano A, Akagi H, Tokunaga H, Kojima T. Reappraisal of the historic 1959 cat experiment in Minamata by the Chisso Factory. *Tohoku J Exp Med* 2001;194:197–203.
- [101] Chang LW, Reuhl KR, Spyker JM. Ultrastructural study of the latent effects of methyl mercury on the nervous system after prenatal exposure. *Environ Res* 1977;13:171–85.
- [102] Harvey RJ, Napper RM. Quantitative study of granule and Purkinje cells in the cerebellar cortex of the rat. *J Comp Neurol* 1988;274:151–7.
- [103] Leyshon-Sorland K, Jasani B, Morgan AJ. The localization of mercury and metallothionein in the cerebellum of rats experimentally exposed to methylmercury. *Histochem J* 1994;26:161–9.
- [104] Hargreaves RJ, Foster JR, Pelling D, Moorhouse SR, Gangolli SD, Rowland IR. Changes in the distribution of histochemically localized mercury in the CNS and in tissue-levels of organic and inorganic mercury during the development of intoxication in methylmercury treated rats. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1985;11:383–401.
- [105] Pihl E. Ultrastructural localization of heavy metals by a modified sulfide–silver method. *Histochemie* 1967;10:126–39.
- [106] Magos L, Clarkson TW. Atomic-absorption determination of total, inorganic, and organic mercury in blood. *J Assoc Off Anal Chem* 1972; 55, 966–8.
- [107] Syversen T. Biotransformation of Hg-203 labelled methyl mercuric chloride in rat brain measured by specific determination of Hg²⁺. *Acta Pharmacol Toxicol* 1974;35:277–83.
- [108] Garman RH, Weiss B, Evans HL. Alkylmercurial encephalopathy in monkey (*Saimiri-Sciureus* and *Macaca-Arctoides*) – histopathologic and autoradiographic study. *Acta Neuropathol* 1975;32:61–74.
- [109] Sakai K, Okabe M, Eto K, Takeuchi T. Histochemical demonstration of mercury in human tissue cells of minamata disease by use of autoradiographic procedure. *Acta Histochem Cytochem* 1975;8:257–64.
- [110] Charleston JS, Body RL, Mottet NK, Vahter ME, Burbacher TM. Autometallographic determination of inorganic mercury distribution in the cortex of the calcarine sulcus of the monkey macaca fascicularis following long-term subclinical exposure to methylmercury and mercuric chloride. *Toxicol Appl Pharmacol* 1995;132:325–33.
- [111] Charleston JS, Body RL, Bolender RP, Mottet NK, Vahter ME, Burbacher TM. Changes in the number of astrocytes and microglia in the thalamus of the monkey *Macaca fascicularis* following long-term subclinical methylmercury exposure. *Neurotoxicology* 1996;17:127–38.
- [112] Vahter M, Mottet NK, Friberg L, Lind B, Shen DD, Burbacher T. Speciation of mercury in the primate blood and brain following long-term exposure to methyl mercury. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994;124:221–9.
- [113] Weiss B, Clarkson TW, Simon W. Silent latency periods in methylmercury poisoning and in neurodegenerative disease. *Environ Health Perspect* 2002;110(Suppl. 5):851–4.
- [114] Burbacher T, Shen DD, Liberato N, Grant KS, Cernichiari E, Clarkson TW. Comparison of blood and brain mercury levels in infant monkeys exposed to methylmercury or vaccines containing Thimerosal. *Environ Health Perspect* 2005;113:1015–21.
- [115] Charleston JS, Bolender RP, Mottet NK, Body RL, Vahter M, Burbacher T. Increases in the number of reactive glia in the visual cortex of *Macaca fascicularis* following subclinical long-term methyl mercury exposure. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994;129:196–206.
- [116] Parran DK, Barone Jr S, Mundy WR. Methylmercury decreases NGF-induced TrkA autophosphorylation and neurite outgrowth in PC12 cells. *Brain Res Dev Brain Res* 2003;141:71–81.
- [117] Parran DK, Mundy WR, Barone S. Effects of methylmercury and mercuric chloride on differentiation and cell viability in PC12 cells. *Toxicol Sci* 2001;59:278–90.
- [118] Braeckman B, Cornelis R, Rzeznik U, Raes H. Uptake of HgCl₂ and MeHgCl in an insect cell line (*Aedes albopictus* C6/36). *Environ Res* 1998;79:33–40.
- [119] Miura K, Himeno S, Koide N, Imura N. Effects of methylmercury and inorganic mercury on the growth of nerve fibers in cultured chick dorsal root ganglia. *Tohoku J Exp Med* 2000;192:195–210.
- [120] Kosmider S. The pathogenetic mechanisms of experimental poisoning by mercury vapor. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 1965;13:204–37.
- [121] Passow H, Rothstein A, Clarkson TW. The general pharmacology of the heavy metals. *Pharmacol Rev* 1961;13:185–224.
- [122] Rothstein A. Cell membrane as site of action of heavy metals. *Fed Proc* 1959;18:1026–38.
- [123] Kaur P, Aschner M, Syversen T. Role of glutathione in determining the differential sensitivity between the cortical and cerebellar regions towards mercury-induced oxidative stress. *Toxicology* 2007;230:164–77.
- [124] Philbert MA, Beiswanger CM, Waters DK, Reuhl KR, Lowndes HE. Cellular and regional distribution of reduced glutathione in the nervous system of the rat: histochemical localization by mercury orange and o-phthalaldehyde-induced histofluorescence. *Toxicol Appl Pharmacol* 1991;107:215–27.
- [125] Syversen T. Effects of methylmercury on in vivo protein synthesis in isolated cerebral and cerebellar neurons. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1977;3:225–36.
- [126] Syversen TL. Changes in protein and RNA synthesis in rat brain neurons after a single dose of methylmercury. *Toxicol Lett* 1982;10:31–4.
- [127] Syversen TL. Effects of repeated dosing of methyl mercury on in vivo protein synthesis in isolated neurones *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 1982;50:391–7.
- [128] Gruenwedel DW, Lu DS. Changes in the sedimentation characteristics of DNA due to methylmercuration. *Biochem Biophys Res Commun* 1970;40:542–8.
- [129] Yoshino Y, Mozai T, Nakao K. Biochemical changes in the brain in rats poisoned with an alkylmercury compound, with special reference to the inhibition of protein synthesis in brain cortex slices. *J Neurochem* 1966;13:1223–30.
- [130] Cavanagh JB, Chen FC. Amino acid incorporation in protein during the „silent phase” before organo-mercury and p-bromophenylacetylurea neuropathy in the rat. *Acta Neuropathol* 1971;19:216–24.

- [131] Syversen TL. Effects of methyl mercury on protein synthesis in vitro. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 1981;49:422–6.
- [132] Syversen TL, Totland G, Flood PR. Early morphological changes in rat cerebellum caused by a single dose of methylmercury. *Arch Toxicol* 1981;47:101–11.
- [133] Brubaker PE, Klein R, Herman SP, Lucier GW, Alexander LT, Long MD. DNA, RNA, and protein synthesis in brain, liver, and kidneys of asymptomatic methylmercury treated rats. *Exp Mol Pathol* 1973;18:263–80.
- [134] Sarafian TA, Bredesen DE, Verity MA. Cellular resistance to methylmercury. *Neurotoxicology* 1996;17:27–36.
- [135] Farina M, Aschner M, Rocha JB. Oxidative stress in MeHg-induced neurotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2011;256:405–17.
- [136] Sarafian T, Verity MA. Oxidative mechanisms underlying methyl mercury neurotoxicity. *Int J Dev Neurosci* 1990;9:147–53.
- [137] Sarafian TA, Vartavarian L, Kane DJ, Bredesen DE, Verity MA. bcl-2 expression decreases methyl mercury-induced free-radical generation and cell killing in a neural cell line. *Toxicol Lett* 1994;74:149–55.
- [138] Stringari J, Nunes AK, Franco JL, Bohrer D, Garcia SC, Dafre AL, et al. Prenatal methylmercury exposure hampers glutathione antioxidant system ontogen-esis and causes long-lasting oxidative stress in the mouse brain. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008;227:147–54.
- [139] Vijayalakshmi K, Sood PP. Ameliorative capacities of vitamins and monoth-iols post therapy in the restoration of methylmercury altered glutathione metabolism. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 1994;40:211–24.
- [140] Grotto D, Valentini J, Fillion M, Passos CJ, Garcia SC, Mergler D, et al. Mercury exposure and oxidative stress in communities of the Brazilian Amazon. *Sci Total Environ* 2010;408:806–11.
- [141] Choi BH, Yee S, Robles M. The effects of glutathione glycoside in methyl mer-cury poisoning. *Toxicol Appl Pharmacol* 1996;141:357–64.
- [142] Kaur P, Aschner M, Syversen T. Glutathione modulation influences methyl mercury induced neurotoxicity in primary cell cultures of neurons and astro-cytes. *Neurotoxicology* 2006;27:492–500.
- [143] Kaur P, Heggland I, Aschner M, Syversen T. Docosahexaenoic acid may act as a neuroprotector for methylmercury-induced neurotoxicity in primary neural cell cultures. *Neurotoxicology* 2008;29:978–87.
- [144] Kaur P, Evje L, Aschner M, Syversen T. The in vitro effects of Trolox on methylmercury-induced neurotoxicity. *Toxicology* 2010;276:73–8.
- [145] Shanker G, Aschner M. Identification and characterization of uptake systems for cystine and cysteine in cultured astrocytes and neurons: evidence for methylmercury-targeted disruption of astrocyte transport. *J Neurosci Res* 2001;66:998–1002.
- [146] Kreutzberg GW. Parameters of dendritic transport. *Neurosci Res Program Bull* 1981;20:45–9.
- [147] Lasek RJ. The dynamic ordering of neuronal cytoskeletons. *Neurosci Res Pro-gram Bull* 1981;19:7–32.
- [148] Solomon F. Guiding growth cones. *Cell* 1981;24:279–80.
- [149] Solomon F, Magendantz M. Cytochalasin separates microtubule disassembly from loss of asymmetric morphology. *J Cell Biol* 1981;89:157–61.
- [150] Solomon F. Specification of cell morphology by endogenous determinants. *J Cell Biol* 1981;90:547–53.
- [151] Choi BH, Cho KH, Lapham LW. Effects of methylmercury on DNA synthesis of human fetal astrocytes: a radioautographic study. *Brain Res* 1980;202:238–42.
- [152] Brown DL, Reuhl KR, Bormann S, Little JE. Effects of methyl mercury on the microtubule system of mouse lymphocytes. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988;94:66–75.
- [153] Sager PR, Doherty RA, Olmsted JB. Interaction of methylmercury with microtubules in cultured cells and in vitro. *Exp Cell Res* 1983;146:127–37.
- [154] Gozes I, Sweadner KJ. Multiple tubulin forms are expressed by a single neurone. *Nature* 1981;294:477–80.
- [155] Gozes I, Barnstable CJ. Monoclonal antibodies that recognize discrete forms of tubulin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1982;79:2579–83.
- [156] Hamodeh S, Eicke D, Napper RM, Harvey RJ, Sultan F. Population based quantification of dendrites: evidence for the lack of microtubule-associate protein 2a,b in Purkinje cell spiny dendrites. *Neuroscience* 2010;170:1004–14.
- [157] Kerper LE, Mokrzan EM, Clarkson TW, Ballatori N. Methylmercury efflux from brain capillary endothelial cells is modulated by intracellular glutathione but not ATP 358. *Toxicol Appl Pharmacol* 1996;141:526–31.
- [158] Aschner M, Clarkson TW. Uptake of methylmercury in the rat brain: effects of amino acids. *Brain Res* 1988;462:31–9.
- [159] Aschner M, Eberle NB, Goderie S, Kimelberg HK. Methylmercury uptake in rat primary astrocyte cultures: the role of the neutral amino acid transport system. *Brain Res* 1990;521:221–8.
- [160] Oppedisano F, Galluccio M, Indiveri C. Inactivation by Hg²⁺ and methylmercury of the glutamine/amino acid transporter (ASCT2) reconstituted in liposomes: prediction of the involvement of a CXXC motif by homology modelling. *Biochem Pharmacol* 2010;80:1266–73.
- [161] Gliddon CM, Shao Z, LeMaistre JL, Anderson CM. Cellular distribution of the neutral amino acid transporter subtype ASCT2 in mouse brain. *J Neurochem* 2009;108:372–83.
- [162] Oppedisano F, Pochini L, Galluccio M, Indiveri C. The glutamine/amino acid transporter (ASCT2) reconstituted in liposomes: transport mechanism, regulation by ATP and characterization of the glutamine/glutamate antiport. *Biochim Biophys Acta* 2007;1768:291–8.
- [163] Gellein K, Lierhagen S, Brevik PS, Teigen M, Kaur P, Singh T, et al. Trace element profiles in single strands of human hair determined by HR-ICP-MS. *Biol Trace Elem Res* 2008;123:250–60.
- [164] Allen JW, Shanker G, Tan KH, Aschner M. The consequences of methylmercury exposure on interactive functions between astrocytes and neurons. *Neurotoxicology* 2001;23:755–9.
- [165] Aschner M, Syversen T. Methylmercury – recent advances in the understanding of its neurotoxicity. *Ther Drug Monit* 2005;27:278–83.
- [166] Allen JW, El Oqayli H, Aschner M, Syversen T, Sonnewald U. Methylmercury has a selective effect on mitochondria in cultured astrocytes in the presence of [U-C-13]glutamate. *Brain Res* 2001;908:149–54.
- [167] Qu H, Syversen T, Aschner M, Sonnewald U. Effect of methylmercury on glutamate metabolism in cerebellar astrocytes in culture. *Neurochem Int* 2003;43:411–6.
- [168] Palmada M, Centelles JJ. Excitatory amino acid neurotransmission. Pathways for metabolism, storage and reuptake of glutamate in brain. *Front Biosci* 1998; 3: d701-18.
- [169] Scherzer CR, Landwehrmeyer GB, Kerner JA, Standaert DG, Hollingsworth ZR, Daggett LP, et al. Cellular distribution of NMDA glutamate receptor subunit mRNAs in the human cerebellum. *Neurobiol Dis* 1997;4:35–46.
- [170] Jansen KL, Faull RL, Dragunow M. NMDA and kainic acid receptors have a complementary distribution to AMPA receptors in the human cerebellum. *Brain Res* 1990;532:351–4.
- [171] Voogd J, Glickstein M. The anatomy of the cerebellum. *Trends Neurosci* 1998;21:370–5.

- [172] Hillman DE, Chen S. Vulnerability of cerebellar development in malnutrition- I. Quantitation of layer volume and neuron numbers. *Neuroscience* 1981;6:1249–62.
- [173] Smolyaninov VV. Some special features of organization of cerebellar cortex. In: Gelfand IM, Gurhnel VS, Fomin SV, Tsetlin ML, editors. *Models of the structural–functional organization of certain biological systems*. Cambridge: MIT Press; 1971.
- [174] Inukai T. On the loss of Purkinje cells with advancing age from the cerebellar cortex of albino rat. *J Comp Neurol* 1928;45:1–31.
- [175] Harvey RJ, Napper RM. Quantitative studies on the mammalian cerebellum. *Prog Neurobiol* 1991;36:437–63.